DOI:10.11686/cyxb2017073 http://cyxb.lzu.edu.cn
李杨，史娟，崔娜娜，韩宇. 苜蓿褐斑病对紫花苜蓿光合作用及草品质的影响. 草业学报，2017，26(10)：149-157.
LI Yang, SHI Juan, CUI Na-Na, HAN Yu. Lucerne common leaf spot (*Pseudopeziza medicaginis*) decreases the photosynthetic performance and forage quality of *Medicago sativa*. Acta Prataculturae Sinica, 2017, 26(10): 149-157.

苜蓿褐斑病对紫花苜蓿光合作用及草品质的影响

李杨，史娟*，崔娜娜，韩宇
（宁夏大学农学院，宁夏 银川 750021）

摘要：为确定褐斑病对紫花苜蓿光合作用和草品质的影响，以便确定此病的重要性，选取了发生该病不同严重度的植株，用 LI-6400 光合仪测定了 5 个光合作用指标，采集不同严重度的叶片和茎秆，分别测定了 10 个营养成分指标。结果表明：以健康无病植株为对照，随发病严重度的增加，紫花苜蓿叶片中粗灰分（Ash）、酸性洗涤纤维（ADF）含量分别增加 19.94%、71.21%，与严重度的相关系数均为 0.95；中性洗涤纤维（NDF）、钙（Ca）、单宁及总酚含量分别增加 39.68%、136.42%、21.93%、50.55%，与严重度的相关系数分别为 0.91、0.85、0.89、0.85；粗蛋白（CP）、钾（K）含量分别减少 15.67%、29.91%，与严重度的相关系数分别为－0.99、－0.86；粗脂肪（EE）、磷（P）含量减少，与严重度相关性不显著；茎秆中 Ash、NDF 感病后含量下降，其他品质指标与叶片感病后变化趋势一致；胞间 CO_2 浓度（C_i）升高，与严重度相关性不显著；净光合速率（P_n）、蒸腾速率（E）分别下降 93.27%、68.34%，与严重度的相关系数分别为－0.82、－0.86；气孔导度（G_s）与水分利用效率（WUE）亦呈下降趋势但差异不显著，与严重度相关性不显著；P 含量与 5 个光合指标均无显著相关性；其他品质指标均与 P_n、E 有极显著或显著相关性。主成分分析表明：第一主成分可以代表 80.94%不同严重度褐斑病苜蓿品质和光合作用的变异信息，主要有 Ca、K、Ash、单宁、总酚、E、P_n、ADF、NDF、CP、C_i、EE、WUE、G_s 等指标。表明褐斑病影响紫花苜蓿光合作用，进而影响草品质。

关键词：苜蓿假盘菌；紫花苜蓿；褐斑病；品质；光合作用

Lucerne common leaf spot (*Pseudopeziza medicaginis*) decreases the photosynthetic performance and forage quality of *Medicago sativa*

LI Yang, SHI Juan*, CUI Na-Na, HAN Yu
The Agricultural School, Ningxia University, Yinchuan 750021, *China*

Abstract: The aim of this study was to determine the effect of common leaf spot on the photosynthetic performance and forage quality of alfalfa, and to evaluate the importance of this disease. Five indices of photosynthetic performance were measured in diseased and healthy leaves using an LI-6400 photosynthetic analyzer, and the concentrations of 10 nutrients were determined in diseased and healthy leaves and stems. The results showed that the ash, acid detergent fiber (ADF), neutral detergent fiber (NDF), calcium (Ca), tannin, and total phenols content in diseased leaves was 19.94%, 71.21%, 39.68%, 136.42%, 21.93% and 50.55% higher, respectively, than their corresponding contents in healthy leaves; the correlation coefficient for each of these indexes with disease severity was 0.95, 0.95, 0.91, 0.85, 0.89, and 0.85, respectively. Crude protein (CP) and potassium (K) content was decreased by 15.67% and 29.91%, respectively, in diseased leaves, and their respective correlation coefficients with disease severity were －0.99 and －0.86. Crude fat (EE) and phosphor-

收稿日期：2017-03-02；改回日期：2017-05-22
基金项目：国家自然科学基金(31460033)和宁夏大学草学一流学科建设项目资助。
作者简介：李杨(1993-)，女，山西大同人，在读硕士。E-mail: mu2yu@qq.com
* 通信作者 Corresponding author. E-mail: shi_j@nxu.edu.cn

us (P) contents were decreased in diseased leaves, but they were not significantly correlated with disease severity. Correlations between nutrient indexes and disease severity were not determined for stem material, but the ash and NDF contents were lower in diseased stems than in healthy stems, while other nutrients showed the same trends as observed in diseased leaves. Compared with healthy leaves, diseased leaves showed a higher intercellular CO_2 concentration (C_i), but this was not correlated with disease severity. The net photosynthetic rate (P_n) and transpiration rate (E) of diseased leaves decreased by 93.27% and 68.34%, and their correlation coefficients with disease severity were −0.82 and −0.86, respectively. Stomatal conductance (G_s) and water use efficiency (WUE) tended to be lower in diseased leaves than in healthy ones, but they were not significantly correlated with disease severity. There was no significant correlation between leaf P content and photosynthetic parameters; however, there were extremely significant or significant correlations between other quality indices and P_n and E. In a principal components analysis of leaf quality and photosynthetic performance data, principal component 1 accounted for 80.94% of data variance and showed positive coefficients for ash, ADF, NDF, Ca, tannins, total phenols, and C_i, and negative coefficients for CP, EE, K, P_n, E, G_s, and WUE. In conclusion, common leaf spot negatively affects the quality and photosynthesis of alfalfa, and also affects the interaction between photosynthetic performance and forage quality.

Key words: *Pseudopeziza medicaginis*; alfalfa (*Medicago sativa*); common leaf spot; quality; photosynthetic

紫花苜蓿(*Medicago sativa*)作为优质的多年生豆科牧草,是草产业和草食畜牧业发展的物质基础,不仅支撑着北方农牧交错带畜牧业的发展,而且在生态治理中发挥着重要作用[1]。生物因素和非生物因素胁迫导致紫花苜蓿产量和品质下降,其中,病害是重要的生物因素之一[2]。在已报道的苜蓿病害中,由苜蓿假盘菌(*Pseudopeziza medicaginis*)侵染引发的褐斑病是世界苜蓿种植区的主要病害之一[3],该病的发生不仅严重影响苜蓿产量及品质[3-5],而且促使其产生大量香豆雌酚等类黄酮物质,导致家畜流产和不育[6-8]。国内外学者对苜蓿褐斑病进行了系统而深入的研究,早期着重探讨田间病害发生与流行[9]、对苜蓿产量和品质的影响[2]。近年来,涉及苜蓿感病后的生理生化反应[10]和抗病性的分子标记,筛选与鉴定[11]以及病原菌的生物学特性和侵染的细胞学机制[12-13]。研究结果为揭示苜蓿抗褐斑病机制、病菌侵染机理、指导褐斑病田间防治以及抗病育种提供了大量的理论依据。

光合作用为植物提供有机物代谢的基础物质和能量,是植物代谢的重要组成部分。研究表明,病原菌侵染苜蓿叶片,通过破坏宿主叶绿体结构[14],降低叶绿素含量,减弱光合电子传递活力,导致光合速率下降,抑制光合磷酸化作用,从而改变植物的光合作用[15]。南志标等[3]对不同严重度褐斑病苜蓿叶片进行光合速率的测定,发现苜蓿假盘菌侵染能够改变苜蓿光合作用,且与病害严重度相关性极显著。深入分析不同严重度褐斑病对苜蓿品质和光合作用的影响以及三者之间的相关性,为从光合角度阐明病菌侵染引起品质下降的生理机制提供新思路。

1 材料与方法

1.1 样地概况

采样地点位于宁夏南部山区隆德县好水乡苜蓿基地(N 35°39.901′,E 106°04.477′,海拔 2000 m)。属温带大陆性气候;年均气温 5 ℃,年最低气温−25.7 ℃,年最高气温 31.4 ℃;年无霜期 124 d;年均日照时长 2229 h;年均降水量 745 mm,7、8 月为降水集中期;土壤类型为砂壤土,土壤 pH 值为 8.33[16];苜蓿种植年限为 10 年以上。

1.2 试验材料

紫花苜蓿品种为阿尔冈金(*Medicago sativa* cv. Algonquin),于 2016 年 9 月下旬第 3 茬盛花期进行采集。

1.3 试验设计与方法

1.3.1 苜蓿褐斑病的分级 褐斑病严重度级别的划分参照侯天爵等[17]并加以改进。叶片分为 5 级,即,0 级:健康无病斑;Ⅰ级:病斑 5 个及以下(病斑面积≤叶面积的 5%);Ⅱ级:病斑 6~10 个(病斑面积为叶面积的 6%~

25%)；Ⅲ级：病斑 11～20 个(病斑面积为叶面积的 26%～50%)；Ⅳ级：病斑 20 个以上(病斑面积＞叶面积的 50%)。茎秆分为 2 级，即，0 级：健康；Ⅰ级：感病。

1.3.2　取样时间及方法　　于 2016 年 9 月中旬至下旬即苜蓿假盘菌子实体成熟期进行采集。选取超过 10 hm^2(200 m×600 m)的苜蓿基地，采用五点取样法，每点 50 m^2(5 m×10 m)，以对角线随机选取 100 株，共 500 株。用标本夹固定干燥，带回实验室进行分级与品质测定。

1.3.3　品质指标的测定　　不同病级叶片和茎秆的常规营养成分(粗蛋白质 CP，crude protein；粗脂肪 EE，ether extract；粗灰分 Ash；酸性洗涤纤维 ADF，acid detergent fiber；中性洗涤纤维 NDF，neutral detergent fiber；钙 Ca，calcium；磷 P，phosphorus；钾 K，potassium)送宁夏大学农学院农产品质量检验检测中心利用常规方法[18-19]进行测定。单宁和总酚采用分光光度法测定[20]。

1.3.4　光合指标的测定　　在第 3 茬苜蓿盛花期，于 9：00－11：00 光照充足时，利用 LI-6400 便携式光合仪(北京力高泰科技有限公司)测定净光合速率(P_n，net photosynthetic rate)、蒸腾速率(E，transpiration rate)、胞间 CO_2 浓度(C_i，intercellular CO_2 concentration)和气孔导度(G_s，stomatal conductance)，选择长势一致，叶位相同的 3 片叶片，每个叶片重复测定 3 次。水分利用效率(WUE，water use efficiency)以公式 $WUE=P_n/E$[21]计算。

1.4　统计分析

利用 Microsoft Excel 2007 进行数据处理，DPS 7.0 进行统计分析，多重比较采用 LSD 法。

2　结果与分析

2.1　对草品质的影响

由表 1 可知，随着病害严重度的增强，叶片粗蛋白(CP)、粗脂肪(EE)和钾(K)含量明显下降，与健叶相比，CP 下降 15.67%，EE 下降达到 12.16%，K 下降 29.91%；磷(P)含量减少 4.48%；粗灰分(Ash)、酸性洗涤纤维(ADF)、中性洗涤纤维(NDF)、钙(Ca)、单宁及总酚含量明显升高，与健叶相比，Ash升高19.94%，ADF升高

表 1　不同褐斑病害严重度苜蓿叶片及茎秆中各品质指标成分含量(干物质)

Table 1　Contents of quality index components of alfalfa leaves and stems in different common leaf spot severity (dry matter)

品质指标 Quality index	叶片 Disease severity (leaf)					茎秆 Disease severity (stem)	
	0	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	0	Ⅰ
粗蛋白质 Crude protein (CP，%)	30.38±0.41A	28.83±0.20B	27.96±0.38BC	27.23±0.16C	25.62±0.34D	10.24±0.22A	6.93±0.29B
粗脂肪 Ether extract (EE，%)	6.99±0.37A	5.81±0.14AB	5.77±0.15B	6.01±0.22B	6.14±0.13B	6.01±0.02A	5.26±0.05B
粗灰分 Ash (%)	10.33±0.03D	11.35±0.06C	11.50±0.01C	11.74±0.03B	12.39±0.02A	9.55±0.14A	6.58±0.01B
酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber (ADF，%)	9.17±0.88C	11.99±1.28BC	14.40±0.11AB	14.49±0.23AB	15.70±0.17A	38.71±0.25B	47.16±0.25A
中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber (NDF，%)	18.60±0.18D	21.91±0.40C	23.34±0.14B	22.47±0.12BC	25.98±0.21A	49.08±0.20a	42.28±1.76b
钙 Calcium (Ca，μg/mg)	4.97±0.08D	10.16±0.06C	10.38±0.06C	10.97±0.02B	11.75±0.19A	0.30±0.05B	3.77±0.08A
磷 Phosphorus (P，%)	0.67±0.02a	0.62±0.02ab	0.60±0.02b	0.66±0.01ab	0.64±0.02ab	2.19±0.01a	2.17±0.01a
钾 Potassium (K，%)	3.21±0.05A	2.50±0.05BC	2.55±0.00B	2.40±0.00C	2.25±0.00D	3.92±0.00A	1.69±0.05B
单宁 Tannins (μg/mg)	3.42±0.05B	3.94±0.10A	3.92±0.14A	4.17±0.07A	4.16±0.03A	1.29±0.09a	1.45±0.01a
总酚 Total phenolics (μg/mg)	203.86±7.82C	274.14±3.64B	288.86±3.28AB	306.92±8.43A	298.58±6.61AB	82.19±2.00b	106.08±5.09a

同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)，不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。下同。Different small letters in the same line mean significant differences ($P<0.05$). Different capital letters in the same line mean extremely significant differences ($P<0.01$). The same below.

71.21%，NDF 升高 39.68%，Ca 升高 136.42%，单宁升高 21.64%，总酚升高 46.46%。茎秆感病后，ADF、Ca 含量极显著增加($P<0.01$)，总酚含量显著增加($P<0.05$)，CP、EE、Ash、K 含量极显著减少($P<0.01$)，NDF 含量显著减少($P<0.05$)，P 和单宁含量变化不显著($P>0.05$)。

叶片品质指标与褐斑病严重度的相关性分析表明，粗灰分(Ash)、酸性洗涤纤维(ADF)含量与严重度极显著正相关，中性洗涤纤维(NDF)、钙(Ca)、单宁及总酚含量与严重度显著正相关；粗蛋白(CP)含量与严重度极显著负相关，钾(K)含量与严重度显著负相关；粗脂肪(EE)和磷(P)含量表现出与严重度负相关趋势，但其相关性不显著。以严重度为自变量，各指标成分含量为因变量，建立回归方程。CP、Ash、ADF、NDF 方程拟合度好；Ca、K、单宁、总酚方程拟合度较好；EE、P 含量方程拟合度差(表 2)。

表 2 褐斑病害严重度与苜蓿叶片品质的相关性

Table 2 Correlation between common leaf spot severity and quality of alfalfa leaves

品质指标 Quality index	相关系数 r	决定系数 R^2	回归方程 Regression equation
粗蛋白质 Crude protein (CP)	−0.99**	0.9804	$y=-1.112x+30.228$
粗脂肪 Ether extract (EE)	−0.48	0.2284	$y=-0.15x+6.444$
粗灰分 Ash	0.95**	0.9105	$y=0.451x+10.56$
酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber (ADF)	0.95**	0.8952	$y=1.556x+10.038$
中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber (NDF)	0.91*	0.8274	$y=1.532x+19.396$
钙 Calcium (Ca)	0.85*	0.7158	$y=1.437x+6.772$
磷 Phosphorus (P)	−0.11	0.0122	$y=-0.002x+0.642$
钾 Potassium (K)	−0.86*	0.7480	$y=-0.202x+2.986$
单宁 Tannins	0.89*	0.7893	$y=0.171x+3.58$
总酚 Total phenolics	0.85*	0.7233	$y=22.222x+230.03$

*，** 分别表示在 5%和 1%水平上显著。*，** significant at 5% and 1%, respectively.

2.2 对光合作用的影响

由表 3 可知，与健康叶片相比，随着病害严重度的增加，叶片净光合速率明显下降，当病斑个数达到 20 个以上时，其净光合速率(P_n)仅为健叶的 6.76%，胞间 CO_2 浓度(C_i)比健叶增加 53.31%，蒸腾速率(E)、气孔导度(G_s)和水分利用效率(WUE)均下降 30%以上。

表 3 不同严重度褐斑病害苜蓿光合指标参数

Table 3 Parameter of photosynthetic indexes of alfalfa leaves in different common leaf spot severity

光合指标 Photosynthetic index	严重度 Disease severity				
	0	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ
净光合速率 Net photosynthetic rate (P_n, μmol/m²·s)	11.25±0.90A	2.77±0.79B	4.21±0.57BC	2.59±0.73BC	0.76±0.42C
胞间 CO_2 浓度 Intercellular CO_2 concentration (C_i, μmol/mol)	232.41±55.98b	311.17±33.53ab	328.70±42.02ab	285.57±30.46ab	356.31±18.34a
蒸腾速率 Transpiration rate (E, mmol/m²·s)	2.89±0.93a	1.54±0.50ab	1.20±0.26b	0.92±0.21b	1.00±0.45b
气孔导度 Stomatal conductance (G_s, mol/m²·s)	0.15±0.05a	0.07±0.04a	0.12±0.05a	0.06±0.01a	0.09±0.02a
水分利用效率 Water use efficiency (WUE, μmol/mmol)	4.41±1.93a	2.67±1.53a	3.77±1.62a	3.43±2.18a	1.01±0.10a

光合指标与褐斑病害严重度的相关性分析表明，叶片净光合速率(P_n)、蒸腾速率(E)与严重度显著负相关，胞间 CO_2 浓度(C_i)、气孔导度(G_s)、水分利用效率(WUE)与严重度相关性不显著。以严重度为自变量，各指标为因变量，建立回归方程。P_n、E 方程拟合度较好；C_i、WUE 方程拟合度较差；G_s 方程拟合度差(表 4)。

表 4　褐斑病害严重度与光合作用相关性

Table 4　Correlation between common leaf spot severity and photosynthetic of alfalfa

光合指标 Photosynthetic index	相关系数 r	决定系数 R^2	回归方程 Regression equation
净光合速率 Net photosynthetic rate (P_n)	−0.82*	0.6773	$y=-2.1168x+8.5467$
胞间 CO_2 浓度 Intercellular CO_2 concentration (C_i)	0.75	0.5575	$y=22.219x+258.39$
蒸腾速率 Transpiration rate (E)	−0.86*	0.7413	$y=-0.441x+2.388$
气孔导度 Stomatal conductance (G_s)	−0.56	0.3658	$y=-0.0135x+0.1223$
水分利用效率 Water use efficiency (WUE)	−0.73	0.5333	$y=-0.6035x+4.262$

*，** 分别表示在 5%和 1%水平上显著。*，** significant at 5% and 1%, respectively.

2.3　对叶片品质和光合作用的综合影响

由表 5 可知，CP 含量与 P_n、E 显著正相关，与 C_i 显著负相关；EE 含量与 P_n、E 显著正相关；Ash 含量与 C_i 显著正相关，与 P_n、E 极显著负相关，与 WUE 显著负相关；ADF 含量与 C_i 显著正相关，与 E 极显著负相关，与 P_n 显著负相关；NDF 与 C_i 极显著正相关，与 P_n、E、WUE 显著负相关；Ca 含量与 C_i 显著正相关，与 P_n、E 极显著负相关；K 含量与 P_n、E 极显著正相关，与 C_i 显著负相关；单宁含量与 P_n、E 极显著负相关，与 G_s 显著负相关；总酚与 P_n、E 极显著负相关。

表 5　苜蓿品质与光合作用的相关系数

Table 5　Correlation coefficient between quality and photosynthetic of alfalfa

指标 Index	净光合速率 Net photosynthetic rate	胞间 CO_2 浓度 Intercellular CO_2 concentration	蒸腾速率 Transpiration rate	气孔导度 Stomatal conductance	水分利用效率 Water use efficiency
粗蛋白质 Crude protein	0.87*	−0.82*	0.87*	0.56	0.80
粗脂肪 Ether extract	0.83*	0.75	0.84*	0.68	0.37
粗灰分 Ash	−0.94**	0.89*	−0.92**	−0.66	−0.83*
酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber	−0.88*	0.85*	−0.95**	−0.57	−0.65
中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber	−0.89*	0.95**	−0.86*	−0.49	−0.83*
钙 Calcium	−0.99**	0.87*	−0.98**	−0.78	−0.70
磷 Phosphorus	0.45	−0.68	0.45	0.11	0.18
钾 Potassium	1.00**	−0.87*	0.96**	0.80	0.76
单宁 Tannin	−0.97**	0.77	−0.98**	−0.84*	−0.68
总酚 Total phenolic	−0.94**	0.78	−1.00**	−0.78	−0.57

*，** 分别表示在 5%和 1%水平上显著。*，** significant at 5% and 1%, respectively.

不同病害严重度品质指标与光合作用指标主成分分析结果表明，感染褐斑病后，苜蓿的光合作用和品质均受到影响。第一主成分贡献率为 80.94%，说明其可以代表不同严重度褐斑病对苜蓿品质和光合作用影响的综合信息；其余主成分提供的信息较少，为全部信息的 20%以下。其中，根据各指标在第一主成分中的特征向量可以看出，第一主成分与除磷外的指标关系均较密切，且与钙、粗灰分、单宁、总酚、酸性洗涤纤维、中性洗涤纤维、胞间 CO_2 浓度系数为正，与钾、蒸腾速率、净光合速率、粗蛋白、粗脂肪、水分利用效率、气孔导度系数为负（表 6），说明褐斑病对紫花苜蓿的光合作用及品质均有影响。

3　讨论

3.1　对草品质的影响

粗蛋白（CP）、酸性洗涤纤维（ADF）和中性洗涤纤维（NDF）是评价干苜蓿品质的重要指标[22]。本研究结果表

表 6 褐斑病害不同严重度各指标在各主成分中的特征向量

Table 6 Eigenvectors of indexes of common leaf spot severity in principal components

指标 Index	第一主成分 Prin 1	第二主成分 Prin 2	第三主成分 Prin 3	第四主成分 Prin 4
特征值 Eigenvalue	12.14	1.33	1.04	0.48
累计百分率 Cumulative (%)	80.94	89.84	96.78	100.00
粗蛋白质 Crude protein	−0.26	−0.27	−0.18	−0.24
粗脂肪 Ether extract	−0.23	0.46	0.22	0.09
粗灰分 Ash	0.28	0.17	0.13	0.06
酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber	0.27	0.05	0.09	0.43
中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber	0.27	0.06	0.32	0.08
钙 Calcium	0.29	−0.05	−0.08	0.01
磷 Phosphorus	−0.14	0.73	−0.24	0.12
钾 Potassium	−0.29	−0.03	0.07	0.08
单宁 Tannins	0.28	0.11	−0.20	0.07
总酚 Total phenolics	0.28	−0.04	−0.20	0.24
净光合速率 Net photosynthetic rate	−0.28	−0.01	0.08	0.21
胞间 CO_2 浓度 Intercellular CO_2 concentration	0.26	−0.15	0.37	−0.14
蒸腾速率 Transpiration rate	−0.28	0.04	0.16	−0.25
气孔导度 Stomatal conductance	−0.21	−0.12	0.58	0.41
水分利用效率 Water use efficiency	−0.22	−0.31	−0.35	0.60

明，随严重度增强，CP 含量下降，当严重度达到Ⅳ级时，CP 含量较健康叶片降低了 15.67%，且与病害严重度极显著相关，这一结果与国内外研究结果一致[3,23-24]。南志标等[3]通过测定田间自然感染褐斑病的紫花苜蓿叶片的营养成分表明，感染褐斑病的苜蓿叶片 CP 含量显著下降，比健叶降低 25%，且降低的幅度与病害严重度极显著负相关。澳大利亚[23]的研究者表明，当褐斑病占到苜蓿叶片面积的 15%时，CP 含量降低 16%；当苜蓿叶片褐斑病病斑面积超过 80%时，CP 含量低于 60%[24]。ADF 和 NDF 是与牧草在动物体内的消化率和吸收率相关性很大的指标[25]。苜蓿 CP、ADF 含量与其体外干物质消化率之间存在极显著正、负相关关系[25]。本试验结果表明褐斑病严重度增强，叶片 ADF 和 NDF 含量极显著增加，国外学者研究证实，苜蓿褐斑病病斑面积占到叶片面积的 15%时，CP 含量降低，干物质减少，消化率降低 14%[23,26]。这些研究结果充分表明，褐斑病降低了苜蓿 CP 含量，增加 ADF 和 NDF 含量，进而对苜蓿品质产生影响。另外有研究者对锈病影响红豆草(*Onobrychis viciaefolia*)、白花草木樨(*Melilotus albus*)及箭筈豌豆(*Vicia sativa*)等豆科牧草的常规营养成分分析表明，感病后寄主 CP 含量均表现出下降趋势[27]。根据前人的研究结果我们可以认为，真菌病害均可导致饲草品质下降。因此，生产中应栽培抗病品种，以减少或抵御真菌病害的发生，保障优质苜蓿的生产。

粗脂肪(EE)、粗灰分(Ash)、钙(Ca)、磷(P)、钾(K)等苜蓿常规营养指标的研究结果表明，随着严重度增强，EE、Ash 降低，与庞伟英等[5]研究结果一致，而南志标等[3]研究认为随病害严重度增加，EE 含量有上升趋势，但与严重度相关性不显著。病原菌侵染后 Ash 含量降低，与病害严重度极显著相关。分析认为可能是品种也可能是苜蓿生长环境差异所致。本试验首次对染病茎秆的 Ash 进行了测定，结果表明极显著降低，分析原因可能是病原菌侵染叶片破坏其组织结构导致叶片利用矿质元素的能力下降，进而导致叶片 Ash 含量增加。Ca 和 P 在家畜的骨骼发育和维护方面有特殊作用。南志标等[3]研究发现病原菌侵染后 P 含量降低，本试验与其结果一致；Ca 含量增加，与病害严重度相关性不显著，而本试验得出 Ca 含量与病害严重度显著正相关，推测是由于采样时间不一所致。植株感病后，K 含量下降，与病害严重度显著相关。相关研究[28]表明，K 可以促进有机体碳水化合物合成及运输，其含量降低阻碍有机物合成及运输，导致苜蓿品质下降。

单宁与总酚被认为是一类与抗性及化感作用有关的化学物质。已有研究表明，苜蓿在受病虫为害后单宁与

总酚含量增加[29-30]，这些物质通常被认为是植物抵御病原真菌侵染产生的植物保卫素。褐斑病也表现出同样的趋势[31]，感染褐斑病的苜蓿叶片内单宁酸和酚类物质明显高于健康植株，分析可能是植物受病虫刺激后，促进酚类化合物合成途径，产生的防御性化学物质。此外，国外研究者证实，褐斑病菌侵染可增加苜蓿叶片中的雌性激素活性物质香豆雌酚含量，且香豆雌酚的含量与病斑部位、成熟度、大小及数量有关，随着病害严重度的增加而增加[23]，家畜尤其是母羊采食病叶造成繁殖性能下降，幼羊引起子宫膨大，进而对放牧动物产生广泛的影响[31]。因此生产中应通过生物技术手段，筛选和培育抗褐斑病的抗病品种，减少病害的发生。

3.2　对光合作用的影响

绿色叶片是植物光合作用的主要器官，其健康度决定着光合能力的大小。本试验结果表明，随病害严重度增强，叶片净光合速率(P_n)和蒸腾速率(E)显著下降，与病害严重度显著相关；气孔导度(G_s)和水分利用效率(WUE)亦呈下降趋势，但与病害严重度相关性不显著；而胞间 CO_2 浓度(C_i)则显著升高，与病害严重度相关性不显著。与南志标等[3]得出苜蓿假盘菌侵染苜蓿叶片导致苜蓿光合速率显著降低，与病害严重度极显著相关结果相近，表明随着褐斑病严重度的增强，叶片的 P_n、G_s、E 不断下降，与病菌侵染引起叶片组织坏死的时间变化趋势一致。此结果与樊秦等[32]得出茎点霉使苜蓿叶片 P_n、G_s、E 降低，C_i 升高的结论一致。

史娟等[13]对感染褐斑病的苜蓿叶片进行了组织学和超微结构的观察，结果表明苜蓿假盘菌侵染叶片破坏叶绿体，降解基粒片层，随着病斑的扩展，表皮细胞壁塌陷，叶肉细胞肿胀，细胞质膜降解，叶片出现明显的病理变化。根据本试验结果，我们认为，叶绿体的降解影响 P_n，导致光合能力的降低，叶肉细胞的坏死，减少了苜蓿叶片的光合面积，影响了光合产物的积累，ADF 和 NDF 的增加可能与被降解的细胞器和细胞壁组分有关，伴随叶片组织的坏死，CP、EE 合成途径受阻，最终导致 CP 和 EE 降低、ADF 和 NDF 增加，影响苜蓿品质。

4　结论

随褐斑病严重度增加，紫花苜蓿叶片粗蛋白、粗脂肪和钾含量明显下降，粗灰分、酸性洗涤纤维、中性洗涤纤维、钙、单宁及总酚含量明显升高；茎秆感病后，酸性洗涤纤维、钙、总酚含量明显增加，粗蛋白、粗脂肪、粗灰分、钾、中性洗涤纤维含量明显减少；叶片净光合速率与蒸腾速率明显下降，胞间 CO_2 浓度明显增加，严重影响苜蓿进行光合作用，进而导致苜蓿品质降低。

参考文献 References:

[1] Zan L S, Cheng G, Yan W J, *et al*. Development status, problems and measures of herbivorous animal husbandry in the west region of China. Science & Technology Review, 2016, 34(17): 79-88.
昝林森, 成功, 闫文杰, 等. 中国西部地区草牧业发展的现状、问题及探讨. 科技导报, 2016, 34(17): 79-88.

[2] Tu X B, Du G L, Li C J, *et al*. Research progress in biological control of rangeland pests in China. Chinese Journal of Biological Control, 2015, 31(5): 780-788.
涂雄兵, 杜桂林, 李春杰, 等. 草地有害生物生物防治研究进展. 中国生物防治学报, 2015, 31(5): 780-788.

[3] Nan Z B, Li C J, Wang Y W, *et al*. Lucerne common leaf spot: forage quality, photosynthesis rate and field resistance. Acta Prataculturae Sinica, 2001, 10(1): 26-34.
南志标, 李春杰, 王赟文, 等. 苜蓿褐斑病对牧草质量光合速率的影响及田间抗病性. 草业学报, 2001, 10(1): 26-34.

[4] Morgan C, Parbery D G. Effects of *Pseudopeziza* leafspot disease on growth and yield in lucerne. Australian Journal of Agricultural Research, 1977, 28: 1029-1040.

[5] Pang W Y, Feng Y X, Ren J, *et al*. Effect of common leaf spot on contents of major nutrient components in alfalfa leaf. Contemporary Animal Husbandry, 2012, (6): 34-35.
庞伟英, 冯彦雪, 任俊, 等. 褐斑病对苜蓿叶常规营养成分含量的影响. 当代畜牧, 2012, (6): 34-35.

[6] Bickoff E M, Loper G M, Hanson C H, *et al*. Effect of common leafspot on coumestans and flavones in alfalfa. Crop Science, 1967, 7: 259-261.

[7] Loper G M, Hanson C H, Graham J H. Coumestrol content of alfalfa as affected by selection for resistance to foliar diseases. Crop Science, 1967, 7: 189-192.

[8] Wong E, Flux D S, Latch G C M. The oestrogenic activity of white clover. New Zealand Journal of Agricultural Research, 1971, 14: 639-645.

[9] Shi J, He D H, Review on research of *Pseudopeziza medicaginis* in China. Journal of Agricultural Sciences, 2005, 26(4): 68-71.
史娟，贺达汉. 我国褐斑病研究现状. 农业科学研究，2005，26(4)：68-71.
[10] Huang H Y, Wang Y, Yuan Q H, *et al*. Changes of enzyme activity in leaves of alfalfa lines with different resistance infected with *Pseudopeziza medicaginis* (Lib.) Sacc. Chinese Journal of Grassland, 2015, 37(3): 55-59.
黄海燕，王瑜，袁庆华，等. 不同抗性苜蓿株系叶片感染假盘菌后酶活性的变化. 中国草地学报，2015，37(3)：55-59.
[11] Wang Y, Yuan Q H, Li X L, *et al*. Analysis of SRAP markers associated with common leaf spot disease resistance gene in alfalfa. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(2): 438-442.
王瑜，袁庆华，李向林，等. 与苜蓿褐斑病(CLS)抗性基因连锁的 SRAP 标记研究. 中国农业科学，2010，43(2)：438-442.
[12] Zhong S L, Wang H R, Shi J. The biological characteristics of *Pseudopeziza medicaginis* in alfalfa. Pratacultural Science, 2011, 28(6): 946-950.
钟少林，王华荣，史娟. 苜蓿假盘菌的生物学特性研究. 草业科学，2011，28(6)：946-950.
[13] Shi J, Wang H R, Zhong S L. Ultrastructural characteristics of compatible *Pseudopeziza medicaginis* interaction with alfalfa leaf. Acta Prataculturae Sinica, 2012, 21(5): 122-127.
史娟，王华荣，钟少林. 苜蓿假盘菌与苜蓿叶片亲和性互作的超微结构特征. 草业学报，2012，21(5)：122-127.
[14] Shi J, Han Q M, Zhang H C, *et al*. Cytological observations of infection on alfalfa leaves of *pseudopeziza medicaginis*. Mycosystema, 2008, 27(2): 183-192.
史娟，韩青梅，张宏昌，等. 苜蓿假盘菌侵染苜蓿叶片的细胞学研究. 菌物学报，2008，27(2)：183-192.
[15] Yang Z X, Ding Y F, Zhang X Q, *et al*. Impacts of alternaria alternata stress on characteristics of photosynthesis and chlorophyll fluorescence in two tobacco cultivars with different resistances. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(12): 4146-4154.
杨志晓，丁燕芳，张小全，等. 赤星病胁迫对不同抗性烟草品种光合作用和叶绿素荧光特性的影响. 生态学报，2015，35(12)：4146-4154.
[16] He C, Shi J, Shen H, *et al*. Research of different pesticide treatment on controlling the root disease of *Astragalas mongholicus*. Pratacultural Science, 2013, 30(12): 1948-1952.
何晨，史娟，沈海，等. 不同药剂处理对黄芪根腐病的防治效果. 草业科学，2013，30(12)：1948-1952.
[17] Hou T J, Bai R, Wang J F. Study on the resistance of common leaf spot disease of different alfalfa varieties. Chinese Journal of Grassland, 1986, 6(4): 44-45.
侯天爵，白儒，王建峰. 不同苜蓿品种对褐斑病抗性的研究. 中国草原，1986，6(4)：44-45.
[18] Bao S D. Soil Chemical Analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000.
鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京：中国农业出版社，2000.
[19] Wang H R. Experiments of Feed Detection and Analysis[M]. Nanjing: Southeast University Press, 2014: 22-68.
王洪荣. 饲料检测与分析实验技术[M]. 南京：东南大学出版社，2014：22-68.
[20] Liang Y Q, Han W J, Zhang J J, *et al*. Differences in contents of total phenols, flavonoid and tannin in leaves of persimmon germplasms in Henan. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2016, 44(1): 139-148.
梁玉琴，韩卫娟，张嘉嘉，等. 河南省柿种质资源叶片总酚、黄酮和单宁含量的差异分析. 西北农林科技大学学报：自然科学版，2016，44(1)：139-148.
[21] Yu W Y, Ji R P, Feng R, *et al*. Response of water stress on photosynthetic characteristics and water use efficiency of maize leaves in different growth stage. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(9): 2902-2909.
于文颖，纪瑞鹏，冯锐，等. 不同生育期玉米叶片光合特性及水分利用效率对水分胁迫的响应. 生态学报，2015，35(9)：2902-2909.
[22] Ji L P, Guo L Z, Liu X, *et al*. Analysis and evaluation of the nutritional components of *Stellera chamaejasme*. Acta Prataculturae Sinica, 2016, 25(1): 262-267.
季丽萍，郭丽珠，刘新，等. 瑞香狼毒营养成分分析与评价. 草业学报，2016，25(1)：262-267.
[23] Wenody C, Morgan, Parbery D G. Depressed fodder quality and increased oestrogenic activity of Lucerne infected with *Pseudopeziza medicaginis*. Australian Journal of Agricultural Research, 1980, 31: 1103-1110.
[24] Mendoza V E, Garcia C R, Martinez A. Protein content in the forage of Lucerne infected by the leafspot *Pseudopeziza medicagini*. Agricultura Técnica en México, 1980, 6(1): 3-16.
[25] Liang J Y, Jiao T, Wu J P, *et al*. The relationship between seasonal forage digestibility and forage nutritive value in different grazing pastures. Acta Prataculturae Sinica, 2015, 24(6): 108-115.
梁建勇，焦婷，吴建平，等. 不同类型草地牧草消化率季节动态与营养品质的关系研究. 草业学报，2015，24(6)：108-115.
[26] Parbery D G. A consideration of tolerance to parasites in plants. Annals of Applied Biology, 1978, (89): 373-378.
[27] Nan Z B. Effects of rust on the growth and nutritive composition of forage legumes. Acta Prataculturae Sinica, 1990, 1(1):

83-87.
南志标. 锈病对豆科牧草生长和营养成分的影响. 草业学报，1990，1(1)：83-87.
[28] Zhang X Y，Wang S S，Li X L，*et al*. Effects of potassium application rates on carbohydrate content and resistance to thrips (thripidae) in alfalfa. Acta Prataculturae Sinica，2016，25(10)：153-162.
张晓燕，王森山，李小龙，等. 不同施钾量对苜蓿碳水化合物含量及抗蓟马的影响. 草业学报，2016，25(10)：153-162.
[29] Wang X S，Yang C L，Wang S S，*et al*. Changes of phenols and lignin contents in alfalfa leaf damaged by *Odontothrips loti*. Chinese Journal of Applied Ecology，2014，25(6)：1688-1692.
王小珊，杨成霖，王森山，等. 牛角花齿蓟马为害后苜蓿叶酚类物质和木质素含量的变化. 应用生态学报，2014，25(6)：1688-1692.
[30] Li Z H，Shen Y X，Liu X B，*et al*. A study on the contents of allelochemical phenolic acids from different cultivars of alfalfa. Acta Prataculturae Sinica，2010，19(2)：183-189.
李志华，沈益新，刘信宝，等. 不同品种紫花苜蓿酚酸类化感物质含量的研究. 草业学报，2010，19(2)：183-189.
[31] Morley F H W，Bennett D，Axelsen A. The effect of stilboestrol administered during an autumn mating on reprodnction in merino sheep. Australian Journal of Agricultural Research，1963，(14)：660-669.
[32] Fan Q，Li Y Z. The effect of *Phoma medicaginis* on the photosynthetic physiology of *Medicago sativa*. Acta Prataculturae Sinica，2017，26(1)：112-121.
樊秦，李彦忠. 苜蓿茎点霉对紫花苜蓿光合生理的影响. 草业学报，2017，26(1)：112-121.