

银胶菊叶对苘麻和稗的化感作用

陈业兵 王金信* 彭学岗 张 猛 丁 君

(山东农业大学植物保护学院, 泰安 271018)

摘要: 通过室内培养皿法,研究了银胶菊叶片水浸提液及其乙酸乙酯相、正丁醇相、剩余水相不同极性组分对苘麻和稗种子萌发、幼苗生长及生理生化机制的影响。结果表明,在 $62.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 水浸提液处理下,苘麻和稗发芽率比对照分别降低 86.7% 和 66.6%,对苈麻和稗幼苗根长的抑制率分别为 96.4% 和 87.5%,大于对芽长、鲜重的抑制率,乙酸乙酯相和正丁醇相抑制苈麻和稗种子萌发的作用较强,剩余水相抑制苈麻幼苗生长的作用最强,乙酸乙酯相抑制稗幼苗生长的作用最强;在 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度处理下,乙酸乙酯相生物活性最高,完全抑制苈麻和稗种子萌发,对苈麻和稗根长、芽长、鲜重抑制率分别为 82.6%、90.2%、78.2% 和 78.8%、86.8%、69.1%;乙酸乙酯相降低了受体的根系活力,提高了其超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性和丙二醛含量。

关键词: 银胶菊; 苈麻; 稗; 化感作用

Allelopathy of leaves of *Parthenium hysterophorus* L. on *Abutilon theophrasti* Medic. and *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv.

Chen Yebing Wang Jinxin* Peng Xuegang Zhang Meng Ding Jun

(Pesticide Department, College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong Province, China)

Abstract: The allelopathic effect of *Parthenium hysterophorus* L. leaf aqueous extract and its ethyl acetate fraction, *n*-butanol fraction and residuary water fraction on the germination, seedling growth, physiological and biochemical mechanism of *Abutilon theophrasti* Medic. and *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. were studied by using indoor Petri dish bioassay method. The germination rate reduced by 86.7% and 66.6% for *A. theophrasti* and *E. crusgalli* at $62.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ of aqueous extract respectively, and the inhibition rate of root growth was more than inhibition rates of shoot growth and fresh weight, the inhibition rates of root growth were 96.4% and 87.5% for *A. theophrasti* and *E. crusgalli* respectively. The ethyl acetate fraction and *n*-butanol fraction exhibited more inhibitory effect on germination of *A. theophrasti* and *E. crusgalli* than residuary water fraction in three different polarity components, and residuary water fraction exhibited the most inhibitory effect on seedling growth for *A. theophrasti* while ethyl acetate fraction for *E. crusgalli*. The ethyl acetate fraction had the highest bioactivity, and seed germination of *A. theophrasti* and *E. crusgalli* was complete failure at $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, and the inhibition of root growth, shoot growth and fresh weight were 82.6%, 90.2% and 78.2% for *A. theophrasti* respectively while 78.8%, 86.8% and 69.1% for *E. crusgalli* respectively. The results of physiological and biochemical indices of receptor indicated that the ethyl acetate fraction decreased root activity, improved SOD and POD activities and increased the content of MDA of treated plants.

基金项目:教育部高等学校博士学科点专项研究基金(20070434006)

作者简介:陈业兵,男,1982年生,博士研究生,研究方向为植物化感作用

* 通讯作者(Author for correspondence), email: wangjx@sdau.edu.cn, Tel: 0538-8241114; 收稿日期:2008-07-11

Key words: *Parthenium hysterophorus*; *Abutilon theophrasti*; *Echinochloa crusgalli*; allelopathy

化感作用是指植物或微生物通过向环境中释放一些特殊的化学物质而对其它植物或微生物产生直接或间接的、有益或有害的作用^[1]。植物化感作用普遍存在于自然界,是一种重要的生态机制。化感作用的深入研究对认识植物群落结构及演替、入侵植物的危害性及入侵机制、生物除草和新型农药的开发都具有重要的意义^[2-3]。

银胶菊 *Parthenium hysterophorus* L. 为菊科银胶菊属草本植物,原产于美国及墨西哥北部,在我国,发现于 20 世纪 50 年代,王康满等^[4]于 2004 年首次报道了银胶菊在山东省莒南县发生。国外学者研究发现,银胶菊具有很强的竞争能力,可以导致苔麸 *Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter 减产^[5],抑制萝卜种子萌发和幼苗生长^[6-7];Pandey 等^[8-9]研究发现银胶菊水浸提液影响水生植物水葫芦和槐叶萍的生长。目前,国外有关银胶菊对陆生杂草的化感作用研究极少,国内尚无相关报道。作者研究了银胶菊对本地杂草的化感作用,并通过测定提取物对受体酶及其生理活性的影响,探讨银胶菊对受体的化感作用机制及其本地物种对外来入侵植物的适应性反应。

1 材料与方法

1.1 材料

供体植物银胶菊 *Parthenium hysterophorus* L., 采自山东省临沂市莒南县,在盛花期采集叶片,常温下阴干;受体植物苘麻 *Abutilon theophrasti* Medic. 和稗 *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv., 采自山东省泰安市郊区。

1.2 水浸提液及其不同极性组分的制备^[1, 10-11]

将 150 g 叶放入 2.5 L 的广口玻璃瓶中,加入 8 倍重量的蒸馏水,常温下浸泡 48 h,浸提液经抽滤后,得母液,浓度记为 $125 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,4℃ 冷藏待用。取 300 mL 母液,其中 100 mL 母液加入蒸馏水稀释成 $62.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;另外 200 mL 母液,先后分别用乙酸乙酯和正丁醇按体积比 $V_{\text{母液}}:V_{\text{溶剂}}=1:1$ 萃取 3 次,同一种溶剂的 3 次萃取液合并,在旋转蒸发仪上浓缩蒸干得 2 种溶剂萃取物和剩余水相物质,所得物质用蒸馏水定容至 400 mL(等同于 $62.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 水提液中所含有的各相物质浓度),以蒸馏水为对照,并于 4℃ 冷藏备用。另取 500 mL 母液,其中 100 mL 在旋转浓缩蒸发仪上蒸干,得水浸提物;另 400 mL 先后用乙酸乙酯和正丁醇按 1:1 萃取 3 次,合并萃取液,

分别浓缩蒸干,得 3 种溶剂萃取物(乙酸乙酯相、正丁醇相和剩余水相干物质的质量之比约为 1:2:6)。将水浸提物和 3 种萃取物干物质分别用体积比 1% 丙酮助溶,然后用蒸馏水定容至 $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,密封,并于 4℃ 冷藏备用。测定时用蒸馏水分别稀释成 $2, 1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,以浓度 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 供定量测定用,浓度 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 供酶及生理生化指标测定用,均以加入相应比例丙酮的蒸馏水为对照。

1.3 试验方法

1.3.1 生物活性测定^[1, 11]:在进行种子发芽试验之前,由于苘麻种皮较厚,先将种子放入 80℃ 的热水中(自然降温至恒温 25℃)浸泡 6 h;稗种子用 25℃ 的温水浸泡 6 h,然后用 0.5% 升汞水溶液消毒 5 min,再用无菌水冲洗多次。在直径为 9 cm 的培养皿里,垫上 2 层滤纸,以上述配制的待测液为处理液,以蒸馏水为对照,每皿加入苘麻(稗)种子 15 粒,4 次重复,28℃ 下暗培养,3 天后调查苘麻发芽情况,5 天后调查稗草发芽情况。在进行幼苗生长试验前,对苈麻和稗种子进行催芽。在直径为 9 cm 的培养皿里,垫上 2 层滤纸,以上述配制的待测液为处理液,以蒸馏水为对照,3 次重复,选取 10 粒饱满均一的刚露白苈麻(稗)种子,均匀放到滤纸上,28℃ 下暗培养,3 天后调查苈麻和稗草根长、芽长、鲜重情况。

1.3.2 酶及生理生化指标测定:根系活力测定采用 TTC 法;丙二醛(MDA)含量的测定采用双组分分光光度计法;超氧化物歧化酶(SOD)活力的测定采用氮蓝四唑法;过氧化物酶(POD)活性的测定采用愈创木酚法,各方法均参见文献[12]。

1.4 数据统计方法

抑制率计算公式^[13]:抑制率(%) = $(1 - \text{处理}/\text{对照}) \times 100$ 。化感效应指数(RI)^[14]: $RI = 1 - C/T$ (当 $T \geq C$ 时)或 $RI = T/C - 1$ (当 $T < C$ 时)。式中:C 为对照值,T 为处理值。RI 为化感作用效应:RI > 0 表示促进作用,RI < 0 表示抑制作用,绝对值的大小与作用强度一致。所有数据用 DPS 软件中的 Duncan 氏法进行方差分析和差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 水浸提液及不同极性组分对苈麻和稗化感作用定性测定

2.1.1 对受体发芽率的影响:水浸提液及其不同极

性组分均抑制受体种子萌发,但三种不同极性组分抑制受体种子萌发强度均小于水浸提液。在 $62.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下,水浸提液处理苘麻种子 3 天后,完全抑制苘麻的萌发,处理稗种子 5 天后,发芽率比对照的

73.3% 低 66.6%。在三种不同极性组分中,乙酸乙酯相和正丁醇相抑制苘麻和稗种子萌发的强度高于剩余水相(图 1)。

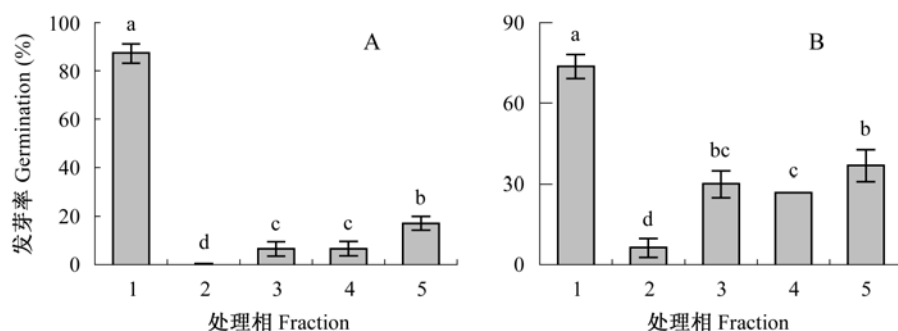


图 1 水浸提液及其三种不同极性组分对苘麻(A)和稗(B)种子萌发的定性测定结果

Fig. 1 Effects of qualitative determination of aqueous extract and its three different polar components on germination of *Abutilon theophrasti* (A) and *Echinochloa crusgalli* (B)

注:图中不同字母表示在 5% 水平上的差异显著性。下同。1:对照;2:水浸提液;3:乙酸乙酯相;4:正丁醇相;5:剩余水相。下同。Note: The different letter stands for significant difference at the 0.05 level of significance. The same as below. 1: Control; 2: aqueous extract; 3: ethyl acetate fraction; 4: *n*-butanol fraction; 5: residuary water fraction. The same as below.

2.1.2 对受体幼苗生长的影响:在 $62.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理浓度下,水浸提液抑制苘麻和稗幼苗生长的化感强度高于其三种不同极性组分,对苘麻和稗根长、芽长、鲜重的抑制率分别为 96.4%、81.8%、85.0% 和 87.5%、69.3%、58.4%。三种不同极性组分中,剩余水相抑制苘麻幼苗生长的强度最高,乙酸乙酯相和正丁醇相对苘麻幼苗生长的影响没有差异;乙酸乙酯相抑制稗幼苗生长的强度最高,正丁醇相和剩余水相对稗幼苗生长则呈现促进作用(除正丁醇相

对芽长有轻微抑制作用外)(表 1)。

2.2 水浸提液及不同极性组分对苘麻和稗化感作用的定量测定

2.2.1 对受体发芽率的影响:水浸提液及其不同极性组分均显著抑制受体种子萌发,乙酸乙酯相抑制强度最高,且与水浸提液和其它处理相间差异显著,在 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下,乙酸乙酯相可完全抑制苘麻和稗种子萌发,其次是正丁醇相(图 2)。

表 1 水浸提液及其三种不同极性组分对苘麻和稗幼苗生长的定性测定结果

Table 1 Effects of qualitative determination of aqueous extract and its three different polar components on seedling growth of *Abutilon theophrasti* and *Echinochloa crusgalli*

杂草 Weed	处理相 Fraction	根长 Root length		芽长 Shoot length		鲜重 Fresh weight	
		抑制率(%)	化感效应	抑制率(%)	化感效应	抑制率(%)	化感效应
		Inhibition	指数 RI	Inhibition	指数 RI	Inhibition	指数 RI
苘麻 <i>A. theophrasti</i>	水浸提液 Aqueous extract	96.4 a	-0.96	81.8 a	-0.82	85.0 a	-0.85
	乙酸乙酯相 Ethyl acetate fraction	79.9 bc	-0.80	55.8 c	-0.56	54.4 c	-0.54
	正丁醇相 <i>n</i> -butanol fraction	75.2 c	-0.75	55.2 c	-0.55	59.8 c	-0.60
	剩余水相 Residuary water fraction	87.8 ab	-0.88	69.1 b	-0.69	71.6 b	-0.72
稗 <i>E. crusgalli</i>	水浸提液 Aqueous extract	87.5 a	-0.88	69.3 a	-0.69	58.4 a	-0.58
	乙酸乙酯相 Ethyl acetate fraction	78.4 b	-0.78	59.8 b	-0.60	45.4 b	-0.45
	正丁醇相 <i>n</i> -butanol fraction	-78.4 c	0.44	2.4 c	-0.02	-26.2 d	0.21
	剩余水相 Residuary water fraction	-13.6 d	0.12	-25.3 d	0.20	-13.6 c	0.12

注:数字后不同字母表示在 5% 水平上的差异显著性。下同。Note: The different letter after the number stands for significant difference on the lever of 5% in test. The same as below.

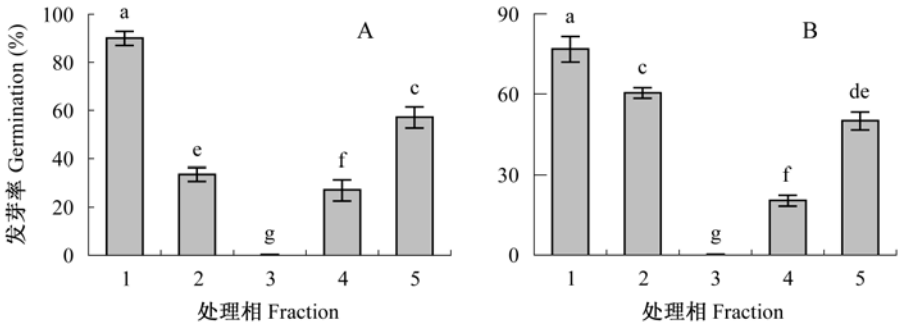


图 2 水浸提液及其三种不同极性组分对苘麻 (A) 和稗 (B) 种子萌发的定量测定结果

Fig. 2 Effects of quantitative determination of aqueous extract and its three different polar components on germination of *Abutilon theophrasti* (A) and *Echinochloa crusgalli* (B)

2.2.2 对受体幼苗生长的影响:在 $2\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理浓度下,乙酸乙酯相对受体幼苗生长的抑制强度最高,与苘麻和稗根长、芽长、鲜重的抑制率分别为 82.6%、90.2%、78.2% 和 78.8%、86.8%、69.1% (表 2)。

与其它处理相比较,多数处理间差异达到显著水平,

表 2 水浸提液及其三种不同极性组分对苘麻和稗幼苗生长的定量测定结果

Table 2 Effects of quantitative determination of aqueous extract and its three different polar components on seedling growth of *Abutilon theophrasti* and *Echinochloa crusgalli*

杂草 Weed	处理相 Fraction	根长 Root length		芽长 Shoot length		鲜重 Fresh weight	
		抑制率(%)	化感效应	抑制率(%)	化感效应	抑制率(%)	化感效应
		Inhibition	指数 RI	Inhibition	指数 RI	Inhibition	指数 RI
苘麻 <i>A. theophrasti</i>	水浸提液 Aqueous extract	-8.7 c	0.08	17.5 c	-0.18	8.2 c	-0.08
	乙酸乙酯相 Ethyl acetate fraction	82.6 a	-0.83	90.2 a	-0.90	78.2 a	-0.78
	正丁醇相 <i>n</i> -butanol fraction	74.9 b	-0.75	61.1 b	-0.61	59.5 b	-0.59
	剩余水相 Residuary water fraction	-1.0 d	0.01	6.8 d	-0.07	5.3 c	-0.05
稗 <i>E. crusgalli</i>	水浸提液 Aqueous extract	45.2 b	-0.45	-2.5 c	0.02	21.0 c	-0.21
	乙酸乙酯相 Ethyl acetate fraction	78.8 a	-0.79	86.8 a	-0.87	69.1 a	-0.69
	正丁醇相 <i>n</i> -butanol fraction	74.0 a	-0.74	40.5 b	-0.40	39.5 b	-0.40
	剩余水相 Residuary water fraction	52.9 b	-0.53	-26.4 d	0.21	17.3 cd	-0.17

2.3 乙酸乙酯相对苘麻和稗生理生化指标的影响

乙酸乙酯相对受体生长过程中的生理活性和酶活性均产生明显的影响,且多数处理间存在显著性差异。在 $1\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下,乙酸乙酯相对苘麻根系活力的抑制率为 16.8%,对 SOD 活性、POD 活性和

丙二醛含量分别提高了 3.2%、73.2% 和 32.0%;乙酸乙酯相对稗根系活力的抑制率为 27.0%,对 SOD 活性、POD 活性和丙二醛含量分别提高了 11.3%、15.1% 和 65.4% (表 3)。

表 3 乙酸乙酯相对杂草根系活力、丙二醛含量、过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性的影响

Table 3 Effects of ethyl acetate fraction on root activity, MDA content, SOD activity and POD activity

杂草 Weed	浓度 Concentration	根系活力 Root activity	超氧化物歧化酶 Superoxide diamutase activity	过氧化物酶 Peroxidase activity	丙二醛含量 Malondialdehyde content
		($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)	($\text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)
苘麻	0	112.1 a	98.2 a	44.1 b	1.28 a
<i>A. theophrasti</i>	1	93.3 b	101.3 a	76.4 a	1.69 a
稗	0	172.4 a	218.9 b	108.7 b	1.04 b
<i>E. crusgalli</i>	1	125.8 b	243.7 a	125.1 a	1.72 a

3 讨论

众所周知,化感物质必须是经自然途径进入环境的化学物质,而在自然状态下,除水以外,不可能有其它溶剂将植物叶片中的化学物质淋溶出来^[10, 15],因而本试验以水浸提。虽经不同溶剂萃取,但萃取成分均来源于水浸提液中的化感物质,所以本试验中抑制受体萌发和生长均是化感物质所致。本试验利用定性测定方法,测定了水浸提液及其三种不同极性组分的化感作用,同时,采用了同等浓度处理的定量测定方法,这与已知化感研究的方法有所不同。

定性测定结果显示,水浸提液及其三种不同极性组分对苘麻均有抑制作用,对稗草则呈现抑制和促进两种不同的化感效应,水浸提液对苘麻和稗的化感抑制强度高于三种不同极性组分,当水浸提液经过萃取、分离,被分成三种不同极性组分时,乙酸乙酯相和正丁醇相抑制苘麻和稗种子萌发的强度高于剩余水相,抑制苘麻和稗幼苗生长最强的分别是剩余水相和乙酸乙酯相。定量测定结果显示,抑制受体萌发与生长最强的是乙酸乙酯相。综合分析生测结果可以看出,同一组分化感物质在两种测定方式中所表现出的化感抑制强度不一致,如乙酸乙酯相,在定量测定中虽具有最强的化感抑制强度,但定性测定结果却表明,抑制苘麻幼苗生长最强的是剩余水相。出现这一差异的原因主要在于三种不同极性组分在水浸提液中的物质含量不同。定性测定中,乙酸乙酯相的物质含量最低,而剩余水相的物质含量最高,此时极性组分的化感抑制强度主要取决于它本身的生物活性及其物质浓度,而在定量测定中,不同极性组分间则消除了物质含量不等这一差异,此时极性组分的化感抑制强度主要取决于它本身的生物活性,而与物质含量无关。

乙酸乙酯相抑制受体生长过程中的根系活力,提高其体内 MDA 含量,对受体的生长造成了伤害。普遍认为,SOD 和 POD 是植物细胞中能清除活性氧的膜保护酶,能保护细胞膜系统,避免活性氧对有机体的伤害^[16],受体体内 SOD 和 POD 保护酶活性提高,有助于降低乙酸乙酯相对受体的危害。

抑制植物生长的化感物质成分较复杂,自然界中化感作用是多种物质综合作用的结果^[17],而从本试验结果可以看出,这其中必然有部分物质起主要作用,因此,应对主要化感物质作进一步分离和鉴定。

参 考 文 献(References)

- [1] 刘迎,王金信,胡燕,等. 白三叶草对苘麻和稗草的化感作用. 植物保护学报, 2006, 33(4): 433 - 436
- [2] 刘迎湖,谢利,骆世明,等. 入侵杂草化感作用的细胞自动机模拟研究. 应用生态学报, 2006, 17(2): 229 - 232
- [3] 孔垂华. 植物与其它有机体的化学作用——潜在的有害生物控制途径. 中国农业科学, 2007, 40(4): 712 - 720
- [4] 王康满,侯元同. 山东归化植物一新记录属——银胶菊属. 曲阜师范大学学报, 2004, 30(1): 83 - 84
- [5] Tefera T. Allelopathic effects of *Parthenium hysterophorus* extracts on seed germination and seedling growth of *Eragrostis tef*. Journal of Agronomy and Crop Science, 2002, 188(5): 306 - 310
- [6] Fischer N H, Weidenhamer J D, Bradow J M. Inhibition and promotion of germination by several sesquiterpenes. Journal of Chemical Ecology, 1989, 15(6): 1785 - 1793
- [7] Batish D R, Singh H P, Pandher J K, et al. Phytotoxic effect of *Parthenium* residues on the selected soil properties and growth of chickpea and radish. Weed Biology and Management, 2002, 2(2): 73 - 78
- [8] Pandey D K, Kaurav L P, Bhan V M. Inhibitory effect of parthenium (*Parthenium hysterophorus* L.) residue on growth of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* Mart Solms). II. Relative effect of flower, leaf, stem, and root residue. Journal of Chemical Ecology, 1993, 19(11): 2663 - 2670
- [9] Pandey D K. Inhibition of salvinia (*Salvinia molesta* Mitchell) by parthenium (*Parthenium hysterophorus* L.). II. Relative effect of flower, leaf, stem, and root residue on salvinia and paddy. Journal of Chemical Ecology, 1994, 20(12): 3123 - 3131
- [10] 颜桂军,朱朝华,骆焱平,等. 胡椒、芒果和黄皮的化感作用潜力. 应用生态学报, 2006, 17(9): 1633 - 1636
- [11] Bagavathy S, Xavier G S A. Effects of aqueous extract of *Eucalyptus globules* on germination and seedling growth of sorghum. Allelopathy Journal, 2007, 20(2): 395 - 402
- [12] 李合生,孙群,赵世杰,等. 植物生理生化实验原理和技术. 北京:高等教育出版社, 1999
- [13] 沈慧敏,郭鸿儒,黄高宝. 不同植物对小麦、黄瓜和萝卜幼苗化感作用潜力的初步评价. 应用生态学报, 2005, 16(4): 740 - 743
- [14] Williamson G B, Richardson D. Bioassays for allelopathy: measuring treatment responses within dependent controls. Journal of Chemical Ecology, 1988, 14(1): 181 - 187
- [15] 孔垂华. 植物化感作用研究中应注意的问题. 应用生态学报, 1998, 9(3): 332 - 336
- [16] 葛体达,隋方功,白莉萍,等. 水分胁迫下夏玉米根叶保护酶活性变化及其对膜脂过氧化作用的影响. 中国农业科学, 2005, 38(5): 922 - 928
- [17] 张学文,刘亦学,刘万学,等. 植物化感物质及其释放途径. 中国农学通报, 2007, 23(7): 295 - 297