

DOI: 10.5846/stxb201802090349

黄素, 马丹炜, 鲁昕, 张红. 六种农作物叶保卫细胞形态特征对不同入侵地土荆芥挥发物胁迫的响应. 生态学报, 2019, 39(5): - .

Huang S, Ma D W, Lu X, Zhang H. Morphological characteristics of leaf guard cells in six crops in response to the volatile stress of *Chenopodium ambrosioides* L. from different invaded habitats. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(5): - .

六种农作物叶保卫细胞形态特征对不同入侵地土荆芥挥发物胁迫的响应

黄 素¹, 马丹炜^{1,*}, 鲁 昕², 张 红¹

1 四川师范大学生命科学学院, 成都 610101

2 四川出入境检验检疫局, 成都 610041

摘要:选择两个环境条件差异明显的土荆芥(*Chenopodium ambrosioides* L.)入侵地(四川成都和贵州安顺)为对象,以其入侵农田中 6 种农作物为受体,分析了两地土荆芥挥发油及其主要成分 α -萜品烯和对伞花素对叶表皮保卫细胞活性和核结构的影响差异。结果表明:两地挥发油成分中,含量最多的成分均为 α -萜品烯和对伞花素,成都植株二者的含量分别为 21.07% 和 25.88%,安顺的分别为 42.11% 和 24.04%;经挥发油、对伞花素、 α -萜品烯、对伞花素+ α -萜品烯处理后,保卫细胞活性下降,细胞核形态发生变化,除个别低剂量组(2 μ L)对保卫细胞无显著毒性外,各处理组毒性效应随处理浓度增加而显著升高($P < 0.05$),当剂量为 10 μ L 时毒性效应最大,保卫细胞的最高死亡率达到 93.85%,最高核畸变率达到 81.16%;6 种农作物保卫细胞对土荆芥挥发物的敏感程度由大到小依次为荞麦(*Fagopyrum esculentum* Moench.)、豌豆(*Pisum sativum* Linn.)、蚕豆(*Vicia faba* L.)、韭(*Allium tuberosum* Rottl. ex Spreng.)、花生(*Arachis hypogaea* Linn.)、白菜(*Brassica campestris* L.);细胞毒性表现为安顺挥发油大于成都挥发油、 α -萜品烯大于对伞花素,对伞花素+ α -萜品烯混合物的细胞毒性与 α -萜品烯所占比例呈正相关。上述结果表明,土荆芥挥发物破坏了保卫细胞结构。入侵地环境较差时,土荆芥增加释放细胞毒性较大的化感物质。

关键词:土荆芥;环境差异;化感胁迫;保卫细胞;细胞毒性

Morphological characteristics of leaf guard cells in six crops in response to the volatile stress of *Chenopodium ambrosioides* L. from different invaded habitats

HUANG Su¹, MA Danwei^{1,*}, LU Xin², ZHANG Hong¹

1 College of Life Sciences, Sichuan Normal University, Chengdu 610101, China

2 Sichuan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Chengdu 610041, China

Abstract: Chengdu City (Sichuan province) and Anshun City (Guizhou province) are the regions that an invasive plant, *Chenopodium ambrosioides* L., invades very seriously in China. Chengdu City is located in the Sichuan Basin with a pleasant climate and superior hydrothermal conditions, but Anshun City is located in the Yunnan-Guizhou Plateau with karst land feature, thin soil, high altitude, and frequent drought. To explore the differences in the allelopathy of *C. ambrosioides* in different habitats, the *C. ambrosioides* plants grown in Chengdu and Anshun cities were selected as research objects because of their obvious differences in environmental characteristics. The volatile oils of the *C. ambrosioides* plants from Chengdu and Anshun were extracted by steam distillation, and their yields were 3.173 and 4.820 g/kg, respectively. The analysis results of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis showed that the *C. ambrosioides* volatile oils from Chengdu and Anshun contained 16 and 25 compounds, respectively, and α -terpinene and cymene were their common components.

基金项目:四川省应用基础研究重点项目(2017JY0017),国家自然科学基金项目(31370549);四川省教育厅一般项目(16ZB0058);四川省高校重点实验室开放项目(SCYZ201410)

收稿日期:2018-02-09; **网络出版日期:**2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: danwei10ma@163.com

The concentrations of α -terpinene and cymene were determined based on their contents in the volatile oils from both cities. In this study, we used six receptor plant species, including *Vicia faba* L., *Arachis hypogaea* L., *Allium tuberosum* Rottl. ex Spreng., *Fagopyrum esculentum* Moench, *Pisum sativum* L., and *Brassica campestris* L., which are widely grown in the farmlands invaded by *C. ambrosioides*. These receptor plants were separately treated with eight treatments, including the treatments with the *C. ambrosioides* volatile oils from both cities and with α -terpinene, cymene, and α -terpinene+cymene extracted from the volatile oils from both cities. The activities and nuclear structures of leaf stoma guard cells were examined by using the epidermal strip method. The results showed that these cells had nuclear aberrations, including nuclear deformities, nuclear pyknosis, and nuclear translocations. Moreover, the stoma guard cell activities were significantly decreased ($P<0.05$) or even completely absent under the eight treatments, and these effects became more significant with an increase in treatment concentrations, and the maximum mortality and nuclear aberration rate of stoma guard cells were 93.85 and 81.16%, respectively. Among the six crop plants tested, *F. esculentum* had the strongest allelopathic effect, followed by *P. sativum*, *V. faba*, *A. tuberosum*, *A. hypogaea*, and finally *B. campestris*, according to their sensitivity to *C. ambrosioides* volatile oil, α -terpinene, and cymene. In this study, the cytotoxicity of the volatile oil of *C. ambrosioides* from Anshun was greater than that from Chengdu, and the cytotoxicity of α -terpinene was greater than that of cymene. The higher the proportion of α -terpinene in the α -terpinene+cymene solutions, the stronger the cytotoxicity they exerted. These results suggested that the allelochemicals of *C. ambrosioides* damaged the stoma guard cell structures of receptor plants, and when *C. ambrosioides* invades the habitats with relatively poor environmental conditions, it releases increased amounts of allelopathic chemicals in its surroundings for its competitive advantages.

Key Words: *Chenopodium ambrosioides* L.; different invaded habitats; allelopathy; guard cells; cytotoxicity

化感作用是外来植物成功入侵的“新式武器”^[1]。气温、降水、坡向、海拔、经纬度等生态因子对植物的生理生化特征具有直接或间接的影响^[2]。生境的差异会影响植物次生代谢物质的组成和含量,因此,扩散到不同地区的外来入侵植物其化感作用强度有很大差别^[3]。土荆芥(*Chenopodium ambrosioides* L.)为藜科藜属一年生或多年生的芳香性草本植物,原产热带美洲,目前已扩展我国绝大多数地区。其生命力和传播能力极强,对环境有很大的可塑性,能在短期内适应环境并占据生态位^[4]。土荆芥向周围环境释放的化感物质具有细胞毒性,导致受体植物的细胞活性氧水平升高^[5],细胞结构被破坏,细胞出现氧化损伤和遗传损伤,细胞活性降低甚至凋亡^[6-8],最终抑制受体植物的生长^[9]。以往对土荆芥化感作用的研究大多集中于单一特定区域^[5-9],而对不同入侵地土荆芥种群之间化感效应的差异关注较少。孔垂华等^[10]认为,研究不同环境下植物的化感作用对全面评价其化学生态学行为具有重要意义,只有深入了解不同入侵地土荆芥的化感作用差异,才能更全面的揭示其化感作用机制。成都和安顺分别位于四川盆地和云贵高原,两地的气候、海拔、地貌等环境特征差异明显。本研究室野外考察发现,成都和安顺均为受土荆芥危害较为严重的区域。气孔保卫细胞是植物响应外界刺激的第一门户,对各种胁迫反应灵敏,是研究环境胁迫的经典模型系统^[11],周健等^[6]研究表明,受体保卫细胞对土荆芥化感胁迫反应十分灵敏,保卫细胞功能障碍将直接影响植物的光合作用过程,抑制植物生长发育。本研究应用 GC-MS 法分别测定了成都和安顺的两个土荆芥种群的挥发油成分及其含量。在此基础上,进一步研究了 6 种农作物叶表皮保卫细胞对土荆芥挥发物的响应,并比较分析了两个种群化感胁迫效应的差异,旨在为深入探讨土荆芥的化感作用机制和入侵机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供体材料土荆芥植株地上部分分别采自四川成都包江桥附近和贵州安顺普定火车站附近,两个种群均处于生殖期,长势良好;受体植物蚕豆(*Vicia faba* L.)、花生(*Arachis hypogaea* Linn.)、荞麦(*Fagopyrum esculentum*

Moench.)、豌豆 (*Pisum sativum* Linn.) 和白菜 (*Brassica campestris* L.) 种子购于成都市五块石种子市场, 韭 (*Allium tuberosum* Rottl. ex Spreng.) 根购自成都市龙泉驿区大面镇农家; α -萜品烯及对伞花素标准品购自成都市锐可思生化试剂公司; 试验用营养土购自恒奥达肥料科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 挥发油制备和成分测定

将土荆芥植株地上部分阴干后水蒸气蒸馏法提取挥发油^[12], 每 1.5 kg 蒸馏 3 h, 无水 Na_2SO_4 干燥置于 4℃ 备用; 采用 Aglient 7890A/5975c 气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 法分别测定两个土荆芥种群挥发油的成分和含量。在此基础上, 对主要成分 α -萜品烯和对伞花素进行单标确证。

1.2.2 材料培养及处理

材料培养: 选取大小均一、健康的种子, 0.5% KMnO_4 消毒 (蚕豆 15 min, 豌豆、荞麦、白菜、花生 10 min), 25℃ 暗处蒸馏水浸种 24 h, 催芽 2—3 d; 挑选萌发一致的露白种子营养土种植 (花盆直径 14 cm, 高 12 cm), 25℃ 光暗周期 14 h/10 h 培养, 4 周左右随机取第二层平展叶片备用; 韭根处理方式参照 Catola 等^[13] 方法, 栽种培养 40 d 后剪掉叶子, 重新长出的叶用于试验, 培养条件和其他作物一致。

共设置 8 个处理组, 即 2 个土荆芥挥发油处理组 (V1, V2), 2 个 α -萜品烯处理组 (T1, T2), 2 个对伞花素处理组 (C1, C2), 2 个 α -萜品烯+对伞花素混合物处理组 (M1, M2)。V1 为成都种群挥发油处理组, 根据成都土荆芥种群挥发油中 α -萜品烯、对伞花素的含量设定 T1、C1、M1 的处理浓度; V2 为安顺种群挥发油处理组, 根据安顺土荆芥种群挥发油中 α -萜品烯、对伞花素的含量设定 T2、C2、M2 的处理浓度。二甲基亚砜 (DMSO) 作助溶剂, 配制各处理组母液, 其浓度见表 1; 分别撕取 6 种农作物叶下表皮, 切成 1 cm×0.5 cm 的表皮条, 放入装有 5 mL MES 缓冲液 (0.1 mmol/L CaCl_2 , 50 mmol/L KCl , 0.1 mol/L Tris, 10 mmol⁻¹ MES, pH 7.0) 的 EP 管中, 设置 5 个处理梯度, 分别取 2、4、6、8 μL 和 10 μL 处理母液, 用 DMSO 补足体积 10 μL 后加入缓冲液, 混匀, 溶剂对照组 (CK) 加入 10 μL DMSO。阴性对照组 (0) 不加处理液。重复 3 次, 25℃ 光照培养 30 min。

表 1 土荆芥挥发油、 α -萜品烯和对伞花素处理母液浓度一览表

Table 1 Mother liquor concentrations of volatile oil from *Chenopodium ambrosioides* L., α -terpinene and cymene

处理组 Treatment group	处理 Treatment	浓度 Concentration / ($\mu\text{L}/\mu\text{L}$)	处理组 Treatment group	处理 Treatment	浓度 Concentration / ($\mu\text{L}/\mu\text{L}$)
V1	成都种群挥发油	0.10	T1	α -萜品烯	0.0211
V2	安顺种群挥发油	0.10	T2	α -萜品烯	0.0421
M1	α -萜品烯+对伞花素	0.0211+0.0259	C1	对伞花素	0.0259
M2	α -萜品烯+对伞花素	0.0421+0.0240	C2	对伞花素	0.0240

V1: 成都种群挥发油处理, The treatment by volatile oil of *Chenopodium ambrosioides* from Chengdu; V2: 安顺种群挥发油处理, The treatment by volatile oil of *C. ambrosioides* from Anshun; T: α -萜品烯处理, α -terpinene-treated; C: 对伞花素处理, cymene-treated; M: α -萜品烯+对伞花素处理, The combined treatment of α -terpinene and cymene; “1”和“2”的处理剂量分别根据成都种群和安顺种群的挥发油中相应成分的含量确定, The treatment doses of “1” and “2” were determined according to the content of corresponding components in volatile oil of *C. ambrosioides* from Chengdu and Anshun, respectively

1.2.3 细胞活性检测

参照马丹炜等^[14] 方法。胁迫后, MES 缓冲液清洗表皮条 3 次, AO/EB 避光染色 3 min, LEICA DM 3000 荧光显微镜观察并拍照。亮绿色荧光的为活细胞, 橘红色荧光的为死细胞。每个处理计数 1000 个保卫细胞, 重复 3 次。计算细胞死亡率。

1.2.4 细胞核形态检测

采用 Feulgen 染色法^[14]。胁迫后 MES 缓冲液清洗表皮条 3 次, 卡诺固定液 (无水乙醇: 冰醋酸 = 3:1) 4℃ 固定 2 h, 1 mol/L 盐酸 60℃ 解离 8 min, 清洗 3 次, Schiff 试剂避光染色 1 h。LEICA DFC450C 光学显微镜观察

并拍照。每个处理计数 1000 个保卫细胞,重复 3 次。计算细胞核畸变率。

1.3 数据统计与分析

根据 Williamson^[15] 提出的化感作用敏感指数 *RI* 用于衡量化感作用强度。

$$RI = 1 - \frac{C}{T}, (T \geq C)$$
$$RI = \frac{C}{T} - 1, (T < C)$$

式中,C 为对照值,T 为处理值,当 *RI*>0 时表示促进效应,当 *RI*<0 时为抑制效应,其绝对值代表化感作用强度大小;化感作用综合效应(SE)为 *RI* 的算术平均值^[16]。

使用 SPSS 17.00 软件进行单因素方差分析,LSD 法进行多重比较和显著性分析。

2 结果与分析

2.1 两个入侵地土荆芥种群挥发油的化学组成

成都和安顺两个入侵地的土荆芥植株地上部分挥发油产率分别为 3.173 g/kg 和 4.820 g/kg。表 2 可见,两个种群的挥发油成分中,含量最高的两个成分均为对伞花素和 α-萜品烯。成都种群的挥发油中共检出 16 种化合物,包括萜类及其氧化物 10 种、醇类 2 种、酚类 1 种、酮类 1 种、酯类 2 种;安顺种群的挥发油中,共检出 25 种化合物,包括萜类及其氧化物 14 种、醇类 5 种、酚类 1 种、酮类 2 种、酯类 3 种。两地土荆芥挥发油成分的相对含量差异较大,如 α-萜品烯在成都挥发油中相对含量为 21.07%,安顺则高达 42.11%;成都挥发油的 2-萜烯相对含量为 13.05%,安顺仅为 3.95%。不同入侵地的土荆芥挥发油成分具有一定的差异,如成都种群

表 2 成都和安顺两地土荆芥挥发油的化学成分

Table 2 Chemical Constituents of <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. volatile oil from Chengdu and Anshun							
化合物种类 Compound species	化合物名称 Compound name	相对含量 Relative content/%		化合物种类 Compound species	化合物名称 Compound name	相对含量 Relative content/%	
		四川成都	贵州安顺			四川成都	贵州安顺
萜类及其氧化物 Terpenoids and their oxides	对伞花素	25.88	24.04	醇类 Alcohol	对甲基苯异丙醇	0.12	0.08
	α-萜品烯	21.07	42.11		反式-薄荷基-2, 8-二烯-1-醇	0.08	0.33
	2-萜烯	13.05	3.95		反式-对-薄荷-1(7), 8-二亚乙基三胺-2-醇	—	0.16
	D-柠檬烯	0.74	4.52		顺式-对-薄荷-1(7), 8-二亚乙基三胺-2-醇	—	0.09
	γ-萜品烯	0.37	0.78	酮类 Ketone	α-松油醇	—	0.08
	驱蛔素	0.31	0.19		3-甲基-6-(1-甲基乙基)-7-氧杂二环[4.1.0]庚烷-2-酮	0.84	0.46
	1-甲基-4-(1-甲基乙烯基)苯	0.16	0.1		植酮	—	0.09
	β-水芹烯	0.16	0.1		百里香酚	0.22	0.21
	β-蒎烯	0.05	—	酯类 Esters	庚基(E)-2-甲基丁基-2-烯酸酯	0.08	0.1
	3-萜烯	0.05	0.08		辛基(E)-2-甲基丁基-2-烯酸酯	0.06	0.15
	α-异松油烯	—	0.1		惕各酸香茅酯	—	0.16
	(+)-4-萜烯	—	0.08				
	2-正戊基呋喃	—	0.17				
	β-月桂烯	—	0.07				
	左旋-α-蒎烯	—	0.05				

中所含的 β -蒎烯在安顺种群中未检出,安顺种群所含 α -异松油烯、 β -月桂烯、 α -松油醇和植酮等在成都种群中没有检测到。

2.2 不同处理对 6 种农作物叶保卫细胞活性的影响

观察发现,对照组(CK 和梯度 0)中 6 种农作物叶保卫细胞的细胞核大多呈亮绿色荧光,表现出较高的细胞活性;表 3 显示,溶剂对照组(CK)和阴性对照组(梯度 0)中,6 种农作物保卫细胞活性无显著差异,表明助溶剂 DMSO 对叶保卫细胞活性影响不大。

表 3 土荆芥挥发油、 α -蒎烯、对伞花素作用下 6 种农作物保卫细胞的死亡率(%)

Table 3 The death rate (%) of the guard cells exposed to volatile oil of *Chenopodium ambrosioides* L., α -terpinene and cymene

受体植物 Receptor plant	处理组 Treatment group	处理梯度 Treatment gradient ($\mu\text{L}/5\text{mL}$)						
		CK(DMSO)	0	2	4	6	8	10
蚕豆 <i>Vicia faba</i> L.	V1	14.29 $\pm$ 0.05a	13.95 $\pm$ 0.50a	26.17 $\pm$ 0.18b	33.19 $\pm$ 0.20c	47.04 $\pm$ 0.59d	62.24 $\pm$ 0.52e	73.12 $\pm$ 1.04f
	V2	14.29 $\pm$ 0.05a	13.95 $\pm$ 0.50a	28.64 $\pm$ 0.52b	35.03 $\pm$ 0.39c	51.49 $\pm$ 0.20d	63.79 $\pm$ 0.37e	77.26 $\pm$ 0.28f
	T1	14.29 $\pm$ 0.05a	13.95 $\pm$ 0.50a	21.01 $\pm$ 0.44b	23.50 $\pm$ 0.04c	38.30 $\pm$ 0.09d	52.25 $\pm$ 0.16e	63.21 $\pm$ 0.04f
	T2	14.29 $\pm$ 0.05a	13.95 $\pm$ 0.50a	25.49 $\pm$ 0.20b	32.46 $\pm$ 0.14c	48.29 $\pm$ 0.21d	61.05 $\pm$ 0.02e	67.43 $\pm$ 0.09f
	C1	14.29 $\pm$ 0.05a	13.95 $\pm$ 0.50a	18.40 $\pm$ 0.06b	21.88 $\pm$ 0.05c	32.65 $\pm$ 0.11d	48.57 $\pm$ 0.14e	60.67 $\pm$ 0.16f
	C2	14.29 $\pm$ 0.05a	13.95 $\pm$ 0.50a	17.51 $\pm$ 0.17b	21.22 $\pm$ 0.11c	28.75 $\pm$ 0.10d	47.67 $\pm$ 0.24e	57.87 $\pm$ 0.09f
	M1	14.29 $\pm$ 0.05a	13.95 $\pm$ 0.50a	25.53 $\pm$ 0.15b	32.25 $\pm$ 0.54c	45.72 $\pm$ 0.37d	61.66 $\pm$ 0.82e	71.50 $\pm$ 0.36f
	M2	14.29 $\pm$ 0.05a	13.95 $\pm$ 0.50a	28.59 $\pm$ 0.82b	32.61 $\pm$ 1.30c	49.83 $\pm$ 1.15d	62.54 $\pm$ 0.20e	74.29 $\pm$ 0.68f
花生 <i>Arachis hypogaea</i> Linn.	V1	14.64 $\pm$ 0.15a	14.38 $\pm$ 0.04a	23.11 $\pm$ 0.39b	36.47 $\pm$ 0.60c	52.48 $\pm$ 0.56d	62.54 $\pm$ 0.15e	79.55 $\pm$ 0.21f
	V2	14.64 $\pm$ 0.15a	14.38 $\pm$ 0.04a	26.92 $\pm$ 0.48b	40.10 $\pm$ 0.48c	53.92 $\pm$ 0.70d	63.04 $\pm$ 0.33e	84.59 $\pm$ 0.24f
	T1	14.64 $\pm$ 0.15a	14.38 $\pm$ 0.04a	18.60 $\pm$ 0.17b	25.39 $\pm$ 0.13c	40.56 $\pm$ 0.16d	50.51 $\pm$ 0.16e	61.28 $\pm$ 0.19f
	T2	14.64 $\pm$ 0.15a	14.38 $\pm$ 0.04a	20.37 $\pm$ 0.17b	30.49 $\pm$ 0.17c	49.54 $\pm$ 0.18d	61.32 $\pm$ 0.23e	69.41 $\pm$ 0.22f
	C1	14.64 $\pm$ 0.15a	14.38 $\pm$ 0.04a	16.55 $\pm$ 0.24b	20.57 $\pm$ 0.13c	30.56 $\pm$ 0.20d	40.79 $\pm$ 0.13e	49.45 $\pm$ 0.19f
	C2	14.64 $\pm$ 0.15a	14.38 $\pm$ 0.04a	15.65 $\pm$ 0.25b	16.33 $\pm$ 0.14b	28.44 $\pm$ 0.18c	35.14 $\pm$ 0.09d	46.40 $\pm$ 0.24e
	M1	14.64 $\pm$ 0.15a	14.38 $\pm$ 0.04a	19.54 $\pm$ 0.03b	32.38 $\pm$ 0.18c	49.80 $\pm$ 0.52d	59.89 $\pm$ 0.19e	69.76 $\pm$ 0.26f
	M2	14.64 $\pm$ 0.15a	14.38 $\pm$ 0.04a	21.14 $\pm$ 0.34b	35.26 $\pm$ 0.28c	51.22 $\pm$ 0.57d	62.49 $\pm$ 0.13e	72.93 $\pm$ 0.72f
韭 <i>Allium tuberosum</i> Rottl. ex Spreng.	V1	14.71 $\pm$ 0.20a	13.82 $\pm$ 0.21a	22.34 $\pm$ 0.56b	39.67 $\pm$ 0.66c	54.24 $\pm$ 0.78d	73.42 $\pm$ 0.55e	80.94 $\pm$ 1.38f
	V2	14.71 $\pm$ 0.20a	13.82 $\pm$ 0.21a	33.47 $\pm$ 0.57b	41.75 $\pm$ 0.62c	61.79 $\pm$ 0.93d	81.53 $\pm$ 0.93e	82.54 $\pm$ 0.63e
	T1	14.71 $\pm$ 0.20a	13.82 $\pm$ 0.21a	16.10 $\pm$ 0.02b	23.61 $\pm$ 0.14c	30.81 $\pm$ 0.00d	45.42 $\pm$ 0.17e	68.53 $\pm$ 0.17f
	T2	14.71 $\pm$ 0.20a	13.82 $\pm$ 0.21a	21.79 $\pm$ 0.09b	35.51 $\pm$ 0.15c	41.33 $\pm$ 0.14d	60.77 $\pm$ 0.09e	72.59 $\pm$ 0.13f
	C1	14.71 $\pm$ 0.20a	13.82 $\pm$ 0.21a	15.90 $\pm$ 0.04b	20.26 $\pm$ 0.11c	26.44 $\pm$ 0.10d	39.84 $\pm$ 0.03e	52.66 $\pm$ 0.05f
	C2	14.71 $\pm$ 0.20a	13.82 $\pm$ 0.21a	15.14 $\pm$ 0.05b	18.69 $\pm$ 0.14c	23.47 $\pm$ 0.12d	35.44 $\pm$ 0.10e	50.52 $\pm$ 0.23f
	M1	14.71 $\pm$ 0.20a	13.82 $\pm$ 0.21a	16.38 $\pm$ 0.21a	25.36 $\pm$ 0.25b	41.19 $\pm$ 0.69c	51.60 $\pm$ 0.71d	76.52 $\pm$ 0.55e
	M2	14.71 $\pm$ 0.20a	13.82 $\pm$ 0.21a	24.64 $\pm$ 0.65b	39.76 $\pm$ 1.45c	43.57 $\pm$ 0.88d	69.60 $\pm$ 2.47e	77.29 $\pm$ 0.15f
白菜 <i>Brassica campestris</i> L.	V1	16.06 $\pm$ 0.37a	16.06 $\pm$ 0.20a	19.41 $\pm$ 0.15b	34.56 $\pm$ 0.28c	43.25 $\pm$ 0.31d	55.98 $\pm$ 0.56e	73.56 $\pm$ 0.12f
	V2	16.06 $\pm$ 0.37a	16.06 $\pm$ 0.20a	33.24 $\pm$ 0.86b	42.40 $\pm$ 0.15c	56.22 $\pm$ 0.69d	67.59 $\pm$ 0.41e	93.85 $\pm$ 0.44f
	T1	16.06 $\pm$ 0.37a	16.06 $\pm$ 0.20a	17.95 $\pm$ 0.02b	28.53 $\pm$ 0.07c	35.77 $\pm$ 0.17d	49.53 $\pm$ 0.14e	55.42 $\pm$ 0.03f
	T2	16.06 $\pm$ 0.37a	16.06 $\pm$ 0.20a	25.47 $\pm$ 0.20b	35.51 $\pm$ 0.10c	50.50 $\pm$ 0.07d	60.52 $\pm$ 0.15e	73.76 $\pm$ 0.09f
	C1	16.06 $\pm$ 0.37a	16.06 $\pm$ 0.20a	17.12 $\pm$ 0.05b	20.71 $\pm$ 0.24c	25.75 $\pm$ 0.03d	40.48 $\pm$ 0.24e	45.43 $\pm$ 0.18f
	C2	16.06 $\pm$ 0.37a	16.06 $\pm$ 0.20a	16.76 $\pm$ 0.04b	19.35 $\pm$ 0.27c	20.32 $\pm$ 0.20d	37.39 $\pm$ 0.19e	43.68 $\pm$ 0.19f
	M1	16.06 $\pm$ 0.37a	16.06 $\pm$ 0.20a	18.07 $\pm$ 0.68b	32.13 $\pm$ 0.66c	40.56 $\pm$ 0.65d	50.69 $\pm$ 0.34e	63.98 $\pm$ 0.07f
	M2	16.06 $\pm$ 0.37a	16.06 $\pm$ 0.20a	27.19 $\pm$ 0.08b	38.61 $\pm$ 0.18c	55.63 $\pm$ 0.32d	64.62 $\pm$ 0.86e	78.13 $\pm$ 0.32f
荞麦 <i>Fagopyrum esculentum</i> Moench	V1	12.18 $\pm$ 0.32a	12.73 $\pm$ 0.04a	39.09 $\pm$ 0.60b	48.68 $\pm$ 0.60c	58.42 $\pm$ 0.34d	80.50 $\pm$ 0.80e	82.54 $\pm$ 0.12f
	V2	12.18 $\pm$ 0.32a	12.73 $\pm$ 0.04a	46.51 $\pm$ 0.72b	54.18 $\pm$ 0.59c	62.20 $\pm$ 0.67d	82.30 $\pm$ 0.36e	85.15 $\pm$ 0.26f
	T1	12.18 $\pm$ 0.32a	12.73 $\pm$ 0.04a	29.29 $\pm$ 0.20b	38.35 $\pm$ 0.49c	46.45 $\pm$ 0.07d	52.49 $\pm$ 0.24e	57.56 $\pm$ 0.34f
	T2	12.18 $\pm$ 0.32a	12.73 $\pm$ 0.04a	42.47 $\pm$ 0.33b	43.42 $\pm$ 0.04b	47.71 $\pm$ 0.33c	65.05 $\pm$ 0.18d	71.44 $\pm$ 0.21e

续表

受体植物 Receptor plant	处理组 Treatment group	处理梯度 Treatment gradient ($\mu\text{L}/5\text{mL}$)						
		CK (DMSO)	0	2	4	6	8	10
豌豆 <i>Pisum sativum</i> Linn.	C1	12.18 $\pm$ 0.32a	12.73 $\pm$ 0.04a	15.53 $\pm$ 0.10b	21.76 $\pm$ 0.12c	30.60 $\pm$ 0.17d	39.65 $\pm$ 0.15e	48.58 $\pm$ 0.17f
	C2	12.18 $\pm$ 0.32a	12.73 $\pm$ 0.04a	14.35 $\pm$ 0.05a	20.47 $\pm$ 0.10b	25.52 $\pm$ 0.12c	37.51 $\pm$ 0.13d	41.49 $\pm$ 0.24e
	M1	12.18 $\pm$ 0.32a	12.73 $\pm$ 0.04a	31.14 $\pm$ 0.34b	41.33 $\pm$ 0.05c	48.67 $\pm$ 0.22d	55.99 $\pm$ 0.22e	60.28 $\pm$ 0.41f
	M2	12.18 $\pm$ 0.32a	12.73 $\pm$ 0.04a	44.32 $\pm$ 0.34b	46.59 $\pm$ 1.11c	50.62 $\pm$ 0.05d	70.03 $\pm$ 0.48e	74.64 $\pm$ 0.31f
	V1	8.53 $\pm$ 0.22a	8.15 $\pm$ 0.18a	24.92 $\pm$ 0.15b	32.60 $\pm$ 0.44c	43.37 $\pm$ 0.54d	75.85 $\pm$ 0.52e	80.12 $\pm$ 0.39f
	V2	8.53 $\pm$ 0.22a	8.15 $\pm$ 0.18a	36.44 $\pm$ 1.18b	45.76 $\pm$ 0.11c	58.21 $\pm$ 0.07d	77.61 $\pm$ 0.16e	89.12 $\pm$ 0.34f
	T1	8.53 $\pm$ 0.22a	8.15 $\pm$ 0.18a	19.77 $\pm$ 0.09b	23.44 $\pm$ 0.21c	32.44 $\pm$ 0.03d	40.47 $\pm$ 0.19e	56.54 $\pm$ 0.07f
	T2	8.53 $\pm$ 0.22a	8.15 $\pm$ 0.18a	30.61 $\pm$ 0.03b	37.37 $\pm$ 0.12c	48.50 $\pm$ 0.17d	65.61 $\pm$ 0.25e	70.28 $\pm$ 0.15f
	C1	8.53 $\pm$ 0.22a	8.15 $\pm$ 0.18a	11.71 $\pm$ 0.15b	22.24 $\pm$ 0.11c	30.51 $\pm$ 0.22d	35.71 $\pm$ 0.02e	50.72 $\pm$ 0.18f
	C2	8.53 $\pm$ 0.22a	8.15 $\pm$ 0.18a	10.83 $\pm$ 0.06b	20.32 $\pm$ 0.21c	29.78 $\pm$ 0.12d	35.72 $\pm$ 0.10e	50.47 $\pm$ 0.11f
	M1	8.53 $\pm$ 0.22a	8.15 $\pm$ 0.18a	21.14 $\pm$ 0.21b	25.61 $\pm$ 0.13c	35.15 $\pm$ 0.39d	45.41 $\pm$ 0.74e	59.00 $\pm$ 1.20f
	M2	8.53 $\pm$ 0.22a	8.15 $\pm$ 0.18a	33.05 $\pm$ 0.29b	41.91 $\pm$ 0.51c	53.20 $\pm$ 0.27d	71.33 $\pm$ 1.08e	78.30 $\pm$ 0.94f

CK (DMSO): 对照组 (二甲亚砜), The control group (Dimethyl Sulphoxide); 同一行不同字母表示相同处理下不同剂量差异显著性 ($P < 0.05$)

经挥发油、 α -萜品烯、对伞花素、 α -萜品烯+对伞花素混合物处理后,细胞核出现橘红色荧光,说明处理液均具有细胞毒性,导致保卫细胞死亡。表 3 可见,除韭 M1 组 2 μL 和荞麦 C2 组 2 μL 处理对保卫细胞死亡率无显著影响外,大多数处理中,保卫细胞死亡率均与对照差异显著,随处理浓度增加而增大 ($P < 0.05$),在处理剂量为 10 μL 时各作物保卫细胞死亡率最高,最高死亡率达到 93.85%。8 个处理组中,蚕豆叶保卫细胞死亡率在 2、8、10 μL 组表现为 $V2 > M2 > V1 > M1 > T2 > T1 > C1 > C2$; 蚕豆 6 μL 组,荞麦 2 μL 组,豌豆 2、4、6 μL 组和白菜整体死亡率表现为 $V2 > M2 > T2 > V1 > M1 > T1 > C1 > C2$; 蚕豆 4 μL 组,花生 2、8 μL 组,韭 6、8 μL 组,荞麦 4、8、10 μL 组和豌豆 8、10 μL 组为 $V2 > V1 > M2 > T2 > M1 > T1 > C1 > C2$; 花生 4、6、10 μL 组,韭 10 μL 组和荞麦 6 μL 组表现为 $V2 > V1 > M2 > M1 > T2 > T1 > C1 > C2$; 韭 2、4 μL 组为 $V2 > M2 > V1 > T2 > M1 > T1 > C1 > C2$ 。由此可见,安顺挥发油毒性效应大于成都挥发油, α -萜品烯毒性大于对伞花素,混合处理中, α -萜品烯所占比例越高,处理液细胞毒性越强,表明 α -萜品烯在土荆芥化感作用中贡献率较大。此外,挥发油的化感效应大于单一成分的,说明除了 α -萜品烯和对伞花素外,挥发油中还有其他化感物质,尚待进一步挖掘。

2.3 不同处理对保卫细胞核形态的影响

从图 1 可见,对照组的保卫细胞核形态规则、均匀完整的分布于保卫细胞内,而处理组的保卫细胞核不同程度地出现了各种畸变现象,如核移位、核固缩、核畸形等,说明不同入侵地的土荆芥挥发油、 α -萜品烯、对伞花素、 α -萜品烯+对伞花素混合物处理诱导保卫细胞出现遗传损伤。

从表 4 可知,溶剂对照组 (CK) 和阴性对照组 (梯度 0) 的保卫细胞核畸变率差异不显著 ($P > 0.05$),表明溶剂对试验结果影响不大;不同处理中,除白菜、豌豆 M1 组 2 μL 处理对保卫细胞核畸变率没有显著影响外,核畸变率整体表现为随着处理液浓度增大显著增加 ($P < 0.05$),处理剂量为 10 μL 的最大核畸变率达到 81.16%。不同处理对不同作物的遗传毒性不尽相同,蚕豆 2、6 μL 组,花生 6、8、10 μL 组和荞麦 4、6、8 μL 组为 $V2 > M2 > T2 > V1 > M1 > T1 > C1 > C2$,蚕豆 10 μL 组,花生 4 μL 组,韭 2、6 μL 组,白菜 2 μL 组和豌豆 2 μL 组为 $V2 > V1 > M2 > T2 > M1 > T1 > C1 > C2$,白菜 6、8、10 μL 组与豌豆 6、8、10 μL 组为 $V2 > M2 > V1 > M1 > T2 > T1 > C1 > C2$,蚕豆 4 μL 组,韭 8、10 μL 组,白菜 4 μL 组和荞麦 2 μL 组为 $V2 > M2 > V1 > T2 > M1 > T1 > C1 > C2$,蚕豆 8 μL 组,花生 2 μL 组,韭 4 μL 组,荞麦 10 μL 组和豌豆 4 μL 组为 $V2 > V1 > M2 > M1 > T2 > T1 > C1 > C2$ 。根据化感综合效应指数发现,8 个处理组的遗传毒性表现为 $V2 > M2 > V1 > T2 > M1 > T1 > C1 > C2$ 。这一结果也说明处理液中 α -萜品烯比例越大,遗传毒性越强。与 2.2 结果类似,挥发油的化感作用也大于单一成分的,说明挥发油中尚有其他化感物质。

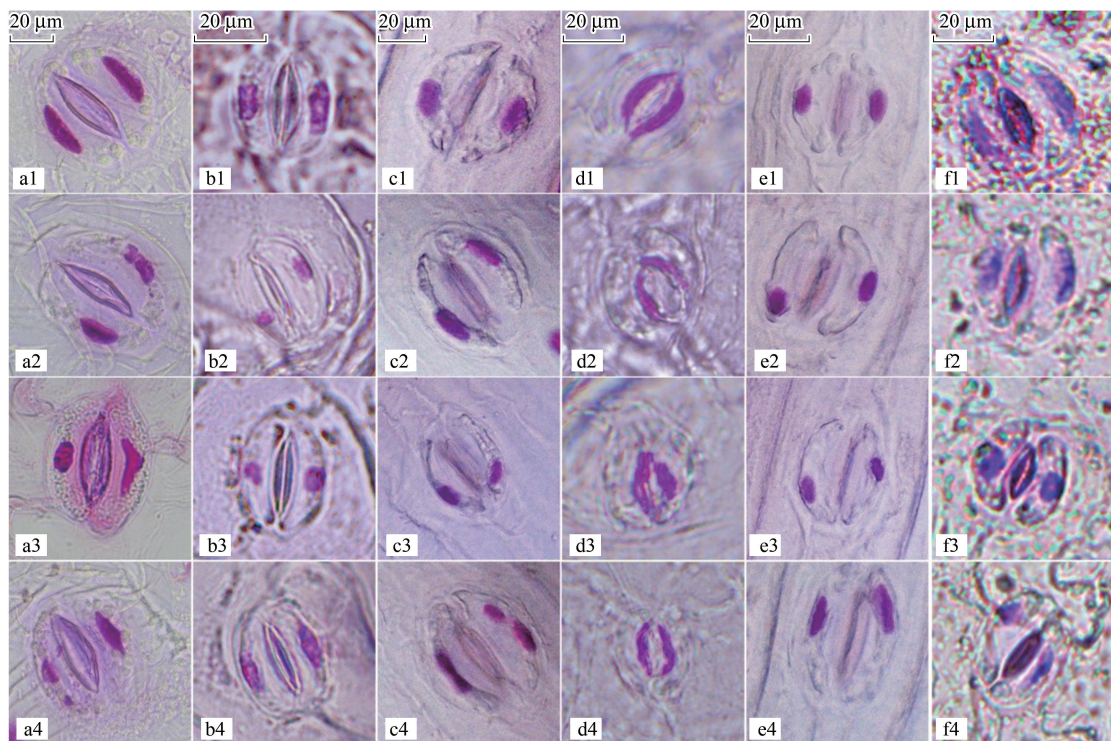


图 1 土荆芥挥发物作用下保卫细胞核形态的变化

Fig.1 Changes in the nucleus morphology of guard cells exposure to volatiles of *Chenopodium ambrosioides* L.

a, b, c, d, e 和 f 分别是蚕豆、花生、韭、白菜、荞麦和豌豆的叶保卫细胞, 1, 2, 3, 4 分别代表正常保卫细胞、核错位、核固缩、核畸形

表 4 土荆芥挥发油、 α -蒎品烯、对伞花素作用下 6 种农作物保卫细胞的核畸变率 (%)Table 4 The nuclear morphology abnormal rate (%) of the guard cells exposed to volatile oil of *Chenopodium ambrosioides* L., α -terpinene and cymene

受体植物 Receptor plant	处理组 Treatment group	处理梯度 Treatment gradient ($\mu\text{L}/5\text{mL}$)						
		CK (DMSO)	0	2	4	6	8	10
蚕豆 <i>Vicia faba</i> L.	V1	12.23 $\pm$ 0.90a	11.41 $\pm$ 0.52a	17.06 $\pm$ 0.49b	26.57 $\pm$ 0.12c	28.37 $\pm$ 0.19d	36.10 $\pm$ 0.31e	41.94 $\pm$ 0.19f
	V2	12.23 $\pm$ 0.90a	11.41 $\pm$ 0.52a	23.68 $\pm$ 0.09b	33.87 $\pm$ 0.90c	36.66 $\pm$ 0.34d	41.69 $\pm$ 0.15e	48.23 $\pm$ 0.16f
	T1	12.23 $\pm$ 0.90a	11.41 $\pm$ 0.52a	15.16 $\pm$ 0.08b	18.30 $\pm$ 0.07c	23.60 $\pm$ 0.24d	29.57 $\pm$ 0.21e	33.54 $\pm$ 0.20f
	T2	12.23 $\pm$ 0.90a	11.41 $\pm$ 0.52a	18.73 $\pm$ 0.04b	25.56 $\pm$ 0.27c	28.68 $\pm$ 0.23d	30.47 $\pm$ 0.19e	38.41 $\pm$ 0.04f
	C1	12.23 $\pm$ 0.90a	11.41 $\pm$ 0.52a	14.49 $\pm$ 0.23b	15.54 $\pm$ 0.10c	18.43 $\pm$ 0.17d	23.42 $\pm$ 0.09e	25.70 $\pm$ 0.07f
	C2	12.23 $\pm$ 0.90a	11.41 $\pm$ 0.52a	13.41 $\pm$ 0.25b	14.76 $\pm$ 0.15c	16.50 $\pm$ 0.11d	20.70 $\pm$ 0.24e	24.48 $\pm$ 0.16f
	M1	12.23 $\pm$ 0.90a	11.41 $\pm$ 0.52a	15.79 $\pm$ 0.31b	20.47 $\pm$ 0.28c	25.05 $\pm$ 0.51d	31.92 $\pm$ 0.02e	37.60 $\pm$ 0.17f
	M2	12.23 $\pm$ 0.90a	11.41 $\pm$ 0.52a	20.36 $\pm$ 0.97b	30.64 $\pm$ 0.37c	30.79 $\pm$ 0.26c	34.95 $\pm$ 0.30d	40.44 $\pm$ 0.11e
花生 <i>Arachis hypogaea</i> Linn.	V1	16.17 $\pm$ 0.53a	15.75 $\pm$ 0.08a	22.02 $\pm$ 0.26b	29.66 $\pm$ 0.16c	34.34 $\pm$ 0.17d	46.44 $\pm$ 0.12e	53.30 $\pm$ 0.29f
	V2	16.17 $\pm$ 0.53a	15.75 $\pm$ 0.08a	24.09 $\pm$ 0.04b	38.87 $\pm$ 0.12c	56.96 $\pm$ 0.08d	64.89 $\pm$ 0.03e	81.16 $\pm$ 0.11f
	T1	16.17 $\pm$ 0.53a	15.75 $\pm$ 0.08a	17.88 $\pm$ 0.04b	20.52 $\pm$ 0.10c	24.88 $\pm$ 0.06d	32.53 $\pm$ 0.10e	40.40 $\pm$ 0.17f
	T2	16.17 $\pm$ 0.53a	15.75 $\pm$ 0.08a	18.67 $\pm$ 0.14b	23.51 $\pm$ 0.24c	40.51 $\pm$ 0.12d	48.32 $\pm$ 0.16e	60.59 $\pm$ 0.13f
	C1	16.17 $\pm$ 0.53a	15.75 $\pm$ 0.08a	17.06 $\pm$ 0.02b	19.69 $\pm$ 0.06c	22.81 $\pm$ 0.01d	25.59 $\pm$ 0.21e	30.52 $\pm$ 0.13f
	C2	16.17 $\pm$ 0.53a	15.75 $\pm$ 0.08a	16.97 $\pm$ 0.01b	17.48 $\pm$ 0.05b	20.82 $\pm$ 0.05c	24.61 $\pm$ 0.02d	27.67 $\pm$ 0.09e
	M1	16.17 $\pm$ 0.53a	15.75 $\pm$ 0.08a	18.83 $\pm$ 0.01b	22.86 $\pm$ 0.02c	28.37 $\pm$ 0.11d	38.57 $\pm$ 0.13e	46.43 $\pm$ 0.17f
	M2	16.17 $\pm$ 0.53a	15.75 $\pm$ 0.08a	19.85 $\pm$ 0.07b	25.38 $\pm$ 0.11c	45.35 $\pm$ 0.10d	53.25 $\pm$ 0.08e	66.42 $\pm$ 0.26f
韭 <i>Allium tuberosum</i> Rottl. ex Spreng.	V1	22.65 $\pm$ 0.37a	21.35 $\pm$ 0.78a	37.78 $\pm$ 0.62b	43.18 $\pm$ 0.43c	48.01 $\pm$ 0.35d	54.01 $\pm$ 1.08e	69.78 $\pm$ 0.17f
	V2	22.65 $\pm$ 0.37a	21.35 $\pm$ 0.78a	40.07 $\pm$ 0.53b	44.50 $\pm$ 0.12c	56.64 $\pm$ 0.35	70.17 $\pm$ 0.94e	73.63 $\pm$ 0.61f
	T1	22.65 $\pm$ 0.37a	21.35 $\pm$ 0.78a	27.61 $\pm$ 0.28b	32.35 $\pm$ 0.15c	35.49 $\pm$ 0.16d	41.22 $\pm$ 0.11e	60.49 $\pm$ 0.11f
	T2	22.65 $\pm$ 0.37a	21.35 $\pm$ 0.78a	30.44 $\pm$ 0.12b	37.39 $\pm$ 0.24c	39.73 $\pm$ 0.20d	50.65 $\pm$ 0.03e	66.59 $\pm$ 0.15f

续表

受体植物 Receptor plant	处理组 Treatment group	处理梯度 Treatment gradient (μL/5mL)						
		CK (DMSO)	0	2	4	6	8	10
白菜 <i>Brassica campestris</i> L.	C1	22.65±0.37a	21.35±0.78a	25.68±0.16b	28.62±0.16c	31.53±0.12d	34.84±0.06e	42.64±0.16f
	C2	22.65±0.37a	21.35±0.78a	24.49±0.24b	27.44±0.17c	30.33±0.16d	33.41±0.21e	40.57±0.18f
	M1	22.65±0.37a	21.35±0.78a	28.48±0.84b	38.56±0.82c	39.16±1.37c	48.78±0.14d	64.85±0.05e
	M2	22.65±0.37a	21.35±0.78a	32.08±1.05b	41.75±0.76c	42.96±0.35c	55.12±0.92d	71.22±0.49e
	V1	18.77±0.09a	18.63±0.12a	22.11±0.30b	35.81±0.68c	40.18±0.09d	47.13±0.05e	51.04±0.36f
	V2	18.77±0.09a	18.63±0.12a	23.40±0.37b	39.84±0.41c	43.91±0.42d	49.82±0.32e	56.87±0.38f
	T1	18.77±0.09a	18.63±0.12a	19.65±0.01b	30.57±0.22c	32.44±0.13d	41.62±0.15e	46.50±0.19f
	T2	18.77±0.09a	18.63±0.12a	19.79±0.01b	35.43±0.12c	39.36±0.19d	45.58±0.22e	47.96±0.74f
	C1	18.77±0.09a	18.63±0.12a	19.52±0.02b	26.38±0.25c	28.53±0.04d	36.66±0.07e	41.34±0.04f
	C2	18.77±0.09a	18.63±0.12a	19.11±0.05b	25.56±0.06c	27.34±0.05d	32.63±0.22e	38.50±0.15f
荞麦 <i>Fagopyrum esculentum</i> Moench	M1	18.77±0.09a	18.63±0.12a	19.75±0.11a	34.03±0.07b	39.83±0.13c	46.87±0.89d	49.35±0.16e
	M2	18.77±0.09a	18.63±0.12a	19.84±0.33a	39.10±0.49b	41.75±0.10c	48.34±1.17d	54.00±1.17e
	V1	20.04±0.13a	19.27±0.26a	34.44±0.51b	40.22±0.55c	47.99±0.24d	55.63±0.23e	72.34±0.18f
	V2	20.04±0.13a	19.27±0.26a	36.94±0.29b	45.41±0.52c	53.49±0.36d	65.26±0.22e	74.57±0.75f
	T1	20.04±0.13a	19.27±0.26a	29.47±0.10b	35.65±0.11c	40.39±0.23d	49.71±0.06e	64.48±0.08f
	T2	20.04±0.13a	19.27±0.26a	33.46±0.16b	40.52±0.13c	48.63±0.14d	56.45±0.07e	68.70±0.16f
	C1	20.04±0.13a	19.27±0.26a	26.50±0.22b	29.54±0.25c	38.36±0.28d	45.39±0.42e	56.63±0.17f
	C2	20.04±0.13a	19.27±0.26a	25.45±0.22b	27.14±0.10c	35.69±0.22d	39.23±0.06e	52.44±0.41f
	M1	20.04±0.13a	19.27±0.26a	32.49±0.41b	38.41±0.78c	43.43±0.20d	51.28±0.06e	69.44±0.37f
	M2	20.04±0.13a	19.27±0.26a	35.20±0.09b	43.78±0.57c	51.16±0.31d	58.90±0.41e	71.52±0.71f
豌豆 <i>Pisum sativum</i> Linn.	V1	18.78±1.20a	17.62±0.05a	23.37±0.41b	31.66±0.35c	47.27±0.09d	57.40±0.24e	75.47±0.20f
	V2	18.78±1.20a	17.62±0.05a	24.53±0.11b	34.20±0.92c	53.76±1.71d	68.84±1.68e	80.83±0.18f
	T1	18.78±1.20a	17.62±0.05a	19.74±0.02b	25.37±0.17c	40.46±0.23d	50.63±0.12e	65.18±0.10f
	T2	18.78±1.20a	17.62±0.05a	22.71±0.10b	27.54±0.27c	43.36±0.12d	55.44±0.12e	71.28±0.01f
	C1	18.78±1.20a	17.62±0.05a	19.35±0.00b	23.56±0.15c	31.67±0.14d	40.75±0.03e	43.18±0.08f
	C2	18.78±1.20a	17.62±0.05a	19.26±0.21b	21.41±0.27c	28.58±0.14d	37.40±0.19e	39.63±0.27f
	M1	18.78±1.20a	17.62±0.05a	20.14±0.92a	29.74±1.04b	46.04±0.46c	56.72±0.50d	74.14±0.99e
	M2	18.78±1.20a	17.62±0.05a	22.86±0.96b	30.90±0.52c	48.44±0.72d	60.18±0.68e	78.16±0.94f

2.4 不同处理对 6 种农作物化感作用强度比较

表 5 显示,不同处理的化感作用强度依次为 V2>M2>V1>T2>M1>T1>C1>C2,表明 α-萜品烯和对伞花素均对保卫细胞有化感作用,α-萜品烯的细胞毒性强于对伞花素,α-萜品烯比例越大,化感作用越强。由此推测,α-萜品烯是土荆芥的主效化感物质。6 种农作物保卫细胞对土荆芥挥发油、α-萜品烯、对伞花素、α-萜品烯+对伞花素混合物的敏感程度由大到小依次为荞麦、豌豆、蚕豆、韭、花生、白菜。

表 5 土荆芥挥发油、α-萜品烯、对伞花素化感效应比较

Table 5 The allelopathy intensity of the volatile oil of *Chenopodium ambrosioides* L., α-terpinene and cymene

处理组 Treatment group	化感作用 敏感指数 Allelopathy sensitivity index (RI)	蚕豆 <i>Vicia faba</i> L.	花生 <i>Arachis hypogaea</i> Linn.	韭 <i>A. tuberosum</i> Rottl. ex Spreng.	白菜 <i>Brassica campestris</i> L.	荞麦 <i>Fagopyrum esculentum</i> Moench.	豌豆 <i>Pisum sativum</i> Linn.	综合效应 Comprehensive effect
V1	细胞活性	0.673	0.660	0.684	0.566	0.777	0.733	0.618
	畸变率	0.582	0.532	0.559	0.472	0.625	0.549	
V2	细胞活性	0.689	0.692	0.739	0.689	0.797	0.852	0.677
	畸变率	0.672	0.646	0.603	0.522	0.628	0.593	
T1	细胞活性	0.58	0.557	0.520	0.496	0.699	0.729	0.525
	畸变率	0.483	0.369	0.419	0.404	0.569	0.472	

续表								
处理组 Treatment group	化感作用 敏感指数 Allelopathy sensitivity index (RI)	蚕豆 <i>Vicia faba</i> L.	花生 <i>Arachis hypogaea</i> Linn.	韭 <i>A. tuberosum</i> Rottl. ex Spreng.	白菜 <i>Brassica campestris</i> L.	荞麦 <i>Fagopyrum esculentum</i> Moench.	豌豆 <i>Pisum sativum</i> Linn.	综合效应 Comprehensive effect
T2	细胞活性	0.660	0.618	0.645	0.623	0.753	0.821	0.607
	畸变率	0.575	0.502	0.490	0.452	0.622	0.523	
C1	细胞活性	0.532	0.464	0.463	0.383	0.519	0.656	0.439
	畸变率	0.385	0.291	0.326	0.345	0.516	0.389	
C2	细胞活性	0.506	0.395	0.419	0.325	0.469	0.635	0.396
	畸变率	0.333	0.241	0.296	0.312	0.476	0.346	
M1	细胞活性	0.659	0.617	0.565	0.531	0.717	0.749	0.570
	畸变率	0.521	0.435	0.477	0.453	0.599	0.520	
M2	细胞活性	0.679	0.641	0.679	0.650	0.767	0.837	0.632
	畸变率	0.617	0.541	0.528	0.481	0.608	0.555	
综合效应 Comprehensive effect		0.575	0.517	0.530	0.482	0.632	0.622	

3 讨论

3.1 不同入侵地土荆芥挥发油组成成分的差异

海拔、光照、水分、营养等生境的差异,往往会引起同一种植物不同种群之间次生代谢物的差异^[17-18],如马达加斯加的土荆芥挥发油主要成分是驱蛔素(41.8%),对伞花素(16.2%)、 α -蒎品烯(9.7%)和柠檬烯(3.8%)^[19],尼日利亚的土荆芥挥发油主要成分是 α -蒎品烯(63.1%)、对伞花素(26.4%)和驱蛔素(3.9%)^[20]。本研究结果表明,两个分布于不同环境条件下的土荆芥种群挥发油含量差异较大,分别为3.173 g/kg(成都)和4.820 g/kg(安顺)。另一方面,两个种群的挥发油化学成分中,分别检出了化合物16种(成都)和25种(安顺),二者均包括萜类及其氧化物、醇类、酚类、酮类和酯类等化合物,其中 α -蒎品烯和对伞花素为两个种群挥发油的主要成分,但含量差异明显,在成都种群和安顺种群中, α -蒎品烯的含量分别为21.07%和42.11%,对伞花素的含量分别为25.88%和24.04%; β -蒎烯、 α -异松油烯、(+)-4-萆烯、 β -月桂烯、植酮和左旋- α -蒎烯等仅存在于安顺种群中。由此可见,生活在不同环境条件下的土荆芥种群,其挥发油的化学组成及其含量均具有较大的差异。

3.2 不同入侵地土荆芥种群化感效应的差异

许多入侵植物释放的化感物质如萜类、生物碱、醌类等均具有明显的细胞毒性,如桉(*Eucalyptus robusta* Smith)的挥发油及其单萜烃类挥发物引起莴苣(*Lactuca sativa* L.)根尖分生组织细胞活细胞数显著降低,细胞核发生核固缩,染色体变异^[21];萘醌扰乱受体细胞的结构、功能和代谢酶活性,诱导细胞发生凋亡^[22];紫茎泽兰(*Eupatorium adenophorum* Spreng.)的两种倍半萜化感物质DTD和HHO导致稻谷(*Oryza sativa* L.)根尖细胞形状和排列不规则,变得干瘪,细胞核裂解,细胞质变少,高尔基体、核糖体和线粒体数量下降等现象^[23];本研究结果表明土荆芥挥发物具有较强的细胞毒性,虽然不同作物保卫细胞对土荆芥挥发物的敏感程度存在一定的差异,但都不同程度地受到损伤,如核固缩、核降解、核错位、细胞活性降低甚至死亡,细胞死亡率和畸变率与浓度呈正相关。比较土荆芥挥发油主要成分的细胞毒性发现, α -蒎品烯的细胞毒性大于对伞花素,这一结果与本研究室前期研究结果一致^[6-8]。此外,本研究发现,土荆芥挥发物中 α -蒎品烯所占比例越高,细胞毒性越强,这在一定程度上说明 α -蒎品烯在土荆芥的化感作用中起着重要作用。

环境条件的差异可能导致不同地区的同种植物次生代谢产物发生变化,从而表现出化感作用差异^[24]。为了提高自身在逆境中的生存能力,植物会以释放更多化感物质的方式抑制周围植物的生长^[25-26],与此相反的是环境条件较为优越时植物产生的次生代谢物质较少^[27]。安顺市大部分地区属于喀斯特地貌,海拔高度

在 1300—1400 m 之间,日照充沛,土壤抵抗侵蚀的能力较差,生态环境比较脆弱^[28],干旱是其主要的气象灾害之一^[29];而成都市海拔较低(供试植株采集地海拔 450 m),属于亚热带季风气候,水热条件充沛^[30],环境条件相对优越。本研究结果显示,安顺种群挥发油的含量大于成都种群,而且从安顺种群的挥发油检出的成分(25 种)比成都种群的成分(16 种)丰富,化感效应较强的 α -蒎品烯含量(42.11%)也远远大于成都植株中的含量(21.07%)。由此推测,扩散到环境条件相对较差的土荆芥种群,为了取得竞争优势,向周围环境释放化感物质的种类和数量都有所增加,且毒性较强的化感物质比例增大。

4 结论

土荆芥挥发物具有较大的细胞毒性,导致保卫细胞活性降低,细胞核出现核移位、核固缩、核畸形等畸变特征。随着处理浓度增加,保卫细胞的死亡率和核畸变率增大;不同农作物保卫细胞对土荆芥挥发物胁迫的敏感程度不同;不同入侵地的土荆芥挥发油成分和含量差异较大,环境条件较差时,土荆芥释放挥发性物质成分较为复杂,细胞毒性较大的成分所占比例增加。

参考文献 (References):

- [1] Callaway R M, Ridenour W M. Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2004, 2(8): 436-443.
- [2] 卢志军, 马克平. 地形因素对外来入侵种紫茎泽兰的影响. *植物生态学报*, 2004, 28(6): 761-767.
- [3] 于兴军, 于丹, 马克平. 不同生境条件下紫茎泽兰化感作用的变化与入侵力关系的研究. *植物生态学报*, 2004, 28(6): 773-780.
- [4] 徐海根, 强胜. 中国外来入侵物种编目. 北京: 中国环境科学出版社, 2004: 91-92.
- [5] Chen B, Zhou J, Gou X, Ma D W, Wang Y N, Hu Z L, He Y Q. Volatiles from *Chenopodium ambrosioides* L. induce the oxidative damage in maize (*Zea mays* L.) radicles. *Allelopathy Journal*, 2016, 38(2): 171-181.
- [6] 周健, 王亚男, 马丹炜, 黄素, 辛文媛, 张红. 土荆芥挥发性化感物质诱导蚕豆保卫细胞死亡及信号调节. *生态学报*, 2017, 37(17): 5713-5721.
- [7] 胡忠良, 王亚男, 马丹炜, 陈斌, 何亚强, 周健. 玉米根边缘细胞 exDNA 和胞外蛋白对土荆芥化感胁迫的缓解效应. *中国农业科学*, 2015, 48(10): 1962-1970.
- [8] Li J, He Y Q, Ma D W, He B, Wang Y N, Chen B. Volatile allelochemicals of *Chenopodium ambrosioides* L. induced mitochondrion-mediated Ca^{2+} -dependent and Caspase-dependent apoptosis signaling pathways in receptor plant cells. *Plant and Soil*, 2018, 425(1/2): 297-308.
- [9] Jiménez-Osornio F M V Z J, Kumamoto J, Wasser C. Allelopathic activity of *Chenopodium ambrosioides* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 1996, 24(3): 195-205.
- [10] 孔垂华, 徐涛, 胡飞, 黄寿山. 环境胁迫下植物的化感作用及其诱导机制. *生态学报*, 2000, 20(5): 849-854.
- [11] Avissar R, Avissar P, Mahrer Y, Bravdo B A. A model to simulate response of plant stomata to environmental conditions. *Agricultural and Forest Meteorology*, 1985, 34(1): 21-29.
- [12] Singh H P, Kaur S, Mittal S, Batish D R, Kohli R K. Essential oil of *Artemisia scoparia* inhibits plant growth by generating reactive oxygen species and causing oxidative damage. *Journal of Chemical Ecology*, 2009, 35(2): 154-162.
- [13] Catola S, Marino G, Emiliani G, Huseynova T, Musayev M, Akparov Z, Maserti B E. Physiological and metabolomic analysis of *Punica granatum* (L.) under drought stress. *Planta*, 2016, 243(2): 441-449.
- [14] 马丹炜, 王万军. 细胞生物学实验教程. 北京: 科学出版社, 2010: 24-26.
- [15] Williamson G B, Richardson D. Bioassays for allelopathy: measuring treatment responses with independent controls. *Journal of Chemical Ecology*, 1988, 14(1): 181-187.
- [16] 张茂新, 凌冰, 孔垂华, 赵辉, 庞雄飞. 薇甘菊挥发油的化感潜力. *应用生态学报*, 2002, 13(10): 1300-1302.
- [17] 曾波, 钟章成. 四川大头茶黄酮类化合物的聚酰胺薄膜层析分析. *植物生态学报*, 1997, 21(1): 90-96.
- [18] 曾任森, 骆世明, 石木标. 营养和环境条件对日本曲霉化感作用的影响. *华南农业大学学报(自然科学版)*, 2003, 24(1): 42-46.
- [19] Cavalli J F, Tomi F, Bernardini A F, Casanova J. Combined analysis of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* by GC, GC-MS and ^{13}C -NMR spectroscopy: quantitative determination of ascaridole, a heat-sensitive compound. *Phytochemical Analysis*, 2004, 15(5): 275-279.
- [20] Owolabi M S, Lajide L, Oladimeji M O, Setzer W N, Palazzo M C, Olowu R A, Ogundajo A. Volatile constituents and antibacterial screening of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. growing in Nigeria. *Natural Product Communications*, 2009, 4(7): 989-992.

- [21] Aragão F B, Palmieri M J, Ferreira A, Costa A V, Queiroz V T, Pinheiro P F, Andrade-Vieira L F. Phytotoxic and cytotoxic effects of *Eucalyptus* essential oil on *Lactuca sativa* L. *Allelopathy Journal*, 2015, 35(2): 259-272.
- [22] Babula P, Adam V, Kizek R, Sladký Z, Havel L. Naphthoquinones as allelochemical triggers of programmed cell death. *Environmental and Experimental Botany*, 2009, 65(2/3): 330-337.
- [23] Yang G Q, Wan F H, Guo J Y, Liu W X. Cellular and ultrastructural changes in the seedling roots of upland rice (*Oryza sativa*) under the stress of two allelochemicals from *Ageratina adenophora*. *Weed Biology and Management*, 2011, 11(3): 152-159.
- [24] 徐郑, 胡庭兴, 李仲彬, 陈洪, 王茜, 胡红玲. 不同生境条件下核桃凋落叶次生代谢物质的差异及其分解初期对小白菜光合生理特性的影响. *生态学报*, 2015, 35(15): 5147-5156.
- [25] Chapin III F S. New cog in the nitrogen cycle. *Nature*, 1995, 377(6546): 199-200.
- [26] Northup R R, Yu Z S, Dahlgren R A, Vogt K A. Polyphenol control of nitrogen release from pine litter. *Nature*, 1995, 377(6546): 227.
- [27] 钟宇, 张健, 杨万勤, 吴福忠, 冯茂松, 陈小红. 不同土壤水分条件下生长的巨桉对紫花苜蓿的化感作用. *草业学报*, 2009, 18(4): 81-86.
- [28] 冯树林, 覃宗泉. 贵州省安顺地区农作物秸秆综合利用现状及对策. *畜牧与饲料科学*, 2016, 37(3): 75-77.
- [29] 叶帮, 邓世有, 方庆文. 安顺市干旱气候特征分析//贵州省气象学会 2010 年学术年会论文集. 贵州省气象学会学术年会, 2010: 60-61.
- [30] 郝丽萍, 方之芳, 李子良, 刘泽全, 何金海. 成都市近 50a 气候年代际变化特征及其热岛效应. *气象科学*, 2007, 27(6): 648-654.