

不同时期休牧对秦艽根系生理特性的影响

彭 珍,徐长林,鱼小军

(甘肃农业大学 草业学院/草业生态系统教育部重点实验室/甘肃省草业工程实验室/中-美
草地畜牧业可持续发展研究中心,甘肃 兰州 730070)

摘要:研究不同时期休牧下秦艽根系生理特性的变化,找出最佳休牧期,为合理发展、利用草地中的秦艽资源提供基础。在天祝高寒草甸设置了土壤解冻前期(R1)、土壤解冻中期(R2)、土壤解冻后期(R3)、草地返青期(R4)休牧及当地传统休牧(R5)5个休牧时期,测定秦艽根系生理特性。结果表明,秦艽根系中的可溶性蛋白随着休牧时期的推迟总体上先升高再降低,最终与R2、R3的可溶性蛋白含量相持平。淀粉含量和CAT活性在不同时期休牧下无显著性变化,可溶性糖、Pro、MDA含量和氧自由基产生速率随着休牧时期的推迟而增加,R5的可溶性糖、Pro、MDA含量和氧自由基产生速率分别比R1增加了49%、67%、54%和91%。SOD活性随着休牧时期的推迟先升高后降低,POD活性则表现出先降低后升高的变化趋势。综合对秦艽根系生理特性的分析,建议在土壤解冻前期(R1)进行春季休牧以保护野生秦艽资源。

关键词:春季休牧;秦艽;根系;生理特性;营养物质;酶活力

中图分类号:S812 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2020)03-0069-06

DOI: 10.13817/j.cnki.cyyep.2020.03.010

青藏高原作为全球气候变化的敏感区,在全球气候变暖和过度放牧的干扰下,逐渐成为一个脆弱的生态系统^[2],其中,高寒草甸的退化尤为突出。春季休牧能够显著提高草地的生产性能,是保护草原生态环境最有效、经济的恢复措施^[4]。李玉洁^[5]、马玉寿等^[6]建议春季休牧在草地返青期进行,但返青期休牧仅从牧草因素考虑,而忽略了土壤因素。在牧草返青前,草地土壤处于“表融里冻”或“冻融交替”的过程,家畜放牧践踏会损伤牧草地下器官甚至引起土壤养分的流失^[7]。

植物生理生态学可为各种生态关系提供基础^[8],通过其揭示的植物的生理调节方式和抗逆能力,可更深层次探究植物的生态适应性。根系作为植物吸收营养物质的重要器官,其生理特性具有重要的生态学意义^[9]。秦艽(*Gentiana macrophylla*)是中国重要的传

统中、藏药材^[10],生长于高海拔的草地上。随着秦艽药理研究的深入和临床应用的加大,秦艽被大量挖采^[11-12],加之过度放牧的干扰,秦艽资源大量减少^[13],草地生物多样性降低,因此合理利用秦艽资源,对草地多样性进行恢复迫在眉睫。本试验结合“土”“草”两大因素,分别设置了5个不同时期的春季休牧,从植物根系生理学角度,研究不同时期春季休牧对秦艽根系生理特性指标的影响,分析秦艽在不同时期休牧下其根系的生理调节方式和抗逆性变化,阐明不同时期休牧下秦艽的生理生态适应对策,选出利于秦艽资源恢复的最佳休牧时期,为合理发展、利用草地中的秦艽资源提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 试验地概况

研究区域位于甘肃省武威市天祝县抓喜秀龙乡甘肃农业大学天祝高山草原生态系统试验站附近(N 37°40',E 102°32',海拔2 960 m)。该地区只有冷热季之分,降水集中在6~9月,一年中最高气温出现在7月,年均降水和大于0℃年均积温分别为414.3 mm、

收稿日期:2019-00-00;修回日期:2019-00-00

基金项目:国家自然科学基金(31760695)

作者简介:彭珍(1994-),女,四川宜宾人,硕士研究生。

E-mail:1148022412@qq.com

鱼小军为通讯作者。

E-mail:yuxj@gsau.edu.cn

1 380℃, 年均气温为-0.1℃^[14]。该地区草地类型属于高寒草甸, 主要放牧家畜为藏羊, 白牦牛和高山细毛羊。

1.2 试验设计

根据当地土壤解冻情况和牧草返青情况设置 5 个休牧时期, 为保证每块样地中放牧家畜在放牧期的正常采食量, 按照下列方程计算出每个样地的面积, 将地势平坦、植被均一的草地划分成 5 个面积对应的样地, 并用围栏将每个样地隔开。

$$A = \frac{(Y-B) \times D \times T}{C \times E}$$

式中: A: 草地面积/m²; Y: 一头家畜一天总需草量(牦牛的总需草量为 5.8 kg 干草, 藏羊的总需草量为 1.7 kg 干草^[15]); B: 一头家畜一天补饲草量(根据实地调查: 牦牛的补饲草量为 1.23 kg 干草, 藏羊的补饲草量为 0.22 kg 干草); D: 放牧天数(表 1)

T: 放牧家畜头数(表 1)

C: 样地产草量(测定样方为 2 895 kg/hm²)

E: 牧草利用率(80%)。

表 1 休牧时期划分及样地面积

Table 1 Design of rest grazing period and sample area

样地编号	休牧时期	放牧时期	放牧天数/d	放牧家畜(成年)头数	样地面积/m ²
R1	3月18日(土壤解冻前期)~第2年3月1日	3月1日~3月18日	18	4头牦牛+4只藏羊	1 881
R2	4月1日(土壤解冻中期)~第2年3月1日	3月1日~4月1日	32	4头牦牛+4只藏羊	3 344
R3	4月15日(土壤解冻后期)~第2年3月1日	3月1日~4月15日	46	4头牦牛+4只藏羊	4 807
R4	5月1日(牧草返青期)~第2年3月1日	3月1日~5月1日	62	4头牦牛+4只藏羊	6 478
R5	5月20日~第2年3月1日(当地传统休牧)	3月1日~5月20日	81	16头牦牛+16只藏羊	33 855

1.3 测定指标与方法

每个样地随机挖取秦艽 50 株, 将根系与地上部分分离、清洗后置于低温保温箱中当天带回实验室, 将根系剪碎混合均匀后分成两份。一份根系置于 70℃ 烘箱中烘干至恒重, 再用粉碎机粉碎留样, 用于测定可溶性蛋白、可溶性糖、淀粉等营养物质。可溶性蛋白的测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法, 可溶性糖与淀粉的测定采用蒽酮比色法^[16]。另一份根系留样于-80℃ 超低温冰箱中, 用于测定 Pro 和 MDA 含量、SOD、CAT、POD 活性和氧自由基产生速率。Pro 和 MDA 含量、SOD 和 POD 活性分别采用邹琦的磺基水杨酸法、硫代巴比妥酸法、氯化硝基四氮唑蓝法、愈创木酚法^[16]。CAT 活性的测定参考 Dhindsa^[17] 的方法, 氧自由基产生速率的测定参考王爱国^[18] 的方法。

1.4 数据分析

所有数据用 Shapiro-Wilk 函数进行正态分布检验, 不满足正态分布数据进行对数转换。用 one-way ANOVA 分析和 Tukey-HSD 方法对不同时期休牧下秦艽根系的各项生理指标进行差异性检验和多重比

较, Person 相关性对各类生理指标进行相关性分析。数据的统计分析和作图均在 R 3.6.0(R Development Core Team, 2016) 中进行。

2 结果与分析

2.1 不同时期休牧对秦艽根系营养物质的影响

在 5 个不同时期休牧下, 秦艽根系的可溶性蛋白呈现出先降低再增加再降低的变化趋势(图 1)。可溶性蛋白的最大值和最小值出现在 R4 和 R5, 分别为 4.62、3.98 mg/g。秦艽根系的可溶性糖在 5 个不同时期休牧下表现出增加趋势, R5 的可溶性糖与 R1、R2、R3、R4 相比, 分别增加了 49%、22%、26%、24%, R5 的可溶性糖显著高于其他样地($P < 0.05$)。秦艽根系的淀粉在 5 个不同时期休牧下表现出降低的趋势, 但其淀粉含量变化不显著($P > 0.05$)。

2.2 不同时期休牧对秦艽根系酶活性的影响

秦艽根系的 Pro 含量在 5 个不同时期休牧下表现出先降低再上升的趋势, 但其 Pro 的含量差异不显著($P > 0.05$)(图 2)。R5 的 Pro 含量最高, 达到 108.46

$\mu\text{g/g}$,显著高于其他样地的 Pro 含量($P<0.05$)。在 5 个不同时期休牧下,秦艽根系的 MDA 含量和氧自由基产生速率表现出相同的增加趋势。MDA 含量在 5 个不同时期休牧下,其变化在 $3.52\sim 7.65 \mu\text{mol/g}$,R5 的 MDA 含量显著高于其他样地($P<0.05$),但 R1、R2、R3、R4 的 MDA 含量差异不显著($P>0.05$)。氧自由基产生速率在各样地间均表现出差异显著($P<0.05$),R5 的氧自由基产生速率分别比 R1、R2、R3、R4 高出 91%、73%、63%、53%。

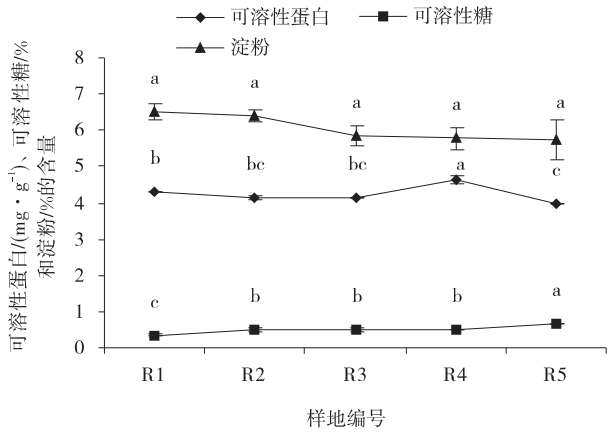


图 1 不同时期休牧下秦艽根系储藏营养物质的含量

Fig. 1 Effects of different rest grazing treatments on storage nutrient content in root of *G. macrophylla*

注:不同小写字母表示不同时期休牧下秦艽根系贮藏营养物质含量差异显著($P<0.05$)。下同

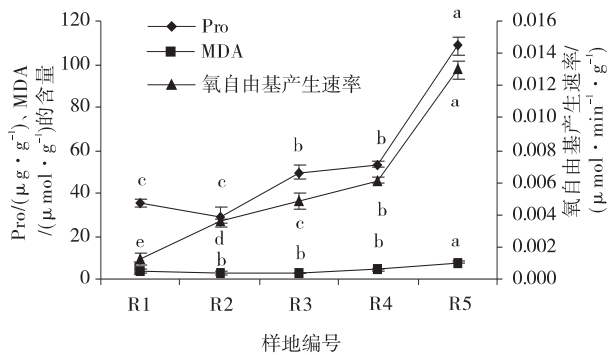


图 2 不同时期休牧二秦艽根系的 Pro、MDA 含量和氧自由基产生速率

Fig. 2 Effects of different rest grazing treatments on Pro, MDA contents and O_2^- production rate in root of *G. macrophylla*

秦艽根系的 CAT 活性在 5 个不同时期休牧下变化趋势平缓(图 3),酶活性为 $1\ 147.5\sim 1\ 459.17 \text{ U}/(\text{g}\cdot\text{min})$,且各样地间 CAT 活性差异不显著($P>0.05$)。在 5 个不同时期休牧下,SOD 活性呈单峰曲

线,先上升后降低,其最大值出现在 R3,为 $2\ 915.72 \text{ U}/(\text{g}\cdot\text{min})$ 。秦艽根系的 POD 活性与 SOD 表现出相反的变化趋势,POD 活性在 5 个不同时期休牧下先降低后上升,其最小值出现在 R3,为 $0.003 \text{ U}/(\text{g}\cdot\text{min})$;最大值出现在 R1,为 $0.063 \text{ U}/(\text{g}\cdot\text{min})$ 。

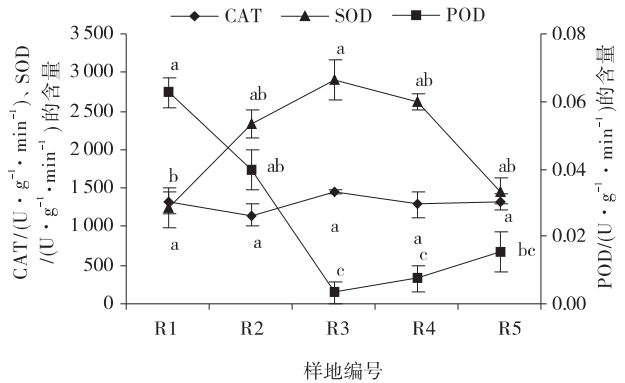


图 3 不同时期休牧下秦艽抗氧化酶活性

Fig. 3 Effects of different rest grazing treatments on antioxidant enzyme activity in root of *G. macrophylla*

2.3 不同时期休牧对秦艽根系各生理指标的影响

将秦艽根系各类酶活性进行分析后发现(图 4),R4 中秦艽根系的抗氧化酶(SOD、CAT、POD)活性最强,其次是 R3、R2 和 R1;R5 中秦艽根系的抗氧化酶活性最差。在表示植物受胁迫程度的指标(Pro、MDA 含量和氧自由基产生速率)堆砌图中,R1 中秦艽根系的受到的胁迫程度最小,R4 和 R5 中秦艽根系受到胁迫程度较大。

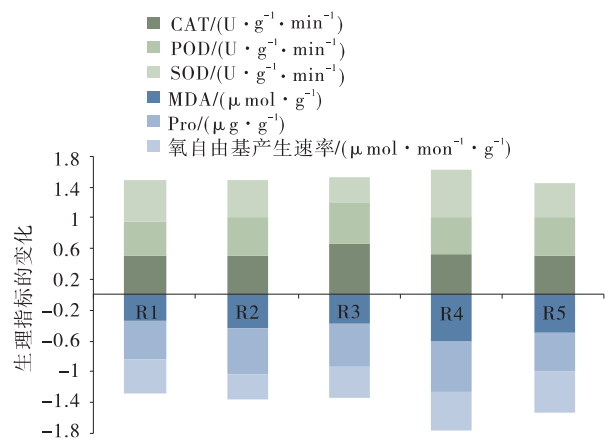


图 4 不同时期休牧下秦艽根系各类酶指标堆砌图

Fig. 4 Stacked map of enzymes in root of *G. macrophylla* under different rest grazing treatments

2.4 不同时期休牧下秦艽根系各生理指标的相关性分析

根据秦艽根系的营养物质和酶活性,从休牧时期和各类根系生理指标 2 个层面进行聚类后绘制聚类

图。5个不同时期休牧和秦艽根系各类生理指标的系统进化树分别在聚类热图的左方和上方(图5)。R2和R3中秦艽根系的生理特性相接近。在R1中,POD活性最高,随着休牧时期的推迟POD活性降低,与休牧时期呈负相关。在R3中,SOD和CAT活性较高。

在R4中,可溶性蛋白含量最高,而在R5中可溶性蛋白含量最低。在R5中,秦艽根系中可溶性糖、Pro和MDA的含量最高,氧自由基产生速率最快。随着休牧时期的提前,可溶性糖,Pro和MDA的含量减少,氧自由基产生速率变慢,两者呈正相关关系。

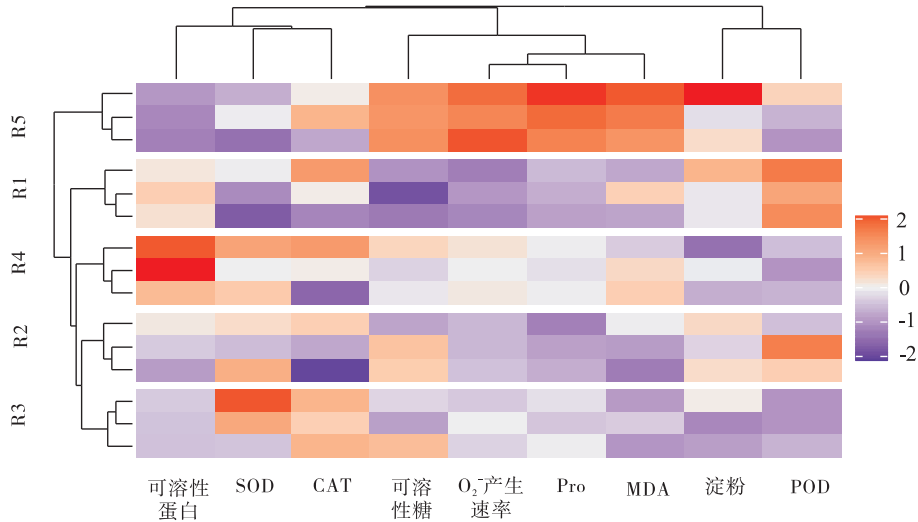


图5 不同时期休牧下秦艽根系各生理指标的聚类图

Fig. 5 Correlation heat map of root physiological indicators of *G. macrophylla* under different rest grazing treatments

3 讨论

逆境胁迫下,植物通过调整生理反应以适应特定的生境,从而维持较高的生理活动强度^[19]。可溶性蛋白有助于增加细胞的持水能力,是植物提高抗逆能力重要的渗透调节物质^[20]。植物在逆境时,可溶性蛋白的含量会有所增加^[21],而抗逆性较强的植物通过自身调节,其可溶性蛋白含量变化较小^[22-23]。本试验研究发现,在土壤解冻前、初、中期开始休牧(R1、R2、R3)的样地中,秦艽根系的可溶性蛋白含量变化较小,可溶性蛋白在秦艽体内的渗透调节作用较小。在牧草返青期休牧(R4)样地中,可溶性蛋白在秦艽体内大量积累,其含量显著高于其他样地中秦艽的可溶性蛋白含量($P < 0.05$)。而在传统休牧(R5)的样地中,秦艽能够通过自身调节使可溶性蛋白的含量与土壤解冻中、后期休牧样地的可溶性蛋白含量相持平,表现出秦艽的生理适应性。可溶性糖是逆境胁迫诱导的小分子溶质^[24],通过参与渗透调节来降低水势,在维持植物蛋白质稳定方面起到重要作用^[8]。在干旱,低温和盐胁迫下可溶性糖含量呈上升趋势^[25-28],本试验中可溶性糖含量随着休牧时期的推迟而增加,与上述研究结

果相一致。

在秦艽根系的酶系统中,SOD、CAT和POD作为植物保护酶系统,其协同作用能减轻逆境胁迫对植物细胞的过氧化^[29-30],与秦艽的抗逆性正相关。膜脂受氧自由基的氧化分解而形成MDA,MDA含量高低和氧自由基产生速率快慢均可以表示植物受害程度^[31-32]。当植物处于逆境时,Pro、MDA含量和氧自由基产生速率会大量累积,与秦艽的抗逆性负相关。在本试验中,Pro、MDA含量和氧自由基产生速率表现出相同的变化趋势,三者随着草地休牧时期的推迟而升高。Pro的升高是秦艽在逆境中自我调节的一种表现,当放牧导致叶片细胞膜破损而失水时,Pro的增加可以降低其渗透势,让叶片处于吸水状态,以维持植物的生长力^[33]。氧自由基氧化分解膜脂而形成MDA,而Pro上升是可溶性糖上升幅度小的补偿策略^[34],所以氧自由基产生速率和MDA、Pro和可溶性糖均具有很强的正相关性。

研究发现R1样地中秦艽根系受迫害程度最小,故建议在土壤解冻前期进行春季休牧以保护及恢复野生秦艽资源。但本研究仅从秦艽根系贮藏营养物质和各类酶进行了分析,还需要对秦艽生长、繁殖等方面进

一步研究,综合秦艽地上,地下部分以及繁殖特性等以选出最佳休牧期。

4 结论

1)随着休牧时期的推迟,可溶性蛋白含量呈先升高后降低趋势;可溶性糖的含量呈增加趋势,且传统休牧下秦艽根系的可溶性糖显著高于其他时期休牧($P < 0.05$);淀粉含量为下降趋势,但差异不显著($P > 0.05$)。

2)随着休牧时期的推迟,秦艽根系的 Pro、MDA 含量和氧自由基产生速率增加。SOD 活性随着休牧时期的推迟先升高后降低,POD 活性先降低后升高,CAT 活性在不同时期休牧下无显著差异($P > 0.05$)。

3)综合秦艽根系的营养物质含量和各类酶活性,建议在土壤解冻前期进行春季休牧以保护及恢复野生秦艽资源。

参考文献:

[1] 谢高地,鲁春霞,冷允法,等. 青藏高原生态资产的价值评估[J]. 自然资源学报,2003,18(2):189—196.

[2] Wen J, Wang Y B, Gao Z Y, *et al.* Soil hydrological characteristics of the degrading meadow in permafrost regions in the Beiluhe River basin[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2013, 35(4): 929—937.

[3] Liu X Q, Wu Q H, Li H Q, *et al.* A comparison of the vegetation/soil carbon density and net ecosystem CO₂ exchange of alpine meadow with different enclosure durations[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2013, 35(4): 848—856.

[4] 李青丰,赵钢,郑蒙安,等. 春季休牧对草原和家畜生产力的影响[J]. 草地学报,2005,13(S1):53—56,66.

[5] 李玉洁,宋晓龙,修伟明,等. 春季休牧对内蒙古羊草草原有机碳储量的影响[J]. 农业环境科学学报,2013,32(11):2221—2230.

[6] 马玉寿,李世雄,王彦龙,等. 返青期休牧对退化高寒草甸植被的影响[J]. 草地学报,2017,25(2):290—295.

[7] 潘涛涛. 不同时期模拟藏羊和牦牛践踏对矮生嵩草繁殖特性、地下形态及碳水化合物含量的影响[D]. 兰州:甘肃农业大学,2019.

[8] 靳瑰丽,朱进忠,刘洪来,等. 退化伊犁绢蒿荒漠草地主要植物生理生态适应性研究[J]. 草地学报,2011,19(1):26—30,37.

[9] 陈文音,陈章和,何其凡,等. 两种不同根系类型湿地植物的根系生长[J]. 生态学报,2007,27(2):450—458.

[10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015.

[11] 郭文芳,李旻辉,伊乐泰,等. 内蒙古地区小秦艽栽培技术规程[J]. 特种经济动植物,2019,22(2):33—35.

[12] 薛慧君,岳明,王亚洲. CO₂ 激光对大叶龙胆种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 中草药,2004,35(3):324—327.

[13] 杨青山,马宗华,方成武,等. 四川松潘县秦艽资源调查及鉴别[J]. 安徽中医学院学报,2011,30(1):72—75.

[14] Xiao H, Peng Z, Xu C L, *et al.* Yak and Tibetan sheep trampling inhibit reproductive and Photosynthetic Traits of *Medicago ruthenicavar. inschanica* [J]. Environmet Monitoring and Assessment, 2018, 190(9): 507.

[15] 许鹏. 草地资源调查规划学[M]. 北京:中国农业出版社,2000.

[16] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,2000.

[17] Dhindsa R S, Plumb-Dhindsa P, Thorpe T A. Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase[J]. Journal of Experimental Botany, 1981, 32(1): 93—100.

[18] 王爱国,罗广华. 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯,1990(6):55—57.

[19] 李庆康,马克平. 植物群落演替过程中植物生理生态学特性及其主要环境因子的变化[J]. 植物生态学报, 2002, 26(S1): 9—19.

[20] 张成良,陈大洲,肖叶青. 东乡野生稻苗期根系形态性状耐冷性遗传分析[J]. 江西农业学报,2010,22(2):1—3.

[21] Song J, Feng G, Tian C Y, *et al.* Osmotic adjustment traits of *Suaeda physophora*, *Halaxylon ammodendron* and *Halaxylon persicum* in field or controlled conditions [J]. Plant Science, 2006, 170(1): 113—119.

[22] 王俊刚,陈国昌,张承烈. 水分胁迫对 2 种生态型芦苇 (*Phragmites communis*) 的可溶性蛋白含量、SOD、POD、CAT 活性的影响[J]. 西北植物学报,2002,22(3):561—565.

[23] 孙景宽,张文辉,刘新成. 干旱胁迫对沙枣和孩儿拳头的生理特性的影响[J]. 西北植物学报,2008,28(9):1868—1874.

[24] 尹航. 不同烟草品种苗期对低温胁迫的若干生理响应及耐寒性综合评价[D]. 延吉:延边大学,2018.

[25] 李建设,耿广东,程智慧. 低温胁迫对茄子幼苗抗寒性生理生化指标的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2003,31(1):90—92,96.

- [26] 韩瑞宏,卢欣石. 苗期紫花苜蓿对干旱胁迫的适应机制[J]. 草地学报,2006,14(4):393-394.
- [27] 阎秀峰,孙国荣,李晶,等. 碱性盐胁迫下星星草幼苗中几种渗透调节物质的变化[J]. 植物研究,1999,19(3):347-355.
- [28] 高占军,张星亮,张颖,等. 盐胁迫对白三叶种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 草原与草坪,2015,35(2):73-76.
- [29] 王宝山,姚敦义. 盐胁迫对沙枣愈伤组织膜透性、膜脂过氧化和SOD活性的影响[J]. 河北农业大学学报,1993,16(3):20-24.
- [30] 黄玉婷,王栋麟,张卫红,等. 铝胁迫下柠檬酸对多年生黑麦草种子萌发和幼苗生理特性的影响[J]. 草原与草坪,2019,39(1):54-59.
- [31] 李倩,郑爱琴,马玉一,等. AMF对紫花苜蓿抗盐生理特性的影响[J]. 草原与草坪,2017,37(5):85-91.
- [32] 时丽冉,刘志华. 干旱胁迫对苜蓿菜抗氧化酶和渗透调节物质的影响[J]. 草地学报,2010,18(5):673-677.
- [33] 邹志荣,陆幅一. 低温对辣椒幼苗膜脂过氧化和保护酶系统变化的影响[J]. 西北农业学报,1994,3(3):51-56.
- [34] 靳瑰丽. 伊犁绢蒿荒漠退化草地植物生态适应对策的研究[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学,2009.

Effects of rest grazing at different stages on root physiological characteristics of *Gentiana macrophylla*

PENG Zhen, XU Chang-lin, YU Xiao-jun

(College of Pratacultural Science, Gansu Agricultural University; Key Laboratory of Grassland Ecosystem, Ministry of Education; Sino-U. S. Centers for Grazingland Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract: In order to explore the effects of different periods of rest grazing on root physiological characteristics of *Gentiana macrophylla*, the following 5 treatments for rest grazing period were designed in alpine meadow in Tianzhu: soil pre-thawing stage (R1), soil mid-thawing stage (R2), soil late-thawing stage (R3), returning green stage (R4) and local traditional rest grazing (R5). By studying the root physiological characteristics changes of *G. macrophylla* under different grazing rest treatments, the optimum period for rest grazing was determined, which provided basic data for rational development and utilization of *G. macrophylla* resources in grassland. The results showed that the soluble protein content in roots of *G. macrophylla* showed a general trend of increasing first and then decreasing along with the rest grazing period. The starch content and CAT activity did not significantly change among different rest grazing treatments ($P > 0.05$). The contents of soluble sugar, Pro, MDA and the production rate of O_2^- increased with the rest grazing period. And the contents of soluble sugar, Pro, MDA and the production rate of O_2^- in R5 increased by 49%, 67%, 54% and 91% respectively compared with that in R1. The SOD content increased and then decreased with the rest grazing period, while the POD content showed a trend of decreasing first and then increasing. Based on the comprehensive analysis of root physiological characteristics, we suggest that grazing should be rested during the pre-thawing stage of soil (R1) to protect and restore wild *G. macrophylla* resources.

Key words: rest grazing; *Gentiana macrophylla*; root; physiological characteristics; nutrient; enzyme activity