

入侵植物肿柄菊不同组织提取液对千金子的化感作用

王占娣, 赵 静, 陈绍娟, 徐 荣, 史云东, 贾 琳, 李艳萍*

玉溪师范学院化学生物与环境学院, 云南玉溪 653100

摘 要: 研究发现入侵植物肿柄菊对杂草具有较强的化感作用, 可用于杂草防治。而肿柄菊对千金子的化感作用未见报道, 为明确肿柄菊对千金子的化感作用, 寻找千金子的防治技术, 采用石油醚、乙酸乙酯、无水乙醇和蒸馏水等溶剂梯度提取肿柄菊根、茎、叶, 评价提取液对千金子种子萌发和生长的化感作用及其对超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和过氧化物酶 (POD) 活性的影响, 并利用 GC-MS 技术鉴定肿柄菊提取液中化学成分。结果显示: 肿柄菊不同组织部位提取液对千金子发芽率的影响强度依次为叶>茎>根。肿柄菊根、茎、叶的乙酸乙酯和无水乙醇提取液对千金子幼苗生长具有明显的抑制作用。肿柄菊根、茎和叶的乙酸乙酯提取液, 叶和根的水乙醇提取液能明显抑制千金子 SOD 酶活性; 茎的水乙醇提取液能明显抑制千金子 CAT 酶的活性; 茎和根的乙酸乙酯提取液能明显抑制 POD 酶活性。GC-MS 检测显示, 肿柄菊提取液中含有萜类、酚类、酰胺类、酯类及烃类, 其中, 萜类 (α -蒎烯和植醇) 和酚类 (2,5-二乙酰基-6-羟基苯并呋喃) 成分含量较高。结果表明, 肿柄菊根、茎和叶的提取液对千金子具有较强的化感作用, 其中, α -蒎烯、植醇、2,5-二乙酰基-6-羟基苯并呋喃可能是肿柄菊对千金子产生化感作用的潜在活性成分, 可用于千金子的防治。

关键词: 肿柄菊; 千金子; 化感作用; 抗氧化酶

中图分类号: S432.1 文献标识码: A

Allelopathy of Extracts from Different Tissues of Invasive Plant, Mexican Sunflower on *Leptochloa chinensis*

WANG Zhandi, ZHAO Jing, CHEN Shaojuan, XU Rong, SHI Yundong, JIA Lin, LI Yanping*

College of Chemistry Biology and Environment, Yuxi Normal University, Yuxi, Yunnan 653100, China

Abstract: The invasive plant Mexican sunflower has strong allelopathy to weeds and could be used for weed control. However, the allelopathy of Mexican sunflower on *Leptochloa chinensis* has not been reported. In order to clarify the allelopathy of Mexican sunflower on *L. chinensis* and find the control technology of *L. chinensis*, the roots, stems and leaves of *L. chinensis* were extracted with petroleum ether, ethyl acetate, absolute ethyl alcohol and distilled water. The allelopathy of extracts on the germination and growth of seeds of Mexican sunflower and its effect on the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) were evaluated. GC-MS was used to identify the chemical constituents in the extract of Mexican sunflower. The results showed that the effect of extracts from different tissue parts on the germination rate of Mexican sunflower was in the order of leaf > stem > root. Ethyl acetate and absolute ethanol extracts from the roots, stems and leaves of Mexican sunflower had a significant inhibitory effect on the growth of the seedlings. The ethyl acetate extract from the root, stem and leaf, and the absolute ethanol extract from the leaf and root could significantly inhibit the SOD activity; the absolute ethanol extract from the stem could obviously inhibit the CAT activity; the ethyl acetate extracts from stems and roots could significantly inhibit the POD activity. GC-MS detection showed that the extract of Mexican sunflower contained terpenoids, phenols, amides, esters and hydrocarbons, among which terpenoids (α -pinene and phytol) and phenols (2,5-diacetyl-6-hydroxybenzofuran) were higher. The results showed that the extracts from the roots, stems and leaves of

收稿日期 2022-05-05; 修回日期 2022-06-16

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 32060036); 云南省地方高校基础研究联合专项 (No. 202101BA070001-055); 兴滇人才支持计划-青年人才项目 (No. YNWR-QNBJ-2020282)。

作者简介 王占娣 (1981—), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 农业害虫绿色防控。*通信作者 (Corresponding author): 李艳萍 (LI Yanping), E-mail: lyphys@yxnu.edu.cn。

Mexican sunflower had strong allelopathic effects on *L. chinensis*, α -pinene, phytol and 2,5-diacetyl-6-hydroxybenzofuran may be the potential active components of Mexican sunflower for allelopathy, which can be used for the control of *L. chinensis*.

Keywords: Mexican sunflower; *Leptochloa chinensis*; allelopathy; antioxidant enzyme

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.02.018

外来入侵植物严重破坏了入侵地生态和生物多样性,给全球生态系统造成了巨大的经济损失。现代研究发现,化感作用是入侵植物成为优势群落的主要因素之一^[1],对自身或其他植物生长发育产生一定的影响。化感物质为植物释放到土壤和环境中的次生代谢产物,能够对其他植物产生毒害作用,抑制周围植物种子的萌发和幼苗的生长^[2]。如龙绦雪等^[3]报道入侵植物鬼针草(*Bidens pilosa*)和肿柄菊(*Tithonia diversifolia*)水提液抑制小白菜种子的萌发。杨云海等^[4]报道紫茎泽兰(*Ageratina adenophora*)提取液明显抑制小麦和绿豆的生长。许多研究者还发现,入侵植物释放的化感物质除了对农作物有抑制作用外,对杂草的生长也有抑制作用。如蒋智林等^[5]报道入侵植物紫茎泽兰(*Ageratina adenophora*)、小飞蓬(*Conyza canadensis*)、飞机草(*Chromolaena odoratum*)和肿柄菊对狗牙根(*Cynodon dactylon*)具有明显抑制作用。陈金慧等^[6]报道入侵植物五爪金龙能明显抑制三叶草种子的萌发。由此可知,入侵植物释放的化感物质可用于杂草的防治。化感物质具有环境友好,低毒高效、不易产生抗药性等特点,利用化感物质防治杂草危害已成为当前农业杂草绿色防治和生态领域研究的热点之一^[7]。

肿柄菊是一种世界性入侵杂草,为菊科多年生灌木类植物,其根系发达,繁殖力强,能在各类土壤上生长。肿柄菊原产墨西哥及中美洲地区,是一种观赏植物,后被亚洲、非洲、北美、澳洲等 70 多个国家和地区广泛引种。20 世纪初,肿柄菊被引入我国后迅速在云南、广东、福建、海南、香港、台湾等地大量分布和扩散。现已覆盖云南省 12 个市(州),71 个县(区),扩散面积达 184.212 km²,占云南土地面积的 47%^[8]。2019 年肿柄菊被列为云南省 I 级恶性入侵杂草。2021 年陈剑等^[9]报道,肿柄菊在云南还存在较大的入侵风险。CHUKWUKA 等^[10]报道因肿柄菊繁殖速度快、生长迅速、植株高度等原因,迫使尼日利亚部分农民放弃耕地。现代研究发现,肿柄菊具有较强的化感作用,其释放的化感物质对其他植

物产生毒害作用,抑制多种植物种子的萌发和幼苗的生长。到目前为止,发现肿柄菊对田间 10 余种杂草具有较强的化感作用^[5, 11-12],如田学军等^[13]报道肿柄菊叶片的蒸馏水提取液能抑制鬼针草种子的萌发和幼苗的生长, SUZUKI 等^[14]报道肿柄菊的甲醇提取液抑制多花黑麦草(*Lolium multiflorum* Lam.)、*Phleum pretense* (L.)和 *Echinochloa crusgalli* (L.)杂草的生长,而未见有文献报道肿柄菊对千金子的化感作用。

千金子[*Leptochloa chinensis* (L) Nees]为一年生禾本科杂草,是世界性水田中常见的恶性杂草,可导致水稻产量降低 37.8%~39.22%^[15-16]。目前千金子的防治以农药防治为主,由于化学农药的长期使用,造成千金子对化学农药产生了很强的抗药性^[17],而且许多化学农药严重污染水体、大气、土壤等,并通过食物链进入人体危害人类健康。因此寻找千金子的生态绿色防治技术越来越受到社会各界的重视。

本研究以肿柄菊为供体植物,以千金子为受体植物,采用不同极性溶剂提取肿柄菊,研究肿柄菊提取液对千金子种子萌发和生长的影响,并采用 GC-MS 鉴定肿柄菊提取液中化学成分,为千金子的绿色防治奠定理论基础,同时为肿柄菊化感物质在杂草防治方面的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

肿柄菊和千金子采集于玉溪师范学院校园内(23°19'N; 101°16'E),海拔约为 1800 m,年平均气温为 17.4~23.8℃,年平均降水量为 670~2412 mm,属中亚热带湿润冷冬高原季风气候。选取颗粒饱满的千金子种子,将其放在蒸馏水中浸泡,收集沉降在水底的种子,用 0.2%高锰酸钾溶液浸泡 10 min 消毒,之后用蒸馏水冲洗 5 次,备用。

1.2 方法

1.2.1 肿柄菊提取液的制备 采集到的肿柄菊根、茎、叶自然晾干,粉碎过 20 目筛,分别准确称取 15 g,利用索氏提取器,根据溶剂极性由小到大依次加入 100 mL 石油醚、乙酸乙酯、无水乙

醇和蒸馏水, 加热提取, 提取温度分别为: 80℃ (石油醚)、85℃ (乙酸乙酯)、85℃ (无水乙醇)、100℃ (蒸馏水)。待索氏提取器侧管内溶液色泽变淡, 收集各溶剂提取液。采用旋转蒸发器浓缩, 干燥, 得到干膏。

称取 1 g 干膏, 加入 0.5 mL 吐温-80 (蒸馏水提取液制备的干膏除外) 混合均匀, 加入蒸馏水分别稀释 10 倍和 100 倍, 备用。

1.2.2 肿柄菊提取液的鉴定 采用气相色谱-质谱联用仪 (GC-MS) 鉴定肿柄菊提取液中化学成分。检测条件为 GC: 进样量 1.0 μL; 分流比 20:1; 进样温度 250℃; 程序升温: 初始温度 40℃, 保持 2 min; 以 5℃/min 升温至 260℃, 保持 10 min。MS: 传输线温度 250℃; 离子源温度 250℃; 扫描线: Tic (全扫描); 柱子: Ei 比-5MS (30 m×0.25 mm×0.25 μm); 离子源 70 eV; 扫描时间和 GC 时间一致, 扫描范围 33~550 *m/z*。

1.2.3 千金子发芽及生长效应实验 采用培养皿滤纸培养法^[6]。将灭菌的千金子种子放于已灭菌且铺有双层滤纸的培养皿中, 分别加入 10 mL 稀释 10 倍和 100 倍的提取液, 以加入等量的吐温-80 水溶液的培养皿为对照。每个处理 3 次重复, 每个重复 50 粒种子。在 25℃, 光照条件为 L:D=12 h:12 h 下培养, 每天定时补充等量的提取液, 直至对照组不再萌发, 测定其发芽率。发芽后 7 d 测定各处理组幼苗株高、根长和地上部分鲜重。

1.2.4 酶活性实验 酶粗提液的制备: 参照 DHINDSA^[17]的方法, 称取 0.5 g 培养 15 d 幼苗根上部位, 加入 3 mL 磷酸缓冲液 (pH 7.0) 和少许石英砂, 冰浴中研磨匀浆, 于 4℃, 3000 r/min, 离心 10 min, 取上清液, 备用。

SOD 酶活性测定: 采用核黄素-NBT 法测定^[17], 试管中加入 1.5 mL 50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.8)、13.0 mL 14.5 mmol/L 蛋氨酸、0.1 mL 2.25 mmol/L NBT、0.1 mL 3 μmol/L EDTA-Na₂、0.1 mL 22.6 mmol/L 核黄素和 50 μL 酶粗提液, 光照下反应 20 min, 560 nm 处测定吸光度。

CAT 活性的测定: 采用紫外吸收法测定^[18], 试管中加入 50 μL 酶粗提液、2.9 mL 50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.8), 25℃ 水浴中预热 5 min 后加入 50 μL H₂O₂ 启动反应, 240 nm 处测定吸光度。CAT 活性计算公式如下:

$$\text{CAT 活性}[\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{min})]=\frac{\Delta A_{240}}{\varepsilon \times T \times \omega} \times V_1 \times \frac{V_1}{V_2}$$

式中, ΔA_{240} 为 240 nm 波长处的吸光度; ε 为 H₂O₂ 在 240 nm 处的毫摩尔吸光系数, 即 421 mmol/L/cm; T 为酶促反应时间, 即 3 min; V_1 为反应液的总体积, 即 3 mL; V_1 为酶液的总体积, 即 5 mL; V_2 为测定时所用酶液的体积, 即 0.05 mL; ω 为杂草的鲜重, g。

POD 活性测定: 采用愈创木酚法^[18]。吸取备用液 (100 mL 0.1 mol/L 磷酸缓冲液、5 mL 愈创木酚和 1 mL 30% H₂O₂) 3 mL 于试管中, 加入酶提取液 0.02 mL, 迅速摇匀后倒入 1 cm 的比色皿中, 以未加酶提取液的备用液作为空白对照, 470 nm 波长处, 测定 3 min 内吸光度变化值, 取线性变化部分, 计算 1 min 吸光度变化值 (ΔA_{470})。POD 酶活性计算公式为:

$$\text{POD 酶活性}[\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{min})]=\Delta A_{470} \times V_1/(\omega \times V_2)$$

式中, ΔA_{470} 为 1 min 吸光度变化值; V_1 为酶提取液总量, mL; V_2 为测定时酶液用量, mL; ω 为样品鲜重, g。

1.3 数据处理

试验数据以平均值±标准误表示, 利用 SAS 9.4 软件单因素方程进行数据处理 ($\alpha=0.05$)。

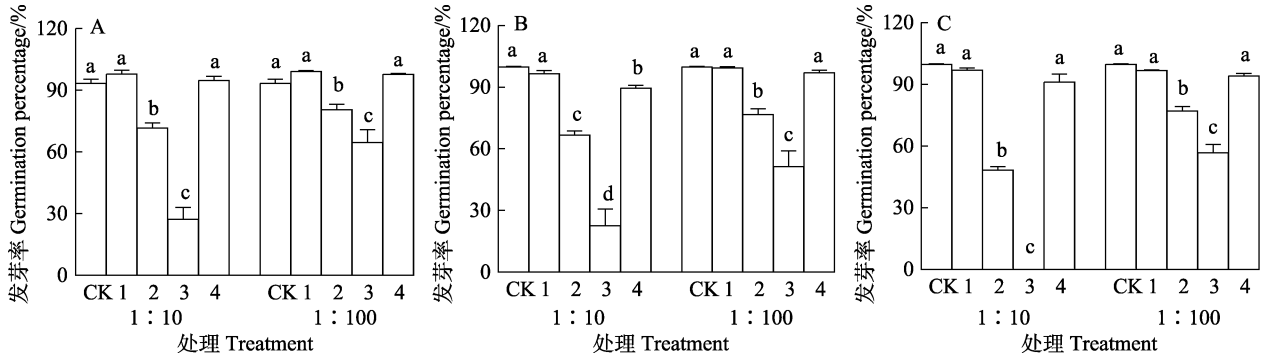
2 结果与分析

2.1 肿柄菊提取液对千金子种子萌发的影响

肿柄菊根、茎和叶的乙酸乙酯和无水乙醇提取液均能明显抑制千金子种子萌发。3 个部位提取液对千金子发芽率的抑制效果依次为叶>茎>根, 其中肿柄菊的无水乙醇提取液抑制效果最为明显。肿柄菊叶的无水乙醇提取物稀释倍数为 10 倍时, 其处理的千金子发芽率为 0 (图 1)。

2.2 肿柄菊提取液对千金子生长的影响

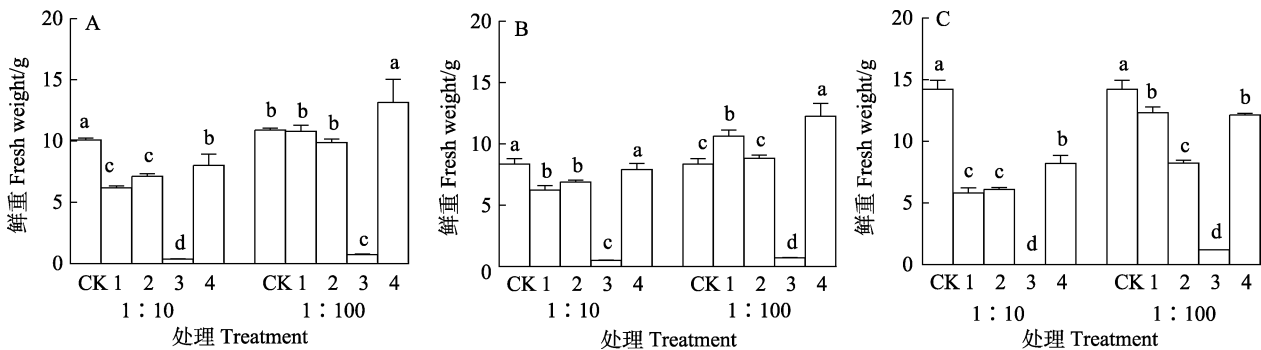
2.2.1 对千金子鲜重的影响 肿柄菊提取液对千金子鲜重具有明显的抑制作用, 其抑制强度由大到小依次为: 肿柄菊无水乙醇提取液>肿柄菊石油醚提取液≈肿柄菊乙酸乙酯提取液>肿柄菊蒸馏水提取液。随着给药浓度稀释倍数的增加, 肿柄菊不同溶剂提取液对千金子鲜重的抑制作用降低。提取液稀释 10 倍时, 肿柄菊根、茎和叶的石油醚、乙酸乙酯和无水乙醇提取液处理的千金子鲜重明显低于 CK 处理组, 其中, 肿柄菊叶的不同溶剂提取物对千金子鲜重的抑制作用最为明显 (图 2)。



A: 根提取液; B: 茎提取液; C: 叶提取液。1: 石油醚提取液, 2: 乙酸乙酯提取液, 3: 无水乙醇提取液, 4: 蒸馏水提取液。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。
A: Root extract; B: Stem extract; C: Leaf extract. 1: Petroleum ether extract; 2: Ethylene acetate extract; 3: Absolute ethyl alcohol extract; 4: Distilled water extract. Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 1 肿柄菊提取液对千金子发芽率的作用效果

Fig. 1 Effects of extracts from Mexican sunflower on germination percentage of *L. chinensis* seed



A: 根提取液; B: 茎提取液; C: 叶提取液。1: 石油醚提取液, 2: 乙酸乙酯提取液, 3: 无水乙醇提取液, 4: 蒸馏水提取液。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。
A: Root extract; B: Stem extract; C: Leaf extract. 1: Petroleum ether extract; 2: Ethylene acetate extract; 3: Absolute ethyl alcohol extract; 4: Distilled water extract. Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

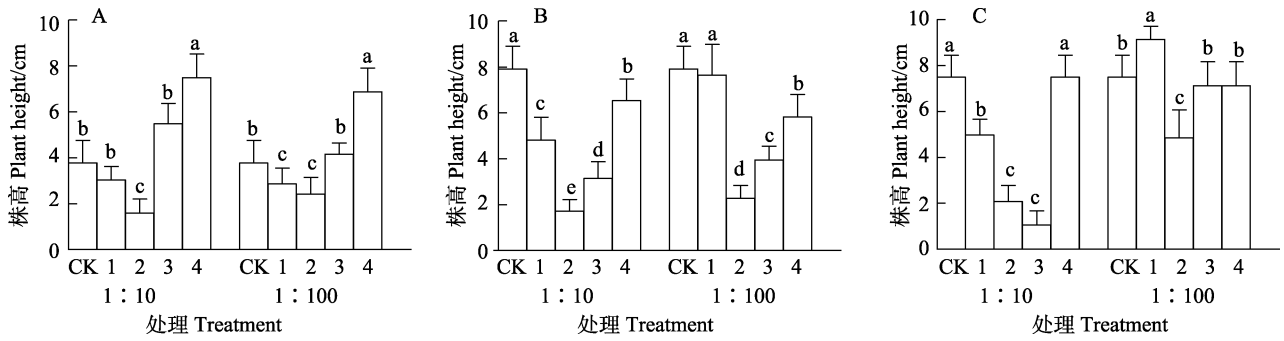
图 2 肿柄菊提取液对千金子鲜重的影响

Fig. 2 Effects of extracts from Mexican sunflower on fresh weight of *L. chinensis* seed

2.2.2 对千金子株高和根长的影响 提取液稀释 10 倍时, 肿柄菊根、茎、叶的乙酸乙酯和无水乙醇提取液均能明显抑制千金子的根长和株高的生长 (图 3, 图 4)。肿柄菊不同组织的蒸馏水提取液对千金子根长和株高作用效果存在差异。其中, 肿柄菊根的蒸馏水提取液促进千金子株高和根长的生长, 茎的蒸馏水提取液抑制千金子株高和根长的生长, 叶的蒸馏水提取液对千金子株高和根长的影响与 CK 差异不显著。提取液稀释 100 倍时, 根的蒸馏水提取液促进千金子株高和根长的生长, 根的石油醚提取液和乙酸乙酯提取液抑制千金子株高的生长, 而对根长作用不明显; 茎的蒸馏水提取液、乙酸乙酯提取液和无水乙醇提取液明显抑制千金子根长和株高的生长, 茎的石油醚提取液对千金子根长和株高作用不明显; 叶的乙酸乙酯提取液明显抑制千金子株高的生长, 叶的石油醚提取液和无水乙醇提取液明显抑制千金子根长的生长。

2.3 肿柄菊提取液对千金子酶活性的影响

根据上述实验结果, 肿柄菊根、茎和叶的乙酸乙酯和无水乙醇提取液对千金子发芽率和生长效应影响较明显, 因此, 进一步测定肿柄菊根、茎和叶的乙酸乙酯提取液和无水乙醇提取液对千金子 CAT、POD 和 SOD 酶的作用。结果显示: 肿柄菊不同组织提取液对 3 种酶的作用存在明显差异, 其中, 肿柄菊根、茎和叶的乙酸乙酯提取液, 叶和根的水乙醇提取液能明显抑制千金子 SOD 酶活性, 而茎的水乙醇提取液促进 SOD 酶活性 (图 5A)。肿柄菊茎的水乙醇提取液能明显抑制千金子 CAT 酶的活性, 根的乙酸乙酯提取液促进千金子 CAT 酶的活性, 其他处理液对千金子 CAT 酶活性的作用与 CK 差异不显著 (图 5B)。肿柄菊茎的水乙醇提取液和叶的乙酸乙酯提取液明显促进 POD 酶的活性, 而根的乙酸乙酯提取液能明显抑制 POD 酶活性 (图 5C)。

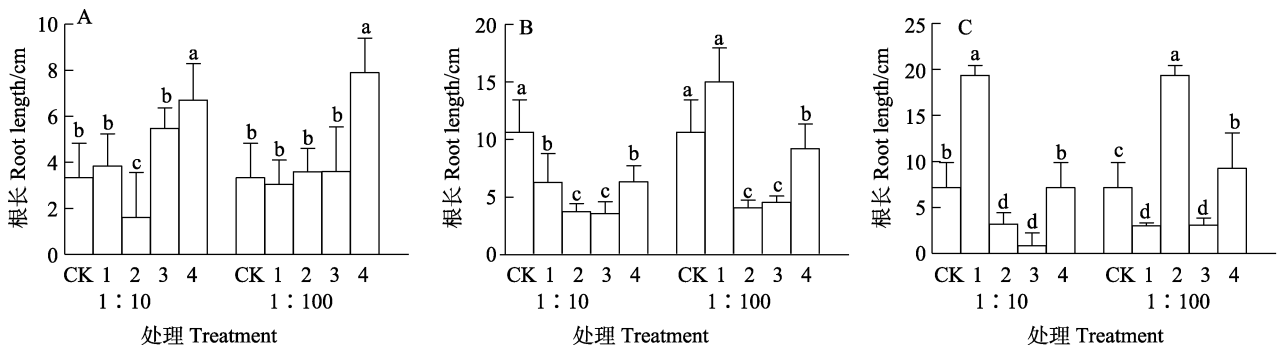


A: 根提取液; B: 茎提取液; C: 叶提取液。1: 石油醚提取液, 2: 乙酸乙酯提取液, 3: 无水乙醇提取液, 4: 蒸馏水提取液。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

A: Root extract; B: Stem extract; C: Leaf extract. 1: Petroleum ether extract; 2: Ethylene acetate extract; 3: Absolute ethyl alcohol extract; 4: Distilled water extract. Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 3 肿柄菊提取液对千金子株高的影响

Fig. 3 Effects of extracts from Mexican sunflower on plant height of *L. chinensis*

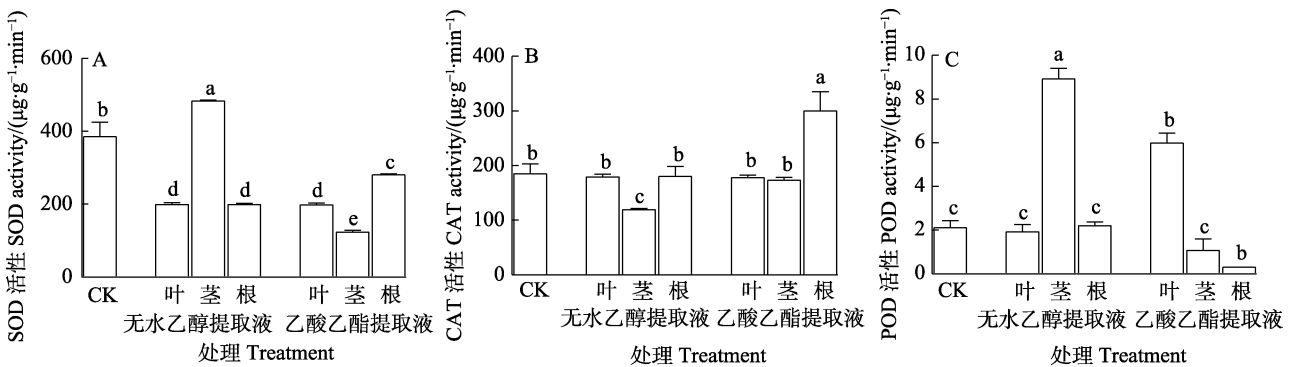


A: 根提取液; B: 茎提取液; C: 叶提取液。1: 石油醚提取液, 2: 乙酸乙酯提取液, 3: 无水乙醇提取液, 4: 蒸馏水提取液。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

A: Root extract; B: Stem extract; C: Leaf extract. 1: Petroleum ether extract; 2: Ethylene acetate extract; 3: Absolute ethyl alcohol extract; 4: Distilled water extract. Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 4 肿柄菊提取液对千金子根长的影响

Fig. 4 Effects of extracts from Mexican sunflower on root length of *L. chinensis*



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 5 肿柄菊不同组织粗提物对千金子酶活性的影响

Fig. 5 Effects of different tissue extracts of Mexican sunflower on enzyme activity of *L. chinensis*

2.4 肿柄菊提取液的化合物鉴定

结合发芽实验、生长效应实验和酶活实验结果, 采用 GC-MS 鉴定肿柄菊茎和叶的无水乙醇提取液和乙酸乙酯提取液的化学成分。结果显示, 肿柄菊茎的乙酸乙酯提取液中含有萜类 (1、2)、

内酯类 (3) 和酚类 (4), 其中, α -蒎烯含量最高, 为 4.828%。肿柄菊茎的无水乙醇提取液中包括 8 种化合物, 分别为酚类 (1、7)、酮类 (2)、酰胺类 (3)、酯类 (4、8)、烃类 (5、6)。其中, 酚类成分中的 2,5-二乙酰基-6-羟基苯并呋喃含量最

高,为 10.79%。肿柄菊叶的乙酸乙酯提取液中含有 8 种化学成分,主要为萜类(1、3、8)、酯类(2、4、5、6、7),其含量最高的为萜类成分,即植醇,其含量为 14.68%。肿柄菊叶的无水乙醇提取液中含有酯类(3、5、6、7)、烃类(1、2)、萜类(4、8)、酚类(9)、萘醌类(10),其中,萜类成分含量较高。在萜类成分中,二十碳炔含量最高,其值为 20.614%,其次为植醇,其含量为 7.994%(表 1)。

表 1 肿柄菊茎和叶提取液主要化学成分

Tab. 1 Main chemical components of extract from Mexican sunflower with different polar solvents

提取液 序号 Solvents No.	化合物 Compound	相对含量 Relative content%
茎的乙 酸乙酯 提取液	1 α -蒎烯 α -pinene	4.828
	2 植醇 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	3.957
	3 azuleno[6,5-b]furan-2,5-dione, decahydro-7-hydroxy-4a,8-dimethyl-3-methylene	3.184
	4 维生素 E Vitamin E	1.645
茎的无 水乙醇 提取液	1 2,5-二乙酰基-6-羟基苯并呋喃 ethanone, 1,1'-(6-hydroxy-2,5-benzofurandiyl)bis-	10.790
	2 庚基苯乙酮 p-heptylacetophenone	4.150
	3 芥酸酰胺 13-docosenamide, (Z)-	3.760
	4 己二酸二异辛酯 hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	1.310
	5 二十四烯炔 tetracosane	1.160
	6 二十六烷炔 9-hexacosene	0.870
	7 2,2'-亚甲基双(6-叔丁基-4-甲基苯酚 phenol, 2,2'-methylene bis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl	0.710
	8 棕榈酸乙酯 hexadecanoic acid, ethyl ester	0.660
叶的无 水乙醇 提取液	1 十五烯 1-pentadecene	0.976
	2 二十碳炔 3-eicosyne	20.614
	3 植物醇乙酯 phytol, acetate	4.205
	4 植醇 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	7.994
	5 棕榈酸乙酯 hexadecanoic acid, ethyl ester	4.251
	6 油酸乙酯 linoleic acid ethyl ester	0.826
	7 亚麻酸乙酯 9,12,15-octadecatrienoic acid, ethyl ester	0.959
	8 角鲨烯 squalene	3.359
	9 维生素 E vitamin E	4.396
	10 维生素 K phytonadione	1.056
叶的乙 酸乙酯 提取液	1 α -蒎烯 α -pinene	1.652
	2 十四烯 tetradecene	1.130
	3 植醇 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	14.680
	4 植物醇乙酯 phytol, acetate	2.816
	5 二十炔 3-eicosyne	4.603
	6 十六酸乙酯 hexadecanoic acid, ethyl ester	1.138
	7 豚草素 ambrosin	1.364
	8 角鲨烯 squalene	1.697

3 讨论

化感作用是外来入侵植物成为优势群落的主要因素之一^[6]。植物的叶、果实、茎和根是植物释放化感物质的主要部位,其通过淋溶、凋零物、挥发和根系分泌物等方式释放化感物质^[19]。这些化感物质通过作用于植物种子和幼苗,影响周围植物物种的分布^[20]。如蒋智林等^[21]报道紫茎泽兰、小飞蓬、飞机草和肿柄菊等 4 种植物叶的水提液能明显抑制狗牙根种子萌发。梁晓华等^[22]报道,肿柄菊的根、茎和叶水提液能明显抑制玉米、水稻、油菜、豌豆、绿豆的发芽及生长。王丽等^[11]报道肿柄菊茎叶水提液能明显抑制水田稗草种子萌发和幼苗生长。本研究发现,肿柄菊根、茎和叶的无水乙醇提取液和乙酸乙酯提取液对千金子种子的萌发和幼苗生长具有明显的抑制作用。这与 MIRANDA 等^[23]报道的肿柄菊不同组织对禾本科杂草稗草(*Echinochloa crusgalli* L.)和臂形草[*Urochloa decumbens* (Stapf) R.D. Webster]的研究结果相同。

植物在遭受外界干旱、水淹、冷冻和农药胁迫等逆境时,其体内积累过量的过氧化氢(H_2O_2)、超氧阴离子(O_2^-)和羟自由基($-OH$)等活性氧成分(ROS),ROS 积累过多会对植物产生严重伤害,导致细胞膜脂过氧化,加速植物的衰老,甚至死亡^[24-25]。通过酶促系统清除,可延缓植物衰老^[26]。超氧化歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)是植物抗氧化系统中的主要酶,这 3 种酶通过协同作用维持植物体内的自由基含量,使其保持稳态水平,防止由于自由基引起的植物生理生化上的改变。其中,SOD 是生物体内清除自由基的首要物质,其将 O_2^- 歧化 H_2O_2 和 O_2 ,可对抗与阻断因氧自由基对细胞造成的损害,并及时修复受损细胞^[27]。CAT 将剩余 H_2O_2 催化为 H_2O 和 O_2 ^[26]。POD 是酚类化合物的重要氧化酶,在有酚类化合物聚合成木质素的过程中具有重要作用,使细胞壁增厚,提高组织的抗胁迫能力^[28]。如左应萍等^[29]报道蛇床子微乳剂、氟吡菌酰胺悬浮剂和腈菌唑乳油可以提高烟草 SOD 和 CAT 酶活性,防治烟草白粉病。张瑜瑜等^[30]报道,外源水杨酸处理采摘后的蓝莓能提高 SOD 和 POD 酶活性,减缓自由基的含量,增加蓝莓保质期。本研究表明,肿柄菊的根、叶的无水乙醇和乙酸乙酯提取液能降低 SOD 酶活性,

茎的乙酸乙酯提取液和无水乙醇提取液降低 SOD 酶和 CAT 酶活性，根的乙酸乙酯提取液能降低 POD 酶活性。因此，千金子细胞清除肿柄菊根、茎和叶提取液所产生的自由基的能力降低，导致幼苗生长受到抑制，是肿柄菊提取液对千金子产生防治效果的重要因素。

植物次生代谢物质是植物发挥化感作用的主要成分，现代研究发现，具有化感作用的物质有 10 多万种，包括萜类、酚类、糖和糖苷类、生物碱和非蛋白质氨基酸类等 14 种，其中酚类、萜类和低分子的有机酸是最为常见的化感物质^[2]。2015 年，MIRANDA 等^[23]报道肿柄菊根、茎、叶的乙酸乙酯提取液中的倍半萜内酯类成分 1 β -methoxydiversifolin, tagitinin A 和 tagitinin C 是肿柄菊抑制稗草和臂形草生长的活性成分。本研究采用 GC-MS 分析肿柄菊茎、叶的乙酸乙酯和无水乙醇提取液中化合物发现，肿柄菊提取液中含有萜类、酚类、酰胺类、酯类及烃类。其中，萜类和酚类成分含量较高。萜类成分主要为 α -蒎烯和植醇，酚类成分主要为 2,5-二乙酰基-6-羟基苯并呋喃和维生素 E。陈金慧等^[6]报道 α -蒎烯是五爪金龙对三叶鬼针草产生化感作用的活性成分之一。AL-ROWAILY 等^[31]报道来自沙特阿拉伯和印度的鹿角菊 (*Calotropis procera*) 释放的挥发油能抑制鬼针草 (*Bidens ilosa*) 的生长，其挥发油均以萜类成分为主，在这些萜类中均含有植醇。李春英等^[32]报道苘麻挥发油中的萜类成分对小麦、玉米和大豆的萌发具有较强的抑制作用，其中植醇在苘麻萜类中含量最高。由此推知，植醇可能对植物生长具有一定的化感作用。维生素 E 是植物自我修复的主要成分，其能清除脂质过氧化产生的自由基，对植物具有保护作用^[33]。由此推测，肿柄菊中的萜类成分 (α -蒎烯和植醇) 和酚类成分 (2,5-二乙酰基-6-羟基苯并呋喃) 是肿柄菊对千金子产生化感作用的活性成分，对此还需进一步验证。

参考文献

- [1] NGUYEN D T C, TRAN T V, KUMAR P S, DIN A T M, JALIL A A, VO D V N. Invasive plants as biosorbents for environmental remediation: a review[J]. Environmental Chemistry Letters, 2022(20): 1-31.
- [2] 师小平, 陈银萍, 闫志强, 罗永清, 李玉强, 丁浚刚, 顾海帆. 植物化感作用研究进展[J]. 生物技术通报, 2020, 36(6): 215-222.
- [3] SHI X P, CHEN Y P, YAN Z Q, LUO Y Q, LI Y Q, DING J G, XIE H F. Research progress on plant allelopathy[J]. Biotechnology Bulletin, 2020, 36(6): 215-222. (in Chinese)
- [3] 龙绛雪, 李依鸿, 黄素丹. 鬼针草和肿柄菊提取物对小白菜种子萌发的化感作用[J]. 厦门理工学院学报, 2021, 29(5): 83-89.
- [4] LONG J X, LI Y H, HUANG S D. The allelopathy of *Bidens pilosa* and *Tithonia diversifolia* extracts on the germination of chinese cabbage (*Brassica campestris*)[J]. Journal of Xiamen University of Technology, 2021, 29(5): 83-89. (in Chinese)
- [4] 杨云海, 赵芸, 范黎明, 王凯博, 苏发武, 查友贵, 叶敏. 紫茎泽兰水提物对两种旱地作物种子萌发及幼苗生长的化感效应[J]. 江西农业学报, 2021, 33(7): 68-74.
- [4] YANG Y H, ZHAO Y, FAN L M, WANG K B, SU F W, ZHA Y G, YE M. Allelopathic effect of aqueous extracts from ageratina adenophora on seed germination and seedling growth of two crops[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2021, 33(7): 68-74. (in Chinese)
- [5] 蒋智林, 杨丽萍, 申科, 刘万学. 4 种菊科入侵植物叶水浸提液对狗牙根种子萌发的化感作用[J]. 西南农业学报, 2020, 33(12): 2943-2947.
- [5] JIANG Z L, YANG L P, SHEN K, LIU W X. Allopathic effects of aqueous extracts from leaves of four invasive composite plants on seed germination of *Cynodon dactylon*[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2020, 33(12): 2943-2947. (in Chinese)
- [6] 陈金慧, 马慧燕, 陈煜, 何禾. 五爪金龙两种化感作用途径释放的化学成分分析及其效应研究[J]. 草业学报, 2022, 31(2): 88-100.
- [6] CHEN J H, MA H Y, CHEN Y, HE H. A study of chemicals released as volatiles or by rain leaching from *Ipomoea cairica* and their allelopathic effects[J]. Acta Pratacul Turae Sinica, 2022, 31(2): 88-100. (in Chinese)
- [7] JABRAN K, MAHAJAN G, SARDANA V, CHAUHAN B S. Allelopathy for weed control in agricultural systems[J]. Crop Protection, 2015, 72:57-65.
- [8] DAI G, WANG S, GENG Y, DAWAZHAXI, OU X, ZHIMING Z. Potential risks of *Tithonia diversifolia* in Yunnan Province under climate change[J]. Ecological Research, 2020, 36(1): 129-144.
- [9] 陈剑, 王四海, 朱枫, 袁春明. 外来入侵植物肿柄菊在云南的扩散风险研究[J]. 广西植物, 2021, 41(5): 789-798.
- [9] CHEN J, WANG S H, ZHU F, YUAN C M. Risk evaluation of *Tithonia diversifolia* dispersal in Yunnan Province, China[J]. Guihaia, 2021, 41(5): 789-798. (in Chinese)
- [10] CHUKWUKA K S, OGUNYEMI S, FAWOLE I. Ecological distribution of *Tithonia diversifolia* (Hemsl). A. Gray – A

- new exotic weed in Nigeria[J]. *Journal of Biological Science*, 2007, 7: 709-719.
- [11] 王丽, 范志伟, 沈奕德, 李晓霞, 黄乔乔, 程汉亭, 刘丽珍. 肿柄菊茎叶提取物除草活性的研究[J]. *热带作物学报*, 2012, 33(5): 919-923.
WANG L, FAN Z W, SHEN Y D, LI X X, HUANG Q Q, CHEN H T, LIU L Z. Herbicidal activity of the extracts of the stems and leaves from *Tithonia diversifolia*[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2012, 33(5): 919-923. (in Chinese)
- [12] KATO-NOGUCHI H. Involvement of allelopathy in the invasive potential of *Tithonia diversifolia*[J]. *Plants*, 2020, 9(6): 766-774.
- [13] 田学军, 沈云玫, 陶宏征, 沈登荣, 何超. 入侵植物肿柄菊对三叶鬼针草的化感作用[J]. *生态环境学报*, 2015, 24(7): 1128-1131.
TIAN X J, SHEN Y M, TAO H Z, SHEN D R, HE C. Allelopathy of invasive *Tithonia diversifolia* on *bidens pilosa*[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2015, 24(7): 1128-1131. (in Chinese)
- [14] SUZUKI, IWASAKI, SUENAGA, KATO N. Phytotoxic property of the invasive plant *Tithonia diversifolia* and a phytotoxic substance[J]. *Acta Biologica Hungarica*, 2017, 68(2): 187-195.
- [15] 吴尚, 张纪利, 李保同, 汤丽梅. 千金子对水稻生长的影响及其经济阈值[J]. *中国农业科学*, 2015, 48(3): 469-478.
WU S, ZHANG J L, LI B T, TANG L M. Influence of *Lep-*tochloa chinensis** on the growth of paddy rice and its economic threshold[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(3): 469-478. (in Chinese)
- [16] 于敏, 范斌, 袁奇军, 侯剑, 于淑华, 韩晓阳, 黄晓琴. 海藻提取物对茶树抗寒性的影响研究[J]. *茶叶通讯*, 2021, 48(4): 652-662.
YU M, FAN B, YUAN Q J, HOU J, YU S H, HAN X Y, HUANG X Q. Effect of seaweed extract on cold resistance of tea plant[J]. *Journal of Tea Communication*, 2021, 48(4): 652-662. (in Chinese)
- [17] DHINDSA R. Leaf senescence: correlation with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and increased levels of superoxide dismutase and catalase[J]. *Journal of Experimental Botany* 1981, 32(1): 93-101.
- [18] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学试验指导[D]. 广州: 华南理工大学出版社, 2006: 68-77.
CHEN J X, WANG X F. Experimental guide for plant physiology[D]. Guanzhou: South China University of Technology Press, 2006: 68-77. (in Chinese)
- [19] ALBUQUERQUE M, SANTOS E X, LIMA F, FILHO A, NOGUEIRA R, CÂMARA C, ALBUQUERQUE B, SANTOS L, CAMARA G. Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems[J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2010, 31(2): 379-395.
- [20] 平晓燕, 王铁梅. 植物化感作用的生态学意义及在草地生态系统中的研究进展[J]. *草业学报*, 2018, 27(8): 175-184.
PIN X Y, WANG T M. Ecological significance of plant allelopathy and progress in allelopathy research in grassland ecosystems[J]. *Acta Pratacul Turae Sinica*, 2018, 27(8): 175-184. (in Chinese)
- [21] 蒋智林, 杨丽萍, 申科, 刘万学. 4种菊科入侵植物叶水浸提液对狗牙根种子萌发的化感作用[J]. *西南农业学报*, 2020, 33(12): 2943-2947.
JIANG Z L, YANG L P, SHEN K, LIU W X. Allopathic effects of aqueous extracts from leaves of four invasive compositae plants on seed germination of *Cynodon dactylon*[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 33(12): 2943-2947. (in Chinese)
- [22] 梁晓华, 李璐, 王波, 田敏, 徐成东. 肿柄菊水浸液对5种植物的化感作用[J]. *江苏农业科学*, 2013, 41(1): 99-103.
LIANG X H, LI L, WANG B, TIAN M, XU C D. Allopathic effects of aqueous extracts of *Tithonia diversifolia* on five plants[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2013, 41(1): 99-103. (in Chinese)
- [23] MIRANDA M, VARELA R M, TORRES A, MOLINILLO J, MACÍAS F A. Phytotoxins from *Tithonia diversifolia*[J]. *Journal of Natural Products*, 2015, 78(5): 1083.
- [24] JAMBUNATHAN N. Determination and detection of reactive oxygen species (ros), lipid peroxidation, and electrolyte leakage in plant[J]. *Methods Molecular Biology*, 2010, 639: 292-298.
- [25] XIN A Y, LI X Z, JIN H, YANG X Y, ZHAO R M, LIU J K, QIN B. The accumulation of reactive oxygen species in root tips caused by autotoxic allelochemicals – A significant factor for replant problem of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels[J]. *Industrial Crops and Products*, 2019, 138(2009): 111432-111439.
- [26] HASANUZZAMAN M, BHUYAN M, ZULFIQAR F, RAZA A, MOHSIN S M, MAHMUD J A, FUJITA M, FOTOPOULOS V. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(8): 14-52.
- [27] 魏婧, 徐畅, 李可欣, 贺洪军, 徐启江. 超氧化物歧化酶的研究进展与植物抗逆性[J]. *植物生理学报*, 2020, 56(12): 2571-2584.
WEI J, XU C, LI K X, HE H J, XU Q J. Advances in superoxide dismutase research and plant stress resistance[J]. *Plant physiology Journal*, 2020, 56(12): 2571-2584. (in Chinese)

- [28] 黄小芳, 李勇, 易茜茜, 丁万隆. 五种化感物质对人参根系酶活性的影响[J]. 中草药, 2010, 41(1): 117-121.
HUANG X F, LI Y, YI X X, DING W L. Effects of five allelochemicals on enzyme activity in *Panax ginseng* roots[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2010, 41(1): 117-121. (in Chinese)
- [29] 左应萍, 朱丹瑞, 陈明珠, 魏嘉好, 彭丽娟. 几种药剂对烟苗白粉病防效初探及抗氧化代谢影响[J]. 山地农业生物学报, 2022, 41(1): 11-20.
ZUO Y P, ZHU D R, CHEN M Z, WEI J Y, PENG L J. Preliminary study on the control effect of several fungicides on tobacco powdery mildew and the effects of antioxidant metabolism[J]. Journal of Mountain Agriculture and Biology, 2022, 41(1): 11-20. (in Chinese)
- [30] 张瑜瑜, 陈泽斌, 用成健, 刘佳妮, 姚丽媛, 华金珠, 范志伟. 外源水杨酸处理对蓝莓采后生理及贮藏品质的影响[J]. 西南农业学报, 2022, 35(1): 168-175.
ZHANG Y Y, CHEN Z B, YONG C J, LIU J N, YAO L Y, HUA J Z, FAN Z W. Effects of exogenous SA treatment on postharvest physiology and storage quality of blueberries[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2022, 35(1): 168-175. (in Chinese)
- [31] AL-ROWAILY S L, ABD-ELGAWAD A M, ASSAEED A M, ELGAMAL A M, ELSHAMY A I. Essential oil of *calotropis procera*: comparative chemical profiles, antimicrobial activity, and allelopathic potential on weeds[J]. Molecules, 2020, 25(21): 5203.
- [32] 李春英, 田瑶, 于美婷, 赵春建. 苘麻挥发油对小麦、玉米和大豆萌发及幼苗生长的化感作用[J]. 应用生态学报, 2020, 31(7): 2251-2256.
LI C Y, TIAN Y, YU M T, ZHAO C J. Allelopathic effects of velvetleaf volatile oil on germination and seedling growth of wheat, maize, and soybean[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2020, 31(7): 2251-2256. (in Chinese)
- [33] 舒骏, 成向荣, 虞木奎, 张慧. 刈割对五节芒化感作用及次生代谢物质的影响[J]. 草地学报, 2016, 24(1): 76-83.
SHU J, CHEN X R, YU M K, ZHANG H. Effects of mowing on *Miscanthus floridulus* allelopathy and secondary metabolites[J]. Acta Pratacul Turae Sinica, 2016, 24(1): 76-83. (in Chinese)