

蘑菇渣堆肥滤液对盐胁迫下黄芩种子萌发和幼苗生长的影响

陈智坤^{1,2}, 邓 嫻¹, 王峰伟¹, 马延康¹, 上官建国¹, 杜勇军¹

(1. 陕西省西安植物园, 陕西省植物研究所, 陕西 西安 710061; 2. 中国科学院 西北生物农业中心, 陕西 西安 710061)

摘 要:以黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)种子为试材,通过测定种子萌发指标和幼苗生理指标,探讨蘑菇渣堆肥滤液对 100 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫下黄芩种子萌发和幼苗生长的影响。结果表明:蘑菇渣堆肥滤液可显著提高盐胁迫下黄芩种子的发芽势、发芽率、发芽指数以及幼苗的鲜质量、地上鲜质量、地下鲜质量;同时提高幼苗叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素、可溶性糖含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性;充分显示蘑菇渣这一资源用于盐碱地土壤改良和解决黄芩栽培生产中盐胁迫问题的潜力。

关键词:蘑菇渣;盐胁迫;黄芩;种子

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)18-0149-05

土壤盐渍化主要是由于地下水位的波动、盐类溶液灌溉过度以及不合理的施肥导致土壤中可溶性盐的大量累积而造成,对农作物的生产造成了许多不利的影响。我国土壤盐渍化现象十分广泛,其中盐渍土总面积达 3 600 万 hm²,占全国可利用面积的 4.88%^[1]。盐渍化土壤中盐分是影响植物生长发育的重要环境因素之一,植物对其非常敏感,高浓度的盐分通常会对植物的生长产生抑制作用,最常见的现象包括叶片发黄、根系不发达、生物量下降、发育迟缓以及抑制组织的生长分化等^[2]。

黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)属唇形科黄芩属多年生草本植物,以根入药,具有清热燥湿、泻火解毒、止血、安胎等功效,主产于甘肃、陕西、山东等地,是我国常用的大宗药材^[3]。目前,对黄芩的研究多限于黄酮成分、细胞培养、组织培养和水分胁迫等方面^[4-6],但关于黄芩生理研究较少。近年来,随着生态环境不断恶化,土壤盐渍化现象越来越突出,黄芩栽培环境受到了严重

影响,进而制约了黄芩产业的可持续发展。因此,研究黄芩生理特性,对黄芩栽培土壤的盐渍化改良具有一定的参考价值^[7]。

蘑菇渣(spent mushroom compost, SMC)是生产食用菌过程中产生的一种有机固体废弃物,其不仅含有食用菌的代谢产物如大量的粗蛋白、粗脂肪、氮浸出物、钙、磷、钾、硅等营养物质,而且含有数量庞大、种类繁多的微生物群落,特别是含有较多对纤维素类物质有很强降解能力的真菌类微生物^[8]。常温好氧堆肥处理,可使堆肥原料中的不稳定有机物经过一段时间的氧化腐熟,形成性质稳定、容易吸收、利于植物生长的物质。一般每 100 kg 培养料,收获 100 kg 鲜菇后,会产生蘑菇渣废弃物 60 kg。研究显示,合理处理后的蘑菇渣可作肥料、土壤调节剂、植物培养基、有益酶提取物等^[9-11]。但关于蘑菇渣堆肥用于盐碱地改良,提高黄芩耐盐性的研究尚鲜见报道。

该试验以黄芩种子为材料,用 100 mmol·L⁻¹ NaCl 溶液模拟盐胁迫条件,测定黄芩种子的萌发和黄芩幼苗的生物量、可溶性糖、叶绿素含量和抗氧化酶活性,探讨蘑菇渣堆肥滤液对盐胁迫下的黄芩种子萌发及幼苗生理的影响,为蘑菇渣用于盐碱地土壤改良和解决黄芩栽培生产中盐胁迫问题提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用的黄芩种子于 2015 年 7 月采于铜川市耀州区。

第一作者简介:陈智坤(1987-),男,硕士,研究实习员,研究方向为土壤与肥料。E-mail:zhikunchen@ms.xab.ac.cn.

责任作者:杜勇军(1966-),男,硕士,副研究员,研究方向为植物学。E-mail:980656852@qq.com.

基金项目:中国科学院重点部署资助项目(KJZD-EW-TZ-G10);陕西省科学院重点资助项目(2014K-18);陕西省科学院青年人才培养专项资助项目(2015K-27);陕西省科学院重点资助项目(2015K-24)。

收稿日期:2016-04-26

1.2 试验方法

1.2.1 种子消毒 取籽粒饱满、大小一致的种子用 64% H_2SO_4 处理 4 min 破除硬实,清水冲洗 30 min 后,用 2% $NaClO$ 消毒 5 min,蒸馏水冲洗 6 次后备用。

1.2.2 预试验结果 设 6 种不同腐熟度(发酵天数为 0、7、14、21、28、35 d)的蘑菇渣堆肥和 2 种不同浓度的蘑菇渣滤液(浸提比为 1:10 和 1:20,即 1 g 的蘑菇渣分别溶于 10 mL 和 20 mL 的蒸馏水中)对黄芩种子进行处理,以蒸馏水为对照(CK),每组 3 次重复。测定各处理种子的发芽指数和幼苗鲜质量,研究不同腐熟度和不同浓度蘑菇渣滤液对黄芩种子的影响,结果见图 1 和图 2。

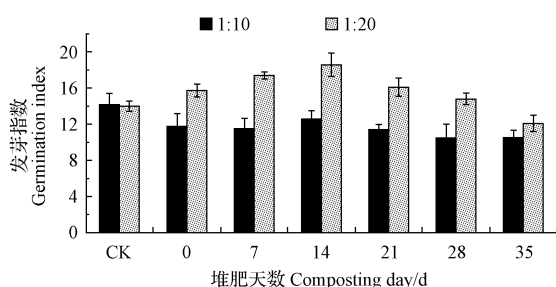


图 1 不同腐熟度及浸提比蘑菇渣滤液对黄芩发芽指数的影响(预试验结果)

Fig. 1 Effect of different maturity and extraction ratios of mushroom compost leachate on the germination percentage of *Scutellaria baicalensis* Georgi (result of pre-experiment)

表 1

对黄芩种子的不同处理

Table 1

Different treatments to seeds of *Scutellaria baicalensis* Georgi

处理 Treatment	100 mmol · L ⁻¹ NaCl 溶液 100 mmol · L ⁻¹ NaCl solution/mL	堆肥滤液 Compost leachate/mL	蒸馏水 Distilled water/mL
CK1	0	0	20
CK2	20	0	0
处理组 Treatment	20	20	0

1.3 项目测定

1.3.1 种子萌发指标 在试验进行的第 5 天统计并计算种子萌发的发芽势(germination energy, GE),在第 10 天进行发芽指数(germination index, GI)以及发芽率(germination rate, GR)的统计和计算,计算公式为:发芽势(GE ,%)=(前 5 d 种子发芽数/种子总数)×100;发芽率(GR ,%)=(前 10 d 种子发芽数/种子总数)×100;发芽指数(GI)= $\sum G_t/D_t$,式中, G_t 为在第 t 日的发芽数, D_t 为发芽天数。

1.3.2 幼苗生理指标 在试验进行的第 15 天,收获幼苗称量其鲜质量和根质量,并计算根冠比。准确称量新鲜幼苗叶片 0.2 g,采用蒽酮比色法^[12]测定可溶性糖含量。采用分光光度法测定叶绿素和类胡萝卜素含量。采用氮蓝四唑法和愈创木酚比色法测定超氧化物歧化

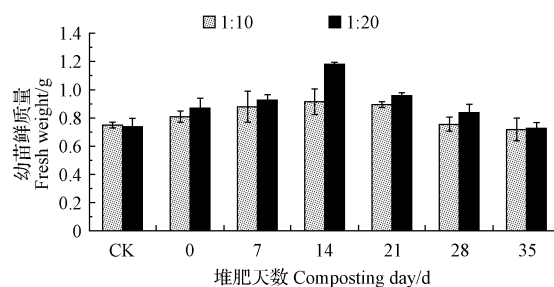


图 2 不同腐熟度及浸提比蘑菇渣滤液对黄芩幼苗鲜质量的影响(预试验结果)

Fig. 2 Effect of different maturity and extraction ratios of mushroom compost leachate on fresh weight of *Scutellaria baicalensis* Georgi (result of pre-experiment)

经比较,选择发酵天数为 14 d,浸提比 1:20 的蘑菇渣滤液研究蘑菇渣堆肥滤液对 NaCl 胁迫下黄芩种子萌发与幼苗生长影响。

1.2.3 试验设计 采用 100 mmol · L⁻¹ 的 NaCl 溶液作为模拟盐胁迫的浓度,设 3 个处理,具体试验设计如表 1。在直径 150 mm 的培养皿中放入 3 张滤纸,喷施处理液,每个培养皿 50 粒种子,每组 8 次重复,置于人工气候箱中培养,气候箱中光强 4 000 lx,光照处理 14 h,黑暗处理 10 h,温度 25 ℃,相对湿度 60%。

酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性。

1.4 数据分析

试验数据采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析,采用单因素方差分析(ANOVA 法)和 LSD 两两比较,以 $P < 0.05$ 为差异显著,所有数据均以平均数±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 蘑菇渣堆肥滤液对种子萌发的影响

由表 2 可知,与 CK1 相比,CK2 的 GE 、 GR 和 GI 分别降低了 44.75%、25.00%、16.68 个百分点,且差异均显著($P < 0.05$)。与 CK2 相比,蘑菇渣滤液的处理组 GE 、 GR 和 GI 分别提高到了 30.91%、65.50%和 9.56%,差异达显著水平($P < 0.05$)。

表 2 蘑菇渣滤液处理对盐胁迫下黄芩种子 GE、GR 和 GI 的影响

Table 2 Effect of mushroom compost leachate on GE,GR and GI of *Scutellaria baicalensis* under salinity stress

处理 Treatment	发芽势 GE/%	发芽率 GR/%	发芽指数 GI
CK1	63.25±1.30a	70.25±1.45a	22.06±1.69a
CK2	18.50±1.91c	45.25±2.45c	5.38±0.81c
处理组 Treatment	30.91±3.09b	65.50±5.87b	9.56±1.33b

注:同行中不同字母表示不同来源种子在 0.05 水平存在显著性差异,下同。
Note: Different letters in the same column mean the significant difference at 0.05 level among the treatments, the same below.

2.2 蘑菇渣堆肥滤液对幼苗生理指标的影响

2.2.1 对幼苗生物量的影响 由图 3A-C 可知,处理组黄芩幼苗的鲜质量、根鲜质量、地上部鲜质量(0.75±0.02 g、0.10±0.00 g、0.64±0.00 g)均显著高于 CK2(0.18±0.01 g、0.04±0.00 g、0.14±0.01 g);处理组黄芩幼苗鲜质量与 CK1(0.76±0.01 g)无显著性差异(图

3A);处理组黄芩幼苗根鲜质量小于 CK1(0.19±0.01 g)且具有显著差异(图 3B);处理组黄芩幼苗地上部鲜质量高于 CK1(0.57±0.01 g)且具有显著差异(图 3C);根冠比大小为 CK1>CK2>处理组,且各组间具有显著性差异(图 3D)。

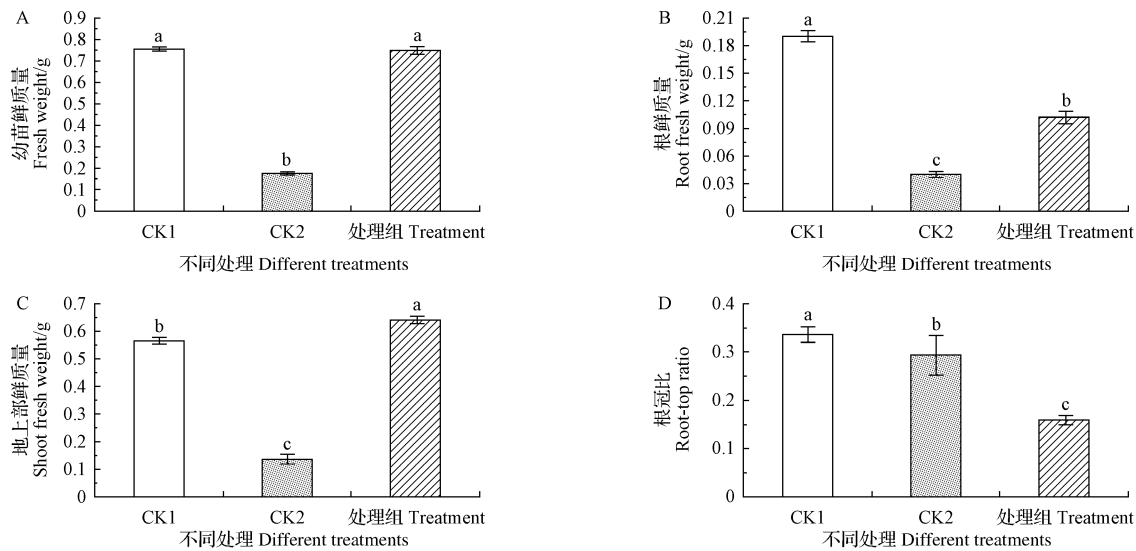


图 3 蘑菇渣滤液处理对盐胁迫下黄芩幼苗鲜质量(A)、根鲜质量(B)、地上部鲜质量(C)和根冠比(D)的影响

Fig. 3 Effect of mushroom compost leachate on total fresh weight(A), root fresh weight(B), shoot fresh weight(C) and root-top ratio(D) of *Scutellaria baicalensis* under salinity stress

2.2.2 对幼苗叶绿素、类胡萝卜素及可溶性糖含量的影响 由表 3 可知,处理组和 CK1 中黄芩幼苗叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量均显著高于 CK2(P<0.05),且处理组与 CK1 没有显著性差异(P>0.05),说明蘑菇渣滤液显著地提高了盐胁迫下植物幼苗的叶绿素含量

和类胡萝卜素含量,并且使含量提高到了接近未施加盐处理的对照组;处理组和 CK2 中可溶性糖含量均显著高于 CK1(P<0.05),且 CK2 与处理组之间没有显著性差异(P<0.05),说明盐胁迫提高了植物幼苗体内可溶性糖的含量。

表 3 蘑菇渣滤液处理对盐胁迫下黄芩幼苗光合色素和可溶性糖含量的影响

Table 3 Effect of mushroom compost leachate on photosynthetic pigment and soluble sugar content of *Scutellaria baicalensis* under salinity stress

处理 Treatment	叶绿素 a Chlorophyll a/(mg·g ⁻¹)	叶绿素 b Chlorophyll b/(mg·g ⁻¹)	类胡萝卜素 Carotenoid/(mg·g ⁻¹)	可溶性糖 Soluble sugar/(μg·g ⁻¹)
CK1	0.75±0.05a	0.20±0.01a	0.18±0.02a	23.33±0.67b
CK2	0.44±0.00b	0.12±0.00b	0.11±0.01b	27.17±0.50a
处理组 Treatment	0.73±0.06a	0.19±0.02a	0.17±0.03a	27.56±0.58a

2.2.3 对幼苗抗氧化酶的影响 NaCl 胁迫下,蘑菇渣滤液对黄芩幼苗抗氧化酶活性的影响如图 4 所示,CK2 黄芩的 SOD 和 POD 活性明显高于 CK1,分别是 CK1 的 1.74 倍和 1.33 倍。处理组黄芩的 SOD 和 POD 活性分别是 CK2 的 1.22 倍和 1.34 倍。说明在 NaCl 的胁迫下,使用蘑菇渣堆肥可增加黄芩的抗氧化酶活性,增强黄芩对盐胁迫的抵抗能力。

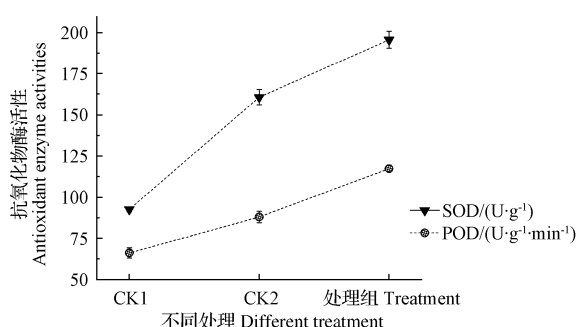


图 4 蘑菇渣滤液处理对盐胁迫下黄芩幼苗 SOD 和 POD 活性的影响

Fig. 4 Effect of spent mushroom compost leachate on SOD and POD activities of *Scutellaria baicalensis* Georgi under salinity stress

3 讨论与结论

3.1 蘑菇渣堆肥滤液对种子萌发的影响

水分是种子萌发的必要条件,种子浸水后其种皮膨胀,这样养分就可以进入种子内部,进行一系列的物质分解和转化并为后来的生长提供能量^[13]。高浓度的盐分对种子萌发的影响的主要有 2 个方面:一方面,当外界盐浓度增大时,外界的渗透势要低于种子的,因此种子对水分的吸收遭到了抑制。另一方面,Na⁺的大量进入对种子产生单盐毒害,对细胞膜造成的破坏,加剧了细胞中水分的流失^[14]。该试验研究结果显示,盐胁迫显著降低了种子的发芽率和发芽指数,推测可能是由于种子吸水量过低以及高盐分的毒害导致了对细胞膜的损害。而在处理组中,施加蘑菇渣堆肥滤液显著提高了种子的发芽指数,原因可能是其降低了种子内部的渗透势,增强了种子的水分吸收能力,加快了细胞膜的修复,具体的修复机制还待进一步探索。

3.2 形态学指标

NaCl 胁迫下黄芩生物量的积累与分配明显受到抑制,试验结果显示,NaCl 胁迫降低了黄芩幼苗的总生物量,使根冠比显著增加,这与之前的研究相符^[15-18]。由于根尖细胞对外界十分敏感,导致盐胁迫直接降低了幼苗根部生物量,这可能是植物对胁迫的适应反应,减少植物根部生物量分配可以减少根系在盐胁迫环境中的分布,从而降低了盐分对根系的损伤,减少对盐分的吸收^[18],另外,也可能是由于高浓度的盐分对其造成了伤

害。蘑菇渣滤液处理有效的增加了盐胁迫下黄芩幼苗的生物量和根部生物量,根部生物量的增加有利于幼苗对养分的吸收,能促进植株的生长和发育,这可能是滤液增强了一系列生理生化反应,对幼苗生理生长产生了影响,增强了幼苗耐盐性。因此,在耕作中一些土壤养分流失和盐碱胁迫对植物造成不利的影响可以用相应的蘑菇渣滤液来缓解。

3.3 蘑菇渣堆肥滤液对幼苗生理指标的影响

盐胁迫增加了幼苗体内可溶性糖的含量,这可能是植物与其生长环境保持平衡状态,加快了淀粉转化成糖类的速率,提高了植物细胞质的浓度,降低植物水势,这样就更好的促进细胞从外界获取水分。这个过程消耗了大量的有机质,从而显著抑制了幼苗生长,降低了幼苗生物量。

植物叶片中的光合色素的含量是植物进行光合作用极为重要的因素之一,其变化直接影响到植物的生长状况^[19],在该研究中,经过盐胁迫后的黄芩幼苗叶片中的叶绿素含量以及类胡萝卜素含量有明显的减少,这说明盐胁迫对光合色素的合成有抑制作用。而经过蘑菇渣滤液处理后的黄芩幼苗叶片中的叶绿素含量和类胡萝卜素含量明显高于盐胁迫下的黄芩幼苗的。在高浓度盐的胁迫下,光合色素含量的下降可以归因于叶绿体或者叶绿素酶活性被高度破坏^[20]。在该研究中,蘑菇渣滤液可能有助于减轻盐胁迫对叶绿素和叶绿素酶活性的损伤。

盐胁迫会导致气孔关闭,降低了叶片对 CO₂ 的吸收和碳的固定,使叶绿体过度激发能量,这样反过来就会增加一系列活性氧簇(ROS)的生成^[21],造成细胞膜脂过氧化,破坏细胞膜结构,对植物生长造成不利影响。植物的抗氧化酶系统能够清理体内的活性氧簇,保护细胞免受氧化物的损伤^[22]。在该研究中,盐胁迫组黄芩幼苗的 SOD 和 POD 活性都有所升高,而施加了蘑菇渣滤液处理组黄芩的 SOD 和 POD 活性要明显高于盐胁迫组,这说明蘑菇渣滤液可以增加黄芩的抗氧化酶活性,缓解盐胁迫对黄芩活性氧损伤,增加了黄芩的耐盐性。

综上所述,蘑菇渣堆肥滤液可显著提高盐胁迫下黄芩种子的发芽势、发芽率、发芽指数以及幼苗的鲜质量、地上鲜质量、地下鲜质量;同时提高幼苗叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素、可溶性糖含量以及 SOD、POD 活性;充分显示蘑菇渣这一资源用于盐碱地土壤改良和解决黄芩栽培生产中盐胁迫问题的潜力,为进一步揭示蘑菇渣用于盐碱地土壤改良和解决黄芩栽培生产中盐胁迫问题提供理论基础。

参考文献

- [1] 全国土壤普查办公室. 中国土壤[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [2] NISHIHARA E, KONDO K, PARVEZ M M, et al. Role of 5-aminolevulinic acid in the synthesis of heme in plants under salinity stress.

- linic acid (ALA) on active oxygen-scavenging system in NaCl-treated spinach (*Spinacia oleracea*) [J]. Journal of Plant Physiology, 2003, 160 (9): 1085-1091.
- [3] 董雪梅,王延锋,孙靖轩,等.食用菌菌渣综合利用研究进展[J].中国食用菌,2013(6):4-6.
- [4] 杨立新,刘岱,冯学锋,等.高效液相色谱法测定不同产地黄芩中黄酮化合物的含量[J].中国中药杂志,2002,27(3):166-170.
- [5] 陈柏君,高山林,卞云云.黄芩组织培养同源四倍体的诱导[J].植物资源与环境学报,2000(1):9-11.
- [6] 邵玺文,韩梅,韩忠明,等.水分供给量对黄芩生长与光合特性的影响[J].生态学报,2006,26(10):3214-3220.
- [7] 江绪文,李贺勤,王建华.盐胁迫下黄芩种子萌发及幼苗对外源抗坏血酸的生理响应[J].植物生理学报,2015(2):166-170.
- [8] STEWART D P C, CAMERON K C, Cornforth I S. Inorganic-N release from spent mushroom compost under laboratory and field conditions [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1998, 30(13):1689-1699.
- [9] 王德汉,项钱彬,陈广银.蘑菇渣资源的生态高值化利用研究进展[J].有色冶金设计与研究,2007(21):262-266.
- [10] LARA R, LUIGI R, VINCENZO B. Ozone oxidation and aerobic biodegradation with spent mushroom compost for detoxification and benzo(a) pyrene removal from contaminated soil[J]. Chemosphere, 2012, 87(6):595-601.
- [11] MARÍN-BENITO J M, ANDRADES M S, SÁNCHEZ-MARTÍN M J, et al. Dissipation of fungicides in a vineyard soil amended with different spent mushroom substrates. [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(28):6936-6945.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中药医药科技出版社, 2010, 282-283.
- [13] 杨万霞. 青钱柳种子休眠原因及萌发生理的初步研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2004.
- [14] 杨小环, 马金虎, 郭数进, 等. 种子引发对盐胁迫下高粱种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 中国生态农业学报, 2011, 19(1):103-109.
- [15] 吴雪霞, 朱为民, 陈建林, 等. 外源 NO 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗生长及相关物质含量的影响[J]. 农业工程学报, 2008, 24(9):216-220.
- [16] 洪森荣, 尹明华. 红芽芋驯化苗对盐胁迫的光合及生理响应[J]. 西北植物学报, 2013, 33(12):2499-2506.
- [17] 王树凤, 胡韵雪, 孙海菁, 等. 盐胁迫对 2 种栎树苗期生长和根系生长发育的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(4):1021-1029.
- [18] CH S, BENZONI, ESHEL, et al. Effects of salinity on root morphology and nutrient acquisition by faba beans (*Vicia faba* L.) [J]. Journal of the Indian Society of Soil Science, 2004, 52(2):184-191.
- [19] UDDIN M K, JURAIMI A S, ISMAIL M R, et al. Effect of salinity stress on nutrient uptake and chlorophyll content of tropical turfgrass species [J]. Australian Journal of Crop Science, 2011, 5(6):620-629.
- [20] IYENGAR E R R, REDDY M P. Photosynthesis in high salt-tolerant plants[M]. Marshal Dekker, Baton Rouge, LA, 1996:56-65.
- [21] AHMAD P, HAKEEM K U R, KUMAR A. Salt-induced changes in photosynthetic activity and oxidative defense system of three cultivars of mustard (*Brassica juncea* L.) [J]. African Journal of Biotechnology, 2012, 11(11):2694-2703.
- [22] GILL S S, TUTEJA N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48(12):909-930.

Effect of Spent Mushroom Compost Leachate on Seed Germination and Seeding Growth of *Scutellaria baicalensis* Georgi Under Salt Stress

CHEN Zhikun^{1,2}, DENG Xian¹, WANG Fengwei¹, MA Yankang¹, SHANGGUAN Jianguo¹, DU Yongjun¹

(1. Institute of Botany of Shaanxi Province, Xi'an Botanical Garden, Xi'an, Shaanxi 710061; 2. Northwest Research Center for Biological Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Xi'an, Shaanxi 710061)

Abstract: In order to clarify the effect of spent mushroom compost leachate on the seed germination and growth of *Scutellaria baicalensis* Georgi under salt stress, the seed was treated with spent mushroom compost leachate and NaCl solution (100 mmol · L⁻¹), and the seed germination and growth indexes were analyzed. The results showed that the seed germination energy, germination rate, germination index, young green mass, above and below ground green mass increased significantly after the use of spent mushroom compost leachate, meanwhile, it increased the concentration of chlorophyll a/b, carotenoid, soluble sugar and the activities of SOD and POD, which solved the problem of salt stress on the cultivation of *Scutellaria baicalensis* Georgi and implied the positive potential for the recovery of saline alkali land.

Keywords: spent mushroom compost; salt stress; *Scutellaria baicalensis* Georgi; seed