

田红红,李朝婵,韦 唯,等. 林下不同土层浸提液对马缨杜鹃幼苗生理指标的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(1):128-131.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.01.036

# 林下不同土层浸提液对马缨杜鹃幼苗生理指标的影响

田红红<sup>1,2</sup>, 李朝婵<sup>1</sup>, 韦 唯<sup>1</sup>, 张林霞<sup>1</sup>

(1. 贵州师范大学/贵州省山地环境保护重点实验室, 贵州贵阳 550001; 2. 贵州省植物生理与发育调控重点实验室, 贵州贵阳 550001)

**摘要:**采用马缨杜鹃纯林下土壤、腐殖质、枯落物这 3 种不同土层的浸提液浇灌马缨杜鹃 3 年生幼苗,以清水处理为对照,测定马缨杜鹃叶片酶活性、游离脯氨酸含量、丙二醛含量、可溶性糖含量、可溶性蛋白质含量、叶绿素含量等指标,研究马缨杜鹃幼苗对不同浸提液的生理响应。结果表明,与清水浇灌相比,土壤浸提液浇灌处理的幼苗叶片 SOD、CAT、POD 活性有明显升高;3 种浸提液处理的植株,其叶绿素含量、可溶性糖含量、脯氨酸含量多低于清水处理,MDA 含量多高于清水处理;枯落物层、土壤层浸提液浇灌的植株,其叶片可溶性蛋白质含量呈先升高后降低再升高趋势。

**关键词:**马缨杜鹃;土壤浸提液;生理指标;林下土层

**中图分类号:**S685.210.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)01-0128-03

马缨杜鹃(*Rhododendron delavayi* Franch.)为杜鹃花科杜鹃属植物,是素有“杜鹃王国”美称的国家级森林公园贵州百里杜鹃林区主要树种之一。贵州分布的杜鹃花种类有 111 种<sup>[1-2]</sup>,其中百里杜鹃林区有 33 种<sup>[1]</sup>。目前,百里杜鹃林区天然群落林下实生幼苗极少,高山杜鹃的天然更新成为林区可持续发展的障碍。周艳等研究凋落物对迷人杜鹃幼苗更新和种子萌发的影响发现,林下调落物厚度和化感物质对杜鹃幼苗更新产生影响<sup>[3]</sup>,而种子萌发和幼苗生长往往受光照、营养、水分、捕食等生态因子及同一群落物种间相互作用的影响。本试验在百里杜鹃实地调查的基础上,对马缨杜鹃树种幼苗采用不同土层浸提液进行处理,评价浸提液对马缨杜鹃幼苗生长的影响,以期为高山杜鹃群落的结构和更新提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

生长较为一致、粗壮的 3 年生马缨杜鹃实生幼苗,叶革质,长圆状披针形,长 5.0~7.0 cm,宽 1.5~4.5 cm,边缘反卷,叶表面深绿至淡绿色,背面有白色至灰色或淡褐色海绵状毛被,中脉向背面凸出。分层采集百里杜鹃景区马缨杜鹃纯林下的土壤层、腐殖质层、枯落物,用清水浸泡 1 周,所得液体即为处理液,以清水浇灌为对照。

### 1.2 处理方法

2015 年 6 月,将马缨杜鹃幼苗移植于长方形塑料花盆内,每盆 5 株;待生长正常(7 月 1 日),对幼苗进行不同土层

浸提液处理,每处理 20 株,重复 3 次;对浸提液处理过的植株进行形态观察,每隔 15 d 取 1 次不同处理的马缨杜鹃叶片,测定其生理指标。

### 1.3 测定方法

可溶性蛋白质、游离脯氨酸含量分别采用考马斯亮蓝法、酸性茚三酮比色法<sup>[4]</sup>测定;叶绿素含量采用分光光度法<sup>[5-6]</sup>测定;过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)活性分别采用愈创木酚法、高锰酸钾(KMnO<sub>4</sub>)滴定法、氮蓝四唑法(NBT)测定;丙二醛(MDA)、可溶性糖含量分别采用硫代巴比妥酸(TBA)反应法、苯酚硫酸比色法测定。

### 1.4 数据分析

采用 Excel 软件对数据进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浸提液持续浇灌对植株形态的影响

由表 1 可见,用不同浸提液持续 30 d 浇灌马缨杜鹃幼苗,植株外部形态发生较大变化,其中对叶片的影响比较明显;枯落物层水浸提液浇灌的植株叶片出现黄叶较多,植株生长最不明显;腐殖质层、土壤层水浸提液浇灌的植株叶片形态没有发生明显的变化,只是在接近土壤处的部分植株出现不同程度的褐变;对照植株均生长正常,叶色亮绿;持续浇灌 60 d,叶片出现不同程度的掉落,其中以枯落物层水浸提液浇灌的植株叶片掉落最为严重。

### 2.2 不同浸提液持续浇灌对植株叶绿素含量的影响

由图 1 可见,不同处理液对马缨杜鹃幼苗叶绿素含量的影响有不同,随处理时间的延长,不同浸提液持续浇灌马缨杜鹃幼苗其叶片的叶绿素含量呈先降低后升高再降低的趋势;浇灌 0~15 d 时,枯落物、腐殖质层处理的杜鹃幼苗叶绿素含量急剧下降,之后回升,二者叶绿素含量变化趋于稳定,差异不大,幼苗有少数老叶轻度萎蔫,新叶较少,颜色为暗绿色;土壤浸提液浇灌 30 d 时,杜鹃幼苗叶绿素含量下降到最小值,为 0.076 9 mg/g,叶片有明显的变色症状,接近土壤处的叶片及茎褐变;对照处理的幼苗叶绿素含量整体高于其他浸提液处理。

收稿日期:2015-12-09

基金项目:国家自然科学基金(编号:31460136);教育部长江学者和创新团队发展计划(编号:IRT1227);贵州科学院青年科学基金(编号:黔科院 J 合字[2014]05 号);贵州师范大学博士科研基金。

作者简介:田红红(1989—),女,硕士研究生,从事植物化学研究。

E-mail:983743062@qq.com。

通信作者:李朝婵,博士,副教授,从事植物生理生态研究。E-mail:

chaochanl@gznu.edu.cn。

表 1 不同土层浸提液持续浇灌马缨杜鹃幼苗的形态变化情况

浸提液	形态变化	
	持续浇灌 30 d	持续浇灌 60 d
枯落物层	部分叶片发黄掉落,植株生长不明显	叶片基本掉光,变黄
腐殖质层	叶片无变化,近土壤处部分植株出现褐变	株秆褐变,叶片发黄掉落,干枯
土壤层	叶片无变化,近土壤处部分植株出现褐变	叶片基本掉落,部分鲜绿色
清水(CK)	生长正常,叶色亮绿	生长正常,部分叶片掉落

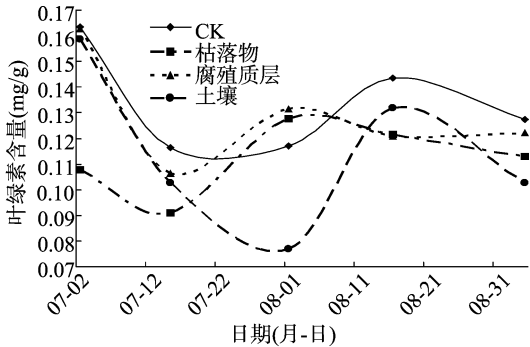


图1 持续浇灌对马缨杜鹃幼苗叶绿素含量的影响

2.3 不同浸提液持续浇灌对马缨杜鹃叶片保护酶活性的影响

2.3.1 对 SOD 活性的影响 由图 2 可见,不同溶液浇灌处理的马缨杜鹃幼苗叶片,其 SOD 活性有明显变化,呈不同趋势的波浪形曲线,达到峰值的时间不同;土壤层浸提液浇灌持续 30 d 时,SOD 含量达到最大值,为 108.00 U/g;枯落物、腐殖质层浸提液在浇灌持续 45 d 时,SOD 含量各自达到最大值,分别为 136.07、114.15 U/g;与对照组比较,不同浸提液处理幼苗时叶片中的活性氧不断产生,SOD 响应迅速,枯落物层浸提液处理幼苗时 SOD 活性与对照有显著差异,腐殖质层、土壤层浸提液与对照差异不明显。

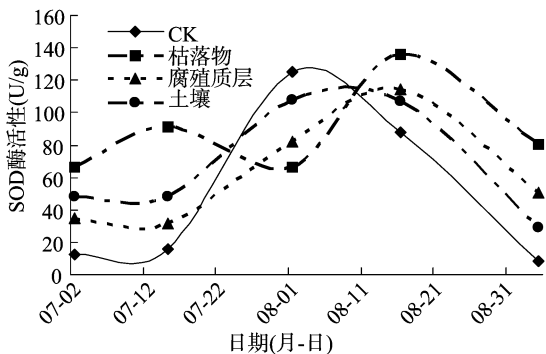


图2 不同浸提液持续浇灌对马缨杜鹃叶片 SOD 活性的影响

2.3.2 对 CAT 活性的影响 由图 3 可见,不同浸提液持续浇灌马缨杜鹃幼苗,其叶片 CAT 活性有明显变化,总体呈下降趋势;与对照组相比,枯落物层浸提液处理的幼苗,其叶片 CAT 活性变化相对平缓;腐殖质层浸提液处理的幼苗,其叶片 CAT 活性在浇灌 15 d 时达到最大值,为 8.09 mg/(g·min),后一直呈下降趋势;土壤层水浸提液处理的幼苗,其叶片 CAT 活性一直呈下降趋势,0~15、30~45 d 这 2 个阶段出现急速下降,而 15~30、45~60 d 下降相对缓慢;与 3 种不同浸提液相比,对照组叶片 CAT 活性在浇灌 45 d 后出现缓慢上升,这说明 3 种浸提液持续浇灌马缨杜鹃幼苗可对其叶片 CAT 活性的产生起抑制作用。

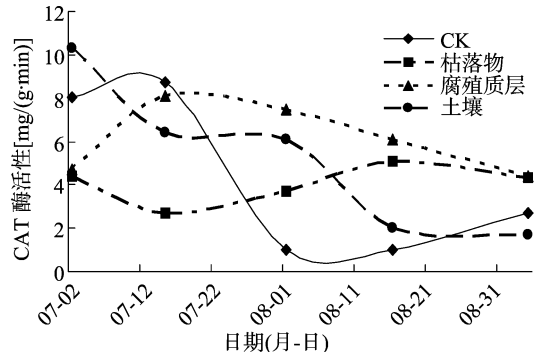


图3 不同浸提液持续浇灌对马缨杜鹃叶片CAT活性的影响

2.3.3 对 POD 活性的影响 由图 4 可见,对照和 3 种浸提液处理的马缨杜鹃叶片,其 POD 活性总体呈先下降后缓慢升高的趋势,其中对照的叶片 POD 活性始终同期高于其他处理;枯落物、土壤层浸提液持续浇灌 30 d 时,叶片 POD 活性达到最小值,分别为 80.68、93.28 U/(g·min),45 d 后趋于稳定,此时大多数幼苗死亡,生长缓慢;腐殖质层浸提液处理的马缨杜鹃幼苗,其叶片 POD 活性在浇灌 45 d 内达到最小值,为 87.02 U/(g·min)。

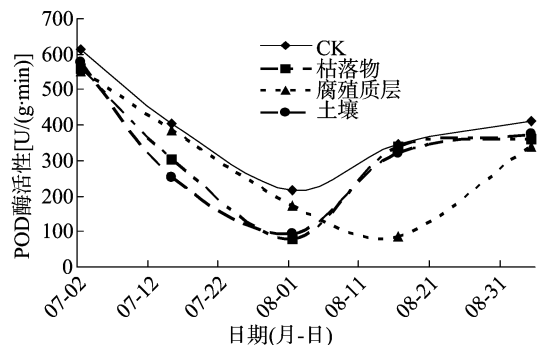


图4 不同浸提液持续浇灌对马缨杜鹃叶片 POD 酶活性的影响

2.4 不同浸提液持续浇灌对马缨杜鹃叶片可溶性糖和脯氨酸含量的影响

2.4.1 对可溶性糖含量的影响 可溶性糖是衡量植物体内碳营养状况的重要指标。由图 5 可见,随浇灌时间的延长,马缨杜鹃叶片可溶性糖含量呈波浪形变化;在浇灌 45 d 时,对照、枯落物层、腐殖质层、土壤层的可溶性糖含量各自下降到最低点,分别为 16.78%、11.85%、14.11%、17.24%;腐殖质层浸提液处理的幼苗,对可溶性糖的响应比其他 2 种浸提液更为迅速,这与腐殖质层中含有大量的代谢物有关,植物凋落物处于腐烂时期,微生物频繁活动,有机物被分解成可以供给植物生长所需的各种营养物质<sup>[7-8]</sup>;土壤层浸提液与对照处理的可溶性糖含量变化趋势基本相近,这可能是由于土壤浸提液中抑制或促进植物生长的物质相对较少,从而对植物产生的逆境胁迫也较小。

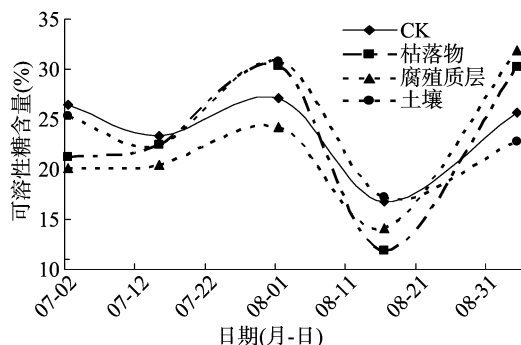


图5 不同浸提液持续浇灌对马缨杜鹃叶片可溶性糖含量的影响

2.4.2 对脯氨酸含量的影响 由图 6 可见,与对照相比,3 种土层浸提液浇灌的马缨杜鹃叶片脯氨酸含量有明显变化,枯落物层浸提液处理的幼苗其脯氨酸含量变化趋于平缓,腐殖质层浸提液浇灌的杜鹃幼苗其脯氨酸含量在 0~15 d 有缓慢上升,后一直呈下降趋势;土壤层浸提液浇灌的幼苗其脯氨酸含量呈先上升后降低再上升趋势。

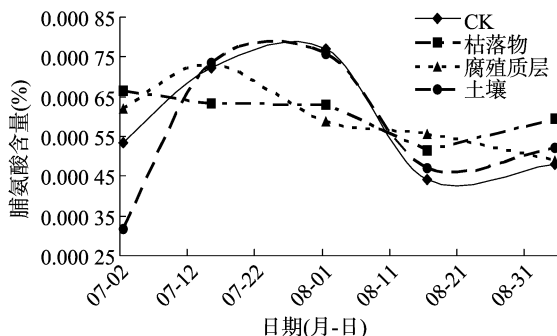


图6 不同浸提液持续浇灌对马缨杜鹃叶片脯氨酸含量的影响

## 2.5 不同浸提液浇灌对可溶性蛋白质含量的影响

由图 7 可见,枯落物、腐殖质层浸提液持续浇灌幼苗,其可溶性蛋白质变化趋势基本相同,呈先下降后升高再下降趋势,浇灌 30 d 时达到峰值,枯落物、腐殖质层可溶性蛋白质含量分别为 13.03、11.81 mg/g,且含量高于对照;与土壤层浸提液处理相比,枯落物、腐殖质层浸提液处理的可溶性蛋白质含量变化更为明显,这与自然状态下枯落物与腐殖质中含有的有机物量较多相符。

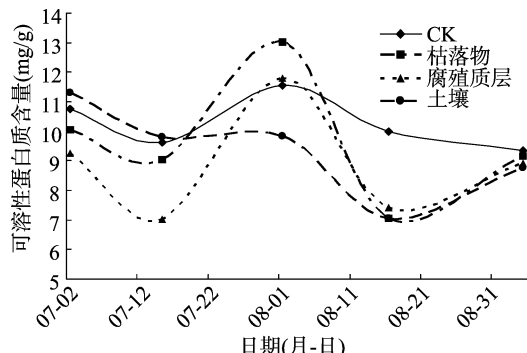


图7 不同浸提液浇灌对马缨杜鹃叶片可溶性蛋白质含量的影响

## 2.6 不同浸提液处理对丙二醛含量的影响

由图 8 可知,3 种浸提液浇灌的马缨杜鹃,其叶片中 MDA 含量有明显变化,且变化趋势基本相同,呈单峰趋势,对照、枯落物层、腐殖质层、土壤均在浇灌 45 d 时达到峰值,MDA 含

量分别为 0.059、0.055、0.076、0.054  $\mu\text{mol/g}$ ,腐殖质层浇灌的幼苗 MDA 含量最大值远高于其他处理;枯落物、土壤层浇灌的幼苗叶片 MDA 含量多低于同期对照,这是由于马缨杜鹃对不同浸提液浇灌有适应过程,当保护酶系统产生防御作用时,MDA 含量下降。

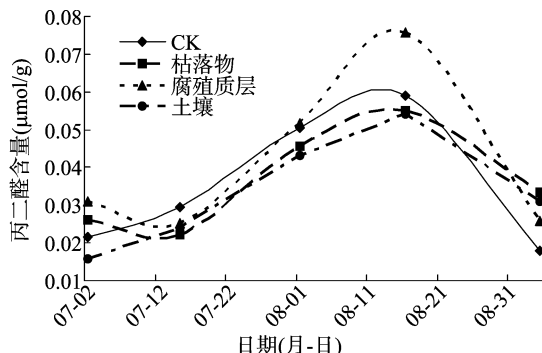


图8 不同浸提液处理对马缨杜鹃叶片丙二醛含量的影响

## 3 结论与讨论

植物体在整个生命过程中会不断产生次生代谢物质如活性氧等,而植物体内清除活性氧的防卫系统也会相应产生,并维持动态平衡。SOD、POD、CAT 是生物体内清除活性氧自由基的重要保护酶<sup>[9]</sup>。测得的 CAT 值越高,说明其酶活性越强,其抗逆性也越强;超氧阴离子自由基 ( $\text{O}_2^-$ ) 在生物遭到胁迫时会过量积累,从而氧化、破坏生物大分子,甚至导致细胞死亡,而 SOD 普遍存在于动植物体内参与分解  $\text{O}_2^-$ ,其值越高,植株适应环境变化的能力越强,植物清除  $\text{O}_2^-$  的能力增强;保护酶的生成对叶绿素降解起到一定的作用<sup>[10]</sup>,植株叶片 POD 活性发生变化,往往会加重叶片细胞的质膜过氧化程度,导致植物叶片叶绿素含量也发生变化。不同提取液浇灌方式下,马缨杜鹃幼苗为满足自身生长,植物体内生化反应活跃,并对幼苗生长产生刺激,导致叶片发黄掉落。

随不同浸提液的持续浇灌,叶片中可溶性蛋白质含量呈先降低后升高再下降又升高的变化趋势,可能与不同土层代谢物被提取的种类与数量有关<sup>[11-12]</sup>,这将是后续研究的重点。与清水处理相比,枯落物层、腐殖质层、土壤层水浸提液浇灌的幼苗叶片,其可溶性蛋白质含量变化不明显,这是浸提液浇灌处理一段时间后幼苗适应环境的表现。

脯氨酸和可溶性糖是重要的渗透调节物质。在持续浇灌后期,马缨杜鹃幼苗叶片可溶性糖和脯氨酸含量呈上升趋势,以维持植株正常的生长状态。MDA 积累往往是植株受到环境伤害时产生的<sup>[13-14]</sup>,使植物蛋白质和核酸变性,脂膜的流动性下降。持续用 3 种不同浸提液浇灌马缨杜鹃幼苗,随着时间的延长,叶片 MDA 含量呈单峰变化趋势,与植物适应环境、保护酶防御系统的产生基本一致。

通过采用马缨杜鹃纯林林内不同土层浸提液浇灌马缨杜鹃 3 年生幼苗,对其叶片各生理指标测定,结果表明,不同土层浸提液对生长过程中的马缨杜鹃幼苗其生理指标有明显影响,这对百里杜鹃林区杜鹃属植物林下天然更新障碍研究提供了一定的科学依据。

## 参考文献:

[1] 陈训,巫华美. 中国贵州杜鹃花[M]. 贵阳:贵州科技出版

唐美琼, 闵丹丹, 李 刚, 等. 山豆根根瘤菌的生物学特性及其不同菌株对山豆根幼苗药用有效成分的影响[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(1): 131–134. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.01.037

# 山豆根根瘤菌的生物学特性及其不同菌株对山豆根幼苗药用有效成分的影响

唐美琼, 闵丹丹, 李 刚, 李林轩

(广西药用植物园/广西药用资源保护与遗传改良重点实验室, 广西南宁 530023)

**摘要:**对采自广西不同地点的山豆根根瘤菌进行生物学特性研究, 并将其分别接种在盆栽山豆根幼苗上, 室内培养 180 d 后, 测定植株药用有效成分苦参碱、氧化苦参碱含量。结果表明, 山豆根根瘤菌为快生型根瘤菌, 在 YMA 培养基上代谢产酸, 大部分菌株的生长温度范围为 25 ~ 35 ℃, 酸碱耐受范围为 pH 值 6.0 ~ 10.0, 对抗生素卡那霉素 (Km)、庆大霉素 (Gm) 敏感; 不同来源的根瘤菌对山豆根药用有效成分积累的影响不同, 与其他菌株相比, 来自靖西县的 2 株菌 JX2、JX3 对苦参碱、氧化苦参碱的影响达到了显著水平。

**关键词:**山豆根; 根瘤菌; 生物学特性; 有效成分

**中图分类号:** S567.21<sup>+</sup>9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)01-0131-04

山豆根为豆科植物越南槐 (*Sophora tonkinensis* Gagnep.) 的干燥根和根茎, 主产于广西, 别称广豆根。山豆根具有清热解毒、消肿止痛等功效<sup>[1]</sup>, 其有效成分以苦参碱、氧化苦参碱为主<sup>[2]</sup>, 具有抗炎、抗心律失常、抗肿瘤等生物活性<sup>[3]</sup>。野生山豆根分布地域狭窄, 零星生长于石山区石缝中, 野生资源已濒临枯竭<sup>[4]</sup>。近年来, 科技人员已经对山豆根的人工繁殖栽培进行研究, 并取得了一定的成果<sup>[5-6]</sup>。在山豆根的栽培生产中, 如果能利用豆科植物与根瘤菌的共生固氮效应满足植物对氮素的需求, 对提高药材的质量及发展可持续农业、保护生态环境都有重要意义。但是目前关于豆科药材的生物固氮及其结瘤固氮对药材质量影响等相关研究甚少, 对山豆根的

研究更是罕见。本试验从研究山豆根根瘤菌生物学特性入手, 进一步研究根瘤菌对山豆根幼苗有效成分积累的影响, 以期开发利用山豆根根瘤菌资源、提高山豆根原料药材的质量提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 根瘤菌的采集及分离纯化

分别在广西药用植物园、隆安县、靖西县栽培的山豆根系上采集新鲜、饱满、个大的根瘤, 放入装有无水氯化钙的具塞试管内, 带回实验室进行分离纯化。用自来水将采集的根瘤冲洗干净, 在无菌条件下, 用 95% 乙醇浸泡 1 min 后用无菌水冲洗 3 次, 用 0.1% 氯化汞浸泡 3 min 后再用无菌水冲洗 4 次, 然后置于灭菌的研钵中, 用无菌玻棒挤压、破碎根瘤, 取汁液在加有 0.025 g/L 刚果红的 YMA 平板上划线, 28 ℃ 恒温培养至菌落出现, 挑选典型单菌落进行连续培养, 获得根瘤菌菌株 YY、LA1、LA2、JX2、JX3 (表 1)。

收稿日期: 2015-11-24

基金项目: 广西壮族自治区卫生厅中医药科技专项 (编号: GZPT13-38、GZBZ14-14)。

作者简介: 唐美琼 (1984—), 女, 广西全州人, 硕士, 助理研究员, 主要从事药用植物育种研究。Tel: (0771) 5602850; E-mail: tangmeiqiong2006@163.com。

社, 2003。

[2] 杨成华, 李贵远, 邓伦秀, 等. 贵州百里杜鹃保护区的杜鹃属植物种类及其观赏特性研究[J]. 西部林业科学, 2006, 35(4): 14–18, 39.

[3] 周 艳, 陈 训, 韦小丽, 等. 凋落物对迷人杜鹃幼苗更新和种子萌发的影响[J]. 林业科学, 2015, 51(3): 65–74.

[4] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.

[5] 郝再彬, 苍 晶, 徐 仲. 植物生理实验[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2004: 46–49.

[6] 武卫华, 刘忠荣, 黄先敏, 等. 叶绿体色素的提取方法改进及其应用[J]. 北方园艺, 2010(24): 67–69.

[7] 吴 林. 不同有机物料对花卉植物生育及土壤性状的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2007.

[8] 程存刚, 赵德英, 吕德国, 等. 植物源有机物料对果园土壤微生物

群落多样性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(4): 913–922.

[9] 王建华, 刘鸿先, 徐 同. 超氧化物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老生理中的作用[J]. 植物生理学通讯, 1989, 25(1): 1–5.

[10] 赵丽英, 邓西平, 山 仑. 活性氧清除系统对干旱胁迫的响应机制[J]. 西北植物学报, 2005, 25(2): 413–418.

[11] 曲春香, 沈颂东, 王雪峰, 等. 用考马斯亮蓝测定植物粗提液中可溶性蛋白质含量方法的研究[J]. 苏州大学学报(自然科学版), 2006, 22(2): 82–85.

[12] 黄承玲, 陈 训, 高贵龙. 3 种高山杜鹃对持续干旱的生理响应及抗旱性评价[J]. 林业科学, 2011, 47(6): 48–55.

[13] 崔 妍. 两种景天科植物抗逆性研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2014.

[14] 师晨娟. 植物生长调节剂对苗木生长及其抗性生理的影响[D]. 北京: 北京林业大学, 2006.