

# 斑唇马先蒿提取物生化相克作用的初步研究\*

张宝琛 何素霞

(中国科学院西北高原生物研究所)

## 一、前言

植物在其物质代谢的过程中,产生很多天然物质,这些天然物质往往能抑制其它植物的生长发育,这种现象被称为生化相克作用(Allelopathy).

Rice(1974)在其“Allelopathy”一书中整理了大量的研究报告,清楚地阐明了这种现象在高等植物之间,高等植物对微生物,微生物对微生物以及浮游植物之间存在的普遍性。但是,国内在这方面的研究工作至今未见报道。

据生产部门反映,广泛分布于青藏高原上的马先蒿属植物斑唇马先蒿 *Pedicularis longiflora* Rudolph var. *tubiformis* (Klotz) Tsoog,如生长在青稞地里,则在其植株周围播撒的青稞种子就很难萌发,萌发出的青稞幼苗生长也会受到明显的抑制,当地藏族老乡很讨厌这种植物,称它为“阿可强巴”,意即“凶恶的草”,看见总要拔掉。这一现象引起了我们对斑唇马先蒿生化相克作用的注意,并为此进行了一系列实验,现报道如下。

## 二、实验材料

### 1. 斑唇马先蒿

新鲜样品 采集于青海省海南州倒淌河东侧草甸上(海拔2,910米),植物生育期为盛花期。全草样品洗净泥土,称重后,立即浸泡在5倍量体积的80%乙醇中,带回实验室备用。

干燥样品 采集于青海省玉树州结古镇西侧河滩上(海拔3,710米),植物生育期为盛花期,全草样品晒干后,粉碎备用。

将新鲜和干燥样品分别用80%乙醇冷浸提取三次,每次三昼夜,过滤,合并提取液后,减压回收乙醇,趁热抽滤以除去部分叶绿素,水浴上加热以挥尽残留乙醇,浓缩到小体积,将乙醇提取物的浓水溶液,冷藏备用。

2. 实验所用青稞、小麦等植物种子均由本所农业室及生态室提供,种子随机取样,经蒸馏水冲洗干净后,晾干备用。

## 三、实验方法

### 1. 斑唇马先蒿提取物对青稞、小麦等植物种子萌发影响的观察:

#### (1) 实验一 提取物水溶液对青稞、小麦等植物种子萌发的抑制实验。

将新鲜和干燥样品的乙醇提取物浓水溶液分别配制成浓度相当于全草干重0.2克/毫升的水溶液,以此水溶液5毫升做培养液,在铺有滤纸的培养皿中培养小麦、青稞等植物种子,置25℃温箱中测定各植物种子的发芽率,以蒸馏水代替水溶液做对照组实验(实验及对照组每皿置预测种子数均为100粒),取平行

\* 本研究是在夏武平教授指导下进行的,刘尚武、吴珍兰同志帮助鉴定植物标本,谨此一并致谢。

实验结果的平均值计算发芽率。

(2) 实验二 不同浓度的斑唇马先蒿提取物水溶液对小麦种子萌发的影响实验。

将干燥样品的提取物浓水溶液配制成相当于全草干重0.2克、0.1克、0.05克、0.005克及0.0001克/毫升的梯度浓度水溶液，按实验一相同的方法测定不同浓度水溶液组小麦种子的发芽率，以三次实验所得发芽率的平均值，进行统计学处理。

2. 斑唇马先蒿提取物中抑制小麦种子萌发的有效化学部位的分离：

(1) 实验三 斑唇马先蒿提取物中抑制小麦种子萌发的有效化学部位分离实验。

经植物化学预试验证明，斑唇马先蒿乙醇提取物中主要含有还原糖，有机酸及大量酚性物质。

将提取物水溶液用聚酰胺柱层析及铅盐分步沉淀的方法，进行植物化学的成份分离（图1），然后将每步分离出的化学部位分别配制成按全草干重计算0.1克/毫升的水溶液，用实验一相同的方法培养和测定小

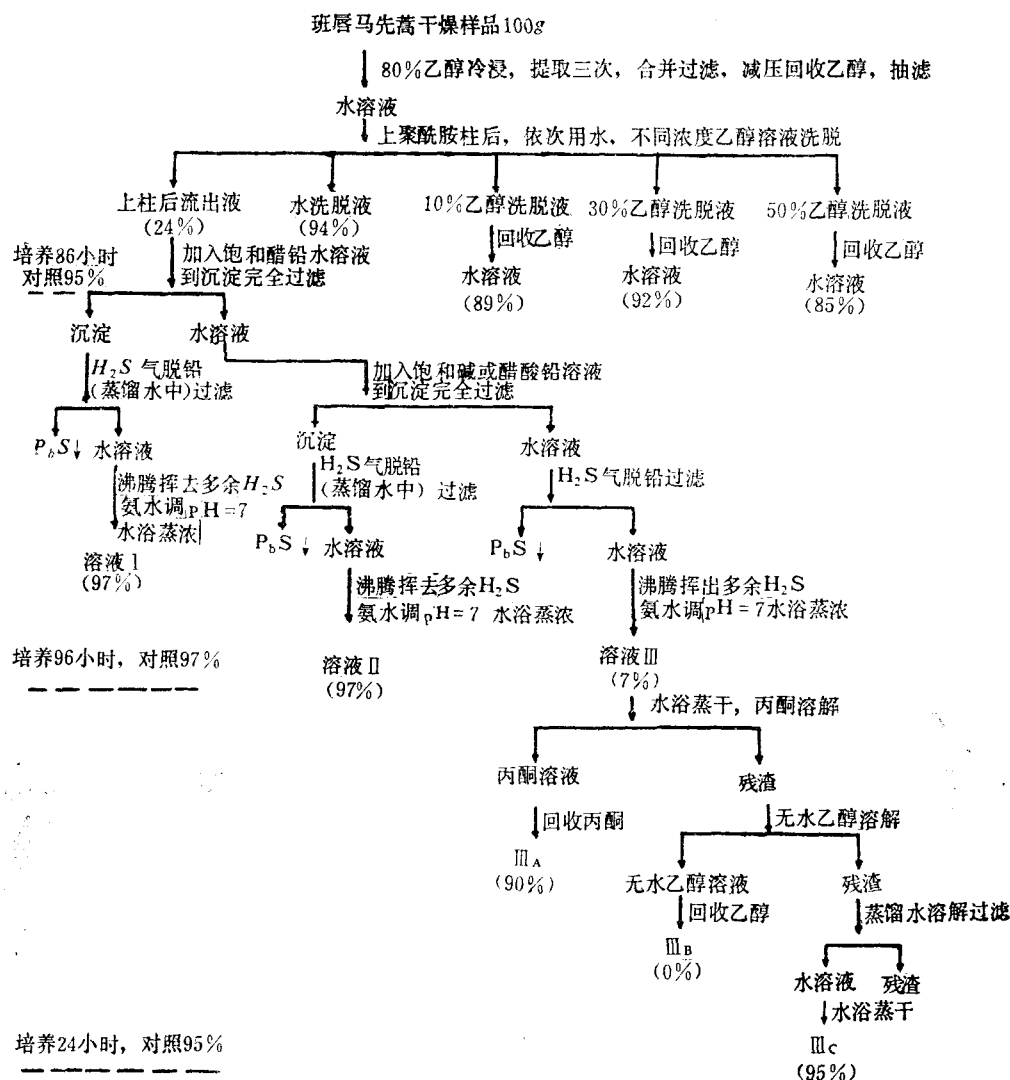


图1 部位分离流程图

麦种子发芽率(发芽率测定结果分别附在各分离部位下方括号内), 以小麦种子发芽率为指标, 进行抑制种子萌发有效化学部位的筛选和确定。

### (2) 实验四 不同浓度的Ⅲ<sub>B</sub>部位水溶液对小麦种子萌发的影响实验。

将Ⅲ<sub>B</sub>部位不同浓度水溶液(梯度为 0.03—12 毫克/毫升, 如换算成全草干重计算, 梯度为 0.0005—0.2 克干重/毫升), 在 25℃ 温箱中培养小麦种子, 用实验一相同的方法, 在培养 48 小时后测定各浓度组小麦种子的发芽率。

### (3) 实验五 Ⅲ<sub>B</sub>部位不同浓度水溶液对小麦及燕麦幼苗胚根发育的影响实验。

因Ⅲ<sub>B</sub>部位水溶液浓度低于 3 毫克/毫升时, 小麦种子可有 50% 以上的发芽率, 因此, 将Ⅲ<sub>B</sub>部位配制成浓度为 0.06—3 毫克/毫升的梯度浓度水溶液(换算成全草干重计算浓度为 0.001 克/毫升—0.5 克/毫升), 以此溶液做培养液, 在 25℃ 温箱中培养小麦及燕麦种子, 72 小时后, 观察小麦及燕麦胚根生长的情况。

## 3. 斑唇马先蒿生化相克作用生理机制的初步探讨

### (1) 实验六 Ⅲ<sub>B</sub>部位对蚕豆幼苗根部标记段生长的影响实验。

将蚕豆在 25℃ 温箱中萌发三昼夜, 当幼根生长到 1—2 厘米时取出备用。选取幼根生长基本一致的幼苗 10 株, 用滤纸轻轻吸干根表面水分后, 用油墨从根的尖端开始, 每隔 1 毫米做一标记, 共标记 10 段, “总标记段”长度为 1 厘米。将标记好的幼苗随机分成两组, 每组 5 株一组为实验组, 幼苗用Ⅲ<sub>B</sub>部位配制的浓度为 6 毫克/毫升水溶液做水培养实验, 另一组为对照组, 幼苗用蒸馏水做水培养实验, 两组实验均在 25℃ 温箱中进行, 24 小时后, 取出各组幼苗, 分别测定根部“总标记段”以及第 7、8、9、10 标记段长度变化。

### (2) 实验七 Ⅲ<sub>B</sub>部位对蚕豆幼苗根部细胞壁透性改变的影响实验。

选取 25℃ 温箱中萌发三昼夜的蚕豆幼苗三组, 每组各五株(标准同实验六), 用Ⅲ<sub>B</sub>部位配制浓度为 6 毫克/毫升, 0.6 毫克/毫升的水溶液, 及蒸馏水分别做水培养实验, 培养在 25℃ 温箱中进行, 24 小时后, 取出各组蚕豆苗, 用蒸馏水冲净幼苗根部沾有的培养液, 然后分组将幼苗根部浸入 10 毫升离子交换水中, 浸泡 20 分钟后, 移出蚕豆苗, 用 27 型电导仪(上海雷磁仪器厂出品)测定各浸泡液电阻值。

## 四、实验结果及讨论

### 1. 提取物对供试植物种子萌发的抑制作用(表 1、2)

表 1 斑唇马先蒿提取物水溶液对多种植物种子萌发的抑制

| 植<br>物<br>名<br>称                            | 处<br>理<br>实<br>验<br>结<br>果 | 新 鲜 材 料 |     |       |     | 干 燥 材 料 |     |        |     |
|---------------------------------------------|----------------------------|---------|-----|-------|-----|---------|-----|--------|-----|
|                                             |                            | 对 照 组   |     | 实 验 组 |     | 对 照 组   |     | 实 验 组  |     |
|                                             |                            | 培养时间    | 发芽率 | 培养时间  | 发芽率 | 培养时间    | 发芽率 | 培养时间   | 发芽率 |
| 燕麦 <i>Avena sativa</i>                      |                            | 48 小时   | 80% | 48 小时 | 0%  |         |     |        |     |
| 小麦 <i>Triticum aestivum</i>                 |                            | 48 小时   | 99% | 48 小时 | 0%  | 96 小时   | 96% | 96 小时  | 0%  |
| 青稞 <i>Hordeum vulgare</i> var. <i>nudum</i> |                            | 48 小时   | 9%  | 48 小时 | 0%  |         |     |        |     |
| 垂穗披针草 <i>Elymus nutans</i>                  |                            |         |     |       |     | 48 小时   | 80% | 48 小时  | 0%  |
| 剪股颖 <i>Agrostis hugoniana</i>               |                            |         |     |       |     | 96 小时   | 89% | 96 小时  | 0%  |
| 冰草 <i>Agropyron cristatum</i>               |                            |         |     |       |     | 96 小时   | 65% | 96 小时  | 0%  |
| 三叶草 <i>Trifolium</i> sp.                    |                            |         |     |       |     | 72 小时   | 92% | 72 小时  | 0%  |
| 紫苜蓿 <i>Medicago sativa</i>                  |                            |         |     |       |     | 72 小时   | 94% | 72 小时  | 0%  |
| 甘肃马先蒿 <i>Pedicularis kansuensis</i>         |                            |         |     |       |     | 144 小时  | 36% | 144 小时 | 0%  |
| 加拿大披针草 <i>Elymus canadensis</i>             |                            |         |     |       |     | 120 小时  | 60% | 120 小时 | 0%  |

表 2 不同浓度水溶液对小麦种子萌发的影响

| 提取物水溶液浓度<br>(折合全草干重计算) | 种子发芽率 (72小时) |      |      |      | 与对照组相比, 种子发芽率<br>差异的显著性测验 P 值 |
|------------------------|--------------|------|------|------|-------------------------------|
|                        | I            | II   | III  | 平均   |                               |
| 0.2g/ml                | 0%           | 0%   | 0%   | 0%   | <0.001                        |
| 0.1g/ml                | 0%           | 0%   | 0%   | 0%   |                               |
| 0.05g/ml               | 20%          | 0%   | 0%   | 7%   |                               |
| 0.005g/ml              | 100%         | 98%  | 98%  | 99%  |                               |
| 0.0001g/ml             | 96%          | 100% | 98%  | 98%  |                               |
| 对 照                    | 100%         | 100% | 100% | 100% |                               |

斑唇马先蒿的新鲜样品和干燥样品提取物水溶液, 在浓度相当于全草干重 0.2克/毫升时, 均能抑制被试植物种子的萌发; 同时10种被试植物种子, 不论是单子叶植物, 还是双子叶植物, 是栽培的还是野生的牧草种子的萌发, 均能被该浓度提取物水溶液完全抑制。

斑唇马先蒿提取物水溶液浓度达到 0.05克干重/毫升时, 小麦种子的萌发就显著地受到抑制, 而当浓度为 0.005克干重/毫升时, 小麦种子萌发不受抑制。因此, 斑唇马先蒿提取物水溶液抑制小麦种子萌发的最低有效浓度范围应在0.05克干重/毫升, 和0.005 克/毫升之间。

## 2. 提取物中抑制小麦种子萌发的有效化学部位

(1) 斑唇马先蒿提取物经聚酰胺柱层析分离出五个部位, 而抑制小麦种子萌发的主要有效化学物质包含在“上柱后流出液”中, (发芽率只有24%) 而其它四个部位均属无效部位。

(2) 用饱和醋酸铅和碱氏醋酸铅水溶液将“上柱后流出液”进行分步沉淀分离, 得到 I、II、III 等三个部位; 实验证明, 溶液 III 为抑制小麦种子萌发的有效部位(发芽率只有7%)。而 I 及 II 部位属无效部位。

(3) 将溶液III部位水浴蒸干后, 分别用丙酮、无水乙醇及蒸馏水依次溶解残渣, 又分离得到 III<sub>A</sub>、III<sub>B</sub>、III<sub>C</sub> 等三个部位, 经小麦种子发芽率试验结果证明, III<sub>B</sub> 部位为抑制小麦种子萌发的有效化学部位。

(4) III<sub>B</sub> 部位为淡棕色膏状物, 得率为全草干重的 6%, 经成份检查, 该部位仍为一混合物, 其主要化学成份为还原糖及有机酸类物质。

表 3 表明, 当 III<sub>B</sub> 部位水溶液浓度为 6 毫克/毫升时, 小麦种子的萌发可被完全抑制; 当浓度只有 3 毫克/毫升时, 有 50% 的小麦种子不能萌发; 当溶液只有 1.5 毫克/毫升时 (折合

表 3 III<sub>B</sub> 部位梯度浓度水溶液对小麦种子萌发的影响

| 水 溶 液 浓 度            |            | 种子发芽率 | 与对照样比种子发芽率<br>差异的显著性测验 P 值 |
|----------------------|------------|-------|----------------------------|
| III <sub>B</sub> 部 位 | 折合全草干重     |       |                            |
| 对照 (蒸馏水)             |            | 100%  |                            |
| 12mg/ml              | 0.2g/ml    | 0%    |                            |
| 6mg/ml               | 0.1g/ml    | 0%    |                            |
| 3mg/ml               | 0.05g/ml   | 50%   | <0.001                     |
| 1.5mg/ml             | 0.025g/ml  | 80%   | <0.001                     |
| 0.3mg/ml             | 0.005g/ml  | 92%   | <0.50                      |
| 0.03mg/ml            | 0.0005g/ml | 100%  |                            |

全干草重为0.025克/毫升)小麦种子的萌发已明显的受到抑制,从而可以推断这种抑制现象是生化相克作用的表现,而不是由于培养液浓度过高造成的后果。图2、3表明,随着培养液浓度的增高,小麦及燕麦胚根生长均呈现出规律性的被抑制现象。

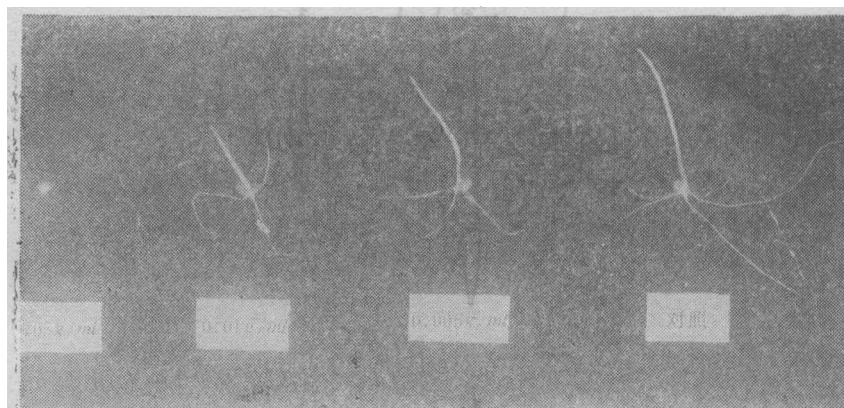


图2 ■B 部位梯度水溶液对小麦种子胚根发育的影响(浓度单位按全草干重计算)

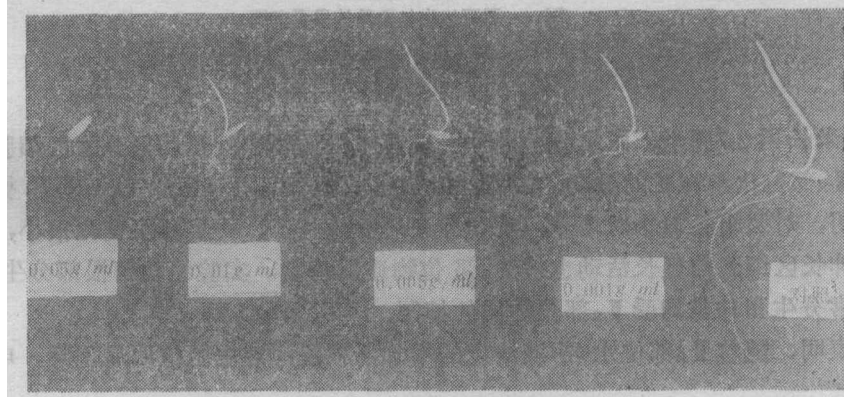


图3 ■B 部位梯度浓度水溶液对燕麦种子胚根发育的影响(浓度单位按全草干重计算)

### 3. 提取物生化相克作用的生理机制

表4及图4表明,蚕豆根“总标记段”长度变化中,对照组经24小时培养后,五株平均

表4 蚕豆根生长实验根部标记段长度变化(25℃培养24小时)

| 蚕豆幼苗编号           | 总标记段长度变化(厘米) |     | 第7—10标记段长度变化(毫米) |     |        |     |        |     |        |     |
|------------------|--------------|-----|------------------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|
|                  | 对照组          | 实验组 | 第7标记段            |     | 第8标记段  |     | 第9标记段  |     | 第10标记段 |     |
|                  |              |     | 对照组              | 实验组 | 对照组    | 实验组 | 对照组    | 实验组 | 对照组    | 实验组 |
| 1                | 2.8          | 1.2 | 3                | 1   | 4      | 1.5 | 3      | 1.5 | 6      | 1.5 |
| 2                | 3.1          | 1.0 | 4                | 1   | 5      | 1   | 5      | 1   | 6      | 1   |
| 3                | 2.2          | 1.0 | 2                | 1   | 5      | 1   | 4      | 1   | 3      | 1   |
| 4                | 3.3          | 1.5 | 3                | 2   | 5      | 2   | 4      | 1.5 | 5      | 2   |
| 5                | 2.1          | 1.0 | 2                | 1   | 3      | 1   | 3      | 1   | 2      | 1   |
| 平均值              | 2.7          | 1.1 | 2.8              | 1.2 | 4.4    | 1.3 | 3.8    | 1.2 | 4.4    | 1.3 |
| 与对照组比较差异而显著性测验P值 | <0.001       |     | <0.01            |     | <0.001 |     | <0.001 |     | <0.001 |     |

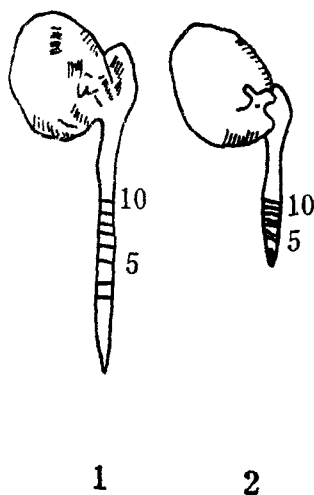


图 4 蚕豆根生长实验结果示意图

1. 对照 2. 处理

值由1.0厘米长到2.7厘米，而实验组基本上没有变化说明实验组幼根分生区细胞的正常分裂活动受到Ⅲ<sub>B</sub>部位化学物质的抑制，同时，对照组与实验组蚕豆根第7、8、9、10标记段长度变化比较表明，对照组经24小时培养，根各标记段都延长了，而实验组变化很小，说明实验组蚕豆幼根伸长区细胞的延长活动也被Ⅲ<sub>B</sub>部位物质所抑制。实验组幼苗根部分生区，伸长区细胞的正常分生和伸长均受Ⅲ<sub>B</sub>部位物质的抑制。

表5表明，随着Ⅲ<sub>B</sub>部位水溶液浓度的增加，根浸泡液电阻值明显下降，电导能力明显

表 5 蚕豆根细胞壁透性实验各组浸泡液电阻值测定结果

| 培养液浓度 (折合全草干重) | 对 照 组        | 0.01g/ml     | 0.1g/ml    |
|----------------|--------------|--------------|------------|
| 根浸泡液电阻值 (千欧)   | 89.2<br>24.0 | 12.0<br>18.5 | 5.2<br>3.1 |

增高，这是由于溶液中导电离子增多所致，从而证明，根部细胞受到Ⅲ<sub>B</sub>部位物质的毒害，可能使细胞壁结构改变，透性增大造成细胞内含物质大量外溢的后果。

## 五、小 结

根据以上三组七个实验的结果可以认为：

1. 斑唇马先蒿提取物对青稞、小麦等十种植物种子的萌发确实具有明显的抑制能力，这正是一种生化相克现象。

2. 斑唇马先蒿植物中能抑制小麦种子萌发的主要有效化学部位是Ⅱ<sub>B</sub>部位。
3. 斑唇马先蒿提取物的这种生化相克作用, 正是造成其周围的青稞种子难以萌发的主要原因。
4. 斑唇马先蒿提取物对其他植物的生化相克作用, 其生理机制很重要的一个原因是由于提取物所含Ⅱ<sub>B</sub>部位物质对根系的毒害, 抑制了其他植物根系细胞正常的分生和延长活动, 可能是破坏了其他植物的根细胞壁组织, 使细胞壁透性增加, 细胞内含物大量外溢, 造成植物根系生长发育缓慢和死亡。

### 参 考 文 献

- 板村徹 1963 植物生理学. 下卷 146—152页. 科学出版社.  
Rice, E. L. 1974 Allelopathy 35—74.

## PRELIMINARY STUDY ON THE ALLELOPATHY OF THE EXTRACTS OF *PEDICULARIS LONGIFLORA* RUDOLPH VAR. *TUBIFORMIS* (KLOTZ.) TSOOG

Zhang Baochen He Suxia

(Northwest Plateau Institute of Biology, Academia Sinica)

*Pedicularis longiflora* Rudolph var. *tubiformis* (Klotz.) Tsoog is a kind of annual weed spreaded widely on Qinghaixizang (Tibet) Plateau. According to the information afforded by the department of agricultural production, if this weed occurs in highland barley (*Hordeum vulgare*) fields, the germination of seeds and normal growth of young sprout of highland barley around it would be inhibited.

Three sets of experiments on the extracts of *Pedicularis longiflora* Rudolph var. *tubiformis* (Klotz.) Tsoog have been carried out to find out the reasons for the occurrence of allelopathy.

The tests of germination rate show that the seed germination of *Hordeum vulgare*, *Avena sativa*, *Triticum aestivum*, *Elymus nutans*, *Elymus canadensis*, *Agrostis hugoniana*, *Agropyron cristatum*, *Trifolium* sp., *Medicago sativa* and *Pedicularis kansuensis* were completely inhibited when the concentration of aqueous solution of the extracts was 0.2g/ml (dry weight of intact weed). The lowest concentration that could inhibit the seeds of wheat (*T. aestivum*) apparently was 0.05g/ml.

By separating the extracts, a chemical part Ⅱ<sub>B</sub> was obtained (the rate is 6%) and it could completely inhibit the seed germination of wheat (*T. aestivum*) when its concentration reaches 6mg/ml. If the concentration was 1.5mg/ml, the seed germination was inhibited apparently. The culture of seeds of wheat and oats in the Ⅱ<sub>B</sub> aqueous solution at lower concentration shows that the root growth of both plants is in a regular inhibitory state.

By the experiments of the root growth and the root cellwall permeability of broad beans, the influence of  $\text{I}_B$  aqueous solution (6mg/ml) on the seedling of broad beans was found. The normal cell division in root-growing zone and the normal cell elongating in stretching zone were inhibited. The tissue of cell wall was damaged, and a great deal of substances in the cell wall flew out. We consider this shows the allelopathy of the extracts.