

唐晓清,刘 谕,杨 睿,等. 盐胁迫对苗期水飞蓟生理与活性成分的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(21):135-139.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.21.033

盐胁迫对苗期水飞蓟生理与活性成分的影响

唐晓清¹, 刘 谕¹, 杨 睿², 李林华³, 王 雨¹, 施晟璐¹, 王康才¹

(1. 南京农业大学中药研究所, 江苏南京 210095; 2. 南京市第九中学, 江苏南京 210018;

3. 安徽中医药高等专科学校药学系, 安徽芜湖 241003)

摘要:以苗期水飞蓟为试验材料,用 100 mmol/L NaCl 对水飞蓟进行不同时间(0、1、2、3、4、5 d,分别记为 CK、T₁、T₂、T₃、T₄、T₅)的胁迫处理,分析其生理特征及活性成分含量,以探讨苗期水飞蓟对盐胁迫的响应机制。结果表明,(1)叶片中叶绿素相对含量随着盐胁迫时间的延长而降低,胁迫处理 T₄、T₅ 的叶绿素相对含量显著低于 CK;(2)随着盐胁迫时间的延长,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,简称 SOD)、过氧化物酶(peroxidase,简称 POD)与过氧化氢酶(catalase,简称 CAT)3 种酶的活性呈现升高-降低-升高的趋势,其中 T₁ 处理 CAT、T₄ 处理 SOD、POD 的酶活性均为最高值,且显著高于相应的 CK;可溶性蛋白和可溶性糖含量呈现降低-升高-降低-升高的趋势,T₂、T₃ 处理的可溶性蛋白高于 CK,但可溶性糖含量均低于 CK;丙二醛(malondialdehyde,简称 MDA)含量则呈现降低-升高-降低的趋势,且所有处理均显著低于 CK;(3)总黄酮与水飞蓟含量随着盐胁迫时间的延长呈现先降低后升高的趋势,其中胁迫处理 T₅ 的总黄酮含量最高,水飞蓟含量均低于 CK,但胁迫处理 5 d 的水飞蓟含量显著高于其余胁迫处理。可见苗期水飞蓟在一定时间的 NaCl 胁迫下,通过提高其体内的保护酶活性和降低 MDA 含量、可溶性糖含量可以缓解盐胁迫的伤害,但适度的盐胁迫能促进其体内总黄酮含量的积累。

关键词:水飞蓟;NaCl 胁迫;活性成分;生理特征;耐盐栽培

中图分类号: S567.23+9.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)21-0135-04

水飞蓟[*Silybum maritimum* (L.) Gaertn]为菊科水飞蓟属植物,以其成熟的果实入药^[1],具有清热解毒、疏肝利胆的功效,主要用于肝胆湿热、胁痛、黄疸等症。其果实中主要含有水飞蓟宾、脱氢水飞蓟宾、水飞蓟宁、水飞蓟亭、水飞蓟宾聚合物等水飞蓟素类化合物^[2],其茎叶含有黄酮类、氨基酸、生物碱等多种化合物^[3]。现代药理研究证明,水飞蓟素与水飞蓟提取物具有稳定和保护肝细胞膜、改善肝功能、阻止肝损害、提高免疫力、抗疱疹病毒等功能^[4-6]。水飞蓟原产于印度和巴基斯坦的喀什米尔山区,之后在欧洲、美洲及澳洲等多个地区都有种植^[7]。1952 年,北京植物园从英国引进水飞蓟,作为观赏植物栽培;1972 年,由我国土产畜产进出口公司天津土产分公司从德国引种作为药用植物栽培^[8]。我国很多地方都已引种成功,目前主要在西北和华北栽培。随着国内制药企业对水飞蓟原药材需求的增加,近几年价格也有所上升。水飞蓟耐严寒、耐盐碱、耐旱能力非常强,所以其对土壤要求并不严格,可利用盐碱地种植。我国的盐碱地面积较大,研究水飞蓟等耐盐植物对 NaCl 胁迫的响应,对利用大面积盐碱地资源,对农业盐渍土的治理、开发以及提高植物的耐盐性等方面都有非常重要的意义^[9-12]。而目前在其栽培生产中,对其栽培生理与活性成分的研究较少,有研究表明水飞蓟种子萌

发期,盐分主要通过改变种子吸胀能力来影响芽苗生长^[13];在苗期,水飞蓟幼苗主要通过提高渗透物质含量和保护酶活性来缓解盐分造成的伤害;水飞蓟萌发期和苗期耐盐性有差异,萌发期耐盐能力明显低于苗期;而 0.05~0.60 mmol/L 的硝普钠(sodium nitroprusside,简称 SNP)浸种能提高水飞蓟种子和幼苗的抗盐能力^[14];NaCl 溶液浓度在 50~400 mmol/L 范围内水飞蓟素含量随着盐浓度的升高有所增加^[15]。而 NaCl 胁迫处理时间对苗期水飞蓟生长及活性成分的影响则未见报道。为此以苗期水飞蓟为试验材料,采用水培方式,以 100 mmol/L NaCl 溶液处理不同时间,研究 NaCl 胁迫不同时间对苗期水飞蓟生理与活性成分含量的影响,为水飞蓟栽培生产中的耐盐性研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为安徽省丫山野生药用植物园栽培种,经南京农业大学王康才教授鉴定为菊科植物水飞蓟[*Silybum maritimum* (L.) Gaertn]的种子。

1.2 试验设计

于 2016 年 1 月 24 日将水飞蓟种子播种于周转箱内(基质为石英砂:蛭石体积比=1:2),3 月 24 日选取长势基本一致的幼苗,单株移植于水培箱(45 cm×50 cm×15 cm)内,置于光照培养箱内,用 Hoagland 营养液水培,培养期间每 2 d 换 1 次营养液,培养条件为 3 000 lx 光照、25℃、通气;培养 10 d 后,进行 NaCl 胁迫处理,将营养液更换为 100 mmol/L NaCl 溶液,处理时间分别为 0、1、2、3、4、5 d,分别记为 CK、

收稿日期:2017-07-07

基金项目:江苏省大学生实践创新训练项目(编号:201510307028X)。

作者简介:唐晓清(1970—),女,四川内江人,博士,副教授,主要从事药用植物栽培与中药质量控制方面的研究。E-mail: xqtang@njau.edu.cn。

T₁、T₂、T₃、T₄、T₅, 每个处理 8 株, 3 次重复。

1.3 测定指标与方法

全部处理结束后测定其叶片的叶绿素相对含量 SPAD (soil and plant analyzer develotrnent) 值, 另取新鲜叶片用于可溶性蛋白含量、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, 简称 SOD) 活性、过氧化物酶 (peroxidase, 简称 POD) 与过氧化氢酶 (catalase, 简称 CAT) 活性、丙二醛含量 (malondialdehyde, 简称 MDA) 的测定, 另取 6 株水飞蓟的地上部 (叶片) 于 105 ℃ 烘箱内杀青 15 min 后, 于 60 ℃ 烘干至恒质量, 粉碎过 80 目筛, 用于测定可溶性糖、水飞蓟素、总黄酮等含量。

1.3.1 叶片叶绿素 SPAD 值测定 100 mmol/L NaCl 胁迫处理结束后的上午, 取由内至外全展且无破损的第 2 轮叶片的中上部作为测定部位, 用 SPAD 502 叶绿素测定仪测定其 SPAD 值, 每个处理测定 8 株。

1.3.2 叶片中可溶性蛋白含量测定 采用南京建成生物工程所试剂盒 (A045-2) 进行测定。

1.3.3 叶片中抗氧化酶活性的测定 (1) SOD 活性的测定: 采用南京建成生物工程研究所试剂盒 (A001-1) 测定; (2) POD 活性的测定: 采用南京建成生物工程研究所试剂盒 (A084-3) 测定。利用 POD 催化 H₂O₂ 反应的原理, 通过测定 420 nm 处吸光度的变化测定其活性。 (3) CAT 活性的测定: 采用南京建成生物工程所试剂盒 (A007-1) 进行测定。利用 CAT 分解 H₂O₂ 的反应可通过加入钼酸铵而迅速中止, 剩余的 H₂O₂ 与钼酸铵作用产生一种淡黄色的络合物, 在 405 nm 处测定其变化量, 计算 CAT 活性。

1.3.4 叶片中 MDA 含量测定 采用南京建成生物工程所试剂盒 (A003-1) 进行测定。

1.3.5 叶片中可溶性糖含量测定 采用苯酚-硫酸法进行测定。标准曲线的绘制: 准确称取 105 ℃ 干燥至恒质量的葡萄糖 0.100 0 g, 溶解定容于 100 mL 容量瓶中, 得 1 mg/mL 葡萄糖对照品, 精确吸取 10 mL, 再定容至 100 mL, 得 100 μg/mL 标准葡萄糖溶液备用。精确量取葡萄糖标准溶液 0、0.1、0.2、0.4、0.6、1.0、1.5 mL 置于干燥试管中, 加水使总溶液为 2.0 mL, 加入 6% 苯酚 1 mL, 再加入浓硫酸 5 mL, 摇匀, 冷却至室温, 在 490 nm 下测定吸光度, 以葡萄糖溶液含量为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线: $Y = 0.012 2X - 0.003 7$, $r^2 = 0.999 5$ ($n = 3$)。可溶性糖的提取: 精密称取 0.200 0 g 水飞蓟叶片粉末, 置于 3 支试管中, 加入 6 mL 蒸馏水, 塑料薄膜封口, 沸水浴提取 60 min 后, 6 000 r/min 处理 20 min 取上清液于 25 mL 容量瓶中, 再次加入 6 mL 蒸馏水沸水浴提取 60 min, 过滤后至容量瓶中定容。测定: 吸取 0.2 mL 样品液于试管中, 加蒸馏水 1.5 mL, 加入 1 mL 6% 苯酚、5 mL 浓 H₂SO₄, 摇匀后静置冷却, 在 490 nm 下测定吸光度。

1.3.6 叶片中总黄酮含量测定 精密称取 0.100 0 g 水飞蓟叶片粉末, 加入 8 mL 70% 乙醇, 超声 1 h 后过滤, 用乙醇定容至 25 mL, 混匀。取 2 mL 于试管中, 加入 0.5 mL 50 g/L NaNO₂ 溶液 0.5 mL, 摇匀后静置 6 min, 加入 0.5 mL 100 g/L Al(NO₃)₃ 溶液, 摇匀, 静置 6 min, 加入 4 mL 40 g/L NaOH 溶液, 摇匀, 用 70% 乙醇定容至 10 mL, 摇匀, 静置 15 min, 在 510 nm 波长下比色, 测定吸光度。以芸香苷为对照绘制标准

曲线: $Y = 0.010 4X + 0.001 0$, $r^2 = 0.999 5$ ($n = 3$)。

1.3.7 叶片中水飞蓟素含量测定 参考文献[1]的方法提取水飞蓟素。(1) 色谱条件为色谱柱: Dubhe C₁₈ (250 mm × 2.4 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-冰醋酸体积比 = 48:52:1; 流速: 1.000 mL/min; 进样量 10 μL; 检测波长 287 nm。(2) 标品溶液制备: 精密称取水飞蓟素标品 3 mg, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.12 mg 的溶液作为母液, 该母液浓度为 60 μg/mL, 再取适量稀释成浓度分别为 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、30.0 μg/mL 的溶液。经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 滤液即为 HPLC 法测定用标准品溶液。(3) 水飞蓟素标准曲线: 取浓度分别为 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、30.0 μg/mL 标准品溶液, 按 10 μL 进样量注入高效液相色谱仪中, 记录色谱图, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 水飞蓟素的标准曲线为 $Y = 15 697.0X - 4 702.6$, $r^2 = 0.999 8$ ($n = 3$)。

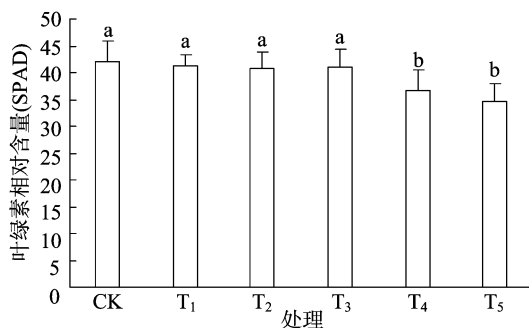
1.4 数据处理

所有数据用 Excel 2003 和 SPSS 20.0 软件进行处理, 处理间差异显著性比较采用 Duncan 氏新复极差法。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对苗期水飞蓟叶片叶绿素含量的影响

图 1 显示, 随着 NaCl 胁迫时间的延长, 水飞蓟叶片中叶绿素含量基本呈现降低趋势, 由 CK 的 42.04 SPAD 降至胁迫处理 T₅ 的 34.58 SPAD, 其间 NaCl 胁迫处理 T₂ 到 T₃ 时, 叶绿素含量由 40.07 SPAD 略微上升至 41.05 SPAD, 但是二者间不存在显著性差异 ($P > 0.05$)。与 CK 比较, NaCl 胁迫处理 T₁、T₂、T₃ 的叶绿素含量与 CK 间无显著性差异 ($P > 0.05$), 而 NaCl 胁迫处理 T₄、T₅ 的叶绿素含量显著低于 CK ($P < 0.05$), 但叶绿素含量总体降幅较小。表明, 随着 NaCl 胁迫处理时间的延长, 水飞蓟叶片叶绿素的合成受到一定程度的抑制。



不同小写字母表示处理间在 0.05 水平上差异显著; 下图同
图 1 NaCl 胁迫下苗期水飞蓟叶片叶绿素含量的变化

2.2 NaCl 胁迫对苗期水飞蓟叶片抗氧化酶活性和 MDA 含量的影响

2.2.1 NaCl 胁迫对抗氧化酶活性的影响 由图 2 可知, 在 100 mmol/L NaCl 胁迫下, 苗期水飞蓟叶片中的 SOD、POD、CAT 活性变化基本一致, 呈现升高-降低-升高-降低的趋势, T₁ 处理下 SOD、POD、CAT 活性显著高于 CK ($P < 0.05$), 说明 NaCl 胁迫 1 d 后水飞蓟体内的抗氧化酶已经开始发挥抗逆作用, 以减轻 NaCl 胁迫对其的伤害。其中 CAT 在胁迫处理 T₁ 时活性达到最大值 43.69 U/mg, 比 CK 显著增加

61.87%, 可见 CAT 对 NaCl 胁迫反应在三者中最敏感; 胁迫处理 T_2 时 POD、CAT 降低至各处理间的最低水平, 其中 CAT 活性显著低于对照 ($P < 0.05$), 说明 3 种抗氧化酶在清除活性氧后, 水飞蓟植株恢复到了较好的生理水平, 抗氧化酶活性降低。在 NaCl 胁迫处理 T_3 、 T_4 时, SOD、POD、CAT 活性继续升高, 说明持续的盐胁迫刺激下, SOD、POD、CAT 继续发挥作用, 以缓解盐胁迫对其的伤害。其中 T_4 处理时, SOD 与 POD 的活性最高, 分别为 30.44、21.02 U/mg, 显著高于相应 CK 处理 ($P < 0.05$), 此时的 CAT 与对照间无显著差异 ($P > 0.05$)。胁迫处理 T_5 时 3 种酶活性均低于处理 T_4 时的活性, 说明持续较长时间的盐胁迫后, 叶内的抗氧化酶系统可能受到一定的破坏。

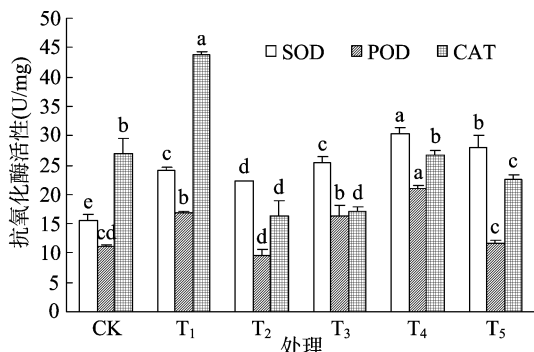


图2 NaCl 胁迫不同时间苗期水飞蓟的抗氧化酶活性

2.2.2 NaCl 胁迫对 MDA 含量的影响 由图 3 可知, 在 100 mmol/L NaCl 胁迫下, 苗期水飞蓟叶片中 MDA 含量表现为降低-升高-降低的趋势, 与 CK 相比 NaCl 胁迫处理 T_1 、 T_2 、 T_3 的 MDA 含量显著下降 ($P < 0.05$), 其中 T_2 、 T_3 间无显著性差异, T_2 处理的含量 (3.61 nmol/mg) 最低, 胁迫处理 T_4

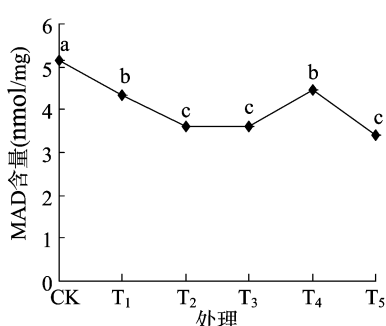


图3 NaCl 胁迫不同时间苗期水飞蓟 MDA 含量的变化

2.5 NaCl 胁迫对苗期水飞蓟叶片中水飞蓟宾含量的影响

由图 6 可知, 100 mmol/L NaCl 胁迫处理苗期水飞蓟不同时间后, 叶片中水飞蓟宾含量呈现先降低再升高的趋势, 但均显著低于 CK ($P < 0.05$)。在 NaCl 胁迫处理 T_1 、 T_2 、 T_3 时, 叶片中水飞蓟宾含量显著低于对照 CK ($P < 0.05$), 在 NaCl 胁迫处理 T_4 时, 水飞蓟宾含量开始略微上升, 在 NaCl 胁迫处理 T_5 时, 水飞蓟宾含量升高幅度较大 (T_5 高出 T_4 处理 45.46%), 且 T_5 处理显著高于 $T_1 \sim T_4$ 处理 ($P < 0.05$)。可见, 一定时间的 NaCl 胁迫处理不利于苗期水飞蓟叶片中水飞蓟宾的积累。

3 结论与讨论

3.1 NaCl 胁迫下苗期水飞蓟抗氧化酶活性和 MDA 含量的

时 MDA 含量有所增加, 但仍显著低于 CK ($P < 0.05$), NaCl 胁迫处理 T_5 时 MDA 含量再次显著低于 CK ($P < 0.05$)。说明苗期水飞蓟在 100 mmol/L NaCl 胁迫下前期通过降低 MDA 含量以应对胁迫的伤害, 3~4 d 后伤害有所缓解其含量开始升高, 但随着胁迫时间的延长, 水飞蓟须要再次通过降低 MDA 含量以应对持续的盐胁迫伤害。

2.3.1 NaCl 胁迫对可溶性蛋白含量的影响 图 4 结果显示, NaCl 胁迫处理不同时间后水飞蓟叶片中可溶性蛋白含量呈现降低-升高-降低-升高的趋势, 其中胁迫处理 T_2 、 T_3 时可溶性蛋白含量高于 CK, 处理 T_2 时的含量 (61.15 mg/g) 最高, 比 CK 显著增加 20.20% ($P < 0.05$), 处理 T_3 时的可溶性蛋白含量与 CK 间无显著性差异 ($P > 0.05$), 处理 T_1 、 T_4 、 T_5 时的含量均显著低于对照 ($P < 0.05$)。

2.3.2 NaCl 胁迫对可溶性糖含量的影响 由图 4 可知, 水飞蓟叶片中可溶性糖含量随着 NaCl 胁迫时间的延长呈现降低-升高-降低-升高的趋势, 不同时间胁迫后的各处理均显著低于 CK ($P < 0.05$), 其中胁迫处理 T_2 时的含量 (48.71 mg/g) 最低。由此推测, 一定浓度的 NaCl 胁迫不同时间后其体内可能须要分解可溶性糖以缓解盐胁迫的伤害。

2.4 NaCl 胁迫对苗期水飞蓟叶片总黄酮含量的影响

由图 5 可知, 随着 100 mmol/L NaCl 胁迫处理时间的增加, 水飞蓟叶片中总黄酮含量呈现先降低后升高的趋势, 其中胁迫处理 T_2 时总黄酮含量最低 (3.11%), 且与 CK 无显著性差异 ($P > 0.05$); 在 NaCl 胁迫处理 T_3 、 T_4 、 T_5 时, 总黄酮含量逐渐上升, 且均显著高于 CK 的总黄酮含量 ($P < 0.05$), 胁迫处理 T_5 的总黄酮含量 (7.44%) 最大。表明盐胁迫处理一段时间有利于苗期水飞蓟叶片中总黄酮的积累。

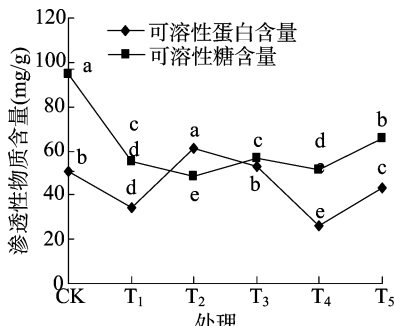


图4 NaCl 胁迫对苗期水飞蓟渗透性物质含量的影响

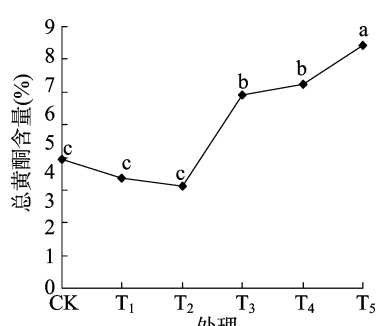


图5 NaCl 胁迫对苗期水飞蓟总黄酮含量的影响

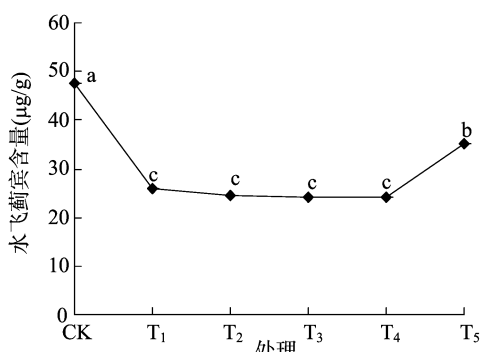


图6 NaCl 胁迫对苗期水飞蓟中水飞蓟宾含量的影响

响应特征

活性氧是指极为活泼、氧化能力很强的含氧物的总称。

NaCl 胁迫下,植物细胞内的活性氧产生和清除不平衡,大量活性氧会积累在植物体内,活性氧增多会引起膜脂过氧化、蛋白质变性、核酸降解等不良反应。膜脂氧化的最终产物是 MDA,MDA 可以作为膜脂氧化的一个指标^[16]。在 NaCl 胁迫下,SOD、POD、CAT 3 种酶的协同作用能降低氧自由基的积累,阻遏 O_2^- 和 H_2O_2 通过 Fenton 型 Haber-Weiss 反应转化成破坏性强的 $\cdot OH$,减轻了自由基对生物大分子的降解破坏,也减轻了其对生物膜的损害^[17],以缓解植物因胁迫受到的伤害。

本研究中,在 NaCl 胁迫下,SOD、POD 和 CAT 均能积极响应,在 NaCl 胁迫处理 T_1 时,SOD、POD 和 CAT 活性均增加,3 种酶对 NaCl 胁迫反应较迅速,能够快速增大活性来抵御盐胁迫对自身的伤害;在胁迫处理 T_2 时酶活性降低,3 种抗氧化酶清除了大部分的活性氧,说明生长代谢基本恢复正常;在胁迫处理 T_3 时,3 种酶活性又开始增加,持续的盐胁迫下 3 种酶再次被激活,活性增强,从而使叶片细胞代谢保持在正常水平。而胁迫处理 T_5 时,3 种酶活性减小的原因可能是在较长时间的 NaCl 胁迫下,3 种酶的调节能力有限,产生活性氧的速度大于这 3 种酶清除活性氧的速度,导致活性氧迅速破坏生物大分子,使酶活性降低。

随着盐胁迫时间的延长,作为膜质氧化产物的 MDA,其含量与 SOD、POD、CAT 活性变化的趋势前期是相反的,说明在 NaCl 胁迫初期 SOD、POD 和 CAT 大量地清除活性氧,MDA 含量降低,NaCl 胁迫后期 SOD、POD 和 CAT 的活性受到限制,清除活性氧的能力降低,活性氧增多,这可能是导致 NaCl 胁迫 4 d 后 MDA 含量升高的原因。

3.2 NaCl 胁迫下苗期水飞蓟渗透性物质的响应特征

NaCl 胁迫可对植物产生水分胁迫,促使植物体内积累各种有机物质以提高细胞液浓度,降低细胞液的渗透势,保持一定的压力势,维持体内水分,以适应 NaCl 胁迫环境。可溶性糖、可溶性蛋白是植物体内有效的渗透调节剂。可溶性糖包括蔗糖、葡萄糖、果糖、半乳糖等,其积累主要是由于淀粉等大分子碳水化合物的分解作用。其中,可溶性糖还是合成其他有机溶质的碳架和能量来源,对细胞质膜和原生胶体有稳定作用,可在细胞内无机离子浓度高时起保护酶类的作用^[18]。可溶性蛋白含量与植物的保水能力有一定的关系。本研究发现,可溶性蛋白及可溶性糖含量在 NaCl 胁迫过程中表现出相似的变化趋势,推测前期降低的原因可能是二者对 NaCl 胁迫比较敏感,细胞受到胁迫伤害后其体内通过分解可溶性蛋白及可溶性糖以应对胁迫伤害,经过一定时间后耐受性增强,促使其产生更多的可溶性蛋白和可溶性糖来平衡细胞内外的渗透性。其中 NaCl 胁迫 2 d 可明显促进可溶性蛋白的积累,降低细胞渗透势,增强渗透调节能力,维持植物正常的生长生理需求。而 NaCl 胁迫处理不同时间后可溶性糖的积累均受到抑制,说明一定时间的 NaCl 胁迫致使苗期水飞蓟体内大分子化合物分解,从而影响可溶性糖的积累,再加上植物生理机能的破坏,加快了可溶性蛋白和可溶性糖的分解速度,最后表现为一定时间的 NaCl 胁迫后两者含量均显著低于对照。

3.3 NaCl 胁迫下苗期水飞蓟总黄酮及水飞蓟宾含量的响应特征

NaCl 胁迫条件下,植物次生代谢产物的合成水平会提高,次生代谢产物含量会增加。在 NaCl 胁迫处理 T_3 、 T_4 、 T_5

时,苗期水飞蓟叶片总黄酮含量随着 NaCl 胁迫时间的增加而增加,说明一定时间内 NaCl 胁迫可能激发了其体内的次生代谢,能促进某些代谢途径中的防御性次生代谢产物的产生和增加。在 NaCl 胁迫处理初期,苗期水飞蓟的总黄酮含量略微降低,原因可能是在 NaCl 胁迫初期次生代谢系统的防御功能需要一定的缓冲时间,总黄酮无法积累而致使其含量有所降低。

水飞蓟宾属于黄酮类化合物,在 NaCl 胁迫处理下,叶片的水飞蓟宾含量随着 NaCl 胁迫时间的增加呈现先降低后升高的趋势。但各处理中含量最高的 T_5 处理的水飞蓟宾仍低于 CK,推测原因可能是 NaCl 胁迫时间不够长。与总黄酮含量结果相对比发现,NaCl 胁迫处理 T_3 时,总黄酮含量开始升高,而水飞蓟宾含量降至最低,之后两者含量都有明显的升高趋势。推测原因可能是水飞蓟宾对盐胁迫的响应较慢,其他黄酮类物质的合成较多。

综合分析,苗期水飞蓟在适度的 NaCl 胁迫下,具有一定的耐盐性,在 NaCl 胁迫处理后,叶片中叶绿素含量下降,光合作用受到抑制。SOD、POD 与 CAT 活性在 NaCl 胁迫初期上升,NaCl 胁迫后期其生理机制受到破坏而下降,可溶性糖含量显著低于对照,总黄酮和水飞蓟宾含量在 NaCl 胁迫初期时下降,在 NaCl 胁迫后期上升。由此推测苗期水飞蓟的耐盐机制可能为适度的 NaCl 胁迫下,通过提高保护酶活性和分解部分渗透调节物质以缓解 NaCl 胁迫伤害,其体内的次生代谢也受到抑制,但随着胁迫时间的延长($T_3 \sim T_5$),其体内的次生代谢可能被激活,从而使其代谢产物的合成水平得以提高以抵御外界的渗透胁迫。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:82.
- [2] 安咏梅. 水飞蓟的经济价值和栽培技术[J]. 北方园艺,2014(16):161-163.
- [3] 王敏,张宇,张宏莲,等. 水飞蓟茎叶化学成分研究[J]. 黑龙江医药科学,2010,33(1):78-79.
- [4] Shaker E, Mahmoud H, Mnaa S. Silymarin, the antioxidant component and *Silybum marianum* extracts prevent liver damage[J]. Food & Chemical Toxicology, 2010, 48(3):803-806.
- [5] Cardile A P, Mbuy G K N. Anti-herpes virus activity of silibinin, the primary active component of *Silybum marianum* [J]. Journal of Herbal Medicine, 2013, 3(4):132-136.
- [6] Aghazadeh S, Amini R, Yazdanparasta R. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of *Silybum marianum* in treatment of experimental steatohepatitis[J]. Experimental & Toxicologic Pathology, 2011, 63(6):569-574.
- [7] 范力力,赵惠萍,田力. 木香子牛蒡子水飞蓟的鉴别[J]. 中国中药杂志,1995,20(5):262-264.
- [8] 张红瑞,王文全. 水飞蓟在我国的栽培研究进展[J]. 安徽农业科学,2007,35(23):7208-7209.
- [9] Serrano R, Mulet J M, Rios G, et al. A glimpse of the mechanisms of ion homeostasis during salt stress [J]. Journal of Experimental Botany, 1999, 50(S1):1023-1036.
- [10] Gisbert C, Rus A M, Bolarín M C, et al. The yeast *HAL1* gene improves salt tolerance of transgenic tomato[J]. Plant Physiology, 2000, 123(1):393.

袁 圆, 张爱民, 王永平, 等. 连作辣椒根围化学成分鉴定与动态分析[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(21): 139–144.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.21.034

连作辣椒根围化学成分鉴定与动态分析

袁 圆¹, 张爱民¹, 王永平¹, 梁传静¹, 廖芳芳¹, 吴康云¹, 张 明², 邢 丹¹

(1. 贵州省农业科学院辣椒研究所, 贵州贵阳 550006; 2. 中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州贵阳 550002)

摘要:为比较不同辣椒品种(系)、生育期及种植年限对辣椒根系及土壤化学成分的影响, 科学地研究辣椒连作障碍问题及化感作用, 于辣椒盛花期及盛果期采集连作地及非连作地不同辣椒品种(系)根系和土壤, 采用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)对其各化学组分进行鉴定及动态分析。结果表明, 辣椒盛花期及盛果期根系及根际土壤的化学成分数目、种类及相对质量分数占比总体呈动态趋势发展, 其中辣椒盛花期根系共检出 13 类 77 种物质, 土壤中共检测出 14 类 46 种物质; 盛果期根系浸提液共检测出 11 类 63 种物质, 土壤浸提液共检测出 14 类 56 种物质。其中, 当地品种绥阳小米辣连作地中的酚、酸类物质数目增长速度最快, 明显高于其非连作地和其他品种的处理, 且根系中酚酸类物质的原始积累量高于杂交品种黔椒 5 号(线椒)和辣研 2 号(朝天椒)平均数; 醇类物质是辣椒根系及土壤中检测到的所有物质中占比较高的一类组分; 烷类物质只在 7 月份盛花期的连作土壤里检测到; 酯类组分随着种植时间及生育期的推移, 在土壤里呈小范围上升; 酰胺类和酮类成分整体变化水平不高; 醛类物质随着生育期的进行在土壤中数量增多, 在根系中减少。

关键词:辣椒; 连作; 土壤; 根系; 化学成分

中图分类号:S641.301 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)21-0139-06

辣椒是贵州地区重要的经济作物之一。遵义市地处贵州省北部, 处于云贵高原向湖南丘陵和四川盆地过渡的斜坡地带, 地形起伏大, 地貌类型复杂, 海拔高度一般在 800 ~ 1 300 m, 属亚热带季风气候, 终年温凉湿润, 冬无严寒、夏无酷暑, 雨量充沛, 日照充足, 全境可以种植辣椒, 是全国闻名的辣椒主要种植区, 拥有全国最大的辣椒集散交易中心, 辣椒品质在全国名列前茅。近年来在当地政府的扶持下, 辣椒规模逐年增加, 至 2016 年种植规模为 13 万多 hm², 占全省辣椒种植总面积的 48%, 主要种植品种有圆颗粒、小米椒、子弹头、

二荆条等^[1]。

辣椒在连年栽培的过程中受连作障碍的严重威胁, 其产量及品质降低。化感物质的累积是产生辣椒连作障碍的主要因素之一, 也是辣椒集约化发展的一个瓶颈, 研究发现, 在连作栽培中辣椒根系会分泌一些化感物质, 譬如酚酸类物质, 这些酚酸物质会随着连作时间的增加在土壤中不断富集, 进而抑制辣椒植株生长。此外, 上茬作物收获后, 其残留植物体的分解也会释放部分酚酸物质, 不利于辣椒植株的生长。酚酸物质的累积可为土壤中病原微生物提供碳源, 降低土壤 pH 值, 影响植株对养分和水分的摄取, 进而导致植株抵抗力下降, 为病原菌的侵入创造有利条件, 从而引起土传病害的大暴发, 危害辣椒的产量以及品质。研究表明, 植物所释放的化感物质可归为以下几类: 水溶性有机酸类、不饱和内酯、脂肪酸和多炔、醌类物质、酚类、苯甲酸及其衍生物、肉桂酸及其衍生物、香豆素类; 类黄酮、单宁、类萜和甾类化合物、氨基酸和多肽、生物碱和氰醇、硫化物和芥子油苷、嘌呤和核苷等^[2]。目前有关遵义市连作辣椒根际周围化学成分鉴定与动态变化研究的相关报道较少, 本研究通过分析不同辣椒品种、生育期及种植年限的根系及土壤化学成分, 结合已被广泛报道具有化

收稿日期: 2018-01-30

基金项目: 贵州省科技支撑计划(编号: 黔科合 NY[2015]3018-2 号); 贵州省农业科学院自主创新专项[编号: 黔农科院自主创新科研专项字(2014)012 号]; 贵州省科技平台及人才计划(编号: 黔科合平台人才[2017]5709)。

作者简介: 袁 圆(1991—), 女, 贵州习水人, 硕士, 研究实习员, 研究方向为连作辣椒病害鉴定及其综合防控。E-mail: 15286011425@163.com。

通信作者: 邢 丹, 博士研究生, 副研究员, 研究方向为辣椒种植环境与安全高效生产。E-mail: 2004xingdan@163.com。

[11] Holmström K, Somersalo S, Mandal A, et al. Improved tolerance to salinity and low temperature in transgenic tobacco producing glycine betaine[J]. Journal of Experimental Botany, 2000, 51(343): 177–185.

[12] Hasegawa P M, Bressan R A, Zhu J K, et al. Plant cellular and molecular responses to high salinity[J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 2000, 51(51): 463–499.

[13] 张晓倩, 王康才, 张彦南, 等. 水飞蓟萌发期和苗期对 NaCl 胁迫的生长生理响应[J]. 西北植物学报, 2013, 33(10): 2050–2056.

[14] 张晓倩, 王康才, 张彦南, 等. 外源 NO 对 NaCl 胁迫下水飞蓟种

子萌发和幼苗生长生理的影响[J]. 中草药, 2013, 44(22): 3216–3222.

[15] 张 鑫, 刘广娜. NaCl 胁迫对水飞蓟有效成分影响的研究[J]. 吉林农业科技学院学报, 2013, 22(4): 1–3.

[16] 何树斌, 刘国利, 杨惠敏. 水分处理下紫花苜蓿刈割后茬的光合变化及其机制[J]. 草业学报, 2009, 18(6): 192–197.

[17] 余叔文, 汤章城. 植物生理学及分子生物学[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 1998: 366–389.

[18] 张海燕, 赵可夫. 盐分和水胁迫对盐碱地蓬幼苗渗透调节效应研究[J]. 植物学报, 1998, 40(1): 56–61.