

植物挥发性单萜经土壤载体的化感作用 ——以三裂叶豚草 (*Ambrosia trifida* L.) 为例

王 朋^{1,2}, 王 莹^{1,2}, 孔垂华^{1,*}

(1. 中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要:植物释放的挥发性单萜在生态系统中起着重要的作用,这些单萜不仅能以空气为载体对其他植物显示直接的化感作用,而且也能以土壤为载体进行间接的化感作用。通过对三裂叶豚草挥发物对植物种子萌发和土壤微生物种群影响及其化学成分的鉴定研究,验证了以单萜类物质为主的三裂叶豚草挥发物可以经土壤载体对其他植物及土壤微生物显示化感效应。还对植物挥发物化学成分鉴定的 GC (气相色谱) 和 GC-MS (气相色谱-质谱联用) 方法存在的一些误区进行了澄清,这将有助于对生态系统中植物挥发物化感作用的研究和认识。

关键词:化感作用;三裂叶豚草;挥发性单萜;土壤载体;挥发物鉴定

文章编号:1000-0933(2008)01-0062-07 中图分类号:Q142, Q948, S314 文献标识码:A

Allelopathy of plant volatile monoterpenes mediated by soil: a case study of *Ambrosia trifida* L.

WANG Peng^{1,2}, WANG Ying^{1,2}, KONG Chui-Hua^{1,*}

1 Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China

2 Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(1): 0062 ~ 0068.

Abstract: Plant may release volatile monoterpenes into the environment under natural conditions. These volatile monoterpenes play an important role in ecosystems, including allelopathy and chemical interactions among the host plant, herbivore, and parasitoid or predator in tri-trophic systems. Allelopathy of volatile monoterpenes released from various plants species could be achieved by both air and soil media. In this study, chemical constituents of the volatiles released from *Ambrosia trifida* L. and their effects on the germination of crop seeds and microbial population in soil were investigated. As a result, the monoterpenes are major components (84.2%) of the volatiles from *A. trifida*. Furthermore, saturated aqueous solution of the volatile monoterpenes from *A. trifida* affected seed germination and microbial populations in soil, indicating that allelopathic potential of the monoterpenes can be mediated by soil.

GC and GC/MS are the effective instruments to determine the chemical constituents of volatiles. However, some scientists who are not chemists often determine the volatiles components by means of GC/MS only, not both GC and GC/MS. And this resulted in incorrect identification of volatile chemical constituents. Actually, the combined analysis of GC retention indexes (Kováts indexes) and GC-MS data with the aid of the mass chromatograms of the characteristic fragment

基金项目:中国科学院“百人计划”资助项目;“十一五”国家科技支撑计划资助项目(2006BAD08A09)

收稿日期:2006-08-31; **修订日期:**2007-04-18

作者简介:王朋(1973~),男,辽宁省丹东市人,博士生,主要从事植物化感作用研究. E-mail: wangpeng@iae.ac.cn

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: kongch@iae.ac.cn

Foundation item: The project was financially supported by Hundreds-Talent Program, Chinese Academy of Sciences and the Eleventh Five-year Plan of Science & Tech Program of China (2006BAD08A09)

Received date: 2006-08-31; **Accepted date:** 2007-04-18

Biography: WANG Peng, Ph. D. candidate, mainly engaged in research on allelopathy. E-mail: wangpeng@iae.ac.cn

ions reported in the NIST and WILEY databases is essential for the reliable identification of volatile constituents. This study clarified some mistakes in experimental methods, especially in determination of chemical constituents of plant volatiles by means of GC and GC-MS. These methods and results of this study would be helpful to our further understanding of volatile allelochemicals released from plant species to the soils in ecosystems.

Key Words: allelopathy; *Ambrosia trifida* L.; volatile monoterpenes; soil media; volatile identification

植物或多或少都能向环境中释放挥发性物质,尤其是在干旱、虫害和机械损伤等胁迫条件下,这些挥发物的主要成分大多为单萜类化合物。愈来愈多的证据显示,植物释放的挥发性单萜在生态系统中起着重要的作用,尤其是作物遭受虫害时释放的吸引天敌的单萜,揭示了作物/虫害/天敌三营养链中存在的化学关系^[1,2]。植物释放的挥发性单萜对其它植物种的化感作用也被广泛研究,但大多数研究都局限在这些单萜经空气为载体的直接作用^[3,4],较少考虑它们以土壤为载体所进行的化感作用,主要原因在于单萜的挥发性和低的水溶性制约了研究者对相关研究的思考。事实上,植物不论何种途径产生释放的化感物质最终都将进入土壤中,单萜虽然有低的水溶性,但同样能经雨雾淋溶或者直接被吸附进入土壤中,从而对土壤生物产生影响。近代植物化感作用研究的典例——草地荆棘丛化感抑制圈的研究就是证明了灌木丛周围的裸露土壤是因为灌木释放的挥发性单萜直接和经雨雾淋溶到附近土壤中使得邻近的草本植物种子不能萌发所致^[5]。因此,植物释放的挥发性单萜是能够通过土壤载体对其它植物产生化感作用的。

三裂叶豚草(*Ambrosia trifida* L.)原产北美洲^[6],20世纪40年代传入我国东北,现在已成为我国北方最主要的杂草之一,其强大的入侵性对自然和农林生态系统造成了巨大的危害^[7]。现已证明,三裂叶豚草能释放各种化学物质影响昆虫、土壤线虫和微生物的生长发育^[8~10],它释放的挥发性单萜能通过空气载体抑制许多植物种的萌发和生长^[7,11]。这样,本研究以三裂叶豚草为例,通过对其挥发性单萜经土壤载体的化感潜力研究,提供一些实验方法和研究思路,期望能“抛砖引玉”,引发同行对相关问题的思考和研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用三裂叶豚草和土壤均采自中国科学院沈阳生态实验站,各种受试植物种子分别由沈阳农业大学和辽宁省农业科学院提供。将精选种子用1%次氯酸钠消毒,供萌发使用。

实验用土壤经风干后过2mm筛备用,土壤类型为潮棕壤。有机质含量为12.40 g·kg⁻¹,土壤全氮含量为1.20 g·kg⁻¹,土壤全磷含量为0.41 g·kg⁻¹,土壤碱解氮含量为102.56 mg·kg⁻¹,土壤速效磷含量为25.20 mg·kg⁻¹,土壤速效K含量为75.66 mg·kg⁻¹,pH为6.35。

采集的成熟期三裂叶豚草植株叶片风干,切碎后经水蒸汽蒸馏获得挥发油^[3,4]。

1.2 三裂叶豚草挥发性单萜成份分析

经水蒸汽蒸馏获得的三裂叶豚草挥发油先用二氯甲烷稀释,然后再分别用1 μl 稀释液在气相色谱仪(Gas Chromatography, GC)和气相色谱-质谱联用仪(Gas Chromatography-Mass Spectra, GC-MS)上进行单萜成份分析。

气相色谱仪为Hewlett-Packard 5890A。测定条件:HP-5毛细管柱(25 m × 0.32 mm i. d., 0.52 μm),起始温度为50℃,维持5 min后,以2.5℃·min⁻¹的速度升温至280℃,进样器温度为250℃,FID监测器温度为280℃,H₂(1 ml/min)为载气。色谱峰以C₅~C₂₆烷烃为标样分别计算出各自的滞留指数(retention index)^[12,13]。

气相色谱-质谱联用仪为Hewlett-Packard 5890/5970A。色谱条件:HP-5毛细管柱(30 m × 0.25 mm i. d., 0.25 μm),柱温箱初始温度为40℃,维持2 min后,以4℃·min⁻¹的速度升温至260℃,进样器温度为250℃。质谱条件:EI电离方式,70eV电压,扫描范围45~629 amu.,每2秒扫描一次,检测器温度为260℃。各色谱

峰通过计算机检索 NIST98 和 WILEY 138 数据库进行化学成份分析^[14]。

各单萜成份依据它们在气相色谱测定的滞留指数和气相色谱-质谱测定的质谱结果共同确定。

1.3 生物活性测定

取适量三裂叶豚草挥发油加入 500ml 分液漏斗中,充分震荡,保持液面有油滴后静置过夜。取下层清液,即三裂叶豚草挥发油饱和水溶液(30℃时饱和溶解度为 $(17.8 \pm 2.5) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)用于生物活性测定。

1.3.1 种子萌发率的测定

采用滤纸和土壤两种基质进行对比实验,在直径 9cm 的培养皿内垫二层滤纸,加 10ml 三裂叶豚草挥发油饱和水溶液湿润后,将各受试植物的成熟饱满种子(玉米和大豆各为 15 粒,小麦和黄瓜各为 30 粒,莴苣、萝卜和苜蓿各为 50 粒)分别均匀地播在培养皿中。替代滤纸基质,将用 10ml 三裂叶豚草挥发油饱和水溶液湿润的土壤(50g)加到培养皿中,再分别均匀地将各受试植物种子(种子数与滤纸基质一致)播在土壤中。两种基质的种子萌发实验均以蒸馏水为对照,每个处理重复 5 次。培养皿放入人工气候培养箱,培养箱内温度设定 25℃,光照时间为 $12\text{h} \cdot \text{d}^{-1}$,3~5d 后记录种子萌发率。

1.3.2 幼苗生长的测定

采用土壤盆栽方法测定三裂叶豚草挥发油饱和水溶液对小麦和玉米幼苗生长的影响。取 20 个塑料盆(直径 9cm,高 12.5cm),分别加入 30ml 挥发油饱和水溶液湿润的 150g 土壤,然后分别播入预萌发小麦种子 6 粒或玉米种子 4 粒。以蒸馏水为对照,每个处理重复 5 次,塑料盆放入人工气候培养箱,培养箱内温度设定 25℃,光照时间为 $12\text{h} \cdot \text{d}^{-1}$ 。每天向塑料盆补充适量蒸馏水,待小麦或玉米生长到 3 叶期时,取样记录各盆植物的苗高、根长、苗和根干重。

1.3.3 土壤微生物种群数量的测定

土壤微生物种群数量采用稀释平板法测定^[15]。称取约 10g 鲜土样置于已灭菌的装有玻璃珠的三角瓶中,加入 90 ml 无菌水,振荡 30 min,对土壤悬液进行梯度稀释,取合适的稀释度涂平板,一般好氧异养细菌和放线菌采用 $10^{-3} \sim 10^{-5}$,真菌采用 $10^{-1} \sim 10^{-3}$,每个稀释度重复 6 次。将涂布均匀的平板倒置于 30℃ 培养一定时间(细菌 2~3d,放线菌 3~5d,真菌 5~7d),进行 CFU(Colony Forming Unit)计数。好氧异养细菌、放线菌和真菌的活菌计数培养基分别为牛肉膏蛋白胨培养基、高氏 1 号琼脂培养基和马丁孟加拉红琼脂培养基。

1.4 数据统计方法

数据处理按文献^[16]进行,采用响应指数(RI)表示化感作用的强弱,即当 $T \geq C$ 时, $RI = 1 - C/T$,当 $T < C$ 时, $RI = T/C - 1$ 。其中,C 为对照值,T 为处理值; $RI < 0$ 为抑制, $RI > 0$ 为促进,RI 绝对值大小与作用强度一致。

所有测试数据均采用 SPSS 10.0 软件进行统计分析,统计检验与方差分析均以 RI 值为原始数据进行。

2 结果与讨论

2.1 三裂叶豚草的挥发性单萜

经 GC 和 GC-MS 定性定量分析,鉴定了 31 个挥发性单萜,这些单萜占三裂叶豚草挥发性油总含量的 84.2%。其中,龙脑(Borneol,8.5%)及其衍生物乙酰龙脑(Bornyl acetate,15.5%)是最主要的单萜成分,两者的相对含量达 24% (表 1)。这些结果表明,三裂叶豚草挥发物主要是由普通的单萜类化合物组成,未鉴定出特有的化学成分^[17],这和一些植物挥发物中含有一些特有的化学物质是有所不同的,如菊科植物胜红蓟(*Ageratum conyzoides* L.)虽然含有多种单萜,但主要成分却是苯并吡喃类物质,早熟素 I 和 II(含量 > 30%),而不是单萜^[18]。

GC 和 GC-MS 是对挥发性有机物进行定性定量分析最成熟的技术手段,用这两种仪器分析植物挥发物及其单萜成分是非常有效的,但目前许多非化学专业背景研究者常常仅用 GC-MS 一种仪器测定植物挥发物,然后就以计算机检索质谱数据库给出最大匹配度的物质为结果,这是很不科学的。因为仅用 GC-MS 一种方法是不能独立鉴定出化学成分的,除非将所得成分用已知标准品一一对应确证^[19]。事实上,GC-MS 联用仪中

的质谱和单纯 GC 中的 FID(火焰离子检测器)等一样都是一种对色谱峰检测的辅助仪器。在许多情况下, GC-MS 质谱给出最大匹配的物质并不是正确的结果^[20]。而且不同的色谱峰,计算机给出相同的结果,这是许多非专业研究者在进行 GC-MS 分析时常常遇到的困惑。事实上,挥发性单萜定性定量分析应当是进行独立的 GC 和 GC-MS 测定,前者给出滞留指数,后者给出相关的化学结构,两者一致的结果才是正确的。所谓滞留指数,也称 Kováts retention index (*KI*),它是通过 GC 各色谱峰的滞留时间(retention time, *RT*)和含有不同碳原子的标准烷烃在同一色谱柱条件下的滞留时间,通过下列公式计算所得^[13]:

$$KI = 100Y + 100(Z - Y) \times \frac{RT_x - RT_Y}{RT_Z - RT_Y}$$

式中, *Y* 和 *Z* 是两个标准烷烃的碳原子数, *RT_x* 是待鉴定成分色谱峰的滞留时间, *RT_Y* 和 *RT_Z* 则分别是两个标准烷烃的滞留时间。

表 1 三裂叶豚草挥发油中的单萜类化合物
Table 1 Monoterpenes of volatile oil from *A. trifida*

峰数 Peak No.	单萜 Monoterpenes	滞留指数(HP-5 柱) Kováts retention index	相对含量(%) Relative amount
1	α-蒎烯 α-pinene	935	8.0
2	β-月桂烯 β-myrcene	992	2.6
3	柠檬烯 Limonene	1031	2.2
4	α-萜品油烯 α-terpinolene	1087	1.8
5	樟脑 camphor	1143	2.4
6	顺式 β-松油醇 cis-β-terpineol	1145	0.6
7	龙脑 borneol	1170	8.5
8	反式香芹醇 trans-carveol	1217	2.9
9	乙酰龙脑酯 bornyl acetate	1275	15.5
10	α-萜荳蔻油烯 α-cubebene	1350	1.5
11	α-乙酸萜品酯 α-terpinyl acetate	1354	0.6
12	异喇叭烯 isodene	1376	1.1
13	β-石竹烯 β-caryophyllene	1420	4.6
14	β-法尼烯 β-farnesene	1450	1.8
15	大牻牛儿烯 D germacrene D	1480	6.3
16	(E)-甲基异丁子香酚 (E)-methyloegenol	1500	1.4
17	γ-杜松烯 γ-cadinene	1520	0.8
18	δ-杜松烯 δ-cadinene	1530	0.7
19	longipinanol	1565	1.1
20	石竹烯氧化物 caryophyllene oxide	1581	8.3
21	匙叶桉油烯醇 spathulenol	1583	0.6
22	蓝桉醇 globulol	1586	0.4
23	胡萝卜次醇 carotol	1594	0.6
24	库毕醇 cubenol	1630	0.4
25	异匙叶桉油烯醇 isospathulenol	1638	0.8
26	β-柏木烯醇 β-cedren-9-α-ol	1645	1.9
27	α-桉油醇 α-eudesmol	1654	0.7
28	乙酸桉油酯 γ-eudesmol acetate	1780	1.0
29	六氢化法尼基丙酮 hexahydrofarnesyl acetone	1844	1.5
30	异植醇 isophytol	1945	0.5
31	泪杉醚 manoyl oxide	2000	1.1
—	总单萜 total monoterpenes	—	84.2
—	其他成份 other components	—	15.8

单萜以滞留指数为序,滞留指数计算以 C₅ ~ C₂₆ 烷烃在 HP-5 非极性色谱柱为标准 Monoterpenes were listed in order of Retention index; Retention index was calculated from retention times relative to that of *n*-alkanes (C₅ - C₂₆) on the non-polar HP-5 column

对一个有机物而言,其滞留指数像其熔点或沸点一样是恒定的, *KI* 愈小,表明该物质愈易从色谱柱中流

出,即最先出现色谱峰。由于绝大多数挥发性单萜都是已知的,它们在各类色谱柱上的滞留指数都已被测定,专业人员均已掌握,非专业人员可查阅工具书(实测 KI 与工具书的数值应在正负 5 范围内)。有了 KI ,再结合 GC-MS 质谱库给出结构(一般在前 10 个匹配度的化合物中寻找)综合分析,确定结果。

在三裂叶豚草挥发性单萜化学分析中,第一个色谱峰,GC-MS 给出的两个匹配度均为 95% 的物质为 α -pinene 和 β -pinene,到底那个是正确的结果单凭 GC-MS 无法判断,但 α -pinene 和 β -pinene 标准 KI 分别是 930 和 975,经计算该色谱峰的 KI 是 935,这就确定三裂叶豚草第一个单萜成分是 α -pinene 而不是 β -pinene。同样第 6 个色谱峰,GC-MS 给出最大匹配度的物质是 *trans*-*p*-methan-2,8-dienol,但该色谱峰的 KI 是 1145,而 *trans*-*p*-methan-2,8-dienol 的 KI 超过 1500 不可能在此位置出峰,因此,该色谱峰的化学成分不可能是 *trans*-*p*-methan-2,8-dienol,反而是匹配度较小的 *cis*- β -terpineol (KI 1150)。

综上,虽然植物挥发物的化学成分分析的技术手段已成熟,但在具体应用中要走出一些误区。任何情况下,再高级的仪器和计算机都是简化和辅助的工具,而不能代替人的分析。

2.2 三裂叶豚草单萜饱和水溶液对植物种子萌发和幼苗生长的影响

三裂叶豚草单萜饱和水溶液对各种受试植物的种子萌发都有不同程度的抑制作用(表 2)。同样,三裂叶豚草单萜饱和水溶液也能抑制植物幼苗的生长(表 3),这些都是正常的结果。但值得注意的是,在不同的基质条件下的生物测定结果是有显著差异的。在土壤基质中,三裂叶豚草单萜饱和水溶液对各种受试植物种子萌发的抑制作用显著低于滤纸基质,如玉米和大豆的种子萌发在滤纸基质中被抑制,但在土壤基质中则抑制作用几乎消失(表 2)。这些结果说明,对相同种类和浓度的化感物质采用不同的基质生测,可以产生不同的结果或结论。

表 2 三裂叶豚草单萜饱和水溶液对作物种子萌发的影响

Table 2 Effect of saturated aqueous solution of the monoterpenes from *A. trifida* on the germination of test crop species

生测基质 Bioassay matrix	响应指数 Response Index (RI)						
	黄瓜 Cucumber	莴苣 Lettuce	萝卜 Radish	苜蓿 Alfalfa	小麦 Wheat	玉米 Maize	大豆 Soybean
滤纸 Filter paper	-0.40 $\pm$ 0.05 **	-0.43 $\pm$ 0.03 **	-0.34 $\pm$ 0.05 **	-0.35 $\pm$ 0.06 **	-0.31 $\pm$ 0.06 **	-0.32 $\pm$ 0.06 **	-0.24 $\pm$ 0.03 *
土壤 Soil	-0.16 $\pm$ 0.04 *	-0.23 $\pm$ 0.02 *	-0.15 $\pm$ 0.04 *	-0.11 $\pm$ 0.03 *	-0.17 $\pm$ 0.05 *	-0.02 $\pm$ 0.02	-0.08 $\pm$ 0.02

t 检验结果,*表示在 0.05 水平差异显著,**0.01 水平上差异显著,表 3 和表 4 同 The results of t -Test for the significance of the difference between the means of two independent samples are represented by asterisk; * showed the level 0.05, ** showed the level 0.01; the same cases occur in the following table 3 & 4

实验室用培养皿以滤纸为基质测定种子萌发被许多研究者作为判断是否有化感潜力的生物测定方法,这一方法反映的是化感物质对受试种子的绝对影响,但与事实结果有很大的偏差。这是因为判断一种物质是否有化感潜力应尽可能模拟自然状况下的试验条件,而以土壤为基质的生物测定方法是最基本的。一种物质只有在土壤生物和非生物因子的作用下仍能对受试种子萌发和幼苗生长产生效应,才能表明其有化感潜力。因此,在对化感物质的生物测定中,采用土壤为基质将能获得更为准确的结果。

表 3 三裂叶豚草单萜饱和水溶液对作物幼苗生长的影响

Table 3 Effect of saturated aqueous solution of the monoterpenes from *A. trifida* on seedling growth of crop

生长指标 Growth parameter	响应指数 Response Index (RI)		
	小麦 Wheat	玉米 Maize	大豆 Soybean
苗高 Shoot height	-0.23 $\pm$ 0.09 **	-0.21 $\pm$ 0.06 **	-0.18 $\pm$ 0.02 *
根长 Root length	-0.22 $\pm$ 0.07 **	-0.04 $\pm$ 0.02	-0.06 $\pm$ 0.05 *
苗干重 Shoot dry weight	-0.33 $\pm$ 0.08 **	-0.17 $\pm$ 0.08 *	-0.15 $\pm$ 0.07 *
根干重 Root dry weight	-0.36 $\pm$ 0.11 **	-0.08 $\pm$ 0.03 *	-0.11 $\pm$ 0.03 *

一般认为,挥发性的单萜类物质易存空气但难溶于水,事实上大多数单萜分子不仅具有挥发性,而且在水中都有一定的溶解度,有些单萜在水中的溶解度还很大。Weidenhamer 对 31 种具有生物活性的单萜的水溶

性测定结果表明^[21],虽然烃类单萜在水中的溶解度较低($<35\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$),但以酮、醇、醚或醛等形式存在的含氧单萜比烃类单萜溶解度要高10~100倍,最高的可达 $6990\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 。其实,水溶性好的化感物质并不能表现出优良的效应,真正有效的化感物质是那些既有一定的水溶性,又能在土壤中滞留并有可逆聚合-解聚过程的物质^[22]。这样,单萜,尤其是含氧单萜的适宜水溶性和分子结构的多样性使其成为一类有效的化感物质。

现已经证明^[23,24],水溶性单萜樟脑和桉树脑比脂溶性单萜柠檬烯和 α -蒎烯在抑制玉米萌发和幼苗生长方面更有活性,灌丛植物唇形科的银叶鼠尾草(*Salvia leucophylla*)产生的挥发性樟脑等单萜类物质能降低抑制芸薹属植物(*Brassica campestris*)根尖分生组织细胞有丝分裂指数,其机制在于单萜类物质通过抑制根尖分生组织细胞核与细胞器的DNA合成代谢,使根尖分生组织细胞伸长与DNA合成受到影响,从而抑制其幼苗生长。因此,包括三裂叶豚草在内的植物所释放的挥发性单萜是可以通过雨露淋溶等途径溶解并进入土壤而显示化感效应的。

2.3 三裂叶豚草单萜饱和水溶液对土壤微生物种群数量的影响

采用平板计数方法,测定了三裂叶豚草单萜饱和水溶液对土壤微生物种群数量的影响。结果表明,三裂叶豚草单萜饱和水溶液能使土壤细菌数量显著减少,且处理与对照之间差异达到极显著水平,而对于放线菌和真菌而言,处理与对照之间差异不显著(表4)。

表4 三裂叶豚草单萜饱和水溶液对土壤微生物种群数量的影响

Table 4 Effect of saturated aqueous solution of the monoterpenes from *A. trifida* on soil microbial populations

土壤 The soil	试剂* Agent	细菌数量 Bacteria numbers ($\times 10^6\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ dry soil)	放线菌数量 Actinomycetes numbers ($\times 10^6\cdot\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ dry soil)	真菌数量 Fungi numbers ($\times 10^3\cdot\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ dry soil)
空白无植物 Control without plants	CK	26.2 $\pm$ 4.2	2.2 $\pm$ 0.8	2.3 $\pm$ 1.4
	VMT	9.8 $\pm$ 3.2**	2.0 $\pm$ 1.1	2.2 $\pm$ 1.7
小麦 Wheat	CK	290.5 $\pm$ 2.3	159.3 $\pm$ 4.3	95.1 $\pm$ 2.8
	VMT	93.2 $\pm$ 2.1**	168.2 $\pm$ 3.3	92.5 $\pm$ 3.7
玉米 Maize	CK	362.5 $\pm$ 8.8	203.1 $\pm$ 5.4	439.3 $\pm$ 2.3
	VMT	85.7 $\pm$ 7.5**	198.6 $\pm$ 1.9	431.6 $\pm$ 3.2

* CK是蒸馏水,VMT是三裂叶豚草单萜饱和水溶液 CK is distilled water and VMT is saturated aqueous solution of volatile monoterpenes from *A. trifida*

植物挥发性单萜对微生物具有化学防御作用,是一类具有广谱的抗菌活性物质。这些单萜进入土壤后必然与土壤生物和非生物因子,尤其是土壤微生物发生相互的作用^[25]。一方面单萜可对土壤微生物显示直接的化感抑制或促进作用,另一方面土壤微生物以单萜为碳源(降解化感物质)。这是为什么三裂叶豚草挥发物单萜饱和水溶液能改变土壤微生物数量和在其他植物萌发生长抑制效应显著降低的主要原因。不仅如此,植物挥发性单萜还可提高土壤呼吸作用^[23,26],如法国薰衣草(*Lavandula stoechas*)挥发物中葑酮(fenchone)就能提高土壤呼吸作用,并能改变土壤细菌数量^[26]。事实上,任一进入土壤中的化感物质都必须在与土壤生物和非生物因子相互作用的条件才和邻近植物发生化感作用的,而且植物化感作用本身就包含植物对微生物的抑制或促进作用(但不包含植物对动物)。这样,植物与土壤微生物直接或间接的化感作用可能远远超过植物与植物间的效应。因此,经土壤载体发生的植物化感作用需要将主体植物/土壤生物和非生物因子/受体植物作为一个有机的整体来研究才能得出正确的结果。

References:

- [1] Kang L, Hopkins T L. Behavioral and olfactory responses of grasshopper hatchlings, *Melanoplus sanguinipes*, to plant odours and volatile compounds. Chinese Science Bulletin, 2004, 49: 136—141.
- [2] Kessler A, Baldwin I T. Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. Science, 2001, 291: 2141—2144.
- [3] Kong C H, Huang S S, Hu F. Allelopathy of *Ageratum conyzoides* V. Biological activities of the volatile oil from *ageratum* on fungi, insects and plants and its chemical constituents. Acta Ecologica Sinica, 2001, 21: 574—587.

- [4] Kong C H, Hu F, Xu X H. Allelopathic potential and chemical constituents of volatiles from *Agertum conyzoides* under stress. *Journal of Chemical Ecology*, 2002, 28: 1173 — 1182.
- [5] Kong C H, Hu F. Allelopathy and Its Application. Beijing: China Agricultural Press, 2001. 10 — 11.
- [6] Abul-Fatih H A, Bazzaz, F A. The biology of *Ambrosia trifida* L. I. Influence of species removal on the organization of the plant community. *New Phytologist*, 1979, 83: 813 — 816.
- [7] Wang D L, Zhu X Y. Allelopathic research of *Ambrosia trifida*. *Acta Phytocologica Sinica*, 1996, 20: 330 — 337.
- [8] Brückner D J, Lepssa A. Inhibitory effects of ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) inflorescence extract on the germination of *Amaranthus hypochondriacus* and growth of two soil algae. *Chemosphere*, 2003, 51: 515 — 519.
- [9] Wang W, Zhu X R, Liu, W Z. Influence of ragweed (*Ambrosia trifida*) on plant parasitic nematodes. *Journal of Chemical Ecology*, 1998, 24: 1707 — 1714.
- [10] Kong C H, Wang P, Xu X H. Allelopathic interference of *Ambrosia trifida* with wheat (*Triticum aestivum*). *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2007, 119: 416 — 420.
- [11] Wang P, Liang W J, Kong C H, *et al.* Allelopathic potential of volatile allelochemicals of *Ambrosia trifida* L. on other plants. *Allelopathy Journal*, 2005, 15(1): 131 — 136.
- [12] Jennings W, Shibamoto, T. Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography. New York: Academic Press, 1980.
- [13] Robards K, Haddad P R, Jackson P E. Principles and Practice of Modern Chromatographic Methods. New York: Academic Press, 1994.
- [14] Adams R P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured (IL, USA): Carol Stream, 2001.
- [15] Zhao B, He S J. Laboratory Experiments in Microbiology. Beijing: Science Press, 2002. 69: 85 — 87.
- [16] Williamson G B, Richardson D. Bioassays for allelopathy: measuring treatment response with independent controls. *Journal of Chemical Ecology*, 1988, 14: 181 — 188.
- [17] Wang P, Kong C H, Zhang C X. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from *Ambrosia trifida* L. *Molecules*, 2006, 11: 549 — 555.
- [18] Kong C H, Hu F, Xu X H. Allelopathic potential and chemical constituents of volatiles from *Agertum conyzoides* under stress. *Journal of Chemical Ecology*, 2002, 28: 1173 — 1182.
- [19] Bendimerad N, Bendiab S A T, Benabadi A B, *et al.* Composition and antibacterial activity of *Pseudocytisus integrifolius* (Salisb.) essential oil from Algeria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53: 2947 — 2952.
- [20] Kong C H, Xu X H. Isolation and Identification of Organic Compounds. Beijing: Chemical Industry Press, 2003. 342 — 353.
- [21] Weidenhamer J D, Macias F A, Nikolaus H, *et al.* Just how insoluble are monoterpenes? *Journal of Chemical Ecology*, 1993, 19: 1799 — 1807.
- [22] Kong C H, Liang W J, Hu F, *et al.* Allelochemicals and their transformation in the *Ageratum conyzoides* intercropped citrus orchards soils. *Plant and Soil*, 2004, 264: 149 — 157.
- [23] Abraham D, Braguini W L, Kelmer-Bracht A M, *et al.* Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. *Journal of Chemical Ecology*, 2000, 26: 611 — 623.
- [24] Nishida N, Tamotsu S, Nagata N, *et al.* Allelopathic effects of volatile monoterpenoids produced by *Salvia leucophylla*: Inhibition of cell proliferation and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* seedlings. *Journal of Chemical Ecology*, 2005, 31: 1187 — 1203.
- [25] Inderjit. Soil microorganisms: An important determinant of allelopathic activity. *Plant and Soil*, 2005, 274: 227 — 236.
- [26] Vokou D, Chalkos D, Karamanlidou G, *et al.* Activation of soil respiration and shift of the microbial population balance in soil as a response to *Lavandula stoechas* essential oil. *Journal of Chemical Ecology*, 2002, 28: 755 — 768.

参考文献:

- [1] 康 乐, Hopkins T L. 黑蝗初孵蝗蝻对植物气味和植物挥发性化合物的行为和嗅觉反应. *科学通报*, 2004, 49: 81 ~ 85.
- [3] 孔垂华, 黄寿山, 胡飞. 胜红蓟化感作用研究 V. 挥发油对真菌、昆虫和植物的生物活性及其化学成份. *生态学报*, 2001, 21: 574 ~ 587.
- [5] 孔垂华, 胡飞. 植物化感(相生相克)作用及其应用, 北京: 中国农业出版社, 2001. 10 ~ 11.
- [7] 王大力, 祝心如. 三裂叶豚草的化感作用研究. *植物生态学报*, 1996, 20: 330 ~ 337.
- [15] 赵斌, 何绍江. 微生物学实验方法. 北京: 科学出版社, 2002. 69, 85 ~ 87.
- [20] 孔垂华, 徐效华. 有机物的分离和结构鉴定, 北京: 化学工业出版社, 2003. 342 ~ 353.