

桉树叶水浸提液对 4 种植物种子化感作用的生物测定

朱宇林¹, 谭 萍¹, 陆绍锋², 张贵强², 曾英玲¹

(1. 玉林师范学院 化学与生物系, 广西 玉林 537000; 2. 广西斯道拉恩索林业有限公司, 广西 玉林 537000)

摘 要:选取广林桉 9 号叶组织作为供体, 绿豆、水稻、芥菜、油菜为受体, 运用室内培养皿生物测定方法研究了桉树叶水浸提液的化感作用。结果表明: 桉树叶水浸提液对绿豆和水稻种子萌发的抑制作用不明显, 但对受体植物芥菜和油菜种子的化感作用达显著的水平。桉树叶水浸提液对 4 种受体植物的根长和苗高均有一定的抑制作用, 且抑制作用随着浓度的增大而加强。桉树叶水浸提液处理使 4 种受体植物幼苗丙二醛(MDA)含量增加, 但其根系活力却明显降低。

关键词:桉树; 浸提液; 种子萌发; 化感作用

中图分类号: S792.39 文献标志码: A 文章编号: 1001-7461(2011)01-0134-04

Bioassay of Allelopathic Activity of Water Extract of *Eucalyptus* Leaves on Seed Germination of Different Kinds of Plants

ZHU Yu-lin¹, TAN Ping¹, LU Shao-feng², ZHANG Gui-qiang², ZENG Ying-ling¹

(1. Department of Chemistry and Biology, Yulin Normal University, Yulin, Guangxi 537000, China;

2. Guangxi Sora Enso Forestry Co., Ltd, Yulin, Guangxi 537000, China)

Abstract: In order to study the allelopathic effect of water extract of *Eucalyptus* leaves, the germination rate and germination index of *Vigna radiate*, *Oryza sativa*, *Brassica juncea*, *Brassica campestris* were tested with aqueous extracts of *Eucalyptus* leaves by adopting indoor petri-dish bioassay. The results showed that the water extracts of *Eucalyptus* leaves inhibited significantly the germination of *Brassica juncea* and *Brassica campestris*, but had no strong effect on *Vigna radiate* and *Oryza sativa*. The extract inhibited the growth of the roots and stems of four receptor plants, and the inhibition exhibited concentration dependence. Some physiological and biochemical indices of the treated receptor plants indicated that water extract of *Eucalyptus* leaves increased the MDA contents, and remarkably reduced the root vigor.

Key words: *Eucalyptus*; water extract; seed germination; allelopathy

桉树(*Eucalyptus*)具有种类多、生长快、耐瘠薄、干形好、用途广的特点, 是我国华南各省区最重要和栽培面积最大的速生阔叶造林树种。然而, 桉树的大量引种栽植, 也带来了一些颇具争议的生态环境问题, 如土壤退化、土地生产力下降、生物多样性减弱等^[1-6]。其中, 化感作用是按树人工材生态系统中颇受关注的生态现象, 其表现形式是抑制其他植物及林下植被甚至土壤中的微生物生长, 导致林地群落结构简单、生物多样性减弱和生态环境退化等现象, 它对按树人工林群落的结构、功能、效益及

发展均具有重大影响^[7-8]。目前国内外关于桉树化感作用的研究已有不少的报道, 取得的主要成果是桉树化感物质成分分析、化感物质的释放途径^[9]。但对于桉树化感作用的生物测定、受体植物生理生化特性的化感效应及化感作用机理尚缺乏深入系统研究。本文选取绿豆、水稻、芥菜和油菜为受体, 选取广林 9 号作为供体, 开展桉树叶水浸提液化感作用的生物测定及不同受体植物的生理响应, 以选出较为合适的伴生植物种类, 为增加按树人工林生物多样性和群落层次结构及实现速生桉短周期人工林

的可持续经营提供科学理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用玉林师范学院挂榜山广林桉(*Eucalyptus urophylla* × *E. grandis*)9 号新鲜叶片作供体,受体为绿豆(*Vigna radiata*)、水稻(*Oryza sativa*)、芥菜(*Brassica juncea*)、油菜(*Brassica campestris*)等种子,在种子零售点购买。

1.2 桉树叶水浸提液的提取方法

取新鲜桉树叶片洗净剪碎成 1~2 cm,剁碎桉树叶片和蒸馏水按 1:5 的比例配比,即 1 kg 新鲜桉树叶用 5 000 mL 的蒸馏水于恒温 28℃下浸泡 7 d,浸泡过程中不断搅动,过滤后得桉树叶片水浸提取母液。将母液贮存于冰箱(0℃~4℃)冷藏,用于种子的生物测定。

1.3 试验方法

将桉叶浸提母液用蒸馏水稀释成四个不同的处理浓度(桉树鲜叶重:蒸馏水的比例):1:60 g·mL⁻¹,1:40 g·mL⁻¹,1:20 g·mL⁻¹和 1:10 g·mL⁻¹,另设一对照组,只用蒸馏水处理,记作 CK。受体植物分别为绿豆、水稻、芥菜和油菜,挑选大小、饱满度和色泽一致的 50 粒种子分别均匀置于事先清洗、消毒、放有双层滤纸的培养皿中,然后加入不同处理浓度的溶液,在室内自然条件(11~33℃)下培养,每天定时启盖通气 2 次和保证液体浸

泡种子 1/3,每个处理 5 个重复。每天记录发芽种子的数量,直到种子不再萌发时测量根、幼苗鲜重和根长、苗高^[10]。

1.4 各实验指标的测定

按照林木种子检验方法 GB2772-81 分别测定种子萌发率和化感指数(RI)等萌发指标^[10-12]。丙二醛(MDA)含量采用 TBA(硫代巴比妥酸)法测定^[13];根系活力采用氯化三苯基四氮唑法(TTC 法)测定^[13]。数据用 Excel 和 SAS 统计软件分析。

2 结果与分析

2.1 桉树叶水浸提液对不同植物种子萌发的影响

由表 1 和表 2 可看出,桉树叶水浸提液对绿豆和水稻种子萌发有轻微的抑制作用,差异不显著。而对芥菜和油菜种子的化感作用显著($p<0.05$),且随处理液浓度的增高对种子的发芽率、发芽指数、化感指数的抑制作用越明显。处理液浓度为 1:10 g·mL⁻¹时,芥菜和油菜种子不能正常萌发。当处理液浓度为 1:60 g·mL⁻¹和 1:20 g·mL⁻¹,与对照相比,芥菜种子的萌发率分别下降了 27.38%和 77.78%,油菜分别为 16.49%和 53.61%。化感指数是衡量化感作用强度的重要指标,当 1:40 g·mL⁻¹浓度的桉树叶片提取液对受体植物芥菜($RI=0.536$)和油菜($RI=0.351$)就表现出很强的化感作用,随处理浓度的提高,桉树化感作用越明显,也表明芥菜和油菜对桉树的化感效应最为敏感。

表 1 桉树叶水浸提取液对绿豆和芥菜种子萌发和幼苗生长的影响

Table 1 Effect of water extract of *Eucalyptus* leaves on seed germination and seedlings growth of *Vigna radiate* and *Brassica juncea*

处理 /(g·mL ⁻¹)	绿豆						
	萌发率/%	发芽指数	化感指数	根长/cm	抑制率/%	苗高/cm	抑制率/%
CK	100a	25.00a	0.00a	3.37a	0.00	3.21a	0.00
1:60	100a	25.00a	0.00a	1.25b	62.9d	2.34b	27.0c
1:40	100a	25.00a	0.00a	0.81c	76.0c	1.74c	45.8b
1:20	93b	23.25a	0.07a	0.46d	86.4b	1.04d	67.6a
1:10	92b	24.75a	0.08a	0.28e	91.7a	1.01d	68.5a

处理 /(g·mL ⁻¹)	芥菜						
	萌发率/%	发芽指数	化感指数	根长/cm	抑制率/%	苗高/cm	抑制率/%
CK	84a	10.500a	0.000	3.62a	0	1.70	0.0
1:60	61b	7.625b	0.274c	0.29b	92.0	1.70	0.0
1:40	39c	4.875c	0.536b	0.21b	94.2	1.12	34.1
1:20	21d	2.625d	0.750a	0.00	100.0	0.00	100.0
1:10	0	0.000	1.000	0.00	100.0	0.00	100.0

注:表中字母代表差异显著性分析结果($p<0.05$),相同字母表示差异不显著。下同

2.2 桉树叶水浸提液对不同植物幼苗根长和苗高的影响

从表 1 和表 2 可知,桉树叶水浸提取液对 4 种受体植物的根长和苗高均有一定的抑制作用,且抑制作用随着浓度的增大而加强,其中根系受到的抑

制作用十分明显。4 种受体植物中,芥菜和油菜受到桉树化感作用最明显,根系的抑制率均都达到 90%以上。从 4 种受体幼苗生长结果表明,油菜受到的抑制作用最显著,抑制率均达到 50%以上。而绿豆、芥菜、水稻只有在高浓度下表现出较显著的抑

制效应。总的来说,桉树叶水浸提取液中可能存在系化感作用的敏感程度比茎叶明显。能抑制受体植物早期生长的物质,且对受体植物根

表 2 桉树叶水浸提取液对油菜和水稻种子萌发和幼苗生长的影响

Table 2 Effect of water extract of <i>Eucalyptus</i> leaves on seed germination and seedlings growth of <i>Brassica campestris</i> and <i>Oryza sativa</i>							
处理 /(g·mL ⁻¹)	油菜						
	萌发率/%	发芽指数	化感指数	根长/cm	抑制率/%	苗高/cm	抑制率/%
CK	97a	12.125a	0.000	3.04a	0.0	2.26a	0.0
1:60	81b	10.125b	0.165c	0.26b	91.5b	1.99b	56.2b
1:40	63c	7.875c	0.351b	0.22b	92.8ab	1.97b	57.1b
1:20	45d	5.625d	0.536a	0.12c	96.1a	0.65c	71.2a
1:10	0	0.000	1.000	0.00	100.0	0.00	100.0

处理 /(g·mL ⁻¹)	水稻						
	萌发率/%	发芽指数	化感指数	根长/cm	抑制率/%	苗高/cm	抑制率/%
CK	99a	12.375a	0.00	4.04a	0.0	2.95a	0.0
1:60	97a	12.125a	0.02a	1.39b	65.6c	2.71ab	8.1d
1:40	98a	12.25a	0.01a	0.87c	78.5b	1.94c	34.0b
1:20	98a	12.25a	0.01a	0.32d	92.1a	2.27ab	23.1c
1:10	96ab	12.00a	0.03a	0.00	100.0	1.26cd	57.3a

2.3 桉树叶水浸提液对不同植物幼苗丙二醛(MDA)含量的影响

图 1 中,经检验除芥菜幼苗丙二醛(MDA)含量随桉树叶浸提取液处理浓度的改变差异显著外,其他 3 种受体植物差异均不显著。其中油菜的丙二醛含量水平最低,绿豆、芥菜和水稻丙二醛含量水平均较高,表明绿豆、芥菜和水稻在桉树化感作用下的膜脂过氧化程度明显。实验结果也进一步表明,在同等的胁迫条件下,芥菜和绿豆幼苗对逆境的抵抗能力最强,其次是水稻幼苗,最弱的是油菜幼苗。

图 1 桉树叶水浸提液对不同植物幼苗丙二醛(MDA)含量的影响

Fig.1 Effect of water extract of *Eucalyptus* leaves on the MDA content of different plants

2.4 桉树叶水浸提液对不同植物根系活力(TTC)的影响

图 2 表明,4 种不同受体植物的根系活力随着桉树叶水浸提液浓度的增加而下降。除绿豆外,其他 3 种受体植物在 1:10 g·mL⁻¹的处理浓度下不能长出根。总的来说,在整个实验过程中,不同受体植物在高浓度下表现出滞长甚至腐烂而出现烂芽的

现象,但在实验中均没有发现烂茎现象,这也进一步表明桉树叶的化感作用对根系的影响比茎叶显著。

图 2 桉树叶水浸提液对不同植物幼苗根系活力的影响

Fig.2 Effect of water extract of *Eucalyptus* leaves on the root vigor of different plants

3 结论与讨论

结果表明:绿豆种子萌发表现为低浓度下促进萌发,高浓度下稍微抑制萌发,这与郑丽^[12]的研究成果相似。水稻种子萌发受到的影响不大,与赵绍文^[14]的研究结果一致。芥菜和油菜种子萌发均受到桉树叶水浸提取液显著的抑制,并随着处理浓度的增加抑制越显著,甚至出现无芽或霉烂的现象。对于可顺利萌芽的几种受体种子而言,桉树叶水浸提取液可明显降低其种子的萌发指数与活力指数。对受体植物的鲜重、根长、苗高测定结果表明,四种受体植物的生长状况与对照相比均不同程度地受到了桉树化感作用的影响,受体植物的胚轴对不同处理浓度的桉树叶水浸提取液的响应与胚根相似,但敏感性不如胚根,这与前人的研究一致^[15-16], Turk 和 Tawaha^[15]认为这与胚根最先接触化感物质有关。桉树叶水浸提取液对四种受体植物幼苗根

长和苗高的抑制作用降低了受体植物根表面的吸收面积和地上部分光合面积,从而客观上降低了受体植物根的吸收效率和地上部分的光合同化率,其具体表现在处理的鲜重与对照相比均有所降低。

植物器官在逆境条件下或衰老时,往往发生膜脂过氧化作用,丙二醛含量是其产物之一,通常将其做为脂质过氧化指标,用于表示细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱。在对受体植物的MDA含量测定结果表明,桉树叶水浸提液处理后,受体植物幼苗的MDA含量有所升高,其含量的升高可以说明桉树水浸提取液使受体植物细胞的膜脂过氧化程度增高,膜透性增大,即植物对逆境条件反应增强。

4 种不同受体植物的根系活力随着桉树叶水浸提液浓度的增加而下降,表明桉树叶水浸提取液对 4 种不同受体植物种子根的生长具有十分明显的抑制作用。采用坐标综合评定法^[17]对桉树叶水浸提取液化感作用下 4 种受体植物抗性的综合评价,不同品种受体的抗性大小为:芥菜>绿豆>油菜>水稻。芥菜和绿豆可考虑选择为桉树人工林林下植物多样性恢复的主要伴生植物品种。

参考文献:

[1] 项东云,陈健波,刘建,等. 广西桉树资源和木材加工现状与产业发展前景[J]. 广西林业科学,2008,37(4):175-178.
XIANG D Y, CHEN J B, LIU J, *et al.* Current status and development prospect of *Eucalyptus* resources and timber processing in Guangxi [J]. Guangxi Forestry Science, 2008, 37(4):175-178.

[2] 温远光,刘世荣,陈放. 连栽对桉树人工林下物种多样性的影响[J]. 应用生态学报,2005,16(9):1667-1671.
WEN Y G, LIU S R, CHEN F. Effects of continuous cropping on under-storey species diversity in *Eucalyptus* plantations [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2005, 16(9): 1667-1671.

[3] 温远光,刘世荣,陈放,等. 桉树工业人工林植物物种多样性及动态研究[J]. 北京林业大学学报,2005,27(4):17-22.
WEN Y G, LIU S R, CHEN F, *et al.* Plant diversity and dynamics in industrial plantations of *Eucalyptus* [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2005, 27(4):17-22.

[4] 蒋有绪. 海南岛热带土地的退化问题. 人工林地力衰退研究[M]. 北京:中国科技出版社,1992:11-14.

[5] 王震洪,段昌群,起联春,等. 我国桉树林发展中的生态问题探讨[J]. 生态学杂志,1998,17(6):64-69.
WANG Z H, DUAN C Q, QI L C, *et al.* A preliminary investigation of ecological issues arising in the man-made forest of *Eucalyptus* in China [J]. Chinaese Journal of Ecology, 1998, 17(6):64-69.

[6] 陈秋波. 桉树人工林生物多样性研究进展[J]. 热带作物学报, 2001, 22(4):82-97.
CHEN C B. A renew of researches on biodiversity in *Eucalyptus* plantations [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2001, 22(4):82-97.

[7] Y R A. A nonpoint-source pollution model for evaluating agricultural watersheds [J]. Journal of Soil and Water Conservation, 1989, 44(2)168-173.

[8] W G R. Allelochemicals : role in agriculture and forestry[M]. ACS Symposium Series, Washington DC: American Chemical Society, 1987

[9] 刘小香,谢龙莲,陈秋波,等. 桉树化感作用研究进展[J]. 热带农业科学,2004,24(2):54-61.
LIU X X, XIE L L, CHEN C B, *et al.* A review of allelopathic researches on ecalyptus [J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2004, 24(2):54-61.

[10] 中华人民共和国国家标准. 林木种子检验方法(GB2772-81) [S]. 北京:国家标准总局发布林业部提出, 1992:7-14.

[11] 翟梅枝,朱天慧,贾彩霞. 核桃青皮中的低极性组分对几种植物种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 西北林学院学报,2009, 24(4): 156-159.
ZHAI M Z, ZHU T H, JIA C X. Effects of low polar fractions from walnut green husk on the growth of seedlings [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2009, 24(4): 156-159.

[12] 别智鑫,翟梅枝,贺立虎,等. 核桃青皮水提液对小麦和三叶草的化感作用研究[J]. 西北林学院学报,2007, 22(6): 108-110.
BIE Z X, ZHAI M Z, HE L F, *et al.* The allelopathy of hydreous extracts of walnut green husk on wheat and clover seedlings [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2007, 22(6): 108-110.

[13] 张志良,翟伟菁. 植物生理学实验指导第三版[M]. 北京:高等教育出版社,2002:274-276.

[14] 赵绍文,王凌晖,蒋欢军,等. 巨尾桉枝叶水浸提液对 3 种作物种子萌发的影响[J]. 广西科学院学报,2000,16(1):14-17.
ZHAO S W, WANG L H, JIANG H J, *et al.* Effects of water extract of branches and leaves of *Eucalyptus grandis* × *E. urophylla* on seed germination of three kinds of crops [J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences, 2000, 16(1):14-17.

[15] TURK M A, TAWAHA A M. Inhibitory effects of aqueous extracts of black mustard on germination and growth of lentil [J]. Pak. J. Agronom, 2002, 1(1):28-30.

[16] CHUNG I M, MILLER D A. Natural herbicide potential of alfalfa residues on selected weed species[J]. Agron. J, 1995 (87):920-925.

[17] 曹福亮,赵永艳,张往祥,等. 盐胁迫对南方 7 个造林树种生理特性的影响[J]. 山东林业科技,1997(6):1-7.
CAO F L, ZHAO Y R, ZHANG W X, *et al.* Effect of salt stress on physiological characteristics of seedlings of seven tree spices in southern china [J]. Shandong Forestry Science, 1997(6):1-7.