

芒萁水提取物对玉米种子萌发和幼苗生长的影响

袁宜如¹, 李晓云¹, 邹峥嵘^{2*}, 高光林¹, 王晓锋¹, 蔡飞¹

(1. 九江学院, 江西九江 332005; 2. 江西师范大学生命科学学院, 江西南昌 330022)

摘要 [目的]研究不同浓度梯度的芒萁水提取物对玉米种子萌发和幼苗生长的影响。[方法]将经 TTC 检测具有较强活力的玉米种子分成空白组、不同浓度的芒萁水提液处理组置于恒温箱中培养 3~5 d, 统计不同处理方法下种子的萌发率, 再分别取样, 采用 DNS 试剂测定萌发玉米种子淀粉酶活性, 采用蒽酮比色法测定萌发玉米种子可溶性糖含量。[结果]一定浓度芒萁水提液可降低萌发玉米种子淀粉酶活性及可溶性糖含量, 且水提液浓度越高, 抑制作用越明显; 对于玉米幼苗生长则表现出高浓度抑制, 低浓度促进的效应。[结论]该研究为芒萁化感作用的进一步研究提供了重要参考。

关键词 芒萁; 化感作用; 玉米; 种子萌发; 幼苗生长

中图分类号 S513 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)35-17434-02

Effects of Water Extracts from *Dicranopteirs pedata* on the Seed Germination and Seedling Growth of *Zea mays*

YUAN Yi-ru et al (Jiujiang University, Jiujiang, Jiangxi 332005)

Abstract [Objective]The research aimed to study the effects of water extracts from *Dicranopteirs pedata* on the seed germination and seedling growth of *Zea mays*. [Method]The higher vigor seeds that had been selected by TTC method were cultivated in constant temperature incubator. The amylase activities of seed germination was determined by DNS (3,5-dinitrosalicylic acid) reagent. The soluble sugar content was determined with the anthrone colorimetry method. [Result]The results showed that a certain extent water extracts could reduce the amylase activities and the soluble sugar content. Low concentration extracts showed promoting function and high concentration extracts expressed inhibitory function on the seedling growth of *Zea mays*. [Conclusion]This research can provide important reference for further study on the *Dicranopteirs pedata* allelopathy.

Key words *Dicranopteirs pedata*; Allelopathy; *Zea mays*; Seed germination; Seedling growth

芒萁(*Dicranopteirs pedata*)又名铁狼萁,为里白科芒萁属蕨类植物。该植物广泛分布于我国长江以南各省区,为典型的酸性土壤指示植物,生于强酸性的红壤丘陵或马尾松林下,常成大片大量生长,可以用于水土保持,用作燃料、编织用品等。芒萁还可以入药,有清热利尿、祛瘀止血的功效。

芒萁作为一种酸性土壤指示植物,具有很强的化感作用。化感作用的确定方法有很多种,许多植物的生理生化参数如相关酶的活性、叶绿素含量、呼吸速率等也能够真实地反映化感物质的作用,有助于确定化感作用^[1]。已有研究表明,一定浓度芒萁水提液对受体植物的萌发种子淀粉酶活性、可溶性糖和叶绿素含量有明显的抑制作用^[2-3]。该研究在前人工作的基础上,进一步研究了芒萁提取物对玉米种子萌发和生长的影响。

1 材料与方 法

1.1 材料、仪器、试剂 芒萁采自江西省南昌市湾里区的梅岭山区,玉米种子购自江西省种子分公司。

LRH-300GS II 型人工气候箱,广东医疗器械厂生产;R-201 型旋转薄膜浓缩蒸发仪,郑州杜甫仪器厂生产;SHB-C 型循环水真空泵,郑州杜甫仪器厂生产;DHG-9240A 型电热恒温鼓风干燥箱,上海精密实验设备有限公司生产。

无水葡萄糖(AR),天津市科密欧化学试剂公司产品;3,5-二硝基水杨酸(AR),上海远帆助剂厂产品;氢氧化钠(AR),天津永大化学试剂开发中心产品;酒石酸钾钠(AR),上海试剂一厂产品;重蒸酚(AR),上海如吉科技发展有限公司产品;无水亚硫酸钠(AR),天津市福晨化学试剂厂

产品。

1.2 方 法

1.2.1 芒萁水提取物的制备。将野外采集的野生芒萁,去除枯枝败叶、烂根,在阴凉处风干后,用剪刀剪成约 1 cm 长的小段。取 1 kg 芒萁用 6 L 蒸馏水浸泡并加热,煮沸后继续加热 1 h,静置 23 h。用 8 层脱脂纱布过滤,得上清液,残渣中再加入 6 L 蒸馏水,重复提取 1 次,合并 2 次提取液滤液。将滤液 50 ℃ 条件下旋转薄膜减压蒸发浓缩,得到浓度为 0.20 g(FW)/ml 的芒萁水提液。

1.2.2 玉米种子的预处理和萌发培养。经水选取下层饱满玉米种子,用浓度 70% 的酒精消毒,无菌水清洗 3 次。取内径为 9 cm 的培养皿,每皿铺 2 层滤纸,无菌水对照组和 3 种不同浓度的芒萁水提液处理组,每组 3 个重复。于对照组和处理组各培养皿中分别加入 10 ml 相应浓度的芒萁水提液,使滤纸完全浸透。将经过处理的种子均匀置于各培养皿中(10 粒/皿),恒温箱中 25 ℃ 培养。培养过程中适时补充无菌水和各相应浓度的芒萁水提液,使滤纸保持湿润,提供良好的生长环境,观察种子萌发状况并记录。

1.2.3 淀粉酶活力的测定。

1.2.3.1 葡萄糖标准曲线制作。称取已在 80 ℃ 烘箱中烘至恒重的葡萄糖 100 mg,配制成 500 ml 溶液,即得糖浓度为 200 μg/ml 的标准溶液。分别吸取葡萄糖标准溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0 ml 于小试管,用蒸馏水补充至 10 ml,稀释成一系列 0~100 μg/ml 的不同浓度溶液。取不同浓度的葡萄糖溶液各 0.5 ml 与 1.5 ml DNS 试剂反应,沸水浴加热 15 min,冷却后加 10 ml 水,摇匀后利用分光光度计在 540 nm 处测定其 OD 值。以不同浓度葡萄糖溶液为横坐标,光吸收值为纵坐标,绘制标准曲线。

1.2.3.2 淀粉酶活力的测定。取出培养皿中萌发 3 d 的玉米种子 10 g,洗净切碎,按质量体积比 1:2 的比例加 20 ml 浓

基金项目 江西省教育厅科技项目资助(GJJ08436)。

作者简介 袁宜如(1975-),男,江西宜春人,硕士,讲师,从事资源植物的应用开发研究。* 通讯作者,博士,副教授, E-mail: zouzhr@163.com。

收稿日期 2009-08-12

度 0.1 mol/L 的 NaAc 缓冲液(含浓度 6 mol/L CaCl₂, pH 值 5.0)及少量石英砂研磨,1 层尼龙纱布过滤。滤液以 20 000 r/min 离心 20 min,取上清液用浓度 10 mmol/L NaAc 缓冲液透析。过夜后以 20 000 r/min 离心 10 min,取上清液作为淀粉酶粗酶液,定容备用。在具塞试管中加 5 ml 浓度 2% 的淀粉,1 ml 浓度 0.1 mol/L 的 NaAc 缓冲液(pH 值 5.0),3.9 ml 蒸馏水。在 37 °C 预热 5 min,加 0.1 ml 酶液,保温 30 min 后煮沸 10 min,冷却后取 0.5 ml 样品,1.5 ml DNS 试剂加入试管中,沸水浴中加热 15 min,冷却后加 10 ml 蒸馏水,摇匀后用分光光度计在 540 nm 处测定其光密度。

根据制作的葡萄糖标准曲线(540 nm),求出每个 OD 值相当的葡萄糖量 $K(\text{mg})$ 。酶活力以 1 h 生成 1 mg 麦芽糖所需的酶量作为 1 个酶活力单位。

酶活力 $(\text{mg/ml}) = K \times OD \times 10 \times 2 \times n / (0.5 \times 0.1 \times 1.9)$

式中, n 为酶液稀释倍数; K 为每个 OD 值相当的葡萄糖量 (mg) ; 1.9 为麦芽糖换算成葡萄糖的换算因子。

1.2.4 可溶性糖含量的测定。

1.2.4.1 葡萄糖标准曲线的绘制。一系列浓度 0 ~ 100 $\mu\text{g/ml}$ 的不同浓度葡萄糖溶液配制参照“1.2.3.1”方法。分别取各浓度葡萄糖溶液与 5 ml 蒽酮试剂混合,沸水浴 10 min 后冷却,在 625 nm 处测定其 OD 值。以葡萄糖溶液浓度为横坐标,光吸收值为纵坐标,绘制标准曲线。

1.2.4.2 可溶性糖含量的测定。取萌发玉米幼苗在 110 °C 烘箱中烘 15 min,然后调至 70 °C 过夜。烘干后的种子磨碎后称取 50 mg 样品倒入 10 ml 刻度离心管内,加入 4 ml 浓度 80% 酒精,置于 80 °C 水浴中不断搅拌 40 min,离心,收集上清液,其残渣加 2 ml 浓度 80% 酒精重复提 2 次,合并上清液。在上清液中加 10 mg 活性炭,80 °C 脱色 30 min,定容至 10 ml,过滤得到可溶性糖溶液。吸取上述酒精提取液 1 ml,加入 5 ml 蒽酮试剂混合,沸水浴煮 10 min,取出冷却,摇匀后用分光光度计在 625 nm 处测定其 OD 值。对照葡萄糖标准曲线得到提取液中糖的含量。

从葡萄糖标准曲线上得到提取液中糖的含量,计算公式:

$$w = C \times V / m \times 100\%$$

式中, w 为糖的质量分数($\%$); C 为从标准曲线中查出的糖质量分数 (mg/ml) ; V 为样品稀释后的体积 (ml) ; m 为样品的质量 (mg) 。

1.2.5 芒萁水提取物对玉米幼苗生长的影响。

1.2.5.1 玉米种子的催芽。用浓度 75% 的酒精溶液将种子消毒 5 min,然后用无菌水冲洗 3 次。取培养皿铺 4 层滤纸,展平后加盖,置于高压锅内,经 120 °C 蒸汽灭菌 20 min,待冷却后取出,在每个培养皿中分别加入 5 ml 无菌水。将玉米种子置于各培养皿中放匀,置于 25 °C 恒温箱中培养,试验中适时补充等量无菌水,使滤纸始终保持湿润。

1.2.5.2 玉米幼苗的培养。取已发芽的玉米种子用培养皿继续培养,培养皿底部铺 4 层滤纸,展平后加盖灭菌处理。在各培养皿中放入 8 粒已出芽且芽长相同的玉米种子,加盖,置于 LRH-250-G 型人工气候箱中培养。培养条件为:25 °C,12 h 光照 + 12 h 黑暗。培养期间不断适时加入等量的无菌水或芒萁水提取物,使滤纸始终保持湿润。

1.2.5.3 不同浓度的芒萁水提取液对玉米幼苗生长的影响。分别以浓度 0.20、0.10、0.05、0.02 g(FW)/ml 芒萁水提取液作为处理组,以蒸馏水为对照组,进行培养,步骤如“1.2.5.2”。培养 7 d 后,取 5 棵相对整齐的玉米幼苗分别测定其苗高、根长,所得数据用 t 检验进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 芒萁水提取液对萌发玉米种子淀粉酶的影响 表 1 结果表明,各浓度芒萁水提取液对萌发玉米种子淀粉酶活性均产生不同程度的抑制作用,且处理浓度越高,抑制作用越明显。

表 1 芒萁水提取液对萌发玉米种子淀粉酶活性的影响

Table 1 The effects of water extracts from *D. pedata* on the amylase activity of germinated maize seeds

芒萁水提取液浓度 // g(FW)/ml Water extract concentration from <i>D. pedata</i>	OD 值 OD value	葡萄糖量 μg Glucose amount	酶活力 mg/ml Enzyme activity
0.40	0.024	51.429	25.985
0.20	0.044	70.476	65.283
0.10	0.066	91.429	127.038
无菌水	0.130	152.381	417.043

2.2 芒萁水提取液对萌发玉米种子可溶性糖含量的影响 表 2 结果显示,各处理组可溶性糖含量均低于对照组,且浓度越高可溶性糖含量降低越明显。

表 2 芒萁水提取液对萌发玉米种子可溶性糖含量的影响

Table 2 The effects of water extracts from *D. pedata* on the soluble sugar content in the germinated maize seeds

芒萁水提取液浓度 // g(FW)/ml Water extract concentration from <i>D. pedata</i>	OD 值 OD value	可溶性糖 含量 // μg Soluble sugar content	糖质量 分数 // $\%$ Mass fraction of sugar
0.4	0.108	17.175	0.344
0.2	0.179	28.015	0.560
0.1	0.432	66.641	1.333
无菌水	0.740	113.664	2.273

2.3 不同浓度芒萁水提取液对玉米幼苗生长的影响 对玉米幼苗的苗高、根长及根数的测定结果表明(表 3),随着芒萁水提取液浓度增加,抑制作用增强;在低浓度处理(0.02 g(FW)/ml)下,抑制作用不明显,反而表现出促进作用。

表 3 不同浓度芒萁水提取液对玉米幼苗苗高、根长、根数的影响

Table 3 The effects of different concentrations of water extracts from *D. pedata* on the seedling height, root length and root number of maize

处理 Treatment	苗高 // cm Seedling height	根长 // cm Root length	根数 // 根 Root number
CK	4.70	4.51	3.13
I	5.10	5.14	3.00
II	1.24	2.29	1.25
III	1.03	0.83	1.00
IV	1.00	0.19	1.00

注:处理 I、II、III、IV 中芒萁水提取液浓度分别为 0.02、0.05、0.10、0.20 g(FW)/ml。

Note: The concentration of water extracts from *D. pedata* in treatments of I, II, III and IV are 0.02, 0.05, 0.10 and 0.20 g(FW)/ml.

有显著差异;定植后 30 d,处理②的根系活力最大,与处理①、③、④、⑤以及对对照间有显著差异,且与处理①、③、④以及对对照间差异达到极显著水平。从以上分析可以看出,处理②表现较好。

表 5 硝态氮不同替代量对生菜根系活力的影响

Table 5 The effects of different NO_3^- -N substitution amount on the root activity of lettuce $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$

处理 Treatment	定植后天数 Days after fixed-planting//d		
	10	20	30
①	457.92 bB	603.87 aA	224.94 bB
②	621.27 bAB	784.36 aA	520.58 aA
③	533.97 bB	628.24 aA	252.79 bB
④	526.74 bB	632.79 aA	242.62 bB
⑤	1 125.25 aA	677.78 aA	271.81 bAB
⑥(CK)	676.97 bAB	725.44 aA	250.65 bB

2.5 硝态氮不同替代量对生菜叶绿素含量的影响 由表 6 可知,定植后 10 d,处理④的叶绿素含量最大,但是各处理与对照间没有显著差异;定植后 20 d,处理②的叶绿素含量最大,与处理①、④、⑤以及对对照间有显著差异,且与处理①、⑤

表 6 硝态氮不同替代量对生菜叶绿素含量的影响

Table 6 The effects of different NO_3^- -N substitution amount on the chlorophyll content in lettuce mg/g

处理 Treatment	定植后天数 Days after fixed-planting//d		
	10	20	30
①	0.844 4 aA	1.0211 bcBC	0.723 1 bA
②	0.789 3 aA	1.209 5 aA	0.803 0 abA
③	0.824 3 aA	1.104 6 abAB	0.958 4 aA
④	0.849 2 aA	1.062 1 bcAB	0.890 9 abA
⑤	0.719 9 aA	0.943 3 cdBC	0.737 0 bA
⑥(CK)	0.742 1 aA	0.878 4 dC	0.831 4 abA

(上接第 17435 页)

3 讨论

植物化感作用作为自然界普遍存在的一种现象,对于它的研究不仅有助于进一步揭示植物间存在的化学生态关系,而且在农业生产、森林抚育、植物保护和生物防治等方面也表现出巨大的应用潜力。

在生产实践中常见本地农民刈割芒萁覆盖菜圃、旱田,以防杂草和保墒^[2]。该研究从农业生产实践出发,选择玉米作为受体植物进行相关试验,结果表明:不同浓度芒萁水提液对玉米萌发种子淀粉酶活性和可溶性糖含量表现出不同程度的抑制作用。在芒萁水提液作用下,萌发玉米种子的淀粉酶活性降低,导致可溶性糖含量明显降低,间接影响到种子呼吸代谢和能量供给,从而影响种子萌发、幼苗成苗及植株后期生长发育。同时,在对芒萁水提液对玉米幼苗生长影

以及对对照间的差异达到极显著水平;定植后 30 d,处理③的叶绿素含量最大,与对照间没有显著差异,但与处理①、⑤间有显著差异。

3 讨论

蔬菜尤其是叶类蔬菜,极易富集硝酸盐。人体摄入的硝酸盐中 80% 以上来自所食蔬菜,硝酸盐对人体的危害早已受到人们的普遍关注。蔬菜积累硝酸盐的根本原因在于根系对硝态氮的吸收量大于其体内还原同化量,因此,有人研究采用铵态氮部分替代营养液中硝态氮或减少硝态氮的供应^[2-3],以降低蔬菜硝酸盐含量。研究发现,氨基酸或混合氨基酸替代 20% 硝态氮,可明显降低生菜和洋葱体内的硝酸盐含量,改善蔬菜品质,而且还促进体内氮代谢,增加叶片全氮含量^[4-5]。一般认为,过量的铵态氮能抑制植物对钾与钙的吸收^[2,4],单纯给作物提供铵态氮源能使其遭受毒害,毒害主要由 NH_3 引起, NH_3 的毒害受 pH 值和浓度的影响,在酸性至中性条件下, H^+ 浓度较高会降低 NH_3 的产生,因而提高了 NH_4^+ 的浓度,而作物能忍受较高浓度的 NH_4^+ ;在 NH_4^+ 浓度较大或 pH 值较高时,会产生较多的 NH_3 而使作物遭受氨害,水溶态 NH_3 对植物的毒害机理尚未探清^[6]。

参考文献

- [1] 西南农业大学. 蔬菜研究法[M]. 郑州:河南科学技术出版社,1986:223-227.
- [2] 张春兰,高祖明,张耀栋,等. 氮素形态和 NO_3^- -N 与 NH_4^+ -N 配比对菠菜生长和品质的影响[J]. 南京农业大学学报,1990,13(3):70-74.
- [3] 杜猛军,张建仪,赵福康. 不同硝态氮与铵态氮比例对生菜的产量和品质的影响[J]. 杭州农业科技,1992(4):1-3.
- [4] 蒋名川,解淑贞. 蔬菜施肥[M]. 北京:农业出版社,1985:3-4.
- [5] MENGEL K, KIRKBY E A. Principles of plant nutrition[M]. Worblaufen-Bern: International Potash Institute,1982:353-354.
- [6] 姚建武,艾绍英,柯玉诗,等. 叶菜不同氮源形态的水培试验[J]. 广东农业科学,2001(4):29-31.

响的研究中发现,高浓度水提液对玉米幼苗生长表现出抑制作用,而低浓度水提液则表现出促进效应。

化感物质作为一种信息载体物质几乎存在于植物的所有器官中。在研究过程中发现,在制备芒萁水提液时,芒萁植株取材部位不同,水提液制备方法不同,相应浓度的芒萁水提液作用效果也不一样,这就需要进一步加强芒萁化感物质的基础研究,即加强芒萁化感物质分离、纯化及鉴定等方面的研究,为后续芒萁化感作用机理的研究提供指导。

参考文献

- [1] 叶居新,洪瑞川,夏义如,等. 芒萁植株浸出液对几种植物生长的影响[J]. 植物生态学与地植物学学报,1987,11(8):203-211.
- [2] 罗丽萍,葛刚,陶勇,等. 芒萁对几种杂草和农作物的生化他感作用[J]. 植物学通报,1999,16(5):591-597.
- [3] 袁宜如,李晓云. 芒萁生化他感作用机理初探[J]. 安徽农业科学,2007,35(17):5047-5048.