



不同放牧强度下内蒙古温带典型草原优势种植物防御策略

李颖¹ 龚吉蕊^{1*} 刘敏¹ 侯向阳² 丁勇² 杨波¹ 张子荷¹ 王彪¹
朱趁趁¹

¹北京师范大学地表过程与资源生态国家重点实验室, 中药资源保护与利用北京市重点实验室, 北京师范大学地理科学学部自然资源学院, 北京 100875; ²中国农业科学院草地研究所, 呼和浩特 010021

摘要 放牧是草原的主要利用方式, 但对牧草造成了一定的生物胁迫。面对生存压力, 牧草会通过调节初级与次级代谢过程启动防御机制。该研究以内蒙古温带典型草原优势种植物为研究对象, 通过测定其在5个放牧水平下不同营养器官中的次级代谢产物及木质素等含量, 探讨大针茅(*Stipa grandis*)和羊草(*Leymus chinensis*)的各营养器官在防御机制中的角色及其碳氮权衡策略。结果表明: 面对放牧胁迫, 大针茅和羊草会产生大量的单宁、总黄酮、酚类以及生物碱等次级代谢产物, 并以叶片为主要的合成及储存器官。中度放牧使羊草的化学防御机制得到较充分的诱导及表达。但二者地上部分木质素含量并无显著增加, 因此, 二者在避牧性机制上更倾向于化学防御而非机械防御。由于羊草有更高的氮利用效率, 这使得羊草可以通过碳氮两种代谢途径进行防御, 但大针茅在生长初期并不能将氮高效地分配到化学防御中。大针茅和羊草在生长初期面对轻度放牧胁迫, 较多的资源仍然用于初级代谢, 增加了植物耐牧性。因此, 轻度放牧有利于提高牧草的碳氮资源利用效率、提高生态系统生产力及稳定性。

关键词 次级代谢; 防御机制; 碳氮权衡; 优势种; 放牧强度; 大针茅; 羊草

李颖, 龚吉蕊, 刘敏, 侯向阳, 丁勇, 杨波, 张子荷, 王彪, 朱趁趁 (2020). 不同放牧强度下内蒙古温带典型草原优势种植物防御策略. 植物生态学报, 44, 642–653. DOI: 10.17521/cjpe.2019.0329

Defense strategies of dominant plants under different grazing intensity in the typical temperate steppe of Nei Mongol, China

LI Ying¹, GONG Ji-Rui^{1*}, LIU Min¹, HOU Xiang-Yang², DING Yong², YANG Bo¹, ZHANG Zi-He¹, WANG Biao¹, and ZHU Chen-Chen¹

¹Laboratory of Earth Surface Processes and Resource Ecology, Beijing Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Protection and Utilization, School of Natural Resources, Faculty of Geographical Science, Beijing Normal University, Beijing 100875, China; and ²Grassland Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Science, Hohhot 010021, China

Abstract

Aims Grazing is one of the main grassland using modes, which has caused certain biotic stress on pasture. In order to survive, pasture initiates defense mechanisms by regulating the primary and secondary metabolic processes. This article aims to 1) figure out the distribution of defensive substances in different organs produced by the dominant plants *Stipa grandis* and *Leymus chinensis*; 2) explore the similarities and differences of the defense mechanisms and carbon-nitrogen trade-off strategies in *S. grandis* and *L. chinensis*.

Methods We conducted a different grazing intensity experiment in the typical temperate steppe of Nei Mongol. The lignin and secondary metabolites, such as tannins, flavonoids, phenols and alkaloids, as well as the ratio of carbon and nitrogen in different organs of the dominant plants *S. grandis* and *L. chinensis* were investigated.

Important findings Our results showed that *S. grandis* and *L. chinensis* produced a large number of secondary metabolites such as tannins, flavonoids, phenols and alkaloids in the face of grazing stress. The leaves were the main synthesis and storage organs. In addition, the chemical defense mechanism of *L. chinensis* was well induced

收稿日期Received: 2019-11-30 接受日期Accepted: 2020-03-25

基金项目: 国家自然科学基金(41571048)、国家重点研发计划(2016YFC0500502)和国家重点基础研究发展计划(2014CB138803)。Supported by the National Natural Science Foundation of China (41571048), the National Key R&D Program of China (2016YFC0500502), and the State Key Basic R&D Plan of China (2014CB138803).

* 通信作者Corresponding author (jrgong@bnu.edu.cn)

and expressed under moderate grazing. There was no significant increase in the lignin content in the aboveground parts of *S. grandis* and *L. chinensis*. Therefore, both of them were more inclined to chemical defense than mechanical defense in the mechanism of avoiding grazing. Because of the higher nitrogen use efficiency of *L. chinensis*, it could be protected by both carbon and nitrogen metabolic pathways. However, *Stipa grandis* did not efficiently distribute nitrogen into chemical defense in the early stages of growth. More resources still used for primary metabolism in the early stage of *S. grandis* and *L. chinensis* growth, under light grazing stress, which increased their grazing resistance. Therefore, light grazing is conducive to improving the carbon and nitrogen use efficiency of pasture, and improving ecosystem productivity and stability.

Key words secondary metabolism; defense mechanism; carbon-nitrogen trade-off; dominant species; grazing intensity; *Stipa grandis*; *Leymus chinensis*

Li Y, Gong JR, Liu M, Hou XY, Ding Y, Yang B, Zhang ZH, Wang B, Zhu CC (2020). Defense strategies of dominant plants under different grazing intensity in the typical temperate steppe of Nei Mongol, China. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 44, 642–653. DOI: 10.17521/cjpe.2019.0329

草原约占全球陆地面积的25%, 也是我国面积最大的陆地生态系统, 其中, 内蒙古典型草原是我国北方温带草原的主体, 在环境保护、碳氮循环、气候调节等方面具有重要的作用, 同时, 它也是我国北方牧民赖以生存的基地, 对人类福祉具有一定的影响(Zhou *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2019b)。放牧是内蒙古草原生态系统的主要利用方式, 近年来, 由于人类不合理的开发利用, 尤其是过度放牧, 使得内蒙古草原生态系统的生物多样性及生物量减少, 土壤肥力及生产力下降, 进而影响了草地生态系统的结构和功能(Sasaki & Lauenroth, 2011; Herrero-Jáuregui & Oesterheld, 2018)。在天然生态系统中, 优势种是草地生态群落的重要组成部分, 其生物量主导着生态系统生产力, 群落优势种植物在维持生态系统的功能中发挥关键作用(Smith & Knapp, 2003; 胡静等, 2016; 翟占伟等, 2017)。在内蒙古典型草原上, 羊草(*Leymus chinensis*)和大针茅(*Stipa grandis*)为主要优势种, 放牧行为对其造成了一定的生物环境胁迫, 但由于其无法躲避伤害, 只能通过调节新陈代谢, 对养分进行再分配作为生存策略, 从而维持牧草个体、群落, 乃至草原生态系统的健康及稳定(Guo *et al.*, 2018; Isah, 2019)。因此, 了解优势种牧草面对放牧胁迫时体内新陈代谢的变化将会对草原生态系统的保护具有深刻的意义。

食草动物的啃食胁迫会诱导牧草产生耐牧和避牧两种防御机制(赵钢和崔泽仁, 1999)。牧草一方面会调控体内代谢途径, 调配初级代谢产物以修复损伤, 通过补偿生长达到耐牧的目的(Appel *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2015; Guo *et al.*, 2018); 另一方面, 牧草个体趋向于矮小化、减缓生长速度, 伴随着体

内木质素等物质含量的增多, 以提高自身机械防御能力, 并诱导化学防御机制的表达, 产生各类次级代谢产物以提高抗性(李西良等, 2015; Srinivasa, 2018)。已有研究表明, 在受到严重放牧胁迫时, 牧草更倾向于避牧防御而非补偿生长(Dong *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2019a)。但目前很多与牧草次级代谢相关的研究主要集中在模拟啃食实验, 不能完全反映真实的放牧胁迫(刘盟盟等, 2015; Zhou *et al.*, 2015; Fuchs *et al.*, 2017b)。羊草是无性繁殖的根茎型禾草, 繁育过程需要大量的资源, 且由于对食草动物的适口性较高, 更易被采食; 大针茅为叶呈披针状的丛生型禾草, 较羊草有更高的木质素含量, 这些生理差异可能使得二者的防御策略有所不同(Louault *et al.*, 2005; 陈慧颖等, 2014; 胡静等, 2016)。因此, 大针茅与羊草面对实际放牧胁迫时更倾向于机械防御还是化学防御仍需进一步探讨。

由于食草动物的啃食行为多作用于牧草的地上部分, 因此目前对植物叶片中次级代谢产物的研究较为广泛, 然而对地下部分及整株研究不足(Mundim & Pringle, 2018; Isah, 2019)。牧草叶片中的生物碱可以调节植物生长, 对食草动物产生毒害作用, 其合成与根部侵染的内生真菌息息相关(徐瑞等, 2012; 李露莹等, 2018)。酚类是植物叶片内最普遍的次级代谢产物, 其收敛性可以有效避免牲畜的再次啃食, 还可以通过植物根系向土壤中释放(阎秀峰等, 2007; 林开敏等, 2010)。茎作为运输器官及临时后备储存器官在次级代谢产物的运输与储存中应该扮演着重要角色(Liu *et al.*, 2019a)。因此, 根与茎在植物的整个防御代谢过程的作用不可忽视。已有研究表明, 禾本科植物叶片中的次级代谢产物含

量会随其生长发育阶段或季节发生波动(Fuchs *et al.*, 2017a)。所以在生长初期和生长末期, 大针茅与羊草各器官中的次级代谢产物含量也应该存在差异。因此, 大针茅与羊草的防御策略在不同营养器官(根、茎、叶)中的异同及动态变化仍有待进一步研究。

植物在生长过程中所需的资源, 比如能量、空间、水分及养分通常都是有限的(Garland Jr, 2014)。随着放牧强度的增强, 植物所能获取的资源会更加有限(Zhou *et al.*, 2017)。在面对啃食胁迫时, 植物会把原本用于生长繁殖的部分资源用来提高自身的抗性, 而植物的防御又是一个对碳氮资源消耗较大的过程, 所以, 植物需要权衡生长和防御的利弊, 以保证自己能在有限的资源下健康地生长繁殖(Srinivasa, 2018; Yang *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2019a)。由于牛羊等脊椎动物没有饮食特异性, 因此它们可以诱导牧草产生更多种类而非单一性质的化学防御物质(Zhou *et al.*, 2015; Isah, 2019)。萜烯类及酚类等次级代谢产物是以碳为基础的物质, 而近年来引起了广泛关注的生物碱主要利用氮作为原料(Brandolini *et al.*, 2013; Fuchs *et al.*, 2017a)。因此, 植物在产生各类化学防御物质时也应该存在某种权衡(Dong *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2018; Isah, 2019)。在养分不足的环境条件下, 植物主要生成以碳为基础的物质; 而在养分充足或者低碳环境条件下, 主要生成以氮为基础的物质(Bryant *et al.*, 1983; 阎秀峰等, 2007)。羊草较大针茅有更高的全碳及全氮含量(陈慧颖等, 2014)。因此, 二者对碳氮资源的权衡策略可能有所不同, 在不同放牧强度下, 大针茅与羊草的化学防御策略会发生怎样的变化仍需深入探讨。

基于此, 本研究通过在内蒙古温带典型草原上设置5个放牧水平(对照、轻度、中度、重度和极重度), 以优势种植物大针茅、羊草为研究对象, 分别测定其根、茎、叶中的木质素、含碳次级代谢产物(单宁、总黄酮、总酚)以及含氮次级代谢产物(生物碱)含量, 并结合碳氮比(C:N), 研究在不同放牧强度下优势种植物大针茅与羊草产生的防御物质在不同器官间的分配, 以及大针茅与羊草碳氮权衡策略及防御机制的异同。

1 材料和方法

1.1 环境概况

实验样地建立在中国农业科学院内蒙古自治区

锡林浩特实验基地放牧梯度实验平台(116.70° E, 43.63° N)。该地区海拔高度为1 111–1 121 m, 土壤为栗钙土, 植被为典型草原类型。羊草、大针茅和冷蒿(*Artemisia frigida*)在群落中占有优势地位; 其他常见物种中, 多年生植物有糙隐子草(*Cleistogenes squarrosa*)、西北针茅(*Stipa sareptana* var. *krylovii*)、防风(*Saposhnikovia divaricata*)等, 一、二年生植物有灰绿藜(*Chenopodium glaucum*)、猪毛菜(*Salsola collina*)等。该地区是典型的大陆性季风气候, 区域年降水量350–450 mm, 年平均气温-0.1 °C, 最低气温出现在1月(平均-22.0 °C, 极端最低气温-41.1 °C), 最高气温出现在7月(平均18.3 °C, 极端最高气温38.5 °C), ≥ 5 °C的积温2 100–2 400 °C。2016年总降水量为309 mm, 月气温和降水量均显示出典型的季节性变化, 雨热同期(图1)。

1.2 样地设计

实验样地植被长势良好, 2007至2014年间禁牧, 主要作为割草地利用。本实验于2014年开始布置, 实验设置5个放牧水平, 3个空间重复, 每个放牧小区面积1.33 hm² (东西长125 m, 南北长110 m, 两边夹角78°)。所选牲畜为乌珠穆沁2龄羯羊, 初始放牧家畜平均质量31.5 kg。2014年6月10日开始放牧, 放牧水平分别为围封(CK), 轻度放牧(LG, 放养4只家畜, 放牧压为170 SSU·d·hm⁻²·a⁻¹), 中度放牧(MG, 放养8只家畜, 放牧压为340 SSU·d·hm⁻²·a⁻¹), 重度放牧(HG, 放养12只家畜, 放牧压为510 SSU·d·hm⁻²·a⁻¹)以及极重度放牧(EHG, 放养16只家畜, 放牧压为680 SSU·d·hm⁻²·a⁻¹), 放牧持续90天(期间家畜一直在放牧区内)。分别在

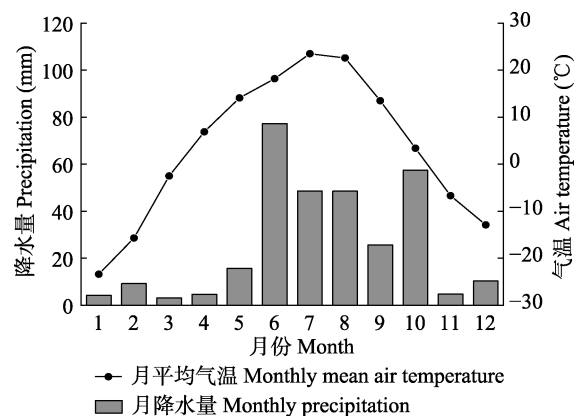


图1 2016年内蒙古温带典型草原研究区月平均气温和降水量示意图。

Fig. 1 Monthly precipitation and mean air temperature at the study sites in the typical temperate steppe of Nei Mongol in 2016.

2016年6月牧草生长初期及8月牧草生长末期进行植物样本采集, 在每个放牧样地内, 大针茅与羊草各随机选择20–30株(极重度放牧区到8月已采集不到植物样本), 采到的样本按根、茎、叶分开处理, 并及时用液氮保存, 带回实验室中完成后续处理并进行实验。

1.3 实验方法

1.3.1 木质素含量测定

将采到的植物样品洗净烘干并进行粉碎研磨, 依据van Soest (1967)的实验原理及操作标准, 经过消煮-酸洗-灼烧一系列步骤, 测定各放牧强度下植物样品的木质素含量。

1.3.2 总酚、单宁和总黄酮含量测定

总酚含量测定采用Folin酚试剂法(Al-Saedi & Hossain, 2015), 经过提取、加试剂、避光静置、比色, 进行测定, 以没食子酸为标准样品绘制标准曲线。单宁含量测定采用Kabir等(2015)所描述的方法, 经过提取、避光加试剂、静置、比色, 进行测定, 以儿茶素为标准品绘制标准曲线。总黄酮含量测定采用Al-Saedi和Hossain (2015)的方法, 经过提取、加试剂、静置、比色, 进行测定, 以芦丁为标准品绘制标准曲线。最后根据各自的标准曲线计算羊草、大针茅的根、茎、叶中的总酚、单宁和总黄酮含量。

1.3.3 生物碱含量测定

生物碱含量测定方法基于雷氏盐比色法稍加改进(蒲俊松, 2016), 经过提取、除杂、冰浴、冰水淋洗抽滤、比色, 进行测定, 以4-羟基哌啶醇配制标准液绘制标准曲线。根据已有研究, 内蒙古草甸草原的禾本科牧草中检出率最高的有毒生物碱为麦角异卡里碱(李爽跃, 2013), 因此以麦角异卡里碱为标准碱, 再根据标准曲线计算羊草、大针茅的根、茎、叶中的生物碱含量。

1.3.4 碳氮元素含量测定

使用Vario EL型自动元素分析仪(Elementar, Langensfeld, Germany)测定植物叶片中的碳氮含量(徐沙等, 2014)。

1.4 数据统计与分析

所得木质素、单宁、总黄酮、总酚及生物碱的实验数据均用Microsoft Excel 2016进行整理; 为分析不同放牧强度处理间各项指标是否存在显著性差异, 利用SPSS 22进行描述统计、单因素方差分析和最小显著差异法多重比较, 并用Spearman非参数相

关分析来判断各项指标间的相关性, 显著性水平设置为0.05, 图件用OriginPro 8.5制作。

2 结果

2.1 不同放牧强度下优势种植物木质素含量的变化

不同放牧强度下, 大针茅和羊草地下部分木质素含量差异显著, 地上部分含量差异不显著, 随着放牧的持续, 地上部分的木质素含量增多(图2, $p < 0.05$)。在6月生长初期, 大针茅和羊草地下部分的木质素含量均高于地上。大针茅在重度放牧下含量最多, 而羊草在轻度放牧下含量最多(图2A, $p < 0.05$)。到8月生长末期, 围封条件下大针茅和羊草体内木质素含量均增多, 且达到最大值; 轻度放牧下大针茅和羊草的地下部分木质素含量减少, 且达到最小值(图2C、2D, $p < 0.05$)。

2.2 不同放牧强度下优势种植物单宁含量的变化

在各营养器官中, 大针茅和羊草体内的单宁含量均表现为叶>茎>根。在不同放牧强度下, 大针茅和羊草叶片中的单宁含量差异显著, 而根、茎中的单宁含量差异不显著(图3, $p < 0.05$)。大针茅叶片中的单宁含量随放牧强度的增强而增多(图3A、3C, $p < 0.05$), 羊草叶片中的单宁含量在中度放牧下达到最大值(图3B、3D, $p < 0.05$); 随着放牧的持续, 大针茅和羊草叶片中的单宁含量增多, 而根、茎中的单宁含量减少(图3C、3D, $p < 0.05$)。

2.3 不同放牧强度下优势种植物总黄酮含量的变化

在各营养器官中, 大针茅和羊草体内的总黄酮含量均表现为叶>茎>根。在不同放牧强度下, 大针茅和羊草叶中的总黄酮含量差异显著, 而根、茎中总黄酮含量差异不显著(图4, $p < 0.05$)。在6月生长初期, 大针茅叶片中的总黄酮含量在重度放牧下达到最大值, 羊草叶片中的总黄酮含量在中度放牧下最高(图4A、4B, $p < 0.05$); 在8月生长末期, 羊草叶片中的总黄酮含量在轻度放牧下最低, 在重度放牧下最高(图4D)。

2.4 不同放牧强度下优势种植物总酚含量的变化

在各营养器官中, 大针茅和羊草体内的总酚含量均表现为叶>茎>根。在不同放牧强度下, 大针茅和羊草茎、叶中的总酚含量差异显著, 而根中总酚含量差异不显著(图5, $p < 0.05$)。在6月生长初期, 大针茅叶中的总酚含量在轻度放牧下最低, 在极重度放牧下最高; 羊草叶中的总酚含量在轻度放牧下最

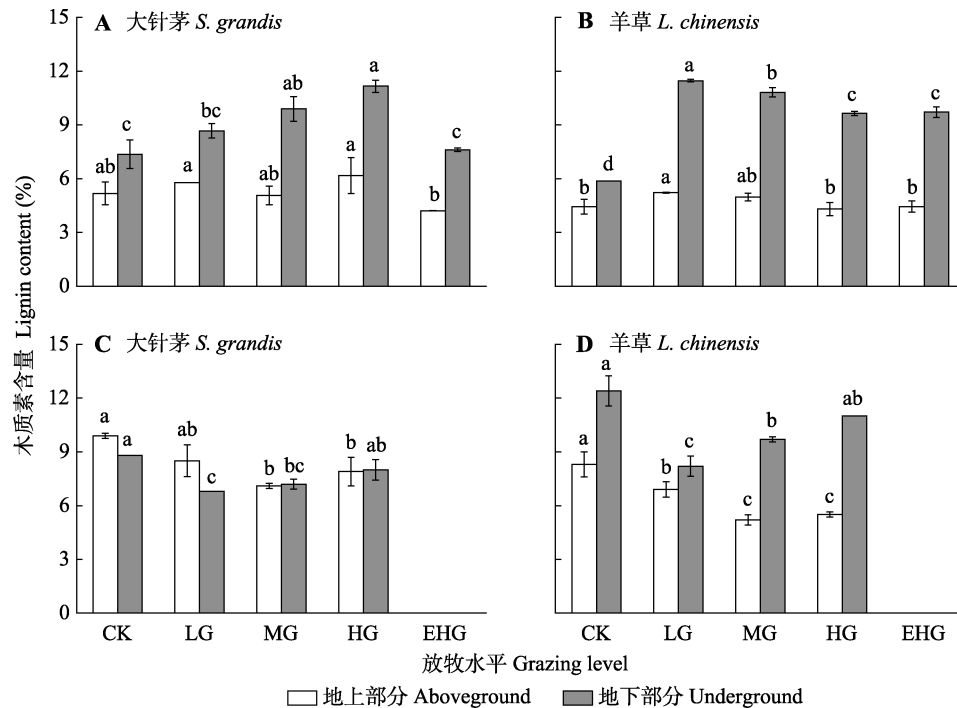


图2 6月(A、B)及8月(C、D)不同放牧水平下内蒙古温带典型草原大针茅与羊草的木质素含量(平均值±标准误差)。CK, 围封; LG, 轻度放牧; MG, 中度放牧; HG, 重度放牧; EHG, 极重度放牧。不同小写字母表示处理间差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 2 Lignin content of *Stipa grandis* and *Leymus chinensis* in the typical temperate steppe of Nei Mongol in June (A, B) and August (C, D) under different grazing levels (mean ± SE). CK, grazing exclusion; LG, light grazing; MG, moderate grazing; HG, heavy grazing; EHG, extremely heavy grazing. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($p < 0.05$).

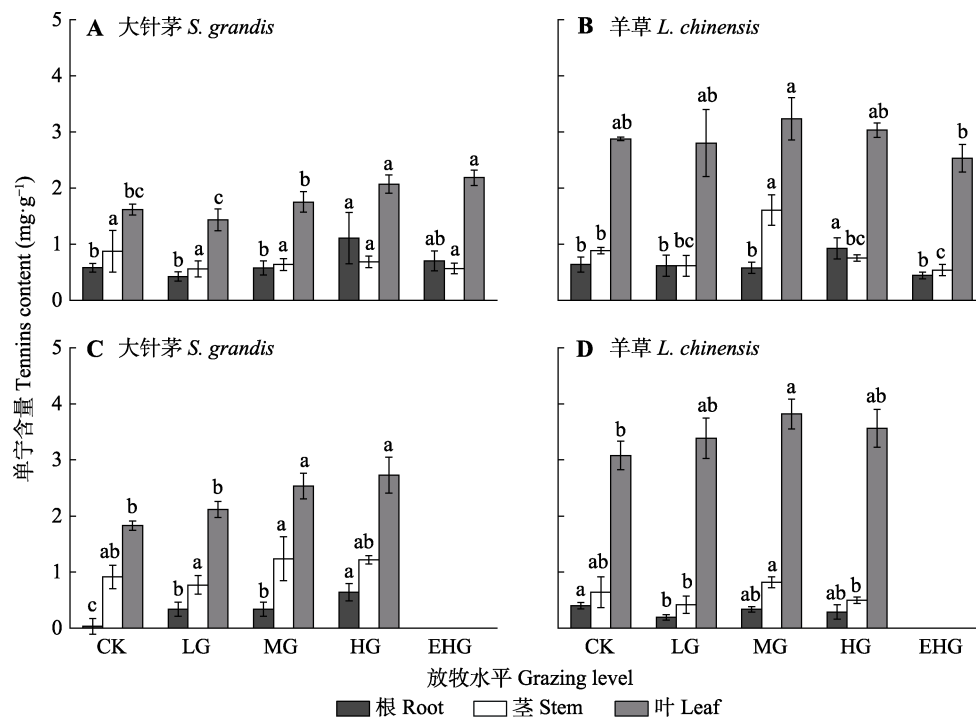


图3 6月(A、B)及8月(C、D)不同放牧水平下内蒙古温带典型草原大针茅与羊草的单宁含量(平均值±标准误差)。CK, 围封; LG, 轻度放牧; MG, 中度放牧; HG, 重度放牧; EHG, 极重度放牧。不同小写字母表示处理间差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 3 Tannins content of *Stipa grandis* and *Leymus chinensis* in the typical temperate steppe of Nei Mongol in June (A, B) and August (C, D) under different grazing levels (mean ± SE). CK, grazing exclusion; LG, light grazing; MG, moderate grazing; HG, heavy grazing; EHG, extremely heavy grazing. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($p < 0.05$).

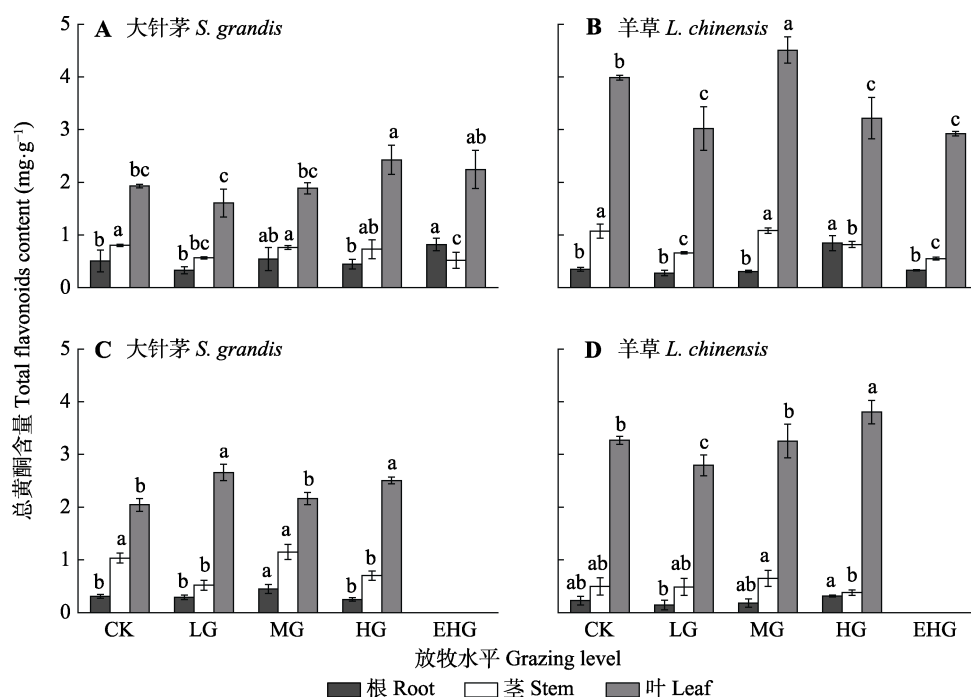


图4 6月(A、B)及8月(C、D)不同放牧水平下内蒙古温带典型草原大针茅与羊草的总黄酮含量(平均值±标准误差)。CK, 围封; LG, 轻度放牧; MG, 中度放牧; HG, 重度放牧; EHG, 极重度放牧。不同小写字母表示处理间差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 4 Total flavonoids contents of *Stipa grandis* and *Leymus chinensis* in the typical temperate steppe of Nei Mongol in June (A, B) and August (C, D) under different grazing levels (mean \pm SE). CK, grazing exclusion; LG, light grazing; MG, moderate grazing; HG, heavy grazing; EHG, extremely heavy grazing. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($p < 0.05$).

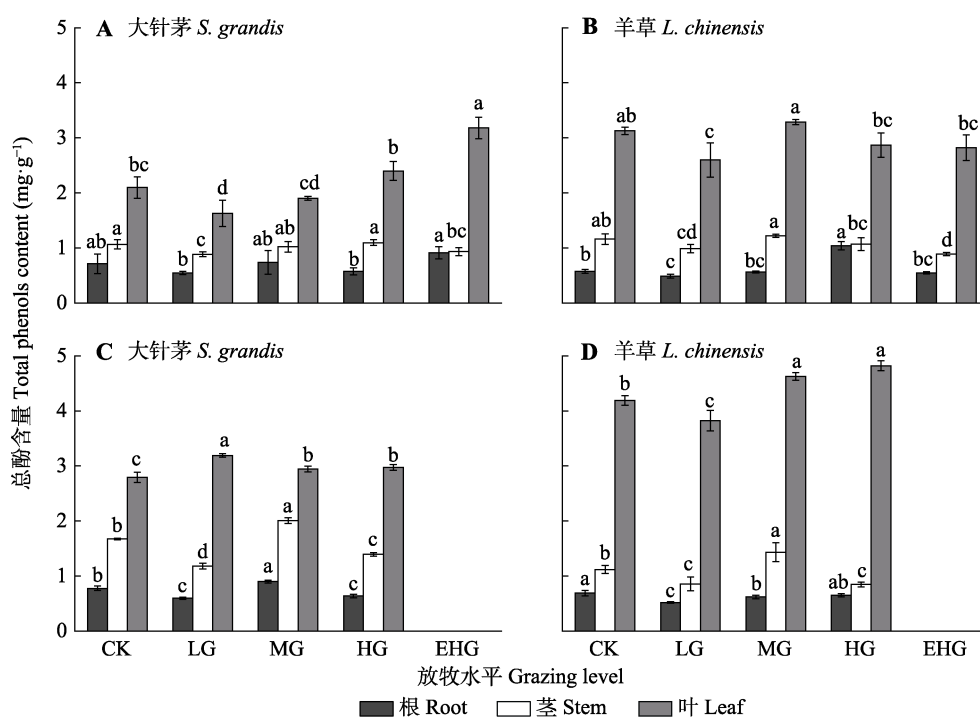


图5 6月(A、B)及8月(C、D)不同放牧水平下内蒙古温带典型草原大针茅与羊草的总酚含量(平均值±标准误差)。CK, 围封; LG, 轻度放牧; MG, 中度放牧; HG, 重度放牧; EHG, 极重度放牧。不同小写字母表示处理间差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 5 Total phenols contents of *Stipa grandis* and *Leymus chinensis* in the typical temperate steppe of Nei Mongol in June (A, B) and August (C, D) under different grazing levels (mean \pm SE). CK, grazing exclusion; LG, light grazing; MG, moderate grazing; HG, heavy grazing; EHG, extremely heavy grazing. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($p < 0.05$).

低,在中度放牧下最高(图5A、5B, $p < 0.05$)。随着放牧的持续,大针茅和羊草叶中的总酚含量增多。在8月生长末期,大针茅在轻度放牧下叶中总酚含量最高,而羊草在轻度放牧下含量最低,在重度放牧下含量最高(图5C、5D, $p < 0.05$)。

2.5 不同放牧强度下优势种植物总生物碱含量的变化

不同放牧强度下,大针茅和羊草叶片中的生物碱含量差异显著(图6, $p < 0.05$)。在6月生长初期,大针茅叶片中的生物碱含量在轻度和极重度放牧下显著降低,羊草叶片中的生物碱含量在中度放牧下显著提高(图6A, $p < 0.05$);在8月生长末期,大针茅叶片中的生物碱含量在轻度放牧下显著降低,在中度和重度放牧下显著提高;羊草叶片中的生物碱含量在轻度和中度放牧下显著提高(图6B, $p < 0.05$)。

2.6 在不同生长时期次级代谢产物与碳氮的关系

大针茅和羊草在生长初期与生长末期均表现为地上部分C:N小于地下部分,但碳氮权衡策略不同(图7;表1)。在6月生长初期,大针茅地上部分C:N在放牧胁迫下显著降低(图7A, $p < 0.05$);含碳次级代谢产物与C:N无相关关系,生物碱与C:N呈不显著的正相关关系。羊草地下部分C:N在放牧胁迫下显著提高(图7B, $p < 0.05$);含碳次级代谢产物与C:N呈不显著的正相关关系,生物碱与C:N呈不显著的负相关关系(表1)。在8月生长末期,大针茅和羊草地下部分C:N在放牧胁迫下均显著降低(图7C、7D, $p < 0.05$),大针茅的总酚与C:N呈显著正相关关系,羊

草的总酚与C:N呈显著负相关关系(表1)。

3 讨论

3.1 次级代谢产物在各营养器官间的分配

牧草面对牲畜的啃食胁迫,会产生大量的单宁、总黄酮、酚类等含碳次级代谢产物作为主要的化学防御物质(Brandolini *et al.*, 2013; Mathesius, 2018)。在本研究中,大针茅和羊草都选择将含碳次级代谢产物更多地储存在叶片中,小部分储存于根和茎中。含碳次级代谢产物在植物体内如此分布,是由于叶片作为光合作用的主要场所,在其中产生的丰富的光合产物可以直接作为底物用于次级代谢过程,以最小的投资获得最大的收益(李钧敏等, 2007; Olmo-Garcia *et al.*, 2018)。另外,由于叶片是牧草直接受到损伤的部位,这样的分布可以更高效地提高植物抗氧化、抗病原菌能力,影响食草动物的适口性及消化能力,同时更有利于发挥挥发性物质的作用(林开敏等, 2010; Erb, 2018; Mathesius, 2018)。因此,叶片既是含碳次级代谢产物主要的合成器官也是主要的储存器官。植物茎部的代谢能力较弱,主要起到运输的作用。对于大针茅来说,若长时间暴露在胁迫环境中,茎也可充当含碳次级代谢产物的后备储存器官;至于根,有研究认为不定根或毛状根及幼根是仅次于叶片的次级代谢产物合成及储存器官(李钧敏等, 2007; 陈慧颖等, 2014; Mundim & Pringle, 2018)。但由于根系主要起支持作用,木质素含量较高,所以存在于根系中的含碳次级代谢产物总量便很少。

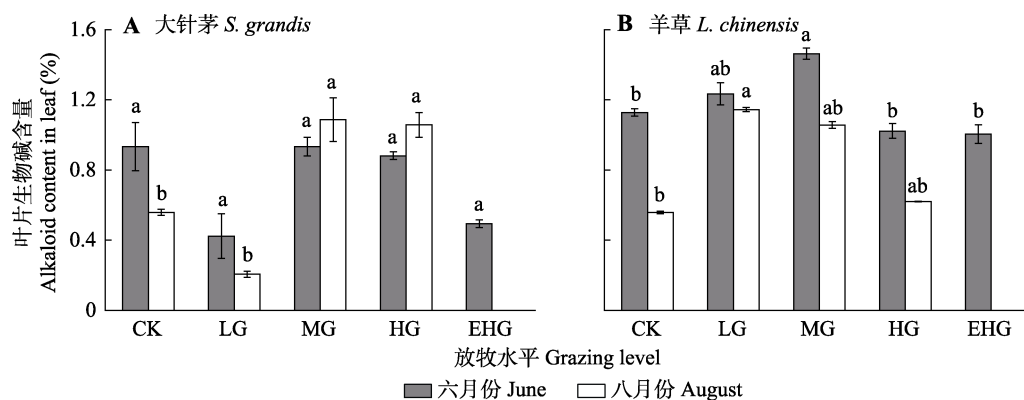


图6 6月及8月不同放牧水平下内蒙古温带典型草原大针茅与羊草叶片中的生物碱含量(平均值±标准误差)。CK, 围封; LG, 轻度放牧; MG, 中度放牧; HG, 重度放牧; EHG, 极重度放牧。不同小写字母表示处理间差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 6 Alkaloid contents of *Stipa grandis* and *Leymus chinensis* in the typical temperate steppe of Nei Mongol in June and August under different grazing levels (mean ± SE). CK, grazing exclusion; LG, light grazing; MG, moderate grazing; HG, heavy grazing; EHG, extremely heavy grazing. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($p < 0.05$).

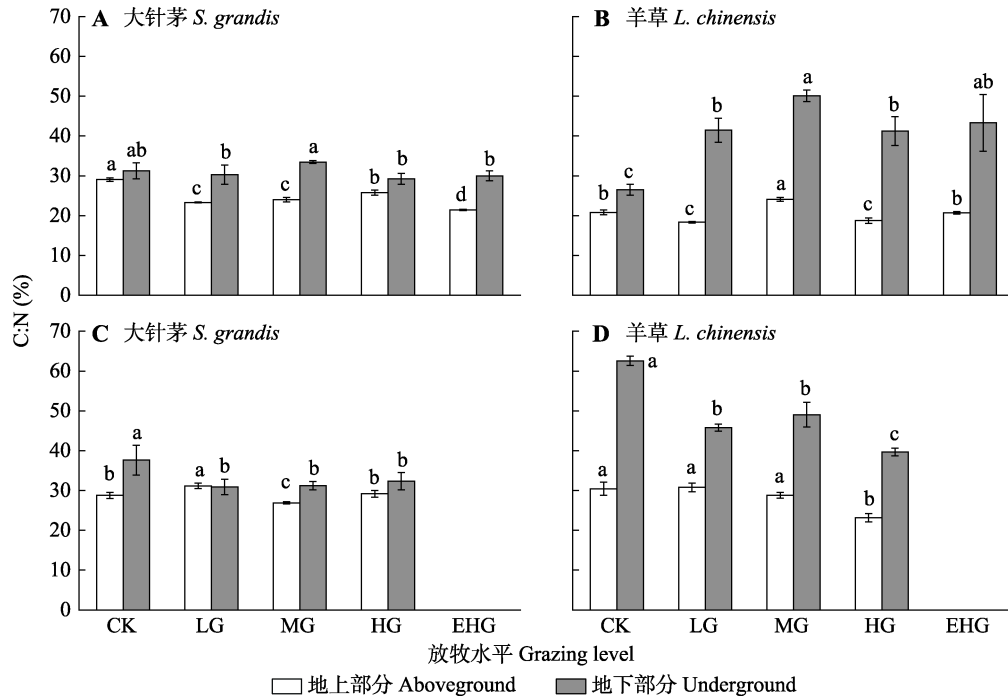


图7 6月(A、B)及8月(C、D)不同放牧水平下内蒙古温带典型草原大针茅与羊草叶片碳氮比(平均值±标准误差)。CK, 围封; LG, 轻度放牧; MG, 中度放牧; HG, 重度放牧; EHG, 极重度放牧。不同小写字母表示处理间差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 7 The C:N in leaves of *Stipa grandis* and *Leymus chinensis* in the typical temperate steppe of Nei Mongol in June (A, B) and August (C, D) under different grazing levels (mean \pm SE). CK, grazing exclusion; LG, light grazing; MG, moderate grazing; HG, heavy grazing; EHG, extremely heavy grazing. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($p < 0.05$).

表1 6月及8月内蒙古温带典型草原大针茅与羊草叶片中防御代谢产物与C:N的相关性分析

Table 1 Correlation analysis of defense metabolites and C:N in leaves of *Stipa grandis* and *Leymus chinensis* in the typical temperate steppe of Nei Mongol in June and August

		大针茅 <i>S. grandis</i>						羊草 <i>L. chinensis</i>					
		单宁 Tannins	总黄酮 Flavonoids	总酚 Phenols	木质素 Lignin	总生物碱 Alkaloid	碳氮比 C:N	单宁 Tannins	总黄酮 Flavonoids	总酚 Phenols	木质素 Lignin	总生物碱 Alkaloid	碳氮比 C:N
大针茅 <i>S. grandis</i>	单宁 Tannins		0.800	0.900*	-0.400	0.051	-0.300		0.400	0.400	-0.800	0.600	0.000
	总黄酮 Flavonoids			0.900*	0.100	0.154	0.200			1.000**	-0.200	-0.400	0.800
	总酚 Phenols				-0.300	0.051	-0.100				-0.200	-0.400	0.800
	木质素 Lignin					-0.154	0.500					-0.800	0.400
	总生物碱 Alkaloid						0.718						-0.800
	碳氮比 C:N												
羊草 <i>L. chinensis</i>	单宁 Tannins		0.900*	0.300	-0.200	0.600	0.500		0.000	0.600	-1.000**	0.400	-0.600
	总黄酮 Flavonoids			0.600	-0.100	0.700	0.700			0.800	0.000	-0.800	-0.800
	总酚 Phenols				0.300	0.500	0.900*				-0.600	-0.400	-1.000**
	木质素 Lignin					0.600	-0.100					-0.400	0.600
	总生物碱 Alkaloid						0.300						0.400
	碳氮比 C:N												

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$ 。

植物氮的吸收与生物碱的合成主要依靠于根系中的内生真菌, 菌根是生物碱合成的主要场所 (Brock *et al.*, 2018; 李露莹等, 2018)。本研究中, 大针茅和羊草的根中几乎不含生物碱, 茎中极微量的生物碱可能是处于转移过程中, 叶片是含氮次级代谢产物最主要的分布场所。由此说明, 生物碱在根系中产生后便迅速转移至叶片中。牧草如此分配生物碱可能是由于其作为一类重要的含氮次级代谢产物可以调节植物生长, 并且被食草动物取食后会引引起动物的一系列不良反应, 因此, 叶片是生物碱充分发挥功能的最佳营养器官 (Lu & McKnight, 1999; Isah, 2019)。生物碱种类多样复杂且与菌根共生体中的菌株类型有关, 对于大针茅和羊草菌根共生体及其与体内生物碱组成之间的关系仍有待进一步研究。

3.2 大针茅与羊草防御机制及碳氮权衡策略的异同

牧草在生长过程中, 尤其在生长初期, 需要与外界生物环境竞争有限的资源, 次级代谢过程比初级代谢对碳氮资源的消耗更大, 因此, 牧草面对食草动物的啃食胁迫时需要权衡利弊, 在生长与防御间做出选择 (Srinivasa, 2018; Liu *et al.*, 2019a)。在6月生长初期, 大针茅和羊草的含碳次级代谢产物含量均在轻度放牧下最低, 这可能是由于生长竞争压力大于啃食胁迫, 所以化学防御机制并没有得到充分的诱导及表达, 更多的资源可能用于补偿生长, 提高了耐牧性 (Appel *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2015; Guo *et al.*, 2018)。在8月生长末期, 羊草在重度放牧胁迫下具有较低的C:N, 把更多的碳资源用于次级代谢产物的合成。说明胁迫时间的延长、胁迫强度的增加, 到生长竞争压力不及放牧胁迫时, 化学防御机制才被逐步诱导激活。这一结果与Herms提出的生长-分化平衡假说 (growth-differentiation balance hypothesis) 相一致 (Herms & Mattson, 1992)。

牧草在受到食草动物的啃食胁迫后倾向于产生更多的木质素应用在叶片中提高自身的机械防御能力, 以降低食草动物的适口性, 并且增加消化难度, 从而降低被采食的频率, 避免受到进一步的侵害 (Zhao & Dixon, 2011; 覃瀚仪等, 2015)。本研究结果发现, 在6月生长初期, 随着放牧强度的增加, 大针茅和羊草地上部分的木质素含量变化不大, 这说明大针茅和羊草面对啃食胁迫并没有倾向于提高机械防御能力。但大针茅和羊草会在根系中储存大量的

木质素, 这可以使其更好地从土壤中汲取养分, 为其初级代谢及化学防御获取足够多的可利用资源 (Swemmer & Knapp, 2008; Zhou *et al.*, 2015)。大针茅和羊草两个优势种植物的木质素对放牧胁迫的响应有所不同。大针茅地下部分木质素含量随放牧强度的增加缓慢升高; 而羊草则在轻度放牧条件下就已显著升高, 这可能是因为羊草根系的木质素含量不及大针茅, 所以面对啃食胁迫, 羊草的木质素代谢过程响应更敏感 (Zhao & Dixon, 2011; 陈慧颖等, 2014)。到了8月生长末期, 面对啃食胁迫, 大针茅和羊草的木质素合成均受抑制, 羊草较大针茅更显著, 说明放牧胁迫可以促使牧草将更多的碳资源用于合成其他物质, 以便更好地发挥化学防御机制的作用或者是用于调整繁殖策略 (Louault *et al.*, 2005; 李西良等, 2015)。因此, 大针茅和羊草的避牧性防御机制并非机械防御而主要依靠次级代谢产物进行化学防御。

由于大针茅与羊草的生理基础存在差异, 因而二者的碳氮资源利用策略有所不同。在6月生长初期, 大针茅面对轻度和极重度放牧胁迫, 叶片中的生物碱含量显著降低, 且与C:N呈较弱的正相关关系, 说明在生长初期大针茅虽然面对啃食胁迫提高了叶片内氮含量, 但并没有将氮用于合成生物碱增强防御能力, 而用于维持生长发育 (Zhou *et al.*, 2015; Guo *et al.*, 2018)。在8月生长末期, 中度及重度放牧可以促使大针茅叶片中的生物碱含量显著提高, 说明大针茅防御机制中的氮代谢途径可能在长时间胁迫条件下才会表达, 也可能是对季节变化的响应 (徐瑞等, 2012; Fuchs *et al.*, 2017a; Isah, 2019)。在6月生长初期, 羊草面对中度放牧胁迫, 叶片中各种次级代谢产物含量均增多, 说明其化学防御机制中的碳氮代谢途径都得到了较充分的诱导和表达, 叶片中的氮被高效利用 (翟占伟等, 2017)。在8月生长末期, 羊草叶片中的生物碱含量基本都较6月时有所降低, 这可能是由于牧草将部分生物碱转移到了果穗及种子中, 以提高种子抗性; 也可能是由于牧草将氮用于合成氨基酸等其他物质以便繁殖 (Zhou *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2019a)。

综上所述, 大针茅与羊草只有在生长初期面对轻度放牧胁迫时, 更倾向于补偿生长而非防御。且二者在防御机制的选择上更侧重化学防御, 而非机械防御, 羊草在中度放牧胁迫下化学防御机制得到

了较充分的诱导和表达。大针茅在生长初期优先利用碳资源进行防御代谢, 在生长末期将碳氮资源均用于合成相关防御代谢产物; 而羊草在生长初期和生长末期以及不同放牧胁迫下, 均通过碳氮两种代谢途径进行防御。因此, 可以认为羊草较大针茅对环境中的氮的需求较低且有更高的氮利用效率(秦洁等, 2016; 翟占伟等, 2017)。

4 结论

大针茅与羊草两种优势种植物在放牧胁迫下的防御策略既有共同点, 也存在差异。二者均将叶片作为次级代谢产物的主要合成及储存器官, 有利于直接抵御放牧胁迫。根和茎中次级代谢产物含量虽不及叶片, 但在整个防御过程中仍然扮演着很重要的角色。虽然大针茅与羊草的生理基础存在差异, 但在避牧机制上都更倾向于化学防御而非机械防御, 羊草的化学防御机制在中度放牧胁迫下得到了较充分的诱导及表达。二者的碳氮权衡策略有所不同, 大针茅在生长初期倾向于只将碳资源用于防御代谢, 而在生长后期才利用氮资源合成生物碱; 羊草因为具有较高的氮利用效率, 可以通过碳氮两种代谢途径进行防御。此外, 大针茅和羊草都有较好的耐牧性, 在生长初期面对轻度放牧胁迫更倾向于补偿生长。因此, 在内蒙古温带典型草原, 轻度放牧可以使大针茅和羊草将更多的碳氮资源用于初级代谢过程, 从而提高资源利用效率, 以及生态系统的生产力及稳定性。

参考文献

- Al-Saeedi AH, Hossain MA (2015). Total phenols, total flavonoids contents and free radical scavenging activity of seeds crude extracts of pigeon pea traditionally used in Oman for the treatment of several chronic diseases. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5, 316–321.
- Appel HM, Arnold TM, Schultz JC (2012). Effects of jasmonic acid, branching and girdling on carbon and nitrogen transport in poplar. *New Phytologist*, 195, 419–426.
- Brandolini A, Castoldi P, Plizzari L, Hidalgo A (2013). Phenolic acids composition, total polyphenols content and antioxidant activity of *Triticum monococcum*, *Triticum turgidum* and *Triticum aestivum*: a two-years evaluation. *Journal of Cereal Science*, 58, 123–131.
- Brock AK, Berger B, Schreiner M, Ruppel S, Mewis I (2018). Plant growth-promoting bacteria *Kosakonia radicincitans* mediate anti-herbivore defense in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 248, 1383–1392.
- Bryant JP, Chapin FS, Klein DR (1983). Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos*, 40, 357–368.
- Chen HY, Zhang JH, Huang YM, Gong JR (2014). Traits related to carbon sequestration of common plant species in a *Stipa grandis* steppe in Nei Mongol under different land-uses. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 38, 821–832. [陈慧颖, 张景慧, 黄永梅, 龚吉蕊 (2014). 内蒙古大针茅草原常见植物在不同土地利用方式下的固碳相关属性. 植物生态学报, 38, 821–832.]
- Dong BC, Fu T, Luo FL, Yu FH (2017). Herbivory-induced maternal effects on growth and defense traits in the clonal species *Alternanthera philoxeroides*. *Science of the Total Environment*, 605–606, 114–123.
- Erb M (2018). Volatiles as inducers and suppressors of plant defense and immunity—Origins, specificity, perception and signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 44, 117–121.
- Fuchs B, Krischke M, Mueller MJ, Krauss J (2017a). Herbivore-specific induction of defence metabolites in a grass-endophyte association. *Functional Ecology*, 31, 318–324.
- Fuchs B, Krischke M, Mueller MJ, Krauss J (2017b). Plant age and seasonal timing determine endophyte growth and alkaloid biosynthesis. *Fungal Ecology*, 29, 52–58.
- Garland Jr T (2014). Trade-offs. *Current Biology*, 24, 60–61.
- Guo Q, Major IT, Howe GA (2018). Resolution of growth-defense conflict: mechanistic insights from jasmonate signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 44, 72–81.
- Herms DA, Mattson WJ (1992). The dilemma of plants: to grow or defend. *The Quarterly Review of Biology*, 67, 283–335.
- Herrero-Jáuregui C, Oesterheld M (2018). Effects of grazing intensity on plant richness and diversity: a meta-analysis. *Oikos*, 127, 757–766.
- Hu J, Hou XY, Sa RL, Li XL, Wang Z, Ding Y (2016). Regulatory effects of *stip grandis* on above-ground biomass of plant community in grazing ecosystem. *Acta Agrestia Sinica*, 24, 1–11. [胡静, 侯向阳, 萨茹拉, 李西良, 王珍, 丁勇 (2016). 大针茅对放牧生态系统植物群落地上生物量的调控作用. 草地学报, 24, 1–11.]
- Isah T (2019). Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological Research*, 52, 39. DOI: 10.1186/s40659-019-0246-3.
- Kabir MSH, Ahmad S, Mahamoud MS, Masum MAA, Kamal ATMM, Hoque MA, Chakrabarty N, Hasanat A, Adnan M (2015). Evaluation of Total condensed tannin content and anthelmintic activities of organic extracts of four *Bangladeshi* plants on *Tubifex tubifex* worm using *in vitro* method. *International Journal of Pharmacy*, 5, 903–910.
- Li JM, Jin ZX, Zhou Y (2007). Endangered species long Ye

- Torreya jackii* secondary metabolic content analysis. *Journal of Fujian Forestry Science and Technology*, 34, 29–32. [李钧敏, 金则新, 周杨 (2007). 长叶榿不同营养器官次生代谢产物含量分析. 福建林业科技, 34, 29–32.]
- Li LY, Song B, Chen J, Sun BD, Zhang GS, Deng H, Ding G (2018). Advance on secondary metabolites of grassland and desert plants endophytic fungi. *Microbiology China*, 45, 1146–1160. [李露莹, 宋波, 陈娟, 孙炳达, 张桂山, 邓晖, 丁刚 (2018). 草原与荒漠植物内生真菌次生代谢产物研究进展. 微生物学通报, 45, 1146–1160.]
- Li SY (2013). *Study on Determination of Fifteen Alkaloids and Their Distribution in Grass and Derived Products by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry*. Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing. [李爽跃 (2013). 牧草及草产品中有害生物碱LC-MS/MS检测方法及其分布特点研究. 中国农业科学院, 北京.]
- Li XL, Liu ZY, Hou XY, Wu XH, Wang Z, Hu J, Wu ZN (2015). Plant functional traits and their trade-offs in response to grazing: a review. *Chinese Bulletin of Botany*, 50, 159–170. [李西良, 刘志英, 侯向阳, 吴新宏, 王珍, 胡静, 武自念 (2015). 放牧对草原植物功能性状及其权衡关系的调控. 植物学报, 50, 159–170.]
- Lin KM, Ye FM, Lin Y, Li QS (2010). Research advances of phenolic functional mechanisms in soils and plants. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 18, 1130–1137. [林开敏, 叶发茂, 林艳, 李卿叁 (2010). 酚类物质对土壤和植物的作用机制研究进展. 中国生态农业学报, 18, 1130–1137.]
- Liu M, Gong JR, Li Y, Li XB, Yang B, Zhang ZH, Yang LL, Hou XY (2019a). Growth-defense trade-off regulated by hormones in grass plants growing under different grazing intensities. *Physiologia Plantarum*, 166, 553–569.
- Liu MM, Jia L, Zhang HQ, Zang XL, Zhang RM, Gao Y (2015). Mechanical damage on secondary metabolites from *Artemisia frigida* leaves. *Journal of Zhejiang A & F University*, 32, 845–852. [刘盟盟, 贾丽, 张洪芹, 臧晓琳, 张汝民, 高岩 (2015). 机械损伤对冷蒿叶片次生代谢产物的影响. 浙江农林大学学报, 32, 845–852.]
- Liu YY, Wang Q, Zhang ZY, Tong LJ, Wang ZQ, Li JL (2019b). Grassland dynamics in responses to climate variation and human activities in China from 2000 to 2013. *Science of the Total Environment*, 690, 27–39.
- Louault F, Pillar VD, Aufrère J, Garnier E, Soussana JF (2005). Plant traits and functional types in response to reduced disturbance in a semi-natural grassland. *Journal of Vegetation Science*, 16, 151–160.
- Lu H, McKnight TD (1999). Tissue-specific expression of the β -subunit of tryptophan synthase in *Camptotheca acuminata*, an indole alkaloid-producing plant. *Plant Physiology*, 120, 43–52.
- Mathesius U (2018). Flavonoid functions in plants and their interactions with other organisms. *Plants*, 7, 30. DOI: 10.3390/plants7020030.
- Mundim FM, Pringle EG (2018). Whole-plant metabolic allocation under water stress. *Frontiers in Plant Science*, 9, 852. DOI: 10.3389/fpls.2018.00852.
- Olmo-García L, Kessler N, Neuweiger H, Wendt K, Olmo-Peinado J, Fernández-Gutiérrez A, Baessmann C, Carrasco-Pancorbo A (2018). Unravelling the distribution of secondary metabolites in *Olea europaea* L.: exhaustive characterization of eight olive-tree derived matrices by complementary platforms (LC-ESI/APCI-MS and GC-APCI-MS). *Molecules*, 23, 2419. DOI: 10.3390/molecules23102419.
- Pu JS (2016). *Determination, Extraction and Concentration Analysis of Alkaloid in Mulberry Leaves*. Master degree dissertation, Southwest University, Chongqing. [蒲俊松 (2016). 桑叶生物碱的检测提取及含量分析. 硕士学位论文, 西南大学, 重庆.]
- Qin HY, Li W, Dai LY (2015). Research progress of plant metabolites function on resistant response. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 31, 256–259. [覃瀚仪, 李魏, 戴良英 (2015). 植物代谢产物在抗病反应中的功能研究进展. 中国农学通报, 31, 256–259.]
- Qin J, Han GD, Qiao J, Wu Q, Jin YX (2016). Response of *Leymus chinensis* above-ground biomass to grazing intensity in different grasslands of Inner Mongolia. *Chinese Journal of Grassland*, 38, 76–82. [秦洁, 韩国栋, 乔江, 武倩, 靳宇曦 (2016). 内蒙古不同草地类型中羊草地上生物量对放牧强度的响应. 中国草地学报, 38, 76–82.]
- Sasaki T, Lauenroth WK (2011). Dominant species, rather than diversity, regulates temporal stability of plant communities. *Oecologia*, 166, 761–768.
- Smith MD, Knapp AK (2003). Dominant species maintain ecosystem function with non-random species loss. *Ecology Letters*, 6, 509–517.
- Srinivasa YB (2018). Breaching plant defence theories: growth rates of plants directly impact the evolution of consumption rates of herbivorous insects. *Current Science*, 114, 258–260.
- Swemmer AM, Knapp AK (2008). Defoliation synchronizes aboveground growth of co-occurring C₄ grass species. *Ecology*, 89, 2860–2867.
- van Soest PJ (1967). Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. *Journal of Animal Science*, 26, 119–128.
- Xu R, Nan ZB, Zhou YF, Li CJ (2012). Distribution and seasonal dynamics of ergot alkaloids in *Elymus dahuricus*-endophytic fungus symbiont. *Acta Prataculturae Sinica*, 21, 84–92. [徐瑞, 南志标, 周雁飞, 李春杰 (2012). 披碱草内生真菌共生体中麦角生物碱的组织分布与季节动态. 草业学报, 21, 84–92.]
- Xu S, Gong JR, Zhang ZY, Liu M, Wang YH, Luo QP (2014). The ecological stoichiometry of dominant species in different

- land uses type of grassland. *Acta Prataculturae Sinica*, 23, 45–53. [徐沙, 龚吉蕊, 张梓榆, 刘敏, 王忆慧, 罗亲普 (2014). 不同利用方式下草地优势植物的生态化学计量特征. *草业学报*, 23, 45–53.]
- Yan XF, Wang Y, Li YM (2007). Plant secondary metabolism and its response to environment. *Acta Ecologica Sinica*, 27, 2554–2562. [阎秀峰, 王洋, 李一蒙 (2007). 植物次生代谢及其与环境的关系. *生态学报*, 27, 2554–2562.]
- Yang L, Wen KS, Ruan X, Zhao YX, Wei F, Wang Q (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23, 762. DOI: 10.3390/molecules 23040762.
- Zhai ZW, Gong JR, Luo QP, Pan Y, Bao Y, Xu S, Liu M, Yang LL (2017). Effects of nitrogen addition on photosynthetic characteristics of *Leymus chinensis* in the temperate grassland of Nei Mongol, China. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 41, 196–208. [翟占伟, 龚吉蕊, 罗亲普, 潘琰, 宝音陶格涛, 徐沙, 刘敏, 杨丽丽 (2017). 氮添加对内蒙古温带草原羊草光合特性的影响. *植物生态学报*, 41, 196–208.]
- Zhao G, Cui ZR (1999). Selective grazing of animals and the response of plants. *Grassland of China*, 21, 62–67. [赵钢, 崔泽仁 (1999). 家畜的选择性采食对草地植物的反应. *中国草地*, 21, 62–67.]
- Zhao Q, Dixon RA (2011). Transcriptional networks for lignin biosynthesis: More complex than we thought? *Trends in Plant Science*, 16, 227–233.
- Zhou GY, Zhou XH, He YH, Shao JJ, Hu ZH, Liu RQ, Zhou HM, Hosseinibai S (2017). Grazing intensity significantly affects belowground carbon and nitrogen cycling in grassland ecosystems: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 23, 1167–1179.
- Zhou SQ, Lou YR, Tzin V, Jander G (2015). Alteration of plant primary metabolism in response to insect herbivory. *Plant Physiology*, 169, 1488–1498.

责任编辑: 王锁民 责任编辑: 李 敏