

史俊,杨鹤同,徐超,等.水杨酸对 Na_2CO_3 胁迫下铁皮石斛幼苗生理特性的影响[J].江苏农业科学,2019,47(23):176-180.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.23.042

水杨酸对 Na_2CO_3 胁迫下铁皮石斛 幼苗生理特性的影响

史俊¹, 杨鹤同¹, 徐超¹, 席刚俊¹, 赵菊润²

(1. 江苏农林职业技术学院, 江苏句容 212400; 2. 云南省龙陵县石斛研究所, 云南龙陵 678300)

摘要:以铁皮石斛为材料,设置 Na_2CO_3 (50 mmol/L)胁迫和外源水杨酸(SA)处理(0~5 mmol/L)试验,通过测定铁皮石斛各项生理指标,研究水杨酸(SA)对铁皮石斛幼苗耐盐碱性的效应。结果表明,在 Na_2CO_3 胁迫环境下,随时间延长,铁皮石斛可提高有机渗透调节物质(可溶性蛋白、脯氨酸)含量和抗氧化保护酶(过氧化歧化酶、过氧化物酶、抗坏血酸过氧化物酶、过氧化氢酶)活性应对胁迫,不同浓度水杨酸均可进一步提升各项生理指标水平,保证叶绿素的正常合成和根系活力,降低细胞膜质过氧化伤害,提高铁皮石斛抗盐碱的能力,综合来看,以喷施 3.0 mmol/L SA 效果最佳。

关键词:铁皮石斛;抗盐碱性;水杨酸;生理指标;有机渗透调节物质;抗氧化保护酶

中图分类号: S567.23⁺9.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)23-0176-05

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)为兰科石斛属多年生草本植物,属国家二级保护植物,具有益胃生津、滋阴清热、抗衰老、抗肿瘤、降血糖、提高免疫力等功效^[1-4]。由于长期毁灭性采挖与生存环境破坏,野生资源濒临灭绝,通过人工手段繁殖和栽培铁皮石斛是满足市场需求和保护野生铁皮石斛资源的主要手段。目前,全球气候不断变暖,土壤盐碱化越来越严重,水体盐碱性也越来越严重,pH 值偏高,铁皮石斛栽培虽多采用无土栽培,不与土壤直接接触,但灌溉用水一般采用地表水或地下水直接浇灌,水源中较高的盐碱性常常会阻碍铁皮石斛生长,造成僵苗或导致死亡。因此,研究铁皮石斛的耐盐碱机理及提高其抗盐碱性的措施,对铁皮石斛产业的可持续化生产有重要的意义。

水杨酸(SA)是植物体内的一种小分子酚类化合物,也是一种重要的内源激素,参与植物的多种生理活动的调节^[5],对植物抗逆性具有重要作用^[6-7],是植物系统获得性抗性的重要诱导因子,以往对 SA 的研究更多集中在抗病性方面,Raskin 研究发现,SA 及其类似物能诱导植物产生抗盐性状^[8]。近些年来,许多学者研究了 SA 提高黄瓜、玉米、小麦、荞麦等多种作物抗盐性的效果和生理机制^[9-14],但多采用中性盐进行研究,有关 SA 在提高植物抗碱性盐胁迫方面的研究鲜有报道,因此本研究以铁皮石斛 2 年生幼苗为材料,通过

喷施不同浓度 SA,研究 SA 对碱性盐(Na_2CO_3)胁迫下铁皮石斛叶绿素、丙二醛(MDA)、脯氨酸(Pro)、可溶性蛋白含量,保护酶活性及根系活力等生理指标的影响,为选择适宜浓度的水杨酸、提高铁皮石斛抗盐碱性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

铁皮石斛组培苗温室中盆栽种植 1 年,选择生长一致、株高 15 cm 左右的组培苗作为试验材料,由江苏农林职业技术学院中药材种植基地提供。

1.2 试验方法

1.2.1 材料处理 2016 年 6 月在江苏农博园温室大棚内以 50 mmol/L Na_2CO_3 溶液(pH 值为 10.8)浇灌铁皮石斛幼苗根部,频率为 1 次/d,浇灌结束分别用不同浓度 SA 溶液及时均匀喷施叶片正反面,至溶液欲滴为度,SA 浓度分别为 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mmol/L,即标记为 CK、S1、S2、S3、S4、S5,每处理 3 次重复,每个重复 5 盆苗。

1.2.2 生理指标测定 分别于处理后 0、5、10 d 对每个处理随机选取 6 株苗,剪取叶片,去除粗大的主叶脉,测定叶绿素、可溶性蛋白、MDA、Pro 含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性,剪取根尖测铁皮石斛根系活力。MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸法^[15],游离 Pro、可溶性蛋白含量测定参照高俊凤^[16]的方法,根系活力测定采用 TTC 法^[17],SOD、POD、CAT、APX 活性及叶绿素含量采用苏州科铭生物技术有限公司提供的试剂盒测定。

1.3 数据分析

采用 SPSS 统计软件对数据进行分析,采用 Excel 软件作图。

收稿日期:2018-08-23

基金项目:江苏省高校自然科学基金(编号:16KJB210017);江苏省特粮物经产业技术体系-中药材推广示范基地建设项目[编号:JATS(2018)230];江苏农林职业技术学院院级项目(编号:2018KJ40)。

作者简介:史俊(1979—),男,江苏扬州人,硕士,讲师,主要从事药用植物育种及栽培研究。E-mail:shijun3322@163.com。

通信作者:赵菊润,高级工程师,主要从事石斛品种选育和栽培研究。E-mail:zjr9296@126.com。

2 结果与分析

2.1 SA 对 Na_2CO_3 胁迫下铁皮石斛叶绿素含量的影响

叶绿素(叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素)含量能够反映光合作用的能力。由表 1 可以看出,当用 Na_2CO_3 对铁皮石斛进行胁迫时,SA 短时间处理(5 d)的铁皮石斛叶绿素(叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素)含量出现较大程度的降低,但随着处理时间的延长,铁皮石斛叶绿素(叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素)含量有所上升,说明铁皮石斛对 Na_2CO_3 的胁迫有一定的

逐步适应能力。当用不同浓度 SA 喷施受胁迫铁皮石斛苗时,短时间(5 d)可以有效缓解 Na_2CO_3 对铁皮石斛的胁迫,虽然各处理总叶绿素含量分别比处理前低 40.9%、6.3%、36.8%、18.6%、17.7%、35.1%,但均高于 CK;随着处理时间的延长(10 d),不同处理中总叶绿素含量出现了分化,但大部分处理低于处理前(0 d)的水平,处理 5、10 d 时,S3 处理总叶绿素含量都达到较大值,与其他处理呈显著差异,特别是处理 10 d 时,S3 处理总叶绿素含量甚至高于处理前(0 d)的水平。

表 1 不同浓度 SA 对 Na_2CO_3 胁迫下铁皮石斛叶绿素合成的影响

处理	叶绿素含量(mg/g)								
	0 d			5 d			10 d		
	叶绿素 a	叶绿素 b	总叶绿素	叶绿素 a	叶绿素 b	总叶绿素	叶绿素 a	叶绿素 b	总叶绿素
CK	0.485±0.031a	0.187±0.015a	0.672±0.046a	0.293±0.034b	0.104±0.026b	0.397±0.060c	0.393±0.085bc	0.118±0.031b	0.509±0.11bc
S1	0.485±0.031a	0.187±0.015a	0.672±0.046a	0.403±0.091a	0.177±0.002a	0.630±0.022a	0.478±0.029ab	0.173±0.020ab	0.651±0.049ab
S2	0.485±0.031a	0.187±0.015a	0.672±0.046a	0.312±0.016ab	0.113±0.022b	0.425±0.036c	0.280±0.046c	0.098±0.026b	0.378±0.071c
S3	0.485±0.031a	0.187±0.015a	0.672±0.046a	0.393±0.011a	0.154±0.010ab	0.547±0.017ab	0.582±0.018a	0.205±0.012a	0.787±0.010a
S4	0.485±0.031a	0.187±0.015a	0.672±0.046a	0.404±0.033a	0.149±0.033ab	0.553±0.065ab	0.352±0.069c	0.131±0.010b	0.483±0.079c
S5	0.485±0.031a	0.187±0.015a	0.672±0.046a	0.358±0.018ab	0.117±0.006b	0.436±0.066bc	0.288±0.091c	0.091±0.021b	0.379±0.110c

注:不同小写字母表示同期处理间差异达 5% 显著水平。

2.2 水杨酸对 Na_2CO_3 胁迫下铁皮石斛脯氨酸和可溶性蛋白含量的影响

可溶性蛋白和脯氨酸都是植物体在逆境下调节细胞渗透势的调节物质,能够增强植物对逆境的抵抗力。从图 1 可知,在 SA 短时间(5 d)处理下,受胁迫铁皮石斛可溶性蛋白含量出现了下降,但随处理时间的延长(10 d),可溶性蛋白含量提高,喷施不同浓度的 SA 均能有效提高可溶性蛋白含量。处

理 5 d 时,S3 处理可溶性蛋白含量达到最高,与其他处理呈显著差异,继续喷施不同浓度 SA 至 10 d 时,所有处理可溶性蛋白含量均达到一定水平,各处理间差异不显著。与可溶性蛋白含量不同,随着胁迫时间的延长,脯氨酸含量呈现快速上升的趋势(图 2),喷施不同浓度的 SA 有利于促进植株体内脯氨酸含量的提高,在处理 5、10 d 时,S3 处理的脯氨酸含量都达到最大值,并与 CK 差异显著($P < 0.05$)。

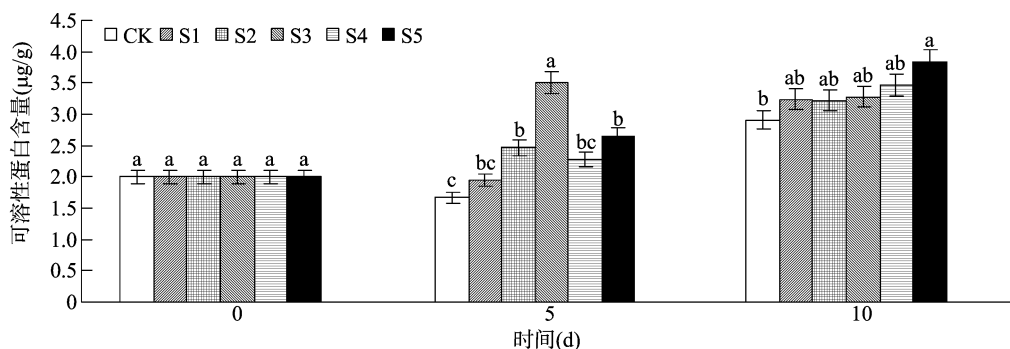


图1 Na_2CO_3 胁迫下喷施不同浓度 SA 对铁皮石斛叶片中可溶性蛋白含量的影响

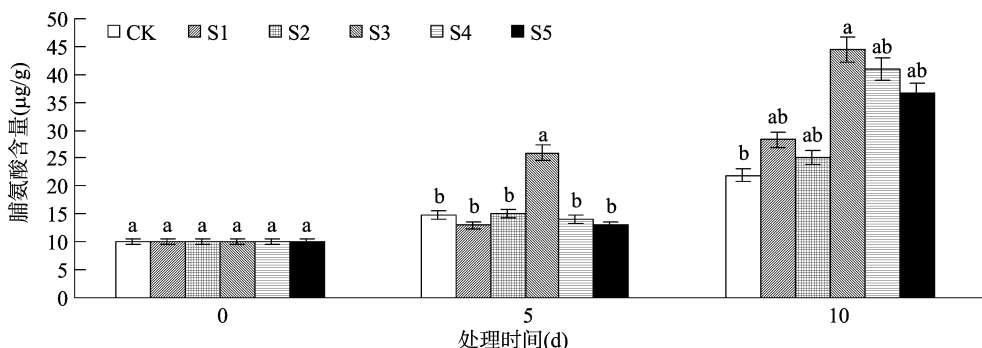


图2 Na_2CO_3 胁迫下喷施不同浓度 SA 对铁皮石斛叶片中脯氨酸含量的影响

2.3 水杨酸对 Na_2CO_3 胁迫下铁皮石斛 MDA 含量的影响

MDA 作为膜脂过氧化过程中的主要产物之一,其含量的变化可反映细胞膜脂损伤程度。由图 3 可知,随着胁迫时间的延长,植株体内 MDA 含量大体呈现上升趋势,在同一处理时间内,MDA 含量随水杨酸浓度提高大体呈现先下降后上升的趋势,在处理 5 d 时,除 S5 处理外,其余处理 MDA 含量均

低于对照,其中 S3 处理 MDA 含量最低,仅为 $0.4 \mu\text{mol/g}$,与对照和 S5 处理差异显著;当处理 10 d 时,除 S1 处理,其余处理 MDA 含量也均低于对照,其中 S2 和 S3 处理 MDA 含量较低。由此可见,S2 和 S3 处理均能有效减轻细胞膜结构的损伤,提高铁皮石斛的抗盐碱性。

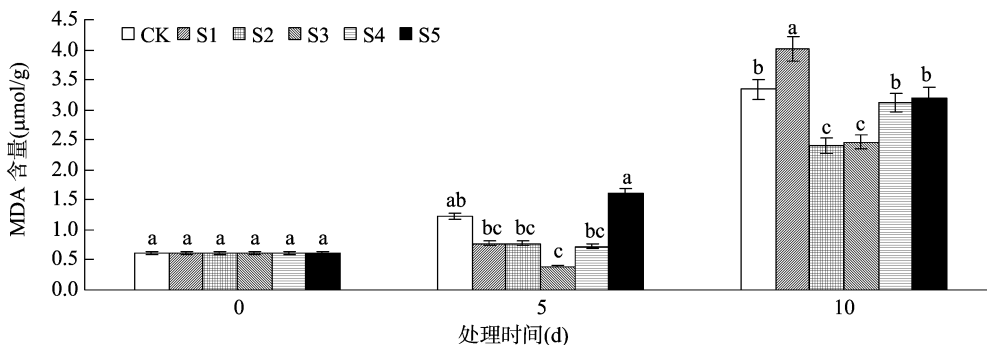


图3 Na_2CO_3 胁迫下喷施不同浓度 SA 对铁皮石斛叶片中 MDA 含量的影响

2.4 水杨酸对 Na_2CO_3 胁迫下铁皮石斛保护酶活性的影响

植物体内存在的 SOD、POD、APX、CAT 等抗氧化酶系,对清除植物体内的过量活性氧、维持活性氧的代谢平衡、防御膜脂过氧化等方面起到积极地作用,SOD 是植物体内清除活性氧的重要细胞保护酶,其活性反映植物对逆境胁迫的适应能力。从图 4 可以看出, Na_2CO_3 胁迫下的铁皮石斛幼苗 SOD 活性随处理时间延长呈先上升后略微下降的趋势;在同一处

理时间内,SOD 活性随喷施 SA 的浓度总体呈先上升后下降的趋势,并且所有处理 SOD 活性均高于 CK。处理 5 d 时,SOD 活性基本达到最大,其中 S1 和 S2 处理 SOD 活性较高,分别比 CK 高 95.9% 和 159.8%,并与 CK 差异显著。说明 SA 可以提高 Na_2CO_3 胁迫下铁皮石斛叶片中的 SOD 活性,提高铁皮石斛的抗盐碱性。

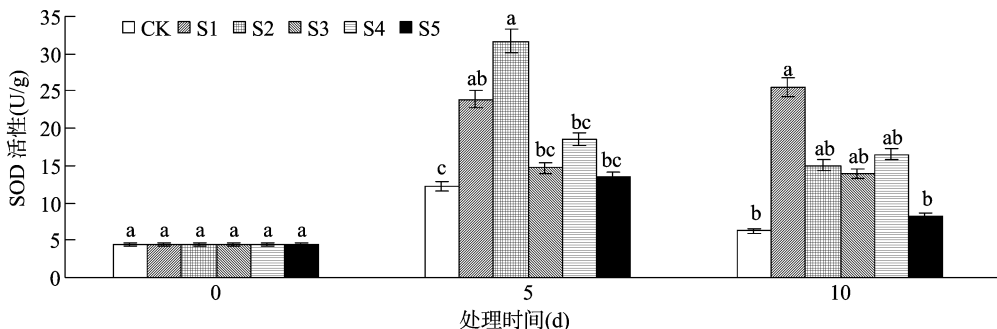


图4 Na_2CO_3 胁迫下喷施不同浓度 SA 对铁皮石斛叶片中 SOD 含量的影响

POD 是植物体内广泛存在的一种呼吸酶,一定程度上反映植物的代谢活力。POD 活性越高,植株体内代谢越旺盛,其抗逆能力就越强。从图 5 可以看出,铁皮石斛受到 Na_2CO_3 胁迫初期,POD 活性受到了很大抑制,但随着胁迫时间的延长,铁皮石斛对 Na_2CO_3 胁迫产生一定的适应,POD 活性有一

定的恢复。处理 5 d 时,所有处理 POD 活性都高 CK,并且 S2 处理最高,与其他处理差异显著;处理 10 d 时,S3 处理 POD 活性达到最高,并与其他处理呈显著差异。由此可见,喷施一定浓度的水杨酸可以有效解除 Na_2CO_3 胁迫时铁皮石斛 POD 活性受到的抑制,并在一定程度上提高 POD 活性。

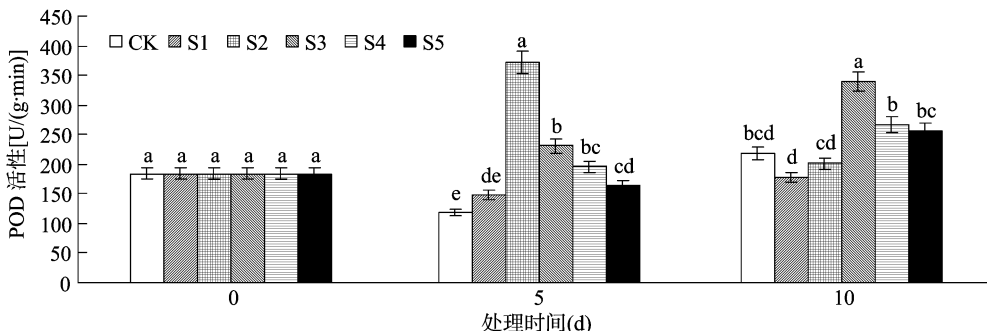


图5 Na_2CO_3 胁迫下喷施不同浓度 SA 对铁皮石斛叶片中 POD 活性的影响

CAT 是植株逆境胁迫下的主要响应因子之一。从图 6 可以看出,随着处理时间的延长,CAT 活性呈现上升趋势。处理 5 d 时,S2 处理 CAT 活性最高,但与 CK 处理差异不显著,

S4、S5 处理 CAT 活性低于 CK;但当处理 10 d 时,所有处理 CAT 活性均高于 CK,S4 处理达到最大值,与其他各处理呈显著差异。

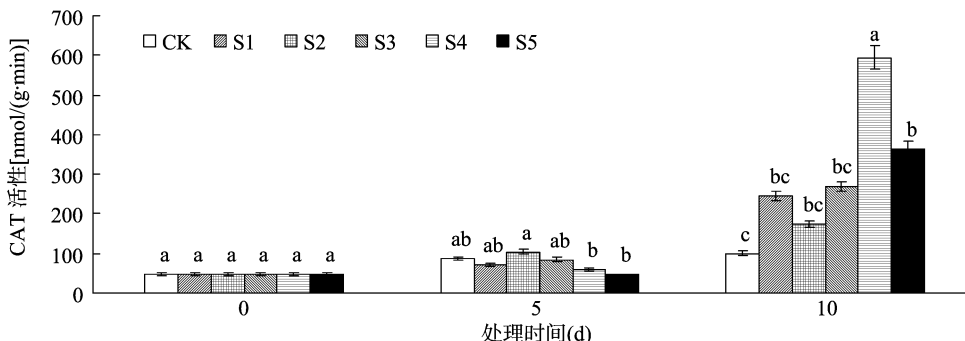


图6 Na_2CO_3 胁迫下喷施不同浓度 SA 对铁皮石斛叶片中 CAT 含量的影响

APX 是植物清除活性氧的重要抗氧化酶之一,也是抗坏血酸代谢的关键酶之一。从图 7 可见, Na_2CO_3 胁迫对铁皮石斛 APX 活性有较强的抑制作用,并且在较长的处理时间内,铁皮石斛无法有效缓解这种抑制作用,喷施 SA 后,各处理

APX 活性均高于 CK,并随着处理时间的延长,各处理 APX 活性呈上升趋势,在同一处理时间内,APX 活性随 SA 浓度的提高大体呈现先上升后下降的趋势,S3 处理在处理 10 d 时达到最大,并与其他各处理呈差异显著。

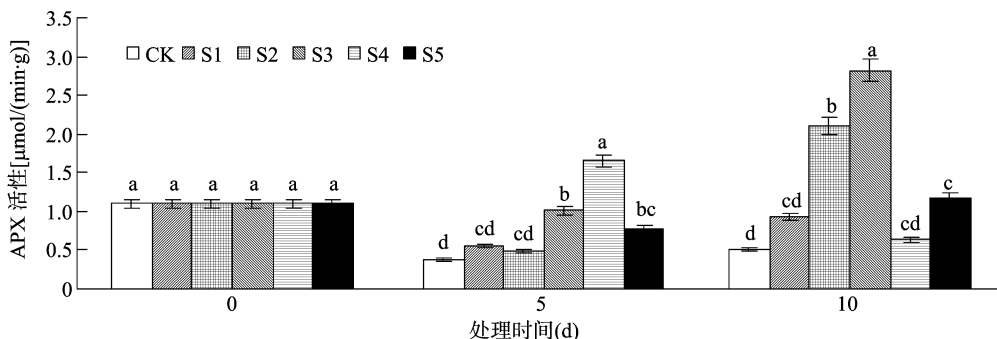


图7 Na_2CO_3 胁迫下喷施不同浓度 SA 对铁皮石斛叶片中 APX 活性的影响

2.5 水杨酸对 Na_2CO_3 胁迫下铁皮石斛根系活力的影响

植物根系是活跃的吸收器官和合成器官,根的生长情况和活力水平直接影响地上部营养状况及产量水平。铁皮石斛在受到 Na_2CO_3 胁迫时,根系活力会受到抑制,结果如图 8 所示。在处理 5 d 时,铁皮石斛所有处理根系活力都出现了下降,其中 CK 处理根系活力仅为 $31.64 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{h})$,较处理前,根系活力下降了 53.5%,其他处理也分别下降了 11.0%、7.8%、6.9%、22.8% 和 3.6%,下降幅度显著小于 CK,但各处理之间无显著差异;当处理 10 d 时,CK 根系活力得到一定程度的恢复,达到 $61 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{h})$,但仍略低于处理前根系活力,其他处理根系活力均高于处理前,分别提高了 42.4%、

25.7%、41.3%、21.4% 和 9.0%,均与 CK 差异显著,其中 S1 和 S3 处理根系活力较高,分别达到 97.0 、 $96.2 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{h})$,并与 S5 处理差异显著。由此可见,铁皮石斛在受到 Na_2CO_3 胁迫初期,根系活力受到较大的抑制,但随着胁迫时间的延长,铁皮石斛的根系逐步适应胁迫环境,根系活力有一定程度的提高,水杨酸有效缓解铁皮石斛受胁迫初期时根系活力受到的抑制,并在进一步的处理中有提高根系活力的作用。

3 讨论

偏碱性水源对铁皮石斛是盐害与碱害并存,生长在碳酸盐条件下,铁皮石斛除了要忍受 Na^+ 胁迫外,还要对抗水中的

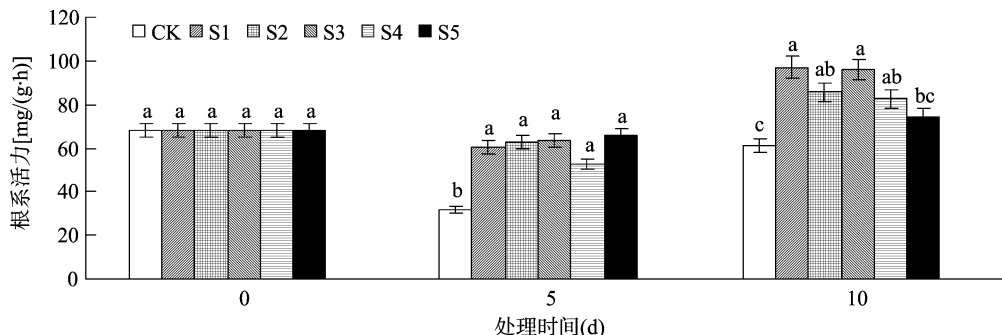


图8 不同浓度水杨酸对 Na_2CO_3 胁迫下铁皮石斛根系活力的影响

高 pH 值所造成的胁迫,中性盐胁迫作用并不能代表真实情况。考虑到上述原因,本试验通过对碱性盐(Na_2CO_3)胁迫下铁皮石斛喷施不同浓度 SA 来研究 SA 对铁皮石斛 Na_2CO_3 的胁迫作用,为铁皮石斛在盐碱环境中成功种植提供参考。

叶绿素作为植物进行光合作用的主要光合色素,其含量的高低与叶片的光合能力和光合潜力密切相关,因此也通常把叶绿素含量作为叶片功能的一个重要指标^[18]。植物在盐碱处理条件下叶片叶绿素合成前体物质的减少,会引起叶绿素 a 和叶绿素 b 含量的减少^[19]。在本试验中,铁皮石斛受到 Na_2CO_3 胁迫后,叶绿素含量随处理时间呈先降低后略微恢复,喷施一定量的 SA 后,叶绿素含量较对照显著增加,这与孙德智等的研究结果^[14,20]相吻合。

脯氨酸和可溶性蛋白都是植物体在逆境下调节细胞渗透势的物质,能够增强植物对逆境的抵抗力。盐胁迫下细胞内水势由于外界离子的作用而升高,为避免细胞失水,植物体内会产生脯氨酸和可溶性蛋白等渗透调节物质,以此保证细胞正常吸水。本试验结果表明,50 mmol/L Na_2CO_3 胁迫可以促进铁皮石斛叶片中的 Pro 和可溶性蛋白含量的提高,喷施 SA 可以进一步提高其含量,尤其以 S3 处理效果最好,与黄晓西等的研究结果^[13-14,21]相似,郭慧娟研究发现,植物体可以通过增加可溶性蛋白含量提高细胞渗透调节能力,从而增强植物对盐胁迫的适应能力^[22]。如果说 SA 作用下 Pro 和可溶性蛋白含量的升高,有利于盐碱胁迫下植株渗透能力的提高,那么盐碱胁迫下渗透调节物质的提高就是铁皮石斛的一种自我保护机制,同时也说明了在短时间内,铁皮石斛对低浓度的盐碱胁迫具有一定的适应能力。由此表明外源 SA 可以促进盐碱胁迫下铁皮石斛植株蛋白质的合成,维持植株水分运输和叶片的光合功能。

植物遭受逆境胁迫时,细胞内的活性氧不断积累,发生膜脂过氧化,破坏膜结构,影响细胞的正常功能^[7],提高 MDA 水平。从植物内部代谢来看,植物对逆境胁迫的原初反应是活性氧代谢,SOD、POD、APX 以及 CAT 是植物体内 4 中重要的抗氧化酶,逆境胁迫中可清除过量的活性氧,缓解膜脂过氧化伤害。本试验结果表明,50 mmol/L Na_2CO_3 胁迫提高了铁皮石斛叶片中 SOD 和 CAT 活性,但在胁迫初期会抑制 POD 和 APX 活性,随着胁迫时间的延长,所有抗氧化酶活性都得到了提高,喷施 SA 进一步提高其活性,并以 S3 处理抗氧化酶活性最高,叶片中 MDA 水平总体随胁迫时间的延长不断增加,但同一时间内,各处理 MDA 含量变化趋势与抗氧化酶活性相反,说明 SA 能有效提高抗氧化酶的活性,清除了细胞中过量的活性氧,缓解了膜脂过氧化的伤害,同时铁皮石斛在受到 Na_2CO_3 胁迫后,根系活力出现了大幅度降低,喷施 SA 后,铁皮石斛根系活力得到提高,由此说明 SA 不但可以通过韧皮部运输到根部,还能保护和促进铁皮石斛根系的生长。

综上所述,当铁皮石斛受到一定浓度的盐碱(Na_2CO_3)胁迫时,铁皮石斛可以在一定程度上通过提高有机渗透调节物质(可溶性蛋白、Pro)含量和抗氧化保护酶(SOD、POD、APX、CAT)活性应对胁迫,喷施 SA 可以进一步提升上述物质的含量,增强铁皮石斛应对胁迫的能力,保证叶绿素的正常合成和根系活力,显著降低细胞膜质过氧化伤害,从而更有效提高铁皮石斛抗盐碱的能力,综合来看,以喷施 3.0 mmol/L SA 效果

最佳。

参考文献:

- [1] 李娟,李顺祥,黄丹,等. 铁皮石斛资源、化学成分及药理作用研究进展[J]. 科技导报,2011,29(18):74-79.
- [2] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:524.
- [3] 蔡光先,李娟,李顺祥,等. 铁皮石斛古代与现代的应用概况[J]. 湖南中医药大学学报,2011,31(5):77-81.
- [4] 谭丹,杨传玉,胡珺,等. 贵州不同产地铁皮石斛的单糖组成[J]. 贵州农业科学,2016,44(9):105-108.
- [5] 孟雪娇,邸昆,丁国华. 水杨酸在植物体内的生理作用研究进展[J]. 中国农学通报,2010,26(15):207-214.
- [6] 张爱慧,朱士农. 外源水杨酸对盐胁迫下丝瓜幼苗生长和抗氧化酶活性的影响[J]. 江西农业学报,2013,25(10):27-29.
- [7] 陈颖,徐彩平,汪南阳,等. 盐胁迫下水杨酸对南林 895 杨组苗木抗氧化系统的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2012,36(6):17-22.
- [8] Raskin I. Role of salicylic acid in plants[J]. Annual Review of Plant Biology,1992,43(1):439-463.
- [9] Dong C J, Wang X L, Shang Q M. Salicylic acid regulates sugar metabolism that confers tolerance to salinity stress in cucumber seedlings[J]. Scientia Horticulturae,2011,129(4):629-636.
- [10] Gunes A, Inal A, Alpaslan M, et al. Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity[J]. Journal of Plant Physiology,2007,164(6):728-736.
- [11] 张士功,高吉寅,宋景芝. 水杨酸对提高小麦抗盐效应的研究[J]. 中国农业科技导报,1999,1(1):32-35.
- [12] 杨洪兵,孙萍. 外源水杨酸和茉莉酸对荞麦幼苗耐盐生理特性的效应[J]. 植物生理学报,2012,48(8):767-771.
- [13] 黄晓西,刘昭弟,王怀林,等. 水杨酸预处理对青稞幼苗盐胁迫的缓解效应[J]. 贵州农业科学,2012,40(10):47-49.
- [14] 孙德智,何淑平,彭靖,等. 水杨酸和硝普钠对 NaCl 胁迫下番茄幼苗生长及生理特性的影响[J]. 西北植物学报,2013,33(3):541-546.
- [15] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000.
- [16] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安:世界图书出版公司,2000.
- [17] 张志良,翟伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2003.
- [18] 卢少云,郭振飞. 草坪草逆境生理研究进展[J]. 草业学报,2003,12(4):7-13.
- [19] 张丽,徐志然,胡晓辉,等. 叶面喷施亚精胺对盐碱胁迫下番茄幼苗生长及其叶绿素合成前体含量的影响[J]. 西北植物学报,2015,35(1):125-130.
- [20] 王立红. 外源水杨酸对 NaCl 胁迫棉花幼苗生长缓解效应的研究[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学,2016.
- [21] 周旋,申璐,金媛,等. 外源水杨酸对盐胁迫下茶树生长及主要生理特性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2015,43(7):161-167.
- [22] 郭慧娟,胡涛,傅金民. 苏打碱胁迫对多年生黑麦草的生理影响[J]. 草业学报,2012,21(1):118-125.