

黄花蒿浸提液对小麦幼苗的化感作用及其机理研究^{*}

王 硕, 慕小倩, 杨 超, 曹翠兰

(西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 以黄花蒿为供体, 小麦为受体, 运用室内培养皿法研究了黄花蒿浸提液对小麦的化感作用及其作用机理。结果表明, 黄花蒿水浸提液能抑制小麦幼苗根长、根毛和苗高的生长, 且浸提液质量浓度越大, 抑制效果越显著。随着黄花蒿浸提液质量浓度的增加, 小麦幼苗超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性均呈先升高后降低的趋势, 而过氧化物酶(POD)活性总体呈上升趋势; 黄花蒿浸提液还能使小麦幼苗丙二醛(MDA)含量升高, 可溶性蛋白含量下降。

[关键词] 黄花蒿; 水浸提液; 化感作用; 保护酶; 丙二醛; 可溶性蛋白

[中图分类号] S512 101

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)06-0106-05

Allopathy 早期被译为他感作用或异株克生, 1992 年国家自然科学名词审定委员会正式定名为“化感作用”。化感作用是指高等植物次生代谢产生的化学物质释放到环境中, 对其临近植物或自身产生的不利或有利作用^[1]。化感作用的研究对于生态系统中植被的形成和演替, 植物生长和发育的调节具有重要意义。在农业生产方面, 随着化学除草剂的大量使用, 导致环境污染以及杂草抗药性的产生, 而利用某些植物的化感作用, 通过轮作、间作、覆盖^[2]等栽培措施在很大程度上可以减少化学除草剂的使用, 这对农业可持续发展具有极为重要的意义。因此, 从 20 世纪 80 年代起化感作用研究逐渐引起世界各国有关学者的普遍重视^[2-4]。

黄花蒿 (*Artemisia annua* L.) 又名臭蒿、青蒿, 为菊科蒿属 (*Artemisia*) 一年生草本植物^[5], 其在麦田、棉田、休闲地及春季和秋季皆有发生, 幼苗呈淡绿色。黄花蒿已知成分有青蒿素、青蒿酸、香豆酸、黄酮、甾醇、香豆醇、异黄酮、挥发油等^[6]。20 世纪 70 年代科学工作者从黄花蒿植株中分离出的青蒿素, 对脑型疟疾和抗氯喹性疟疾有很好的疗效^[7], 从而引起国内外医学界的广泛关注^[8]。Lyden 等^[9]研究发现, 青蒿素以及黄花蒿的其他水和脂溶剂浸提物对多种杂草有抑制生长的作用。本课题组在研究中发现, 一定浓度的黄花蒿水浸提液对植物生长有强烈的抑制作用。为此, 本研究通过测定黄花蒿全株水

浸提液处理小麦幼苗的根长、苗高、根毛长度及酶活性, 研究不同质量浓度浸提液对小麦幼苗的化感作用, 以为黄花蒿的合理开发利用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材 料

1.1.1 供体材料 野生菊科植物黄花蒿 (*Artemisia annua* L.), 于 6~7 月采集于陕西杨凌周边地区, 全株经风干后粉碎, 过 40 目 (0.45 mm 孔径) 筛, 于 4℃ 冰箱冷藏备用。

1.1.2 受体材料 小麦 (*Triticum aestivum* L.) 品种小偃 22, 购于陕西杨凌种子公司。

1.2 方 法

1.2.1 供试小麦种子处理 选取健康饱满的小麦种子, 用质量分数 10% 次氯酸钠溶液浸泡 10 min 后, 用蒸馏水冲洗 5 次, 24℃ 催芽 24 h, 挑选露白一致的小麦种子进行测试。

1.2.2 黄花蒿对小麦根长和苗高及根毛生长的影响 分别称取 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 g 黄花蒿干粉, 平铺于培养皿底, 盖上滤纸, 每皿加入 10 mL 蒸馏水, 使黄花蒿浸提液的终质量浓度分别为 0, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04 g/mL, 以未加黄花蒿干粉的空白皿作为对照 (CK), 浸泡 24 h 后, 每皿摆放 20 粒小麦种子。每处理设 3 个重复。每天补加适量蒸馏水使小麦种子于 (24 ± 1)℃、4 000 lx 光照下正常生

^{*} [收稿日期] 2005-09-22

[基金项目] 西北农林科技大学重点资助项目

[作者简介] 王 硕 (1979-), 男, 陕西宝鸡人, 在读硕士, 主要从事生物多样性保护与利用研究。

[通讯作者] 慕小倩 (1964-), 女, 陕西吴堡人, 教授, 硕士生导师, 主要从事植物学研究。

长。分别在第 3, 5 和 7 天观察和测量不同处理条件下小麦幼苗的根长、苗高以及根毛的数量和长度。

1.2.3 黄花蒿对小麦生理生化指标的影响 (1) 酶液的提取。准确称取 0.5 g 培养 10 d 的小麦叶片, 剪碎, 加入磷酸缓冲液 (pH 7.8), 冰浴研磨至匀浆, 4℃, 10 000 r/min 离心 15 min, 取上清液备用。(2) 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性的测定参照高俊风^[10]的方法。过氧化物酶 (POD) 活性与丙二醛 (MDA) 含量测定参照文献^[11]的方法。可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 法。

1.2.4 数据处理方法 参照 Lin 等^[12]的方法, 以化感作用抑制率 (Inhibitory rate, IR) 作为化感作用的研究指标。 $IR/\% = (T_i - T_0) \div T_0 \times 100\%$, 式中, T_i 为测试项目的处理值, T_0 为对照值。 $IR \geq 0$ 表示具有促进作用, $IR < 0$ 表示具有抑制作用。 IR 绝对

值越大, 其化感作用潜力 (促进或抑制作用) 越大。

2 结果与分析

2.1 不同质量浓度黄花蒿浸提液对小麦幼苗生长的影响

从表 1 可以看出, 与对照相比, 黄花蒿浸提液对小麦幼苗生长有显著的抑制作用。不同质量浓度黄花蒿浸提液对根长的抑制作用均为第 5 天> 第 3 天> 第 7 天, 而对苗高的抑制作用均为第 3 天> 第 5 天> 第 7 天。在培养第 3 天, 不同质量浓度黄花蒿浸提液对根长和苗高的抑制作用差异不大, 第 5 天和第 7 天, 对根长的抑制作用明显大于苗高。由表 1 还可知, 随着黄花蒿浸提液质量浓度的增加, 其对小麦根长和苗高的抑制作用逐渐增强。

表 1 不同质量浓度黄花蒿浸提液对小麦幼苗根长和苗高的影响

Table 1 Influence of aqueous extracts of *A. annua* L. of different concentrations on wheat root length and seedling height

黄花蒿 质量浓度/ (g·mL ⁻¹) Concentration of <i>A. annua</i> L.	第 3 天 3th day				第 5 天 5th day				第 7 天 7th day			
	根长/cm Root height	IR/%	苗高/cm Seedling height	IR/%	根长/cm Root height	IR/%	苗高/cm Seedling height	IR/%	根长/cm Root height	IR/%	苗高/cm Seedling height	IR/%
0 (CK)	4.04 aA		3.83 aA		8.31 aA		5.96 aA		12.32 aA		13.40 aA	
0.01	2.38 bB	-41.09	2.41 bB	-37.08	3.50 bB	-57.88	4.09 bB	-31.38	10.08 bB	-18.18	13.34 aA	-0.45
0.02	1.21 cC	-70.05	0.87 cC	-77.28	2.40 cC	-71.12	2.45 cC	-58.89	7.13 cC	-42.13	10.45 bB	-22.01
0.03	0.83 dD	-79.46	0.62 dD	-83.81	1.51 dD	-81.83	1.55 dD	-73.99	4.62 dD	-62.50	8.19 cC	-38.88
0.04	0.57 dD	-85.89	0.55 dD	-85.64	0.99 eE	-88.09	0.96 eE	-83.89	3.95 eE	-67.94	6.12 dD	-54.33

注: 表中数据用新复极差法进行检验。同一列数据后不同小写字母表示差异达 0.05 显著水平, 不同大写字母表示差异达到 0.01 极显著水平。下表同。
Note: Data in this table was tested with SSR, a, b, c, d and e means significantly different at evidence (α) 0.05 level, A, B, C, D and E means significantly different at evidence (α) 0.01 level. The same below.

2.2 不同质量浓度黄花蒿浸提液对小麦幼苗根毛生长的影响

从表 2 可以看出, 与对照相比, 黄花蒿浸提液对小麦根毛生长有明显的抑制作用。随着培养皿中黄花蒿浸提液质量浓度增加, 第 3, 5 和 7 天小麦根毛的长度和数量均逐渐下降。不同质量浓度黄花蒿浸提液对根毛长度的抑制效果为第 5 天> 第 3 天> 第

7 天。随着生长时间的增加, 0, 0.01 和 0.02 g/mL 黄花蒿浸提液处理的小麦根毛长度和数量均在明显增加, 0.03 和 0.04 g/mL 黄花蒿浸提液处理的小麦根毛长度在第 7 天才有明显增加, 而根毛数量增加不明显。由此可知, 高质量浓度黄花蒿浸提液对小麦根毛长度和数量的抑制作用较低质量浓度浸提液的显著。

表 2 不同质量浓度黄花蒿浸提液对小麦幼苗根毛生长的影响

Table 2 Influence of *A. annua* L. of different concentrations on the growth of root hair

黄花蒿 质量浓度/ (g·mL ⁻¹) Concentration of <i>A. annua</i> L.	第 3 天 3th day			第 5 天 5th day			第 7 天 7th day		
	根毛长度/μm Length of root hair	IR/%	根毛数 Quantity of root hair	根毛长度/μm Length of root hair	IR/%	根毛数 Quantity of root hair	根毛长度/μm Length of root hair	IR/%	根毛数 Quantity of root hair
0 (CK)	3.97 aA	—	++++	9.22 aA	-	++++	13.85 aA	-	++++
0.01	2.04 bB	-48.61	++	3.59 bB	-61.06	++	7.34 bB	-47.00	++++
0.02	1.32 cC	-66.75	+	1.61 cC	-82.54	++	5.36 cC	-61.30	+++
0.03	0.61 dD	-85.14	+	0.63 dD	-93.17	+	4.33 dD	-68.74	++
0.04	0.59 dD	-85.14	+	0.61 dD	-93.38	+	3.28 eE	-76.32	++

注: “+”越多, 表示根毛数越多。
Note: The more “+” signifies more root hairs.

2 3 不同质量浓度黄花蒿浸提液对小麦幼苗保护酶活性和丙二醛含量的影响

从图 1~ 4 和表 3 可以看出,随着黄花蒿浸提液质量浓度的增大,SOD 活性及其 IR 值均呈现先升高后降低的趋势。当黄花蒿浸提液质量浓度为 0~ 0.03 g/mL 时,SOD 活性及其 IR 值均随黄花蒿浸提液质量浓度的增加而增大;当黄花蒿浸提液质量浓度为 0.03 ~ 0.04 g/mL 时,SOD 活性及其 IR 值

均随黄花蒿质量浓度增加而降低。随着黄花蒿浸提液质量浓度的增加,POD 活性及其 IR 值逐渐增大。CAT 活性变化趋势与 SOD 大致相同,即随黄花蒿浸提液质量浓度的增大,CAT 活性及其 IR 值均呈现先升高后降低的趋势。小麦幼苗体内MDA 含量及其 IR 值变化趋势与 POD 相同,即MDA 含量及其 IR 值均随黄花蒿浸提液质量浓度的增加而增大。

表 3 黄花蒿浸提液对小麦幼苗保护酶活性和MDA 含量的 IR 值

Table 3 Inhibitory rate of *A. annua* L. on the activity of protective enzymes andMDA content in *T. aestivum* L.

黄花蒿质量浓度/ (g · mL ⁻¹) Concentration of <i>A. annua</i> L.	IR /%			
	SOD	POD	CAT	MDA
0.04	+ 98.75	+ 102.70	+ 1.88	+ 187.78
0.03	+ 151.30	+ 87.74	+ 2.71	+ 165.61
0.02	+ 124.48	+ 56.47	+ 2.90	+ 130.32
0.01	+ 89.21	+ 35.25	+ 2.40	+ 25.79
0	—	—	—	—

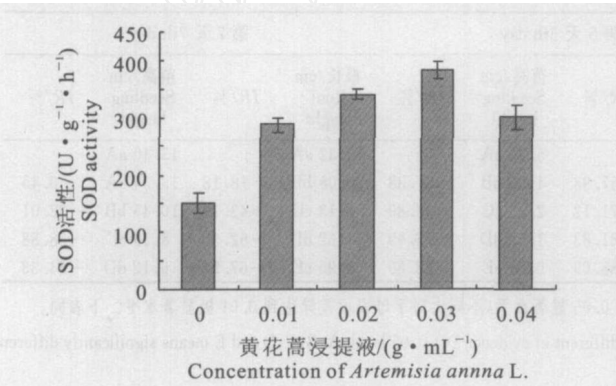


图 1 不同质量浓度黄花蒿浸提液对小麦 SOD 活性的影响

Fig. 1 Effect of *A. annua* L. aqueous extracts on SOD activity in *T. aestivum* L.

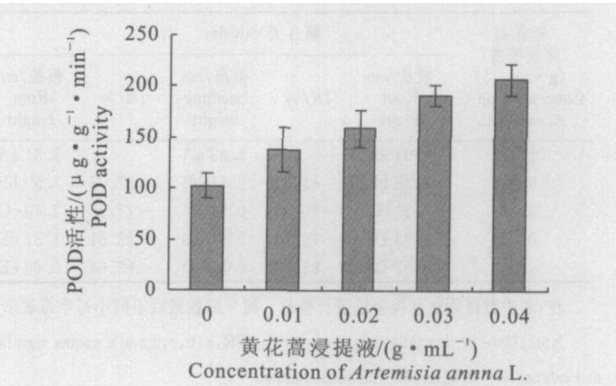


图 2 不同质量浓度黄花蒿浸提液对小麦 POD 活性的影响

Fig. 2 Effect of *A. annua* L. aqueous extracts on POD activity in *T. aestivum* L.

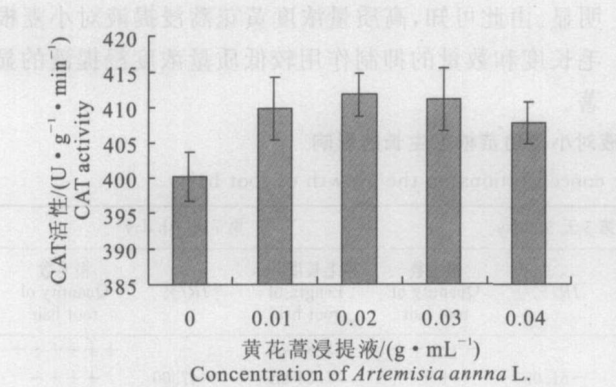


图 3 不同质量浓度黄花蒿浸提液对小麦 CAT 活性的影响

Fig. 3 Effect of *A. annua* L. aqueous extracts on CAT activity in *T. aestivum* L.

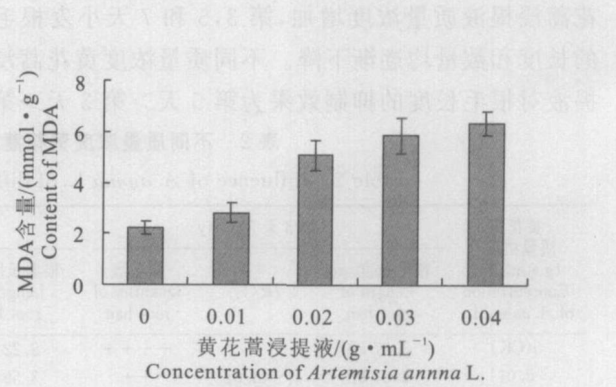


图 4 不同质量浓度黄花蒿浸提液对小麦 MDA 含量的影响

Fig. 4 Effect of *A. annua* L. aqueous extracts on the content of MDA in *T. aestivum* L.

2.4 不同质量浓度黄花蒿浸提液对小麦幼苗可溶性蛋白含量的影响

从图5可以看出,随着培养皿中黄花蒿浸提液质量浓度的增加,小麦幼苗体内的可溶性蛋白含量呈下降趋势,分别较对照下降了18.80%,22.66%,28.62%和32.94%。

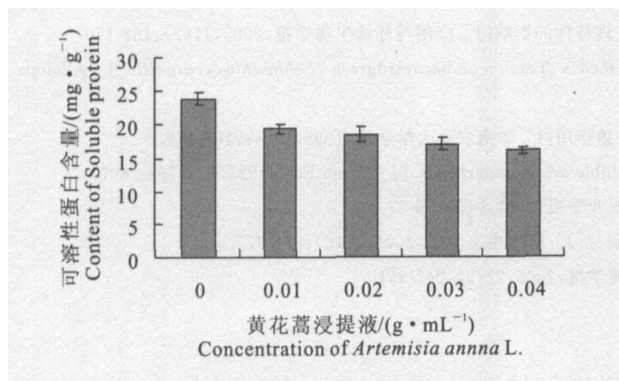


图5 黄花蒿全株水浸提液对小麦幼苗可溶性蛋白含量影响

Fig 5 Effect of *A. annua* L. aqueous extracts on soluble protein content in *T. aestivum* L.

3 结论与讨论

3.1 黄花蒿浸提液对小麦幼苗和根毛生长的影响

黄花蒿植株所含的萜类化合物是其自身的次生代谢产物,具有很强的化感作用。过去认为萜类化合物在水中的溶解度很低,有时甚至不溶解。但是近年来谷文祥等^[13]和Weidenhamer等^[14]研究发现,萜类在水中的溶解性远远高于其生物活性浓度。本试验中,0.01~0.04 g/mL 黄花蒿水浸提液对小麦幼苗根长、苗高和根毛的生长均有抑制作用,说明黄花蒿体内的化感物质能溶解于水中并对小麦产生化感效应。由此可知,自然界中的黄花蒿可以通过淋溶、腐解或其他方式对其他植物产生化感作用。

3.2 黄花蒿化感作用机理

植物体内的SOD、POD和CAT三者只有相互协调,处于动态平衡状态才能有效清除代谢过程中产生的活性氧,防止活性氧引起的膜质过氧化及其他伤害过程,单一的抗氧化酶或抗氧化物均不足以

防御氧胁迫。而生长在逆境条件下的植物,由于氧自由基的毒害会发生膜脂过氧化作用,其产物丙二醛会严重损伤细胞膜系统。因此,丙二醛含量反映了膜脂氧化的程度。何华勤等^[15],林文雄等^[16]报道,水稻叶片浸提液能显著抑制稗草SOD和POD活性,促进MDA含量的增加。耿广东等^[17]报道,当西瓜植株水浸提液质量浓度为0.00~0.05 g/mL时,随其质量浓度的提高,莴苣叶片MDA含量增高,SOD活性呈先降低后升高的趋势,POD的活性则呈先升高后降低的趋势,而CAT活性先降低后升高然后再降低。本试验结果表明,小麦体内的SOD、POD和CAT可通过提升酶活力来抵御黄花蒿对其产生的胁迫。但是随着黄花蒿水浸提液质量浓度的增加,SOD和CAT酶活力开始下降,这可能是由于黄花蒿水浸提液的胁迫程度超过了SOD和CAT的调节能力。随着黄花蒿水浸提液质量浓度的增加,POD活性一直升高,但是活性氧的消除是多种保护酶相互协调、共同起作用的,因此小麦体内膜脂过氧化程度还是在加深。

生长在逆境环境中的植物其代谢反映变化趋势相同,即水解作用增强,合成作用减弱。由本研究结果可知,随着黄花蒿水浸提液质量浓度的增加,可溶性蛋白含量呈下降趋势,这可能是因为生长在含有黄花蒿环境中的小麦幼苗的生长受到抑制,其体内的水解作用增强,将可溶性蛋白降解为氨基酸。这种代谢失调最终产生植物的伤害作用。

本试验认为,黄花蒿植株内的化感物质影响了小麦幼苗体内保护酶的活性,造成了膜脂过氧化程度的加剧,破坏了膜的结构和功能。破坏膜结构和功能是黄花蒿化感作用的机制之一,而且可能是多种化感效应的起始点。但是,植物的化感作用机制是一个十分复杂的生理生化过程,必须多方面、深层次、多学科的进行研究。同样,黄花蒿对小麦幼苗的化感作用机理也不可能是单一的生理机制影响,其导致氧自由基含量升高只是其中的一个方面。这有待于对其进行深入研究,从而对黄花蒿的化感作用有深入的了解,为其开发和利用提供有用的理论依据。

[参考文献]

- [1] 周 凯,郭文明,徐迎春. 菊科植物化感作用研究进展[J]. 生态学报, 2004, 24(8): 1776-1784
- [2] 阎 飞,杨振明,韩丽梅. 论农业持续发展中的化感作用[J]. 应用生态学报, 2001, 12(4): 633-635
- [3] 李寿田,周健民,王火焰,等. 化感作用在杂草控制中的作用[J]. 中国生态农业学报, 2003, 11(1): 104-106
- [4] Nagabhushana G G, Worsham A D, Yenish J P. Allelopathy cover crops to reduce herbicide use in sustainable agricultural systems[J]. A L-

- lelopathy J, 2001, 8(2): 133-146
- [5] 慕小倩, 马 燕, 王 硕, 等. 黄花蒿化感作用机理的初步研究[J]. 西北植物学报, 2005, 25(5): 1025-1028
- [6] 王三根, 梁 颖. 中药青蒿的生态生理及其综合利用[J]. 中国野生植物资源, 2003, 22(4): 47-50
- [7] 李玉平, 龚 宁, 慕小倩, 等. 菊科植物资源及其开发利用研究[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2003, 31(增刊): 150-156
- [8] Layman D L. Qinghaosu (Artemisinin): an antimalarial drug from China[J]. Journal of Science, 1985, 228: 1152-1153
- [9] Lyden J, Teasdale J R, Chen P K. Allelopathic activity of annual wormwood (*Artemisia annua*), is a selective phytotoxin[J]. Journal of Weed Sci, 1997, 45(6): 807-811
- [10] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000: 194-199
- [11] 莫 英, 傅华龙, 卿人韦, 等. 生长温度对盾叶薯蓣 POD 活性等生理特性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2005, 11(2): 168-170
- [12] Lin W X, Kim K U, Smith D H. Rice allelopathic potential and its modes of action on barnyardgrass (*Echinochloa crusgalli*) [J]. Allelopathy J, 2000, 7(2): 215-224
- [13] 谷文祥, 段舜山, 骆世明. 萜类化合物的生态特性及其对植物的化感作用[J]. 华南农业大学学报, 1998, 19(4): 108-112
- [14] Weidenhamer J D, Macias F A, Fischer N H, et al. Just how insoluble are monoterpenes [J]. Chem Ecol, 1993, 19: 1799-1807
- [15] 何华勤, 林文雄. 水稻化感作用生理生化特性研究[J]. 中国生态农业学报, 2001, 9(3): 56-57
- [16] 林文雄, 何华勤, 郭玉春, 等. 水稻化感作用及其生理生化特性的研究[J]. 应用生态学报, 2001, 12(6): 871-875
- [17] 耿广东, 程智慧, 孟焕文, 等. 西瓜化感作用及其机理研究[J]. 果树学报, 2005, 22(3): 247-251

Allelopathy and its mechanism of extract solution of *Artemisia annua* L. on wheat

WANG Shuo, MU Xiao-qian, YANG Chao, CAO Cui-lan

(College of Life Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract Regarding *Artemisia annua* L. as donor plant and wheat as receiver plant allelopathy actions and allelopathy mechanisms of *A. annua* L. were studied, by adopting indoor Petri dish bioassay. The results showed that the water extract solution of *A. annua* L. remarkably inhibited the growth of wheat roots, wheat seedlings and root hair, and this inhibition became stronger as the concentration of the extract solution increased. With the concentration of the extraction solution increased the activity of SOD and CAT *in vivo* first increased and then decreased, while the activity of POD increased on the whole. And the extract solution of *A. annua* L. increased the content of MDA, and decreased the content of soluble protein.

Key words: *Artemisia annua* L.; water extract solution; allelopathy; protection enzyme; MDA; soluble protein