

花椒叶浸提液对大豆种子萌发和幼苗生长的化感作用*

韩志军^{1,2} 陈静^{1**} 郑寒¹ 马建华¹ 吴瑜¹ 冯鹏真² 周建平²

(¹中国科学院成都生物研究所生态恢复重点实验室 成都 610041)

(²电子科技大学生命科学与技术学院 成都 610054)

摘要 研究了不同浓度的花椒叶浸提液(5、10、20、40、80 g L⁻¹)对3个大豆品种种子萌发、幼苗生长的化感作用。结果表明:花椒对大豆化感效应的总体趋势为浸提液浓度越高,对大豆生长的抑制作用越强;高于40 g L⁻¹的浓度处理,主要形态和生化指标都表明大豆生长受到显著抑制或破坏;在小于20 g L⁻¹的浓度范围内,化感作用能够提高低活力种子的萌发率,但降低了种子发芽指数和发芽速度,且化感作用受受体品种差异和自身种子活力的影响而表现不一致;随着化感物质浓度增高,SOD酶活显著降低,丙二醛(MDA)含量持续增高。大豆幼苗各器官或组织受花椒化感作用的影响大小依次为根生物量>地上部生物量>株高>根长。图2 表3 参12

关键词 花椒;化感作用;种子萌发;幼苗生长;大豆

CLC S31: S344

Allelopathic Effect of *Zanthoxylum bungeanum* Extracts on Seed Germination and Seedling Growth of Soybean*

HAN Zhijun^{1,2}, CHEN Jing^{1**}, ZHENG Han¹, MA Jianhua¹, WU Yu¹, FENG Pengzhen² & ZHOU Jianping²

(¹ECORES Lab, Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China)

(²School of Life Science and Technology, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610054, China)

Abstract The allelopathic effects of different concentrations of aqueous extract of *Zanthoxylum bungeanum* leaves on seed germination and early seedling growth of three soybean varieties were investigated. The results showed that the inhibition of plant growth enhanced as the extract concentration increased. Both the data of morphological and biochemical parameters suggested that the extract at concentration ≥ 40 g L⁻¹ strongly inhibited seed germination and seedling growth of soybean. However, the extract at concentration ≤ 20 g L⁻¹ promoted the germination rate of seed with lower vigor, whereas the seed germination index decreased and seed germination time was prolonged. Different change patterns of seed germination were observed among the three varieties, indicating that allelopathic action was affected by either seed vigor or genotype. With the concentration of aqueous extract increasing, the MDA content increased constantly, while SOD activity was significantly inhibited. The sensitivity of seedling to the allelopathic effects of *Z. bungeanum* was in the order of underground biomass > aboveground biomass > plant height > root length. Fig 2, Tab 3, Ref 12

Keywords *Zanthoxylum bungeanum*; allelopathy; seed germination; seedling growth; soybean

CLC S31: S344

化感作用(Allelopathy)是指植物或微生物通过向周围环境释放自身产生的化学物质,对其他生物产生的直接或间接的刺激或抑制作用^[1-2]。大量研究表明,植物产生的化感作用能够影响其他物种或植物自身的生长、繁殖和产量,但不同植物的化感作用规律表现不一致,如化感作用的对象具有选择性,化感物质的种类和浓度均能显著影响化感效应等^[3]。植物化感作用的理论研究和实践应用对于建立合理的耕作制度、实现农林业的持续发展具有重要意义。

花椒(*Zanthoxylum bungeanum*)是我国特有的木本油料

和香料树种,是山区群众致富的重要经济树种之一。单一种植花椒导致水土流失和病虫害日趋严重,进而影响了花椒林的寿命和产量,并带来严重的生态、经济和社会问题^[4]。采用花椒林地间作套种作物的种植模式将显著增加农林生态系统的生物多样性和稳定性,降低病虫害危害程度,提高农业收益^[5]。大豆是广适性经济作物,其根系比较深广且与根瘤菌共生,能有效改良土壤肥力,是建立可持续农林复合生态系统的可选优良作物之一。

本研究通过分析不同浓度花椒叶浸提液对大豆种子萌发、幼苗生长及其主要生理生化特征的影响,评价花椒叶浸提液对不同大豆品种化感效应的差异,并筛选指示化感效应的简单、有效、灵敏的生物检测指标,为深入研究花椒化感作用以及发展农业高效的花椒-大豆间套作栽培模式提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

受试大豆品种华豆2、浙57、湘春10为当年新收获种子,

收稿日期:2010-09-19 接受日期:2011-03-25

*国家自然科学基金项目(No. 30871527)、国家科技支撑计划项目(No. 2008BAD98B03)、国家转基因植物研究与产业化开发专项(Nos. 2009ZX08009-010B, 2009ZX08002-003B)和四川省作物育种攻关项目资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30871527), the National Science & Technology Pillar Program of China (No. 2008BAD98B03), the National Special Fund of China for Research and Industrialization Development of Transgenic Plants (Nos. 2009ZX08009-010B, 2009ZX08002-003B), and the Crop Breeding Project of Sichuan, China

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: chenjing@cib.ac.cn)

由本实验室保存。

1.2 方法

1.2.1 花椒叶浸提液制备 在四川阿坝州茂县花椒林地, 随机收集新鲜的花椒树枝叶凋落物, 将凋落物在60 ℃下烘至恒重, 然后研磨成细粉末置于4 ℃冰箱待用。称取80 g干燥粉末于试剂瓶中, 加入1 000 mL蒸馏水于摇床上震荡24 h, 粗提液经2层纱布过滤后再经2层滤纸过滤, 最后在4 000 g离心力场下离心30 min, 然后将悬浮液通过0.22 mm孔径的滤纸过滤, 得到浸提液母液(浓度为80 g L⁻¹)。用蒸馏水将母液稀释成5、10、20、40、80 g L⁻¹浓度的处理液备用。

1.2.2 种子萌发实验 选取籽粒饱满、均一的大豆种子, 用2%次氯酸钠溶液消毒种子10 min, 然后用蒸馏水清洗5次, 每次3 min。将每50粒种子装于有双层滤纸的90 mm培养皿中, 分别加入浓度为0、5、10、20、40、80 g L⁻¹的浸提液15 mL。实验重复3次, 对照处理为蒸馏水。

种子于25 ℃暗培养6 d, 期间每个培养皿补充一次4 mL的测试液或蒸馏水。每天统计各培养皿中的发芽种子数(以芽突破种皮为发芽标准), 记录数据。

1.2.3 幼苗生长实验 实验用大豆品种为华豆2, 花椒叶浸提液浓度分别为20、40、80 g L⁻¹。将消毒后的60粒种子在50 mL蒸馏水中浸泡4 h, 装入有双层滤纸的培养皿中, 加入10 mL蒸馏水, 在25 ℃黑暗条件下催芽2 d。选取芽长均一(5 mm左右)的48粒种子平均分装到4个90 mm的培养皿, 并加入洗净的河沙掩埋至皿口。d 1每个培养皿加30 mL蒸馏水进行过渡培养, 以后每隔2 d向培养皿中分别添加30 mL蒸馏水(对照处理)和不同浓度的浸提液, 并在26 ℃、16 h光照条件下进行培养, d 6实验结束。洗净植株根部沙粒, 用滤纸吸干多余水分并将植株置于冰块上, 依次测量地上部和地下部(根)的重量、株高、(主)根长, 以及SOD酶活和MDA含量。试验重复3次, 计算平均值。

1.2.4 SOD酶活测定和MDA含量测定 超氧化物歧化酶

(SOD)活性测定采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法^[6], MDA含量的测定采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法^[7]。

1.2.5 数据处理 1) 种子发芽率(%): 种子发芽率(%) = (发芽终止时全部正常发芽的种子数/供试种子数) × 100%

2) 发芽指数(G_i): $G_i = \sum G_i/D_i$, G_i 为在*t*日内的发芽数, D_i 为相应的发芽日数。

3) 化感作用抑制率(Inhibitory rate, IR): $IR(\%) = (T_i - T_0) \div T_0 \times 100\%$, T_i 为测试项目的处理值, T_0 为对照值。IR ≥ 0表示具有促进作用, IR < 0表示具有抑制作用。IR的绝对值越大, 其化感作用潜力(促进或抑制作用)越大^[8]。

4) 大豆萌发和生长数据处理: 试验数据用Excel 软件处理后, 用SPSS软件进行LSD统计检验。

2 结果与分析

2.1 花椒叶浸提液对大豆种子萌发的影响

不同浓度的花椒叶浸提液均对大豆种子的萌发产生化感效应。随着浸提液浓度增高, 大豆种子萌发率变化与对照相比达到显著或极显著水平(表1)。浸提液浓度高于40 g L⁻¹时, 参试品种萌发率均受到极显著的抑制作用($P < 0.01$), 当浸提液浓度为80 g L⁻¹时, 华豆2、湘春10和浙57的萌发率分别降低了70.9%、62.4%和28.51%。然而, 在低浓度范围内(5、10、20 g L⁻¹), 花椒叶浸提液对大豆不同品种的化感作用不同。随着处理浸提液浓度升高, 华豆2和湘春10的种子萌发率呈下降趋势, 但二者受抑制规律不一致, 前者受抑制程度持续加重, 后者受抑制程度表现为前重后轻的态势。相反, 低浓度浸提液处理不同程度地提高了浙57的种子萌发率, 这种正向化感作用随着处理液浓度增加又逐渐下降。

花椒叶浸提液对华豆2和湘春10发芽指数的影响趋势与萌发率的变化趋势相同, 即随着浸提液浓度升高, 对种子萌发的化感抑制作用强度也逐渐增强(表2)。然而, 需要指出的是, 在5~20 g L⁻¹的低浓度范围内, 发芽指数的检测结果更

表1 花椒叶浸提液对大豆种子发芽率的影响(LSD检验)

Table1 Allelopathic effects of *Zanthoxylum bungeanum* leaf extracts on the seed germination rate of soybean (LSD assay)

浸提液浓度 Extract concentration (g L ⁻¹)	华豆2 Huadou 2		湘春10 Xiangchun 10		浙57 Zhe 57	
	发芽率 Rate of germination (r/%)	IR/%	发芽率 Rate of germination (r/%)	IR/%	发芽率 Rate of germination (r/%)	IR/%
0	98.0aA		94.4aA		75.6bAB	
5	78.0bAB	-20.4	74.7bB	-20.87	89.3aA	18.12
10	75.8bAB	-22.65	79.4bAB	-15.89	79.0abAB	4.5
20	69.1bB	-29.49	82.6bAB	-12.5	78.5abAB	3.83
40	36.7cC	-62.55	33.3cC	-64.72	74.7bB	-1.19
80	27.1c C	-72.35	32.0cC	-66.1	40.0cC	-47.09

数值后不同大、小写字母分别表示在0.01、0.05水平上差异显著, 下同

The different capital and small letters indicate significantly difference at 0.01 and 0.05 level, respectively. The same below

表2 花椒叶浸提液对大豆发芽指数的影响

Table 2 Allelopathic effects of *Z. bungeanum* leaf extracts on the seed germination index of soybean

浸提液浓度 Extract concentration (g L ⁻¹)	华豆2 Huadou 2		湘春10 Xiangchun 10		浙57 Zhe 57	
	发芽指数 Germination index (r/%)	IR/%	发芽指数 Germination index (r/%)	IR/%	发芽指数 Germination index (r/%)	IR/%
0	28.87aA		19.96 aA		12.83abAB	
5	20.65 bB	-28.47	12.73bB	-36.22	15.42 aA	20.19
10	17.93 bcB	-37.89	14.58bAB	-26.95	11.41 bcAB	-11.07
20	15.48 cB	-46.38	12.26 bB	-38.58	9.88 bcB	-22.99
40	6.62 d C	-77.07	4.54 cC	-77.25	9.08 cB	-29.23
80	3.83 d C	-86.73	3.68 c C	-81.56	4.10 dC	-68.04

表3 花椒叶浸提液对大豆地上(下)部生物量、株高和根长的影响(LSD检验)
Table 3 Effects of *Z. bungeanum* leaf extracts on the aboveground (underground) biomass, plant height and root length of soybean seeding (LSD assay)

浸提液浓度 Extract concentration ($\rho/\text{g L}^{-1}$)	地上部鲜重 Aboveground FW (m/g)	IR/%	地下部鲜重 Underground FW (m/g)	IR/%	株高 Plant height (h/cm)	IR/%	根长 Root length (l/cm)	IR/%
0	0.56aA		0.25aA		18.98aA		8.80aA	
20	0.55aA	-1.78	0.27aA	8.00	16.81abA	-11.43	8.11bAB	-7.84
40	0.46bB	-17.86	0.19bA	-24.00	15.62bAB	-17.70	7.28cB	-17.27
80	0.30cC	-46.43	0.10cB	-60.00	12.54cB	-33.93	7.00cB	-20.45

能准确反映随着浓度增加浸提液对大豆萌发的化感抑制效应增强(达显著水平)这一作用规律,如5~20 g L⁻¹浸提液处理均能提高品种浙57的萌发率,但大于5 g L⁻¹的浸提液处理已经显著降低其发芽指数,这与实验过程中观察到种子萌发时间明显推迟的现象相符合.

2.2 花椒叶浸提液对大豆幼苗生长的影响

2.2.1 浸提液对地上部生长的影响 由表3可以看出,幼苗地上部生长受花椒叶浸提液影响的总体趋势为,浸提液浓度越高,对地上部生物量和株高的抑制作用越强,浓度高于40 g L⁻¹时,浸提液对地上部生物量和株高的化感抑制效应均达到极显著水平.当处理液浓度为20 g L⁻¹和80 g L⁻¹时,地上部生物量的IR值分别为-1.78%和-46.43%,株高的IR值分别为-11.43%和-33.93%,表示茎伸长速度能够敏感地反映化感抑制作用,随着浸提液浓度升高,幼苗地上部的生物合成途径受到严重抑制.

2.2.2 浸提液对地下部生长的影响 花椒叶浸提液对幼苗根长和根重的化感作用规律有所不同(表3).低的处理液浓度(20 g L⁻¹)显著抑制根的伸长,但对根重量有促进作用.处理液浓度高于40 g L⁻¹时,对根重和根长的抑制效应均达到极显著水平,当处理液浓度达到80 g L⁻¹时,根重和根长的IR值分别为-60%和-20.45%,表明高浓度化感物质对地下部生物量合成的影响更大,实验中也观察到根部呈现衰老、干枯的浅褐色中毒症状,侧根和须根的数量和长度急剧减少.

综上,随着浸提液浓度的增加,幼苗地上及地下部分的生长逐渐受到抑制,由于根很快受到化感物质的直接作用,地下生物量较地上生物量的变化幅度更加大.总体而言,幼苗各部分受花椒叶浸提液化感作用的影响大小依次为地下部生物重>地上部生物量>株高>根长.

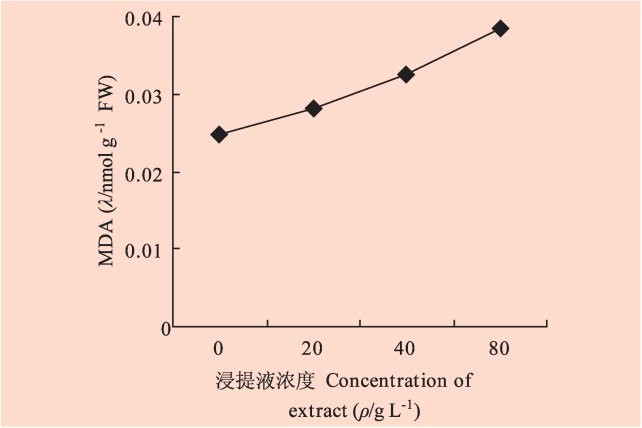


图1 浸提液浓度对MDA含量的影响
Fig. 1 Effect of extract concentration on activity of MDA

2.2.3 花椒叶浸提液对大豆MDA含量和SOD酶活的影响 图1显示,随着处理液浓度提高,植株MDA含量显著增加,表明细胞膜受损的程度逐渐加大.在相对较低的浓度范围内($\leq 20 \text{ g L}^{-1}$),处理液浓度增加,SOD酶活性也显著升高(图2),当处理液浓度高于40 g L⁻¹时,SOD酶活性急剧下降,并伴随MDA含量大幅度提高,表明植物细胞膜受损严重,细胞内正常的酶保护系统遭受破坏. Han等在生姜对大豆的化感作用研究中亦发现类似结果^[9].

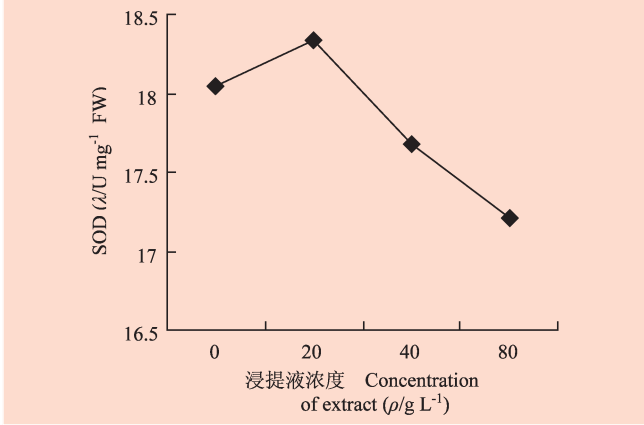


图2 浸提液浓度对SOD活性的影响
Fig. 2 Effect of extract concentration on activity of SOD

3 讨论

花椒叶浸提液对大豆种子萌发的化感作用总体规律为:随着浸提液浓度增加,化感抑制作用效果也逐渐增强.高于40 g L⁻¹浓度的花椒叶浸提液对不同品种种子萌发均产生强烈的抑制作用.在5~20 g L⁻¹的低浓度范围,华豆2和湘春10种子萌发率和萌发指数都受到不同程度的抑制,但受体品种间表现不一致.此外,低浓度浸提液处理自身发芽力低的品种浙57能够不同程度刺激种子的萌发,且浓度越低,化感促进作用越显著,推测低浓度的化感物质在一定程度上激发了自身活力较低的种子内部生理活性,从而促进了种子发芽.花椒化感作用除了受提取液浓度和花椒品种的影响^[10]外,还与受体品种基因型及其种子活力有关.

在反映花椒对品种华豆2和湘春10的化感作用方面,发芽率和发芽指数的变化趋势一致.然而,在5~20 g L⁻¹浓度范围内,尽管浙57的种子萌发率均高于对照组,其发芽指数逐渐下降,表现为种子萌芽时间延迟,发芽速度减慢.综合应用发芽率和发芽指数更能准确、全面地反映化感作用对种子萌发的影响.

花椒叶浸提液对大豆幼苗生长的化感效应表现为化感

物质浓度越高,抑制作用越强,植物SOD抗氧化酶活性急剧下降,MAD含量大幅升高,表明维持正常生理功能的生物膜系统受损程度加剧.幼苗各器官或组织受花椒化感作用的影响大小依次为地下部生物量>地上部生物量>株高>根长.

化感物质除了直接作用于邻近作物外,还通过影响土壤微生物类群、土壤化学性质以及养份循环来间接影响作物的生长^[11-12].针对特定的花椒和大豆品种,尚需进一步通过土壤盆栽试验或田间试验深入分析花椒对大豆的化感作用规律.

References

- 1 Rice EL. Allelopathy. 2nd ed. Orlando, USA: Academic Press, 1984. 1~50
- 2 Singh HP, Batish DR, Kohli RK. Autotoxicity: Concept, organisms, and ecological significance. *Crit Rev Plant Sci*, 1999, **18**: 757~772
- 3 Zhang JY (张俊英), Xu YL (许永利), Li FP (李富平), Han DY (韩冬芸). Development of plant allelopathy. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2007, **35** (21): 6357~ 6358
- 4 Wang JC (王进闯), Pang KW (潘开文), Wu L (吴宁), Luo P (罗鹏), Li FH (李富华). Effect of simplified agroforest system of Sichuan pepper (*Zanthoxylum armatum*) on some ecological factors. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2005, **11** (1): 36~39
- 5 Zhang XM (张晓明), Li Q (李强), Chen GH (陈国华). In sect community structure and its stability in a *Zanthoxylum armatum* garden with different planting pattern. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 2009, **20** (8): 1986~1991
- 6 Giaanopolitis N, Ries SK. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol*, 1977, **59**: 309~314
- 7 Li HS (李合生). Principle and Technique of Plant Physiological Biochemical Experiment. Beijing, China: Higher Educational Press (北京: 高等教育出版社), 2000
- 8 Lin WX, Kim KU, Smin DH. Rice allelopathic potential and its modes of action on barnyard grass (*Echinochloa crusgalli*). *Allelopathy*, 2000, **7** (2): 215~224
- 9 Han CM, Pan KW, Wu N, Wang JC, Li W. Allelopathic effect of ginger on seed germination and seedling growth of soybean and chive. *Sci Hort*, 2008, **116**: 330~336
- 10 Wang JC (王进闯), Pan KW (潘开文), Wu N (吴宁), Luo P (罗鹏), Li FH (李富华). The study on varietal differences in allelopathic potential of Chinese prickly ash (*Zanthoxylum armatum*). *Acta Ecol Sin* (生态学报), 2005, **25** (7): 1591~1597
- 11 Ma YH (马云华), Wang XF (王秀峰), Wei M (魏珉), Qi YF (齐延凤), Li TL (李天来). Accumulation of phenolic acids in continuously cropped cucumber soil and their effects on soil microbes and enzyme activities. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 2005, **16** (11): 2149~2153
- 12 Xiao HL (肖辉林), Peng SL (彭少麟), Zheng YJ (郑煜基), Mo JM (莫江明), Luo W (罗薇), Zeng XD (曾晓舵), He XX (何小霞). Interactive effects between plant allelochemicals, plant allelopathic potential and soil nutrients. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 2006, **17** (9): 1747~1750