

花椒叶浸提液对紫云英种子的化感作用

王启,何静,张树衡,丁德东,马楠,郝琴,吴怡豪

(甘肃农业大学林学院,甘肃 兰州 730070)

摘要:研究了不同浓度(5,10,20,40 g/L)的花椒叶浸提液对供试植物紫云英的种子萌发、幼苗根长及生理生化的影响,探究花椒化感作用的可能机理,从而为全面了解花椒林草间作种间关系及为农林复合经营和科学栽培提供理论依据。结果表明:1)花椒叶浸提液对紫云英种子萌发和幼苗根长均具有不同程度的抑制作用,且作用强度与浓度呈正相关($P < 0.05$);2)随浸提液浓度升高,紫云英幼苗体内超氧化物歧化酶(SOD)活性均显著降低,过氧化氢酶(CAT)活性和超氧阴离子自由基(O_2^-)含量表现为先降后升,丙二醛(MDA)、脯氨酸(Pro)和可溶性糖含量则显著升高,而苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性则表现为先升后降。综上,花椒叶浸提液主要通过抑制紫云英体内防御酶活性,并产生对其细胞结构和功能伤害而发挥其化感效应。

关键词:花椒叶浸提液;紫云英;化感作用;种子萌发;幼苗生长

中图分类号:S541⁺.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2021)06-0046-06

DOI: 10.13817/j.cnki.cycp.2021.06.007



紫云英(*Astragalus sinicus*)为豆科(Leguminosae)良好的绿肥作物,其与根瘤菌共生固氮效率高,并在植株腐解时可有效提升土壤中的氮素含量,而且可以实现绿肥和牧草兼用,具有较高的经济价值,是建立可持续农林复合生态系统的优良作物之一。花椒(*Zanthoxylum bungeanum*)属芸香科(Rutaceae)植物,为多年生木本油料和香料树种,是一种集调味、药用为一体的经济树种。甘肃省种植生产的蜀椒、秦椒和贡椒等自古至今均有名,主要分布在陇南、陇东地区^[1-2]。目前,间作草本植物以建立多物种组成和多层次结构配置的经济价值高、生态效益好的坡地花椒农林复合生态系统,已成为当下农林经济发展的必然趋势。化感作用对生态系统中植物群落的形成、演替和抗逆性以及作物间选择最适的连、间、套作方式有重

要的影响^[3-4]。近年来,利用化感的促进与抑制作用合理选择间、轮、套作方式解决植物的连作障碍已经成为研究热点之一^[5-6]。

目前,已有报道指出,花椒叶浸提液对4种牧草草地早熟禾、高丹草、苜蓿和白三叶种子的萌发均有一定抑制作用,而对苜蓿和草地早熟禾茎、根生长因浓度不同而表现为“低促高抑”^[7];也有研究表明,大豆生长受到的抑制作用随花椒叶浸提液浓度的升高而增强^[8]。可见,花椒叶浸提液对部分牧草具有一定的化感作用,但对绿肥作物紫云英的化感效应及其机理还鲜有报道。因此,本研究通过不同浓度的花椒叶浸提液处理紫云英种子及幼苗,探明其化感效应,并通过对供试植物体内渗透调节物质及相关防御酶系统的影响研究,揭示花椒化感作用机理,为花椒农林复合经营及科学栽培提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试花椒鲜叶采自甘肃农业大学经济林教研实践基地成年“大红袍”,叶片采集完成后将其置于50℃烘箱内风干保存;供试紫云英种子购自甘肃省农业科学院作物研究所。

收稿日期:2020-11-19; **修回日期:**2021-02-01

基金项目:中央引导地方科技发展专项子课题项目(038036228);甘肃农业大学学生科研训练计划(201908044)

作者简介:王启(1998-),男,甘肃礼县人,农学学士。

E-mail:wangqi12138@qq.com

何静为通信作者。

E-mail:hejing268@aliyun.com

1.2 方法

1.2.1 花椒叶浸提液的制备 将风干后的花椒叶片剪成大小均匀的碎片,分别取 0、10、20、30、40 g 干叶于 1 000 mL 烧杯中,加入 900 mL 蒸馏水,浸泡 24 h 后,加水至 1.0 L,用 3 层纱布过滤即得到 0、10、20、30、40 g/L 的花椒浸提液原液,于 4 ℃ 下保存备用。

1.2.2 种子萌发实验 采用培养皿滤纸法。选择性状优良的紫云英种子,先与细沙混合搅拌摩擦 5 min,再用 HgCl₂ (0.1%) 消毒 30 s,并用清水冲洗 3~5 次,用蒸馏水浸泡 5 min。将消毒种子置于大小适当并铺设滤纸的培养皿中。每个培养皿均匀撒放 50 粒紫云英种子。取等量上述不同浓度的浸提液,分别加入培养皿中,以加入等量的蒸馏水作为对照。然后放入人工气候箱内,设置温度为 26 ℃,光照为 16 h。根据培养皿中滤纸的损伤程度适时更换滤纸并及时补充相应浓度的浸提液。试验共设 5 个处理,每处理重复 3 皿。每天观察并记录胚根突破种皮的种子数,记录结束后统计突破总数即为种子发芽总数,选取 6 株长势一致的紫云英幼苗,用游标卡尺测量幼苗根长。发芽率和发芽势公式计算如下:

发芽率(%)=(胚根突破种皮的种子总数/供试的种子总数)×100%;

发芽势(%)=(胚根突破种皮最多日种子的数量/供试种子总数)×100%;

1.2.3 相关生理生化指标的测定 可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法;脯氨酸含量的测定采用紫外吸收法;可溶性糖采用苯酚法测定;超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用氮蓝四唑(NBT)光还原法;过氧化物酶(POD)活性的测定采用愈创木酚法;丙二醛(MDA)含量的测定采用硫代巴比妥酸法;过氧化氢酶(CAT)活性、超氧阴离子自由基(O₂⁻)含量和苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定均采用紫外吸收法。上述测定方法均参照文献[9]的方法。

1.3 数据统计分析

1.3.1 化感效应指数(RI)的计算与分析 化感效应指数参照以下公式^[10]进行计算:

$$RI = \begin{cases} 1 - \frac{C}{T}, (T > C) \\ \left(\frac{T}{C}\right) - 1, (T \leq C) \end{cases}$$

式中,C 为对照值,T 为处理值;RI>0 代表促进作用,RI<0 代表抑制作用。

化感综合效应(SE)的计算:RI 的绝对值表示化感作用强度,化感综合效应(SE)是指花椒浸提液的化感效应指数的算术平均值^[11],SE 绝对值的大小与化感作用强度一致。

1.3.2 数据处理 所有数据均使用 Excel 2010 进行数据统计整理,用 SPSS 19.0 软件在 P<0.05 水平下进行方差分析和多重比较。

2 结果与分析

2.1 花椒叶浸提液对紫云英种子萌发的影响

不同浓度花椒叶浸提液对紫云英种子萌发均呈抑制作用,表现为随浸提液浓度增加,抑制作用越显著(P<0.05)(图 1),且其化感效应指数(RI)越大,以 40 g/L 时花椒叶浸提液对供试紫云英种子的抑制作用最强(P<0.05)(表 1)。

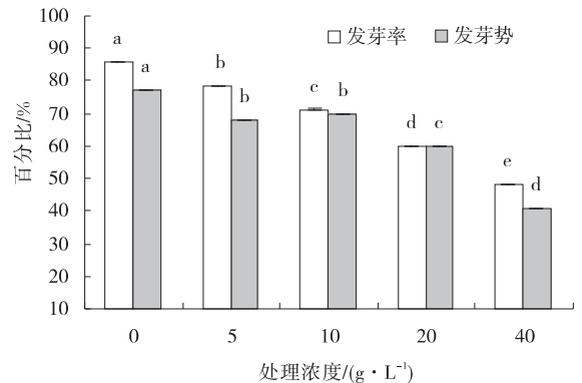


图 1 花椒叶浸提液处理下紫云英种子发芽率及发芽势

Fig. 1 Effects of *Zanthoxylum bungeanum* leaf extracts on seed germination rate and germination potential of *Astragalus sinicus*

注:不同小写字母表示同一指标下不同浸提液浓度间差异显著(P<0.05)。下同

表 1 不同浓度花椒叶浸提液对紫云英种子萌发的化感效应指数(RI)

Table 1 Allelopathic Effect Index(RI) of different concentrations of *Zanthoxylum bungeanum* leaf extracts on seed germination of *Astragalus sinicus*

浸提液浓度/(g · L ⁻¹)	根长化感效应指数	发芽率化感效应指数	发芽势化感效应指数
5	-0.45	-0.08	-0.12
10	-0.63	-0.17	-0.13
20	-1.77	-0.30	-0.22
40	-3.47	-0.44	-0.47

2.2 花椒浸提液对紫云英种子幼苗根长的影响

不同浓度花椒叶浸提液处理对紫云英幼苗根的生长均表现为抑制作用, 相较对照, 处理根长分别减少了31.2%、38.7%、66.3%、77.5%(图2)。其中以处理浓度为40 g/L时化感效应最强, 对幼苗根长抑制效果最为显著($P < 0.05$)(表1)。

2.3 花椒叶浸提液对紫云英幼苗渗透调节物质的影响

随浸提液浓度增加, 紫云英幼苗体内可溶性糖含量表现为先升后降(图3-A), 在浓度为5 g/L时含量最高; 可溶性蛋白和脯氨酸含量均随浸提液浓度的增大呈逐渐升高的趋势(图3-A、图3-B)。整体来看, 随浸提液浓度增加, 紫云英幼苗的渗透调节物质含量也呈增加趋势($P < 0.05$)。

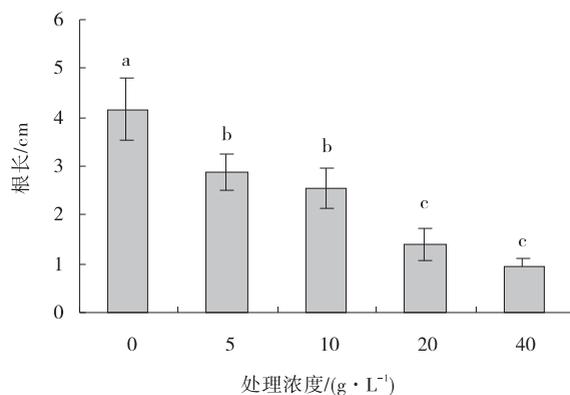


图2 花椒叶浸提液处理下紫云英幼苗根长

Fig. 2 Effects of *Zanthoxylum bungeanum* leaf extracts on root length of *Astragalus sinicus* seedlings

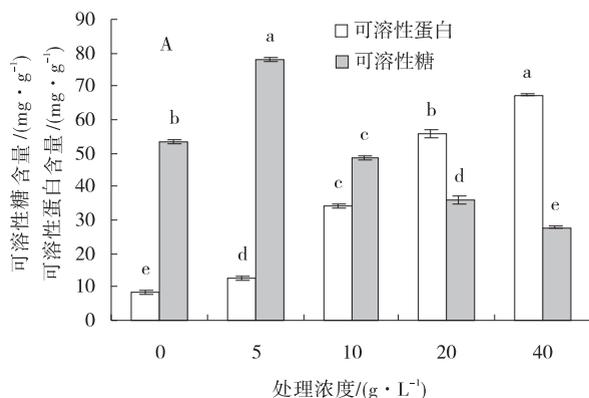
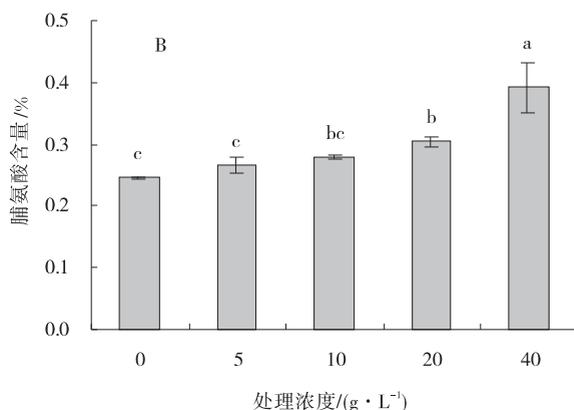


图3 花椒叶浸提液处理下紫云英幼苗渗透调节物质

Fig. 3 Effects of *Zanthoxylum bungeanum* leaf extracts on the content of soluble sugar(A), soluble protein(B) and proline(C) in *Astragalus sinicus* seedlings

2.4 花椒叶浸提液对紫云英幼苗防御系统酶活性的影响

不同浸提液处理下紫云英幼苗体内 SOD、CAT、PAL 活性及 MDA、O₂⁻ 含量均发生明显变化。具体表现为: 随着浸提液浓度的升高, CAT 活性与 O₂⁻ 含量均呈先降后升趋势(图4-A、图4-B), 其中, CAT 活性在浓度为10 g/L时最低, O₂⁻ 含量在浓度为20 g/L时最低。SOD 活性随浸提液浓度的增加呈显著下降趋势(图4-C), MDA 含量则呈显著升高趋势($P < 0.05$)(图4-D), PAL 活性先升高后降低(图4-E), 在浓度为20 g/L时最高。表明高浓度的浸提液使紫云英幼苗体内 MDA、O₂⁻ 含量大量积累, 加剧了膜脂过氧化程度及细胞膜结构的破坏, 从而抑制了相关防御酶的表达, 进一步影响了紫云英幼苗的生长。



3 讨论

在生态系统中, 化感物质主要依靠雨水淋溶产生^[12]。因此, 本研究通过水浸法提取花椒叶片中的化感物质。结果表明, 浸提液浓度越大, 其表现出的化感抑制作用越强, 整体以浓度为40 g/L时抑制作用最为显著。

植物体内的保护酶系统能在植株处于逆境时清除体内活性氧, 协同抵御外界胁迫。韩志军等^[8]研究发现, 花椒叶浸提液对大豆种子 MDA 含量、SOD 活性有显著影响, 陈锡等^[13]的研究表明朝仓花椒叶水浸提取物通过破坏白菜幼苗体内的酶系统而抑制其种子萌发和幼苗生长, 宋亮^[14]的研究显示花椒水浸液能影响苜蓿幼苗体内的保护酶活性。本研究也得到类似结果。本试验中, 随着浸提液浓度的升高, 紫云英幼苗体内

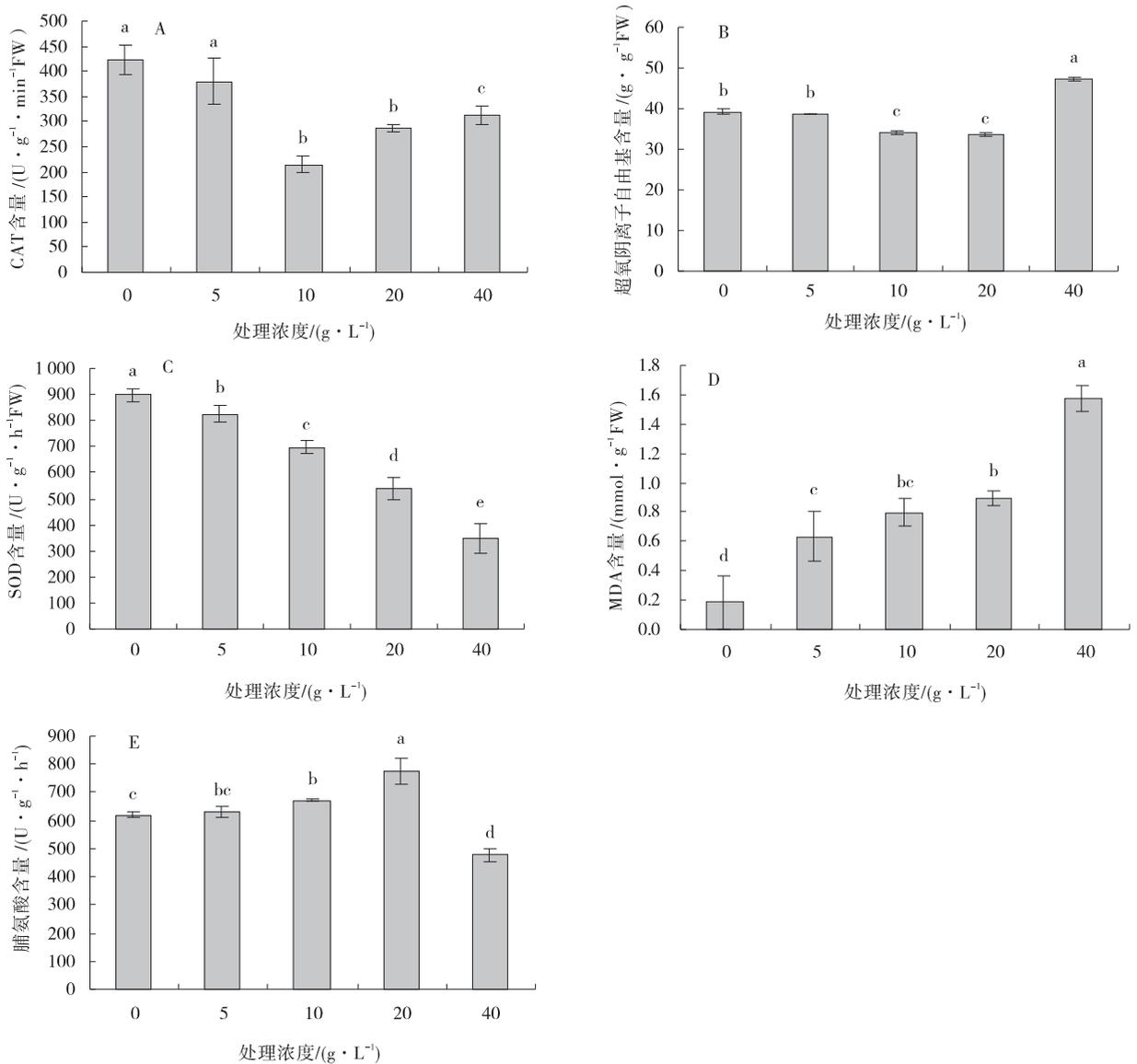


图 4 花椒叶浸提液对紫云英幼苗防御系酶活性的影响

Fig. 4 Effects of *Zanthoxylum bungeanum* leaf extracts on the activity of anti-oxidant enzymes including SOD(A), CAT(C),

PAL(E), and chemicals including MDA(B) and O₂⁻ content(D) in *Astragalus sinicus* seedlings

MDA 含量逐步升高,导致 O₂⁻ 含量增高、SOD 活性降低。Roshchina 等^[15]研究发现,化感物质中的一些多酚类化合物会破坏细胞膜的功能,可能是受体植物的保护酶活性会受到化感物质影响,导致活性氧增高,从而破坏细胞膜结构。可推测花椒化感效应的一种作用方式是破坏受体植株细胞膜结构。赵红等^[16]在大蒜对大豆的化感作用的研究中也发现类似结果。PAL 活性的高低控制着植物体内多种次生酚类化合物、类黄酮植色素等的产生,在植物的次生代谢中具有重要作用,而次生代谢是植物长期演化过程中产生的防御机制^[17-19]。本研究表明,随着浸提液浓度的增大,紫云英幼苗的 PAL 活性先降低后升高,而 CAT 活性先

降低后升高。这可能是由于高浓度的浸提液产生了较强的化感作用,从而破坏了植株次生代谢的防御机制。

渗透调节能力是植物适应不良生长环境,提高自身抗逆性的基石,植物可通过增大或减少自身渗透调节物质含量来适应环境变化^[20]。可溶性糖和可溶性蛋白均为植物体内重要的渗透调节物质,对植物应对环境变化有着不可或缺的作用。Rochaix 等^[21]研究发现植物受盐胁迫时,其生长被抑制,植物对糖的利用率下降,可溶性糖含量增加。同时段瑞军等^[22]研究镉胁迫对海雀稗的影响发现,在受镉胁迫时,其体内可溶性糖含量增加。本试验结果表明,随着化感作用强度的提升,幼苗体内可溶性糖含量先升高后降低,这可能是

由试验材料的不同或处理方法间的差异所致。植物体内的可溶性蛋白大多是参与各种酶的代谢及保护细胞生物膜的合成,遭遇逆境时其含量会发生变化。因此,可通过测定可溶性蛋白含量变化,在一定程度上反映植物抗逆性^[23]。李妮亚等^[24]认为,多种逆境胁迫作用会抑制植物正常蛋白质的合成途径而减少其在植物体内的含量,同时有一些植物会被诱导出新的蛋白质或增加原有蛋白质的含量来增强对逆境的适应力。植物在遭受低温胁迫时,会诱导体内分泌大量的可溶性蛋白^[25-26],在遭受干旱胁迫时,其体内的可溶性蛋白含量变化明显^[27]。杜世章等人发现盐胁迫下脯氨酸的积累是植物抵御外界胁迫的有效方式^[28]。本研究结果表明,随化感强度的提升,紫云英幼苗体内可溶性蛋白、Pro 含量越多,表明紫云英可以通过分泌可溶性蛋白和 Pro 来抵御体内遭受的伤害。

4 结论

本研究显示,花椒叶浸提液对紫云英种子萌发及根长均具有一定抑制作用,且随浓度的增大抑制作用越显著;同时,通过探究其对紫云英幼苗生理生化指标的影响发现,随着浸提液浓度的增加,紫云英幼苗体内防御系统相关酶及渗透调节物质变化明显。由此可知,花椒叶浸提液主要通过抑制紫云英体内的防御酶活性,并对其细胞结构和功能造成伤害而发挥其化感效应。此外,由于花椒树体多个部位均能产生化感物质,而本试验仅研究了叶浸提液对紫云英的化感作用,且并未对花椒叶浸提液做成分分析,因此还有待在今后的研究中进一步探明。

参考文献:

[1] 脱聪聪,丁旭,周瑄,等. 甘肃陇南大红袍花椒芳香油成分分析及其抑菌活性[J]. 食品工业科技,2020,41(5):227-231+238.

[2] 蒋岚. 甘肃地区明清以来花椒的种植及使用研究[D]. 兰州:西北师范大学,2019.

[3] 刘青梅,郭丽珠,刘丽,等. 狼毒种子不同密度对6种草植物种子发芽及幼苗生长的化感影响[J]. 草原与草坪,2019,39(1):1-6.

[4] JOSE S, GILLESPIE A R. Allelopathy in black walnut (*Juglans nigra* L.) alley cropping. I. Spatio-temporal variation in soil juglone in a black walnut/corn(*Zea mays* L.) alley cropping system in the midwestern USA[J]. Plant and Soil,1998,203(2):191-197.

[5] 吴凤芝,王澍,杨阳. 轮套作对黄瓜根际土壤细菌种群的影响[J]. 应用生态学报,2008,19(12):2717-2722.

[6] ZHANG H, MALLIK A, ZENG R S. Control of Panama Disease of Banana by Rotating and Intercropping with Chinese Chive(*Allium tuberosum* Rottler): Role of Plant Volatiles[J]. Journal of Chemical Ecology, 2013, 39(2): 243-252.

[7] 赵莉莉,杨途熙,魏安智,等. 花椒叶浸提液对4种牧草种子的化感作用[J]. 西北林学院学报,2017,32(2):150-154.

[8] 韩志军,陈静,郑寒,等. 花椒叶浸提液对大豆种子萌发和幼苗生长的化感作用[J]. 应用与环境生物学报,2011,17(4):585-588.

[9] 高俊风. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2006:208-236.

[10] WILLIAMSON G B, RICHARDSON D. Bioassays for allelopathy: measuring treatment responses with independent controls[J]. Journal of Chemical Ecology,1988, 14(1):181-187.

[11] NIMSE S B, PAL D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanism[J]. RSC Advances,2015,5(35):27986-28006.

[12] 陈茂光,郭连金,余诺祎,等. 林下枯落物浸提液对香果树种子萌发及幼苗生长影响的化感效应[J]. 陕西林业科技,2019,47(4):1-7.

[13] 陈锡,曾晓芳,赵德刚. 朝仓花椒叶水浸提物对白菜种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 种子,2016,35(2):37-41.

[14] 宋亮. 花椒水浸液及酚酸类化感物质对作物种子萌发和幼苗生长的影响效应[D]. 成都:中国科学院研究生院成都生物研究所,2006.

[15] Roshchina V V, Roshchina V D. The Excretory function of higher plants[M]. New York: Springer-Verlag,1993: 213-215.

[16] 赵红,王婷,余李,等. 大蒜鳞茎浸提液对大豆种子萌发和幼苗生长的化感效应[J]. 大豆科学,2019,38(4):548-553.

[17] 江昌俊,余有本. 苯丙氨酸解氨酶的研究进展[J]. 安徽农业大学学报,2001(4):425-430.

[18] 张淑红,高宝嘉,温秀军. 枣疯病过氧化物酶及苯丙氨酸解氨酶的研究[J]. 植物保护,2004(5):59-62.

[19] 黄小贞,赵德刚. 植物苯丙氨酸解氨酶表达调控机理的研究进展[J]. 贵州农业科学,2017,45(4):16-20.

[20] 刘爱荣,张远兵,钟泽华,等. 盐胁迫对彩叶草生长和渗透调节物质积累的影响[J]. 草业学报,2013,22(2):211-218.

- [21] ROCHAIX J D. Regulation of photosynthetic electron transport[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 2010, 1807(3): 375–383.
- [22] 段瑞军, 吴朝波, 王蕾, 等. 镉胁迫对海雀稗脯氨酸、可溶性糖和叶绿素含量及氮、磷、钾吸收的影响[J]. *江苏农业学报*, 2016, 32(2): 357–361.
- [23] 史玉炜, 王燕凌, 李文兵, 等. 水分胁迫对刚毛怪柳可溶性蛋白、可溶性糖和脯氨酸含量变化的影响[J]. *新疆农业大学学报*, 2007, 30(2): 5–8.
- [24] 李妮亚, 高俊凤, 汪沛洪. 小麦幼芽水分胁迫诱导蛋白的特征[J]. *植物生理学报*, 1998, 24(1): 65–71.
- [25] 朱政, 蒋家月, 江昌俊, 等. 低温胁迫对茶树叶片 SOD、可溶性蛋白和可溶性糖含量的影响[J]. *安徽农业大学学报*, 2011, 38(1): 24–26.
- [26] 陈菲. 低温胁迫对矮斗菜脯氨酸和可溶性蛋白含量的影响[J]. *北方园艺*, 2011(5): 29–31.
- [27] 付晨熙, 肖自华, 高飞, 等. 植物应答非生物胁迫的蛋白质组学研究进展[J]. *基因组学与应用生物学*, 2016, 35(12): 3569–3582.
- [28] 杜世章, 代其林, 奉斌, 等. 不同浓度 NaCl 胁迫处理下豇豆幼苗抗氧化酶活性的变化[J]. *基因组学与应用生物学*, 2011, 30(3): 351–356.

Allelopathy of aqueous extract from *Zanthoxylum bungeanum* leaves on *Aspergillus sinicus* seedlings

WANG Qi, HE Jing, ZHANG Shu-heng, DING De-dong, MA Nan,
Hao Qin, WU Yi-hao

(Forestry College, Gansu agricultural university, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Allelopathy is one of the important factors that affect the relationship between forest and grass intercropping species. To explore the possible mechanism of *Zanthoxylum bungeanum* allelopathic effect, so as to fully understand the interspecies relationship of *Zanthoxylum bungeanum* forest and grass intercropping, and provide a theoretical basis for agroforestry management and scientific cultivation. The effects of different concentrations (5 g/L, 10 g/L, 20 g/L, 40 g/L) of the extract from *Zanthoxylum bungeanum* leaves on seed germination, seedling root length and physiology and biochemistry of the tested plant *Astragalus sinicus* were studied. The results showed that: 1) The extract from *Zanthoxylum bungeanum* leaves had varying degrees of inhibition on the seed germination and seedling root length of *Astragalus sinicus*, and the strength of the action was generally positively correlated with the concentration ($P < 0.05$); 2) With the concentration of the extract increased the concentration of the extract superoxide dismutase (SOD) activity in *Astragalus sinicus*, seedlings was significantly reduced, and catalase (catalase, CAT) and superoxide anion free radical (O_2^-) activities both decreased first and then increased, malondialdehyde (MDA), proline (proline, Pro) and soluble sugar content increased significantly, while the activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) increased first and then decreased. According to the above, The extract from *Zanthoxylum bungeanum* leaves exerts its allelopathic effect mainly by inhibiting the activity of defensive enzymes in *Astragalus sinicus* and causing damage to its cell structure and function.

Key words: the aqueous extract from *Zanthoxylum bungeanum* leaves; *Astragalus sinicus*; allelopathy; seed germination; seedling growth