

中文核心期刊 中国科技核心期刊 中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊 首批林草科技重点期刊 ISSN 1000-3142 CN 45-1134/Q CODEN GUZHEI





第42卷 第12期 Vol. 42 No. 12 2022年12月 Dec. 2022



^{广西壮族自治区}广西植物研究所 广西植物学会 主办

Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences Guangxi Society of Botany

主办 🎍



专栏

代谢组学与基因组学

斜学出版社 Science Press

http://www.guihaia-journal.com

《广西植物》2022年优秀论文(新增被引 Top10 论文)

继 2021 年在庆祝《广西植物》创刊 40 周年之际,本刊评选出了"《广西植物》优秀论文 (1981-2020 年)"100 篇,得到了大家的认可。2022 年,为了进一步提升《广西植物》的学术 质量和影响力,本刊以中国知网的被引频次、下载量等指标为依据,从 2021 年发表的论文中评 选出优秀论文 10 篇,以鼓励学术创新,促进期刊与作者共同发展,更好地为植物科学发展服务。 特予以公布,并向论文获奖作者致意!

Q		
篇名及发表情况	作者(*为通信作者)	作者单位
NaCl 胁迫对小黄花菜生长及相 关生理指标的影响 2021,41(06):930-936	耿晓东 ¹ ,周英 ¹ ,于明华 ² , 汪成忠 ¹ ,钱剑林 ^{1*}	1. 苏州农业职业技术学院; 2. 苏州市园艺站
药用植物青蒿不同种类的内生 菌抑菌活性分析 2021,41(07):1112-1119	李玲玲*	重庆工贸职业技术学院健康学院
极小种群野生植物保护研究进 展与未来工作的思考 2021,41(10):1605-1617	孙卫邦*, 刘德团, 张品	中国科学院昆明植物研究所云南省极小 种群野生植物综合保护重点实验室
募雷草对盐胁迫的生理响应 2021,41(02):225-232	陈意兰 ^{1,2} ,李昕 ³ ,赵文 忠 ⁴ ,李新杰 ⁴ ,廖海民 ¹ , 刘东明 ^{2*}	1. 贵州大学生命科学学院/农业生物工程 研究院山地植物资源保护与保护种质创 新教育部重点实验室山地生态与农业生 物工程协同创新中心; 2. 中国科学院华南 植物园; 3. 华南农业大学; 4. 河北曲港高 速公路开发有限公司
茉莉酸甲酯对广藿香 JA 信号转 导途径及倍半萜合成途径关键 基因表达的影响 2021,41(04):559-566	邓文静 ¹ ,张宏意 ^{1,2,3} , 欧晓华 ¹ ,卢昌华 ¹ ,黄伟 展 ¹ ,严寒静 ^{1,2,3} *	 1. 广东药科大学中药学院; 2. 国家中医药 管理局岭南药材生产与开发重点研究室; 3. 中药材国家现代农业产业技术体系广 州综合试验站
贵州稀有濒危种子植物物种多 样性保护与利用的研究 2021,41(10):1699-1717	邹天才 ¹ ,李媛媛 ² ,洪江 ¹ , 黄丽华 ¹ ,刘海燕 ^{2*} , 陈龙 ³ ,张著林 ² ,张维 ²	1. 贵州科学院; 2. 贵州省植物园; 3. 贵州 鸿瑞实业有限责任公司
中国喀斯特植被分类系统 2021,41(10):1618-1631	刘长成 ^{1*} ,王斌 ² ,郭柯 ¹ , 李先琨 ^{2*} ,侯满福 ³ ,刘 玉国 ⁴	1. 中国科学院植物研究所植被与环境变 化国家重点实验室; 2. 广西喀斯特植物保 育与恢复生态学重点实验室广西壮族自 治区中国科学院广西植物研究所; 3. 广西 师范大学环境与资源学院; 4. 中国林业科 学研究院荒漠化研究所
药用植物千层塔的基原物种及 研究进展 2021,41(11):1794-1809	陈思思 ^{1,2} ,张梦华 ^{1,2} , 王锦秀 ¹ ,张宪春 ^{1*}	1. 中国科学院植物研究所系统与进化植物学国家重点实验室; 2. 中国科学院大学
广西大石围天坑群天坑森林主 要木本植物种间关联性研究 2021,41(05):695-706	黄林娟 ^{1,2} ,于燕妹 ^{1,2} , 安小菲 ^{1,2} ,余林兰 ^{1,2} , 薛跃规 ^{1,2} *	1. 广西师范大学生命科学学院; 2. 广西师 范大学珍稀濒危动植物生态与环境保护 教育部重点实验室
应用苔藓植物监测水体污染 ——研究、应用与展望 2021,41(10):1719-1729	李丹丹,杨军,宋玉玲, 朱桦,于晶,郭水良*	上海师范大学生命科学学院

广西植物 **GÜANGXI ZHIWU**

2022 年 12 月 第 42 卷 第 12 期 (月刊)

目 次

专栏:代谢组学与基因组学

基于 UPLC-MS/MS 技术的野生及栽培韭菜籽的代谢组学研究 …… 霍冬赦,田瑞丰,任永权,段星宇,洪登峰,汪 波(1995) 木芙蓉三个品种及近缘种的叶绿体基因组比较分析 …… 李镇兵,任 婷,邓姣姣,陈俊佩,周颂东,曾心美,马 娇,李方文(2007) 白菜 CesA 基因家族鉴定及表达模式分析 …… 马宇辰,赵玉梅,黄丹霖,张梦晴,吴晓宇,王 洁,陈 雨,黄家保,段巧红(2021) 油橄榄 AP2/ERF 转录因子鉴定及水胁迫表达分析 …… 王丽娟,王 毅,陆 斌,罗玛妮娅,徐令文,原晓龙,李贤忠(2032) 茶树 TIFY 基因家族鉴定及非生物胁迫下表达分析 …… 姚新转,张宝会,陈湖芳,吕立堂(2044)

生态与生物地理

生理与发育

碳氮源对花榈木胚性愈伤组织诱导、发育及有机物积累的影响 吴高殷,韦小丽,王 晓,韦 忆(2109)
遮光处理对观赏栀子氮、磷、钾分配与生长的影响
莲种胚在温度胁迫下的逆境生理研究 王公达, 褚云霞, 徐 政, 张 获, 章毅颖(2128)
叶面喷施钙镁肥对'妃子笑'荔枝果肉苹果酸积累的影响
墨兰对氮营养和波动光强复合胁迫的光合调控响应 李志雄, 黄 伟, 张石宝(2147)
西北干旱区葡萄净光合速率变化及其影响因素 秦文华,张 扬,朱永泰,徐聪,陈惠玲,朱高峰(2157)
LED 光质及光周期对香子含笑幼苗生长和光合特性的影响
·····································
不同叶型维西堇菜叶片结构及光合特征比较 杜梅娜, 赵 祥, 李铭佳, 徐军山(2178)
书讯

责任编辑	李 莉	蒋巧媛	周翠鸣		
责任校对	李 莉	蒋巧媛	王登惠	邓斯丽	周翠鸣
英文编辑/校对	蒋巧媛	邓斯丽	李 莉	王登惠	周翠鸣
封面/版式设计	蒋巧媛	周翠鸣	李 莉	邓斯丽	王登惠

期刊基本参数: CN 45-1134/Q*1981*m*A4*194*zh+en*P*¥45.00*1200*18*2022-12

封面说明 :木芙蓉(Hibiscus mutabilis L.),锦葵科木槿属的落叶灌木或小乔木,又名拒霜花、木莲、地芙蓉、华木,花大色艳,清姿雅 质 是中国传统的观赏龙卉 有着悠久的栽培历史。原产于中国 主要分布于我国亚执带和执带 在我国的四川和湖南广为栽培。		2
自1983年被确定为成都市市花以来,成都市植物园自主培育的木芙蓉新优品种有30余个,其花期由原来的9—10月延长到了6—	1	3
11月。日前,风郁印植初西已有 / 了不关容初前种获得国家体业和早原同位了的植物新前种权,已们分别是 锦绣紫 日日毕 彩''金秋红''金秋颂''彩霞''锦蕊''锦碧玉'。		4
照片示:几个木芙蓉品种。1.'牡丹粉';2.'锦蕊';3.'单瓣白';4.'单瓣红'。封面照片由李镇兵、周颂东提供。相关内容详见本期正文 2007~2020 页李镇兵等的文章。		

GUIHAIA

Dec. 2022 Vol. 42 No. 12 (Monthly)

CONTENTS

Special Column: Metabolomics and Genomics

Ecology and Biogeography

Physiology and Development

DU Meina, ZHAO Xiang, LI Mingjia, XU Junshan(2178)

Cover images: A few cultivars of *Hibiscus mutabilis*. **1**. *H. mutabilis* cv. Mudanfen; **2**. *H. mutabilis* cv. Jinrui; **3**. *H. mutabilis* cv. Danbanbai; **4**. *H. mutabilis* cv. Danbanhong. Cover images are provided by LI Zhenbing and ZHOU Songdong. For detail, please see the text by LI Zhenbing et al. on page 2007–2020.

2
3
4

霍冬敖,田瑞丰,任永权,等.基于 UPLC-MS/MS 技术的野生及栽培韭菜籽的代谢组学研究 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 1995-2006.

http://www.guihaia-journal.com

HUO DA, TIAN RF, REN YQ, et al. UPLC-MS/MS-based metabolomic characterization and contrastive analysis between *Allium wallichii* and *A. tuberosum* seeds [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 1995-2006.

基于 UPLC-MS/MS 技术的野生及 栽培韭菜籽的代谢组学研究

霍冬敖1,田瑞丰2,任永权3,段星宇2,洪登峰2,汪 波2*

 (1.贵州师范大学求是学院,贵阳 550000;2.华中农业大学 植物科学技术学院, 武汉 430070;3.贵州民族大学 生态环境工程学院,贵阳 550000)

摘 要:多星韭为贵州省赫章县喀斯特地貌区重要的野生植物资源之一,具有较高的开发利用价值。为分析野生多星韭(Allium wallichii)) 料与栽培韭菜(A. tuberosum) 将代谢产物差异及其通路,该研究利用 UPLC-MS/MS 物质分离鉴定技术,对 2 种韭籽化学成分进行广泛靶向代谢组学分析。结果表明:(1)共检测到 782 种代谢产物。(2)主成分分析(PCA)显示样本间存在差异,正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)共筛选出 12 类显著变化(P<0.05, VIP≥1)的差异代谢物,涉及 492 种,其中上调和下调幅度在前 20 的代谢物包括黄酮、甾体皂苷、黄酮醇、酚酸类、异黄酮、游离脂肪酸、三萜皂苷、生物碱、吲哚类生物碱、氨基酸及其衍生物等。(3) KEGG 注释到 84 条差异代谢通路,其中差异代谢物显著富集(P<0.01)通路 4 条,此外还构建了未注释到的显著差异代谢物甾体皂苷的生物合成通路。该研究结果为韭籽有效成分代谢途径解析及药理活性物质研究提供了参考,也为赫章县野生多星韭的开发保护与多元化利用提供了新思路。

中图分类号: 0945.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)12-1995-12

UPLC-MS/MS-based metabolomic characterization and contrastive analysis between *Allium wallichii* and *A. tuberosum* seeds

HUO Dongao¹, TIAN Ruifeng², REN Yongquan³, DUAN Xingyu², HONG Dengfeng², WANG Bo^{2*}

(1. Qiushi College of Guizhou Normal University, Guiyang 550000, China; 2. College of Plant Science & Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; 3. College of Eco-Environmental Engineering, Guizhou Minzu University, Guiyang 550000, China)

'通信作者:汪波,博士,副教授,研究方向为民族植物开发利用,(E-mail)wangbo@mail.hzau.edu.cn。

收稿日期: 2021-12-23

基金项目:国家自然科学基金(31960415);中国民主同盟帮扶贵州省毕节市赫章县韭菜坪景区品质提升项目(20183952c01); 贵州省高等学校教学内容和课程体系改革项目(2019202) [Supported by National Natural Science Foundation of China(31960415); China Democratic League Assisted the Quality Improvement Project of Jiucaiping Scenic Area, Hezhang County, Bijie City, Guizhou Province (20183952c01); Guizhou Province Higher Education Teaching Content and Curriculum System Reform Project (2019202)]。 第一作者:霍冬敖(1989-),博士,副教授,研究方向为民族植物开发利用,(E-mail)dongaohuo@gznu.edu.cn。

Abstract: Allium wallichii is one of the important wild plant resources in the karst geomorphic area of Hezhang County, Guizhou Province, which has high development and utilization values. In order to analyze the differences of metabolites and their pathways between wild Allium wallichii seeds and cultivated A. tuberosum seeds, we used UPLC-MS/MS material separation and identification techniques to broadly target the chemical components of the two kinds of seeds for the metabolomic analysis. The results were as follows: (1) A total of 782 kinds of metabolites were detected. (2) Principal component analysis (PCA) showed that there were differences between samples. Orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) screened out 12 types of differential metabolites with significant changes (P <0.05, VIP ≥ 1), involving 492 kinds, among them, the top 20 metabolites with up-and down-regulation included flavonoids, steroidal saponins, flavonols, phenolic acids, isoflavones, free fatty acids, triterpenoid saponins, alkaloids, indole alkaloids, amino acids and their derivatives and soon. (3) KEGG annotated 84 differential metabolic pathways, of which four pathways were significantly enriched with differential metabolites (P < 0.01). In addition, the biosynthetic pathway of steroidal saponins, which were not annotated significantly differential metabolites, was constructed. This research result provides a reference for the analysis of the effective components of the two kinds of seeds and the study of pharmacologically active substances, and also provides new ideas for the development, protection and diversified utilization of wild A. wallichii in Hezhang County.

Key words: Allium wallichii, metabolome, UPLC-MS/MS, metabolic pathway, steroidal saponins

多星非(Allium wallichii)是一种多年生草本 植物,属百合科(Liliaceae)葱属(Allium L.)粗根组 (Sect. Bromatorrhiza), 主要分布于我国云南、贵 州、四川西南部、西藏东南部、广西北部和湖南南 部等西南地区(中国科学院中国植物志委员会, 1980)。"贵州屋脊"毕节市赫章县韭菜坪是世界 最大面积的天然野韭菜花带,多星韭为该植物保 护区的绝对优势物种(丁卫红等,2007;唐汉青等, 2020)。葱属植物含有丰富的营养物质和多种生 物活性成分,具有广泛的生理和药理功能(刘建涛 等,2007;司民真等,2014)。韭菜是我国重要的葱 属蔬菜,在人们日常膳食中起重要作用(郭凤领 等,2013)。韭菜叶和薹中含有碳水化合物、蛋白 质、脂肪、纤维素、维生素 C 和多种微量元素,用途 广泛,具有保健和食疗的功效(蹇黎和朱利泉, 2009)。韭菜籽中含有生物碱、核苷、甾体皂苷、黄 酮、挥发油、不饱和脂肪酸等活性成分,具有抗血 小板聚集、抗肿瘤和抗真菌的功能(邹忠梅等, 1999;张新茹等,2009;李欢等,2017)。多星韭叶 和薹中氨基酸、微量元素、维生素 C 等营养物质的 含量均高于普通韭菜(王海平等,2017)。野韭菜 是韭菜品质遗传改良的宝贵资源,赫章县多星韭 种质资源丰富,多星非籽产量高,但由于自然发芽 率低等因素,因此野生种质未得到很好的利用(朱 宽香等,2017)。近年来,对多星韭的研究大多在 染色体核型鉴定、营养成分分析和生物活性物质 提取与应用等方面。然而,基于代谢组学对韭菜 籽代谢物和代谢物途径研究还鲜有报道(邹晓菊, 2013;孙婕等,2014;刘盼盼等,2015)。

代谢组学分析是一种基于高通量化学检测整 个生物体内小分子代谢物数据的研究方法,从生 物体中检测和筛选差异显著的代谢物,并在此基 础上研究相应的代谢过程和变化机制(Nicholson et al., 1999)。目前,已广泛应用于生物学、医学、 药学、农学、食品等科学领域(Sumner et al., 2015)。常被用于植物应激反应机制研究、疾病诊 断和药物鉴定、植物不同部位代谢差异、食物营养 成分和品质鉴定等(Fatma et al., 2007: Brennan et al., 2013; Rao et al., 2017; Casas-FERREIRA et al., 2019)。李乐乐(2020)利用 HILIC-LC-MS 技 术对人参和西洋参化学成分进行鉴定,在人参皂 苷、寡糖和氨基酸三种成分中找到了区分人参和 西洋参的标志物。黄晓荣(2017)采用 LC-MS 技 术对黑花生和栽培花生种子进行代谢组学研究, 发现黑花生与其栽培品种的营养成分存在差异, 并找到黑花生的优势营养成分。姚诗琪等(2020) 通过 GC-MS 的代谢组学方法发现掌叶草中的三萜 皂苷能有效抑制肝癌肿瘤生长。代谢组学为分析 不同植物品种间代谢产物的差异,特别是为药用 植物的有效成分及代谢通路研究提供了方法。

本研究基于超高效液相色谱和串联质谱 (UPLC-MS/MS)的代谢组学方法,检测多星韭籽

1997

和韭菜籽2种材料的代谢组分,筛选其中差异显 著的生物活性物质并分析相关的代谢途径,以期 为韭菜的遗传改良提供指导,为多星韭籽食用、药 用等功能产品的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究材料为2020年9月在全国唯一的野生 韭菜花保护区,即在贵州省毕节市赫章县韭菜坪 (103°36'—104°45' E、26°19'—27°27.28' N)采集 的多星韭籽。该地区处于我国西南喀斯特连片分 布区,海拔约2700m,气候温暖,太阳辐射量高, 气温日差较大、年差较小。多星韭籽为秋季果实 成熟后采收果序晒干搓出种子除去杂质得到,形 状近似三角盾形,种皮坚硬且腹背有细细的皱纹, 千粒重为3.754g(图1:A)。韭菜籽为平顶山农科 院选育的'平韭6号',形状呈扁卵形或半卵形,表 面粗糙且有细密网状皱纹,千粒重为4.776g (图1:B)。



图 1 多星韭籽 (A) 与韭菜籽 (B) 形态 Fig. 1 Morphology of Allium wallichii seeds (A) and A. tuberosum seeds (B)

1.2 方法

1.2.1 试验方法 多星韭籽与韭菜籽2种样品各设 3个生物学重复,将6个样品放置于冻干机中,在 真空条件下冷冻干燥后使用研磨仪使其成粉末 状。称取100 mg 韭籽粉末溶于甲醇提取液中,在 涡旋锅中涡旋6次后置于4℃冰箱过夜。次日经 离心后吸取上清液,用0.22 μm 微孔滤膜过滤后 保存滤液于进样瓶中,用于 UPLC-MS/MS 分析。 用超高效液相色谱和串联质谱数据采集系统进行 代谢物分离鉴定。

1.2.2 色谱条件 色谱柱选择 Agilent SB-C18(10 cm × 2.1 mm);流动相 A 相为加入 0.1% 甲酸的超 纯水, B 相为加入 0.1% 甲酸的乙腈;洗脱梯度 0.00 min 时 B 相比例设为 5%, 9.00 min 内上升至 95%, 并在 95%保持 1 min, 10.00~11.10 min 时 B 相减 少至 5%,并保持 5% 平衡至 14 min;柱温为 40 ℃;

进样量为4 μL;流速为 0.35 mL · min⁻¹。

1.2.3 质谱条件 LIT 和三重四极杆(QQQ)扫描是 在三重四极杆线性离子阱质谱仪(QTRAP),UPLC-MS/MS 系统上获得的,该系统配备了 ESI Turbo 离 子喷雾接口,可由 Analyst 1.6.3 软件控制正负 2 种 离子模式运行。ESI 源操作参数如下:离子源,涡轮 喷雾;源温度 550 ℃;离子喷雾电压(IS)5 500 V(正 离子模式)/-4 500 V(负离子模式);离子源气体 I (GS I),气体 II(GS II)和帘气(CUR)分别为 50、 60、25.0 psi,碰撞诱导电离参数为高。在 QQQ 和 LIT 模式下,分别用 10、100 µmol·L¹聚丙二醇溶液 进行仪器调谐与质量校准。QQQ 扫描使用 MRM 模 式,并将碰撞气体(氮气)设置为中等。通过进一步 的 DP 和 CE 优化,完成各个 MRM 离子对的 DP 和 CE。根据每个时期内洗脱的代谢物,在每个时期监 测 1 组特定的 MRM 离子对。 1.2.4 质控样本 质控(quality control,QC)样本通 过等量混合多星韭籽和韭菜籽制备而成质控样本 (mix),与分析样本采用相同的色谱和质谱检测分 析方法,共设置3个生物学重复。同时,为监测分 析过程中的样本重复性,在每10个分析样本中随 机插入1个质控样本,共插入3个,共计9个样本。 13 数据处理

1.3 数据处理

利用软件 Analyst 1.6.3 处理质谱数据,基于武 汉迈特维尔生物科技公司自建数据库 MVDB 及代 谢信息公共数据库,根据二级谱信息进行代谢物 定性,以 MultiaQuant 软件进行质谱峰的积分校正。 利用 R 语言中的内置统计 prcomp 函数对数据进 行归一化(unit variance scaling, UV)处理,并对2 组样品进行主成分(PCA)分析,PCA用R语言软 件(base package)(版本 3.5.0)(www.r-project.org) 的内置统计 prcomp 函数,设置 prcomp 函数参数 scale=True,表示对数据进行 UV 归一化。利用 R 语言中的内置 cor 函数计算皮尔逊相关系数 r 来 检测重复样品相关性。利用正交偏最小二乘判别 分析(OPLS-DA)将原始数据进行 log。转换后进行 中心化处理,公式为 $x^* = x - \overline{x}$;使用 R 语言中的 Metabo AnalystR 包(版本 1.0.1) OPLSR. Anal 函数 进行数据分析得到变量重要性投影值(VIP),为避 免过拟合,对其进行 200 次排列测试以验证模型 准确性。用 UV 将差异代谢物含量数据归一化处 理后通过 R 语言中的 pheatmap 包(版本1.0.12)绘 制热图,用聚类分析(HCA)分析不同样品间代谢 物积累规律。将得到的差异代谢物映射到 KEGG PATHWAY 数据库中(http://www.genome.jp/ kegg/pathway.html),进行相关通路分析,并通过超 几何检验的 P 值确定其显著性。

2 结果与分析

2.1 样本质控分析

PCA 是一种能在最大限度保存原始数据信息的前提下,通过建立数学模型把高维复杂数据进行简化降维来总结样本代谢谱特征的统计方法。 由图 2:A 可知,各组间存在明显的分离趋势,说明 每个样本的数据处理结果是可信的,每个样本之间存在明显差异。由图 2:B 可知,通过样本间的 皮尔逊相关系数 r 观察到多星韭籽(Kunth)、韭菜 籽(Rottl)和质控样本(mix)组内的 r 均大于 0.9, 说明组内的重复样本相关性极强、重复性好,可以 用于后续差异代谢物分析。

OPLS-DA 可以去除主成分分析中无关的差异 信息,从而筛选出差异代谢物。由图 3:A 可知,多 星韭籽和韭菜籽在 PC1 主成分上有明显的分离, 所建的 OPLS-DA 模型对 X 和 Y矩阵的解释率分 別为 $R^2X = 0.907$, $R^2Y = 1$,对模型预测的 Q^2 值是 0.999,这 3 个指标的值都接近 1,表示模型稳定可 靠有效,能较好地预测结果。为了避免过拟合,我 们使用 OPLS-DA 模型进行 200 次随机排列组合实 验进行验证,当 Q^2 的 P = 0.02 时,说明 4 种随机 分组模型的预测能力都优于 OPLS-DA 模型,当 R^2Y 的 P = 0.545 时,说明对 Y矩阵的解释率有 109 个随机分组模型优于 OPLS-DA 模型。一般情 况下,P < 0.05 时模型最佳。由图 3:B 可知, Q^2 和 R^2Y 的 P 值均小于 0.005,表明模型可用且可根据 VIP 对差异代谢物进行筛选。

2.2 代谢物分析

根据 MRM 代谢物检测多峰图,分别从多星韭 籽和韭菜籽中检测到 733 个和 634 个代谢物,结 果见图 4。利用 MultiaQuant 软件进行色谱峰积分 和校正,确保定性、定量分析的准确性。以 KEGG PATHWAY 数据库(http://www.genome.jp/kegg/ pathway.html)为背景,检测到的 782 个代谢物中有 457 个通过 MB Role 网站的 ID 转换功能获得了 KEGG 输出 ID。

代谢物的聚类分析可用于简单直观地观察代谢物组成。从图 5 可以看出,2 种韭籽代谢产物的相对含量存在明显差异。在检测到的 782 种代谢 产物中,有黄酮、脂类、酚酸、氨基酸及其衍生物、 有机酸、核苷酸及其衍生物、生物碱、甾体、萜类、 木脂素类和香豆素类、鞣质等。

2.3 差异代谢物筛选

基于 OPLS-DA 结果,多变量分析模型的 VIP 可以筛选出多星韭籽与韭菜籽之间差异的代谢 物。由图 6:A 可知,靠近右上角和左下角的代谢 物有显著差异,红色表示 VIP >1 的代谢物质。利 用差异倍数值(fold change,FC)可结合单变量统计 分析来进一步筛选差异代谢物,以 2 组样品中差 异为 2 倍以上或 0.5 以下认为是差异显著,即FC >2 或 FC <0.5。2 组差异代谢物的数量和变化可以 从图 6:B 的火山图中清楚看到,从多星韭籽和韭 菜籽中检测到的 782 种代谢物中筛选出 12 类 492



Kunth. 多星韭籽; Rottl. 韭菜籽; mix. 质控样本; 每组样品 3 个生物学重复。下同。 Kunth. Allium wallichii seeds; Rottl. A. tuberosum seeds; mix. Quality control sample; each group of samples has three biological replicates. The same below.

图 2 多星韭籽与韭菜籽的 PCA 得分(A) 和相关性(B) Fig. 2 PCA scores (A) and correlation (B) of *Allium wallichii* seeds and *A. tuberosum* seeds



图 3 多星韭籽与韭菜籽的 OPLS-DA 得分图 (A) 和验证图 (B) Fig. 3 OPLS-DA scores (A) and verification (B) of *Allium wallichii* seeds and *A. tuberosum* seeds

种差异代谢物,其中多星韭籽中114 种代谢物与 韭菜籽相比上调,378 种下调。为了便于观察代谢 物变化规律,对差异代谢物归一化处理并绘制热 图,结果如图 5 所示。差异代谢物种类由多到少 分别是107种黄酮、71种脂类、57种酚酸、52种氨基酸及其衍生物、41种有机酸、30种核苷酸及其衍生物、31种生物碱、39种其他类、34种甾体、16种萜类、11种木脂素和香豆素类、3种鞣质。对差



每个不同颜色的质谱峰代表一种检测到的代谢物。 Each mass spectrum peak with a different color represents a detected metabolite.







图 5 样本全部代谢物质分类聚类热图 Fig. 5 Classification and clustering heat map of all metabolites in all samples









异代谢物的 log₂(FC) 值进行排序,列出差异倍数 最高(上调和下调) 的代谢物,结果如表 1 所示。 多星韭籽与韭菜籽相比上调幅度前 20 的差异代 谢物有 6 种黄酮、5 种甾体皂苷、3 种黄酮醇、2 种 酚酸类、2 种异黄酮、1 种游离脂肪酸、1 种三萜皂 苷,其中上调差异倍数最大的代谢物是三萜皂苷

12 期

类的 延 龄 草 苷-6-O-槐 三 糖 苷 (trillium-6-O-sophorotrioside)在多星韭籽中约为韭菜籽中的1.0×10⁶倍。下调幅度前 20 的差异代谢物中有 12 种甾 体皂苷、4 种黄酮醇、1 种黄酮、1 种生物碱、1 种吲 哚类生物碱、1 种氨基酸及其衍生物,其中下调差 异倍数最大的代谢物是甾体皂苷中的 tuberoside R,

表 1 多星韭籽与韭菜籽差异倍数前 20 的代谢物质

Table 1 Metabolites of the Top 20 fold changes of Allium wallichii seeds and A. tuberosum seeds

序号 No.	化合物 Compound	物质一级分类 Substance primary classification	物质二级分类 Substance secondary classification	差异倍数 Fold change	\log_2 (FC)	变化类型 Type of change
1	延龄草苷-6-0-槐三糖苷 Trillium-6-0-sophorotrioside	萜类 Terpenoids	三萜皂苷 Triterpene saponins	1 009 074.07	19.94	上调 Up
2	鲁斯可皂苷元-1-0-鼠李糖基(1,2)葡萄糖基(1,2)葡萄糖苷 Ruscosapogenin-1-0-rhamnosyl(1,2) glucosyl (1,2) glucoside	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	365 692.59	18.48	上调 Up
3	24-羟基偏诺皂苷元 24-Hydroxymetanosapogenin	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	218 711.11	17.74	上调 Up
4	偏诺皂苷元-3-0-葡萄糖苷 Pronosapogenin-3-0-glucoside	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	174 870.37	17.42	上调 Up
5	薯蓣皂苷元 Diosgenin	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	148 362.96	17.18	上调 Up
6	花生酸(C20:0)Arachidic acid (C20:0)	脂质 Lipids	游离脂肪酸 Free fatty acid	112 314.07	16.78	上调 Up
7	6-C-甲基槲皮素-3-0-芸香糖苷 6-C-methylquercetin-3-O-rutinoside	黄酮 Flavonoids	黄酮醇 Flavonols	97 870.00	16.58	上调 Up
8	3,5,7,4-四羟基-8-甲氧基黄酮-3-0-葡萄糖苷-7-0-鼠李糖苷 3,5,7,4-Tetrahydroxy-8-methoxyflavonoid-3-0-glucoside- 7-0-rhamnoside	黄酮 Flavonoids	黄酮醇 Flavonols	94 420.74	16.53	上调 Up
9	柽柳黄素-3-0-葡萄糖苷-7-0-鼠李糖苷 Tamarixanthin-3-0-glucoside-7-0-rhamnoside	黄酮 Flavonoids	黄酮 Flavonoids	94 265.93	16.52	上调 Up
10	2-羟基-5-甲氧基染料木素-0-鼠李糖-葡萄糖 2-Hydroxy-5-methoxygenistein-0-rhamnose-glucose	黄酮 Flavonoids	异黄酮 Isoflavones	93 622.96	16.51	上调 Up
11	异鼠李素-3-0-新橙皮糖苷 Isorhamnetin-3-0-neohesperidoside	萜类 Terpenoids	黄酮醇 Flavonols	91 008.52	16.47	上调 Up
12	偏诺皂苷元-3-0-鼠李糖基(1→4)鼠李糖基(1→2)葡萄糖苷 Pynosapogenin-3-0-rhamnosyl(1→4) rhamnosyl (1→2) glucoside	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	53 158.89	15.70	上调 Up
13	2-乙酰毛蕊花糖苷 2-Acetyl verbascoside	甾体 Steroids	酚酸类 Phenolic acids	53 092.22	15.70	上调 Up
14	3-0-甲基五羟黄酮-7-0-葡萄糖苷 3-0-methylquercetin-7-0-glucoside	甾体 Steroids	黄酮 Flavonoids	39 784.07	15.28	上调 Up
15	1-0-芥子酰-D-葡萄糖 1-0-sinoyl-D-glucose	甾体 Steroids	酚酸类 Phenolic acids	37 620.37	15.20	上调 Up
16	木犀草素-7-0-葡萄糖苷(木犀草苷) Luteolin-7-0-glucoside(Luteolin)	脂质 Lipids	黄酮 Flavonoids	37 143.33	15.18	上调 Up
17	红车轴草素 Red trifolium	黄酮 Flavonoids	异黄酮 Isoflavones	36 614.07	15.16	上调 Up
18	鼠李柠檬素 Rhamn Limon	黄酮 Flavonoids	黄酮 Flavonoids	36 601.11	15.16	上调 Up
19	5,4-二羟基-7-甲氧基黄酮 (樱花素) 5,4-Dihydroxy-7-methoxy flavonoids (Sakurain)	黄酮 Flavonoids	黄酮 Flavonoids	30 571.11	14.90	上调 Up
20	7-甲基柚皮素 7-Methylnaringenin	黄酮 Flavonoids	黄酮 Flavonoids	29 367.41	14.84	上调 Up
1	Tuberoside R	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	781 374.07	-19.58	下调 Down
2	Tuberoside O	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	747 122.22	-19.51	下调 Down
3	Tuberoside A	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	646 496.30	-19.30	下调 Down
4	Tuberoside K	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	585 277.78	-19.16	下调 Down
5	Tuberoside E	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	562 670.37	-19.10	下调 Down
6	Tuberoside P	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	530 581.48	-19.02	下调 Down
7	Tuberoside J	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	521 022.22	-18.99	下调 Down
8	Tuberoside B	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	145 692.59	-17.15	下调 Down
9	Tuberoside I	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	136 785.19	-17.06	下调 Down
10	Tuberoside Q	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	123 207.41	-16.91	下调 Down
11	异金丝桃苷 Isohyperoside	黄酮 Flavonoids	黄酮醇 Flavonols	103 270.37	-16.66	下调 Down
12	Tuberoside D	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	86 490.00	-16.40	下调 Down
13	6-羟基山奈酚-7-0-葡萄糖苷 6-Hydroxykaempferol-7-0-glucoside	黄酮 Flavonoids	黄酮醇 Flavonols	70 300.37	-16.10	下调 Down
14	5-羟基吲哚-3-乙醇 5-Hydroxyindole-3-ethanol	生物碱 Alkaloids	吲哚类生物碱 Indole alkaloids	65 940.37	-16.01	下调 Down
15	万寿菊素-3-0-芸香糖苷 Marigold-3-0-rutinoside	黄酮 Flavonoids	黄酮醇 Flavonols	58 862.96	-15.85	下调 Down
16	马儿可皂苷元 Horsesapogenin	甾体 Steroids	甾体皂苷 Steroidal saponins	50 676.30	-15.63	下调 Down
17	6-羟基木犀草素-5-葡萄糖苷 6-Hydroxyluteolin-5-glucoside	黄酮 Flavonoids	黄酮 Flavonoids	39 412.59	-15.27	下调 Down
18	烟酸甲酯 Methyl nicotinate	生物碱 Alkaloids	生物碱 Alkaloids	39 380.74	-15.27	下调 Down
19	槲皮素-4-0-葡萄糖苷(绣线菊苷) Quercetin-4-0-glucoside (Spiraea glycoside)	黄酮 Flavonoids	黄酮醇 Flavonols	30 874.07	-14.91	下调 Down
20	γ-L-谷氨酸-L-半胱氨酸 γ-L-glutamic acid-L-cysteine	氨基酸及其衍生物 Amino acids and their derivatives	氨基酸及其衍生物 Amino acids and their derivatives	25 250.74	-14.62	下调 Down

属于新呋甾烷型皂苷,在韭菜籽中约为多星韭籽中的 7.8×10⁵倍。从表1可以看出,在多星韭籽中上调幅度大的差异代谢物种类较多,主要是黄酮和甾体皂苷,而下调幅度大的差异代谢物主要是甾体皂苷。

2.4 代谢通路

差异代谢物的通路富集分析有助于了解代谢 途径的变化机制,使用 KEGG PATHWAY 数据库 注释检测到的差异代谢物并进行通路富集分析。 在多星非籽与非菜籽 492 种差异代谢物中,共注 释到 84 条代谢通路,其中差异代谢物富集较多日 显著的通路有 2-氧代羧酸代谢、苯丙烷生物合成、 黄酮和黄酮醇的生物合成、类黄酮生物合成、托烷 和哌啶及吡啶生物碱的生物合成、赖氨酸代谢等 (图7)。图7结果表明,每种代谢途径有多种代谢 物参与,部分代谢物也可参与多个代谢途径。以 P ≤0.01 为阈值,共筛选到4条富集极显著的通路 (表2)。因此,通过查阅相关文献,本研究构建了 甾体皂苷的生物合成途径。甾体皂苷是由甾体皂 苷元和糖基缩合而成的糖基皂苷。甾体皂苷有许 多糖基,包括阿拉伯糖、鼠李糖、半乳糖、葡萄糖、 木糖、呋喃糖等,在2组差异代谢物中,检测到多 星非籽中丙酮酸、薯蓣皂苷元、偏诺皂苷元、阿拉 伯糖苷等显著上调表达,其 log,(FC) 值分别是韭 菜籽的 4.58、17.18、17.24、11.93 倍。同时发现,2 组样品间多种葡萄糖苷、鼠李糖苷、半乳糖苷以及 木糖含量存在差异,推测其可能为形成甾体皂苷 的底物或中间物质。

3 讨论与结论

3.1 多星韭籽与韭菜籽差异代谢物

代谢产物是生物表型的基础,可以直观有效 地理解生物学过程及其机制(熊欢欢等,2019)。 本研究采用 UPLC-MS/MS 的广泛靶向代谢组学技 术分析 Kunth 和 Rottl 的代谢组分,结果表明 Kunth 和 Rottl 组内重复样本的相关系数均在0.90~0.99, 表明重复性极好, PCA 结果表明代谢物具有明显 差异。2种韭籽中共检测到 782 种代谢物,其中差 异代谢物检测出 492 种,多星韭籽中包括 114 种 上调代谢物和 378 种下调代谢物。上调代谢物中 有 34 种黄酮、22 种甾体、12 种核苷酸及其衍生 物、11 种酚酸、9 种有机酸、9 种其他类、6 种氨基 酸及其衍生物、6种生物碱、4种糖及醇类、4种维 生素、2种萜类、2种脂质、1种木脂素和香豆素类 以及与1种新木质素;下调代谢物中有73种黄 酮、69种脂质、46种氨基酸及其衍生物、46种酚 酸、32种有机酸、25种生物碱、20种糖及醇类物 质、18种核苷酸及其衍生物、14种萜类、12种甾 体、10种木脂素和香豆素类、8种维生素、3种鞣质 以及苯乙烯、对羟基桂皮酸酰对羟基苯乙胺等。 从本研究看出,不是所有的差异代谢物质在多星 韭籽中都比韭菜籽高,不应过分青睐野生植物品 种,而应根据研究目的与不同需求选择性加以 利用。

3.2 多星韭籽与韭菜籽差异代谢通路

本研究基于 KEGG PATHWAY 数据库对差异 代谢物进行注释,共获得了84条代谢通路,其中, 4条通路的差异代谢物多且较为显著,分别是黄酮 和黄酮醇的生物合成、托烷、哌啶和吡啶生物碱的 生物合成、类黄酮生物合成、苯丙烷生物合成。其 中,苯丙烷代谢途径是植物次生代谢产物合成的 主要途径之一,可为下游次生代谢产物的合成提 供原料。植物的许多次生代谢产物,如色素、酚 酸、黄酮、类黄酮、木质素等都是由这一代谢途径 及其分支途径产生(欧阳光察和薛应龙,1988;文 欢等,2017)。苯丙氨酸被苯丙氨酸脱氨酶(PAL) 催化产生肉桂酸,由肉桂酸羟化酶(C4H)产生对 羟基香豆酸,经4-香豆酰-CoA 连接酶(4CL)催化 生成 4-香豆酸 CoA。进入下游特异性合成途径, 转化为不同的苯丙素类代谢产物,包括香豆素、黄 酮类、萜类、木质素、花青素等(王玉等,2019)。因 此,苯丙烷类代谢通路与多星韭籽和韭菜籽中黄 酮、类黄酮、萜类和酚酸类物质的差异密切相关。

葱属是百合科植物中最为重要的家族之一, 而甾体皂苷是葱属植物中最重要的化学成分之 一,韭菜籽中含有药用功效的甾体皂苷(张新茹 等,2009;曹秀敏等,2015)。甾体皂苷具有镇静、 催眠、降血糖和抗肿瘤、抗真菌、抗病毒、抗氧化、 抗抑郁等重要药理活性作用(张雪等,2020)。本 研究鉴定的甾体皂苷是多星韭籽中下调幅度较大 的差异代谢物,但 KEGG PATHWAY 数据库缺少 修饰甾体皂苷的信息,本研究无法对其上下游代 谢途径进行注释,通过查阅相关文献,构建了甾体 皂苷的生物合成途径(张雪等,2020;廖荣俊等, 2020;单春苗等,2020;高琳,2020)。

表 2 多星韭籽与韭菜籽差异代谢物显著富集通路

Table 2 Significant enrichment pathway of differential metabolites of Allium wallichii seeds and A. tuberosum seeds

序号 No.	KEGG 通路名称 KEGG pathway name	Ko-ID	P值 P value	百分率 Percentage (%)	化合物编号 Compound ID
1	黄酮和黄酮醇的生物合成 Flavone and flavonol biosynthesis	ko00944	0.002	7.37	C03951, C12630, C12626, C12667, C12249, C05903, C21833, C12628, C01470, C12635, C12627, C05623, C03515, C05625
2	托烷,哌啶和吡啶生物碱的生物合成 Tropane, piperidine and pyridine alkaloid biosynthesis	ko00960	0.006	4.74	C00253, C00134, C01672, C05607, C00407, C00079, C00047, C00408, C01746
3	类黄酮生物合成 Flavonoid biosynthesis	ko00941	0.022	6.32	C06561, C12208, C05631, C05903, C09756, C00509, C09833, C00852, C09826, C09614, C00974, C10044
4	苯丙烷类生物合成 Phenylpropanoid biosynthesis	ko00940	0.037	6.84	C00315, C05610, C00082, C01772, C00852, C01494, C00079, C01175, C00761, C12208, C00423, C00482, C10945



图 8 多星韭籽与韭菜籽中甾体皂苷生物合成途径 Fig. 8 Biosynthetic pathway of steroidal saponinsins of *Allium wallichii* seeds and *A. tuberosum* seeds

在本研究中,甾体皂苷的合成途径包括4个 阶段。首先,经甲瓦龙酸途径(MVA)和甲基赤藓 糖磷酸途径(MEP)(图8)通过焦磷酸化、脱羧化 和脱水等过程生成中间原料异戊烯焦磷酸(IPP); 其次,IPP 通过法尼基焦磷酸合酶(FPS)、鲨烯合 酶(SS或 SQS)和鲨烯环氧酶(SE或 SQE)的催化 形成氧化角鲨烯(OS),在环阿屯醇合酶(CAS)的 催化作用下,生成甾体化合物的前体环阿屯醇;然后,环阿屯醇经过一系列氧化还原修饰胆甾醇,胆 甾醇环化为半缩酮,半缩酮 C-26 位的羟基在葡萄 糖基转移酶催化下形成糖苷键,从而形成呋甾烷 型甾体皂苷;最后,呋甾烷型甾体皂苷经糖苷酶 (F26G)催化水解 C-26 糖苷键生成螺甾烷型甾体 皂苷。本研究检测到多星韭籽中丙酮酸、薯蓣皂 苷元、偏诺皂苷元、阿拉伯糖苷等显著上调表达, 同时发现,2组样品间多种葡萄糖苷、多种鼠李糖 苷、多种半乳糖苷以及木糖存在差异,推测其可能 为形成甾体皂苷的底物或中间物质。

甾体化合物是具有环戊烷多氢菲基本碳架的 天然活性物质统称。皂苷是苷元为三萜类化合物 或螺甾烷类化合物的一种糖苷,甾体皂苷主要有螺 甾烷醇和呋甾烷醇,还有少量胆甾烷醇与孕甾烷型 皂苷(于晶等,2020)。甾体皂苷作为植物中的一种 重要次生代谢产物,具有巨大的开发前景和应用潜 力,但由于产生甾体皂苷的植物多为多年生植物, 生命周期长,甾体皂苷含量低,不能满足商业需求。 本研究在多星韭籽与韭菜籽中共检测出 36 种甾体 皂苷,可以作为甾体皂苷提取的新植物来源,通过 进一步深入提取分离药理活性较高的甾体皂苷类 化学成分,可实现生理活性物质的大量生产,有助 于解决甾体皂苷植物资源短缺的问题,构建的韭籽 甾体皂苷生物合成途径有助于了解不同种类药用 植物中甾体皂苷代谢途径差异。

本研究通过广泛靶向代谢组学技术对野生型 多星韭籽与栽培型平韭6号韭菜籽成分进行广靶 无偏分析,基于 KEGG 数据库对差异代谢物进行 注释并获得了相应通路,构建了韭籽中生物活性 物质甾体皂苷的生物合成途径,为韭籽有效成分 及药理机理深入研究提供了一定的基础,为韭籽 有效成分的代谢途径解析提供参考。本研究结果 表明多星韭籽代谢物组成丰富,多种成分具有药 理性作用,是很好的野生药用植物资源,可推动其 自然野生资源的开发利用与保护,为进一步开发 及利用多星韭植物资源提供理论依据。

参考文献:

- BRENNAN L, 2013. Metabolomics in nutrition research: current status and perspectives [J]. Biochem Soc Trans, 41(2): 670-673.
- CAO XM, QIAO BJ, LI KH, et al., 2015. Extraction process optimization of leek rapeseed active ingredient [J]. Farm Prod Proc, (1): 27-28. [曹秀敏, 乔保建, 李克寒, 等, 2015. 韭菜籽活性成分提取工艺的优化研究 [J]. 农产品加工, (1): 27-28.]
- CASAS-FERREIRA AM, NOGAL-SÁNCHEZ MD, PÉREZ-PAVÓN JL, et al., 2019. Non-separative mass spectrometry methods for non-invasive medical diagnostics based on volatile organic compounds: A review [J]. Anal Chim Acta,

1045: 10-22.

- Chinese Botanical Committee of the Chinese Academy of Sciences, 1980. Flora Reipublicae Popularis Sinicae [M]// Angiosperms, Monocotyledonous, Liliaceae: One. Beijing: Science Press: 210. [中国科学院中国植物志委员会, 1980. 中国植物志 [M]//被子植物门,单子叶植物纲,百 合科: 一. 北京:科学出版社: 210.]
- DING WH, MO SJ, ZHANG PF, 2007. Analysis of the different feature of Jiucaiping stone forest forms in Guizhou [J]. J Bijie Univ, 25(4): 94-99. [丁卫红, 莫世江, 张鹏飞, 2007. 贵州韭菜坪石林形态差异性分析 [J]. 毕节学院学报, 25(4): 94-99.]
- FATMA K, JOACHIM K, DONG YS, et al., 2007. Transcript and metabolite profiling during cold acclimation of Arabidopsis reveals an intricate relationship of cold-regulated gene expression with modifications in metabolite content [J]. Plant J, 50(6): 967–981.
- GAO L, 2020. Separation and identification of steroidal saponins from *Asparagi radix* [D]. Tianjin: Tianjin University of Traditional Chinese Medicine: 60-61. [高琳, 2020. 天冬中 甾体皂苷的分离鉴定 [D]. 天津: 天津中医药大学: 60-61.]
- GUO FL, QIU ZM, DENG XH, et al., 2013. Survey on distribution status of *Allium ovalifolium* Hand.-Mzt. resources in highland [J]. Chin Veg, (2): 87-90. [郭凤领, 邱正明, 邓晓辉, 等, 2013. 高山特有蔬菜资源: 卵叶韭的调查[J]. 中国蔬菜, (2): 87-90.]
- HUANG XR, 2017. Study on the nutritional components of black sesame and black peanut based on metabolomics [D]. Wuhan: Chinese Academy of Agricultural Sciences:
 44. [黄晓荣, 2017. 基于代谢组学的黑芝麻黑花生营养 成分挖掘与识别研究 [D]. 武汉:中国农业科学院: 44.]
- JIAN L, ZHU LQ, 2009. Comparative analysis of the nutritional components of several *Allium* crops in Guizhou Province [J]. J Changjiang Veg, (1b): 30-32. [蹇黎, 朱利泉, 2009. 贵州几种葱属植物的营养成分比较分析 [J]. 长江 蔬菜, (1b): 30-32.]
- LI H, ZHANG MF, MIAO MS, 2017. Modern research and thinking of leek rapeseed [J]. Acta Chin Med, 32(3): 430-432. [李欢,张梦飞,苗明三, 2017. 韭菜籽的现代 研究与思考 [J]. 中医学报, 32(3): 430-432.]
- LI LL, 2020. Study on chemical differentiation of different types of *Panax* genus products by using plant metabolomics [D]. Changchun: Changchun University of Chinese Medicine: 69-70. [李乐乐, 2020. 应用植物代谢组学方法 研究不同人参制品的化学成分差异 [D]. 长春:长春中 医药大学: 69-70.]
- LIAO RJ, YANG Y, YE BH, et al., 2020. Transcriptome analysis of rhizome of *Polygonatum cyrtonema* and identification of candidate genes involved in biosynthetic pathway of steroidal saponin [J]. Chin J Chin Mat Med, 45(7): 1648-1656. [廖荣俊,杨阳,叶碧欢,等, 2020. 多花黄精根茎的转录组分析与甾体皂苷生物合成 相关基因发掘 [J]. 中国中药杂志, 45(7): 1648-1656.]
- LIU JT, WANG S, ZHANG WM, et al., 2007. Review on research progress of bioactive constituents in *Allium* species

[J]. Food Sci, 28(4): 350-352. [刘建涛, 王杉, 张维民, 等, 2007. 葱属植物生物活性物质的研究进展 [J]. 食品 科学, 28(4): 350-352.]

- LIU PP, XU YZ, WANG JX, et al., 2015. Simultaneous determination of the content of four nucleosides in the Yi medicine Duoxing *Allium* by UPLC method [J]. J Chin Med Mat, 38(8): 1618-1621. [刘盼盼, 许云章, 王静霞, 等, 2015. UPLC 法同时测定彝药多星韭中四种核苷类成分的 含量 [J]. 中药材, 38(8): 1618-1621.]
- NICHOLSON JK, LINDON JC, HOLMES E, 1999. 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. Xenobiotica, 29(11): 1181–1189.
- OUYANG GC, XUE YL, 1988. Physiological role and regulation of phenylpropane metabolism in plant [J]. Plant Physiol J, (3): 9-16. [欧阳光察, 薛应龙, 1988. 植物苯 丙烷类代谢的生理意义及其调控 [J]. 植物生理学通讯, (3): 9-16.]
- RAO GD, LIU XX, ZHA WW, et al., 2017. Metabolomics reveals variation and correlation among different tissues of olive (*Olea europaea* L.) [J]. Open Biol, 6 (9): 1317-1323.
- SHAN CM, WANG CK, SHI YY, et al., 2020. Identification of key enzyme genes involved in biosynthesis of steroidal saponins and analysis of biosynthesis pathway in *Polygonatum cyrtonema* [J]. Chin J Chin Mat Med, 45(12): 2847-2857. [单春苗, 王晨凯, 施圆圆, 等, 2020. 多花黄精甾体皂苷生物合成途径分析及关键酶基 因研究 [J]. 中国中药杂志, 45(12): 2847-2857.]
- SI MZ, ZHANG CY, LI L, et al., 2014. A study on the volatile compounds of *Allium* species [J]. J Chuxiong Univ, 29(3): 17-23. [司民真,张川云,李伦,等, 2014. 葱属植物挥发 性物质研究 [J]. 楚雄师范学院学报, 29(3): 17-23.]
- SUMNER LW, LEI ZT, NIKOLAU BJ, et al., 2015. Modern plant metabolomics: advanced natural product gene discoveries, improved technologies, and future prospects [J]. Nat Prod Rep, 32(2): 212-229.
- SUN J, YIN GY, DING MM, et al., 2014. Study on extraction and antioxidant activity of protein from Chinese chive seed [J]. Sci Technol Food Ind, 12(35): 291-294. [孙婕, 尹 国友, 丁蒙蒙, 等, 2014. 韭菜籽蛋白的提取及抗氧化活 性研究初探 [J]. 食品工业科学, 12(35): 291-294.]
- TANG HQ, WANG XY, ZHANG ZN, et al., 2020. Pollination biology of Allium wallichii [J]. Guihaia, 40(11): 1613-1622. [唐汉青, 王晓月, 张子楠, 等, 2020. 多星韭 (Allium wallichii)的传粉生态学初探 [J]. 广西植物, 40(11): 1613-1622.]
- WANG HP, QIU Y, LI FW, et al., 2017. Investigation and nutrition components analysis of wild chives in Hezhang County of Guizhou Province [J]. J Plant Genet Resour, 18(6): 1137 - 1144. [王海平,邱杨,李方威,等, 2017. 贵州赫章县野生韭菜资源调查与营养成分分析 [J]. 植物遗传资源学报, 18(6): 1137-1144.]
- WANG Y, YANG X, YANG RJ, et al., 2019. Advances in research of MYB transcription factors in regulating

phenylpropane biosynthesis [J]. J Anhui Agric Univ, 46(5):859-864. [王玉,杨雪,杨蕊菁,等,2019. 调控 苯丙烷类生物合成的 MYB 类转录因子研究进展 [J]. 安 徽农业大学学报,46(5):859-864.]

- WEN H, ZHANG DY, PENG C, et al., 2017. Transcriptional analysis of phenylpropanoid metabolic pathway in *Gastrodia elata* [J]. Chin Med Mat, 40(4): 789-796. [文欢,张大燕,彭成,等, 2017. 天麻苯丙烷代谢途径的转录组学分析 [J]. 中药材, 40(4): 789-796.]
- XIONG HH, ZHANG HG, ZHANG L, et al., 2019. Metabonomics analysis of *Larix olgensis* under drought stress [J]. J NE For Univ, 47(4): 1-7. [熊欢欢, 张含国, 张 磊,等, 2019. 干旱胁迫下长白落叶松的代谢组学分析 [J]. 东北林业大学学报, 47(4): 1-7.]
- YAO SQ, MO GY, HAN LT, 2020. Preliminary study on the mechanism of inhibitory effect of triterpenoid saponins of *Anemone flaccida* on liver cancer based on metabonomics [J]. J Hubei Univ Chin Med, 22(4): 5-9. [姚诗琪, 莫国 艳, 韩林涛, 2020. 基于代谢组学研究鹅掌草三萜皂苷抑制肝癌初步作用机制 [J]. 湖北中医药大学学报, 22(4): 5-9.]
- YU J, WEN RX, YAN QX, et al., 2020. Bioactive constituents of *Allium* and their physiological functions: A review [J]. Food Sci, 41(7): 255-265. [于晶, 温荣欣, 闫庆鑫, 等, 2020. 葱属植物活性物质及其生理功能研究进展 [J]. 食品科学, 41(7): 255-265.]
- ZHANG X, WANG XF, ZHAO RH, et al., 2020. Biosynthesis of steroidal saponins in herbs [J]. Chin J Exp Trad Med For, 26(14): 225-234. [张雪, 王希付, 赵荣华, 等, 2020. 药用植物甾体皂苷生物合成途径研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 26(14): 225-234.]
- ZHANG XR, YANG XH, WANG TX, 2009. The latest research progress of steroidal saponins and their pharmacological effects in *Allium* plants [J]. Pharm J Chin PLA, 25(2): 165-169. [张新茹,杨晓虹,王天晓, 2009. 葱属植物中甾体皂苷及其药理作用最新研究进展 [J]. 解放军药学报, 25(2): 165-169.]
- ZHU KX, LIN CS, TANG BX, et al., 2017. Experimental study on seed germination of wild ornamental plant of *Allium wallichii* [J]. J Liupanshui Univ, 29(3): 32-35. [朱宽香, 林长松, 唐彬旭, 等, 2017. 野生观赏植物多星韭种子萌 发实验研究 [J]. 六盘水师范学院学报, 29(3): 32-35.]
- ZOU XJ, HUANG RF, ZHAI SH, 2013. Detection of hexaploid and mechanisms of polyploidy formation in *Allium wallichii* Kunth [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 33(6):1114-1122. [邹晓菊,黄瑞复,翟书华, 2013. 六倍体多星韭的 发现及多星韭种内倍性组成及演化的分析 [J]. 西北植 物学报, 33(6): 1114-1122.]
- ZOU ZM, YU DQ, CONG PZ, 1999. Research progress in the chemical constituents and pharmacological actions of *Allium* species [J]. Acta Pharm Sin, 34(5): 395-400. [邹忠梅, 于德泉, 丛浦珠, 1999. 葱属植物化学及药理研究进展 [J]. 药学学报, 34(5): 395-400.]

广步植物 Guihaia Dec. 2022, 42(12): 2007-2020

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202111005

李镇兵,任婷,邓姣姣,等.木芙蓉三个品种及近缘种的叶绿体基因组比较分析 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2007-2020. LI ZB, REN T, DENG JJ, et al. Comparative analysis of the chloroplast genomes of three cultivars of *Hibiscus mutabilis* and its related species [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2007-2020.



木芙蓉三个品种及近缘种的叶绿体基因组比较分析

李镇兵1,任 婷1,邓姣姣1,陈俊佩1,周颂东1*,曾心美2,马 娇2,李方文2

(1. 四川大学 生命科学学院 生物资源与生态环境教育部重点实验室,成都 610065; 2. 成都市植物园,成都 610083)

摘 要:木芙蓉 (Hibiscus mutabilis) 栽培历史悠久,是原产中国的古老园林树种和药用植物。为了探讨木 芙蓉品种及近缘种的进化特征,厘清木芙蓉品种间及其与近缘种间的亲缘关系,以及探究木芙蓉叶绿体基 因组 (chloroplast DNA, cpDNA) 的遗传方式,该文选择了一个杂交组合中的 3 个木芙蓉栽培品种 ('单瓣 白''金秋颂''牡丹粉'),用高通量测序平台 Illumina NovaSeq 对其 cpDNA 进行首次测序。经组装注释后得 到3条完整的 cpDNA 序列,结合该团队已经完成的近缘种台湾芙蓉(H. taiwanensis)和来自基因库的木槿、 朱槿的 cpDNA,对木槿属 4 种及木芙蓉种下的 3 个品种进行了 cpDNA 组成和结构特征的比较分析,并完成 了其系统发育树重建。结果表明:(1)'单瓣白''金秋颂''牡丹粉'的 cpDNA 序列长度分别为 160 880、 160 879、160 920 bp,基因数目均为 130 个,其中蛋白编码基因 85 个、核糖体 RNA 8 个和转运 RNA 37 个。 (2)比较分析结果显示,木芙蓉的种下3个品种及其近缘种台湾芙蓉在 cpDNA 上高度保守,反向重复区 (IR)均为 26 300 bp;木槿和朱槿在 IR 区发生了收缩,分别为 25 745、25 598 bp。(3)系统发育分析结果显 示,种下3个品种先聚成一个单系支,再与台湾芙蓉聚成一个高支持率分支,表明木芙蓉和台湾芙蓉的亲缘 关系最近;相较于木槿和朱槿,木芙蓉、台湾芙蓉2种与海滨木槿、黄槿、大麻槿在亲缘关系上更近。(4)木 芙蓉 3 个品种之间能通过 cpDNA 序列区分开,在大/小单拷贝区(LSC/SSC)长度上,'单瓣白''金秋颂''牡 丹粉'分别为 89 355 bp/18 925 bp、89 353 bp/18 926 bp、89 400 bp/18 920 bp,并且从重复序列和核苷酸多 样性分析中开发出了候选分子标记和 DNA 条形码,可以作为品种鉴定的分子条码。(5)木芙蓉品种'单瓣 白'与'金秋颂' cpDNA 差异最小,亲缘关系最近,根据两者母本与子代的关系,证明了木芙蓉 cpDNA 的母 系遗传特征。该研究结果有助于更好地了解3个木芙蓉品种及台湾芙蓉 cpDNA 的进化特征和物种间的系 统发育关系,为木芙蓉品种的准确鉴定和优良品种选育提供了 cpDNA 方面的基础资料。 关键词:木芙蓉,台湾芙蓉,叶绿体基因组,分子标记,系统发育树

中图分类号: Q943 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)12-2007-14

Comparative analysis of the chloroplast genomes of three cultivars of *Hibiscus mutabilis* and its related species

收稿日期: 2022-02-28

基金项目:国家自然科学基金(32170209);成都市植物园木芙蓉组织培养和分子育种研究项目(18H0567);国家植物标本资源库-四川大学标本馆的数字化与共享平台(00204054A9016) [Supported by National Natural Science Foundation of China(32170209); Tissue Culture and Molecular Breeding of *Hibiscus mutabilis* in Chengdu Botanical Garden(18H0567); National Plant Herbarium Resource Bank-Digital and Sharing Platform of the Herbarium of Sichuan University(00204054A9016)]。

第一作者:李镇兵(1995-),硕士研究生,主要从事野生植物资源保护与利用研究,(E-mail)1183363799@qq.com。

[&]quot;通信作者:周颂东,博士,副教授,主要从事植物系统发育与分子进化研究,(E-mail)zsd@ scu.edu.cn。

LI Zhenbing¹, REN ting¹, DENG Jiaojiao¹, CHEN Junpei¹, ZHOU Songdong^{1*}, ZENG Xinmei², MA Jiao², LI Fangwen²

 (1. College of Life Sciences, Sichuan University, Key Laboratory of Bio-Resource and Eco-Environment of Ministry of Education, Chengdu 610065, China; 2. Chengdu Institute of Landscape Architecture, Chengdu 610083, China)

Abstract: Hibiscus mutabilis is native to China with a long cultivation history, and is an ancient garden tree species and medicinal plant. In this study, we selected three cultivars of *H. mutabilis* in a hybrid combination (*H. mutabilis*) cv. Danbanbai, H. mutabilis cv. Jingiusong, H. mutabilis cv. Mudanfen) to investigate evolutionary characteristics between the cultivars of *H. mutabilis* and its related species, and clarify the phylogenetic relationship between the cultivars of *H. mutabilis* and its related species, as well as explore the genetic model of chloroplast genome (cpDNA) of H. mutaibilis at the same time. We first sequenced the three cultivars of H. mutaibilis using Illumina NovaSeq. After assembly and annotation, three complete chloroplast genome sequences were obtained. The cpDNAs of the related species H. taiwanensis from our group, and H. syricus and H. rosa-sinensis from the gene bank. Then we carried out comparative analysis on composition and structure of cpDNAs of four species of Hibiscus and three cultivars of H. mutabilis, and completed its phylogenetic tree reconstruction. The results were as follows: (1) Total sizes of cpDNAs of H. mutabilis cv. Danbanbai, H. mutabilis cv. Jinqiusong, H. mutabilis cv. Mudanfen were 160 880, 160 879, 160 920 bp, respectively, and the total gene number was 130, including 85 protein-coding genes, eight ribosomal RNAs, and 37 transfer RNAs. (2) The comparative analyses showed that the cpDNAs of three cultivars of H. mutabilis and the related species *H. taiwanensis* were highly conserved, and the inverted repeat regions (IR) were all 26 300 bp; *H. rosa-sinensis* and H. syriacus shrank to at 25 745 and 25 598 bp, respectively. (3) The phylogenetic analysis revealed that the three cultivars were planted into a monophyletic branch, and then together with H. taiwanensis into a high support branch, indicating that H. mutabilis and H. taiwanensis had the closest relationship; Compared with H. syriacus and H. rosasinensis, H. mutabilis and H. taiwanensis were more closely related to H. hamabo, H. tiliaceum and H. canabinus. (4) Three cultivars of H. mutabilis could be distinguished by cpDNA sequence, the length of LSC/SSC of H. mutabilis cv. Danbanbai, H. mutabilis cv. Jinqiusong, H. mutabilis cv. Mudanfen were 89 355 bp/18 925 bp, 89 353 bp/18 926 bp, 89 400 bp/18 920 bp, respectively. And candidate molecular markers and DNA barcodes had been developed from repeat sequence and nucleotide diversity analyses, which could be used as a tool for cultivars identification. (5) The cpDNAs of H. mutabilis cv. Danbanbai and H. mutabilis cv. Jinqiusong showed a minimum difference and had the closest phylogenetic relationship. According to the relationship between their female and offspring, the maternal genetic characteristics of the cpDNAs of Hibiscus were proved. This study will help us to understand the evolutionary characteristics and phylogenetic relationship of cpDNAs of three cultivars of *H. mutabilis* and *H. taiwanensis*, and provide basic data on cpDNA for accurate identification of the cultivars of H. mutabilis and breeding of excellent cultivars. Key words: Hibiscus mutabilis, Hibiscus taiwanensis, chloroplast genome (cpDNA), molecular marker, phylogenetic tree

木芙蓉 (Hibiscus mutabilis) 别名拒霜花,属锦 葵科木槿属,原产于中国,在东亚及东南亚地区均 有分布。其花大色艳且花期较长(杨苑钊等, 2019)。木芙蓉具有较强的固碳、释氧、降温的能 力,在城市园林中具有重要的应用价值(郑鹏等, 2012)。成都市植物园长期以来致力于市花木芙 蓉的研究及应用,并培育了许多抗病抗虫品种和 不同花期的品种(王莹,2017)。但是,长期以来 的人工选育和自然杂交导致木芙蓉品种间遗传关系错综复杂、亲缘关系不明、分类和进化关系模糊。对木芙蓉进行品种分类以及探讨其亲缘关系,对于木芙蓉品种间杂交以及新品种的选育具有重要意义(张璐等,2021)。台湾芙蓉(H. taiwanensis)别名狗头芙蓉或山芙蓉,亦属于木槿属,原产于台湾阿里山,是当地特有的原生种(Lim,2014)。据中国植物志记载,台湾芙蓉非常

像木芙蓉,区别仅为前者全株具糙硬毛和粗糙的 毛被,而后者全株为星状绒毛,因此,有学者提出 两者可能不是明确的2个种(冯国楣,1984)。此 外,木芙蓉与台湾芙蓉很容易杂交,坐果率为 57.89%,这与木芙蓉品种之间杂交的坐果率 62.50%相差无几,而木芙蓉与朱槿杂交坐果率为 8.33%,与木槿杂交成功率更低,这在某种程度上 反映了亲缘关系的远近。遗传信息不足通常使我 们无法充分了解栽培植物和近缘种,明确栽培种 和野生近缘种之间的遗传变异对将近缘种的有利 性状引入栽培品种至关重要(Amar et al., 2019)。 因此,我们需要开发更多的遗传信息,以便能够比 较栽培种的遗传差异,并快速和准确地鉴定它们, 从而更有效地利用这些物种(Peng et al., 2021)。

叶绿体基因组(cpDNA)大小为75~250 kb.大 多数植物的 cpDNA 由大约 120 个基因组成,包括 转运 RNA(tRNA)、核糖体 RNA(rRNA)和蛋白 质编码基因(protein-coding gene, PCGs)。cpDNA 因结构简单、高度保守、拷贝数多而分子量少的特 点,已被应用于分子标记开发和系统发育等研究 中(杨俏俏等,2019)。越来越多的研究表明,叶绿 体基因工程在植物遗传改良方面具有很大优势, 叶绿体已经成为植物遗传转化的新工具(母连胜 等,2017)。前人关于木芙蓉的研究大多集中在木 芙蓉栽培育种(王莹,2017;石小庆等,2021)和化 学成分上(蔡露等,2021;王艺等,2021),鲜有关 于木芙蓉品种间以及与其近缘种间亲缘关系的研 究。近年来,有学者在木芙蓉和台湾芙蓉的 cpDNA 分析和亲缘关系研究上取得了一定的进 展, Abdullah 等(2021) 第一次对包括木芙蓉在内 的3个物种的 cpDNA 进行了测序和比较分析,但 其研究对象为整个锦葵科的3个不同属植物,范 围偏大。本团队的 Xu 等(2019) 对台湾芙蓉的 cpDNA进行了报道;张璐等(2021)采用扫描电镜 观察了一些木芙蓉品种的花粉显微结构,并探讨 了其分类学意义。花粉稳定性极强,在一定程度 上能反映植物演化和亲缘关系,并对物种鉴定有 一定的分类价值(彭焕文等,2018),但基因组层面 的分子数据具有海量的遗传信息,通常认为与基 因组层面的研究相结合有助于更精确和深入地进 行亲缘关系和物种鉴定的研究。而迄今为止公布 的木芙蓉品种的遗传信息很少且未有对木芙蓉品 种间及其与近缘种台湾芙蓉间的 cpDNA 相关研 究,极大地阻碍了木芙蓉品种的系统发育和优良性状改良研究。由于 cpDNA 并非都是母系遗传, 只是在大多数被子植物中为母系遗传,因此在裸子植物中主要为父系遗传。此外,少部分被子植物的 cpDNA 存在父系遗传和双亲遗传的现象 (Neale & Sederoff, 1989),为了探索木芙蓉的 cpDNA 遗传方式,我们选取一个杂交组合中的 3 个木芙蓉品种,首次对木芙蓉品种及其近缘种台 湾芙蓉 cpDNA 进行比较分析和系统发育分析。

本研究拟探讨以下科学问题:(1)木芙蓉 3 个 品种及其近缘种台湾芙蓉的 cpDNA 有什么进化特 征;(2)木芙蓉与其近缘种台湾芙蓉间有怎样的亲 缘关系;(3)在 cpDNA 的组成和结构方面,能否开 发出品种鉴定的分子标记或 DNA 条形码;(4) 探 究木芙蓉 cpDNA 的遗传方式。本研究结果将为木 芙蓉的品种鉴定、进化研究和植物遗传改良、优良 品种选育提供重要的第一手遗传资料。

1 材料与方法

1.1 木芙蓉品种材料来源

3 个 木 芙 蓉 品 种 采 自 成 都 市 植 物 园 (104°8′11″ E、30°45′52″ N),分别为'单瓣白' (H. mutabilis cv. Danbanbai)、'金秋颂'(H. mutaibilis cv. Jinqiusong)、'牡丹粉'(H. mutabilis cv. Mudanfen)。这3个品种为杂交组合,其中'单 瓣白'是母本,'牡丹粉'是父本,'金秋颂'为子一 代,这样有利于对木芙蓉叶绿体的遗传方式进行 探讨。从生态特性来看,'单瓣白'和'牡丹粉'为 早花品种,花期为6-9月,'金秋颂'为中花品种, 花期为9-10月。从形态上来看,'金秋颂'为重 瓣花,雄蕊退化,有子房但不结实,另外2种结实。 '单瓣白'为单瓣花,花白色,'牡丹粉'和'金秋 颂'分别为粉色和红色。'牡丹粉'的花形似牡丹 且平均花径比前两者大。近缘种台湾芙蓉的花期 始于10月下旬,结实,花为单瓣,白中带粉。花的 形态如图版 [所示。

1.2 基因组 DNA 的提取和测序

采集3个木芙蓉品种新鲜健康的叶片,用改良 CTAB 法从叶片组织中提取总基因组 DNA。使用 1% 琼脂糖凝胶电泳和荧光染料 (Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit)评估 DNA 产物的质量 和浓度。采用 Illumina TruSeq Nano DNA LT 文库 制备实验流程构建插入片段大小(insert size)为400 bp的 DNA 文库。应用 Illumina NovaSeq 平台对 DNA 文库进行二代测序(paired-end, 2×150 bp)。DNA 提取及测序均在南京派森诺基因科技有限公司完成。

1.3 cpDNA 的组装和注释

每个物种得到了至少 5G 的原始数据(raw data), 经 过 数 据 过 滤 后,使 用 NOVOPlasty (Dierckxsens et al., 2017)软件 (k-mer = 39)进行组装拼接,选择台湾芙蓉的 rbcL 基因作为种子序列 (seed sequence)。利用在线程序 GeSeq (Tillich et al., 2017)注释 cpDNA 序列,并用 Geneious v9.0.2 (Kearse et al., 2012)进行手动校 正。将带有注释信息的 3 条序列上传至 NCBI 数据库,'单瓣白''金秋颂''牡丹粉'的序列号分别为 MZ846191、MZ846192、MZ855502。借助在线程序 Oranellar Genome DRAW(Greiner et al., 2019) 绘制 cpDNA 的物理图谱。台湾芙蓉的序列号为 MK937807,亦为本项目的研究成果(Xu et al., 2019)。本文中用到的其他 cpDNA 序列均下载于 NCBI,其详细信息见表 1。

表 1	所选用的物种名称和	GenBank 序列编号
-----	-----------	--------------

 Table 1
 Names and GenBank sequence codes of the plant species selected

物种 Species	序列编号 Accession code	物种 Species	序列编号 Accession code
木槿 Hibiscus syriacus	KR259989	桐棉 Thespesia populnea	NC048518
朱槿 H. rosa-sinensis	NC042239	苘麻 Abutilon theophrasti	NC053702
大麻槿 H. canabinus	NC045873	蜀葵 Alcea rosea	NC053839
黄槿 H. tiliaceum	MT644160	野葵 Malva verticillata	MT106775
海滨木槿 H. hamabo	NC030195	拔毒散 Sida szechuensis	NC051877
海岛棉 Gossypium barbadense	NC008641	美丽异木棉 Ceiba speciosa	MK820674
G. thurberi	GU907100		

1.4 cpDNA 比较分析

使用 MISA (MicroSatellite identification tool) (Beier et al., 2017), 识别木芙蓉 3 个品种即台湾 芙蓉、木槿和朱槿基因组中的微卫星序列 (SSR)。

参数设置:单核苷酸(mono-)、双核苷酸(di-)、三 核苷酸(tri-)、四核苷酸(tetra-)、五核苷酸 (penta-)、六核苷酸(hexa-) SSR 的最小重复次数 分别为10、5、4、3、3。利用 REPuter(Kurtz et al., 2001)来分析木芙蓉 3 个品种和台湾芙蓉 cpDNA 中的重复类型(Hamming 距离设置为3,重复序列 的最小长度限制为 30)。借助 IRscope (Amiryousefi et al., 2018) 绘制木芙蓉 3 个品种即 台湾芙蓉、木槿和朱槿 cpDNAIR 边界的扩张和收 缩。使用 mVISTA (Mayor et al., 2000) 中的 Shuffle-LANGAN 模式对木芙蓉 3 个品种即台湾芙 蓉、木槿和朱槿的 cpDNA 序列进行全局比对,以评 估序列之间的相似性。使用 DNAsp 6(Librado & Rozas, 2009)软件计算序列之间的核苷酸多态性。 使用 Geneious v9.02(Kearse et al., 2012)分别提取 每个物种的蛋白编码区域(CDS),存在多拷贝的 基因仅保留1条。使用 Codon W (Sharp & Li, 1987) 计算这些 CDS 的同义密码子的相对使用度 (related synonymous codon usage, RSCU)

1.5 系统发育分析

使用 phylosuite(Zhang et al., 2020) 提取 17 个 物种 cpDNA 的 CDS, 删去重复基因和非共有的基 因后,使用 MAFFT 对序列进行比对,之后使用 MACSE 优化序列,用 Gblock 修剪比对好的序列, 最终使用 concatenate 功能将序列串联。使用 Modeltest 检测最佳核苷酸替代模型为 JC+I+G。使 用 MrBayes 进行贝叶斯(Bayesian inference, BI)分 析。基于 Markov chain Monte Carlo (MCMC)算法, 运行 1×10⁷代,每 1 000 代取 1 棵树,前 20%的树 当作老化样本丢弃,剩余的树用于构建一致树。 使用 IQtree 进行最大似然法(maximum likelihood, ML)分析,重复次数为1 000。将建树结果使用在 线程序 iTOL(Ivica & Peer, 2021)进行美化。

2 结果与分析

2.1 cpDNA 基本特征

如图 1 所示, '单瓣白'和'金秋颂'的长度差 异较小,分别为 160 880、160 879 bp, 仅相差 1 个 碱基, 而'牡丹粉'的长度与前 2 种则有稍大的差 异,为 160 920 bp。三者的 cpDNA 呈现出典型的 四分体环状结构,均由 1 对反向重复区(inverted repeats, IR)(IRa 和 IRb,长度均为 26 300 bp)以

	长度/GC 含量 Size (bp)/GC content (%)					基因数目 Number of genes		
种名 Species name	全基因组 Whole genome	小单拷贝区 SSC	大单拷贝区 LSC	反向重复区 IR	总和 Total	蛋白编码 基因 PCGs	核糖体 RNA/ rRNA	转运 RNA/ tRNA
'单瓣白' <i>H. mutabilis</i> cv. Danbanbai	160 880/36.9	18 925/31.5	89 355/34.7	26 300/42.6	130	85	8	37
'金秋颂' H. mutabilis cv. Jinqiusong	160 879/36.9	18 926/31.5	89 353/34.7	26 300/42.6	130	85	8	37
'牡丹粉' <i>H. mutabilis</i> cv. Mudanfen	160 920/36.9	18 920/31.5	89 400/34.7	26 300/42.6	130	85	8	37
台湾芙蓉 H. taiwanensis	161 056/36.9	18 918/31.5	89 538/34.7	26 300/42.6	130	85	8	37
朱槿 H. rosa-sinensis	160 951/37.0	20 246/31.3	89 509/34.9	25 598/42.9	130	85	8	37
木槿 H. syriacus	161 022/36.8	19 831/31.1	89 701/34.7	25 745/42.8	130	85	8	37

表 2 木槿属 4 个种(包含木芙蓉 3 个品种) cpDNA 基本特征比较

Table 2 Comparison of cpDNAs among four species of Hibiscus (including three cultivars of H. mutabilis)

及1个大单拷贝区 (large single copy,LSC,长度分 别为89355、89353、89400bp)和1个小单拷贝 区 (small single copy,SSC,长度分别为18925、 18926、18920bp)组成。从表2可以看出,台湾 芙蓉的LSC 区长度明显长于3个木芙蓉品种,而 在品种内部,'单瓣白'与'金秋颂'的LSC 区与 SSC 区长度相差1~2bp,但与'牡丹粉'相差较大。

木芙蓉的 cpDNA 共有 130 个基因,包含 85 个 蛋白编码基因 (PCGs)、37 个 tRNA 和 8 个 rRNA。 大多数基因以单拷贝形式出现于 LSC 区或 SSC 区 中,其中 SSC 区中有 13 个基因,包括 12 个 PCGs (ndhF, rpl32, ccsA, ndhD, psaC, ndhE, ndhG, ndhI) $ndhA_ndhH_rps15_ycf1$) 和 1 个 tRNA (trnL-UAG); LSC 区中有 85 个基因,包括 63 个 PCGs 和 22 个 tRNA。仅有 17 个基因在 IR 区重复,包括 6 个 PCGs (rpl2,rpl23,ycf2,ndhB,rps7,rps12),7 \uparrow tRNA (trnI-CAU, trnL-CAA, trnV-GAC, trnI-GAU, trnA-UGC) trnR-ACG、trnN-GUU) 和 4 个 rRNA (rrn16、rrn23、 rrn4.5、rrn5)。 ycf1 基因跨越 SSC 区和 IR 区, rps12 基因第一个外显子位于 LSC 区,其他 2 个外显子位 于 IRs 区。17 个基因有 1 个内含子, ycf3 和 clpP 基 因有2个内含子。所有基因按照基本功能划分为表 达相关基因、光合作用相关基因和其他基因三类. 每类基因的名称和数量展示在表 3 中。

2.2 IR 边界分析

通过比较木芙蓉3个品种即台湾芙蓉、朱槿和

木槿 cpDNA 的 IR/LSC 和 IR/SSC 边界区域的基因分布状况,识别 IR 的扩张或收缩。如图 2 所示, IR/LSC 和 IR/SSC 边界附近分布的基因包括 rps19、rpl2、ycf1、ndhF、trnH,木芙蓉 3 个品种与台 湾芙蓉之间 IR 边界一致。6 条序列的 SSC/IRa 边 界均为 ycf1 基因,在木芙蓉和台湾芙蓉 SSC 区长 度均为4 026 bp,而在朱槿和木槿的 SSC 区长度分 别为5 599、5 083 bp。ndhF 基因在6 条序列中均 位于 SSC 区内,其中木芙蓉和台湾芙蓉的 ndhF 基 因距 SSC/IRb 边界均为 32 bp,其余 2 种距边界 150 bp。同样,rpl2 基因在6 条序列中均位于 IRb 区内,其中木芙蓉和台湾芙蓉的 rpl2 基因距 LSC/ IRb 边界均为 103 bp,朱槿距边界 67 bp,木槿距边 界 113 bp。

2.3 叶绿体微卫星分析和重复序列分析

微卫星序列(microsatellite DNA),也叫简单序 列重复(simple sequence repeats,SSR),是1~6 bp 的重复序列,广泛分布于 cpDNA。SSR 具有高度 多态性和特异性,是研究基因流、种群遗传学和基 因作图的有价值标记(Chen et al., 2015)。在本 研究中,我们分析了6种 SSR(单、二、三、四、五、 六核苷酸 SSR)在6条 cpDNA中的分布。如图3 所示,数量最多的均为单核苷酸重复,占比从 66.67%到74.55%不等,均比其他所有重复类型加 起来还多。木芙蓉3个品种的 SSR 总数为95,台 湾芙蓉与其非常近似,为96。作为对照,朱槿和木

表 3 木芙蓉 cpDNA 的基因信息

Table 3 List of genes in the cpDNAs Hibiscus mutabilis

基因类型 Genotype	基因分组 Group of gene	基因名称 Name of gene	数量 Number
表达相关基因 Self-replication gene	核糖体大亚基基因 Large subunit of ribosome gene	<i>rpl</i> 2a*,23a,32,22,16*, 14,36,20,33	11
	核糖体小亚基基因 Small subunit of ribosome gene	rps7a, 15, 19, 3, 8, 11, 12a*, 18, 4, 14, 2, 16*	14
	RNA 聚合酶亚基基因 DNA-dependent RNA polymerase gene	rpoA , rpoB , rpoC1 * , rpoC2	4
	核糖体 RNA 基因 Ribosomal RNA gene	rrn16a,rrn23a,rrn4.5a, rrn5a	8
	转运 RNA 基因 Transfer RNA gene	trnI-CAUa,trnL-CAAa, trnV-GACa,trnA-UGCa*,	37
		trnR-ACGa, trnI-GAUa*, trnN-GUUa, trnL-UAG, trnP-UGG, trnW-CCA, trnM-CAU, trnV-UAC*,	
		tmF-GAA, tmL-UAA*, tmT-UGU, tmS-GGA, tmfH-CAU, tmG-GCC, tmS-UGA, tmT-GCU, tmE-UUC, tmY-GUA, tmD-GUC, tmC-GCA, tmD-GUC, tmC-CC*	
		trnS-GCU, trnQ-UUG, trnK-UUU*, trnH-GUG	
光合作用 Photosynthesis	光合系统 I 基因 Photosystem I gene	psaC, J, I, A, B	5
	光合系统 Ⅱ 基因 Photosystem Ⅱ gene	psbH, N, T, B, E, F, L, J, Z, C, D, M, I, K, A	15
	NADH 氧化还原酶亚基 基因 Subunits of NADH- dehydrogenase gene	ndhBa*, H, A*, I, G, E, D, F, C, K, J	12
	細胞色素复合物亚基 基因 Subunits of cytochrome b/ f complex gene	petD*, B*, G, L, A, N	6
	ATP 合酶亚基基因 Subunits of ATP synthase ger	atpB, E, I, H, F*, Ane	6
	核酮糖二磷酸羧化酶大 亚基基因 RubisCO large subunit gene	rbcL	1
	翻译起始因子 Translation initiation factor	infA	1
其他基因 Other gene	ATP 依赖性蛋白酶亚基 p 基因 ATP-dependent protease subunit p gene	clpP**	1
	成熟酶基因 Maturase gene	matK	1
	包裹酶蛋白基因 Envelope membrane protein gene	cemA	1
	乙酰辅酶 A 羧化酶亚基 基因 Subunit of acetyl-CoA- carboxylase gene	accD	1
	C 型细胞色素合成基因 C-type cytochrome synthesis gene gene	ccsA	1
	假设的叶绿体阅读框 Hypothetical chloroplast reading frames(ycf)	ycf2a, ycf1, ycf4, ycf3**	5
总和 Total			130

注:*1个内含子;**2个内含子;a. 重复基因。

Note: * One intron; ** Two introns; a. Duplicated gene.

權分别为 63 和 110,差异较大。木芙蓉 3 个品种 和台湾芙蓉的基因组中存在 6 种完全微卫星序 列,而朱槿和木槿中不存在六核苷酸重复。木芙 蓉 3 个品种与台湾芙蓉的共同区别仅仅在于前者 均只有 1 个五核苷酸重复,而后者存在 2 个五核苷 酸重复。木芙蓉 3 个品种中,'牡丹粉'明显区别 于另外 2 种,'牡丹粉'的单核苷酸重复比另外 2 种多 1 个,而六核苷酸重复比另外 2 种少 1 个。

重复序列有 4 种类型,即正向(forward)、反向 (reverse)、互补(complement)、回文(palindromic)。 如图 4 所示,木芙蓉 3 个品种中均检测到 4 种类 型的重复,而台湾芙蓉无互补重复;木芙蓉 3 个品 种均为 22 个正向重复和 3 个反向重复,而台湾芙 蓉的正向重复和反向重复分别为 26 和 1。木芙蓉 3 个品种间的 4 种重复的比例十分类似,但同时互 相之间则存在着差异。虽然三者的正向重复均为 22 个,但其构成略有差别,'牡丹粉'重复单元长 度为 30~39 和 40~49 的正向重复数量分别为 16 和 6,而其他 2 种都分别是 17 和 5;'单瓣白'和 '金秋颂'的回文重复均为 12 个,而'牡丹粉'为 11 个;'单瓣白'和'牡丹粉'的互补重复均为 2 个,而'金秋颂'为 1 个。

2.4 核苷酸多态性分析

利用 mVISTA 在线程序,比对了木芙蓉 3 个品种即台湾芙蓉、朱槿、木槿的 cpDNA。其中,'单瓣白'作为参考序列,朱槿和木槿则作为对照。从图5 可以明显观察到朱槿、木槿均与参考序列差异较大,而'牡丹粉''金秋颂'台湾芙蓉则与参考序列差异较小。5 个 cpDNA 中高度分化的区域主要位于基因间隔区,但一些蛋白编码区如 ycf1 基因变异度较大,而最保守的4 个 rRNA 基因,在木芙蓉 3 个品种和台湾芙蓉中完全一致。

为了更加精确地反映木芙蓉 3 个品种之间以 及与台湾芙蓉间的核苷酸多态性,我们分别计算 了'金秋颂''牡丹粉'台湾芙蓉的 CDS 和基因间 隔区相对于参考序列单瓣白的核苷酸多样性值 (nucleotide diversity values, P_i)。如图 6 所示,CDS 序列较为保守,其 P_i 普遍较小。就 CDS 序列来 看,'金秋颂'仅在 ycf1 基因处出现多态性,'牡丹 粉'仅在 ndhB 基因处出现,台湾芙蓉在 accD、 atpA、clpP、ndhB、ndhD、matK、ycf1 均出现,但 P_i 最 大不超过 0.001 7。而在基因间隔区中,台湾芙蓉 有 14 个基因间隔区有差异,其中 trnR-UCU~atpA、



A. '单瓣白'; B. '牡丹粉'; C. '金秋颂'; D. 台湾芙蓉。

A. H. mutabilis cv. Danbanbai; B. H. mutabilis cv. Mudanfen; C. H. mutabilis cv. Jinqiusong; D. H. taiwanensis.

图版 I 3 个木芙蓉品种和台湾芙蓉花的形态特征 Plate I Morphological characteristics of flowers of three cultivars of *Hibisucs mutabilis* and *H. taiwanensis*



1. 光合系统 I; 2. 光合系统 I; 3. 胞色素复合物; 4. ATP 合成酶; 5. NADH 脱氢酶; 6. 核酮糖二磷酸羧化酶大亚基; 7. RNA 聚 合酶; 8. 核糖体蛋白小亚基 (SSU); 9. 核糖体蛋白大亚基 (LSU); 10. 转运 RNA; 11. 核糖体 RNA; 12. *clpP*,*matK* 基因; 13. 其 他基因; 14. 假设的叶绿体阅读框 (*ycf*)。

1. Photosystem I; 2. Photosystem II; 3. Cytochrome b/f complex; 4. ATP synthase; 5. NADH dehydrogenase; 6. RubisCO large subunit; 7. RNA polymerase; 8. Ribosomal proteins small subunit (SSU); 9. Ribosomal proteins large subunit (LSU); 10. Transfer RNAs; 11. Ribosomal RNAs; 12. *clpP*, *matK* genes; 13. Other genes; 14. Hypothetical chloroplast reading flames (*ycf*).

图 1 木芙蓉 cpDNA 物理图谱 Fig. 1 Physical map of cpDNA in *Hibiscus mutabilis*

 $psbZ \sim trnG-GCC \ infA \sim rps8 \ ndhE \sim ndhG$ 这4个基因间隔区为台湾芙蓉的变异热点区域,其 P_i 均不低于0.00418。这4个高度可变的区域有3个在

LSC 区,有1个在SSC 区,IR 区中 *P*_i 较小,均小于 0.020 9。'牡丹粉'有3个基因间隔区有多态性, 其中 *psbZ~trnG-GCC、ycf4~cemA* 为牡丹粉的热点



图 2 台湾芙蓉、木槿、朱槿与木芙蓉 3 个品种 cpDNA 的反向重复区 (IR)、 大单拷贝区 (LSC)、小单拷贝区 (SSC) 边界对比

Fig. 2 Comparation of the junctions between LSC, SSC and IR regions of cpDNAs among *Hibiscus taiwanensis*, *H. syriacus*, *H. rosa-sinensis* and three cultivars of *H. mutabilis*



图 3 台湾芙蓉、朱槿、木槿与木芙蓉 3 个品种 cpDNA 的微卫星分析(SSR) Fig. 3 SSR analysis of cpDNAs in Hibiscus taiwanensis, H. rosa-sinensis, H. syriacus and three cultivars of H. mutabilis

变异区域且这 2 个热点都在 LSC 区。显然, IR 区 的变异低于 LSC 区和 SSC 区。'金秋颂'无基因间 隔区差异。这些变异度较高的区域,可用于设计 特定的 DNA 条形码。

2.5 选择压力分析和密码子偏好性分析

相对同义密码子使用度(RSCU)用于评估编 码序列中同义密码子的使用情况,其中RSCU越大 表示偏好性越强。我们选取了木芙蓉 3 个品种、 台湾芙蓉以及其他 13 个相关物种,测定了每个物 种 cpDNA 的密码子的数量以及 RSCU。计算结果 表明,基因组中亮氨酸含量最高,异亮氨酸和甘氨 酸其次,编码半胱氨酸的密码子数量最少,次少为 色氨酸和丝氨酸。如图 7 所示,除色氨酸和甲硫 氨酸外,所有氨基酸都使用 2 个或多个同义密码 子,精氨酸和亮氨酸均由 6 个同义密码子表达。 RSCU 值较大的密码子大部分为 A 或U 结尾,即基 因上的碱基 A/T,这与前人的研究结论一致,即植 物中 A/T 结尾的密码子使用偏好 (Xie et al., 2018)。如图 7 所示,锦葵科植物的密码子偏好表 现出较高的保守性,但不同属之间存在着一定的 差异。木芙蓉 3 个品种和台湾芙蓉紧紧地聚在一 起,其余物种大致是按照属和族进行聚类。

2.6 系统发育关系

我们选取 16 个锦葵科植物的 cpDNA 来探讨 木芙蓉与其近缘种间的亲缘关系,并以木棉科植 物美丽异木棉(*Ceiba speciosa*)作为外类群。使用 17 个 cpDNA 中共有的 76 个 CDSs 进行最大似然 分析(ML)和贝叶斯分析(BI)。结果显示,ML 和 BI 分析的拓扑结构完全相同,并且绝大部分的进 化支都具有很高的后验概率(posterior probabilities)



A.4种重复序列类型的数量:B.不同长度的重复序列数量。

A. Number of four repeat types; B. Number of repeat sequences by length.

图 4 台湾芙蓉和木芙蓉 3 个品种 cpDNA 的重复序列分析 Fig. 4 Analysis of repeated sequences of cpDNAs in Hibiscus taiwanensis and three cultivars of H. mutabilis





图 5 6个 cpDNAs 的序列相似度图(以单瓣白为参考) Fig. 5 Sequence identity plot of the six cpDNAs (using Hibiscus mutabilis cv. Danbanbai as a reference)

和自展值(Bootstrap values)。如图 8 所示,木芙蓉 3个品种和台湾芙蓉同属于木槿属,并聚在同一枝 亲缘关系最近,自展值和后验概率均为最大值。

讨论与结论 3

3.1 木芙蓉及近缘种的 cpDNA 比较

cpDNA 比较分析表明,木芙蓉的种下3品种 及其近缘种台湾芙蓉在 cpDNA 上高度保守,反向 重复区 (IR) 均为 26 300 bp, 木芙蓉与该属的木 槿和朱槿比较,后两者在 IR 区发生了收缩分别为 25 745、25 598 bp。3 个木芙蓉品种 cpDNA 上的 大/小单拷贝区在长度上存在差异且'单瓣白'和 '金秋颂'差异更小,在大/小单拷贝区(LSC/ SSC)长度上,'单瓣白''金秋颂''牡丹粉'分别 为 89 355 bp/18 925 bp、89 353 bp/18 926 bp、 89 400/18 920 bp。GC 含量是判断物种间亲缘关 系的重要指标 (Li et al., 2018), 木芙蓉 3 个品种 与台湾芙蓉的总 GC 含量、IR 区和 SC 区的 GC 含 量均完全一致,木槿和朱槿的 GC 含量则有明显差 异。此外,木芙蓉3个品种与台湾芙蓉的 IR 区边 界分布的 ycf1、trnH、ndhF、rpl2、rps19 基因均未发 生扩张或收缩,而同属的木槿和朱槿相对木芙蓉 和台湾芙蓉发生了明显的波动。不同物种之间的 IR 边界是不同的,其中 IR 边界的波动是造成这种 差异的主要原因(Ravi et al., 2008)。因此,GC



X 轴表示蛋白编码基因和基因间隔区的名字; Y 轴表示核苷酸多样性值。 X axis indicates the names of protein-coding genes and genes intergenic regions; Y axis indicates nucleotide diversity of each window.

图 6 台湾芙蓉、'牡丹粉''金秋颂'与'单瓣白'之间的核苷酸多态性比较分析 Fig. 6 Comparative analysis of nucleotide variability among *Hibiscus taiwanensis*, *H. mutabilis* cv. Mudanfen, *H. mutabilis* cv. Jinqiusong and *H. mutabilis* cv. Danbanbai



红色和白色分别表示较高和较低的 RSCU 值。图的右边是物种间的系统发育关系。 Red and white indicate higher and lower RSCU values, respectively. Right of the figure shows the phylogenetic relationship among species.

图 7 15 个物种(含3个品种)所有 cpDNA 蛋白编码区(CDS)同义密码子的相对使用度(RSCU)

Fig. 7 RSCU values of all protein-coding (CDS) genes for cpDNA from 15 species (including three cultivars)

含量和 IR 区边界的情况在较大程度上说明了木 芙蓉与台湾芙蓉的亲缘关系非常之近,而木槿和 朱槿的亲缘关系则相对较远。

同义密码子是由突变产生的,进化压力导致 这些同义密码子的使用频率发生变化(Hanson & Coller, 2017)。密码子偏好性是物种对其碱基组 成、tRNA 丰度和环境选择压力长期适应的结果 (Novoa & de Pouplana, 2012; Behura & Severson, 2012)。此外,密码子偏好性会影响翻译的起始、 延伸和准确性、mRNA 的剪切和蛋白质的折叠(任 桂萍等,2019)。因此,密码子偏好性在一定程度 上也能反映出亲缘关系。文中密码子偏好性聚类 结果将台湾芙蓉与木芙蓉 3 个品种聚在一起,'金 秋颂'与'单瓣白'的密码子偏好性无差异,'牡丹 粉'和台湾芙蓉相比前者编码亮氨酸密码子 UUA 的偏好性略高,其中台湾芙蓉还在缬氨酸和丝氨 酸的密码子偏好上表现出差异,从密码子偏好性 上我们能判断出木芙蓉和台湾芙蓉的亲缘关系很



分支上的数字分别代表自展值和后验概率。* 代表 2 种分析为最大支持度。 Numbers on the branch are bootstrap support values and posterior probability. * represents maximum support in all two analyses.

图 8 基于 ML 和 BI 分析构建的 15 个物种(含 3 个品种)共有的 76 个蛋白编码序列系统发育树 Fig. 8 Phylogenetic tree of the 15 species (including three cultivars) inferred from ML and BI analyses based on 76 shared protein-coding genes

近,且'单瓣白'与'金秋颂'最为近似。一些陆生 植物,如花生、樱桃和萝卜等,cpDNA的大小和结 构,以及基因的含量和顺序,在栽培种和野生近缘 物种中高度保守 (Cho et al., 2018; Wang et al., 2019)。木芙蓉3个品种与其近缘种台湾芙蓉进 化特征高度保守,再次证实了这一结论。木芙蓉 与台湾芙蓉形态上的差异非常小,区别仅为植株 的毛被类型,而木芙蓉与木槿和朱槿在形态上则 有较大的区别。木芙蓉与台湾芙蓉杂交坐果率较 高,而与朱槿和木槿杂交坐果率很低甚至无法杂 交成功。张璐等(2021)在木芙蓉品种花粉的研 究中根据形态将'单瓣白'和'金秋颂'聚在一起, 而'牡丹粉'聚在另一枝。因此,本研究结果验证 了形态和育种上的事实,能够较好地研究进化特 征和判断亲缘关系的远近。此外。木芙蓉3个品 种是一个杂交组合,其中'单瓣白'是'金秋颂'的 母本,两者最为近似,因此可以判断出木芙蓉的 cpDNA 为母系遗传,这为木芙蓉育种和遗传的研 究打下了一定的理论基础。

3.2 木芙蓉及近缘种的 cpDNA 系统发育关系

从系统发育树看,木槿属聚成了一个支持率 非常高的单系类群,表明木槿属为一较为自然的 分类群,系统发育树支持该属的建立。木芙蓉种 下3个品种聚成一个支持率99%的单系支,然后 再与台湾芙蓉聚成一个高支持率(100%)分支,表 明木芙蓉和台湾芙蓉的亲缘关系最近:从系统树 看,海滨木槿、黄槿、大麻槿构成单系分支后,再与 木芙蓉、台湾芙蓉构成的分支相聚;相较于木槿和 朱槿,木芙蓉、台湾芙蓉与海滨木槿、黄槿、大麻槿 在亲缘关系上更近。除了 cpDNA 的结构特征可以 反映出木芙蓉 3 个品种与台湾芙蓉的亲缘关系 外,系统发育分析能更直观地反映出这一关系。 在系统发育树中,木芙蓉3个品种聚在一起,与其 亲缘关系最近的为台湾芙蓉,与木槿和朱槿的亲 缘关系则相对较远。此外,建树结果显示木槿属 形成了一个单系。在冯国楣(1984)的分类处理 中,他按照宏观形态将棉属和桐棉属归入木槿族。 但彭焕文等(2018)在孢粉学研究表明,棉属、桐 棉属与木槿属的花粉有较大差异,与锦葵族的一 些物种花粉差异很小。本研究中,棉属、桐棉属与 锦葵族聚在一起,而与木槿属分开,支持之前孢粉 学的研究结果。系统发育分析结果表明 cpDNA 数 据对于研究系统发育问题是非常有效的。

3.3 木芙蓉及近缘种的 cpDNA 分子条形码

从重复序列和核苷酸多样性分析中可以开发 出候选分子标记和 DNA 条形码,可以作为品种鉴 定的分子条码。我们筛选出了木槿属下种级、木 芙蓉种下3个品种级 cpDNA 的候选特异性分子标 记和 DNA 条形码,利用所筛选的这些特异性的标 记,可将种级水平物种区分开;再将其用于观赏花 卉价值极高的木芙蓉种下品种间,亦可将'单瓣 白''金秋颂''牡丹粉'这3个区分开。

微卫星和重复序列广泛存在于 cpDNA 中,可 用于种群遗传学研究和分子标记的开发 (Bull et al., 1999; Chen et al., 2015)。木芙蓉的微卫星结 构与木槿和朱槿有明显的区别,但与台湾芙蓉区 别不太明显,且在木芙蓉品种内部,通过微卫星结 构无法区分'单瓣白'和'金秋颂'。相比较而言. 重复序列结构分析则能明显地区别台湾芙蓉和 '木芙蓉',并能对木芙蓉3个品种进行明显区分。 所以,重复序列分析能够更加有效地鉴定木芙蓉 品种。叶绿体 DNA 条形码是指具有足够变异的 短 DNA 序列,通常被认为有助于快速、准确地鉴 定物种(程芳婷等,2015)。通过核苷酸多态性分 析我们筛选出了台湾芙蓉与木芙蓉之间的叶绿体 DNA 条形码,包括 trnR-UCU ~ atpA、psbZ ~ trnG-GCC、infA~rps8 和 ndhE~ndhG。也筛选出了木芙 蓉3个品种之间的 DNA 条形码,分别为 psbZ~ trnG-GCC、vcf4~cemA、ndhB 和 vcf1。可以看出大 部分热点区域为基因间隔区,这是因为基因间隔 区处于较弱的选择压力下,并且具有比基因更高 的进化速度,它们更适合于低分类阶元的系统发 育和进化研究(陈士林等,2009)。台湾芙蓉与'单 瓣白'差异最大,有7个基因和14个基因间隔区 出现不同程度的差异。'牡丹粉'与'单瓣白'之 间的差异仅有1个 ndhB 基因和3个基因间隔区。 ndhB 基因属于 NADH 脱氢酶基因,其缺失突变会 导致光合作用中碳同化能力严重下降,植物可以 通过对该类基因进行 RNA 编辑来保证光调节作 用 (刘佳等,2019)。有研究证明,大豆的 ndhB 基 因在水稻中超表达,提高了水稻的光合效率,进而 影响了水稻的农艺性状 (王晓曼,2016)。因此, 我们推断'牡丹粉'花径很大,花量更多,植株也更 高大,或许与 ndhB 基因的改变有关。'金秋颂'与 '单瓣白'差异最小,仅有1个蛋白编码基因 ycfl 基因发生替换。ycfl 基因是具有未知功能的开放 阅读框,但是烟草基因敲除实验证明 ycfl 基因编 码对细胞存活至关重要的产物(Drescher et al., 2000)。与其他叶绿体基因相比, ycfl 基因进化速 度快,是植物中非常有用的分子标记,能够揭示低 分类水平上的系统发育关系(Amar, 2020)。因 此,木芙蓉品种之间以及与近缘种之间可以通过 一些基因间隔区和个别特殊基因(如 ycf1、ndhB) 进行快速且准确地鉴定。

参考文献:

- ABDULLAH, MEHMOOD TW, FURRUKH M, et al., 2021. Correlations among oligonucleotide repeats, nucleotide substitutions, and insertion-deletion mutations in chloroplast genomes of plant family Malvaceae [J]. J Syst Evol, 59(2): 388-402.
- AMAR MH, 2020. ycf1-ndhF genes, the most promising plastid genomic barcode, sheds light on phylogeny at low taxonomic levels in Prunus persica [J]. J Genet Eng Biotechnol, 18(1): 531-547.
- AMAR MH, MAGDY M, WANG L, et al., 2019. Peach chloroplast genome variation architecture and phylogenomic signatures of cpDNA introgression in *Prunus*[J]. Can J Plant Sci, 9(6): 885–896.
- AMIRYOUSEFI A, HYVÖNEN J, POCZAI P, et al., 2018. IRscope: an online program to visualize the junction sites of chloroplast genomes [J]. Bioinformatics, 34(17): 3030-3031.
- BEHURA SK, SEVERSON DW, 2012. Codon usage bias: Causative factors, quantification methods and genome-wide patterns: With emphasis on insect genomes [J]. Biol Rev, 88(1): 49-61.
- BEIER S, THIEL T, MUNCH T, et al., 2017. MISA-web: a web server for microsatellite prediction [J]. Bioinformatics, 33(16): 2583-2585.
- BULL LN, PABON-PENA CR, FREIMER NB, 1999. Compound microsatellite repeats: practical and theoretical features [J]. Genome Res, 9(9): 830–838.
- CAI L, ZENG XM, WANG X, et al., 2021. Analysis and assessment of amino acid component in flowers of *Hibiscus mutabilis* L. among different cultivars [J]. Sci Technol Food Ind, 42 (20): 279 – 285. [蔡露, 曾心美, 王希, 等, 2021. 不同品种木芙蓉花氨基酸组成分析及评价 [J]. 食 品工业科技, 42(20): 279–285.]
- CHEN JH, HAO ZD, XU HB, et al., 2015. The complete chloroplast genome sequence of the relict woody plant *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng [J]. Front Plant Sci, 6: 447.
- CHEN SL, SONG JY, YAO H, et al., 2009. Strategy and key technique of identification of Chinese herbal medicine using DNA barcoding [J]. Chin J Nat Med, 7(5): 322-327. [陈

士林, 宋经元, 姚辉, 等, 2009. 药用植物 DNA 条形码鉴 定策略及关键技术分析 [J]. 中国天然药物, 7(5): 322-327.]

- CHENG FT, LI ZH, LIU CY, et al., 2015. DNA barcoding of the genus *Rehmannia* (Scrophulariaceae) [J]. Plant Sci J, 33(1): 25-32. [程芳婷,李忠虎,刘春艳,等, 2015. 地 黄属植物的 DNA 条形码研究 [J]. 植物科学学报, 30(5): 468-475.]
- CHO MS, YOON HS, KIM SC, 2018. Complete chloroplast genome of cultivated fowering cherry, *Prunus × yedoensis* 'Somei-yoshino' in comparison with wild *Prunus yedoensis* Matsum. (Rosaceae) [J]. Mol Breed, 38(9): 112.
- DIERCKXSENS N, MARDULYN P, SMITS G, 2017. NOVOPlasty: *de novo* assembly of organelle genomes from whole genome data [J]. Nucl Acid Res, 45(4): e18.
- DRESCHER A, RUF S, CALSA T, et al., 2000. The two largest chloroplast genome-encoded open reading frames of higher plants are essential genes [J]. Plant J, 22(2): 97-104.
- FENG GM, 1984. Flora of China [M]. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 49(2): 1-102. [冯国楣. 中国植物志(第49卷第2分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1984: 1-102.]
- GREINER S, LEHWARK P, BOCK R, 2019. Organellar-GenomeDRAW (OGDRAW) version 1.3.1: expanded toolkit for the graphical visualization of organellar genomes [J]. Nucl Acid Res, 47(W1): W59-W64.
- HANSON G, COLLER J, 2017. Codon optimality, bias and usage in translation and mRNA decay [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 19(1): 20-30.
- KEARSE M, MOIR R, WILSON A, et al., 2012. Geneious basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data [J]. Bioinformatics, 28(12): 1647–1649.
- KURTZ S, CHOUDHURI JV, OHLEBUSCH E, et al., 2001. REPuter: the manifold applications of repeat analysis on a genomic scale [J]. Nucl Acid Res, 29 (22): 4633-4642.
- LETLWIC I, BORK P, 2021. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation [J]. Nucl Acid Res, 49(W1): W293-W296.
- LI HE, GUO QQ, ZHENG WL, 2018. Characterization of the complete chloroplast genomes of two sister species of *Paeonia*: genome structure and evolution [J]. Conserv Genet Resour, 10(2): 209-212.
- LIBRADO P, ROZAS J, 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. Bioinformatics, 25(11): 1451-1452.
- LIM TK, 2014. Hibiscus taiwanensis [M]//LIM TK. Edible

medicinal and non-medicinal plants. New Delhi: Springer Netherlands, 8: 381-384.

- LIU J, SONG YJ, SUN JY, et al., 2019. Identification and analysis of RNA editing sites of *ndhA*, *ndhB*, *ycf3*, *atpA* and *rps8* genes in sweetpotato and its two wild species [J]. J Jiangsu Norm Univ(Nat Sci Ed), 37(2): 15-20. [刘佳, 宋艳捷, 孙健英, 等, 2019. 甘薯及 2 个近缘野生种 *ndhA*, *ndhB*, *ycf3*, *atpA*和*rps8* 基因 RNA 编辑位点的鉴 定与分析 [J]. 江苏师范大学学报(自然科学版), 37(2): 15-20.]
- MAYOR C, BRUDNO M, SCHWARTZ JR, et al., 2000. VISTA: visualizing global DNA sequence alignments of arbitrary length [J]. Bioinformatics, 16(11): 1046-1047.
- MU LS, HE Y, LUO A, et al., 2017. Progress on application of plastid genetic engineering in plant breeding [J]. J Henan Agric Sci, 46(6): 1–12. [母连胜,何勇,罗岸,等, 2017. 质体基因工程在植物育种中的应用研究进展 [J]. 河南农业科学期刊, 46(6): 1–12.]
- NEALE DB, SEDEROFF RR, 1989. Paternal inheritance of chloroplast DNA and maternal inheritance of mitochondrial DNA in loblolly pine [J]. Theor Appl Genet, 77 (2): 212-216.
- NOVOA EM, DE POUPLANA LR, 2012. Speeding with control: Codon usage, tRNAs, and ribosomes [J]. Trends Genet, 28(11): 574-581.
- PENG HW, ZHOU SD, HE XJ, 2018. Pollen morphology of 26 taxa from 15 genera of Malvaceae in China and its systematic significance [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 38(10): 1832-1845. [彭焕文,周颂东,何兴金, 2018. 中国锦葵 科 15 属 26 个分类群植物花粉形态及其系统学意义 [J]. 西北植物学报, 38(10): 1832-1845.]
- PENG J, ZHAO YL, DONG M, et al., 2021. Exploring the evolutionary characteristics between cultivated tea and its wild relatevs using complete chloroplast genomes [J]. BMC Ecol Evol, 21(1): 71.
- RAVI V, KHURANA JP, TYAGI AK, et al., 2008. An update on chloroplast genomes [J]. Plant Syst Evol, 271 (1/2): 101–122.
- REN GP, DONG YY, DANG YK, 2019. Codon codes: Codon usage bias influences many levels of gene expression [J]. Sci Sin Vit, 49(7): 839-847. [任桂萍,董璎莹,党云琨, 2019. 密码子中的密码:密码子偏好性与基因表达的精细 调控 [J]. 中国科学: 生命科学, 49(7): 839-847.]
- SHARP PM, LI WH, 1987. The codon adaptation index a measure of directional synonymous codon usage bias, and its potential applications [J]. Nucl Acid Res, 15 (3): 1281-1295.
- SHI XQ, LI FW, LIU XL, et al., 2021. Study on adaptability of *Hibiscus mutabilis* germplasm resources in Chengdu region

[J]. J Sichuan For Sci Technol, 42(4): 90-93. [石小庆, 李方文, 刘晓莉, 等, 2021. 木芙蓉种质资源在成都地区 的适应性研究 [J]. 四川林业科技, 42(4): 90-93.]

- TILLICH M, LEHWARK P, PELLIZZER T, et al., 2017. GeSeq-versatile and accurate annotation of organelle genomes [J]. Nuci Acid Res, 45: W6–W11.
- WANG J, LI Y, LI CJ, et al., 2019. Twelve complete chloroplast genomes of wild peanuts: great genetic resources and a better understanding of Arachis phylogeny [J]. BMC Plant Biol, 19(1): 504.
- WANG Y, 2017. Research status and prospects of *Hibiscus mutabilis* [J]. J Sichuan For Sci Technol, 38(5): 124-127. [王莹, 2017. 芙蓉花研究现状及展望 [J]. 四川林业 科技, 38(5): 124-127.]
- WANG Y, FENG LP, HUANG LL, et al., 2021. Rapid identification on chemical constituents of *Hibiscus mutabilis* flowers by UPLC-Q-Orbitrap HRMS [J]. Nat Prod Res Dev, 33(12): 2042 2052. [王艺, 冯丽萍, 黄李璐, 等, 2021. UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术快速鉴定木芙蓉花化 学成分 [J]. 天然产物研究与开发, 33(12): 2042-2052.]
- WANG XM, 2016. Agronomic traits and salt tolerance of soybean-NDHB subunit-overexpressed rice lines [D]. Hangzhou: Zhejiang University. [王晓曼, 2016. 大豆 NDHB 亚基超表达水稻的农艺性状和抗盐性 [D]. 杭州: 浙江大学.]
- XIE DF, YU Y, DENG YQ, et al., 2018. Comparative analysis of the chloroplast genomes of the Chinese endemic genus Urophysa and their contribution to chloroplast phylogeny and adaptive evolution [J]. Int J Mol Sci, 19(7): 1847.
- XU XR, ZHOU SD, SHI XQ, 2019. The complete chloroplast genome of *Hibiscus taiwanensis* (Malvaceae) [J].

Mitochondrial DNA Part B, 4(2): 2532-2533.

- YANG QQ, JIANG M, WANG LQ, et al., 2019. Complete chloroplast genome of *Allium chinense*: comparative genomic and phylogenetic analysis [J]. Acta Pharm Sin, 54(1): 173-181. [杨俏俏, 姜梅, 王立强, 等, 2019. 药食两用藠头叶绿体基因组解析、比较基因组学及系统发育研究 [J]. 药学学报, 54(1): 173-181.]
- YANG YZ, ZENG XM, MA J, et al., 2019. Observation and analysis of flowering characteristics of different early flowering cultivars of *Hibiscus mutabilis* Linn [J]. Mod Agric Sci Technol, (17): 144-145. [杨苑钊, 曾心美, 马娇, 等, 2019. 木芙蓉不同早花品种花期特征观察与分析 [J]. 现代农业科技, (17): 144-145.]
- ZHANG D, LI WX, JAKOVLIĆ I, et al., 2020. PhyloSuite: an integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies [J]. Mol Ecol Resour, 20 (1): 348-355.
- ZHANG L, ZHANG MY, ZENG XM, et al., 2021. Pollen morphology of 19 cultivars of *Hibiscus mutabilis* in Chengdu and its taxonomic significance [J]. J Trop Subtrop Bot, 29 (4): 421-429. [张璐, 张曼瑜, 曾心美, 等, 2021. 成都 地区 19 个木芙蓉品种的孢粉学研究及其分类学意义 [J]. 热带亚热带植物学报, 29(4): 421-429.]
- ZHENG P, SHI HW, DENG HB, et al., 2012. Study on the ecological functions of sixty-five garden species in Wuhan City, China [J]. Plant Sci J, 30(5): 468-475. [郑鹏, 史 红文, 邓红兵, 等, 2012. 武汉市 65 个园林树种的生态功 能研究 [J]. 植物科学学报, 30(5): 468-475.]

(责任编辑 蒋巧媛)

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202107004

马宇辰,赵玉梅,黄丹霖,等. 白菜 CesA 基因家族鉴定及表达模式分析 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2021-2031. MA YC, ZHAO YM, HUANG DL, et al. Identification and expression analysis of CesA gene family in Brassica rapa var. glabra [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2021-2031.



白菜 CesA 基因家族鉴定及表达模式分析

马宇辰¹,赵玉梅^{1,2},黄丹霖¹,张梦晴¹,吴晓宇^{1,2},王 洁^{1,2}, 陈 雨¹,黄家保^{1,2},段巧红^{1,2}*

(1. 山东农业大学 园艺科学与工程学院,山东 泰安 271000; 2. 作物生物学国家重点实验室,山东 泰安 271000)

摘 要:为探究 *CesA* 基因家族在白菜生长发育及纤维素合成过程中的作用机制,该文通过生物信息学的方法,以白菜的全基因组序列为研究区域,进行理化特征、基因结构、进化特征、保守基序及结构域、顺式作用元件和组织表达等鉴定分析。结果表明:(1)共鉴定出 16 个编码纤维素合成酶亚基的 *CesA* 基因,该家族成员所编码蛋白的理论等电点为4.76~9.12,相对分子量为17.76~122.67 kD,长度为153~1 089 aa。(2)15 个基因不均匀地分布于白菜的7条染色体上,*Bra*036008 定位于 scaffold 上。(3)大部分成员包含 4~14 个外显子,1~11个保守基序。(4)该家族具有保守的 DDD-QXXRW 保守功能域。(5)该家族编码蛋白主要分布在质膜上,二级结构以无规则卷曲与α-螺旋为主,多数成员都含有 CesA 蛋白典型的 N 端、C 端和跨膜区。(6) *CesA* 基因在茎中表达量相对较高,其中 *Bra*011865、*Bra*023952 和 *Bra*029874 在茎、叶、花中显著表达。该研究结果为后续深入研究 *CesA* 基因功能以及白菜生长发育研究奠定了基础。 关键词:纤维素合成酶,白菜, *CesA*, 基因家族,基因表达

中图分类号: Q943.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)12-2021-11

Identification and expression analysis of *CesA* gene family in *Brassica rapa* var. *glabra*

MA Yuchen¹, ZHAO Yumei^{1,2}, HUANG Danlin¹, ZHANG Mengqing¹, WU Xiaoyu^{1,2}, WANG Jie^{1,2}, CHEN Yu¹, HUANG Jiabao^{1,2}, DUAN Qiaohong^{1,2*}

 (1. College of Horticultural Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai' an 271000, Shandong, China; 2. State Key Laboratory of Crop Biology, Tai' an 271000, Shandong, China)

Abstract: In order to explore the role of *CesA* gene family in cellulose synthesis and development of *Brassica rapa* var. *glabra*, we identified the members of *CesA* genes in *B. rapa* var. *glabra* genome via bioinformatic method and the physiochemical properties, gene structures, evolutionary characteristics, conserved inotifs and domains, *cis*-acting

收稿日期: 2021-12-28

基金项目:山东省自然科学基金重点项目(ZR2020KC017) [Supported by Natural Science Foundation Shandong Province (ZR2020KC017)]。

第一作者:马宇辰(2000-),研究方向为园艺科学与工程,(E-mail)2586922861@qq.com。

[&]quot;通信作者:段巧红,博士,教授,研究方向为远源杂交中生殖隔离的形成机理,(E-mail)duanqh@sdau.edu.cn。

elements and tissue expressions were indentified and analysed. The results were as follows: (1) We identified 16 BrCesA genes from 10 B. rapa var. glabra chromasomes with isoelectric point ranged from 4.76 to 9.12, molecular weight ranged from 17.76 to 122.67 kD and amino acid length ranged from 153 to 1 089 aa. (2) With an exception of Bra036008, which located in scaffold, the rest of 15 BrCesA genes unevenly distributed in seven chromosomes. (3) Most of CesA contained 4 to 14 exons and 1 to 11 conserved motifs. (4) This family had a DDD–QXXRW conserved functional domain. (5) The coding proteins of this family were mainly distributed on the plasma membrane, and the secondary structure was mainly random coil and α -helix, and most members contained the typical N-terminus, C-terminus and transmembrane regions of CesA protein. (6) CesA gene was expressed in relatively high amounts in stem, and Bra011865, Bra023952 and Bra029874 were significantly expressed in stem, leaf and flower. The results of this study provide a basis for further research on the function of CesA gene and the growth and development of Brassica rapa var. glabra.

Key words: cellulose synthase, Brassica rapa var. glabra, CesA, gene family, gene expression

植物纤维素合酶是由 36 个单体组成的玫瑰 状复合体,其单体主要由纤维素合成酶基因家族 成员编码,纤维素(cellulose)是植物细胞壁的主要 成分(姚敦义和王静之,1988),在细胞生长、分化、 信号转导等过程中起到重要作用(解盛等, 2021)。纤维素合酶(cellulose synthases A, CesA) 是合成纤维素的酶(Doblin et al., 2002),本质上 属于糖基转移酶,最初在革兰氏阴性细菌醋杆菌 中被鉴定(Wong et al., 1990)。高等植物纤维素 合成酶复合体中,有不少于3种 CesA 亚型参与 (Doblin et al., 2002), CesA 亚基彼此相互作用形 成高级复合物。迄今为止, CesA 基因家族已在模 式植物拟南芥(Pear et al., 1996)、水稻(Huang et al., 2015)、烟草(徐宗昌和孔英珍, 2017)中鉴定 出来,其中拟南芥 CesA 基因的研究最为深入 (Richmond, 2000)。 拟南芥基因组拥有 10 个 CesA 基因(CesA1-10),它们编码与细菌纤维素合 成酶同源的蛋白(Pear et al., 1996);生细胞壁的 形成需要3种类型的CesA亚基(CesA4/不规则 XYLEM5 [IRX5], CesA7/IRX3 和 CesA8/IRX1) (Hernández-Blanco et al., 2007), CesA3 基因突变 使纤维素合成水平降低,通过茉莉酸和乙烯等信 号通路激活木质素合成和防御反应(Caño-Delgado et al., 2003);在水稻基因组中共鉴定到 11 个 OsCesA 基因,水稻中的赤霉素信号转导可以通过 促进纤维素的合成,进而影响水稻植株节间的发 育(Huang et al., 2015);此外,烟草基因组中鉴定 出 21 个 NtCesA 基因, NtCesA7、NtCesA9、NtCesA11、 NtCesA16、NtCesA18 等基因主要参与烟草次生细胞 壁纤维素的合成(徐宗昌和孔英珍,2017)。除模式 植物外,玉米(Appenzeller et al.,2004)、棉花(孟成 生等,2012)、巨龙竹(王文治等,2021)、紫花苜蓿 (刘希强等,2018)、罗布麻(解盛等,2021)等多种 非模式植物中也鉴定出 CesA 基因。从玉米中鉴定 出 12 个不同的 ZmCesA 基因,在初级或次级细胞壁 合成的独特细胞类型中表达(Doblin et al.,2002)。 棉花中鉴定出 18 个 CesA 基因(孟成生等,2012); 巨龙竹中鉴定出 45 个 CesA 基因(王文治等, 2021)。紫花苜蓿盛花期 CesA 基因表达水平显著提 高,纤维素含量大幅增加(刘希强等,2018)。罗布 麻 CesA 基因家族包含的大量光响应、胁迫响应、激 素响应等元件,在植株生长发育与抗逆防御方面发 挥着作用(解盛等,2021)。

白菜(Brassica rapa var. glabra)属十字花科 (Cruciferae)芸薹属(Brassica)2年生草本植物,原 产于我国,栽培历史悠久,年种植面积 180万 hm² 左右(张凤兰等,2021),是人们日常餐桌上必不可 少的蔬菜。2011年,白菜全基因组测序工作完成 (Wang et al., 2011),2017年获得了升级的 v2.5 版本(Cai et al., 2017),2018年获得了白菜参考 基因组 v3.0新版本(Zhang et al., 2018),为后续 开展白菜基因研究奠定了坚实的基础(Chen et al., 2020)。目前,CesA 基因家族在白菜中还未进 行深入鉴定与分析。本研究以白菜的全基因组序 列为研究区域,依托在线软件与 qRT-PCR 分析,采 用生物信息学方法,通过对 CesA 基因家族的结构、 进化特征、组织表达等进行系统鉴定,拟探讨以下 问题:(1)白菜 CesA 基因家族的遗传进化规律; (2)该家族成员的理化性质;(3)该家族成员的基因结构、蛋白质二级结构及保守结构域;(4)该家族成员在各组织中的表达模式以及在盐胁迫下的表达模式。

1 材料与方法

1.1 基因家族成员鉴定及理化性质分析

根据拟南芥已经鉴定的 10 个 CesA 基因序列, 通过 BLAST 在白菜基因组(B. rapa var. glabra genome v1.5)中搜索候选的白菜 CesA 家族成员, 并通过综合分析确定候选基因。使用 TBtools 软件 (Chen et al., 2020)结合 Expasy(Wang et al., 2012)(https://www.expasy.org/)分析白菜 CesA 基 因家族的蛋白质分子量(molecular weight, MW)、 等电点(pI)等理化性质。

1.2 基因结构及保守结构域分析

利用 TBTools 软件绘制白菜 CesA 基因结构图; 利用 MEME (Kumar et al., 1994)(http://memesuit.org/tools/meme)在线预测 CesA 蛋白质基序。 TBtools 软件(https://github.com/) 绘制可视化 MEME 结构,并进行基因结构分析。

1.3 基因在染色体上的分布及共线性关系分析

通过白菜基因组数据库对鉴定获得的 CesA 基 因家族成员进行染色体分析,利用 TBTools 软件作 图进行分析。使用 BLAST 比对,合并、建库、蛋白 对比;运行 MCScanX(Bolser et al., 2003),进行下 游分析及可视化作图,从而进行共线性分析,得到 共线性图。

1.4 亚细胞定位预测和蛋白质二级与三级结构 分析

使用 WoLF PSORT(http://www.genscript.com/ wolf-psort.html)进行亚细胞 定位 PRABI(https:// npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl? page = npsa_sopma.html)进行蛋白二级结构分析。利用 Phyre2 (Kelley et al., 2015)(http://www.sbg. bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi? id=index)对白 菜 CesA 蛋白进行三级结构预测。

1.5 白菜 CesA 基因家族成员蛋白跨膜螺旋与三级 结构预测

利用 TMHMM Server v2.0(http://www.cbs. dtu.dk/services/TMHMM/)对白菜 CesA 蛋白跨膜 螺旋进行预测。

1.6 C 白菜 CesA 基因表达分析

以"蛋黄白"白菜品种为实验材料。提取 30 d 苗龄的根、茎、叶和 80 d 苗龄的花和果荚的 RNA, 进行组织特异性表达分析。挑选生长状况相近的 白菜幼苗浸泡于用 Hoagland 营养液配制的 150 mmol·L⁻¹ NaCl 溶液中,12 h 后进行材料的 RNA 提取,并以正常水培幼苗为对照,进行盐胁迫下基 因表达分析。

使用 qPrimerDB-qPCR Primer Database (https:// biodb.swu.edu.cn/qprimerdb/)(Li et al., 2017)设计 qRT-PCR 引物,以 *BraActin* 2 为内参基因(表1)。 使用 RNA 提取试剂盒提取样品总 RNA,使用 HiScript II QRT SuperMix for qPCR 试剂盒反转录 得到 cDNA。使用 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒进行定量实验。反应体系 20 μ L:2 μ L cDNA,上、下游引物各 0.4 μ L, SYBR 10 μ L,用灭菌 dd H₂O 补至 20 μ L。PCR 反应程序: 95 °C 预变性 30 s,95°C 变性 10 s,60 °C 退火 22 s, 进行 40 个循环。基因的相对表达量以 2^{-ΔΔCi}法计 算。所得数据通过 TBtools 进行可视化分析。

2 结果与分析

2.1 白菜 CesA 基因家族成员的鉴定与理化性质分析

经筛选鉴定,得到 16 个白菜 CesA 基因家族成员(表 2),分析结果表明白菜 CesA 家族蛋白等电点介于 4.76~9.12 之间,酸性蛋白与碱性蛋白的数量相近,分别为 7 个和 9 个。分子量介于 17.76 kD~122.67 kD 之间。Bra011865 的氨基酸数目最多,Bra004814、Bra010691 蛋白的氨基酸数目显著少于其他成员。

2.2 白菜 CesA 家族基因系统进化分析

许多物种中都有 CesA 家族同源基因的进化与 表达(表3)。为了解白菜 CesA 基因家族与拟南芥 CesA 基因家族之间的进化关系,利用 MEGA-X 软 件,对两者的 CesA 基因家族成员进行的系统进化 分析(图1)结果表明,白菜 CesA 基因家族与拟南芥 CesA 基因家族有相近的进化关系。CesA 基因可以 分为4个亚族,共发现有5个白菜 CesA(Bra006407、 Bra012578、Bra033714、Bra011865、Bra006036)与拟南 芥 CesA 具有高度同源性,表明这5对基因具有高 度的亲缘关系。通过对基因分化时间预测,在基 因进化的角度推测以 CesA1 出现时间最早。

表 1 白菜 CesA 基因家族表达分析的 qRT-PCR 引物

Table 1 qRT-PCR primers for expression analysis of CesA gene family in Brassica rapa var. glabra

基因编号 Gene ID	引物序列 (5′-3′) Primer sequence (5′-3′)			
Bra023952	F : AAAGGTGGAGAAATTGAAGGGA	R : AATAATCACAACCCGGTAAGGT		
Bra011345	F : GACATGATTCTCAGCCAATTCC	R : CTGATGTAGTTCGCACAGATTG		
Bra011865	F : ATCGATACTCTAATCGCAACGT	R : ACAACCTGTCCCGACATATATC		
Bra010691	F : CGCCTCGTCTAGTATTAACTGT	R : CCAACGTATATCGGTCCTTGTA		
Bra029874	F : TTAGCTGTGGATATGAGGACAC	R : CAGTCTCCCTCCATAACCATAC		
Bra005845	F : CGGAGCTCTACTTGTTCAAATG	R : GGTATCCACTGTTGATAGCGTA		
Bra028768	F : CATGTCATTAGCTGTGGTTACG	R : GCATTTTGAACCCAGTCAGAAT		
Bra033714	F : GCAAGCTCAAGATTCTAGAACG	R : AACCGCTGGGATAGTACAATAG		
Bra036008	F : CGACAACGGAAGCAATTTTCTA	R : GACATCCCAAATCTCTTCTCGA		
Bra006036	F : CTTGGCCTGGTAATAATGTTCG	R : TTTGCTGTTGTTGATGTAGTGG		
Bra037793	F : TAATAGCACAAGAGATCACCCC	R : GAACCCCTGAGACTCGTATAAG		
Bra024324	F : TTTGTTCTGATTAATGCCGACG	R : TCTCTGCAGATTTTACACGTCT		
Bra031904	F : ATATGAAGGGTTTGGATGGGTT	R : ATAGGAAACACCATTTAGGCCA		
Bra004814	F : GAGGACGAGGATGATAATGAGG	R : ATACACTAACCCAACATCCCAG		
Bra006407	F : CAAGCAAGATCAATCCATACCG	R : AGAGACGGTCTAGATAGGTCTC		
Bra012578	F : ACAGTCTCCACAATAGACAGTG	R : GGATAGGTATCACAACCGAGAG		
BraActin 2	F : CGGTGTCATGGTTGGGAGA	R : CGTGCTCGATGGGGGTACTTC		

表 2 白菜 CesA 基因家族信息

Table 2 Information of CesA gene family in Brassica rapa var. glabra

基因编号 Gene ID	染色体 Chromosome	等电点 Isoelectric point	分子量 Molecular weight (kD)	起始位置 Start location (bp)	终止位置 End location (bp)	蛋白长度 Protein length (aa)
Bra023952	A03	6.34	122.17	28 621 459	28 626 059	1 083
Bra011345	A01	6.51	121.85	2 640 630	2 645 508	1 080
Bra011865	A01	7.04	121.03	150 169	154 808	1 074
Bra010691	A08	6.98	31.61	16 010 300	16 016 114	287
Bra029874	A05	8.39	118.03	21 907 336	21 912 132	1 046
Bra005845	A03	7.67	118.62	899 408	903 741	1 055
Bra028768	A02	7.43	119.79	2 136 518	2 141 039	1 066
Bra033714	A06	8.43	119.81	25 466 123	25 470 303	1 052
Bra036008	scaffold	9.12	20.92	492 903	493 889	1 089
Bra006036	A03	6.65	121.40	1 703 119	1 708 289	1 076
Bra037793	A09	7.65	122.18	3 605 709	3 610 867	1 083
Bra024324	A06	7.24	122.67	14 970 360	14 975 283	1 082
Bra031904	A02	7.81	121.49	27 187 433	27 192 926	1 079
Bra004814	A05	4.76	17.76	1 926 040	1 927 962	153
Bra006407	A03	6.18	116.43	3 382 190	3 386 798	1 034
Bra012578	A03	6.69	111.40	23 439 101	23 442 994	985

2.3 白菜 CesA 家族基因的结构和保守结构域分析

利用 TBtools 对 16 个白菜 CesA 基因家族成员 进行基因结构分析(图 2)。该家族成员大都包含 4~14 个内显子。其中 5 个基因含有 14 个 CDS 序 列,3 个基因含有 13 个 CDS 序列,4 个基因含有 12 个 CDS 序列, Bra033714 含 11 个 CDS 序列, Bra010691 含 6 个 CDS 序列, Bra004814 含有 5 个 CDS 序列, Bra036008 含有 4 个 CDS 序列。表明部分家族基因 结构间存在较大差异, 具有丰富的多样性。

利用 MEME/MAST 程序进行蛋白保守结构域

表 3 CesA 家族同源基因在不同物种中的功能研究

Table 3 Function study of CesA family homologous genes in different species

拟南芥基因 ID <i>Arabidopsis thaliana</i> gene ID	基因 ID Gene ID	物种 Species	功能 Function	参考文献 Reference
ATCesA2	CrCESA2-2	琯溪蜜柚 Guanxi pomelo	初生壁纤维素合成调控 Regulation of primary wall cellulose synthesis	代亚兰等, 2021
ATCESA7 ATCESA8	CrCESA4 \CrCESA7-1 \ CrCESA8	琯溪蜜柚 Guanxi pomelo	汁胞粒化过程次生壁纤维素的积累 Accumulation of secondary wall cellulose during granulation of juice cells	代亚兰等, 2021
ATCesA1 ATCesA3	AvCesA2 AvCesA3	罗布麻 Apocynum venetum	初生细胞壁纤维素合成基因 Primary cell wall cellulose synthesis gene	解盛等, 2021
ATCesA7 、ATCesA4 、 ATCesA8	AvCesA5 _AvCesA8 _AvCesA10	罗布麻 A. venetum	次生细胞壁纤维素的合成 Primary cell wall cellulose synthesis	解盛等, 2021
ATCesA6 ATCesA1	De10040587 \De10044972 \ De10083985 \De10040239	细茎石斛 Dendrobium candidum	初生细胞壁的纤维素合成 Primary cell wall is involved in cellulose synthesis	兰晓天等, 2019
ATCesA4 \ATCesA7 \ ATCesA8	De110044623 \De10069041	细茎石斛 D. candidum	次生细胞壁合成 Secondary cell wall synthesis is related	兰晓天等, 2019
ATCesA1 ATCesA3 ATCesA6	MlCesA7	南荻 Miscanthus lutarioriparius	初级细胞壁的形成 Formation of primary cell walls	李遥等, 2021
ATCesA4 \ATCesA7 \ ATCesA8	MlCesA4 MlCesA9	南荻 M. lutarioriparius	次级细胞壁的形成 Formation of secondary cell walls	李遥等, 2021
ATCesA8	ClCesA1	杉松 Abies holophylla	木材次生壁形成 Formation of wood secondary walls	庞景等, 2015
ATCesA1	ClCesA2	杉松 A. holophylla	细胞初生壁的形成 Formation of the primary wall of a cell	庞景等, 2015
ATCesA1 \ATCesA2 \ ATCesA3 \ATCesA5 \ ATCesA6	LgCesA1、LgCesA3、LgCesA5 和 LgCesA6	落叶松 Larix gmelinii	细胞初生壁的生长 Growth correlates with the primary wall of cells	特日格勒等, 2021
ATCesA4 ATCesA7 ATCesA8	LgCesA4 、LgCesA8	落叶松 L. gmelinii	细胞次生壁的生长 Growth correlates with cell secondary walls	特日格勒等, 2021
ATCesA3 ATCesA9	F01 _ cb9914 _ c103031/f5p6/ 3907 、F01 _ cb9914 _ c4357/ f4p0/4200	巨龙竹 Dendrocalamus sinicus	初生壁纤维素生物合成 Primary wall cellulose biosynthesis	王文治等, 2021
ATCesA4 \ATCesA7 \ ATCesA8	NtCesA7 \NtCesA9 \NtCesA11 \ NtCesA16 \NtCesA18	烟草 Nicotiana tabacum	烟草次生细胞壁纤维素的合成 Synthesis of cellulose from secondary cell wall	徐宗昌和 孔英珍, 2017
ATCesA1 \ATCesA3 \ ATCesA6	NtCesA19	烟草 N. tabacum	初生细胞壁纤维素合成 Primary cell wall cellulose synthesis	徐宗昌和 孔英珍, 2017
ATCesA1 ATCesA3 ATCesA6	RpCesA2	刺槐 Robinia pseudoacacia	初生细胞壁纤维素合成 Primary wall cellulose biosynthesis	张凯权等, 2017
_	DlCesA3-2 , DlCesA6 , DlCesA7-1	龙眼 Euphoria longan	可能影响植物胚乳发育 Affecting plant endosperm development probably	朱永静等, 2020
_	DlCesA7	龙眼 E. longan	可能参与龙眼体胚发育调控 Regulation of somatic embryo development probably	朱永静等, 2020

注: 拟南芥 ID 栏为物种基因家族对应同源基因; — 表示无对应基因。

Note: ID column of Arabidopsis thaliana is the corresponding homologous gene of the species gene family; - indicates no corresponding genes.



Bra. 白菜; AT. 拟南芥。下同。

Bra. Brassica rapa var. glabra; **AT**. Arabidopsis thaliana. The same below.

图 1 白菜与拟南芥 CesA 基因家族系统进化树 Fig. 1 Phylogenetic tree of CesA gene family of Brassica rapa var. glabra and Arabidopsis thaliana

分析(图 3),共鉴定到 10 种 motif,大部分成员含 有相同的 motif 组成。均含有一个保守的 motif 1; Bra011345 基因中含有 motif 1~10 及一个重复的 motif 6;Bra011865 基因中含有 motif 1~10 及一个 重复的 motif 8,推测具有差异的基因在白菜生长 周期中发挥不同于其他的作用。利用 DNAMAN 对白菜 CesA 进行氨基酸序列进比对(图 4)显示, 除了 Bra010691、Bra036008 和 Bra004814,其余家 族基因都含有 CesA 蛋白典型 DDD-QXXRW 保守 功能域,与拟南芥 CesA 蛋白具有相同的保守功能 域(Delmer,1999)。

2.4 白菜 CesA 家族染色体定位与共线性分析

利用 TBtools 绘制出白菜 CesA 家族基因的染 色体分布图(图 5)。CesA 基因不均匀地分布于 A01、A02、A03、A05、A06、A08、A09 七条染色体 上, Bra036008 定位于 scaffold 上。

利用 TBtools 对 16 个白菜 CesA 基因家族成员 与拟南芥进行分析,共鉴定到 7 对共线性基因对 (图 6)。大多数白菜 CesA 家族成员都可找到在拟 南芥中的直系同源基因,仅 Bra010691 和 Bra004814 无与之对应的共线性的基因。



图 2 白菜 CesA 基因的结构

Fig. 2 Structures of CesA genes in Brassica rapa var. glabra

2.5 亚细胞定位预测和蛋白质二级结构分析

基因的亚细胞定位有助于我们进一步了解其 功能。利用 WoLF PSORT 在线网站进行亚细胞定 位分析,发现绝大多数白菜 CesA 定位在质膜上,与 纤维素合酶的作用机制相符。蛋白质二级结构是 多肽链在空间的三维排列中的一个高级组织层 次,了解 CesA 蛋白的结构有助于预测其分子功 能。利用 PRABI 在线网站对白菜 CesA 蛋白进行 分析,发现 CesA 基因家族成员的蛋白质二级结构 含有大量无规则卷曲、α-螺旋和延伸链结构及少 量的 β-转角(表4)。

2.6 白菜 CesA 家族成员蛋白跨膜结构域预测

利用 TMHMM 对白菜 CesA 家族成员蛋白的跨 膜结构进行预测结果(图7)显示:除 Bra010691、 Bra036008、Bra004814 蛋白外,其余家族成员蛋白 在C端均含有6个完整的跨膜结构域,且每个组 成跨膜结构域的氨基酸数量与位置均相似,据此 推测其可能有相同的结构和功能,而 Bra010691、 Bra036008、Bra004814 可能因为发生突变,相应功 能发生变化,而导致跨膜结构缺失。仅有 Bra005845、Bra006036、Bra024324、Bra028768、 Bra031904、Bra033714、Bra037793 蛋白在近 N 端 均含有2个完整的跨膜结构域。

2.7 白菜 CesA 基因家族表达分析

通过 qRT-PCR 分析 CesA 在根、茎、叶、花、果 荚中表达水平,使用 TBtools 将这些基因进行可视 化分析(图 8)。结果表明 CesA 基因在根、茎、叶、 花、果荚中均有不同程度的表达,且在茎部表达量 较高。Bra011865、Bra023952 和 Bra029874 在茎、






框选内容为白菜 CesA 蛋白 D、DD 保守功能域与 QXXRW 保守功能域。 Boxes are CesA protein D,DD conserved functional domain and QXXRW conserved functional domain.

图 4 白菜 CesA 家族氨基酸序列比对 Fig. 4 Sequence alignment of aminoacid of CesA family in Brassica rapa var. glabra

叶、花和果荚中表达量均显著高于在根中的表达 水平,其中,*Bra*029874的表达量最为显著,在茎、 叶、花中表达量为在根中表达量的6~7倍。

通过 qRT-PCR 分析 CesA 在正常与 150 mM · L⁻¹NaCl 胁迫状态下的表达水平,结果表明大部分 CesA 基因 对盐处理有一定程度的响应,其中 Bra011865 的 2 h 和 6 h 处理组,与 Bra010691 的 6 h 处理组响应最为显著, Bra024324、Bra028768 及 Bra023952 也有比较明显的响应(图 9)。

3 讨论与结论

纤维素是植物细胞壁形成的主要成分,通过 参与细胞形态建成,调控细胞发育,参与多种胞内 信号转导途径,从而影响植物体的生长发育。植 物纤维素合酶是由 36 个单体组成的,本质为糖基 转移酶的玫瑰状复合体。Doblin 等(2002)研究显 示,纤维素合酶的主要功能是负责在质膜上催化



A01-A10. 白菜染色体。 A01-A10. Brassica rapa var. glabra chromosomes.

图 5 白菜 CesA 基因在染色体上的位置分布 Fig. 5 Chromosome localization of amino acid of CesA gene in Brassica rapa var. glabra



^{1-5.} 拟南芥染色体; A01-A10. 白菜染色体。

纤维素的生物合成,高等植物纤维素合成酶复合体中,存在3种以上 CesA 亚型参与,其亚基之间

相互作用形成高级复合物。本研究鉴定到 16 个 白菜 CesA 基因,对白菜和拟南芥 CesA 基因家族共 线性分析显示,两者的进化关系较近,而聚类在同 一分支上的基因,如 Bra023952、Bra011345 与 ATCesA1(AT4G32410)聚类在同一分支上,可能具 有相似的生物学功能。对白菜 CesA 基因家族成员 进行的理化性质分析表明,蛋白等电点介于4.76~ 9.12之间,对酸性及碱性环境适应性均较好。16 个家族成员定位在7条染色体上,其中ChrA03上 最多,且 Bra036008 定位在 scaffold 上。Nawaz 等 (2019)的研究表明,家族成员蛋白有8个完整的 跨膜结构域,各种植物来源的 CesA 基因在序列水 平上有些差异。本研究中,白菜 CesA 家族成员多 数有8个完整的跨膜结构域,其中C端有6个,近 N端有2个,多数成员具有类似的保守结构域组 成,表明其功能存在相似性。CesA蛋白跨膜区在 膜上形成一个通道用于分泌葡萄糖链,在分泌通 道的活性区域的附近,DDD 残基与 QXXRW 保守 结构域行使催化糖链合成的功能(Richmond, 2000),本研究显示,白菜 CesA 基因家族大部分成 员均含有 DDD-QXXRW 结构域,与现有报道的拟 南芥与烟草等具有相同的结构域,存在进化上的 保守性。

CesA 在转录水平调控纤维素合成,编码序列 中内含子的有无及其在序列中的位置造成了 CesA 基因间的差异(Richmond, 2000)。已有研究显 示,烟草中鉴定出 21 个 CesA 基因家族成员中有 12~16个内含子(徐宗昌和孔英珍, 2017),水稻 中鉴定出 11 个家族成员中有 1~13 个内含子(王 振怡等, 2015),铁皮石斛(兰晓天等, 2019)和巨 龙竹(王文治等, 2021)中均含有较多内含子。本 研究对基因结构的分析显示, 白菜 CesA 基因家族 成员都有 3~13 个内含子,因其内含子较多,基因 进化保守性降低,转录时出现可剪接突变的概率 较高,因此 CesA 基因家族之间在结构上存在差异, 具有丰富的多样性。植物中存在多种纤维素合成 酶基因,不同基因作用在不同部位,表达的功能有 差异。南荻的 MlCesA7 参与初级细胞壁的形成, MlCesA4、MlCesA9则参与次级细胞壁的形成(李遥 等, 2021);杉木的 Cl CesA1 参与木材次生壁形成, ClCesA2 参与细胞初生壁的形成(庞景等, 2015); 琯溪蜜柚中, CrCesA2-2 基因参与初生壁纤维素合 成调控, CrCesA4、CrCesA7-1、CrCesA8参与了次生

^{1-5.} Arabidopsis thaliana chromosomes; A01-A10. Brassica rapa var. glabra chromosomes.

图 6 白菜与拟南芥间 CesA 基因家族共线性分析 Fig. 6 Synteny analysis of CesA gene family between Brassica rapa var. glabra and Arabidopsis thaliana

表 4 白菜 CesA 亚细胞定位预测与二级结构分析

Table 4 Prediction of subcellular location and secondary structure analysis of CesA in Brassica rapa var. glabra

	亚细胞结构定位预测 Subcellular localization prediction							蛋白质二级结构分析 Protein secondary structure analysis			
蛋白质 ID Protein ID	质膜 Plasma membrane	叶绿体 Chloroplast	胞浆 Endochy- lema	线粒体 Mitochon- drion	液泡 Vacuole	细胞核 Nucleus	内质网 ⁻ Endoplasmic reticulum	α-螺旋 α-helix (%)	延伸链 Extended strand (%)	β-转角 β-turn (%)	不规则卷曲 Random coil (%)
Bra023952	11	_	_	_	_	_	2	31.86	15.51	4.89	47.74
Bra011345	12	_	_	_	_	1	_	32.13	16.67	4.63	46.57
Bra011865	12	_	_	—	_	1	—	33.71	15.74	5.59	44.97
Bra010691	7	_	1	1	2	1	1	35.54	24.04	9.06	31.36
Bra029874	9	_	_	—	_	2	2	32.70	14.63	4.49	48.18
Bra005845	10	_	_	1	_	2	—	33.27	14.60	4.36	47.77
Bra028768	11	_	_	—	_	2	—	33.49	14.45	4.69	47.37
Bra033714	11	_	_	—	_	2	—	35.08	14.54	5.23	45.15
Bra036008	—	1	_	4	_	8	—	28.04	17.46	8.47	46.03
Bra006036	13	_	_	—	_	_	—	31.78	15.24	4.28	48.70
Bra037793	13	_	_	_	_	_	_	31.95	15.14	4.89	48.01
Bra024324	13	_	_	_	_	_	_	32.75	14.37	4.20	48.68
Bra031904	13	_	_	_	_	_	_	32.25	14.02	3.73	50.00
Bra004814	—	8	4	—	_	1	—	16.99	26.14	10.46	46.41
Bra006407	11	1	_	_	_	1	_	34.53	14.81	3.59	47.06
Bra012578	12	_	_	_	_	2	_	32.79	14.42	4.77	48.02

注:关于亚细胞定位数值根据分选信号、氨基酸组成和功能域数,经 KNN 算法而得到;数值表示所占比例;"—"表示无数值。 Note: Values of subcellular localization is obtained according to sorting signals, amino acid composition and functional motifs from

Note: Values of subcellular localization is obtained according to sorting signals, amino acid composition and functional motifs fro KNN. The numerical value represents the proportion column; — represents the absence of a value.



横坐标为蛋白序列长度(氨基酸数量);纵坐标为概率。

X-coordinate is the length of the protein sequence (the number of amino acids); Y-coordinate is the probability.

图 7 白菜 CesA 蛋白跨膜螺旋预测

Fig. 7 Prediction of CesA protein transmembrane helix of Brassica rapa var. glabra









Fig. 9 Expression analysis of *CesA* gene family under salt stress in *Brassica rapa* var. *glabra*

壁纤维素的积累(代亚兰等, 2021);罗布麻的 AvCesA2、AvCesA3 参与初生细胞壁纤维素合成, AvCesA5、AvCesA8、AvCesA10参与次生细胞壁纤维 素合成(解盛等, 2021)。本研究对二级结构的分 析显示,除 Bra036008 和 Bra004814 外,白菜 CesA 基因家族成员均定位在质膜上,表明该基因家族 与细胞壁纤维素合成相关。CesA 基因具有组织表 达的特异性,兰晓天等(2019)对铁皮石斛 CesA 基 因进行分析得出, De10015261、De10044519、 De10126237 基因只在铁皮石斛的根中表达, De10015633、De10018596 只在茎中表达, De10002966 在根、叶、花中均有表达。本研究中, 16个白菜 CesA 家族基因在根茎叶花果荚中表达 的个数和表达量均不相同,其中茎中表达量相对 较高,尤其 Bra011865、Bra023952 和 Bra029874 在 茎、叶、花中显著表达。Zhang 等(2016)的研究表 明,AtCesA6 在拟南芥盐胁迫耐受性中发挥重要作 用。在本研究中,大部分 CesA 基因对盐胁迫存在 一定程度的响应,其中 Bra010691 的 6 h 处理组响 应最为显著,表明该家族成员参与非生物胁迫的 信号应答(徐宗昌和孔英珍, 2017)。

目前,对白菜 CesA 基因家族还没有进行系统 的功能鉴定,许多基因的功能尚未发掘。本研究 利用生物信息学方法对白菜 CesA 基因家族进行了 全基因组鉴定,并对其进化关系、基因结构、顺式 作用元件等进行分析,为进一步探究白菜生长发 育机制奠定了基础。

参考文献:

- APPENZELLER L, DOBLIN M, BARREIRO R, et al., 2004. Cellulose synthesis in maize: isolation and express analysis of the cellulose synthase (*CesA*) gene family [J]. Cellulose, 11(3/4): 287-299.
- BOLSER D, STAINES DM, PRITCHARD E, et al., 2003. Ensembl plants: Integrating tools for visualizing, mining, and analyzing plant genomics data [J]. Methods Mol Biol, 1374: 115-140.
- CAÑO-DELGADO A, PENFIELD S, SMITH C, et al., 2003. Reduced cellulose synthesis invokes lignification and defense responses in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant J, 34(3): 351-362.
- CAI C, WANG X, LIU B, et al., 2017. Brassica rapa genome 2.0: A reference upgrade through sequence re-assembly and gene re-annotation[J]. Mol Plant, 10(4): 649-651.
- CHEN C, CHEN H, ZHANG Y, et al., 2020. TBtools: An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. Mol Plant, 13(8): 1194-1202.
- DELMER DP, 1999. Cellulose biosynthesis: exciting times for a difficult field of study [J]. Ann Rev Plant Biol, 50: 245–276.
- DOBLIN MS, KUREK I, JACOB-WILK D, et al., 2002. Cellulose biosynthesis in plants: from genes to rosettes [J]. Plant Cell Physiol, 43(12): 1407–1420.
- DAI YL, ZHAO QY, LIU RN, et al., 2021. Analysis of cellulose content and synthase gene expression in juice sacs secondary wall during granulation of Guanxi pomelo [J]. J Fruit Sci: 1-13. [代亚兰,赵秋月,刘若南,等, 2021. 琯 溪蜜柚成熟期间汁胞纤维素含量及其合成酶基因表达分 析 [J]. 果树学报, 38(9): 1435-1443.]
- HERNÁNDEZ-BLANCO C, FENG DX, HU J, et al., 2007. Impairment of cellulose synthases required for *Arabidopsis* secondary cell wall formation enhances disease resistance [J]. Plant Cell, 19(3): 890–903.
- HUANG D, WANG S, ZHANG B, et al., 2015. A gibberellinmediated DELLA-NAC signaling cascade regulates cellulose synthesis in rice [J]. Plant Cell, 27(6): 1681–1696.
- KUMAR S, TAMURA K, NEI M, 1994. MEGA: Molecular evolutionary genetics analysis software for microcomputers [J]. Comput Appl Biosci, 10(2): 189–191.

- KELLEY LA, MEZULIS S, YATES CM, et al., 2015. The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis [J]. Nat Protoc, 10(6): 845-858.
- LI W, WANG J, SUN Q, et al., 2017. Expression analysis of genes encoding double B-box zinc finger proteins in maize [J]. Funct Integr Genomics, 17(6): 653-666.
- LIU XQ, ZHANG H, GONG P, et al., 2018. Transcriptome analysis of secondary cell wall synthesis regulation at different developmental stages in Alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. Sci Agric Sin, 51(11): 2049–2059. [刘希强,张涵, 龚攀, 等, 2018. 紫花苜蓿不同发育时期次生壁合成 调控的转录组分析 [J]. 中国农业科学, 51 (11): 2049–2059.]
- LAN XT, HU S, FENG L, et al., 2019. Bioinformatic analysis of the cellulose synthase supergene family in *Dendrobium candidum* [J]. J Henan Agric Sci, 48(8): 49-55. [兰晓天, 胡淞, 冯磊, 等, 2019. 铁皮石斛纤维素合成酶超级 基因家族生物信息学分析 [J]. 河南农业科学, 48(8): 49-55.]
- LI Y, HE YC, LIN YH, et al., 2021. Bioinformatics analysis of cellulose synthase CesA gene from *Miscanthus lutarioriparius*[J]. Mol Plant Breed, 19(13): 4378-4385. [李遥,何彦 岑,林宇环,等, 2021. 南荻纤维素合成酶 *CesA* 基因的生物信息学分析 [J]. 分子植物育种, 19(13): 4378-4385.]
- MENG CS, WANG ZW, ZHANG JH, et al., 2012. Bioinformatic comparison of the cellulose synthase gene family of cotton and Arabidopsis thaliana [J]. Guizhou Agric Sci, 40(7): 39-41. [孟成生, 王志伟, 张俊红, 等, 2012. 棉花与拟南芥纤维素合成酶基因家族的生物信息 学比较 [J]. 贵州农业科学, 40(7): 39-41.]
- NAWAZ MA, LIN X, CHAN TF, et al., 2019. Characterization of cellulose synthase A (CESA) gene family in eudicots [J]. Biochem Genet, 57(2): 248-272.
- PEAR JR, KAWaAGOE Y, SCHRECKENGOST WE, et al., 1996. Higher plants contain homologs of the bacterial celA genes encoding the catalytic subunit of cellulose synthase [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 93(22): 12637–12642.
- PANG J, TONG ZK, HUANG HH, et al., 2015. Isolation and expression analysis of cellulose synthase genes in Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) [J]. J Zhejiang A & F Univ, 32 (1): 40-46. [庞景, 童再康, 黄华宏, 等, 2015. 杉木纤 维素合成酶基因 *CesA* 的克隆及表达分析 [J]. 浙江农林 大学学报, 32(1): 40-46.]
- RICHMOND T, 2000. Higher plant cellulose synthases [J]. Genome Biol, 1(4): 3001-3006.
- TE RGL, XU K, LIN XF, et al., 2021. Cloning of and bioinformatics analysis of cellulose synthase (*CesA*) genes from *Larix gmelinii* [J/OL]. Mol Breed: 1-18. https:// kns. cnki. net/kcms/detail/46. 1068. s. 20210330. 1606. 006. html.[特日格勒, 徐坤, 林晓飞, 白玉娥, 2021. 兴安落叶 松纤维素合酶基因的克隆及生物信息学分析 [J/OL]. 分 子植物育种:1-18. https://kns. cnki. net/kcms/detail/ 46.1068.s.20210330.1606.006.html.]
- WONG HC, FEAR AL, CALHOON RD, 1990. Genetic organization of the cellulose synthase operon in Acetobacter xylinum [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 87 (20): 8130-8134.
- WANG X, WANG H, WANG J, et al., 2011. Brassica rapa genome sequencing project consortium. The genome of the

mesopolyploid crop species *Brassica rapa* [J]. Nat Genet, 43(10): 1035–1039.

- WANG Y, TANG H, DEBARRY JD, 2012. MCScanX: A toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity [J]. Nucl Acids Res, 40(7): e49.
- WANG ZY, WANG JP, PAN YX, et al., 2015. Bioinformatic analysis of *CesA* gene family in *Arabidopsis* and rice [J]. J Henan Agric Sci, 44(6): 13-17. [王振怡, 王金朋, 潘玉 欣, 等, 2015. 拟南芥和水稻 *CesA* 基因家族的生物信息 学分析 [J]. 河南农业科学, 44(6): 13-17.]
- WANG WZ, WANG J, WANG CM, et al, 2021. Bioinformatics analysis of cellulose synthase a (*CesA*) gene family based on the transcriptome of *Dendrocalamus sinicus* [J]. Mol Breed, 19(9): 2912 2921. [王文治,王娟,王昌命,等, 2021. 基于转录组的巨龙竹 *CesA* 基因家族的生物信息学分析 [J]. 分子植物育种, 19(9): 2912-2921.]
- XU ZC, KONG YZ, 2017. Genome-wide identification, subcellular localization and gene expression analysis of the members of CESA gene family in common tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) [J]. Hereditas, 39(6): 512-524. [徐宗昌, 孔英珍, 2017. 普通烟草 CESA 基因家族成员的鉴定、亚 细胞定位及表达分析 [J]. 遗传, 39(6): 512-524.]
- XIE S, LI GQ, SONG LX, et al., 2021. Bioinformatics analysis of Apocynum venetum CesA gene family [J]. Guihaia, 41 (4): 522-534. [解盛, 李国旗, 宋立肖, 等, 2021. 罗布 麻 CesA 基因家族的生物信息学分析 [J]. 广西植物, 41(4): 522-534.]
- YAO DY, WANG JZ, 1988. Cytoderm [J]. Chin Bull Bot, (1):18-21.[姚敦义, 王静之, 1988. 细胞壁 [J]. 植物 学通报, (1):18-21.]
- ZHANG SS, SUN L, DONG XR, et al., 2016. Cellulose synthesis genes CESA6 and CSI1 are important for salt stress tolerance in Arabidopsis [J]. J Integr Plant Biol, 58(7): 623–626.
- ZHANG L, CAI X, WU J, et al., 2018. Improved *Brassica rapa* reference genome by single-molecule sequencing and chromosome conformation capture technologies [J]. Hortic Res, 5: 50–60.
- ZHANG FL, YU SC, YU YJ, et al., 2021. Research progress on Chinese cabbage genetic breeding during 'The Thirteenth Five-year Plan' in China [J]. Chin Veget, 383(1): 22-32. [张凤兰, 于拴仓, 余阳俊, 等, 2021. "十三五"我国大白菜遗传育种研究进展 [J]. 中国蔬菜, 383(1): 22-32.]
- ZHANG KQ, MA LY, DUAN J, et al., 2017. Cloning, expression and SNP analysis of the cellulose synthase gene (RpCesA2) from*Robinia pseudoacacia* L [J]. Mol Plant Breed, 15(2): 474-482. [张凯权, 马履一, 段劼, 等, 2017. 刺槐纤维素合酶基因(RpCesA2)克隆、表达及 SNP 分析 [J]. 分子植物育种, 15(2):474-482.]
- ZHU YJ, LU BS, ZHANG ST, et al., 2020. Identification of Euphoria longan (Lour.) Steud cellulose synthase gene family members and expression patterns [J]. Chin J Appl Environ Biol, 26(5): 1235-1243. [朱永静, 路保顺, 张舒 婷,等, 2020. 龙眼纤维素合成酶基因家族成员鉴定及表 达模式 [J]. 应用与环境生物学报, 26(5):1235-1243.]

(责任编辑 李 莉)

了步植物 Guihaia Dec. 2022, 42(12): 2032-2043

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202103044

王丽娟, 王毅, 陆斌, 等. 油橄榄 AP2/ERF 转录因子鉴定及水胁迫表达分析 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2032-2043. WANG LJ, WANG Y, LU B, et al. Identification and expression analysis of AP2/ERF transcription factor under water stress in *Olea europaea* [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2032-2043.



油橄榄 AP2/ERF 转录因子鉴定及水胁迫表达分析

王丽娟^{1,2},王 毅^{2*},陆 斌²,罗玛妮娅^{1,2},徐令文¹,原晓龙²,李贤忠¹

(1. 西南林业大学林学院,昆明 650224;2. 云南省林业和草原科学院,云南省森林植物培育与开发利用重点实验室, 国家林业局云南珍稀濒特森林植物保护和繁育重点实验室,昆明 650201)

摘 要:为探究油橄榄 AP2/ERF 基因家族对水胁迫的响应机制,该研究对受干旱及水淹胁迫的'佛奥'和 'TYZ-1号'2个品种的根和叶进行转录组测序,并对油橄榄中 AP2/ERF 转录因子的蛋白理化性质、基因结构 及系统进化进行分析,同时分析与水胁迫相关的 AP2/ERF 转录因子在 2 个油橄榄品种中的基因表达差异且 进行 RT-qPCR 验证。结果表明:(1)在油橄榄中鉴定得到 110个 AP2/ERF 基因家族成员,该 110个蛋白质所 含氨基酸大小为173~717 bp,均不存在信号肽,为非分泌蛋白。将油橄榄 AP2/ERF 与模式植物拟南芥 AP2/ ERF 蛋白构建进化树发现,油橄榄 AP2/ERF 蛋白分为 AP2、RAV、ERF 和 Solosist 4 大类,其中 ERF 分为 ERF 和 DREB 两个亚类,ERF 包含 ERF B1~ERF B6 6 个子亚类,DREB 包含 DREB A1~DREB A6 6 个子亚类,这与 模式植物拟南芥 AP2/ERF 的分类一致,每个亚家族同时包含了油橄榄和拟南芥 AP2/ERF 蛋白,说明拟南芥 和油橄榄的 AP2/ERF 家族在进化水平上有一定的相似性。(2)油橄榄 AP2/ERF 同一亚家族蛋白具有相同的 基因结构及保守元件,结合基因表达和进化树中已知水分调控功能的基因初步推测 OeAP2-75、OeAP2-97、 OeAP2-101、OeAP2-23、OeAP2-13 与油橄榄水分调节密切相关, OeAP2-13、OeAP2-28、OeAP2-104、OeAP2-75、 OeAP2-80、OeAP2-50 在 2 个品种中都有不同的表达量,推测可能是'佛奥'和'TYZ-1 号'抗性不同的原因。 (3)利用 RT-qPCR 技术检测油橄榄 AP2/ERF 基因在不同胁迫下的表达变化, OeAP2-101、OeAP2-28、OeAP2-42 受水胁迫诱导显著上调,这与转录组分析结果一致。该研究结果为油橄榄 AP2/ERF 家族基因的抗逆性表达 及基因功能研究奠定了基础,为油橄榄选育抗旱和耐涝砧木品种提供了方法和理论依据。 关键词:油橄榄, AP2/ERF 转录因子, 生物信息学, 基因表达谱, 水分胁迫 中图分类号: 0943.2 文献标识码:A 文章编号: 1000-3142(2022)12-2032-12

Identification and expression analysis of AP2/ERF transcription factor under water stress in *Olea europaea*

WANG Lijuan^{1,2}, WANG Yi^{2*}, LU Bin², LUO Maniya^{1, 2}, XU Lingwen¹, YUAN Xiaolong², LI Xianzhong¹

收稿日期: 2021-07-25

基金项目:国家"十三五"重点研发计划项目(2020YFD1000703);中央财政林草技术推广项目(云【2021】TG01号);云南省林业和草 原科学院创新团队基金(LKYTD-2020-001) [Supported by National Key Research and Dvelopment Program of the Thirteenth Five-Year Plan (2020YFD1000703); Forestry and Grass Technology Popularization Project Financed by the Central Government (Cloud [2021] No. TG01); Innovation Team Fund of Yunnan Academy of Forestry and Grassland Sciences (LKYTD-2020-001)]。

第一作者:王丽娟(1996-),硕士研究生,主要从事经济林栽培与利用和分子植物育种研究,(E-mail)3281739886@qq.com。

^{&#}x27;通信作者:王毅,博士,副研究员,主要从事植物学和分子生物学研究,(E-mail)22825818@qq.com。

(1. College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming, 650224, China; 2. Key Laboratory of Forest Plant Cultivation and

Utilization, Key Laboratory of Rare and Endangered Forest Plants of State Forestry Administration,

Yunnan Academy of Forestry & Grassland Science, Kunming, 650201, China)

Abstract: In order to explore the response mechanism of AP2/ERF gene family in the water stress of O. europaea, this study performed transcriptome sequencing on the roots and leaves of two cultivars 'Frantoio' and 'TYZ-1' that were under drought and flooding stresses. And based on the whole genome data, the protein physicochemical properties, gene structure and system evolution of AP2/ERF transcription factor in O. europaea were analyzed. At the same time, the difference in gene expression of AP2/ERF transcription factor related to water stress in the two O. europaea cultivars was analyzed by transcriptome sequencing data and verified by RT-qPCR. The results were as follows: (1) A total of 110 AP2/ERF gene family members were identified in O. europaea. The amino acid size of the 110 proteins was 173-717 bp. there was no signal peptide and it was a non-secreted protein. The phylogenetic tree was constructed between O. europaea AP2/ERF and model plant Arabidopsis AP2/ERF protein. It was found that O. europaea AP2/ERF protein was divided into four categories, AP2, RAV, ERF and Solosist. Among them, ERF was divided into two subtypes, ERF and DREB. ERF included six subtypes of ERF B1 to ERF B6, and DREB included six subtypes of DREB A1 to DREB A6, which was consistent with the classification of the model plant Arabidopsis AP2/ERF. Each subfamily contained AP2/ERF proteins of O. europaea and Arabidopsis at the same time, indicating that the AP2/ERF family of Arabidopsis and O. europaea were similar in evolution. (2) The analysis of gene structure and conserved elements found that the proteins of the same subfamily of O. europaea AP2/ERF had the same gene structure and conserved elements. Combining gene expression with genes with known water regulation functions in the evolutionary tree, it was preliminarily speculated that OeAP2-75, OeAP2-97, OeAP2-101, OeAP2-23 and OeAP2-13 were closely related to the water regulation of O. europaea, OeAP2-13, OeAP2-28, OeAP2-104, OeAP2-75, OeAP2-80 and OeAP2-50 had different expression levels in the two cultivars. It is speculated that this may be the reason for the different resistance of 'Frantoio' and 'TYZ-1'. (3) The RT-qPCR technique was used to detect the expression changes of O. europaea AP2/ERF gene under different stresses. The results showed that OeAP2-101, OeAP2-28 and OeAP2-42 were significantly up-regulated by water stress, which was consistent with the results of transcriptome analysis. The results of this study lay a foundation for the research on the stress resistance expression and gene function of the AP2/ERF family genes of O. europaea, and provides the method and theoretical basis for the selection of drought-resistant and flood-tolerant rootstock cultivars of O. europaea.

Key words: Olea europaea, AP2/ERF transcription factor, bioinformatics, gene expression profile, water stress

植物在自然界生长发育和进化的过程中,通 常面临着诸如干旱、水淹、极端高低温、高盐等非 生物胁迫,这对植物的生长、发育产生了负面影 响。目前,研究发现在非生物胁迫中起重要作用 的转录因子包括 AP2/ERF、WRKY、NAC、MYB、 ZFP、bHLH 等家族(Xu et al., 2011)。AP2/ERF 是植物中最大的转录因子家族之一,涉及植物的 生长发育及各个生理过程,参与植物非生物胁迫 调控机制,AP2/ERF 家族蛋白的主要特征是含有 1 个或 2 个 AP2 结合域,每个 AP2 结合域含 58~ 70 个氨基酸残基(Cao et al., 2020)。根据 AP2 家 族蛋白结构域中特征元件的种类和数量不同可将 其分为 AP2、ERF、RAV、Soloist 4 个亚家族(Wu et al., 2015),各个亚家族在植物体内有不同的功能,AP2 亚家族包含 2 个 AP2 保守结构域,主要与 植物生长发育及细胞生长分化有关(纪晴等, 2018),RAV 含有 1 个 AP2 结构域和 1 个 B3 DNA 结合域,通常在乙烯、芸苔素内酯及一些生物和非 生物胁迫中起作用(柯希望等, 2020);ERF 和 Soloist 只包含 1 个 AP2 结构域,其中 ERF 又分为 DREB 和 ERF 2 个亚类,通常与植物的生物胁迫、 干旱、高盐、低温、热胁迫、多重胁迫相关(刘志薇 等,2014; 苟艳丽等, 2020)。AP2/ERF 转录因子 在植物生长发育及非生物胁迫中起关键的调控作 用,如沙柳(Salix cheilophila) SpsDREB8 基因在干 旱胁 迫下表达下调(王雷等, 2021),拟南芥 (Arabidopsis thaliana) 中转入甘薯(Ipomoea batatas)的IbRAP2-12基因提高其植株的耐盐性和 抗旱性(Li et al., 2019),过表达OsERF71提高水 稻(Oryza sativa)的耐旱性(Ahn et al., 2017)。近 年随着植物基因组数据相继公布发现,不同植物 中AP2/ERF转录因子的数量不同,如中国樱花 (Cerasus serrulata)中鉴定出了68个AP2/ERF转 录因子家族成员(Zhu et al., 2021),鸭茅(Dactylis glomerata)和白桦(Betula platyphylla)中分别有193 个和45个AP2/ERF转录因子家族成员(Xu et al., 2020;张文慧等,2020)。然而,目前对油橄榄 (Olea europaea)基因组中的AP2/ERF转录因子的 研究未见报道。

油橄榄为木犀科(Europaea)木犀榄属(Olea) 油料作物,原产于地中海沿岸,适应夏季长、热、干 燥,冬季温和多雨的半干旱气候(Amira et al., 2020),是世界著名的亚热带果树和重要经济林木 (牛二利等,2021)。它全身是宝,橄榄叶和橄榄油 中富含多种有益活性物质,易于人体吸收(程子彰 等,2014),橄榄油在西方被誉为"液体黄金",是世 界上唯一直接采用鲜果冷榨工艺 以自然形态榨取 的木本植物油(邓从静等,2011)。随着社会经济 发展,橄榄油消费需求急剧增长,橄榄油市场长期 供不应求、价格居高不下(赵梦炯等,2021)。云南 油橄榄栽培由于引种地和原产地生态条件差异还 面临很多问题,夏季湿润多雨,冬季干旱的气候与 原产地气候正好相反,因此选育夏季耐涝、冬季抗 旱的油橄榄砧木品种是解决云南油橄榄栽培问题 的关键。本研究基于课题组前期田间试验结果 '田园1号'(TYZ-1号)在水胁迫下抗逆性强于 '佛奥',为探究2个品种抗逆性差异的原因,本文 对油橄榄 AP2/ERF 基因进行挖掘鉴定,并分析其 蛋白理化性质、系统发育及水胁迫下的基因表达 模式,以期为进一步研究油橄榄 AP2/ERF 家族基 因的抗逆性表达及功能基因的挖掘奠定基础,也 为油橄榄选育抗旱、耐涝砧木品种提供了方法和 理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料获取及转录组测序

材料为油橄榄'TYZ-1号'和'佛奥'一年生扦插苗,由云南省林业和草原科学院树木园提供

('TYZ-1号'是绿化用的油橄榄种子通过杂合培 育出的实生苗中选育的优良无性系,其耐瘠薄、抗 旱耐涝性强。'佛奥'是我国通过国家审定的油橄 榄良种,中国油橄榄适生区大都有种植,但抗逆性 不强)。试验前期选取2个品种油橄榄各30株幼 苗分干旱、水淹及对照组。2019年9月3日开始 对2个品种扦插苗进行干旱、水淹及正常培养处 理,2019年9月8日采集不同处理(干旱、水淹、对 照)下油橄榄('TYZ-1号''佛奥')扦插苗的叶片 和根各3个混合样。所采集的样品当即处理后用 液氮速冻,-80℃下保存,按照 RNA 试剂盒 (Qiagen)说明提取 RNA,以 RNA 为模板合成 cDNA 且构建文库。委托上海派森诺生物科技有 限公司利用二代测序技术 (Next-Generation Sequencing, NGS) 基于 Illumina 测序平台对样品文 库进行双末端(Paired-end,2*150 bp,PE)测序。

1.2 OeAP2/ERF 蛋白序列的获取

油橄榄的全基因组数据从 NCBI 上下载,搜索 获得油橄榄 AP2/ERF 转录因子的 cDNA 序列及蛋 白序列,利用 NCBI 进行 BLAST 同源序列比对及 蛋白结构域分析,除去无 AP2/ERF 结构域的蛋白 序列。

1.3 OeAP2/ERF 蛋白理化性质分析

利用 ExPASy ProtParam tool 在线软件分析 AP2/ERF 蛋白理化性质,通过 signalP-5.0 和 EukmPLoc 2.0 server 预测蛋白的信号肽和亚细胞定位, 利用 Prabi 在线软件(NPS@: SOPMA secondary structure prediction)预测蛋白的二级结构。

1.4 OeAP2/ERF 蛋白进化树构建及保守元件和基因结构分析

利用 MEGA X 和 Figtree 将来自油橄榄和拟南 芥 AP2/ERF 蛋白序列构建进化树及修饰,执行参 数为 None。油橄榄 AP2/ERF 家族蛋白分类参考 拟南芥 AP2/ERF 家族蛋白的分类方法,拟南芥蛋 白序列从拟南芥基因数据库下载(https://www. arabidopsis.org/download/index-auto.jsp?dir=% 2Fdownload_files% 2FProteins),利用 MEME (http:// meme.nbcr.net/meme/tools/meme)对 110 个 OeAP2/ ERF 蛋白保守结构域进行预测。具体参数设置: 基序位点分布情况,选择重复次数不限制;保守性 基序的数目限制选择 6,其他参数均采用默认值。

1.5 OeAP2/ERF 水分胁迫基因表达谱分析

通过有参转录组测序获得油橄榄 AP2/ERF

转录因子基因表达谱,利用派森诺基因云在线软件作基因表达交互热图。水分胁迫基因表达谱数据的处理及筛选采用 FPKM 对表达量进行标准化,保留所有 FPKM 值数据,对其进行排序,删除FPKM 无变化或者变化范围不超过5倍的数据,筛选出基因表达量变化最大的15个基因。

1.6 RT-qPCR 分析

为了验证转录组测序的结果及目标基因的表 达模式,设计特异引物(表1),tubulin 作为内参基 因,经RT-qPCR 检测油橄榄 OeAP2 基因在'TYZ-1 号'和'佛奥'不同处理下的表达情况。用 SYBR Green (invitrogen)检测特异引物的 PCR 产物。25 μL反应体系的可选参数如下:2× SYBR 绿色主混 合物 12.5 μL,上下游引物(10 μm/L)0.5 μL,模板 (cDNA)1 µL, ddH₂O 10.5 µL。使用 PCR 热循环 仪(ABI 7300;应用生物系统,Foster City, CA, USA)。PCR反应程序:变性程序(95℃,10 min),放大定量程序重复 45 次(95 ℃, 15 s; 57 ℃, 10 s; 72 ℃, 15 s; 单次荧光测量),熔化曲线 程序(60 ℃至95 ℃,加热速度 0.1 ℃·min⁻¹,连 续荧光测量),冷却至40℃。以tubulin 基因作为 基因正常表达的内部调控因子,通过 RT-qPCR 分 析每个样品3个独立的生物学重复和每个生物学 重复的3个技术重复。

表1 油橄榄 RT-qPCR 检测引物序列

 Table 1
 Sequence of the primers for RT-qPCR detection of Olea europaea

引物名称 Primer name	序列 5'-3' Sequence 5'-3'
OeAP2-101F	CAACAATTCCAGCTCCTCCA
OeAP2-101R	CTGCTTCTTCAGCTGTGTT
OeAP2-55F	TACAGAGGAATCCGCATGAG
OeAP2-55R	CGACAATTCATGACATACTT
OeAP2-42F	TCAAGGTGGATCTGTGAGGA
OeAP2-42R	ATCACTGCTTATATATCGCA
OeAP2-28F	TCAGATATATGCCAACCATC
OeAP2-28R	TGACCTACTTGGGCTCGTGC
OeAP2-23F	GAGGAATATGTACAGAGGCA
OeAP2-23R	AGTCGAAGGTGGCGGATTGT
tubulinF	AGATGATGATGACGAGTATG
tubulinR	GACGATGTATCCGTCTATCA

2 结果与分析

2.1 有参转录组测序数据整理

油橄榄'TYZ-1号'及'佛奥'在干旱、水淹、正 常浇水下的根与叶共12组文库经上机测序,得到 图像文件,由 Illumina 测序平台自带软件进行转 化,生成 FASTQ 的原始数据(Raw Data),对每个 样品的下机原始数据(Raw Data)分别进行统计, 包括样品名、Q30、模糊碱基所占百分比、Q20(%) 和Q30(%),统计结果见表1。测序数据结果(表 2)显示,所有样品 Reads 总数在38191054~ 46939278之间,碱基总数在5728658100 bp 以 上,Q20碱基百分比均大于96.91%,Q30碱基百分 比均在92.2%以上,模糊碱基所占比例在 0.000769%以下,后经数据过滤去除这些带接头、 低质量的 Reads。

2.2 样品基因差异表达分析

采用 DESeq 对基因表达进行差异分析,表达 差异倍数 |log 2FoldChange| > 1,显著性 P< 0.05。 不同条件下的样品进行两两比较,图1为干旱胁迫 下油橄榄2个品种基因表达差异分析结果簇状柱形 图.图2为水淹胁迫下油橄榄2个品种基因表达差 异分析结果簇状柱形图,图1中FDR与FDL之间差 异基因数量最少,差异基因总数为92个,上调差异 基因数为45个,下调差异基因数为47个;FR与OL 之间差异基因数最大,这是两个品种在正常浇水下 的根与叶之间的基因表达差异分析,差异基因总数 为2803个,上调差异基因数有1076个,下调差异 基因数有1727个。图2中OSR与OR之间差异基 因数最少为1550个,上调差异基因数有693个,下 调差异基因数有 857 个;除 FR 与 OL 外, FR 与 FL 之间差异基因数最大为2791个,上调差异基因数 为976个,下调差异基因数为1815个。可见,在干 旱和水淹胁迫下油橄榄不同品种中根与叶之间的 差异基因数量较明显。

2.3 油橄榄 AP2/ERF 转录因子家族成员鉴定及理 化性质分析

从油橄榄全基因组中搜索 AP2/ERF 基因,共 鉴定出 110 个成员,该 110 个蛋白质所含氨基酸 大小为 173~717 bp,平均氨基酸个数为 344 个。 通过 ExPASy protparam tool 分析 OeAP2/ERF 蛋白 理化性质,110 个 OeAP2/ERF 蛋白中 37 个蛋白的

rable 2 Sequencing data statistics						
样品 Sample	Reads 总数 Total number of Reads	碱基总数 Total number of bases (bp)	碱基准确率 99% 以上碱基总数 Q30 (bp)	模糊碱基百分比 N (%)	碱基准确率 99%以上的 碱基所占 百分比 Q20(%)	碱基准确率 99.9%以上的 碱基所占 百分比 Q30(%)
FDL	45 048 662	6 791 084 042	6 304 559 475	0.000 268	97.36	92.83
FDR	46 939 278	7 074 531 496	6 522 903 901	0.000 291	96.91	92.20
ODL	44 538 262	6 725 277 562	6 240 276 298	0.000 250	97.29	92.78
ODR	45 559 988	6 866 263 812	6 337 361 057	0.000 283	96.94	92.29
FSR	38 716 652	5 807 497 800	5 481 226 288	0.000 556	97.97	94.38
FSL	42 434 914	6 365 237 100	6 014 466 495	0.000 750	98.02	94.48
OSR	43 986 834	6 598 025 100	6 247 047 129	0.000 768	98.08	94.68
OSL	41 168 206	6 175 230 900	5 834 000 945	0.000 749	98.03	94.47
FR	41 814 712	6 272 206 800	5 901 059 489	0.000 758	97.83	94.08
\mathbf{FL}	42 041 262	6 306 189 300	5 982 899 942	0.000 764	98.21	94.87
OR	38 191 054	5 728 658 100	5 429 155 675	0.000 760	98.11	94.77
OL	41 495 232	6 224 284 800	5 912 636 170	0.000 769	98.24	94.99

表 2 测序数据统计 Table 2 Segmencing data statisti

F. '佛奥'; O. 'TYZ-1号'; D. 干旱; S. 水淹; R. 根; L. 叶片。

F. 'Frantoio'; O. 'TYZ-1'; D. Drought; S. Flooding; R. Root; L. Leaf.

PI大于7,平均 PI为6.63;有4个AP2/ERF转录 因子(OeAP2-97、OeAP2-6、OeAP2-28、OeAP2-109)不稳定系数小于40,为稳定蛋白,其余106个 为不稳定蛋白(不稳定系>40);110个OeAP2/ ERF蛋白的脂肪族系数均小于100;预测蛋白信号 肽发现,110个OeAP2/ERF蛋白都不存在信号肽, 为非分泌蛋白;亚细胞定位中有56个OeAP2/ERF 蛋白定位于细胞核中,28个定位于细胞质中,25 个同时定位于细胞质和细胞核中,OeAP2-85定位 于细胞质和线粒体中;预测二级结构发现,OeAP2/ ERF蛋白无规则卷曲为主要结构,α-螺旋为次要 结构。

2.4 OeAP2/ERF 蛋白进化分析与分类

利用 MEGA X 对油橄榄 110 个 AP2/ERF 转录因子蛋白及拟南芥 32 个 AP2/ERF 蛋白进行系统进化树构建及分析,结果如图 3 所示, AP2/ERF 蛋白总体分为 4 类, 其中与拟南芥 AP2 类聚在一起包含 2 个 AP2 保守结构域的成员共有 21 个, 被分为 AP2 类; 另外 2 个成员(OeAP2-28、OeAP2-87)包含 1 个 AP2 结构域和 1 个 B3 结合域, 与拟南芥 RAV 聚在一个分支上,属于 RAV 类; 拟南芥中 Solosist 类蛋白与 RAV 类聚在一起,在 RAV 类和 Solosist 类旁有一个单独的分支 OeAP2-60, 推测

其属于油橄榄中 Solosist 类成员,单独分支可能是 Solosist 与 AP2/ERF转录因子家族其他成员差距 较大;其余 86 个成员都包含 1 个 AP2 保守结构 域,同属于 ERF 类,ERF 类中又包含 ERF 和 DREB 2 个亚类,分别与拟南芥 ERF 和 DREB 聚在一起, 总共分为 12 个亚组,ERF 分为 ERF B1~ERF B6, DREB 分为 DREB A1~DREB A6,除 Solosist 外,其 余每个亚组中都同时包含 AtAP2/ERF 和 OeAP2/ ERF 蛋白,说明拟南芥和油橄榄的 AP2/ERF 家族 在进化水平上有一定相似性。

2.5 油橄榄 AP2/ERF 保守元件及基因结构分析

利用 MEME 对 OeAP2/ERF 进行保守元件分 析,得到相关性最高的 6 个保守元件如图 4 所示, 所有的 OeAP2/ERF 都包含 motif 1,说明 motif 1 是 油橄榄 AP2/ERF 的保守结构域,油橄榄 AP2/ERF 转录因子的保守元件及基因结构还与其分类相 关,在油橄榄 AP2/ERF 分类中的 AP2 类转录因子 100%包含 motif 1,96.4%包含 motif 2,89.7%包含 motif 3,55.2%包含 motif 4,37.9%包含 motif 5; RAV 类只包含 motif 1,可能是由于在进化过程中 发生了变异,导致该类转录因子与其他成员之间 没有共同的保守基序;ERF 类均包含 motif 1,motif 2 和



F. '佛奥'; O. 'TYZ-1 号'; D. 干旱; R. 根; L. 叶片。 下同。

F. 'Frantoio'; O. 'TYZ-1'; D. Drought; R. Root; L. Leaf. The same below. 1. ODL vs. FR; 2. FDL vs. ODR; 3. OL vs. FDL;
4. FDL vs. OR; 5. FDL vs. ODL; 6. FDR vs. FR; 7. OR vs. OL;
8. ODR vs. FL; 9. FDR vs. ODR; 10. OL vs. ODL; 11. FR vs. FL; 12. FDR vs. FL; 13. ODR vs. FR; 14. ODR vs. ODL;
15. FL vs. OR; 16. FL vs. OL; 17. FR vs. OR; 18. FDR vs. ODL; 19. FDL vs. OL; 20. ODR vs. OL; 21. FDL vs. FR;
22. OR vs. FDR; 23. ODL vs. OR; 24. ODL vs. FL; 25. FDR vs. OL; 26. FDL vs. FL; 27. ODR vs. OR; 28. OR vs. ODR;
29. FR vs. OL; 30. FDR vs. OR; 31. ODL vs. OL; 32. FDR vs. FDL.

图 1 干旱胁迫下基因表达差异分析结果统计图 Fig. 1 Statistical diagram of under gene expression difference analysis results

motif 6,每一亚类中的保守基序位置大致相同,基因结构也一致,说明油橄榄 OeAP2/ERF 在进化过程中的高度保守性。

2.6 油橄榄 AP2/ERF 水分胁迫基因表达谱分析

通过基因表达谱作出水胁迫基因表达交互热 图(图5),油橄榄 AP2/ERF 家族成员中共检测到 100 个基因表达,未检测到 OeAP2-29、OeAP2-30、 OeAP2-40、OeAP2-56、OeAP2-59、OeAP2-72、OeAP2-81、OeAP2-87、OeAP2-88、OeAP2-105 基因的表达, 推测这 10 个基因未参与水胁迫响应。干旱胁迫 下,与正常浇水相比,'佛奥'叶片中 40%基因表达 上调,27%的基因无表达,33%的基因表达下调,根 部 33%基因表达上调,9%基因表达量无变化,58% 基因表达下调;而'TYZ-1号'与正常浇水相比,叶 片中有 32%基因表达上调,39%基因表达量无变 化,29%基因表达上调,根部中 36%基因表达上 调,15%基因表达量无差异,49%基因表达下调;在 水淹胁迫下,'佛奥'根部基因表达量与正常浇水 相比,42%基因表达上调,9%基因表达量无变化, 49%基因表达下调,叶片中 30%的基因表达上调, 40%的基因表达量不变,30%的基因表达下调; 'TYZ-1号'在水淹胁迫下与正常浇水相比.55% 的基因在根部中表达上调,11%的基因在根部表 达无变化,44%的基因在根部中表达下调,叶片中 29%的基因表达上调,39%的基因表达无变化, 32%的基因表达下调。未受胁迫时,'TYZ-1号' 基因本底表达普遍高于'佛奥'(绿色块多于'佛 奥'),胁迫后'TYZ-1号'基因表达量变化不显著, 色块普遍较浅,而'佛奥'胁迫后深色块多于'TYZ-1号',表明'佛奥'基因上调或下调表达量变化较 显著。根据基因表达谱,我们从中筛选出15个在 干旱胁迫下表达量变化较大的干旱胁迫相关基因 (*OeAP2-13* , *OeAP2-33* , *OeAP2-28* , *OeAP2-104* , 0eAP2-82, 0eAP2-86, 0eAP2-42, 0eAP2-23, 0eAP2-75, OeAP2-10, OeAP2-80, OeAP2-101, OeAP2-79, OeAP2-50、OeAP2-97) 与 15 个水淹胁迫下表达量 变化较大的基因(OeAP2-23、OeAP2-13、OeAP2-101, OeAP2-75, OeAP2-80, OeAP2-12, OeAP2-28, *OeAP2-17*, *OeAP2-50*, *OeAP2-55*, *OeAP2-104*, OeAP2-14、OeAP2-97、OeAP2-2、OeAP2-91),发现有 9个相同的基因(OeAP2-13、OeAP2-28、OeAP2-104, OeAP2-23, OeAP2-75, OeAP2-80, OeAP2-101, OeAP2-50、OeAP2-97)共同调控干旱与水淹胁迫, 这9个基因可能与水分胁迫调控相关。

2.7 油橄榄 AP2/ERF 基因 RT-qPCR 分析

经特异引物 tubulinF 和 tubulinR 检测反转录 得到油橄榄 cDNA,采用 RT-qPCR 分析油橄榄 AP2/ERF 基因在 FDL、FDR、ODL、ODR、FSR、FSL、 OSR、OSL、FL、FR、OL、OR 中的具体表达情况,结 果(图 6)显示, OeAP2/ERF 基因在 FDL、FDR、 ODL、ODR、FSR、FSL、OSR、OSL、FL、FR、OL、OR 中 表达量差异显著,与正常浇水处理相比, OeAP2-28 在 ODR 中表达量差异显著, OeAP2-101、OeAP2-42 在 FDL 中表 达量差异显著, OeAP2-101、OeAP2-55、OeAP2-42、 OeAP2-28 在 FSR 中均呈高水平表达。

3 讨论

用已知功能蛋白作用机制预测未知功能蛋白 作用机制是研究物种未知功能蛋白作用机制的一 种方法。本研究将油橄榄 AP2/ERF 在水胁迫下



S. 水淹。

S. Flooding. 1. OSR vs. OSL; 2. FSR vs. OSL; 3. FSL vs. OSL; 4. FSL vs. OSR; 5. FSL vs. FR; 6. FSR vs. OSR; 7. OR vs. OL; 8. OSL vs. OR; 9. FSL vs. OL; 10. FSR vs. OR; 11. FR vs. FL; 12. OSL vs. OL; 13. FSR vs. FSL; 14. OSR vs. FL; 15. FR vs. OL; 16. FSR vs. FL; 17. FSR vs. OL; 18. OSR vs. OL; 19. FSR vs. FR; 20. FL vs. OR; 21. FSL vs. FL; 22. FSL vs. OR; 23. OSR vs. FR; 24. OSL vs. FL; 25. OSR vs. OR; 26. FL vs. OL; 27. FR vs. OR; 28. OSL vs. FR.

图 2 水淹胁迫下基因表达差异分析结果统计图 Fig. 2 Statistical diagram of gene expression difference analysis results under flooding stress



图 3 油橄榄与拟南芥 AP2/ERF 家族系统进化树 Fig. 3 Phylogenetic tree of the AP2/ERF family of *Olea europaea* and *Arabidopsis*

具有表达量的 ERF 亚类蛋白与番茄(Solanum lycopersicum) SIERF5(Pan et al., 2012),转基因大

豆(Glycine max) GmDREB2A,水稻 OsAP37、HRE1、 HRE2、JERF1 和 OsERF109 (Oh et al., 2009; Francesco et al., 2010; Zhang et al., 2010; Yu et al., 2017), 拟南芥 DREB2A(Yoh et al., 2006), 沙 柳 SpsDREB8(王雷等,2021)等此类水分调节功能 基因共同构建蛋白系统进化树(图7),发现水胁 迫基因表达谱中基因表达量变化较大的5个基因 (*OeAP2-75*, *OeAP2-97*, *OeAP2-101*, *OeAP2-23*, OeAP2-13)聚在同一分支上,且该分支中包含3个 已知具有水分调节功能的基因(HRE1, JERF1, HRE2), 由此可推测 OeAP2-75、OeAP2-97、OeAP2-101、OeAP2-23、OeAP2-13 与 HRE1, JERF1, HRE2 具有相似调节功能,可能与油橄榄水分调节密切 相关。通过 RT-qPCR 检测,结果表明 OeAP2-101 基因在 FSR 及 OSR 中表达量差异显著, OeAP2-23 在 OSR 中表达量差异显著, OeAP2-42 在 FDL 中表 达量差异显著,水胁迫下 OeAP2-28 在 2 个品种的 叶片和根部表达量均有显著性差异, OeAP2-101、 OeAP2-55、OeAP2-42、OeAP2-28 在 FSR 中均呈高 水平表达,这进一步说明 OeAP2/ERF 参与油橄榄 水胁迫响应。



A. 保守元件; B. 基因结构。

 $\mathbf{A}.$ Conserved element; $\mathbf{B}.$ Gene structure.



本研究中基因表达谱分析发现,9个共同参与 干旱与水淹调节的基因(OeAP2-13、OeAP2-28、 OeAP2-104、 OeAP2-23、 OeAP2-75、 OeAP2-80、 OeAP2-101、OeAP2-50、OeAP2-97),这9个基因在 油橄榄水胁迫(干旱、水淹)下根与叶的表达量与 非胁迫下根与叶的表达量有较大的差异。与非胁 迫条件下的基因表达量相比,水淹胁迫下 OeAP2-13 在'佛奥'中表达下调,在'TYZ-1号'中表达上 调;水胁迫下的 OeAP2-28 在'佛奥'和'TYZ-1号' 的根与叶中均表达上调;OeAP2-75 在干旱胁迫下 2 个品种的不同组织中均下调表达;OeAP2-101 在 干旱胁迫下'TYZ-1号'中明显下调表达,在水淹



D. 干旱; N. 正常浇水; S. 水淹。

D. Drought; N. Normal watering; S. Flooding.

图 5 油橄榄 AP2/ERF 水分胁迫基因表达交互热图 Fig. 5 Interactive heat map of Olea europaea AP2/ERF gene expression under water stress

胁迫下'佛奥'根部明显上调表达; OeAP2-104 在 干旱胁迫下 2 个品种不同组织中均上调; OeAP2-23, OeAP2-80, OeAP2-50, OeAP2-97 在水胁迫(干 旱、水淹)下不同组织中表达量都有显著差异, 这

些基因在不同组织中表达量的不同可能就是'佛 奥'和'TYZ-1号'抗逆性差异的原因。转录组数 据中 NR 基因功能注释表明这 9 个基因均为乙烯 响应因子,通过调控乙烯合成关键基因的表达,从 而调节乙烯的生物合成和信号传导。OeAP2-13, OeAP2-75, OeAP2-23, OeAP2-101, OeAP2-97 在油橄 榄 AP2/ERF 蛋白系统进化树中属于 ERF B2 亚族 成员, Maren 和 Sergi(2015)研究报道乙烯响应因 子是激素和胁迫信号的一个重要调节中心, ERF B2 亚族成员在低氧和淹水反应中发挥重要作用 (Bui et al., 2015), Xu 等(2006)研究发现 Sub1A-1 (ERF 亚族 B2 亚组成员之一) 超表达的同时促进 乙醇脱氢酶基因上调表达,抑制 Sub1C(水淹不耐 受基因)的转录水平,表明 Sub1A-1 在淹水胁迫应 答调控中起关键作用(Xu et al., 2006)。OeAP2-13 在油橄榄中的表达模式与 Sub1A-1 相似, 在耐 涝品种'TYZ-1号'中表达上调,不耐涝品种'佛 奥'中表达下调,推测 OeAP2-13 在'TYZ-1号'中 也通过促进乙醇脱氢酶基因上调表达,从而增强 'TYZ-1 号'耐涝性。洪林等(2020)研究发现 RAVs 和 AP2s 调控植物的非生物胁迫响应, 拟南 芥 RAV1, RAV1L 和 RAV2 在干旱胁迫下表达水平 下降(Fu et al., 2014), Saito(2004)发现过表达 RAV1 抑制 ABA 降解基因(CYP707A1 和 CYP707A2)的活性,从而实现不依赖 ABA 的途径 调控植物的非生物胁迫响应,本研究中 OeAP2-28, OeAP2-104、OeAP2-80在 OeAP2/ERF 蛋白系统进 化树中属于 RAV,为 AP2 亚族成员,在干旱胁迫下 同样表达下调,推测其通过促进或抑制干旱胁迫 相关酶的表达从而调控油橄榄干旱调控。

AP2/ERF转录因子在植物胁迫中调控机制较 复杂,其启动子包含ABRE(ABA反应元件结合蛋 白)、DREB(干旱应答元件结合蛋白)、乙烯等顺式 作用元件(Zhao et al., 2018;韩妙华等,2020), Sanjana等(2016)研究显示在植物胁迫中,DREBs 和ABREs等与胁迫相关的顺式作用元件可以和 NAC转录因子结合从而应对植物胁迫,Cao等 (2020)研究发现DREB结合WRKY转录因子共 同调节小沙冬青(Ammopiptanthus nanus)低温和干 旱胁迫,这一研究表明DREB、ABRE作为顺式作 用元件,可同时调节AP2/ERF、NAC和WRKY转 录因子从而应对植物非生物胁迫(Takasaki et al., 2010; 巩檑等,2013)。AP2/ERF、WRKY、NAC转



不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著;相同小写字母表示在 0.05 水平上差异不显著。 Different lowercase letters mean significant differences at the 0.05 level; Same lowercase letters mean no significant differences at the 0.05 level.





图 7 水分胁迫中具有表达量的 OeAP2/ERF 蛋白与 其他植物 AP2/ERF 水分调控因子进化关系 Fig. 7 Evolutionary relationship between OeAP2 /ERF proteins expressed in water stress and AP2/ERF water regulatory factors in other plants

录因子在植物水分调控中扮演十分重要的角色, 过表达 TaWRKY10、VaWRKY14 提高拟南芥及转基

因烟草耐旱性(Wang et al., 2017; Zhang et al., 2018): GmDREB2A 参与大豆水分亏缺调节 (Marinho et al., 2019), OsAP37, JERF1, OsERF109 的过表达提高水稻抗旱性(Oh et al., 2009; Zhang et al., 2010; Yu et al., 2017); ANAC019, ANAC055 和ANAC072 能使转基因植株抗旱性增强(Tran et al., 2004), 过表达 SNAC1 增强转基因棉花 (Gossypium hirsutum)的耐旱性(Liu et al., 2014); 这充分说明了 AP2/ERF、WRKY、NAC 转录因子与 植物的水胁迫相关,并且在水胁迫中发挥重要作 用.由此可推测植物体内 WRKY、NAC 转录因子通 过与 AP2/ERF 中水相关顺式作用元件结合从而 共同调节水胁迫。课题组前期研究发现, WRKY 和 NAC 转录因子参与油橄榄水胁迫调控,可能与 内源激素 ABA 表达水平相关, 推测在油橄榄水胁 迫响应机制中, DREBs、ABREs 作为顺式作用元 件,同时调节 AP2/ERF、WRKY 和 NAC 转录因子 从而共同调控油橄榄水胁迫。

本研究发现,油橄榄 AP2/ERF 基因家族包含 110 个成员,分类与模式植物拟南芥一致,其在进 化水平上有一定的相似性。AP2/ERF 家族中转录 因子的数量不仅与物种的基因组有关,而且与植 物长期进化过程中外界环境的影响有关,与枣 (*Ziziphus jujuba*)基因家族中 145个(李继东等, 2020),银杏(*Ginkgo biloba*)中 61个(袁红慧等, 2022),杨柳(*Salix arbutifolia*)中 173个(Rao et al., 2015)AP2/ERF家族成员相比,油橄榄中 AP2/ERF转录因子的数量属于中等类型,由此推 测油橄榄在自然进化过程中,AP2/ERF 基因家族 受到一定的外部环境压力。

目前,对油橄榄水胁迫响应机制及胁迫相关 基因的综合研究还较少,我们对'TYZ-1号'和'佛 奥'2个品种的油橄榄进行了转录组测序,后续将 结合全基因组重测序以揭示油橄榄水胁迫关键基 因及潜在遗传和相关突变,为油橄榄分子辅助育 种提供理论依据。

参考文献:

- AHN H, JUNG I, SHIN SJ, et al., 2017. Transcriptional network analysis reveals drought resistance mechanisms of AP2/ERF transgenic rice [J]. Front Plant Sci, 8: 1–18.
- AMIRA Z, SAHAR N, AMIRA Z, et al., 2020. Phytochemical profile, cytotoxic, antioxidant, and allelopathic potentials of aqueous leaf extracts of *Olea europaea* [J]. Food Sci Nutr, 8(9): 1–9.
- BUI LT, GIUNTOLI B, KOSMACZ M, et al., 2015. Constitutively expressed ERF-VII transcription factors redundantly activate the core anaerobic response in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Sci, 236: 37-43.
- CAO S, WANG Y, LI X., et al., 2020. Characterization of the AP2/ERF transcription factor family and expression profiling of DREB subfamily under cold and osmotic stresses in *Ammopiptanthus nanus* [J]. Plants, 9(4): 1–20.
- CHENG ZZ, HE JS, ZHAN MM, et al., 2014. Synthesis of olive oil during olive development and ripening [J]. Sci Silv Sin, 50(5): 123-131. [程子彰, 贺靖舒, 占明明, 等, 2014. 油橄榄果生长与成熟过程中油脂的合成 [J]. 林业 科学, 50(5): 123-131.]
- DENG CJ, YU XF, CHEN J, et al., 2011. Processing technology and quality evaluation of olive oil [J]. Chin for Prod Ins, 38(1): 62-63. [邓丛静, 于小飞, 陈军, 等, 2011. 橄榄油的加工工艺及品质评价 [J]. 林产工业, 38(1): 62-63.]
- FRANCESCO L, JOOST T, VAN D, et al., 2010. *HRE1* and *HRE2*, two hypoxia-inducible ethylene response factors, affect anaerobic responses in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant J, 62(2): 302-315.
- FU MJ, KANG HK, SON SH, et al., 2014. A subset of *Arabidopsis* RAV transcription factors modulates drought and salt stress responses independent of ABA [J]. Plant Cell Physiol, 55: 1892–1904.
- GOU YL, ZHANG L, GUO H, et al., 2020. Research progress on the AP2/ERF transcription factor in plants [J]. Pratac Sci, 37(6): 1150-1159. [苟艳丽,张乐,郭欢,等,

2020. 植物 AP2/ERF 类转录因子研究进展 [J]. 草业科学, 37(6): 1150-1159.]

- GONG L, SHI L, SONG YX, et al., 2013. Research progress on drought stress responsive transcription factors in crops [J]. Chin Agric Sci Bull, 29(30): 10-17. [巩檑, 石磊, 宋玉霞, 等, 2013. 农作物旱胁迫响应相关转录因子的研 究进展 [J]. 中国农学通报, 29(30): 10-17.]
- HAN MH, TENG RM, LI H, et al., 2020. Cloning of *CsDREB*-A2 transcription factor gene and it's response to abiotic stress in *Camellia sinensis* [J]. Acta Agric Nucl Sin, 34(12): 2647-2657. [韩妙华, 滕瑞敏, 李辉, 等, 2020.茶树 CsDREB-A2 转录因子基因的克隆与非生物胁迫响应分 析 [J]. 核农学报, 34(12): 2647-2657.]
- HONG L, YANG L, YANG HJ, et al., 2020. Research advances in AP2/ERF transcription factors in regulating plant responses to abiotic stress [J]. Chin Bull Bot, 55(4): 481-496. [洪林,杨蕾,杨海健,等, 2020. AP2/ERF 转 录因子调控植物非生物胁迫响应研究进展 [J]. 植物学 报, 55(4): 481-496.]
- JI Q, ZHOU F, ZHOU J, et al., 2018. Whole genome identification and bioinformatics analysis of AP2/EREBP transcription factors of *Ziziphus jujube* [J]. Genom Appl Biol, (7): 2983-2997. [纪晴,周凡,周军,等, 2018. 枣 AP2/EREBP 转录因子的全基因组鉴定及生物信息学分析 [J]. 基因组学与应用生物学, (7): 2983-2997.]
- KE XW., ZHANG JP, LIU GH, et al., 2020. Identification of Adzuki bean AP2 / ERF gene family and expression analysis in response to rust infection [J]. Acta Phytopathol Sin, 50 (4): 16-34. [柯希望, 张金鹏, 刘国辉, 等, 2020. 小豆 AP2/ERF 基因家族鉴定及其应答锈菌侵染的表达分析 [J]. 植物病理学报, 50(4): 16-34.]
- LI JD, NI J, YE X, et al., 2020. Genomic identification of jujube AP2/ERF transcription factors and their expression pattern during Jujube witches' broom pathogenesis process [J]. Acta Hortic Sin, 47(8): 1463–1474. [李继东, 倪静, 叶霞, 等, 2020. 枣 AP2/ERF 转录因子鉴定及其响应枣 疯病 植 原 体 表 达 分 析 [J]. 园 艺 学 报, 47(8): 1463–1474.]
- LI Y, ZHANG H, ZHANG Q, LIU QC, et al., 2019. An AP2/ ERF gene, *IbRAP2-12*, from sweetpotato is involved in salt and drought tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. Plant Sci, 281: 19–30.
- LIU GZ, LI XL, JIN SX, et al., 2014. Overexpression of rice NAC gene *SNAC1* improves drought and salt tolerance by enhancing root development and reducing transpiration rate in transgenic cotton[J]. PLoS ONE, 9(1): e86895.
- LIU ZW, XIONG YY, LI T, et al., 2014. Isolation and expression profiles analysis of two ERF subfamily transcription factor genes under temperature stresses in *Camellia sinensis* [J]. Acta Phytophysiol Sin, 50 (12): 1821-1832. [刘志薇, 熊洋洋, 李彤, 等, 2014. 茶树中两 个 ERF 类转录因子的分离及不同茶树中温度胁迫的响 应分析 [J]. 植物生理学报, 50(12): 1821-1832.]
- MAREN M, SERGI MB, 2015. Ethylene response factors: A key regulatory hub in hormone and stress signaling [J]. Plant Physiol, 169: 32-41.
- MARINHO JP, COUTINHO ID, LAMEIRO RF, et al., 2019. Metabolic alterations in conventional and genetically

modified soybean plants with *GmDREB2A*; 2 FL and *GmDREB2A*; 2 CA transcription factors during water deficit [J]. Plant Physiol Biochem, 140: 122–135.

- NIU EL, FU YL, LIU LE, et al., 2021. Screening of outstanding Olea europaea varieties and compatable pollinizers for southern China [J]. Acta Agric Nucl Sin, 35 (4): 960-968. [牛二利, 傅玉楼, 刘丽娥, 等, 2021. 南 方油橄榄适宜良种及其授粉品种筛选 [J]. 核农学报, 35(4): 960-968.]
- OH SJ, KIM YS, KWON CW, PARK HK, et al., 2009. Overexpression of the transcription factor AP37 in Rice improves grain yield under drought conditions [J]. Plant Physiol, 150(3): 1368-1379.
- PAN Y, SEYMOUR GB, LU CG, et al., 2012. An ethylene response factor (ERF5) promoting adaptation to drought and salt tolerance in tomato [J]. Plant Cell Rep, 31 (2): 349–360.
- RAO GD, SUI JK, ZENG YF, et al., 2015. Genome-wide analysis of the AP2/ERF gene family in *Salix* arbutifolia [J]. FEBS Open Bio, 5(1): 132–137.
- SANJANA N, HIMANSHU T, GANAPATHI TR, 2016. Expression analysis of *MusaNAC68* transcription factor and its functional analysis by overexpression in transgenic *banana* plants [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 125(1): 59-70.
- SAITO S. 2004. Arabidopsis CYP707As encode (+) abscisic acid 8'-hydroxylase, a key enzyme in the oxidative catabolism of abscisic acid [J]. Plant Physiology, 134(4): 1439–1449.
- TAKASAKI H, MARUYMA K, KIDOKORO S, et al., 2010. The abiotic stress-responsive NAC-type transcription factorOsNAC5 regulates stress-inducible genes and stress tolerance in rice [J]. Mol genet genomics, 284 (3): 173–183.
- TRAN LP, NAKASHIMA K, SAKUMA Y, et al., 2004. Isolation and functional analysis of *Arabidopsis* stressinducible NAC transcription factors that bind to a droughtresponsive cis-element in the early responsive to dehydration stress 1 promoter [J]. Plant Cell, 16(9): 2481–2498.
- WANG C, DENG PY, CHEN LL, et al., 2017. A wheat WRKY transcription factor *TaWRKY*10 confers tolerance to multiple abiotic stresses in transgenic tobacco [J]. PLoS ONE, 8(6): e65120-1-13.
- WANG L, ZHANG X, LI AY, et al., 2021. Cloning and expression analysis of *SpsDREB8* gene in *Salix psammophila* [J]. Mol Plant Breed.:1-11 [2021-02-28].http://kns. cnki. net/kcms/detail/46. 1068. S. 20210107. 1656. 014. html. [王雷,张鑫,李安玉,等,沙柳 SpsDREB8 基因的 克隆与表达分析 [J]. 分子植物育种: 1-11 [2021-02-28]. http://kns. cnki. net/kcms/detail/46. 1068. S. 20210107.1656.014.html.]
- WU ZJ, LI XH, LI ZW, et al., 2015. Transcriptome-based discovery of AP2/ERF transcription factors related to temperature stress in tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. Funct Integr Genom, 15(6): 741–752.
- XU KN, XU X, FUKAO T, et al., 2006. Sub1A is an ethyleneresponse-factorlike gene that confers submergence tolerance to rice [J]. Nature, 442(7103): 705-708.

- XU L, FENG GY, YANG ZF, et al., 2020. Genome-wide AP2/ERF gene family analysis reveals the classification, structure, expression profiles and potential function in orchardgrass (*Dactylis glomerata*) [J]. Mol Biol Rep, 47 (prepublish): 5225-5241.
- XU ZS, CHEN M, LI LC, et al., 2011. Functions and application of the AP2/ERF transcription factor family in crop improvement [J]. J Integr Plant Biol, 53 (7): 570-585.
- YOH S, KYONOSHIN M, YURIKO O, et al., 2006. Functional analysis of an Arabidopsis transcription factor, DREB2A, involved in drought-responsive gene expression [J]. Plant Cell, 18(5): 1292-1309.
- YUAN HH, LI LL, CHENG H, et al, 2022. Identification of AP2/ERF transcription factors in *Ginkgo biloba* and the expression analysis of ERF gene family under adversity stresses [J]. Mol Plant Breed, 20(1): 113-123. [袁红慧, 李琳玲, 程华, 等, 2022. 银杏 AP2/ERF 转录因子鉴定 及其 ERF 家族在逆境胁迫下的表达分析 [J]. 分子植物 育种, 20(1): 113-123.]
- YU YW, YANG DX, ZHOU SR, et al., 2017. The ethylene response factor *OsERF*109 negatively affects ethylene biosynthesis and drought tolerance in rice [J]. Protoplasma, 254(1): 401-408.
- ZHANG LL, CHENG J, SUN XM, et al., 2018. Overexpression of VaWRKY14 increases drought tolerance in Arabidopsis by modulating the expression of stress-related genes [J]. Plant Cell Rep, 37(8): 1159–1172.
- ZHANG WH, 2016. Regulation mechanism of *BpERF*11 gene from *Betula platyphylla* response to severe salt and drought stress [D]. Harbin: Northeast Forestry University. [张文 慧, 2016. 白桦 *BPERF*11 基因响应高盐干旱胁迫的调控 机理研究 [D]. 哈尔滨:东北林业大学.]
- ZHANG WH, HUANG Y, HE DM, et al., 2020. Bioinformatic analysis on AP2 / ERF genes from *Betula platyphylla* [J]. J West China For Sci, 49(6): 112-117. [张文慧, 黄勇, 贺 登美, 等, 2020. 白桦 AP2/ERF 家族基因的生物信息学 分析 [J]. 西部林业科学, 49(6): 112-117.]
- ZHANG ZJ, LI F, LI DJ, et al., 2010. Expression of ethylene response factor *JERF*1 in rice improves tolerance to drought [J]. Planta, 232(3): 765-774.
- ZHAO H, ZHAO X, LI M, et al., 2018. Ectopic expression of limonium bicolor (Bag.) kuntze DREB (*LbDREB*) results in enhanced salt stress tolerance of transgenic *Populus* ussuriensis Kom [J]. Plant Cell Tiss Organ Cult, 132(1): 123-136.
- ZHAO MJ, WU WJ, JIANG CY, et al., 2021. Olive germplasm resources development in Turkey: status and enlightenment [J]. World For Res Sci, 34(1): 102-106. [赵梦炯, 吴文 俊, 姜成英, 等, 2021. 土耳其油橄榄种质资源发展现状 与启示 [J]. 世界林业研究, 34(1): 102-106.]
- ZHU YY, LIU XL, GAO YD, et al., 2021. Transcriptomebased identification of AP2/ERF family genes and their cold-regulated expression during the dormancy phase transition of Chinese cherry flower buds [J]. Sci Hortic, 275: 1-12.

(责任编辑 李 莉)

广步植物 Guihaia Dec. 2022, 42(12): 2044-2055

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202103048

姚新转,张宝会,陈湖芳,等.茶树 TIFY 基因家族鉴定及非生物胁迫下表达分析 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2044-2055.

YAO XZ, ZHANG BH, CHEN HF, et al. Genome identification of *Camellia sinensis TIFY* gene family and its expression analysis of abiotic stress [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2044–2055.

茶树 TIFY 基因家族鉴定及非生物胁迫下表达分析

姚新转1,张宝会2,陈湖芳2,吕立堂1,2*

 (1.贵州大学茶学院,贵阳 550025;2.贵州大学生命科学学院/农业生物工程研究院/ 山地植物资源保护与种质创新省部共建教育部重点实验室,贵阳 550025)

摘 要:*TIFY* 基因家族在茶树激素信号转导及其逆境胁迫具有十分重要的作用。该文利用生物信息学方法 对茶树基因组中的*TIFY* 家族进行了鉴定,分析其理化性质、系统进化、基因结构、染色体定位、启动子区顺式 作用元件、组织表达模式,并通过 RT-qPCR 对部分 *TIFY* 家族成员进行了非生物胁迫。结果表明:(1)茶树 *TIFY* 基因家族成员 19 个(*CsTIFY*1~*CsTIFY*19),分属于 4 个蛋白亚家族 TIFY、JAZ、ZML 和 PPD,且不均匀地 分布在 8 条染色体上,按照进化关系及结构特点可分为 7 组,每组内具有相似的基因结构与保守基序组成。 (2)*CsTIFYs* 基因的启动子区具有多种包含激素和非生物胁迫响应的顺式作用元件,通过实时荧光定量(RTqPCR)分析其家族成员对在茉莉酸甲酯、盐(20%氯化钠)、冷(4℃)以及干旱(20% PEG-6000)处理下反应强 烈,部分基因在根与顶芽中有较高的表达量。由此推测,*TIFY* 基因家族可能在茶树激素信号调控、胁迫响应、 生长和发育等多方面发挥功能作用。

关键词:茶树, TIFY 基因家族,成员鉴定,功能分析,基因表达 中图分类号: Q943 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)12-2044-12

Genome identification of *Camellia sinensis TIFY* gene family and its expression analysis of abiotic stress

YAO Xinzhuan¹, ZHANG Baohui², CHEN Hufang², LÜ Litang^{1,2*}

 (1. College of Tea Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. College of Life Sciences/Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Regions (Ministry of Education), Institute of Agro-Bioengineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: *TIFY* gene family plays a very important role in *Camellia sinensis* hormone signal transduction and its adversity stress. Bioinformatics methods were employed to identify the *TIFY* family members in the *C. sinensis* genome in this



收稿日期: 2021-08-10

基金项目:贵州省优秀青年科技人才培养项目 [黔科合平台人才 [2019]5651];贵州大学实验室开放项目(SYSKF2021-005) [Supported by Guizhou Province Outstanding Young Scientific and Technological Talent Training Project [Qianke Heping Platform Talents [2019]5651]; Guizhou University Laboratory Open Project(SYSKF2021-005)]。

第一作者:姚新转(1989-),硕士,实验师,主要从事植物分子生物学研究,(E-mail)xzyao@gzu.edu.cn。

^{*}通信作者:吕立堂,博士,教授,主要从事茶树资源综合利用研究,(E-mail)ltlv@gzu.edu.cn。

study, and the physical and chemical properties, system evolution, gene structure, chromosomal location, the *cis*-acting elements of promoter region and tissue expression pattern were also analyzed, and the results of RT-qPCR experiments verified the hormone response and stress response characteristics of some members of the *TIFY* family. The results were as follows: (1) There were 19 *TIFY* gene family members (*CSTIFY1-CSTIFY19*) in *C. sinensis*, which belonged to four protein subfamilies of TIFY, JAZ, ZML and PPD, and distributed unevenly on eight chromosomes. According to evolutionary relationship and structural characteristics, *TIFY* genes could be divided into seven groups, and members of each group had similar gene structure and conserved motif. (2) The promoter region of the *CsTIFYs* gene contained a varieties of *cis*-acting elements in response to abiotic stress and hormones, the RT-qPCR experiments proved that its family members were highly responsive to methyl jasmonate, salt (20% NaCl), cold (4 °C) and drought (20% polyethylene glycol 6000) treatments, and some genes were highly expressed during the development of roots and apical buds. Based on the above results, it is speculated that the *TIFY* gene family may play roles in *C. sinensis* hormone signal regulation, stress defense response and growth and development.

Key words: Camellia sinensis, TIFY gene family, members identification, functional analysis, gene expression

TIFY 家族是一类包含 TIFY 结构域的植物特 有转录因子(张沪等,2020),在应激反应中起重要 作用(胡利宗等,2020; He et al., 2020),根据保守 结构域的不同, TIFY 基因家族分为 TIFY、JAZ、 ZML 和 PPD 共 4 个亚蛋白家族(Vanholme et al., 2007; Bai et al., 2011)。TIFY 亚家族仅含有 TIFY 结构域(Staswick, 2008),其他3类亚家族还包含 其他结构域,如:ZM 亚蛋白家族,包括 ZIM(在花 序中表达的锌指 Meristem)和 ZML 蛋白,也都包含 C2C2-GATA 锌指 DNA 结合域和 CCT 域 (CONSTANS.类似 CO 的 TOC1): JAZ 亚蛋白家族 包含一个保守序列,它们的 C 端附近大约有 27 个 氨基酸,称为作为 Jas 基序,其顺序与 N 端相似 CCT 域的一部分(Kang et al., 2011)并带有特征基 序 SLX2 FX2 KRX2 RX5 PY(Hakata et al., 2012); PPD 亚蛋白家族具有独特的 N 末端 PPD 结构域 (Kang et al., 2011)

TIFY家族成员与植物的正常生长以及胁迫响应起着重要作用(赵晓晓等,2020)。在拟南芥(Arabidopsis thaliana)中发现,AtTIFY1(ZIM)在促进叶柄和下胚轴伸长中起重要作用(罗冬兰等,2017),而AtTIFY4a(PPD1)和AtTIFY4b(PPD2)参与了叶片生长(Alexandra et al.,2018)。拟南芥TOC1和CO蛋白属于ZML类群,主要参与光周期信号转导或者介导蛋白相互作用(Bai et al.,2011)。其他植物如柑橘(Citrus reticulata)低温胁迫(张沪等,2020)、水稻(Oryza sativa)盐胁迫(Ye et al.,2009)和小麦(Triticum aestivum)干旱胁迫(Ebel et al.,2018)等TIFY基因已有详细研究,表

明 TIFY 基因都积极参与植物的生长发育以及非 生物胁迫。

茶树(Camellia sinensis)是很重要的经济作物。 对我国的农业和国民经济发展具有重要作用(芦 梅,2016)。近年来,茶树栽培面积的扩大,如贵州 省茶树种植面积达 50 万 hm²,由于生物和非生物 胁迫引起的茶树灾害十分严重,如:茶芽萌发慢、 长势劣、营养积累困难、病虫害多等问题,导致茶 叶减产和茶叶品质下降(Cheruiyot et al., 2009; Liu et al., 2016)。目前,在茶树中有关 TIFY 家族 相关报道极少,而茶树基因组测序数据的发布有 利于从全基因组水平对茶树 TIFY 家族成员进行 鉴定与分析(Wei et al., 2018; Wang et al., 2020)。本研究利用茶树基因组数据,鉴定了2个 TIFY、7个 ZML、2个 PPD 和 8个 JAZ 基因,明确在 茶树中的结构特点与进化特征,通过实时荧光定 量(RT-qPCR)分析其在茉莉酸甲酯、干旱、冷和盐 处理下的表达模式,以期探究该基因家族成员在 茶树中的作用机制,为进一步研究 TIFY 基因家族 在茶树胁迫防御机制研究奠定基础,为未来改善 植物抗逆性提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料处理

实验材料来自贵州大学教学实践茶园 (106°39′18″E、26°27′13″N、海拔1130m),选取 生长状态良好、长势基本一致的两年生福鼎大白 茶树移栽花盆中(丹麦泥炭土),人工气候室条件

和茉莉酸甲酯(1 mmol·L⁻¹)胁迫。将新鲜制备的 1 mmol·L⁻¹茉莉酸甲溶液喷洒在不同处理植株的 叶片(1芽3叶)上进行激素处理,收集处理(0、 12、24、48 h) 后的 1 芽 3 叶: 20% 氯化钠溶液和 20% PEG-6000 溶液分别浇灌植物(500 mL 溶 液),收集两种处理(0、24、48、72 h) 后的1芽3 叶:用光照培养箱进行4℃处理(0、12、24、48 h) 的1芽3叶。每个处理3个株系,锡箔纸包裹标 记,液氮速冻后保存于-80℃保存备用。

1.2 茶树 TIFY 基因的鉴定与注释

从TPIA 数据库(http://tpia.teaplant.org/)下 载茶树基因组以及蛋白组数据。同时,根据已经 鉴定的拟南芥 TIFY 序列提交给 Pfam 数据库 (http://pfam.sanger.ac.uk)获取基因家族的基本 结构,发现 TIFY 结构域由 Pfam 登录号 PF06200 表示。使用 HMMER 以 E 值 1×e⁻⁶搜索茶树基因组 数据库(http://tpia.teaplant.org/)中的含有 TIFY 结构域的蛋白作为 TIFY 家族的候选蛋白,使用 HMMER 算法再次确认候选结构域是否完整,将 TIFY 基因家族候选蛋白提交至 Pfam 数据库查询 具体保守结构域,删除不包含 TIFY 结构域的蛋白 (蓝雨纯等,2020)。

1.3 序列比对和系统发育分析

TIFY 家 族 系 统 进 化 分 析: 将 拟 南 芥 (Arabidopsis thaliana) TIFY (Vanholme et al., 2007)、毛果杨(Populus trichocarpa)(Wang et al., 2020)、葡萄(Vitis vinifera) (Zhang et al., 2012)及 筛选到的茶树 TIFY 蛋白序列提交到 Muscle 软件, 通过序列多重比对,使用 IQtree 软件计算氨基酸替 换模型,使用 IQtree 软件通过 ML (maximum likelihood)法生成进化树,设定自举值为1000;茶 树 TIFY 种内进化分析:将茶树 TIFY 蛋白序列提 交到 Muscle 软件,通过序列多重比对,使用 IQtree 软件计算氨基酸替换模型,使用 IQtree 软件采用 ML法构建种内进化树,设定自举值1000。

1.4 茶树 TIFY 染色体定位和基因结构分析

根据 1.2 的数据获取方法提取基因组注释数 据中的 TIFY 基因在茶树染色体上的位置信息提 交至 TBtools 软件,得到染色体定位图。茶树 TIFY 基因结构分析:将茶树 TIFY 家族成员内含子位 置、数目信息和基因位置等信息提交至 TBtools 软 件,获得基因结构图。茶树 TIFY 保守基序分析: 将茶树 TIFY 蛋白序列提交至 MEME 5.2(http:// meme-suite .org/tools/meme),基序的数目设置为 10. motif 长度设置为 6~50 aa. 使用 TBtools 可视化 相关数据。使用 TBtools 可视化 TIFY 基因家族保 守结构域信息。

1.5 茶树 TIFY 启动子区顺式作用元件分析

根据 1.2 茶树基因组数据提取 TIFY 基因上游 2 000 bp 片段作为 TIFY 基因的启动子序列,提交 至 Plant Cis-Acting Regulatory Elements (http:// bioinfor-matics. psb. ugent. be/webtools/plancare/ html/)分析启动序列的顺式作用元件,使用 TBtools 可视化相关数据。

1.6 茶树 TIFY 基因组织表达模式分析

根据 1.2 的数据获取方法获得茶树不同组织 TIFY 基因的表达量(TPM)以及非生物胁迫下 TIFY 基因在茶树中的表达量(TPM),使用 TBtools 软件制作基因表达图谱。

1.7 RT-qPCR 分析

下载茶树 TIFY 基因家族序列,并使用 IDT (Integrated DNA Technologies)网站(https://sg. idtdna.com/Scitools/Applications/RealTimePCR/)在 线设计引物,选用 CsGAPDH 作为内参基因(表 1)。按照试剂盒说明书提取茶树叶片 RibonucleicAcid(RNA)(北京华越洋生物科技有限 公司),然后按照试剂盒说明书(北京君诺德生物 技术有限公司)逆转录成 cDNA,用于实时定量 RT-qPCR。利用 RT-qPCR 仪(T100 Thermal Cycler, Bio-Rad 公司)进行 RT-qPCR 反应,反应程 序参考(Yao et al., 2020)。每个样品均设置 3 次 技术重复。用2^{-44CT}算法计算基因相对表达水平。

结果与分析 2

2.1 茶树 CsTIFY 基因的全基因组鉴定

共鉴定到 19 个 TIFY 序列, 命名为 CsTIFY1-CsTIFY19,命名顺序参照 Vv-TIFY (Zhang et al., 2012),分属4个亚家族,如表2所示。

2.2 4 种植物 TIFY 基因的系统发育分析

81 个蛋白序列进行多重比对,利用 IQ-TREE 构建进化树, TIFY 基因家族的 4 个亚家族成员构 成及分布如图1所示, PPD 亚蛋白家族包含茶树 CsTIFY4 与拟南芥 AtTIFY4a、AtTIFY4b,但 CsTIFY4

表 1 TIFY 基因 RT-qPCR 引物序列

Table 1 Primer sequences of TIFY genes for RT-qPCR

基因名称 Gene name	上游引物(5'-3') Forward primer(5'-3')	下游引物 (5'-3') Reverse primer (5'-3')
CsTIFY1	CAACCCATTGCTACCGATCTAC	GAGGAGAAGTTGAGCTGCTTATT
CsTIFY2	GTCTGATCCCTTTGCTTCTTCT	GAGTGCCACCTTGTCCATTAT
CsTIFY18	CCAGATCGAAGACGAAGAAGAC	CAAAGCATGCGGATGAACAC
CsTIFY6	GAGACCCGAAACCACAAGAA	TGCTGAGGAAAGAGATCCATAAG
CsTIFY11	TGCACTCTCTTCAACCGATAAG	TCCATAAGGCGACACGAAAG
CsTIFY15	CTTGGGAGGGGGGAGAAATAC	ACTTGAGGCACCACCTAAAC
CsTIFY8	CGAACAAGGCAGATGTGATAATG	CTCCACTCGGTATGTAGCTTTC
GAPDH	TTGGCATCGTTGAGGGTCT	CAGTGGGAACACGGAAAGC

表 2 茶树 TIFY 基因家族基本信息

Table 2 Basic information of TIFY gene family in Camellia sinensis

基因名称 Gene name	基因编号 Gene number	染色体 Chromosome	外显子数目 Number of exons	蛋白长度 Protein length (aa)	分子量 Molecular weight (Da)	等电点 Isoelectric point
CsTIFY1	CSS0031905.1	Chr2	5	295	31 531.1	10.08
CsTIFY2	CSS0022053.1	Chr12	7	399	41 501.3	8.25
CsTIFY3	CSS0012514.3	Chr12	7	399	41 500.3	8.49
CsTIFY4	CSS0031620.2	Chr13	9	336	37 334.7	8.84
CsTIFY5	CSS0011019.1	Chr3	5	262	29 266.8	9.11
CsTIFY6	CSS0010510.1	Chr15	5	234	25 506.6	10.23
CsTIFY7	CSS0028188.1	Chr8	3	137	15 604.9	10.45
CsTIFY8	CSS0000568.1	Contig605	3	130	13 914.2	4.45
CsTIFY9	CSS0050449.1	Chr15	7	304	33 496.6	6.67
CsTIFY10	CSS0037100.1	Chr15	7	304	33 483.6	6.67
CsTIFY11	CSS0034430.1	Chr6	6	218	24 039.8	9.62
CsTIFY12	CSS0017505.2	Chr3	7	324	34 469	4.98
CsTIFY13	CSS0003047.1	Chr9	7	282	30 964.1	6.04
CsTIFY14	CSS0004261.1	Contig509	7	326	34 657.2	4.98
CsTIFY15	CSS0045061.1	Contig509	11	363	39 325.5	4.67
CsTIFY16	CSS0050427.1	Contig969	10	364	39 466.1	4.48
CsTIFY17	CSS0016802.1	Chr9	11	377	41 223.3	4.56
CsTIFY18	CSS0017184.1	Chr13	2	116	12 261.3	3.75
CsTIFY19	CSS0036245.1	Chr3	2	115	12 095.4	3.79

与拟南芥 AtTIFY4a 亲缘关系较远;TIFY 亚蛋白家 族包含 CsTIFY15 和 CsTIFY19;ZML 亚家族由4个 物种构成,共计20个成员;剩余其他蛋白序列分 属 JAZ 亚蛋白家族,可分为以下5个类群(JAZ I、 JAZ II、JAZ III、JAZ IV、JAZ V),其中 JAZ I 含有最 多的 TIFY 序列,占比为 16/37, JAZ IV 仅包含 AtTIFY 与 CsTIFY 序列,共计3个; JAZ V 不包含 CsTIFY(图1)。

2.3 茶树 TIFY 基因的功能结构域及结构序列分析

使用氨基酸进行了系统发育分析这里鉴定出 19 个茶树 TIFY 基因序列(图 2)。使用来自 4 种 植物的 TIFY 序列构建系统发育树(图 1),同一个 家族的 TIFY 蛋白倾向于聚类,2 个例外是蛋白 CsTIFY4 和 CsTIFY8 单独聚为一枝(图 2:A)。利 用 MEME 软件对茶树 TIFY 保守基序组成和保守 基序数目进行分析,共鉴别到 10 个保守基序,依



图 1 茶树、葡萄、毛果杨和拟南芥的 TIFY 基因家族系统发育树及其分类(Bootstrap 重复数为 1 000 次) Fig. 1 Phylogenetic analysis of TIFY gene family from Camellia sinensis, Vitis vinifera, Populus trichocarpa, Arabidopsis thaliana (Bootstrap repeats 1 000 times)

次命名为 motif 1~ motif 10. 只有 CsTIFY8 包含 motif 2(图 2:B),说明 TIFY 基因家族在进化过程 中基序比较保守。相反是外显子/内含子结构也 可用于提供其他证据来支持系统发育分组(Shiu & Bleecker, 2003),因为这种类型的差异通常在基因 家族的进化中起关键作用。因此,了解茶树 TIFY 基因的外显子/内含子结构(图 2.C),以进一步了 解它们可能的基因结构进化。我们的结果表明它 们的系统发育与外显子/内含子之间有很强的相 关性结构,并且聚在一起的基因通常拥有一个类 似的基因结构。实际上,3组基因(TIFY2/TIFY3、 TIFY12 和 TIFY14) 包含完全相同数量的外显子, 几乎完全相同的外显子长度(图 2.C).表明这些 TIFY 基因可能是重复事件的产物。为进一步证实 茶树 TIFY 基因之间的进化关系,可视化了其保守 域的分布(图 2:D)。尽管茶树 TIFY 蛋白质序列

的氨基酸数量从 115 到 399 不等(表 1),但聚集在 一起的蛋白质往往包含相同数量的氨基酸。氨基 酸和保守结构域的类似分布,这与外显子/内含子 结构分析一致。

2.4 茶树 CsTIFY 基因染色体定位

19 个茶树 CsTIFYs 基因分别分布在茶树的 8 条 染色体上,分别是染色体 2、3、6、8、9、12、13 和 15。 分析出 CsTIFY 基因同源基因簇 4 组,分别为位于 3 号染色体上的 CsTIFY12 和 CsTIFY19,位于 9 号染 色体上的 CsTIFY13 和 CsTIFY17,位于 12 号染色体 上的 CsTIFY2 和 CsTIFY3,位于 15 号染色体上的 CsTIFY9 和 CsTIFY10,其中还有一对同源基因 CsTIFY14 和 CsTIFY15 未定位到染色体上(图 3)。

2.5 茶树 CsTIFY 基因启动子顺式作用元件

从图 4 可以看出 MYB 响应元件分布在每个 TIFY 基因中, circadian 为光周期响应元件在 TIFY



A. 茶树 TIFY 基因的系统进化; B. MEME 预测茶树中 TIFY 保守蛋白基序的示意; C. 保守功能结构域; D. 茶树 TIFY 基因基本 基因结构。

A. Phylogenetic relationships of *TIFY* gene in *Camellia sinensis*; **B.** Schematic diagram of the conserved TIFY protein motif in *C. sinensis* tree predicted by MEME; **C.** Conserved functional domain; **D.** Basic gene structure of *TIFY* genes in *C. sinensis*.

图 2 茶树 TIFY 基因的功能结构域及结构序列 Fig. 2 Functional domain and structure sequence of TIFY gene in Camellia sinensis



图 3 茶树 CsTIFY 基因染色体定位 Fig. 3 Chromosomal locations of CsTIFY genes in Camellia sinensis



MYB、G-Box、MYC、STRE. 逆境响应元件; CAT-box. 分生组织表达相关的顺式作用调节元件; Box 4. 激素、干旱和低温响应; ERE、GT1-motif、GARE-motif. 光合激素响应元件; ARE. 乙烯响应元件; GATA-motif、W box、AT-rich element. 干旱、盐和光 敏色素响应因子; TCT-motif. 激素响应元件; WUN-motif. 机械伤害反应元件; LTR. 低温响应元件; WRE3. 损伤和防御响应 元件; GA-motif. 光响应元件; as-1. 抗病响应元件; circadian. 昼夜节律控制的顺式作用调控元件; TCA-element. 温度响应因 子; CGTCA-motif、TGACG-motif. 茉莉酸甲酯响应元件; ABRE、AAGAA-motif. 脱落酸响应元件。

MYB, G-Box, MYC, STRE. Diversity responsive element; CAT-box. *Cis*-acting regulatory elements related to meristem expression; Box 4. Hormones, drought and low temperature response; ERE, GT1-motif, GARE-motif. Light and hormone responsive elements; ARE. Ethylene responsive element; GATA-motif, W box, AT-rich element. Drought, NaCl and phytochrome responsive factor; TCT-motif. Hormone responsive element; WUN-motif. Mechanical damage responsive element; LTR. Low temperature responsive element; WRE3. Damage and defense response element; GA-motif. Light response element; as-1. Disease response element; circadian. *Cis*-acting regulatory element involved in the control of circadian rhythm; TCA-element. Temperature responsive factor; CGTCA-motif, TGACG-motif. MeJA (methyl jasmonate) responsive elements; ABRE, AAGAA-motif. ABA (abscisic acid) responsive elements.

图 4 茶树 19 个 TIFY 基因的启动子逆境相关顺式作用元件 Fig. 4 Promoter stress-related *cis*-acting elements of the 19 TIFY genes in Camellia sinensis

基因中分布最少的, TIFY1 和 TIFY7 包含的作用元件最多。

2.6 茶树 CsTIFY 基因胁迫下的表达分析

干旱、冷和盐等非生物胁迫对植物生长和生产力造成不利影响, MeJA处理后的表达数据 (Donofrio et al., 2009; Zhao et al., 2020; He et al., 2020)说明其对于植物的生物逆境响应至关 重要(Bari & Jones, 2009),在本研究中,我们通过 挖掘可公开获得的茶树微阵列数据集,研究了茶 树 TIFY 基因家族对不同非生物胁迫条件以及激 素处理的响应。我们确定了对应于 19 个茶树 TIFY 转录本,这些基因表达图谱如图 5 所示,茶树 TIFY1 基因对非生物胁迫和激素处理不同时间段 表达量都很高,只有干旱胁迫和盐胁迫下 TIFY1



A. 茉莉酸甲酯处理; B. 冷处理; C. 干旱处理(PEG-6000); D. 盐处理(NaCl)。下同。
A. Methyl jasmonate (MeJA) treatment; B. Cold treatment; C. Drought treatment (PEG-6000); D. Salt treatment (NaCl). The same below.

图 5 不同胁迫下茶树 TIFY 基因的表达 Fig. 5 TIFY gene expressions of Camellia sinensis under different stresses

随时间的增减表达量降低,而激素处理后 TIFY1、 TIFY2、TIFY3、TIFY6、TIFY11、TIFY12、TIFY14 和 TIFY16 的表达高,而 TIFY5 和 TIFY7 对非生物 胁迫和激素处理在不同的时间段有负调控作用或 不表达;TIFY6 在激素、盐和干旱胁迫下表达量最 高,而在冷胁迫下表达微弱。结果表明,不同的 TIFY 基因在非生物胁迫和激素处理下不同时间段 表达量不同。

2.7 茶树 CsTIFY 基因在不同胁迫和外源茉莉酸甲 酯处理下的表达分析

我们根据转录组数据分析了不同胁迫下的基因表达情况(图 5),为了确信转录组结果,选择了干旱(20% PEG-6000)、冷胁迫(4 ∞)、盐胁迫(20% NaCl)和茉莉酸甲酯(MeJA)(1 mmol·L⁻¹),不处理为对照,并根据茶树基因组数据不同胁迫基因的表达量选择了7个*TIFY*基因,进行了



图 6 不同处理茶树的 TIFY 基因表达 Fig. 6 TIFY gene expressions in different treatments of Camellia sinensis



颜色刻度表示 log2 转换后的值。红色代表基因高表达;绿色代表基因低表达。 The color scale represents the log2 converted value. Red represents high gene expression; green represents low gene expression.

图 7 茶树 CsTIFY 基因在茶树不同组织中的表达 Fig. 7 Expressions of CsTIFY genes in different tissues of Camellia sinensis

实时荧光定量(RT-qPCR)分析。MeJA处理下,大 多数 TIFY 有明显的响应,但不尽相同,如 MeJA 显 著诱导了 TIFY1、TIFY6 和 TIFY11 的表达,表达量 随时间的增加而增加,在12h时表达量最高,随后 降低,而 TIFY15 在不同时间段表达变化不大:冷 胁迫下, TIFY 都存在响应,但不尽相同,如冷胁迫 显著诱导了 TIFY8 和 TIFY11 的表达,表达量随时 间的增加而增加,而 TIFY2 在不同时间段表达变 化不大,TIFY6 随时间的增加而增加,随后降低;干 旱处理下, TIFY 基因均表达, 但表达水平有一定 差异,干旱胁迫显著诱导了 TIFY6 和 TIFY11 的表 达,表达量随时间的增加而增加且在12h时表达 量最高,随后降低,而 TIFY8 表达基本没有影响; 盐胁迫下, TIFY1、TIFY2、TIFY11、TIFY15 和 TIFY18 随胁迫时间增加,随后降低,而 TIFY6 不随 时间的变化而变化,可知转录组数的基因表达量 和 RT-qPCR 基因表达量趋势基本一致(图 6)。

2.8 茶树 CsTIFY 基因表达模式分析

将不同基因表达量数据进行热图分析, CsTIFY1、CsTIFY2、CsTIFY3在各个组织表达量都 较高,而CsTIFY5和CsTIFY7在各个组织几乎不表 达且CsTIFY11在根、顶芽、嫩叶和花表达较高基 本一致,其中CsTIFY6在顶芽表达量最高,表明茶 树CsTIFY基因家族成员在不同组织器官表达均 存在差异性,暗示其可能基因功能存在分化(图 7)。

3 讨论与结论

TIFY 基因是植物特有的转录因子,有可以调控植物分生组织分裂等重要作用,并显著影响植物的生长发育(赵晓晓等,2019;温东等,2020;Liu et al.,2020;沙伟等,2021)。尤其是 JAZ 蛋白,不仅是茉莉酸(jasmonic acid, JA)信号通路的重要负调控转录因子,还是激素网络的调控枢纽,通过诱导茉莉酸刺激来启动茉莉酸应答基因的转录(吴莹等,2008)。水稻 OsJAZ9 与 OsSLR 的互作介导了茉莉酸与赤霉素(gibberellin,GA)的拮抗作用来协调植株应急响应(Um et al.,2018);JAZ1/JAZ4 与 CBF 诱导因子相互作用抑制转录 ICE1 的功能,从而减弱了 CREPEAT BINDING FACTORS (CBFs)的表达;JAZ1 或 JAZ4 的过表达抑制拟南芥对冻胁迫的响应(Hu et al.,2013);在甘蓝型油

菜(Brassica napus) BnaJAZ7-A3/BnaJAZ7-C3 的过 表达提高冷害胁迫(He et al., 2020)等中被研究, 然而茶树 TIFY 基因特性和系统进化等却未见 报道。

茶树中 19 个 TIFY 基因被鉴定,结果表明 TIFY 基因家族包含 4 个亚蛋白家族且各家族成员 中 TIFY-motif 的氨基酸序列包含多种类型,TIFY 蛋白在拟南芥、水稻、毛果杨和茶树 4 个物种间分 为 7 个类群。除 CsTIFY8、CsTIFY14、CsTIFY15 和 CsTIFY16 外,其他 15 个 CsTIFY 都分别分布在 2、 3、6、8、9、12、13 和 15 染色体上,其中 CsTIFY 各成 员在染色体形成了 4 对同源基因簇,说明该成员 间存在一定的进化关系。

茶树 TIFY 基因家族进化关系较近的成员间具 有基本相同的内含子/外显子组成,同水稻(Ye et al., 2009)和二穗短柄草(Brachypodium distachyon)(Zhang et al., 2015)研究的 TIFY 基因 家族规律基本一致,不同分组的成员间的组成存 在差异(Xu et al., 2012;Hakata et al., 2017)。对 于 TIFY 的保守基序,TIFY8 仅含有 TIFY,此外,其 成员 TIFY8、TIFY9、TIFY10、TIFY12、TIFY13、 TIFY14、TIFY15、TIFY18和 TIFY19缺少了 JASdomin,这些具有特殊结构的成员可能在茶树的进 化中具有独特性(赵晓晓等,2019)。

茶树 CsTIFYs 启动子与激素、胁迫相关的作用 元件占主导地位,但不同基因作用元件的种类和 个数均不同(Xie et al., 219),随着激素种类和程 度的改变,茶树 CsTIFYs 基因响应发生改变,进而 导致其功能差异性。此外,部分基因含有不同的 胁迫响应元件[低温响应元件(Box 4、LTR)、干旱 响应元件(Box 4、GATA-motif、W box 和 AT-rich element)、盐响应元件(GATA-motif、W box 和 ATrich element)、激素响应元件(ARE、Box 4、CGTCAmotif、TGACG-motif、ABRE、AAGAA-motif)及逆境 响应元件(MYB、G-Box、MYC 和 STRE)等],推测 CsTIFY 可能参与不同激素信号转导调节,从而对 环境胁迫作出应答。为了更好地了解茶树 CsTIFYs 基因的表达差异,本研究对 CsTIFYs 在不 同组织的基因表达进行分析,结果发现茶树 TIFY1 基因对不同胁迫不同时间段表达量都很高,只有 在 PEG-6000 和盐胁迫下, TIFY1 随时间的增减表 达量降低, TIFY1、TIFY2、TIFY3、TIFY6、TIFY11、 TIFY12、TIFY14 和 TIFY16 激素处理高表达, 而

TIFY5 和 TIFY7 对胁迫在不同的时间段有负调控 或不调控:TIFY6 在激素、盐和干旱胁迫下表达量 最高,而在冷胁迫下表达微弱。茶树 CsTIFYs 基因 在不同组织均存在表达差异性,推测 CsTIFYs 在基 因调控上也存在一定的差异。同时,本研究筛选 了在不处理下表达量高的 TIFY 家族成员进行 RTqPCR 验证胁迫处理下 *TIFY* 基因的表达情况,结 果表明.7个 TIFY 家族成员对激素以及非胁迫有 较强的反应。在激素处理 12 h 时, TIFY6 基因的 表达是 TIFY15 的 8.5 倍,是 TIFY8 的 8.7 倍;在冷 处理 48 h, TIFY6 表达量达到最高, 是 TIFY1 的 3.2 倍;干旱处理 48 h, TIFY6 的表达量最高,为 7.42, 是 TIFY8 的 11 倍;盐处理 48 h 时基因表达量最 高, TIFY6 为 11.4, TIFY1 为 8.64, 可知 TIFY6 基因 在不同处理的不同时间段基因的表达差异性显 著。因此,TIFY6 基因可作为茶树在受到外界胁迫 时的候选基因。

总之,茶树 TIFY 家族成员,通过生物信息学分 析,进一步确定了茶树 TIFY 基因家族的分类和进化 关系。同时,分析 TIFY 基因家族的启动子顺式作 用元件、表达模式以及外源激素处理和非生物胁迫 处理下的表达特性,初步探究了 TIFY 基因家族参与 胁迫应答和激素调控等茶树的生长发育,同时,本 研究把 TIFY6 基因列为调控不同环境条件下逆境变 化的候选基因,为进一步研究茶树 TIFY 基因家族生 物的功能提供了一定的研究方向和基础。

参考文献:

- ALEXANDRA B, LAURENS P, WANG Z, et al., 2018. *Arabidopsis* leaf flatness is regulated by PPD2 and NINJA through repression of *CYCLIN D3* genes [J]. Plant Physiol, 178: 327.
- BAI Y, MENG Y, HUANG D, et al., 2011. Origin and evolutionary analysis of the plant-specific *TIFY* transcription factor family [J]. Genomics, 98(2): 128-136.
- BARI R, JONES JDG, 2009. Role of plant hormones in plant defence responses [J]. Plant Mol Biol, 69: 473–488.
- CHERUIYOT EK, MUMERA LM, NG'ETICH WK, et al., 2009. Fertilizer rates increase susceptibility of tea to water stress [J]. J Plant Nutr, 33(1): 115-129.
- DONOFRIO C, COX A, DAVIES C, et al., 2009. Induction of secondary metabolism in grape cell cultures by jasmonates [J]. Funct Plant Biol, 36(4): 323-338.
- EBEL C, BENFEKI A, HANIN M, et al., 2018.

Characterization of wheat (*Triticum aestivum*) *TIFY* family and role of *Triticum* durum *TdTIFY11a* in salt stress tolerance [J]. PLoS ONE, 13(7): e0200566.

- HAKATA M, MURAMATSU M, NAKAMURA H, et al., 2017. Overexpression of *TIFY* genes promotes plant growth in rice through jasmonate signaling [J]. J Agric Chem Soc Jpn, 81(5): 906–913.
- HE X, KANG Y, LI WQ, et al., 2020. Genome-wide identification and functional analysis of the *TIFY* gene family in the response to multiple stresses in *Brassica napus* L. [J]. BMC Genomics, 21(1): 736–748.
- HU LZ, LI CQ, ZHANG WL, et al., 2020. Genome-wide identification and phylogenetic analysis of the *TIFY* genes in common bean (*Phaseolus vulgaris*) [J]. Mol Plant Breed, 18(10): 3132-3140. [胡利宗, 李超琼, 张雯露, 等, 2020. 菜豆 *TIFY* 基因的全基因组鉴定与系统进化分析 [J]. 分子植物育种, 18(10): 3132-3140.]
- HU YR, JIANG LQ, WANG F, et al., 2013. Jasmonate regulates the inducer of cbf expression-c-repeat binding factor/dre binding factor1 cascade and freezing tolerance in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 25(8): 2907-2924.
- KANG CHANG K, HANJ, LEE J, et al., 2011. Gene encoding PnFL-2 with TIFY and CCT motifs may control floral induction in *Pharbitis nil* [J]. Genes Genom, 33 (3): 229-236.
- LAN YC, HUANG B, WEI J, et al., 2020. Identification and bioinformatics analysis of the expansin gene family of *Physcomitrella patens* [J]. Guihaia, 40 (6): 854-863. [蓝雨纯,黄彬,韦娇,等, 2020. 小立碗藓扩展蛋白基因家族的鉴定与生物信息学分析 [J]. 广西植物, 40(6): 854-863.]
- LIU SC, JIN JQ, MA JQ, et al., 2016. Transcriptomic analysis of tea plant responding to drought stress and recovery [J]. PLoS ONE, 11(1): e0147306.
- LIU X, ZHAO CB, YANG LM, et al., 2020. Genome-wide identification, expression profile of the *TIFY* Gene family in *Brassica oleracea* var. *capitata*, and their divergent response to various pathogen infections and phytohormone treatments [J]. Genes, 11(2): 127.
- LU M, 2016. The management model and economic analysis of the development of China's Tea industry [J]. Fujian J Tea, 38(9): 99-100. [芦梅, 2016. 中国茶叶产业发展的管理 模式与经济学分析[J]. 福建茶叶, 38(9): 99-100.]
- LUO DL, BA LJ, CHEN JY, et al., 2017. Characterization and expression analysis of banana *MaTIFY*1 transcription factor during fruit ripening [J]. Acta Hortic Sin, 44(1): 43–52. [罗冬兰,巴良杰,陈建业,等, 2017. 香蕉 *MaTIFY*1 转录因子特性及其在成熟过程中基因表达分析 [J]. 园 艺学报, 44(1): 43–52.]
- SHIU SH, BLEECKER AB, 2003. Expression of the receptorlike kinase/pelle gene family and receptor-like proteins in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 132(2): 530-543.

- STASWICK PE, 2008. JAZing up jasmonate signaling [J]. Trends Plant Sci, 13 (2): 66–71.
- SHA W, WEI J, ZHANG MJ, et al., 2021. Cloning and expression analysis of the drought stress related transcription factor gene *RcTIFY*1 of *Racomitrium canescens* [J]. Mol Plant Breed: 1-11. [2021-05-12] https://kns.cnki.net/ kcms/detail/46.1068.S.20210512.1115.014.html. [沙伟,卫 杰,张梅娟,等, 2021. 砂藓干旱胁迫相关基因转录因子 *RcTIFY*1 基因的克隆及表达分析 [J]. 分子植物育种: 1-11. [2021-05-12] https://kns.cnki.net/kcms/detail/ 46.1068.S.20210512.1115.014.html]
- UM TY, LEE HY, LEE S, et al., 2018. Jasmonate ZIM-domain protein9 interacts with slender rice to mediate the antagonistic interaction between jasmonic and gibberellic acid signals in rice [J]. Front Plant Sci, 9(1): 1866–1876.
- VANHOLME B, GRUNEWALD W, BATEMAN A, et al., 2007. The tify family previously know as ZIM [J]. Trends Plant Sci, 12(6): 239-244.
- WANG HZ, LENG X, XU XM, et al., 2020. Comprehensive analysis of the *tify* gene family and its expression profiles under phytohormone treatment and abiotic stresses in roots of *Populus trichocarpa* [J]. Forests, 11(3): 315.
- WANG XC, FENG H, CHANG YX, et al., 2020. Population sequencing enhances understanding of tea plant evolution [J]. Nat Commun, 11(1): 4447.
- WEI CL, YANG H, WANG SB, et al., 2018. Draft genome sequence of *Camellia sinensis* var. *sinensis* provides insights into the evolution of the tea genome and tea quality [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 115(18): E4151-E4158.
- WEN D, WANG MY, MI YL, et al., 2020. Genome-wide identification and characterization of *TIFY* gene family in medicinal plant *Cannabis sativa* [J]. Chin J Exp Form, 26 (24): 134–143. [温东,王梦月,米要磊,等, 2020. 中药 火麻仁基原植物大麻的 *TIFY* 基因家族鉴定及功能分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 26(24): 134–143.]
- WU Y, TAO L, YUAN HM, et al., 2008. Jasmonic acid signaling mediated by JAZ protein [J]. Anhui Agric Sci, 36(16): 6811-6812. [吴莹, 陶雷, 袁红梅, 等, 2008. JAZ 蛋白介导的茉莉酸信号传递[J]. 安徽农业科学,

36(16): 6811-6812.]

- XIE SF, CUI LC, LEI XL, et al., 2019. The *TIFY* gene family in wheat and its progenitors: genome-wide identification, evolution and expression analysis [J]. Current Genom, 20(5): 371-388.
- XU G, GUO C, SHAN H, et al., 2012. Divergence of duplicate genes in exon-intron structure [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 109(4): 1187-1192.
- YAO XZ, CHEN MJ, ZHAO DG, et al., 2020. Overexpression of the Sorghum bicolor K⁺/Na⁺ transporter gene, SbSKC1, enhances salt tolerance in poplar (*Populus tomentosa*) [J]. Intl J Agric Biol, 24: 304-310.
- YE HY, DU H, TANG N, et al., 2009. Identification and expression profiling analysis of *tify* family genes involved in stress and phytohormone responses in rice [J]. Plant Mol Biol, 71(3): 291-305.
- ZHANG H, XIAO C, WANG GY, et al., 2020. Analysis of citrus *TIFY* gene structure characteristics and response to low temperature expression [J]. S Chin Fruit Tree, 49(2): 34–39. [张沪,肖翠,王贵元,等, 2020. 柑桔 *TIFY* 基因结构 特征及响应低温表达分析 [J]. 中国南方果树, 49(2): 34–39.]
- ZHANG L, YOU J, CHAN Z, 2015. Identification and characterization of *TIFY* family genes in *Brachypodium distachyon* [J]. J Plant Res, 128(6): 995-1005.
- ZHANG YC, GAO M, SINGER SD, et al., 2012. Genome-wide identification and analysis of the *TIFY* gene family in grape [J]. PLoS ONE, 7(9): e44465.
- ZHAO CY, PAN XW, YU Y, et al., 2020. Overexpression of a *TIFY* family gene, *GsJAZ2*, exhibits enhanced tolerance to alkaline stress in soybean [J]. Mol Breed New Strat Plant Impr, 40(3): 33.
- ZHAO XX, XIE KL, ZHANG SM, et al., 2019. Identification and analysis of *TIFY* gene family in switchgrass [J]. Acta Agr Sin, 27(5): 1126–1137. [赵晓晓,谢坤良,张舒梦, 等, 2019. 柳枝稷 *TIFY* 基因家族的鉴定与分析 [J]. 草地 学报, 27(5): 1126–1137.]

(责任编辑 李 莉)

了步植物 Guihaia Dec. 2022, 42(12); 2056-2063

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202109044

韦春强, 唐赛春, 李象钦, 等. 养分增加提高大狼耙草入侵种群的生长和竞争能力 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2056-2063.

WEI CQ, TANG SC, LI XQ, et al. Increased nutrients enhance the growth and competitive ability of invasive populations of Bidens frondosa [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2056-2063.

养分增加提高大狼耙草入侵种群的生长和竞争能力

韦春强,唐赛春*,李象钦,潘玉梅

(广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室,广西壮族自治区广西植物研究所,广西桂林 541006)

摘 要:为了探讨大狼耙草的入侵风险,该文通过同质种植园实验,研究了不同养分水平下大狼耙草河北、江 苏、江西和广西4个入侵种群在单种和各种群与近缘本地植物金盏银盘混种时的生长和竞争响应。结果表 明:(1)单种时4个种群的株高、分枝数和总生物量在高养分下显著高于低养分下,繁殖比在低养分下显著高 于高养分下(江苏种群除外);混种时4个种群各生长参数的竞争响应在高养分下小于低养分下的。(2)各养 分下,广西和江西种群的株高和总生物量显著高于河北种群,广西种群的分枝数最多[低、中和高养分下分别 为(12±0.86)、(16.83±0.95)和(21.83±1.14)];河北种群的繁殖比在低养分[(47.33±3.29)%]和高养分 [(25.74±2.82)%]下最高,且显著高于同养分下的广西种群[低养分为(30.92±1.78)%和高养分为(19.77± 1.22)%]。中养分下,河北种群总生物量的竞争响应(-0.51±0.04)显著大于广西种群(-0.35±0.06),繁殖生 物量的竞争响应(-0.46±0.03)也显著大于广西种群(-0.28±0.07)。综上表明,高养分提高大狼耙草的生长和 竞争能力,生长和竞争能力在种群间有差异,养分增加和入侵种群间基因流可能会潜在地提高大狼耙草的人 侵风险,该研究结果有助于预测入侵植物的入侵风险。

关键词:大狼耙草,入侵种群,生长,竞争响应,养分 中图分类号:Q948.1 文献标识码:A 文章编号:1000-3142(2022)12-2056-08

Increased nutrients enhance the growth and competitive

WEI Chungiang, TANG Saichun^{*}, LI Xianggin, PAN Yumei

ability of invasive populations of Bidens frondosa

(Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China)

Abstract: In order to explore the potential of *Bidens frondosa* to become invasive, we tested the growth and competitive response of *B. frondosa* by planting four introduced populations of *B. frondosa* alone and together with the native congener



http://www.guihaia-journal.com

收稿日期: 2021-12-28

基金项目:国家自然科学基金(31460165);广西自然科学基金(2018GXNSFAA281112);广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验 室项目(19-050-6) [Supported by National Natural Science Foundation of China (31460165), Natural Science Foundation of Guangxi (2018GXNSFAA281112); Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain (19-050-6)]。

第一作者: 韦春强(1982-),博士,助理研究员,主要从事入侵植物生物学研究,(E-mail)weichun007@163.com。

^{*}通信作者: 唐赛春,研究员,主要从事入侵植物生物学研究,(E-mail)tangs@gxib.cn。

B. biternata under three nutrient levels. The results were as follows: (1) When grown alone under high nutrient, B. frondosa had significantly higher values for plant height, branch number and total biomass compared with those grown under low nutrient. The reproductive ratios of all the populations under low nutrient were significantly greater than those under high nutrient except for Jiangsu Population. When grown with four populations together, the competitive responses of the growth parameters of each population of B. frondosa under high nutrient were significantly lower than those under low nutrient, indicating that this invasive weed was suppressed less under high nutrient compared with that under low nutrient conditions. (2) Under all nutrient conditions, Guangxi and Jiangxi populations significantly grew higher and had a greater total biomass than Hebei Population. Guangxi Population had the highest number of branches among the four populations when grown at low, medium and high nutrients $\left[(12 \pm 0.86), (16.83 \pm 0.95) \right]$ and (21.83 ± 1.14) , respectively]. The reproduction ratios of Hebei Population grown under low and high nutrients $[(47.33\pm3.29)\%$ and $(25.74 \pm 2.82)\%$, respectively] were significantly greater than those of Guangxi Population when grown under comparable conditions $[(30.92\pm1.78)\%$ and $(19.77\pm1.22)\%$, respectively]. In addition, the competitive response of total biomass were significantly greater for Hebei Population (-0.51 ± 0.04) than for Guangxi Population (-0.35 ± 0.06) under medium nutrient. The competitive response of reproductive biomass of Hebei Population (-0.46 ± 0.03) was also significantly greater than that of Guangxi Population (-0.28±0.07) under medium nutrient. Our results indicate that nutrient addition can enhance the growth and competitive ability of B. frondosa, there are variations in the growth and competitive response among the introduced populations, and increasing nutrient and gene flow among populations may enhance the potential risks of invasion by B. frondosa, the results will help to predict the invasion risk of alien plants. Key words: Bidens frondosa, invasive population, growth, competitive response, nutrient

由于人类活动,许多外来植物被引入到新的分 布区,其中有些种类已成为入侵植物,与本地植物 竞争,降低了本地植物多样性(Powell et al., 2011; Power & Vilas, 2020)。了解外来植物的入侵性及 其影响因素对于预测外来植物的入侵风险和管理 外来入侵植物具有重要作用。人类活动如施肥、排 污等使生境中的养分增加,影响入侵植物和本地植 物的生长、繁殖和竞争(Zhang et al., 2017; Wan et al., 2019; 王亚等, 2021), 最终影响入侵植物是否 成功入侵(Huang et al., 2018)。例如,土壤氮养分 增加提高斑点矢车菊(Centausea stoebe)、粗毛牛膝 菊(Galinsoga quadriradiata)和加拿大一枝黄花 (Solidago canadensis)等对本地植物的竞争能力(He et al., 2012; Liu et al., 2018; Wan et al., 2019),促 进其成功入侵。但是,也有研究发现土壤养分增加 降低入侵植物香菇草(Hydrocotyle vulgaris)的竞争 和提高本地群落的抗入侵性(Liu et al., 2017)。因 此,了解养分增加对不同入侵植物生长和竞争的影 响有助于预测入侵植物的入侵风险。

目前,土壤养分增加对入侵植物的影响,大多 集中于对入侵植物与本地植物之间生长和竞争的 比较或入侵种群与原产地种群间的比较(He et al, 2012; Liao et al., 2013; Wan et al, 2019),较少关 注不同入侵种群间是否有差异。不同入侵种群对 环境的可塑性响应可能存在差异,一旦不同种群间发生基因流,会增加遗传多样性,使入侵植物进化出更高的可塑性,入侵更多样化的生境和群落(Richards et al., 2006; Lavergne & Molofsku, 2007),提高入侵风险。入侵植物对本地植物的竞争能力在不同种群间也会不同(He et al., 2012)。 了解不同种群间对环境变化的响应是否有差异,可为采取措施阻止入侵植物进化出更高的入侵性提供依据(Droste et al., 2010)。

大狼耙草(Bidens frondosa)隶属菊科 (Compositae),原产北美,近10多年在我国分布范 围不断扩大,在河北、河南、安徽、北京、广东、广西 等21个省区有分布(马金双,2013)。该入侵植 物具有花序生物量分配较高(周兵等,2012)、化 感作用强(闫小红等,2012)、适宜温度下异型瘦 果萌发率高(周超群等,2015)、繁殖能力强(Yan et al.,2016)、竞争能力强(Pan et al.,2016)和表 型可塑性较高(Wei et al.,2017)等入侵性相关特 征。金盏银盘(B. biternata)为本地杂草,与大狼耙 草同属,有时和大狼耙草伴生,二者常分布于耕 地、弃耕地、路边和稻田边等人为干扰的具有不同 养分的生境中(Pan et al.,2016)。近缘植物对资 源的需求相似,它们之间往往竞争较大(Balestri et al.,2018)。目前,养分增加对大狼耙草入侵种群 生长和竞争的影响以及入侵种群间对养分的响应 是否有差异尚不清楚。

本研究选择大狼耙草在我国比较典型的4个 入侵种群即河北、江苏、江西和广西种群,设置各 入侵种群单种和各入侵种群分别与同属本地植物 金盏银盘混种,比较不同养分水平下各入侵种群 的生长和竞争响应。拟探讨:(1)养分增加是否 提高大狼耙草入侵种群的生长和竞争能力;(2) 大狼耙草生长和竞争能力对养分的可塑性响应在 入侵种群间是否有差异。本研究旨在为预测大狼 耙草的入侵风险和管理提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究地点与植物材料

本实验于 2013 年,在广西壮族自治区中国科 学院广西植物研究所实验场地进行(位于桂林市 雁山区雁山镇,110°18′01.8″ E,25°04′49.6″ N, 170 m a.s.l.)。该地属中亚热带季风气候,年平均 气温 17.8 ℃,最冷月 1 月平均温度 5.8 ℃,最热 月 7 月 平 均 温 度 28 ℃;年 平 均 降 水 量 1 949.5 mm。

大狼耙草种子于 2012 年 10 月采自广西壮族 自治区桂林市(110°28′53″ E,25°51′34″ N,390 m a.s.l.)、江西省吉安市(115°1′4″ E,27°5′33″ N, 150 m a.s.l.)、江苏省吴江区(120°23′40″ E, 30°56′34″ N,2 m a.s.l.)和河北省保定市(115°57′ 45″ E,38°56′28″ N,12 m a.s.l.),分别称作广西种 群、江西种群、江苏种群和河北种群。这4个采集 地沿纬度梯度,基本代表大狼耙草在我国从北到 南的分布,用于竞争的近缘本地种金盏银盘的种 子采自广西桂林市。

1.2 方法

2013年5月3日,将大狼耙草各个种群的种 子以及本地种金盏银盘的种子分别播种于10个 花盆(内径23 cm、深18 cm)内,一个半月后,株高 约15 cm时,选择各种植物大小较一致的幼苗移栽 到塑料花盆中。设置大狼耙草各种群单种和各种 群分别与本地种金盏银盘混种2种种植方式。单 种为每盆一株植物,混种为每盆两株植物(一株大 狼耙草和一株金盏银盘)。生长18 d后,各植株均 已长出新根,开始进行试验处理。

所用养分为复合肥"施丰源"(硫酸钾型)

(N:P:K=15:15),从市场上购买。本文 设置高养分、中养分与低养分3个养分水平处理。 参考 Liao等(2013),高养分为每盆施加4g复合 肥;中养分为每盆施加2g复合肥,分两次施肥,间 隔时间为10d;不施肥为低养分处理。试验处理 过程中,每天浇足水,保证水分充足,促进其生长。 每个种群每处理6个重复,共计:4个种群×2种种 植方式×3个养分处理×6个重复=144盆。

9月20日,在大狼耙草盛花期,测定各植物的 株高和分枝数。植株分根、茎、叶和头状花序收 获,分装标记后置于80℃下烘干至恒重,分别测 其干重(g)。计算植株总生物量=根干重+茎干 重+叶干重+花序干重、繁殖比=花序干重/总生物 量。混种中大狼耙草的竞争能力用株高、分枝数、 总生物量和繁殖生物量等参数对竞争的响应表 示。各参数的竞争响应参照 Armas 等(2004)的 计算方法,总生物量的竞争响应=(混种时的生物 量-单种时的生物量)/(混种时的生物量+单种时 的生物量),值介于-1和1之间,值越小,竞争响 应越大,表示受到的抑制越大;值越大,竞争响应 越小,表示受到的抑制越小。

1.3 数据统计分析方法

所有统计和方差分析采用 SPSS 18.0 统计分 析软件进行。同一种群不同养分间的生长和竞争 响应差异以及相同养分水平下不同种群间生长和 竞争响应的差异用 One-way ANOVA 分析,种群和 养分及其交互作用对各生长和竞争响应参数的影 响用 Two-way ANOVA 分析,处理间的差异显著水 平为 0.05。

2 结果与分析

2.1 大狼耙草不同入侵种群生长对养分的响应

单种时,Two-way ANOVA 分析表明,种群和养 分均对各生长参数(株高、分枝数、总生物量和繁 殖比)有显著的影响;并且种群和养分交互对总生 物量和繁殖比也有显著影响(表1)。

各种群的株高、分枝和总生物量在高养分下 显著高于低养分下(P<0.05)(图1:a-c)。在各 养分条件下,广西和江西种群株高最高,江苏种群 其次,河北种群最低(图1:a);广西种群的分枝数 最多[低、中和高养分下分别为(12±0.86)、 (16.83±0.95)和(21.83±1.14)],且显著多于其余

表 1 种群、养分及其交互作用对大狼耙草 生长和竞争响应的影响(F-值)

Table 1 Effects of population, nutrient and their interactions on the growth and competitive response of *Bidens frondosa* (*F*-value)

response of *Braens frontiosa* (*F*-value)

变量 Variable	种群 Population df=3	养分 Nutrient df=2	种群× 养分 Population× Nutrient df=6
株高	66.46***	214.85***	0.364
Plant height			
分枝数	33.25***	42.93***	1.965*
Branch number			
总生物量	15.88***	234.69***	2.32*
Total biomass			
繁殖比	5.78**	27.30***	2.89*
Reproductive ratio			
株高的竞争响应	0.7	5.78**	1.104
Competitive response of pant height			
分枝数的竞争响应	1.37	12.97***	0.962
Competitive response of branch number			
总生物量的竞争响应	2.96*	34.55***	0.434
Competitive response of total biomass			
繁殖生物量的竞争响应	2.81*	24.66***	0.457
Competitive response of reproduction			

注:*表示差异显著(*0.01<P<0.05,**0.001<P<0.01,***P<0.001)

Note: * indicates significant differences (* 0.01<*P*<0.05,** 0.001< *P*<0.01, *** *P*<0.001)

3 个种群在相同养分下的分枝数(P<0.05)(图1: b);广西和江西种群的生物量显著高于河北种群, 且在高养分下还显著高于江苏种群(P<0.05)(图 1:c)。4 个种群的繁殖比在各养分下均较高(低、 中和高养分下分别为 29.62%~47.33%、22.67%~ 25.71%和 19.77%~25.74%)。除江苏种群外,广 西、江西和河北种群的繁殖比在低养分下显著高 于中养分和高养分下(P<0.05)(图1:d)。低养 分下,河北种群的繁殖比[(47.33±3.29)%]最 高,且显著高于其余 3 个种群(P<0.05);中养分 下,4 个种群的繁殖比无显著差异(P>0.05);高养 分下,河北种群的繁殖比[(25.74±2.82)%]最 高,显著高于广西种群[(19.77±1.22)%](P< 0.05)(图1:d)。

2.2 大狼耙草不同入侵种群竞争对养分的响应

Two-way ANOVA 分析表明,当与近缘本地种 混种时,种群对株高和分枝数的竞争响应虽无显 著影响,但对总生物量和繁殖生物量的竞争响应 有显著影响;而养分对所有参数的竞争响应均有 显著影响(表1)。

各种群间株高的竞争响应和分枝数的竞争响 应无显著差异(P>0.05)(图 2: a-b)。除了中养 分下河北种群总生物量的竞争响应(-0.51±0.04) 显著大于广西种群(-0.35±0.06)(P<0.05),以及 繁殖生物量的竞争响应(-0.46±0.03)显著高于广 西种群(-0.28±0.07)外(P<0.05),其余养分下各 种群间总生物量和繁殖生物量的竞争响应无显著 差异(P>0.05)(图 2: c-d)。广西和江苏种群株 高的竞争响应在高养分下显著小于低养分下(P< 0.05),江西和河北种群株高的竞争响应在各养分 条件下无显著差异(P>0.05)(图 2: a)。广西种 群分枝数的竞争响应在各养分条件下无显著差异 (P>0.05),其余3个种群分枝数的竞争响应在高 养分下显著小于低养分下(P<0.05)(图 2: b)。4 个种群总生物量和繁殖生物量的竞争响应在高养 分下显著小于低养分下(P<0.05)(图 2: c-d)。 这说明高养分下大狼耙草4个种群受到的竞争抑 制降低,高养分有利于大狼耙草的竞争。

3 讨论与结论

3.1 大狼耙草入侵种群生长和竞争对养分的响应

养分的增加利于外来植物入侵(Huang et al., 2016; Nackley et al., 2017)。本研究发现,养分的 增加提高了大狼耙草4个入侵种群的株高、分枝 数和总生物量。这可能与大狼耙草具有较大的表 型可塑性(Wei et a., 2017),能够在资源丰富的生 境中最大化地提高适合度有关(Dawson et al., 2012)。并且,大狼耙草还具有较高的比叶面积、 较大的净光合速率和相对生长速率等与资源捕获 能力和利用效率相关的性状(Pan et al., 2017),可 使其在优越的生境中快速生长,增加生物量积累, 提高竞争能力。本研究结果与刘明超等(2012)对 同属入侵植物三叶鬼针草(B. pilosa)和白花鬼针 草(B. alba)的研究结果相似。

株高、分枝数和总生物量代表植物的生长状况和竞争能力。入侵植物较大的株高和较多的分枝数可使其不但避免被遮阴,获得更多的光照,还可遮阴相邻植物,抑制相邻植物的生长(王满莲和冯玉龙,2005;Gupta & Narayan,2012)。并且,较高的植株具有繁殖优势,它们通常能够产生更多的种子(Annapunra & Singh,2003)。

140r

120

100

80 60

40

20 0

50

40

30

20

10

0

西种群

Population

Guangxi

总生物量 Total biomass (g)

株高 Plant height (cm)



图中数据为平均值±标准误;不同大写字母表示同一种群在不同养分间差异显著,不同小写字母表示同一养分下种群间差异显 著,P<0.05。下同。

河北种群

Population

Hebei

殖比]

10 繁

0

西种群

Population

Guangxi

江西种群

Jiangxi

江苏种群

Jiangsu Population Population

Data are $\bar{x} \pm s_z$. Different capital letters indicate significant differences among nutrient levels for the same population, and different lower-case letters indicate significant differences among populations at the same nutrient level, P < 0.05. The same below.

> 养分对大狼耙草不同入侵种群生长的影响 图 1 Fig. 1 Effects of nutrients on the growth of invasive populations of Bidens frondosa

生物量是表征植物入侵性的重要参数之一 (Hwang & Lauenroth 2008),具有较高生物量的植 物常具有较强的繁殖能力以及较高的适合度 (Droste et al., 2010)。外来植物如果能在某一类 型的生境中产生较高的生物量,说明其在此生境 中的入侵性较高(王坤等, 2010)。在本研究中, 大狼耙草4个入侵种群总生物量均表现为高养分 下显著高于低养分下。这与刘明超等(2012)研究 中三叶鬼针草和白花鬼针草的表现相同。说明高 养分十分有利于包括大狼耙草在内的鬼针草属入 侵植物的生物量积累。

江西种群 Jiangxi

江苏种群 Jiangsu

Population Population

大狼耙草入侵种群在各养分下繁殖比均较高 (19.77%~47.33%),与周兵等(2012)野外研究的 结果相似,高于同科入侵植物银胶菊(Parthenium hysterophorus)的繁殖比(10.6%~21.6%)(唐赛春

等,2010)。并且,大狼耙草的繁殖比在低养分下 显著高于高养分下。说明大狼耙草不但对繁殖器 官的投资大,还能在不利生境中增加繁殖比,确保 产生足够多的瘦果。周超群等(2015)研究表明, 大狼耙草的瘦果萌发率高,可达90%以上,导致该 植物产生的幼苗数量多,植株密度大。较高的植 株密度能够提高入侵植物在新的区域定居、扩散 和入侵的可能性(Gupta & Narayan, 2012)。

在与近缘本地植物金盏银盘混种中,本研究 发现,大狼耙草株高、分枝数、生物量和繁殖生物 量的竞争响应均表现为高养分下小于低养分下, 可见其在高养分下受到的竞争抑制降低,表明高 养分有利于大狼耙草的竞争。这与大狼耙草具有 较大的资源捕获能力和利用效率,以及在高养分 下株高、分枝数和生物量等生长参数显著提高,从

河北种群 Hebei

Population



图 2 养分对大狼耙草不同入侵种群竞争响应的影响 Fig. 2 Effects of nutrient on the competitive response of invasive populations of *Bidens frondosa*

而在很大程度上提高其竞争能力有关。韦春强等 (2016)发现,增加养分可提高大狼耙草对近缘本 地植物狼耙草(*B. tripartita*)的竞争能力。这可能 与大狼耙草具有较大的表型可塑性相关,使其能 够在养分丰富的生境中提高生长,增强竞争。高 养分也可提高入侵植物斑点矢车菊、粗毛牛膝菊 和加拿大一枝黄花等的竞争能力(He et al., 2012; Liu et al., 2018; Wan et al., 2019)。

3.2 大狼耙草入侵种群间生长和竞争的差异

在本研究中,各养分下,大狼耙草广西和江西 种群株高和生物量最高,河北种群最低,广西种群 的分枝数显著多于其余3个种群;低养分下,河北 种群的繁殖比显著高于其余3个种群;高养分下,河北种群的繁殖比显著高于广西种群。此外,中 养分下,河北种群总生物量的竞争响应和繁殖生 物量的竞争响应显著大于广西种群。这些结果表 明,大狼耙草生长和竞争对养分的可塑性响应在4 个种群间有差异。这可能与各种群对入侵地产生 了不同的快速适应性有关,也可能是各入侵种群间发生了遗传分化。入侵植物不同种群间对环境 条件的可塑性响应有差异,可使入侵植物进化出 更大的可塑性,入侵更多样化的生境和群落 (Richards et al., 2006; Lavergne & Molofsku, 2007)。柔枝莠竹(*Microstegium vimineum*)在美国 印第安纳州南部的入侵种群间对光照和水分的可 塑性响应有差异,具有进化出更大入侵性的潜力 (Droste et al., 2010)。Luo 等(2019)发现,北美车 前(*Plantago virginica*)不同入侵种群间对氮养分的 可塑性响应不同。大狼耙草生长和竞争对养分的 可塑性响应在入侵种群间有差异,如果入侵种群 间发生基因流,会增加其遗传多样性,进而增强入 侵种群的进化潜力,进化出更高的入侵性。

综上所述,增加养分提高大狼耙草入侵种群的生长和竞争能力,高养分更利于大狼耙草的入侵。大狼耙草具有杂草类植物(ruderal)的特性,即表现为:常出现在养分丰饶的扰动生境,且具有

广 西 植 物

较高的繁殖能力和生长率,在低养分生境中增加 繁殖比,保障更多种子的产生(Grime, 1979)。并 且,种群间生长和竞争对养分的响应有差异,如果 发生杂交,可能会进化出更高的入侵性。对大狼 耙草的管理不但要密切关注干扰较大的养分较高 的生境,还需要控制不同地区间的种群相互传播, 以免发生基因流,进化出更高的入侵性。本文研 究结果为预测大狼耙草的入侵风险和管理提供了 重要依据。

参考文献:

- ANNAPURNA C, SINGH JS, 2003. Variation of Parthenium hysterophorus in response to soil quality: implications for invasiveness [J]. Weed Res, 43(3): 190-198.
- ARMAS C, ORDIALES R, PUGNAIRE FI, 2004. Measuring plant interactions: a new comparative index [J]. Ecology, 85(10): 2682-2686.
- BALESTRI E, VALLERINI F, MENICAGLI V, et al., 2018. Biotic resistance and vegetative propagule pressure coregulate the invasion success of a marine clonal macrophyte [J]. Sci Rep, 8(1): 16621.
- DAWSON W, ROHR RP, VAN KLEUNEN M, et al., 2012. Alien plant species with a wider global distribution arebetter able to capitalize on increased resource availability [J]. New Phytol, 194(3): 859–867.
- DROSTE T, FLORY SL, CLAY K, 2010. Variation for phenotypic plasticity among populations of an invasive exotic grass [J]. Plant Ecol, 207(2): 297–306.
- GRIME JP, 1979. Plant strategies and vegetation processes
 [M]. New York: John Wiley & Sons.
- GUPTA S, NARAYAN R, 2012. Phenotypic plasticity of *Chenopodium murale* across contrasting habitat conditions in peri-urban areas in Indian dry tropics: Is it indicative of its invasiveness [J]. Plant Ecol, 213(3): 493-503.
- HE WM, MONTESINOS D, THELEN G, et al., 2012. Growth and competitive effects of *Centaurea stoebe* populations in response to simulated nitrogen deposition [J]. PLoS ONE, 7(4): e36257.
- HUANG QQ, FAN ZW, LI XX, et al., 2018. Effects of nutrient addition and clipping on biomass production of invasive and native annual Asteraceae plants [J]. Weed Res, 58(4): 318–326.
- HUANG QQ, SHEN YD, LI XX, et al., 2016. Invasive *Eupatorium catarium* and *Ageratum conyzoides* benefit more than does a common native plant from nutrient addition in both competitive and non-competitive environments [J]. Ecol

Res, 31(1): 145-152.

- HWANG BC, LAUENROTH WK, 2008. Effect of nitrogen, water and neighbor density on the growth of *Hesperis matronalis* and two native perennials [J]. Biol Inv, 10(5): 771-779.
- LAVERGNE S, MOLOFSKY J, 2007. Increased genetic variation and evolutionary potential drive the success of an invasive grass [J]. PNAS, 104(10): 3883-3888.
- LIAO ZY, ZHANG R, BARCLAY GF, et al., 2013. Difference in competitive ability between plants from nonnative and native populations of a tropical invader relates to adaptive responses in abiotic and biotic environments [J]. PLoS ONE, 8(8); e71767.
- LIU G, YANG YB, ZHU ZH, 2018. Elevated nitrogen allows the weak invasive plant *Galinsoga quadriradiata* to become more vigorous with respect to inter-specific competition [J]. Sci Rep, 8: 3136.
- LIU L, QUAN H, DONG BC, et al., 2017. Nutrient enrichment alters impacts of *Hydrocotyle vulgaris* invasion on native plant communities [J]. Sci Rep, 6(1): 39468.
- LIU MC, WEI CQ, TANG SC, et al., 2012. Bionomics of two invasive weeds, *Bidens alba* and *B. pilosa*, and their native congeners grown different nutrient levels [J]. J Biosafety, 21 (1): 32-40. [刘明超, 韦春强, 唐赛春, 等, 2012. 不同 土壤养分水平下 2 种外来鬼针草和近缘本地种的比较研 究 [J]. 生物安全学报, 21(1): 32-40.]
- LUO X, XU XY, ZHENG Y, et al., 2019. The role of phenotypic plasticity and rapid adaptation in determining invasion success of *Plantago virginica* [J]. Biol Inv, 21(8): 2679-2692.
- MA JS, 2013. The checklist of the Chinese invasive plants
 [M]. Beijing: Higher Education Press. [马金双, 2013. 中 国入侵植物名录 [M]. 北京:高等教育出版社.]
- NACKLEY L, HOUGH SN, KIM SH, 2017. Competitive traits of the invasive grass *Arundo donax* are enhanced by carbon dioxide and nitrogen enrichment [J]. Weed Res, 57(2): 67-71.
- PAN YM, TANG SC, WEI CQ, et al., 2016. Effects of global risks-nitrogen additions on growth and competitive relations among invasive and native congeneric species—*Bidens* frondosa [J]. Pol J Ecol, 64(4): 443-52.
- PAN YM, TANG SC, WEI CQ, et al., 2017. Growth and photosynthetic responses of invasive *Bidens frondosa* to light and water availability: A comparison with invasive and native congeners [J]. Weed Biol Manag, 17(1):36-44.
- POWELL KI, CHASE JM, KNIGHT TM, 2011. A synthesis of plant invasion effects on biodiversity across spatial scales [J]. Am J Bot, 98(3): 539–548.
- POWER G, VILAS JS, 2020. Competition between the invasive
Impatiens glandulifer and UK native species: the role of soil conditioning and pre-existing resident communities [J]. Biol Invasions, 22(4): 1527–1537.

- RICHARDS CL, BOSSDORF O, MUTH NZ, et al., 2006. Jack of all trades, master of some? On the role of phenotypic plasticity in plant invasions [J]. Ecol Lett, 9 (8): 981-993.
- TANG SC, WEI CQ, PAN YM, et al., 2010. Reproductive adaptability of the invasive weed *Parthenium hysterophorus*L. under different nitrogen and phosphorus levels [J]. J
 Wuhan Bot Res, 28(2): 213-217. [唐赛春, 韦春强, 潘
 玉梅, 等, 2010. 入侵植物银胶菊对不同氮、磷水平的繁
 殖适应性[J]. 武汉植物学研究, 28(2): 213-217.]
- WAN LY, QI SS, XOU CB, et al., 2019. Elevated nitrogen deposition may advance invasive weed, *Solidago canadensis*, in calcareous soils [J]. J Plant Ecol, 12(5): 846–856.
- WANG K, YANG J, CHEN JK, 2010. Comparison of morphological traits between alligator weed and two congeners under different water and nutrient conditions [J]. Biodivers Sci, 18(6): 615-621. [王坤,杨继,陈家 宽, 2010. 不同土壤水分和养分条件下喜旱莲子草与同 属种生长状况的比较研究 [J]. 生物多样性, 18(6): 615-621.]
- WANG ML, FENG YL, 2005. Effects of soil nitrogen levels on morphological, biomass allocation and photosynthesis in *Ageratina adenophora* and *Chromoleana odorata* [J]. Acta Phytoecol Sin, 29(5): 697 – 705. [王满莲,冯玉龙, 2005. 紫茎泽兰和飞机草的形态、生物量分配和光合特性 对氮营养的响应 [J]. 植物生态学报, 29(5): 697–705.]
- WANG Y, WANG WQ, WANG QK, et al., 2021. Effects of soil nutrients on reproductive traits of invasive and native annual Asteraceae plants [J]. Biodivers Sci, 29(1): 1–9. [王亚, 王玮倩, 王钦克, 等, 2021. 土壤养分对菊科一年生入侵种和本地种繁殖性状的影响 [J]. 生物多样性, 29(1): 1–9.]

WEI CQ, TANG SC, PAN YM, et al., 2016. Effects of nutrient

on competition between invasive species *Bidens frondosa* and native congener *B. tripartita* [J]. J Trop Subtrop Bot, 24 (6): 609-616. [韦春强,唐赛春,潘玉梅,等, 2016. 养分对入侵植物大狼耙草和近缘本地植物狼耙草竞争的影响 [J]. 热带亚热带植物学报, 24(6): 609-616.]

- WEI CQ, TANG SC, PAN YM, et al., 2017. Plastic responses of invasive *Bidens frondosa* to water and nitrogen addition [J]. Nordic J Bot, 35(2): 232–239.
- YAN XH, ZENG JJ, ZHOU B, et al, 2012. Allelopathic potential of the extracts from alien invasive plant *Bidens frondosa* [J]. J Yangzhou Univ (Agric Life Sci Ed), 33 (2): 88-94. [闫小红, 曾建军, 周兵, 等, 2012. 外来入 侵植物大狼耙草提取物的化感潜力 [J]. 扬州大学学报:农业与生命科学版, 33(2): 88-94.]
- YAN XH, ZHOU B, YIN ZF, et al. 2016. Reproductive biological characteristics potentially contributed to invasiveness in an alien invasive plant *Bidens frondosa* [J]. Plant Spec Biol, 31(2): 107–116.
- ZHANG HJ, CHANG RY, GUO X, et al., 2017. Shifts in growth and competitive dominance of the invasive plant *Alternanthera philoxeroides* under different nitrogen and phosphorus supply [J]. Environ Exp Bot, 135: 118–125.
- ZHOU B, YAN XH, XIAO YA, et al., 2012. Module biomass structure traits of the alien invasive *Bidens frondosa* population [J]. Guihaia, 32(5): 650-655. [周兵, 闫小 红, 肖宜安, 等, 2012. 外来入侵植物大狼把草种群构件 生物量结构研究 [J]. 广西植物, 32(5): 650-655.]
- ZHOU CQ, TANG SC, PAN YM, et al., 2015. Effects of light and temperature on germination of heteromorphic achenes of *Bidens frondosa* L. [J]. J Trop Subtrop Bot, 23(6): 662– 668. [周超群, 唐赛春, 潘玉梅, 等, 2015. 光照和温度对 入侵植物大狼耙草异型瘦果萌发的影响 [J]. 热带亚热 带植物学报, 23(6): 662–668.]

(责任编辑 李 莉)

广西植物 **Guihaia** Dec. 2022, **42**(12): 2064–2074

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202101023

马筱, 王桔红, 罗娅婷, 等. 不同人侵程度紫茎泽兰碳氮磷生态化学计量特征研究 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2064-2074.

MA X, WANG JH, LUO YT, et al. Ecological stoichiometric characteristics of carbon, nitrogen and phosphorus in different 🖬 invasition degrees of Ageratina adenophora [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2064-2074.

不同入侵程度紫茎泽兰碳氮磷生态化学计量特征研究

筱1. 王桔红2. 罗娅婷1. 崔现亮1*. 段富院1 马

(1. 云南省高校亚热带药用食用生物资源开发与利用重点实验室,普洱学院 生物与化学学院, 云南 普洱 665000; 2. 韩山师范学院 生命科学与食品工程学院, 广东 潮州 521041)

摘 要: 紫茎泽兰(Ageratina adenophora)是一种生态危害性较大的入侵植物。为探讨不同入侵程度下紫茎泽 兰的化学计量特征,进一步揭示其营养策略与入侵机制,该研究以紫茎泽兰及其本土伴生种条叶猪屎豆 (Crotalaria linifolia)为对象,测定研究了轻度入侵、中度入侵和重度入侵下紫茎泽兰根、茎、叶中碳(C)、氮 (N)、磷(P)化学计量特征与其入侵地土壤养分状况,并进一步比较了紫茎泽兰和条叶猪屎豆的 C、N、P 化学 计量特征。结果表明:(1)3种入侵程度下,紫茎泽兰叶N、P含量均显著大于根和茎N、P含量,将更多的N和 P分配至叶,增加资源获取,以利快速生长。(2)3种入侵程度下,紫茎泽兰茎N:P<根N:P<叶N:P,且茎 N:P在中度入侵下显著大于轻度入侵,在入侵过程中其茎呈现出较高的生长速率,可促进其获取更多环境资 源,增强生长竞争优势。(3)与本土种条叶猪屎豆相比,紫茎泽兰具有更高的根 P、茎 P 含量,根和茎 C:P、 N:P均显著小于条叶猪屎豆,各器官C:N均显著大于条叶猪屎豆,显示出较高的养分利用效率及较低的资 源需求量。(4)紫茎泽兰茎C和叶C、茎N和叶N均呈显著正相关,茎C:P与根C:P存在极显著负相关,说 明对能量和资源的分配在生长和贮存之间存在权衡。研究认为,紫茎泽兰在入侵过程中采取增加地上部分的 资源分配与利用以利于快速生长,同时具有较高的资源获取能力及较低的资源需求量,进而提高竞争能力,成 为一种重要的入侵策略,促进其成功入侵。

关键词:紫茎泽兰,生态化学计量特征,入侵程度,营养利用策略,弃耕地 中图分类号: 0948 文献标识码:A 文章编号: 1000-3142(2022)12-2064-11

Ecological stoichiometric characteristics of carbon, nitrogen and phosphorus in different invasition degrees of Ageratina adenophora

MA Xiao¹, WANG Juhong², LUO Yating¹, CUI Xianliang^{1*}, DUAN Fuyuan¹



收稿日期: 2021-08-20

基金项目:国家自然科学基金 (31770584); 普洱学院校级课题 (2018xjkt01) [Supported by National Natural Science Foundation of China(31770584); University Project of Puer University(2018xjkt01)].

第一作者:马筱(1994-),硕士,研究实习员,主要从事植物生态学研究,(E-mail)maxiao1061@163.com。

^{*}通信作者: 崔现亮, 硕士, 副教授, 主要从事植物生态学研究, (E-mail) cuixianliang1234@163.com。

(1. Key Laboratory of Subtropical Medicinal Edible Resources Development and Utilization in Yunnan Province, College of Biology and Chemistry, Puer University, Puer 665000, Yunnan, China; 2. School of Life Sciences and

Food Engineering, Hanshan Normal University, Chaozhou 521041, Guangdong, China)

Abstract: Ageratina adenophora is an invasive plant with great ecological harm. In order to explore the stoichiometric characteristics, nutritional strategy and successful invasion mechanism of A. adenophora with different degrees of mild invasion, moderate invasion and severe invasion, we measured carbon(C), nitrogen(N), phosphorus(P) contents and their stoichiometric characteristics of soils, plant nutritive organs and comparing these with a coexisting native species, Crotalaria linifolia. The results were as follows: (1) The contents of N and P in the leaves of A. adenophora were significantly greater than those in the roots and stems in the three invasive degrees, indicating that N and P elements were more allocated to the leaves to increase resource acquisition and rapid growth. (2) Stem N: P<root N: P<leaf N: P of A. adenophora in the three invasive degrees, and the stem N: P of moderate invasion was significantly higher than that of mild invasion, suggesting that the greatest relative growth could occur in stem during invasion to absorb more resources and increase competitiveness. (3) P contents in stems and roots, C: N in nutritive organs of A. adenophora were significantly higher than that of C. linifolia. C: P, N: P in both stems and roots of A. adenophora were significantly lower than that of C. linifolia, implying that A. adenophora had strong utilization but low requirements of resources. (4) Significant positive correlations were found between stem C and leaf C, and between stem N and leaf N of A. adenophora, while there was a significant negative correlation between stem C: P and root C: P, indicating a tradeoff between growth and storage of energy and resource allocation. The study suggests that A. adenophora may increase the allocation and utilization of the aboveground resources during invasion, which is conducive to rapid growth, and at the same time, it has higter utilization but lower requirements of resource demand, which all contribute to increase competitiveness and successful invasion of A. adenophora.

Key words: Ageratina adenophora, ecological stoichiometric characteristics, invasion degree, nutrient utilization strategy, abandoned farmland

紫茎泽兰(Ageratina adenophora) 为菊科 (Asteraceae)多年生草本,原产于美洲(中国植物 志, 1985)。紫茎泽兰作为一种在热带、亚热带地区 均有分布的入侵植物,在30多个国家和地区造成不 良后果(强胜, 1998; 李霞霞等, 2017)。在我国,因 紫茎泽兰的入侵而造成的林业、农业、畜牧业等产 业损失巨大,成为侵染性最强的外来植物(Wang & Wang, 2006; 陈军等, 2010)。紫茎泽兰在中国最 早报道于20世纪40年代,来源于云南省中缅边境 地区(强胜, 1998),我国原环保总局在 2003 年将其 列入最重要的16种外来入侵生物名单(肖正清等, 2009)。目前,国内外针对紫茎泽兰开展的研究主 要集中在生物生态学特征(Sang et al., 2010; Wang et al., 2013; 张红香与周道玮, 2016)、基因与遗传 (周凌娟, 2006; 宫伟娜, 2009; 杨林秀等, 2017)、 化感作用(成思轩等, 2020; 刘朦等, 2020)、入侵的 生态效应(Xin et al., 2013; 江聪等, 2019; 柳旭等, 2019)、防治与利用(朱文达等, 2013; 李余钊等, 2020)等方面。

生态化学计量学的研究在于阐释生物化学元 素组成及其生长繁殖之间的关系,通过分析生态 相互作用过程能量和元素的平衡来实现(González et al., 2010)。植物的生长与生理代谢活动离不 开蛋白质、核酸、磷脂、三磷酸腺苷(triphosadenine, ATP)等物质, 而碳(carbon, C)、氮(nitrogen, N)、 磷(phosphorus, P)作为这些重要物质的主要元素. 与植物的生存息息相关(贺金生与韩兴国, 2010)。植物在生境中的养分吸收和利用情况可 以由生态化学计量特征反映出来(Elser, 2006)。 对入侵植物而言,C、N、P 化学计量特征可以表征 其生长速率和入侵扩张能力(Elser, 2006; Demars & Edwards, 2007; González et al., 2010) 在叶片 N、P 含量及其化学计量特征方面开展研 究,对明确生态系统中入侵植物及本土植物的养 分分配机制(王满莲和冯玉龙, 2005),探究入侵 物种与生境中土壤N、P有效性关系等方面具有重 要价值(陆建忠等, 2005; 于兴军等, 2005)。人 侵物种的成功入侵与其较快的生长速率和较强的

资源竞争优势密不可分(González et al., 2010)。 入侵物种在入侵过程中可能采取的策略,包括利 用充足养分实现快速生长和大量繁殖的"竞争优 势策略",以及养分贫乏时的"耐受策略"或"资源 保护策略",均可促进其竞争能力的提高,最终排 除本地物种(Funk & Vitousek, 2007)。国内外学 者对入侵植物的化学计量学虽有较多研究 (González et al., 2010; Kurokawa et al., 2010; 林 威鹏等, 2014),但对于紫茎泽兰的生态化学计量 学研究罕见报道。前人的研究表明,紫茎泽兰吸 收和利用资源的能力较强,同时对土壤养分还具 有活化作用(Niu et al., 2007; 蒋智林等, 2008)。 由于紫茎泽兰对生境中 C、N、P 的利用和分配状况 以及采取的营养策略或许与其入侵性相关,因此 值得进行深入研究。

本研究测定了 3 种入侵程度下紫茎泽兰各器 官 C、N、P 化学计量,分析其入侵过程中的资源利 用状况以及资源分配特征,并对中度入侵紫茎泽 兰和本土伴生种条叶猪屎豆(*Crotalaria linifolia*) 化学计量特征进行比较,进一步分析其养分利用 策略,探讨其生态化学计量与入侵性之间的关系, 为紫茎泽兰的相关防控工作提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于云南省普洱市思茅区市郊废弃耕 地(101°0′20.73″ E、22°45′9.97″ N),海拔1250~ 1299 m。该地域受亚热带季风气候影响,夏无酷 暑,冬无严寒,干湿季分明,年均气温为15~20.3 ℃,年均降雨量为1100~2780 mm。境内群山起 伏,山地面积占98.3%(马品等,2020)。

1.2 样品采集和处理

1.2.1 样品采集 2020 年 6 月在研究区内选取紫 茎泽兰单种盖度在 70%以上、30% ~ 70%、30%以 下,生境条件较为一致的入侵区域分别作为该入 侵植物的重度(H)、中度(M)和轻度(L)入侵地。 每种入侵程度区域内设置 5 个 5 m × 5 m 样方,每 个样方采集 10~15 株生长良好的紫茎泽兰完整植 株。在中度入侵样方中采集伴生种条叶猪屎豆 10~15 株。在每一样方中取 5~7 株目标植物根系 抖落的土,按四分法取 200~300 g 的土样,并做 标记。 在实际采样中,采集的紫茎泽兰单种盖度在 轻度入侵为10%~25%、中度入侵为42%~60%、 重度入侵为80%~92%。主要的伴生植物多以入 侵植物为主:轻度入侵区域有藿香蓟(Ageratum conyzoides)、鬼针草(Bidens pilosa)、白茅(Imperata cylindrica)、飞机草(Chromolaena odoratum)、野茼 蒿(Crassocephalum crepidioides)、牛膝菊(Galinsoga parviflora)、条叶猪屎豆;中度入侵区域主要有条叶 猪屎豆、棒头草(Polypogon fugax)、蓝花野茼蒿 (Crassocephalum rubens)、野茼蒿、藿香蓟、白背枫 (Buddleja asiatica);重度入侵区域主要有黄花稔 (Sida acuta)、云南地桃花(Urena lobata var. yunnanensis)、艾(Artemisia argyi)等。

1.2.2 样品处理 将采集的植物带回实验室,用清水冲洗表面泥土,随后用吸水纸擦干水分,将植物根、茎、叶各部位分开,在 105 ℃烘箱中杀青处理 30 min,80 ℃烘干至恒重,将得到的植物样品粉碎 过 100 目筛,贴好标签保存,以备分析用。对野外 采回的土壤样品先进行自然干燥并研磨处理,再 过 100 目筛,用铝盒干燥保存待用。

1.3 C、N、P 含量的测定

植物和土壤有机碳的测定均采用中华人民共和国国家环境保护标准(HJ 695—2014)燃烧氧化-非分散红外法;土壤全氮测定采用中华人民共和国农业行业标准(NY/T 1121.24—2012)自动定氮仪法;植株全氮测定采用中华人民共和国农业行业标准(NY/T 2017—2011)硫酸-过氧化氢消煮自动定氮仪法;土壤全磷测定采用中华人民共和国农业行业标准(NY/T 88—1988)氢氧化钠熔融-钼锑抗比色法;植株全磷测定采用中华人民共和国农业行业标准(NY/T 2017—2011)钼锑抗吸光光度法。

1.4 数据处理与分析

使用 SPSS 25.0 软件对数据进行处理,以单因 素(one-way ANOVA) 对紫茎泽兰各器官(根、茎、 叶)之间、不同入侵程度之间 C、N、P 含量以及元 素比(C:N、C:P、N:P)进行方差分析;用 LSD 法进行多重比较;采取 Pearson 双尾检验对紫茎泽 兰各器官 C、N、P 含量和元素比与土壤 C、N、P 之 间进行相关性分析;以单因素(one-way ANOVA) 分析紫茎泽兰和条叶猪屎豆在中度入侵下 C、N、P 含量以及元素比的差异。全部数据利用 Excel 软 件整理和作图。

表 1 3 种入侵程度紫茎泽兰土壤 C、N、P 含量特征

Table 1 $\,$ Soil C , N , P content characteristics in three $\,$

invasion degrees for Ageratina adenophora

入侵程度 Invasion degree	有机碳 Organic C (g・kg ⁻¹)	全氮 Total N (g・kg ⁻¹)	全磷 Total P (g・kg ⁻¹)		
L	4.865±0.478a	0.512±0.023a	0.306±0.033a		
М	$6.598{\pm}0.927{\rm ab}$	0.643±0.073a	0.292±0.040a		
Н	$6.929{\pm}0.567\mathrm{b}$	0.639±0.046a	0.245±0.002a		

注:不同小写字母表示不同入侵程度之间土壤 C、N、P 含量 差异显著(P<0.05);表中数据为平均值±标准误差;L、M、H 分别表示 3 种入侵程度(轻度、中度、重度)。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences in soil C, N, P contents between three invasion degrees (P < 0.05); data is $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$; L, M, H respectively indicate mild, moderate, severe invasive degrees.

2 结果与分析

2.1 3 种入侵程度土壤 C、N、P 含量特征

由表1可知,土壤有机碳随着入侵程度的加深 而逐渐升高,且紫茎泽兰重度入侵地土壤有机碳含 量(6.929g·kg⁻¹)显著高于轻度入侵地(4.865g· kg⁻¹)(P<0.05);而土壤全氮含量与全磷含量在3种 入侵程度下均未表现出显著差异(P>0.05)。

2.2.3 种入侵程度的紫茎泽兰各器官 C、N、P 含量特征

由表2可知,不同入侵程度下,N含量在根、茎中均未表现出显著性差异(P>0.05);叶中N含量表现出中度入侵>重度入侵>轻度入侵(P<0.05)。 根中P含量表现出重度入侵显著小于轻度和中度入侵(P<0.05);茎、叶中P含量差异均不显著(P> 0.05)。不同入侵程度下根中有机C含量差异不显著(P>0.05),茎、叶中有机C在重度入侵下显 著下降(P<0.05)。

3 种入侵程度下,紫茎泽兰叶 N>根 N>茎 N(P< 0.05);轻度入侵和中度入侵下,叶 P>根 P>茎 P(P< 0.05),茎有机 C>叶有机 C>根有机 C(P<0.05);重 度入侵下,叶 P 显著大于茎 P 和根 P(P<0.05),叶 有机 C 和茎有机 C 显著大于根有机 C(P<0.05)。

2.33种入侵程度的紫茎泽兰各器官碳、氮、磷元素比

由图1:A可知,不同入侵程度下的紫茎泽兰 C:N值在根中均无明显差别(P>0.05),在茎、叶 中均表现为轻度入侵显著大于中度和重度入侵 (P<0.05)。由图1:B可知,C:P在根中表现为

表 2 不同入侵程度紫茎泽兰各器官 C、N、P 含量特征

Table 2 C, N, P content characteristics of nutritive organs for *Agerating adepophora* in different invasion degrees

8				
器官 Organ	入侵程度 Invasion degree	有机碳 Organic C (g・kg ⁻¹)	氮 N (g・kg ⁻¹)	磷 P (g・kg ⁻¹)
根	L	385.017± 5.717Ca	5.502± 0.406Ba	1.981± 0.100Ba
Root	М	396.398± 3.667Ca	5.278± 0.498Ba	1.903± 0.097Ba
	Н	393.877± 3.134Ba	5.274± 0.325Ba	$\begin{array}{c} 1.629 \pm \\ 0.042 \mathrm{Bb} \end{array}$
茎	L	475.143± 2.851Aa	2.834± 0.156Ca	1.545± 0.025Ca
Stem	М	477.766± 1.795Aa	4.060± 0.271Ba	1.750± 0.050Ba
	Н	$436.067 \pm 2.744 \mathrm{Ab}$	3.501± 0.184Ca	1.709± 0.041Ba
叶	L	443.159± 4.332Ba	21.958± 0.534Ac	2.640± 0.085Aa
Leaf	М	$\begin{array}{c} 437.250 \pm \\ 2.760 \mathrm{Bab} \end{array}$	27.543± 1.375Aa	3.061± 0.028Aa
	Н	$428.097 \pm 2.574 \text{Ab}$	$\begin{array}{c} 24.646 \pm \\ 0.259 \mathrm{Ab} \end{array}$	2.601± 0.027Aa
<u></u>	ㅋ		田南寺(日田) -	8-#-8-01 \ - 7 -4

注:不同小写字母表示不同人侵程度之间根(或茎或叶)有机 C、N、P 含量差异显著(P<0.05);不同大写字母表示同一入侵 程度根、茎、叶之间有机 C、N、P 含量差异显著(P<0.05)。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences in root (or stem or leaf) organic C, N, P contents between three invasion degrees (P < 0.05); different capital letters indicate significant differences in organic C, N, P contents between organs (root, stem and leaf) (P < 0.05).

重度入侵显著大于轻度和中度入侵(P<0.05),茎 C:P在轻度入侵下最大且显著大于中度和重度 入侵(P<0.05),叶C:P在中度入侵下显著小于 轻度入侵和重度入侵(P<0.05)。根N:P在不同 入侵程度间差异不显著(P>0.05),茎N:P为中 度入侵显著大于轻度入侵(P<0.05),叶N:P 为中 度入侵下最大且显著大于轻度入侵(P<0.05) (图1:C)。3种入侵程度下,紫茎泽兰C:N及 C:P均为茎>根>叶(P<0.05),N:P均为叶>根> 茎(P<0.05)。

2.4 紫茎泽兰与条叶猪屎豆根、茎、叶化学计量特征比较

由表3可知,在中度入侵生境下,入侵种紫茎 泽兰与伴生种条叶猪屎豆相比较,紫茎泽兰各器 官中N含量均显著较小(P<0.05),P含量在各器 官中均表现为紫茎泽兰大于条叶猪屎豆,且在根、 茎中差异显著(P<0.05),紫茎泽兰叶有机C含量





不同小写字母表示不同人侵程度之间根(或茎或叶)C:N、 C:P、N:P差异显著(P<0.05);不同大写字母表示同一 人侵程度根、茎、叶之间C:N、C:P、N:P差异显著(P<0.05)。</p>

Different lowercase letters indicate significant differences of root (or stem or leaf) C : N, C : P, N : P between different invasion degrees (P < 0.05); different capital letters indicate extremly significant differences in C : N, C : P, N : P between organs (root, stem and leaf)(P < 0.05).

Fig. 1 C: N (A), C: P (B) and N: P (C) of organs for *Ageratina adenophora* in three invasion degrees

显著小于条叶猪屎豆(P<0.05),其余器官中两者 差异不显著(P>0.05)。由图 2:A 可知,紫茎泽兰 各器官中 C:N 均显著大于条叶猪屎豆(P< 0.05),各器官 N:P(图 2:C)及根与茎 C:P (图 2:B)均显著小于条叶猪屎豆(P<0.05)。

表 3 紫茎泽兰与条叶猪屎豆各器官 有机碳、氮、磷含量比较

Table 3 Comparison of organic C, N and P contents in nutritive organs between Ageratina adenophora and Crotalaria linifolia

物种 Species	器官 Organ	有机碳 Organic C (g・kg ⁻¹)	氮 N (g・kg ⁻¹)	磷 ₽ (g・kg⁻¹)
紫茎泽兰 Ageratina	根 Root	396.398± 3.667Ca	$\begin{array}{c} 5.278 \pm \\ 0.498 \mathrm{Bb} \end{array}$	1.903± 0.097Ba
a denophora	茎 Stem	477.766± 1.795Aa	$\substack{4.060 \pm \\ 0.271 \mathrm{Cb}}$	1.750± 0.050Ca
	叶 Leaf	$\begin{array}{c} 437.250 \pm \\ 2.760 \mathrm{Bb} \end{array}$	$\begin{array}{c} 27.543 \pm \\ 1.375 \mathrm{Ab} \end{array}$	3.061± 0.028Aa
条叶猪屎豆 Crotalaria	根 Root	403.732± 2.979Ba	16.798± 0.401Ba	$\begin{array}{c} 1.297 \pm \\ 0.042 \mathrm{Bb} \end{array}$
linifolia	茎 Stem	479.906± 16.253Aa	14.102± 0.788Ca	$\substack{1.208\pm\\0.121\text{Bb}}$
	叶 Leaf	455.368± 4.767Aa	52.408± 0.558Aa	2.971± 0.483Aa

注:不同小写字母表示紫茎泽兰和条叶猪屎豆之间各器官 化学计量差异显著(P<0.05);不同大写字母表示同一植物不 同器官(根、茎、叶)之间化学计量差异显著(P<0.05)。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences in element ratios of organs between Ageratina adenophora and Crotalaria linifolia (P < 0.05); different capital letters indicate significant differences in element ratios between organs (root, stem and leaf) (P < 0.05).

2.5 紫茎泽兰不同器官 C、N、P 及其计量比相关性

由表4可知,紫茎泽兰化学计量与土壤元素之间的相关性分析显示,紫茎泽兰叶C含量以及叶C:N与土壤有机C含量之间显著负相关(P<0.05),其余各器官的C、N、P与土壤有机C、全N、 全P均无显著相关关系(P>0.05)。

由表 5 可知,紫茎泽兰 C、N 在茎、叶中呈显著 或极显著正相关。根 P 与根 N、叶 C、茎 C 之间显 著或极显著正相关。叶 P 和茎 C、叶 N 之间显著 正相关(*P*<0.05),茎 P 和茎 N、叶 N 之间极显著正 相关(*P*<0.01)。由表 6 可知,同一计量比,根C: P 与茎 C:P 极显著负相关(*P*<0.01),茎 C:N 与 叶 C:N 极显著正相关(*P*<0.01)。不同计量比, 根 C:P 与根 C:N、叶 N:P 显著正相关(*P*< 0.05),叶C:N 与叶 C:P、茎 C:P,茎 C:N 与茎 C:P 之间极显著正相关(*P*<0.01)。根 C:N 与 根 N:P,叶 C:N 与茎和叶 N:P,茎 C:N 与茎 N:P、叶 N:P,叶 N:P 与茎 C:P 之间显著或极 显著负相关。



不同小写字母表示紫茎泽兰和条叶猪屎豆之间各器官化学 计量差异显著 (P < 0.05);不同大写字母表示同一植物不 同器官 (根、茎、叶)之间化学计量差异显著 (P < 0.05)。 Different lowercase letters indicate significant differences in element ratios of organs between *Ageratina adenophora* and *Crotalaria linifolia* (P < 0.05); different capital letters indicate significant differences in element ratios between organs (root, stem and leaf) (P < 0.05).

图 2 紫茎泽兰和条叶猪屎豆根、茎、叶化学计量特征 Fig. 2 Stoichiometric characteristics of roots, stems and leaves of Ageratina adenophora and Crotalaria linifolia

3 讨论与结论

土壤 C、N、P 含量代表着生境的营养水平 (Sitters et al., 2015)。研究外来植物对入侵地土

壤养分循环的改变有助于指导对于入侵植物引起的自然生态影响的全面评估(Windham, 2001)。 相关研究表明,紫茎泽兰入侵后,土壤养分含量会 发生明显变化,入侵地的有机碳、硝态氮、铵态氮、 有效磷和速效钾含量均显著上升,而总氮、总磷水 平未发生明显改变(牛红榜等, 2007)。本研究结 果基本与其相符,即不同入侵程度的紫茎泽兰对 土壤全氮、全磷的影响均不显著,重度入侵情况下 有机碳含量发生显著增加,相关性分析也显示其 叶 C 及叶 C:N 与土壤 C 有显著负相关。这说明 紫茎泽兰入侵后可能造成土壤养分发生变化,使 土壤中可直接吸收利用的资源增加,进而有利于 在入侵地中的生长与竞争。

N、P 作为重要的养分因子,对大多数生态系 统中的植物生长都具有限制作用(Vitousek & Howarth, 1991)。植物叶 N:P 值对探讨生态系 统的限制性元素具有指向性作用(Makino et al., 2003; González et al., 2010)。Koerselman 和 Arthur(1996)研究表明,当植物 N: P<14 时,植物 生长的限制性元素为 N:当植物 N: P>16 时,植物 生长的限制性元素为 P:当 N:P 介于两者之间 时,为两者共同限制或两者都不限制。由该理论 可知,本研究中紫茎泽兰各入侵程度下的叶 N: P<14,表明 N 对该生境中紫茎泽兰的生存具 有限制作用。生态系统中N资源的增加对外来物 种的入侵是有利的(Maron & Connors, 1996), 王 满莲和冯玉龙(2005)对紫茎泽兰的研究发现,氮 元素增加对其生长具有很大促进效应,在氮资源 较少的环境下,紫茎泽兰生长较慢,竞争能力较 弱,而当环境中氮资源较充足的情况下,紫茎泽兰 生长变快,株高与分枝数增加,叶面积指数上升, 竞争能力明显得到加强,可促进其在与本地物种 的竞争过程中占领生境:本研究结果也表明 N 在 紫茎泽兰入侵扩张中具有决定性作用。

入侵植物在对资源的利用方面具有较大优势,其获取与积累 N、P 元素较多,是其具有的一种 入侵策略,帮助其顺利入侵(王维奇等, 2011;马 明睿等, 2014;张梅等, 2019)。本研究中,随着 入侵程度的加深,紫茎泽兰根、茎中的 N 含量无显 著变化,叶 N 含量在中度和重度入侵下显著升高。 紫茎泽兰的重要入侵策略之一是 N 在光合机构和 防御系统间的权衡分配,入侵过程中会将更多的 N 分配到叶(Feng et al., 2009; Lei et al., 2011),本

表 4 紫茎泽兰根、茎、叶和生境土壤 C、N、P 及其化学计量的相关性

Table 4 Relationship of C, N, P contents among roots, stems, leaves and habitat soil of Ageratina adenophora

测量指标 Index	相关性 指数	根 Root			茎 Leaf			II+ Leaf											
	Correlation index	С	Ν	Р	C : N	С : Р	N : P	С	Ν	Р	C : N	С : Р	N : P	С	Ν	Р	C : N	С : Р	N : P
土壤有机碳 Soil organic carbon	Pearson 相关系数 Pearson correlation	0.379	0.094	-0.243	-0.078	0.317	0.351	-0.237	0.355	0.472	-0.487	-0.495	0.29	-0.539*	* 0.431	0.08	-0.521*	-0.2	0.481
土壤全氮 Soil total nitrogen	Pearson 相关系数 Pearson correlation	0.342	-0.062	-0.317	0.077	0.356	0.222	-0.138	0.245	0.418	-0.364	-0.41	0.163	-0.484	0.394	0.151	-0.472	-0.252	0.371
土壤全磷 Soil total phosphorus	Pearson 相关系数 Pearson correlation	-0.164	-0.207	-0.034	0.123	-0.028	-0.213	0.446	-0.265	-0.037	0.38	0.241	-0.367	7 0.059	0.215	0.156	-0.148	-0.138	0.097

注:*表示 0.05 水平上差异显著;**表示 0.01 水平上差异显著。下同。

Note: * indicates significant differences at 0.05 level; ** indicates extremely significant differences at 0.01 level. The same below.

					,	,	0		Prove
指标 Index	根 C Root C	根 N Root N	根 P Root P	茎 C Stem C	茎 N Stem N	茎 P Stem P	叶 C Leaf C	叶 N Leaf N	叶 P Leaf P
根 C Root C	1								
根 N Root N	0.114	1							
根 P Root P	-0.253	0.602 *	1						
茎 C Stem C	-0.208	-0.015	0.659**	1					
茎 N Stem N	0.190	0.017	0.004	0.040	1				
茎 P Stem P	0.265	-0.218	-0.390	-0.152	0.880**	1			
叶 C Leaf C	-0.469	0.281	0.542*	0.524*	-0.100	-0.338	1		
叶 N Leaf N	0.385	-0.207	-0.228	0.078	0.720**	0.768**	-0.304	1	
叶 P Leaf P	0.284	-0.156	0.273	0.555*	0.398	0.231	-0.102	0.585*	1

表 5 紫茎泽兰根、茎、叶化学元素含量相关性

Table 5 Correlations between chemical element contents of roots, stems and leaves of Ageratina adenophora

研究得到的结果与其一致;较高的叶片氮含量代 表了植物具有较高的资源捕获能力(Jo et al., 2015),说明紫茎泽兰以此增加竞争优势。P 含量 在紫茎泽兰各器官中的分配表现出中度入侵下, 茎 P、叶 P 含量未发生显著变化,重度入侵时根 P 含量显著下降,说明伴随着紫茎泽兰的入侵,P 对 地下部分的分配发生减少,表明不同入侵程度下 紫茎泽兰的资源分配策略有所不同。植物生长过 程中,面对有限资源,在生长与防御之间存在权衡 分配的机制,C、N、P 在体内的组成及分配具有相 关性(Daniel & William, 1992; Mole, 1994; Yoshida, 2006)。本研究中,紫茎泽兰不同器官C、 N、P 含量及其计量比存在显著耦合关系。其中, 茎和叶中的C、N 均达到显著正相关,表明紫茎泽 兰地上器官对C、N 元素是均衡分配的;而根C:P 与茎C:P存在极显著负相关,说明紫茎泽兰在入 侵过程中,出现了地上部分和地下部分资源分配 的调整,对于能量和资源的分配在生长和贮存之

表 6 紫茎泽兰根、茎、叶化学元素计量比的相关性

Table 6 Correlations between chemical element ratios of roots, stems and leaves of Ageratina adenophora

指标 Index	根 Root C:N	根 Root C:P	根 Root N:P	茎 Stem C:N	茎 Stem C:P	茎 Stem N:P	叶 Leaf C:N	叶 Leaf C:P	叶 Leaf N:P
根 C: N Root C: N	1								
根 C: P Root C: P	0.572*	1							
根 N:P Root N:P	-0.618*	0.281	1						
茎 C:N Stem C:N	-0.018	-0.264	-0.239	1					
茎 C:P Stem C:P	-0.187	-0.672**	-0.410	0.836**	1				
茎 N:P Stem N:P	-0.088	-0.152	-0.027	-0.892**	-0.521*	1			
叶 C: N Leaf C: N	-0.311	-0.396	-0.014	0.674**	0.650**	-0.569*	1		
叶 C:P Leaf C:P	-0.295	0.040	-0.354	0.253	0.060	-0.389	0.663**	1	
叶 N:P Leaf N:P	0.125	0.556*	0.358	-0.637*	-0.795**	0.372	-0.694**	0.073	1

间存在权衡,可能是其入侵过程中的一种内在机 制。3种入侵程度下,紫茎泽兰均表现出叶 N、P 含量显著大于根和茎 N、P 含量,这与在入侵植物 红毛草(陈文等, 2020)上的研究结果相似,进一 步反映出紫茎泽兰在入侵地,将更多的 N 和 P 分 配至叶,增加资源获取,快速生长。本研究中,紫 茎泽兰叶 N 含量(21.96~27.54 g・kg⁻¹)和叶 P 含 量(2.60~3.06 g·kg⁻¹)与胡超臣等(2016)研究中 紫茎泽兰的叶片 N、P 的含量结果相近,与前人研 究中的其他入侵植物相比,叶N含量和叶P含量 高于黄顶菊(N含量为16.46~21.20g・kg⁻¹,P含 量为 0.73~1.85 g·kg⁻¹)(屠臣阳等,2013);而叶 P含量低于加拿大一枝黄花(3.31g·kg⁻¹)(马明 睿等,2014),但总体相差不大,说明入侵植物在养 分吸收利用方面具有的共同特征。另外,与已有 研究中关于中国东部 654 种陆地植物(任书杰等, 2007),以及中国 753 种植物(Han et al., 2005)的 化学计量特征进行比较,也发现紫茎泽兰叶N含 量、叶P含量均更高,不难看出紫茎泽兰对于N、P 元素的较高吸收利用能力,对其入侵成功至关 重要。

通过对植物的化学计量元素比进行测定可推 知其采取的营养对策与其生长过程的速度(Elser et al., 2010; Penuelas et al., 2010; Sardans & Penuelas, 2012)。Elser等(2003)研究表明,生长 速率的改变可通过 C、N、P 的比值反映出来,特别 是低 N:P 及低 C:P,指示高生长速率。本研究 中,3 种入侵程度下,紫茎泽兰的茎 N:P<根N:P< 叶 N:P,且中度入侵下的茎 N:P 显著高于轻度 入侵,说明随着紫茎泽兰的入侵,其茎呈现出较高 的生长速率,这可能还与其茎上的须状气生根具 有萌发根芽的特性有关,使其能够进行无性繁殖 (向业勋,1991),可促进其获取更多环境资源,增 强生长竞争优势。

外来种具有比本土种更高的环境资源吸收和 利用率,且较少的资源需求量以战胜本土种 (James & Drenovsky, 2007; González et al., 2010; 袁伟影等, 2017)。胡超臣等(2016)对西双版纳 外来入侵植物飞机草和紫茎泽兰及其共存种叶片 氮、磷化学计量特征研究发现,紫茎泽兰和飞机草 N、P的含量与本地种相比显著更高,入侵植物对 N、P 较强的获取与富集能力,对其在生境中的竞 争有利,使其最终能成功定殖,扩大种群,排除本 地物种;而本研究中也发现了类似的现象,与本土 伴生种条叶猪屎豆相比,入侵种紫茎泽兰具有更 高根 P、茎 P 的含量。植物组织低 N:P、C:P 可 表征其快速生长(Makino et al., 2003; González et al., 2010), 植物 C: N 高表明其碳同化效率较大, 而生长速度较慢,所需要的养分较少(Rahmat et al., 2009)。紫茎泽兰根和茎的 C: P、N: P 均显

著小于条叶猪屎豆,各器官C:N均显著大于条叶 猪屎豆,反映出紫茎泽兰具有较高的生长速率,较 少的资源需求量,采取了生长竞争策略,帮助其在 入侵过程中迅速占据优势。

综上所述,通过对轻度、中度、重度入侵程度 下紫茎泽兰根、茎、叶生态化学计量特征进行探究 发现,紫茎泽兰在入侵过程中采取增加地上部分 的资源分配与利用以利于快速生长,从而提高竞 争能力,与本土伴生种条叶猪屎豆相比,紫茎泽兰 吸收和利用养分的效率较高,且具有较低的资源 需求量,均有助于其获取更多环境资源,以生长竞 争策略促进其成功入侵。本研究结果从化学计量 学角度反映了紫茎泽兰的入侵机制,可以为紫茎 泽兰入侵的预测和防控提供思路。

参考文献:

- CHEN J, QUAN WT, ZHOU GH, et al., 2010. The spectrum characteristics of an invasion plant: *Eupatorium Adenophorum* Spreng [J]. Spectrosc Spectr Anal, 30(7): 1853-1857. [陈军, 权文婷,周冠华,等, 2010. 外来物种 紫茎泽兰光谱特征 [J]. 光谱学与光谱分析, 30(7): 1853-1857.]
- CHEN W, WANG JH, CHEN XY, et al., 2020. The carbon, nitrogen and phosphorus stoichiometric characteristics of invasive species *Rhynchelytrum repens* and their nutrition strategy [J]. J Ecol Rural Environ, 36 (10): 1293 – 1300. [陈文, 王桔红, 陈晓芸, 等, 2020. 入侵植物红毛 草碳、氮、磷化学计量特征及其营养策略 [J]. 生态与农 村环境学报, 36(10): 1293–1300.
- CHENG SX, LONG WC, YANG YJ, et al., 2020. Effect of *Eupatorium adenophorum* powder on the growth of *Bacillus subtilis* [J]. J Sichuan For Sci Technol, 41 (4): 106-109. [成思轩,龙文聪,杨瑶君,等, 2020. 紫茎泽兰干粉 对枯草芽孢杆菌生长的影响 [J]. 四川林业科技, 41(4): 106-109.]
- DANIEL AH, WILLIAM JM, 1992. The dilemma of plants: to grow or defend [J]. Quart Rev Biol, 67(3): 283-335.
- DEMARS BOL, EDWARDS AC, 2007. Tissue nutrient concentrations in freshwater aquatic macrophytes: high intertaxon differences and low phenotypic response to nutrient supply [J]. Freshwater Biol, 52(11): 2073-2086.
- Editorial Committee of Flora of Chinese Academy of Sciences, 1985. Flora Reipublicae Popularis Sinicae: Vol. 74 [M]. Beijing: Science Press, 74: 55-56. [中国科学院中国植物 志编辑委员会, 1985. 中国植物志: 第七十四卷 [M]. 北 京:科学出版社, 74: 55-56.]
- ELSER J, 2006. Biological stoichiometry: a chemical bridge between ecosystem ecology and evolutionary biology [J]. Am Nat, 168(Suppl.): S25-S35.

- ELSER JJ, ACHARYA K, KYLE M, et al., 2003. Growth ratestoichiometry couplings in diverse biota [J]. Ecol Lett, 6: 936–943.
- ELSER JJ, PEACE AL, KYLE M, et al., 2010. Atmospheric nitrogen deposition is associated with elevated phosphorus limitation of lake zooplankton [J]. Ecol Lett, 13(10): 1256-1261.
- FENG YL , LEI YB , WANG RF , et al., 2009. Evolutionary tradeoffs for nitrogen allocation to photosynthesis versus cell walls in an invasive plant [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 106(6): 1853–1856.
- FUNK JL, VITOUSEK PM, 2007. Resource-use efficiency and plant invasion in low-resource systems [J]. Nature, 446(7139): 1079-1081.
- GONG WN, 2009. The effect of the heat shock protein genes of invasive alien weed *Ageratina adenophora* (Compositae) under low temperture stress [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [宫伟娜, 2009. 低温胁迫过程中 入侵植物紫茎泽兰热激蛋白基因的作用 [D]. 北京:中国农业科学院.]
- GONZÁLEZ AL, KOMINOSKI JS, DANGER M, et al., 2010. Can ecological stoichiometry help explain patterns of biological invasions? [J]. Oikos, 119(5): 779–790.
- HAN WX, FANG JY, GUO DL, et al., 2005. Leaf nitrogen and phosphorus stoichiometry across 753 terrestrial plant species in China [J]. New Phytol, 168(2): 377-385.
- HE JS, HAN XG, 2010. Ecological stoichiometry: Searching for unifying principles from individuals to ecosystems [J]. Chin J Plant Ecol, 34(1): 2-6. [贺金生, 韩兴国, 2010. 生态 化学计量学: 探索从个体到生态系统的统一化理论 [J]. 植物生态学报, 34(1): 2-6.]
- HU CC, LIU XY, LEI YB, et al., 2016. Foliar nitrogen and phosphorus stoichiometry of alien invasive plants and cooccurring natives in Xishuangbanna [J]. Chin J Plant Ecol, 40(11): 1145-1153. [胡朝臣,刘学炎,类延宝,等, 2016. 西双版纳外来入侵植物及其共存种叶片氮、磷化学 计量特征 [J]. 植物生态学报, 40(11): 1145-1153.]
- JAMES JJ, DRENOVSKY RE, 2007. A basis for relative growth rate differences between native and invasive forb seedlings [J]. Rangeland Ecol Manag, 60(4): 395-400.
- JIANG C, SHUI W, JIAN XM, et al., 2019. Soil microbial community characteristics in degraded karst tiankeng invaded by *Eupatorium adenophorum* [J]. Chin J Appl Ecol, 30(6): 2002-2010. [江聪,税伟,简小枚,等, 2019. 紫茎泽兰入 侵下喀斯特退化天坑的土壤微生物群落特征 [J]. 应用 生态学报, 30(6): 2002-2010.]
- JIANG ZL, LIU WX, WAN FH, et al., 2008. Comparative studies on seasonal dynamics of soil enzymatic activities and soil nutrient availability in mono- and mixed-culture plant communities of *Ageratina adenophora* and *Seiaria sphaclata* [J]. Chin J Plant Ecol, 32(4): 900–907. [蒋智林, 刘万 学, 万方浩, 等, 2008. 紫茎泽兰与非洲狗尾草单、混种群 落土壤酶活性和土壤养分的比较 [J]. 植物生态学报, 32(4): 900–907.]
- JO I, FRIDLEY JD, FRANK DA, 2015. Linking above- and below-ground resource use strategies for native and invasive

species of temperate deciduous forests [J]. Biol Invasions, 17(5): 1545-1554.

- KOERSELMAN W, ARTHUR FMM, 1996. The vegetation N : P ratio: a new tool to detect the nature of nutrient limitation [J]. J Appl Ecol, 33(6): 1441-1450.
- KUROKAWA H, PELTZER DA, WARDLE DA, 2010. Plant traits, leaf palatability and litter decomposability for cooccurring woody species differing in invasion status and nitrogen fixation ability [J]. Funct Ecol, 24(3): 513–523.
- LEI YB , FENG YL , ZHENG YL , et al., 2011. Innate and evolutionarily increased advantages of invasive *Eupatorium adenophorum* over native *E. japonicum* under ambient and doubled atmospheric CO₂ concentrations [J]. Biol Invasions, 13(12): 2703–2714.
- LI XX, ZHANG QD, ZHU XZ, 2017. Progress of the research on invasive plant species *Eupatorium adenophorum* over the last decade [J]. Pratac Sci, 34(2): 283-292. [李霞霞, 张钦弟, 朱珣之, 2017. 近十年入侵植物紫茎泽兰研究进 展 [J]. 草业科学, 34(2): 283-292.]
- LI YZ, WEN YZ, YANG XZ et al., 2020. Chemical constituents from ethyl acetate extract of *Eupatorium adenophorum* [J]. Chin Trad Herb Drugs, 51(4): 932-936. [李余钊, 文琰章, 杨新洲, 等, 2020. 紫茎泽兰醋酸 乙酯部位化学成分研究 [J]. 中草药, 51(4): 932-936.]
- LIN WP, FANG DD, WU XM, et al., 2014. Invasion mechanisms of *Ipomoea Cairica* based on ecological stoichiometry: a preliminary investigation [J]. Ecol Environ Sci, 23(10): 1593-1599. [林威鹏, 方丹丹, 吴夏明, 等, 2014. 从生态化学计量学的角度初探五爪金龙(*Ipomoea cairica*)的入侵机制 [J]. 生态环境学报, 23(10): 1593-1599.]
- LIU M, WANG Q, LU YW, et al., 2020. Inhibition effect of *Eupatorium adenophorum* extracts on pathogens of tomato diseases [J]. Shanxi Agric Sci, 48(5): 784-788. [刘朦, 王琦, 鲁一薇, 等, 2020. 紫茎泽兰提取物对番茄病害致 病菌的抑制作用 [J]. 山西农业科学, 48(5): 784-788.]
- LIU X, KONG LJ, YANG K, et al., 2019. Comparative study on soil bacterial community diversity in different invasive regions of *Ageratina adenophora* [J]. J Biol Saf, 28(1): 49-58. [柳旭, 孔令杰, 杨康, 等, 2019. 紫茎泽兰不同入 侵区域土壤细菌群落多样性比较研究 [J]. 生物安全学 报, 28(1): 49-58.]
- LU JZ, QIU W, CHEN JK, et al., 2005. Impact of invasive species on soil properties: Canadian goldenrod (*Solidago canadensis*) as a case study [J]. Biodivers Sci, 13(4): 347-356. [陆建忠, 裘伟, 陈家宽, 等, 2005. 入侵种加拿大一枝黄花对土壤特性的影响 [J]. 生物多样性, 13(4): 347-356.]
- MA MR, YANG J, WANG Q, et al., 2014. Nitrogen and phosphorus stoichiometry and invasion mechanisms of *Solidago canadensis* L. in riparian zone [J]. Sci Environ Sin, 34(6): 1531-1539. [马明睿,杨洁,王强,等, 2014. 河岸带加拿大一枝黄花化学计量学及入侵机理研 究 [J]. 中国环境科学, 34(6): 1531-1539.]
- MA P, GUO SJ, ZHOU QF, et al., 2020. Evaluation of ecosystem quality in Puer City based on GIS [J]. Ecol

Econ, 36(2): 188-195. [马品, 郭三杰, 周芹芳, 等, 2020. 基于 GIS 的普洱市生态系统质量评价 [J]. 生态经济, 36(2): 188-195.]

- MAKINO W, COTNER JB, STERNER RW, et al., 2003. Are bacteria more like plants or animals? Growth rate and resource dependence of bacterial C : N : P stoichiometry [J]. Funct Ecol, 17(1): 121–130.
- MARON JL, CONNORS PG, 1996. A native nitrogen-fixing shrub facilitates weed invasion [J]. Oecologia, 105(3): 302-312.
- Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Determination of nitrogen, phosphorus and potassium in plants: NY/T 2017-2011 [S]. Beijing: China Agriculture Press, 2011: 1. [中华人民共和国农业部. 植物中氮、磷、 钾的测定: NY/T 2017—2011 [S]. 北京:中国农业出版 社, 2011: 1.]
- Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Method for determination of soil total phosphorus: NY/T 88-1988 [S]. Beijing: China Agriculture Press, 1988; 1. [中华人民共和国农业部. 土壤全磷测定法: NY/T 88-1988 [S]. 北京:中国农业出版社, 1988; 1.]
- Ministry of agriculture of the People's Republic of China. Soil Testing — Part 24: Determination of total nitrogen in soil — Automatic kjeldahl apparatus method: NY/T 1121.24-2012
 [S]. Beijing: China Agriculture Press, 2012: 1. [中华人 民共和国农业部. 土壤检测 第 24 部分: 土壤全氮的测定 自动定氮仪法: NY/T 1121.24—2012 [S]. 北京:中国农 业出版社, 2012; 1.]
- Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China. Soil-Determination of organic carbon-Combustion oxidation nondispersive infrared absorption method: HJ 695-2014 [S]. Beijing: China Environmental Science Press, 2014: 1. [中华人民共和国环境保护部. 土壤 有机碳的测定 燃烧氧化-非分散红外法: HJ 695—2014 [S]. 北京:中国环境科学出版社, 2014: 1.]
- MOLE S, 1994. Trade-offs and constraints in plant-herbivore defense theory: a life-history perspective [J]. Oikos, 71(1): 3-12.
- NIU HB, LIU WX, WAN FH, et al., 2007. An invasive aster (Ageratina adenophora) invades and dominates forest understories in China: altered soil microbial communities facilitate the invader and inhibit natives [J]. Plant Soil, 294 (1/2): 73-85.
- NIU HB, LIU WX, WAN FH, 2007. Invasive effects of Ageratina adenophora Sprengel (Asteraceae) on soil microbial community and physical and chamical properties [J]. Acta Ecol Sin, 27(7): 3051-3060. [牛红榜, 刘万 学, 万方浩, 2007. 紫茎泽兰入侵对土壤微生物群落和理 化性质的影响 [J]. 生态学报, 27(7): 3051-3060.]
- PENUELAS J, SARDANS J, LLUSIÀ J, et al., 2010. Faster returns on 'leaf economics' and different biogeochemical niche in invasive compared with native plant species [J]. Global Change Biol, 16(8): 2171-2185.
- QIANG S, 1998. The history and status of the study on crofton weed (*Eupatorium adenophorum* Spreng.) a worst worldwide weed [J]. J Wuhan Bot Res, 16(4): 366-372. [强胜,

1998. 世界性恶性杂草——紫茎泽兰研究的历史及现状 [J]. 武汉植物学研究, 16(4): 366-372.]

- RAHMAT N, PETER EV, KURT P, et al., 2009. Stoichiometric constraints do not limit successful invaders: zebra mussels in Swedish lakes [J]. PLoS ONE, 4(4): e5345.
- REN SJ, YU GR, TAO B, et al., 2007. Leaf nitrogen and phosphorus stoichiometry across 654 terrestrial plant species in NSTEC [J]. Environ Sci, 28(12): 2665-2673. [任书 杰,于贵瑞,陶波,等, 2007. 中国东部南北样带 654 种 植物叶片氮和磷的化学计量学特征研究 [J]. 环境科学, 28(12): 2665-2673.]
- SANG W, ZHU L, AXMACHER JC, 2010. Invasion pattern of *Eupatorium adenophorum* Spreng in southern China [J]. Biol Invasions, 12(6): 1721–1730.
- SARDANS J, PENUELAS J, 2012. The role of plants in the effects of global change on nutrient availability and stoichiometry in the plant-soil system [J]. Plant Physiol, 160(4): 1741-1761.
- SITTERS J, ATKINSON CL, GUELZOW N, et al., 2015. Spatial stoichiometry: cross-ecosystem material flows and their impact on recipient ecosystems and organisms [J]. Oikos, 124(7): 920–930.
- TU CY, HUANGFU CH, JIANG N, et al., 2013. Carbon, nitrogen and phosphorus stoichiometric characteristics of *Flaveria bidentis* in different habitats [J]. Chin Agric Sci Bull, 29(17): 171-176. [屠臣阳,皇甫超河,姜娜,等, 2013. 不同生境黄顶菊碳氮磷化学计量特征 [J]. 中国农 学通报, 29(17): 171-176.]
- VITOUSEK PM, HOWARTH RW, 1991. Nitrogen limitation on land and in the sea: How can it occur? [J]. Biogeochemistry, 13(2): 87-115.
- WANG ML, FENG YL, 2005. Effects of soil nitrogen levels on morphology, biomass allocation and photosynthesis in *Ageratina adenophora* and *Chromoleana odorata* [J]. Chin J Plant Ecol, 29(5): 697-705. [王满莲, 冯玉龙, 2005. 紫 茎泽兰和飞机草的形态、生物量分配和光合特性对氮营养的响应 [J]. 植物生态学报, 29(5): 697-705.]
- WANG R, WANG YZ, 2006. Invasion dynamics and potential spread of the invasive alien plant species Ageratina adenophora (Asteraceae) in China [J]. Divers Distrib, 12(4): 397-408.
- WANG WB, WANG RF, LEI YB, et al., 2013. High resource capture and use efficiency and prolonged growth season contribute to invasiveness of *Eupatorium adenophorum* [J]. Plant Ecol, 214(6): 857–868.
- WANG WQ, XU LL, ZENG CS, et al., 2011. Invasion mechanism of *Spartina alterniflora* in Minjiang River estuarine wetland [J]. J Nat Resour, 26(11): 1900-1907. [王维奇, 徐玲琳, 曾从盛, 等, 2011. 闽江河口湿 地互花米草入侵机制 [J]. 自然资源学报, 26(11): 1900-1907.]
- WINDHAM L, 2001. Comparison of biomass production and decomposition between *Phragmites australis* (common reed) and *Spartina patens* (salt hay grass) in brackish tidal marshes of New Jersey, USA [J]. Wetlands, 21 (2):

179-188.

- XIANG YX, 1991. Distribution, hazards and prevention opinions of *Eupatorium adenophorum* [J]. J Weed Sci, (4): 10-12. [向业勋, 1991. 紫茎泽兰的分布、危害及防除意见[J]. 杂草科学,(4): 10-12.]
- XIAO ZQ, ZHOU GH, QUAN WT, 2009. Distributive pattern of malignant invasive species, *Eupatorium adenophorum* in Yunnan [J]. J Nat Disaster, 18(5): 82-87. [肖正清,周 冠华, 权文婷, 2009. 恶性外来入侵植物紫茎泽兰在云南 的分布格局 [J]. 自然灾害学报, 18(5): 82-87.]
- XIN S, CHENG G, LIANGDONG G, 2013. Changes in soil microbial community and enzyme activity along an exotic plant *Eupatorium adenophorum* invasion in a Chinese secondary forest [J]. Chin Sci Bull, 58(33): 4101-4108.
- YANG LX, CHEN JL, WANG YT, 2017. Study on spatial genetic structure of *Ageratina adenophora* in Nujiang River drainage area [J]. J Green Sci Technol, 2017(5): 9-12. [杨林秀,陈金龙,王亚婷, 2017. 紫茎泽兰种群空间 遗传结构研究 [J]. 绿色科技, 2017(5): 9-12.]
- YOSHIDA T, 2006. Ecological stoichiometry and the shape of resource-based tradeoffs [J]. Oikos, 112(2): 406-411.
- YU XJ, YU D, LU ZJ, et al., 2005. A new mechanism of invader success: Exotic plant inhibits natural vegetation restoration by changing soil microbe community [J]. Chin Sci Bull, 50(9): 896-903. [于兴军,于丹,卢志军,等, 2005. 一个可能的植物入侵机制: 入侵种通过改变入侵地 土壤微生物群落影响本地种的生长 [J]. 科学通报, 50(9): 896-903.]
- YUAN WY, FENG J, ZHANG XY, et al., 2017. Responses of growth of Wedelia trilobata and W. chinensis to soil nutrients [J]. Chin J Ecol, 36(4): 962–970. [袁伟影, 冯进, 张晓雅, 等, 2017. 入侵植物南美蟛蜞菊和本土蟛蜞菊生长对 土壤养分的响应 [J]. 生态学杂志, 36(4): 962–970.]
- ZHANG HX, ZHOU DW, 2016. Current status in seed ecology [J]. Pratac Sci, 33(11): 2221-2236. [张红香, 周道玮, 2016. 种子生态学研究现状 [J]. 草业科学, 33(11): 2221-2236.]
- ZHANG M, MA KX, TANG LL, et al., 2019. The effects of invasive species Amaranthus retroflexus on functional traits of native plant species [J]. Chin J Ecol, 38 (10): 2925 – 2933. [张梅,马可心,唐丽丽,等, 2019. 外来入侵植物 反枝苋对本地植物功能性状的影响 [J]. 生态学杂志, 38(10): 2925–2933.]
- ZHOU LJ, 2006. Genetic variation, clone diversity of invasive species Eupatorium adenophorum [D]. Beijing: Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences. [周凌娟, 2006. 入侵植物紫茎泽兰遗传变异及克隆多样性研究 [D]. 北京: 中国科学院植物研究所.]
- ZHU WD, CAO AC, YAN DD, et al., 2013. Evaluation the efficacy and influence of herbicides on flowering and fruitification of *Eupatorium adenophorum* Spreng [J]. Ecol Environ Sci, 22(5): 820-825. [朱文达,曹坳程,颜冬 冬,等, 2013. 除草剂对紫茎泽兰防治效果及开花结实的 影响 [J]. 生态环境学报, 22(5): 820-825.]

了步植物 Guihaia Dec. 2022, 42(12); 2075-2086

龙成,余志祥,杨永琼,等.干热河谷次生稀树灌木林物种组成变化及群落结构动态 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2075-2086.

http://www.guihaia-journal.com

2075–2086. LONG C, YU ZX, YANG YQ, et al., Dynamics of community composition and structure in secondary savanna shrub forest of arid-hot valley in National Nature Reserve of *Cycas panzhihuaensis* [J]. Guihaia, 2022, 42(12); 2075–2086.

干热河谷次生稀树灌木林物种组成变化及群落结构动态

龙 成1*, 余志祥2, 杨永琼2, 税梅梅3

(1.攀枝花学院 生物与化学工程学院/干热河谷特色生物资源开发四川省高校重点实验室,攀枝花 617000;2.四川攀枝花苏铁国家自然保护区,四川 攀枝花 617000;3.攀枝花市建筑工程学校,四川 攀枝花 617000)

摘 要:为揭示四川攀枝花苏铁国家级自然保护区干热河谷次生稀树灌木林群落演替动态规律,该研究以 2015 年群落内建立的1hm²永久固定样地为研究对象,经 2020 年首轮复查,对物种组成、群落多样性、重要值、 死亡率、补员率以及胸径(DBH)进行调查研究,以分析5年间群落物种组成及结构动态。结果表明:(1) 2020 年,群落木本植物共18种,隶属15科18属,较 2015 年新增1属1种,优势物种组成并无变化,但优势度变化显著。与 2015 年相比,在重要值(IV) > 1的6个种群中,5个树种 IV 增高,仅攀枝花苏铁种群 IV 降低,但其 仍为群落优势建群种,铁橡栎和滇榄仁等乔木种群优势度显著增加。(2) 2020 年,群落中 DBH≥1 cm 的木本 植物个体数增至1710株,平均胸径由11.10 cm 增至11.17 cm。群落年死亡率 0.29%,死亡个体平均胸径 11.84 cm,年补员率 2.75%,补员个体平均胸径 4.96 cm。与 2015 年相比,群落中 7 个种群出现个体死亡,9 个种群出现补员个体。(3) 虽然沙针种群规模缩小,但仍有 9 个种群规模扩大,4 个种群规模保持稳定。只有攀 枝花苏铁和沙针种群平均胸径减小,其余种群平均胸径均有不同程度的增大。随着森林演替的进行,群落内 种间竞争的重要性将逐渐增大,铁橡栎和滇榄仁等乔木树种将在未来演替进程中占据优势地位,但短期内并 不会威胁攀枝花苏铁种群优势地位,大径级植株个体的死亡是其优势度显著降低的主要原因。在未来群落演 替进程中,攀枝花苏铁将与铁橡栎、滇榄仁等乔木树种组成以乔木树种逐渐占据优势的干热河谷次生稀树灌 木林向气候顶极群落演替的过渡型次生林群落。

关键词:物种组成,群落多样性,群落演替,干热河谷次生稀树灌木林,四川攀枝花苏铁国家级自然保护区中图分类号:Q948.15 文献标识码:A 文章编号:1000-3142(2022)12-2075-12

Dynamics of community composition and structure in secondary savanna shrub forest of arid-hot valley in National Nature Reserve of *Cycas panzhihuaensis*

LONG Cheng^{1*}, YU Zhixiang², YANG Yongqiong², SHUI Meimei³

收稿日期: 2021-10-13

基金项目: 四川省重点实验室项目(JDC-2019-C-05);攀枝花市科技创新项目(2018CY-S-33);攀枝花学院校级项目(2020YB028) [Supported by Key Laboratory Project of Sichuan Province(JDC-2019-C-05); Science and Technology Innovation Project of Panzhihua (2018CY-S-33); Project of Panzhihua University(2020YB028)]。

第一作者:龙成(1986-),博士,讲师,主要从事群落生态学研究,(E-mail)longcheng0509@163.com。 通信作者

(1. College of Biology and Chemistry Engineering, Panzhihua University, Panzhihua 617000, Sichuan, China;

2. National Nature Reserve of Cycas panzhihuaensis, Panzhihua 617000, Sichuan, China; 3. Panzhihua

Construction Engineering School, Panzhihua 617000, Sichuan, China)

Abstract: In order to reveal dynamics of community succession of a secondary savanna shrub forest of the arid-hot valley in National Nature Reserve of Cycas panzhihuaensis in Sichuan, based on the first (2020) reexamined data of 1 hm² permanent fixed plot which was established in 2015, community dynamics over the past five years were analyzed by species composition, community diversity, importance value, mortality rate, recruitment rate and diameter at breast height (DBH). The results were as follows: (1) Woody plants in community changed from 15 families, 17 genera, and 17 species in 2015 to 15 families, 18 genera, and 18 species in 2020. There was no significant change for dominant species composition but a significant change for degree of dominance in the past five years. For the six common populations with higher importance values (>1) in 2020, the importance values of five populations increased, and the population of C. panzhihuaensis decreased only, when compared with their importance values in 2015. C. panzhihuaensis was still the most dominant species and constructive species in the plot, but its importance value declined significantly. However, a significant increase of importance values occurred for some arbor species such as Quercus cocciferoides and Terminalia franchetii. (2) The number of woody plants with DBH≥1 had increased to 1 710 until 2020, the average DBH of all woody plant individuals in this community increased from 11.10 cm to 11.17 cm. The average annual mortality was 0.29%, and the average annual recruitment rate was 2.75%, the average DBH of dead and recruited individuals were 11.84 cm and 4.96 cm respectively. Compared with the woody plants living in 2015, individual trees from seven species had died, and those from nine species were recruited over the past five years. (3) The results also indicated that although Osyris quadripartita declined, the populations of nine species increased, and four were stable from 2015 to 2020. The average DBH of Cycas panzhihuaensis and Osyris quadripartita decreased only, but the others increased to different extents. With forest succession, the importance of interspecific competition within community will increase gradually. Dominant position in community will be occupied by arbor tree species such as Quercus cocciferoides and Terminalia franchetii during process of succession in the future, but dominant position of Cycas panzhihuaensis is not threatened in a short term. The main reason of significant decrease of dominance of Cycas panzhihuaensis is plant individual death of larger diameter class. In the future, a transitional-type secondary community from secondary savanna shrub forest to climax which is occupied by arbor tree species gradually will been consisted of Cycas panzhihuaensis, Quercus cocciferoides, Terminalia franchetii and other arbor trees.

Key words: species composition, community diversity, community succession, secondary savanna shrub forest of the arid-hot valley, National Nature Reserve of *Cycas panzhihuaensis*

森林生物多样性的形成与维持机制可以从不同尺度进行研究。在群落尺度上,物种多样性形成和维持机制与森林群落的结构特征密不可分(臧润国等,2001)。森林群落结构和物种组成动态不仅是生态系统过程和功能的基础,也是生物与环境长期相互作用的结果,其能够影响森林生态系统固碳、物质周转率(Xiao et al., 2014),反映群落生产力大小(Zhang & Chen, 2015)和群落抵抗干扰的恢复能力(Jayakaran et al., 2014),还可进一步为研究森林群落的演替规律(Tilman et al., 2006),揭示物种共存、生物多样性维持机制提供重要信息(Loreau et al., 2001)。关于森林群落结

构和特征的研究,国外学者已在喜马拉雅山区 (Shaheen et al., 2012)、巴拿马森林皆伐迹地 (Hooper et al., 2004)、马来西亚热带森林(Khairil et al., 2014)以及热带山地云雾林(Shi & Zhu, 2009)等不同类型的森林群落开展了相关研究,并 发现森林群落结构与海拔、坡度、人为活动和林火 干扰以及土壤特性等因素密切相关。更有学者比 较研究放牧与非放牧条件下,水分梯度对群落植 物物种丰富度(richness)、多样性(diversity)以及 群落物种组成的影响规律(Meyers et al., 2014), 发现人为干扰和水分梯度影响与植物群落结构和 物种多样性相背离的空间自相关现象,也阐明了 不同群落管理措施和入侵物种传播对群落变化起 到推动作用。相应地,国内相关研究也较多(方精 云等,2004;龙文兴等,2011;盛大勇等,2012;许涵 等,2013),且多基于森林固定大样地开展(叶万辉 等,2008;祝燕等,2008;胡跃华等,2010;刘海丰 等,2011;徐丽娜和金光泽,2012;匡旭等,2014)。 这说明建立固定大样地进行森林群落研究普遍被 广泛认可,并已成为森林生物多样性领域研究的 重点方向之一(贺金生等,1998)。近年来,也出现 了对森林群落演替基于永久样地不同角度的研 究,涉及物种组成(陈新鹏,2009)、种群数量(冀艳 利,2016)、群落结构(游诗雪等,2016)、幼苗更新 (刘何铭等,2017)、生长型(汪殷华等,2011)以及 群落多样性(倪端强,2014)等诸多方面。更有学 者尝试从森林群落动态变化角度探究群落演替机 制(Pickett & McDonnell, 1989),涉及不同区域及 类型的森林群落(Gao et al., 2013),不仅阐明了森 林群落种群动态更新的生境波动制约效应与密度 制约机制(汪殷华等,2011),还总结出近似于自然 林更新的人工造林模式(陈晓霞等,2021),并且提 出了森林群落演替和构建机制的整合研究理念

(Chang & HilleRisLambers, 2016) 干热河谷属生态脆弱区,土壤侵蚀严重(杨万 勤等,2002;明庆忠和史正涛,2007; Peng et al., 2013),以"南亚热带为基带的立体气候"高温、干 旱、蒸发量大,这里植物物种较为稀少,但中国特 有物种和濒危物种在此均有分布(杨永等,2015), 发育着以草地和多汁、带刺灌木为主的河谷特殊 类型半稀树草原、稀树草原植物群落(金振洲和欧 晓昆, 2000; 金振洲, 2002; Ma & McConchie, 2001)。国内干热河谷森林群落主要分布在云南 和四川两省(Ma & McConchie, 2001),目前对干热 河谷森林群落的研究主要集中于云南省干热河谷 群落结构(何周窈等,2020)、植物生物量(Yuan et al., 2020)、生物多样性(Liu et al., 2020; Zhang et al., 2020)、植物对土壤养分和水分的利用(Lin et al., 2019)等方面。位于四川攀枝花苏铁国家级 自然保护区内的干热河谷次生稀树灌木林位于保 护区试验区1500 m至2300 m海拔区间,是干热 河谷特殊类型稀树、半稀树草原植物群落——干 热河谷稀树灌木林经人为干扰(放牧)退化后,常 年受季节性焚风效应影响,在山体背风坡形成以 低矮灌木和草本植物为建群种的次生稀树灌木林 群落,并处于向气候顶极[干热河谷常绿针阔叶混 交林(Ma & McConchie, 2001)]演替的次生演替 初级阶段。目前,基于永久固定样地的干热河谷 植物群落动态及演替的研究还较为少见,并且对 四川攀枝花苏铁国家级自然保护区内干热河谷次 生稀树灌木林的研究更是尚未起步。本研究基于 四川攀枝花苏铁国家级自然保护区干热河谷次生 稀树灌木林内1hm²永久固定样地,通过对比分析 2015年和2020年两次样地内每木调查数据,期望 回答以下科学问题:(1)群落5年次生演替对群 落物种组成、多样性及优势度有何影响?(2)群 落各种群动态特征是否依森林演替规律变化? (3)群落次生演替能否对优势物种更迭起到推动 作用。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究地位于川、滇两省交界横断山脉东南前缘 向云贵高原过渡地带的四川攀枝花苏铁国家级自 然保护区(101°32′15″—101°35′46″E、26°36′31″— 26°38′24″N),是金沙江河谷较为典型的地段,地势 陡峭,河谷深切,山体相对高度大,地形封闭。区内 保护对象为干热河谷常绿针阔叶混交林生态系统 及其内部的野生动植物、地貌景观(河谷景观)等。 保护区总面积 13.58 km²,受干热河谷气候效应影 响,研究区属于南亚热带半干旱河谷气候类型,冬 季气候温和,日照充足,热量丰富,年均气温 19.7~ 20.5 ℃,是四川省年均气温最高的地区。5月最热, 12月或1月最冷。6月上旬至10月为雨季,11月 至翌年5月为旱季,年无霜期超过300d。保护区地 势由西北向东南倾斜,北面丰家梁子横亘、纵列"鸡 爪梁子"众多,最高海拔2 259.6 m(团山包),最低海 拔1120m(猴子沟与保护区边界交点),相对高差 1139.6 m。区内大部分岩石主要为震旦系灯影组石 灰岩和奥陶系白云质石灰岩,土壤发育具有较为明 显的垂直分布特征,1 500 m 以下海拔高度分布红 色石灰土,1500m以上为棕黄色石灰土。保护区 内地带性顶极植被为干热河谷常绿针阔叶混交林, 研究样地主要优势物种为攀枝花苏铁 (Cycas panzhihuaensis)、铁橡栎(Quercus cocciferoides)、滇榄 仁(Terminalia franchetii)和蒙桑(Morus mongolica) 等(杨永等,2015)。

1.2 样地概况及调查方法

2015年7—10月,参照美国史密森热带森林科 学研究中心(CTFS)监测样地的建设方法,用全站型 电子速测仪(GTS-102N, Topcon Corporation, Tokyo, Japan),在四川攀枝花苏铁国家级自然保护 区干热河谷次生稀树灌木林内建立了面积1 hm² (100 m×100 m)的固定样地,并将样地划分为400 个5 m×5 m的小样方,标定并调查样方内所有胸 径(diameter at breast height, DBH)≥1 cm的木本植 物,调查内容包括:记录每株植物的学名、胸径大 小、树高以及坐标等,不能现场鉴定的植物种,制成 标本内业鉴定。2020年10月进行复查,对于新出 现的 DBH≥1 cm 的木本植物个体(即补员个体), 调查方法同 2015年;对已有 DBH≥1 cm 的乔木个 体,只调查其胸径、树高和生长状态。

第一次调查表明,样地内 DBH≥1 cm 的木本 植物个体(包括分枝和萌条)1512株,隶属 15 科 17 属 17 种。主要为苏铁科(Cycadaceae)、壳斗科 (Fagaceae)、使君子科(Combretaceae)植物,建群 种为攀枝花苏铁,其他优势种群还包括铁橡栎、滇 榄仁、蒙 桑、岩柿(Diospyros dumetorum)、山 槐 (Albizia kalkora)等。

1.3 数据分析方法

检索 Flora of China (FOC) (http://www. iplant.cn/foc/)和《中国植物志》(FRPS)(http:// www.iplant.cn/frps)在线数据库,核对样地出现的 木本植物物种学名及其生长型。采用重要值表征 物种在群落中的优势程度(叶万辉等,2008),并参 考《植物群落学》(王伯荪,1987)和《植物群落学 实验手册》(王伯荪等,1996)上的方法计算木本植 物各物种的重要值。其中,重要值(importance value, IV)=「相对密度(relative density, RD)+相 对频度(relative frequency, RF)+相对显著度 (relative prominence, RP)]/3。RD=单个种群密 度(density, D)/所有种群密度之和×100,D=种群 个体数 目/取样面积; RF = 种群频度 (frequency, F)/所有种群频度之和×100,F=种群个体出现样 方数/总样方数; RP = 种群显著度 (prominence, P)/所有种群显著度之和×100,P=种群所有个体 胸径高断面积之和。

选取目前应用较为广泛的3个多样性指数来 度量群落物种多样性(张金屯,2011)。按如下公 式计算。 Shannon-Wiener 多样性指数(H):

$$H = -\sum_{i=1}^{s} (P_i \ln P_i)$$
(1)

Pielou 均匀度指数(E):

$$E = \frac{H}{\ln S} \tag{2}$$

Margalef 丰富度指数($R_{\rm M}$):

$$R_{\rm M} = (S-1) / \ln N_{\rm N} \tag{3}$$

公式(1)(2)(3)中:S 为样地中物种总数; $N_{\rm N}$ 为样地中所有物种的个体数之和; P_i 为种 *i* 的个体 在全部个体中的比例, $P_i = n_i / N_{\rm N}$; n_i 为种 *i* 的个 体数。

以死亡率(*m*)、补员率(*r*)和种群大小变化率 (λ)分析种群和群落变化(Condit et al., 1999)。 计算公式如下:

$$m = \frac{\ln n_0 - \ln S_t}{t} \tag{4}$$

$$=\frac{\ln n_{t} - \ln S_{t}}{t}$$
(5)

$$\lambda = \frac{\ln n_t - \ln n_0}{t} \tag{6}$$

在公式(4)(5)(6)中:t为调查间隔时间; n_0 和 n_t 分别为第一次调查和经过t时间后再调查的 种群大小: S_t 为经历t时间后幸存个体的数量。

本研究采用 Excel 数据统计分析, OriginPro 8.0 作图。

2 结果与分析

r

2.1 物种组成和群落多样性

2020年样地木本植物个体总数为1710株,隶属 15科 18属 18种,较 2015年增加1属1种。其中,3个在 2015年记录到的物种 2020年调查中死 亡消失,而在 2020年又记录到4个新物种,死亡 消失和新纪录树种的死亡个体数和补员个体数相 等(表1)。群落 Shannon-Wiener多样性指数变化 最大,增幅 16.11%, Margalef 丰富度指数次之, Pielou均匀度指数增幅最小(表2)。

2.2 主要种群优势度变化

在重要值大于1的常见种群中,仅有1个种群 重要值降低,其余5个种群重要值均有不同程度 增高。攀枝花苏铁仍为群落建群种,但重要值由 69.70(2015)显著降至42.35(2020)。重要值增幅

表 1 2015—2020 年群落死亡和新记录物种

Table 1Death and new recorded species in the
community from 2015 to 2020

物种 Species	个体数 No. of individuals	生长型 Growth form	备注 Remark
银合欢 Leucaena leucocephala	1	灌木 Shrub	2020 年调查时因死亡 而消失的物种 Disappeared populations
羽脉山黄麻 Trema levigata	1	乔木 Arbor	due to death in 2020
野漆 Toxicodendron succedaneum	2	乔木 Arbor	
钝叶黄檀 Dalbergia obtusifolia	1	乔木 Arbor	2020 年调查时新出现 的物种 New recorded species
假烟叶树 Solanum erianthum	1	乔木 Arbor	in 2020
三叶梣 Fraxinus trifoliolata	1	灌木 Shrub	
云南白杨 Populus yunnanensis	1	乔木 Arbor	

表 2 2015—2020 年群落物种多样性的变化

Table 2 Changes of community species diversity from 2015 to 2020

年份 Year	个体数 Number of individuals	Shannon- Wiener 多样性指数 Shannon- Wiener diversity index	Margalef 丰富度 指数 Margalef richness index	Pielou 均匀度指数 Pielou evenness index
2015	1 512	1.02	0.36	2.19
2020	1 710	1.18	0.41	2.28

较大的种群为铁橡栎种群和滇榄仁种群,分别由 13.04(2015-铁橡栎)和6.23(2015-滇榄仁)增至 25.46(2020-铁橡栎)和15.36(2020-滇榄仁)。此 外,蒙桑(3.04~5.65)、岩柿(2.42~3.74)、山槐(1.58~ 3.41)种群的重要值也均有不同程度增高(图1)。

2.3 群落更新

2015—2020年,群落 DBH≥1 cm 的木本植物 个体数由1 512株增至1 710株,增幅 13.1%。死亡 个体 22 株,补员个体 226 株(不计新出现个体)。 群落年死亡率 0.29%,年补员率 2.75%,种群大小 变化率 2.46%。

7个种群出现死亡个体,占2015年种群总数



PZHST. 攀枝花苏铁; TXL. 铁橡栎; DLR. 滇榄仁; MS. 蒙桑; YS. 岩柿; SH. 山槐。PZHST. Cycas panzhihuaensis; TXL. Quercus cocciferoides; DLR. Terminalia franchetii; MS. Morus mongolica; YS. Diospyros dumetorum; SH. Albizia kalkora.

图 1	2015—2020年群落常见种群重要值的变化
Fig. 1	Changes of importance values of common tree
s	pecies in the community from 2015 to 2020

的41.2%。其中,攀枝花苏铁8株、铁橡栎8株、蒙 桑2株、滇榄仁1株、栎叶枇杷1株、野漆1株和云 南山蚂蟥(Desmodium yunnanense)1株。9个种群 出现不同程度的补员,占总树种数的53.0%,其中 攀枝花苏铁10株、铁橡栎85株、滇榄仁93株、蒙 桑14株、岩柿6株、山槐11株、栎叶枇杷 (Eriobotrya prinoides)3株、绿黄葛树(Ficus virens)1 株、云南梧桐(Firmiana major)2株和云南山蚂蟥1 株。5个种群同时出现死亡和补员现象,占总树种 数的29.4%。

群落各种群年死亡率 0~13.86%,年补员率 0.18%~21.97%。9个种群植株个体数量增加,种 群大小变化率 0.04%~21.97%,增幅最大的种群 为云南梧桐,攀枝花苏铁种群增幅较小。4 个种群 植株个体数保持稳定,仅有 1 个种群(沙针)个体 数量降低(表 3)。

2.4 胸径变化

2015—2020年,群落平均胸径由 11.10 cm 增至 11.17 cm,增幅 0.63%。其中,攀枝花苏铁和沙针种群平均胸径降低,分别由 12.59 cm 和 6.82 cm 降至 11.35 cm 和 3.65 cm,降幅分别为 9.81%和 46.57%。其他种群平均胸径均存在不同程度升高,胸径增长率介于 1.40%~6.23%(表 4)。

表 3 2015—2020 年群落各种群的变化

Table 3	Change of each population in the community
	from 2015 to 2020

物种 Species	年死亡 率 Annual mortality rate (%)	年补 员率 Annual recruit- ment rate (%)	种群大小 变化率 Rate of population size change (%)
攀枝花苏铁 Cycas panzhihuaensis	0.15	0.18	0.04
铁橡栎 Quercus cocciferoides	0.70	6.46	5.75
滇榄仁 Terminalia franchetii	0.24	15.03	14.79
蒙桑 Morus mongolica	1.08	6.57	5.49
岩柿 Diospyros dumetorum	0	4.01	4.01
山槐 Albizia kalkora	0	11.60	11.60
沙针 Osyris quadripartita	0	-30.08	-30.08
黄荆 Vitex negundo	0	0	0
栎叶枇杷 Eriobotrya prinoides	8.11	18.33	10.22
红椿 Toona ciliata	0	0	0
绿黄葛树 Ficus virens	0	5.75	5.75
无患子 Sapindus saponaria	0	0	0
云南梧桐 Firmiana major	0	21.97	21.97
云南山蚂蝗 Desmodium vunnanense	e NA	NA	0

注: 2020 年因死亡消失种群以及新增物种未在本表中列出。 Notes: Disappeared populations due to death and new recorded species in 2020 were not listed in this table.

22 株死亡个体平均胸径为 11.84 cm。平均胸 径大于 10 cm 的死亡个体(9 株)中仅有 1 株为蒙 桑,其余皆为攀枝花苏铁,平均胸径 5~10 cm 的死 亡个体数占比较高(13 株,占 59.10%),平均胸径 小于 5 cm 的死亡个体数为 0。226 株补员个体平 均胸径 4.96 cm,其中 128 株(57%)补员个体胸径 介于 5~10 cm,96 株补员个体胸径小于 5 cm,仅有 2 株补员个体胸径大于 10 cm,分别为栎叶枇杷和 云南梧桐(表 5)。

群落各种群中, 仅蒙桑和攀枝花苏铁种群死 亡个体平均胸径大于 10 cm, 其中 5 个种群平均胸 径介于 5~10 cm。存在补员个体的种群平均胸径 多数介于 5~10 cm, 仅 2 个补员种群平均胸径小于 5 cm, 分别为攀枝花苏铁(0 cm)和铁橡栎(2.55 cm)(表 6)。

3 讨论

3.1 群落多样性的变化

干热河谷次生稀树灌木林植株总个体数增至

表 4 2015—2020 年群落常见种群胸径变化

Table 4 Change of DBH of each common population

in the community from 2015 to 2020

物种 Species	平均 Ave DH (c	胸径 rage 3H m)	平均 胸径 増长率 Increase rate of	生长型 Growth form	
	2015	2015 2020 ^{average} (%)			
攀枝花苏铁 Cycas panzhihuaensis	12.59	11.35	-9.81	灌木或小乔木 Shrub or small arbor	
铁橡栎 Quercus cocciferoides	7.08	7.34	3.63	乔木 Arbor	
滇榄仁 Terminalia franchetii	7.64	7.75	1.40	乔木 Arbor	
蒙桑 Morus mongolica	8.31	8.83	6.23	小乔木或灌木 Small arbor or shrub	
岩柿 Diospyros dumetorum	6.77	7.11	4.90	小乔木或乔木 Small arbor or arbor	
山槐 Albizia kalkora	6.83	7.15	4.74	小乔木或灌木 Small arbor or shrub	
沙针 Osyris quadripartita	6.82	3.65	-46.57	灌木或小乔木 Shrub or small arbor	
黄荆 Vitex negundo	5.47	5.62	2.79	灌木或小乔木 Shrub or small arbor	
栎叶枇杷 Eriobotrya prinoides	6.70	7.02	4.78	小乔木 Small arbor	
红椿 Toona ciliata	10.20	10.45	2.45	大乔木 Large arbor	
绿黄葛树 Ficus virens	10.23	10.55	3.09	大乔木 Large arbor	
无患子 Sapindus saponaria	9.35	9.65	3.21	大乔木 Large arbor	
云南梧桐 Firmiana major	10.10	10.27	1.65	乔木 Arbor	
云南山蚂蝗 Desmodium yunnanense	5.80	5.94	2.41	灌木 Shrub	

1710株(2020年),增幅 0.13%。其中,除攀枝花 苏铁外,乔木树种补员个体数较多。说明随着森 林演替的进行,群落结构特征趋于复杂化,可能因 胸径增长(表4)以及冠幅增加而较 2015年的林下 环境更加复杂,异质性更强(表4)(Chazdon, 2008),这有利于更多类型植物(如阳生植物)的幼 苗和幼树存活(Bartels & Chen, 2010)。正因如 此,群落内环境(如光照条件)可能逐渐适于高大 乔木树种的生长,喜阳型灌木树种(攀枝花苏铁) 优势度逐渐降低(图1)(Monsi & Saeki, 2005)。 随着群落演替的进行,群落物种多样性及均匀度 的非显著增加趋势符合物种丰富度随森林

表 5 2015—2020 年群落死亡个体和补员个体的胸径 Table 5 DBH of dead and recruitment individuals in the community from 2015 to 2020

胸径径级	死亡 De indivi	个体 ad duals	补员个体 Recruitment individuals		
DBH Size- class (cm)	个体数 No. of individuals	平均胸径 Average DBH (cm)	个体数 No. of individuals	平均胸径 Average DBH (cm)	
1≤DBH<5	0	0	96	2.31	
$5 \leq DBH < 10$	13	6.71	128	6.87	
$10 \leq DBH < 15$	2	13.25	2	10.25	
$15 \leq DBH < 20$	3	17.57	0	NA	
$20 \leq DBH < 25$	3	22.77	0	NA	
$25 \leq \text{DBH} < 30$	1	25.70	0	NA	
DBH≥30	0	NA	0	NA	

表 6 2015—2020 年群落常见种群

死亡个体和补员个体的胸径

Table 6 DBH of dead and recruitment individuals of the common populations in the community from 2015 to 2020

	平均胸径 Average DBH (cm)			
物种 Species	死亡个体 Dead individual	补员个体 Recruitment individual		
攀枝花苏铁 Cycas panzhihuaensis	20.09	0		
铁橡栎 Quercus cocciferoides	6.51	2.55		
滇榄仁 Terminalia franchetii	9.40	6.81		
蒙桑 Morus mongolica	10.40	7.51		
岩柿 Diospyros dumetorum	NA	6.27		
山槐 Albizia kalkora	NA	6.40		
沙针 Osyris quadripartita	NA	NA		
黄荆 Vitex negundo	NA	NA		
栎叶枇杷 Eriobotrya prinoides	6.10	7.33		
红椿 Toona ciliata	NA	NA		
绿黄葛树 Ficus virens	NA	9.70		
无患子 Sapindus saponaria	NA	NA		
云南梧桐 Firmiana major	NA	9.75		
云南山蚂蝗 Desmodium yunnanense	5.80	5.94		

演替变化的经验性研究结论(Odum, 1969; Zhang & Wu, 2014)。而本研究也说明渐进性物种多样性的升高不仅能发生在原生演替过程中(Whittaker &

Richards, 1989),同样也会出现在干热河谷气候条 件孕育出的干热河谷次生稀树灌木林次生演替阶 段的森林群落。这种随演替进程逐渐增大的物种 多样性格局可能与生态位分化假说相关联(Long et al., 2012)。通常情况下,当群落接近演替顶极 时,由于群落内环境较演替初期的改变,会创造出 更多的生态位空间,植物物种可能更有效地利用 该阶段衍生出的资源(异质性光、水、土壤等环境 条件);占据已分化出的生态位,例如,根据物种自 身生物学特性以及与其他物种间的竞争动态调节 萌发时间,规避季节性的不良环境影响而产生的 时间生态位(Dyer et al., 2000; Geber & Griffen, 2003),亦或再度细化原有生态位空间,以减少物 种间竞争,从而促进群落更多物种共存 (Whittaker, 1965; de Luis et al., 2008; Donohue et al., 2010; Roscher et al., 2011; Cornell, 2013), 这一研究结果也表明当前干热河谷次生稀树灌木 林为进展演替。此外,群落物种均匀度的增加表 明群落生物竞争的重要性将随森林群落次生演替 的进行有所增加(Holdaway & Sparrow, 2006),这 可能与次生演替初期群落相对丰富的资源和较小 的群落及种群密度使群落尚未触及最大环境承载 力相关(Sardans & Peñuelas, 2015)。

3.2 优势树种生态特性的变化

一般地,森林群落次生演替初期的植被源于 经干扰后的原生植物群落,且多处于灌、草阶段 (李俊清和牛树奎,2006)。次生演替初期的干热 河谷次生稀树灌木林内土壤含水量低、空气干燥 等(杨万勤等,2002;明庆忠和史正涛,2007; Peng et al., 2013)环境也适宜阳生灌木、草本植物的生 长发育。因此,2015年攀枝花苏铁的优势度较高 (IV = 69.70)。此时,群落内林冠郁闭程度和生 境异质程度均较高阶演替阶段的群落低(Cornell, 2013),补充生态位尚未形成或生态位尚未细化 (Dyer et al., 2000; Geber & Griffen, 2003), 而经 历5年次生演替,群落内环境异质性和林分郁闭 度均逐渐增加,致使攀枝花苏铁种群个体死亡。 此外,其他常见树种胸径增长带来的竞争压力也 是该种群优势度逐渐降低的原因之一(表4) (Getzin et al., 2006)。由表 6 可知,攀枝花苏铁种 群补员个体均为 DBH=0 cm 的幼苗,具有一定耐 荫蔽能力,其所需空间及资源相对较少,并且以母 株为中心的聚集也能够更好地缓解群落高温、干

旱等不良环境的干扰(杨万勤等,2002;明庆忠和 史正涛,2007; Peng et al., 2013),还能有效发挥 群体效应抵御其他种群可能存在种群间的竞争压 力,故种群保持更新良好(苏爱玲等,2010)。然 而,该种群较大径级个体对资源(尤其光照)需求 较大,虽然干热河谷光照充足,但随着乔木树种胸 径的增大、冠幅扩展以及郁闭度的增加,林下光照 强度逐渐降低,从而影响该种群较大径级个体的 生长,致使种群优势度降低,这与光的耐受性是衡 量植物更新需求和生态位分化的重要指标的研究 结论相似(King et al., 2006)。

3.3 群落更新和演替规律

森林群落中反映更新动态的直接指标为群落 的死亡率和补员率(丁晖等,2018)。就年死亡率 (0.29%) 而言, 较巴拿马 BCI 样地(2.64%) (Condit et al., 1999)、马来西亚 Pasoh 样地 (1.46%)(King et al., 2006)、鼎湖山 20 hm²亚热 带常绿阔叶林样地(1.97%)(周小勇等,2005)、古 田山5 hm²样地(2.02%)(汪殷华等,2011)、百山 祖 5 hm²样地(1.45%)(陈小荣等,2013)、天目山 1 hm²常绿落叶阔叶混交林样地(1.51%)(游诗雪 等,2016)以及武夷山 0.48 hm²样地(1.31%)(丁 晖等,2018)低。群落年补员率(2.75%)则居中, 低于古田山(5.09%)、鼎湖山(3.17%)、武夷山 (2.98%)、巴拿马(2.87%)等样地,但较天目山 (1.86%)、马来西亚(1.65%)、百山祖(0.62%)等 样地高。干热河谷次生稀树灌木林较低的年死亡 率可能源于其尚处于森林次生演替初级阶段,该 阶段群落内植物个体胸径较小(表4),群落密度 较低,且优势种多为阳生的灌木(或小乔木)、草本 物种(李俊清和牛树奎,2006),对群落环境需求相 对较低,物种间的竞争关系或因植株个体胸径较 小、群落密度较低而尚未出现或强度较低,故群落 死亡率较低。此时,群落密度亦尚未达到环境最 大承载力,且群落内空间、资源相对均一丰富 (Sardans & Peñuelas, 2015),致使各种群补员更新 个体的生存概率大幅提高。但该阶段群落内较低 的环境异质性使更多的更新生态位尚未形成或生 态位未被细化(Cornell, 2013),这不利于耐阴或阴 生植物幼苗的更新,因而群落补员率相较上述各 类型群落处于居中位置。

Condit 等(1999) 认为种群变化率大于 5% 的种群为快速变动种群。从群落层面来看,2015—

2020年,干热河谷次生稀树灌木林种群变化速率 较为缓慢(2.46%)。但仍有7个树种种群大小变 化率高于 5%,占 2015 年树种总数的 41.18%,表 明多数种群数量呈增长趋势。群落种群大小变化 率大于 5% 的种群占比较古田山样地(23.26%) (汪殷华等,2011)、武夷山样地(19.75%)(丁晖 等,2016)、BCI 样地(10%)(Condit et al., 1999)、 Pasoh 样地(2%)(King et al., 2006)以及百山祖样 地(0)(陈小荣等,2013)等高(41.18%),这可能与 演替初期的群落内环境异质性较低,资源相对丰 富密不可分,符合物种周转率随林分年龄及演替 阶段逐渐减缓的趋势(Shugart & Hett. 1973)。然 而,在规模增大的种群中,攀枝花苏铁种群变化率 最低(0.04%),说明建群种攀枝花苏铁种群规模 虽也在扩大,但均以小径级个体为主(表 6)且因 群落次生演替而导致的群落内环境(如林冠下光 照)的变化致使其优势度逐渐下降(Whitfeld et al., 2014),种群逐渐势微,易危形势依旧不容忽视,在 无人为干扰情况下,森林群落未来演替路径可能 与攀枝花苏铁种群就地保护产生矛盾,应在日后 种群科学管理中加以关注,尽量在不影响群落次 生演替进程的情况下对攀枝花苏铁种群进行有效 就地保护。即便如此,在今后若干年内,干热河谷 次生稀树灌木林建群种仍为攀枝花苏铁种群,随 着次生演替的进行,建群种攀枝花苏铁种群优势 度将逐渐降低,群落将逐渐演替形成以阳生乔木 (铁橡栎等)与耐阴乔木(滇榄仁等)为建群种,灌 木型种群(如攀枝花苏铁)为伴生种的次生林 群落。

在森林群落演替进程中,虽不能排除更多物 种进入该群落或2020年出现新物种更新良好,从 而影响群落物种组成的情况,但短期内对群落现 有优势种的优势程度影响较小。此外,群落垂直 结构、生物量、种群空间格局及种间关联等方面的 动态变化是否对群落演替动态产生影响?该群落 是否能演替形成区域气候顶极群落?亦或由常年 焚风效应的影响而发生偏途演替?对于这些问题 的解答,尚需日后深入研究。

4 结论

通过对四川攀枝花苏铁国家级自然保护区干 热河谷次生稀树灌木林1hm²固定样地动态监测

(2015-2020年)研究发现:(1) 2020年群落木本 植物共计 15 科 18 属 18 种,较 2015 年增加了 1 属 1种;(2) 群落优势种组成并无变化,但优势度变 化明显,在重要值大于1的6个种群中,5个树种 重要值增高,仅1个降低。攀枝花苏铁种群仍为 群落建群种,但优势度显著下降,而铁橡栎和滇榄 仁种群优势度则显著增加,说明乔木树种未来将 在群落中占据优势地位,攀枝花苏铁种群易危形 势仍不可忽视。(3) 2020 年,群落 DBH≥1 cm 的 木本植物个体数增至1710株,年死亡率0.29%,年 补员率 2.75%,7 个种群出现个体死亡,9 个出现 补员个体。1个种群数量降低.9个上升.4个种群 数量稳定。(4) 群落平均胸径由 11.10 cm 增至 11.17 cm, 死亡个体平均胸径为 11.84 cm, 补员个 体平均胸径为4.96 cm。攀枝花苏铁种群和沙针 种群平均胸径降低,其余种群平均胸径均有不同 程度的增大。这说明虽然攀枝花苏铁种群数量有 所增加,但种群内大径级植株个体的死亡是该种 群优势度显著降低的主要原因,短期并不会失去 优势地位。2015—2020年干热河谷次生稀树灌木 林演替渐趋复杂,物种更新也较为迅速,随着森林 演替的进行,种间竞争重要性将逐渐增大,乔木树 种优势度、更新率的增大预示着群落将进入次生 演替的新阶段,乔木树种将逐渐占据优势。攀枝 花苏铁将与铁橡栎、滇榄仁等乔木树种组成向气 候顶极群落演替的过度型次生林群落。应采取相 应措施减少人为干扰,以便研究干热河谷次生稀 树灌木林次生演替进程,并加强保护力度防止植

致 谢 四川攀枝花苏铁国家级自然保护区 为本研究提供试验场地,该单位工程师李贵能,攀 枝花学院杨庆明、程萍、高青青、任秀、王定宏、谢 宇宣等同学参加野外调查,特此感谢!

参考文献:

被再次退化。

- BARTELS SF, CHEN HYH, 2010. Is understory plant species diversity driven by resource quantity or resource heterogeneity? [J]. Ecology, 91(7): 1931-1938.
- CHANG C, HILLERISLAMBERS J, 2016. Integrating succession and community assembly perspectives [J]. F1000Res, 5: 2294.
- CHAZDON R L, 2008. Tropical forest community ecology [M]. New York: Wiley: 384-409.

- CHEN XP, 2009. A study on community dynamics of coniferous and broadleaf mixed forests in Wuyishan [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University: 11-15. [陈新 鹏, 2009. 武夷山针阔混交林群落动态研究 [D]. 福州: 福建农林大学: 11-15.]
- CONDIT R, ASHTON PS, MANOKARAN N, et al., 1999. Dynamics of the forest communities at Pasoh and Barro Colorado: comparing two 50-ha plots [J]. Philos Trans Roy Soc B Biol Sci, 354(1391): 1739-1748.
- CORNELL H V, 2013. Is regional species diversity bounded or unbounded [J]. Biol Rev, 88(1): 140-165.
- CHEN XR, CHEN YY, LUO ZR, et al., 2013. A 5-year midmountain subtropical evergreen broadleaved forest study in Baishanzu, east China [J]. J Zhejiang A & F Univ, 30(6): 821-829. [陈小荣, 陈圆圆, 骆争荣, 等, 2013. 百山祖中山中亚热带常绿阔叶林群落 5 年动态特征 [J]. 浙江农林大学学报, 30(6): 821-829.]
- CHEN XX, BAO WK, HE QH, et al., 2021. Community dynamics of arbor layer in subalpine forest of western Sichuan by different restoration approaches from 2005—2015 [J]. Chin J Ecol, 40(5): 1253-1263. [陈晓霞,包维楷, 何其华,等, 2021. 2005—2015年不同恢复途径下川西亚 高山森林乔木层群落动态变化 [J]. 生态学杂志,40(5): 1253-1263.]
- DE LUIS M, RAVENTÓS J, WIEGAND T, et al., 2008. Temporal and spatial differentiation in seedling emergence may promote species coexistence in Mediterranean fire-prone ecosystems [J]. Ecography, 31(5): 620-629.
- DING H, XU H, XU XJ, et al., 2018. Community dynamics of arbor layer in the *Castanopsis eyrei* evergreen broad-leaved forest in the Wuyi Mountains, Fujian Province, southeastern China in 2011—2016 [J]. Acta Ecol Sin, 38(20): 7391–7399. [丁 晖,徐 辉,徐鲜钧,等, 2018. 2011—2016 年武 夷山甜槠常绿阔叶林乔木层群落动态. 生态学报, 38(20): 7391-7399.]
- DONOHUE K, RUBIO DCR, BURGHARDT L, et al., 2010. Germination, postgermination adaptation, and species ecological ranges [J]. Ecol Evol Syst, 41(1): 293-319.
- DYER AR, FENECH A, RICE KJ, 2000. Accelerated seedling emergence in interspecific competitive neighbourhoods [J]. Ecol Lett, 3(6): 523-529.
- FANG JY, LI YD, ZHU B, et al., 2004. Community structures and species richness in the montane rain forest of Jianfengling, Hainan Island, China [J]. Biodivers Sci, 12 (1): 29-43. [方精云,李意徳,朱彪,等, 2004. 海南岛 尖峰岭山地雨林的群落结构、物种多样性以及在世界雨 林中的地位 [J]. 生物多样性, 12(1): 29-43.]
- GAO XM, ZHAO YJ, YANG XJ, et al., 2013. Linking trait differences to community dynamics: evidence from *Eupatorium adenophorum* and co-occurring native species during a three-year succession [J]. PLoS ONE, 8(1): e50247.

- GEBER MA, GRIFFEN LR, 2003. Inheritance and natural selection on functional traits [J]. Int J Plant Sci, 164(S3): S21–S42.
- GETZIN S, DEAN C, HE FL, et al., 2006. Spatial patterns and competition of tree species in a Douglas-fir chronosequence on Vacouver Island [J]. Ecography, 29(5): 671-682.
- HE JS, LIU CR, MA KP, 1998. Standards and methods for forest biodiversity monitoring [M]. Beijing: China Forestry Publishing House: 331-347. [贺金生, 刘灿然, 马克平, 1998. 森林生物多样性检测规范和方法 [M]. 北京: 中国 林业出版社: 331-347.]
- HE ZY, WANG Y, SU ZA, et al., 2020. Differences in vegetation community structure in hot-dry valleys in Yunnan Province related to valley stability [J]. Acta Pratac Sin, 29 (9): 28-37. [何周窈, 王勇, 苏正安, 等, 2020. 干热河 谷冲沟沟头活跃度对植物群落结构的影响 [J]. 草业科 学, 29(9): 28-37.]
- HOLDAWAY RJ, SPARROW AD, 2006. Assembly rules operating along a primary riverbed-grassland successional sequence [J]. J Ecol, 94(6): 1092–1102.
- HOOPER ER, LEGENDER P, CONDIT R, 2004. Factors affecting community composition of forest regeneration in deforested, abandoned land in Panama [J]. Ecology, 85(12): 3313-3326.
- HU YH, CAO M, LIN LX, 2010. Dynamics of trees species composition and community structure of a tropical seasonal rain forest in Xishuangbanna, Southwest China [J]. Acta Ecol Sin, 30(4): 949-957. [胡跃华,曹敏,林露湘, 2010. 西双版纳热带季节雨林的树种组成和群落结构动态 [J]. 生态学报, 30(4): 949-957.]
- JAYAKARAN AD, WILLIAMS TM, SSEGANE H, et al., 2014. Hurricane impacts on a pair of coastal forested watersheds: implications of selective hurricane damage to forest structure and streamflow dynamics [J]. Hydrol Earth Syst Sci, 18(3): 1151-1164.
- JI YL, 2016. Species diversity of woody plant and update dynamics research of dominant populations in 24 ha sample plot at Gutian Mountain National Reserve [D]. Jinhua: Zhejiang Normal University: 49-53. [冀艳利, 2016. 古田 山 24 ha 样地木本植物物种多样性及优势种群更新动态 研究 [D]. 金华: 浙江师范大学: 49-53.]
- JIN ZZ, 2002. Floristic features of dry-hot and dry-warm valleys
 [M]. Kunming: Yunnan Science an Technology Press: 10-11.
 [金振洲, 2002. 滇川干热河谷与干暖河谷植物区系特征 [M]. 昆明: 云南科技出版社: 10-11.]
- JIN ZZ, OU XK, 2000. Yuanjiang, Nujiang, Jinshajiang, Lancangjiang vegetation of dry-hot valley [M]. Kunming: Yunnan University Press and Yunnan Science and Technology Press: 141-214. [金振洲, 欧晓昆, 2000. 元 江、怒江、金沙江、澜沧江干热河谷植被[M]. 昆明: 云南 大学出版社和云南科技出版社: 141-214.]

- KHAIRIL M, JULIANA WW, NIZAM MS, 2014. Edaphic influences on tree species composition and community structure in a tropical watershed forest in peninsular Malaysia [J]. J Trop For Sci, 26(2): 284–294.
- KING DA, DAVIES SJ, NOOR NSM, 2006. Growth and mortality are related to adult tree size in a Malaysian mixed dipterocarp forest [J]. For Ecol Manag, 223(1): 152–158.
- KUANG X, XING DL, ZHANG ZC, et al., 2014. Species composition and community structure of a spruce-fir forest and a larch forest on the northern slope of Changbai Mountains, Northeast China [J]. Chin J Appl ecol, 25(8): 1-10. [匡旭, 邢丁亮, 张昭臣, 等, 2014. 长白山北坡云 冷杉林和落叶松林样地物种组成与群落结构 [J]. 应用 生态学报, 25(8): 1-10.]
- LI JQ, NIU SK, 2006. Forestry ecology [M]. Beijing: Higher Education Press: 316-322. [李俊清, 牛树奎, 2006. 森林 生态学 [M]. 北京: 高等教育出版社: 316-322.]
- LIN YM, CHEN AM, YAN SW, et al., 2019. Available soil nutrients and water content affect leaf nutrient concentrations and stoichiometry at different ages of *Leucaena leucocephala* forests in dry-hot valley [J]. J Soils Sed, 19(9): 511–521.
- LIU XF, MA YP, WAN YM, et al., 2020. Genetic Diversity of *Phyllanthus emblica* from two different climate type areas [J]. Front Plant Sci, 11(1): 580812.
- LIU HF, LI L, SANG WG, 2011. Species composition and community structure of the Donglingshan forest dynamic plot in a warm temperate deciduous broad-leaved secondary forest, China [J]. Biodivers Sci, 19(2): 232-242. [刘海 丰,李亮, 桑卫国, 2011. 东灵山暖温带落叶阔叶次生林 动态监测样地:物种组成与群落结构 [J]. 生物多样性, 19(2): 232-242.]
- LIU HM, MA ZP, YANG QS, et al., 2017. Relationships between established seedling survival and growth in evergreen broad-leaved forest in Tiantong [J]. Biodivers Sci, 25(1): 11-22. [刘何铭, 马遵平, 杨庆松, 等, 2017. 天童常绿阔 叶林定居幼苗存活和生长的关联 [J]. 生物多样性, 25(1): 11-22.]
- LONG WX, YANG XB, LI DH, 2012. Patterns of species diversity and soil nutrients along a chronosequence of vegetation recovery in Hainan Island, South China [J]. Ecol Res, 27(3): 561-568.
- LONG WX, ZANG RG, DING Y, 2011. Community characteristics of tropical montane evergreen forest and tropical montane dwarf forest in Bawangling National Nature Reserve on Hainan Island, South China [J]. Biodivers Sci, 19(5): 558-566. [龙文兴, 臧润国, 丁易, 2011. 海南岛 霸王岭热带山地常绿林和热带山顶矮林群落特征 [J]. 生物多样性, 19(5): 558-566.]
- LOREAU M, NAEEM S, INCHAUSTI P, et al., 2001. Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges [J]. Science, 294(5543): 804–808.
- MA HC, MCCONCHIE JA, 2001. The dry-hot valleys and

forestation in southwest China [J]. J Forest Res, 12(1): 35-39.

- MEYERS LM, DEKEYSER ES, NORLAND JE, 2014. Differences in spatial autocorrelation (SAc), plant species richness and diversity, and plant community composition in grazed and ungrazed grasslands along a moisture gradient, North Dakota, USA [J]. Appl Veg Sci, 17(1): 53-62.
- MING QZ, SHI ZT, 2007. New discussion on dry valley formation in the three parallel rivers region [J]. J Desert Res, 27(1): 99-104. [明庆忠, 史正涛, 2007. 三江并流 区干热河谷成因新探析 [J]. 中国沙漠, 27(1): 99-104.]
- MONSI M, SAEKI T, 2005. On the factor light in plant communities and its importance for matter production [J]. Ann Bot, 95(3): 549-567.
- NI DQ, 2014. Studied on the community structure and dynamics of typical coniferous and broad-leaved mixed forests in Changbai Mountain region [D]. Beijing: Beijing Forestry University: 65-78. [倪端强, 2014. 长白山典型针阔混交 林群落结构与动态研究 [D]. 北京: 北京林业大学: 65-78.]
- ODUM EP, 1969. The strategy of ecosystem development [J]. Science, 164(3877): 262-270.
- PENG SL, CHEN AQ, FANG HD, et al., 2013. Effects of vegetation restoration types on soil quality in Yuanmou dryhot valley, China [J]. Soil Sci Plant Nutr, 59 (3): 347-360.
- PICKETT STA, MCDONNELL MJ, 1989. Changing perspectives in community dynamics: A theory of successional forces [J]. Trends Ecol Evol, 4(8): 241-245.
- ROSCHER C, KUTSCH WL, KOLLE O, et al., 2011. Adjustment to the light environment in small-statured forbs as a strategy for complementary resource use in mixtures of grassland species [J]. Ann Bot, 107(6): 965–979.
- SARDANS J, PEÑUELAS J, 2015. Potassium: a neglected nutrient in global change [J]. Global Ecol Biogeogr, 24(3): 261-275.
- SHAHEEN H, ULLAH Z, KHAN SM, et al., 2012. Species composition and community structure of western Himalayan moist temperate forests in Kashmir [J]. For Ecol Manag, 278: 138-145.
- SHENG DY, ZHUANG XY, XU H, et al., 2012. Community structure of endemic woody plants in tropical montane rainforest of Jianfengling, Hainan Island, China [J]. Chin J Plant Ecol, 36(9): 935-947. [盛大勇, 庄雪影, 许涵, 等, 2012. 尖峰岭热带山地雨林海南特有木本植物群落结 构 [J]. 植物生态学报, 36(9): 935-947.]
- SHI JP, ZHU H, 2009. Tree species composition and diversity of tropical mountain cloud forest in the Yunnan, southwestern China [J]. Ecol Res, 24(1): 83–92.
- SHUGART HH, HETT JM, 1973. Succession: similarities of species turnover rates [J]. Science, 180 (4093):

1379-1381.

- SU AL, XU GP, DUAN JC, et al., 2010. Community structure and point pattern analysis on main plant populations of *Potentilla fruticosa* shrub meadow in Qilian Mountain [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 30(6): 1231-1239.
 [苏爱玲,徐广平,段吉闯,等, 2010. 祁连山金露梅灌丛 草甸群落结构及主要种群的点格局分析 [J]. 西北植物 学报, 30(6): 1231-1239.]
- TILMAN D, REICH PB, KNOPS JMH, 2006. Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment [J]. Nature, 441(7093): 629-632.
- WANG BS, 1987. Plant Community [M]. Beijing: Higher Education Press: 27-28. [王伯荪, 1987. 植物群落学 [M]. 北京:高等教育出版社: 27-28.]
- WANG BS, YU SX, PENG SL, 1996. Experimental manual of plant community [M]. Guangzhou: Guangdong Higher Education Press: 6-7. [王伯荪, 余世孝, 彭少麟, 1996. 植物群落学实验手册 [M]. 广州: 广东高等教育出 版社: 6-7.]
- WANG YH, MI XC, CHEN SW, et al., 2011. Regeneration dynamics of major tree species during 2002—2007 in a subtropical evergreen broad-leaved forest in Gutianshan National Nature Reserve in East China [J]. Biodivers Sci, 19(2): 178-189. [汪殷华, 米湘成, 陈声文, 等, 2011. 古田山常绿阔叶林主要树种 2002—2007 年间更新 动态 [J]. 生物多样性, 19(2): 178-189.]
- WHITFELD TJS, LASKY JR, DAMAS K, et al., 2014. Species richness, forest structure, and functional diversity during succession in the new Guiea lowlands [J]. Biotropica, 46(5): 538-548.
- WHITTAKER RH, 1965. Dominance and diversity in land plant communities [J]. Science, 147(3655): 250–260.
- WHITTAKER RH, RICHARDS K, 1989. Plant recolonization and vegetation succession on the Krakatau Island, Indonesia [J]. Ecol Monogr, 59(2): 59-123.
- XIAO Y, ZHOU GY, ZHANG QM, et al., 2014. Increasing active biomass carbon may lead to a breakdown of mature forest equilibrium[J]. Sci Rep, 4(4): 1-6.
- XU H, LI YD, LUO TS, et al., 2013. Environmental factors correlated with species diversity in different tropical rain forest types in Jianfengling, Hainan Island, China [J]. Chin J Plant Ecol, 37(1): 26-36. [许涵,李意徳,骆土寿, 等, 2013. 海南尖峰岭不同热带雨林类型与物种多样性变 化的环境因子 [J]. 植物生态学报, 37(1): 26-36.]
- XU LN, JIN GZ, 2012. Species composition and community structure of a typical mixed broad-leaved-Korean pine (*Pinus koraiensis*) forest plot in Liangshui Nature Reserve, Northeast China [J]. Biodivers Sci, 20(4): 470-481. [徐 丽娜,金光泽, 2012. 小兴安岭凉水典型阔叶红松林动态 监测样地:物种组成与群落结构 [J]. 生物多样性, 20(4): 470-481.]
- YANG WQ, WANG KY, SONG GY, et al., 2002. Investigation

on ecological safety in the dry-hot valley of Jinsha River [J]. Chin J Eco-Agric, 10(3): 116-118. [杨万勤, 王开 运, 宋光煜, 等, 2002. 金沙江干热河谷典型区生态安全 问题探析 [J]. 中国生态农业学报, 10(3): 116-118.]

- YANG Y, MO X, LIU B, et al., 2015. Color flora of the Sichuan Panzhihua *Cycas* National Nature Reserve in the valley of the Jinsha River in Southwest China [M]. Beijing: Higher Education Press: 1-2. [杨永, 莫旭, 刘冰, 等, 2015. 金沙江河谷四川攀枝花苏铁国家级自然保护区彩 色植物图志 [M]. 北京:高等教育出版社: 1-2.]
- YE WH, CAO HL, HUANG ZL, et al., 2008. Community structure of a 20 hm² lower subtropical evergreen broadleaved forest plot in Dinghushan, China [J]. Chin J Plant Ecol, 32 (2): 274-286. [叶万辉, 曹洪麟, 黄忠良, 等, 2008. 鼎 湖山南亚热带常绿阔叶林 20 公顷样地群落特征研究 [J]. 植物生态学报, 32(2): 274-286.]
- YOU SX, ZHANG C, KU WP, et al., 2016. Community dynamics of arbor layer in the mixed evergreen and deciduous broad-leaved forests during 1996—2012 in Tianmu Mountain [J]. Sci Silv Sin, 52(10): 1-9. [游诗雪, 张 超, 库伟鹏, 等, 2016. 1996—2012 天目山常绿落叶阔叶混交林乔木 层群落动态[J]. 林业科学, 52(10): 1-9.]
- YUAN Y, XIONG DH, WU H, et al., 2020. Spatial variation of soil physical properties and its relationship with plant biomass in degraded slopes in dry-hot valley region of Southwest China [J]. J Soils Sed, 20(5): 2354-2366.
- ZANG RG, YANG YC, JIANG YX, 2001. Community structure and tree species diversity characteristics in a tropical montane rain forest in Bawangling Nature Reserve, Hainan Island [J]. Chin J Plant Ecol, 25(3): 270-275. [臧润国, 杨彦承, 蒋有绪, 2001. 海南岛霸王岭热带山地雨林群落

结构及树种多样性特征的研究 [J]. 植物生态学报, 25(3): 270-275.]

- ZHANG Y, CHEN HYH, 2015. Individual size inequality links forest diversity and above-ground biomass [J]. J Ecol, 13(5): 1245-1252.
- ZHANG JY, WU YX, 2014. Changes in diversity and importance of clonal plants during sand dune succession in northeastern China [J]. Ecol Res, 29(3): 393–399.
- ZHANG JT, 2011. Quantitative ecology [M]. 2nd ed. Beijing:
 Science Press: 87 91. [张金屯, 2011. 数量生态学
 [M]. 第二版. 北京:科学出版社: 87-91.]
- ZHANG YB, WU HD, YANG J, et al., 2020. Environmental filtering and spatial processes shape the beta diversity of liana communities in a valley savanna in southwest China [J]. Appl Veg Sci, 23(4): 482-494.
- ZHOU XY, HUANG ZL, OUYANG XJ, et al., 2005. Succession of the original *Castanopsis chinensis-Cryptocarya chinensis-Schima superba* community of monsoom evergreen broad-leaved forest in Dinghushan Nature Reserve [J]. Acta Ecol Sin, 25(1): 37-44. [周小勇, 黄忠良, 欧阳学军, 等, 2005. 鼎湖山季风常绿阔叶林原锥栗-厚壳桂-荷木 群落演替 [J]. 生态学报, 25(1): 37-44.]
- ZHU Y, ZHAO GF, ZHANG LW, et al., 2008. Community composition and structure of Gutianshan forest dynamic plot in a mid-subtropical evergreen broad-leaved forest, East China [J]. Chin J Plant Ecol, 32(2): 262-273. [祝燕, 赵 谷风,张俪文, 等, 2008. 古田山中亚热带常绿阔叶林动 态监测样地—群落组成与结构 [J]. 植物生态学报, 32(2): 262-273.]

(责任编辑 李 莉)

附表 四川攀枝花苏铁国家级自然保护区干热河谷次生稀树灌木林1hm²固定样地木本植物名录(2020年)

Attachedlist 1 hm² fixed sample plot woody plant list for secondary savanna shrub forest of arid-hot valley in National Nature Reserve of *Cycas panzhihuaensis* (in 2020)

物种名 Species name	拉丁名 Latin
攀枝花苏铁	Cycas panzhihuaensis
铁橡栎	Quercus cocciferoides
滇榄仁	Terminalia franchetii
蒙桑	Morus mongolica
岩柿	Diospyros dumetorum
山槐	Albizia kalkora
黄荆	Vitex negundo
红椿	Toona ciliata
云南梧桐	Firmiana major
栎叶枇杷	Eriobotrya prinoides
绿黄葛树	Ficus virens
沙针	Osyris quadripartita
无患子	Sapindus saponaria
钝叶黄檀	Dalbergia obtusifolia
假烟叶树	Solanum erianthum
云南山蚂蝗	Desmodium yunnanense
云南白杨	Populus yunnanensis
三叶梣	Fraxinus trifoliolata

了步植物 Guihaia Dec. 2022, 42(12); 2087-2098

洗康华, 苏江, 付传明, 等. 不同生长年限华重楼根际土壤微生物多样性研究 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2087-2098.

XIAN KH, SU J, FU CM, et al. Microbial diversity in rhizosphere soil of *Paris polyphylla* var. *chinensis* in different growth years [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2087–2098.

不同生长年限华重楼根际土壤微生物多样性研究

冼康华1,苏 江1,付传明1,何 文1,刘宝骏1,谢东斌2,黄宁珍1,何金祥1*

(1. 广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室, 广西壮族自治区 广西植物研究所, 广西 桂林 541006;
 2. 百色学院 农业与食品工程学院, 广西 百色 533000)

摘要:为探究华重楼生长发育与土壤微生物群落结构变化的关系,该研究利用 Illumina 高通量测序技术 对3年生、5年生、7年生、9年生等4个不同生长年限的华重楼根际土壤细菌16S rRNA 和真菌18S 序列进 行测序分析。结果表明:(1)不同生长年限根际土壤中主要优势细菌均为变形菌门、酸杆菌门、放线菌门和 绿弯菌门;优势真菌为子囊菌门、担子菌门与毛霉门。(2)不同生长年限华重楼根际土壤中细菌物种较真菌 物种更丰富,多样化程度更高。细菌多样性随着华重楼生长年限的增加呈降低、升高、再降低的"Η"型规 律,最低点在第5年,最高点在第7年;真菌多样性则随着生长年限的增加呈先升高后下降的"A"型规律, 最高点在第7年。细菌群落丰富度随着生长年限的增加呈先升高后下降的"A"型规律,第7年时丰富度最 高;而真菌丰富度随着生长年限增长变化不大。(3) UPGMA 聚类分析显示,随着生长年限的推进根际土壤 微生物群落结构演变明显,细菌群落演变比较剧烈的时期是在定植后第7年,而真菌群落则在定植后第5 年。(4) Spearman 相关性分析发现,速效钾和全氮是影响华重楼根际土壤细菌组成的主要因子,全钾是影 响真菌组成的主要因子。综上认为,不同生长发育时期的华重楼根际土壤微生物群落组成和结构不同,而 第5至第7年是根际土壤微生物群落多样性发生重大变化的关键时期。 关键词:华重楼,根际,土壤,微生物群落,多样性,高通量测序

中图分类号: Q948 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022) 12-2087-12

Microbial diversity in rhizosphere soil of *Paris polyphylla* var. *chinensis* in different growth years

XIAN Kanghua¹, SU Jiang¹, FU Chuanming¹, HE Wen¹, LIU Baojun¹, XIE Dongbin², HUANG Ningzhen¹, HE Jinxiang^{1*}

 (1. Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China;
 2. College of Agriculture and Food Engineering, Baise University, Baise 533000, Guangxi, China)

基金项目: 广西自然科学基金青年基金(2020GXNSFBA297007); 桂林市科学研究与技术开发计划项目(20170227; 20190215-2); 广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室项目(19-050-6; 17-259-23) [Supported by Guangxi Natural Science Youth Foundation (2020GXNSFBA297007); Project of Scientific Research and Technology Development Plan of Guilin(20170227; 20190215-2); Project of Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain(19-050-6; 17-259-23)]。

第一作者: 洗康华(1988-),硕士,助理研究员,主要从事植物生物技术和珍稀濒危植物保育研究,(E-mail)294258305@qq.com。 ¹ 通信作者:何金祥,研究员,主要从事植物保护及生物防治技术研究,(E-mail)45257545@qq.com。



收稿日期: 2021-11-29

Abstract: In order to explore the relationship between the growth of Paris polyphylla var. chinensis and the microbial community structure changes of the rhizosphere soil, the Illumina high-throughput sequencing technique was used to sequence the 16S rRNA gene of bacteria and 18S sequences of fungal at four different growth years, including three years, five years, seven years and nine years. The results were as follows: (1) Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria and Chloroflexi were dominant bacteria in the rhizosphere soil of P. polyphylla in different growth years. The dominant fungi phylas were Ascomycota, Basidiomycota and Mucoromycota. (2) The bacterium species in the rhizosphere of Paris polyphylla in different growth years were more abundant than fungus species, and the degree of diversification was higher. The bacterial diversity decreased first and increased, and then decreased again with the increase of growth years showed a pattern of "N", and the lowest point was in the 5th year and the highest point was in the 7th year. The fungal diversity showed a pattern of "A" that first increased and then decreased with the increase of growth years, and the highest point was in the 7th year. The abundance of bacterial communities also showed a pattern of "A" that first increased and then decreased with the increase of growth years, and the highest point was also in the 7th year. The abundance of fungi did not change much as the year growing. (3) The UPGMA cluster analysis showed that the microbial community structure of the rhizosphere soil evolved significantly. The period that the bacterial community evolved more drastically was in the 7th year after planting, and the fungal community was in the 5th year. (4) Spearman correlation analysis found that total nitrogen and available potassium were the main factors affecting the composition of rhizosphere soil bacteria, and total potassium was the main factor affecting the composition of fungi. All the above results indicate that the composition and structure of the soil microbial community in the rhizosphere of wild P. polyphylla at different growth and development stages, and the 5th to the 7th year is a critical period for significant changes in the diversity of the soil microbial community.

Key words: Paris polyphylla var. chinensis, rhizosphere, soil, microbial community, diversity, high throughput sequencing

华重楼(Paris polyphylla var. chinensis)为百合 科重楼属多年生草本植物,是我国传统名贵中药, 具有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊等功效,是我 国云南白药、宫血宁、百宝丹、热毒清、季德盛蛇 药、抗病毒颗粒、总皂苷片等许多著名中成药的主 要原料(袁理春等,2004;汤海峰等,1998),具有重 要的开发应用价值。根际是土壤---根系---微生物 三者紧密结合、相互影响的场所 (Butler et al., 2003)。根际微生物的适当生长可刺激植物根系 的生长,增加根系的吸收面积,促进植物对各种元 素的吸收,同时根际土壤微生物也是衡量土壤肥 力和养分的重要指标(王静等,2015;李航等, 2016;全鑫等,2016)。药用植物产生的黄酮、生物 碱、萜类等次级代谢产物丰富,在生长过程中很容 易释放到土壤中,从而引起植物根际土壤理化性 质的改变,最终导致根际微生物的变化 (Nihorimbere et al., 2011)。不同植物以及同一植 物不同的生长发育时期,或者同一植物的不同基 因型之间,对营养元素的偏好和吸收程度不同,其 根系分泌物组成、分泌量和累积程度也存在着较 大的差异,从而使根际土壤微生物结构发生改变 (Garbeva et al., 2008; 韩玉竹等, 2010)。魏志华等 (2010)对2年生和10年生连翘根际微生物和土 壤酶活性进行的研究结果表明,随着连翘生长年 限的延长,根际微生物总量呈上升趋势,其中细菌 和真菌数量增加,放线菌数量减少。大多药用植 物连作障碍研究均表明,连作会使药用植物根际 微生物从高肥力的"细菌型土壤"向低肥力的"真 菌型土壤"转变或者破坏了根际微生物种群的平 衡(李琼芳,2006;何江华等,2008;乔卿梅等, 2009)。根际微生物群落结构失调及病原菌数量 增加是造成药用植物连作障碍的主要原因(李勇 等,2010)。因此,研究不同生长年限药用植物生 长发育对根际土壤微生物群落多样性的影响,对 了解药用植物根际土壤状态、促进植株生长、防治 地下病虫害及提高药材品质等有十分重要的 意义。

华重楼生长周期长,通常从种子到药材需要 8~10 a时间,长时间的单一化种植极易引发连作 障碍,导致华重楼的品质和产量难以得到保障。 近年来,华重楼根际微生物的研究主要是关于不 同栽培环境和不同品种等方面(周浓等,2015;张 静等,2016;郑梅霞等,2020),而对不同生长发育 期华重楼与根际微生物多样性变化的研究较少, 土壤微生物群落组成结构变化与华重楼生长年限 的关系仍不清楚。鉴于此,本研究采集不同生长 年限野生华重楼的根际土壤,利用 Illumina 高通量 测序技术对土壤细菌 16S rRNA 和真菌 18S 序列 进行测序,对不同生长年限野生华重楼根际微生 物群落组成结构及多样性进行研究,探讨华重楼 生长发育对其定植地微生物群落组成和多样性的 影响规律,为人工栽培华重楼及探寻其根茎病害 发生的生理生态机制及相应的生物防治方法提供 科学依据。

1 材料与方法

1.1 土壤样品采集和处理

华重楼每年冬季地上部茎秆倒伏,根茎上会 留下刻痕,常规可以按根茎上刻痕的数量来判断 不同生长年限(苏海兰等,2020)。土样采集按照 鲍士旦的方法(鲍士旦,2000),2018 年 9 月在广 西金秀县华重楼野外自然分布区采用随机多点混 合的原则,每个采样点选取生长健康、长势一致、 刻痕数相同(1个刻痕代表生长1a)的华重楼10 株,收集根系及附着其上 0~0.5 cm 的土壤作为根 际土,将混匀的根际土壤放入无菌塑料袋中,用标 签记录采样的信息,放入户外保鲜箱后立即带回 实验室,每个采样点3次重复。每个土壤样品采 集后分成2份:一份置于-80℃下保存,用于土壤 DNA 提取及后续的细菌 16S rRNA 和真菌 18S rRNA 测序:另一份室内自然风干,研磨,过2 mm 筛,用于土壤理化性质测定。由于野生华重楼生长 年份的不可控性,根据本次采样的实际情况结合重 楼主要药用成分重楼皂苷的积累规律(张烨等, 2011; 王琳娜等, 2018), 因此选择3年生、5年生、7 年生和9年生4个不同生长年限华重楼的根际土样 开展土壤微生物多样性研究,土壤信息如表1所示。

1.2 根际土壤微生物群落组成及多样性分析

1.2.1 土壤微生物 DNA 的提取、PCR 扩增和测 序 土壤微生物总 DNA 使用上海生工生物工程股 份有限公司的土壤基因组 DNA 快速抽提试剂盒提 取;提取后 DNA 样品用干冰寄送到上海美吉生物医 药科技有限公司进行测序。整个上机流程,包括 PCR 的扩增、PCR 产物的混样和纯化及文库的构 建。对细菌 V3~V4 区进行扩增的引物采用 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')。扩增程序:95 ℃预变性 3 min;95 ℃变性 30 s;53 ℃退火 30 s;72 ℃延伸45 s;持续28个循环周期;72 ℃延伸10 min。 对真菌 V5~V7 区进行扩增的引物采用 SSU0817F (5'-TTAGCATGGAATAATRRAATAGGA-3')和1196R (5'-TCTGGACCTGGTGAGTTTCC-3')。扩增程序: 95 ℃预变性 3 min:95 ℃变性 30 s:53 ℃ 退火 30 s;72 ℃延伸 45 s;持续 37 个循环周期;72 ℃延伸 10 min。扩增产物利用美吉生物 Illumina 平台进 行测序。

表 1 不同生长年限华重楼根际土壤信息 Table 1 Information of rhizosphere soils of *Paris*

polyphylla var. chinensis in different growth years

样品编号 Sample code	生长年份 Growth years	采集地点 Collection location	经纬度 Latitude and longitude	海拔 Altitude (m)
JY1	3年 3 years	金秀香草岭 Vanilla Ridge in Jinxiu County	110°12′23″ E 24°8′54″ N	1 300
JY2	5年 5 years	金秀香草岭 Vanilla Ridge in Jinxiu County	110°12′10″ E 24°8′55″ N	1 250
JY3	7年 7 years	金秀香草岭 Vanilla Ridge in Jinxiu County	110°12'10" E 24°8'57" N	1 200
JY4	9年 9 years	金秀香草岭 Vanilla Ridge in Jinxiu County	110°12′12″ E 23°54′60″ N	1 210

1.2.2 微生物组测序数据质控与分析 对测序得到 的原始数据进行拼接质控,得到有效数据。采用 Uparse 软件平台进行 OTU (operational taxonomic units)聚类和物种信息分析。OTU 聚类步骤:(1)对 优化序列提取非重复序列,便于降低分析中间过程 冗余计算量;(2)去除没有重复的单序列;(3)按照 97%相似性对非重复序列(不含单序列)进行 OTU 聚类,在聚类过程中去除嵌合体,得到 OTU 的代表 序列;(4)将所有优化序列 map 至 OTU 代表序列, 选出与代表序列相似性在 97%以上的序列,生成 OTU 表格。采用 RDP classifier 贝叶斯算法对 97% 相似水平的 OTU 代表序列进行分类学分析。

1.2.3 根际土壤微生物组成分析 基于测序的数据,利用 Mothur 软件分析不同随机抽样下的 Alpha 多样性反映微生物群落的丰富度和多样性,包括 Ace、Chao、Simpson 和 Shannon 等指数。其中,Ace 和 Chao 指数反映样本中群落的丰富度,Simpson 和 Shannon 指数反映群落的多样性,Ace、Chao 和 Shannon 指数越大,Simpson 指数越小,说明样品的物种多样性越高;利用 R 语言工具生成土壤微生物群落柱形图;Venn 图可用于统计多组或多个样本中所共有和独有的 OTU 数目,采用 R 语言工具 和作图生成。

1.2.4 根际土壤微生物群落结构差异性分析 通 过对不同样品微生物群落间进行 Beta 多样性分 析,探索不同样品间群落组成的相似性或差异性; 用 Qiime 数据分析流程计算 Beta 多样性距离矩 阵,用 R 语言进行 UPGMA 聚类分析并作树状图。

1.3 根际土壤理化性质测定

土壤理化性质测定参照《土壤农化分析》(鲍 土旦,2000)。全氮(凯氏定氮法)、全磷(钼锑显 色法)、全钾(火焰光度法)、土壤有机碳(重铬酸 钾水合加热法)、铵态氮和硝态氮(定氮仪法)、速 效磷(盐酸-氟化铵法)、速效钾(浸提+原子吸收 法)和 pH 值。

1.4 不同微生物物种与土壤理化因子相关性分析

基于土壤 DNA 测序及土壤理化分析的数据, 利用 R 语言工具计算所选微生物物种与环境因子 之间 的 相 关性 系 数 (Spearman 等级 相 关 系 数、 Pearson 相关系数等),将获得的数值矩阵通过热 图直观展示。通过颜色变化反映二维矩阵或表格 中的数据信息,颜色深浅表示数值的大小。

2 结果与分析

2.1 不同生长年限华重楼根际土壤微生物群落的 多样性分析

2.1.1 细菌群落的多样性分析 供试土壤样品的 细菌和真菌群落丰度指数(Ace、Chao)和多样性指数(Shannon、Simpson)如表显示(表 2)。其中,细菌 Ace 和 Chao 指数均随着生长年限的增加呈先升高后下降的趋势且各年份间差异显著,峰值均出现在第7年,表明华重楼根际土壤中细菌丰富度随着株龄的增加呈先升高后下降的趋势,在第7年时华重楼根际土壤中细菌丰富度最高,在第3年时细菌丰富度最低。

Shannon 和 Simpson 指数各年份间差异显著, 随着生长年限发生明显的起伏波动。在华重楼生 长至第5年时, Shannon 指数降至最低, 而 Simpson 指数升至最高,说明此时的土壤环境利于某些特 定种类(或类群)细菌的生长和繁殖。因此,细菌 丰富度并未出现较大改变,由于竞争关系致使土 壤中其余细菌种类(或类群)的生长和繁殖受到抑 制,因此细菌多样性出现一个异常大的下降幅度。 到第7年时, Shannon 指数升至最高, 而 Simpson 指 数降至最低,表明此年份的华重楼根际土壤中细 菌多样性最高。由此可知,华重楼的生长对根际 土壤中细菌数量和种类的影响均达到显著水平。 2.1.2 真菌群落的多样性分析 由表 2 可知,所有 年份土壤样品中真菌 Ace 和 Chao 指数差异不显 著,表明所选年份的华重楼对根际土壤真菌丰富 度的影响不大。然而,真菌 Shannon 和 Simpson 指 数分析显示,华重楼根际土壤真菌 Shannon 指数随 着生长年限的增加先升后降, Simpson 指数则先降 后升,峰值和最低值均在第7年时出现,结合显著 性分析发现,华重楼的生长对根际土壤中真菌多 样性的影响显著,真菌种类随着生长年限的增加 呈先增加后下降的趋势,华重楼在生长至第7年 时的根际土壤中真菌类群数量最多,物种丰富。

2.2 不同生长年限华重楼根际土壤微生物群落组 成分析

2.2.1 细菌群落组成分析 4个不同生长年份的华 重楼根际土壤样品中共检测到细菌 25 门、56 纲、 134 目、195 科、280 属、484 种。从门水平上看(图 1:A),随着华重楼的生长,土壤中不同细菌门类的 相对丰度发生了明显变化。各生长年限华重楼根 际土壤主要优势菌门均为变形菌门 (Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、放线菌 门(Actinobacteria)和绿弯菌门(Chloroflexi)。其 中,以变形菌门和酸杆菌门二者所占比例最高,占 细菌总丰度在60%以上。变形菌门丰度随着生长 年限的增加呈先升高后降低的趋势,在第3年至 第7年间丰度增幅不大,而从第7年长至第9年时 丰度出现了较大的下降,降幅为22.36%。酸杆菌 门细菌丰度变化正好相反,随着华重楼生长年限 的增加呈先降低后升高的趋势,第3年至第5年、 第3年至第7年时丰度显著下降,降幅分别为 41.35%~43.64%,之后在长至第9年时快速回升 了51.88%,表明华重楼对酸杆菌门的影响大于变 形菌门。绿弯菌门和拟杆菌门(Bacteroidetes)丰度 均随着华重楼生长年限的增加呈先升高后降低的 趋势,从第3年长至第5年时两个菌门丰度均未发 生大幅上升趋势,而从第5年长至第7年时丰度均 显著上升,增幅分别为164.90%和456.21%;之后, 两者丰度回落,不同的是绿弯菌门下降幅度小,而 拟杆菌门丰度下降幅度大,达72.27%。放线菌门 在第7年时丰度最低,其余生长年限中丰度差异 不显著。另外,厚壁菌门(Firmicutes)在第5年时 丰度达到 18.16%, 而在其余年份中丰度均低于 5%;硝化螺旋菌门(Nitrospirae)在7年生的根际土 壤中丰度比其他生长年限出现了显著增加。

在科水平(图 1:B)上,主要由 Solibacteraceaesubgroup-3、norank-o-Subgroup-2、黄色杆菌科 (Xanthobacteraceae)、norank-o-norank-c-Subgroup-6等 菌科组成。其中,Solibacteraceae-subgroup-3 在生长 5年的土壤中丰度最高,为12.9%;生长7年的土壤 中丰度最低,仅为1.2%。norank-o-norank-c-Subgroup-6则相反,在生长5年的土壤中丰度最低, 为1.1%;生长7年时丰度升至最高,为10.9%。 norank-o-Subgroup-2、Xanthobacteraceae、norank-o-Acidobacteriales及unclassified-o-Gammaproteo-bacteria-Incertae-sedies等丰度随着生长年限的增加呈先下

表 2 根际土壤微生物群落的丰富度和多样性指数

Table 2 Abundance and diversity indexes of the rhizosphere soil microbial community

生长年份 _ Growth years	细菌 Bacteria				真菌 Fungi				
	Ace 指数 Ace index	Chao 指数 Chao index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	Ace 指数 Ace index	Chao 指数 Chao index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	
3年	(1 062.69±	(1 088.86±	(5.73±	(0.006 1±	(160.62±	(159.10±	(1.89±	(0.427 1±	
3 years	32.53) d	37.67) d	0.10) c	0.000 1)b	11.55) a	8.43) a	0.06) d	0.005 9) a	
5年	(1 303.77±	(1 353.53±	(5.34±	(0.024 2±	(169.01±	(166.58±	(2.51 ± 0.03) b	(0.310 2±	
5 years	45.62) c	43.22) c	0.13)d	0.000 3)a	11.21) a	6.37) a		0.000 9)c	
7年	(1853.30±	(1915.16±	(6.49±	$(0.003 \ 0 \pm 0.000 \ 2) c$	(156.85±	(155.35±	(3.28±	(0.071 1±	
7 years	50.38) a	48.25) a	0.12) a		12.15) a	8.27) a	0.06) a	0.001 6)d	
9年 9 years	(1 603.52± 29.66)b	(1 607.08± 33.56)b	$(5.93 \pm 0.09)\mathrm{bc}$	$(0.006 \ 4 \pm 0.000 \ 1) \mathrm{b}$	(155.40± 7.30) a	(154.75± 4.70) a	(2.12± 0.10)c	$(0.396 \ 3\pm 0.002 \ 1) \mathrm{b}$	

注:同列中数值后面的不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。下同。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences (P < 0.05). The same below.

表 3 不同生长年限华重楼根际土壤的理化性质

Table 3 Physical and chemical properties in the rhizosphere soil of Paris polyphylla var. chinensis in different growth years

生长年份 Growth years	全氮 TN (g・kg ⁻¹)	全磷 TP (g・kg ⁻¹)	全钾 TK (g・kg ⁻¹)	总有机碳 TOC (g・kg ⁻¹)	铵态氮 AN (mg・kg ⁻¹)	硝态氮 NN (mg・kg ⁻¹)	速效磷 AP (mg・kg ⁻¹)	速效钾 AK (mg・kg ⁻¹)	pH 值 pH value
3年	(2.69±	(0.78±	(3.18±	(77.57±	(32.73±	(152.77±	(50.39±	(99.98±	$(4.10 \pm 0.03) d$
3 years	0.10A)bc	0.06C)c	0.08F)d	4.90A) a	1.90) a	11.01)b	2.60A) c	7.34D)b	
5年	(6.30±	(1.62±	(7.75±	(71.59±	(24.71±	(180.67±	(45.66±	(129.95±	(4.52±
5 years	0.13A) a	0.07A) a	0.13E)b	5.53A) a	1.24)b	8.59) a	3.60A) c	6.84C)b	0.02)c
7年	(2.84±	(1.16±	(5.18±	(59.75±	(23.54±	(144.27±	(100.53±	(407.92±	$(6.02 \pm 0.04) \mathrm{b}$
7 years	0.07A)b	0.09A)b	0.12E)c	3.58A)b	1.38)b	11.57)b	5.89A)b	22.62A) a	
9年	(2.60±	(1.57±	(13.16±	(25.63±	(22.00±	(63.19±	(158.95±	(125.97±	(6.96±
9 years	0.07A)c	0.09A)a	0.17C) a	2.75C)c	1.20)b	4.11)c	11.61A) a	8.17C)b	0.07) a

注:同列中数值后面的不同字母 A、B、C、D、E、F 分别表示土壤养分评价水平丰富、较丰、中等、较缺、缺乏和极缺。

Note: Letters A, B, C, D, E and F in the same column respectively indicate the classification standards of soil nutrient contents are rich, above average, medium, scarce, scarcer and the scarcest.

降后上升的趋势,第7年时丰度均为最低水平。 此外,3年、5年和9年生的土壤中均可检测出 norank-o-norank-c-norank-p-WPS-2、酸热菌科 (Acidothermaceae)、norank-o-norank-c-AD3、柄杆菌科 (Caulobacteraceae)、科里氏菌科(Koribacteraceae)等 科的细菌,但上述科水平的细菌几乎不存在于7 年生的土壤中。产碱杆菌科(Nitrosomonadaceae) 仅存在于7年生的土壤中,丰度为6.7%。另外, Clostridiaceae-1只存在生长5年的华重楼根际土 壤中,丰度为17.2%。

2.2.2 真菌群落组成分析 4个不同生长年份的华 重楼根际土壤样品中共检测真菌 8 门、26 纲、56 目、76 科、78 属、96 种。从门水平上(图 2: A)看, 土壤中的真菌主要由子囊菌门(Ascomycota)、担子 菌门(Basidiomycota)与毛霉门(Mucoromycota)组 成。其中,子囊菌门和担子菌门二者所占比例达 80%以上,且各生长年限间丰度变化最大。子囊 菌门丰度在土壤中大体呈逐年上升的趋势,生长3 年的土壤中丰度比例最低,随后丰度快速上升,生 长至第9年时丰度达到88.11%。担子菌门丰度变 化与子囊菌门相反,当子囊菌门丰度上升时,担子 菌门丰度下降,担子菌门在生长3年的土壤中丰 度最高。毛霉门真菌随着生长年份的增加呈先升 高后降低的趋势,在华重楼生长7年的土壤中丰 度最高。壶菌门丰度则随华重楼生长年限的增加 呈逐年降低的趋势。在科水平上(图2:B),以古 生 菌 科 (Archaeorhizomycetaceae)、红 菇 科 (Russulaceae)、norank-p-Mucoromycota 和 unclassified-c-Agaricomycetes 为优势菌科,各科在不同生长 年限中丰度不同。古生菌科除了在7年生的华重 楼根际土壤中检测不到外,在其余年份中丰度随着生长年限的增加呈逐年上升的趋势,生长至第9年时丰度最高,为66.5%。红菇科仅存在于3年生的根际土壤中,丰度为64.8%。norank-p-Mucoromycota、unclassified-c-Agaricomycetes、unclassified-c-Sordariomycetes、unclassified-p-Ascomycota、曲霉科 (Aspergillaceae)、unclassified-o-Onygenales、线虫草 科(Ophiocordycipitaceae)及蔓毛壳科(Herpotrichiellaceae)等的丰度均随着生长年限的增加呈 先升高后降低的趋势,丰度最高均出现在华重楼 生长7年的土壤中。另外,从图2:B中可以看出, 7年生华重楼的根际土壤中真菌种类更丰富。

2.3 不同生长年限华重楼根际土壤微生物群落的 相关性分析

绘制 OTUs 韦恩图(图 3), 从图 3: A 可以看 出,华重楼不同生长年限根际土壤共有的细菌 OTU 为 322 个,分别占各生长年限细菌 OTU 总数 的33.68%、28.59%、19.60%和22.90%。各生长年 限植株根际土壤独有的细菌 OTU 数量随着生长年 份的增加呈先升高后降低的趋势:在生长7年的 根际土壤中独有的细菌 OTU 类型最多.为869个. 为其他年份的 5.9~37.8 倍。从图 3:B 可以看出, 根际土壤共有的真菌 OTU 数为 50 个,分别占各生 长年份真菌 OTU 总数的 35.21%、30.86%、48.54% 和33.11%;同样在生长7年的根际土壤中,独有的 真菌 OTU 类型最多,为 26 个。由此可知,随着华 重楼生长年限的增加,土壤细菌和真菌 OTU 类型 均不同程度地发生变化,但细菌的变化幅度比真 菌大,表明华重楼的生长对土壤细菌群落的影响 大于真菌群落。

2.4 不同生长年限华重楼根际微生物群落结构差 异性分析

对华重楼各生长年份的根际土壤样品的细菌 和真菌群落组成的相似度进行 UPGMA 聚类分析, 结果如图 4 所示。从细菌群落组成聚类结果图 4: A 可以看出,4 份不同生长年限土壤大致分成三 类,即 3 年生和 5 年生归为一类,7 年生和 9 年生 的各为一类。这表明 3 年生和 5 年生根际土壤中 细菌群落组成相似度最高,7 年生的和其他年份的 细菌群落组成相似度最低,9 年生的介于前两类之 间。从真菌群落组成聚类结果图 4:B 可以看出, 真菌群落也划分为 3 个大类,即 5 年生和 9 年生的 归为一类,7 年生和 3 年生的各为一类。这表明 5 年生和 9 年生中真菌群落组成相似度最高,3 年生 的和其他年份的真菌群落组成相似度最低,7 年生 的介于前两类之间。可见,随着华重楼生长年份 的变化,其根际土壤细菌和真菌群落均发生了演 变,但演变发生的时间和方式不同,即细菌群落演 变比较剧烈的时期是在定植后第7年,到第9年又 和第3、第5年趋于相同;而真菌群落变化比较剧 烈的时期则在定植后第5年,第7年时出现一些变 化,第9年时与第5年趋于相同。

2.5 不同微生物物种与土壤理化因子的相关性 分析

2.5.1 华重楼根际土壤理化性质分析 检测3年 生、5年生、7年生和9年生4个不同生长年份的华 重楼根系土壤中的全氮(total nitrogen, TN)、全磷 (total phosphorus, TP)、全钾(total potassium, TK)、 有机碳(total organic carbon, TOC)、铵态氮(ammonium nitrogen, AN)、硝态氮(nitrate nitrogen, NN)、速 效磷(available phosphorus, AP)、速效钾(available potassium, AK)和 pH 值(表 3), 并根据 1980 年全 国第2次土壤普查养分分级标准进行评价。表3 结果表明.4个不同生长年限华重楼的根系土壤理 化性质存在差异。其中,TN 均为丰富以上水平, 第5年时出现峰值,为其他年份的2.2~2.4倍。 TP 为接近较丰富或丰富以上水平,第3年偏低 (0.78 g·kg⁻¹), 第5年时上升至峰值(1.62 g· kg⁻¹),第7年再下降(1.16g·kg⁻¹),第9年又回升 至接近峰值($1.57 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。TK 随生长年份的增 长而增高,而其含量则为较缺以下水平。速效 N (包含铵态 N 和硝态 N)第3、第5、第7年均大于 150 mg·kg⁻¹,处于丰富水平,其峰值出现于第5 年:第9年下降幅度较大,处于较缺水平(<90 $mg \cdot kg^{-1}$)。速效 P 不同年份的根际土壤间差别较 大,其含量随着生长年份的延长而增加,均为丰富 以上水平。速效 K 含量随着生长年份的增长先升 后降,其峰值(407.92 mg·kg⁻¹)在第7年出现,为 丰富水平;第3年表现为较缺,第5和第9年表现 为中等含量水平。土壤有机质(有机碳)随着生长 年份的增长而下降,除了第9年表现为中等外、其 他年份均为丰富以上水平。土壤 pH 值随着生长 年限的增加逐渐增加,从4.10升高到6.96,土壤逐 渐碱化,但仍在适宜华重楼生长的范围值内。土 壤营养元素和 pH 值随着华重楼生长年限发生的 上述变化,可能与华重楼本身生长发育对土壤营 养元素的消耗、其根系分泌活动对营养元素形态 的改变、土壤中微生物活动以及其种群结构和组 成发生变化等因素有关。

2.5.2 不同微生物物种与土壤理化因子的相关性分析 土壤理化性质既是影响华重楼产量和品质的 重要因素之一,也是影响土壤微生物群落组成和数 量的重要因子。将华重楼根际土壤中的细菌、真菌 类群与土壤理化因子进行 Spearman 相关性分析,从



Y1、JY2、JY3 和 JY4 分别对应 3 年生、5 年生、7 年生和 9 年生的土壤样品。下同。

JY1, JY2, JY3 and JY4 Correspond to soil samples of 3, 5, 7 and 9 years respectively. The same below.



Fig. 1 Relative abundance of bacteria in the rhizosphere at phylum (A) and family (B) level

图 5 和图 6 可以看出, 土壤理化因子与根际土壤不同微生物具有不同程度的相关性。

从图5可以看出,华重楼根际土壤中丰度排名

前15的细菌门类与各土壤理化因子的Spearman 相关性。变形菌门、厚壁菌门和芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes)的丰度分别与TN、TP和AK



图 2 在门(A)和科(B)水平上根际土壤真菌的相对丰度 Fig. 2 Relative abundance of fungi in the rhizosphere at phylum (A) and family (B) level

呈显著正相关;而酸杆菌门、WPS-2 菌门和疣微菌 门(Verrucomicrobia)分别与 AK、AK 和 TN 呈显著 负相关;浮霉菌门(Planctomycetes)与 NN 呈显著 负相关、同时与 AP 呈显著正相关。其余 8 个门类 丰度受土壤理化因子影响不显著。综上可知,在 15 类细菌中,AK 对其中 3 类,TN 对其中 2 类,TP、 AP 和 NN 各对其中 1 类产生了显著的正面或负面 影响。此外,TOC 和 AN 虽与 15 类细菌相关性未 达显著水平,但两者与细菌相关性几乎相同,均对 绿弯菌门、拟杆菌门、浮霉菌门、己科河菌门



A. 细菌; B. 真菌。下同。

A. Bacteria; B. Fungi. The same below.

图 3 不同生长年限华重楼根际土壤细菌和真菌韦恩图

Fig. 3 Venn diagram of bacteria and fungi in the rhizosphere soil of P. polyphylla var. chinensis in different growth years



in rhizosphere soil

(Rokubacteria)、硝化螺旋菌门和 Latescibacteria 有较强的负相关性。结合细菌组成分析中各门类占细菌丰度的比例,发现对华重楼根际土壤细菌群落组成起主要作用的理化因子为 AK 和 TN。

从图 6 可以看出,华重楼根际土壤中丰度排名 前 8 的真菌门类与各土壤理化因子的 Spearman 相 关性。子囊菌门、一些未分类的真菌门类 (unclassified_k_fungi)和捕虫霉门(Zoopagomycota) 的丰度分别与 TK、TN 和 AK 呈显著正相关;而担 子菌门与 TK 呈显著负相关;壶菌门 (Chytridiomycota)则与 pH 值呈显著负相关,与 TOC 和 AN 呈显著正相关。其余 3 个门类丰度受 土壤理化因子影响不显著。综上可知,在 8 类真 菌中,TK 对其中 2 类,pH 值、TOC、AN、TN 和 AK 各对其中一类产生了显著的正面或负面影响。此 外,TOC 及 AN 与 8 类真菌的相关性几乎一致,且 与子囊菌门、担子菌门有较强的相关性。TP 与 8



相关系数 R 取值范围在-1和1之间, R 值在右边示例图中 以不同颜色展示, R>0 表示正相关, R<0 表示负相关; 图 中***表示 $P \leq 0.05$ 。下同。

Correlation coefficient *R* is between -1 and 1. *R* value is shown in different colors in the example on the right. R>0 is positive and R<0 is negative correlation; *** means $P \leq 0.05$. The same below.

图 5 门水平下土壤细菌不同物种和环境 因子的 Spearman 相关性热图

Fig. 5 Spearman correlation heat map of different soil bacterium species and environmental factors at the phylum level

类真菌的相关性虽未达显著水平,但与子囊菌门、 担子菌门却有较强的相关性。结合真菌组成分析 各门类占真菌丰度的比例发现,对华重楼根际土 壤真菌群落组成起主要作用的土壤理化因子为 TK,其次是 pH 值、TOC、AN、TP、TN 和 AK。



图 6 门水平下土壤真菌不同物种和环境因子的 Spearman 相关性热图



3 讨论与结论

土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部 分. 十壤微生物群落多样性可以敏感反映出植物 的生长、繁殖以及代谢活动的变化;同时,土壤生 物之间存在相互制约、彼此依赖的关系,与周围的 环境因子相互作用、往复调控(Hirsch et al., 2010)。因此,研究植物根际土壤微生物多样性的 变化有利于揭示植物的生长发育规律,对植物尤 其是药用植物的栽培生产十分有意义。本文研究 了不同生长年限野生华重楼根际土壤微生物多样 性的变化规律发现,不同生长年限华重楼根际土 壤中细菌及真菌群落的组成与结构存在差异,第5 至第7年是土壤微生物群落多样性和组成产生重 大变化的关键时期。华重楼根际土壤中细菌丰度 比例最大的两个门始终是变形菌门与酸杆菌门, 两者丰度比例随着华重楼的生长发育发生较大变 化且趋势相反,在杉木人工林不同发育阶段土壤 细菌类群特征的研究中也发现了相似的规律(魏 志超等,2017)。郑梅霞等(2020)研究表明,华重 楼根际土壤中含量最为丰富的是变形菌门,其次 是酸杆菌门和放线菌门。康林玉等(2018)在研究 辣椒种植对根际土壤微生物多样性影响时发现. 辣椒种植前后土壤均以变形菌门和酸杆菌门为优 势细菌,以子囊菌门、担子菌门和接合菌门为优势 真菌。黄珍等(2010)在海南香蕉园土壤样本中发 现,变形菌门、厚壁菌门和酸杆菌门是主要的细菌 类群。综上表明,不同植物根际环境的微生物优 势菌群存在差异,华重楼根际土壤具有一般土壤 微生物群落组成的共性。

不同生长年限华重楼根际土壤中细菌 Ace、 Chao 和 Shannon 指数均显著高于真菌, 而 Simpson 指数则显著低于真菌,表明所选生长年限的华重 楼根际土壤中细菌物种较真菌更加丰富,多样化 程度更高,属于健康的"细菌型"土壤(康林玉等, 2018)。华重楼生长到第7年时,根际土壤中的微 生物丰富度及多样化程度均达到最高,超过7年 后土壤中的微生物数量及多样性均出现了显著的 下降,根际土壤有从"细菌型"向"真菌型"转变的 趋势。周浓等(2015)研究发现,滇重楼根际土壤 中细菌数量多于真菌数量且随着生长年限的增 加.真菌与解钾细菌数量呈逐年增加,而细菌、放 线菌等数量呈逐年减小的变化趋势,说明华重楼 与滇重楼根际微生物变化规律相似,这可能是由 于两个不同变种七叶一枝花根系分泌物成分相似 所致。根系分泌物的种类和数量直接影响着根际 微生物的代谢和生长发育,进而对根际微生物的 种类、数量和分布产生影响(Nihorimbere et al., 2011)。在麦冬、西洋参、浙贝母等作物上的研究 发现,当根际土壤从高肥力的"细菌型"向低肥力 的"真菌性"转变时,病虫害增加,导致作物产量及 质量下降等负面影响(李琼芳,2006;李勇等, 2010;孙世中等,2011;廖海兵等,2011)。因此,在 华重楼人工栽培过程中,应当适时采收。此外,还 可以根据土壤微生物的状态,有针对性地利用微 生物菌剂等措施调控土壤微生物环境,达到防治 病虫害、增产提质等效果。

土壤微生物类群特征受气候、土壤性质等多 方面的影响(赵维娜等,2016)。Liu 等(2015)研 究表明,变形菌门喜欢在养分含量高的土壤环境 中生存且与土壤有机质和全氮含量显著相关,变 形菌门在华重楼根际土壤中的丰度变化与变形菌 门生长习性相对应, Spearman 相关性分析也表明, 变形菌门与全氮含量极显著正相关。AK 与酸杆 菌门极显著负相关,而王印等(2012)研究表明,重 楼根茎总皂苷含量与根际土壤全 K、速效 K 含量 均达到显著正相关,说明酸杆菌门可能不利于重 楼总皂苷的积累;土壤 pH 是影响土壤中酸杆菌丰 度和多样性的重要因子,通常情况下土壤 pH 值与 土壤中酸杆菌的相对丰度呈显著负相关(Griffiths et al., 2011)。但是, 本研究中, 根际土壤中酸杆菌 门的丰度并不是与 pH 呈显著负相关, 而是与速效 钾显著负相关,并随着华重楼生长年限的增加呈 先降低后升高的趋势,表明在华重楼根际土壤中, 速效钾与华重楼的生长对酸杆菌门丰度和多样性

的影响强于 pH。全磷与速效磷分别与厚壁菌门、 浮霉菌门呈极显著正相关,但与优势菌门相关性 不显著,厚壁菌门与浮霉菌门在华重楼根际细菌 中所占丰度比例较小,而变形菌门与酸杆菌门是 华重楼根际土壤中丰度比例最大的细菌门类,这 两个菌门的变化会引起整个根际微生物组成结构 的较大改变。因此,对华重楼根际土壤细菌群落 组成起主要作用的理化因子是速效钾和全氮,磷 的影响不及速效钾和全氮。巨天珍等(2008)对天 水小陇山红豆杉林土壤真菌研究认为,影响土壤 真菌数量和多样性的最主要因素是土壤 pH,其次 是土壤中的有机质和水分含量; Paul 等(2012)研 究结果表明对土壤真菌群落变化有关的是总 C/N 的值,次要的因素是土壤 pH。本研究中 TK 是影 响华重楼根际土壤中真菌组成的主要因子,其次 是 pH 值、TOC、TP、TN 等,这与前人研究结果有差 异但也有相同之处,表明不同植物土壤真菌因生 境、植物种类等不同,主要的影响因子也存在差 异。TOC 及 AN 与华重楼根际土壤细菌和真菌主 要门类的相关性表现几乎一致,表明两者对华重 楼根际微生物群落组成的作用相似;此外,TOC、 AN及TP与真菌优势菌门的相关性比细菌强,表 明三者对华重楼根际土壤真菌群落组成的影响比 细菌大。华重楼根际土壤微生物独特的组成结构 可能与其根际分泌物有关,从而影响了土壤中微 生物的分布(刘慧娟等,2019),根系分泌物质的种 类及其与土壤、微生物互作的方式与机制尚不清 楚,仍有待进一步研究。

本研究初步揭示了不同生长年限野生华重楼 根际土壤微生物多样性的变化规律,发现第5至 第7年是土壤微生物群落多样性和组成产生重大 变化的关键时期。本研究结果为进一步探索华重 楼生长发育与微生物的关系奠定了基础,也为今 后进一步研究华重楼有效成分积累与根际微生物 环境的关系及其病虫害的发生机制及防治措施提 供了科学依据,有助于促进华重楼的可持续利用 及产业的发展。

参考文献:

- BAO SD, 2000. Soil agrochemical analysis [M]. Beijing: China Agriculture Press: 14. [鲍士旦, 2000. 土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业出版社: 14.]
- BUTLER JL, WILLIAMS MA, BOTTOMLEY PJ, et al., 2003. Microbial community dynamics associated with rhizospherecarbon flow [J]. Appl Environ Microbiol, 69: 6793-6800.
- GARBEVA P, ELSAS JDV, VEEN JAV, 2008. Rhizosphere

microbial community and its response to plant species and soil history [J]. Plant Soil, 302(1): 19-32.

- GRIFFITHS RI, THOMSON BC, JAMES P, et al., 2011. The bacterial biogeography of British soils [J]. Environ Microbiol, 13(6): 1642-1654.
- HAN YZ, ZEGN B, ZHAO JJ, et al., 2010. Studies on elephant grass rhizosphere microbes [J]. Chin J Soil Sci, 41 (6): 1349-1354. [韩玉竹, 曾兵, 赵建军, 等, 2010. 象 草根际微生物研究 [J]. 土壤通报, 41(6): 1349-1354.]
- HE JH, FU XB, MA DM, et al., 2008. Changes of phenolic acid content and rhizosphere microbial population in soil during tuberous root expansion of *Rehmannia glutinosa* Libosch [J]. Henan Sci, 26(11): 1369–1372 [何江华, 付 香斌, 马东明, 等, 2008. 地黄块根膨大过程中土壤化感 物质含量及微生物数量变化研究 [J]. 河南科学, 26(11): 1369–1372.]
- HIRSCH PR, MAUCHLINE TH, CLARK IM, 2010. Cultureindependent molecular techniques for soil microbial ecology [J]. Soil Biol Biochem, 42(6): 878-887.
- HUANG Z, TAN ZQ, RUAN YZ, 2010. Phylogenetic diversity of bacteria in banana soils determined with 16S rDNA library analysis [J]. Chin J Trop Crop, 31(6): 989–993. [黄珍, 谭志琼, 阮云泽, 2010. 香蕉园土壤 16S rDNA 文库分析 [J]. 热带作物学报, 31(6): 989–993.]
- JU TZ, CHEN Y, CHANG CH, et al., 2008. The diversity of soil fungi and its relations with fertility factors in *Taxus chinensis* (Pilg.) rehd community of Xiaolongshan of Tianshui City [J]. Res Environ Sci, 21(1): 128-132. [巨 天珍, 陈源, 常成虎, 等, 2008. 天水小陇山红豆杉林土 壤真菌多样性及其与生态因子的相关性 [J]. 环境科学 研究, 21(1): 128-132.]
- KANG LY, LIU ZB, OU LJ, et al., 2018. Effects of pepper cultivation on the microbial diversity of rhizosphere soil [J]. J Hunan Agric Univ(Nat Sci Ed), 44(2): 151-156. [康林玉,刘周斌, 欧立军,等, 2018. 辣椒种植对根 际土壤微生物多样性的影响 [J]. 湖南农业大学学报(自 然科学版), 44(2): 151-156.]
- LI H, DONG T, WANG MY, 2016. Effects of biochar on microbial communities and metabolic activity in rhizosphetic soil of banana seedlings [J]. J Microbiol, 36(1): 42-48. [李航, 董涛, 王明元, 2016. 生物炭对香蕉苗根际土 壤微生物群落与代谢活性的影响 [J]. 微生物学杂志, 36(1): 42-48.]
- LIU HJ, WU QG, QI BJ, et al., 2019. Research status and prospect on rhizosphere microbiome of medicinal plants [J]. J Yichun Univ, 41(6): 96-101. [刘慧娟, 吴其国, 祁冰洁, 等, 2019. 药用植物根际微生物研究现状及前景 [J]. 宜春学院学报, 41(6): 96-101.]
- LI QF, 2006. Dynamics of the microbial flora in the *Liriope* rhizosphere and outrhizosphere during continuous cropping years [J]. Chin J Soil Sci, 37(3): 563-565. [李琼芳, 2006. 不同连作年限麦冬根际微生物区系动态研究 [J]. 土壤通报, 37(3): 563-565.]
- LI Y, YING YX, ZHAO DY, et al., 2010. Genetic diversity analysis on rhizosphere soil microbial population of *Panax* ginseng and *Panax quinquefolium* by RAPD [J]. Chin Trad Herb Drug, 41(11):1871-1875. [李勇, 应益昕, 赵东岳, 等, 2010. 人参及西洋参栽培土壤微生物种群遗传多样性 的 RAPD 分析 [J]. 中草药, 41(11):1871-1875.]
- LIAO HB, LI YX, SHAO JJ, et al., 2011. Impacts of continuous cropping on *Fritillaria thunbergii* Miq. growth and

rhizosphere soil properties [J]. Chin J Ecol, 30(10): 2203-2208. [廖海兵,李云霞,邵晶晶,等, 2011. 连作对 浙贝母生长及土壤性质的影响 [J]. 生态学杂志, 30(10): 2203-2208.]

- LIU JG, BIAN XM, ZHANG W, et al., 2008. Effects of longtime continuous cropping of cotton and returning cotton stalk into on soil biological activities [J]. Chin J Appl Ecol, 19(5): 1027 - 1032. [刘建国, 卞新民,张伟,等, 2008. 长期连作和秸秆还田对棉田土壤生物活性的影响 [J]. 应用生态学报, 19(5): 1027-1032.]
- LIU JJ, SU YY, YU ZH, et al. 2015. Soil carbon content drives the biogeographical distribution of fungal communities in the black soil zone of north-east China [J]. Soil Biol and Biochem, 83: 29–39.
- NIHORIMBERE V, ONGENA M, SMARGIASSI M, et al., 2011. Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health [J]. Biotechnol Agron Soc Environ, 15(2): 327-337.
- PAUL GD, STEVEN PR, KEVIN KN, et al., 2012. Soil fungal community composition does not alter along a latitudinal gradient through the maritime and sub-Antarctic [J]. Fungal Ecol, 5(4): 403–408.
- QIAO QM, CHENG MG, WANG XM, et al., 2009. Study on the change of microbial quantity, enzyme activity and phenolic acids in *Rehmannia glutinosa* rhizosphere soil [J]. Chin Agric Sci Bull, 25(24): 151-154. [乔卿梅, 程 茂高, 王新民, 等, 2009. 怀山药根际土壤微生物、酶活性 和酚酸物质变化及其关系研究 [J]. 中国农学通报, 25(24): 151-154.]
- QUAN X, YANG YY, LIANG J, et al., 2016. Soil microflora change during integrated protection cultivation of wheatmaize rotation [J]. Chin Agric Sci Bull, 32(12): 132-138. [全鑫,杨艳艳,梁娟,等, 2016. 小麦-玉米轮作一 体化保护栽培期间土壤微生物群落变化 [J]. 中国农学 通报, 32(12): 132-138.]
- SU HL, ZHENG MX, FANG SZ, et al., 2020. Research on the propagation techniques of the seed-collecting mother plant of *Paris polyphylla* var. *chinensis* [J]. Fujian Agric Sci Technol, 358(6): 66–69. [苏海兰,郑梅霞,方少忠,等, 2020. 七叶一枝花采种母株繁殖技术研究 [J]. 福建农业 科技, 358(6): 66–69.]
- SUN SZ, GUAN HL, ZHANG YF, et al., 2011. Dynamic analysis of *Carnation* rhizosphere microbial taxa under three states in facility cultivation [J]. Soils, 43(1): 72-75. [孙 世中, 官会林, 张云峰, 等, 2011. 设施栽培下香石竹不 同植株状态根际土壤微生物类群变化分析 [J]. 土壤, 43(1): 72-75.]
- TANG HF, ZHAO YP, JIANG YP, 1998. Process of *Paris* [J]. Chin Trad Herb Drugs, 29(12): 839-842. [汤海峰, 赵越平, 蒋永培, 1998. 重楼属植物的研究概况 [J]. 中 草药, 29(12): 839-842.]
- WANG J, LIU YM, WANG CM, et al., 2015. Dynamic changes of rhizosphere soil microbial biomass and nutrition of different cherry rootstocks [J]. Acta Agric Boreal Sin, 24 (1): 123-129. [王静, 刘艳梅, 王春梅, 等, 2015. 不同 樱桃砧木根际微生物和养分的动态变化 [J]. 西北农业 学报, 24(1): 123-129.]
- WANG LN, HU P, YANG GY, et al., 2018. Dynamic accumulation comparison of nine saponins in the rhizomes of six *Paris* plants with different growth period [J]. Chin Pharm, 21(12): 37-41. [王林娜, 胡培, 杨光义, 等,

2018. 不同生长年限的 6 种重楼属植物根茎中 9 种皂苷 含量动态累积比较 [J]. 中国药师, 21(12): 37-41.]

- WANG Y, HE ZJ, DUAN YT, et al., 2012. Study on relationship between content of effective components in rhizome of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* and potash status in rhizosphere soil [J]. SW Chin J Agric Sci, 25(3): 950–953. [王印,何忠俊,段艳涛,等, 2012. 滇重楼根茎 有效成分与土壤钾状况的关系研究 [J]. 西南农业学报, 25(3): 950–953.]
- WEI ZC, HUANG J, LIU YH, et al., 2017. Community characteristics of soil bacteria of *Cunninghamia lanceolata* plantations at different developmental stages [J]. J SW For, 37(5): 122-129. [魏志超,黄娟,刘雨晖,等, 2017. 不同发育阶段杉木人工林土壤细菌类群特征 [J]. 西南林 业大学学报, 37(5): 122-129.]
- WEI ZH, CHENG MG, JIE XL, et al., 2010. Variation of microbial community and enzyme activity in rhizospheric soil of *Forsythia suspense* (Thunb.) [J]. N Hortic, (6): 12-14. [魏志华, 程茂高, 介晓磊, 等, 2010. 连翘根际微生 物区系和土壤酶活性变化的研究 [J]. 北方园艺, (6): 12-14.]
- YUAN LC, CHEN C, YANG LY, et al., 2004. Preliminary study on propagation induction of rhizome of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J]. J Chin Med Mat, 27(7): 477. [袁理春,陈翠,杨丽云,等, 2004. 滇重楼根状茎繁殖诱导初报[J]. 中药材, 27(7): 477.]
- ZHANG J, XIAOGS, ZHOU N, et al., 2016. Variation of rhizospheric microorganisms and soil enzyme activity of *paridis* rhizoma cultivated in three gorges reservoir region [J]. Chin J Inf TCM, 23(10): 95-99. [张静,肖国生,周 浓,等, 2016. 三峡库区栽培重楼属药用植物根际土壤微 生物数量和酶活性的变化 [J]. 中国中医药信息杂志, 23(10): 95-99.]
- ZHANG Y, LÜ SS, ZHOU N, et al., 2011. Comparison of 4 kind of chonglou saponins contents in Paris polyphylla of different growing years [J]. Chin Pharm, 22(43): 4081-4083. [张烨, 吕霜霜, 周浓, 等, 2011. 不同生长年限滇 重楼中 4 种重楼皂苷的含量比较 [J]. 中国药房, 22(43): 4081-4083.]
- ZHAO WN, WANG YX, CHEN QX, et al., 2016. Effect of soil physical-chemical properties and microorganism quantity on enzyme activityby in natural evergreen broad-leaved forest by path analysis [J]. J NE For, 44(1):75-80. [赵维娜, 王 艳霞, 陈奇伯, 等, 2016. 天然常绿阔叶林土壤酶活性受 土壤理化性质、微生物数量影响的通径分析 [J]. 东北林 业大学学报, 44(1):75-80.]
- ZHENG MX, CHEN H, ZHU YJ, et al., 2020. Microbial diversity in rhizosphere and non-rhizosphere soils of *Paris polyphylla* var. *chinensis* plants [J]. Fujian J Agric Sci, 35(12): 1357 1367. [郑梅霞,陈宏,朱育菁,等, 2020. 七叶一枝花根际与非根际土壤细菌群落多样性[J]. 福建农业学报, 35(12): 1357-1367.]
- ZHOU N, QI WH, XIAO GS, et al., 2015. Correlation between distribution of rhizospheric microorganisms and contents of steroidal saponins of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J], Chin J Chin Mate Med, 40(6): 1055-1060. [周浓, 戚文 华,肖国生,等, 2015. 滇重楼根际微生物分布与甾体皂 苷含量的相关性[J]. 中国中药杂志, 40(6): 1055-1060.]
了步植物 Guihaia Dec. 2022, 42(12); 2099-2108

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202109069

肖健,黄小丹,杨尚东,等.青枯病易感和钝感桑树品种根际土壤真菌群落结构比较 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2099-2108.

XIAO J, HUANG XD, YANG SD, et al. Comparison of fungal community structures in rhizosphere soil between sensitive and insensitive mulberry varieties to bacterial wilt [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2099-2108.

青枯病易感和钝感桑树品种根际土壤真菌群落结构比较

肖 健,黄小丹,杨尚东,屈达才*

(广西大学农学院,植物科学国家级实验教学示范中心,南宁 530004)

摘要:为研究青枯病易感和钝感桑树品种植株根际土壤真菌群落组成,该研究以ITS1F和ITS2R为引物,基于高通量测序技术对桑树青枯病易感品种(台湾长果桑,SM)和桑树青枯病钝感品种(桂桑 12 号,IM)植株根际土壤真菌群落结构进行分析。结果表明:(1)两个品种间指示真菌丰富度的ACE、Chao1指数及表征多样性的Shannon指数无显著差异,门分类水平,被孢霉门(Mortierellomycota)和球囊菌门(Glomeromycota)是青枯病 钝感桑树品种植株根际土壤中特有的优势真菌门;而属分类水平,Apiotrichum、地丝菌属(Geotrichum)、足放线病菌属(Seedosporium)和腐质霉属(Humicola)等是青枯病易感桑树品种植株根际土壤中富集的特有优势真菌 属。(2)青枯病易感桑树品种植株根际土壤中,缺失了被孢霉门、球囊菌门真菌,以及被孢霉属(Mortierella)、镰刀菌属(Fusarium)、曲霉菌属(Aspergillus)和毛壳菌属(Chaetomium)等具有生防功能的优势真菌门属,可能 是其易感青枯病的重要原因。(3)根据真菌群落对同类环境资源的利用途径进行功能预测发现,青枯病易感 桑树品种根际土壤中,富集了相对较多的病理营养型和腐生营养型真菌;而青枯病钝感桑树品种根际土壤中,富集了相对转多的病理营养型和腐生营养型真菌,可能力,富集了相对非富的共生营养型真菌。可见,在青枯病钝感桑树品种植株根际土壤中,富集的被孢霉属、镰刀菌属、曲霉菌属和毛壳菌属等优势特异真菌属,具有作为拮抗桑树青枯病备选菌属的潜力。

中图分类号: Q945.8 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)12-2099-10

Comparison of fungal community structures in rhizosphere soil between sensitive and insensitive mulberry varieties to bacterial wilt

XIAO Jian, HUANG Xiaodan, YANG Shangdong, QU Dacai*



收稿日期: 2022-02-25

基金项目: 广西高校科技创新和服务能力提升工程项目(桂教科研[2020]8号); 广西学位与研究生教育改革专项课题 (JGY2021013) [Supported by Guangxi University Science and Technology Innovation and Service Ability Improvement Project ([2020]8); Degree and Postgraduate Educational Reform Project of Guangxi (JGY2021013)]。

第一作者:肖健(1997-),硕士,研究方向为农艺与种业,(E-mail)1318513279@qq.com。

^{&#}x27;通信作者:屈达才,博士,教授,主要从事蚕学研究,(E-mail)dacaiqu@gxu.edu.cn。

(National Demonstration Center for Experimental Plant Science Education, College of

Agriculture, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: To reveal the resistant mechanism of fungal community structures in rhizosphere soil of sensitive and insensitive mulberries to bacterial wilt. Based on high-throughput sequencing technology, using ITS1F and ITS2R as primers, fungal community structures in rhizosphere soil between sensitive mulberry (Taiwan Morus macroura) and insensitive mulberry (Guisang 12) to bacterial wilt were analyzed. The results were as follows : (1) Although the indexes of soil fungal richness and diversity, such as ACE, Chao1 and Shannon were not significantly different between sensitive and insensitive mulberry varieties, but at phylum level, Mortierellomycota and Glomeromycota were the unique soil dominant fungi in rhizosphere soil of sensitive mulberry variety to bacterial wilt. At genus level, in comparison to the insensitive mulberry variety to bacterial wilt, Apiotrichum, Geotrichum, Scedosporium and Humicola were the special soil dominant fungi in rhizosphere soil of sensitive mulberry variety to bacterial wilt. (2) Compared to the insensitive mulberry variety, some soil fungal phyla and genera, such as Glomeromycota and Mortierellomycota, Mortierella, Fusarium, Aspergillus and Chaetomium were all lost in rhizosphere soil of sensitive mulberry variety to bacterial wilt. It suggests that higher abundance and diversity of soil fungal community structure in rhizosphere soil of insensitive mulberry variety to bacterial wilt were the important reasons for its higher resistance to bacterial wilt. (3) Based on the functional prediction according to the utilization pathways of fungal communities under similar environmental resources, higher abundance of pathotrophic and saprotrophic fungi enriched in rhizosphere soil of bacterial wilt susceptible mulberry varieties; On the contrary, higher abundance of symbiotrophic fungi enriched in rhizosphere soil of bacterial wilt resistant mulberry varieties. (4) Higher abundant soil unique fungi at OTU taxonomic level in rhizosphere of bacterial wilt resistant mulberry variety maybe can be considered as the important reason for its higher bacterial wilt resistant ability. The results suggest that Mortierella, Fusarium, Aspergillus and Chaetomium can be considered as the candidate antagonistic fungi for bio-controlling bacterial wilt in the rhizosphere soil of insensitve mulberry varieties to bacterial wilt.

Key words: bacterial wilt (*Mulberry bacterial*), mulberry (*Morus alba*), rhizosphere soil, fungal community structure, high throughput sequencing

桑青枯病(Mulberry bacterial)是由青枯劳尔氏 菌(Ralstonia solanacearum)引起的一种毁灭性土传 病害,会对桑蚕生产产生毁灭性危害(白利叶等, 2016)。广西壮族自治区是我国重点蚕区,桑园面 积占全国桑园总面积 30%以上。近年来,桑青枯 病在广西全区范围内蔓延较快,局部桑园发病严 重,并出现桑园缺株和面积骤减等现象,已经严重 制约广西桑蚕产业发展(肖健等,2021)。

在农业生产中,为了减少各种病害带来的重 大损失,目前常用的经济且环保的方法是选育作 物抗病品种或利用抗病基因增加作物抗病性。但 是,植物防御病害能力与其正常生长发育是一对 矛盾体,为了提高其抗病害能力,植物通常会以牺 牲自己部分生长发育为代价,将更多的能量转移 到防御机制上(Gao et al.,2021)。因此,平衡植物 生长和防御之间的矛盾是实现作物抗病增产的关 键,探究其调控机制亦成为当前研究的热点和难 点。Yoneyama (2019)研究发现,植物可以通过与 微生物建立共生关系来获取营养,以克服营养限制的困难。植物从微生物中获取营养,反过来又向微生物提供碳水化合物。同时,为了调节共生关系,植物会产生和释放化学信号。Compant等(2019)研究也表明,植物会通过招募有益的微生物来改善植物的生长、健康和抗压能力。

根际-土壤之间的相互反馈作用被认为是植物群落动态与营养循环的主要驱动力(Kulmatiski et al.,2008)。根际土壤微生物既可通过养分竞 争、拮抗作用和诱导系统抗性等机制抑制土壤中 病原菌防止病害的发生,促进植物的生长发育 (Bonilla et al.,2012; Bakker et al.,2013),也可通 过积累大量的病原菌导致植株的感染死亡 (Santhanam et al.,2015)。研究表明,众多土传病 害的发生与微生物有非常密切的关系。王茹华等 (2007)研究发现,植物对土传病害表现出的抗性 与根际真菌有密切关系;刘先良(2014)和董朝霞 等(2019)研究发现,接种丛枝菌根真菌能提高植 株对青枯病的抗性并能促进植株生长;龚云丽等 (2020)研究发现,丛植菌根真菌会抑制青枯雷尔 氏菌引起的姜瘟病;张深(2007)通过平板拮抗实 验从烟草中筛选出 15 个对青枯病有抑制作用的 菌株,其中分泌抗菌活性物质最强的 2 株均为真 菌菌株;董夏伟(2011)从 59 株真菌中分离出的烟 曲霉(Aspergillus fumigatus)和浅黄新萨托菌 (Neosartorya aureola)对烟草青枯病菌有较好抑制 作用;黎起秦等(1999)筛选到 5 株经鉴定属于康 氏木霉菌的真菌,它们对西瓜枯萎病、番茄青枯病 有抑制活性,并且在人工接种条件下仍有防效。

本课题组基于长期的田间调查发现,在本校 桑园教学基地中,台湾长果桑品种极易受青枯病 危害且普遍存在;同一块桑园,与青枯病易感桑树 品种相邻的桂桑 12 号未曾发现过青枯病易感症 状。青枯病钝感品种是否通过招募有益的微生物 来提高抗性和强化根际微环境生防能力,其不易 感染青枯病的原因是否与其根际特有微生物的富 集有关等问题均有待研究。因此,本研究以青枯 病易感桑树品种(台湾长果桑)和钝感桑树品种 (桂桑 12 号)为对象,基于高通量测序技术,比较 2 个桑树青枯病抗性不同品种植株根际土壤真菌群 落结构特征,旨在探究青枯病易感桑树品种易感 青枯病的生态机制,为筛选青枯病的拮抗微生物 以及构建生态防控桑树青枯病技术体系提供理论 依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

广西壮族自治区南宁市广西大学农学院教学 实习基地(108°17′14″E、22°51′17″N),土壤类型 为赤红壤,土壤 pH 5.79,含有机质 6.75 g・kg⁻¹,全 氮 0.84 g・kg⁻¹,全磷 0.53 g・kg⁻¹,全钾 14.54 g・ kg⁻¹,碱解氮 57.45 mg・kg⁻¹,速效磷 3.39 mg・ kg⁻¹,速效钾 81.77 mg・kg⁻¹。当地年平均气温 21.7 ℃,属亚热带季风气候,阳光充足,雨量充沛, 年均降雨量达 1 600 mm。

1.2 样品采集

2020年6月,于广西大学农学院教学实验桑 园随机采集青枯病易感(台湾长果桑,6a,SM)和 钝感(桂桑12号,6a,IM)品种植株根际土壤样 品。采用五点取样法,随机选取青枯病易感桑树 品种和钝感桑树品种各3株,以每株桑树为中心, 直径60 cm 左右,挖取植株地下10~60 cm 根系, 抖落根系上的大块土壤后,收集附着在根系表面 的土壤于样品袋中,共6个土样,放入冰盒带回实 验室,放入-80℃冰箱中保存。干冰保存送至测 序公司提取 DNA,进行高通量测序。

1.3 土壤真菌多样性分析

土壤总 DNA 抽提根据 Fast DNA[®] SPIN Kit for Soil 试剂盒(MP Biomedicals, U.S.)操作说明进行, DNA 浓度和纯度使用 NanoDrop 2000 分光光度计 (Thermo Fisher Scientific, U.S.)进行检测。利用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量,并以提取 的土壤微生物 DNA 为模板,选用 ITS1F(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和 ITS2R(5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')为引物对真菌 ITS 区进行 PCR 扩增。常规方法回收 PCR 产物,并进 行纯化、检测定量。

将同一样本的 PCR 产物混合后使用 2%琼脂糖 凝胶 回 收 PCR 产物,利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA)进行回收产物纯化, 2%琼脂糖凝胶电泳检 测,并用 Quantus[™] Fluorometer (Promega, USA)对 回收产物进行检测定量。基于 Illumina MiSeq 平台 (Illumina, SanDiego, USA)标准操作规程,将纯化 后的扩增片段构建文库。利用 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行测序(上海美吉生物医药科 技有限公司)。

原始测序序列使用 Trimmomatic 软件进行质控,使用 FLASH 软件进行拼接,设置 50 bp 的窗口,去除质控后长度低于 50 bp 的序列,根据重叠碱基 overlap 将两端序列进行拼接,根据序列首尾 两端的 barcode 和引物将序列拆分至每个样本,使用 UPARSE (version 7.1 http://drive5.com/uparse/)软件根据 97%的相似度对序列进行 OTU 聚类并剔除嵌合体,生成 OTU 表格,利用 RDP classifier(http://rdp.cme.msu.edu/)对每条序列进行物种分类注释,比对 Silva 数据库,设置比对阈值为 70%。获得分类学信息和各个样本在各分类水平上的群落组成,用图形进行可视化表示,使用 Usearch 和 Mothur 软件分别进行 OTU 丰度和 Alpha 多样性计算,得到样品物种信息。

1.4 数据统计分析

利用 Microsoft Excel 2019 软件进行数据计算,

用 IBM SPSS Statistics 21 软件进行方差分析,使用 独立样本 t 检验进行显著性检验(P<0.05),并利 用上海美吉生物医药科技有限公司的 I-sanger 云 数据分析平台进行在线数据分析。平均数据以 "平均数±标准差"表示。

2 结果与分析

2.1 青枯病不同抗性桑树品种植株根际土壤真菌 Alpha 多样性分析

由表1可知,青枯病易感桑树品种植株根际土 壤中,指示真菌丰富度的 ACE 指数和 Chaol 指数 与钝感桑树品种植株根际土壤之间并不存在显著 差异;指示真菌多样性的 Shannon 指数在青枯病不 同抗性桑树品种之间亦无显著差异。这表明相同 非胁迫条件下,青枯病易感和钝感桑树品种植株 根际土壤的真菌多样性与丰富度并不存在显著 差异。

表 1 青枯病易感和钝感桑树品种植株 根际土壤真菌群落 Alpha 多样性分析

Table 1 Analysis of Alpha diversity of fungi community in rhizosphere soil between sensitive and insensitive mulberry varieties to bacterial wilt

样本 Sample	香农指数 Shannon index	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	覆盖率 Coverage
易感品种	2.47±	465.01±	471.95±	0.998 6
SM	1.82a	142.22a	141.13a	
钝感品种	3.68±	598.54±	604.58±	0.998 5
IM	0.47a	14.37a	5.76a	

注:表中数据为平均值±标准差;数据后不同小写字母表示 青枯病易感和钝感桑树品种之间差异显著(P<0.05)。

Note: Data in the table are $\bar{x} \pm s$; values followed by different small letters mean significant differences between sensitive and insensitive mulberry varieties to bacterial wilt (*P*<0.05).

2.2 真菌门分类水平组成

门分类水平,青枯病易感(SM)和钝感(IM)桑 树品种植株根际土壤中,丰度占比大于1%的优势 真菌门分类数量及丰度占比如图1所示。青枯病 易感和钝感桑树品种植株根际土壤中,丰度占比 大于1%的优势真菌门分类数量分别为3个和5 个。其中,青枯病易感桑树品种植株根际土壤中, 优势真菌门分类水平丰度占比大小顺序分别为子 囊 菌 门(Ascomycota, 89.45%)、担 子 菌 门 (Basidiomycota, 6.42%)、unclassified_k _ Fungi (2.61%)和其他(others, 0.64%)门类;钝感桑树品 种植株根际土壤中,优势真菌门分类组成丰度占 比及大小排序均发生变化,丰度占比大小分别为 子囊菌门(Ascomycota, 72.89%)、担子菌门 (Basidiomycota, 14.61%)、unclassified_k _ Fungi (6.66%)、被孢霉门(Mortierellomycota, 2.75%)、球 囊菌门(Glomeromycota, 1.20%)和其他(others, 1.89%)门类。被孢霉门和球囊菌门是青枯病钝感 桑树品种植株根际土壤中特有的优势真菌门类。

2.3 真菌属分类水平组成

属分类水平,青枯病易感(SM)和钝感(IM)桑 树品种植株根际土壤中,丰度占比大于1%的优势 真菌属分类数量及丰度占比如图2所示。其中, 青枯病易感和钝感桑树品种植株根际土壤中,丰 度占比大于1%的优势真菌属分类数量分别为10 个和24个。青枯病易感桑树品种优势真菌属丰 度占比分别为杯盘菌属(Ciboria, 47.18%)、 unclassified_f Nectriaceae (11.95%), Apiotrichum (5.45%) unclassified c Sordariomycetes (4.37%) 新赤壳属(Neocosmospora, 3.44%)、地丝菌属 (Geotrichum, 4.13%) unclassified_f Microascaceae (3.09%)、unclassified_k Fungi(2.61%)、足放线病 菌属(Scedosporium, 1.28%)、腐质霉属(Humicola, 1.04%)及其他(others, 9.95%);青枯病钝感桑树品 种植株根际土壤中,优势真菌属丰度占比大小顺序 分别为杯盘菌属(Ciboria, 14.15%)、unclassified_f Microascaceae (11.57%)、油瓶霉属 (Lecythophora, 8.18%) unclassified k Fungi (6.66%) 新赤壳属 (*Neocosmospora*, 5.48%), unclassified \mathbf{c} Agaricomycetes (5.18%), Apiotrichum (3.27%), Gibellulopsis (2.89%)、被孢霉属 (Mortierella, 2.75%) unclassified_c _ Sordariomycetes (2.00%) Roussoella (1.87%)、毛 壳 菌 属 (Chaetomium, 1.74%)、Saitozyma (1.62%)、曲霉属 (Aspergillus, 1.53%)、毛孢子菌属(Trichosporon, 1.48%)、 unclassified _ o Eurotiales (1.42%)、锐孔菌属 (Oxyporus, 1.34%), unclassified_o Coniochaetales (1.33%)、镰刀菌属(Fusarium, 1.27%)、假埃希氏菌 属 (*Pseudallescheria*, 1.23%)、unclassified f Glomeraceae (1.14%), unclassified_o Pleosporales (1.06%)、*Plectosphaerella* (1.05%)、翅孢壳属 (Emericellopsis, 1.03%)及其他(others, 15.96%)。



- 图 1 青枯病易感(SM)和钝感桑树品种 (IM)植株根际土壤优势真菌门分类水平
- Fig. 1 Composition of fungi at phylum level in rhizosphere soil between sensitive (SM) and insensitive mulberry varieties (IM) to bacterial wilt



图 2 桑树青枯病易感(SM)和钝感品种(IM)植株根际土壤真菌属分类水平 Fig. 2 Composition of fungi at genus level in rhizosphere soil between sensitive (SM)

and insensitive mulberry varieties (IM) to bacterial wilt

与青枯病钝感桑树品种相比, unclassified_f Apiotrichum 、 unclassified Nectriaceae 、 _c Sordariomycetes、地丝菌属(Geotrichum)、足放线病 菌属(Scedosporium)和腐质霉属(Humicola)等在青 枯病易感桑树品种植株根际土壤中虽是富集的特 有优势真菌属,但缺失了诸如油瓶霉属 (*Lecythophora*), unclassified c *Agaricomycetes*, Apiotrichum、被 孢 霉 属、Gibellulopsis、unclassified_ c Sordariomycetes、Roussoella、毛 壳 菌 属、 Saitozyma、曲霉属、毛孢子菌属、unclassified_o __ Eurotiales、锐孔菌属、unclassified_o Coniochaetales、镰刀菌属、假埃希氏菌属 (*Pseudallescheria*), unclassified _ f Glomeraceae, unclassified_o Pleosporales、Plectosphaerella 和翅孢 壳属等优势真菌属(图2)。

2.4 青枯病不同抗性桑树品种根际土壤真菌群落 结构间的差异

物种进化分支图(图3:A)从内圈到外圈依次 展示了样本群落中从门到属的所有等级关系以及 各分类单元在不同模式间的差异情况。通过 LDA 值分布柱状图(筛选标准为 P<0.05, LDA score> 3.0),可以找出对青枯病易感(SM)和钝感(IM)桑 树品种产生显著影响的真菌物种类群(图 3:B)。 门分类水平上,被孢霉门(Mortierellomycota)和球 囊菌门(Glomeromycota)在钝感(IM)桑树品种植 株根际土壤中具有显著优势。属分类水平上, unclassified_f *Nectriaceae*、瓶霉属(*Phialophora*)、 枝顶孢霉属(Acremonium)、Pleiocarpon 和 Savoryella 在青枯病易感桑树品种(SM)植株根际土壤中具 有显著优势。Gibellulopsis、被孢霉属(Mortierella)、 毛壳菌属(Chaetomium)、Roussoella、unclassified o Eurotiales Sagenomella unclassified _ o Pleosporales、Fusicolla、Chordomyces、柱 霉 属 (Scytalidium)、漆斑菌属(Myrothecium)、笋顶孢属 (Acrostalagmus)、根内球囊霉属(Rhizophagus)、 unclassified_f __ Plectosphaerellaceae , unclassified_f __ Didymellaceae 在钝感(IM)桑树品种植株根际土壤 中具有显著优势。

2.5 真菌 FUNGuild 功能预测

利用 FUNGuild 软件,根据真菌群落对同类环境 资源的利用途径进行功能预测发现,本研究检测出 的土壤根际真菌根据对环境资源吸收利用方式,主 要可划分为共生营养型、病理营养型和腐生营养型 3 种类型和 14 个 Guilds(图 4)。主要包括植物病原 菌(plant pathogen)、未定义腐生菌(undefined saprotroph)、不明真菌(unknown)、土壤腐生真菌 (soil saprotroph)、凋落物腐生真菌(litter saprotroph)、粪腐真菌(dung saprotroph)、体表寄生 菌(epiphyte)、植物腐生真菌(plant saprotroph)、地 衣寄生真菌(lichen parasite)、木质腐生真菌(wood saprotroph)、寄生真菌(fungal parasite)、动物病原菌 (animal pathogen)、丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal)和内生真菌(endophyte)。其中,青枯病 易感桑树品种根际土壤中,富集了相对较多的病理 营养型和腐生营养型真菌;而青枯病钝感桑树品种 根际土壤中,富集了相对丰富的共生营养型真菌。

2.6 物种 Venn 分析

97%的相似度水平上,针对青枯病不同抗性桑树品种植株根际土壤真菌不同分类水平进行聚类分析,获得12个门、34个纲、84个目、177个科、322个属、491个种及1281个OTU(Operational Taxonomic Units)分类水平(图4)。由Venn图可知,青枯病易感和钝感桑树品种植株根际土壤中,分别检测到781个和973个OTU。其中,共有OTU为473个,易感桑树品种特有的OTU为76个,钝感桑树品种特有的OTU为91个。特有真菌数量更为丰富的土壤真菌OTU分类水平,可能是青枯病钝感桑树品种田间表现出更强抗性的重要原因。

3 讨论与结论

微生物是生态系统中功能活跃、开发潜力最 大、最宝贵的生物资源库(肖健等,2021)。土壤中 丰富的微生物多样性在陆地生态系统中具有非常 重要的功能,微生物群落结构越丰富、物种越均匀 及多样性越丰富时,植物对抗病原菌的综合能力 就越强(肖健等,2020)。本研究发现,非胁迫条件 (均无发病症状)下,青枯病易感和钝感桑树品种 植株根际土壤中,指示真菌丰富度的 ACE 指数和 Chao1 指数以及指示真菌多样性的 Shannon 指数 在两者间均无显著差异。这一现象不仅可能与相 近植被、气候和土壤条件下,真菌群落组成具有较 高的相似性有关(付亚娟等,2019),而且可能与样 品采集时,两个抗性不同桑树品种均未出现发病 症状,处于非胁迫条件有关。另外,青枯病钝感桑 树品种植株根际土壤中,拥有更为多样的不同分





类水平的特有优势真菌。由此推测,桑树植株根际土壤微环境中,更为丰富多样的不同分类水平 特有优势真菌数量,可能是青枯病钝感桑树品种 田间表现出抗性更强的重要原因。

门分类水平,与青枯病钝感桑树品种相比,青 枯病易感桑树品种植株根际土壤中,子囊菌门 (Ascomycota) 真菌丰度占比从 89.45%下降至 72.89%; 担子菌门(Basidiomycota) 真菌丰度占比 从 6.42%上升至 14.61%。子囊菌门和担子菌门真 菌丰度占比的变化趋势与涂娜娜等(2021)的研究 结果相似。林春英等(2021)研究证实, 青枯病钝 感桑树品种植株根际土壤中富集的被孢霉门











(Mortierellomycota)真菌是一类好氧真菌,喜欢透 气性较好的土壤环境,具有分解木质素、纤维素和 半纤维素等难分解物质的能力,能够利用土壤中 的糖类物质进行生长代谢,增加土壤有机质和养 分含量。另外,青枯病钝感桑树品种植株根际土 壤中,富集的球囊菌门(Glomeromycota)真菌被认 为具有帮助植物吸收氮、磷等元素、提高植物对土 传病害和干旱等生物及非生物胁迫的耐受性等功 能(马少兰等,2019)。

属分类水平,被孢霉属(Mortierella)、镰刀菌属 (Fusarium)、曲霉菌属(Aspergillus)和毛壳菌属 (Chaetomium)是青枯病钝感桑树品种植株根际土 壤中富集的特有优势真菌属。宁琪等(2022)研究 已证实,被孢霉属真菌具有促进土壤中氮、磷和钾 等养分元素有效化的能力:被孢霉真菌分泌的不 饱和脂肪酸(如花生四烯酸和二十碳五烯酸等). 是土壤微生物吸收利用的重要碳源,可使土壤微 生物生境发生改变,从而影响土壤微生物群落组 成(徐惠昌等,2021)。毛壳菌属真菌因产生丰富 的降解纤维素的酶和产生具有生理活性的次生代 谢产物(如球毛壳素、毛壳素等)而著称,能对多种 植物的多种病害的病原菌产生抑制作用(徐全智 等,2017;蒙盼盼等,2021)。镰刀菌属真菌可产生 纤维素酶对碳的分解起作用,并与曲霉菌属真菌 一起参与土壤难溶性磷的溶解,可有效提高植物 对磷的获取,是溶磷微生物的重要类群(杨顺等, 2018)

通过 FUNGuild 功能预测发现,青枯病易感桑树品种根际土壤中,主要富集了病理营养型和腐生营养型真菌,与之相比,青枯病钝感桑树品种根际土壤中,富集了丰度更高的共生营养型真菌。 孙倩等(2019)研究证实,腐生营养型真菌是土壤中重要的分解者,可以分解难降解的有机质,在养分循环方面起着重要作用;病理营养型真菌主要从宿主获取营养来源,容易导致植物宿主发生病害(Anthony et al.,2017);而共生营养型真菌则对植物宿主生长和品质等产生有益作用(Igiehon & Babaola,2017)。

综上所述,青枯病钝感桑树品种植株根际土 壤中,富集的被孢霉门、球囊菌门、被孢霉属、镰刀 菌属和曲霉菌属等特异优势真菌门属,具有促进 桑树吸收养分,保障植株根际土壤养分均衡供应 微环境的作用;毛壳菌属等优势真菌属,具有分泌 抑菌代谢产物、提高植株抗性和强化宿主植株根 际微环境生防能力的作用。青枯病钝感桑树品种 植株根际土壤中,富集了更为丰富及多样的优势 真菌门属,可能是其田间表现上呈现出抗性更强 的重要原因。由此可见,在青枯病钝感桑树品种 植株根际土壤中,富集的被孢霉属、镰刀菌属、曲 霉菌属和毛壳菌属等优势特异真菌属,具有作为 拮抗桑树青枯病备选菌属的潜力。

参考文献:

- ANTHONY MA, FREYS D, STINSONT KA, 2017. Fungal community homogenization, shift in dominant trophic guild, and appearance of novel taxa with biotic invasion [J]. Ecosphere, 8(9): 1-12.
- BAI LY, FAN XD, ZHOU ZY, et al., 2016. Polyclonal antibody preparation and detection of endoglucanase as a rapid detection target against *Ralstonia solanacearum* [J]. Acta Sericol Sin, 2016, 42(2): 203-209. [白利叶, 范晓东,周泽扬,等, 2016. 用于青枯劳尔氏菌快速检测 的靶标内切葡聚糖酶抗体制备与检测试验 [J]. 蚕业科 学, 42(2): 203-209.]
- BAKKER PAHM, DOORNBOS RF, ZAMIOUDIS C, et al., 2013. Induced systemic resistance and the rhizosphere microbiome [J]. Plant Pathol J, 29(2): 136–143.
- BONILLA N, GUTIERREZ-BARRANQUERO JA, VICENTE AD, et al., 2012. Enhancing soil quality and plant health through suppressive organic amendments [J]. Diversity, 4(4): 475-491.
- COMPANT S, SAMAD A, FAIST H, et al., 2019. A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application [J]. J Adv Res, 19: 29–37.
- DONG XW, 2011. Screening and identification of antagonistic fungi against *Ralstonia solanacearum* and research on the active products [D]. Yangzhou: Yangzhou University. [董夏伟, 2011. 烟草青枯病拮抗真菌的筛选、鉴定及活性产物研究 [D]. 扬州;扬州大学.]
- DONG ZX, YU C, DENG W, et al., 2019. Research progress on the occurrence and control of mulberry bacterial wilt [J]. N Sericul, 40(4): 1-7. [董朝霞, 于翠, 邓文, 等, 2019. 桑树青枯病的发生与防治研究进展 [J]. 北方蚕 业, 40(4): 1-7.]
- FU YJ, ZHANG JL, HOU XQ, 2019. Comparative analysis of fungi diversity in rhizospheric and non-rhizospheric soil from *Cypripedium macranthum* estimated via high-throughput sequencing [J]. Acta Agric Boreal-Occident Sin, 28(2): 253-259. [付亚娟,张江丽,侯晓强, 2019. 大花杓兰根 际与非根际土壤真菌多样性的高通量测序分析 [J]. 西 北农业学报, 28(2): 253-259.]
- GAO Y, NING Q, YANG YZ, et al., 2021. Endophytic Streptomyces hygroscopicus OsiSh-2-mediated balancing between growth and disease resistance in host rice [J]. mBio, 12(4): e0156621.
- GONG YL, BI YL, HU JJ, et al., 2020. Effect of inoculation with AM fungi on maize growth and hyperspectral estimation of total nitrogen content in maize leaves [J]. Environ Eng, 38(5): 210-214. [龚云丽,毕银丽,胡晶晶,等,

2020. 接种 AM 真菌对玉米生长的影响及叶片全氮含量的高光谱估测 [J]. 环境工程, 38(5): 210-214.]

- IGIEHON NO, BABALOLA OO, 2017. Biofertilizers and sustainabl agriculture: exploring arbuscular mycorrhizal fungi [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 101(12): 4871-4881.
- KULMATISKI A, BEARD KH, STEVENS JR, et al., 2008. Plant-soil feedbacks: a meta-analytical review [J]. Ecol Lett, 11(9): 980-992.
- LI QQ, LIN W, CHEN YN, et al., 1999. Screening of antagonistic fungi against soil-borne diseases [J]. J SW Agric Univ, 12(3): 81-84. [黎起秦,林纬,陈永宁,等, 1999. 植物土传病害拮抗真菌的筛选 [J]. 西南农业学 报, 12(3): 81-84.]
- LIN CY, LI XL, ZHANG YX, et al., 2021. Responses of different degradation stages of alpine wetland on soil microbial community in the Yellow River source zone [J]. Environ Sci, 42(8): 3971-3984. [林春英, 李希来, 张玉欣, 等, 2021. 黄河源区高寒沼泽湿地土壤微生物群 落结构对不同退化的响应 [J]. 环境科学, 42(8): 3971-3984.]
- LIU XL, 2014. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of tobacco and tobacco bacterial wilt [D]. Chongqing: Southwest University. [刘先良, 2014. 接种丛 枝菌根真菌对烟草生长及烟草青枯病的影响 [D]. 重庆: 西南大学.]
- MA SL, MA CX, XU PX, et al., 2019. Effects of long-term monocropping of *Lycium barbarum* L. on function and composition of fungal community in rhizosphere of replanted *Lycium barbarum* L. [J]. Acta Pedol Sin, 56(6): 1493–1503. [马少兰, 马彩霞, 徐鹏鑫, 等, 2019. 再植枸杞根 际真菌群落对长期连作的响应研究 [J]. 土壤学报, 56(6): 1493–1503.]
- MENG PP, FENG H, CHEN W, et al., 2021. Community structure and diversity of root-associated fungi of *Catalpa bungei* seedlings and grafted seedlings [J]. Mycosystema, 40 (8): 1965-1979. [蒙盼盼, 冯欢, 陈伟, 等, 2021. 楸树 实生苗和嫁接苗根相关真菌群落结构和多样性 [J]. 菌 物学报, 40(8): 1965-1979.]
- NING Q, CHEN L, LI F, et al., 2022. Effects of *Mortierella* on nutrient availability and straw decomposition in soil [J]. Acta Pedol Sin, 59(1): 206-217. [宁琪, 陈林, 李芳, 等, 2022. 被孢霉对土壤养分有效性和秸秆降解的影响 [J]. 土壤学报, 59(1): 206-217.]
- SANTHANAM R, LUU VT, WEINHOLD A, et al., 2015. Native root-associated bacteria rescue a plant from a suddenwilt disease that emerged during continuous cropping [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 112(36): E5013–E5020.
- SUN Q, WU HL, CHEN B, et al., 2019. Fungal community diversity and structure in rhizosphere soil of different crops in

the arid zone of central Ningxia [J]. Microbiol Chin, 46 (11): 2963-2972. [孙倩, 吴宏亮, 陈阜, 等, 2019. 宁夏 中部干旱带不同作物根际土壤真菌群落多样性及群落结构 [J]. 微生物学通报, 46(11): 2963-2972.]

- TU NN, WU HZ, LOU DZ, et al., 2021. Diversity of fungi communities in rhizosphere soil of resistant and susceptible mulberry against bacterial wilt in Hainan [J]. Chin J Trop Crops, 42(12): 3671-3677. [涂娜娜, 武华周, 娄德钊, 等, 2021. 海南青枯病抗、感桑品种根际土壤真菌群落多 样性分析 [J]. 热带作物学报, 42(12): 3671-3677.]
- WANG RH, ZHANG QF, ZHOU BL, et al., 2007. Analysis on the interaction between root exudates and rhizosphere microbes [J]. Chin J Soil Sci, 38(1): 167-172. [王茹华, 张启发,周宝利,等, 2007. 浅析植物根分泌物与根际微 生物的相互作用关系 [J]. 土壤通报, 38(1): 167-172.]
- XIAN J, REN KY, WU SY, et al., 2020. Characteristics of soil biological properties and bacterial diversity in different yields of *Illicium verum* plantations [J]. J SW Agric Univ, 33 (12): 2872-2878. [肖健, 任奎瑜, 伍思宇, 等, 2020. 不同产量八角林土壤的生物学性状与细菌多样性特征 [J]. 西南农业学报, 33(12): 2872-2878.]
- XIAO J, HUANG XD, LIN GY, et al., 2021. Comparison on soil biological properties and bacterial community structures in rhizospheres between sensitive and insensitive mulberry varieties to bacterial wilt [J]. Acta Sericol Sin, 47(2): 138-146. [肖健, 黄小丹, 林刚云, 等, 2021. 青枯病易感和钝感桑树根际土壤生物学性状及细菌群落结构比较 [J]. 蚕业科学, 47(2): 138-146.]

- XU HC, YOU LH, YU JL, et al., 2021. Effects of different soil management patterns on soil fungal community composition in *Castanea henryiorchard* [J/OL]. J Fruit Sci: 1-16 [2021-09 07]. https://doi.org/10.13925/j. cnki. gsxb. 20210227. [徐惠昌, 尤龙辉, 余锦林, 等, 2021. 不同土壤管理模式对锥栗园土壤真菌群组成的影响 [J/OL]. 果树学报: 1-16 [2021-09-07]. https://doi.org/10.13925/j.cnki.gsxb.20210227.]
- XU QZ, SUN MD, LI F, et al., 2017. Separation and diversity analysis of endophytic fungi from *Lycium barbarum* L. in Ningxia [J] N Hortic, (10): 103-109. [徐全智,孙牧笛, 李帆,等, 2017. 宁夏枸杞内生真菌的分离及多样性分析 [J]. 北方园艺, (10): 103-109.]
- YANG S, YANG T, LIN B, et al., 2018. Isolation and evaluation of two phosphate-dissolving fungi [J]. Acta Microbiol Sin, 58(2): 264–273. [杨顺,杨婷,林斌,等, 2018. 两株溶磷真菌的筛选、鉴定及溶磷效果的评价 [J]. 微生物学报, 58(2): 264–273.]
- YONEYAMA K, 2019. How do Strigolactones ameliorate nutrient deficiencies in plants? [J]. CSH Perspect Biol, 11: a034686.
- ZHANG S, 2007. Selection of microorganisms resistant to wilt disease of tobacco and research on properties of antibionts [D]. Chongqing: Southwest University. [张深, 2007. 烟草 青枯病拮抗菌的筛选及抗菌物质的研究 [D]. 重庆: 西 南大学.]

(责任编辑 蒋巧媛)

广步植物 Guihaia Dec. 2022, 42(12): 2109-2116

吴高殷, 韦小丽, 王晓, 等. 碳氮源对花榈木胚性愈伤组织诱导、发育及有机物积累的影响 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2109-2116.

WU GY, WEI XL, WANG X, et al. Effects of carbon and nitrogen sources on the induction, development and organic matter accumulation of embryogenic callus in *Ormosia henryi* [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2109-2116.

碳氮源对花榈木胚性愈伤组织诱导、 发育及有机物积累的影响

吴高殷^{1,2}, 韦小丽^{1,3}*, 王 晓^{1,3}, 韦 忆^{1,3}

(1. 贵州大学林学院,贵阳 550025;2. 贵州师范大学生命科学学院,贵阳 550025;3. 贵州省森林资源与环境研究中心,贵阳 550025)

摘 要:为探讨花榈木体胚发生过程中不同碳氮源处理对胚性愈伤组织诱导、发育和有机物积累的影响, 并筛选出有利于花榈木体胚发生的碳氮源,优化体胚发生体系,该研究以成熟胚为外植体,通过单因素试验 分析3种碳源、4种蔗糖浓度和6种氮源处理下胚性愈伤组织诱导、发育和有机物积累的差异。结果表明: (1)蔗糖中胚性愈伤组织诱导率显著高于葡萄糖和麦芽糖,但其体胚诱导率、体胚分化率、胚性愈伤组织可 溶性糖、淀粉和可溶性蛋白含量差异不显著。(2)随着蔗糖浓度的升高,胚性愈伤组织、体细胞胚(体胚)诱 导率、体胚分化率、胚性愈伤组织重量和可溶性蛋白含量呈先升高后降低的趋势,均以添加30g・L⁻¹蔗糖最 高,而胚性愈伤组织可溶性糖和淀粉含量呈增加的趋势。(3)在6种氮源处理中,胚性愈伤组织诱导率以添 加500 mg・L⁻¹谷氨酰胺的处理最高,体胚诱导率则以添加谷氨酰胺和水解酪蛋白的处理较高,但不同氮源 处理间体胚分化率无差异;添加有机氮源的处理其胚性愈伤组织可溶性蛋白含量显著高于无氮源处理。总 之,不同的碳氮源通过影响花榈木胚性愈伤组织的诱导、发育和有机物的积累,从而影响其体胚诱导率,但 对体胚分化率影响不显著。初步认为30g・L⁻¹蔗糖和500 mg・L⁻¹谷氨酰胺作为碳氮源可促进花榈木体胚 发生诱导。

关键词:花榈木,体胚发生,胚性愈伤组织,碳氮源,有机物 中图分类号: Q945.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)12-2109-08

Effects of carbon and nitrogen sources on the induction, development and organic matter accumulation of embryogenic callus in *Ormosia henryi*

WU Gaoyin^{1,2}, WEI Xiaoli ^{1,3}*, WANG Xiao^{1,3}, WEI Yi^{1,3}



收稿日期: 2021-11-25

基金项目:国家自然科学基金项目(31460193);贵州省高层次创新人才培养计划项目(【2016】5661);贵州省林业厅项目[黔林 科合(2010)重大 02][Supported by National Natural Science Foundation of China (31460193); High Level Innovative Talents Training Program of Guizhou Province ([2016] 5661); Project of Guizhou Forestry Department [Qian Lin Ke He (2010) Major 02]。

第一作者: 吴高殷(1990-),博士,主要从事种苗繁育研究,(E-mail)wugaoyin1234@163.com。

道信作者:韦小丽,博士,教授,主要从事种苗繁育研究,(E-mail)gdwxl-69@126.com。

(1. College of Forestry, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. College of Life Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang 550025, China; 3. Institute for Forest Resources & Environment of Guizhou, Guiyang 550025, China)

Abstract: In order to study the effects of different carbon and nitrogen sources treatments on the embryogenic callus (EC) induction, development and organic matter accumulation during somatic embryogenesis process in Ormosia henryi, and to screen the carbon and nitrogen sources conducive to somatic embryogenesis and optimize somatic embryogenesis system in O. henryi. Mature embryos were used as explants in O. henryi, the differences of EC induction, development and organic matter accumulation under three kinds of carbon sources, four kinds of sucrose concentrations and six kinds of nitrogen sources treatments were analyzed by single factor experiment. The results were as follows: (1) EC induction rate in medium supplemented with sucrose was significantly higher than with glucose and maltose, while there was no significant difference in somatic embryo (SE) induction rate, SE differentiation rate and the contents of soluble sugar, starch and soluble protein with EC. (2) With the increase of sucrose concentration, EC, SE induction rate, SE differentiation rate, EC weight and soluble protein content first increased and then decreased, which was the highest in 30 g \cdot L⁻¹ sucrose, while the soluble sugar and starch contents of EC showed an increasing trend. (3) In six kinds of nitrogen sources treatments, EC induction rate was the highest in 500 mg \cdot L⁻¹ glutamine, SE induction rates were higher in glutamine and casein hydrolysate, but there were no differences in SE differentiation rates, the soluble protein content of EC in the treatment with organic nitrogen source was significantly higher than that in the treatment without organic nitrogen source. In summary, the different carbon and nitrogen sources affected the induction, development and the organic matter accumulation of EC, and affected SE induction rate, but there were no significant differences in the SE differentiation rate. The study suggests that 30 g \cdot L⁻¹ sucrose and 500 mg \cdot L⁻¹ glutamine as carbon and nitrogen sources can promote SE induction in O. henryi.

Key words: Ormosia henryi, somatic embryogenesis, embryogenic callus, carbon and nitrogen sources, organic matter

花榈木(Ormosia henryi)属豆科(Fabaceae)红 豆属(Ormosia)常绿乔木,材质致密、坚硬、纹理美 丽,为我国珍贵用材树种,是制作高档家具和工艺 品的重要原材料,其根、枝、叶均可入药,具有较高 的经济、药用和生态价值。由于花榈木种皮坚硬, 透水性差,野生自然资源稀少,大小年现象严重,自 然更新困难,生长缓慢,且成年树木易遭砍伐和破 坏,造成现有野生自然资源濒临灭绝状态。为保护 其现有自然资源多样性和解决种质资源不足问题, 当下迫切需要进行保护和繁殖,无性繁殖可以解决 生产实践中资源匮乏问题和缓解供需矛盾。其中, 组织培养技术具有繁殖速度快、产量高、利于种质 资源保存和遗传转化(Keshvari et al., 2018)等优 点,在林木的扩繁研究和运用中具有重要作用。前 人对同为豆科植物的红豆树(Ormosia hosiei)、香合 欢(Albizia odoratissima)等的组织培养技术进行了研 究,但仍存在愈伤组织分化率、不定芽增殖率、生根 率低等问题(桂平,2018;许倩,2020)。

花榈木无性繁殖中,赵正霞(2007)和文虹等 (2020)分别对花榈木埋根和嫁接技术进行了研 究,高丽等(2009)和乔栋(2016)初步建立了组织 培养再生体系,但再生植株的数量有限,其技术尚 不成熟,且生产成本高,难以实现产业化。体细胞 胚胎发生作为一种高效的体外再生方法,是体细 胞在体外培养形成胚性愈伤组织,经胚胎发生和 胚胎发育形成大量胚状体的过程,对产业化生产、 胚胎发育和细胞全能性研究具有重要意义。先前 的研究建立了花榈木体胚发生再生体系(Wu et al., 2020),较深入探讨了花榈木体胚发生的生理 机理,揭示了可溶性糖、淀粉和可溶性蛋白是花榈 木体胚发生的物质基础(Wu et al., 2021)。前人 在三叶无患子(Sapindus trifoliatus)(Asthana et al., 2017)、北美鹅掌楸(Liriodendron tulipifera)(Kim et al., 2011) 和斐济果(Feijoa sellowiana) (Vesco & Guerra, 2001)等物种体细胞胚培养研究中发现, 可溶性糖、淀粉和可溶性蛋白这些有机物含量受 碳氮源及浓度的影响(Iraqi & Tremblay, 2001),从 而影响体胚诱导率。由此推测,碳氮源及浓度与 体胚诱导率及其生理变化有关,但它们如何调控 花榈木体胚诱导及其有机物积累的机理尚未可 知。因此,本研究以花榈木成熟胚作为外植体,采 用单因素试验,分别以3种碳源、4种蔗糖浓度和

6 组氮源添加至胚性愈伤组织、体细胞胚和体细胞 胚分化诱导培养基中,通过分析不同碳氮源处理 下胚性愈伤组织诱导率、体胚诱导率及有机物积 累的差异,拟探讨以下问题:(1)碳氮源对花榈木 体胚诱导率是否具显著影响;(2)碳氮源是否影响 花榈木胚性愈伤组织有机物积累,从而对体胚诱 导起作用。旨在筛选花榈木体胚发生诱导适宜的 碳氮源,进而为优化花榈木体胚再生体系提供参 考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

于 2017 年 11 月采摘贵州省孟关(26°14'23" E,106°25'12" N,海拔1 112 m)同一株花榈木种子。 浓硫酸浸泡种子 1 h,回收浓硫酸,自来水洗净种子, 75%乙醇处理 1 min,2% NaClO 处理 8 min,无菌水 清洗 5 次,无菌水浸泡种子 24 h,使其吸胀,在超净 工作台上使用接种工具剥取成熟胚,备用。

1.2 研究方法

1.2.1 花桐木体胚发生诱导过程 (1)胚性愈伤组 织诱导:以成熟胚为外植体,接种至胚性愈伤组织 诱导培养基中。胚性愈伤诱导培养基参考 Wu 等 (2020)的配方: B₅培养基、0.2 mg · L⁻¹ 6-BA、2.0 mg·L⁻¹2,4-D和2.5g·L⁻¹结冷胶,暗培养,(25± 2) ℃。第25天统计胚性愈伤组织诱导率。(2) 体细胞胚诱导:将(1)中胚性愈伤组织转接至体细 胞胚诱导培养基,体细胞胚诱导培养基参考 Wu 等 (2020)的配方: B5 培养基、0.5 mg · L⁻¹ KT、1.0 mg·L¹2,4-D和2.5g·L¹结冷胶,暗培养,(25± 2)℃。培养4周后统计体细胞胚诱导率。(3)体 细胞胚分化诱导:将(2)中体细胞胚转接至体细胞 胚分化诱导培养基,体细胞胚分化诱导培养基参 考 Wu 等(2020)的配方: B5 培养基, 0.5 mg · L⁻¹ TDZ,0.2 mg · L⁻¹ NAA, 光照强度 20 μmm⁻²s⁻¹, 16 h・d⁻¹;60 d 后统计体细胞胚分化率。

1.2.2 不同碳氮源添加的试验设计 在上述培养的(1)(2)(3)阶段均添加不同碳源、不同浓度蔗糖和有机氮源,具体设计为:

(1)碳源:分别添加 30 g・L⁻¹蔗糖(T1)、30 g・L⁻¹葡萄糖(T2)和 30 g・L⁻¹麦芽糖(T3);

(2) 蔗糖浓度:分别添加 20 g・L⁻¹蔗糖(C1)、
 30 g・L⁻¹蔗糖(C2)、40 g・L⁻¹蔗糖(C3)和 50 g・

L⁻¹蔗糖(C4);

(3)有机氮源:分别添加 0.5 g・L⁻¹谷氨酰胺 Gln(N1)、0.5 g・L⁻¹水解酪蛋白 CH(N2)、0.5 g・ L⁻¹水解乳蛋白 LH(N3)、0.25 g・L⁻¹Gln + 0.25 g・ L⁻¹CH(N4)、0.25 g・L⁻¹Gln + 0.25 g・L⁻¹ LH (N5)、0.25 g・L⁻¹CH +0.25 g・L⁻¹LH(N6)和以不 添加有机氮为对照(N0)。

上述各阶段每个处理重复3次,每个重复接种 20个外植体。所有培养基在灭菌前(121℃,20 min)pH值均调节至5.90±0.2,培养条件为暗培 养,(25±2)℃。

1.2.3 胚性愈伤组织的生长和有机物测定 接种 后第 25 天,分别测定不同处理培养基的 pH 值(雷 磁 PHS-3C 型 pH 计,上海);并收集胚性愈伤组 织,使用万分之一天平(赛多利斯 Practum224-1CN,德国)测量单个成熟胚诱导获得的胚性愈伤 组织重量,装入 5 mL 离心管,贮藏于-80 ℃超低 温冰箱;待样品收集完毕,对生理指标进行统一测 定。可溶性糖和淀粉含量的测定采用硫酸-蒽酮 法,可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝法(刘 萍等,2016),每个处理重复测定 3 次。

1.3 体胚诱导相关指标计算

胚性愈伤组织诱导率、体细胞胚诱导率和体 细胞胚分化率的计算公式如下:

胚性愈伤组织诱导率(%)=(胚性愈伤组织的数量/接种成熟胚数量)×100;

体细胞胚诱导率(%)=(体细胞胚的数量/接 种胚性愈伤组织数量)×100;

体细胞胚分化率(%)=(体细胞胚的萌发数量/接种体细胞胚数量)×100。

1.4 数据处理

试验数据用 Microsoft Office Excel 2007 进行统计处理,使用 SPSS 18.0 软件

对数据进行单因素方差分析,通过 Turkey 检验进行差异显著分析(P<0.05),最后使用 Origin 2019 作图。

2 结果与分析

2.1 花榈木体胚发生的诱导

成熟胚在胚性愈伤组织诱导培养基中培养 7~10 d,愈伤组织从成熟胚四周长出。培养 25 d 后,胚性愈伤组织为乳白色、黄白色或黄色,并在 愈伤组织表面有结节状的小突起(图1:a),它们在 不同碳源、蔗糖浓度和有机氮源上的外观形态无 差异。胚性愈伤组织在体胚诱导培养基中培养4 周后相继发育形成表面光滑、白色、透明状和类似 球形胚的体细胞胚(图1:b),体细胞胚在体胚分 化培养基中进一步分化形成幼芽(图1:c)。

2.1.1 碳源对胚性愈伤组织诱导及发育的影响 添加3种碳源的花榈木成熟胚愈伤组织诱导率均 为100%(图2),但胚性愈伤组织诱导率差异显著 (P<0.05)。其中,T1处理的胚性愈伤组织诱导率 最高,比T2和T3分别高9.3%和9.7%。不同碳源 体细胞胚诱导率和分化率的差异不显著(P> 0.05),但均以T1最高。

2.1.2 蔗糖浓度对胚性愈伤组织诱导及发育的影响 花榈木成熟胚愈伤组织诱导率随蔗糖浓度的 增加呈降低趋势(图3),但差异不显著(P>0.05); 而胚性愈伤组织、体细胞胚诱导率和体细胞胚分 化率随蔗糖浓度的增加呈先升高后降低趋势,其 诱导率均以C2最高,但体细胞胚分化率差异不显 著(P>0.05)。值得注意的是,C4的体胚诱导率急 剧下降,这说明高浓度蔗糖不利于体胚诱导。

2.1.3 有机氮源对胚性愈伤组织诱导及发育的影响 与对照 N0 相比,添加不同有机氮源对愈伤组 织诱导率和体胚分化率差异不显著(P>0.05);但 对胚性愈伤组织和体胚诱导率影响显著(P<0.05, 图 4),其中,N1 胚性愈伤诱导率显著高于 N0,增 加了 18%;N1、N2 和 N4 体胚诱导率显著高于 N0, 分别比 N0 高 18.5%、20.5%和 19.2%。

2.2 碳氮源对胚性愈伤组织的生长及有机物积累的影响

2.2.1 碳源对胚性愈伤组织生长及有机物积累的 影响 不同碳源处理的胚性愈伤组织重量差异显 著(P<0.05),以T1最高,分别比T2、T3高21%、 7.8%,而对培养基pH值、胚性愈伤组织的可溶性 糖、淀粉和可溶性蛋白含量的影响不显著(P> 0.05,表1)。这表明不同碳源对胚性愈伤组织的 生长影响较大,对培养基pH值、胚性愈伤组织碳 氮积累的影响较小。

2.2.2 蔗糖浓度对愈伤组织生长及有机物积累的影响 不同蔗糖浓度处理对培养基 pH 值和胚性愈伤 组织淀粉含量的影响不显著(P>0.05),但对胚性愈 伤组织的重量、可溶性糖和可溶性蛋白含量的影响 显著(P<0.05,表 2)。随蔗糖浓度升高,胚性愈伤组

织的重量和可溶性蛋白含量呈先升高后降低的趋势,以 C2 最高;胚性愈伤组织可溶性糖含量则随蔗糖浓度增加呈逐渐增加趋势,在 C4 处理中最高,分别是 C1、C2、C3 处理的 2.85、1.90、1.30 倍。结果表明蔗糖浓度对培养基的 pH 值影响较小,对胚性愈伤组织的生长及其有机物积累影响较大。

2.2.3 有机氮源对愈伤组织生长及有机物积累的 影响 有机氮源对培养基 pH 值和胚性愈伤组织 淀粉含量的影响不显著(P>0.05),但对胚性愈伤 组织重量、可溶性糖含量和可溶性蛋白含量的影 响显著(P<0.05,表3)。胚性愈伤组织重量在 N5、N1 和 N0 处理中较高;N0 胚性愈伤组织可溶 性糖含量分别比 N1 - N6 高 22%、17%、34%、 9.8%、16%和 2.4%;相反,N1-N6 胚性愈伤组织可 溶性蛋白含量显著高于 N0。可见,有机氮源的添 加有助于胚性愈伤组织的生长和可溶性蛋白的积 累,却不利于胚性愈伤组织可溶性糖的积累。

3 讨论与结论

3.1 碳源对花榈木体胚发生诱导的影响

碳源参与碳代谢途径,为植物生命活动提供 能量和碳骨架,对植物生长发育是不可或缺的,影 响植物体胚诱导率的高低(Bartos et al., 2018)。 本研究中,蔗糖胚性愈伤组织、体胚及体胚分化诱 导率均高于葡萄糖和麦芽糖,与龙眼(Dimocarpus longana)(赖钟雄,1997)和胡桃楸(赵舒野,2013) 体胚诱导的结果一致。胚性愈伤组织的重量以添 加蔗糖处理最高,可能与相同碳源浓度下蔗糖较 葡萄糖和麦芽糖能够更好地调节培养基中的低渗 环境,且蔗糖作为双糖经水解后形成同等量的葡 萄糖和果糖,有助于提高蔗糖合成酶(sucrose synthetase,SS)、蔗糖磷酸合成酶(sucrose phosphate synthetase, SPS)和转化酶(invertase, INV)的活性, 促进碳水化合物之间的相互转化和转运能力,从 而增加碳水化合物含量,提供外植体更多的能量 有关(Iraqi & Tremblay, 2001;罗凯等, 2021)。这 些可能是蔗糖被作为大部分植物细胞培养碳源的 主要原因。此外,不同碳源处理下培养基 pH 值差 异不显著,与它们是非电解质有关。

3.2 蔗糖浓度对花榈木体胚发生诱导的影响

蔗糖浓度影响培养基渗透压,适当的蔗糖浓 度为细胞膨大提供渗透推动力,有助于提高蔗糖



a. 胚性愈伤组织(EC); b. 体细胞胚(SE); c. 体细胞胚的分化。

a. Embryogenic callus (EC); b. Somatic embryo (SE); c. Somatic embryo differentiation.



图 1 花榈木在培养基中添加谷氨酰胺的体胚发生

T1-T3 分别表示 30 g・L⁻¹蔗糖、30 g・L⁻¹葡萄糖和 30 g・L⁻¹麦芽糖。不同大小写字母表示显著性差异(P < 0.05)。下同。 **T1-T3** represented 30 g・L⁻¹sucrose, 30 g・L⁻¹glucose and 30 g・L⁻¹maltose, respectively. Different uppercase and lowercase letters indicate significant differences (P < 0.05)。The same below.

图 2 不同碳源对愈伤组织、体胚和体胚分化诱导的影响 Fig. 2 Effects of different carbon sources on callus, SE and SE differentiation induction

代谢相关酶的活性,对体胚诱导具有重要作用 (Hazubska-Przybył et al., 2016)。在本研究中,花 榈木的胚性愈伤组织、体胚和体胚分化诱导率均 以添加 30 g·L⁻¹蔗糖最高,与前人对龙眼(赖钟 雄,1997)和云杉(Hazubska-Przybył et al., 2016) 的研究结果类似。花榈木胚性愈伤组织可溶性糖 和淀粉含量随蔗糖浓度升高整体呈逐渐升高的趋 势,前人在红花玉兰(Magnolia wufengensis)(宁娜 娜等,2018)、栓皮栎(Quercus variabilis)(辛福梅, 2007)和云杉(Hazubska-Przybył et al., 2016)体胚 诱导中也得出了类似的结果。究其原因可能是适 当的蔗糖浓度不仅促进组织的生长,调控着细胞 内外糖代谢的信号分子应答,诱导了 ABA 水平上 升,提高了糖代谢过程中 SS 和 SPS 酶活性,促进 了糖分的积累(陈俊伟等, 2004);凌亚杰等 (2018)报道随外源糖浓度升高,SS 和 SPS 酶活性 相应增强,糖分含量增加,从而影响到细胞组织的 形态建成(Cangahuala-Inocente et al., 2014),使得



C1-C4 分别表示 20 g · L⁻¹, 30 g · L⁻¹, 40 g · L⁻¹和 50 g · L⁻¹蔗糖。 C1–C4 represented 20 g \cdot L $^{-1}$, 30 g \cdot L $^{-1}$,40 g \cdot L $^{-1}$ and 50 g \cdot L $^{-1}$ sucrose , respectively.





N0. 对照; N1. 0.5 g·L⁻¹谷氨酰胺 Glu; N2. 0.5 g·L⁻¹水解酪蛋白 CH; N3. 0.5 g·L⁻¹水解乳蛋 LH; N4. 0.25 g·L⁻¹Glu + 0.25 $g \cdot L^{-1}CH$; N5. 0.25 $g \cdot L^{-1}Glu+0.25 g \cdot L^{-1}LH$; N6. 0.25 $g \cdot L^{-1}CH+0.25 g \cdot L^{-1}LH_{\odot}$

N0-N6 represent control (CK), 0.5 g · L⁻¹ glutamine (Glu), 0.5 g · L⁻¹ casein hydrolysate (CH), 0.5 g · L⁻¹ Lactalbumin hydrolysate (LH), $0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}\text{Glu} + 0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}\text{CH}, 0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}\text{Glu} + 0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}\text{CH} + 0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}\text{CH} + 0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}\text{CH}$

图 4 不同有机氮源对愈伤组织、体胚和体胚分化诱导的影响 Fig. 4 Effects of different organic nitrogen sources on callus, SE and SE differentiation induction

胚性愈伤组织糖含量较高,却抑制了体胚发育进 程。这些研究结果证明高浓度的蔗糖虽然促进了 花榈木胚性愈伤组织糖分的积累,但是抑制了体 胚诱导。

3.3 氮源对花榈木体胚发生诱导的影响

有机氮源(谷氨酰胺、水解酪蛋白和水解乳蛋 白)可提高培养基 NH4⁺与 NO3⁻比例,改变 C/N 的

比值,促进龙舌兰(Reyes-Díaz et al., 2017)和落叶 松(齐力旺,2000)胚胎的生长发育。本研究中,添 加有机氮源的处理花榈木胚性愈伤组织和体胚诱 导率均高于对照(N0),其中,胚性愈伤组织诱导 率以添加谷氨酰胺(N1)最高,类似的结果在三叶 无患子胚性愈伤组织诱导中被报道(Asthana et al., 2017)。这可能与花榈木对氮元素 (NH4+与

表 1 不同碳源对胚性愈伤组织生长及生理特性的影响

Table 1 Effects of different carbon sources on EC growth and physiology

碳源 Carbon source	pH 值 pH value	胚性愈伤重量 EC weight (g)	可溶性糖含量 Soluble sugar content (mg・g ⁻¹)	淀粉含量 Starch content (mg・g ⁻¹)	可溶性蛋白含量 Soluble protein content (mg・g ⁻¹)
T1	4.74±0.07a	0.269±0.007a	22.22±1.14ab	18.38±1.47a	11.86±0.3a
T2	$4.65 \pm 0.06a$	$0.212{\pm}0.012\mathrm{b}$	24.80±0.33a	16.04±1.67a	10.89±0.58a
Т3	$4.73 \pm 0.08a$	0.248 ± 0.015 a	24.45±0.10a	16.66±1.71a	10.98±0.46a

同一列不同小写字母代表在 P<0.05 水平下的显著性差异。下同。

Different lowercase letters in the same column indicate significant differences (P < 0.05). The same below.

表 2 不同蔗糖浓度对胚性愈伤组织生长及生理特性的影响

Table 2 Effects of different sucrose concentrations on EC growth and physiology

蔗糖浓度 Sucrose concentration	pH 值 pH value	胚性愈伤重量 EC weight (g)	可溶性糖含量 Soluble sugar content (mg・g ⁻¹)	淀粉含量 Starch content (mg・g ⁻¹)	可溶性蛋白含量 Soluble protein content (mg・g ⁻¹)
C1	4.58±0.03a	0.18±0.024ab	$12.84 \pm 0.89 \mathrm{c}$	15.48±0.64a	$10.21{\pm}0.63{\rm bc}$
C2	4.6±0.03a	0.2±0.016a	$19.27{\pm}1.08{\rm c}$	14.93±1.86a	11.85±0.06a
C3	4.4±0.06a	$0.17{\pm}0.014{\rm b}$	$28.24{\pm}5.31\mathrm{b}$	16.58±2.84a	$9.05{\pm}0.93{\rm c}$
C4	4.54±0.14a	$0.17{\pm}0.022 ab$	$36.65 \pm 2.82a$	18.74±1.18a	$10.6 \pm 0.3 \mathrm{b}$

表 3 不同有机氮源对胚性愈伤组织生长及生理特性的影响

Table 3 Effects of organ nitrogen source on EC growth and physiology

有机氮源 Organ nitrogen source	pH 值 pH value	胚性愈伤重量 EC weight (g)	可溶性糖含量 Soluble sugar content (mg・g ⁻¹)	淀粉含量 Starch content (mg・g ⁻¹)	可溶性蛋白含量 Soluble protein content (mg・g ⁻¹)
NO(CK)	4.49±0.06a	0.21±0.012ab	20.16±2.28a	9.9±5.27a	8.31±0.33d
N1	4.54 ± 0.04 a	$0.21 \pm 0.01 \mathrm{ab}$	$15.83 \pm 1 \mathrm{bc}$	15.41±1.57a	11.79±0.2a
N2	$4.47 \pm 0.08 a$	$0.16{\pm}0.007{\rm cd}$	$16.76 \pm 2.19 \mathrm{abc}$	11.26±2.35a	11.79±0.36a
N3	4.52±0.12a	$0.19{\pm}0.011{\rm bc}$	$13.25 \pm 0.81 \mathrm{c}$	14.71±1.89a	$9.84{\pm}0.24{\rm bc}$
N4	4.57±0.11a	$0.13 \pm 0.008 e$	$18.19 \pm 0.81 \mathrm{ab}$	14.85±1.31a	11.52±0.26a
N5	$4.55 \pm 0.09a$	0.22±0.011a	$16.89{\pm}1.65{\rm abc}$	16.17±0.27a	11.49±0.17a
N6	$4.52 \pm 0.08a$	$0.16{\pm}0.003{\rm d}$	19.67±1.31ab	11.33±0.74a	$10.49{\pm}0.14{\rm b}$

N0₃⁻)的吸收和利用效率有关。因为谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)和硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)是植物体内氮代谢同化作用的关键酶,其中,GS通过氮素同化作用,利用ATP分解释放的能量,将无机氮催化为谷氨酰胺和谷氨酸供植物利用(刘云菲等,2021);若GS活性低,植物体内合成的蛋白质不足或低于植物生长所需阈值,植物生理代谢和生长发育将受影响,而外源谷氨酰胺的添加利于植物对其的吸收和利用,提高了GS和NR的活性,促进蛋白质的形成(罗慧和李伏生,2020),为花榈木胚性愈伤组织的正常发育提供氮源保障。与对照(N0)相比,有机氮源(N1-N6)处理促进花榈木胚性愈伤组织中可溶性蛋白含量的积累,相反,N1-N6处理花榈木胚性愈伤组织可溶性糖含量却较低,辛福梅(2007)

在栓皮栎中也发现类似的结果。这可能与 N0 处理中培养基 C/N 比相对较高,利于可溶性糖的合成,而添加有机氮源(N1-N6),培养基 C/N 比值降低,促进可溶性蛋白的积累有关。

综上分析得出结论:碳氮源影响花榈木胚性愈 伤组织的诱导、发育和有机物的积累,从而影响其 体胚诱导率,但对体细胞胚分化的影响不显著。培 养基中添加 30 g·L⁻¹蔗糖和 500 mg·L⁻¹谷氨酰胺 可以促进花榈木胚性愈伤组织和体细胞胚的诱导。

参考文献:

ASTHANA P, RAI MK, JAISWAL U, 2017. Somatic embryogenesis from sepal explants in *Sapindus trifoliatus*, a plant valuable in herbal soap industry [J]. Ind Crop Prod, 100: 228-235.

- BARTOS PMC, GOMES HT, AMARAL LIVD, et al., 2018. Biochemical events during somatic embryogenesis in *Coffea arabica* L [J]. Biotechnology, 8(4): 209.
- CANGAHUALA-INOCENTE GC, SILVEIRA V, CAPRESTANO CA, et al., 2014. Dynamics of physiological and biochemical changes during somatic embryogenesis of *Acca sellowiana* [J]. In Vitro Cell Dev-Pl, 50(2): 166–175.
- CHEN JW, ZHANG SL, ZHANG LC, 2004. Sugar transport, metabolism, accumulation and their regulation in fruits [J]. Physiol Mol Biol Plants, 30(1): 1-10. [陈俊伟,张 上隆,张良诚, 2004. 果实中糖的运输、代谢与积累及其 调控 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 30(1): 1-10.]
- GAO L, LI HL, YANG B, 2009. Callus induction and plant regeneration from the hypocotyl of *Ormosia henryi* Prain [J]. J Anhui Agric Sci, 37(33):16271-16273. [高丽, 李 洪林,杨波, 2009. 花榈木胚轴愈伤组织的诱导及植株再 生[J]. 安徽农业科学, 37(33):16271-16273.]
- GUI P, 2018. Studies on the tissue culture of rare ornamental trees *Ormosia hosiei* [D]. Guiyang: Guizhou University. [桂平, 2018. 珍稀观赏树种红豆树组织培养技术研究 [D]. 贵阳:贵州大学.]
- HAZUBSKA-PRZYBYŁ T, KALEMBA EM, RATAJCZAK E, et al., 2016. Effects of abscisic acid and an osmoticum on the maturation, starch accumulation and germination of *Picea* spp. somatic embryos [J]. Acta Physiol Plant, 38(2):59.
- IRAQI D, TREMBLAY FM., 2001. The role of sucrose during maturation of black spruce (*Picea mariana*) and white spruce (*Picea glauca*) somatic embryos [J]. Physiol Plant, 111(3); 381-388.
- KESHVARI T, NAJAPHY A, KAHRIZI D, et al., 2018. Callus induction and somatic embryogenesis in *Stevia rebaudiana* Bertoni as a medicinal plant [J]. Cell Mol Biol, 64(2): 46-49.
- KIM YW, HAN MS, MOON HK, et al., 2011. Effects of ABA, reduced nitrogen source and osmoticum for somatic embryogenesis in *Liriodendron tulipifera* [J]. J Plant Biotechnol, 38(2): 186–190.
- LAI ZX, 1997. Plant Regeneration system of protoplast culture in Longan (*Dimocarpus longana* Lour) [D]. Fuzhou: Fujian Agric University. [赖钟雄, 1997. 龙眼原生质体培养再生 系统的研究 [D]. 福州: 福建农业大学.]
- LING YJ, MO Q, MO F, et al., 2018. Effects of exogenous sugar treatment on fruit quality and main bioactive compounds in Strawberry [J]. J Sichuan Agric Univ, 36(1): 67-71. [凌亚杰, 莫琴, 莫凡, 等, 2018. 外源糖处理对草莓 果实品质和主要生物活性物质的影响 [J]. 四川农业大 学学报, 36(1): 67-71.]
- LIU P, LI MJ, DING YF, 2016. Experiment of plant physiology [M]. Beijing: Science Press. [刘萍, 李明军, 丁义峰, 2016. 植物生理学实验 [M]. 北京: 科学出版社.]
- LIU YF, XUE DS, GONG CJ, 2021. Research progress of glutamine synthetase [J]. Shandong Chem Ind, 50(5): 97–99. [刘芸菲,薛栋升,宫春杰, 2021. 谷氨酰胺合成酶研究进展 [J]. 山东化工, 50(5): 97–99.]
- LUO H, LI FS, 2021. Effects of drip irrigation with nitrogen fertigation on tomato nitrogen metabolism and the use of water and nitrogen [J]. Water Saving Irrig, (9): 90-94. [罗慧, 李伏生, 2021. 滴灌施氮对番茄氮代谢及水氮利用的影响

[J]. 节水灌溉, (9): 90-94.]

- LUO K, XIE C, WANG J, et al., 2021. Effect of exogenous plant growth regulators on carbon-nitrogen metabolism and flowerpod abscission of relay strip intercropping soybean [J]. Acta Agron Sin, 47 (4): 752 – 760. [罗凯,谢琛,汪锦,等, 2021. 外源喷施植物生长调节剂对套作大豆碳氮代谢和花 荚脱落的影响 [J]. 作物学报, 47(4): 752–760.]
- NING NN, DENG W, ZHU ZL, et al., 2018. Embryogenic or not callus induction and analysis of physiological and biochemical differences in *M. wufengensis* [J]. Mol Plant Breed, 16(10): 3278-3285. [宁娜娜,邓为,朱仲龙,等, 2018. 红花玉兰胚性与非胚性愈伤组织的诱导及生理生 化差异分析 [J]. 分子植物育种, 16(10): 192-199.]
- QIAO D, 2016. Study on the tissue culture of Ormosia henryi Prain [D].Guiyang: Guizhou Univ. [乔栋, 2016. 花榈木组 织培养技术研究 [D]. 贵阳: 贵州大学.]
- QI LW, 2000. Study on the somatic embryogenesis and establishment of experimental system in *Larix principisrupprechtii* [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry. [齐 力旺, 2000. 华北落叶松体细胞胚胎发生与遗传转化系统 建立的研究 [D]. 北京:中国林业科学研究院.]
- REYES-DÍAZ JI, ARZATE-FERNÁNDEZ AM, PIA-ESCUTIA JL, et al., 2017. Media culture factors affecting somatic embryogenesis in *Agave angustifolia* Haw [J]. Ind Crop Prod, 108: 81–85.
- VESCO L, GUERRA MP, 2001. The effectiveness of nitrogen sources in Feijoa somatic embryogenesis [J]. Plant Cell Tiss Org, 2001, 64(1): 19–25.
- WEN H, ZHU TC, ZHOU JC, et al., 2020. Study on the grafting technology of *Ormosia henryi* Prain [J]. Hunan For Sci Technol, 47 (1): 86-88. [文虹, 朱天才, 周洁尘, 等, 2020. 花榈木嫁接技术研究 [J]. 湖南林业科技, 47(1): 86-88.]
- WU GY, WEI XL, WANG X, et al., 2020. Induction of somatic embryogenesis in different explants from *Ormosia henryi* Prain [J]. Plant Cell Tiss Org, 142(2): 229-240.
- WU G, WEI X, WANG X, et al., 2021. Changes in biochemistry and histochemical characteristics during somatic embryogenesis in *Ormosia henryi* Prain [J]. Plant Cell Tiss Org, 144: 505-517.
- XIN FM, 2007. The physiological and biochemistry characteristics of somatic embryogenesis in *Quercus variabilis* [D]. Yangling: Northwest Agric For Univ. [辛福梅, 2007. 栓皮栎体胚发生生理生化特性的研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学.]
- XU Q, 2020. Study on hardseedness release and tissue culture of *Albizia odoratissima* (L.F.) Benth [D]. Nanning: Guangxi University. [许倩, 2020. 香合欢硬实破除及组织培养研究 [D]. 南宁:广西大学.]
- ZHAO SY, 2013. The physiological and biochemistry characteristics of somatic embryogenesis in *Juglans Mandshurica* [D]. Harbin: Northeast Forestry University. [赵舒野, 2013. 胡桃楸体胚发生过程中生理生 化特性的研究 [D]. 哈尔滨:东北林业大学.]
- ZHAO ZX, 2007. Seedling technique by burying roots of *Ormosia henryi* Prain [J]. For Ecol, (5): 22. [赵正霞, 2007. 花榈木埋根育苗技术 [J]. 湖南林业, (5): 22.]

(责任编辑 李 莉)

广步植物 Guihaia Dec. 2022, 42(12): 2117-2127

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202106058

刘向东, 尹陈茜, 杨吉龙, 等. 遮光处理对观赏栀子氮、磷、钾分配与生长的影响 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2117-2127. LIU XD, YIN CX, YANG JL, et al. Effects of shading treatment on N, P and K distribution and growth of ornamental *Gardenia jasminoides* cultivars [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2117-2127.



http://www.guihaia-journal.com

遮光处理对观赏栀子氮、磷、钾分配与生长的影响

刘向东^{1,2}, 尹陈茜^{1,2}, 杨吉龙^{1,2}, 侯志勇³, 李炎林^{1,2}, 于晓英^{1,2}*

 (1. 湖南农业大学 园艺学院,长沙 410128;2. 湖南省中亚热带优质花木繁育与利用工程技术中心,园艺作物 种质创新与新品种选育工程研究中心,长沙 410128;3. 中国科学院亚热带农业生态研究所, 农业生态过程重点实验室,洞庭湖湿地生态系统观测研究站,长沙 410125)

摘 要:为探究观赏栀子在不同遮光条件下生长和光合及氮、磷、钾(N、P、K)分配的规律,该研究对3种观 赏栀子设置5种不同的遮光处理(0%、60%、70%、80%、90%),通过对观赏栀子的生长和光合及各器官N、 P、K含量进行统计与分析,探究了不同遮光处理对观赏栀子栽植效果的影响。结果表明:(1)60%和0%遮 光率的大花栀子、80%和70%遮光率的雀舌栀子、0%遮光率的花叶栀子均长势较好。(2)随着遮光率的增 加,雀舌栀子和花叶栀子的净光合速率、胞间CO₂浓度、蒸腾速率逐渐降低,气孔导度、水分瞬时利用率在遮 光率60%下达到最大值。(3)大花栀子总N量最高,器官含N量高低排序为叶、根、茎;雀舌栀子总P量最 高,器官含P量排序为根、茎、叶;大花栀子在90%遮光率下含K量最高。综合考虑认为,雀舌栀子更耐荫 蔽,适合在80%和70%的遮光条件下生长;大花栀子次之,适合在60%和0%遮光条件下生长;花叶栀子最 不耐荫,适合在0%遮光条件下生长。

关键词:观赏栀子,遮光,氮、磷、钾,养分分配,处理方法 中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)12-2117-11

Effects of shading treatment on N, P and K distribution and growth of ornamental *Gardenia jasminoides* cultivars

LIU Xiangdong^{1,2}, YIN Chenxi^{1,2}, YANG Jilong^{1,2}, HOU Zhiyong³, LI Yanlin^{1,2}, YU Xiaoying^{1,2*}

(1. College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Hunan Mid-Subtropical Quality Plant Breeding and Utilization Engineering Technology Research Center, Engineering Research Center for Horticultural Crop Germplasm Creation and New Variety Breeding, Ministry of Education, Changsha 410128, China; 3. Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Region, Dongting Lake Station for Wetland Ecosystem Research, Institute of Subtropical

Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China)

收稿日期: 2021-12-28

基金项目:湖南省科技计划项目(2018TP2007,2019TP1033);湖南省教育厅项目(18A084);长沙市科技局项目(kq2004032);湖 南农业大学"双一流"建设项目科学研究培育项目(SYL201802026,SYL2019012);湖南农业大学第三批重大科研项目暨创新团队 培育工程项目(201909) [Supported by Hunan Science and Technology Plan Program (2018TP2007, 2019TP1033); Hunan Provincial Department of Education Project (18A084); Changsha Science and Technology Bureau Project (kq2004032); Hunan Agricultural University "Double First Class" Construction Project Scientific Research and Cultivation Project (SYL201802026, SYL2019012); The Third Batch of Major Scientific Research Projects and Innovation Team Cultivation Project of Hunan Agricultural University(201909)]。 **第一作者:**刘向东(1995-),博士研究生,主要从事观赏植物资源与应用研究,(E-mail)1125275210@qq.com。

^{*}通信作者:于晓英、博士,教授,主要从事观赏植物资源与应用研究,(E-mail)475705701@qq.com。

Abstract: In order to explore the laws of growth, photosynthesis and NPK distribution of ornamental *Gardenia jasminoides* under different shading treatments. The experiment was conducted to set five different shadings on the three *G. jasminoides* through shading treatment (0%, 60%, 70%, 80%, 90%). The effects of different shading treatments on the planting effect of ornamental *G. jasminoides* were studied. Through the statistics and analysis of ornamental *G. jasminoides* growth, photosynthesis and N, P, K contents of various organs. The results were as follows: (1) *G. jasminoides* 'Grandiflora' with shading rates of 60% and 0%, *G. jasminoides* 'Radicans' with shading rates of 80% and 70%, and *G. jasminoides* 'Variegata' with a shading rate of 0% grow better. (2) With the increase of shading rates, the P_n , C_i and T_r of *G. jasminoides* 'Radicans' and *G. jasminoides* 'Grandiflora' had the highest total N content, and the organ N content was ranked as leaf, root and stem; *G. jasminoides* 'Grandiflora' had the highest K content and the organ P content was ranked as root, stem and leaf; *G. jasminoides* 'Grandiflora' had the highest K content at 90% shading rate. The results of the review show that *G. jasminoides* 'Grandiflora' is the second, suitable for growth under 80% and 70% shading treatments. *G. jasminoides* 'Grandiflora' is the second, suitable for growth under 60% and 0% shading treatments. *G. jasminoides* 'Variegata' is the least tolerant and suitable for growth under 0% shading treatments.

Key words: ornamental Gardenia jasminoides, shading, N, P and K, nutrient distribution, treatment method

栀子(Gardenia jasminoides),原产于我国中部, 为茜草科栀子属的常绿灌木,花洁白而芳香,是我 国著名的八大香花植物之一(Xiao et al., 2016;卢 路路等,2021)。其种类品种丰富,其中观赏用栀子 主要应用于园林造景,盆栽观赏(陈雅林,2018;邓 绍勇等,2018; Kim et al., 2021;)。正确的配植方 式与合理的养护措施对观赏栀子在园林应用中景 观效果有十分重要的意义(杨吉龙等,2020)。由于 配置方式不合理或养护不科学容易出现生长发育 不良、花香不浓等现象,因此观赏栀子在园林绿化 应用中配置不合理等问题亟待解决。

配置方式影响周边环境的光强,光照环境是 影响植物光能利用效率和生产力的重要因子,光 对植物生长发育尤为重要,通过调整光反应中心 和捕光天线色素蛋白复合体的比例以及2个光系 统的比值,植物可以调整色素含量和构成,进而适 应不同的光照条件(韩金龙等,2018)。在遮荫条 件下,耐荫植物可以保持较高的光能利用效率和 光合效率,这对植物生长及相关生理与形态过程 意义重大(张哲等,2013)。不同的光照强度、光质 和光照时间等会影响植物的光合能力及固碳相关 酶、固氮相关酶(如硝酸还原酶)的活性,从而进一 步影响植物氮(N)、磷(P)的含量(王振南和杨惠 敏,2013)。N、P、钾(K)元素参与了体内各类化合 物的组成,通常以硝酸盐和铵盐的形式为植物所 利用,从而影响植物生理活动(李玉霖等,2010;燕

亚飞等,2014)。光强不仅影响植物正常生长,而 且影响植物体对有限的矿质元素的分配,从而影 响各器官均衡发展。有研究表明,随着光强的减 弱,光合速率会降低,植物的 N、P 积累会下降,而 器官内 N、P 含量有所增加(颉洪涛等, 2017)。目 前,观赏栀子研究主要为其花香成分、精油提取物 以及栀子功能成分的提取等方面。但是,关于观 赏栀子在不同光照条件下,观赏栀子对矿质元素 的吸收与利用是否存在与其他植物一样的规律性 变化及种类品种间的基因型差异,目前相关报道 较少。针对观赏栀子对不同光照条件的生长是否 有差异,如何适应其生长环境,是否与其光合特性 及栀子内的 N、P、K 总含量及各器官的分配有关, 以及如何影响观赏植物的 N、P、K 分配,对栀子生 长状况有什么差异性变化等问题,本研究以常见 的3个观赏栀子品种为材料,采用不同遮光处理, 通过其在不同遮光率下的生物量和 N、P、K 含量 及其分配的差异,探讨栀子的营养元素在不同遮 光处理下的分配机制,以期为不同观赏栀子种类 品种的合理利用及配套的高效优质栽培提供 参考。

1 材料与方法

1.1 试验场地

材料种植于湖南农业大学观赏园艺研究所

(113°04'35.90" E、28°10'46.99" N),海拔 34 m,属于 亚热带季风性湿润气候,四季分明,降水充沛,雨热 同期。夏季平均气温为 38 ℃,年平均气温为 17.2 ℃,年积温为 5 457 ℃,试验时期日积温>10 ℃,年 平均降水量为 1 361.6 mm。

1.2 试验材料

选择大花栀子(Gardenia jasminoides 'Grandiflora')、雀舌栀子(G. jasminoides 'Radicans') 和花叶栀子(G. jasminoides 'Variegata')的3年生扦 插苗为植物材料。选择直径20 cm、高23 cm 规格 的花盆作为种植器皿。栽培基质按珍珠岩:蛭 石:有机土:堆积土=1:1:1:2的比例混合。

1.3 试验设计

采取生产应用中常用的黑色遮荫网和疏林遮 荫遮光方式,于 2019 年 3 月至 2020 年 10 月进行 遮光处理。按照遮荫网的针数和覆盖层数设置 5 个不同的遮光处理(0%、80%、60%、70%、90%) (采用台湾泰仕 TES-1332A 照度计连续 5 d 晴天 8:00—17:00 点测定各处理的平均光照强度,各处 理的遮光率=(1-各处理平均光照强度/全光照对 照下光照强度)×100%。将黑色遮荫网搭在高 2.5 m 的钢架上,各处理命名为 CK1、CK2、T1、T2 和 T3,具体情况见表 1。3 个品种每个处理 40 盆,共 600 盆,盆距 30 cm,确保互不遮光条件下置于 5 个 遮光处理中。其他肥、水养护等因素确保一致,避 免试验误差。

1.4 试验测定的项目和方法

观赏栀子植株的株高、冠幅、茎直径、花朵数 和根长在 2020 年 6 月利用卷尺和游标卡尺测量, 在 2020 年 10 月对各处理栀子随机选取 3 株采样, 将表面土壤和杂质去除,分离其各器官,洗净后称 取鲜重,70℃烘干至恒重后称取各部分重量,得到 生物量。光合生理指标采用 LI-6400 光合仪测 定:选择晴朗无云天气的上午9:00-11:00,选取 从上往下数第3片叶片测定,气体流速设定为500 mmol·s⁻¹,控制湿度,温度与CO,浓度与外界环境 一致。各处理各品种3个重复,计算净光合速率 (P_n) 、蒸腾速率 (T_r) 、胞间 CO₂浓度 (C_i) 、气孔导 度 (G_s)和水分利用瞬时效率(WUE) = P_r/T_r (Far & Sharkey, 1982)。将3种栀子各部分磨碎过60 目的筛来测定养分含量,根、茎与叶中全 N、全 P 和全 K 的含量均采用 NY/T 2017—2011 植物中 N、P、K 的测定方法。

1.5 数据处理

试验数据整理工具为 WPS Excel 软件,作图工 具为 Origin 2018 软件,方差分析采用 SPSS Statistics 17.0 软件, P<0.05 表示差异显著。

表1 试验设计

Table 1 Experiment design

品种名 Variety name	处理编号 Treatment number	处理方法 Treatment method
大花栀子 Gardenia jasminoides	DCK1	自然光照对照,无遮光,遮光率为0% Natural light contrast, no shading, shading rate is 0%
Grandmora	DCK2	自然遮光,杜仲树下,遮光率为 80% Natural shading, under <i>Eucommia</i> <i>ulmoides</i> , shading rate is 80%
	DT1	一层 1 针遮荫网,遮光率为 60% A layer of 1-needle shading net, shading rate is 60%
	DT2	一层 2 针遮荫网,遮光率为 70% A layer of 2-needle shading net, shading rate is 70%
	DT3	两层 2 针遮荫网,遮光率为 90% Two layers of 2-needle shading net, shading rate is 90%
雀舌栀子 G. jasminoides 'Radicans'	QCK1	自然光照对照,无遮光,遮光率为0% Natural light contrast, no shading, shading rate is 0%
	QCK2	自然遮光,杜仲树下,遮光率为 80% Natural shading, under <i>Eucommia</i> <i>ulmoides</i> , shading rate is 80%
	QT1	一层 1 针遮荫网,遮光率为 60% A layer of 1-needle shading net, shading rate is 60%
	QT2	一层 2 针遮荫网,遮光率为 70% A layer of 2-needle shading net, shading rate is 70%
	QT3	两层 2 针遮荫网,遮光率为 90% Two layers of 2-needle shading net, shading rate is 90%
花叶栀子 G. jasminoides 'Variegata'	HCK1	自然光照对照,无遮光,遮光率为0% Natural light contrast, no shading, shading rate is 0%
	HCK2	自然遮光,杜仲树下,遮光率为80% Natural shading, under <i>Eucommia</i> <i>ulmoides</i> , shading rate is 80%
	HT1	一层1针遮荫网,遮光率为60% A layer of 1-needle shading net, shading rate is 60%
	HT2	一层 2 针遮荫网,遮光率为 70% A layer of 2-needle shading net, shading rate is 70%
	HT3	两层 2 针遮荫网,遮光率为 90% Two layers of 2-needle shading net, shading rate is 90%

表 2 不同遮光处理下 3 种观赏栀子形态指标的观测结果

Table 2 Observation results of three kinds of ornamental Gardenia jasminoides

morphological indexes under different shading treatments

品种名 Variety	处理编号 Treatment number	株高 Height (cm)	冠幅 Crown breadth (cm)	茎直径 Stem diameter (mm)	花朵数 Number of flowers	根长 Root length (cm)
十九后子	DCK1	54 63+2 62 Ash	51 23+2 864.0	11 22+0 53 Ash	6 33+1 53	24.03±0.32Ba
G. jasminoides	DCK1	54.03±2.02Aab	51.25±2.80Ac	0.57+0.52Ph	0.35±1.35a	24.95±0.52Ba
' Grandiflora'	DCK2	54.57 ± 0.74 Aab	00.00±0.20Aa	9.57±0.55Bbc	4.35±0.58ab	$1/.00\pm0./0Bb$
	DT1	58.93±3.62Aa	$56.50{\pm}2.84\mathrm{Ab}$	13.76±2.50Aa	$4.33 \pm 0.58 ab$	$14.80{\pm}1.22\mathrm{Bc}$
	DT2	$49.90{\pm}0.50{\rm Abc}$	64.77±1.52Aa	$10.63{\pm}1.20{\rm Abc}$	$3.33{\pm}0.58{ m b}$	$14.93{\pm}0.25{\rm Bc}$
	DT3	$45.40{\pm}3.80{\rm Ac}$	67.07±1.91Aa	$8.20{\pm}1.55{\rm Ac}$	$3.33 \pm 1.53 \mathrm{b}$	26.67±2.38Aa
雀舌栀子	QCK1	$43.20{\pm}7.14{\rm Bab}$	$45.20{\pm}3.65{\rm Bb}$	13.21±4.13Aa	21.33±5.51ab	23.23±0.51Ba
G. jasminoides 'Radicans'	QCK2	46.57±1.07Ba	59.97±2.06Ba	11.10±1.27ABa	23.00±2.00a	$18.23{\pm}2.63{\rm Bbc}$
	QT1	$36.97 \pm 2.71 \mathrm{Cb}$	$49.50{\pm}0.75\mathrm{Bb}$	12.85±0.98Aa	$15.67 \pm 5.13 \mathrm{bc}$	$15.50{\pm}1.30{\rm Bc}$
	QT2	45.40±3.16Aa	58.43±5.56Aa	10.31±1.75Aa	$16.33 \pm 2.08 \mathrm{ab}$	21.27±2.21Aab
	QT3	43.33±3.60Aab	59.33±0.90Ba	11.81±2.67Aa	$11.33 \pm 1.53 c$	$17.57{\pm}0.85{\rm Bc}$
花叶栀子	HCK1	45.83±3.30ABa	44.47±1.70Ba	13.44±2.72Aa	_	32.63±1.84Aa
G. jasminoides 'Variegata'	HCK2	44.43±2.69Ba	39.43±2.58Cab	12.33±0.38Aab	_	31.83±0.67Aa
0	HT1	47.83±1.27Ba	44.77±1.36Ca	12.05±1.17Aab	_	28,87±1.55Ab
	HT2	$36.87{\pm}4.63\mathrm{Bb}$	$34.97{\pm}4.72\mathrm{Bb}$	$11.58 \pm 0.84 \mathrm{Aab}$	_	$23.03{\pm}0.60{\rm Ac}$
	HT3	$29.17{\pm}1.45\mathrm{Bc}$	28.90 ± 3.13 Cc	$10.35{\pm}0.71\rm{Ab}$	—	$15.50{\pm}0.75\mathrm{Bd}$

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著 (P<0.05);同列不同大写字母表示品种间差异显著 (P<0.05)。下同。

Note: Different small letters in the same column mean significant differences between treatments (P < 0.05); different capital letters in the same column mean significant differences between varieties (P < 0.05). The same below.



不同小写字母表示处理间差异显著 (*P*<0.05); 不同大写字母表示品种间差异显著 (*P*<0.05)。下同。 Different small letters mean significant differences between treatments (*P*<0.05); different capital letters mean significant differences between varieties (*P*<0.05). The same below.



2 结果与分析

2.1 不同遮光处理下 3 种观赏栀子的形态指标变化

由表2可知,大花栀子的株高、冠幅在3种栀 子中占优势,雀舌栀子开花数较多,花叶栀子的根 较前两者长。大花栀子中,60% 遮光率的株高与 茎直径较其他处理大,为 58.93 cm、13.76 mm; 70%、90%、80% 遮光率的大花栀子冠幅较大,0% 遮光率的花朵数为 6 朵,根长为 24.93 cm,占绝对 优势,并且随着遮光率越大,花朵数越少,90% 遮 光率的根长最长,为 26.67 cm。雀舌栀子中,80% 和70%遮光处理在株高、冠幅上优于其他处理, 80%遮光率的株高为46.57 cm,冠幅为59.97 cm, 其次为90%、0%和60%遮光率,茎直径各处理差 异不显著,0%遮光率最大,为13.21 mm;80%遮光 率的雀舌栀子有最多的花朵数,为23 朵。其次为 0%遮光率,有21 朵;各遮光下雀舌栀子根长有显 著差异(P<0.05),0%遮光率的根最长,为23.23 cm,60%遮光率的根最短,仅15.50 cm。在花叶栀 子的遮光处理与对照处理中,均为遮光率越小,花 叶栀子长势越好;0%遮光率株高45.83 cm、冠幅 44.47 cm、茎直径13.44 mm、根长32.63 cm,在各 个处理中表现最为突出;在试验期内,所有花叶栀 子均未开花,具体原因有待进一步探讨。

2.2 不同遮光处理下 3 种观赏栀子的总生物量

从图1可以看出,遮光均会对3种栀子生物量 产生影响,并且大花栀子生物量远高于其他两种 栀子,与之差异明显。随着遮光率的增加,3种栀 子的生物量逐渐减小,但花叶栀子在80%遮光环 境下有最大生物量,并且80%和60%遮光率的花 叶栀子生物量高于0%遮光率,各处理间差异明 显。大花栀子各处理间的生物量无显著差异, 90%遮光率环境下的雀舌栀子总生物量低。

2.3 不同遮光处理下 3 种观赏栀子的光合作用

3 种栀子在不同遮光处理下光合生理指标有 不同的改变。60%、70%遮光率的大花栀子净光合 速率(P_n)有较大值,分别为 11.97、10.22 µmol・ m⁻²·s⁻¹,大于两个对照组。无遮光下雀舌栀子的 P_n 值最大,为 13.42 µmol·m⁻²·s⁻¹;其次是 60%遮 光率,为 12.65 µmol·m⁻²·s⁻¹。无遮光下花叶栀 子的 P_n 值为 10.32 µmol·m⁻²·s⁻¹, 60%、70%、 80%、90%遮光率依次递减(表 3)。

60% 遮光率的大花栀子气孔导度(G_s)有较大 值,为0.55 mmol·m⁻²·s⁻¹。无遮光下大花栀子 G_s 为0.38 mmol·m⁻²·s⁻¹,70%、80%、90%逐渐递减。 无遮光下雀舌栀子的 G_s 值最大,为0.44 mmol· m⁻²·s⁻¹,90% 遮光下最小,为0.13 mmol·m⁻²·s⁻¹。 无遮光下花叶栀子 G_s 值为0.23 mmol·m⁻²·s⁻¹,与 其他处理有显著差异(表3)。

随着遮光强度的增大,3种栀子的胞间 CO_2 浓度(C_i)也逐渐增大,90%遮光率下的大花栀子、雀 舌栀子、花叶栀子 C_i 分别为 367.87、345.22、315.39 μ mol·m⁻²·s⁻¹,说明在弱光的环境中,栀子的光合

作用受到限制,叶片中会积累较多的 CO₂(表 3)。

60%、70%遮光下大花栀子蒸腾速率(T_r)分别 为 6.16、6.03 mmol·m⁻²·s⁻¹。两个对照组的 T_r 值 在 5~6 mmol·m⁻²·s⁻¹之间,90%遮光率下的大花 栀子 T_r 为 4.43 mmol·m⁻²·s⁻¹。雀舌栀子略有不 同,最大 T_r 值为QCK1,6.62 mmol·m⁻²·s⁻¹;其次 为QT1,5.49 mmol·m⁻²·s⁻¹,并随着遮光强度的 增大逐渐降低。花叶栀子 T_r 值规律与雀舌栀子一 致,最大为HCK1(5.48 mmol·m⁻²·s⁻¹)(表 3)。

大花栀子水分瞬时利用率(WUE)各处理间差 异显著,60%、70%遮光率下的大花栀子WUE 值分 别为1.94、1.69 mmol·mol⁻¹,大于对照组。60%遮 光下雀舌栀子的WUE 值为2.31 mmol·mol⁻¹,高于 无遮光下的雀舌栀子;其他各处理在1.50~1.70 mmol·mol⁻¹之间。这说明适度遮光情况下会更有 利于雀舌栀子光合作用的水分利用。70%遮光率 下的花叶栀子有最大WUE 值,为2.61 mmol· mol⁻¹;其次为60%遮光率(2.44 mmol·mol⁻¹); 80%遮光率下的WUE 值为2.00 mmol·mol⁻¹;其余 2 个处理在2.00 mmol·mol⁻¹以下(表3)。

2.4 不同遮光处理下 3 种观赏栀子的总 N 与各器 官 N 含量

从图 2 可以看出,不同品种处理间和相同品种 处理间 N 含量在不同遮光环境下均有显著差异 (P<0.05)。大花栀子的总 N 量高于雀舌栀子和 花叶栀子,随着遮光率的增加,大花栀子和花叶栀 子总 N 量逐渐增加,雀舌栀子总 N 量先减少再增 加。80%的遮光条件下 3 个品种栀子的总 N 含量 显著高于其他遮光处理;其次在 90%遮光下,3 种 栀子总 N 量也较高,说明在荫蔽环境下更有利于 N 的吸收。

根、茎、叶的N含量随着遮光率不同而改变, 总体上,3种栀子叶总N量最高,其次为根,再次为 茎。大花栀子中,根总N量和叶总N量随着遮光 率的增加而增加,在茎中先减少再增加。雀舌栀 子根、茎总N量随着遮光率的增加先减少再增加, 叶总N量逐渐增加,而QT2含N量较少。花叶栀 子中,根总N量随着遮光率的增加先减少再增加, 茎、叶总N量随着遮光率的增加而增加,说明在低 强度光照下,3种栀子各器官N含量同步增加。在 80%遮光条件下茎含N量要高于其他处理;0%遮 光处理的栀子叶片和茎的N含量低。

表 3 不同遮光处理下 3 种观赏栀子光合生理指标

Table 3 Photosynthetic physiological indexes of three kinds of ornamental

Gardenia jasminoides under different shading treatments

品种名 Variety	处理编号 Treatment number	净光合速率 P _n (μmol・m ⁻² ・s ⁻¹)	气孔导度 <i>G</i> _s (mmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	胞间 $CO_2 浓度$ C_i (µmol・m ⁻² ・s ⁻¹)	蒸腾速率 <i>T</i> , (mmol ⋅ m ⁻² ⋅ s ⁻¹)	水分瞬时利用率 WUE (mmol・mol ⁻¹)
大花栀子	DCK1	8.14±0.28c	$0.38 \pm 0.01 \mathrm{b}$	$263.32 \pm 6.08 e$	$5.38 \pm 0.25 \mathrm{b}$	1.52±0.07c
G. <i>jasminoides</i> ' Grandiflora'	DCK2	$6.39{\pm}0.36{\rm d}$	$0.28 \pm 0.01 \mathrm{c}$	$339.43{\pm}9.42{\rm b}$	$5.20{\pm}0.06{\rm b}$	$1.23 \pm 0.07 \mathrm{d}$
	DT1	11.97±0.22a	$0.55 \pm 0.02 a$	$285.87{\pm}4.17\mathrm{d}$	6.16±0.01a	1.94±0.03a
	DT2	$10.22{\pm}0.24{\rm b}$	$0.35{\pm}0.02{\rm b}$	$314.84 \pm 3.51c$	$6.03 \pm 0.05 a$	$1.69{\pm}0.05{\rm b}$
	DT3	$3.97 \pm 0.15 \mathrm{e}$	$0.16 \pm 0.01 \mathrm{d}$	367.87±2.87a	$4.43{\pm}0.05{\rm c}$	$0.90 \pm 0.02 e$
雀舌栀子 6. in minutes	QCK1	13.42±0.21a	$0.44 \pm 0.02 a$	$255.19 \pm 3.63 e$	6.62±0.21a	$2.03{\pm}0.03{\rm b}$
G. <i>jasminoides</i> 'Radicans'	QCK2	$5.87{\pm}0.25{\rm d}$	$0.26\pm0.02\mathrm{c}$	$322.98{\pm}3.20\mathrm{b}$	$3.61 \pm 0.23 d$	$1.63 \pm 0.17 \mathrm{c}$
	QT1	$12.65{\pm}0.38\mathrm{b}$	$0.36{\pm}0.02{\rm b}$	$272.20 \pm 3.65 d$	$5.49 \pm 0.12 \mathrm{b}$	2.31±0.11a
	QT2	$8.10\pm0.19c$	$0.35 \pm 0.01 \mathrm{b}$	$292.54{\pm}4.14\mathrm{c}$	$4.82 \pm 0.15 c$	$1.68 \pm 0.02 c$
	QT3	$4.00 \pm 0.22 e$	$0.13 \pm 0.01 \mathrm{d}$	345.22±2.99a	$2.52 \pm 0.04 e$	$1.59 \pm 0.12c$
花叶栀子	HCK1	10.32±0.71a	0.23±0.02a	$248.90{\pm}4.98{\rm c}$	$5.48 \pm 0.60a$	$1.90{\pm}0.28{\rm bc}$
'Variegata'	HCK2	$5.78{\pm}0.38{\rm d}$	$0.12{\pm}0.01{\rm bc}$	$285.27{\pm}18.38\mathrm{b}$	$2.91{\pm}0.30{\rm c}$	$2.00{\pm}0.31{\rm bc}$
	HT1	$8.96{\pm}0.55\mathrm{b}$	$0.13 \pm 0.01 \mathrm{b}$	$274.32{\pm}2.99{\rm bc}$	$3.71 \pm 0.42 \mathrm{b}$	$2.44\pm0.37ab$
	HT2	$6.96 \pm 0.27 \mathrm{c}$	$0.12\pm R0.01 \mathrm{bc}$	$277.39{\pm}3.12\mathrm{bc}$	$2.67{\pm}0.12{\rm c}$	2.61±0.21a
	HT3	$4.02 \pm 0.20 e$	$0.10{\pm}0.01{\rm c}$	315.39±29.11a	$2.43 \pm 0.34 \mathrm{c}$	$1.68 \pm 0.28 \mathrm{c}$

2.5 不同遮光处理下 3 种观赏栀子总 P 与各器官P 含量

3种栀子总 P 量有显著差异(P<0.05), 雀舌 栀子和花叶栀子总 P 量稍高于大花栀子。大花栀 子和雀舌栀子总 P 量随着遮光率增大先增加再减 小,花叶栀子 P 含量逐渐减小;大花栀子和雀舌栀 子在遮光率 60% 的条件下总 P 含量高;花叶栀子 在 0%遮光条件下有利于总 P 的积累。总体上,大 花栀子各处理总 P 量受遮光影响较小(图 3)。

在大花栀子和雀舌栀子的根总 P 量含量最高,叶最低。大花栀子中,各处理茎、叶总 P 量差 异不大,P 含量随着遮光变化较为一致,在 0% 和 70%遮光率处理下含量小于其他处理;在根中随 着遮光的降低逐渐降低。雀舌栀子中,根、叶总 P 量随着遮光率增加先增加再减小,在茎中各处理 P 含量无显著差异。花叶栀子中,P 含量在器官内由 高到低依次为叶>茎>根,根、茎、叶中各处理差异 不大,根总 P 量随遮光率增加逐渐降低,茎总 P 量 除 90%遮光率略低外,其他处理差异不大,叶总 P 量 0%和 70%遮光率略高于其他 3 个处理。

2.6 不同遮光处理下 3 种观赏栀子的总 K 与各器 官 K 含量

3 种栀子 K 含量差异不大,K 含量随大花栀子 中遮光率增加而增加,雀舌栀子和花叶栀子 K 含 量随遮光率增加先降低后增加。在荫蔽环境下, 大花栀子会加强对 K 的吸收,在充足光照和荫蔽 环境下,雀舌栀子和花叶栀子对 K 的吸收能力大 于适当遮光环境(图4)。90%的遮光条件有利于 大花栀子和雀舌栀子的 K 含量积累,花叶栀子在 0%遮光条件下有利于总 K 和总 P 的积累。

总体上,叶K含量大于根与茎,大花栀子中, 根与叶总K量随遮光率的增加而逐渐增加,而在 T2处理下含量略少。茎总K量先减小再增加,雀 舌栀子各器官K含量变化趋势基本一致,随着遮 光率增加先减小再增加。花叶栀子根、茎总K量 逐渐减小,叶总K量较高,远超过根与茎,除60% 遮光率的K含量稍低以外,其他处理均在25g・ kg⁻¹以上。90%的遮光条件有利于大花栀子和雀舌 栀子的K含量积累,花叶栀子在0%遮光条件下有 利于总K积累(图4)。



刘向东等: 遮光处理对观赏栀子氮、磷、钾分配与生长的影响

图 2 不问题元处理下 3 种观员他丁的总氮重与合舔自氮召重 Fig. 2 N content of each organ and total N of three kinds of ornamental *Gardenia jasminoides* under different shading treatments

3 讨论

12 期

3.1 不同遮光率对观赏栀子光合作用的影响

光是植物进行光合作用不可或缺的能源,也 是影响因子最大的环境因素。此外,光照强度还 会影响植物体内其他生理过程,从而对光合作用 产生间接影响,如在光强较低时,蒸腾速率降低、 气孔导度减小、CO2吸收减弱,从而使光合产物运 输受阻,最终导致光合产物有机物积累于叶片中 (王艺和韦小丽,2010)。本研究中,60%遮光率下 的大花栀子有最大净光合速率,这可能是由于在 强光下光系统受到光抑制以及气孔因素使得自然 光照下的光合速率会低于遮光环境(蔡建国等, 2017)。3 种观赏栀子在 70%、80%、90%遮光率处 理下,气孔导度较小,而胞间 CO₂浓度较高,说明叶 片吸收的 CO₂没有被光系统较快地利用,从而导致 净光合速率下降,蒸腾速率和水分瞬时利用率而 气孔导度小而受到影响(王振兴等,2012)。

2123

3.2 光照影响观赏栀子的 NPK 吸收情况

光照条件影响各种无机盐还原酶的活性 (Niklas,2006),进一步对N、P、K元素含量造成影 响。N、P、K元素参与了植物蛋白质合成、能量转 换、物质合成等多种生命活动(Ågren,2008;刘超 等,2012;王丽娜等,2014),并且存在于光合器官 中的N与光合作用联系紧密。3种栀子各器官对 N、P、K吸收与利用有所不同。3种栀子N与K含 量高低排序为叶、根、茎,大花栀子和雀舌栀子P 含量高低排序为根、茎、叶。本研究结果与他人的 结论既有相似之处,也有不同之处,如李小峰等



Fig. 3 P content of each organ and total P of three kinds of ornamental *Gardenia jasminoides* under different shading treatments

(2013)和于帅等(2013)发现植物中N、P、K的分 配高低规律为叶、茎、根; 颉洪涛等(2017)和徐庆 祥(2013)研究发现植物N、P含量分配高低规律 为叶、根、茎。叶作为植物生产有机物的主要营养 器官,需要大量营养物质, 而根的主要作用是吸收 营养物质, 其自身并不是储存太多养分, 而是将其 向茎和叶运输。在遮光率高的环境下, 花叶栀子 生物量受遮光的影响大, 遮光处理下的花叶栀子 的根P、K含量低, 这可能是在遮光条件下, 花叶栀 子光合机能下降, 减少了光合产物的合成量, 使新 梢及根系的生长都受到抑制, 特别是供给根系的 光合产物减少, 以致其吸收营养元素的机能也受 到影响。乔新荣等(2008)的研究发现, 光强减弱 增加了总N、K含量, 并认为光强变化对于烟草的 C、N 代谢, 甚至其烟叶品质都会产生影响。王振 南等(2013)研究证明,光照能影响植物内 N、P、K 含量,随光照强度的减弱,烤烟的矿质元素含量逐 渐增加;刘国顺等(2007)研究表明,随光强减弱, 矿质元素含量呈下降趋势。本研究中,大花栀子 与雀舌栀子的 N、K 含量在遮光率高环境下较高, P 在适度遮光含量最高,但各处理间差异并不显 著。花叶栀子 N 含量在遮光率高环境下较高,P 在充足光照下较高,在适度遮光下的 K 含量低于 充足光照下较高,在适度遮光下的 K 含量低于 充足光照和遮光率高条件下,说明3种栀子对3种 元素的选择吸收情况不一致。在低光照环境下, 光合作用受到抑制,为了维持植株正常生长,光合 器官旺盛发展,与之相关的光合酶也大量产生,从 而使 N 元素增加(史建国等,2015)。从 P 元素在 3 种观赏栀子中的不同表现可以发现,在非弱光环 境下更有利于其吸收,原因是在较充足光照环境



Fig. 4 K content of each organ and total K of three kinds of ornamental Gardenia jasminoides under different shading treatments

下,叶绿素含量较低时光照少,细胞生长速度较快,蛋白质类化合物合成较快,而P作为磷脂、核蛋白的主要成分也随之大量增加。K元素是保证植物品质的重要因素,是酶的活化剂,对调节细胞的膨压和渗透压有重要作用(李单凤等,2015;康利允等,2018)。3种观赏栀子会在自身生长条件受限时,增大对K元素的吸收和利用,以维持自身各类生化反应。

3.3 不同遮光率对观赏栀子生长、生物量的影响

不同遮光率对观赏栀子造成了不同程度的影响,主要表现在形态特征和生物量积累。本研究中,全日照有利于观赏栀子开花,90%遮光下的观赏栀子的开花数略差,这是由于光照充足有利于植物体内有机物质积累促进开花,花叶栀子未开花,这可能是由于品种原因。叶片是栀子光合作用的基础,叶片越大其生物量越大,在一定范围

内,随光照强度增加,烟叶的光合作用、糖分合成、 干物质积累均会增加(魏明月等,2017)。大花栀 子的生物量含量高,其叶片大,有利于栀子捕获光 能,维持光合作用的高速运转,进而有效避免由于 光能过剩而导致的光抑制,对大花栀子产量的提 高具有十分重要的作用。强光条件有利于大花栀 子生物量的积累。王满莲等(2015)研究认为地枫 皮和块根紫金在全光照下总生物量积累降低这是 由不同植物对光强有不同的适应性决定的。雀舌 栀子在70%遮光处理后,由于外界环境中红光与 远红光比例发生变化,影响了植物光敏色素,因此 导致植株株高增加、冠幅增加等趋光避荫反应。 90%遮光下的观赏栀子生物量较其他处理的生物 量少,究其原因是栀子生物量降低及向根部分配 的同化物减少使其对弱光环境的适应性增强,从 而能最大限度地利用光能资源。

4 结论

整体上,大花栀子的植株生长情况较雀舌栀 子和花叶栀子要好,雀舌栀子开花量高于大花栀 子和花叶栀子,虽然花叶栀子长势较差,但叶片美 观。3个栀子品种中,雀舌栀子更耐荫蔽,适合于 80%和70%的遮光条件下生长。大花栀子次之, 适合于60%和0%遮光条件下生长。花叶栀子最 不耐荫,适合0%遮光条件下生长。本研究认为, 遮光影响观赏栀子的 N、P、K 含量及分配情况,且 各处理之间有显著差异(P < 0.05)。3 种栀子生物 量随遮光率增加均逐渐减小。大花栀子和雀舌栀 子 N、P、K 在器官中积累规律较一致,80%的遮光 率有利于 N 的积累,90% 遮光率有利于 K 的积累, 60%遮光率有利于 P 的积累。0%遮光率有利于花 叶栀子 K 和 P 的积累。3 种栀子各器官 N、K 含量 高低排序为叶、根、茎。花叶栀子 P 含量高低排序 为叶、茎、根,其他两种栀子 P 含量高低排序为根、 茎、叶,但含量差别不大。本研究为观赏栀子在园 林应用中的合理配植、肥水管理提供了参考,也为 今后进一步揭示观赏栀子对光环境的响应机制奠 定了基础。

参考文献:

- ÅGREN GI, 2008. Stoichiometry and nutrition of plant growth in natural communities [J]. Ann Rev Ecol Evol Syst, 39: 153–170.
- CAI JG, WEI MQ, ZHANG Y, et al., 2017. Effects of shading on photosynthetic characteristics and chlorophyll fluorescence parameters in leaves of *Hydrangea macrophylla* [J]. Chin J Plant Ecol, 41(5): 570-576. [蔡建国, 韦孟琪, 章毅, 等, 2017. 遮阴对绣球光合特性和叶绿素荧光参数的影 响 [J]. 植物生态学报, 41(5): 570-576.]
- CHEN YL, 2018. Study on resources survey of *Gardenia* and herbalism of *Gardenia jasminoides* J. Ellis [D]. Beijing: Peking Union Medical College. [陈雅林, 2018. 栀子属资 源概况及栀子本草学研究 [D]. 北京: 北京协和医 学院.]
- DENG SY, ZHU PL, WANG XR, 2018. Cultivar classification of *Gardenia* plants [J]. S Chin For Sci, 46(1): 13-18. [邓 绍勇, 朱培林, 王贤荣, 2018. 栀子品种分类研究 [J]. 南 方林业科学, 46(1): 13-18.]
- FAR GD, SHARKEY TD, 1982. Stomal conductance and photosynthesis [J]. Ann Rev Plant Physiol, 33: 317–345.

- HAN JL, SHAN CG, WANG ZF, 2018. Shading treatments: Effects on photosynthetic rate and yield of 9 medicinal plants [J]. J Agric, 8(10): 57-60. [韩金龙, 单成钢, 王志芬, 2018. 不同遮光处理对 9 种药用植物光合速率及产量的 影响 [J]. 农学学报, 8(10): 57-60.]
- KANG LY, CHANG GZ, GAO NN, et al., 2018. Effects of different nitrogen and potassium fertilizing amount on nutrition absorption, nutrition distribution and yield of muskmelon [J]. Sci Agric Sin, 51(9): 1758-1770. [康利 允,常高正,高宁宁,等, 2018. 不同氮、钾肥施用量对甜 瓜养分吸收、分配及产量的影响 [J]. 中国农业科学, 51(9): 1758-1770.]
- KIM HI, HONG SH, LEE SY, et al., 2021. Gardenia jasminoides ameliorates antibiotic-associated aggravation of DNCB-induced atopic dermatitis by restoring the intestinal microbiome profile [J]. Nutrients, 13(4): 1349.
- LI DF, YU SL, WANG GX, et al., 2015. Environmental heterogeneity and mechanism of stoichiometry properties of vegetative organs in dominant shrub communities across the Loess Plateau [J]. Chin J Plant Ecol, 39(5): 453 – 465. [李单凤, 于顺利, 王国勋, 等, 2015. 黄土高原优势 灌丛营养器官化学计量特征的环境分异和机制 [J]. 植 物生态学报, 39(5): 453-465.]
- LI XF, LI QH, QIN HL, et al., 2013. Distribution characteristics of N, P and K contents in 30 common plants from the hydro-fluctuation belt of Baihua Reservoir [J]. Acta Sci Circum, 33(4): 1089-1097. [李小峰,李秋华, 秦好丽,等, 2013. 百花湖消落带常见植物氮磷钾营养元素含量分布特征研究[J]. 环境科学学报, 33(4): 1089-1097.]
- LI YL, MAO W, ZHAO XY, et al., 2010. Leaf nitrogen and phosphorus stoichiometry in typical desert and desertified regions, North China [J]. Environ Sci, 31(8): 1716-1725. [李玉霖, 毛伟, 赵学勇, 等, 2010. 北方典型荒漠 及荒漠化地区植物叶片氮磷化学计量特征研究 [J]. 环 境科学, 31(8): 1716-1725.]
- LIU C, WANG Y, WANG N, et al., 2012. Advances research in plant nitrogen, phosphorus and their stoichiometry in terrestrial ecosystems: a review [J]. Chin J Plant Ecol, 36(11): 1205-1216. [刘超, 王洋, 王楠, 等, 2012. 陆地 生态系统植被氮磷化学计量研究进展 [J]. 植物生态学 报, 36(11): 1205-1216.]
- LIU GS, QIAO XR, WANG F, et al., 2007. Effects of light intensity on photosynthetic capabilities, growth and quality of flue-cured tobacco [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 27(9): 1833 1837. [刘国顺,乔新荣,王芳,等, 2007. 光照强度对烤烟光合特性及其生长和品质的影响 [J]. 西北植物学报, 27(9): 1833–1837.]
- LU LL, FAN YL, DENG K, et al., 2021. Principal component and cluster analysis of volatile components in cape jasmine flower from different cultivars at different stages of bloom

[J]. J Nucl Agric Sci, 35(7): 1601-1608. [卢路路, 樊怡灵, 邓珂, 等, 2021. 不同品种和花期栀子花挥发性物质的主成分和聚类分析 [J]. 核农学报, 35(7): 1601-1608.]

- NIKLAS KJ, 2006. Plant allometry, leaf nitrogen and phosphorus stoichiometry and interpecific trends in annual growth rates [J]. Ann Bot, 97(2): 155–163.
- QIAO XR, YANG XY, LIU GS, et al., 2008. Effects of weak light stress on chemical components and neutral volatile flavor components in flue-cured tobacco [J]. Tobacco Sci Technol, (9): 56-58. [乔新荣,杨兴有,刘国顺,等, 2008. 弱光胁迫对烤烟化学成分及中性挥发性致香物质 的影响 [J]. 烟草科技, (9): 56-58.]
- SHI JG, ZHU KL, CAO HY, et al., 2015. Effect of light from flowering to maturity stage on dry matter accumulation and nutrient absorption of summer maize [J]. Chin J Appl Ecol, 26(1): 46-52. [史建国, 朱昆仑, 曹慧英, 等, 2015. 花 粒期光照对夏玉米干物质积累和养分吸收的影响 [J]. 应用生态学报, 26(1): 46-52.]
- WANG LN, YANG JM, LIU JH, et al., 2014. The study of Ni stress on N, P, K accumulation and allocation of corn seeding [J]. Chin Agric Sci Bull, 30(27): 139–144. [王 丽娜,杨靖民,刘金华,等, 2014. 镍胁迫对玉米幼苗氮、 磷、钾积累与分配的研究 [J]. 中国农学通报, 30(27): 139–144.]
- WANG ML, WEI X, TANG H, et al., 2015. Effects of light intensity on growth and photosynthesis of three karst plant seedlings [J]. Chin J Ecol, 34(3): 604-610. [王满莲, 韦 霄, 唐辉, 等, 2015. 光强对三种喀斯特植物幼苗生长和 光合特性的影响 [J]. 生态学杂志, 34(3): 604-610.]
- WANG Y, WEI XL, 2010. Advance on the effects of different light environments on growth, physiological biochemistry and morphostructure of plant [J] J Mt Agric Biol, 29(4): 353– 359. [王艺, 韦小丽, 2010. 不同光照对植物生长, 生理 生化和形态结构影响的研究进展 [J]. 山地农业生物学 报, 29(4): 353–359.]
- WANG ZN, YANG HM, 2013. Response of ecological stoichiometry of carbon, nitrogen and phosphorus in plants to abiotic environmental factors [J]. Pratac Sci, 30(6): 927-934. [王振南,杨惠敏, 2013. 植物碳氮磷生态化学计量 对非生物因子的响应 [J]. 草业科学, 30(6): 927-934.]
- WANG ZX, ZHU JM, WANG J, et al., 2012. The response of photosynthetic characters and biomass allocation of *P. bournei* young trees to different light regimes [J]. Acta Ecol Sin, 32(12): 3841-3848. [王振兴,朱锦懋,王健,等, 2012. 闽楠幼树光合特性及生物量分配对光环境的响应 [J]. 生态学报, 32(12): 3841-3848.]
- WEI MY, YUN F, LIU GS, et al., 2017. Response of photosynthetic characteristics and accumulation and

distribution of assimilation products in tobacco to different light environments [J]. Chin J Appl Ecol, 28(1): 159-168. [魏明月, 云菲, 刘国顺, 等, 2017. 不同光环境下烟 草光合特性及同化产物的积累与分配机制 [J]. 应用生态学报, 28(1): 159-168.]

- XIAO WP, LI SM, WANG SY, et al., 2016. Chemistry and bioactivity of *Gardenia jasminoides* [J]. J Food Drug Anal: 1-19.
- XIE HT, YU MK, CHENG XR, 2017. Effects of light intensity variation on nitrogen and phosphorus contents, allocation and limitation in five shade-enduring plants [J]. Chin J Plant Ecol, 41 (5): 559-569. [颉洪涛, 虞木奎, 成向荣, 2017. 光照强度变化对 5 种耐阴植物氮磷养分含量、分配 以及限制状况的影响 [J]. 植物生态学报, 41(5): 559-569.]
- XU QX, 2013. Effect of thinning on soil physicochemical property and carbon storage of the natural *Larix gmelinii* forest in Great Xing' an Mountains [D]. Harbin: Northeast Forestry University. [徐庆祥, 2013. 抚育间伐对大兴安岭 兴安落叶松天然林碳储量的影响 [D]. 哈尔滨: 东北林 业大学.]
- YAN YF, FANG SZ, TIAN Y, et al., 2014. The response of understory plant diversity and nutrient accumulation to stand structure of poplar plantation [J]. Chin J Ecol, 33(5): 1170-1177. [燕亚飞,方升佐,田野,等, 2014. 林下植物 多样性及养分积累量对杨树林分结构的响应 [J]. 生态 学杂志, 33(5): 1170-1177.]
- YANG JL, YIN CX, TAN J, et al., 2020. Effect of different shading treatments on flowering characteristic and volatile components of two *Gardenia jasminoides* [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 40(11): 1940–1950. [杨吉龙, 尹陈 茜, 谭君, 等, 2020. 遮光处理对两种观赏栀子开花特性 及挥发物的影响 [J]. 西北植物学报, 40(11): 1940–1950.]
- YU S, CHEN W, HE XY, et al., 2013. Nitrogen and phosphorus contents of six woody plant species in riparian zone of Hunhe River, Northeast China [J]. Chin J Ecol, 32 (12): 3131–3135. [于帅,陈玮,何兴元,等, 2013. 浑河 入库河道缓冲带六种木本植物氮磷含量特征 [J]. 生态 学杂志, 32(12): 3131–3135.]
- ZHANG Z, YANG S, DU GJ, et al., 2013. Effects of shade on the photosynthetic characteristics and chlorophyll fluorescence parameters of three kinds of leguminous forage [J]. Acta Pratac Sin, 22(5): 212-219. [张哲,杨姝,杜 桂娟,等, 2013. 遮阴对三种豆科牧草光合特性和叶绿素 荧光参数的影响 [J]. 草业学报, 22(5): 212-219.]

(责任编辑 蒋巧媛)

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202107003

王公达, 褚云霞, 徐政, 等. 莲种胚在温度胁迫下的逆境生理研究 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2128-2137. WANG GD, CHU YX, XU Z, et al. Stress physiology of lotus embryo under temperature stress [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2128-2137.



http://www.guihaia-journal.com

莲种胚在温度胁迫下的逆境生理研究

王公达1, 褚云霞2, 徐 政1, 张 荻1*, 章毅颖2

(1.上海交通大学设计学院,上海 200240; 2.上海市农业科学院农产品质量标准与检测技术研究所,上海 201403)

摘 要:为明确莲种胚对不同温度胁迫的耐受能力,探索莲种胚细胞在逆境胁迫下的生理响应规律,该研究 以成熟莲子为材料,从形态学、抗性生理和抗氧化相关基因表达定量 3 个层面进行了研究。结果表明:(1) 莲子对于高温与超低温具有较好的胁迫耐受能力,经 70 ℃高温与-196 ℃超低温处理后,其发芽率和种芽 长相比对照组无显著变化;80 ℃及以上的高温处理会使莲种胚吸水萌发迟缓,发芽率降低 50%及以上,种 芽萌发变慢。(2)高温处理后,莲种胚细胞中抗氧化酶活性随吸水萌发过程呈上升趋势,非酶促抗氧化剂含 量下降,细胞膜脂过氧化程度逐渐减轻,质膜完整性有所恢复。(3)高温处理下,莲种胚氧化应激相关基因 (*DHN Rab*18、*Cu/Zn SOD*、*POD*41、*POD*73、*CAT*1、*CR*、*APX*)积极参与胁迫响应,出现不同程度的上 调表达,100 ℃处理组中 *DHN Rab*18、*Cu/Zn SOD*、*POD*41、*GR*与*APX*上调表达幅度较大。综上结果认为,莲 种胚具有良好的高温与低温胁迫耐受性,在不同温度胁迫下抗氧化系统与抗逆保护类蛋白对维持莲种胚的 细胞活力可能发挥重要保护作用。

关键词: 莲种胚, 高温, 形态指标, 逆境生理, 基因定量 中图分类号: 0948.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)12-2128-10

Stress physiology of lotus embryo under temperature stress

WANG Gongda¹, CHU Yunxia², XU Zheng¹, ZHANG Di^{1*}, ZHANG Yiying²

(1. College of Design, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 2. Institute for Agri-food Standards and Testing Technology, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China)

Abstract: In order to reveal the tolerance of lotus seed embryo to different temperature stress and explore the physiological response of lotus seed embryo cells under stress, mature lotus seeds were used as materials to perform morphology, stress physiology and quantitative analysis of antioxidant related gene expression. The results were as follows: (1) Lotus seeds had a good tolerance to high temperature and ultra-low temperature stress. The germination percentage and germination length of lotus seeds had no significant differences between the 70 $^{\circ}$ C, -196 $^{\circ}$ C and the control group; at 80 $^{\circ}$ C and above treatment condition, the germination percentage of lotus seeds decreased more than

收稿日期: 2021-09-13

基金项目: 国家自然科学基金(31971705); 上海市自然科学基金(21ZR1434200) [Supported by National Natural Science Foundation of China (31971705); Natural Science Foundation of Shanghai (21ZR1434200)]

第一作者: 王公达(1997-),硕士,从事莲光信号转导与逆境生理相关研究,(E-mail)w1713819157@ sjtu.edu.cn。

[;]通信作者:张荻,研究员,博士研究生导师,研究方向为观赏植物种质资源保存,(E-mail)zhangdi2013@ sjtu.edu.cn。

50%, and the germination of seed bud was slowed down. (2) The lotus seeds were germinated after high temperature treatment, the activities of antioxidant enzymes in lotus seed embryo cells gradually increased, the content of non-enzymatic antioxidant and the degree of membrane lipid peroxidation were continuously decreased during the whole germination process, and the integrity of plosma membrane recovered. (3) The oxidative stress-related genes including *DHN Rab*18, *Cu/Zn SOD*, *Mn SOD*, *POD*41, *POD*73, *CAT*1, *GR*, *APX* were up-regulated response to high temperature treatment, indicating that these genes had positive responses to heat stress. Furthermore, the *DHN Rab*18, *Cu/Zn SOD*, *POD*41, *GR and APX* were up-regulated significantly in the 100 °C treatment group. In summary, lotus seed embryo has good tolerance to high temperature and low temperature stress, and the antioxidant system and stress-resistant protective proteins may play important roles in maintaining the cell viability of lotus seed embryo under different temperature stresses.

Key words: lotus seed embryo, high temperature, morphological index, stress physiology, gene quantification

莲(Nelumbo nucifera),别名荷花、莲花、水芙蓉,是莲科(Nelumbonaceae)莲属(Nelumbo)多年 生水生草本植物。莲作为我国传统的十大名花之 一,栽培历史悠久、文化底蕴深厚、观赏价值高。 莲的果实称为莲子,耐贮藏,可存千年之久,有"千 年古莲"之称(Shen-Miller, 2002)。针对莲子的结 构特性、长寿性及优良抗逆性有过研究报道(路蕾 等,2013),黄上志等(2003)的研究已初步证实莲 子的种皮具有一定的密封保护作用,种胚具有优 良的高温抗逆能力。

温度是影响植物种子萌发的关键因素,只有在 适宜温度条件下种胚含水量达到一定阈值时,植物 胚细胞才可以萌动,胚根胚芽伸长,种子得以萌发 (Hegarty, 2010)。种子在萌发过程中生理代谢过程 活跃,基于温度胁迫开展植物种子萌发的相关研究 较多。许爽等(2016)研究发现,不同植物或同一植 物不同品种的种子,其发芽率对温度的耐受能力具 有差异性;Hu等(2015)研究发现,适宜的温度有助 于提高种子发芽率,加快发芽速度,促进幼苗生长; Tanaka-Oda等(2009)研究证明,高温和超低温会使 膜的透性、膜结合蛋白及其他相关酶活性降低,从 而影响种子的发芽率和萌发速度。不同温度胁迫 对植物生长发育的影响及调控响应机制一直是观 赏植物抗逆生理领域关注的热点。

温度胁迫会造成细胞膜脂的变相,进而影响 植物细胞质膜系统的选择透性和流动性,引发植 物体内生理生化活动的变化,激活一系列酶促反 应(云建英等,2006),直接表现为植物体内的相对 电导率(relative electrolyte leakage, REC)和渗透调 节物质脯氨酸(proline, Pro)含量的变化(Downs et al., 1999)。面对逆境胁迫导致的胞内活性氧

(reactive oxygen species, ROS)组分积累,植物常会 通过增强其抗氧化酶活性以及抗氧化物质含量来 清除过量的 ROS. 以减轻受胁迫程度(Talaat & Shawky, 2014)。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是抗氧化系统的第一道防线,特异 性催化超氧阴离子(0,⁻·)歧化为H,0,和O,;过 氧化物酶 (peroxidase, POD) 和过氧化氢酶 (catalase, CAT)能催化 H, O, 分解为 O, 和 H, O (Miura et al., 2012),以及非酶促抗氧化剂如还原 型谷胱甘肽 (glutathione, r-glutamyl cysteingl + glycine, GSH)和还原型抗坏血酸(ascorbic acid, AsA)等积极响应温度胁迫,清除过量的ROS,保护 细胞免受活性氧积累带来的氧化胁迫损伤 (Cakmak, 2010)。温度胁迫下,植物会对逆境做 出响应并建立应答机制,调节自身的抗逆基因 (CBF/DREB、MYC/MYB、bZIP 等) 表达量以适应 胁迫造成的环境变化(Hassan et al., 2015)。 Serine/threonine protein kinase1(OXI1)在 ROS 信号 转导过程中发挥重要作用,并关联着下游多种氧 化应激反应(Rentel et al., 2004); Ren 等(2013) 研究结果及 Zhang 等(2015) 建立的氧化应激相关 模型表明,ROS 信号转导基因 OXI1,抗氧化酶相关 基因 SOD、POD、CAT 等以及非酶促抗氧化剂相关 的基因 APX、GR 等均会相应地调节其表达模式, 以提高植物对逆境的适应能力。脱水素蛋白 (dehydrin, DHN)是一类功能保护类蛋白,可在多 种逆境胁迫下保护细胞活性,缓解氧化损伤,在植 物种胚成熟后期脱水过程中显著性富集表达,在 ROS 清除、抗氧化、质膜完整性、蛋白和酶活的保 护等多方面发挥功能(Yang et al., 2019)。盛江源 和张荻(2020)研究发现,随着莲胚脱水成熟,DHN

*Rab*18 在转录与翻译水平上均显著富集,为莲胚应对逆境胁迫可能发挥重要作用。

莲子是目前寿命最长的种子之一,莲种胚作 为莲子中最具萌发活力的组织,因其具备较好的 储藏耐性和抗逆能力而成为研究植物种子抗高温 与超低温的优良材料。吕珊(2020)前期研究证实 莲子的脱水耐性与其种胚特殊的抗逆保护机制有 关,但莲种胚在不同温度逆境下抗逆机制如何发 挥作用的科学问题至今尚未彻底阐明。本研究通 过高温和超低温处理,从形态学、抗性生理和基因 定量3个层面,对莲种胚的抗高温与超低温能力 做出科学评价,初步揭示莲种胚细胞在不同温度 处理下的生理响应规律。莲组织培养是品种快繁 和遗传转化的重要技术,而莲子作为组织培养中 重要的外殖体材料,因其含有大量的内生菌,从而 导致组培过程中以莲子作为外殖体染菌率高、成 功率低(赵文进,2013)。因此,探究莲胚在不同温 度下的响应规律,以期为开展以莲胚作为组培外 殖体材料的高温杀菌技术、优化莲子超低温保存 方法提供技术指导,同时为拓展莲种质资源的保 存途径、揭示莲子特殊的抗逆能力奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

所用材料为太空莲 36 号成熟莲子,产自江苏 宿迁。

1.2 方法

1.2.1 高温与超低温处理 选取大小一致、成熟饱 满的莲子进行分组,并采用不同温度处理。高温 处理参考楚璞(2011)的方法并加以改进,参考黄 上志等(2003)、路蕾等(2013)的研究方法,将去 壳莲子置于 70、80、90、100 ℃烘箱中处理 12 h; 超低温处理是将莲子置于-80 ℃冰箱中处理 12 h(刘伟等,2020),液氮中处理 30 min(王婷婷 等,2014),处理后将各组莲子置于室温下过夜。 每个处理组设置 3 组重复,每组 20 粒莲子。以 开壳后室温静置 24 h 的莲子作为对照组(CK)。 1.2.2 形态指标测定 将 CK 组与处理组的莲子 置于黑色塑料盒中吸水萌发,于 25 ℃/20 ℃ (昼/夜)、16 h 光周期(光强 3 000 lx)的恒温光 照培养箱中培养。每天换 2 次水并拍照记录莲 种胚的萌发状态(王毅敏等,2021)。培养 7 d 后 取出莲子,测定每组莲子种芽长度并计算发芽率 (以胚芽突破果皮作为发芽标准)。根据不同处 理组在莲种胚萌发状态、发芽率上的差异,确定 适宜的胁迫处理温度(张陇艳等,2021)。

1.2.3 生理指标测定 参考刘丽等(2021)的方法 且优化,选定吸水3、6、12、18、24、36h作为取样时 间点,完成各组莲子的相对电导率、鲜重及含水量 的测定,选择具有显著性差异的时间作为适宜的 生理取样点。采用 Bradford 法完成蛋白浓度标准 曲线的绘制,以及考马斯亮蓝法测定莲胚的可溶 性蛋白(SP)含量。采用 TBA 法(冯建灿等,2002) 测定丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量,结合相 对电导率评价莲胚在吸水萌发过程中的质膜完整 性:采用比色法进行测定 SOD 含量(Wang et al., 2014)、愈 创 木 酚 法 测 定 POD 含 量 (Omran, 1980)、紫外分光光度法测定 CAT 活性(Singh et al., 2010):参考南京建成生物公司的试剂盒使用 说明测定 GSH 和 AsA 含量:参考 Jiang 等(2013) 方法,测定 ROS 组分中的 H,O,水平、O,⁻·抑制能 力和OH·抑制能力;采用酸性茚三酮法测定游离 Pro 含量(李绍军等,2005)。依据以下的胁迫耐受 指数公式计算:

胁迫耐受指数(SR) = Ps / Pc 计算胁迫耐 受值。

式中: Ps 为胁迫条件下的脯氨酸含量; Pc 为 正常条件下脯氨酸含量。

1.2.4 莲胚抗逆基因的选择与实时荧光定量 PCR 检测 选择 ACTIN2 作为内参基因(徐君等,2019), 登陆 NCBI 下载 OXI1、Rab18、Cu/Zn SOD、Mn SOD、 CAT1、POD41、POD73、APX、GR 基因序列,使用 Primer Premier 5 设计引物如表 1 所示。莲胚的 RNA 提取参考 TaKaRa 公司的 RNA 提取试剂盒说 明书进行,反转录参考 TaKaRa PrimeScript[™] RT Master Mix (Perfect Real Time)的使用说明,将得到 的 cDNA 作为模板,参考 Takara 公司的 SYBR[®] Prime Script[™] RT-PCR Kit II 试剂盒的使用说明,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行基因相对表达量分析。

1.2.5 数据处理与分析 使用 SPSS 24.0 和 Microsoft Excel 软件计算各指标的平均值和标准 误,使用 LSD 和 Dunnett 软件检验进行差异显著性 以及相关性分析,统计结果使用 Microsoft Excel 及 Oringin 9 软件进行图形绘制。 表 1

引物名称 Primer name	引物序列(5'→ 3') Primer sequence(5'→ 3')	退火温度 Annealing temperature (℃)	基因名 Gene name
ACTIN2-F	GCGTTCTGCCGTCTTCTAAA	55.5	Actin 2
ACTIN2-R	CCCTCTTGGATTGTGCCTC	57.3	
CAT1-F	GGAGGAGCCAATCATAGC	54.9	Catalase isozyme 1
CAT1-R	CACATCAAGAGGGTCAAAGT	53.4	Glutathion reductase , cytosolic
GR-F	TGATGCCGAGACAGATAA	54.6	Serine/ threonine protein kinase OXI1- like
GR-R	ATTGTGCCTTGGTTGCT	54.3	
OXI1-F	GTTTGTTAGCGGGCATTT	50.3	
OXI1-R	TCCTCATATTTCCTCGTGTC	53.4	
Cu/Zn SOD-F	TGCTCCCGAGGATGAA	53.1	Superoxide dismutase [Cu-Zn]
Cu/Zn SOD-R	ATTGGGTCCAGAAAGAGG	55.2	
Mn SOD-F	AGGGTTAGGGTTTAGTCAT	50.9	Superoxide dismutase [Mn]
Mn SOD-R	AAGAGCCTTATTGTAGTTGG	51.3	
APX-F	CAACCGTGAGTGAGGAAT	52.6	L-ascorbate peroxidase 2, cytosoli
APX-R	AATCGGAGCATCAAAGG	50.2	
POD41-F	ACACTGTCCGTTTGGGTC	54.9	Peroxidase 41-like
POD41-R	TGGATGCGAAGAAGGTAA	50.3	
POD73-F	TCAGCACAACTTAGACGGAACT	51.6	Peroxidase 73-like
POD73-R	CCGAAGCATCACAACCCT	50.8	
Rab18-F	ATGATGGACAAGGTGGAA	55.6	dehydrin DHN1- like
Rab18-R	TAGCTTCTCCTTGATCTTG	52.9	

莲目的基因 qRT-PCR 引物

2 结果与分析

2.1 高温与超低温处理下莲种胚的逆境形态观测

超低温(-80 ℃和-196 ℃)与高温 70 ℃胁迫 处理对莲子的生长发育没有显著影响,其发芽率 与种芽长相比 CK 组无明显变化(图2:A, B);80、



图 1 高温与超低温下莲子萌发的形态差异 Fig. 1 Morphological differences of lotus seed germination under high temperature and ultra-low temperature treatments

90℃和100℃处理组的莲子生长发育减缓(图1),其发芽率相对CK组分别显著降低39%、52%和57%,莲子种芽长相比CK组分别显著降低3.35、9.07、10.03 cm。这表明超低温处理对莲子细胞活力无显著影响,莲子在接受超低温处理后仍能保持完好的生长发育活性;莲子尚能接受70~80℃的高温胁迫,表现出较好的胁迫耐受能力,随着胁迫温度的升高,莲子的胁迫表现越显严重,发芽率、种芽长度均有不同程度的降低。由于在90℃和100℃胁迫处理下,表现出显著变化,因此选定CK(常温处理)、80℃和100℃进行胁迫生理评价。

2.2 高温与超低温处理下莲种胚的形态指标测定

由图 3 可知, CK 组和 80 ℃处理组莲种胚的 相对电导率在吸水萌发 18 h 分别显著下降 38%和 20%, 而 100 ℃处理组莲种胚相对电导率在吸水萌 发期间持续保持在 80%以上的较高水平, 仅在 12 h 和 24 h 时有小幅下降。CK 组、80 ℃和 100 ℃处 理组莲种胚的含水量在 18 h 均出现显著上升, 对





A. 莲子发芽率: B. 莲子种芽长度。不同大写字母表示不同温度处理组间各指标结果具有显著性差异, α=0.05。 A. Lotus seed germination percentage; B. Lotus seed bud length. Different capital letters indicate significant differences in the results of each index between different temperature treatment groups, $\alpha = 0.05$.

高温与超低温处理下莲子形态指标测定 图 2

Fig. 2 Determination of morphological indexes of lotus seeds under high temperature and ultra-low temperature treatments

比12h分别上升19%、13%和11%;其鲜重变化规 律则与含水量变化规律略有不同,CK 组在吸水 24 h 后出现种胚鲜重的显著上升,80 ℃处理组在吸 水萌发18h时即出现鲜重的显著上升,而100 ℃ 处理组在 36 h 时出现显著上升。

综合上述,根据形态学指标推测,吸水萌发后 的18h是莲子萌发过程中较为关键的时间节点。 因此,选择CK(常温处理)、80 ℃处理和100 ℃处 理后吸水萌发的0h(胁迫后的成熟种胚)、3h(种 胚水合初期)、18 h(种胚水合末期)和 36 h(种胚 发育初期)作为测定生理指标的适宜取样点。

2.3 高温处理下莲种胚生理指标测定

2.3.1 高温处理对莲种胚质膜完整性的影响 对莲 种胚的 REC 和 MDA 的测定结果显示,在吸水萌发 过程中,CK 组和 80 ℃处理组莲种胚的 REC 值随吸 水萌发过程而逐步降低,而100℃处理组莲种胚的 REC 值持续保持较高水平(图 4:A),推测是由于 100 ℃处理对莲种胚膜系统造成的伤害较大,吸水 萌发短期内难以修复:随吸水萌发时长的增加.CK 组、80 ℃和100 ℃处理组莲种胚的 MDA 含量均呈 现下降趋势(图4:B),吸水萌发3h时CK组和80 ℃处理组的 MDA 含量对比 0 h 分别下降 20% 和 25%,吸水萌发 18 h 时 100 ℃处理组的 MDA 含量 对比0h显著下降36%,表明脱水成熟种胚与高温 胁迫处理种胚细胞均发生一定的膜脂过氧化伤害,

在种胚吸水萌发过程中膜脂过氧化程度逐渐减轻。

2.3.2 高温处理对莲种胚抗氧化系统的影响 对抗 氧化酶活性检测结果表明,吸水萌发过程中,莲种 胚中 SOD 与 POD 活性变化规律相似,均呈现逐步 升高的趋势,CAT 活力总体上呈现先下降后上升的 趋势。其中,CK组、80℃和100℃处理组莲种胚的 SOD 活性在 0~18 h 呈现上升趋势, 18~36 h 活性相 对稳定(图4:C);POD活性变化相比SOD更快,CK 组和 80 ℃处理组在吸水 3 h 后即出现 POD 活性的 显著上升,100 ℃处理组在18h出现POD 活性的显 著上升,36 h 时有所回落(图 4:D);CK 组、80 ℃和 100 ℃处理组的 CAT 活性均在 18 h 出现下降,在 36 h显著上升(图4:E)。吸水萌发过程中,莲种胚内 的 SOD、POD 与 CAT 活性总体呈现上升趋势,表明 莲胚水合过程中抗氧化酶活性提升与修复细胞氧 化损伤修复具有积极作用。

对非酶类抗氧化剂含量的检测结果表明,不 同处理组的 GSH 和 AsA 含量在莲胚吸水萌发过 程中均总体呈现逐渐下降的趋势。其中,CK组、 80 ℃和 100 ℃处理组的 AsA 含量在 3 h 有所上 升,其后显著下降(图4:F);GSH含量在3组中均 呈现持续下降的趋势(图4:G)。这可能是成熟脱 水莲种胚富含非酶促抗氧化剂,在种胚吸水萌发 过程中,因水合作用而导致非酶促抗氧化剂含量 逐渐降低。

А

100

90

80

70

60



A. 种胚相对电导率; B. 种胚含水量; C. 种胚鲜重。不同 大写字母表示不同温度处理组间相同吸水时间各指标结果 具有显著性差异,不同小写字母表示相同温度处理组内不 同吸水时间各指标结果具有显著性差异(α=0.05, P<0.05, LSD)。下同。</p>

A. Relative electrolyte leakage of seed embryo; **B.** Water content of seed embryo; **C.** Fresh weight of seed embryo. Different capital letters indicate significant differences in the results of each index of the same rehydration time between different temperature treatment groups, and different small letters indicate significant differences in the results of each index of different rehydration time within the same temperature treatment groups ($\alpha = 0.05$, P < 0.05, LSD). The same below.

图 3 高温处理下莲种胚相对电导率、含水量与鲜重的变化 Fig. 3 Changes of relative electrolyte leakage, water content and fresh weight in lotus embryo under high temperature treatment

2.3.3 高温处理对莲种胚活性氧组分含量的影 响 莲子吸水萌发过程中过氧化氢(H_2O_2)含量、 超氧阴离子(O_2^- ·)抑制能力和OH·抑制能力测 定结果显示,CK组、80℃和100℃处理组均在36 h 处出现 H_2O_2 含量的显著下降(图4:H);而 O_2^- · 抑制能力的变化则更为迅速,CK组、80℃和100℃ 表 2 莲种胚发育过程中高温胁迫耐受指数变化

Table 2Changes of high temperature stress toleranceindex during the development in lotus seed embryo

处理时间 Treatment time (h)	80℃处理组 80℃ treatment group	100 ℃处理组 100 ℃ treatment group
0	1.06	0.76
3	0.87	1.10
18	1.01	1.19
36	0.98	1.45

处理组在吸水萌发 3 h 时即出现 O_2^- ·抑制能力的 显著上升(图 4:1); OH·抑制能力的变化规律在不 同处理组之间具有一定差异, CK 组的 OH·抑制能 力在各个时间点无显著差异, 80 ℃处理组先显著下 降后维持相对稳定, 而 100 ℃处理组则出现了先显 著下降、上升后再下降的趋势(图 4:J)。综合吸水 萌发过程中, 通过莲种胚抗氧化酶活性与 ROS 组分 测定结果可推测, 莲种胚在吸水萌发初期 H_2O_2 与 $O_2^-·水平持续上升, 此过程中抗氧化系统逐渐发挥$ $作用, 增强对 <math>H_2O_2$ 与 $O_2^-·$ 的抑制能力, 从而减轻了 莲种胚细胞经受的氧化胁迫伤害。

2.3.4 高温处理对莲种胚渗透调节物含量的影 莲种胚的脯氨酸含量测定结果显示,CK 组、 响 80 ℃和100 ℃处理组的 Pro 含量均呈下降趋势。 其中,CK 组和80℃处理组分别在3、18h出现Pro 含量的显著下降,100 ℃处理组先在3h处出现 Pro 含量的显著上升,后逐渐下降(图4:K)。计算 各处理组间的胁迫耐受指数如表 2 所示,80 ℃处 理组的莲种胚在吸水过程中胁迫耐受指数保持相 对恒定,其 Pro 含量的下降速率与 CK 组大致相 同,100 ℃处理组的耐受指数持续上升,说明其 Pro 含量的下降速率低于 CK 组。由此可见,随着吸水 萌发的进行,莲种胚的渗透胁迫伤害逐渐降低,细 胞内 Pro 含量也逐渐降低。80 ℃处理组莲种胚的 胁迫损伤在吸水期间修复较快,体现出较好的胁 迫耐受能力;而100℃处理组莲种胚则恢复较慢, 其细胞的胁迫耐受能力受到较大影响。

2.4 高温处理下莲种胚的抗逆基因表达定量

抗逆基因定量检测结果表明,CK 组随着吸水 萌发时长的增加,莲种胚 9 个抗逆保护基因的相 对表达量总体上呈现先上升后下降的趋势,18 h 基因表达量显著上调;80 ℃处理组随着莲种胚吸 水萌发的进行,抗逆基因表达量大体上呈现出逐



A. REC 值; **B.** MDA 含量; **C.** SOD 酶活性; **D.** POD 酶活性; **E.** CAT 活性; **F.** AsA 含量; **G.** GSH 含量; **H.** H₂O₂含量; **I.** O₂⁻・抑制能力; **J.** OH・抑制能力; **K.** Pro 含量。

A. Relative electrolyte leakage; B. Malondialdehyde content; C. Superoxide dismutase activity; D. Peroxidase activity; E. Catalase activity;
 F. Ascorbic acid content; G. Glutathione content; H. Hydrogen peroxide content; I. Superoxide anion inhibition ability;
 J. Hydroxyl radical inhibition ability;
 K. Proline content.

图 4 莲种胚发育过程中生理指标测定

Fig. 4 Determination of physiological indexes during embryo development of lotus seeds

渐下降的趋势,并在吸水0h时基因表达量最高; 100℃处理下,基因表达水平整体呈现先上升再下降的趋势,并在吸水萌发3h处显著上调表达,其中OXI1、Rab18、GR、APX表达量分别是CK组吸水萌发3h表达量的12、13、26倍。与CK组对比, 80℃和100℃处理组莲种胚中抗逆保护相关基因整体上均呈现不同程度的上调表达,表明上述抗 逆保护基因积极的响应高温胁迫。

3 讨论与结论

温度是影响植物种子萌发的重要因子,不同 温度条件下,种子会表现出成活率与生长发育的 差异(薛婷婷等,2017)。本研究中,莲子在-196 ℃的超低温及70℃的高温处理下发芽率达到近 100%,芽长无显著性变化;80℃下莲子发芽率近 50%,芽长降低25%;而Ohga(1927)研究表明印 度古莲子在 90 ℃的水浴中处理 2 h 发芽率可达到 50%,与本研究中莲子的耐高温上限大体相符。 Ding 等(2008)研究发现玉米种子在 100 ℃下高温 处理仅 15 min,发芽率降为 0;莴苣种子在 35 ℃处 理下,发芽率为0(盛伟等,2016)。而本研究中发 现莲子在 100 ℃下处理 12 h.发芽率仍近 30%,证 明莲子具有较强的极端高温耐受性,可以完全耐 受70℃的高温,但80℃及以上高温胁迫会对莲 子的萌发产生影响,不同于黄上志(2003)100 ℃ 高温处理 24 h 莲子发芽率可达 100% 的研究结论。 REC 作为衡量细胞膜系统受损程度的重要指标 (Gao et al., 2016), MDA 作为膜脂过氧化的最终 产物,其含量可以反映膜质过氧化程度。本研究 中,80 ℃和100 ℃处理组的莲胚 REC、MDA 含量 显著高于 CK 组,表明高温处理导致莲胚膜系统受 损,对莲胚细胞造成氧化损伤,造成胞内电解液的 外渗。Pro 是植物体内有效的渗透调节剂,保护蛋


A. OXI1 相对表达量; B. Rab18 相对表达量; C. Cu/Zn SOD 相对表达量; D. Mn SOD 相对表达量; E. POD41 相对表达量; F. POD73 相对表达量; G. CAT1 相对表达量; H. GR 相对表达量; I. APX 相对表达量。

A. Relative expression of OXI1; B. Relative expression of Rab18; C. Relative expression of Cu / Zn SOD; D. Relative expression of Mn SOD;
E. Relative expression of POD41; F. Relative expression of POD73; G. Relative expression of CAT1; H. Relative expression of GR; I. Relative expression of APX.

图 5 莲种胚萌发过程中抗性基因表达量变化 Fig. 5 Changes of resistance gene expression during embryo germination of lotus seeds

白分子和酶活性,SOD、POD、CAT 作为酶促系统中 重要组成成分,降低活性氧含量以减轻胁迫伤害 (蒋景龙等,2016)。本研究中,高温处理下 Pro 含 量均显著升高,SOD、POD 酶活性对比 CK 组也有 所升高,表明高温逆境会影响莲胚渗透调节物的 含量,激活抗氧化酶的活性,从而抵御高温对莲胚 细胞造成的损伤。

随着莲子吸水萌发的进行,高温处理组和 CK 组莲胚含水量和鲜重均在上升,80 ℃处理组的 REC、MDA含量、H₂O₂含量及 Pro含量均呈持续下 降趋势,表明吸水过程使得莲胚胁迫伤害逐渐降 低,氧化损伤在缓慢修复,莲胚的吸水萌发进程可 以缓解高温胁迫伤害。100 ℃处理组的 REC 持续 保持近 100%的较高水平,100 ℃处理下 POD 酶活 性随吸水过程几乎无变化,推测 100 ℃高温超出 了莲种胚细胞的胁迫耐受"阈值",给质膜系统及 酶活造成不可逆的损伤(Wahid et al., 2007)。随 着吸水萌发的进行,高温处理组下莲胚中 SOD、 POD 酶活性先急速上升,后缓慢升高,对应高温处 理下 MDA 含量的先急速再缓慢的下降趋势,表明 在吸水萌发初期抗氧化酶在积极地发挥作用,参 与氧化还原过程,清除 MDA,减轻氧化胁迫对莲子 造成的伤害。但本研究中,CAT 并不是与 SOD、 POD 酶呈现相同的上升趋势,而是表现出波动变 化。贾双双等(2017)的研究也有类似的发现,鸡 冠花幼苗在高温处理后 SOD、POD 呈上升趋势, CAT 含量先上升后下降,呈波动变化,推测高活性 的 SOD、POD 可能是高温胁迫下参与细胞抗氧化 过程的主要抗氧化酶,发挥重要的抗氧化功能, SOD、POD、CAT等抗氧化酶在高温下是否协同发 挥作用及其高温耐受机理有待今后深入研究。

高温信号的感知与转导是植物细胞应对高温 胁迫的重要过程之一,高温信号可以诱导且调控 ROS 与抗逆基因的转录与表达(Yan et al., 2017),降低植物在高温环境下的胁迫伤害,提高 植物对高温的耐受性。本研究对氧化应激相关基 因进行定量分析发现,吸水萌发期间,莲种胚氧化 应激相关基因 Cu/Zn SOD、Mn SOD、POD41、 POD73、CAT1、GR、APX 积极参与胁迫响应,相比 CK组,高温处理组下的抗逆基因出现不同程度的 上调表达,其中 100 ℃处理下吸水萌发 3 h,大多 数抗逆相关基因表达显著升高,推测吸水萌发的 3 h 是莲种胚在经受 100 ℃高温胁迫下比较关键的 时间点。此时,种胚生理代谢活动更为旺盛,抗逆 基因表达量上调,积极响应高温胁迫。本研究中, Rab18 在高温处理下显著上调表达,100 ℃下表达 量上调最明显,与抗氧化酶类蛋白表达模式相类 似,推测 Rab18 可能参与了莲胚高温处理过程中 胞内大分子的保护作用。

综上所述, 莲种胚可以耐-196 ℃超低温和 70~80 ℃的高温环境。在 80 ℃以上的高温逆境 中, 莲种胚含水量、REC、MDA、抗氧化保护酶 SOD、POD、CAT 活性, 以及非酶促抗氧化剂 GSH、 AsA 含量、渗透调节物质 Pro 等一系列生理指标对 高温胁迫积极响应且参与调节, 减弱膜脂过氧化 程度, 以降低高温对自身的损伤程度; 同时, 高温 处理会使莲种胚内的 DHN Rab18、OXI1、Cu/Zn SOD、GR、APX、POD41 等多个抗逆基因呈现大幅 上调表达, 表明这些基因参与莲种胚极端温度下 的胁迫伤害过程, 高温胁迫下积极响应, 为后续深 入开展基因功能研究和莲超低温保存技术, 以及 莲组织培养外殖体消毒技术奠定了理论基础。

参考文献:

- CAKMAK I, 2010. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species [J]. NewPhytol, 146(2): 185-205.
- CHU P, 2011. Identification of lotus annexin and its function in seed heat tolerance and vigor [D]. Guangzhou: Sun Yat-sen University. [楚璞, 2011. 莲膜联蛋白的鉴定及其在种子 耐热性和活力中的功能研究 [D]. 广州:中山大学.]
- DING YF, CHENG HY, SONG SQ, 2008. Changes in extreme high-temperature tolerance and activities of antioxidant enzymes of sacred lotus seeds [J]. Sci Chin Life Sci, 51(9): 842–853.
- DOWNS CA, COLEMAN JS, HECKATHORN SA, 1999. The chloroplast 22-Ku heat-shock protein: A lumenal protein that associates with the oxygen evolving complex and protects photosystem II during heat stress [J]. J Plant Physiol, 155(4): 477-487.

- FENG JC, ZHANG YJ, YANG TZ, 2002. Effect of low temperature stress on the membrane-lipidperoxidation and the concentration of free proline in *Camptotheca acuminata* seedling [J]. For Res, 15(2): 197-202. [冯建灿,张玉 洁,杨天桂, 2002. 低温胁迫对喜树幼苗 SOD 活性、MDA 和脯氨酸含量的影响 [J]. 林业科学研究, 15(2): 197-202.]
- GAO Q, LI XX, JIA JT, et al., 2016. Overexpression of a novel cold-responsive transcript factor *LcFIN1* from sheepgrass enhances tolerance to low temperature stress in transgenic plants [J]. Plant Biotechnol J, 14 (3): 861–874.
- HASSAN NM, EL-BASTAWISY ZM, EL-SAYED AK, et al., 2015. Roles of dehydrin genes in wheat tolerance to drought stress [J]. J Adv Res, 6(2): 179–188.
- HEGARTY TW, 2010. The physiology of seed hydration and dehydration, and the relation between water stress and the control of germination: a review [J]. Plant Cell Environ, 1(2): 101-119.
- HU XW, FAN Y, BASKIN CC, et al., 2015. Comparison of the effects of temperature and water potential on seed germination of Fabaceae species from desert and subalpine grassland [J]. Am J Bot, 102(5): 649–660.
- HUANG SZ, TANG XJ, ZHANG L, et al., 2003. Thermotolerance and activity of antioxidative enzymes in lotus seeds [J]. J Plant Physiol Mol Biol, 29(5): 421-424. [黄 上志,汤学军,张玲,等, 2003. 莲种子的耐热性及抗氧 化酶活性 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 29(5): 421-424.]
- JIA SS, GAO QH, LIU GX, et al., 2017. Effect of short-term extreme high temperature on seed vigor of *Celosia cristata* and physiological characteristics of early seedlings [J]. J Trop Subtrop Bot, 25(2): 141–148. [贾双双, 高青海, 刘国祥, 等, 2017. 短期极端高温对鸡冠花种子活力及早期 幼苗生理特性的影响 [J]. 热带亚热带植物学报, 25(2): 141–148.]
- JIANG JL, SU M, CHEN YR, et al., 2013. Correlation of drought resistance in grass pea (*Lathyrus sativus*) with reactive oxygen species scavenging and osmotic adjustment [J]. Biologia, 68(2): 231–240.
- JIANG JL, LI L, ZHAO H, et al., 2016. Low temperature stress affected physiological characters in three varieties of *Citrus* leaves [J]. Guihaia, 36(2): 208-215. [蒋景龙, 李 丽, 赵桦, 等, 2016. 低温胁迫对三种柑橘叶片抗性生理 特性影响 [J]. 广西植物, 36(2): 208-215.]
- LI SJ, GONG YH, WANG JR, et al., 2005. Discussion on the reaction between proline and ninhydrin in the determination of proline content by ninhydrin method [J]. Plant Physiol Commun, 41(3): 365-368. [李绍军, 龚月桦, 王俊儒, 等, 2005. 关于茚三酮法测定脯氨酸含量中脯氨酸与茚三 酮反应之探讨 [J]. 植物生理学通讯, 41(3): 365-368.]
- LIU L, ZHANG L, CAI J, et al., 2021. Hydraulic characteristics and embolism repair of *Populus alba* × *P. glandulosa* after drought stress and rehydration [J]. J Beijing For Univ, 43 (7): 22 30. [刘丽,张立,蔡靖,等, 2021. 干旱胁迫及复水后 84K 杨栓塞修复及其他水力学 特性的研究 [J]. 北京林业大学学报, 43(7): 22-30.]
- LIU W, HUANG Y, HU ZY, et al., 2020. Effect of low temperature on germination of capsicum seeds and analysis of cold resistance [J]. Acta Agric Jiangxi, 32 (10): 68 -

71. [刘伟,黄勇,胡展育,等,2020. 低温对辣椒种子萌发的影响及其抗寒性分析 [J]. 江西农业学报,32(10):68-71.]

- LU L, CHEN FL, TAN Y, 2013. Extraction of Fe-SOD from lotus seed and its high temperature tolerance [J]. Biotechnol World, (2): 65-66. [路蕾, 陈富霖, 谭茵, 2013. 莲子 Fe-SOD 的提取及其耐高温能力的初探 [J]. 生物技术世 界, (2): 65-66.]
- LÜ S, 2020. Study on cell protection mechanism during maturation and dehydration of lotus seed embryo [D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University. [吕珊, 2020. 莲种 胚成熟脱水过程中细胞保护机制研究 [D]. 上海: 上海 交通大学.]
- MIURA C, SUGAWARA K, NERIYA Y, et al., 2012. Functional characterization and gene expression profiling of superoxide dismutase from plant pathogenic phytoplasma [J]. Gene, 510(2): 107–112.
- OHGA I, 1927. Supramaximal temperature and life duration of the ancient fruit of Indian lotus [J]. Shokubutsugaku Zasshi, 41(483): 161–172.
- OMRAN GR, 1980. Peroxide levels and the activities of catalase, peroxidase, and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings [J]. Plant Physiol, 65(2): 407-408.
- REN L, ZHANG D, JIANG XN, et al., 2013. Peroxidation due to cryoprotectant treatment is a vital factor for cell survival in *Arabidopsis* cryopreservation [J]. Plant Sci: 21237–21247.
- RENTEL MC, LECOURIEUX D, OUAKED F, et al., 2004. OXI1 kinase is necessary for oxidative burst-mediated signalling in *Arabidopsis* [J]. Nature, 427 (6977): 858-861.
- SHEN-MILLER J, 2002. Sacred lotus, the long-living fruits of *China Antique* [J]. Seed Sci Res, 12(3): 131-143.
- SHENG JY, ZHANG D, 2020. Correlation analysis of gene expression of LEA protein and seed moisture content during embryo maturation in *Nelumbo nucifera* [J]. J NW For Univ, 35(3): 75-81. [盛江源,张荻, 2020. 莲种胚发育过程中 胚胎晚期丰度蛋白基因表达量与种子含水量相关性分析 [J]. 西北林学院学报, 35(3): 75-81.]
- SHENG W, WANG YF, YU Q, et al., 2016. Effects of priming treatment on the characteristics of germination and physiological and biochemical of lettuce seed under high temperature stress [J]. Seed, 35(4): 44-47. [盛伟, 王艳 芳, 于茜, 等, 2016. 引发对高温胁迫下莴苣种子萌发及 生理生化特性的影响 [J]. 种子, 35(4): 44-47.]
- SINGH BK, SHARMA SR, SINGH B, 2010. Antioxidant enzymes in cabbage: Variability and inheritance of superoxide dismutase, peroxidase and catalase [J]. Sci Hortic, 124(1): 9-13.
- TANAKA-ODA A, KENZO T, FUKUDA K, 2009. Optimal germination condition by sulfuric acid pretreatment to improve seed germination of *Sabina vulgaris* Ant. [J]. J For Res, 14(4): 251–256.
- WAHID A, GELANI S, ASHRAF M, et al., 2007. Heat tolerance in plants: An overview [J]. Environ Exp Bot, 61(3): 199–223.
- WANG TT, YANG JY, ZHANG WM, et al., 2014. Influence on vigor of maize seeds after liquid nitrogen cryopreservation [J]. Seed, 33(12): 30-32. [王婷婷,杨建宇,张文明,

等,2014. 液氮超低温贮藏对玉米种子活力的影响 [J]. 种子,33(12):30-32.]

- WANG YF, PAN FB, WANG GS, et al., 2014. Effects of biochar on photosynthesis and antioxidative system of *Malus hupehensis* Rehd. seedlings under replant conditions [J]. Sci Hortic, 175: 9–15.
- WANG YM, HUANG T, CHEN FJ, et al., 2021. Effects of simulated drought stress on seed germination and seedling growth of *Manglietia patungensis* [J]. Guihaia, 41(6): 953-960. [王毅敏, 黄婷, 陈发菊, 等, 2021. 模拟干旱胁 迫对巴东木莲种子萌发和芽苗生长的影响 [J]. 广西植物, 41(6): 953-960.]
- XU J, JIANG J, WANG H, et al., 2019. Verification of internal reference genes of real-time quantitative PCR under waterlogging stress in lotus [J]. Jiangsu Agric Sci, 47(17): 50-53. [徐君, 江君, 王欢, 等, 2019. 荷花淹水胁迫下实 时定量 PCR 内参基因的验证 [J]. 江苏农业科学, 47(17): 50-53.]
- XU S, YAN J, YANG XK, et al., 2016. Effect of high temperature stress on seed germination, growth and chlorophyll fluorescence parameters of celery seedlings [J]. Seed, 35(8): 42-46. [许爽, 阎君, 杨学科, 等, 2016. 高温胁迫对芹菜种子萌发和幼苗生长以及叶绿素 荧光参数的影响 [J]. 种子, 35(8): 42-46.]
- XUE TT, LIU J, SHEN YB, et al., 2017. Study on the seed germination characteristic of *Carya illinoensis* [J]. J Cent S Univ For Technol, 37(11): 42-50. [薛婷婷, 刘嘉, 沈永 宝, 等, 2017. 温度对薄壳山核桃种子萌发的影响及其机 制初探 [J]. 中南林业科技大学学报, 37(11): 42-50.]
- YAN QJ, HUANG Q, CHEN JB, et al., 2017. SYTA has positive effects on the heat resistance of *Arabidopsis* [J]. Plant Growth Regul, 81(3): 467–476.
- YANG Z, SHENG JY, LÜ K, et al., 2019. Y₂SK₂ and SK₃ type dehydrins from *Agapanthus praecox* can improve plant stress tolerance and act as multifunctional protectants [J]. Plant Sci, 284: 143–160.
- YUN JY, YANG JD, ZHAO HL, et al., 2006. Research progress in the mechanism for drought and high temperature to affect plant photosynthesis [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 26(3): 641-648. [云建英,杨甲定,赵哈林, 2006. 干旱和高温对植物光合作用的影响机制研究进展 [J]. 西北植物学报, 26(3): 641-648.]
- ZHANG D, REN L, CHEN GQ, et al., 2015. ROS-induced oxidative stress and apoptosis-like event directly affect the cell viability of cryopreserved embryogenic callus in *Agapanthus praecox* [J]. Plant Cell Rep, 34 (9): 1499-1513.
- ZHANG LY, CHENG GM, WEI HL, et al., 2021. Chilling tolerance identification and response to cold stress of *Gossypium hirsutum* varieties (lines) during germination stage [J]. Sci Agric Sin, 54(1): 19-33. [张陇艳, 程功 敏,魏恒玲,等, 2021. 陆地棉种子萌发期对低温胁迫的 响应及耐冷性鉴定 [J]. 中国农业科学, 54(1): 19-33.]
- ZHAO WJ, 2013. Research progress of lotus cultivation technology [J]. Contemp Hortic, (5): 9-10. [赵文进, 2013. 荷花栽培技术研究进展 [J]. 现代园艺, (5): 9-10.]

(责任编辑 蒋巧媛)

了步植物 Guihaia Dec. 2022, 42(12); 2138-2146

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202106008

廖海枝,林晓凯,杨成坤,等.叶面喷施钙镁肥对'妃子笑'荔枝果肉苹果酸积累的影响 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2138-2146.

LIAO HZ, LIN XK, YANG CK, et al. Effects of foliar spraying of calcium and magnesium fertilizers on malic acid accumulation of 'Feizixiao' litchi fruit [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2138-2146.

叶面喷施钙镁肥对'妃子笑'荔枝果肉苹果酸积累的影响

廖海枝,林晓凯,杨成坤,杜婧加,彭俊杰,周开兵*

(海南大学园艺学院,热带作物新品种选育教育部工程研究中心,海口 570228)

摘 要:为探讨叶面喷施钙镁肥对'妃子笑'荔枝果肉苹果酸积累的影响,该文对'妃子笑'荔枝树冠作喷布 0.3%氯化钙(Ca)、0.3%氯化镁(Mg)及其二者混合(Ca+Mg)等水溶液处理,以树冠喷布清水为对照(CK),测定不同生长时期果肉水溶性钙和镁、苹果酸等含量及苹果酸代谢相关酶活性的动态变化,并作多元线性 相关分析。结果表明:(1)苹果酸含量呈"L"型变化,Mg、Ca和Ca+Mg处理在果实发育前期促进苹果酸积 累,Ca处理在后期促进苹果酸积累。(2)果肉水溶性钙含量总体呈上升趋势,水溶性镁含量大致呈"M"的 动态变化趋势。(3)CK和Ca处理的苹果酸含量与 NADP-ME 活性、Ca+Mg处理的苹果酸含量与 PEPC 和 NAD-MDH 活性等均呈正相关,CK 的苹果酸含量与 PEPC 活性、MS 活性呈负相关。(4)水溶性钙抑制 NAD-MDH、NADP-ME 等活性,水溶性镁抑制 NAD-MDH、MS 等活性。综上认为,钙、镁叶面营养通过改变水溶 性钙、镁等含量和苹果酸代谢途径不同关键酶活性而影响果肉苹果酸积累,其中 Ca处理可能通过积累更多 的苹果酸而抑制果肉呼吸作用,进而使果肉减少糖分损失,在生产中可作施肥技术应用。该研究结果为我 国荔枝实际生产提供一定的理论参考和技术支持。

关键词: '妃子笑'荔枝, 叶面喷肥, 水溶性钙, 水溶性镁, 苹果酸 中图分类号: Q945.15 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)12-2138-09

Effects of foliar spraying of calcium and magnesium fertilizers on malic acid accumulation of 'Feizixiao' litchi fruit

LIAO Haizhi, LIN Xiaokai, YANG Chengkun, DU Jingjia, PENG Junjie, ZHOU Kaibing*

(Engineering Research Center for Breeding of New Varieties of Tropical Crops, Ministry of Education, College of Horticulture, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: In order to explore the effect of malic acid accumulation, spraying the foliar calcium and magnesium of 'Feizixiao' litchi, during the period of 'Feizixiao' litchi fruit development, 0.3% magnesium chloride (Mg), 0.3% calcium chloride (Ca), their mixture (Ca+Mg) and clean water (CK) were sprayed on leaves, and contents of water-



收稿日期: 2021-08-30

基金项目:国家自然科学基金(31960570);海南大学世界一流学科建设经费专项(RZZX201906)[Supported by National Natural Science Foundation of China (31960570); World First-Class Discipline Construction Fund of Hainan University (RZZX201906)]。

第一作者:廖海枝(1997-),硕士研究生,主要从事果树生理与栽培研究,(E-mail)2362746801@qq.com。

這信作者:周开兵,博士,教授,主要从事果树生理与栽培研究,(E-mail)zkb@hainanu.edu.cn。

soluble calcium, water-soluble magnesium and malic acid and the activities of malic acid metabolism-related enzymes in fruit flesh were measured. The multivariate linear correlation analysis were also performed. The results were as follows: (1) The content of malic acid showed a L-shaped trend, Mg, Ca and Ca+Mg treatments might promote the accumulation of malic acid in the early stage of fruit growth and development, while Ca treatment might promote the accumulation of malic acid in the late stage. (2) The content of water-soluble calcium in the flesh showed increasing trend, and the content of water-soluble magnesium showed the trend like "M". (3) The content of malic acid was positively correlated with the activities of NADP-ME in CK and Ca, and PEPC and NAD-MDH in Ca+Mg, while the content of malic acid was negatively correlated with the activities of PEPC and MS in CK. (4) The water-soluble calcium inhibited the activities of NADP-ME, while water-soluble magnesium inhibited the activities of NADP-ME, while water-soluble magnesium inhibited the activities of NADP-MDH and NADP-ME, while water-soluble magnesium inhibited the activities of NADP-MDH, while water-soluble magnesium inhibited the activities of NADP-MDH and MS. In conclusion, foliar spraying of calcium and magnesium fertilizers can affect the contents of water-soluble calcium, magnesium and malic acid in pulp and cause the change of total acid content in pulp. Ca treatment may inhibit pulp respiration by accumulation of malic acid and then reducing the loss of sugar in pulp, which can be used as fertilizer technology in production. This results provide the theoretical reference and technical support for the actual production of litch in China.

Key words: 'Feizixiao' litchi, foliar spray, water-soluble calcium, water-soluble magnesium, malic acid

'妃子笑'荔枝(Litchi chinensis cv. Feizixiao) 是我国荔枝主栽品种之一,是海南产区栽培面积 最大的品种,具有较高的经济和社会效益(陈业光 等,2008)。有机酸组分与含量是'妃子笑'荔枝果 实品质风味的重要组成因素(朱慧芹,2013)。'妃 子笑'荔枝果实的主要有机酸为苹果酸,为苹果酸 型果实(周先艳等,2015),苹果酸含量是影响'妃 子笑'荔枝果实品质的重要影响因子。苹果酸是 一种重要的初级代谢产物,在调节苹果渗透压、pH 稳态、抗逆性和果实品质等方面起到关键作用 (Zhang et al., 2020)。苹果酸作为'妃子笑'荔枝 果实的主要有机酸,对总酸含量有重要影响(乔方 等,2012)。因此,研究荔枝苹果酸的积累特性,对 丰富荔枝果实发育理论具有重要意义。

近年来,国内外学者对果实有机酸代谢及其 生理机制问题进行了研究,如糖酵解反应、三羧酸 循环、糖异生作用等途径均存在着有机酸的踪迹 (周先艳等,2015)。植物果实有机酸代谢过程极 其复杂,其中有机酸代谢相关酶与有机酸含量密 切相关(郭润姿等,2013)。苹果酸为植物果实重 要有机酸之一,研究其代谢尤为重要,目前在不同 植物有机酸代谢中,除烯醇式磷酸丙酮酸羧化酶 (PEPC)均为关键酶外(Berüter, 2004),在不同植 物上曾报道过苹果酸脱氢酶(NADP-ME) (Crecelius et al., 2003)、苹果酸合成酶(MS) (Surendranathan & Nair, 1976)等分别为其果实苹 果酸代谢途径的相关酶。温清玉等(2012)报道, 在荔枝中,PEPC 是苹果酸合成的关键酶,NAD-MDH 和 NADP-ME 也会影响苹果酸含量,但因品 种不同而存在差异。此外,在不同果实上也存在 相似情况。在'蜂糖李'果实发育前期,苹果酸含 量的变化由 PEPC 和 NADP-ME 协同调控, NAD-MDH 作用不大;与之不同的是,'四月李'果实中 引起苹果酸含量变化的关键酶是 NAD-MDH 与 NADP-ME(王小红等,2018)。郭润姿等(2013) 报道,苹果酸脱氢酶和苹果酸酶在黄冠梨果实发 育中对苹果酸的产生与降解有重要作用。此外, 温度、养分、品种遗传性等也会引起果实糖酸风味 的变化(张红,2009)。刘洁云等(2021)报道,营 养元素会对果实品质存在较大影响,如硒可以提 高香蕉的果实品质。营养元素对果实酸度也有较 大影响,氮、磷、钾、铜、铁等营养元素会影响果实 酸度(陈发兴等,2005)。可见,苹果酸代谢仍处于 探索阶段。因此,研究苹果酸代谢机制及如何调 节苹果酸积累进而调节总酸含量是'妃子笑'荔枝 产业健康发展亟须解决的科学问题。

本课题组前期研究发现施肥技术会影响矿质 营养代谢而影响果实品质(苏阳等,2015b)。此 外,还筛选出了能缓解'妃子笑'荔枝果肉"退糖" 现象(果面全红时果肉含糖量发生下降的现象) (苏阳等,2015a)的钙镁肥处理,其机制除了要关 注果肉糖代谢变化问题外,果肉有机酸代谢是否 发生变化的问题也不能忽视。鉴于此,本研究通 过对'妃子笑'荔枝树冠进行叶面喷施钙、镁肥处 理,观测不同生长时期果肉水溶性钙和镁、苹果酸 等含量及苹果酸代谢相关酶活性的动态变化,比 较不同处理和对照间的差异,探讨叶面喷施钙、镁 肥对果肉苹果酸积累的影响,以期探索调控果实 酸含量的栽培措施提供理论依据,进而有效调控 荔枝果实风味品质。

1 材料与方法

1.1 材料

荔枝果实采摘于海南省临高县金牌农场五队 荔枝园。选取营养状况良好、生长状况相近、无病 虫害、株、行距6m×7m,冠幅约3m×4m的16年 生'妃子笑'荔枝果树20株。试验期间对20株果 树采取一致的肥水管控、防病虫害管理措施。

1.2 试验设计

设置以下处理:(1)树冠叶面喷布 0.3%氯化钙 水溶液(Ca处理);(2)树冠叶面喷布 0.3%氯化镁 水溶液(Mg处理);(3)树冠叶面喷布 0.3%氯化钙 和 0.3%氯化镁混合水溶液(Ca+Mg处理);(4)喷清 水为对照(CK)。单株区组,重复 5 次。在每株样树 的树冠中部外围四方选 5 个大小基本一致且生长中 庸的果实进行挂牌标记,试验期间以这 5 个果的平 均纵、横径为标准,在树冠中部外围选取对应大小 的果实作为样果。每次处理前先取好果样 30 个,处 理时间为谢花后 35、42、50 d(上午 9:00—10:00), 共处理 3 次,此后分别继续于谢花期后 56、63、69、 73 d 取果样,共取样 7 次,果样就地放入液氮罐速 冻,并储存于-80 ℃超低温冰箱中备用。

1.3 方法

苹果酸含量测定:参考胡志群等(2005)与王 芮东等(2016)的方法并略有改动,将流动相换为 0.1%磷酸二氢钠溶液,用磷酸调 pH 至 2.8。

苹果酸代谢途径相关酶活性测定:采用 Hirai 和 Ueno(1977)、罗安才等(2003)的方法制备酶液 且测定酶活性。用酶标仪在 450 nm 波长下测定 吸光度(OD 值),通过标准曲线计算样品中烯醇式 磷酸丙酮酸羧化酶(PEPC)、苹果酸脱氢酶(NAD-MDH)、苹果酸酶(NADP-ME)、苹果酸合成酶 (MS)的酶活性。 水溶性钙、镁含量测定:称取1g左右荔枝果肉,连续烘干至恒重后加水研磨至匀浆,用去离子水震荡过夜后待测。采用火焰原子吸收法测定水溶性钙、水溶性镁含量(殷丽等,2013),使用仪器为 NOVAA400P 原子吸收分光光度计。

1.4 数据统计分析

利用 SAS 软件统计分析数据,采用 ANOVA 过 程作方差分析和 DUNCAN 法作多重比较分析,用 REG 过程作多元线性相关性分析。

2 结果与分析

2.1 苹果酸含量变化

如图 1 所示,在'妃子笑'荔枝果实发育过程 中,所有处理的苹果酸含量的变化趋势均呈现"L" 型,花后 50 d 前急剧下降,后期趋于稳定。花后 42 d,CK 显著低于其余 3 个处理,而 Mg 处理又显 著高于 Ca 处理;花后 50~69 d,所有处理间均无差 异显著性;花后 73 d,Ca 处理显著高于 CK 和 Mg 处理。由此可知,Ca、Mg 和 Ca+Mg 处理只影响了 前期苹果酸的积累且存在促进作用,后期仅 Ca 处 理呈现促进趋势。



同一时间不同小写字母表示差异显著 (P < 0.05)。下同。 Different lowercase letters for the same time represent significant differences (P < 0.05). The same below.

图 1 不同处理下苹果酸含量变化

Fig. 1 Content changes of malic acid under different treatments

2.2 苹果酸代谢途径相关酶活性变化

2.2.1 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC) 如图 2 所示, CK 的 PEPC 酶活性随果实发育进程历经 3 次"上升、下降"交替过程。Mg处理在 35~42 d 呈

"平缓、上升"趋势,随后与CK趋势趋于一致;Ca 处理则表现为"下降、上升、平缓、下降"的趋势; Ca+Mg处理呈"上升、下降、平缓、下降、上升、下 降"的趋势。花后42d,CK显著高于其余3个处 理,Ca+Mg处理又显著高于Mg和Ca处理;花后 50d,Ca处理显著最高;花后56d,Mg和Ca处理 显著高于CK和Ca+Mg处理,CK又显著高于Ca+ Mg处理;花后63d,Ca处理显著最高,CK又显著 高于Mg和Ca+Mg处理;花后69d,CK显著高于 Ca+Mg处理;花后73d,CK和Ca处理显著高于 Mg和Ca+Mg处理。由此可知,Ca处理在花后50d 之后呈高于CK和其余处理趋势,Ca+Mg处理全程 低于CK,Mg处理后期也具有低于CK的趋势,说 明Ca处理呈提高PEPC活性的趋势,而Mg和Ca+ Mg处理呈抑制PEPC活性的趋势。



2.2.2 NAD-苹果酸脱氢酶(NAD-MDH) 由图 3 可知,不同处理和 CK 的果肉 NAD-MDH 活性具有 不同的动态变化趋势。CK 呈"上升、平缓、下降、 上升"趋势: Mg 处理呈"下降、上升、平缓、上升、下 降"趋势;Ca处理先无明显变化,随后历经两次 "下降、上升"交替过程;Ca+Mg处理呈两次"下 降、上升"交替趋势。由图3还可知,花后42d,CK 和 Ca 处理显著高于 Mg 和 Ca+Mg 处理:在花后 50~56 d, CK 均显著最高, Mg 处理又显著高于Ca+ Mg处理,其中在50d时为Mg处理显著高于Ca处 理,在56 d 时 Mg 处理显著低于 Ca 处理:花后 63 d, Mg 处理显著高于 Ca 处理;在 69 d 时 Mg 处理显 著高于 CK 和其余处理;花后 73 d, Mg 处理显著低 于CK和其余处理,其余处理与CK无显著差异。 由此可知,在63 d前CK持续高于其余处理,在63

d 后 Mg 处理与 CK 趋势相反,说明 Ca 和Ca+Mg 等 处理均呈抑制 NAD-MDH 活性趋势, Mg 处理则呈 前抑后促的趋势。



图 3 不同处理下 NAD-MDH 活性动态变化 Fig. 3 Dynamic changes of NAD-MDH activities under different treatments

2.2.3 NADP-苹果酸酶(NADP-ME) 由图4可 知,不同处理和 CK 的果肉 NADP-ME 活性具有不 同的动态变化趋势。CK 呈"平缓、上升、下降、平 缓、上升、平缓"的趋势;Mg处理呈"平缓、下降、上 升、下降"趋势;Ca处理先无显著变化,随后呈"下 降、平缓、下降"的趋势:Ca+Mg处理在35~50 d无 明显变化,随后显著下降再上升。由图4还可知, 花后 42 d, Ca 处理显著高于 CK 和其余处理;花后 50 d, CK 显著最高, Mg 处理又显著高于 Ca 处理; 花后 63 d, Mg 处理显著高于 CK 和其余处理, 而 CK和Ca处理又显著高于Ca+Mg处理;花后69d 和73 d, CK 酶活均为最高, 均显著高于 Ca 处理, 其中在 69 d 时 Mg 和 Ca 处理显著高于 Ca+Mg 处 理,在73d时Mg处理又显著高于Ca处理。由此 可见,Ca、Mg和Ca+Mg处理均呈低于CK的趋势 而呈抑制 NADP-ME 活性趋势。

2.2.4 苹果酸合成酶(MS) 由图 5 可知,不同处理 和 CK 的果肉 MS 活性具有不同的动态变化趋势。 在花后 35~56 d, CK 和 Ca+Mg处理均呈现"下降、 上升、下降"趋势,随后 CK 维持稳定趋势, Ca+Mg 处理则持续降低至 63 d 后又上升; Ca 处理初始并 无显著变化,随后历经两次"下降、上升"交替过程 后趋于稳定; Mg 处理表现为"上升下降—上升下 降"的趋势。由图 5 还可知, 花后 42 d, 酶活由高 往低顺序依次为 Mg、Ca、CK、Ca+Mg 处理, 任意两



under different treatments

者间均具有显著差异性;花后 50~63 d,CK 均为显 著最高;在 56 d 和 63 d 时,Ca 和 Mg 处理又均显 著高于 Ca+Mg 处理,其中在 63 d 时 Mg 处理高于 Ca 处理;花后 69 d,Mg 处理显著高于 CK 和其余 处理,CK 和 Ca 处理又显著高于 Ca+Mg 处理;花后 73 d,CK 显著高于 Mg 和 Ca+Mg 处理。由此可知, Ca 和 Ca+Mg 处理呈低于 CK 趋势,即呈抑制 MS 酶活性的趋势;Mg 处理在 42 d 和 69 d 时表现提 高酶活性的作用。

2.3 水溶性钙、镁含量变化

2.3.1 水溶性钙含量 由图 6 可知,4 个处理下花 后 63 d 前的水溶性钙含量均呈现上升趋势,63 d 后 CK 和 Ca 处理持续上升,Mg处理先上升至 69 d 再下降,Ca+Mg处理则维持稳定。由图 6 还可知,花后 42 d,按 Ca、Mg、CK、排序依次降低且任意两 者间均显著;花后 50 d,Mg处理显著最高,Ca 处理



又显著高于 Ca+Mg 处理;花后 56 d, Mg 处理仍为 显著最高, CK 又显著高于 Ca 和 Ca+Mg 处理;花后 63、69、73 d, Ca、Mg、Ca+Mg 处理分别呈现显著最 低、最高、最低。可见, Mg 处理高于 CK 和其余处 理;而 Ca+Mg 处理则全程低于 CK 和 Mg 处理,说 明 Mg 处理具有提高果肉水溶性钙含量的效果;而 Ca+Mg 处理呈降低水溶性钙含量的趋势, Ca 处理 在 73 d 之后呈超越 CK 和其余处理的趋势。

2.3.2 水溶性镁含量 由图 7 可知,从花后 35 d开 始至 56 d,不同处理和 CK 的水溶性镁含量均先上 升再下降;在 56~69 d,CK 维持稳定,Ca+Mg处理 先无明显变化后显著下降,Ca处理先下降再上升, Mg处理则呈"下降、上升、下降"趋势。由图 7 还 可知,花后 42 d,CK 显著高于其余处理,Ca+Mg处 理又显著低于 Mg 和 Ca处理;花后 50 d,Mg处理 显著最高,花后 56 d,Ca处理均显著高于 CK 和 Ca+Mg处理;花后 63 d,CK 和 Ca+Mg处理显著高 于 Mg 和 Ca处理;花后 73 d,Ca+Mg处理显著高 于 Mg 和 Ca处理;花后 73 d,Ca+Mg处理显著低于 CK 和 Ca处理,Ca处理又显著高于 CK。可见,Mg 和 Ca处理能提高果肉水溶性镁含量,Ca+Mg处理 则呈降低水溶性镁含量的趋势。

2.4 多元线性相关

2.4.1 苹果酸含量与相关酶活性的多元线性相关 对 CK 和不同处理的苹果酸含量与 PEPC、NAD-MDH、NADP-ME、MS 4 种酶活性作多元线性相关 性分析,结果如表 1 和表 2 所示。由表 1 可知,CK 和 Ca 处理的 NADP-ME 及 Ca+Mg 处理的 PEPC、 NAD-MDH 等活性分别与苹果酸含量呈正相关;





表 1 不同处理下苹果酸含量与相关酶 活性的显著偏相关系数

Table 1	Significant partial correlation coefficients be	etween
	contents of malic acid and related enzyme	

activities under different treatments

处理和 对照 Treatment and CK	苹果酸与 PEPC Malic acid and PEPC	苹果酸与 NAD-MDH Malic acid and NAD-MDH	苹果酸与 NADP-ME Malic acid and NADP-ME	苹果酸与 MS Malic acid and MS	
СК	-0.503 13*	_	0.401 08*	-0.445 18*	
Mg	—	—	—	—	
Ca	—	_	0.489 40*	_	
Ca+Mg	0.631 03**	0.637 50**	—	—	

注:*表示显著性差异(P<0.05);**表示极显著性差异(P<0.01)。下同。

Note: * represents significant differences (P < 0.05); ** represents extremely significant differences (P < 0.01). The same below.

CK的PEPC、MS等活性与苹果酸含量则呈负相 关。表明不同处理会改变酶活性与苹果酸含量的 线性相关性,不同施肥处理能调节苹果酸的积累, 并具有较为复杂的调节机制。由表2可知,除CK 的苹果酸外,3个处理的苹果酸含量与其4种酶活 性的复相关系数分别显著或极显著,这也说明苹 果酸积累是这些酶共同作用的结果,任意一种酶 活性改变均会引起苹果酸含量的改变,不同处理 可能通过影响这些酶活性而影响苹果酸含量。 2.4.2 水溶性钙、镁含量与相关酶活性的多元线性 相关 对所有处理的水溶性钙、镁含量分别与 PEPC、NAD-MDH、NADP-ME、MS 四种酶活性作 多元线性相关性分析,结果如表2和表3所示。

表 2 不同处理下苹果酸、水溶性钙、水溶性镁等 含量分别与相关酶活性的复相关系数

Table 2Multiple correlation coefficients betweencontents of malic acid, water-soluble calcium and
water-soluble magnesium with related enzyme
activities under different treatments

处理和 对照 Treatment and CK	苹果酸与 4种酶 Malic acid and four enzymes	水溶性钙与 4种酶 Water soluble calcium and four enzymes	水溶性镁与 4种酶 Water soluble magnesium and four enzymes
СК	0.546 07	0.646 91*	0.456 07
Mg	0.638 04*	0.547 53	0.550 09
Ca	0.859 18**	0.743 70**	0.552 72
Ca+Mg	0.812 34*	0.725 53*	0.518 16

表 3 不同处理下水溶性钙、镁含量与 相关酶的显著偏相关系数

Table 3 Significant partial correlation coefficients between contents of water-soluble calcium and water-soluble magnesium with related enzymes under different treatments

处理和 对照 Treatment and CK	水溶性钙与 NAD-MDH Water- soluble calcium and NAD-MDH	水溶性钙与 NADP-ME Water- soluble calcium and NADP-ME	水溶性镁与 NAD-MDH Water- soluble magnesium and NAD-MDH	水溶性镁与 MS Water- soluble magnesium and MS
СК	-0.608 03**	-0.468 56*	_	_
Mg	_	—	—	-0.471 78*
Ca	—	-0.638 08**	—	—
Ca+Mg	—	-0.658 02**	-0.429 5*	—

由表 3 可知,不同处理与 CK 水溶性钙、镁含量与相关酶活性的显著偏相关系数均为负相关, 其中,CK 的水溶性钙抑制 NAD-MDH 的酶活性, 仅 Mg 处理的水溶性钙对 NADP-ME 的酶活无抑 制作用; Ca+Mg、Mg 处理的水溶性镁分别抑制 NAD-MDH、MS 活性。说明不同处理改变了水溶 性钙、镁含量与4 种酶活性的线性相关性,且不同 的施肥处理通过调节苹果酸代谢相关酶活性而调 节苹果酸的积累。由表 2 可知,3 个处理和 CK 的 水溶性镁含量与其4 种相关酶活性的复相关系数 均无显著性,而 CK、Ca 和 Ca+Mg 处理的水溶性钙 平。这说明叶面喷施钙、镁能改变果肉水溶性钙 含量,使果肉水溶性钙含量与苹果酸代谢途径相 关酶的活性产生线性相关性,进而调节果肉苹果 酸的积累。

3 讨论与结论

钙存在多种形态,除水溶性钙外,还存在果胶 酸钙、草酸钙、磷酸钙等(刘剑锋等,2004)。裴健 翔(2019)研究表明,在苹果果实发育过程中,果实 总钙和水溶性钙含量逐渐降低,果胶钙则先降后 升,草酸钙含量逐渐升高,磷酸钙变化不明显,此 外,采前钙处理可以增加果实中的总钙和水溶性 钙含量(魏树伟和王少敏,2018)。本研究结果显 示,经过烘干后4个处理的水溶性钙含量总体呈 上升趋势,除受基因遗传影响外,也可能由于烘干 后各种形式的钙转化为水溶性钙,因此总体表现 为上升趋势。不同处理在花后 63 d 后的趋势表现 出差异,63 d 后 CK 和 Ca 处理持续上升, Mg 和Ca+ Mg处理则与之不同,这可能为 Ca²⁺和 Mg²⁺等离子 间的复杂作用引起。本研究结果表明,单独喷施 钙或镁营养分别促进果肉中水溶性钙、镁积累增 多.Ca+Mg处理则会抑制水溶性钙、镁的积累。丁 玉川等(2012)在甘蓝上报道钙、镁的吸收可能存 在协同关系,本课题组前期研究中水溶性钙和镁 存在相互增益效应(高丹等,2017),在猕猴桃叶片 上Ca和Mg存在相互抑制吸收作用(刘科鹏, 2013)。可见,水溶性钙、镁积累除了受遗传差异 影响外,可能存在同时喷施钙、镁营养可能还会抑 制植物体吸收钙、镁矿质元素。

在果实发育过程中,通常果实成熟时,酸度会降低(张秀梅等,2007)。Wang等(2006)研究表明荔枝的苹果酸成熟前呈下降趋势。本研究结果表明,'妃子笑'荔枝果肉苹果酸含量的变化趋势与前人研究相似,表现为急剧下降后逐渐趋于稳定;Ca、Mg和Ca+Mg处理前期呈促进影苹果酸积累的趋势,在果实生长发育后期仅Ca处理呈促进苹果酸积累的趋势,由于有机酸是呼吸代谢中间产物,其积累可能负反馈调节果肉呼吸作用(杨春宁等,2016),这可能导致Ca处理果肉呼吸代谢在后期较弱,从而积累糖分较多,即出现本课题组前期研究结果:Ca缓解果肉"退糖"现象(苏阳等,2015b)。对于本课题组前期研究结果 Ca+Mg处

理也具有缓解"退糖"现象,可能是 Ca+Mg 处理在 果实生长发育后期促进其他有机酸的积累的缘 故;Mg 处理可能因为其与 CK 一样在果实生长发 育后期未引起苹果酸和其他有机酸的积累改变。 施肥改变了植物细胞体内细胞壁上的电荷变化与 Mg²⁺等阳离子的竞争作用(李跃鹏等,2011),改变 了介质中的 H⁺和 OH⁻的比例,从而改变了植物体 内的 pH 值(郭悦等,2019),进而影响了有机酸含 量。可见,叶面喷施钙镁肥会影响果肉中水溶性 钙、镁的含量,Ca 处理通过促进苹果酸的积累而促 进总酸积累。

苹果酸合成与丙酮酸羧化酶、苹果酸脱氢酶、 苹果酸裂合酶、苹果酸酶有关(吴军林等,2014)。 苹果酸合成酶(MS)是乙醛酸循环的关键酶(王程 等,2011),乙醛酸循环为三羧酸循环的回补途径, 与苹果酸的积累有重要作用。在枇杷果实的研究 中,苹果酸的差异主要是 NAD-MDH 和 NADP-ME 的差异造成的,与 PEPC 也有关系(秦巧平等, 2012)。马倩倩等(2017)研究表明,酸枣发育过程 中苹果酸与 NAD-MDH 活性正相关, 与 NADP-ME活性负相关。李航等(2019)在樱桃果实上的 研究也表明 PEPC、NAD-MDH 与苹果酸呈显著正 相关.NADP-ME 与苹果酸呈负相关。本研究显 示,苹果酸含量与 PEPC 活性的相关关系因施肥处 理不同而出现差异;CK和Ca处理的苹果酸含量 与 NADP-ME 活性、Ca+Mg 处理的苹果酸含量和 NAD-MDH 活性等呈正相关,CK 的苹果酸含量与 MS活性呈负相关。可见,本研究结果与前人研究 结果并非完全一致,这可能与果实种类不同有关, 说明不同施肥处理影响有机酸代谢具有不同的生 化机理,作用于不同的靶标关键酶,进而引起苹果 酸积累发生改变。本研究发现,叶面喷施钙、镁营 养会影响苹果酸代谢相关酶活性,并且会改变苹 果酸含量与苹果酸代谢相关酶活性的复相关关 系。Ca²⁺和 Mg²⁺能构成细胞渗透压,或起到活化 酶,或成为酶和底物之间的桥接元素(Mengel et al., 2001),钙镁营养确实会影响酶活性及各种酶 之间的联系,并且 Mg 和 Ca 处理在后期或有提高 酶活的作用。离子间会存在协助作用(李联葆和 王利平,2007),由于 Ca^{2+} 具有稳定质膜结构的特 殊功能,有助于质膜的选择性吸收,因此 Ca2+对多 种离子的吸收有协助作用(Inbal et al., 2010)。叶 面钙镁营养改变了果肉水溶性钙、镁的积累,进而

可能改变酶与其底物的结合特点,这可能是本研 究钙镁营养影响酶活性及各种酶活性相关性的 原因。

综上所述,'妃子笑'荔枝果实的苹果酸含量 在果实发育过程中呈急剧减少后保持稳定的"L" 型趋势,苹果酸积累差异受 PEPC、NAD-MDH、 NADP-ME 和 MS 等 4 种关键酶共同调控,叶面喷 施钙、镁通过影响 4 种关键酶活性及其与苹果酸 含量的相关性而调节果肉苹果酸的积累,进而影 响果肉的总酸含量和风味营养品质。叶面喷施钙 肥通过促进苹果酸积累而抑制果肉呼吸作用,进 而缓解妃子笑荔枝果肉成熟期"退糖"现象。关于 叶面喷施钙、镁营养调节 4 种关键酶活性和苹果 酸含量的详细生物学机制还有待深入研究。

参考文献:

- BERÜTER J, 2004. Carbohydrate metabolism in two apple genotypes that differ in malate accumulation [J]. J Plant Physiol, 161(9): 1011-1029.
- CHEN FX, LIU XH, CHEN LS, 2005. Advances in research on organic acid metabolism in fruits [J]. J Fruit Sci, 22(5): 526-531. [陈发兴, 刘星辉, 陈立松, 2005. 果实有机酸 代谢研究进展 [J]. 果树学报, 22(5): 526-531.]
- CHEN YG, GUO JC, HE F, et al., 2008. Development status and countermeasures of Hainan litchi [J]. Chin Trop Agric, 1(3): 21-23. [陈业光,过建春,何凡,等, 2008. 海南荔 枝发展现状及对策 [J]. 中国热带农业, 1(3): 21-23.]
- CRECELIUS F, STREB P, FEIERABEND J, 2003. Malate metabolism and reactions of oxidoreduction in cold-hardened winter rye (*Secale cereale* L.) leaves [J]. J Exp Bot, 54(384): 1075-1083.
- DING YC, JIAO XY, NIE D, et al., 2012. Effects of combined application of different nitrogen sources and magnesium on cabbage yield, quality and nutrient uptake [J]. Chin J Eco-Agric, 20(8): 996-1002. [丁玉川, 焦晓燕, 聂督, 等, 2012. 不同氮源与镁配施对甘蓝产量、品质和养分吸收的影响 [J]. 中国生态农业学报, 20(8): 996-1002.]
- GAO D, LI SJ, WANG Z, et al., 2017. The primary mechanisms on the effects of Ca and Mg applied in foliar nutrients on the pericarp colouring of *Litchi chinensis* Sonn. ev Sanyuehong [J]. Chin Soils Fert, 1(3): 80-88. [高丹,李世军, 王展, 等, 2017. 叶面喷施 Ca 和 Mg 肥影响三月红荔枝果皮着色的初步机理 [J]. 中国土壤 与肥料, 1(3): 80-88.]
- GUO RZ, GUO WL, LI XY, et al., 2013. Changes of organic acid contents and relative enzyme activities during the development of Huangguan pear fruit [J]. Jiangsu J Agric Sci, 29(1): 157-161. [郭润姿, 郭文岚, 李兴元, 等, 2013. 黄冠梨果实发育过程中有机酸含量及相关代谢酶 活性的变化 [J]. 江苏农业学报, 29(1): 157-161.]
- GUO Y, YANG J, GUO JM, et al., 2019. Mechanism of

nitrogen, phosphrus and potassium combined application promote absorption, transportation and accumulation of Pb in sunflower (*Helianthns annuus* L.) [J]. Plant Nutr Fert Sci, 25(11): 1998 2008. [郭悦,杨军,郭俊姆,等, 2019. 氮磷鉀配施促进向日葵铅吸收转运的机制 [J]. 植物营养 与肥料学报, 25(11): 1998-2008.]

- HIRAI M, UENO I, 1977. Development of citrus fruits: Fruit development and enzymatic changes in juice vesicle tissue1 [J]. Plant Cell Physiol, 18(4): 791-799.
- INBAL N, SHOSEYOV O, WEISS D,2010. Sugars enhance the expression of gibberellins-induced genes in developing petunia flowers [J]. Physiol Plant, 109(2): 196–202.
- LI H, TAO HQ, CHEN YX, et al., 2019. Evaluation of organic acid accumulation and metabolism related enzymes activities in two Chinese cherry fruits [J]. NW Chin J Agric Sci, 28 (12): 2019 2026. [李航, 陶海青, 陈益香, 等, 2019. 2 种 中国樱桃果实有机酸积累及代谢相关酶活性的研究 [J]. 西北农业学报, 28(12): 2019–2026.]
- LI LB, WANG LP, 2007. Effects of external environment on crop nutrient uptake and fertilization characteristics of fruit trees [J]. J Inner Mongol Agric Sci Technol, (S1):290-292. [李联葆, 王利平, 2007. 外界环境对作物吸收养分的影响及果树施肥特点 [J]. 内蒙古农业科技, (S1):290-292.]
- LIU JY, TIAN QL, HUANG WH, et al., 2022. Effects of selenium application on plant growth physiology and fruit quality of three banana varieties [J]. Guihaia, 42 (11): 1913-1920. [刘洁云,田青兰,黄伟华,等, 2022. 施硒对 3 个香蕉品种植株生长、生理及果实品质的影响 [J]. 广 西植物, 42(11): 1913-1920.]
- LIU JF, TANG P, PENG SA, 2004. Effects of calcium dipping after harvest on content of calcium in different forms and physio-chemical characteristics of pear [J]. J Huazhong Agric Univ, 23 (5): 560 562. [刘剑锋, 唐鹏, 彭抒昂, 2004. 采后浸钙对梨果实不同形态钙含量及生理生化变化的影响 [J]. 华中农业大学学报, 23(5): 560-562.]
- LIU KP, 2013. Fruit quality of kiwifruit and its correlation with soil and leaf nutrition [D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University. [刘科鹏, 2013. 猕猴桃果实品质与土壤、叶片营养的关系 [D]. 南昌: 江西农业大学.]
- LI YP, YIN H, YE JS, et al., 2011. Cation exchange during the process of Cd²⁺ absorption by alfalfa in aqueous solutions [J]. Chin J Environ Sci, 32(11): 3341-3347. [李跃鹏, 尹华, 叶锦韶, 等, 2011. 紫花苜蓿吸收水溶液中 Cd²⁺过 程的阳离子交换 [J]. 环境科学, 32(11): 3341-3347.]
- LUO AC, YANG XH, DENG YY, et al., 2003. Organic acid concentrations and the relative enzymatic changes during the development of citrus fruits [J]. Sci Agric Sin, 36(8): 941-944. [罗安才,杨晓红,邓英毅,等, 2003. 柑橘果实 发育过程中有机酸含量及相关代谢酶活性的变化 [J]. 中国农业科学, 36(8): 941-944.]
- MA QQ, PU XQ, WANG D, et al., 2017. Changes of organic acid concentration and acid-matabolising enzymatic activities during the development of jujube fruits [J]. NW Chin J Agric Sci, 26(12): 1821–1827. [马倩倩, 蒲小秋, 王德, 等, 2017. 枣果实发育过程中有机酸质量分数及相关代谢 酶活性的变化 [J]. 西北农业学报, 26(12): 1821–1827.]
- MALDONADO R, SANCHEZ-BALLESTA M T, ALIQUE R, et al., 2004. Malate metabolism and adaptation to chilling

temperature storage by pretreatment with high CO_2 levels in Annona cherimola fruit [J]. J Agric Food Chem, 52(15): 4758–4763.

- MENGEL K, KIRKBY E A, KOSEGARTEN H, et al., 2001. Principles of plant nutrition [M]. Dordrecht: Springer.
- PEI JX, 2019. Effects of exogenous calcium on calcium metabolism and fruit quality of 'Hanfu' apple [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [裴健翔, 2019. 外源钙对'寒富'苹果果实钙代谢及果实品质影响 的研究 [D]. 北京:中国农业科学院.]
- QIAO F, HUANG LL, FANG CF, et al., 2012. Comparison of taste-related compounds and analysis using electronic tongue of Feizixiao and Huaizhi Lychee fruits from different planting area [J]. Chin J Food Biotechnol, 31(9): 984-990. [乔 方, 黄略略, 方长发, 等, 2012. 不同产区的妃子笑及怀 枝荔枝的甜酸滋味物质比较及电子舌分析 [J]. 食品与 生物技术学报, 31(9): 984-990.]
- QIN QP, LIN FF, ZHANG LL, 2012. Review of the studies on the accumulation mechanisms of sugar and organic acids in *Eriobotrya japonica* fruit [J]. J Zhejiang Agric For Univ, 29(3): 453-457. [秦巧平,林飞凡,张岚岚, 2012. 枇杷 果实糖酸积累的分子生理机制 [J]. 浙江农林大学学报, 29(3): 453-457.]
- SU Y, ZHOU XC, GAO D, et al., 2015. Effects of the changes in the contents of K, Ca and Mg in pericarp on the pericarp's coloring of *Litchi chinensis* cv. Ziniangxi [J]. Guihaia, 35(3): 354-359. [苏阳,周晓超,高丹,等, 2015. 紫娘喜荔枝果皮 K、Ca 和 Mg 含量变化对着色的影 响 [J]. 广西植物, 35(3): 354-359.]
- SU Y, ZHOU XC, GAO D, et al., 2015. Studies on the relationship between the main flavor components and the contents of k, ca and mg in flesh of Feizixiao Litich (*Litchi chinensis* Sonn. cv Feizixiao) [J]. Chin J Trop Crops, 36 (6): 1131-1135. [苏阳,周晓超,高丹,等, 2015. '妃子 笑'荔枝果肉中主要风味物质与钾钙镁含量的关系 [J]. 热带作物学报, 36(6): 1131-1135.]
- SURENDRANATHAN KK, NAIR PM, 1976. Stimulation of the glyoxylate shunt in gamma-irradiated banana [J]. Phytochemistry, 15(3): 371–373.
- WANG C, WANG A, ZHAO CJ, et al., 2011. Characterization and physiological role of malate synthase A in *Escherichia coli* [J]. Chin J Biol, 28(2): 39-42. [王程, 王敖, 赵旵军, 等, 2011. 大肠杆菌苹果酸合酶 A 的酶学和生理功能研 究 [J]. 生物学杂志, 28(2): 39-42.]
- WANG HC, HUANG H, HUANG X, et al., 2006. Sugar and acid compositions in the arils of *Litchi chinensis* Sonn.: Cultivar differences and evidence for the absence of succinic acid [J]. J Hortic Sci Biotechnol, 81: 57-62.
- WANG RD, WANG YP, LI N, et al., 2016. Determination of organic acids in six kinds of vinegar by high performance liquid chromatography [J]. Chin Cond, 41 (9): 118-122. [王芮东, 王艳萍, 李楠, 等, 2016. 六种食醋中有机 酸成分的 HPLC 测定分析 [J]. 中国调味品, 41 (9): 118-122.]
- WANG XH, CHEN H, DONG XQ, 2018. Changes in organic acids content during 'Fengtang' plum (*Prunus salicina*) fruit development in relation to malic acid metabolism related enzymes [J]. J Fruit Sci, 35(3); 293-300. [王小红,陈

红, 董晓庆, 2018. '蜂糖李'果实发育过程中有机酸含量 变化及其与苹果酸代谢相关酶的关系 [J]. 果树学报, 35(3): 293-300.]

- WEI SW, WANG SM, 2018. Effects of calcium treatment on aroma of Nanguo Pear [C]//Qingdao: Abstracts of the 2018 Annual Conference of Chinese Society of Horticulture. [魏树 伟, 王少敏, 2018. 钙处理对"南果梨"果实香气的影响 [C]//青岛:中国园艺学会 2018 年学术年会论文摘 要集.]
- WEN QY, 2012. Study on organic acid and sugar metabolism of litchi fruit during ripening and storage [D]. Guangzhou: South China Agricultural University. [温青玉, 2012. 荔枝 果实成熟及贮藏期间有机酸和糖代谢研究 [D]. 广州: 华南农业大学.]
- WU JL, WU QP, ZHANG JM, et al., 2014. Progress in L-malic acid biosynthesis [J]. Food Sci, 35 (3): 238-242. [吴军林, 吴清平, 张菊梅, 等, 2014. L-苹果酸生物 合成研究进展 [J]. 食品科学, 35(3): 238-242.]
- YANG CN, SUN ZR, QU JX, et al., 2016. Effects of organic acids on respiration metabolism and glycyrrhizic acid accumulation of glycyrrhizin [J]. Infor Trad Chin Med, 33 (5): 1-3. [杨春宁, 孙志蓉, 曲继旭, 等, 2016. 有机酸 对甘草呼吸代谢及甘草酸积累的影响 [J]. 中医药信息, 33(5): 1-3.]
- YIN L, ZHANG F, TANG YT, et al., 2013. Methods comparison of the determination of K⁺, Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ in atmospheric precipitation [J]. Environ Mon Mgmt Technol, 25(5): 60-62. [殷丽,张飞, 唐溢湉, 等, 2013. 大气降 水中钾钠钙镁测定方法的比对 [J]. 环境监测管理与技 术, 25(5): 60-62.]
- ZHANG H, 2009. Study on the formation mechanism of orgainc acid, sugar acid inheritance and accumulation simulation in flavor melon [D]. Yangling: Northwest Agriculture & Forestry University. [张红, 2009. 风味甜瓜果实酸味形成 机理及糖酸遗传和积累模拟研究 [D]. 杨凌: 西北农林 科技大学.]
- ZHANG QY, GU KD, WANG JH, et al., 2020. BTB-BACK-TAZ domain protein MdBT2-mediated MdMYB73 ubiquitination negatively regulates malate accumulation and vacuolar acidification in apple [J]. Hortic Res, 7(1): 1–12.
- ZHANG XM, DU LQ, SUN GM, et al., 2007. Changes in organic acid concentrations and the relative enzyme activities during the development of Cayenne pineapple fruit [J]. J Fruit Sci, 24(3): 381-384. [张秀梅, 杜丽清, 孙光明, 等, 2007. 菠萝果实发育过程中有机酸含量及相关代谢酶 活性的变化 [J]. 果树学报, 24(3): 381-384.]
- ZHOU XY, ZHU CH, LI JX, et al., 2015. Research progress in organic acid metabolism of fruit [J]. S Chin Fruits, 44(1): 120-125. [周先艳, 朱春华, 李进学, 等, 2015. 果实有机 酸代谢研究进展 [J]. 中国南方果树, 44(1): 120-125.]
- ZHU HQ, 2013. Genetic analysis and QTL mapping of citric acid content, titratable acidity and pH in melon (*Cucumis* melo L.) fruits [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [朱慧芹, 2013. 甜瓜果实柠檬酸含 量、可滴定酸和 pH 的遗传分析与 QTL 定位 [D]. 北京: 中国农业科学院.]

莉)

(责任编辑 李

广步植物 Guihaia Dec. 2022, 42(12): 2147-2156

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202107060

李志雄, 黄伟, 张石宝. 墨兰对氮营养和波动光强复合胁迫的光合调控响应 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2147-2156. LI ZX, HUANG W, ZHANG SB. Photosynthetic regulation of *Cymbidium sinense* in response to combined stress of nitrogen and fluctuating light intensity [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2147-2156.



墨兰对氮营养和波动光强复合胁迫的光合调控响应

李志雄1,2,黄 伟1,张石宝1*

(1. 中国科学院昆明植物研究所资源植物与生物技术重点实验室,昆明 650201; 2. 中国科学院大学,北京 100049)

摘 要: 墨兰(Cymbidium sinense)是我国的传统名花,具有悠久的栽培历史,该物种为林下荫生植物,生境破坏和森林冠层结构的改变都会导致其遭受氮素和光照波动的双重影响。为了探究墨兰的光合作用响应这种复合胁迫的机制,该文研究了不同氮浓度处理下墨兰叶片的氮含量、叶绿素含量、光系统 I(PS I)和光系统 I(PS II)对波动光强的影响。结果表明:(1)0 mmol・L⁻¹氮处理下,墨兰叶片的氮含量、叶绿素含量、 PS II 最大量子效率(F_a/F_m)和 PS I 最大可氧化的 P700 信号(P_m)降低,而非光化学猝灭和 PS II 非调节性能量耗散被大量激发。(2)1.25、5、10 mmol・L⁻¹氮处理下,光强突然增加使墨兰叶片的 PS I反应中心表现为先过度还原,随后过度还原态被逐渐解除;环式电子传递的激发表现为先增加后逐渐下降,说明环式电子传递的动态调节和 PS I 的氧化还原态密切相关。(3) 波动光下,0 mmol・L⁻¹氮处理的墨兰叶片没有表现出 PS I 的过度还原,主要是因为其 PS II 释放的电子很少,避免了过量电子被传递到 PS I。综上认为,氮素的 波动会显著影响墨兰对波动光强的光合生理响应,这为墨兰的人工栽培和保护提供了科学依据,并有助于 探究林下植物光合作用响应氮素和波动光复合胁迫的机制。

关键词:墨兰,氮,波动光,光系统Ⅰ,光系统Ⅱ,环式电子传递 中图分类号:Q945 文献标识码:A 文章编号:1000-3142(2022)12-2147-10

Photosynthetic regulation of *Cymbidium sinense* in response to combined stress of nitrogen and fluctuating light intensity

LI Zhixiong^{1,2}, HUANG Wei¹, ZHANG Shibao^{1*}

 (1. Key Laboratory of Economic Plants and Biotechnology, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: *Cymbidium sinense* is a well-known traditional orchid in China, and has been widely cultivated for a long time. This species is typically a shade species under the forest, but habitat destruction and tree canopy structure change make it subject to the dual fluctuation of light and nutrients. To explore the photosynthetic response of *C. sinense* to the

收稿日期: 2021-10-01

基金项目:国家自然科学基金(31971411);云南省创新团队项目(202105AE160012)[Supported by National Natural Science Foundation of China(31971411); Project for Innovation Team of Yunnan Province(202105AE160012)]。

第一作者:李志雄(1995-),硕士研究生,主要从事植物生理生态学研究,(E-mail)lizhixiong@mail.kib.ac.cn。

通信作者:张石宝,博士,研究员,研究方向为兰科植物生物学,(E-mail)sbzhang@mail.kib.ac.en。

42 卷

combined stress of nitrogen and fluctuating light intensity, the leaf nitrogen content, chlorophyll content, and the responses of photosystem I (PS I) and photosystem II (PS II) to fluctuating light intensity were investigated under different nitrogen treatments. The results were as follows: (1) The *C. sinense* under 0 mmol \cdot L⁻¹ nitrogen treatment had lower values for leaf nitrogen content, chlorophyll content, PS II maximum quantum efficiency (F_{ν}/F_{m}) and the value of maximum oxidizable P700 of PS I (P_{m}), but motivated a large amount of non-photochemical quenching and PS II non-regulatory energy dissipation. (2) When the light intensity suddenly increased, the PS I reaction center showed over-reduction firstly, and then the over-reduction state was gradually released under 1.25 mmol \cdot L⁻¹, 5 mmol \cdot L⁻¹ and 10 mmol \cdot L⁻¹ nitrogen treatments. Meanwhile, the excitation degree of cyclic electron flow increased first and then gradually decreased, indicating that the dynamic adjustment of cyclic electron flow was closely linked to the redox state of PS I. (3) Under fluctuating light intensity, the excessive reduction of PS I was not observed in *C. sinense* under 0 mmol \cdot L⁻¹ nitrogen treatment. This was mainly because the few electrons were released by PS II, thus avoiding the transfer of excess electrons to PS I. These results suggest that nitrogen fluctuation can affect significantly the response of *C. sinense* to fluctuating light intensity. These findings provide a scientific basis for the cultivation and conservation of *C. sinense*, and are helpful to explore how photosynthesis of shade plant responds to the combined stress of nitrogen and fluctuating light intensity.

Key words: Cymbidium sinense, nitrogen, fluctuating light, PS I, PS II, cyclic electron flow

自然生境下,由于环境因子不断变化,尤其是 生境受到干扰时变化更为激烈,因此植物适应环 境变化的能力对其生存至关重要。光合作用作为 植物感知环境变化、吸收转换光能和物质代谢的 基础,对外界因子变化的响应极其敏锐。研究发 现植物的光合作用受光照(Campany et al., 2016; Fan et al., 2019)、氮素等多种因素的影响(Grassi & Magnani, 2005; 陶文辉和王丹, 2021), 如光强波 动会影响光系统 Ⅱ(PS Ⅱ)的光能吸收和光合电 子传递(Yang et al., 2019a),当光强突然增加, PS Ⅱ的光能吸收和电子传递会迅速增强(Sun et al., 2020), 而此时的卡尔文循环活性上升相对缓 慢(Yamori et al., 2016; Marler, 2018),这会引起 NADP⁺/NADPH 上升,导致 NADP⁺供应不足。电子 会在光系统 I(PS I)处堆积,类囊体膜内产生大量 活性氧(ROS)等物质,造成 PS I 损伤(Munekage et al., 2002; Shinya et al., 2018)

PS I 损伤会限制植物的光合线性电子传递 (*LEF*)和环式电子传递(*CEF*),进而影响 CO₂的同 化,降低植物光合效率(Takehiro et al., 2014; Allakhverdiev et al., 2015; Brestic et al., 2015),严 重时会导致植物生长受损或死亡(Munekage et al., 2008; Allahverdiyeva et al., 2013; Jokel et al., 2018)。植物为了保护 PS I 不受波动光的损伤,进 化出了多种光保护机制来调节光合电子传递链的 氧化还原态,如在藻类、苔藓、蕨类及裸子植物中, flavodiiron 蛋白(FDPs)会介导波动光下 O_2 的快速 还原,消耗 PS I 处多余的电子,最终保护 PS I(llík et al., 2017; Storti et al., 2019)。但是,研究表明 flavodiiron 蛋白在被子植物进化过程中已经丢失 (Yamamoto et al., 2016; llík et al., 2017),*CEF* 被 认为是被子植物中普遍存在的光保护机制(Kono et al., 2014; Kono & Terashima, 2016; Yamamoto & Shikanai, 2019)。

当光照增强时,CEF的活性会迅速增加,之后 逐渐下降,这种 CEF 的激发会促进跨类囊体膜质 子梯度(ΔpH)的快速形成,并下调质体醌的氧化 速率。同时,加强 Cytb₆f 复合体(Cytb₆f) 处的光合 控制,最终缓解 PS I 反应中心的过度还原。 ΔpH 的建立有利于提高 ATP/NADPH 的生成比例,促进 卡尔文循环和光呼吸,这会加快电子从 PS I 到 NADP⁺的传递。除 CEF 外,水-水循环(WWC)还 是被子植物 PS I 免遭波动光损伤的重要保护策略 (Huang et al., 2019; Huang et al., 2021) WWC 活性具有较强的种间特异性(Driever & Baker, 2011)。Yang 等 (2019b) 研究发现, 落地生根 (Bryophyllum pinnatum)中的 WWC 途径能快速耗 散波动光下的 PS I 过剩电子,避免 PS I 的过度还 原,保护了光系统 I 的活性。类似的研究结果在山 茶(Camellia japonica) (Sun et al., 2020)、铁皮石 斛(Dendrobium officinale)(Yang et al., 2020)等物 种中被报道,说明植物会采取多种保护策略,避免

自身遭受波动光的光抑制或损伤。

氮是构建光合器官的物质基础。在稻(Oryza sativa) (Makino et al., 1997; Zhong et al., 2019;) 玉米(Zea mays)(Mu et al., 2016)和大豆(Glycine max)(Robinson & Burkey, 1997)等植物中,氮素 可通过调节 LHCs、PS Ⅱ、PS Ⅰ、Cytb₆ f、ATP 和 Rubisco 等光合酶的合成,最终影响植物光合作用 (王新磊和吕新芳, 2020; Mu & Chen, 2021)。植 物缺氮会降低光能的吸收和转换效率、光合电子 传递速率及 CO, 羧化效率等(Mu et al., 2016; Zhong et al., 2019), 如低氮处理的小麦(Triticum aestivum),最大光化学效率(F_{μ}/F_{m})、PS II 量子产 率 [Y(Ⅱ)]、光合电子传递速率(ETR)和光化学 猝灭系数(qP)均下降(Shangguan et al., 2000; Wu et al., 2013; Wang et al., 2016)。水稻缺氮会降 低 Y(Ⅱ)和 ETR, 增加 NPQ (Huang et al., 2004)。 此外,低氮胁迫降低了玉米的Y(II)、 F_{r}/F_{r} 、qP和 ETR,同时增加热耗散和叶绿素荧光激发(Mu et al., 2017)。近年来,探究复合胁迫对植物光合作 用、生长发育和代谢的影响受到广泛关注,如前人 对氮素与干旱(马晓东等,2018)、CO₂(Cohen et al., 2019)和光照(Scibilia et al., 2015)等复合胁 迫进行了研究。但是.氮素与波动光的复合胁迫 如何影响植物的光合生理调控尚未被研究,而这 是植物经常遭受的环境胁迫。

兰属(Cymbidium)是一类重要的观赏兰花,在 亚洲热带、亚热带及澳大利亚北部等地区均有分 布 (Chase et al., 2015; Christenhusz & Byng, 2016)。全属有 50 余种,其中 2/3 以上的物种在 我国有分布(Pan et al., 1997; 刘仲健等, 2006)。 该属囊括了地生、附生和腐生3种生活型(Yu et al., 2008; Kim et al., 2020),表现出多样的生态 适应性,其中地生种类主要从土壤获取氮素养分, 而附生种类从大气沉积物、固体基质(如树皮或枯 枝落叶)和微生物的固氮中获得营养(Reich et al., 2003; Zhang et al., 2018)。因此,该属植物的氮 营养差异较大(Grassi & Magnani, 2005),墨兰作 为该属植物中的地生种类,生长在我国安徽、福 建、广西、贵州、海南、云南、四川等海拔300~2000 m 的林下或阴湿灌木林下。生境的破坏经常会引 起光照强度和土层养分的改变,导致墨兰遭受波 动光和氮营养的复合胁迫。但是,波动光和氮营 养的复合胁迫如何影响兰科植物的光合调控尚缺 乏研究。本文在不同氮素处理条件下,研究了墨 兰的光系统 I 和光系统 II 对波动光强的响应,以期 了解墨兰对氮素和波动光复合胁迫的光合调控响 应。本研究的结果可为墨兰的人工栽培和保护提 供科学依据,并对林下植物光合作用响应氮素和 波动光复合胁迫的机制进行初步探索。

1 材料与方法

1.1 材料和处理

以墨兰(*C. sinense*)的人工繁育苗为研究材料。选取两年生、大小一致的幼苗栽培在中国科学院昆明植物研究所温室(102°41′E、25°01′N), 试验地海拔1990 m,温室最高温度27℃,最低温度12℃,相对湿度为45%~75%,光照条件保持为 15%~20%的全光照。

试验于 2020 年 7 月至 2021 年 4 月进行,参照 Mantovani 等(2015)的方法,以 NH₄NO₃为氮源,配 置 60 L 改良后的霍格兰溶液(pH = 6)。设置 0、 1.25、5、10 mmol·L⁻¹共4 个处理氮浓度,每个氮浓 度处理墨兰 15 盆,共计 60 盆。每周施氮 1 次,培 养 260 d 后进行相关的指标测定。改良后的霍格 兰营养液包含以下元素:Ca(NO₃)₂·4H₂O 945 mg·L⁻¹、KNO₃ 506 mg·L⁻¹、KH₂PO₄ 136 mg·L⁻¹、 MgSO₄ 29.58 mg·L⁻¹和铁盐溶液 2.5 mL(pH = 5.5)。其铁盐溶液包含 FeSO₄·7H₂O 5.56 g· L⁻¹、EDTA-Na 7.46 g·L⁻¹和 5 mL 微量元素。微量 元素 含 KI 0.83 mg·L⁻¹、H₃BO₃ 6.2 mg·L⁻¹、 MnSO₄22.3 mg·L⁻¹、ZnSO₄ 8.6 mg·L⁻¹、Na₂MoO₄ 0.25 mg·L⁻¹、CuSO₄ 0.025 mg·L⁻¹和 CoCl₂ 0.025 mg·L⁻¹。

1.2 指标测定

1.2.1 叶绿素含量测定 叶绿素含量使用 SPAD-502 Plus 手持式叶绿素仪(Konica Minolta, Inc. Japan,精度为±1.0 SPAD)测定。选取墨兰基部第 3 片叶,避开叶脉,活体测定最大叶宽位点的 SPAD 值,每个氮浓度处理测定 30 片成熟叶,最终计算 平均值为该氮素水平下墨兰的 SPAD 值。

1.2.2 PS I和 PS II 光合参数测定 叶绿素测定
后,将墨兰整株暗适应 30 min,利用 DUAL-PAM100 测量系统(Heinz Walz, German)测定基部第 3
片叶的 *F_u*/*F_m*比值,用于分析叶片的 PS II 活性。

随后再暗适应 5 min,测定低光(59 µmol photons · $m^{-2} \cdot s^{-1}$)和高光(1455 µmol photons $\cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$)处 理过程中 PS I 和 PS Ⅱ 光合参数变化。PS I 参数: PSI光化学量子产额 $Y(I) = (P_m' - P)/P_m$; PSI 供体端限制耗散的量子产额 $Y(ND) = P/P_m$; PS I 受体端限制非光化学能量耗散的量子产额 $Y(NA) = (P_m - P_m') / P_m \circ PS II 参数: PS II 的最$ 大量子产额 $F_r/F_m = (F_m - F_n)/F_m$; PS II 光化学的 有效量子产额 Y(Ⅱ) = (F_m'-F_s)/F_m';PS Ⅱ中非 调节能量耗散的量子产量 $Y(NO) = F_s/F_m$;非光 化学猝灭/热耗散系数 NPQ = $(F_m - F_m')/F_m'$ 。式 中,F。为暗适应后的最小荧光强度,F_m和F_m'分别 为暗适应和光适应后的最大荧光强度,F.为光适 应荧光。PSI和 PSⅡ的电子传递速率计算分别 为 $ETRI = PPFD \times Y(I) \times 0.84 \times 0.5; ETR II =$ *PPFD* × *Y*(Ⅱ) × 0.84× 0.5。式中, *PPFD* 为光合 光子通量密度, Y(I)是 PS I 光化学量子产额, Y(II)是 PS II 光化学的有效量子产额,光吸收比 例根据入射强度的 0.84 计算, 叶绿体吸收的光能 分配到 PS I 和 PS Ⅱ 的份额分别为 0.5。每个氮处 理分别选择6株及以上的植物进行测定。

1.2.3 叶氮含量测定 待上述 PS I、PS Ⅱ光合参数 测定完成后,取叶片经 80 ℃烘箱烘干 48 h 后磨 样,在中国科学院昆明植物研究所生物技术实验 中心利用 Elementar Vario MICRO cube (Elementar, German)进行叶片氮含量(*LNC*)测定,样品在燃烧 管内经高温燃烧和裂解,之后转化为气体产物被 分析鉴定。

1.3 数据统计分析

利用 Excel 和 GraphPad prism 6 软件对测定数 据进行统计、分析和数据可视化;用 ANOVA 软件 分析不同处理间的显著性差异(显著水平 α = 0.05),并用 Tukey (*HSD*)软件进行组间多重比较。

2 结果与分析

2.1 氮浓度对墨兰叶片氮含量的影响

如图 1: A 所示,墨兰的叶片氮含量(*LNC*)与 氮处理浓度呈正相关。0 mmol·L⁻¹低氮处理下, 墨兰 *LNC* 最低,约为 35.40 mg;处理氮浓度增至 1.25、5、10 mmol·L⁻¹时,叶片氮含量随之增加,分 别提升了 64.30% (58.16 mg)、102.40% (71.65 mg)和 156.27% (90.72 mg)(图 1: A)。

2.2 氮浓度对墨兰叶绿素含量的影响

墨兰叶片的叶绿素含量(SPAD 值)随着氮浓度 的增加而升高(图 1: B)。0 mmol·L¹氮处理下,墨 兰的 SPAD 值仅为 62.7 mg;而 1.25 mmol·L⁻¹氮处 理时,SPAD 值升高为 71.91 mg;氮浓度增至 5、10 mmol·L⁻¹时,墨兰的叶绿素含量没有显著升高,分 别为 74.65、74.81 mg(图 1: B)。另外,墨兰叶片的 SPAD/LNC 比值在 0 mmol·L⁻¹氮处理下最高,约为 1.77;随着氮浓度的增加,SPAD/LNC 比值逐渐减小 (图 1: C),说明在低氮胁迫下,墨兰的叶绿素合成 优先利用叶片中的氮素,随着氮供应的增加,叶片 氮含量会继续积累(图 1: A),而叶绿素合成并不会 持续增加(图 1: B),从而导致叶绿素含量与叶片氮 含量的比值明显降低(图 1: C)。

2.3 氮和波动光强复合胁迫对墨兰 PS Ⅱ 的影响

0 mmol・L⁻¹氮处理下,墨兰叶片的 F_v/F_m 比值 最低,仅为0.49,随着处理氮浓度增加, F_v/F_m 比值 分别提升了 33.38%、35.81%、36.06%,说明墨兰 的 PS II 对缺氮较为敏感,并且 0 mmol・L⁻¹氮处理 显著降低了 PS II 的活性(图 2: A)。0 mmol・L⁻¹ 氮处理时,低光下的墨兰 Y(II)大幅下降,显著低 于 1.25、5、10 mmol・L⁻¹氮处理组(图 3: A),说明 缺氮导致墨兰植株的 PS II 光能利用率降低(图 2: A)。1.25、5、10 mmol・L⁻¹氮处理下,墨兰的 Y(II)差异不显著,而光照增强时,墨兰的 Y(II)均降低,同时 0 mmol・L⁻¹氮处理的 Y(II)显著低 于其他氮浓度处理(图 3: A)。

PS Ⅱ光能利用效率下降时,植物会激发 NPQ 耗散过剩光能,保护 PS Ⅱ不受损伤。59 μmol photons · m² · s⁻¹低光条件下,0 mmol · L¹氮处理 下的墨兰光能利用率较低(图3:A),激发了最高 的 NPO,约为 2.12(图 3: B);其次是 10 mmol·L⁻¹ 氮处理, NPQ 约为 1.74; 而 1.25 mmol · L¹氮处理 的墨兰 NPQ 为 1.25(图 3: B)。光照增强时,5 mmol·L⁻¹氮处理的墨兰,激发了最小的 NPQ,约为 2.62; 而 10 mmol · L¹氮处理激发的 NPO 明显高 于其他处理(图 3: B)。尽管低光、低氮处理条件 下的墨兰,激发了最大的 NPQ,但激发的 NPQ 不 足以耗散掉过多的光能,导致 0 mmol · L⁻¹氮处理 下的墨兰 Y(NO) 较高(图 3: C),这种较高的 Y(NO)表明叶片还有较多的过剩光能仍不能正常 耗散,会导致 PS Ⅱ产生活性氧等物质,甚至造成 PS Ⅱ损伤。



数值=平均值±标准误。不同字母表示处理间存在差异显著(P < 0.05)。下同。 Value= $\bar{x} \pm s_z$. Different letters indicate that there are significant differences between treatments (P < 0.05). The same below.

图 1 不同氮浓度处理下墨兰叶片氮含量(*LNC*)(**A**)、叶绿素含量(叶片 *SPAD* 值)(**B**)、 叶绿素含量与叶片氮含量比值(*SPAD/LNC*)(**C**)

Fig. 1 Leaf nitrogen content $(LNC)(\mathbf{A})$, chlorophyll content (Leaf *SPAD* value) (**B**), ratio of chlorophyll content to leaf nitrogen content $(SPAD/LNC)(\mathbf{C})$ in *Cymbidium sinense* under different concentrations of nitrogen treatments



图 2 不同氮浓度处理下墨兰 PS II 最大量子效率(*F_v*/*F_m*)(**A**)和 PS I 最大可氧化的 P700 信号(*P_m*)(**B**) Fig. 2 Maximum quantum yield of PS II after dark adaptation (*F_v*/*F_m*)(**A**) and the value of maximum oxidizable P700 of PS I(**B**) in *Cymbidium sinense* under different concentrations of nitrogen treatments

2.4 氮和波动光强的复合胁迫对墨兰 PS I 的影响

墨兰 PS I 的实际量子效率 Y(I) 和上述 Y(II)的情况类似(图3:A,4:A)。低光下,0 mmol·L⁻¹ 氮处理的墨兰,Y(I)显著低于 1.25、5、10 mmol·L⁻¹ 氮处理组。光照突然增强时,墨兰的Y(I)迅速下降 且 0 mmol·L⁻¹氮处理下的墨兰,Y(I)显著低于其他 氮浓度处理(图4:A)。同时,墨兰的 PS I 活性也 随着处理氮浓度的降低而显著下降,其中 0 mmol· L⁻¹氮处理下的墨兰,其 P_m 最低(图2:B)。

0 mmol・L⁻¹氮处理下,墨兰的 PS Ⅱ 活性较低,导致传递到 PS I 的电子较少,这使墨兰叶片遭 受光强突然增加,其 *Y*(*NA*)没有明显变化(图 4: C)。相反,1.25、5、10 mmol・L⁻¹氮处理下,墨兰的 Y(ND)在光强突然增加的前 10 秒增长较缓慢(图4:B),导致 Y(NA)瞬间急剧增加(图4:C),说明
1.25、5、10 mmol・L⁻¹处理的墨兰在遭受波动光强时,从 PS Ⅱ传递到 PS I 处的电子快速增加,从而引起光系统 I 反应中心的过度还原。

2.5 氮和波动光强的复合胁迫对墨兰 ETR 的影响

墨兰的 ETR I和 ETR I高度依赖于光照强 度,并受低氮胁迫的影响(图 5: A, 5: B)。波动 光强下,0 mmol·L⁻¹氮处理的墨兰,其 ETR I明显 低于其他氮处理,并始终保持稳定;而 1.25、5、10 mmol·L⁻¹氮处理下的墨兰,ETR I在低光下无明显 差异,光照增至1 455 μmol photons·m⁻²·s⁻¹时,其 ETR I先迅速增加后减少(图 5: A)。另外,1.25、



A. PS Ⅱ 的实际量子效率; B. 非光化学系数/热耗散; C. PS Ⅱ 非调节性能量耗散; LL 代表光强为 59 µmol photons · m⁻² · s⁻¹; HL 代表1 455 µmol photons · m⁻² · s⁻¹。下同。

A. Effective quantum yield of PS II; **B.** Non-photochemical quenching; **C.** Quantum yield of non-regulated energy dissipation in PS II; **LL** represents light intensity of 59 µmol photons $\cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$; **HL** represents 1 455 µmol photons $\cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$. The same below.

- 图 3 不同氮浓度处理下墨兰的 Y(Ⅱ)、NPQ 和 Y(NO)对波动光强的响应
- Fig. 3 Responses of Y(II), NPQ, Y(NO) of Cymbidium sinense to fluctuating light intensity under different concentrations of nitrogen treatments

5、10 mmol・L⁻¹氮处理下,墨兰在光照增强后的第 60 s 出现 *ETR* II 的最大值,而 0 mmol・L⁻¹氮处理 下的墨兰,其 *ETR* II 较低(图 5: B)。本研究结果 显示,1.25、5、10 mmol・L⁻¹氮处理下,墨兰在遭受 波动光时,其 *CEF* 先迅速增加,之后逐渐降低(图 5: C),而 0 mmol・L⁻¹处理的 *CEF* 一直处于较低 水平(图 5: C)。



A. PSI的实际量子效率; B. PSI供体端限制; C. PSI受体端限制。

A. Effective quantum yield of PS I; B. PS I donor side limitation;C. PS I acceptor side limitation.

图 4 不同氮浓度处理下墨兰 Y(I)、Y(ND)和 Y(NA)对波动光强的响应

Fig. 4 Responses of Y(I), Y(ND), Y(NA) of *Cymbidium sinense* to fluctuating light intensity under different concentrations of nitrogen treatments

3 讨论与结论

氮素对植物的光合作用、生长发育和生理代 谢具有重要影响(Makino et al., 1997; Zhong et al., 2019; 张卫强等, 2021),其中叶片氮含量可 以反映植物的供氮水平(Robinson & Burkey, 1997; Martin et al., 2007)。氮素缺乏会导致玉米 叶片氮含量的降低,叶绿素合成显著下降(Mu et al., 2016; Mu et al. 2017)。本研究发现,低氮处 理使墨兰的氮供应减少,影响氮素向叶片的转运 和储存,导致墨兰叶片氮含量和叶绿素合成显著



A. PS I 的电子传递速率; B. PS Ⅱ的电子传递速率; C. 环式 电子传递速率。

A. rate of photosynthetic electron flow in PS I; B. rate of photosynthetic electron flow in PS II; C. cyclic electron flow around PS I.

图 5 不同氮浓度处理下墨兰 *ETRI*、*ETRI*和 *CEF*对波动光强的响应

Fig. 5 Responses of *ETR* 1, *ETR* II, *CEF* of *Cymbidium sinense* to fluctuating light intensity under different concentrations of nitrogen treatments

降低,而这种限制会随氮浓度的增加而解除,说明 氮供应量直接影响墨兰叶片中的氮累积和叶绿素 合成。

叶片氮含量和叶绿素合成会影响植物的光合 作用(Takashima et al., 2004; Mantovani et al., 2015)。植物的光合效率会随叶绿素含量的增加 而增强(Pons & Westbeek, 2004; Mu & Chen, 2021),并且叶绿素的合成与氮供应量呈正相关 (Takashima et al., 2004),氮是叶绿素的结构组分 (Mantovani et al., 2015)。本研究中,0 mmol·L⁻¹ 氮处理下的墨兰,其叶绿素含量显著降低。这与前人在玉米、水稻、小麦、大豆和杨树(*Populus cathayana*)等植物上的研究结果一致(Makino et al., 1997; Robinson & Burkey, 1997; Takashima et al., 2004; Zhao et al., 2005; Antal et al., 2010; Mu et al., 2016; Luo et al., 2019)。当氮浓度增加至1.25 mmol·L⁻¹时,墨兰的叶绿素含量显著升高,但更高浓度的氮处理没有使叶绿素含量继续增加,说明1.25 mmol·L⁻¹的氮浓度就能满足墨兰的光合氮需求,这与水稻,玉米等植物相比,墨兰对氮素供应的需求明显较低(Che et al., 2016; Ahmad et al., 2018)。

氮含量影响着光能的吸收、传递和转化等光 反应过程(Huang et al., 2004; Wang et al., 2016)。增加氮素供应量能够提高光合色素捕捉 光能的效率和 PS Ⅱ反应中心开放的比例(Huang et al., 2004)。PS Ⅱ反应中心吸收的光量子,可以 通过 PS Ⅱ 实际传递的能量 Y(Ⅱ)、PS Ⅱ 调节性 能量耗散 NPQ 和非调节性能量耗散 Y(NO)等途 径进行转化和耗散(Huang et al., 2019),其中 NPQ 反映的是在 PS Ⅱ天线色素吸收的光能中不 能被用于光合电子传递而以热耗散形式耗散掉的 部分。0 mmol·L¹氮处理下的墨兰,其 Y(II)和 Y(I)显著低于其他氮处理,说明墨兰 PS Ⅱ和 PS I 的量子转化效率受到缺氮的影响。当光照增强 时,墨兰的 NPQ 激发显著升高。这和 Huang 等 (2021)的研究结果类似,即当光照突然增强时,植 物为了避免 PS Ⅱ遭受损伤,会建立较高的跨类囊 体质子梯度(ΔpH)并快速激发 NPQ,将 PS Ⅱ中多 余的光能以热的形式无损耗散(Sonoike, 2011; Driever & Baker, 2011: Yang et al., 2019a)。虽然 NPQ 可以在一定程度上保护 PS II不被损伤(Driever & Baker, 2011),但本研究结果显示,0 mmol·L⁻¹ 氮处理的墨兰,即使激发了较高的 NPO,也不能完 全耗散 PS Ⅱ中过剩的光能,这可能会引起 PS Ⅱ 复合体产生大量的活性氧,影响 PS Ⅱ蛋白合成和 修复(Sonoike, 2011)。

本研究结果发现,0 mmol・L⁻¹氮处理下的墨 兰,*P*_m最低;随着氮素供应的增加,*P*_m逐渐增大,表 明墨兰的 PS I 受到氮素供应水平的影响。此外, 0 mmol・L⁻¹氮处理下的墨兰,其 PS Ⅱ活性降低, 导致 PS Ⅱ处的电子传递速率显著低于其他氮处 理,使得传递到 PS I 处的电子较少,没有引起 Y(NA)的快速上升,说明在低氮胁迫下,墨兰叶片的 PS Ⅱ活性下调有助于避免波动光强引起的PS Ⅰ 损伤。但当氮处理浓度高于 1.25 mmol・L⁻¹时, Y(NA)在照射强光后的前 10 秒瞬间快速上升,表 明墨兰在光强突然增加的 10 秒内出现了 PS Ⅰ反 应中心的过度还原。在 PS Ⅱ 电子传递迅速增加 的同时,暗反应还没有完全活化,导致 PS Ⅰ处的还 原能不能被暗反应立即消耗,最终造成 PS Ⅰ处活 化电子的堆积。

环式电子传递(CEF)的激发被认为与植物的 光保护有关(Sonoike, 2011; Yamamoto & Shikanai, 2019)。Kono 和 Terashima 等(2016)的 研究结果显示,当光照增强时,植物的 CEF 会被快 速激发,这种激发对于保护 PS I 至关重要。前人 对拟南芥(Arabidopsis thaliana)和水稻等的诸多研 究均证实了 CEF 的缺失会加剧波动光对植物 PS I 的光抑制(Kono & Noguchi, 2014; Yamamoto et al., 2016)。在0 mmol·L⁻¹氮处理下,墨兰的 CEF 活性较低:光照突然增强时,CEF并没有被迅速激 发,这可能是在低氮处理下,墨兰的 PS Ⅱ活性下 降导致 PS Ⅱ处产生的电子较少,不足以引起 PS I 的过度还原。此外, CEF 的激发还受 PS I 氧化还 原态的调节。Yang 等(2019b)认为,较低的 Y(NA)不会引起 CEF 的高度激发。本研究也发 现,0 mmol·L⁻¹氮处理墨兰在波动光下的 CEF 激 发较弱;而1.25、5、10 mmol·L⁻¹氮处理的墨兰,当 光照突然增强时会选择快速激发 CEF 来加强 ΔpH 梯度的建立、缓解 PS I 的过度还原。随着 Y(NA)下降到稳态, PS I 反应中心便不再处于过度还原 态。此时,CEF的激发程度也随之减弱,这可以避 免类囊体腔因 CEF 的激发被过度酸化,防止光能 利用效率受到抑制。

综上所述,一方面,氮供应能直接影响墨兰叶 片的氮累积和叶绿素合成,缺氮植株会降低叶片 氮含量和叶绿素含量,同时叶片中的氮会优先用 于合成叶绿素,这能在缺氮下改善的光合作用表 现;另一方面,缺氮会降低墨兰的 PS I 和 PS II 的 活性。当植株遭受剧烈的光强波动时,墨兰会大 量激发非光学猝灭,但缺氮降低了植物的光能利 用率,其依然会产生过剩光能,造成 PS II 损伤。 当光照突然增强,低氮处理的墨兰 PS II 活性较 低,避免 PS I 的过度还原和受到波动光强的损伤; 高氮处理下的墨兰会快速激发环式电子流,缓解 PSI的过度还原,避免PSI受到损伤。因此,墨兰 适应波动光强的光合调控策略可能受到氮供应水 平、叶片氮含量及叶绿素含量的影响。本研究结 果对认识兰属植物的光合适应机制具有重要意 义,并能为物种保护和人工栽培提供重要的科学 依据。

参考文献:

- ALLAKHVERDIEV SI, ZIVCAK M, KUNDERLIKOVA K, et al., 2015. Repetitive light pulse-induced photoinhibition of photosystem I severely affects CO₂ assimilation and photoprotection in wheat leaves [J]. Photosynth Res, 126: 449–463.
- ALLAHVERDIYEVA Y, MUSTILA H, ERMAKOVA M, et al., 2013. Flavodiiron proteins Flv1 and Flv3 enable cyanobacterial growth and photosynthesis under fluctuating light [J]. P Natl Acad Sci USA, 110(10): 4111-4116.
- ANTAL T, MATTILA H, HAKALA-YATKIN M, et al., 2010. Acclimation of photosynthesis to nitrogen deficiency in *Phaseolus vulgaris* [J]. Planta, 232: 887-898.
- AHMAD I, WAJID SA, AHMAD A, et al., 2018. Optimizing irrigation and nitrogen requirements for maize through empirical modeling in semi-arid environment [J]. Environ Sci Pollut Res, 26: 1227–1237.
- BRESTIC M, ZIVCAK M, KUNDERLIKOVA K, et al., 2015. Low PSI content limits the photoprotection of PSI and PSII in early growth stages of chlorophyll *b*-deficient wheat mutant lines [J]. Photosynth Res, 125(1/2): 151-166.
- CAMPANY CE, TJOELKER MG, VON CAEMMERER S, et al., 2016. Coupled response of stomatal and mesophyll conductance to light enhances photosynthesis of shade leaves under sunflecks [J]. Plant Cell Environ, 39 (12): 2762–2773.
- CHRISTENHUSZ MJM, BYNG JW, 2016. The number of known plants species in the world and its annual increase [J]. Phytotaxa, 261(3): 201-217.
- CHASE MW, CAMERON KM, FREUDENSTEIN JV, et al., 2015. An updated classification of Orchidaceae [J]. Bot J Linn Soc, 177(2): 151-174.
- CHE SG, ZHAO BQ, LI YT, et al., 2016. Nutrient uptake requirements with increasing grain yield for rice in China [J]. J Integr Agric, 15(4): 907-917.
- COHEN I, HALPERN M, YERMIYAHU U, et al., 2019. CO₂ and nitrogen interaction alters root anatomy, morphology, nitrogen partitioning and photosynthetic acclimation of tomato plants [J]. Planta, 250(5): 1423–1432.
- DRIEVER SM, BAKER NR, 2011. The water-water cycle in leaves is not a major alternative electron sink for dissipation of excess excitation energy when CO₂ assimilation is restricted

[J]. Plant Cell Environ, 34(5): 837-846.

- FAN YF, CHEN JX, WANG ZL, et al., 2019. Soybean (*Glycine max* L. Merr.) seedlings response to shading: leaf structure, photosynthesis and proteomic analysis [J]. BMC Plant Biol, 19(1): 34.
- GRASSI G, MAGNANI F, 2005. Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees [J]. Plant Cell Environ, 28(7): 834–849.
- HUANG W, HU H, ZHANG SB, 2021. Photosynthetic regulation under fluctuating light at chilling temperature in evergreen and deciduous tree species [J]. J Photochem Photobiol B, 219: 112203.
- HUANG W, YANG YJ, ZHANG SB, 2019. The role of waterwater cycle in regulating the redox state of photosystem I under fluctuating light [J]. BBA Bioenerg, 1860 (5): 383-390.
- HUANG ZA, JIANG DA, YANG Y, et al., 2004. Effects of nitrogen deficiency on gas exchange, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzymes in leaves of rice plants [J]. Photosynthetica, 42(3): 357–364.
- ILÍK P, PAVLOVIČ A, KOUŘIL R, et al., 2017. Alternative electron transport mediated by flavodiiron proteins is operational in organisms from cyanobacteria up to gymnosperms [J]. New Phytol, 214(3): 967–972.
- JOKEL M, JOHNSON X, PELTIER G, et al., 2018. Hunting the main player enabling *Chlamydomonas reinhardtii* growth under fluctuating light [J]. Plant J, 94(5): 822-835.
- KONO M, TERASHIMA I, 2016. Elucidation of photoprotective mechanisms of PSI against fluctuating light photoinhibition [J]. Plant Cell Physiol, 57(7): 1405–1414.
- KONO M, NOGUCHI K, TERASHIMA I, 2014. Roles of the cyclic electron flow around PSI (CEF-PSI) and O₂dependent alternative pathways in regulation of the photosynthetic electron flow in short-term fluctuating light in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell Physiol, 55 (5): 990–1004.
- KIM SH, KIM SW, AHN JW, et al., 2020. Frequency, spectrum, and stability of leaf mutants induced by diverse γray treatments in two *Cymbidium* hybrids [J]. Plants, 9(4): 546.
- LUO J, ZHOU JJ, MASCLAUX-DAUBRESSE C, et al., 2019. Morphological and physiological responses to contrasting nitrogen regimes in *Populus cathayana* is linked to resources allocation and carbon/nitrogen partition [J]. Environ Exp Bot, 162: 247–255.
- LIU ZJ, CHEN SC, RU ZZ, et al., 2006. The genus Cymbidium in China [M]. Beijing: Science Press: 10-13. [刘仲健, 陈心启, 茹正忠, 等, 2006. 中国兰属植物 [M]. 北京: 科学出版社: 10-13.]
- MU XH, CHEN YL, 2021. The physiological response of photosynthesis to nitrogen deficiency [J]. Plant Physiol

Biochem, 158: 76-82.

- MARLER TE, 2018. Bi-directional acclimation of *Cycas* micronesica leaves to abrupt changes in incident light in understory and open habitats [J]. Photosynthetica, 56(3): 776-785.
- MUNEKAGE Y, HOJO H, TASAKA M, et al., 2002. Pgr5 is involved in cyclic electron flow around photosystem I and is essential for photoprotection in *Arabidopsis* [J]. Cell, 110(3): 361-371.
- MUNEKAGE YN, GENTY B, PELTIER G, 2008. Effect of PGR5 impairment on photosynthesis and growth in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell Physiol, 49 (11): 1688-1698.
- MAKINO A, SHIMADAT, TAKUMI S, et al., 1997. Does decrease in ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase by antisense rbcS lead to a higher N-use efficiency of photosynthesis under conditions of saturating CO₂ and light in rice plants? [J]. Plant Physiol, 114(2): 483–491.
- MU XH, CHEN QW, CHEN FJ, et al., 2016. Within-leaf nitrogen allocation in adaptation to low nitrogen supply in maize during grain-filling stage [J]. Front Plant Sci, 24(7): 699.
- MU XH, CHEN QW, CHEN FJ, et al., 2017. A RNA-seq analysis of the response of photosynthetic system to low nitrogen supply in maize leaf [J]. Int J Mol Sci, 18(12): 2624.
- MANTOVANI C, PRADO RDM, PIVETTA KFL, 2015. Foliar diagnosis in *Phalaenopsis* orchid plants subjected to application of nitrogen [J]. Afr J Agric Res, 10 (53): 4906-4912.
- MARTIN RE, ASNER GP, SACK L, 2007. Genetic variation in leaf pigment, optical and photosynthetic function among diverse phenotypes of *Metrosideros polymorpha* grown in a common garden [J]. Oecologia, 151(3): 387-400.
- MA XD, ZHONG XL, SANG Y, 2018. Characteristics of nitrogen absorption, distribution, and utilization by *Populus euphratica* seedlings under drought stress [J]. Acta Ecol Sin, 38(20): 7508-7519. [马晓东, 钟小莉, 桑钰, 2018. 干旱 胁迫下胡杨实生幼苗氮素吸收分配与利用 [J]. 生态学 报, 38(20): 7508-7519.]
- PAN RC, YE QS, HEW CS, 1997. Physiology of Cymbidium sinense: a review [J]. Sci Hortic (Amsterdam, Neth), 70 (2/3): 123-129.
- PONS TL, WESTBEEK MHM, 2004. Analysis of differences in photosynthetic nitrogen-use efficiency between four contrasting species [J]. Physiol Plantarum, 122 (1): 68–78.
- ROBINSON JM, BURKEY KO, 1997. Foliar CO₂ photoassimilation and chloroplast linear electron transport rates in nitrogen-sufficient and nitrogen-limited soybean plants [J]. Photosynth Res, 54(3): 209–217.
- REICH A, EWEL JJ, NADKARNI NM, et al., 2003. Nitrogen

isotope ratios shift with plant size in tropical bromeliads [J]. Oecologia, 137: 587-590.

- SUN H, YANG YJ, HUANG W, 2020. The water-water cycle is more effective in regulating redox state of photosystem I under fluctuating light than cyclic electron transport [J]. BBA Bioenerg, 1861(9): 148–235.
- SHINYA W, YAMAMOTO H, SUZUKI Y, et al, 2018. Flavodiiron protein substitutes for cyclic electron flow without competing CO₂ assimilation [J]. Plant Physiol, 176(2): 1509–1518.
- STORTI M, ALBORESI A, GEROTTO C, et al., 2019. Role of cyclic and pseudo-cyclic electron transport in response to dynamic light changes in *Physcomitrella patens* [J]. Plant Cell Environ, 42(5): 1590-1602.
- SHANGGUAN ZP, SHAO MG, DYCKMANS J, 2000. Effects of nitrogen nutrition and water deficit on net photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in winter wheat [J]. J Plant Physiol, 156(1): 46-51.
- SONOIKE K, 2011. Photoinhibition of photosystem I [J]. Physiol Plant, 142(1): 56-64.
- SCIBILIA L, GIROLOMONI L, BERTEOTTI S, et al., 2015. Photosynthetic response to nitrogen starvation and high light in *Haematococcus pluvialis* [J]. Algal Res, 12: 170–181.
- TAO WH, WANG D, 2021. Effects of increased CO₂ concentration on the photosynthetic physiology and root growth of indica and japonica rice [J]. J Nanjing Agric Univ, 2021, 44(1): 27–35. [陶文辉, 王丹, 2021. CO₂浓度升高对籼、粳稻光合生理和根系生长的影响 [J]. 南京 农业大学学报, 44(1): 27–35.]
- TAKEHIRO S, DAISUKE T, HIROSHI F, et al., 2014. Repetitive short-pulse light mainly inactivates photosystem I in sunflower leaves [J]. Plant Cell Physiol, 55 (6): 1184-1193.
- TAKASHIMA T, HIKOSAKA K, HIROSE T, 2004. Photosynthesis or persistence: nitrogen allocation in leaves of evergreen and deciduous *Quercus* species [J]. Plant Cell Environ, 27(8): 1047–1054.
- WANG XB, WANG LF, SHANGGUAN ZP, et al., 2016. Leaf gas exchange and fluorescence of two winter wheat varieties in response to drought stress and nitrogen supply [J]. PLoS ONE, 11(11): e0165733.
- WU WM, CHEN HJ, LI JC, et al., 2013. Effects of nitrogen fertilization on chlorophyll fluorescence parameters of flag leaf and grain filling in winter wheat suffered waterlogging at booting stage [J]. Acta Agron Sin, 38(6): 1088–1096.
- WANG XL, LÜ XF, 2020. Research progress on mechanism of nitrogen metabolism involved in plant stress resistance [J]. Guihaia, 40(4): 583-591. [王新磊, 吕新芳,

2020. 氮代谢参与植物逆境抵抗的作用机理研究进展 [J]. 广西植物, 40(4): 583-591.]

- YAMORI W, MAKINO A, SHIKANAI T, 2016. A physiological role of cyclic electron transport around photosystem I in sustaining photosynthesis under fluctuating light in rice [J]. Sci Rep-UK, 6: 20147.
- YAMAMOTO H, TAKAHASHI S, BADGER MR, et al., 2016. Artificial remodelling of alternative electron flow by flavodiiron proteins in *Arabidopsis* [J]. Nat Plants, 2(3): 16012.
- YAMAMOTO H, SHIKANAI T, 2019. PGR5-dependent cyclic electron flow protects photosystem I under fluctuating light at donor and acceptor sides [J]. Plant Physiol, 179 (2): 588-600.
- YANG YJ, DING XX, HUANG W, 2019a. Stimulation of cyclic electron flow around photosystem I upon a sudden transition from low to high light in two angiosperms *Arabidopsis thaliana* and *Bletilla striata* [J]. Plant Sci, 287: 110-166.
- YANG YJ, ZHANG SB, HUANG W, 2019b. Photosynthetic regulation under fluctuating light in young and mature leaves of the CAM plant *Bryophyllum pinnatum* [J]. BBA Bioenerg, 1860(6): 469-477.
- YANG YJ, TAN SL, HUANG JL, et al., 2020. The water-water cycle facilitates photosynthetic regulation under fluctuating light in the epiphytic orchid *Dendrobium officinale* [J]. Environ Exp Bot, 180: 104238.
- YU XH, LUO YB, DONG M, 2008. Pollination biology of Cymbidium goeringii (Orchidaceae) in China [J]. J Syst Evol, 46(2): 163–174.
- ZHANG WQ, HUANG FF, GAN XH, et al., 2021. Effects of fertilization on the growth and photosynthetic characteristics of *Heritiera littoralis* seedlings [J]. Guihaia, 41(6): 862– 871. [张卫强,黄芳芳,甘先华,等, 2021. 施肥对银叶树 幼苗生长及光合特性的影响 [J]. 广西植物, 41(6): 862-871.]
- ZHANG SB, YANG YJ, LI JW, et al., 2018. Physiological diversity of orchids [J]. Plant Divers, 40: 196-208.
- ZHONG C, JIAN SF, HUANG J, et al., 2019. Trade-off of within-leaf nitrogen allocation between photosynthetic nitrogen-use efficiency and water deficit stress acclimation in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Plant Physiol Biochem, 135: 41-50.
- ZHAO DL, REDDY KR, KAKANI VG, et al., 2005. Nitrogen deficiency effects on plant growth, leaf photosynthesis, and hyperspectral reflectance properties of sorghum [J]. Eur J Agron, 22(4): 391–403.

(责任编辑 蒋巧媛)

了步植物 Guihaia Dec. 2022, 42(12): 2157-2166

秦文华,张扬,朱永泰,等.西北干旱区葡萄净光合速率变化及其影响因素 [J]. 广西植物,2022,42(12):2157-2166. QIN WH, ZHANG Y, ZHU YT, et al. Variation of net photosynthetic rate of grape and its influencing factors in arid area of Northwest China [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2157-2166.



http://www.guihaia-journal.com

西北干旱区葡萄净光合速率变化及其影响因素

秦文华,张 扬,朱永泰,徐聪,陈惠玲,朱高峰*

(兰州大学资源环境学院,兰州 730000)

摘 要:葡萄作为西北干旱区主要经济作物之一,认识其光合生产过程对种植栽培至关重要。为探究大田自 然条件下葡萄光合生理特征及影响葡萄光合作用的主要影响因子,该研究于 2019 年 6—9 月测定葡萄(品种: 无核白)叶片光合作用及其生理生态因子日变化,采用通径分析方法分析各因子对叶片净光合速率的直接和 间接作用,确定其主要影响因子,同时在全天分时段模式下进一步分析葡萄叶片净光合速率对各生理生态因 子的响应。结果表明:(1)葡萄叶片净光合速率日变化总体呈现先升高、后下降的单峰型曲线变化特征。 (2)葡萄叶片净光合速率与光合有效辐射、饱和水汽压差、空气温度、气孔导度和蒸腾速率呈极显著正相关,与 相对湿度和胞间 CO₂浓度呈极显著负相关。(3)各月影响葡萄叶片净光合速率变化的主要决定因子6月、8月 和9月为蒸腾速率,而7月为气孔导度。(4)6—9月的葡萄叶片净光合速率与空气温度、光合有效辐射、饱和 水汽压差的响应均呈"迟滞回环"关系,与蒸腾速率、气孔导度呈良好的线性关系(*R*²>0.85),与胞间 CO₂浓度 呈指数函数关系(*R*²=0.53)。研究认为,葡萄对西北干旱区环境具有较强的适应能力,可以通过控制蒸腾速 率和气孔导度来优化管理并提高产量,此外还需要考虑其他因子的直接和间接作用。 关键词:葡萄,净光合速率,生理生态因子,通径分析,迟滞回环 中图分类号: Q945 文献标识码:A 文章编号: 1000-3142(2022)12-2157-10

Variation of net photosynthetic rate of grape and its influencing factors in arid area of Northwest China

QIN Wenhua, ZHANG Yang, ZHU Yongtai, XU Cong, CHEN Huiling, ZHU Gaofeng*

(College of Earth and Environmental Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Grapes are one of the main economic crops in the arid area of Northwest China. Understanding its photosynthetic production process is very important for planting and cultivation. In order to analyze the physiological characteristics of grape photosynthesis and the main influencing factors affecting grape photosynthesis under natural conditions in the field, the daily variation of net photosynthetic rate of grape (variety: Seedless White) leaf and its daily variation of physiological and ecological factors in typical season of grape were measured from June to September in 2019. The path analysis method is

收稿日期: 2022-01-26

基金项目:国家自然科学基金(41871078);国家重点研发计划重点专项(2018YFC0406602) [Supported by National Natural Science Foundation of China (41871078); National Key Research and Development Program of China (2018YFC0406602)]。

第一作者:秦文华(1996-),硕士研究生,研究方向为生态水文,(E-mail)qinwh19@lzu.edu.cn。

[「]通信作者:朱高峰,教授,研究方向为生态水文,(E-mail)zhugf@lzu.edu.cn。

used to analyze the direct and indirect effects of various factors on the net photosynthetic rate of grape leaf, and to determine its main influencing factors. In addition, the response of the net photosynthetic rate of grape leaf to various physiological and ecological factors was further analyzed in the whole day time-phased mode. The results were as follows: (1) The daily variation of net photosynthetic rate of grape leaf showed a single peak pattern, which first increased and then decreased; (2) The net photosynthetic rate of grape leaf was positively correlated with photosynthetic active radiation, vapor pressure deficit, air temperature, stomatal conductance and transpiration rate, and negatively correlated with relative humidity and intercellular CO₂ concentration. Among them, the correlation coefficient with stomatal conductance and transpiration rate was the largest; (3) The main determinant that affected the variation of net photosynthetic rate of grape leaf was the transpiration rate in June, August and September, and the stomatal conductance in July; (4) The net photosynthetic rate of grape leaf in each month showed a "hysteretic loop" relationship with air temperature, photosynthetic active radiation, vapor pressure deficit, and a good linear relationship with transpiration rate and stomatal conductance (R^2 >0.85), and an exponential function relationship with intercellular CO₂ concentration (R^2 =0.53). Studies have shown that grapes have a strong ability to adapt to the environment in the arid area of Northwest China. In cultivation, we can optimize management and increase yield by controlling transpiration rate and stomatal conductance, but the direct and indirect effects of other factors need to be considered.

Key words: grape, net photosynthetic rate, eco-physiological factors, path analysis, hysteretic loop

光合作用是指植物利用光能,把吸收的 CO₂和 水转换为有机物,并释放 O₂的过程,也是植物进行 物质积累和生长生产的基本途径(许大全,1999; Long et al., 2010)。植物的光合作用受内外因子的 共同作用影响,如光合有效辐射、饱和水汽压差、空 气温度、大气相对湿度等生态环境因子及净光合速 率、气孔导度、蒸腾速率、胞间 CO₂浓度等生理生化 因子(马新等,2018;刘旻霞等,2020)。净光合速率 可作为表征植物光合作用的直接指标(刘济明等, 2020),研究其与各生理生态因子的关系,对植物栽 培管理具有重要意义(Lange et al.,1975)。

无核白葡萄又名"无籽露",该品种最大的特 点就是耐寒、耐热、耐旱,在日夜温差大的区域种 植较为广泛(陶立强,2020),因而成为西北干旱区 主要的经济作物之一。在敦煌无核白葡萄的种植 历史已长达 60 多年,产业发展得到了良好的扩 大。现今,敦煌阳关区无核白葡萄有1333 hm²,占 据灌区耕地面积的 99%。据此,葡萄的丰收已经 成为当地农民增加收入、改善生活的重要途径,而 水资源的短缺却一直是当地最突出问题。因此, 深入了解该地区葡萄的光合作用机理,对干旱区 葡萄田的节约用水和有效管理意义重大。现已有 很多学者对水分胁迫(陈丽等,2011;王振兴等, 2014;胡宏远和王振平,2016;孙聪等,2019;刘竞 择,2020)、高低温胁迫(刘海霞,2007;罗海波等, 2010)和养分供应量不同(孙美等,2017)等控制条 件下的葡萄光合作用特征进行了研究。然而,目 前很少有人针对西北干旱区葡萄的主要生长季各 月的叶片光合作用过程进行深入研究。

本研究以西北干旱区大田自然条件下的葡萄 为试材,利用便携式光合作用—荧光测量系统 GFS-3000 测定其主要生长季 6—9 月的叶片光合作用及 各生理生态因子,拟探讨以下问题:(1)揭示葡萄叶 片光合作用日、月变化规律;(2)使用通径分析方法 明确葡萄叶片净光合速率与各生理生态因子的关 系;(3)分析葡萄叶片净光合速率与各生理生态因 子之间的时滞效应。本研究结果可为干旱区葡萄 的科学栽培、有效管理和产量提高提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

试验地点位于甘肃省敦煌市西南部的南湖乡 境内,地理坐标为94°07′E、39°53′N,属于典型大 陆性气候,暖温带干旱性气候区,降雨量少,蒸发 量大,昼夜温差大,日照时间长。该区年均温度 9.6℃,最高气温达38.3℃,最低气温-22.1℃,年 降水量仅30.7 mm,而潜在蒸发量高达2486 mm, 年日照时数3115~3247 h,年总辐射量5903.4~ 6309.5 MW·m⁻²,无霜期约150 d。

1.2 试验设计

2019年,选取试验区主栽葡萄品种"无核白"

作为材料,葡萄藤苗木的苗龄为11 a,葡萄田为倾 斜单篱架式,架高2.5 m,株距为1 m,行距为3 m。 葡萄田地的土壤 pH 值约为8,土壤类型为灰钙荒 漠土,土壤质地为沙壤土。常规管理措施包括每 月一次的灌溉,开花前一周的剪枝,5 月初施入氮 肥 370 kg・hm⁻²左右,6 月初施磷酸二铵约400 kg・hm⁻²,7 月追施复合肥 370 kg・hm⁻²。

1.3 指标测定与方法

观测期为典型生长季 6-9月,涵盖了葡萄的 开花期(6月8日--7月3日)、浆果生长期(7月4 日-8月10日)、浆果成熟期(8月11日-9月15 日)和新梢成熟及落叶期(9月16日--10月11 日)4个生长时期。由于研究区为日照时数较长地 区,所以观测时段为北京时间6:00-22:00。在大 田自然条件下,选取长势相同的3株葡萄藤做标 记,在晴朗无云的 6 月 14 日、6 月 23 日、7 月 16 日、7月25日、8月17日、8月28日、9月17日和 9月23日,对3株葡萄藤的冠层中部的1个叶片 进行光合作用观测,观测时保持叶片自然生长角 度不变。样叶选择冠层中部健康、成熟、平展、受 阳光直射的叶片。使用便携式光合作用--荧光测 量系统 GFS-3000,每10 min 记录一次实时数据, 测定的参数包括光合有效辐射(PAR)、饱和水汽 压差(*VPD*)、空气温度(T_a)、大气相对湿度(*RH*)、 净光合速率(P_n)、气孔导度(G_n)、蒸腾速率(T_n) 和胞间 CO₂浓度(C_i)。

1.4 数据分析

通径分析是相关性分析和回归分析的拓展, 可以对自变量和因变量的相关性进行直接作用和 间接作用的分解(侍瑞等,2019;文强等,2019)。 使用 IBM SPSS Statistics 25 中的线性回归实现通 径分析,线性回归方程的标准系数为直接通径系 数,间接通径系数为两个自变量的相关系数与间 接变量的直接通经系数的乘积(杜家菊和陈志伟, 2010;杜鹃,2012)。决策系数可计算各自变量对 因变量的综合作用,最终确定影响因变量的主要 决定变量和限制变量(靳甜甜等,2011)。决策系 数 *R*²(*i*)的计算见式(1),式中,*P_i*为自变量*i*的直 接通径系数, *r_{iy}*为自变量*i*与因变量*y*的相关系 数。利用 Microsoft Excel 2010 整理观测数据,所有 的作图均在 MATLAB R2018a 完成。

$$R^{2}(i) = 2 P_{i} r_{iy} - P_{i}^{2}$$
(1)

2 结果与分析

2.1 不同月份葡萄叶片周围生态因子日变化

图 1 为 6—9 月选择晴朗无云天气情况下的葡 萄叶片周围生态环境因子的日变化特征。PAR 呈 现出先升高、再降低的日变化特征,6-9月的日最 大值均大于 1 300 µmol · m² · s⁻¹, 其中 7、8 月份 可以达到 1 800 μmol · m⁻² · s⁻¹左右。VPD 在一定 程度上能反映 T_a 和 RH 的综合作用(杨泽粟等, 2015),所以其变化曲线波动较大,6-9月内各月 的日平均值分别为 3.22、3.51、3.07、2.64 kPa。 VPD 在日出和日落前后有较低值,且日落前后的 VPD 值明显高于日出前后。这主要归因于在干旱 区,下午时段的温度比上午时段的高,且下午时段 的空气湿度一般低于上午时段。T_的日变化曲线 也是先升高、后降低,早晚温差较大。6-9月内各 月的日平均温度分别为 24.75、26.94、27.26、18.87 ℃。RH 则呈现出早晚高、午间低的单调谷型变化 特征,最高值分别出现在日出和日落前后,各月的 日平均值分别为 52.05%、47.72%、55.34%、 38.65%。日进程中随着 PAR 和 T_的不断增大, RH 逐渐降低;在PAR和T。较高的午间时段,RH有较 低值且平稳,之后又随着 PAR 和 T。的降低, RH 开 始有所回升。

2.2 不同月份葡萄叶片生理因子日变化

图 2 结果表明, 各月的葡萄叶片 P, 日变化均 呈单峰型曲线,具有上午升高、下午降低的特征。 6月和8月的 P_n 日峰值出现在 14:00 左右,分别 为13.99 µmol · m⁻² · s⁻¹和 20.41 µmol · m⁻² · s⁻¹;7 月的 P_n 日峰值出现在 13:00,为 15.83 μmol· $m^{-2} \cdot s^{-1}$;9月的 P, 日峰值出现在 12:00 左右, 为 13.57 μmol · m⁻² · s⁻¹,其日峰值排序为8月>7月> 6月>9月。从图3的月变化来看,8月份的葡萄 叶片 P_n 日峰值和平均值都明显高于其他月份,葡 萄叶片 P_n 日平均值从大到小依次为 8 月(9.23 μ mol · m⁻² · s⁻¹) 7月(7.41 μ mol · m⁻² · s⁻¹) 6月 (6.62 μ mol \cdot m⁻² \cdot s⁻¹) 和 9 月 (5.17 μ mol \cdot m⁻² \cdot s^{-1})。各月的葡萄叶片 P_n 日变化峰值与平均值的 变化趋势相同,大小排序也一致。6-9月的葡萄 叶片 G. 日变化均为先升高、后降低的变化趋势,日 峰值分别为178.64、182.39、185.64、114.41 mmol ·



图 1 不同月份葡萄叶片周围光合有效辐射、饱和水汽压差、空气温度和相对湿度的日变化 Fig. 1 Daily variation of photosynthetic active radiation (*PAR*), vapor pressure deficit (*VPD*), air temperature (T_a) and relative humidity (*RH*) around the grape leaf in different months

m⁻² · s⁻¹,各月日平均值排序为8月(93.24 mmol · $m^{-2} \cdot s^{-1}$) > 7 月 (77.04 mmol $\cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$) > 6 月 $(71.26 \text{ mmol} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}) > 9 月 (45.45 \text{ mmol} \cdot \text{m}^2 \cdot$ s⁻¹)。G. 日变化曲线的上午时段曲线斜率大于下午 时段,说明上午升高得快,下午下降得较慢。T,日 变化曲线与G,日变化有相似的趋势,且升高快、下 降较慢,各月日平均值排序为7月(2.63 mmol· $m^{-2} \cdot s^{-1}$) >6 月 (2.38 mmol $\cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$) >8 月 (2.21 mmol · m⁻² · s⁻¹) >9 月 (1.53 mmol · m⁻² · s⁻¹) _o C_i 日变化与 G, 和 T, 的日变化曲线相反, 为早晚具有 较高值,午间有较低值且相对稳定,日变化曲线呈 "U"型。C_i各月日平均值排序为9月(304.14 µmol · mol⁻¹) > 8 月 (272.78 µmol · mol⁻¹) > 7 月 (264.53 μ mol · mol⁻¹)>6 月(248.53 μ mol · mol⁻¹)。 2.3 葡萄叶片净光合速率与生理生态因子的通径 分析

相关系数(r)可反映两变量之间相关性强弱。 通常, |r|在0.00~0.33之间为低度相关,0.33~ 0.67之间为中度相关,0.67~1.00之间为高度相 关。表1表明,6—9月的葡萄叶片 P_n 与各生理生 态因子 PAR、VPD、T_a、RH、C_s、T_r和 C_i等都在0.01 水平上呈极显著中、高度相关关系,其中各月 PAR、VPD、 T_a 、 G_s 和 T_r 与 P_n 呈正相关,RH和 C_i 与 P_n 呈负相关。总的来看, P_n 与 T_r 和 G_s 的相关系 数均在 0.9 以上,其次为 T_a ,再者为 PAR、RH、VPD 和 C_i 。

从表1通径分析结果来看,在6—9月,各月生 理生态因子对葡萄叶片 P_n 的直接通径系数排序 分别为:6月, $T_r > G_s > T_q > PAR > RH > VPD > C_i$;7月, $G_s > T_r > VPD > PAR > C_i > RH > T_s$; 8 \exists , $T_r > G_s > PAR >$ $T_a > RH > C_i > VPD$; 9 \exists , $T_r > G_s > T_a > PAR > C_i > RH >$ VPD_o 在各月, PAR_{T_r} 和 G_s 对 P_n 均产生直接正 效应,这里 T_{r} 和 G_{s} 对 P_{s} 的直接作用大于其通过 其他因子的间接作用和其他因子对 P, 的直接作 用,说明二者对 P_n具有较大的促进作用。从表 1 还可以看出,有些因子对 P。的直接作用被其通过 其他因子的间接作用所抵消,导致这些因子与 P。 的相关系数发生了较大的变化,如6月、7月和8 月RH对P。的直接作用均为正值,但都被其被其 他因子的间接负作用所掩盖,造成 RH 与 P, 的相 关系数为负值,这表明各生理生态因子对 P,作用 的复杂性和综合性。



图 2 不同月份葡萄叶片净光合速率、气孔导度、蒸腾速率和胞间 CO_2 浓度日变化 Fig. 2 Daily variation of net photosynthetic rate (P_n) , stomatal conductance (G_s) , transpiration rate (T_r) and intercellular CO, concentration (C_i) of grape leaf in different months





另外,分析表1中各生态生理因子对葡萄叶片 P_n 作用的决策系数(R^2),确定出不同月份影响 P_n 的主要决定因子和限制因子。决策系数最大的为 主要决定因子,而决策系数小且为负值的为主要 限制因子(靳甜甜等,2011)。对决策系数排序分 析后可知,在各月影响葡萄叶片 P_n 的生理生态因 子不尽相同,主要决定因子6月、8月和9月为 T_r , 而7月为 G_s ;主要限制因子6月为VPD,7月为 T_a , 8月和9月为*C_i*,同时还受其他生理生态因子的共同作用。

2.4 葡萄叶片净光合速率与生理生态因子之间的 时滞效应

分析各月的葡萄叶片 P_n 对各生态因子的响应,发现葡萄叶片 P_n 与生态因子 T_a 、PAR 和 VPD 呈"迟滞回环"的关系(图4左图),主要原因在于 日进程中,生态因子的最大值相较于净光合速率 的峰值有时间上的滞后现象(图4右图)。将日响 应过程分为3个阶段(6:00—12:00、12:00— 16:00、16:00—22:00)进行分析。第一阶段,随着 生态因子的增强,葡萄叶片 P_n 也增加,呈正相关 关系;第二阶段,随着生态因子的进一步的增强, 葡萄叶片 P_n 减小,呈负相关关系;第三阶段,随着 生态因子的减弱,葡萄叶片 P_n 继续减小,呈正相 关关系。

分析各月的葡萄叶片 P_n 与各生理因子的响应,发现葡萄叶片 P_n 与生理因子 T_r 、 G_s 和 C_i 没有出现回环现象(图 5 左图),主要原因在于日变化过程中,生理因子和净光合速率有着相同的变化趋势,二者的峰值也大约出现在同一时刻(图 5 右图)。葡萄叶片 P_n 与 T_r 和 G_s 呈线性关系,并且

表 1 净光合速率与生理生态因子间的相关系数、通径系数和决策系数

Table 1 Correction coefficients, path coefficients and decision coefficients between P_n and eco-physiological factors

生 月份 Month phy	生理生态 因子	相关 系数	直接 通径 系数	间接通径系数 Indirect path coefficient						决策		
	physiologica factor	Correlation coefficient	ation Direct cient path coefficient	T_{a}	PAR	RH	VPD	T_r	G_s	C_i	合计 Total	R^2
6月	T_a	0.864**	0.236		0.180	-0.045	-0.071	0.246	0.213	0.106	0.629	0.352
June	PAR	0.947**	0.207	0.206		-0.036	-0.055	0.278	0.243	0.104	0.74	0.349
	RH	-0.802**	0.047	-0.227	-0.160		0.067	-0.227	-0.199	-0.103	-0.849	-0.078
	VPD	0.624**	-0.080	0.211	0.142	-0.039		0.176	0.134	0.081	0.705	-0.106
	T_r	0.976**	0.298	0.194	0.193	-0.036	-0.047		0.267	0.105	0.676	0.493
	G_s	0.958**	0.279	0.180	0.180	-0.034	-0.038	0.285		0.104	0.681	0.457
	C_i	-0.903**	-0.123	-0.204	-0.175	0.039	0.052	-0.255	-0.237		-0.78	0.207
7 月	T_a	0.746**	-0.069		0.079	-0.011	0.134	0.161	0.503	-0.052	0.814	-0.108
July	PAR	0.917**	0.097	-0.056		-0.009	0.090	0.193	0.644	-0.043	0.819	0.168
	RH	-0.538**	0.013	0.057	-0.065		-0.111	-0.117	-0.365	0.049	-0.552	-0.014
	VPD	0.468**	0.154	-0.060	0.057	-0.009		0.099	0.263	-0.035	0.315	0.120
	T_r	0.973**	0.213	-0.052	0.088	-0.007	0.072		0.704	-0.043	0.762	0.370
	G_s	0.979**	0.731	-0.047	0.085	-0.006	0.055	0.205		-0.044	0.248	0.897
	C_i	-0.605**	0.069	0.052	-0.060	0.009	-0.078	-0.133	-0.463		-0.673	-0.088
8月	T_{a}	0.820**	0.096		0.165	-0.045	-0.022	0.403	0.272	-0.047	0.726	0.148
August	PAR	0.907**	0.189	0.084		-0.045	-0.021	0.455	0.296	-0.049	0.720	0.307
	RH	-0.735**	0.063	-0.069	-0.136		0.014	-0.383	-0.278	0.052	-0.80	-0.097
	VPD	0.729**	-0.024	0.089	0.164	-0.037		0.361	0.219	-0.042	0.754	-0.036
	T_r	0.982**	0.505	0.077	0.170	-0.048	-0.017		0.344	-0.048	0.478	0.737
	G_s	0.958**	0.360	0.073	0.155	-0.049	-0.015	0.483		-0.049	0.598	0.560
	C_i	-0.781**	0.061	-0.075	-0.153	0.054	0.017	-0.398	-0.288		-0.843	-0.099
9月	T_{a}	0.687**	0.142		0.094	0.031	-0.051	0.318	0.191	-0.040	0.543	0.175
Septembe	r PAR	0.819**	0.113	0.118		0.033	-0.043	0.379	0.258	-0.040	0.705	0.172
	RH	-0.766**	-0.040	-0.110	-0.093		0.038	-0.353	-0.251	0.043	-0.726	0.060
	VPD	0.607**	-0.053	0.136	0.091	0.029		0.283	0.158	-0.036	0.661	-0.067
	T_r	0.989**	0.484	0.093	0.089	0.029	-0.031		0.361	-0.035	0.506	0.723
	G_{s}	0.963**	0.374	0.073	0.078	0.027	-0.022	0.467		-0.032	0.591	0.580
	C_i	-0.776**	0.047	-0.119	-0.095	-0.037	0.041	-0.359	-0.254		-0.823	-0.075

注:**表示极显著相关(P<0.01);*表示显著相关(P<0.05)。

Note: ** indicates extremely significant correlation (P < 0.01); * indicates significant correlation (P < 0.05).

 R^2 都在 0.85 以上, 二者能很好地解释葡萄叶片 P_n 的动态变化规律; 而葡萄叶片 P_n 与 C_i 则呈指数函数关系, R^2 约为 0.53。

3 讨论与结论

3.1 葡萄叶片净光合速率的变化分析

光合作用作为植物基本的功能,对植物的生

长发育和全球的碳水循环起着重要的作用(于贵 瑞等,2004;Linus et al., 2020)。植物的光合作用 日变化一般分为单峰型、双峰型、多峰型和平坦型 (王红平等,2020)。净光合速率是植物生长和生 产的重要指标,在西北干旱区 6—9 月的葡萄叶片 净光合速率日变化总体呈先升高再降低的单峰型 变化规律,未出现光合"午休"现象。这与先前研 究中干旱沙区的沙木蓼和罗布麻的光合特性以及 Fig. 4



图 4 不同月份葡萄叶片净光合速率对生态因子的响应 Responses of grape leaves net photosynthetic rate (*P_a*) to ecological factors in different months



图 5 不同月份葡萄叶片净光合速率对生理因子的响应 Fig. 5 Responses of grape leaf net photosynthetic rate (P_n) to physiological factors in different months

半干旱区油蒿的光合作用日变化结果一致(宁虎 森等,2014;李媛等,2015)。一般植物出现光合 "午休"现象有气孔限制和非气孔限制两种原因 (Chandra,2018)。气孔限制是指强辐射、高温、高 饱和水气压差的情况下叶片为减少蒸腾维持植物 水分平衡,气孔部分关闭限制了 CO₂的扩散和同化 引起的净光合速率下降;而非气孔限制是长时间 光能过剩导致植物光呼吸作用加强、光抑制现象 发生等造成的净光合速率下降。葡萄田地的定期 灌溉使作物的土壤水资源充沛,在极端的环境因



图 6 6—9月降水和灌溉对土壤体积含水量的影响 Fig. 6 Effects of precipitation and irrigation on soil volumetric water content (*SWC*) from June to September

子作用下,叶片气孔未受到水分胁迫出现部分气 孔关闭。韩拓(2020)对干旱绿洲植物碳水耦合机 制研究中并未发现西北干旱绿洲植物有光抑制现 象。因此,本研究中的葡萄叶片净光合速率不是 受到气孔和非气孔的限制导致的净光合速率下 降,而是从早到晚,随着辐射增强、温度升高等为 光合作用提供基本能源并激活光合作用酶,使净 光合速率开始升高,之后随着辐射的减弱和温度 的降低,净光合速率也随即下降。

由于环境水热条件变化以及植物的生长发育,因此会引起植物光合作用的变化(程汉亭等, 2018)。6-8月,随着适宜的环境温度和湿度条件的满足,加上叶片结构和功能的完善,植物的光合作用增强;在8月浆果成熟期净光合速率的日峰 值和平均值均最大,有机物积累最多,有助于葡萄 果实的饱满和甘甜;到9月随着辐射和温度等的 减弱,同时叶片逐渐衰老,植物光合能力也降低; 之后,葡萄叶片变黄,逐渐凋落,进入休眠期,埋入 地下冬藏以防冻害和风干。

3.2 葡萄叶片净光合速率与生理生态因子之间的 关系分析

自然条件下,植物的光合作用受生理生态因子的共同作用(Gago et al., 2013)。本研究中,西 北干旱区各月葡萄叶片净光合速率与各生理生态 因子都呈极显著相关关系,通径分析的结果与相 关性分析的结果基本一致,蒸腾速率和气孔导度 是影响6—9月份葡萄叶片净光合速率变化的最 主要因子,同时还受其他因子的直接和间接作用。 这与刁松锋等(2014)研究发现影响无患子净光合 速率变化的最重要生理生态因子为气孔导度,以 及姜霞等(2019)报道的不同生育期盐肤木光合作 用主要受气孔导度、光合有效辐射和蒸腾速率的 影响研究结果相似。气孔作为光合作用过程中气 体交换的重要枢纽,会直接调控净光合速率和蒸 腾速率(Medlyn et al., 2001)。在日进程中随着外 界环境因子的变化气孔在维持最大的碳同化情况 下保证最少的蒸腾,彼此之间存在相互关联、相互 制约较密切的关系。

一直以来,植物净光合速率变化与生理生态 因子之间的关系被广泛研究(Bassow & Bazzaz, 1998; Fang et al., 2021), 而对全天分时段模式的 净光合速率与生理生态因子的关系研究甚少。本 研究发现,全天不同时段葡萄叶片净光合速率对 各生理生态因子的响应存在显著差异,此结果有 助于更好地理解葡萄叶片净光合速率在不同环境 条件下的变化机制。葡萄叶片净光合速率与各生 态因子的响应,在第一阶段,随着生态因子的增 强,净光合速率升高且比生态因子提前达到峰值; 第二阶段,在生态因子进一步增强时净光合速率 已经开始下降;第三阶段,生态因子也变弱,净光 合速率继续下降,导致葡萄叶片净光合速率与各 生态因子的关系出现"迟滞回环"现象。其中,第 一阶段的回归斜率明显高于第三阶段,说明上午 的净光合速率比下午的净光合速率对生态因子的 变化更加敏感。在第二阶段空气温度较高,整体 都在 30 ℃以上,而植物光合作用最适宜的温度一 般都在 25~30 ℃(徐超,2021),过高的温度会使 一系列光合作用酶钝化或失去活性,甚至会改变 叶片气孔开度,在这个时间段葡萄叶片净光合速 率没有随环境因子的进一步增强继续增加。葡萄 叶片净光合速率与各生理因子没有出现"迟滞回 环"现象,主要由于气孔对植物的净光合速率和蒸 腾速率进行同步调控,因此蒸腾速率和气孔导度 与净光合速率在时间上具有良好的同步性和相同 的变化趋势。本研究中,对主要生长季葡萄叶片 净光合速率对各生理生态因子的时滞效应进行了 统一分析,之后可以分月份和季节进行更加详尽 的研究,这对我们提高植物生理过程与各影响因 子之间关系的认识大有帮助。

综上所述,大田自然条件下的 6—9 月的葡萄 叶片净光合速率日变化总体呈先上升后降低的单 峰型变化特征。各月的净光合速率日峰值和平均 值从大到小排序均为 8、7、6 和 9 月。葡萄叶片净 光合速率主要受生理因子蒸腾速率和气孔导度的 影响,但同时还受其他因子的综合影响。因此,在 培育生产时,要通过调节某种生理或生态因子来 提高植物光合作用时,需要充分考虑该因子本身 及其通过改变其他因子对光合作用产生的所有直 接和间接作用。干旱区生态环境脆弱,对葡萄的 栽培和生产科学化管理将会对当地农民带来长远 的效益。

参考文献:

- BASSOW SL, BAZZAZ FA, 1998. How environmental conditions affect canopy leaf-level photosynthesis in four deciduous tree species [J]. Ecology, 79(8): 2660-2675.
- CHANDRA B, JOE Q, BEERLING DJ, et al., 2018. Stomatal and non-stomatal limitations in savanna trees and C4 grasses grown at low, ambient and high atmospheric CO₂[J]. Plant Sci, 274: 181–192.
- CHEN L, AI J, WANG ZX, et al., 2011. Effect of drought stress on photosynthesis light response curve of *Vitis amurensis* [J]. N Hortic, (6): 5-8. [陈丽, 艾军, 王振兴, 等, 2011. 干旱胁迫对山葡萄光合作用及光响应特性的影响 [J]. 北方园艺, (6): 5-8.]
- CHENG HT, LIQ F, LIU JK, et al., 2018. Seasonal changes of photosynthetic characteristics of *Alpinia oxyphylla* growing under *Hevea brasiliensis* [J]. Chin J Plant Ecol, 42(5): 73-82. [程汉亭, 李勤奋, 刘景坤, 等, 2018. 橡胶林下益 智光合特性的季节动态变化 [J]. 植物生态学报, 42(5): 73-82.]
- DIAO SF, SHAO WH, DONG RX, et al., 2014. Diurnal variation of photosynthesis and relationship with the ecophysiological factors of *Sapindus mukorossi* [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 34(4): 828-834. [刁松锋, 邵文豪, 董汝湘, 等, 2014. 无患子光合生理日变化及其与生理生 态因子的关系 [J]. 西北植物学报, 34(4): 828-834.]
- DU JJ, CHEN ZW, 2010. Using SPSS linear regression to realize path analysis method [J]. Bull Biol, 45(2): 4-6. [杜家菊, 陈志伟, 2010. 使用 SPSS 线性回归实现通径 分析的方法 [J]. 生物学通报, 45(2): 4-6.]
- DU J, 2012. The realization of path analysis in Excel and SPSS [J]. J Shaanxi Meteorol, 2012 (1): 15 18. [杜鹃, 2012. 通径分析在 Excel 和 SPSS 中的实现 [J]. 陕西气 象, 2012(1): 15-18.]
- FANG W, FEN Z, XIAO HG, et al., 2021. Seasonal variations in leaf-level photosynthesis and water use efficiency of three isohydric to anisohydric conifers on the Tibetan Plateau [J]. Agric For Meteorol: s 308–309.
- GAGO J, COOPMAN RE, CABRERA HM, et al., 2013. Photosynthesis limitations in three fern species [J]. Physiol Plant, 149(4): 599-611.

- HAN T, 2020. Research of carbon-water coupling mechanisms of typical vegetation in an arid oasis ecosystem [D]. Lanzhou: Lanzhou University: 14-17. [韩拓, 2020. 干旱绿 洲典型植物碳水耦合机制研究 [D]. 兰州: 兰州大学: 14-17.]
- HU HY, WANG ZP, 2016. The effects of water stress on photosynthetic characteristics of Cabernet Sauvignon [J]. Water Saving Irrig, (2): 18-22. [胡宏远, 王振平, 2016. 水分胁迫对赤霞珠葡萄光合特性的影响 [J]. 节水 灌溉, (2): 18-22.]
- JIANG X, SU CH, WU SL, et al., 2019. Photosynthetic characteristics of *S. sylvestris* in different growth periods and its relationship with main environmental factors [J]. Jiangsu Agric Sci, 47(19): 155-160. [姜霞,苏春花,伍生磊, 等, 2019. 盐肤木不同生育期光合特性及其与主要环境因 子的关系 [J]. 江苏农业科学, 47(19): 155-160.]
- JIN TT, FU BJ, LIU GH, et al., 2011. Diurnal changes of photosynthetic characteristics of *Hippophae rhamnoides* and the relevant environment factors at different slope locations [J]. Acta Ecol Sin, 31(7): 1783-1793. [靳甜甜, 傅伯 杰, 刘国华, 等, 2011. 不同坡位沙棘光合日变化及其主 要环境因子 [J]. 生态学报, 31(7): 1783-1793.]
- LANGE OL, SCHULZE ED, KAPPEN L, et al., 1975. Photosynthesis of desert plants as influenced by internal and external factors [M]. Heidelberg: Springer, 12: 121-143.
- LI Y, CHA TS, JIA X, et al., 2015. Photosynthetic characteristics of typical desert plant Artemisia ordosica in semi-arid region [J]. Chin J Ecol, 34(1): 86–93. [李媛, 查天山, 贾昕, 等, 2015. 半干旱区典型沙生植物油蒿 (Artemisia ordosica)的光合特性 [J]. 生态学杂志, 34(1): 86–93.]
- LINUS DR, FRAN L, LUIS SR, et al., 2020. Woody tissue photosynthesis increases radial stem growth of young poplar trees under ambient atmospheric CO₂ but its contribution ceases under elevated CO₂ [J]. Tree Physiol, 40(11): 1572–1582.
- LIU HX, 2007. Study on response of temperature stress cross adaptation to photosynthetic physiology of grape leaves [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University: 1-24. [刘海霞, 2007. 温度逆境交叉适应对葡萄叶片光合 生理响应的研究 [D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学: 1-24.]
- LIU MX, XIA SJ, MU RL, et al., 2020. Seasonal variation of photosynthetic characteristics of three typical green plant species in central Loess Plateau [J]. Chin J Ecol, 39(12): 4098-4109. [刘旻霞, 夏素娟, 穆若兰, 等, 2020. 黄土高 原中部三种典型绿化植物光合特性的季节变化 [J]. 生态学杂志, 39(12): 4098-4109.]
- LIU JM, HUANG LT, MIAO XF, et al., 2020. Relationship between diurnal changes of photosynthetic characteristics and environmental factors of *Drepanostachyum luodianense* in different seasons [J]. J AnHui Agric Univ, 47(1): 62-

69. [刘济明,黄路婷,廖晓锋,等,2020. 不同季节小蓬 竹光合特性日变化及其与环境因子的关系 [J]. 安徽农 业大学学报,47(1):62-69.]

- LIU JZ, 2020. Effects of water stress on photosynthetic characteristics of different leaf age leaves of *Cabernet sauvignon* grape [D]. Ningxia: Ningxia University: 1-47. [刘竞择, 2020. 水分胁迫对赤霞珠葡萄不同叶龄叶 片光合特性的影响 [D]. 宁夏: 宁夏大学: 1-47.]
- LONG SP, ZHU XG, NAIDU SL, et al., 2010. Can improvement in photosynthesis increase crop yields? [J]. Plant Cell Environ, 29(3): 315-330.
- LUO HB, MA L, DUAN W, et al., 2010. Influence of heat stress on photosynthesis in *Vitis vinifera* L. cv. cabernet sauvignon [J]. China Agric Sci, 43(13): 2744-2750. [罗海波, 马苓, 段伟, 等, 2010. 高温胁迫对'赤霞珠'葡萄光合作用的影响[J]. 中国农业科学, 43(13): 2744-2750.]
- MA X, DONG P, JIANG JY, et al., 2018. Diurnal variation of photosynthesis rate of *Xanthoceras sorbifolia* and correlation with eco-physiological factors [J]. SW Chin J Agric Sci, 31(6): 1267-1271. [马新, 董鹏, 姜继元, 等, 2018. 文冠果光合生理日变化及其与生理生态因子的相关性研究 [J]. 西南农业学报, 31(6): 1267-1271.]
- MEDLYN BE, BARTON CVM, BROADMEADOW MSJ, et al., 2001. Stomatal conductance of forest species after longterm exposure to elevated CO₂ concentration: a synthesis [J]. New Phytol, 149: 247–264.
- NING HS, JI XM, SUN HY, et al., 2014. Photosynthetic characteristics and related influencing factors of four plants in arid sand area [J]. J NW A & F Univ (Nat Sci Ed), 42 (11): 113-120. [宁虎森, 吉小敏, 孙慧瑛, 等, 2014. 干 旱沙区 4 种植物的光合日变化及其影响因子 [J]. 西北 农林科技大学学报(自然科学版), 42(11): 113-120.]
- SHI R, SU PY, ZHOU ZJ, et al., 2019. Diurnal variation of photosynthesis of dominant species in alpine plant communities and its relationship with environmental factors [J]. J Desert Res, 39(4): 46-53. [侍瑞,苏培玺,周紫 鹃,等, 2019. 高寒植物群落优势种光合日变化及其与环 境因子的关系 [J]. 中国沙漠, 39(4): 46-53.]
- SUN C, LI LG, LIU YX, et al., 2019. Effects of different rootstocks on photosynthesis of wine grape 'Syrah' under drought stress [J]. N Hortic, (10): 44-50. [孙聪, 李连 国, 刘勇翔, 等, 2019. 干旱胁迫下不同砧木对酿酒葡萄 'Syrah'光合作用的影响 [J]. 北方园艺, (10): 44-50.]
- SUN M, MA DY, JI LJ, et al., 2017. Effect of different nutrient supply on photosynthesis and fruit growth in 'muscat hamburg' grarpe [J]. N Hortic, (2): 16-22. [孙美, 马丹 阳, 姬利洁, 等, 2017. 不同养分供应量对"玫瑰香"葡萄 光合作用及果实生长发育的影响 [J]. 北方园艺, (2): 16-22.]

- TAO LQ, 2020. Research on the processing technology of seedless concentrated juice [D]. Shihezi: Shihezi University: 1-4. [陶立强, 2020. 无核白浓缩汁加工工艺 的研究 [D]. 石河子: 石河子大学: 1-4.]
- WANG HP, LIU XL, DONG T, et al., 2020. Effects of different dwarfinginterstocks on photosynthetic physiological characteristics of 'Changfu 2' apple leaves [J]. SW Chin J Agric Sci, 29(5): 700-708. [王红平, 刘兴禄, 董铁, 等, 2020. 不同矮化中间砧对'长富 2 号'苹果叶片光合生理 特性的影响 [J]. 西北农业学报, 29(5): 700-708.]
- WANG ZX, CHEN L, AI J, et al., 2014. Effects of different drought stress on photosynthesis and activity of photosystem II in leaves of Amur Grape (*Vitis amurensis*) [J]. J Plant Physiol, 50(8): 1171-1176. [王振兴,陈丽,艾军,等, 2014. 不同干旱胁迫对山葡萄的光合作用和光系统II活性的影响 [J]. 植物生理学报, 50(8): 1171-1176.]
- WEN Q, HAN W, MA XH, et al., 2019. Relationship between diurnal variation characteristics of net photosynthetic rate of summer oak in autumn and physiological and ecological factors in Urumqi [J]. J Xinjiang Norm Univ (Nat Sci Ed), 38(1): 6–12. [文强,韩炜, 马霄华, 等, 2019. 乌鲁木齐 市秋季夏橡净光合速率日变化特征与生理生态因子的关系 [J]. 新疆师范大学学报(自然科学版), 38(1): 6–12.]
- XU C, 2021. Study on the mechanism and simulation of the effect of high temperature in the seedling stage on the growth and fruit quality of strawberry [D]. Nanjing: Nanjing Univ Inform Sci Technol: 2-8. [徐超, 2021. 苗期高温对草莓生 长发育和果实品质的影响机理及模拟研究 [D]. 南京: 南京信息工程大学: 2-8.]
- XU DQ, 1999. Photosynthetic rate, photosynthetic efficiency and crop yield [J]. Bull Biol, (8): 11-13. [许大全, 1999. 光合速率、光合效率与作物产量 [J]. 生物学通报, (8): 11-13.]
- YANG ZS, ZHANG Q, HAO XC, et al., 2015. Stomatal or non-stomatal limitation of photosynthesis of spring wheat flag leaf at late growth stages under natural conditions in semiarid rainfed regions [J]. Chin J Eco-Agric, 23 (2): 174 182. [杨泽粟, 张强, 郝小翠, 等, 2015. 自然条件下半干 旱雨养春小麦生育后期旗叶光合的气孔和非气孔限制 [J]. 中国生态农业学报, 23(2): 174–182.]
- YU GR, WANG QF, YU ZL, et al., 2004. Research on watercarbon coupling cycle and process management in terrestrial ecosystem [J]. Adv Earth Sci, 19(5): 831-839. [于贵瑞, 王秋凤, 于振良, 等, 2004. 陆地生态系统水—碳耦合循 环与过程管理研究 [J]. 地球科学进展, 19(5): 831-839.]

了步植物 Guihaia Dec. 2022, 42(12); 2167-2177

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202106035

吴芳兰, 李书玲, 杨梅, 等. LED 光质及光周期对香子含笑幼苗生长和光合特性的影响 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2167-2177.

http://www.guihaia-journal.com

WU FL, LI SL, YANG M, et al. Effects of LED light qualities and photoperiods on growth and photosynthetic characteristics of *Michelia gioii* [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2167-2177.

LED 光质及光周期对香子含笑幼苗生长和光合特性的影响

吴芳兰1,李书玲2,杨 梅1*,庞伟灿1,2,黄靖杰1,李乾林1,樊容源1

(1. 广西大学林学院, 广西森林生态与保育重点实验室, 南宁 530004; 2. 广西壮族自治区国有七坡林场, 南宁 530219)

摘 要:香子含笑(Michelia gioii)为我国珍贵阔叶树种,在用材、香料、景观等方面具有重要价值。为了进一步培育优良苗木和开发利用其非木质资源,该研究将香子含笑幼苗放置在由2个光周期(12、16 h・d⁻¹)和4种光质(R:B=8:1、R:B=6:1、R:B:P:G=8:1:1:1、R:B:P:G=6:1:1:1,其中R、B、P、G分别代表红光、蓝光、紫光、绿光)两两组合成、光照强度一致的8个光照条件下生长。结果表明:(1)香子含笑幼苗的苗高和地径增长量、叶长宽比、最大净光合速率、暗呼吸速率及光补偿点在12 h・d⁻¹光周期R:B=6:1光质下最高,叶面积和叶绿素含量在16 h・d⁻¹光周期R:B:P:G=6:1:1:1*1光质下最高。(2)16 h・d⁻¹光周期处理下的苗高增长量、叶面积、质量指数、叶绿素a+b含量、叶绿素a/b比值、类胡萝卜素含量和光饱和点均高于12 h・d⁻¹光周期。(3)在红蓝组合光质基础上添加紫、绿光提高了幼苗的质量指数,并影响光合色素的合成和积累;(4)光质R:B=6:1与R:B=8:1相比,更具有促进香子含笑幼苗苗高、地径、叶片生长及提高光合作用的潜力。综上结果认为,对于促进香子含笑幼苗生长和进行光合作用,光周期为16 h・d⁻¹光质为R:B:P:G=6:1:1:1*1%照条件的潜力较大,其次是光周期为12 h・d⁻¹光质为R:B=6:1的光照条件。

关键词: 香子含笑, LED, 光质,光周期, 生长特性, 光合特性 中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)12-2167-11

Effects of LED light qualities and photoperiods on growth and photosynthetic characteristics of *Michelia gioii*

WU Fanglan¹, LI Shuling², YANG Mei^{1*}, PANG Weican^{1,2}, HUANG Jingjie¹, LI Qianlin¹, FAN Rongyuan¹

 (1. Guangxi Key Laboratory of Forest Ecology and Conservation, Forestry College of Guangxi University, Nanning 530004, China; 2. Guangxi Zhuang Autonomous Region State-owned Qipo Forest Farm, Nanning 530219, China)

收稿日期: 2021-08-12

基金项目:国家重点研发计划项目(2017YFD0601101-2); 广西林业科技推广示范项目 [桂林科研(2021)7号] [Supported by Program of National Key Research and Development (2017YFD0601101-2)]; Promotion Demonstration Program of Guangxi Forestry Science and Technology [Gui Lin Ke Yan (2021)7]。

第一作者: 吴芳兰(1996-),硕士研究生,研究方向为森林培育,(E-mail)1274471747@qq.com。

¹ 通信作者:杨梅,博士,教授,博士研究生导师,研究方向为人工林培育与森林生态,(E-mail)fiyangmei@126.com。

Abstract; Michelia gioii is a precious broad-leaved tree species in China, which is of great value in terms of wood, fragrance and landscape. In order to further cultivate excellent seedlings and develop and utilize the non-woody resources, the seedlings of *M. gioii* were placed under eight light conditions with the same light intensity, which were composed by two photoperiods (12, 16 h \cdot d⁻¹) and four light qualities (R : B = 8 : 1, R : B = 6 : 1, R : B : P : G = 8:1:1:1, R:B:P:G=6:1:1:1, R, B, P and G respectively represent red light, blue light, purple light and green light). The results were as follows: (1) The growth of seedling height and ground diameter, leaf aspect ratio, maximum net photosynthetic rate, dark respiration rate and light compensation point reached the maximum values under the light quality R : B = 6 : 1 with a photoperiod of 12 h $\cdot d^{-1}$, while the leaf area and chlorophyll content were the highest under the light quality R: B: P: G=6:1:1:1:1 with a photoperiod of 16 h \cdot d⁻¹. (2) Compared to the treatment of photoperiod 12 h \cdot d⁻¹, the indicators in growth of seedling height, leaf area, quality index, chlorophyll a+b content, chlorophyll a/b ratio, carotenoid content and light saturation point showed higher under photoperiod 16 h · d^{-1} . (3) The addition of purple and green light into the red-blue light combination increased the quality index of seedlings and positively affected the synthesis and accumulation of photosynthetic pigments. (4) Compared with the light quality R: B=8:1, R: B=6:1 had more potential to promote the growth of seedling height, ground diameter and leaf, and to improve the photosynthesis of M. gioii seedlings. In conclusion, the light quality R : B : P : G = 6 : 1 : 1 :1 with a photoperiod of 16 h \cdot d⁻¹ demonstrates the higher possibility to promote the growth and photosynthesis of *M. gioii* seedlings, followed by the light quality R : B = 6 : 1 with a photoperiod of 12 h \cdot d⁻¹.

Key words: Michelia gioii, LED, light quality, photoperiod, growth characteristics, photosynthetic characteristics

相较于传统光源,LED 灯为冷光源,可靠近植 物照明,具有更强的耐用性和更窄的波谱,能更好 地控制光质和光强(崔瑾等,2008;Sabzalian et al., 2014)。随着生产工艺水平的提高和成本的降低, LED 灯已被广泛应用在人工补光、植物组培、遗传 育种、植物工厂以及太空农业等领域,但目前在林 木育苗及资源化培育中应用很少。光周期不仅能 调控植物成花诱导、花芽分化和植物休眠,还影响 植物的光合作用和光形态建成,调控和诱导植物生 长(王建平等,2020)。在黄昏后补充 LED 照明可以 显著促进植物的生长发育(Koksal et al., 2015)。因 此,在苗木培育中,通过补光技术,延长光周期来加 快生长速度,有望解决苗木幼苗期生长缓慢的问 题。光质即不同波长的光谱,是影响植物生长、叶 形、花形态、生化特性和光合效率的主要因素之一 (Lin et al., 2021)。光质对植物光合作用的调节主 要体现在植物叶绿体形成、光合色素合成、叶片气 孔运动、叶片伸展和碳同化等方面(邢阿宝等, 2018)。植物对各种光质的敏感程度不同,在可见 光光谱(400~700 nm)中,植物和光感受器所能感受 到的主要波长是蓝色(400~500 nm)和红色 (600~700 nm),绿色(500~600 nm)相对较少 (Huché-Thélier et al., 2016)。虽然已有许多关于 红蓝组合光对植物生长影响的研究,但在红蓝光

基础上添加其他光源的复合光的研究还较少。

香子含笑(Michelia gioii)又名八角香兰、香梓 楠、麻罕、香籽含笑等,为木兰科含笑属常绿乔木。 该树种具有广泛的用途,是我国亚热带地区珍贵 的用材树种和优良的园林绿化树种。前人已对其 木材质量(黎小波等,2014)、轻基质育苗(麻静等, 2012)和嫁接繁殖(李运兴,2001)等技术进行了研 究。由于其全株具有芳香气味、种子可入药兼做 调味品,因此前人对其叶(李国红等,2007;闫浩 等,2019)、果实(刘杰凤等,2007;黄敏等,2008)、 枝条(Ha et al., 2019)等部位的化学成分进行了 分析,并且分别在种子和叶中发现了在医药上具 有重要用途的苯丙酸甘和小白菊内酯(Wang et al., 2011;夏伟等, 2014)。可见, 香子含笑具有较 大的非木质资源开发利用潜力。光照条件不仅对 植物的形态建成、生理代谢、生长发育起重要调节 作用,还对植物有效成分含量产生影响,利用光调 控技术,将有助于优良香子含笑苗木培育和开发 利用其非木质资源。因此,本研究利用 LED 灯调 制不同光质配比和控制光周期,研究光质及光周 期对香子含笑生长和光合特性的影响,筛选适合 定向培育香子含笑的 LED 光环境因子组合,以期 为利用 LED 光源进行木本植物资源化培育的推广 应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为2个月生的香子含笑幼苗,由广西 壮族自治区国有七坡林场提供。人工光源 LED 灯 管(T5 2835L)由深圳市伟信力光电有限公司生产 提供。不同 LED 光源的发光峰值分别为红光 620~630 nm、蓝光 460~470 nm、紫光 410~420 nm、绿光 520~530 nm,光质配比由不同颜色灯珠 的数量比构成。

1.2 试验设计

试验在广西大学林学院苗圃示范基地 (108°22' E、22°48' N)进行。2019 年 5 月将香子 含笑幼苗移植于直径 10 cm、高 15 cm 的育苗杯 中,每杯中定植1株,置于苗圃大棚内培养。栽培 基质为森林土:泥炭土:椰糠=5:3:2,基质的 pH 为 6.34, 有机质含量为 25.06 g·kg⁻¹, 全氮为 1.98 g·kg⁻¹,全磷为 0.81 g·kg⁻¹,全钾为 8.54 g· kg-1。2019年6月选取240株长势基本一致、无病 虫害的香子含笑幼苗「苗高为(11.18±0.21)cm, 地径为(3.22±0.09)mm]置于钢架培养棚中,采用 8 种不同 LED 光照环境培养。光照环境处理采用 双因素交叉式分组试验设计,由2个光周期(12、 16 h・d⁻¹)和4 种光质(R:B=8:1、R:B=6:1、 R: B: P: G=8:1:1:1, R: B: P: G=6:1:1:1,其中R、B、P、G分别代表红光、蓝光、紫光、绿光)分 别组合成 8 个处理: 12×8R1B、12×6R1B、12× 8R1B1P1G, 12×6R1B1P1G, 16×8R1B, 16×6R1B, 16×8R1B1P1G、16×6R1B1P1G、每个处理3个重 复,每个重复10株苗木。光周期采用定时器调 控,12、16 h · d⁻¹光周期的光照时间分别为7:00— 19:00、5:00-21:00。钢架培养棚高 0.9 m、宽 0.8 m,棚四周使用2层遮荫网为遮光材料,避免外界 光环境的过多干扰。每个光环境培养棚顶部均安 装 LED 灯 2 盏, 使用 MQ-500 手持式光量子测量 仪(Apogee Instruments 公司,美国)测定光照强度, 并调整光源到幼苗顶部的距离为(30±5)cm,使 幼苗顶部光照强度为 (100 ± 10) µmol·m⁻²·s⁻¹。 棚内设自动喷灌系统,每天喷灌2次,棚内温度 为(28±3)℃,相对湿度为 50%~60%。每月定期 对每株幼苗施用同种等量的复合肥。

1.3 指标测定

1.3.1 植株生长指标测定 于 2019 年 6 月开始光 照处理时对每株幼苗苗高、地径、叶面积进行初次 测定。地径采用 0.01 mm 精度电子数显游标卡尺 测量;苗高为根径至生长点距离,采用 0.1 cm 精度 直尺测量;采用 YM J-B 便携式叶面积仪(浙江托 普云农科技股份有限公司,中国)测定从顶端往下 数第三片完全展开叶的叶面积。同年 10 月进行 第二次测定,每处理选取 3 株(每个重复 1 株)生 长中等水平的幼苗,将其连根从土壤中挖出,冲洗 干净,吸干水后,用电子天平分别称量根、茎和叶 鲜重,烘干至恒重后称其干重,并计算相应的参数 (刘金炽等,2020;付志高等,2021):

叶重比(leaf biomass ratio, LBR)=叶干重/全 株干重;

根重比(root biomass ratio, RBR)=根干重/全 株干重;

茎重比(stem biomass ratio, SBR)= 茎干重/全 株干重;

根冠比(root/shoot ratio, R/SR)=根干重/(茎 干重+叶干重);

质量指数(quality index, QI)=全株干重/(苗 高/地径+茎干重/根干重)。

1.3.2 植株叶片光合特征参数测定 2019 年 10 月,选择晴朗、无强风、气温较稳定的日子,每个处 理选取 3 株(每个重复 1 株)生长势一致、叶片完 好的植株,于上午 9:00—12:00 采用 Li-6400 便携 式光合测定仪(Li-COR 公司,美国)测定植株叶片 光响应曲线。光合有效辐射梯度为 0、20、50、100、 150、200、400、600、800、1 000、1 200、1 500 μ mol・ m⁻²·s⁻¹,测定叶片为植株顶端往下数第三片的成 熟健康叶。室温控制为(30±1)℃,相对湿度为 (50±5)%,外界 CO₂浓度为 400 μ mol·m⁻²·s⁻¹, 每个光合有效辐射梯度下平衡(3±0.5)min。

采用直角双曲线修正模型拟合光响应曲线 (汪凤林等,2017):

$$P_n = \alpha \frac{1 - \beta I}{1 + \gamma I} I - R_d \circ$$

式中: P_n 为净光合速率; I为光合有效辐射; α 为初始斜率; β 、 γ 为系数; R_d 为暗呼吸速率。

通过拟合光响应曲线得到最大净光合速率 (A_{max})、光补偿点(light compensation point, LCP)、 光饱和点(light saturation point, LSP)、暗呼吸速率 (R_d) 等反映植物光合特性的参数。

1.3.3 植株叶片光合色素含量测定 2019 年 10 月,选用与测定光响应曲线一致的叶片测定光合 色素含量。使用打孔器将叶片打成直径 1 cm 的小 圆片,将同一个处理内的圆片混合后,称取 3 份平 行样,参考熊庆娥(熊庆娥,2003)等的方法测定叶 绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素含量,并计算叶绿素 a+b 含量和 a/b 比值。

1.4 数据处理

利用 Microsoft Excel 2019 和 IBM SPSS 25.0 统 计分析软件对数据进行统计分析, Duncan 检验法 进行多重比较分析和差异显著性检验(α=0.05), 使用 Origin 2021 和 R 软件作图。图表中数据为平 均值±标准差。

2 结果与分析

2.1 光质及光周期对香子含笑幼苗主要形态特征 的影响

由图 1 可知,12×6R1B 处理的苗高、地径增长 量及叶长宽比最高,分别为 3.62 cm、0.59 mm、1.63, 分别是最低处理的 251.39%、353.93%、131.52%,其 叶面积、叶长、叶宽仅次于 16×6R1B1P1G 处理,其 中苗高、地径增长量及叶面积显著高于 12 h・d⁻¹光 周期的其他处理。16×6R1B1P1G 处理的叶面积最 高,为 2 403.88 mm²,是最低处理的 251.94%,其苗 高增长量仅次于 16×6R1B 处理。除 12×6R1B 处理 外,16 h・d⁻¹光周期的幼苗苗高增长量及叶面积均 比 12 h・d⁻¹光周期高。在 2 个光周期中,幼苗的主 要形态指标大体表现为 6R1B 和 6R1B1P1G 光质高 于 8R1B 和 8R1B1P1G 光质。由表 1 可知,光质、光 周期及其交互作用显著影响苗高增长量和叶面积 (P<0.05),光质和交互作用显著影响地径增长量、 叶长及叶宽(P<0.05)。

2.2 光质及光周期对香子含笑幼苗生物量分配的影响

由图2可知,红蓝组合光基础上添加紫绿光降低了幼苗茎重比,但提高了叶重比与质量指数。 在同一光质不同光周期环境生长的幼苗的叶重比 与质量指数表现为16h·d⁻¹光周期高于12h·d⁻¹ 光周期。在2个光周期中,各光质下幼苗的质量 指数从小到大排序均为8R1B<6R1B<8R1B1P1G< 6R1B1P1G,其中,除12×6R1B1P1G处理外,16× 6R1B1P1G处理为0.02,显著高于其他处理,是质 量指数最低的 12×8R1B 处理的 170.56%。由表 2 可知,光质和光周期显著影响茎重比、叶重比和质 量指数(P<0.05),但其交互作用对茎重比、叶重比 和质量指数未产生明显的影响。

2.3 光质及光周期对香子含笑幼苗叶片光合色素 的影响

由图 3 可知,12×8R1B 处理的光合色素含量均 显著低于其他处理,16×6R1B1P1G 处理的叶绿素 a、b及叶绿素 a+b 含量分别为 1.46、0.81、2.27 mg・ g⁻¹,显著高于其他处理,分别是最低的 12×8R1B 处 理的 232.00%、199.43%、219.24%。16 h・d⁻¹光周期 的幼苗叶片光合色素含量及叶绿素 a/b 比值均高于 12 h・d⁻¹光周期。光质、光周期及其交互作用显著 影响香子含笑叶片的叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a+ b 及类胡萝卜素含量(P<0.05),光周期显著影响香 子含笑叶片的叶绿素 a/b 比值(P<0.05)(表 3)。

2.4 光质及光周期对香子含笑幼苗叶片光合特性 的影响

图 4 为拟合后的光响应曲线。由图 4 可知,在 光合有效辐射低于 200 μmol · m⁻² · s⁻¹时,各光照 处理下香子含笑叶片 *P*_n均随着光合有效辐射的增 加而快速升高,当光合有效辐射高于 200 μmol · m⁻² · s⁻¹时,*P*_n随光合有效辐射增加的变化逐渐变 缓,各处理的 *P*_n值差异逐渐变大。

由表4可知,香子含笑叶片的 A_{max} 在12×6R1B 处理下最高(3.38 µmolCO₂ · m⁻² · s⁻¹),并显著高于 其他处理,其次为 16×6R1B1P1G 处理(2.57 µmolCO₂ · m⁻² · s⁻¹),最低为 16×8R1B1P1G 处理 (1.97 µmolCO₂ · m⁻² · s⁻¹)。12×6R1B 和 12×8R1B 处理的 R_d 显著高于其他处理,16×8R1B1P1G 处理 的 R_d 最低。12×8R1B1P1G 处理的 LSP 为 677.13 µmol · m⁻² · s⁻¹,显著高于其他处理,并且除 12× 8R1B1P1G 处理外,16 h · d⁻¹ 光周期其他处理的 LSP 均高于 12 h · d⁻¹ 光周期。12×6R1B 和 12× 8R1B 处理的 LCP 较高,而 LSP 较低。光质、光周期 及其交互作用极显著影响 A_{max} 和 R_d (P<0.01),光质 与交互作用极显著影响 LSP(P<0.01)(表 5)。

3 讨论

3.1 幼苗生长对光质及光周期的响应

红光可促进植物茎伸长和干物质积累,蓝光 对植物的伸长生长具有抑制作用(Li et al., 2016;


GSH. 苗高增长量; **GGD**. 地径增长量; **LA**. 叶面积; **LL**. 叶长; **LW**. 叶宽; **LAR**. 叶长宽比。不同小写字母表示两处理间差异 显著(*P*<0.05)。下同。

GSH. Growth of seedling height; **GGD**. Growth of ground diameter; **LA**. Leaf area; **LL**. Leaf length; **LW**. Leaf width; **LAR**. Leaf aspect ratio. Different lowercase letters indicate significant differences between the two treatments (P<0.05). The same below.

图 1 不同光质及光周期对香子含笑幼苗生长形态的影响

Fig. 1 Effects of different light qualities and photoperiods on growth morphology of Michelia gioii seedling

表 1 不同光质及光周期下香子含笑幼苗生长形态的双因素方差分析

Table 1	Two-way ANOVA	analysis on	growth	morphology	of	Michelia	gioii	seedling
rabio r	100 000 1100 111	unaryono on	Stonth	morphotogy	01	menered	5000	securing

under different light qualities and photoperiods

指标 Indicator	光质 Light quality		光周期 Photoperiod		光质 × 光周期 Light quality × Photoperiod	
Indicator	F	Р	F	Р	F	Р
苗高增长量 GSH	8.678	0.001**	5.281	0.035*	8.570	0.001**
地径增长量 GGD	9.085	0.001**	0.023	0.881	2.947	0.064
叶面积 LA	11.136	0.000**	4.666	0.046*	3.622	0.036*
叶长 LL	6.481	0.004**	2.078	0.169	1.729	0.201
叶宽 LW	9.145	0.001**	2.772	0.115	1.570	0.236
叶长宽比 LAR	1.115	0.372	0.465	0.505	1.075	0.387

注: GSH. 苗高增长量; GGD. 地径增长量; LA. 叶面积; LL. 叶长; LW. 叶宽; LAR. 叶长宽比。*表示显著差异(P<0.05); **表示极显著差异(P<0.01)。下同。

Note: **GSH**. Growth of seedling height; **GGD**. Growth of ground diameter; **LA**. Leaf area; **LL**. Leaf length; **LW**. Leaf width; **LAR**. Leaf aspect ratio. * indicates significant differences (P<0.05); ** indicates extremely significant differences (P<0.01). The same below.

Hosseini et al., 2019),较红蓝单色光,红蓝组合光 更有利于植物的生长(Sang-Ho et al., 2007; Li &

Kubota, 2009)。本研究中, 6R1B、6R1B1P1G 光质 较 8R1B、8R1B1P1G 光质提高了香子含笑幼苗的



RBR. 根重比; SBR. 茎重比; LBR. 叶重比; R/SR. 根冠比; QI. 质量指数。 RBR. Root biomass ratio; SBR. Stem biomass ratio; LBR. Leaf biomass ratio; R/SR. Root / shoot ratio; QI. Quality index.

图 2 不同光质及光周期对香子含笑幼苗生物量分配及质量指数的影响 Fig. 2 Effects of different light qualities and photoperiods on biomass allocation and quality index of *Michelia gioii* seedling

表 2 不同光质及光周期下香子含笑幼苗生物量分	} 配和质量指数的双因素方差分析
-------------------------	-------------------------

Table 2	Two-way ANOVA analysis on biomass allocation and quality index of Michelia gio	ii
	seedling under different light qualities and photoperiods	

指标	光质 Light quality		光周期 Photoperiod		光质 × 光周期 Light quality × Photoperiod	
Indicator	F	Р	F	Р	F	Р
根重比 RBR	1.356	0.292	0.055	0.818	0.329	0.804
茎重比 SBR	4.143	0.024*	7.578	0.014*	0.632	0.605
叶重比 LBR	4.809	0.014*	4.903	0.042*	0.964	0.434
根冠比 R/SR	1.206	0.34	0.005	0.947	0.341	0.796
质量指数 QI	4.337	0.02*	6.485	0.022*	0.126	0.943

注: RBR. 根重比; SBR. 茎重比; LBR. 叶重比; R/SR. 根冠比; QI. 质量指数。

Note: RBR. Root biomass ratio; SBR. Stem biomass ratio; LBR. Leaf biomass ratio; R/SR. Root / shoot ratio; QI. Quality index.

苗高、地径增长量、叶面积及叶长宽比,这可能是 et al., 2012),进而影响香子含笑幼苗的生长形态。3R1B 是促进番茄幼苗植株生长最佳的红蓝 组合光(王丽伟等,2017),7R3B 是促进红叶石楠 某一单色光比例的改变引起了避荫效应(Keuskamp 组培苗生长最佳的红蓝组合光(王政等,2019), 1R9B 是培育油茶壮苗较为理想的红蓝组合光质 (龚洪恩等,2018),可见,植株对光质的响应具有



Chl a. 叶绿素 a; Chl b. 叶绿素 b; Chl a+b. 叶绿素 a+b; Chl a/b. 叶绿素 a/b 比值。 Chl a. Chlorophyll a; Chl b. Chlorophyll b; Chl a+b. Chlorophyll a+b; Chl a/b. Chlorophyll a/b ratio.

Fig. 3 Effects of different light qualities and photoperiods on photosynthetic pigment content in leaf of Michelia gioii seedling

表 3 不同光质及光周期下香子含笑幼苗光合色素含量的双因素方差分析

Table 3 Two-way ANOVA analysis on photosynthetic pigment content of Michelia gioii

指标	光质 Light quality		光周期 Photoperiod		光质 × 光周期 Light quality × Photoperiod	
Indicator –	F	Р	F	Р	F	Р
叶绿素 a Chl a	4.521	0.018*	99.210	0.000**	14.429	0.000**
叶绿素 b Chl b	5.955	0.006**	74.185	0.000**	15.347	0.000**
叶绿素 a+b Chl a+b	5.207	0.011*	94.879	0.000**	15.399	0.000**
叶绿素 a/b Chl a/b	0.185	0.905	27.461	0.000**	1.414	0.275
类胡萝卜素 Carotenoid	4.790	0.014*	143.678	0.000**	16.389	0.000**

seedling under different light qualities and photoperiods

注: Chl a. 叶绿素 a; Chl b. 叶绿素 b; Chl a+b. 叶绿素 a+b; Chl a/b. 叶绿素 a/b 比值。

Note: Chl a. Chlorophyll a; Chl b. Chlorophyll b; Chl a+b. Chlorophyll a+b; Chl a/b. Chlorophyll a/b ratio.

物种特性(胡举伟等,2019)。在红蓝组合光基础 上添加绿光对黄瓜幼苗植株形态没有影响 (Hernández & Kubota, 2016),本研究添加紫、绿光 对香子含笑生长形态的促进效果也不明显。而另 有研究发现红色和蓝色光中加入 24%的绿光可以 促进植株生长(Kim et al., 2004),高强度绿色 LED 光对植物生长有促进作用(Johkan et al., 2012)。因此,添加具有足够高的光照强度和比例的绿光,可能才会对香子含笑幼苗的生长形态产生影响。延长光周期提高了香子含笑幼苗苗高增长量与叶面积,这与不同光照时间对欧美杨幼苗 生长的研究结果相似(刘成功等,2018)。

苗木各部分的协调和平衡共同决定了苗木质量的高低,苗木质量指数越高,苗木质量越好(周

图 3 不同光质及光周期对香子含笑幼苗叶片光合色素含量的影响



P". 净光合速率; I. 光合有效辐射。

 $\pmb{P}_n.$ Net photosynthetic rate; $\pmb{I}.$ Photosynthetically active radiation.





磊等,2021)。延长光周期使香子含笑叶片进行光 合作用时长增加,光合产物分配向叶片倾斜,使分 配到茎的光合产物减少,导致茎重比降低,叶重比 增加,从而提高香子含笑幼苗的质量指数。在红 蓝组合光基础上添加紫绿光,香子含笑幼苗虽然 在形态建成上没有表现出规律性,但在生物量分 配上表现出一定的规律性,具体表现为添加紫绿 光后降低了茎重比,提高了叶重比,并且最终提高 了质量指数,这体现了复合光对植物的作用效应 不是单色光作用简单累加,而是一个复杂的响应 过程,与刘晓英等(2010)研究结果相似。而在 16 h・d⁻¹光周期中,8R1B、6R1B 与 8R1B1P1G 光质 间的质量指数相差不大,原因可能是较光质对香 子含笑幼苗生长发育的影响,延长光周期对幼苗 的生长影响更大(曹宝慧等,2020)。

3.2 幼苗光合生理对光质及光周期的响应

光影响光合色素的形成,光合色素能够吸收、 传递和转换光能,其含量与组成直接影响叶片的 光合速率,从而影响植株的生长(Gao et al., 2020)。前人研究发现在红蓝复合光基础上添加 紫光及紫黄光显著地降低叶片的叶绿素含量,添 加黄光、绿光及绿黄紫光显著增大了叶绿素和类 胡萝卜素的值,红蓝黄绿紫复合光有利于光合色 素积累(刘晓英等,2010;郭丽丽等,2015)。本研 究在红蓝光质基础上添加少量绿光与紫光后,显 著提高了 12×8R1B1P1G 和 16×6R1B1P1G 处理 的叶绿素 和类胡萝卜素含量,降低了 12× 6R1B1P1G 处理的叶绿素和类胡萝卜素含量,这 可能是红蓝组合光基础上添加其他光质导致了互 补效应的产生,进而导致植物光合色素的合成与 积累的不同。较 12 h·d⁻¹光周期,16 h·d⁻¹光周 期处理促进香子含笑叶片叶绿素和类胡萝卜素含 量和叶绿素 a/b 比值增加,能更有效地促进叶片 对光能的转换、捕获和传递能力,Xu 等(2020)在 杉木组培苗中也得出相似的研究结果。

光合速率是衡量光合作用量的指标(潘瑞炽, 2004), Amax反映了叶片的光合潜能。在红蓝 LED 混合光处理下,由于红蓝光谱能量分布与叶绿素 吸收的相似性,植物通过增加净光合速率来生长 发育(Kim et al., 2004)。在8种光照条件下,12× 6R1B 和 16×6R1B1P1G 处理都具有较高的 A_{max}, 其苗高、地径增长量及叶面积也表现为较高水平, 由此可见,适合的光周期与光质组合能显著提高 植物的光合与生长能力。LSP 和 LCP 分别反映了 植物对强光和弱光的利用能力和生态的适应性 (康红梅等,2021),光谱越窄植物适应光照范围越 小,对弱光和强光的利用和对生态的适应性也越 弱。在12h・d⁻¹光周期中,6R1B和8R1B光质处 理有较低的 LSP,较高的 LCP 和 R_d ,生产能力低而 消耗高,对环境的适应性较弱,6R1B1P1G和 6R1B1P1G 光质处理有较高的 LSP, 较低的 LCP 和 R_{a} ,生产能力高而消耗低,对环境的适应性较强; 而在 16 h · d⁻¹光周期中却几乎表现出相反的结 果,其原因也可能是较改变光质比例,延长光周期 对香子含笑幼苗光合生理的影响更大。

4 结论

光质和光周期及其相互作用不仅对香子含笑 幼苗的生长和形态产生了影响,还显著影响了相 关光合过程。较红蓝光比例为8:1的光质,红蓝 光比例为6:1的光质促进香子含笑幼苗苗高、地 径、叶片生长及提高光合作用的潜力更大。在红 蓝组合光质的基础上添加紫、绿光质提高了幼苗 的质量,并且对光合色素的合成和积累产生影响。 光周期16h·d⁻¹较12h·d⁻¹更能促进香子含笑幼 苗叶片光合色素的合成和积累,进而促进光合作

表 4 不同光质及光周期对香子含笑幼苗叶片光合特征参数的影响

Table 4 Effects of different light qualities and photoperiods on photosynthetic characteristic

parameters in leaf of Michelia gioii seedling

光周期 Photoperiod (h・d ⁻¹)	光质 Light quality	最大净光合速率 A _{max} (µmolCO ₂ • m ⁻² • s ⁻¹)	暗呼吸速率 R_d (μ molCO ₂ · m ⁻² · s ⁻¹)	光饱和点 LSP (µmol・m ⁻² ・s ⁻¹)	光补偿点 LCP (µmol・m ⁻² ・s ⁻¹)
12	8R1B	2.46±0.15b	1.1±0.12a	314.39 ± 92.28 cd	11.66±5.16a
	6R1B	$3.38 \pm 0.08a$	1.32±0.23a	$257.68{\pm}48.51\mathrm{d}$	12.38±4.54a
	8R1B1P1G	$2.56{\pm}0.12{\rm b}$	$0.14{\pm}0.02{\rm cd}$	677.13±128.76a	$7.89{\pm}1.49{\rm ab}$
	6R1B1P1G	$2.05{\pm}0.08{\rm c}$	$0.42 \pm 0.11 \mathrm{bc}$	$324.08{\pm}20.61{\rm cd}$	8.13 ± 0.61 ab
16	8R1B	$2.38 \pm 0.1 \mathrm{b}$	$0.39{\pm}0.17{\rm bc}$	$411.01{\pm}35.58{\rm bcd}$	$5.73 \pm 1.61 \mathrm{b}$
	6R1B	$2.52{\pm}0.17\mathrm{b}$	$0.64 \pm 0.23 \mathrm{b}$	$563.17 \pm 192.17 \mathrm{ab}$	$8.75{\pm}0.38{\rm ab}$
	8R1B1P1G	$1.97 \pm 0.21 \mathrm{c}$	$0.08{\pm}0.00{\rm d}$	$444.54{\pm}23.27{\rm bc}$	$8.25{\pm}1.09{\rm ab}$
	6R1B1P1G	$2.57 \pm 0.22 \mathrm{b}$	$0.55 \pm 0.22 \mathrm{b}$	$388.99{\pm}28.81{\rm cd}$	$10.93 \pm 3.28 \mathrm{ab}$

注: A_{max}. 最大净光合速率; R_d. 暗呼吸速率; LSP. 光饱和点; LCP. 光补偿点。下同。不同小写字母表示两处理间差异显著(P<0.05)。

Note: A_{max} . Maximum net photosynthetic rate; R_d . Dark respiration rate; LSP. Light saturation point; LCP. Light compensation point. The same below. Different lowercase letters indicate significant differences between the two treatments (P < 0.05).

表 5 不同光质及光周期下香子含笑幼苗光合特征参数的双因素方差分析

 Table 5
 Two-way ANOVA analysis on photosynthetic characteristic parameters of Michelia gioii seedling under different light qualities and photoperiods

指标 Indiastan	光质 Light quality		光周期 Photoperiod		光质 × 光周期 Light quality × Photoperiod	
	F	Р	F	Р	F	Р
最大净光合速率 A _{max}	25.985	0.000**	16.741	0.001**	24.239	0.000**
暗呼吸速率 R_d	31.401	0.000**	24.200	0.000**	10.317	0.001 **
光饱和点 LSP	6.455	0.005**	2.445	0.137	8.732	0.001 **
光补偿点 LCP	0.866	0.479	1.902	0.187	2.856	0.070

用的进行和植株的生长。8个光照条件中,16× 6R1B1P1G光照条件对促进香子含笑幼苗生长和 进行光合作用具有较大的潜力,其次为12×6R1B。

参考文献:

- CUI J, XU ZG, DI XR, 2008. Applications and prospects of light emitting diode in plant protected culture [J]. Trans Chin Soc Agric Eng, 24(8): 249-253. [崔瑾, 徐志刚, 邸 秀茹, 2008. LED 在植物设施栽培中的应用和前景 [J]. 农业工程学报, 24(8): 249-253.]
- CAO BH, LIU P, WEI HX, et al., 2020. Effects of different exogenous light sources on the growth, nutrient accumulation and non-structural carbohydrate of *Acer truncatum* seedlings [J]. J Shenyang Agric Univ, 51(6): 656-662. [曹宝慧, 刘平, 魏红旭, 等, 2020. 不同外源光对元宝枫幼苗生长、

养分积累和非结构性碳水化合物的影响 [J]. 沈阳农业 大学学报, 51(6): 656-662.]

- FU ZG, LI LF, WANG K, et al., 2021. Effects of slow-release fertilizer matching N and P fertilizer on growth and biomass for wild transplanted seedlings of *Keteleeria evelyniana* [J]. J Sichuan Agric Univ, 39(2): 212–219. [付志高,李莲芳, 王凯,等, 2021. 缓释肥及氮和磷肥配施对滇油杉野生移 栽苗木生长和生物量的影响 [J]. 四川农业大学学报, 39(2): 212–219.]
- GONG HE, DING YF, YAO XH, et al., 2018. Effects of light qualities on growth and photosynthetic characteristics of *Camellia oleifera* cutting stocks [J]. For Res, 31(2): 176-182. [龚洪恩, 丁怡飞, 姚小华, 等, 2018. LED 光质对油 茶苗生长和光合特性的影响 [J]. 林业科学研究, 31(2): 176-182.]
- GAO S, LIU XN, LIU Y, et al., 2020. Photosynthetic characteristics and chloroplast ultrastructure of welsh onion (*Allium fistulosum* L.) grown under different LED

wavelengths [J]. BMC Plant Biol, 20(1): 78-89.

- GUO LL, LIU GX, GUO Q, et al., 2015. Effects of LED polychromatic light on morphological and physiological characteristics of 'Luoyang Hong' [J]. J Nucl Agric Sci, 29(5): 995 1000. [郭丽丽,刘改秀,郭琪,等, 2015. LED 复合光质对洛阳红形态和生理特性的影响 [J]. 核农学报, 29(5): 995-1000.]
- HUCHÉ-THÉLIER L, CRESPEL L, GOURRIEREC JL, et al., 2016. Light signaling and plant responses to blue and UV radiations-perspectives for applications in horticulture [J]. Environ Exp Bot, 121: 22-38.
- HUANG M, LIU JF, PENG X, et al., 2008. Extraction of volatile oil in *Michelia hedyosperma* Lew and determination of its chemical components [J]. Physiol Test Chem Anal, Part B: Chem Anal, 44(4): 330-331. [黄敏, 刘杰凤, 彭霞, 等, 2008. 八角香兰挥发油的提取与化学成分的测定 [J]. 理化检验(化学分册), 44(4): 330-331.]
- HA CTT, THAI TH, HIEN NT, et al., 2019. Chemical composition and antimicrobial activity of the leaf and twig essential oils of *Magnolia hypolampra* growing in Na Hang Nature Reserve, Tuyen Quang Province of Vietnam [J]. Nat Prod Commun, 14(6): 1934578-1986037.
- HOSSEINI A, ZARE MM, ALINIAEIFARD S, et al., 2019. Photosynthetic and growth responses of green and purple basil plants under different spectral compositions [J]. Physiol Mol Biol Plant, 25(3): 741-752.
- HU JW, DAI X, SONG T, et al., 2019. Effects of different light qualities on growth and photosynthetic characteristics of mulberry seedlings [J]. Bull Bot Res, 39(4): 481-489. [胡举伟,代欣,宋涛,等, 2019. 不同光质对桑树幼 苗生长和光合特性的影响 [J]. 植物研究, 39(4): 481-489.]
- HERNÁNDEZ R, KUBOTA C, 2016. Physiological responses of cucumber seedlings under different blue and red photon flux ratios using LEDs [J]. Environ Exp Bot, 121: 66–74.
- JOHKAN M, SHOJI K, GOTO F, et al., 2012. Effect of green light wavelength and intensity on photomorphogenesis and photosynthesis in *Lactuca sativa* [J]. Environ Exp Bot, 75: 128–133.
- KOKSAL N, INCESU M, TEKE A, 2015. Supplemental LED lighting increases pansy growth [J]. Hortic Bras, 33(4): 428-433.
- KEUSKAMP DH, KELLER MM, BALLARÉ CL, et al., 2012. Blue light regulated shade avoidance [J]. Plant Signal Behav, 7(4): 514–517.
- KIM HH, GOINS GD, WHEELER RM, et al., 2004. Greenlight supplementation for enhanced lettuce growth under redand blue-light-emitting diodes [J]. Hortsci A Pub Am Soc Hortic Sci, 39(7): 1617–1622.
- KANG HM, SONG ZQ, CAO DM, et al., 2021. Effects of shading on photosynthetic characteristics and chlorophyll fluorescence parameters of two shrubs [J]. N Hortic, (6):

59-65. [康红梅, 宋卓琴, 曹冬梅, 等, 2021. 遮荫对两种 灌木光合特性及叶绿素荧光参数的影响 [J]. 北方园艺, (6): 59-65.]

- LIN KH, HUANG MY, HSU MH, 2021. Morphological and physiological response in green and purple basil plants (*Ocimum basilicum*) under different proportions of red, green, and blue LED lightings [J]. Sci Hortic, 275: 109677.
- LI XB, ZHANG YW, FU YL, 2014. Bark percentage, green wood moisture content and wood density of *Micelia hedyosperma* Law [J]. Shaanxi For Sci Technol, (4): 1-4. [黎小波,张钰雯, 符韵林, 2014. 香梓楠树皮率、生材 含水率及木材密度研究 [J]. 陕西林业科技, (4): 1-4.]
- LI YX, 2001. Grafting propagation experiment of *Micelia hedyosperma* Law [J]. Guangxi For Sci, 30(4): 198-200. [李运兴, 2001. 香梓楠嫁接繁殖试验 [J]. 广西林业科学, 30(4): 198-200.]
- LI GH, HONG LJ, LI KQ, et al., 2007. Nematicidal active component from *Michelia hedyosperma* [J]. Chin J Biol Control, 23(3): 260-263. [李国红,洪林军,李可琴, 等, 2007. 香子含笑中的杀线虫活性成分及其毒力测定 [J]. 中国生物防治, 23(3): 260-263.]
- LIU JF, HUANG M, TAN LQ, et al., 2007. GC/MS analysis of chemical constituents of volatile oil of *Michelia hedyosperma* Lew fruits [J]. Chin J Pharm Anal, 27 (9): 1481-1483. [刘杰凤,黄敏,谭丽泉,等, 2007. 八角香兰果实 挥发性成分的气相色谱/质谱分析 [J]. 药物分析杂志, 27(9): 1481-1483.]
- LIU JC, ZHAO LJ, ZHU LQ, 2020. Effects of shading on growth and photosynthetic characteristics of three Magnoliaceae seedlings [J]. Guihaia, 40(8): 1159-1168. [刘金炽, 招礼军, 朱栗琼, 2020. 遮阴对三种木兰 科幼苗生长和光合特性的影响 [J]. 广西植物, 40(8): 1159-1168.]
- LI X, LU W, HU GY, et al., 2016. Effects of light-emitting diode supplementary lighting on the winter growth of greenhouse plants in the Yangtze River Delta of China [J]. Bot Stud, 57(1): 1-8.
- LI Q, KUBOTA C, 2009. Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce [J]. Environ Exp Bot, 67: 59-64.
- LIU CG, WANG MY, LIU N, et al., 2018. Effects of different irradiation duration on growth and photosynthetic characteristics of *Populus × euramericana* seedlings [J]. Sci Silv Sin, 54(12): 33-41. [刘成功, 王明援, 刘宁, 等, 2018. 不同光照时间对欧美杨幼苗生长和光合特性的影响 [J]. 林业科学, 54(12): 33-41.]
- LIU XY, XU ZG, CHANG TT, et al., 2010. Growth and photosynthesis of cherry tomato seedling exposed to different low light of led light quality [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 30(4): 725-732. [刘晓英, 徐志刚, 常涛涛, 等, 2010. 不同光质 LED 弱光对樱桃番茄植株形态和光合性

能的影响 [J]. 西北植物学报, 30(4): 725-732.]

- MA J, HUANG JS, ZHANG WX, 2012. Seedling culture of *Michelia hedyosperma* with light substrate [J]. For Eng, 28(6): 25-27. [麻静, 黄积寿, 张万幸, 2012. 香梓楠轻 基质育苗试验 [J]. 森林工程, 28(6): 25-27.]
- PAN RC, 2004. Plant physiology [M]. Beijing: Higher Education Press: 110-111. [潘瑞炽, 2004. 植物生理学 [M]. 北京:高等教育出版社: 110-111.]
- SABZALIAN MR, HEYDARIZADEH P, ZAHEDI M, et al., 2014. High performance of vegetables, flowers, and medicinal plants in a red-blue LED incubator for indoor plant production [J]. Agron Sustain Dev, 34(4): 879–886.
- SANG-HO L, RAJESH K T, EUN-JOO H, et al., 2007. Photon flux density and light quality induce changes in growth, stomatal development, photosynthesis and transpiration of *Withania somnifera* (L.) Dunal. plantlets [J]. Plant Cell, Tissue Organ Cult, 90(2): 141–151.
- WANG JP, WANG JZ, ZHOU J, et al., 2020. Recent progress of artificial lighting technique and effect of light on plant growth [J]. J Nanjing For Univ(Nat Sci Ed), 44(1): 215-222. [王建平, 王纪章, 周静, 等, 2020. 光照对农林植物 生长影响及人工补光技术研究进展 [J]. 南京林业大学 学报(自然科学版), 44(1): 215-222.]
- WANG XY, XU M, YANG CR, et al., 2011. Phenylpropanoid glycosides from the seeds of *Michelia hedyosperma* [J]. Food Chem, 126(3): 1039-1043.
- WANG FL, LIN SZ, YE YQ, et al., 2017. Comparison of light response curve fitting model and photosynthetic characteristics about Chinese fir seedlings under different light qualities [J]. Subtrop Agric Res, 13(3): 165 – 170. [汪凤林,林思祖,叶义全,等, 2017. 杉木幼苗不同 光质光响应曲线的模型拟合及光合特性比较 [J]. 亚热 带农业研究, 13(3): 165–170.]
- WANG LW, LI Y, XIN GF, et al., 2017. Effects of different proportions of red and blue light on the growth and photosynthesis of tomato seedlings [J]. Chin J Appl Ecol, 28(5): 1595 - 1602. [王丽伟,李岩,辛国凤,等, 2017. 不同比例红蓝光对番茄幼苗生长和光合作用的影

响 [J]. 应用生态学报, 28(5): 1595-1602.]

- WANG Z, MA J, HE SL, et al., 2019. Effect of different proportion of light quality of LED light source on the growth of *Photinia* × *fraseri* tissue culture seedlings [J]. Jiangsu Agric Sci, 47(7): 152–155. [王政, 马杰, 何松林, 等, 2019. LED 光源不同比例光质对红叶石楠组培苗生长的 影响 [J]. 江苏农业科学, 47(7): 152–155.]
- XING AB, CUI HF, YU XP, et al., 2018. Effects of different lights qualities and photoperiods on plant growth and development [J]. N Hortic, (3): 163-172. [邢阿宝, 崔海 峰, 俞晓平, 等, 2018. 光质及光周期对植物生长发育的 影响 [J]. 北方园艺, (3): 163-172.]
- XIA W, YAN H, DU JF, 2014. Studies on the extraction of parthenolide from the leaves of two species of *Michelia* in Hainan [J]. Technol Innov Appl, 14: 37. [夏伟, 闫浩, 杜 金风, 2014. 海南两种含笑属植物叶中提取小白菊内酯的 研究 [J]. 科技创新与应用, 14: 37.]
- XIONG QE, 2003. Experimental course in plant physiology [M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press: 30-40. [熊庆娥, 2003. 植物生理学实验教程 [M]. 成都:四川科学技术出版社: 30-40.]
- XU YY, YANG M, CHENG F, et al., 2020. Effects of LED photoperiods and light qualities on *in vitro* growth and chlorophyll fluorescence of *Cunninghamia lanceolata* [J]. BMC Plant Biol, 20(1): 269.
- YAN H, XU XF, DU JF, 2019. GC-MS analysis and antimicrobial study of volatile oil from *Michelia hedyosperma* leaves [J]. J Agric, 9(3): 56-60. [闫浩, 徐雪峰, 杜金 风, 2019. 香子含笑叶挥发油 GC-MS 分析及抗菌性研究 [J]. 农学学报, 9(3): 56-60.]
- ZHOU L, LIU ML, LI TH, et al., 2021. Effects of fertilization on growth and photosynthetic of *Phoebe hui* seedlings [J]. J Cent S Univ For Technol, 41(7): 80-87. [周磊, 刘美玲, 李铁华,等, 2021. 施肥对细叶桢楠容器苗生长与光合的 影响 [J]. 中南林业科技大学学报, 41(7): 80-87.]

(责任编辑 蒋巧媛)

广步植物 Guihaia Dec. 2022, 42(12): 2178-2187

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202102039

杜梅娜, 赵祥, 李铭佳, 等. 不同叶型维西堇菜叶片结构及光合特征比较 [J]. 广西植物, 2022, 42(12): 2178-2187. DU MN, ZHAO X, LI MJ, et al. Comparison of leaf structure and photosynthetic characteristics between two leaf types of *Viola monbeigii* [J]. Guihaia, 2022, 42(12): 2178-2187.



不同叶型维西堇菜叶片结构及光合特征比较

杜梅娜*,赵祥,李铭佳,徐军山

(西北师范大学生命科学学院,兰州 730070)

摘 要:为探讨叶片斑纹的光合适应意义,该文选择有斑和无斑两种叶型的维西堇菜(Viola monbeigii)作为研究材料,采用石蜡切片制片和显微镜观察叶片结构及 GFS 3000 便携式光合测量仪测量光合参数并进行比较。结果表明:(1)两种叶型维西堇菜气孔均为不等型气孔,有斑叶片上、下表皮气孔密度、栅栏组织(PT)厚度、栅栏组织与海绵组织的比值(PT/ST)均显著低于无斑叶片;而上表皮气孔较大,表现出更适应弱光环境的结构特征。(2)两种叶型维西堇菜暗呼吸速率(R_d)、初始荧光(F_o)、最大荧光产量(F_m)、光化学猝灭系数(q_p)、非光化学猝灭系数(q_N)、PSII最大光化学量子产量(F_e/F_m)、实际光化学反应量子效率(Yield)均无显著差异,有斑植株叶片叶绿素含量、最大净光合速率(P_{max})显著低于无斑植株;有斑叶片表观光合电子传递速率(ETR)在光合有效辐射(PAR)处于 400~2 000 µmol·m⁻²·s⁻¹之间时显著低于无斑叶片,无斑植株的光饱和点(LSP)高于有斑植株,而补偿点(LCP)较低。综上认为,无斑植株 PAR 利用范围较宽,光合适应能力更强,有利于维西堇菜充分利用环境中有限的资源,保障物种生存;有斑植株具有较适应弱光胁迫的特征,表明叶片斑纹的出现可能是维西堇菜适应林缘弱光环境的一种策略。

关键词:维西堇菜,光合特征,叶绿素荧光,显微结构,生态适应 中图分类号:Q945 文献标识码:A 文章编号:1000-3142(2022)12-2178-10

Comparison of leaf structure and photosynthetic characteristics between two leaf types of *Viola monbeigii*

DU Meina*, ZHAO Xiang, LI Mingjia, XU Junshan

(College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: In order to explore the photosynthetic adaptation significance of variegated leaves, variegated and non-variegated leaves of *Viola monbeigii* were selected as materials. The leaf structure was observed by paraffin section and microtechniques, and the photosynthetic parameters were measured by GFS 3000 portable photosynthesis measuring instrument. The results were as follows: (1) The stomata of variegated and non-variegated leaves were all unequal types. However, the stomatal density of the upper and lower epidermis, the thickness of palisade tissue (PT) and the ratio of palisade tissue to sponge tissue (PT / ST) of the variegated leaves were significantly lower than those of the non-

收稿日期: 2021-09-20

基金项目:国家自然科学基金(31660060) [Supported by National Natural Science Foundation of China (31660060)]。

第一作者: 杜梅娜(1993-),硕士研究生,研究方向为植物进化生态学,(E-mail)1293161196@ qq.com。

通信作者

variegated leaves; while the stomata of the upper epidermis of variegated leaves were larger than non-variegated leaves, showing more structural characteristics to adapt to the weak light intensity environment. (2) Both leaf types had no significant differences in dark respiration rate (R_d) , initial fluorescence (F_o) , maximum fluorescence yield (F_m) , photochemical quenching coefficient (q_p) , non-photochemical quenching coefficient (q_N) , maximal quantum yield of PS II (F_e/F_m) and practical photochemical reaction quantum efficiency (*Yield*), but the maximum net photosynthetic rate (P_{max}) and chlorophyll content in variegated leaves were significantly lower than non-variegated leaves; the apparent photosynthetic electron transfer rate (ETR) of variegated leaves was significantly lower than that of non-variegated leaves when the *PAR* was between 400–2 000 µmol \cdot m⁻² \cdot s⁻¹, while the light saturation point (*LSP*) of non-variegated leaves leaves and the light compensation point (*LCP*) was lower. In summary, non-variegated plants have a wider *PAR* utilization range and stronger photosynthetic adaptability, which is conducive to the use of limited resources in the environment and ensures the survival of species. Variegated plants have the characteristics of adapting to weak light stress, indicating that the appearance of variegated leaves may be a strategy for *V. monbeigii* to adapt to weak light environment at forest edge.

Key words: Viola monbeigii, photosynthetic characteristics, chlorophyll fluorescence, microstructure, ecological adaptation

叶片作为进行光合作用的主要器官,具有可塑 性较大、暴露在环境中面积最大且对环境变化敏感 的特征,其结构变化会直接影响植物的光合功能。 叶片解剖结构、生理特征以及形态性状等最能反映 植物对环境因子的适应能力(李芳兰和包维楷, 2005;夏国威等,2019;纪若璇等,2020)。光照是影 响植物叶片结构和光合特性的主要因素(甄伟和张 福墁,2000;蒋高明,2004),植物叶片中叶绿素的种 类、含量、分布影响了叶片的呈色以及对光的吸收 能力(Boardman, 1977; Lichtenthaler, 1987)。叶面 呈现异色斑纹或斑点是许多喜生于灌丛与密林下 层等弱光环境下植物的共同特性 (Givnish, 1990), 多见于粗肋草属以及秋海棠科(Fooshee & Henny, 1990; Kiew, 2005; 崔卫华和管开云, 2013)。植物 叶片的斑纹可能由多种机制产生(Hara, 1957),一 些植物的斑纹可以通过诱导叶片部分组织减少叶 绿素含量产生(Sheue et al., 2012), 而秋海棠属、粗 肋草属以及落檐属的叶片斑纹则是由叶片表皮层 与下层细胞之间的间隙导致 (Fooshee and Henny, 1990; Tsukaya et al., 2004; Zhang et al., 2009; Sheue et al., 2012)。目前,对叶片斑纹形成机制虽 已有较多研究(Smith, 1986; Tsukaya et al., 2004; 丁仁展等,2006; Soltau et al., 2009; 崔卫华和管开 云,2013; Chen et al., 2017),但对叶片斑纹存在的 适应意义仍缺乏了解。

维西堇菜(*Viola monbeigii*)为堇菜科(Violaceae)堇菜属(*Viola*)合生托叶组(Sect. Adnatae)的

多年生草本,具有叶型、花型优美,早春开放等特点 (中国科学院中国植物志编辑委员会,1991),是适 宜做早春花卉的重要资源植物,其喜生长于林缘、 山地阴坡、草从等弱光环境。维西堇菜有两种叶型 植株,即有斑叶型植株和无斑叶型植株,自然界中 既存在有斑、无斑叶型植株单独生长的居群,也存 在着两种叶型植株混合生长的居群。混生的两种 叶型维西堇菜为探究不同叶型光合适应意义提供 了理想材料。目前,有关维西堇菜的研究较少,主 要集中于繁殖适应以及引种驯化等方面(孙坤和王 庆瑞,1999;江龙龙等,2013;王亚莉,2017),未见光 合适应相关研究。因此,本研究以同域分布的两种 叶型的维西堇菜为材料,通过比较二者的叶片结 构、叶绿素含量和光合参数,拟解决以下问题:(1) 斑纹的存在是否影响叶片的结构:(2)不同叶型植 株对光照的适应范围是否一致:(3)叶片斑纹的存 在有何光合适应意义。

1 材料与方法

1.1 材料

两种叶型维西堇菜采自同域分布的甘肃平凉 崆峒山(106°31′8.04″ E、35°33′20.52″ N,海拔1 712 m),于 2020 年 9 月将长势均一的材料移栽至实验 室同一光照培养架培养,采取与野外光照时间相同 的条件(12 h 光照/12 h 黑暗)培养 1 个月,待长出 新叶后,各选取 10 株生长良好且长势一致的植株, 对其完全展开的第2~4片新叶(处于同一发育阶段)中大小相当的1片叶子测定光合参数、叶片结构以及叶绿素含量,每种叶型至少4个重复。

1.2 方法

1.2.1 叶片显微结构观察 将新鲜叶表皮撕下制 成活体临时装片,统计单位视野内的气孔数目,计 算单位面积气孔密度,显微镜(Leica DM6 B)测微 尺测量气孔器大小即纵轴长度和横轴长度。选择 完全展开的第2至第4片新叶片,FAA 固定液固 定48h,经梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋, 切片机(Leica RM 2255)切片,厚度8 μm,番红固 绿染色,中性树胶封片(吕晋慧等,2012)。显微镜 下观察拍照,测微尺测量叶片厚度(*LT*)、栅栏组织 厚度(*PT*)、海绵组织厚度(*ST*)、上表皮厚度(*E*)、 下表皮厚度(*H*)。

1.2.2 叶绿素含量测定 叶绿素含量采用丙酮乙 醇混合液法(张聪颖等,2011),称取 0.05 g 完全展 开的第 2 至第 4 片新叶,置于 5 mL 乙醇-丙酮混 合液中浸提至叶色完全变白色,紫外可见分光光 度计(岛津 UV-1800 型)663、645、470 nm 波长下 测定吸光值,以 Lichtenthaler 法计算叶绿素含量, 每种叶型重复 4 次(Lichtenthaler, 1987)。

1.2.3 叶片可见光吸收能力的测定 取 0.2 g 完全 展开的第 2 至第 4 片新叶剪碎,置于 10 mL 的 1% 盐酸-甲醇溶液中浸提 5 h,紫外分光光度计波长 300~1 100 nm 范围内扫描得出吸收光谱(齐建 勋,2002)。

1.2.4 光响应曲线以及叶绿素荧光测量 选择一 个晴天在8:30—11:30之间,使用GFS 3000 便携 式光合测量仪的标准光合测定系统和 3056FL 荧 光测定系统进行测量,设定流速为750 µmol·s⁻¹、 CO₂浓度为400 µmol CO₂·mol⁻¹(Mao et al., 2007;沈宗根等,2010),通过光合测定系统设定光 合有效辐射(PAR)为0、20、50、80、100、200、400、 600、800、1000、1 200、1 400、1 600、1 800、2 000 µmol·m⁻²·s⁻¹条件下测定净光合速率(P_n)、气孔 导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)等光合指标以及初始荧 光(F_o)、最大荧光产量(F_m)、光化学猝灭系数 (q_P)、非光化学猝灭系数(q_N)、PSII最大光化学量 子产量(F_v/F_m)、实际光化学反应量子效率 (*Yield*)、表观光合电子传递速率(*ETR*)等叶绿素 荧光指标。每个光强下平衡 3 min,测量 *PAR* 为 0 时先暗处理 1 h。使用 Photosynthesis 软件拟合求 出 $LCP (LSP, P_{max})$ 、暗呼吸速率 (R_d) 、表观量子效 率(AQE)(宋杰等, 2019)。

1.3 数据统计分析

使用 Excel 2016 和 SPSS 22.0 软件进行数据 统计和分析,采用独立样本 t 检验差异显著性, Duncan 法进行方差分析和多重比较。利用 Excel 2016 和 Origin 2018 软件作图。

2 结果与分析

2.1 两种叶型维西堇菜叶片形态结构

2.1.1 叶片气孔大小和密度比较 两种叶型维西 堇菜叶片气孔均为不等型气孔,上表皮气孔排列 疏松,气孔主要分布于下表皮,下表皮气孔器显著 小于上表皮。有斑叶片上下表皮气孔密度分别显 著低于无斑叶片,并且上表皮气孔长宽极显著大 于无斑叶片(表1)。

2.1.2 叶片显微结构比较 有斑维西堇菜叶片斑纹 主要生长在叶脉部位,图 2: b,d为不同叶型维西 堇菜叶片横切面,可以看出维西堇菜叶为异面叶类 型,近轴面分化为栅栏组织,叶绿体集中分布于栅 栏组织细胞中;远轴面为海绵组织,细胞分散分布, 其中叶绿体很少或者没有分布;上下表皮均为单层 细胞且细胞大小不均匀。两种叶片的叶肉细胞分 化具有明显差异,有斑叶片的*LT、H*均显著低于无 斑叶片(*P*<0.05),*PT、PT/ST*极显著低于无斑叶片 (*P*<0.01),而两种叶型维西堇菜叶片的*ST、E*无显 著差异(表 2)。

2.2 两种叶型维西堇菜叶片的叶绿素含量及可见 光吸收能力比较

两种叶型维西堇菜叶绿素含量如表3 所示,无 斑叶片叶绿素 a(chlorophyll a, Chl a)、叶绿素 b (chlorophyll b, Chl b)、胡萝卜素(carotene, Car)、 叶绿素(a+b)[Chl(a+b)]含量显著高于有斑叶片 (P<0.05),分别高出 15.32%、18.98%、22.43%、 13.85%,而 Chl a/Chl b 无明显差异。两种叶型维 西堇菜光谱吸收峰均在 300~480、630~670 nm 之 间,具有基本相同的光谱吸收曲线(图3)。

2.3 两种叶型维西堇菜的光合特征比较

2.3.1 光响应曲线 两种叶型维西堇菜 P_n 、 T_r 、 G_s 光响应曲线如图 4 所示, P_n 、 T_r 、 G_s 起初随 PAR 增强

表 1 两种叶型维西堇菜叶片气孔密度和大小

Table 1 Leaf stomata densities and sizes of two leaf types of Viola monbeigii

表皮 Epidermis	材料 Material	气孔密度 Density of stomata (ind.・mm ⁻²)	气孔器长 Stomata length (µm)	气孔器宽 Stomata width (μm)	气孔器长宽比 Ratio of length to width of stomata
上表皮	有斑叶片 Variegated leaf	6.392 ± 0.343	36.700±0.730**	26.050±0.505**	1.417 ± 0.036
Upper epidermis	无斑叶片 Non-variegated leaf	8.427±0.567*	31.250 ± 0.44	19.610±0.578	$1.619 \pm 0.036 *$
下表皮	有斑叶片 Variegated leaf	89.409 ± 2.686	28.750 ± 0.441	$20.500 \pm 0.420 *$	1.412 ± 0.034
Lower epidermis	无斑叶片 Non-variegated leaf	121.929±2.12**	28.900 ± 0.369	17.050 ± 0.373	1.711±0.043a*

注:数据以平均值±标准误差表示。*表示有斑、无斑各指标在 0.05 水平上差异显著, **表示在 0.01 水平上差异显著。下同。 Note: Data represent x̄±s_x.* means significant differences of each indicator between variegated leaves and non-variegated leaves at 0.05 level, and ** means significant differences at 0.01 level. The same below.



a. 有斑叶片上表皮; b. 无斑叶片上表皮; c. 有斑叶片下表皮; d. 无斑叶片下表皮。 a. Upper epidermis of variegated leaf; b. Upper epidermis of non-variegated leaf; c. Lower epidermis of variegated leaf; d. Lower epidermis of non-variegated leaf.

图 1 两种叶型维西堇菜叶片的气孔形态 Fig. 1 Lead stomata morphology of two leaf types of *Viola monbeigii*

逐渐增大,当 PAR 值大于光饱和点后增加幅度变 小。有斑叶片的 P_{max}(9.139 μmol・m⁻²・s⁻¹)显著 低于无斑(11.62 μmol・m⁻²・s⁻¹)且 AQE 和 LSP 低于无斑叶片,而 LCP 高于无斑叶片(表 4)。 2.3.2 叶绿素荧光比较 两种叶型维西堇菜叶绿

素荧光参数 F_o 、 F_m 、 q_P 、 q_N 值均无显著差异(表 5), 叶绿素荧光参数 F_v/F_m 、Yield 的光响应曲线一致。 *PAR*在 0~200 μmol · m⁻² · s⁻¹之间两种叶片 *ETR* 值无差异,但随 *PAR* 增强到 400 μmol · m⁻² · s⁻¹后 无斑叶片 *ETR* 值高于有斑叶片(图 5)。

3 讨论与结论

之前的研究表明, 具斑纹叶片叶肉细胞的排

表 2 两种叶型维西堇菜叶片显微结构								
	Table 2	Leaf microstructu	res of two leaf typ	bes of Viola monbe	eigii			
叶型 Leaf type	叶片厚度 Leaf thickness (µm)	栅栏组织厚度 Palisade tissue thickness (µm)	海绵组织厚度 Spongy tissue thickness (μm)	上表皮厚度 Epicuticle thickness (μm)	下表皮厚度 Hypodermis thickness(µm)	栅栏/海绵 PT/ST		
有斑叶片 Variegated leaf	175.750±2.731	38.667±1.787	78.444±4.503	35.400±0.792	14.000±0.850	0.436±0.029		
无斑叶片 Non-variegated leaf	183.250±1.761*	57.111±1.549**	66.556±2.549	36.400 ± 0.806	18.333±0.527*	0.835±0.061**		



a, b. 有斑叶片及其横切面; c, d. 无斑叶片及其横切面。

a, b. Variegated leaf and its transverse section; c, d. Non-variegated leaf and its transverse section.



列顺序及类型与正常叶片存在明显的不同 (Tsukaya et al., 2004; Zhang et al., 2009; Sheue et al., 2012)。Chen 等(2017)研究发现, *Blastus cochinchinensis* 有斑叶片主要由海绵组织构成, 而 无斑叶片主要为栅栏组织,而 La Rocca 等(2011) 发现, Arum italicum 斑纹叶片的浅色区域只有一层 栅栏组织, 而深色区域则具有两层栅栏组织。维 西堇菜有斑叶片的 PT 以及 PT/ST 显著低于无斑

Table 3 Leaf chlorophyll contents of two leaf types of Viola monbeigii									
叶型 Leaf type	叶绿素 a Chl a(mg・g ⁻¹)	叶绿素 b Chl b (mg・g ⁻¹)	类胡萝卜素 Car (mg・g ⁻¹)	叶绿素(a+b) Chl (a+b) (mg・g ⁻¹)	叶绿素 a/叶绿素 b Chl a / Chl b				
有斑叶片 Variegated leaf	2.076 ± 0.043	0.515 ± 0.0141	0.121 ± 0.003	2.591 ± 0.055	4.031 ± 0.071				
无斑叶片 Non-variegated leaf	$2.394 \pm 0.083 *$	$0.613 \pm 0.034*$	$0.148 \pm 0.004 *$	3.008±0.111*	3.923 ± 0.135				

表 3 两种叶型维西堇菜叶片的叶绿素含量





叶片,说明其叶片斑纹可能也存在着类似的机制。 植物可通过形态和生理的可塑性以适应其生存的 光环境,一般认为植物在弱光环境下会出现能量 消耗减少、单位面积叶鲜重下降、叶绿素含量降低 及叶片变薄的现象,从而确保较大的叶面积,以维 持正常的光合作用(Boardman, 1977;何静雯等, 2018)。植物叶片的海绵组织细胞增多有利于减 少光量子的损失,因此弱光环境下栅栏组织有向 海绵组织过渡的趋势(汪越等,2015:李芯妍等, 2017)。气孔密度影响气体扩散并与气孔导度呈 正相关,气孔较大以及气孔密度较低是弱光环境 下生长植物的特性(陈吉玉等,2019;盛洁悦等, 2020)。本研究中,有斑叶片的叶片厚度、PT、PT/ ST 比值及上下表皮气孔密度均显著低于无斑叶 片,而气孔器大于无斑叶片,表现出更适应弱光环 境的结构特征。

光合参数的动态变化体现了植物对环境因子 的适应机制,是反映植物对光能利用能力和效率 的重要指标(夏国威等,2019)。依据植物对光照 强度的需求不同,将植物分为阴生植物、阳生植物 和中间型植物.阴生植物通常 LCP 小于 20 µmol· m⁻² · s⁻¹、LSP 处于 500~1 000 μmol · m⁻² · s⁻¹之间 (蒋高明,2004;陈晓英等,2020),有斑叶片 LCP、 LSP 分别为 14.667 µmol · m⁻² · s⁻¹、620 µmol · m⁻² · s⁻¹:无斑叶片 LCP、LSP 分别为 9.333 umol · m⁻² · s⁻¹、737.3 µmol · m⁻² · s⁻¹, 由此可见, 两种叶 型维西堇菜均属于阴生植物。光饱和点(LSP)和 光补偿点(LCP)分别反映植物叶片对强光和弱光 的利用能力,具有较高 LSP 以及较低 LCP 的植物 光适应能力强(柴胜丰等,2015; Wang et al., 2020)。无斑维西堇菜具有较高的 LSP 以及较低 的 LCP, 可利用的 PAR 范围较宽, 说明其对强光的 利用能力更强。一般来说,较厚的叶片以及发达 的栅栏组织有利于吸收光能,可以提高植物的净 光合速率以及 LSP(Oguchi et al., 2003; 童升洪等, 2020),而最大净光合速率(Pmax)与LSP 越高的植 物对强光利用能力越强(陈晓英等,2020),表明无 斑维西堇菜较高的净光合速率可能与其叶片具发 达的栅栏组织有关。秦玉芝等(2014)研究发现在 弱光环境下,植物叶片厚度以及栅栏组织会变薄, 而叶绿素含量、AQE、LSP、 P_{max} 等光合指标会显著 降低。本研究中有斑叶片叶绿素含量、PT、Pm--显 著低于无斑叶片,且 AQE 相比无斑叶片有降低趋 势,表现出适应弱光环境的特征。

植物的光合色素含量和比例显著影响植物的 光合作用及其对环境的适应性,叶绿素是光合作 用的光敏催化剂,而类胡萝卜素是活性氧的有效 猝灭剂(王俊峰等,2003)。本研究中,除叶绿素 a/ 叶绿素 b 差异不显著外,无斑叶型植株的叶绿素 a/ 叶绿素 b 美异不显著外,无斑叶型植株的叶绿素 a 和叶绿素 b、类胡萝卜素以及总叶绿素含量均高于 有斑植株,而一般认为植物栅栏组织中的叶绿体 数量要高于海绵组织(王幼芳,2007)。这表明无 斑叶片较高的色素含量可能与其发达的栅栏组织 有关,其较高的净光合速率也与光能吸收、抗氧化 能力密切相关。非环境胁迫条件下 PS II 最大光 化学量子产量(F_/F_)一般在 0.80~0.85 之间,受

2183

表 4

两种叶型维西堇菜叶片光合响应参数

Table 4 Leaf photosynthetic response parameters of two leaf types of Viola monbeigii								
材料 Material	最大净光合速率 P _{max} (µmol ・m ⁻² ・s ⁻¹)	暗呼吸速率 R_d (μ mol · m ⁻² · s ⁻¹)	光饱和点 <i>LSP</i> (µmol・m ⁻² ・s ⁻¹)	光补偿点 <i>LCP</i> (µmol・m ⁻² ・s ⁻¹)	表观量子效率 AQE (µmol・mol ⁻¹)			
有斑叶片 Variegated leaf	9.139 ± 0.256	0.736 ± 0.146	620.000 ± 24.980	14.667±1.333	0.046 ± 0.006			
无斑叶片 Non-variegated leaf	11.662±0.815*	0.454 ± 0.105	737.333±41.910	9.333 ± 3.528	0.050 ± 0.004			



图 4 两种叶型维西堇菜 P_n、T_r、G_s光响应曲线

Fig. 4 Light intensity response curves of P_n , T_r , G_s between two leaf types of Viola monbeigii

表 5 两种叶型维西堇菜叶绿素荧光参数的比较

Table 5 Comparison of chlorophyll fluorescence parameters between two leaf types of Viola monbeigii

叶型 Leaf type	初始荧光 <i>F</i> 。	最大荧光产量 F_m	光化学猝灭系数 <i>q_P</i>	非光化学猝灭系数 q_N
有斑叶片 Variegated leaf	152.000 ± 4.861	634.000±15.649	0.922 ± 0.009	0.026 ± 0.005
无斑叶片 Non-variegated leaf	144.000 ± 5.451	599.670±16.691	0.943 ± 0.012	0.027 ± 0.006





到环境胁迫后开始下降,随着 PAR 逐渐上升,有 斑、无斑维西堇菜的 F_v/F_m 逐渐下降,相同 PAR 下 F_v/F_m 无显著差异,因此受到相同程度的光照胁迫 (唐星林等,2020)。Chen 等(2017)、Sheue 等 (2012)分别在柏拉木属及秋海棠属植物中也发现

了类似的现象,这可能是由于栅栏组织叶绿体的 PSI电子传递能力及量子效率均相对较高,而海 绵组织叶绿体的 PSⅡ量子效率相对较高 (Terashima & Inoue, 1985; Zhou et al., 2017)导致 的两种叶型维西堇菜相近的海绵组织厚度造成了 二者的 F_{ν}/F_{m} 呈现了类似的趋势。表观光合电子 传递速率(*ETR*)反应了实际光强下的表观电子效 率,受到质体醌含量的限制(梁芳等,2010)。本研 究结果表明,*PAR* 处于 0~400 µmol·m⁻²·s⁻¹时, 相同光照条件下有斑、无斑叶片的 *ETR* 无差异,维 西堇菜的 *ETR* 随 *PAR* 增加而迅速上升,此时低光 强为主要限制因子;400~2 000 µmol·m⁻²·s⁻¹之 间无斑叶片 *ETR* 显著高于有斑叶片,可能与无斑 叶片具有较厚的 *PT*、*PT/ST* 较高导致栅栏组织叶 绿体的 PS I 电子传递能力及量子效率较高有关, 王亚楠等(2020)对紫堇属的研究也得出了相似的 结论。

维西堇菜喜生长于林缘光斑生境中,时常面临弱光胁迫。无斑维西堇菜叶片具有较高的叶绿 素含量、PT、PT/ST、上下表皮气孔密度、ETR 和 P_{max},对 PAR 利用范围较宽,可充分利用环境中有 限的资源,保障物种生存;有斑维西堇菜叶片具适 应弱光环境的结构特征以及光合参数,以上结果 表明叶片斑纹的出现可能是维西堇菜适应林缘弱 光环境的一种策略。

参考文献:

- BOARDMAN NK, 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants [J]. Ann Rev Plant Physiol, 28 (1): 355-377.
- CHAI SF, ZHUANG XY, WANG ML, et al., 2015. Comparison of photosynthetic characteristics between an endangered species *Camellia pubipetala* and its widespread congener *C. sinensi* [J]. Guihaia, 35(5): 623-630. [柴胜 丰, 庄雪影, 王满莲, 等, 2015. 濒危植物毛瓣金花茶与 其同属广布种茶光合特性的比较 [J]. 广西植物, 35(5): 623-630.]
- CHEN YS, CHESSON P, WU HW, et al., 2017. Leaf structure affects a plant's appearance: combined multiple-mechanisms intensify remarkable foliar variegation [J]. J Plant Res, 130(2): 311-325.
- CHEN JY, FENG LY, GAO J, et al., 2019. Influence of light intensity on stoma and photosynthetic characteristics of soybean leaves [J]. Sci Agric Sin, 52 (21): 3773 – 3781. [陈吉玉, 冯铃洋, 高静, 等, 2019. 光照强度对苗 期大豆叶片气孔特性及光合特性的影响 [J]. 中国农业 科学, 52(21): 3773-3781.]
- CHEN XY, LI C, GUO XY, et al., 2020. Study on leaf photosynthetic characteristics of three species in Corydalis

DC [J]. J Plant Resour Environ, 29(1): 1-7. [陈晓英, 李翠, 郭晓云, 等, 2020. 3 种紫堇属植物叶片光合特性 研究 [J]. 植物资源与环境学报, 29(1): 1-7.]

- CUI WH, GUAN KY, 2013. Diversity of leaf variegation in Chinese *Begonias* [J]. Plant Divers Resour, 35(2): 119-127. [崔卫华, 管开云, 2013. 中国秋海棠属植物叶片斑 纹多样性研究 [J]. 植物分类与资源学报, 35(2): 119-127.]
- DING RZ, XIONG L, CUI ST, et al., 2006. Effect of shading rate on growth and variegation appearance of *Polygonatum odoratum* var. *pluriflorum* 'Variegatum' [J]. SW Chin J Agric Sci, (5): 935-939. [丁仁展, 熊丽, 崔尚台, 等, 2006. 遮光对斑叶黄精的生长发育及斑叶出现的影响 [J]. 西南农业学报, (5): 935-939.]
- Editing Committee of Chinese Flora, 1991. Flora Reipublicae Polularis Sinicae [M]. Beijing: Science Press, 51: 55. [中 国植物志编辑委员会, 1991. 中国植物志 [M]. 北京: 科 学出版社, 51: 55.]
- FOOSHEE W, HENNY RJ, 1990. Chlorophyll levels and anatomy of variegated and non-variegated areas of *Aglaonema nitidum* leaves [J]. Proc Fla State Hortic Soc, 103: 170-172.
- GIVNISH T, 1990. Leaf mottling: relation to growth form and leaf phenology and possible role as camouflage [J]. Funct Ecol, 4: 46.
- HARA N, 1957. Study of variegation leaves, with special reference to those caused by air space [J]. J Jpn Bot, 16: 86-101.
- HE JW, MING M, LU D, et al., 2018. Effects of low-light stress on plant growth and physiological characteristics [J]. Chin Agric Sci Bull, 34(6): 123-130. [何静雯,明萌, 卢丹, 等, 2018. 弱光胁迫对植物生理特性影响的研究进展 [J]. 中国农学通报, 34(6): 123-130.]
- JI RX, YU X, CHANG Y, et al., 2020. Geographical provenance variation of leaf anatomical structure of *Caryopteris mongholica* and its significance in response to environmental changes [J]. Chin J Plant Ecol, 44(3): 277-286. [纪若璇, 于笑, 常远, 等, 2020. 蒙古莸叶片解 剖结构的地理种源变异及其对环境变化响应的意义 [J]. 植物生态学报, 44(3): 277-286.]
- JIANG GM, 2004. Plant ecophysiology [M]. Beijing: Higher Education Press: 43-83. [蒋高明, 2004. 植物生理生态学 [M]. 北京:高等教育出版社: 43-83.]
- JIANG LL, SU X, WANG RX, et al., 2013. Introduction and cultivation of ornamental plants *Viola monbeigii* W. Beck in early spring [J]. N Hortic, (4): 61-63. [江龙龙,苏雪, 王瑞雪,等, 2013. 早春观赏植物维西堇菜引种栽培试验 [J]. 北方园艺, (4): 61-63.]
- KIEW R, 2005. Begonias of peninsular Malaysia [M]. Kota

Kinabalu Borneo: Natural History Publications.

- LA ROCCA N, RASCIO N, PUPILLO P, 2011. Variegation in Arum italicum leaves. A structural – functional study [J]. Plant Physiol Biochem, 49(12): 1392–1398.
- LI FL, BAO WK, 2005. Responses of the morphological and anatomical structure of the plant leaf to environmental change [J]. Chin Bull Bot, (S1): 118-127. [李芳兰,包维楷, 2005. 植物叶片形态解剖结构对环境变化的响应与适应 [J]. 植物学通报, (S1): 118-127.]
- LI XY, TENG ZY, XU QJ, et al., 2017. Effects of shading on anatomical structure and photosynthetic characteristics of *Ribes nigrum* L. leaves [J]. Bull Bot Res, 37(4): 521–528. [李芯妍, 滕志远, 徐启江, 等, 2017. 遮荫对黑茶藨子叶片形态结构和光合特性的影响 [J]. 植物研究, 37(4): 521–528.]
- LIANG F, ZHENG CS, SUN XZ, et al., 2010. Effects of low temperature and weak light stress and its recovery on the photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters of cut flower chrysanthemum [J]. Chin J Appl Ecol, 21(1): 29– 35. [梁芳, 郑成淑, 孙宪芝, 等, 2010. 低温弱光胁迫及 恢复对切花菊光合作用和叶绿素荧光参数的影响 [J]. 应用生态学报, 21(1): 29–35.]
- LICHTENTHALER HK, 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes [J]. Methods Enzymol, 148: 350-382.
- LÜ JH, WANG X, FENG YM, et al., 2012. Effects of shading on the photosynthetic characteristics and anatomical structure of *Trollius chinensis* Bunge [J]. Acta Ecol Sin, 32(19): 6033-6043. [吕晋慧, 王玄, 冯雁梦, 等, 2012. 遮荫对金 莲花光合特性和叶片解剖特征的影响 [J]. 生态学报, 32(19): 6033-6043.]
- MAO LZ, LU HF, WANG Q, et al., 2007. Comparative photosynthesis characteristics of *Calycanthus chinensis* and *Chimonanthus praecox* [J]. Photosynthetica, 45 (4): 601-605.
- OGUCHI R, HIKOSAKA K, HIROSE T, 2003. Does the photosynthetic light acclimation need change in leaf anatomy? [J]. Plant Cell Environ, 26(4): 505-512.
- QI JX, HAO YB, ZHANG M, et al., 2002. Correlations of anthocyanins and chlorophyll in peach leaves [J]. Acta Hortic Sin, 29(3): 274-275. [齐建勋, 郝艳宾, 张玫, 等, 2002. 桃叶片中花青苷含量与叶绿素含量的相关关系 [J]. 园艺学报, 29(3): 274-275.]
- QIN YZ, XING Z, ZOU JF, et al., 2014. Effects of sustained weak light on seedling growth and photosynthetic characteristics of potato seedlings [J]. Sci Agric Sin, 47 (3): 537-545. [秦玉芝,邢铮, 邹剑锋, 等, 2014. 持续 弱光胁迫对马铃薯苗期生长和光合特性的影响 [J]. 中国农业科学, 47(3): 537-545.]

- SHEN ZG, CHEN CQ, WANG LL, 2010. Photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics of three *Dendrobium* species [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 30(10): 2067– 2073. [沈宗根,陈翠琴, 王岚岚,等, 2010. 3 种石斛光 合作用和叶绿素荧光特性的比较研究 [J]. 西北植物学 报, 30(10): 2067–2073.]
- SHENG JY, CUI WX, ZHANG EJ, et al., 2020. Morphological structure observation and photosynthetic characteristics analysis of taro leaf [J]. J Biol, 37(2): 61-64. [盛洁悦, 崔文雪,张二金,等, 2020. 芋叶形态结构观察及光合特 征分析 [J]. 生物学杂志, 37(2): 61-64.]
- SHEUE CR, PAO SH, CHIEN LF, et al., 2012. Natural foliar variegation without costs? The case of *Begonia* [J]. Ann Bot, 109: 1065-1074.
- SMITH AP, 1986. Ecology of a leaf color polymorphism in a tropical forest species: habitat segregation and herbivory [J]. Oecologia, 69: 283-287.
- SOLTAU U, DÖTTERL S, LIEDE-SCHUMANN S, 2009. Leaf variegation in *Caladium steudneriifolium* (Araceae): a case of mimicry? [J]. Evol Ecol, 23: 503-512.
- SONG J, LI SF, LI SF, et al., 2019. Effects of shading on photosynthesis and anatomical structure in leaves of *Rhododendron* [J]. Guihaia, 39(6): 802-811. [宋杰, 李 树发, 李世峰, 等, 2019. 遮阴对高山杜鹃叶片解剖和光 合特性的影响 [J]. 广西植物, 39(6): 802-811.]
- SUN K, WANG QR, 1999. Introduction and cultivation of Viola prionantha Bunge and Viola monbeigii W. Beck [J]. J NW Norm Univ (Nat Sci Ed), 35(4): 52–54. [孙坤, 王庆瑞, 1999. 甘肃早开堇菜和维西堇菜引种驯化初步研究 [J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 35(4): 52–54.]
- TANG XL, LIU GZ, JIANG J, et al., 2020. Effects of shading on the chlorophyll fluorescence characteristics and light energy partitioning of one- and three-year-old *Phoebe bournei* seedlings [J]. Chin J Ecol, 39(10): 3247-3254. [唐星林, 刘光正,姜姜,等, 2020. 遮阴对闽楠一年生和三年生幼 树叶绿素荧光特性及能量分配的影响 [J]. 生态学杂志, 39(10): 3247-3254.]
- TERASHIMA I, INOUE Y, 1985. Palisade tissue chloroplasts and spongy tissue chloroplasts in spinach: biochemical and ultrastructural differences [J]. Plant Cell Physiol, 26(1): 63-75.
- TONG SH, LIU N, WANG J, et al., 2020. Ecological and physiological adaptabilities of *Catharanthus roseus* to tropical coral island [J]. Guihaia, 40(3): 384-394. [童升洪, 刘楠, 王俊, 等, 2020. 长春花(*Catharanthus roseus*)对热带 珊瑚岛生理生态适应性研究 [J]. 广西植物, 40(3): 384-394.]
- TSUKAYA H, OKADA H, MOHAMED M, 2004. A novel feature of structural variegation in leaves of the tropical plant

Schismatoglottis calyptrata [J]. J Plant Res, 117: 477–480.

- WANG JF, FENG YL, LI Z, 2003. Acclimation of photosynthesis to growth light intensity in *Chromolaena odorata* L. and *Gynura* sp. [J]. J Plant Physiol Mol Biol, 29(6): 542–548. [王俊峰, 冯玉龙, 李志, 2003.飞机草和兰花菊三七光合作用对生长 光强的适应 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 29(6): 542–548.]
- WANG Y, LIU N, REN H, et al., 2015. Responses of leaf morphological and physiological characteristics of *Begonia fimbristipula* Hance to light intensit [J]. J Ecol Environ, 24 (6): 957–964. [汪越, 刘楠, 任海, 等, 2015. 紫背天葵 (*Begonia fimbristipula* Hance)叶片形态和生理生态特征对 不同光强的响应 [J]. 生态环境学报, 24(6): 957–964.]
- WANG Y, BURGESS SJ, DE BECKER EM, et al., 2020. Photosynthesis in the fleeting shadows: an overlooked opportunity for increasing crop productivity? [J]. Plant J, 101(4): 874-884.
- WANG YF, LI HQ, MA WL, 2007. The exprimental guide for botany [M]. Guangzhou: South China University of Technology Press. [王幼芳, 李宏庆, 马炜梁, 2007. 植物 学实验指导 [M]. 广州: 华南理工大学出版社.]
- WNAG YL, 2017. Research on reproductive ecology of *Viola monbeigii* with dimorphic flowers [D]. Lanzhou: Northwest Normal University. [王亚莉, 2017. 两型花植物维西堇菜 的繁殖生态学研究 [D]. 兰州:西北师范大学.]
- WANG YN, DONG LN, DING YF, et al., 2020. Effects of shading on photosynthetic characteristics and chlorophyll fluorescence parameters of four *Corydalis* species [J]. Chin J Appl Ecol, 31(3): 769-777. [王亚楠, 董丽娜, 丁彦芬,

等,2020. 遮阴对4种紫堇属植物光合特性和叶绿素荧光 参数的影响 [J]. 应用生态学报,31(3):769-777.]

- XIA GW, SUN XM, CHEN DS, et al., 2019. Spatial variation of photosynthetic characteristics in canopy of *Larix kaempferi* [J]. Sci Silv Sin, 55(6): 13-21. [夏国威,孙晓梅,陈东升,等, 2019.日本落叶松冠层光合特性的空间变化 [J]. 林业科学, 55(6): 13-21.]
- ZHANG CY, FANG YM, JI HL, et al., 2011. Effects of shading on photosynthesis characteristics of *Photinia* × *frasery* and *Aucuba japonica* var. *variegata* [J]. Chin J Appl Ecol, 22(7): 1743–1749. [张聪颖, 方炎明, 姬红利, 等, 2011. 遮荫处理对红叶石楠和洒金桃叶珊瑚光合特性的 影响 [J]. 应用生态学报, 22(7): 1743–1749.]
- ZHANG Y, HAYASHI T, HOSOKAWA M, et al., 2009. Metallic lustre and the optical mechanism generated from the leaf surface of *Begonia rex* Putz. [J]. Sci Hortic Amst, 121: 213–217.
- ZHEN W, ZHANG FM, 2000. The effects of low light intensity on photosynthetic characteristics and ultrastructure of cucumber functional leaves [J]. Acta Hortic Sin, 27(4): 290-292. [甄伟,张福墁, 2000. 弱光对黄瓜功能叶片光 合特性及超微结构的影响 [J]. 园艺学报, 27(4): 290-292.]
- ZHOU Y, HUANG L, WEI XL, et al., 2017. Physiological, morphological, and anatomical changes in *Rhododendron* agastum in response to shading [J]. Plant Growth Regul, 81(1): 23-30.

(责任编辑 蒋巧媛)

进入 21 世纪,中国植物分类学研究经历几代人、一百多年 的努力,不但完成了巨多自己的工作,而且彻底改变了过去任由 他人采集研究中国植物的历史,如今改写为国人走出国门研究 其他国家植物的历史!最引人注目的是中国科学院植物研究所 洪德元院士带领团队开展泛喜马拉雅植物志的工作,不仅在国 外进行野外考察,还先后出版数卷书籍;中国科学院武汉植物园 王青锋团队在东非的工作,特别是肯尼亚植物的研究,不仅出版 了名录,还有植物志正在编写中;中国科学院西双版纳热带植物 园东南亚中心谭运洪等在缅甸等国的工作不仅发表了大量的类 群,还在准备修订缅甸的植物名录;中国科学院华南植物园关于 南美的采集工作以及出版加那利群岛植物志;中国科学院昆明 植物研究所对中亚的考察与研究等。这些工作基本上都是英文 (或者中英文)出版,凸显大国的责任担当。以上各项工作都是

本世纪中国植物分展 类学百年之后发展, 有力说明。最近, 看到和温放(广西半 族自产西植物研究所)与越南广西简称广西和学, 感到有必要提 将其介绍一下!

韦毅刚、Do Van Truong、温放主编, 《越南北部地区植物 名录》(A Checklist to the Plants of Northern Vietnam);451页;北



京,中国林业出版社;ISBN:978 7 5219 1586 0;定价:280 元。全书由英文、中文和越南文撰写,英国皇家植物园邱园亚洲团队负责人 Timothy M. A. Utteridge 作序;书后附有参考文献、学名、中文名和越南名索引。该名录记载越南北部维管植物 247 科1 642 属5 267种植物,每个种都有三种语言的名称、隶属和地理分布;其中,蕨类采用最新蕨类分类系统(PPG I)、裸子植物采用最新的 Christenhusz 系统、被子植物采用最新的 APG IV 系统。

越南北部(越南语:Mièn Bắc Việt Nam)是指越南八个地理 区且位于北部靠近中国(东部为中国广西,西部为中国云南)的 三个,即西北部、东北部和红河三角洲地理区域。其中,西北部 (Vùng Tây Bèc)包括奠边省、莱州省、山萝省、和平省、老街省和 安沛省等6个省;东北部(Vùng Đông Bèc)包括北江省、北乾省、 高平省、河江省、谅山省、富寿省、广宁省、太原省、宣光省等9个 省;红河三角洲,又称红河平原(越南语:Đòng bèng Sông Hòng)、 北部平原(越南语:Đòng bèng Bèc Bò/垌平北部),包括北宁省、 河南省、海阳省、兴安省、南定省、宁平省、太平省、永富省、河内 市、海防市8个省和2个直辖市。三个地理区域区总计25个省 (市)、面积达11万km²,约占越南总面积(约23.8万km²)的三分之 一,接近中国广西壮族自治区陆地面积(约23.8万km²)的一半。

越南位于中南半岛的东部,属于热带范围且雨林和季雨林 极为丰富,加之自然地理多样,特别是南北狭长,境内多山且河 流纵切,使得生物多样性复杂且种类多样。然而,由于历史的原 因,越南境内植物物种数目一直没有彻底清查。历史上法国等 曾经组织编写柬埔寨、老挝和越南植物志,但至今并没有完成; 越南也曾经出版越文版本的简要植物志,也没有完成;其生物多 样性的本底,可谓至今不是十分清楚;特别是北部人口稠密且历 史悠久,开发过度,尤其是边缘山区,保护工作相当艰巨。越南 不仅紧邻中国南部(东北部紧邻中国广西西南部,西北部紧邻中 国云南东南部),而且物种很大程度上与中国形同或者相似或者 近缘;而历史上我们很少参与或者没有相关的采集(除50年代 很少的活动外)或者研究(除个别相关类群的修订外),历史上人 员交往或者学术交流也相当有限。广西植物研究所"中国西南-中南半岛喀斯特植物多样性保育与可持续利用"团队多年来一 直从事中国广西及其周边省份(特别是喀斯特)植物分类和区系 研究。中国(广西)与越南山水相连,为相关的合作研究工作提 供了便利条件,考虑到中国西南与越南北部地区植物区系密切 的联系性,聚焦越南北部地区,结合该团队在中国西南地区植物 多样性研究的优势,将有助于加深对这一生物多样性热点地区 的了解。该团队于十余年前(2011)开始与越南国家自然博物馆 合作,特别是针对越南北部的植物种类进行国际考察与研究,经 过多年的努力,终于出版这本名录,确实可喜可贺! 广西植物研 究所于 1935 年创立, 在职人员 200 余人, 馆藏标本 50 余万份, 不 但拥有一支我国南方的重要分类学队伍,而且有主编《广西植物 志》和出版《广西植物》期刊的经验,特别是在喀斯特地区和苦苣 苔科、荨麻科植物等南方特色地域与类群方面有明显优势。越 南国家自然博物馆(Vietnam National Museum of Nature),隶属于越 南科学技术研究院(Vietnam Academy of Science and Technology). 成立于 2006 年, 为越南新兴的自然科学研究机构, 标本馆收藏 2 万份标本(VNMN),有近10人从事分类学相关的工作(根据国际 标本馆网址 2015 年更新信息),并且大多数都是年轻获得学位者。 两者的合作,可谓开创中越植物学领域的创造性篇章!

《越南北部地区植物名录》是对该地区植物多样性现状全面 调查及历史资料全面收集整理的成果。这是迄今为止已知的越 南北部地区植物最全面详细的成果总结,也是第一部由中国人 主编的有关越南植物多样性研究的专著。纵观该《名录》,系统 采用国际最新研究成果,首次同时提供了中文、英文和越南文三 种文字,方便各国使用,凸显作者们的学术占位与思路,不愧国 际合作! 特别是物种分布到达省份(越南的一级行政单位,相当 于中国的省区市下边的县市级),并有中文、英文和越南文标注; 确实为后续工作的使用带来了诸多方便(以前我们对于越南文 的识别与使用极为有限),不仅理清了其资源基本现状,更使得 资料公开且方便各国使用! 为越南北部地区植物多样性保护提 供了重要的本底数据依据,同时为这一地区的植物多样性起源、 形成及维持机制研究,以及加强与"一带一路"沿线国家和地区 的生物多样性保护与绿色发展在国际合作方面做出了重要的贡 献。希望再版时增加各物种越南之外分布信息(包括中国的分 布);如果进一步要求的话,特有种、栽培种或者外来种的进一步 详细信息值得考虑。希望下一步的工作能够将此补齐且结合周 边的分类学情况,并实时确定物种的状态与分布信息,最终成为网 络数据资源。

马金双(北京市植物园)

《广西植物》第四十二卷总目次

第一期(2022年1月)

四川毛茛属五新种和一新变种,其中一新种代表一新组 王丈采 (1)
四川毛茛科二新种——乌头属一新种和唐松草属一新种
被子植物同域物种形成研究进展
利用叶绿体基因组数据解析锦葵科梧桐亚科的系统位置和属间关系 黎若竹, 蔡 杰, 杨俊波, 张志荣, 李德铢, 郁文彬 (25)
猴欢喜叶绿体全基因组及杜英科系统地位分析
53 个猕猴桃品种 (品系) 亲缘关系的 SCoT 分析 齐贝贝, 王发明, 莫权辉, 叶开玉, 龚弘娟, 刘平平, 蒋桥生, 李洁维 (49)
中国吊钟花属植物核 DNA 含量 (2C-值) 与倍性水平研究梁华,蒋露,朱大海,周建伟,范邓妹,张志勇 (58)
10 种金花茶组植物的花粉形态及分类学意义
铁线莲属 21 个类群的染色体核型分析 李明阳, 刘彦泽, 王 鑫, 刘冬云 (78)
荷叶铁线蕨孢子体解剖结构和组织化学特征研究
AA 野生种花生 Ty1-copia 类反转座子 RT 基因的克隆与序列分析
·····································
紫玉兰'红元宝'花芽分化阶段基因定量分析的内参基因筛选
·····································
中国花楸属单叶类群叶脉序特征研究 田昌芬,李 蒙,黄亚健,周源昊,王贤荣 (122)
甜荞 pin 型花与 thrum 型花雌雄蕊发育的比较研究
笔竹大小孢子发生及雌雄配子体发育研究 赵婉琪, 国春策, 王 燕, 肖 姣, 吴正春, 刘海文, 杨光耀, 于 芬 (143)
凤仙花近缘种间核型分析与叶表皮微形态研究
不同生境三种杜鹃属植物花特征比较 胡德美,董 溪,吴江明,胡莲宇,唐 明,王晓月 (161)
青秆竹花的解剖观察与分析 龙 吴,初彩华,金点坤,吕 卓,王曙光 (174)

第二期 (2022年2月)

基于转录组的不同火龙果品种抗性差异分析 李健星, 谭艳芳, 李冬兴, 王 斌, 陈 婷, 黄甫昭, 陆树华 (183)
不同光质补光对火龙果茎生理特性及开花结果的影响谢佐沐,蔡英健,余若莹,俞 超,汪财生,付 美,郭 斌 (191)
两种不同生境苦苣苔科植物的复苏特性及其对水分的光合和生理响应 李爱花, 王丹丹, 李唯奇 (199)
贵州省野生苦苣苔科物种多样性与地理分布
贡嘎山石松类和蕨类植物的多样性与海拔分布 胡佳玉,蒋 勇,王 宇,张梦华,张宪春 (220)
青枯病与黑胫病混发烟株发病茎秆组织微生物群落结构与多样性
贵州野生兰科植物就地保护现状及保护空缺分析
南京老山秤锤树空间分布格局及种间关联性
·····································
四种乡土珍贵阔叶树种叶功能性状的种内和种间变异
小立碗藓 WRKY 基因家族生物信息学分析
纤枝短月藓 BeLEA2 基因的克隆及表达分析 李雪宝, 王 琦, 鄢 波 (277)
香石竹 DcSKP1 基因克隆及表达分析
大豆 GeBP 转录因子基因家族的生物信息学分析
苦荞 FtF5H 基因克隆及表达分析 段 迎,杨晓琳,蔡苏云,贺润丽,尹桂芳,王艳青,卢文洁,孙道旺,王莉花 (304)
基于叶片生理指标的小麦芽期耐盐性评价
高粱幼穗分化与叶龄指数的关联研究 周 瑜,黄 娟,张亚勤,吴 毓,李泽碧 (324)
战骨黄酮碳苷类化合物的大孔树脂富集工艺研究
斑地锦 RT-qPCR 内参基因的筛选 宋美玲,黄胜和,陈祖杰,邹嘉轩,刘欢胜,全文军 (340)

第三期(2022年3月)

气候变化条件下苦参在我国潜在分布区的预测分析	张 涛	•,胡 菀,	贾天娇,	赵三增,	孔丹宇,	刘毅	(349)
基于优化的 MaxEnt 模型预测赤水蕈树的潜在适宜区 文国卫, 叶兴状,	施晨阳	1,赖文峰,	刘邦友,	蒋天雨,	朱晓如,	张国防	(363)
基于数字标本探究绿绒蒿属植物花期的变化				蔡宝坤,	王英伟,	唐中华	(373)
藏南布丹拉山南坡种子植物区系海拔格局分析		·· 王俊伟,	明升平,	杨坤,	何 敏,	拉琼	(384)

濒危种观光木小枝生物量分配与功能性状的纬度变异规律及其影响因素 蒙 检,罗应华,于 瀛,刘朝阳,林建勇 (394)
施氮和短时光辐射变化条件下毛竹幼苗光合限速因子分析 黄润霞, 孟金柳, 周本智, 程信金, 羊美娟, 汤丽萍, 王利仙, 羊荣富 (406)
等氮滴灌对宿根蔗产量及土壤氧化亚氮排放的影响
无机氮供应对甘蓝型油菜组培苗盐耐受能力的影响
中国西部地区归化植物时空分布特征研究 李龙沁,许光耀,高 越,莫训强,李洪远 (429)
南亚热带四种不同演化程度禾本科植物夏季光能利用策略差异分析 张雅芳, 王海玲, 朱师丹, 张小燕, 朱俊杰 (440)
甘肃祁连山国家自然保护区植物群落分布格局及其与环境因子的关系
基于青冈和滇青冈生态位模拟的湿润和半湿润常绿阔叶林替代分布及气候解释
不同起源秋茄林湿地沉积物重金属污染与健康风险评价 潘 辉,郑开基,游巍斌,王 韧,蔡金标,何东进 (470)
贵州牛角塘铅锌矿区优势植物的重金属富集特征 顿梦杰,张云霞,宋 波,盛 昕,周 浪,宾 娟 (479)
盐碱胁迫对巨菌草根际土壤微生物多样性及酶活性的影响 严少娟, 刘怡萌, 孙艳丽, 林兴生, 罗海凌, 林辉, 林占墡, 孙红英 (491)
不同生境下濒危植物膝柄木幼树的生态适应性
南亚热带常绿阔叶林冠层和林下层优势种叶功能性状响应异质生境的差异 孙 鹏,韦 霄,叶万辉,沈 浩 (510)
稀有濒危植物贵州红山茶种群结构及数量动态变化的研究

第四期(2022 年 4 月)

桉属植物非挥发性化学成分和药理活性研究进展	丽平,周中流,	伍影瑶,	李春燕,	张灿龙,	薛中峰	(531)
桉树与红锥混交对土壤水解酶活性及其化学计量特征的影响						
邵文哲, 周晓果, 温这	远光,王磊,	朱宏光,	陈秋海,	张彧娜,	尤业明	(543)
桉树与红锥混交对土壤养分及林下植物功能群的影响	晓果,朱宏光,	温远光,	王磊,	邵文哲,	张彧娜	(556)
固氮树种对桉树人工林土壤团聚体酶活性及其化学计量比的影响 莫雪青,肖	纳,谭许脉,;	高冠女,	颜金柳,	苏小艳,	尤业明	(569)
马尾松 R2R3-MYB 基因特征及进化和表达分析	孙爽,	胡 颖,	陆晶宇,	杨章旗,	陈 虎	(580)
异龄复层混交对马尾松人工林土壤团聚体碳组分和转化的影响						
肖 纳,莫雪青,谭许脉,苏人	小艳, 颜金柳,	高冠女,	张文,	黄雪蔓,	尤业明	(595)
不同配比施肥对马尾松幼苗生长特征的影响		罗仙英,	莫荣海,	丁贵杰,	陈 龙	(608)
不同生长时期马缨杜鹃光合特性的变化及其主要影响因素	艳飞,彭绿春,	宋杰,	张露,	解玮佳,	瞿素萍	(617)
黄果龙葵幼苗对镉胁迫的生理生长响应					•••••	
周 蛟,潘远智,赵 胤,刘思丽,贾 茵,姜贝	贝贝,邬梦晞,	张璐,	徐倩,	王凯璐,	曾 勇	(628)
葛根淀粉合成关键酶活性动态及其与块根产量和淀粉积累的相关性研究	郭丽君,	羽健宾,	肖冬,	何龙飞,	王爱勤	(639)
常温和低温条件下不同浓度外源褪黑素对降香黄檀幼苗的生理生态影响	••••••	蒲玉瑾,	张一璇,	苗灵凤,	杨帆	(648)
龙眼新品种 (系) 引种南宁的生长与开花结果特性比较						•••••
何嘉楠,彭杰椿,邓英毅,潘介春,徐炯志,赵蓉梅,吴诗妍,毛俊儒,廖3	天蓝,陈云杰,	丁承培,	吴玉,	黄俊豪,	胡国瑞	(659)
NaCl 与干旱双重胁迫下黑果枸杞幼苗对外源水杨酸的生理响应			马永慧,	李永洁,	李 进	(668)
泥炭地苔藓植物孢子生活力的快速检测 白晓珊, 仝 伟, 王对	建毅,卜兆君,5	刘文静,	夏尤普·	玉苏甫,	徐雪莹	(676)
大花蕙兰'黄金小神童'胚性愈伤组织诱导及植株再生研究				席银凯,	杨武德	(682)
南高丛蓝莓'奥尼尔'工厂化组培快繁技术研究	科,赵志国,	吴巧芬,	郭伦发,	秦洪波,	仇硕	(691)
杜鹃花属植物干旱胁迫研究进展			李丹丹,	李晓花,	张乐华	(700)
植物根压研究进展			张周颖,	郭 雯,	杨石建	(714)

第五期(2022年5月)

过表达大豆类受体蛋白激酶基因 RLPK2 促进转基因拟南芥叶片的衰老 张 强,黄卓然,胡康龙,许 超,杨青青,薛 涛 (72)	9)
黄褐毛忍冬生药学鉴定研究	8)
酮型广藿香 MVA 途径基因表达分析及与主要成分合成相关性研究	5)
两种栽培型广藿香内生真菌群落组成变化 王利国,肖晶晶,邓月婷,崔业旋,刘志芬 (75.	3)
绿色低共熔溶剂提取互叶白千层精油及成分分析 都宏霞,石巾艺,王冬娥(76	2)
广西莪术关键采收月份挥发性成分的差异及动态变化研究 周改莲,黄 盼,谢雪婷,王 倩,王乃斌,鲁毅翔(77:	2)
民族药马利筋内生真菌生物活性研究 殷 娜, 宋娜丽, 普晓佳, 顾茜兰, 杨海浩, 万春平, 祁 燕, 李小丝, 郑 喜 (78	1)
黄花倒水莲花中黄酮苷类成分的分离、鉴定及抗氧化活性研究 李 根,潘争红,宁德生,李连春,符毓夏,李海云 (79	0)
黄花倒水莲生长与内源激素水平动态变化关系研究 张玉仙, 唐 辉, 黄夕洋, 刘宝玉, 李文兰 (79	6)
蔗糖对发根农杆菌 C58C1 诱导烟草毛状根生长的影响	2)
蔗糖对列当科两种根部半寄生植物吸器发生的促进作用 李艳梅, 隋晓琳, 薛瑞娟, 李 悦, 罗 燕, 李爱荣 (81	1)
不同产地川乌炮制前后差异性成分研究	0)
广西不同产地金樱根及炮制品中没食子酸和儿茶素的含量差异分析 … 韦熹苑, 邓 琦, 卢小玲, 舒 柯, 卓 桑, 范家文, 潘思杏 (83:	3)
黄芪幼苗根系生长发育与 GR24 和 IAA 的关系 黄晓宇, 虎 娟, 陈贵林 (84)	5)

《广西植物》第 42 卷总目次

石韦不同极性萃取物体外降血糖活性研究	凌梅女	娣,	魏爱红,	李榕女	弟, 5	刘小敏,	聂	华,	张声源	(855)
桂枝化学成分研究	靳永列	亮,	陈冠宜,	刘文琴	₹, 7	万屏南,	陈钟	文,	刘 华	(860)
钩毛茜草蒽醌类化学成分的研究	李钅	眼,	黄鸿运,	黄勇	剪,亻	可燕玲,	汪	洋,	李勇军	(866)
自交可育甜荞、金苦荞、米苦荞不同品系总黄酮、粗蛋白及其蛋白组分含量研究		••••						•••••		
	冉 毗	盼,	杨丽娟,	崔娅相	公,夏	蔡齐宗,	夏宇	飞,	陈庆富	(874)
氧化石墨烯对多年生黑麦草逆境生理及光合特征的影响			•••••	洪 彗	ŧ, -	毛建越,	赵树	兰,	多立安	(886)

第六期(2022年6月)

第七期(2022年7月)

氮添加对樟子松人工林氮转化及相关功能基因丰度的影响
南方红壤侵蚀区芒萁叶片对微地形的响应 尚艳琼,陈志强,陈志彪,冯柳俊 (1088)
适度紫外辐射增强对白鲜光合特性和药用活性成分的影响苏宇航, 宋晓倩, 郑晶丈, 曹 梦, 张衷华, 唐中华 (1096)
亚热带植物春季和秋季物候格局及其对气候变化的响应
天山中段南坡巴伦台地区不同海拔植物群落物种多样性与土壤因子的关系 马紫荆,张云玲,刘 彬 (1116)
云南高原湖泊水葱克隆生长与有性繁殖特征及影响因子 赵 飘,刘振亚,王 娜,牛孟莹,艾 静,肖德荣,王 行 (1126)
滇池湖滨带优势湿地挺水植物分解特征研究
长苞香蒲对人工盐碱湿地 Na ⁺ 和 K ⁺ 的吸收与转运特征 赵宏亮, 倪细炉, 侯 晖, 谢沁宓, 程 吴 (1150)
桂北典型锰矿区周边土壤重金属污染状况及主要植物富集特征 王新帅,林 华,俞 果,蒋萍萍,刘 杰 (1160)
基于 LC-MS/MS 分析马缨杜鹃花代谢物的变化 武绍龙, 唐 明, 张习敏, 唐 婧 (1170)
半枫荷调控 RA 模型的非靶向代谢组学研究 王华坤,肖方静,宾万娟,傅春青,尹 丽 (1181)
基于代谢组学分析黑老虎植株不同部位黄酮类成分
广东南岭 20 hm ² 样地华南五针松空间分布与生境特征研究
·····································
枫香变红过程中叶片组织结构、光合特性及色素含量变化研究
·····································
施氮深度和水分胁迫对藜麦幼苗生理及产量的影响 李亚妮, 庞春花, 张永清, 张 媛 (1222)
外源水杨酸对铝胁迫下菊芋根系分泌物的影响
·····································
土壤石砾含量对掌叶木幼苗生长和根系特征的影响
碳酸氢盐处理下桑树和构树的生长、光合和抗逆性差异 李仕洪,姚 凯,刘映良,吴沿友 (1248)

第八期 (2022 年 8 月)

北部湾海洋植物及其共附生微生物次级代谢产物研究进展(综述)	· 高程海, 夏	夏家朗,梁孝	皆云,刘永宏,	易湘茜	(1259)
上海大金山岛植被分类与制图——基于网格化清查方法 许洺山,朱晓彤,王万胜,	, 杜运才, 汨	E彦颖,梁启	言明,郑丽婷,	阎恩荣	(1273)
滨海沙地植物厚藤叶片生理特征的季节变化 金 贅	,朱栗琼,招	四礼军, 化	彬,权佳惠,	刘金炽	(1284)

广西三种真红树植物可培养细菌多样性及其生物活性初筛 黎芳婷,李 蜜,徐淑芬,王慧敏,	刘永宏,	高程海 (1294)
木麻黄原生境种子萌发及幼苗存活的影响因素分析	王 玉,	郝清玉 (1304)
木麻黄纯林及其混交林对土壤剖面理化性质的影响 王小燕, 薛 杨, 宿少锋, 林之盼,	雷湘龄,	王耀山 (1315)
贵州省国家公园选址及其植物多样性保育研究	李 蔓,	李亦秋 (1325)
海南主要陆域自然保护地兰科植物多样性与生境的关联分析 周 康,张 哲,宋希强,李大程,陈枳衡,	张中扬,	李霖明 (1337)
利用 F-MSAP 分析菜心表观遗传多样性 ·······		史卫东 (1357)
基于 SSR 标记的大明松天然群体遗传多样性分析	吴东山,	杨章旗 (1367)
香合欢 EST-SSR 标记开发及种间通用性研究 安 琪, 冯源恒,	杨章旗,	胡 拉 (1374)
四个竹秆变异毛竹变型的全基因组序列分析	李雪平,	高健(1383)
三种厚朴叶绿体基因组的比较研究 张 敏, 尹彦栩, 周罗静, 任 波, 王 丽, 时小东, 侯飞侠,	彭成,	高继海 (1394)
北美鹅掌楸 LAGO1 基因的克隆、表达及其启动子分析 魏灵敏,温少莹,马际凯,夏 辉,李嘉昱,	吴栩佳,	李火根 (1402)
紫玉兰'红元宝' Ml3GT1 基因的克隆及表达分析 王卓为, 戴梦怡, 程少禹, 王小德, 王亚玲,	申亚梅,	张 超 (1417)
紫九牛叶绿体基因组密码子偏好性分析	张 鹏,	覃逸明 (1426)
葡萄 CBF4 基因生物信息学及其对低温和硅酸钾响应分析 张红梅, 王旺田, 张 芮, 杨 科,	王宝强,	王翠玲 (1433)

第九期 (2022 年 9 月)

番茄总皂苷对小鼠高尿酸血症的调节作用		杨子明,	张利,	刘金磊,	李典鹏	(1441)
山豆根地上部分的酪氨酸酶抑制活性成分筛选研究		阳丙媛,	何瑞杰,	王亚凤,	黄永林	(1448)
罗汉果苷 IIE 在巨噬细胞糖尿病炎症模型中的作用			黄 凯,	肖娟,	李爱丽	(1454)
pH 区带精制逆流色谱法分离制备越南槐中具有抑制 α-糖苷酶活性的生物碱						
梁森林, 黄永林,	何瑞杰,	王亚凤,	阳丙媛,	李典鹏,	司红彬	(1459)
走马胎叶片营养成分分析及栽培年限差异比较		唐凤鸾,	梁英艺,	孙菲菲,	赵健	(1466)
走马胎三萜皂苷合成相关基因表达分析	雷宇阳,	李 霁,	赵丽云,	罗鸣,	陈红锋	(1473)
猫须草抗炎活性成分研究	潘争红,	符毓夏,	宁德生,	李连春,	海 洪	(1480)
一株内生真菌 Talaromyces sp. 次级代谢产物及其活性 薛欣怡,	张翼,	冯昀铠,	廖清楠,	胡雪琼,	刘亚月	(1487)
油橄榄果渣抗氧化部位化学成分的研究	陈根振,	王蝴蝶,	裴栋,	黄新异,	邸多隆	(1498)
云南三种特色柑橘属果皮精油成分及活性研究 李 渔,陈	波,施	建莲,马	海玲,习	杨彦彬,	刘佳	(1507)
雷公藤提取物中主要物质基础及其抗肿瘤活性研究	丁同同,	李 江,	邓璐璐,	吴树燕,	穆淑珍	(1514)
拔毒散的化学成分及其抗炎活性研究 罗明楚,石小翠,孙 朋,	鲁建美,	宋兴震,	贾慧珍,	吴敏,	许又凯	(1522)
民族药刺梨根茎化学成分及其抗炎活性研究	梁勇,	李良群,	王 丽,	周 浪,	杨小生	(1531)
纤枝金丝桃化学成分研究	邓憬童,	彭宁,	韩庆迪,	周献东,	杨新洲	(1542)
寡聚核苷酸介导的基因突变技术创制抗除草剂烟草新种质				谢宇峰,	秦利军	(1551)
多刺绿绒蒿 WD40 基因家族的鉴定及生物信息学分析		任玉玲,	赵 艳,	赵成周,	李 萍	(1561)
谷子 PAL 基因家族全基因组的鉴定和表达分析 孟亚轩,	孙颖琦,	赵心月,	王凤霞,	瓮巧云,	刘颖慧	(1572)
崖壁植物太行菊与长裂太行菊全基因组大小及特征分析 王祎玲, 臧 恩, 张 吴,	刘志霞,	兰亚飞,	何 珊,	郝伟丽,	曹艳玲	(1582)
西藏大花红景天 ReCATs 与 ReSODs 基因克隆及功能分析	王宏鹏,	李一丹,	滕彦娇,	陈成彬,	张力鹏	(1590)
三种苏铁植物呈现出迥异的水力安全边界	覃兰丽,	庞玉堃,	张天浩,	安倚东,	蒋国凤	(1602)
鞘柄菝葜药材质量标准研究	赵春晓,	李汉伟,	苏秀红,	兰金旭,	晁利芹	(1612)

第十期 (2022 年 10 月)

中国水韭属两个四倍体新种 (英文) 舒江平, 顾钰峰, 欧治国, 邵 文, 杨 娟, 陆奇勇, 张宪春, 刘保东, 王瑞江, 严岳鸿 (1623)
越南莲座状复苏卷柏新种
竹亚科单枝竹属芸香竹花枝和花特征补充描述 张雨曲,杨新杰,程虎印,高 静,彭 亮,张明英,张 岗 (1641)
白毛算盘子 (叶下珠科) 在中国无分布
新疆阿魏雄性不育的细胞形态学研究
中国五种仙茅科植物叶形态及其分类学意义 田 琴,段函宁,王云强,李海涛,李 璐 (1661)
色季拉山 10 种报春花属植物花粉形态及其分类学意义
基于 Ks 分布的被子植物演化的时间尺度研究 焦贝贝, 王希胤 (1684)
云南被子植物菊类分支的系统发育多样性及其分布格局
基于叶绿体基因组 SNP 的天台鹅耳枥谱系结构与分化分析
基于分子证据确认秦岭藤属与驼峰藤属(夹竹桃科)的系统位置
净多样化速率和进化时间对虎耳草目科间物种多样性差异的影响
顾嘉豪,张粒毫,张皓昱,仵天晴,黄林青,程瑞静,徐 莹,王庆刚,徐晓婷(1730)
质体系统发育基因组解析旋花科系统发育关系
白花刺续断野生居群的叶绿体全基因组特征解析

《广西植物》第 42 卷总目次

胶瘤菌属和孔生胶瘤菌——中国新记录属、种朱学泰,杜 璠,	,冶晓燕,	范佳馨,	蒋长生	(1762)
中国仙人掌科一新归化种——匍地仙人掌		王琦,	严 靖	(1767)
中国哥纳香属(番荔枝科)植物新资料(英文)杨 斌,王立彦,周仕顺,	,李剑武,	肖春芬,	谭运洪	(1772)
中国西藏兰科植物新资料李孟凯, 普布顿珠, 邢 震,	, 李惠玲,	章 漳,	王伟	(1780)
绿绒蒿属—中国新记录种——尼东绿绒蒿	,周海艺,	徐畅隆,	徐 波	(1786)
硅藻中国新记录种——帕瓦拉桥弯藻	,周阳艳,	徐三妹,	陈锦华	(1791)

第十一期 (2022年11月)

水稻 OsZAT12 基因响应非生物胁迫和植物激素的研究	陈言博,	陈宗新,	夏快飞,	张明永,	王亚琴 (1797)
环境变化对水稻 osfh1 突变体成蛋白家族表达的影响			•••••		
	王 鑫,	石杨,	姬红丽,	陈 稷,	黄进(1811)
水稻 OsMBF1c 基因的克隆及表达分析 石 杨,汪梦婷, 新雨璠, 于 月,张 旭,	李家豪,	姜南,	李斌,	陈 稷,	黄进(1822)
大粒香水稻叶绿体基因组特征分析	刘雪薇,	李祖军,	龙武华,	宫彦龙,	朱速松 (1830)
甘蔗耐寒相关 miRNA 的生物信息学分析及其靶基因预测					
···········朱鹏锦,宋奇琦,谭秦亮,程 琴,李佳慧,庞新华,周全光,吕 平,	欧克纬,	卢业飞,	农泽梅,	唐桓伟,	龙盛风 (1840)
保护地蔗田对土壤优先流与根系生物量及产量品质的影响	•••••		•••••		
黄俞铭,罗维钢,胡钧铭,韦翔华,黄嘉琪,陈仕林,蒙炎成,俞月凤,李婷婷,	张俊辉,	周慧蓉,	黄忠华,	韦本辉,	陈 渊 (1854)
甘蔗 ScNRAMP 基因家族的鉴定与生物信息学分析		刘 营,	尹泽,	江姚兰,	周定港 (1865)
甘蔗茎叶的化学成分及抗氧化活性研究		娄红波,	王先宏,	何丽莲,	李富生 (1875)
甘蔗叶乙酸乙酯部位化学成分研究	韦玮,	郝二伟,	谢金玲,	邓家刚,	侯小涛 (1884)
香蕉苗期氮素亏缺与补偿对植株生长和根系形态的影响 赵 明,武 鵰,	何海旺,	龙芳,	莫天利,	黄相,	邹 瑜 (1892)
韭菜化感物质草莓酸对香蕉枯萎病菌的影响			•••••		
	张德楠,	孙英杰,	牟海飞,	韦绍龙,	周龙武 (1901)
施硒对三个香蕉品种植株生长、生理及果实品质的影响			•••••		
	张英俊,	谢如林,	韦绍龙,	牟海飞,	韦 弟 (1913)
矮化香蕉及其野生型 GA3ox 基因的结构特点和表达分析	林佳琦,	李燕培,	肖世祥,	冯斗,	禤维言 (1921)
基于功能性状的外来植物人侵预测模型框架构建			王世雄,	何跃军,	王文颖 (1929)
箭叶淫羊藿种子的休眠类型与萌发研究 吉浴芳,	宋松泉,	田向荣,	高家东,	戴嘉兴,	刘 军 (1939)
水杉凋落物水浸提液对其种子萌发和生长的化感作用 徐来仙,姚 兰,周大寨,	郭秋菊,	朱江,	邓 楚,	艾鑫,	夏煜轩 (1949)
Cr ⁶⁺ 对人工湿地薏苡光合特性和微量元素吸收的影响			•••••		
柳心怡,农 宇,黄建祥,李素丽,	李良香,	程夕冉,	王学礼,	李正文,	李志刚 (1959)
氮、磷、钾肥对绣球'花手鞠'容器苗生长及养分状况的影响	汪雪影,	胡永红,	张宪权,	秦 俊,	刘群录 (1971)
木兰科植物组织培养技术研究进展		宦智群,	徐小蓉,	耿兴敏,	唐明(1980)

第十二期 (2022年12月)

基于 UPLC-MS/MS 技术的野生及栽培韭菜籽的代谢组学研究 霍冬敖,田瑞丰,任永权,段星宇,洪登峰,汪 波 (1995)
木芙蓉三个品种及近缘种的叶绿体基因组比较分析 李镇兵,任 婷,邓妓妓,陈俊佩,周颂东,曾心美,马 娇,李方文 (2007)
白菜 CesA 基因家族鉴定及表达模式分析 马宇辰,赵玉梅,黄丹霖,张梦晴,吴晓宇,王 洁,陈 雨,黄家保,段巧红 (2021)
油橄榄 AP2/ERF 转录因子鉴定及水胁迫表达分析 王丽娟,王 毅,陆 斌,罗玛妮娅,徐令文,原晓龙,李贤忠 (2032)
茶树 TIFY 基因家族鉴定及非生物胁迫下表达分析
养分增加提高大狼耙草入侵种群的生长和竞争能力
不同入侵程度紫茎泽兰碳氮磷生态化学计量特征研究 马 筱,王桔红,罗娅婷,崔现亮,段富院 (2064)
干热河谷次生稀树灌木林物种组成变化及群落结构动态 龙 成,余志祥,杨永琼,税梅梅 (2075)
不同生长年限华重楼根际土壤微生物多样性研究 冼康华,苏 江,付传明,何 丈,刘宝骏,谢东斌,黄宁珍,何金祥 (2087)
青枯病易感和钝感桑树品种根际土壤真菌群落结构比较" 肖 健,黄小丹,杨尚东,屈达才 (2099)
碳氮源对花榈木胚性愈伤组织诱导、发育及有机物积累的影响
遮光处理对观赏栀子氮、磷、钾分配与生长的影响
莲种胚在温度胁迫下的逆境生理研究
叶面喷施钙镁肥对'妃子笑'荔枝果肉苹果酸积累的影响
墨兰对氮营养和波动光强复合胁迫的光合调控响应 李志雄,黄 伟,张石宝 (2147)
西北干旱区葡萄净光合速率变化及其影响因素秦文华,张 扬,朱永泰,徐聪,陈惠玲,朱高峰 (2157)
LED 光质及光周期对香子含笑幼苗生长和光合特性的影响 吴芳兰,李书玲,杨 梅,庞伟灿,黄靖杰,李乾林,樊容源 (2167)
不同叶型维西堇菜叶片结构及光合特征比较

Guihaia Contents of Vol. 42, 2022

No. 1

Five new species and one new variety of Ranunculus (Ranunculaceae) from Sichuan, with one new section represented by one of these species WANG Wencai (WANG Wen-tsai) (1) Two new species of Aconitum and Thalictrum (Ranunculaceae) from Sichuan WANG Wencai (WANG Wen-tsai) (10) Plastid phylogenomics resolving phylogenetic placement and genera phylogeny of Sterculioideae (Malvaceae s. l.) LI Ruozhu, CAI Jie, YANG Junbo, ZHANG Zhirong, LI Dezhu, YU Wenbin (25) The complete chloroplast genome of *Sloanea sinensis* and the systematic status of Elaeocarpaceae WANG Yihui, XIE Yifei, ZHANG Zhixiang, JIN Jiayi, QIU Xiangdong, TONG Yang (39) The SCoT analyses of genetic relationship of 53 kiwifruit cultivars (lines) QI Beibei, WANG Faming, MO Quanhui, YE Kaiyu, GONG Hongjuan, LIU Pingping, JIANG Qiaosheng, LI Jiewei (49) Nuclear DNA content (2C-value) and ploidy level of Enkianthus species (Ericaceae) from China LIANG Hua, JIANG Lu, ZHU Dahai, ZHOU Jianwei, FAN Dengmei, ZHANG Zhiyong (58) Pollen morphology and taxonomic significance of ten species of sect. Chrysantha Chromosome karyotype analysis of 21 Clematis taxa LI Mingyang, LIU Yanze, WANG Xin, LIU Dongyun (78) Anatomical structure and histochemical features of Adiantum reniforme var. sinense sporophyte (Pteridaceae) LI Linbao, HUANG Guivun, ZHANG Guovu, WU Di, WU Jinhua, LIANG Oianvan, YANG Lanfang, CHEN Huivuan, WANG Ting, YANG Chaodong (90) Cloning and sequence analysis of reverse transcriptase genes of Ty1-copia-like retrotransposons in wild pearut species with AA genome CAI Tiecheng, LIU Junxian, ZHANG Chong, LIU Jing, YANG Taiyi, JIANG Jing, HE Liangqiong, HAN Zhuqiang, TANG Ronghua, ZHUANG Weijian, XIONG Faqian (100) Selection of reference genes in Magnolia liliflora 'Hongyuanbao' during flower bud differentiation ··· ZHANG Yingjia, CHENG Shaoyu, WANG Zhuowei, DAI Mengyi, DONG Bin, ZHANG Chao, ZHANG Shouzhou, WANG Yaling, SHEN Yamei (113) Leaf venation characteristics of simple-leaved taxa of Sorbus in China TIAN Changfen, LI Meng, HUANG Yajian, ZHOU Yuanhao, WANG Xianrong (122) Development of stamens and carpels on pin type and thrum type flowers of common buckwheat WANG Xuan, CHEN Yan, LIU Zhixiong (133) Sporogenesis and gametogenesis of Pseudosasa viridula ZHAO Wanqi, GUO Chunce, WANG Yan, XIAO Jiao, WU Zhengchun, LIU Haiwen, YANG Guangyao, YU Fen (143) Research on karyotype analysis and leaf epidermal micromorphology of related species of Impatiens LIANG Xiaoli, SHU Huijuan, Wang Ting, Cai Xiuzhen, Cong Yiyan, KUANG Renping (152) Comparison of floral traits of three Rhododendron species in different habitats Anatomical observation and analysis on floral of Bambusa tuldoides LONG Hao, CHU Caihua, JIN Diankun, LÜ Zhuo, WANG Shuguang (174)

No. 2

Resistance difference between different varieties of pitaya based on transcriptome data
LI Jianxing, TAN Yanfang, LI Dongxing, WANG Bin, CHEN Ting, HUANG Fuzhao, LU Shuhua (183
Effects of different supplemental light qualities on physiological characteristics, flowering and fruiting of pitaya stem
XIE Zuomu, CAI Yingjian, YU Ruoying, YU Chao, WANG Caisheng, FU Mei, GUO Bin (191
Resurrection characteristics, photosynthetic and physiological response to dehydration and rehydration of two species in Gesneriaceae with different habita
LI Aihua, WANG Dandan, LI Weiqi (199
Species diversity and geographic distribution of wild Gesneriaceae in Guizhou
HUANG Mei, LI Meijun, HUANG Hong, ZHANG Jinquan, BAI Xinxiang (210
Species diversity and altitudinal distribution of lycophytes and ferns in Gongga Mountain
HU Jiayu, JIANG Yong, WANG Yu, ZHANG Menghua, ZHANG Xianchun (220
Microbial community structure and diversity of tobacco stem tissue in the mixture occurences of bacterial wilt and black shank
WANG Hancheng, XIANG Ligang, ZHENG Ping, CAI Liuti, YU Zhihe (228
Analysis on in situ conservation status and conservation vacancy of wild Orchidaceae in Guizhou Province
······· YE Chao, LIU Feng, AN Mingtai, YANG Yanbing (240
Spatial distribution patterns and interspecific correlation of Sinojackia xylocarpa in Laoshan Mountain of Nanjing DONG Peng
PENG Zhiqi, ZHU Hong, ZHU Shuxia, DONG Jingjing, ZHAI Feifei, ZHONG Yuqian, ZHENG Aichun, WANG Xianrong, YI Xiangui (247
Interspecific and intraspecific variation in leaf functional traits of four local precious hardwood species
LIU Zhaoyang, LUO Yinghua, YU Ying, MENG Jian, YANG Haiju (257
Bioinformatics analysis of WRKY gene family in Physcomitrella patens QIAO Gang, LI Li, JIANG Shan (267
Cloning and expression analysis of BeLEA2 gene from Brachymenium exile LI Xuebao, WANG Qi, YAN Bo (277
Clone and expression analysis of DcSKP1 in Dianthus caryophyllus
ZHOU Xuhong, ZHAO Xueyan, YANG Xiaomi, WU Xuewei, QU Suping (286
Bioinformatics analysis of GeBP transcription factor gene family in Glycin max GONG Yuanyong, ZHAO Lihua, YAN Fei, ZHU Lihong (294
Cloning and expression analysis of FtF5H gene from tartary buckwheat (Fagopyrum tataricum)
DUAN Ying, YANG Xiaolin, CAI Suyun, HE Runli, YIN Guifang, WANG Yanqing, LU Wenjie, SUN Daowang, WANG Lihua (304
Comprehensive evaluation of salt tolerance in wheat based on physiological indexes of leaves at germination stage
······ WANG Wei, LIU Yantao, WANG Zhi, NIU Liya, YU Liang, LU Li, WANG Fengzhi, WANG Weiwei (315

Relationship between panicle differentiation and leaf age index of sorghum ······ ZHOU Yu, HUANG Juan, ZHANG Yaqin, WU Yu, LI Zebi (324) Purification technology of total flavonoid-C-glycosides of Premna fulva by macroporous resin ······ DANG Jiaoyang, CHEN Yueyuan, YAN Xiaojie, LU Fenglai, LI Xia, LI Dianpeng (333) Screening of reference genes for RT-qPCR in Euphorbia maculata ······· SONG Meiling, HUANG Shenghe, CHEN Zujie, ZOU Jiaxuan, LIU Huansheng, QUAN Wenjun (340)

No. 3

Prediction of potential distribution of Sophora flavescens in China under climate change Potential suitable area of Altingia multinervis predicted by optimizated MaxEnt model WEN Guowei, YE Xingzhuang, SHI Chenyang, LAI Wenfeng, LIU Bangyou, JIANG Tianyu, ZHU Xiaoru, ZHANG Guofang (363) Exploring the flowering period change of Meconopsis based on digital specimen CAI Baokun, WANG Yingwei, TANG Zhonghua (373) Analysis of elevation pattern of seed flora on the south slope of Budanla Mountain in southern Tibet, China WANG Junwei, MING Shengping, YANG Kun, HE Min, LA Qiong (384) Latitudinal variation of branchlet biomass allocation and functional traits of endangered species Michelia odora and its influencing factors MENG Jian, LUO Yinghua, YU Ying, LIU Zhaoyang, Lin Jianyong (394) Limiting factors of photosynthesis of Phyllostachys edulis seedlings treated with nitrogen fertilized and change of short-term light irradiance HUANG Runxia, MENG Jinliu, ZHOU Benzhi, CHENG Xinjin, YANG Meijuan, TANG Liping, WANG Lixian, YANG Rongfu (406) Effects of fertigation under equal nitrogen on ration yield and nitrous oxide emissions in soil ZHAO Guosheng, LI Fusheng, NONG Mengling (413) Effect of inorganic nitrogen supply on the salt-tolerance of Brassica napus plantlets in vitro Temporal and spatial distribution characteristics of naturalized plants in West China LI Longqin, XU Guangyao, GAO Yue, MO Xunqiang, LI Hongyuan (429) Analysis on the differences of light utilization strategies of four Poaceae species with different evolution degrees in the south subtropical region of China during summer periodZHANG Yafang, WANG Hailing, ZHU Shidan, ZHANG Xiaoyan, ZHU Junjie (440) Distribution pattern of plant community and its relationship with environmental factors in Qilian Mountains National Nature Reserve of Gansu Province Displacement distribution and climate explanation on humid and semi-humid evergreen broadleaved forests using niche model of Cyclobalanopsis glauca and C. glaucoides in China LIU Ying, TIAN Bin, OU Guanglong (460) Heavy metal pollution and health assessment in sediments of Kandelia obovata wetlands of different origins ······ PAN Hui, ZHENG Kaiji, YOU Weibin, WANG Ren, CAI Jinbiao, HE Dongjin (470) Heavy metal enrichment of dominant plants in Niujiaotang mining area of Guizhou Province DUN Mengjie, ZHANG Yunxia, SONG Bo, SHENG Xin, ZHOU Lang, BIN Juan (479) Analysis of microbial diversities and enzyme activities of rhizosphere soil of Pennisetum giganteum (giant juncao) under different degrees of saline-alkali Ecological adaptability of endangered plant Bhesa robusta sapling in different habitats Differences in leaf functional trait responses to heterogeneous habitats between dominant canopy and understory tree species in a south subtropical ever-Population structure and dynamics analysis of rare and endangered plant Camellia kweichowensis TANG Feng, ZOU Tiancai, YANG Naikun, HU Guangping, LIU Haiyan (520)

No. 4

Research progress of non-volatile chemical components from <i>Eucalyptus</i> genus plants and their pharmacological activities
HUANG Liping, ZHOU Zhongliu, WU Yingyao, LI Chunyan, ZHANG Canlong, XUE Zhongfeng (531
Effects of mixing Eucalyptus and Castanopsis hystrix on soil hydrolytic enzyme activities and ecoenzymatic stoichiometry
SHAO Wenzhe, ZHOU Xiaoguo, WEN Yuanguang, WANG Lei, ZHU Hongguang, CHEN Qiuhai, ZHANG Yuna, YOU Yeming (543
Effects of a mixture of Eucalyptus and Castanopsis hystrix on soil nutrients and understory plant functional groups
CHEN Qiuhai, ZHOU Xiaoguo, ZHU Hongguang, WEN Yuanguang, WANG Lei, SHAO Wenzhe, ZHANG Yuna (556
Effects of nitrogen-fixing tree species on soil aggregate-associated enzyme activities and ecoenzymatic stoichiometric ratios in Eucalyptus plantations
······ MO Xueqing, XIAO Na, TAN Xumai, GAO Guannü, YAN Jinliu, SU Xiaoyan, You Yeming (569
Characteristics, evolutionary and expression analysis of R2R3-MYB genes in Pinus massoniana
SUN Shuang, HU Ying, LU Jingyu, YANG Zhangqi, CHEN Hu (580
Effects of multi-layer and mixed-age forest management of Pinus massoniana plantations on carbon components and transformation of soil aggregates
XIAO Na, MO Xueqing, TAN Xumai, SU Xiaoyan, YAN Jinliu, GAO Guannü, ZHANG Wen, HUANG Xueman, YOU Yeming (595
Effects of different fertilization ratios on growth characteristics of <i>Pinus massoniana</i> seedlings
LUO Xianying, MO Ronghai, DING Guijie, CHEN Long (608
Variations of photosynthetic characteristics of Rhododendron delavayi in different growth phases and influencing factors
CAI Yanfei, PENG Lüchun, SONG Jie, ZHANG Lu, XIE Weijia, QU Suping (617
Physiological and growth responses of Solanum diphyllum seedlings to Cd stress
ZHOU Jiao, PAN Yuanzhi, ZHAO Yin, LIU Sili, JIA Yin, JIANG Beibei, WU Mengxi, ZHANG Lu, XU Qian, WANG Kailu, ZENG Yong (628
Dynamics of key enzyme activity in starch synthesis and its correlation with yield and starch accumulation of root tubers in Kudzu
GUO Lijun, YU Jianbin, XIAO Dong, HE Longfei, WANG Aiqin (639

No. 5

Over expressionn of soybean receptor-like protein kinase RLPK2 gene from Glycine max promotes transgenic Arabidopsis thaliana leaf senescence Pharmacognostic identification study of Lonicera fulvotomentosa JIANG Xianghui, XIAO Longqian, YANG Yongping (738) Gene expression analysis of MVA pathway in Pogostemon cablin and its correlation with synthesis of main components KANG Dali, HU Weiming, OUYANG Puyue (745) Community composition changes of endophytic fungi from two cultivated species of Pogostemon cablin WANG Liguo, XIAO Jingjing, DENG Yueting, CUI Yexuan, LIU Zhifen (753) Extraction and component analysis of essential oil of Melaleuca alternifolia by green deep eutectic solvents DU Hongxia, SHI Jinyi, WANG Donge (762) Difference and dynamic changes of volatile components in key harvest months of Curcuma kwangsiensis Biological activities of endophytic fungi from Asclepias curassavica YIN Na, SONG Nali, PU Xiaojia, GU Qianlan, YANG Haihao, WAN Chunping, QI Yan, LI Xiaosi, ZHENG Xi (781) Isolation, identification and antioxidant activity of the flavonoid glycosides from Polygala fallax flower LI Gen, PAN Zhenghong, NING Desheng, LI Lianchun, FU Yuxia, LI Haiyun (790) The relationship between the growth of spring shoots and the dynamic changes of endogenous hormones in Polygala fallax Effects of sucrose on growth of tobacco hairy roots induced by Agrobacterium rhizogenes C58C1 XIANG Run, JIANG Long (802) Enhancement effects of sucrose on haustorium formation in two root hemiparasitic species of Orobanchaceae LI Yanmei, SUI Xiaolin, XUE Ruijuan, LI Yue, LUO Yan, LI Airong (811) Different components between Aconiti Radix and its processed product from different regions WU Dandan, LIU Yan, GUO Pengfei, KUANG Haixue, YANG Bingyou (820) Difference analysis on contents of gallic acid and catechin in roots of Rosa laevigata and its processed products from different habitats of Guangxi WEI Xiyuan, DENG Qi, LU Xiaoling, SHU Ke, ZHUO Shen, FAN Jiawen, PAN Sixing (833) Relationship between root growth and development of Astragalus seedlings and GR24 and IAA HUANG Xiaoyu, PANG Juan, CHEN Guilin (845) Hypoglycemic activities of different solvent extracts from Pyrrosia lingua in vitro Chemical constituents of Cinnamomi Ramulus JIN Yongliang, CHEN Guanyi, LIU Wenqin, WAN Pingnan, CHEN Zhongwen, LIU Hua (860) Chemical constituents of anthraquinone from Rubia oncotricha LI Yin, HUANG Hongyun, HUANG Yong, HE Yanling, WANG Yang, LI Yongjun (866) Analysis of total flavonoids, crude protein and its components in different lines of self-fertile common buckwheat, golden tartary buckwheat and rice tartary buckwheat RAN Pan, YANG Lijuan, CUI Yasong, CAI Qizong, XIA Yufei, CHEN Qingfu (874) Effects of graphene oxide on stress physiological and photosynthetic characteristics of Lolium perenne

No. 6

Carbon and nitrogen stable isotopes of vegetation succession stages in karst plateau gorge area of Beipanjiang in southwestern Guizhou WU Yingu, YU Yanghua, LI Yitong, ZHENG Wei (961) Effects of different land use and ecological restoration types on soil enzymatic C: N: P ratios in a karst ecosystem ZHANG Runyang, QIAN Qian, LIU Kunping, LIANG Yueming, ZHANG Wei, JIN Zhenjiang, PAN Fujing (970) Species abundance distribution pattern of plant communities in different terrains in subtropical karst area TIAN Li, AN Mingtai, YU Jianghong, WU Moxu (983) Bioinformatics analysis of CBL-CIPK signaling system participating in the formation of cold resistance in Jatropha curcas WANG Haibo, LI Furong, YANG Jincui, GUO Junyun (996) Effects of different soil selenium levels on growth and partial physiological characteristics of Atractylodes macrocephala seedlings ZHANG Meide, WU Haitang, ZHANG Yajuan, LI Darong, XIONG Linke, DUAN Yuanyuan, ZHOU Wuxian (1008) Annual growth rhythm of Melia azedarach seedlings from different seed sources CAI Jinfeng, YU Wanwen, WANG Guibin, CAO Fuliang (1018) Effects of salt stress on seed germination of Chenopodium quinoa A preliminary study on construction mechanism of vertical structure in Castanopsis orthacantha community Effects of Chimonobambusa utilis management on species diversity and dominant population structures of Castanopsis platyacantha community in Jinfo Mountain WANG Jingmei, ZHOU Lihua, HUANG Li, HU Siwei, JIN Cheng, YANG Yongchuan (1049) Analyses on distribution characteristics and protection effect of wild Paphiopedilum in Guizhou Province Community composition and structure dynamics of secondary coniferous and broad-leaved mixed forest in Dongbaishan, Zhejiang Province LI Qiao, FAN Qingping, TANG Zhansheng, MENG Jie, ZHANG Minde, WANG Yunquan, LI Minghong, ZHONG Lei, CHEN Jianhua (1067)

No. 7

Effects of nitrogen addition on nitrogen transformation and related functional gene abundance in <i>Pinus sylvestris</i> var. <i>mongolica</i> plantation
Responses of <i>Dicranopteris pedata</i> leaves to micro-topography in red soil erosion region of South China
Effects of moderate ultraviolet radiation enhancement on photosynthetic characteristics and medicinal active components of <i>Dictamnus dasycarpus</i>
Spring and autumn phenology patterns of subtropical plants and their responses to climate change
Relationship between species diversity of plant communities and soil factors at different elevations in Baluntia area, the southern slope of Mid-Tianshan Mountains MA Zijing ZHANG Yunling LIU Bin (1116)
Clonal growth and sexual reproduction characteristics and influencing factors of <i>Schoenoplectus tabernaemontani</i> in Yunnan Plateau lakes
Decomposition characteristics of common wetland emergent plants in Dianchi lakeside
Characteristics of Na ^{$+$} and K ^{$+$} absorption and transport of <i>Typha domingensis</i> in artificial saline wetlands
Heavy metal pollution assessment of a typical manganese mine tailing and heavy metal enrichment characteristics of dominant plant species in North
Analysis of metabolites change from flowering to withering of <i>Rhododendron delavayi</i> based on LC-MS/MS
Untargeted metabonomics study of <i>Semiliquidambar cathayesis</i> in treatment of rheumatoid arthritis
Analysis of flavonoids in different tissues of <i>Kadsura coccinea</i> plant by widely-targeted metabolomics
Spatial distribution and habitat characteristic of <i>Pinus kwangtungensis</i> in the Guangdong Nanling 20 hm ² forest dynamics plot
Changes of tissue structures, photosynthetic characteristics and pigment contents of <i>Liquidambar formosana</i> leaves in the process of turning red
Effects of nitrogen fertilization depth and water stress on quinoa seedling physiological characteristics and yield
Effects of exogenous SA on root exudates of <i>Helianthus tuberosus</i> under aluminum stress
Influence of gravel content of soil on growth and root characteristics of <i>Handeliodendron bodineri</i> for the soil on growth and root characteristics of <i>Handeliodendron bodineri</i> for the soil of the
LIU Tianteng, XIE Chuan, GUO Song, LI Zaihu (1240) Differences in growth, photosynthesis and resistance physiology of <i>Morus alba</i> and <i>Broussonetia papyrifera</i> under bicarbonate treatments

No. 8

Vegetation classification and mapping of Dajinshan Island: A grid inventory-based approach
XU Mingshan, ZHU Xiaotong, WANG Wansheng, DU Yuncai, WANG Yanying, LIANG Qiming, ZHENG Liting, YAN Enrong (1273)
Seasonal changes of leaf physiological characteristics of <i>Ipomoea pes-caprae</i> in coastal sand
JIN Yun, ZHU Liqiong, ZHAO Lijun, HUA Bin, QUAN Jiahui, LIU Jinchi (1284)
Diversity and biological activity of culturable bacteria in three true mangrove plants of Guangxi
LI Fangting, LI Mi, XU Shufen, WANG Huimin, LIU Yonghong, GAO Chenghai (1294)
Impact factors on seed germination and seedling survival in Casuarina equisetifolia natural habitat WANG Yu, HAO Qingyu (1304)
Effects of pure and mixed plantations of Casuarina equisetifolia on soil profile physico-chemical properties
WANG Xiaoyan, XUE Yang, SU Shaofeng, LIN Zhipan, LEI Xiangling, WANG Yaoshan (1315)
Site selection and plant diversity conservation of national park in Guizhou Province XIE Bo, YANG Guangbin, LI Man, LI Yiqiu (1325)
Association analysis of orchid diversity and habitat in main land nature reserves in Hainan
ZHOU Kang, ZHANG Zhe, SONG Xiqiang, LI Dacheng, CHEN Zhiheng, ZHANG Zhongyang, LI Linming (1337)
Epigenetic diversity of Chinese flowering cabbage revealed by F-MSAP
Genetic diversity of Pinus taiwanensis var. damingshanensis natural populations by SSR markers
LUO Qunfeng, FENG Yuanheng, WU Dongshan, YANG Zhangqi (1367)
EST-SSR marker development and interspecific generality of Albizia odoratissima AN Qi, FENG Yuanheng, YANG Zhangqi, HU La (1374)
Genomic sequence analysis of four culm variants of Moso bamboo (<i>Phyllostachys edulis</i>) on culm
MU Shaohua, Li Juan, Li Xueping, GAO Jian (1383)
Comparative study on chloroplast genomes of three <i>Magnota</i> species
Charles and the second
Cloning, expression and promoter analysis of LIAGO1 from Linoaenton tuthylera
Claring and supression analysis of M2CT1 in Magnelia liliform 'Hanguanhae'
Confing and expression analysis of <i>MISGI</i> in <i>Magnotia tudjora</i> Hongydanbao
Coden usage bias in the chloroplast genome of Ventilage laiogarga
Could usage that in the entropical genome of remaining reacting reacting and the entropy of the
Bioinformatics of grane CRF4 gene and its response to low temperature and potassium silicate
Zinito naiguei, inito naiguei, Zinito Rei, inito Leopuegaig, inito cuming (155)

No. 9

Modulating effects of tomato total saponin on uric acid in hyperuricemia mice
YANG Bingyuan, HE Ruijie, WANG Yafeng, HUANG Yonglin (1448)
Mogroside IIE effects on macrophage in diabetic inflammatory models
Separation and preparation of alkaloids with inhibitory activity of α -glucosidase from Sophora tonkinensis by pH-zone-refining counter-current chromatogra
phy LIANG Senlin, HUANG Yonglin, HE Ruijie, WANG Yafeng, YANG Bingyuan, LI Dianpeng, SI Hongbin (1459)
Analysis and comparison of leaf nutrient components of Ardisia gigantifolia from different cultivated years
TANG Fengluan, LIANG Yingyi, SUN Feifei, ZHAO Jian (1466)
Expression analysis of triterpenoid saponin biosynthesis related genes in Ardisia gigantifolia
LEI Yuyang, LI Ji, ZHAO Liyun, LUO Ming, CHEN Hongfeng (1473)
Anti-inflammatory constituents of Clerodendranthus spicatus
Secondary metabolites and activities of endophytic fungus Talaramyces sn
Chamical components of antioxident entropt in Olas arranges and and arrange and arrange and arrange ar
Chemical components of antioxidant extract in <i>Olea europaea</i> pointace
CHEN GEDEN, WANG Hudie, PEI Dong, HUANG Ainyi, Di Duolong (1498)
Components and activities of essential oils from peel of three endemic <i>Cutrus</i> L. in Yunnan
LI Yu, CHEN Bo, SHI Jianlian, MA Hailing, XI Yangyanbin, LIU Jia (1507)
Main material basis and anti-tumor activities of <i>Tripterygium wilfordii</i> extract
HU Dan, DING Tongtong, LI Jiang, DENG Lulu, WU Shuyan, MU Shuzhen (1514)
Chemical constituents of Sida szechuensis and their anti-inflammatory activities
LUO Mingchu, SHI Xiaocui, SUN Peng, LU Jianmei, SONG Xingzhen, JIA Hiuzhen, WU Min, XU Youkai (1522)
Chemical constituents and their anti-inflammatory activities from rhizome of ethnic medicine Rosa roxburghii
LIANG Yong, LI Lianggun, WANG Li, ZHOU Lang, YANG Xiaosheng (1531
Chemical components of Hypericum lagarocladum
ZHANG Han, DENG Jingtong, PENG Yu, HAN Oingdi, ZHOU Xiandong, YANG Xinzhou (1542)
Creating new tohacco germulasm with herbicide-resistance based on oligonucleotide-mediated mutagenesis (OMM) technology
Situang new concess (criminal control of constant control of contr
Identification and bioinformatics analysis of WD40 game family of Macananais kamidula
Identification and bioinformatics analysis of wD40 gene family of meconopsis normatian
KEN Turing, ZHAO Tan, ZHAO Chengzhou, Li Ping (1501)
Genome-wide identification and expression of miller <i>PAL</i> gene family
MENG Yaxuan, SUN Yingqi, ZHAO Xinyue, WANG Fengxia, WENG Qiaoyun, LIU Yinghui (1572)
Genome sizes and characteristics of cliff plants Opisthopappus taihangensis and O. longilobus on Taihang Mountains
WANG Yiling, ZANG En, ZHANG Hao, LIU Zhixia, LAN Yafei, HE Shan, HAO Weili, CAO Yanling (1582)

《广西植物》第 42 卷总目次

Cloning and fuction analysis of <i>RcCATs</i> and <i>RcSODs</i> genes in Tibet <i>Rhodiola crenulata</i>
WANG Hongpeng, LI Yidan, TENG Yanjiao, CHEN Chengbin, ZHANG Lipeng (1590)
Contrasting hydraulic safety margins of three cycads
Quality standard of Smilax stans ZHAO Chunxiao, LI Hanwei, SU Xiuhong, LAN Jinxu, CHAO Liqin (1612)

No. 10

Two new tetraploid quillwort species, Isoëtes longpingii and I. xiangfei from China (Isoëtaceae)
SHU Jiangping, GU Yufeng, OU Zhiguo, SHAO Wen, YANG Juan, LU Qiyong, ZHANG Xianchun, LIU Baodong, WANG Ruijiang, YAN Yuehong (1623
Selaginella pseudotamariscina (Selaginellaceae), an overlooked rosette-forming resurrection spikemoss from Vietnam
Supplementary description of flowering branches and flowers of <i>Bonia amplexicaulis</i> in Guangxi
ZHANG Yuqu, YANG Xinjie, CHENG Huyin, GAO Jing, PENG Liang, ZHANG Mingying, ZHANG Gang (1641
Exclusion of Glochidion arborescens (Phyllanthaceae) from the flora of China ZHANG Wenhua, GUO Yongjie, LI Yuling, YAO Gang (1645
Morphological and cytological studies on male sterility in Ferula sinkiangensis HE Shuang, TAN Dunyan (1652
Leaf morphology and taxonomic significance of five species in Hypoxidaceae from China
TIAN Qin, DUAN Hanning, WANG Yunqiang, LI Haitao, LI Lu (1661
Pollen morphology and its taxonomic significance of 10 Primula species from the Shergyla Mountains
LIU Lin, ZHANG Liangying, CHENG Guilan, HE Dan, ZHANG Lifei, MENG Fanli (1675
Timescale of angiosperm evolution based on Ks distribution
Phylogenetic diversity and its distribution pattern of asterids in Yunnan angiosperms flora
Genealogical structure and differentiation analysis of <i>Carpinus tientaiensis</i> based on single nucleotide polymorphism of chloroplast genome
Confirmation of the systematic positions about <i>Biondia</i> and <i>Merrillanthus</i> (Apocynaceae) based on molecular evidence
Influence of net diversification rate and evolutionary time on the differences in species richness among families of order Saxifragales
GU Jiahao, ZHANG Lihao, ZHANG Haoyu, WU Tianqing, HUANG Linqing, CHENG Ruijing, XU Ying, WANG Qinggang, XU Xiaoting (1730
Plastid phylogenomic insights into the phylogeny of Convolulaceae
CHEN Liqiong, ZHANG Zhirong, YANG Junbo, LI Dezhu, YU Wenbin (1740
Analysis of complete chloroplast genome characteristics from wild populations of <i>Acanthocalyx alba</i>
ZHU Xuetai, DU Fan, YE Xiaovan, FAN Jiaxin, IIANG Changsheng (1762
Opuntia humifusa (Raf.) Raf., a newly naturalized species of Cactaceae in China
Additions to <i>Goniothalamus</i> (Annonaceae) in the flora of China
Newly recorded species data of Orchidaceae from Tibet, China
LI Mengkai, Pubu Dunzhu, XING Zhen, LI Huiling, ZHANG Zhang, WANG Wei (1780
Meconopsis dhwojii G. Taylor ex Hay (Meconopsis Viguier), a new record to China ZHANG Xu, ZHOU Haiyi, XU Changlong, XU Bo (1786
Cymbella pavanaensis A. Vigneshwaran et al., a diatom reported for the first time in China
LONG Jiyan, LIU Bing, ZHOU Yangyan, XU Sanmei, CHEN Jinhua (1791

No. 11

No. 12

UPLC-MS/MS-bBased metabolomic characterization and contrastive analysis between Allium wallichii and A. tuberosum seeds HUO Dongao, TIAN Ruifeng, REN Yongquan, DUAN Xingyu, HONG Dengfeng, WANG Bo (1995) Comparative analysis of the chloroplast genomes of three cultivars of Hibiscus mutabilis and its related species LI Zhenbing, REN ting, DENG Jiaojiao, CHEN Junpei, ZHOU Songdong, ZENG Xinmei, MA Jiao, LI Fangwen (2007) Identification and expression analysis of CesA gene family in Brassica rapa var. glabra MA Yuchen, ZHAO Yumei, HUANG Danlin, ZHANG Mengqing, WU Xiaoyu, WANG Jie, CHEN Yu, HUANG Jiabao, DUAN Qiaohong (2021) Identification and expression analysis of AP2/ERF transcription factor under water stress in Olea europaea WANG Lijuan, WANG Yi, LU Bin, LUO Maniya, XU Lingwen, YUAN Xiaolong, LI Xianzhong (2032) Genome identification of Camellia sinensis TIFY gene family and its expression analysis of abiotic stress Increased nutrients enhance the growth and competitive ability of invasive populations of Bidens frondosa ······ WEI Chunqiang, TANG Saichun, LI Xiangqin, PAN Yumei (2056) Ecological stoichiometric characteristics of carbon, nitrogen and phosphorus in different invasition degrees of Ageratina adenophora Dynamics of community composition and structure in secondary savanna shrub forest of arid-hot valley in National Nature Reserve of Cycas panzhihuaensis LONG Cheng, YU Zhixiang, YANG Yongqiong, SHUI Meimei (2075) Microbial diversity in rhizosphere soil of Paris polyphylla var. chinensis in different growth yearsXIAN Kanghua, SU Jiang, FU Chuanming, HE Wen, LIU Baojun, XIE Dongbin, HUANG Ningzhen, HE Jinxiang (2087) Comparison of fungal community structures in rhizosphere soil between sensitive and insensitive mulberry varieties to bacterial wilt Effects of carbon and nitrogen sources on the induction, development and organic matter accumulation of embryogenic callus in Ormosia henryi WU Gaoyin, WEI Xiaoli , WANG Xiao, WEI Yi (2109) Effects of shading treatment on N, P and K distribution and growth of ornamental Gardenia jasminoides cultivars LIU Xiangdong, YIN Chenxi, YANG Jilong, HOU Zhiyong, LI Yanlin, YU Xiaoying (2117) Stress physiology of lotus embryo under temperature stress WANG Gongda, CHU Yunxia, XU Zheng, ZHANG Di, ZHANG Yiying (2128) Effects of foliar spraying of calcium and magnesium fertilizers on malic acid accumulation of 'Feizixiao' litchi fruit LIAO Haizhi, LIN Xiaokai, YANG Chengkun, DU Jingjia, PENG Junjie, ZHOU Kaibing (2138) Photosynthetic regulation of Cymbidium sinense in response to combined stress of nitrogen and fluctuating light intensity LI Zhixiong, HUANG Wei, ZHANG Shibao (2147) Variation of net photosynthetic rate of grape and its influencing factors in arid area of Northwest China QIN Wenhua, ZHANG Yang, ZHU Yongtai, XU Cong, CHEN Huiling, ZHU Gaofeng (2157) Effects of LED light qualities and photoperiods on growth and photosynthetic characteristics of Michelia gioii WU Fanglan, LI Shuling, YANG Mei, PANG Weican, HUANG Jingjie, LI Qianlin, FAN Rongyuan (2167) Comparison of leaf structure and photosynthetic characteristics between two leaf types of Viola monbeigii DU Meina, ZHAO Xiang, LI Mingjia, XU Junshan (2178)

(卷终)

《广西植物》2022年封面文章总览



章颖佳,程少禹,王卓为,戴梦怡,董彬,张超,张寿洲,王亚玲,申亚梅.紫玉兰'红元宝'花芽分化阶段基因定量分析的内参基因筛选[J].广西植物,2022,42(1):113-121.

黄梅,李美君,黄红,张金权,白新祥.贵州省野生苦苣苔科物种多样性与地理分布[J].广西植物,2022,42(2):210-219. 王俊伟,明升平,杨坤,何敏,拉琼.藏南布丹拉山南坡种子植物区系海拔格局分析[J].广西植物,2022,42(3):384-393. 席银凯,杨武德.大花蕙兰'黄金小神童' 胚性愈伤组织诱导及植株再生研究[J].广西植物,2022,42(4):682-690.



蒋向辉,肖龙骞,杨永平.黄褐毛忍冬生药学鉴定研究[J].广西植物,2022,42(5):738-744. 杨慧,宁静,马洋,周孟霞,曹建华.西南岩溶区植被碳循环研究进展[J].广西植物,2022,42(6):903-913. 苏宇航,宋晓倩,郑晶文,曹梦,张衷华,唐中华.适度紫外辐射增强对白鲜光合特性和药用活性成分的影响[J].广西植 物,2022,42(7):1096-1104.

高程海, 夏家朗, 梁考云, 刘永宏, 易湘茜. 北部湾海洋植物及其共附生微生物次级代谢产物研究进展[J]. 广西植物, 2022, 42(8): 1259-1272.



王祎玲,臧恩,张昊,刘志霞,兰亚飞,何珊,郝伟丽,曹艳玲. 崖壁植物太行菊与长裂太行菊全基因组大小及特征分[J]. 广西植物,2022,42(9):1582-1589. 王琦,严靖.中国仙人掌科一新归化种——匍地仙人掌[J]. 广西植物,2022,42(10):1767-1771. 汪雪影,胡永红,张宪权,秦俊,刘群录. 氦、磷、钾肥对绣球'花手鞠'容器苗生长及养分状况的影响[J]. 广西植物,2022, 42(11):1971-1979. 李镇兵,任婷,邓姣姣,陈俊佩,周颂东,曾心美,马娇,李方文. 木芙蓉三个品种及近缘种的叶绿体基因组比较分析[J]. 广 西植物,2022,42(12):2007-2020.

广西植物 被国际和国内重要数据库收录:

- ☆ 俄罗斯《文摘杂志》(AJ, VINITI, Abstract Journal)
- ☆ 美国《化学文摘》(CA, Chemical Abstracts)
- ☆ 英国《国际农业与生物科学研究中心 (全文库)》(CABI)
- ☆ 英国《全球健康》(Global Health)
- ☆ 美国《剑桥科学文摘》(CSA: NS)
- ☆ 波兰《哥白尼索引》(IC, Index of Copernicus)
- ☆ 日本《日本科学技术振兴机构数据库》(JST, Japan Science and Technology Agency)
- ☆ 美国《乌利希国际期刊指南》(Ulrich's, PD)
- ☆ 美国《史蒂芬斯全文数据库—艾博思科数据库》(EBSCOhost)
- ☆ 英国《邱园索引》(Index Kewensis)
- ☆ 美国《柯尔比科学文化信息中心》(CICSC)
- ☆ 中国《中文核心期刊要目总览》一中文核心期刊
- ☆ 中国科技论文统计与分析数据库(CSTPCD)—中国科技核心期刊
- ☆ 中国科学引文数据库(CSCD)、科学引文数据库 (SCD)
- ☆ 中国生物学文献数据库(CBAD)、中国生物学文摘(CBA)
- ☆ 中国学术期刊文摘数据库(CSAD)、中国化学化工文摘(网络版)
- ☆ 中国期刊全文数据库(CJFD)
- ☆ 中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)
- ☆ 中国知识资源总库—中国科技期刊精品数据库(http://epub.cnki.net)
- ☆ 中国知网《中国学术期刊(网络版)》(CAJ-N)首批收录期刊(http://navi.cnki.net/knavi/JournalDetail?pcode=CJFD&pykm=GXZW)
- ☆ 中文科技期刊数据库 (SWIC) (http://www.cqvip.com)
- ☆ 中国核心期刊 (遴选) 数据库(http://wanfangdata.com.cn)
- ★ 中国生物医学文献服务系统(SinoMed) (http://www.sinomed.ac.cn)
- ☆ 中国台湾华艺中文电子期刊服务资料库一思博网(CEPS)(http://www.ceps.com.tw)
- ☆ 博看网(http://www.bookan.com.cn)、龙源期刊网(http://www.qikan.com.cn)
- ☆ 中国科学院科技论文预发布平台(ChinaXiv)(http://chinaxiv.org)
- ☆ 中国科学院科技期刊开放获取平台(CAS-OAJ)(http://www.oaj.cas.cn)
- ☆ 国家科技期刊开放平台 (http://doaj.istic.ac.cn)

广西植物

月刊,1981年创刊 第42卷 第12 期 2022年12月

GUIHAIA

Monthly, Started in 1981

Vol. 42 No. 12 Dec. 2022

主管单位: 广西科学院 **主办单位**:广西壮族自治区 广西植物研究所 中国科学院 ۴ 西植物学 名誉主编: 马克平 编:李先琨 主 副主编: 蒋巧媛(常务) 李莉 编辑单位:《广西植物》编辑部 曲 址:桂林市雁山 邮编:541006 电话/传真: (0773) 3550074 电子信箱: guihaia@gxib.cn XX 址: http://www.guihaia-journal.com 出版单位:斜 学 出 版 社 (北京东黄城根北街16号 邮编: 100717) 印刷装订: 桂林日报印刷厂 订购处:全国各地邮局 总发行:斜学出版社 国内发行:中国邮政集团公司桂林市分公司 海外总发行:中国国际图书贸易集团有限公司 (北京399信箱)

 ISSN 1000-3142 CN 45-1134/Q
 国内定价: 45.00元

 国内邮发代号: 48-43
 国外发行代号: MO-5054

 版权所有©
 国内外公开发行





