

几种牧草幼苗对冷蒿茎叶水浸提液化感作用的生理响应

张汝民¹, 王玉芝², 侯平¹, 温国胜¹, 高岩^{1,2,*}

(1. 浙江林学院林业与生物技术学院,浙江临安 311300;2. 内蒙古农业大学农学院,呼和浩特 010019)

摘要:采用沙培法对草木樨、披碱草、冰草和羊草进行幼苗生长试验,研究了不同浓度冷蒿茎叶水浸提液处理对4种牧草幼苗生长、根系活力、叶绿素含量以及抗氧化保护酶活性的影响,并采用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术对冷蒿茎叶水浸提液的化学成分进行了分析。结果表明:冷蒿茎叶水浸提液对草木樨、披碱草、冰草和羊草4种牧草幼苗生长有明显的影响,这种影响效应与牧草的种类及冷蒿茎叶水浸提液浓度显著相关。其中,25mgDw·mL⁻¹的冷蒿茎叶水浸提液均表现出对4种牧草幼苗生长指标有极显著的抑制作用($P < 0.01$),4种牧草幼苗根系活力分别降低了46.7%、65.9%、59.3%和66.7%,草木樨、披碱草和羊草幼苗叶绿素含量分别下降了47.3%、56.6%和46.7%。当冷蒿茎叶水浸提液浓度为10mgDw·mL⁻¹时,对4种牧草幼苗体内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性有显著的促进作用;当浓度为25mgDw·mL⁻¹时,对4种牧草幼苗体内SOD、POD和CAT活性有显著的抑制作用,同时使幼苗体内丙二醛(MDA)的含量显著增加。冷蒿茎叶水浸提液有30种化类次生代谢化合物,主要成分是樟脑(27.6%)、龙脑(10.1%)、葎草苦素(9.8%)、桉树脑(8.7%)、喇叭烯醇(4.1%)和对-1-薄荷烯-4-醇(4.1%),占总量的60%以上。

关键词:冷蒿;牧草;水浸提液;抗氧化物酶;化感作用

Physiological responses to allelopathy of aquatic stem and leaf extract of *Artemisia frigida* in seedling of several pasture plants

ZHANG Rumin¹, WANG Yuzhi², HOU Ping¹, WEN Guosheng¹, GAO Yan^{1,2,*}

1 School of Forestry and Biotechnology, Zhejiang Forestry College, Lin'an, Zhejiang 311300, China

2 College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010019, China

Abstract: In order to understand the interaction of *Artemisia frigida* with other pasture plants, we studied the effects of the aquatic extract from stem and leaves of *A. frigida* on the growth, root activity, chlorophyll content, and antioxidant defense system in seedlings of *Melilotus officinalis* Lam., *Elymus dahuricus* Turcz., *Agropyron cristatum* L. and *Leymus chinensis* by using sand culture method, and analyzed the chemical components of the extract using GC-MS. Results showed that the aquatic stem and leaf extract of *A. frigida* had significant allelopathic effects on seedling growth in *M. officinalis*, *E. dahuricus*, *A. cristatum* and *L. chinensis*, with the effects varying with the type of pasture plants and the concentration of the extract. The seedling growth index in *M. officinalis*, *E. dahuricus*, *A. cristatum* and *L. chinensis* was highly significantly inhibited by treatment with 25mgDw·mL⁻¹ of the aquatic extract; the root activity in the seedlings of the four pasture plants were reduced by 46.7%, 65.9%, 59.3%, and 66.7%, respectively, and the chlorophyll content in *M. officinalis*, *E. dahuricus*, and *L. chinensis* were reduced by 47.3%, 56.6%, 46.7%, respectively, compared with the control. At 10mgDw·mL⁻¹, the extract significantly increased the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and catalase (CAT); whereas at 25mgDw·mL⁻¹ the extract reduced the activities of those enzymes while significantly increased the content of malondialdehyde (MDA) in the seedling of the four pasture plants. 30 secondary

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30760193, 30360086);内蒙古农业大学博士基金资助项目(BJ05-09)

收稿日期:2009-02-15; 修订日期:2009-07-28

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: gaoyan1960@sohu.com

metabolic compounds were identified in the aquatic stem and leaf extract of *A. frigida*. The main compounds were camphor (27.6%), borneol (10.1%), achillin (9.8%), cineole (8.7%), ledene alcohol (4.1%) and p-menth-1-en-4-ol (4.1%), which all together accounted for 60% of the total.

Key Words: *Artemisia frigida*; pasture plant; aquatic extract; antioxidant enzyme; allelopathy

植物化感物质(AAllelochemicals)是植物在生长发育过程中,通过茎叶挥发、淋溶、根系分泌以及植物残体腐解等4种途径向自然环境中释放的次生代谢产物,也是植物之间争夺阳光、水分和营养资源的主要化学武器^[1]。化感作用广泛存在于自然界中,对解释植物个体及种间的相互作用机制和植物群落演替都具有重要的作用^[1-2],并对农林业生产有重要的影响,如农作物连作障碍、森林更新以及生物入侵等现象都与化感作用密切相关^[3-6]。目前,植物化感作用研究的领域主要集中在作物与杂草、森林演替以及农作物自毒等方面,但是在草场退化演替方面的研究较少。

冷蒿(*Artemisia frigida*)为菊科蒿属的小半灌木,在我国天然草场中分布广泛,特别是在退化草场中往往形成单一优势种群,并以纯植丛分布。这种分布对草场植物群落组成、结构特征、分布格局、生产力及其动态变化规律具有重要的影响^[7]。目前普遍认为这是冷蒿自身的生物学特性、生态适应对策、植物种间的相互作用、放牧抗性等诸多因素所决定^[7-10]。蒿属植物普遍具有释放芳香气味的特征,这种气味是否影响周围其它植物的生长、繁衍和分布,增强其生态适应性和植物种间的竞争力,值得深入探究。因此,本研究采用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术分析了冷蒿茎叶水浸提液的组成成分,并选用不同浓度冷蒿茎叶水浸提液处理牧草幼苗,研究冷蒿茎叶水浸提液对牧草幼苗生长、根系活力以及幼苗体内抗氧化物酶活性和细胞膜受损程度的影响作用;从生理生化角度,探讨冷蒿茎叶水浸提液与牧草生长的关系,为揭示冷蒿纯植丛群落的形成机制和阐明草场退化机理提供新的资料和理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验中的冷蒿(*Artemisia frigida* Willd.)材料采于内蒙古自治区武川县(40°47'—41°23' N, 110°31'—111°53' E),海拔1600—1700 m,年降雨量300 mm左右,年平均气温2.5 ℃,无霜期105 d。2007年8月,从天然草场中挖取生长健康的冷蒿植株,选取地上部茎叶,用自来水彻底清洗,再用蒸馏水冲洗,风干后粉碎,过60目筛的粉末贮藏备用。受试牧草为草木樨(*Melilotus officinalis* Lam.)、披碱草(*Elymus dahuricus* Turcz.)、冰草(*Agropyron cristatum* L.)和羊草(*Leymus chinensis*),种子由内蒙古呼和浩特市草原站提供。

1.2 研究方法

1.2.1 冷蒿茎叶水浸提液制备

准确称取冷蒿茎叶干粉5 g,置于100 mL蒸馏水中,在25℃条件下浸提48 h,离心后过滤2次,得冷蒿茎叶水浸提液母液,浓度为50 mgDw·mL⁻¹,保存在4℃冰箱中备用。将母液分别配制成5 mgDw·mL⁻¹、10 mgDw·mL⁻¹和25 mgDw·mL⁻¹的处理液,实验前配制,蒸馏水作对照处理^[11]。

1.2.2 牧草幼苗生长实验

选取均匀一致,无病虫害的牧草种子,用1 g·L⁻¹ KMnO₄溶液消毒15 min后,取出用蒸馏水反复冲洗(5—6次)至高锰酸钾完全清除。将消毒过的牧草种子分别置于垫有两层滤纸的培养皿(Φ15 cm)中,放入人工气候箱(HPG-240H)中萌发3—4 d后(暗培养,(23±1)℃),用消过毒的镊子将刚刚萌发的种子挑出(以胚根突破种皮为准)。采用沙培法进行培养^[12],在每个花盆(Φ15 cm)中,先放入冲洗干净的河沙,加入10 ml Hoagland营养液(大量元素: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (945 mg·L⁻¹)、 KNO_3 (506 mg·L⁻¹)、 NH_4NO_3 (80 mg·L⁻¹)、 KH_2PO_4 (136 mg·L⁻¹)、硫酸镁(493 mg·L⁻¹);2.5 ml·L⁻¹铁盐溶液: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (5.56 g·L⁻¹)、EDTANa(7.46 g·L⁻¹);5 ml·L⁻¹微量元素: KI (0.83 mg·L⁻¹)、 HBO_3 (6.2 mg·L⁻¹); MnSO_4 (22.3 mg·L⁻¹); ZnSO_4 (8.6

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; Na_2MnO_4 ($0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$); CuSO_4 ($0.025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$); CoCl_2 ($0.025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)); 然后放置 30 粒催芽种子, 每个处理组共 15 个处理(3 个浓度梯度, 4 种牧草, 蒸馏水处理作为对照), 然后将花盆放入人工气候箱中进行生长实验。培养条件为: 光照 14h (25°C)/黑暗 10h (20°C); 光强 $80 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。以后每隔 1d 各补充 10mL 蒸馏水和 2mL 相应处理液或蒸馏水, 实验重复 3 次^[13]。培养 14d 后实验结束, 收取活的牧草幼苗, 测量单株苗高和根长, 地上和地下鲜重和干重, 取幼苗根系测定根系活力、取幼苗叶片测定叶绿素含量和各种抗氧化物酶活性及丙二醛含量, 实验重复 3 次。

超氧化物歧化酶(SOD)活性参照 Giannopolitis 等的方法^[14]; 过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性参照 Chance 等的方法^[15]; 丙二醛(MDA)含量参照 Zhang 和 Kirkham 的方法^[16]; 蛋白质含量参照 Bradford 的方法^[17]; 根系活力参照 Knievel 的方法进行测定^[18]; 叶绿素含量: 取 1 株植物放入 5ml 80% 丙酮溶液中浸提 48h, 浸提液在 663 nm 和 645 nm 比色, 叶绿素含量按 Arnon 的公式计算^[19]。

1.2.3 冷蒿茎叶浸提液化学成分分析

取 5mL 冷蒿茎叶水浸提液母液加入 1mL 乙酸乙酯萃取, 吸取 1 μL 萃取液进样, 进行 GC-MS 分析。GC (TraceTM 2000, CE Instrument Company) 条件: 色谱柱: DB-5-MS 石英毛细管柱 ($30\text{m} \times 0.32\text{mm} \times 0.25\text{um}$); 升温程序: 初始温度 50°C, 以 $20^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率升至 180°C, 保持 4min, 再以 $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升到 220°C, 保持 15min; 载气: He (99.99%), 柱流速 $0.8\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 进样口温度 280°C。MS (Voyager, Finnigan Thermo-Quest Company) 条件: 电离方式: EI; 电子能量 70eV; 离子源温度 200°C; 传输线温度 250°C; 数据采集速率: $2.5 \text{ 次} \cdot \text{s}^{-1}$; 扫描质量范围 39—450amu。采用 Xcalibur1.2 版本软件、NIST98 谱图库兼颜色谱保留时间定性。

1.4 数据分析

试验数据采用 SPSS13.0 统计分析软件进行方差分析和显著性检验。

2 结果与分析

2.1 冷蒿茎叶水浸提液的化学成分分析

冷蒿茎叶水浸提液样品经乙酸乙酯萃取后进行 GC-MS 分析(图 1), 经 GC-MS 联用仪标准质谱数据库 NIST98 的计算机检索, 鉴定出其中主要含有 30 种化合物, 并采用面积归一化法确定了它们的相对百分含量(表 1)。冷蒿茎叶浸提液中主要成分是樟脑(27.8%)、龙脑(10.1%)、薑草苦素(9.8%)、桉树脑(8.8%)、对-1-薄荷烯-4-醇(4.1%)和喇叭烯醇(4.1%), 合计占到总量的 60% 以上。

2.2 牧草幼苗生长对冷蒿茎叶水浸提液的敏感性

冷蒿茎叶水浸提液对草木樨、披碱草、冰草和羊草幼苗生长的影响存在着明显差异(表 2), 低质量浓度($5\text{mgDw} \cdot \text{mL}^{-1}$)冷蒿茎叶水浸提液对 4 种牧草幼苗高和根系生长无明显影响。随着冷蒿茎叶水浸提液质量浓度的提高, 对 4 种牧草苗高和根系生长的抑制作用逐渐增强; 当质量浓度增加到 $10\text{mgDw} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 对 4 种牧草苗高生长的抑制作用达到显著水平($P < 0.05$), 对草木樨、披碱草和羊草根长生长的抑制作用达到极显著水平($P < 0.01$), 与对照相比分别降低了 23.1%、28.0% 和 55.1%。

由表 2 可以看出, 低浓度冷蒿茎叶水浸提液处理对草木樨、披碱草、冰草和羊草根鲜质量和苗鲜质量无明显作用。当浓度达到 $25\text{mgDw} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 对草木樨苗鲜质量的抑制作用呈显著水平($P < 0.05$), 与对照相比分别降低了 19.2%, 对披碱草、冰草和羊草苗鲜质量的抑制作用呈极显著水平($P < 0.01$), 其抑制率分别为 46.0%、50.8% 和 59.9%; 对 4 种牧草根鲜质量的抑制作用均呈极显著水平($P < 0.01$), 其抑制率分别为 49.0%、54.8%、58.6% 和 50.4%; 对 4 种牧草苗和根干质量的抑制作用均呈极显著水平($P < 0.01$)。

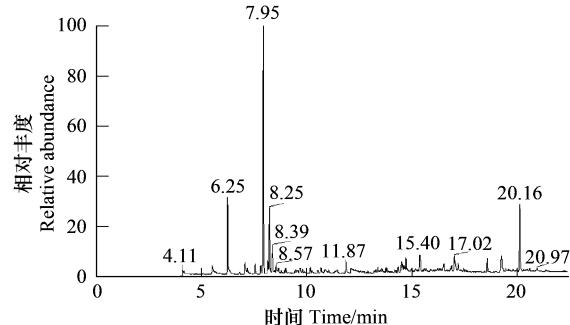


图 1 冷蒿茎叶水浸提液总离子流图

Fig. 1 TIC chromatogram of aquatic extracts from stem and leaf of *A. frigida*

表1 冷蒿茎叶水浸提液的化学成分

Table 1 Chemical components of aquatic extracts from stem and leaf of *A. frigida*

编号 No.	保留时间 Retention Time/min	化合物 Compounds	分子式 Molecular formula	峰面积 Area/%
1	4.11	2-甲基戊醇 2-Methyl-1-pentanol	C ₆ H ₁₄ O	2.74
2	5.52	苯酚 Phenol	C ₆ H ₆ O	1.65
3	6.25	桉树脑 Cineole	C ₁₀ H ₁₈ O	8.77
4	7.08	4-甲氧基苯酚 4-methoxy-Phenol	C ₇ H ₈ O ₂	3.87
5	7.19	里哪醇 Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	0.32
6	7.57	α-松油醇 α-Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	1.26
7	7.95	樟脑 Camphor	C ₁₀ H ₁₆ O	27.79
8	8.17	香叶醇 cis-Geraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	1.43
9	8.25	龙脑 Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	10.13
10	8.39	对-1-薄荷烯-4-醇 p-Menth-1-en-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	4.09
11	8.57	β-松油醇 β-Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	1.09
12	8.66	2-蒎烯-10-醇 2-Pinen-10-ol	C ₁₀ H ₁₆ O	0.52
13	9.03	6-甲基-5-庚烯-2-酮 6-Methyl-5-heptene-2-one	C ₈ H ₁₄ O	1.30
14	9.71	蒿属酮 Artemisiaketone	C ₁₀ H ₁₆ O	1.53
15	11.87	龙脑烯醛 Campholenal	C ₁₀ H ₁₆ O	2.23
16	13.39	8-羟基里哪醇 8-Hydroxylinalool	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	0.93
17	13.77	斯巴醇 Spathulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	0.95
18	14.35	E-环氧化法呢烯 E- Farnesene epoxide	C ₁₅ H ₂₄ O	0.95
19	14.50	9-己基十七烷 9-hexyl- Heptadecane	C ₂₃ H ₄₈	1.76
20	14.72	氧化石竹烯 Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	2.24
21	15.40	环氧化异香树烯 Isoaromadendrene epoxide	C ₁₅ H ₂₄ O	3.24
22	17.02	喇叭烯醇 ledene alcohol	C ₁₀ H ₁₆ O	4.08
23	17.22	古巴醇 Copaeen-11-ol	C ₁₅ H ₂₄ O	1.37
24	18.60	汉菲林 Hanphyllin	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	1.72
25	18.99	4-羟基-紫罗兰酮 4-Hydroxy-ionone	C ₁₃ H ₂₀ O ₂	0.20
26	19.28	桃金娘烯酸溴化物 Myrtene acid bromide	C ₁₀ H ₁₃ BrO	1.87
27	19.48	二氢叶黄素 Dihydroxanthin	C ₁₇ H ₂₄ O ₅	0.63
28	20.16	蓍草苦素 Achillin	C ₁₅ H ₁₈ O ₃	9.83
29	20.63	十六碳二烯酸甲酯 Hexadecadienoic acid, methylester	C ₁₇ H ₃₀ O ₂	0.52
30	20.97	10,13-十八烷二炔酸甲酯 10,13-Octadecadiynoic acid, methylester	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	0.99

表2 冷蒿茎叶水浸提液对牧草幼苗生长的影响

Table 2 Effects of aquatic extracts from stem and leaf of *A. frigida* on seedling growth of pasture plants

受试植物 Receiver plant	处理 Treatment /(mgDW·mL ⁻¹)	苗高 Shoot length /cm	根长 Root length /cm	地上部鲜质量 Top fresh mass /(mg·plant ⁻¹)	根鲜质量 Root fresh mass /(mg·plant ⁻¹)	地上部干质量 Top dry mass /(mg·plant ⁻¹)	根干质量 Root dry mass /(mg·plant ⁻¹)
<i>M. officinalis</i>	CK	8.5 ± 0.6	6.5 ± 0.6	38.6 ± 5.9	20.0 ± 3.7	6.2 ± 0.1	3.4 ± 0.1
	5	8.6 ± 0.6	6.6 ± 0.4	41.1 ± 9.1	20.9 ± 2.1	6.6 ± 0.2	3.8 ± 0.3
	10	7.6 ± 0.4 *	5.0 ± 0.4 **	40.9 ± 7.1	14.6 ± 3.1 **	5.4 ± 0.3 *	2.6 ± 0.3 **
<i>E. dahuricus</i>	CK	13.2 ± 1.2	7.5 ± 1.5	57.8 ± 3.2	24.1 ± 1.9	8.0 ± 0.2	3.7 ± 0.1
	5	12.9 ± 1.8	6.9 ± 1.1	51.4 ± 4.6	18.7 ± 1.8	6.3 ± 0.6	3.1 ± 0.3
	10	11.6 ± 1.2 *	5.4 ± 1.2 **	42.4 ± 1.4 *	15.2 ± 1.8 **	5.8 ± 1.1 *	2.7 ± 0.6 *
<i>A. cristatum</i>	CK	5.5 ± 1.9	4.8 ± 0.9	25.6 ± 2.3	12.8 ± 1.2	4.1 ± 0.1	2.3 ± 0.7
	5	5.6 ± 1.2	4.7 ± 1.0	26.1 ± 2.3	13.0 ± 0.9	4.1 ± 0.3	2.4 ± 0.8
	10	4.9 ± 1.1 *	3.8 ± 0.3 **	18.7 ± 1.5 *	9.3 ± 0.3 **	3.6 ± 0.6 *	1.7 ± 0.5 **
<i>L. chinensis</i>	CK	7.1 ± 1.9	4.9 ± 2.0	28.7 ± 1.6	11.5 ± 0.2	4.9 ± 0.9	2.4 ± 0.5
	5	6.9 ± 1.3	3.5 ± 0.8 *	28.5 ± 1.3	9.1 ± 1.1	4.9 ± 0.9	1.7 ± 0.6 *
	10	6.6 ± 1.2 *	2.2 ± 0.4 **	16.8 ± 1.5 *	7.8 ± 0.9 **	3.7 ± 0.6 *	1.4 ± 0.4 **
	25	4.8 ± 0.9 **	1.5 ± 0.1 **	11.5 ± 1.4 **	5.7 ± 0.8 **	2.6 ± 0.7 **	1.0 ± 0.3 **

* 表示 $P < 0.05$, 差异显著; ** 表示 $P < 0.01$, 差异极显著; 下同

2.3 冷蒿茎叶水浸提液对4种牧草幼苗根系活力的影响

低质量浓度冷蒿茎叶水浸提液对4种牧草的根系活力无明显影响(图2);当质量浓度增加到 $25\text{mgDw}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,对草木樨、披碱草、冰草和羊草的根系活力抑制作用呈极显著水平($P < 0.01$),与对照相比根系活力分别降低了46.7%、65.9%、59.3%和66.7%。

2.4 冷蒿茎叶水浸提液对4种牧草幼苗叶片叶绿素含量的影响

低质量浓度冷蒿茎叶水浸提液对4种牧草幼苗叶片叶绿素含量无明显影响(图3);当冷蒿茎叶水浸提液增加到 $25\text{mgDw}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,与对照相比,冰草幼苗叶片叶绿素含量降低了23.6%($P < 0.05$),草木樨、披碱草和羊草幼苗叶绿素含量分别下降了47.3%、56.6%和46.7%($P < 0.01$)。

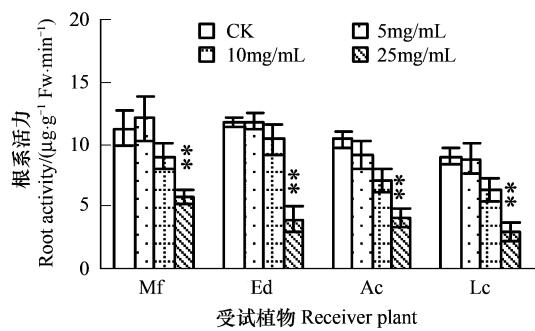


图2 冷蒿茎叶水浸提液对牧草根系活力的影响

Fig. 2 Effects of aquatic extracts from stem and leaf of *A. frigida* on roots activity of pasture plants

Mf: 草木樨 *M. officinalis*; Ed: 披碱草 *E. dahuricus*; Ac: 冰草 *A. cristatum*; Lc: 羊草 *L. chinensis*

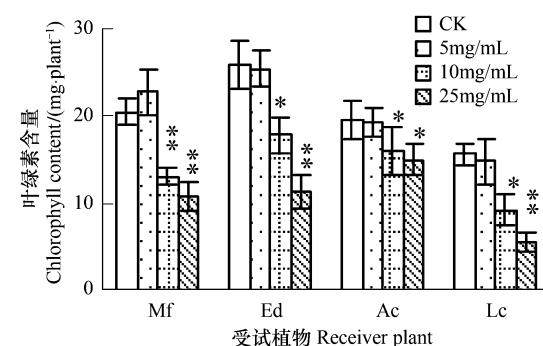


图3 冷蒿茎叶水浸提液对牧草叶片叶绿素含量的影响

Fig. 3 Effects of aquatic extracts from stem and leaf of *A. frigida* on chlorophyll content of pasture plants

2.5 冷蒿茎叶水浸提液对4种牧草幼苗体内抗氧化物酶活性的影响

2.5.1 对4种牧草幼苗体内POD活性影响

低浓度冷蒿茎叶水浸提液对4种牧草幼苗中POD活性无明显的影响(图4),当冷蒿茎叶水浸提液浓度为 $10\text{mgDw}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,草木樨、披碱草和冰草幼苗体内POD活性表现出极显著的增加($P < 0.01$),与对照相比POD活性分别提高了1.4、2.1倍和3.3倍;随着冷蒿茎叶水浸提液浓度的增加POD活性开始明显的下降($P < 0.01$),与最高值相比,3种牧草幼苗POD活性分别降低了20.9%、25.0%和14.3%。羊草幼苗体内POD活性无明显变化。

2.5.2 对4种牧草幼苗体内SOD活性的影响

冷蒿茎叶水浸提液对草木樨、冰草和羊草幼苗体内的SOD活性的作用表现得更为明显(图5)。 $10\text{mgDw}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度的冷蒿茎叶水浸提液使草木樨、冰草和羊草幼苗体内SOD活性表现出明显的增高($P < 0.01$),与对照相比SOD活性分别增加了1.7、2.0倍和1.8倍。当浓度增加到 $25\text{mgDw}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,表现出对草木樨和披碱草幼苗SOD活性的抑制作用,与对照相比SOD活性分别降低了53.1%和31.2%。

2.5.3 对4种牧草幼苗体内CAT活性的影响

不同浓度的冷蒿茎叶水浸提液对4种牧草幼苗体内CAT活性的化感效应仅有冰草在 $10\text{mgDw}\cdot\text{mL}^{-1}$ 达到极显著促进作用($P < 0.01$),与对照相比,CAT活性增加了1.3倍(图6),对草木樨、披碱草和羊草幼苗体内

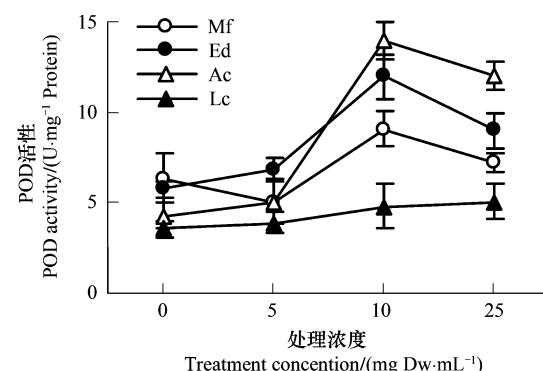


图4 冷蒿茎叶水浸提液对牧草幼苗POD活性的影响

Fig. 4 Effect of aquatic extracts from stem and leaf of *A. frigida* on POD activity of pasture plants

CAT活性无显著作用。

2.6 对4种牧草幼苗体内MDA含量的影响

草木樨、披碱草和羊草幼苗在 $10\text{mgDw}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度冷蒿茎叶水浸提液处理下,膜脂过氧化明显增加(图7) ($P < 0.01$),显示牧草幼苗在此时受到伤害,与对照相比,MDA含量分别增加了55.5%、42.9%和56.1%。当冷蒿茎叶水浸提液浓度增加到 $25\text{mgDw}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,4种牧草幼苗的膜脂过氧化程度明显加重($P < 0.01$)。

3 讨论

Chon等研究发现,相对于地上部分,根部对化感物质的反应更敏感^[13]。本实验显示,冷蒿茎叶水浸提液对草木樨、披碱草、冰草和羊草幼苗期生长的影响作用主要表现为对幼根活动的抑制,而对地上部分的作用相对不明显(表2,图2,图3),这与早期的实验结果一致^[13]。出现这种现象的原因可能是因为根为直接接触化感物质的器官,更容易受到伤害;而地上部分靠根部吸收营养物质满足需要,只有当根系受害达到一定程度时,地上部分才表现出受害症状。这种抑制效应也与冷蒿茎叶水浸提液的浓度相关,即随着冷蒿茎叶水浸提液浓度的增加,抑制作用的强度也增大;同时,可以看出不同植物种类对冷蒿茎叶水浸提液的抑制效应存在明显差异。

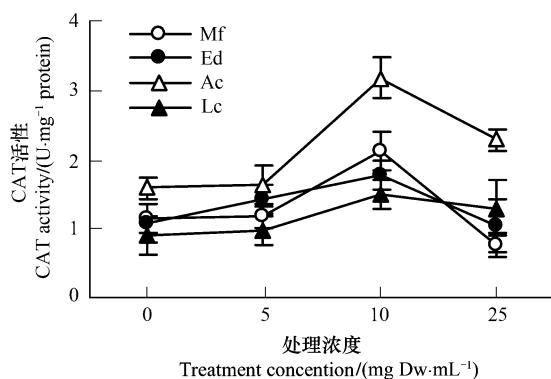


图6 冷蒿茎叶水浸提液对牧草幼苗CAT活性的影响

Fig. 6 Effect of aquatic extracts from stem and leaf of *A. frigida* on CAT activity of pasture plants

低质量浓度冷蒿茎叶水浸提液使4种牧草幼苗保护性酶活性显著升高(图4—图6),可能是其受到化感胁迫后,因体内过氧化产物增多而启动的一种应激机制^[20-21],即氧化胁迫诱导了牧草体内抗氧化能力的增加。但是,这种适应性的反应只能够在一定受害程度内发挥作用,当牧草幼苗体内氧化产物累积到一定水平时,导致酶活性下降,这与本研究高浓度冷蒿茎叶水浸提液处理能够显著抑制牧草幼苗体内保护酶活性的实验结果一致(图4—图6)。当保护性酶活性显著降低时,不能有效清除牧草幼苗在化感胁迫下生成的自由基,使其内部 O_2^- 的增加速率大于保护性酶清除 O_2^- 的速率;随着 O_2^- 在体内的累积,植物受害逐渐加重。MDA是生物膜系统脂质过氧化产物之一,其含量高低指示脂质过氧化强度和膜系统的伤害程度。本实验中幼苗体内MDA含量的分析结果与各种保护性酶活性的分析结果相吻合。当各种保护性酶的活性较高时,牧草幼苗体内MDA含量较低,牧草幼苗受害程度轻;反之,MDA含量升高,牧草幼苗受害增强(图7)。

目前,普遍认为植物体内产生的萜类是众多复杂化合物的高效化感物质^[22],而且萜类氧化物的抑制作用

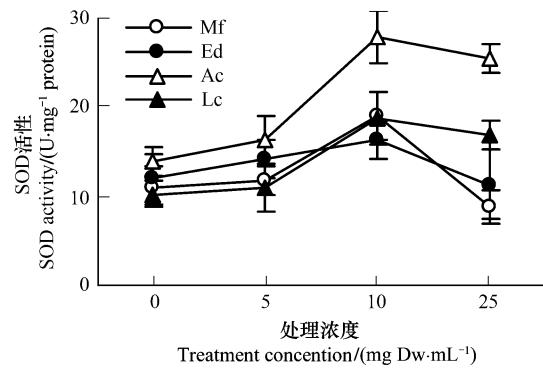


图5 冷蒿茎叶水浸提液对牧草幼苗SOD活性的影响

Fig. 5 Effect of aquatic extracts from stem and leaf of *A. frigida* on SOD activity of pasture plants

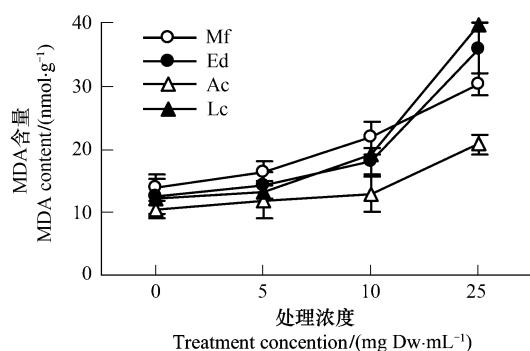


图7 冷蒿茎叶水浸提液对牧草幼苗MDA含量的影响

Fig. 7 Effect of aquatic extracts from stem and leaf of *A. frigida* on MDA content of pasture plants

明显强于萜类^[23]。多年生菊科植物细叶亚菊(*Alania tenuifolia*)地上部分挥发物中的主要化学成分为 α -蒎烯、樟脑和桉树脑,它们能明显抑制垂穗披碱草(*Elymus nutans*)种子萌发和幼苗生长过程以及细胞内酶的活性^[24];Vokou等人对47种单萜化合物研究发现,其中樟脑、桉树脑、柠檬烯和薄荷烯醇等24种化合物对莴苣(*Lactuca sativa*)幼苗生长的抑制率超过了85%,并且单萜化合物组合具有协同作用或拮抗作用^[25]。冷蒿茎叶浸提液主要含有萜烯类化合物(表2),其中樟脑、龙脑、蒈草苦素、桉树脑和对-1-薄荷烯-4-醇等5种化合物占总含量的60%以上,它们可能是冷蒿体内抑制牧草生长的化感物质。

在自然生态系统中,菊科植物多具有“攻击性”而易于形成单一群落,对生态系统的稳定及生物多样性产生一定的危害。在天然草场鼠尾草(*Salvia* spp.)和加州蒿(*Artemisia californica*)释放的桉树脑、樟脑和莰烯酮抑制周围禾草生长而形成裸地圈^[26];在人工草场中,细叶亚菊(*Alania tenuifolia*)释放 α -蒎烯、樟脑和桉树脑将导致自然草场退化^[24];冷蒿茎叶浸提液含有樟脑、龙脑、蒈草苦素、桉树脑、喇叭烯醇和对-1-薄荷烯-4-醇,这些物质是否是导致草场自然退化的重要原因之一,有待深入研究。

References:

- [1] Bais H P, Vepachedu R, Gilroy S, Callaway R M, Vivanco J M. Allelopathy and exotic plant invasion: from molecules and genes to species interactions. *Science*, 2003, 301: 1377-1380.
- [2] Yan X F, Wang Y, Li Y M. Plant secondary metabolism and its response to environment. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27 (6): 2554-2562.
- [3] Wang D M, Li D W, Zhu W, Li J L. Allelopathy effects of different polarity allelochemicals from *Polygonatum cirrhifolium* root. *Scientia Silvae Sinicae*, 2007, 43 (10): 145-149.
- [4] Yang L X. Effects of *Larix gmelini* aqueous extracts on seed germination and seedling growth of *Juglans mandshurica*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(6): 1145-1147.
- [5] Peng S L, Shao H. Research significance and foreground of allelopathy. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(5): 780-786.
- [6] Bais H P, Weir T L, Perry L G, Gilroy S, Vivanco J M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, 57, 233-266.
- [7] Liu Z G, Li Z Q. Fine-scale spatial pattern of *Artemisia frigida* population under different grazing intensities. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24 (2): 227-234.
- [8] Yang C, Bao Y, Li L. Variation of module of *Artemisia frigida* population under different grazing intensities. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(3): 405-408.
- [9] Wang J, Yang C, Wang T J. Changes of model of *Artemisia frigida* populations under the disturbance of grazing. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26 (3): 960-965.
- [10] Wang S P. Grazing resistance of rangeland plants. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(3):517-522.
- [11] Wang Y Z, Zhang R M, Gao Y. Allelopathy Effect of Extracts from *Artemisia frigida* Willd. on Some Feeding Plants. *Chinese Journal of Grassland*, 2008, 30(2): 47-52.
- [12] Li Z H, Shen Y X. Studies on allelopathic effects of the aqueous extracts of roots of different varieties of *Medicago sativa* L. *Chinese Journal of Grassland*, 2005, 27(4):39-46.
- [13] Chon S U, Choib S K, Jung S. Effects of alfalfa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfalfa and barnyard grass. *Crop Protection*, 2002, 21: 1077-1082.
- [14] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 1977, 59: 309-314.
- [15] Chance B, Maehly A C. Assay of catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology*, 1955, 2;764-775.
- [16] Zhang J X, Kirkham M B. Drought stress induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. *Plant Cell Physiology*, 1994, 35:785-791.
- [17] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein - dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72:248-254.
- [18] Knievel D P. Procedures for estimating ratio of live to dead root dry matter in root core samples. *Crop Science*, 1973, 13:124-126
- [19] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. *Plant Physiology*, 1949, 24:1-15
- [20] Ye S F, Zhou Y H, Sun Y, Zou L Y, Yu J Q. Cinnamic acid causes oxidative stress in cucumber roots, and promotes incidence of *Fusarium* wilt. *Environmental and Experimental Botany*, 2006, 56: 255-262.

- [21] Ding J, Sun Y, Xiao C L, Shi K, Zhou Y H, Yu J Q. Physiological basis of different allelopathic reactions of cucumber and figleaf gourd plants to cinnamic acid. 2007, Journal of Experimental Botany, 58(13) : 3765-3773.
- [22] Langenheim J H. Higher plant terpenoids: A phytocentric overview of their ecological roles. Journal of Chemical Ecology, 1994, 20 (6) : 1223-1280.
- [23] Haig T. 2008. Allelochemicals in Plants//Zeng R S, Mallik A U, Luo S M Eds. Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry. Springer, New York, 63-104.
- [24] Bai X F, Zhang B C. Study of staple composition of *Ajania tenuifolia* oil on inhibition mechanism seedling initial growth of *Elymus nutans*. Acta Ecologica Sinica, 1994, 14(2) :223-224.
- [25] Vokou D, Douvli P, Blionis G J, Halley J M. Effects of monoterpenoids, acting alone or in pairs, on seed germination and subsequent seedling growth. Journal of Chemical Ecology, 2003, 29(10), 2281-2301.
- [26] Muller C H. Inhibitory terpenes volatilized from *Salvia shrubs*. Bull Torrey Bot Club, 1965, 92; 38.

参考文献:

- [2] 阎秀峰, 王洋, 李一蒙. 植物次生代谢及其与环境的关系. 生态学报, 2007, 27(6) : 2554-2562.
- [3] 王冬梅, 李登武, 朱玮, 李娟丽. 卷叶黄精根不同极性化感物质的化感作用. 林业科学, 2007, 43 (10) : 145-149.
- [4] 杨立学. 落叶松水浸液对胡桃楸种子萌发和幼苗生长的影响. 应用生态学报, 2006, 17(6) : 1145-1147.
- [5] 彭少麟, 邵华. 化感作用的研究意义及发展前景. 应用生态学报, 2001, 12(5) : 780-786.
- [7] 刘振国, 李镇清. 不同放牧强度下冷蒿种群小尺度空间格局. 生态学报, 2004, 24(2) : 227-234.
- [8] 杨持, 宝音陶格涛, 李良. 冷蒿种群在不同放牧强度胁迫下构件的变化规律. 生态学报, 2001, 21(3) :405-408.
- [9] 王静, 杨持, 王铁娟. 冷蒿(*Atemisia frigida*)种群在放牧干扰下构件的变化. 生态学报, 2006, 26 (3) : 960-965.
- [10] 汪诗平. 草原植物的放牧抗性. 应用生态学报, 2004, 15(3) :517-522.
- [11] 王玉芝, 张汝民, 高岩. 冷蒿浸提液对几种饲用植物的化感作用. 中国草地学报, 2008, 30(2) : 47-52.
- [12] 李志华, 沈益新. 不同品种紫花苜蓿根水浸提液化感作用效应的研究. 中国草地, 2005, 27(4) : 39-46.
- [24] 白雪芳, 张宝琛. 细叶亚菊挥发油主要化学成分对垂穗披碱草初期生长抑制机理的研究. 生态学报, 1994, 14(2) ;223-224.