

doi:10.3969/j.issn.1001-3776.2017.04.011

## 尾叶桉落叶水提取液对走马胎幼苗生长及生理生化的影响

周泽建<sup>1,2</sup>, 朱丽清<sup>2</sup>, 邓利<sup>2</sup>, 周荣兵<sup>2</sup>, 温中林<sup>2</sup>

(1. 中央民族大学 生命与环境科学学院, 北京 100081; 2. 广西生态工程职业技术学院, 广西 柳州 545004)

**摘要:** 通过室内生物测定法检测不同浓度尾叶桉 *Eucalyptus urophylla* S.T. Blakely 落叶水提取液 (20, 40, 60, 80 mg·mL<sup>-1</sup>) 对走马胎 *Ardisia gigantifolia* Stapf 幼苗的生长及其叶片中 SOD, POD, CAT 含量的影响。结果表明, 40, 60, 80 mg·mL<sup>-1</sup> 处理显著降低走马胎幼苗的株高 ( $P<0.05$ ), 各浓度处理极显著减少走马胎的根长、地下部分干重以及生物量 ( $P<0.01$ ), 且高浓度与其他浓度之间存在极显著差异 ( $P<0.01$ )。与对照 (CK) 比较, 尾叶桉落叶水提取液显著提高了走马胎幼苗的 SOD, POD, CAT 活性 ( $P<0.05$ )。走马胎幼苗株高、基径、根长、生物量的化感效应指数  $RI<0$ , 且高浓度处理下  $RI$  的绝对值最大。综合分析认为, 走马胎与尾叶桉存在较强的化感负效应, 两者不能进行复合种植。

**关键词:** 尾叶桉; 提取液; 化感作用; 走马胎; 生理生化

中图分类号: S718.52

文献标识码: A

文章编号: 1001-3776 (2017) 04-0060-06

## Effect of Aqueous Extract from Leaves of *Eucalyptus urophylla* on Growth and Physiological and Biochemical Properties of *Ardisia gigantifolia*

ZHOU Ze-jian<sup>1,2</sup>, ZHU Li-qing<sup>2</sup>, DENG Li<sup>2</sup>, ZHOU Rong-bing<sup>2</sup>, WEN Zhong-lin<sup>2</sup>

(1. College of Life and Environmental Sciences, Minzu University of China, Beijing 100081, China; 2. Guangxi Eco-engineering Vocational and Technical College, Liuzhou 545004, China)

**Abstract:** Experiments were conducted in 2016 on effect of different concentration (20, 40, 60 and 80 mg·mL<sup>-1</sup>) of aqueous extract from leaves of *Eucalyptus urophylla* with water as control on the growth and SOD, POD and CAT content in *Ardisia gigantifolia* seedlings. The results showed that the treatment of 40, 60 and 80 mg·mL<sup>-1</sup> of aqueous extract could evidently decreased height growth of *A. gigantifolia* seedlings ( $P<0.05$ ). No any treatment had evident effect on root length, dry weight of underground and biomass ( $P<0.01$ ), but there was a significant difference of root length, dry weight of underground and biomass between seedlings treated by high concentration and that by the left concentrations ( $P<0.01$ ). Compared with the control, aqueous extract significantly increased the activity of SOD, POD and CAT ( $P<0.05$ ). Allelopathic index of height, ground diameter, root length and biomass of *A. gigantifolia* seedlings was less than 0, and the absolute value of allelopathic index topped under the treatment of 80 mg·mL<sup>-1</sup>. Integrated analysis indicated that *E. urophylla* could not be planted with *A. gigantifolia* because their strong negative allelopathic effect.

**Key words:** *Eucalyptus urophylla*; aqueous extract; allelopathic effect; *Ardisia gigantifolia*; physiological and biochemical properties

林药复合种植是根据林下不同环境条件, 选择适宜、具有一定耐荫的药用植物进行林下仿生栽培。在此复合生态系统中, 种间关系复杂多变。其中, 化感作用是影响复合种植成功的关键因素之一。化感作用是指一个植物 (供体) 通过地上部分挥发、淋溶和根系分泌等途径向环境中释放化学物质, 从而促进或抑制邻近植物 (受

收稿日期: 2017-02-01; 修回日期: 2017-06-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (71473286); 广西生态工程职业技术学院资助项目 (201603A)

作者简介: 周泽建, 讲师, 博士生, 从事民族药用植物学、自然资源管理等方面的研究; E-mail: zhouzejianks@163.com。

体) 生长<sup>[1]</sup>。桉树是桃金娘科 *Myrtaceae* 桉属 *Eucalyptus* 植物的总称, 是中国三大速生树种之一<sup>[2]</sup>。当年营造, 就能达到当年成林的效果<sup>[2]</sup>。因此, 1~2 年生桉树林的郁闭度很高, 形成了耐阴药用植物所必须的环境条件。但是, 桉树叶片中含有大量的精油, 而大部分精油作为化感物质, 通过落叶腐烂、淋溶进入土壤中, 影响林下植物种子的发芽与幼苗的生长<sup>[3]</sup>, 继而影响林下生物多样性<sup>[4]</sup>。因此, 在桉树林下种植, 关键在于种植植物能否适应桉树的化感效应。

对桉树化感作用的研究已有很多报道。桉树叶水提取液对稻 *Oryza sativa*, 玉蜀黍 *Zea mays* 和黑麦草 *Lolium perenne* 种子的发芽率、发芽指数、幼苗生长具有显著性的抑制作用, 而对绿豆 *Vigna radiata*, 豌豆 *Pisum sativum* 的种子发芽没有明显的影响<sup>[5-6]</sup>。桉树落叶分解物抑制肖蒲桃 *Acmena acuminatissima*, 窄叶半枫荷 *Pterospermum lanceaefolium*, 黄果厚壳桂 *Cryptocarya concinna* 3 种乡土树种幼苗的生长, 而对引进树种阔荚合欢 *Albizia lebbek* 没有显著性影响<sup>[7]</sup>。因此, 桉树化感作用对不同受体的影响存在差异。

走马胎 *Ardisia gigantifolia* Stapf 是一种药用价值高的药用植物, 属紫金牛科 *Myrsinaceae* 紫金牛属 *Ardisia*。主要分布于云南、广西、广东、江西、福建等省, 海拔 1 300 m 以下的山间疏、密林下, 荫湿的地方<sup>[8]</sup>。这表明走马胎是一种比较理想、适合林下种植的药用植物。因此, 选取走马胎为受体, 测定不同浓度尾叶桉 *Eucalyptus urophylla* S. T. Blakely 落叶水提取液对其幼苗生长及生理生化的影响, 探讨尾叶桉能否与走马胎进行复合种植, 并分析走马胎适应化感胁迫的生理生态机制, 为科学开展走马胎复合种植提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

凋落叶的淋溶、分解是桉树释放化感物质的主要途径之一, 在影响植物生长方面上有着重要作用。本研究选择尾叶桉凋落叶为供体材料。2016 年 9 月 12 日, 在广西生态工程职业技术学院实验林场 3 年生桉树林内收集尾叶桉枯落叶。受体材料是药用植物走马胎幼苗, 种子 2015 年 12 月 23 日采自广西柳州市金秀瑶族自治县内野生走马胎。

### 1.2 实验场所概况

试验在广西生态工程职业技术学院温室大棚内进行, 室内温度 15~25℃, 湿度为 60%~85%。

### 1.3 试验设计

1.3.1 尾叶桉落叶水提取液的制备 将收集的落叶洗净、风干、粉碎, 过 200 目的不锈钢筛后, 称取 320.0 g。用 1 L 蒸馏水在常温 (20~25℃) 下浸泡 48 h 后, 经过三层纱布和 11 μm 滤纸过滤, 得到的滤液即落叶水提取母液。存 4℃冰箱备用。

1.3.2 盆栽试验 用蒸馏水将水提取母液稀释成 20, 40, 60, 80 mg·mL<sup>-1</sup> 4 个不同浓度梯度。2016 年 9 月 7 日, 选择大小一致、籽粒饱满的走马胎种子播于装有菜园土的营养钵 (规格: 10 cm×10 cm) 里, 用清水浇透, 自然条件下培养, 出苗后 7 d, 每个营养钵选择留下大小、苗高一致的 1 株幼苗。实验采用单因素随机区组设计, 共设不同水提取液浓度 20, 40, 60, 80 mg·mL<sup>-1</sup> 及对照蒸馏水 5 个处理, 每个处理 3 次重复。实验期间每隔 5 d, 用不同浓度的水浸提液 20 mL 浇施走马胎幼苗, 对照用 20 mL 蒸馏水浇施。60 d 后, 测定走马胎的根长、根径、株高, 同时采集正常叶片测定其抗逆酶活性指标。

1.3.3 测定指标和测定方法 生长指标: 根长、株高、生物量。分别用 2 m 三圈牌钢卷尺和 AUW-D 型电子分析天平 (精度: 十万分之一, 日本岛津) 进行测定。

抗逆酶活性的测定: 超氧化物歧化酶 (SOD) 用 NBT (氮蓝四唑) 法测定<sup>[9]</sup>, 以抑制 NBT 光化学还原的 50% 为一个酶活性单位 (U); 过氧化物酶 (POD) 用愈创木酚显色法测定<sup>[10]</sup>, 以每分钟内 470 的光密度 (D470 nm) 变化 0.10 为一个酶活性单位 (U); 过氧化氢酶 (CAT) 用高锰酸钾滴定法<sup>[11]</sup>。

1.3.4 数据处理 采用化感效应指数 (Respose index, 简称 RI) 评价尾叶桉落叶水提取液的化感作用类型与强度<sup>[12]</sup>, 其计算公式如下:

当  $T < C$ ,  $RI = T/C - 1$   
当  $T \geq C$ ,  $RI = 1 - C/T$

式中,  $T$  为处理值;  $C$  为对照值。  
当  $RI > 0$  时, 表示促进作用; 当  $RI < 0$  时, 表示抑制作用,  $RI$  的绝对值表示化感作用强度的大小。  
数据用 Excel 2010 进行预处理后, 采用 SPSS 19.0 统计分析软件进行单因素方差分析( one-way ANOVA )。多重比较采用最小显著差数法( LSD 法 )。

2 结果与分析

2.1 尾叶桉落叶水提取液对走马胎幼苗生长的影响

株高、地径、根长是植物生长最终也是最直观的表现形式<sup>[13]</sup>。由表 1 可以看出, 随着处理浓度的增大, 走马胎幼苗的株高逐渐降低; 生物量和地上部分干质量随处理浓度的增大而出现减少的趋势。而走马胎的基径、根长、地下部分干质量则随着处理浓度的增大出现先增加后减少的现象。与对照(CK)比较, 除了对走马胎的基径没有显著性影响外, 尾叶桉落叶水提取液降低了走马胎的株高、根长、地下部分干质量、地上部分干质量和生物量。尾叶桉落叶水提取液除了低浓度外其他浓度处理都显著降低走马胎的株高 ( $P < 0.05$ )。同时, 水提取液极显著减少走马胎的根长、地下部分干质量以及生物量 ( $P < 0.01$ ), 且高浓度与其他浓度之间存在极显著差异 ( $P < 0.01$ )。

表 1 不同浓度尾叶桉落叶水提取液对走马胎生长的影响  
Table 1 Effect of different concentration of aqueous extract from leaves of *E. urophylla* on growth traits of *A. giantifolia* seedlings

处理浓度/( mg·mL <sup>-1</sup> )	株高/cm	基径/cm	根长/cm	地下部分干质量/g	地上部分干质量/g	生物量/g
CK	20.50±0.15 Aa	0.620±0.006 a	17.33±0.61 A	2.68±0.14 A	2.78±0.13 Aa	5.45±0.03 A
20	19.97±0.12 ABab	0.583±0.012 a	14.57±0.07 B	1.55±0.08 BC	2.51±0.25 Aab	4.05±0.33 B
40	19.24±0.19 ABb	0.587±0.032 a	17.97±0.32 AC	2.00±0.13 C	2.01±0.07 Ab	4.01±0.15 B
60	18.71±0.11 Bb	0.653±0.029 a	16.27±0.12 D	1.70±0.15 C	2.46±0.04 Aab	4.16±0.33 B
80	18.51±0.05 Bb	0.633±0.017 a	9.33±0.61 E	0.88±0.19 D	1.64±0.09 Bb	2.53±0.19 C

注: 同列中不同大(小)写字母表示在  $P < 0.01$  水平上极显著差异或  $P < 0.05$  水平上差异显著。

2.2 尾叶桉落叶水提取液对走马胎抗逆活酶的影响

2.2.1 对走马胎幼苗 SOD 活性的影响 由图 1 可以看出, 尾叶桉落叶水提取液显著提高了走马胎幼苗 SOD 活性 ( $P < 0.05$ )。提取液浓度为 20 mg·mL<sup>-1</sup> 时, SOD 活性最高, 与其他处理浓度之间存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 与对照相比, SOD 活性提高了 5.77 倍。

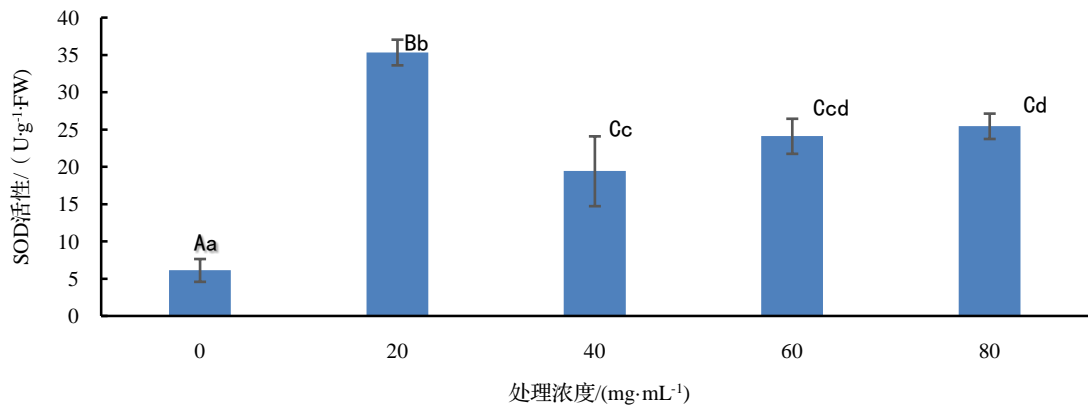


图 1 尾叶桉落叶水提取液对走马胎幼苗 SOD 活性的影响  
Figure 1 Effect of different concentration of aqueous extract from leaves of *E. urophylla* on SOD of *A. giantifolia* seedlings

2.2.2 对走马胎幼苗 POD 活性的影响 与对照比较,除了 40 mg·mL<sup>-1</sup> 处理对走马胎幼苗 POD 活性无显著性影响外,其它尾叶桉落叶水提取液浓度显著提高走马胎幼苗 POD 活性( $P<0.05$ )。当落叶水提取液浓度为 80 mg·mL<sup>-1</sup> 时,走马胎幼苗叶片内 POD 活性最高,但与其它浓度处理之间不存在显著性差异(图 2)。

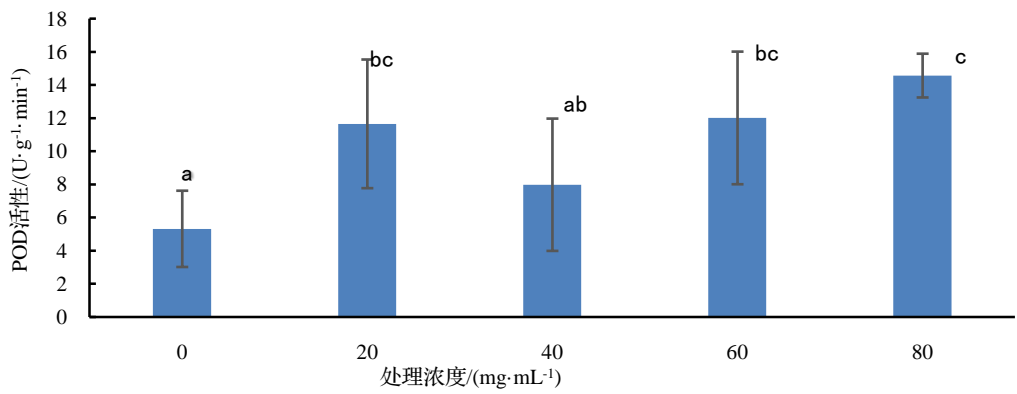


图 2 尾叶桉落叶水提取液对走马胎幼苗 POD 活性的影响

Figure 2 Effect of different concentration of aqueous extract from leaves of *E. urophylla* on POD of *A. giantifolia* seedlings

2.2.3 对走马胎幼苗 CAT 活性的影响 由图 3 可知,与对照相比,40 mg·mL<sup>-1</sup> 处理对走马胎幼苗 CAT 活性无显著性影响,但其它浓度均极显著提高走马胎幼苗 CAT 活性( $P<0.01$ )。当尾叶桉落叶水提取液浓度为 20 mg·mL<sup>-1</sup> 时,走马胎幼苗 CAT 活性为最高,是对照的 2.40 倍。

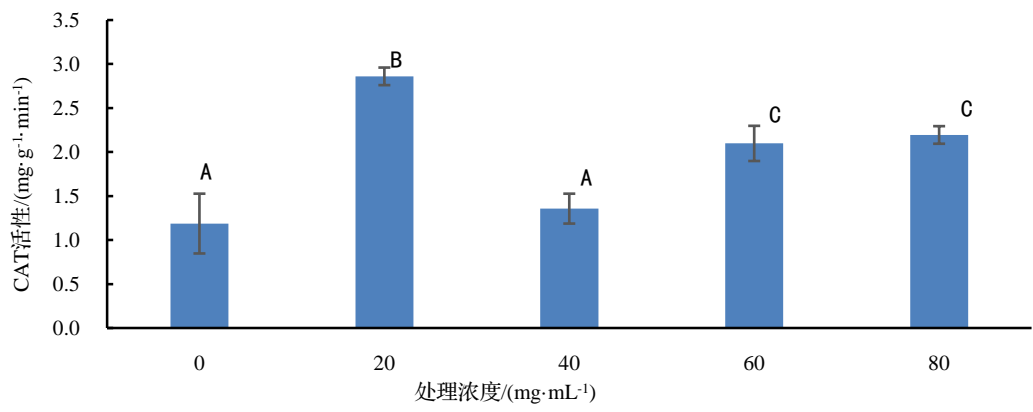


图 3 尾叶桉落叶水提取液对走马胎幼苗 CAT 活性的影响

Figure 3 Effect of different concentration of aqueous extract from leaves of *E. urophylla* on CAT of *A. giantifolia* seedlings

2.3 走马胎幼苗生长指标与抗逆酶活性的相关性分析

由表 2 可以看出, SOD, POD, CAT 3 种抗逆酶活性与株高、基径、根长、生物量呈负相关,但是相关系数都比较小,没有达到显著性水平。相关性分析结果表明,3 种抗逆酶活性的大小与生长指标之间不存在显著性相关,即 3 种抗逆酶活性的增加或减少对生长指标没有影响,反之也一样。这可能是处理时间比较短,3 种抗逆酶活性的变化来不及影响走马胎幼苗的生长。

表 2 3 种抗逆酶活性与生长指标的相关系数				
Table 2 Correlation coefficient of protective enzymes activities and growth index				
酶	相关系数 (r)			
	高	茎	根长	生物量
SOD	-0.390	-0.229	-0.456	-0.615
POD	-0.760	0.317	-0.812	-0.873
CAT	-0.239	-0.077	-0.544	-0.497

2.4 走马胎幼苗生长指标的化感效应指数分析

由表 3 可以看出, 幼苗株高、基径、根长、生物量的化感效应指数  $RI < 0$ 。这说明尾叶桉落叶水提取液对走马胎的生长指标具有抑制作用。株高、生物量的  $RI$  绝对值随着提取液浓度的增加而增加, 且在  $80\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  处理下, 除了基径的  $RI$  外, 其它生长指标  $RI$  绝对值都最大, 说明尾叶桉落叶水提取液对走马胎的化感作用存在浓度梯度效应, 即提取液的抑制作用随着浓度的增加而增加。

### 3 结论与讨论

研究表明, 尾叶桉落叶水提取液处理走马胎幼苗, 显著抑制了走马胎幼苗的株高、根长、生物量, 说明尾叶桉落叶水提取液中存在化感活性物质, 这与许多学者研究其它桉树的结果一致<sup>[14-16]</sup>。本研究表明, 走马胎的幼苗株高、根长、生物量的  $RI$  值大部分都是负数, 且在  $80\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  处理时  $RI$  的绝对值最大, 说明走马胎幼苗生长与桉树叶提取液之间存在抑制关系, 且在高浓度条件下抑制作用最强。这与黄建贝等研究核桃与小麦之间的化感作用结果相似<sup>[17]</sup>。植物化感作用的强弱取决于化感物质的活性, 而活性大小受其物理化学性质、作用方式、浓度以及受体植物的影响, 其中活性物质浓度对植物化感作用具有重要影响<sup>[18-19]</sup>。本研究中, 走马胎幼苗的株高、根长、生物量随着水提取液浓度的升高而出现减少的趋势, 表明尾叶桉落叶水提取液对走马胎的化感作用存在浓度梯度效应, 这与其它植物化感作用研究结果类似<sup>[20-22]</sup>。植物遇到逆境后,  $\text{O}_2^-$  产生加快, 破坏了活性氧代谢平衡, 从而使叶片中活性氧含量增加, 抑制了植物的光合作用, 导致了植物生长指标的降低<sup>[23]</sup>。但是, 与清除活性氧有关的抗逆酶活性升高可以减轻植物的光抑制<sup>[24-26]</sup>。本研究显示, 不同浓度尾叶桉落叶水提取液处理都不同程度地促进了走马胎叶片 SOD, POD, CAT 的酶活性, 且在低浓度下 3 种酶活性最高。这表明走马胎幼苗受到化感胁迫后, 可以通过提高 SOD 的活性来减少  $\text{O}_2^-$  积累, 而生成的  $\text{H}_2\text{O}_2$  则通过 POD 和 CAT 酶进行清除。与其它尾叶桉落叶水提取液浓度相比, 低浓度处理的走马胎幼苗受到的危害最少。

综上所述, 走马胎与尾叶桉之间存在较强的化感效应, 不能进行复合种植。走马胎幼苗受到化感胁迫后可能通过 SOD, POD, CAT 的协同作用来减少活性氧的伤害, 但其作用机制尚不清楚, 有待进一步研究。

### 参考文献:

[1] Bais H P, Vepachedu R, Gilroy S, *et al.* Allelopathy and exotic plant invasion: from molecules and genes to species interactions[J]. Science, 2003, 301 ( 5638 ): 1377 – 1380.

[2] 黄国勤, 赵其国. 广西桉树种植的历史、现状、生态问题及应对策略[J]. 生态学报, 2014, ( 18 ): 5142 – 5152.

[3] Batish D R, Singh H P, Setia N, *et al.* Chemical composition and inhibitory activity of essential oil from decaying leaves of *Eucalyptus citriodora*[J]. ZNC, 2006, 61 ( 1 – 2 ): 52 – 56.

[4] EI-Darier S M. Allelopathic Effects of *Eucalyptus rostrata* on Growth, Nutrient Uptake and Metabolite Accumulation of *Vicia faba* L. and *Zea mays* L.[J]. PJBS, 2002, 5 ( 1 ): 6 – 11.

[5] 朱宇林, 谭萍, 陆绍锋, 等. 桉树化感效应下 Si 对植物种子萌发的影响[J]. 种子, 2010, 29 ( 8 ): 19 – 22.

[6] 李培泰. 良种桉树叶中黄酮类物质的提取和活性试验报告[J]. 广西林业, 1998, 3 ( 11 ): 16 – 17.

[7] Chu C J, Mortimer P E, Wang H C, *et al.* Allelopathic effects of *Eucalyptus* on native and introduced tree species[J]. For Ecol Manag, 2014, 323: 79 – 84.

[8] 中国科学院中国植物志编委委员会. 中国植物志 ( 第 58 卷 ) [M]. 北京: 科学出版社, 1979: 93.

[9] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants[J]. Plant Physiol, 1977, 59 ( 2 ): 309.

[10] 裴斌, 张光灿, 张淑勇, 等. 土壤干旱胁迫对沙棘叶片光合作用和抗氧化酶活性的影响[J]. 生态学报, 2013, 33 ( 5 ): 1386 – 1396.

[11] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 164 – 166.

表 3 不同浓度尾叶桉落叶水提取液处理下各生长指标的化感效应指数  
Table 3 Allelopathic index of growth traits of *A. giantifolia* seedlings under different treatments

提 取 液 浓 度 / ( $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	$RI$			
	株高	基径	根长	生物量
20	-0.03	-0.06	-0.16	-0.26
40	-0.06	-0.05	0.04	-0.26
60	-0.09	0.05	-0.06	-0.24
80	-0.10	0.02	-0.46	-0.54

- [12] Bruce W G, Richardson D. Bioassays for allelopathy: Measuring treatment responses with independent controls[J]. J Chem Ecol, 1988, 14( 1 ): 181 – 187.
- [13] 陈娟, 白尚斌, 周国模, 等. 毛竹浸提液对苦槠幼苗生长的化感效应[J]. 生态学报, 2014, 34 ( 16 ): 4499 – 4507.
- [14] Li Y, Hu T, Duan X, et al. Effects of Decomposing Leaf Litter of *Eucalyptus grandis* on the Growth and Photosynthetic Characteristics of *Lolium perenne*[J]. J Agr Sci, 2013, 5 ( 3 ): 123 – 131.
- [15] Niakan M, Saberi K. Effects of Eucalyptus allelopathy on growth characters and antioxidant enzymes activity in Phalaris weed[J]. Asian J Plant Sci, 2009, 8 ( 6 ): 440 – 446.
- [16] Ziaebrahimi L, Khavari-Nejad R A, Fahimi H, et al. Effects of aqueous eucalyptus extracts on seed germination, seedling growth and activities of peroxidase and polyphenoloxidase in three wheat cultivar seedlings ( *Triticum aestivum* L. ) [J]. PJBS, 2007, 10 ( 19 ): 3415 – 3419.
- [17] 黄建贝, 胡庭兴, 吴张磊, 等. 核桃凋落叶分解对小麦生长及生理特性的影响[J]. 生态学报, 2014, 34 ( 23 ): 6855 – 6863.
- [18] Wu A P, Yu H, Gao S Q, et al. Differential belowground allelopathic effects of leaf and root of *Mikania micrantha*[J]. Trees, 2009, 23 ( 1 ): 11 – 17.
- [19] Saxena A, Singh D V, Joshi N L. Autotoxic effects of pearl millet aqueous extracts on seed germination and seedling growth[J]. J Arid Environ, 1996, 33 ( 2 ): 255 – 260.
- [20] Sun B Y, Tan J Z, Wan Z G, et al. Allelopathic effects of extracts from *Solidago canadensis* L. against seed germination and seedling growth of some plants[J]. J Environ Sci, 2006, 18 ( 2 ): 304 – 309.
- [21] Arouiee H. Allelopathic Effects of some Medicinal Plants Extracts on Seed Germination of some Weeds and Medicinal Plants[C] The 8<sup>th</sup> Int Symp Biocont Biotechnol, 2010: 148 – 153.
- [22] 黄洪武, 李俊, 董立尧, 等. 加拿大一枝黄花对植物化感作用的研究[J]. 南京农业大学学报, 2009, 32 ( 1 ): 48 – 54.
- [23] 蒋高明. 植物生理生态学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 161 – 169.
- [24] 缪丽华, 王媛, 高岩, 等. 再力花地下部水浸提液对几种水生植物幼苗的化感作用[J]. 生态学报, 2012, 32 ( 14 ): 4488 – 4495.
- [25] 周泽建. 狗尾草和黑麦草对紫茎泽兰的竞争效应[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2006: 15 – 31.
- [26] 吴敏, 张文辉, 周建云, 等. 干旱胁迫对栓皮栎幼苗细根的生长与生理生化指标的影响[J]. 生态学报, 2014, 34 ( 15 ): 4223 – 4233.