

重茬土壤、枯叶腐解液对 广藿香扦插苗生理生化指标的影响

吴燕燕¹, 李明^{1,2}, 黄结雯¹, 马婷玉¹, 段修冉¹, 潘丽萍¹

(1. 广东药科大学 中药学院, 广东 广州 510006; 2. 国家中医药管理局 岭南药材生产与开发重点实验室, 广东 广州 510006)

摘要:为了研究和探讨广藿香连作障碍成因及其作用机制,以广藿香扦插苗(2、8周龄苗)为试材,采用盆栽试验法,研究了广藿香重茬土壤、枯叶腐解液对其扦插苗叶片生理生化指标的影响。结果表明:2、8周苗龄广藿香扦插苗培育在广藿香重茬土壤和含不同浓度的枯叶腐解液的培养基中 60 d,叶片过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)活性均较对照土呈升高的变化趋势,且随枯叶腐解液浓度的增加而升高,2、8周幼苗叶片 CAT、POD、SOD 活性均呈含高浓度枯叶腐解液的土壤>重茬土>含低浓度枯叶腐解液的土壤>对照土的变化规律;丙二醛(MDA)含量也较对照土显著升高,呈含高浓度枯叶腐解液的土壤>含低浓度枯叶腐解液的土壤>重茬土>对照土的变化规律。广藿香植株枯叶腐解物导致的化感自毒作用可能是其连作障碍的主要因素之一。

关键词:广藿香;重茬土;枯叶腐解液;扦插;生理生化指标

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)10-0149-05

广藿香(*Pogostemon cablin* (blanco) Benth.) 属唇形科刺蕊草属植物,以干燥地上部分入药,性辛、微

温,具有芳香化湿、开胃止呕、发表解暑功效,是岭南的常用中药^[1]。近年来在医药和精油市场对广藿香的需求有逐年增加的趋势,但在其栽培生产中出现严重的连作障碍问题^[2]。连作障碍指在正常的管理措施下,在同一块地连续多年种植相同作物造成作物产量降低、品质变劣、生长状况变差、病虫害加剧的现象。研究表明,化感自毒作用是导致植物连作障碍的重要因素之一^[3-5]。

植物通过淋溶、植株残体腐解、根系分泌化感物质等方式使其临近植物或其自身产生化感自毒作

第一作者简介:吴燕燕(1990-),女,硕士研究生,研究方向为中药资源与质量。E-mail:1024795026@qq.com.

责任作者:李明(1963-),女,教授,硕士生导师,现主要从事中药资源及质量等研究工作。E-mail:13539843803@163.com.

基金项目:广东省科技计划资助项目(2014A020208133; 2013B020503066)。

收稿日期:2016-12-13

Effect of Arbuscular Mycorrhizal on Growth and Resistance of *Glycyrrhiza uralensis* Seedling

FAN Jihong, BI Hongyan, ZOU Yuandong, XU Yan

(Department of Horticulture, Beijing Vocation College of Agricultural, Beijing 102442)

Abstract: Taking 1-year-old seedlings of *G. uralensis* as experiment material, the effect of arbuscular mycorrhizal on the growth and resistance of *Glycyrrhiza uralensis* seedling were studied. The results indicated that the four kinds of inoculated arbuscular mycorrhizal fungi could form mycorrhizal fungi with *G. uralensis* seedlings, and promote the growth of these seedlings significantly. Moreover, arbuscular mycorrhizal fungi improved remarkably the resistance index of the seedlings, including the content of soluble sugar and protein increased, as well as, the contents of proline and MDA decreased.

Keywords: arbuscular mycorrhizal (AM); *Glycyrrhiza uralensis*; growth; resistance

用,并在连作中对后茬植物生长产生不利影响^[6-7],课题组前期研究了广藿香根系分泌物、器官水浸液的化感自毒作用及连作土壤水浸液对扦插苗生根影响等研究^[8-10],为了进一步揭示广藿香连作障碍成因及其作用机制,研究了广藿香重茬土壤及枯叶腐解液对其幼苗叶片抗氧化酶活性的影响,为揭示其连作障碍成因和作用机制提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试广藿香扦插苗参考唐堃等^[8]方法,在广东药科大学城区校区药圃培育。

1.2 试验方法

1.2.1 广藿香枯叶腐解液的制备 取干燥好的广藿香枯叶,粉碎后过 100 目筛。称取适量,按 1:1:10 (枯叶:土壤:水)加入无菌水搅拌均匀,置于 35℃ 恒温恒湿箱中腐解 30 d,过滤,除残渣,再抽滤 2 次,滤液为供试母液,浓度记为 $0.1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,4℃ 下保存。取适量供试母液,经稀释得到浓度为 0.01、0.03、0.05、0.07 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 腐解液。

1.2.2 培养基质的配制 对照土:取自广东省广州市广东药科大学大学城校区药圃,与广藿香种植地相邻未种植过广藿香的土壤。枯叶腐解液+对照土:在广藿香移栽前分别用 0.01、0.03、0.05、0.07 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 枯叶腐解液浇透对照土。重茬土:取自广东省广州市广东药科大学大学城校区药圃,连续种植 2 年广藿香后的土壤。

1.2.3 盆栽方法 采用 16 cm×16 cm 规格的育苗袋,每袋装培养基质约 1.5 kg,将已经扦插生根的 2、8 周龄广藿香扦插苗移栽到培养袋中,每袋种植扦插苗 2 株,枯叶腐解液+对照土处理组每天分别浇灌 10 mL 不同浓度的腐解液,对照土和重茬土处理每天浇灌 10 mL 蒸馏水。每处理 6 袋,随机排列,试验重复 3 次。

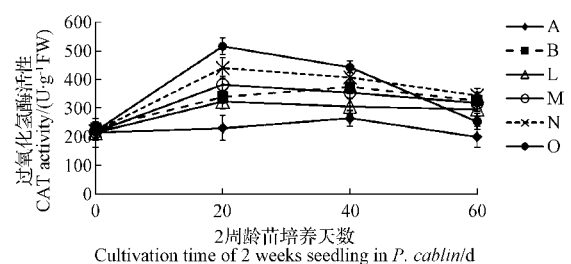
1.3 项目测定

随机剪取扦插苗上的叶片,用去离子水清洗干净,称取 0.25 g,加 5 mL 磷酸盐缓冲液($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7.0),冰浴研磨成匀浆,4℃、12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min 后冷藏保存,上清液为酶提取液。过氧化氢酶(CAT)活性和丙二醛(MDA)含量均采用紫外分光光度法测定^[11-12];过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定^[11,13];超氧化物歧化酶(SOD)活性采用 NBT 还原法测定^[11,13]。

2 结果与分析

2.1 重茬土及枯叶腐解液对广藿香扦插苗叶片 CAT 活性的影响

由图 1、2 可知,2、8 周龄苗广藿香扦插苗培育在不同处理基质中,在培养期间,其叶片 CAT 活性均呈升高变化,与对照土差异显著($P<0.05$)。2 种幼苗叶片 CAT 活性在培养 20 d 均达到高峰。其中,在含有高浓度枯叶腐解液的土壤基质中 2、8 周龄苗叶片 CAT 活性分别较对照增加 123.66% 和 104.24%,随即呈降低的变化。在培养期间,2 种幼苗叶片 CAT 活性均呈含高浓度枯叶腐解液的土壤>重茬土>含低浓度枯叶腐解液的土壤>对照土的变化。在各培养时期,不同基质培养的 2 周龄苗的 CAT 活性均高于 8 周龄苗。



注:A.对照土+蒸馏水;B.重茬土+蒸馏水;L. $0.01 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 土壤枯叶腐解液+对照土;M. $0.03 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 土壤枯叶腐解液+对照土;N. $0.05 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 土壤枯叶腐解液+对照土;O. $0.07 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 土壤枯叶腐解液+对照土。下同。

Note: A. control soil and distilled water; B. continuous cropping soil and distilled water; L. $0.01 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ decomposed liquid of dead leaves and control soil; M. $0.03 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ decomposed liquid of dead leaves and control soil; N. $0.05 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ decomposed liquid of dead leaves and control soil; O. $0.07 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ decomposed liquid of dead leaves and control soil. The same as follow.

图 1 重茬土和枯叶腐解液对 2 周龄苗广藿香叶片 CAT 活性的影响

Fig. 1 Effects of continuous cropping soil and decomposed liquid of dead leaves on the CAT activity of 2 weeks cutting seedlings in *P. cablin*

2.2 重茬土及枯叶腐解液对广藿香扦插苗叶片 POD 活性的影响

由图 3、4 可知,2 周龄苗广藿香扦插苗培育在不同处理基质中,在培养期间,其叶片 POD 活性均呈升高的变化,与对照土差异显著($P<0.05$),8 周龄苗广藿香扦插苗在含低浓度枯叶腐解液的基质中培育 40、60 d 时,叶片 POD 活性与对照土差异不显著($P>0.05$),其它处理组的叶片 POD 活性均呈升高

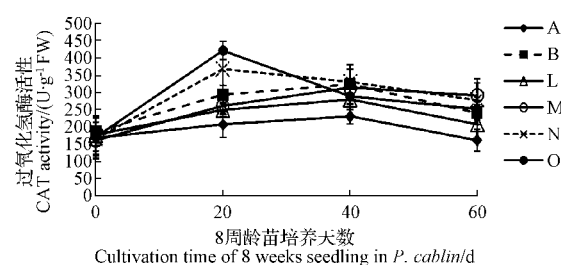


图2 重茬土和枯叶腐解液对8周龄苗广藿香叶片CAT活性的影响

Fig. 2 Effects of continuous cropping soil and decomposed liquid of dead leaves on the CAT activity of 8 weeks cutting seedlings in *P. cablin*

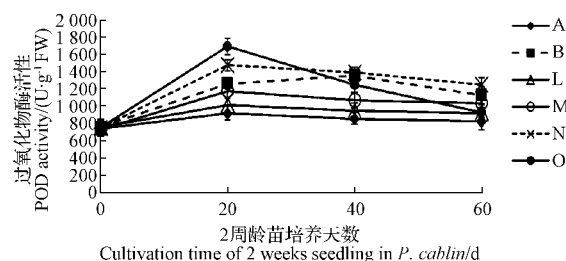


图3 重茬土和枯叶腐解液对2周龄苗广藿香叶片POD活性的影响

Fig. 3 Effects of continuous cropping soil and decomposed liquid of dead leaves on the POD activity of 2 weeks cutting seedlings in *P. cablin*

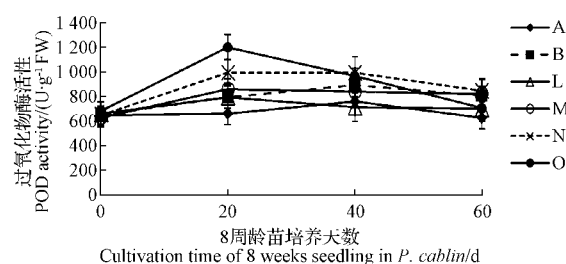


图4 重茬土和枯叶腐解液对8周龄苗广藿香叶片POD活性的影响

Fig. 4 Effects of continuous cropping soil and decomposed liquid of dead leaves on the POD activity of 8 weeks cutting seedlings in *P. cablin*

的变化,与对照土相比差异显著($P<0.05$)。2种幼苗叶片POD活性在培养20 d时均达到高峰,2、8周龄苗叶片POD活性分别较对照增加84.15%和81.47%,随即呈降低的变化。在培养期间,2种幼苗叶片POD活性均呈含高浓度枯叶腐解液的土壤>重茬土>含低浓度枯叶腐解液的土壤>对照土的变化。在各培养时期,不同基质培养的2周龄苗的叶

片POD活性均高于8周龄苗。

2.3 重茬土及枯叶腐解液对广藿香扦插苗叶片SOD活性的影响

由图5、6可知,2、8周龄苗广藿香扦插苗培育在不同处理基质中,在培养期间,其叶片SOD活性整体变化趋势与CAT相似,呈先升高后下降的变化,与对照土差异显著($P<0.05$),而2、8周龄苗扦插苗在含低浓度枯叶腐解液的基质中培育40、60 d时,叶片SOD活性与对照土差异不显著($P>0.05$)。在重茬土培养基质培育的2、8周龄苗叶片SOD活性在培育40 d时达到高峰,在含枯叶腐解液的培养基质培育的2种幼苗叶片SOD活性在培养20 d时均达到高峰,其中,在含高浓度枯叶腐解液的培养基质中的2、8周龄苗叶片SOD活性分别较对照增加77.14%和71.49%,随即呈降低的变化。在培养期间,2种幼苗叶片SOD活性均呈含高浓度枯叶腐解液的土壤>重茬土>含低浓度枯叶腐解液的土壤>对照土的变化。在各培养时期,不同基质培养的2周龄苗的叶片SOD活性均高于8周龄苗。

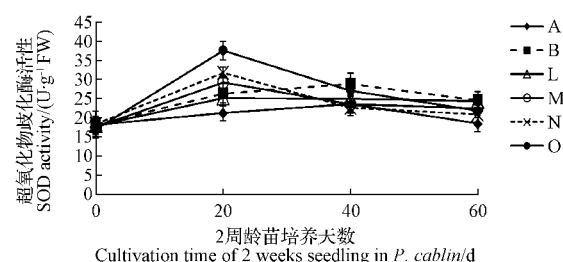


图5 重茬土和枯叶腐解液对2周龄苗广藿香叶片SOD活性的影响

Fig. 5 Effects of continuous cropping soil and decomposed liquid of dead leaves on the SOD activity of 2 weeks cutting seedlings in *P. cablin*

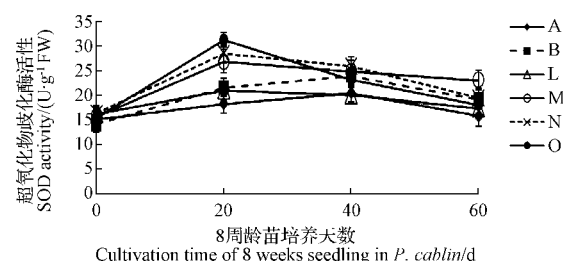


图6 重茬土和枯叶腐解液对8周龄苗广藿香叶片SOD活性的影响

Fig. 6 Effects of continuous cropping soil and decomposed liquid of dead leaves on the SOD activity of 8 weeks cutting seedlings in *P. cablin*

2.4 重茬土及枯叶腐解液对广藿香扦插苗叶片MDA活性的影响

由图7、8可知,2、8周龄苗广藿香扦插苗培育在不同处理基质中,在培养期间,其叶片MDA含量均呈升高的变化,与对照土差异显著($P < 0.05$)。2种幼苗叶片MDA含量在培养60d时均达到高峰,其中,在含高浓度枯叶腐解液的培养基质中的2、8周龄苗叶片MDA含量分别较对照增加了135.61%和92.24%。在培养期间,2周龄苗叶片MDA含量均呈含高浓度枯叶腐解液的土壤>重茬土>含低浓度枯叶腐解液的土壤>对照土的变化;8周龄苗叶片MDA含量呈含高浓度枯叶腐解液的土壤>含低浓度枯叶腐解液的土壤>重茬土>对照土的变化。在各培养时期,不同基质培养的8周龄苗叶片MDA含量均高于2周龄苗。

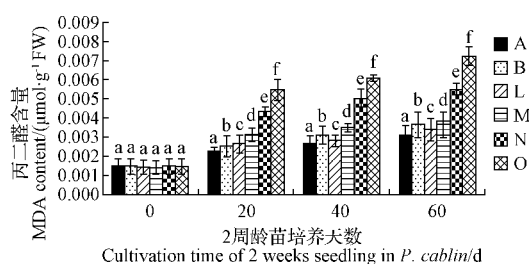


图7 重茬土和枯叶腐解液对2周龄苗广藿香叶片MDA含量的影响

Fig. 7 Effects of continuous cropping soil and decomposed liquid of dead leaves on the MDA content of 2 weeks cutting seedlings in *P. cablin*

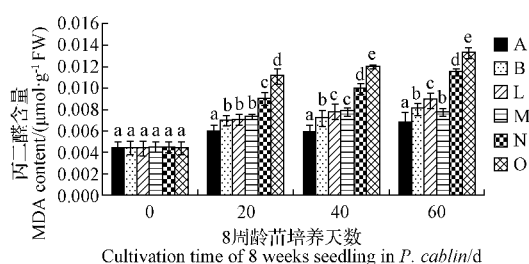


图8 重茬土和枯叶腐解液对8周龄苗广藿香叶片MDA含量的影响

Fig. 8 Effects of continuous cropping soil and decomposed liquid of dead leaves on the MDA content of 8 weeks cutting seedlings in *P. cablin*

3 讨论

植株枯叶腐解是导致连作障碍的重要因素^[14],植株腐解液中的酯类、烃类、醛酮类等化感物质会影响植株生长发育^[15-16]。张学鹏等^[17]研究表明,西兰

花茎叶腐解液对其生长有抑制作用,且浓度越大抑制作用越强。该研究发现广藿香重茬土和枯叶腐解液导致其幼苗叶片CAT、POD、SOD活性升高,MDA含量增加。MDA是反映植物膜质过氧化的重要指标,CAT、POD、SOD是抗氧化酶系统中重要的细胞保护酶,其变化反映了植物对外界胁迫的响应。CAT是植物组织中普遍存在的一种抗氧化酶,能够有效清除植物体内多余的 H_2O_2 ^[18];POD是活性较高的适应性酶,能够反映植物生长发育的特性、体内代谢状况以及对外界环境的适应性^[19];SOD在植物逆境胁迫中,能够高效清除胁迫过程产生的大量活性氧^[20]。有研究表明,连作导致植物生长、品质、根系活力、抗氧化酶活性下降^[16,21]。以往研究表明,重茬土抑制广藿香扦插苗不定根的生长,对其鲜质量、叶片面积、根长、根系活力等有不同程度的抑制作用,且其根、茎、叶中的MDA含量也有不同程度的增加^[10,22]。

该研究表明,2、8周龄的广藿香扦插苗培育在广藿香重茬土、含枯叶腐解液的土壤中产生了氧化胁迫,推测广藿香枯叶腐解物中的化感物质发挥了重要的作用,广藿香植株腐解物导致的化感自毒作用可能是其连作障碍的重要因素之一。有关枯叶腐解物在广藿香连作障碍中的作用、作用机制及主要成分将做进一步深入研究。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典I部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [2] 何国振, 李锦坤, 高伟, 等. 广东省广藿香种植业发展策略[J]. 中国农学通报, 2012(31): 288-292.
- [3] JIA Z H, YU H, SU Y R, et al. Autotoxic substances in the root exudates from continuous tobacco cropping [J]. Allelopathy Journal, 2011, 27(1): 87-96.
- [4] 刘红彦, 王飞, 王永平, 等. 地黄连作障碍因素及解除措施研究[J]. 华北农学报, 2006(4): 131-132.
- [5] 郭兰萍, 黄璐琦, 蒋有绪, 等. 苍术根茎及根际水土提物生物活性研究及化感物质的鉴定[J]. 生态学报, 2006(2): 528-535.
- [6] 谢群. 植物的化感作用及其应用[J]. 中学生物学, 2005, 21(11): 2-4.
- [7] 赵福庚. 植物逆境生理生态学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
- [8] 唐堃, 李明. 广藿香连作土壤对其扦插苗扦插生根的化感作用[J]. 广东农业科学, 2014(6): 85-88.
- [9] 唐堃, 李明, 赵盼, 等. 广藿香挥发油对其组织培养幼苗化感自毒作用的研究[J]. 北方园艺, 2014(19): 128-131.
- [10] 唐堃, 李明, 董闪, 等. 广藿香根际土壤水浸液对其扦插苗的化感自毒作用[J]. 中药材, 2014(6): 935-939.
- [11] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 3版. 北京: 高等教育出版社, 2003.

- [12] FENG L L, YAO F, YAN Z F, et al. Variations in antioxidant activities and MDA content in potato tubers infected by *Fusarium trichothecioides* [J]. Agricultural Science & Technology, 2015, 16(11): 2433-2436.
- [13] 李玲, 李娘辉, 蒋素梅. 植物生理学模块实验指导[M]. 北京: 科学出版社, 2009.
- [14] 吕卫光, 杨广超, 刘玲, 等. 西瓜植株残体腐解过程中酚酸化合物的动态变化[J]. 华北农学报, 2012(S1): 154-157.
- [15] 赵新梅, 王军, 莫静静, 等. 三种作物茎叶枯落物水浸液对烟草幼苗生长的化感效应[J]. 草业学报, 2016(9): 37-45.
- [16] 邓天福, 王建华, 高扬帆, 等. 番茄化感物质对几种蔬菜幼苗生长的影响[J]. 贵州农业科学, 2010(8): 43-44, 47.
- [17] 张学鹏, 宁堂原, 张洁莹, 等. 西兰花茎叶腐解液对不同蔬菜幼苗的化感效应[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2016(4): 481-486.
- [18] CUI Y, ZHAO N. Oxidative stress and change in plant metabolism of maize (*Zea mays* L.) growing in contaminated soil with elemental sulfur and toxic effect of zinc[J]. Plant Soil & Environment, 2011, 57(1): 34-39.
- [19] SCHULLER D J, BAN N, van HUYSTEE R B, et al. The crystal structure of peanut peroxidase[J]. Structure, 1996, 4(3): 311-321.
- [20] LEYMARIE J, VITKAUSKAITĖ G, HOANG H H, et al. Role of reactive oxygen species in the regulation of *Arabidopsis* seed dormancy [J]. Plant & Cell Physiology, 2012, 53(53): 96-106.
- [21] 尹文佳, 杜家方, 李娟, 等. 连作对地黄生长的障碍效应及机制研究[J]. 中国中药杂志, 2009(1): 18-21.
- [22] 李龙明, 李明, 黎韵琪, 等. 不同连栽年限对广藿香植株生长及其药材品质的影响[J]. 广东药学院学报, 2016(3): 315-319.

Effect of Continuous Cropping Soil and Decomposed Liquid of Dead Leaves on Physiological and Biochemical Indexes of *Pogostemon cablin* Cutting Seedlings

WU Yanyan¹, LI Ming^{1,2}, HUANG Jiewen¹, MA Tingyu¹, DUAN Xiuran¹, PAN Liping¹

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong 510006; 2. Key Laboratory of Production and Development of Medicinal Materials from in Lingnan, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510006)

Abstract: In order to study the causes and mechanism of continuous cropping obstacle in *Pogostemon cablin*, the pot experiment method was used to study the effect of physiological and biochemical indexes in its 2 and 8 weeks cutting seedlings cultured in cultivation substrate containing continuous cropping soil and decomposed liquid of dead leaves. The results showed that 2 and 8 weeks cutting seedlings cultured in cultivation substrate containing continuous cropping soil and decomposed liquid of dead leaves for 60 days, the activities of CAT, POD and SOD showed risen change in the leaves of the two cutting seedlings compared with that of the control, and raised with the concentration of decomposed liquid of dead leaves. The activities of CAT, POD and SOD in the leaves of two cutting seedlings showed the change in which the soil containing high concentration decomposed liquid of dead leaves > continuous cropping soil > soil containing low concentration decomposed liquid of dead leaves > control soil. The content of MDA significantly increased compared with that of the control, and showed the change in which the soil containing high concentration decomposed liquid of dead leaves > soil containing low concentration decomposed liquid of dead leaves > continuous cropping soil > control soil. Allelopathic autotoxicity caused by decomposition of dead leaves in *Pogostemon cablin* might be the one of the main factors causing continuous cropping obstacle.

Keywords: *Pogostemon cablin*; continuous cropping soil; decomposed liquid of dead leaves; cutting propagation; physiological and biochemical indexes