

文章编号: 1674-7054(2016)03-0358-05

5种化感物质对广藿香幼苗生长 及抗氧化酶活性的影响

郭 娇, 吴友根, 张军锋, 于 靖, 黄绵佳

(海南大学 园艺园林学院, 海口 570228)

摘 要: 分别采用苯甲酸、香草酸、水杨酸、对羟基苯甲酸、丙二酸等5种化感物质溶液浇灌盆栽广藿香幼苗, 研究其对幼苗的生长、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和膜脂过氧化产物(MDA)的影响。结果表明5种化感物质对广藿香幼苗生长有明显的影响, 总体表现出“低促高抑”的变化趋势。这5种化感物质处理的广藿香幼苗, 其叶片MDA含量和POD活性均随处理浓度的增加而升高, SOD活性则表现出“先上升后下降”的趋势。广藿香幼苗生长对化感物质种类和浓度具有双重依赖性, $10.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 对羟基苯甲酸能显著抑制广藿香幼苗的生长。

关键词: 广藿香; 化感物质; 抗氧化酶

中图分类号: S 567

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdswwb.2016.03.014

广藿香 [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] 为唇形科刺蕊草属植物, 原产于东南亚地区^[1], 是多种药品和制剂以及轻化工业的重要原料^[2-4]。广藿香在规范化种植过程中具有十分明显的连作障碍, 具体表现为地下部分根系退化、褐化、腐烂, 地上叶片生长较弱、植株生长不良, 甚至整株死亡, 造成产量和品质明显下降。自毒作用是连作障碍的一个重要原因。连作逆境和其他逆境(干旱、高温、低温等)一样导致细胞内自由基产生和清除的失衡, 过量的自由基就会对植物细胞造成伤害, 从而造成氧化胁迫并且积累膜脂过氧化产物丙二醛(MDA), 进而抑制作物的生长发育。植物抗氧化作用是植物自身适应性调节的一个重要方面。植物细胞中包含的保护酶系(过氧化物酶、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶)和抗氧化物质(还原型谷胱甘肽和抗坏血酸)是植物抵御不良环境条件的重要保证。Wu等^[5]从广藿香不同部位及根际土壤水浸液中提取分离出化合物共85种, 其中广藿香植株中分离出55种, 广藿香根际土壤中分离出30种。经过筛选和验证, 初步确定苯甲酸、香草酸、水杨酸、对羟基苯甲酸、丙二酸等5种为化感物质对广藿香形成连作障碍^[5-7], 但这5种化感物质对广藿香幼苗的生长发育及其应激反应尚未见报道, 因此, 笔者采用这5种化感物质的溶液浇灌盆栽广藿香幼苗, 研究它们对广藿香幼苗生长发育及其应激反应中膜脂过氧化及抗氧化酶的影响, 旨在为解决广藿香连作障碍提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 于2015年4~7月在海南大学园艺园林学院广藿香资源圃进行试验。选择健康且生长一致的广藿香盆栽幼苗(3月龄)作为供试材料。每塑料盆(盆口直径21 cm, 深度18.5 cm, 培土2 kg)种植1株广藿香幼苗。参照杨家学^[8]的处理方法, 将5种化感物质(苯甲酸、香草酸、水杨酸、对羟基苯甲

收稿日期: 2016-03-16

基金项目: 国家自然科学基金项目资助(81360618, 31360210); 海南省中药现代化专项资助(ZY201413)

作者简介: 郭娇(1992-), 女, 海南大学园艺园林学院2013级硕士研究生, E-mail: 852229767@qq.com

通信作者: 吴友根(1975-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 南药植物种质资源与开发利用, E-mail: wygeng2003@163.com; 黄绵佳(1964-), 男, 教授, 研究方向: 植物生理生化、园艺产品采后保鲜等, E-mail: hmj886@163.com

酸、丙二酸) 配制成 0 (CK) 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液, 每 5 天分别浇灌盆栽苗 1 次, 每次 200 mL, 每处理设 3 个重复, 浇灌 5 次后, 采样测试幼苗生长及抗氧化酶活性等指标。

1.2 试验仪器 主要仪器: 台式高速冷冻离心机 (Universal 32R, 德国)、制冰机 (SIM-F140, 日本)、恒温水浴锅 (Clifton, 香港)、烘箱 (XMTD-8222, 中国)、紫外分光光度计 (Lambda 25, 美国)、电冰箱 (BCD - 268MMVS, 韩国)。

1.3 指标测定 采用测量法测定幼苗地上部鲜质量、地下部鲜质量和株高生长量。采用 NBT (Nitro blue tetrazolium, 氯化硝基四氮唑蓝) 还原法^[9]测定 SOD 活性。采用愈创木酚方法^[10]测定 POD 活性。测定采取 TBA (Thiobarbituric acid, 硫代巴比妥酸) 比色法^[9]测定 MDA 含量。

1.4 统计分析 采用 spss19.0 软件处理和分析试验数据。

2 结果与分析

2.1 不同化感物质处理对广藿香幼苗生长的影响 从图 1~3 可见, 苯甲酸、香草酸、水杨酸处理广藿香幼苗, 随着浓度的升高, 广藿香幼苗地上部鲜质量、地下部鲜质量均呈现出先增加后下降趋势, 而株高生长量则呈下降趋势。对羟基苯甲酸、丙二酸处理的广藿香幼苗, 生长明显受到抑制, 表现为下降趋势。5 种化感物质中, 10.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对羟基苯甲酸对幼苗地上部和地下部鲜重, 抑制强度最大, 其降幅均超过 50%, 分别为 68.91%、77.98%。不仅如此, 10.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 对羟基苯甲酸对株高生长量的抑制强度也最为明显, 仅为 CK 的 64.89%。相同的化感物质处理, 浓度愈高, 植株生长量愈低, 且出现叶片焦枯、黄化和脱落的现象。这表明化感物质高浓度 (10.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的处理, 对苗期广藿香生长具有显著的抑制作用。

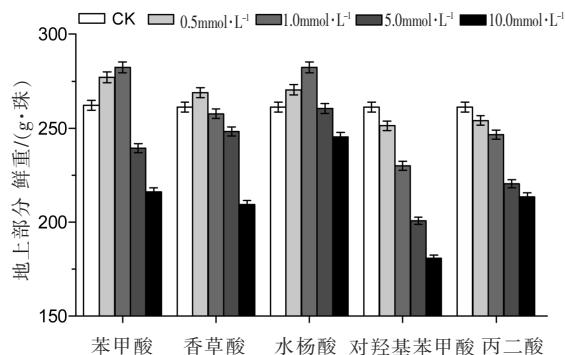


图 1 5 种化感物质处理对广藿香幼苗地上部分鲜质量的影响
Fig.1 The effects of 5 allelochemicals on the fresh weight of *Pogostemon cablin* seedling above ground

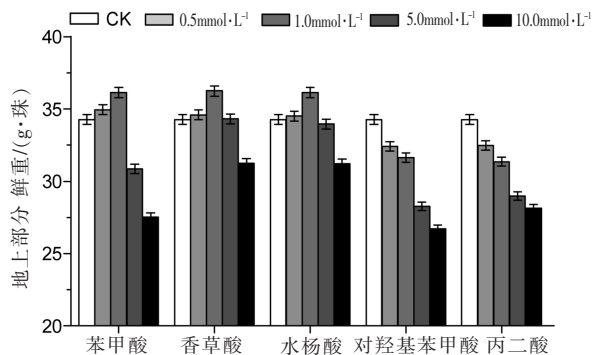


图 2 5 种化感物质处理对广藿香幼苗地下部分鲜质量的影响
Fig.2 The effects of 5 allelochemicals on the fresh weight of *Pogostemon cablin* seedling under ground

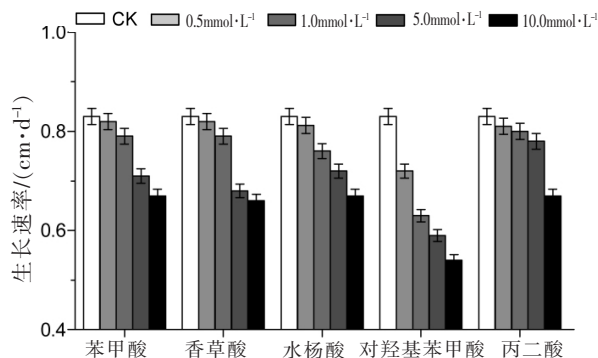


图 3 5 种化感物质处理广藿香幼苗株高生长速率的影响
Fig.3 The effects of 5 allelochemicals on the growth of *Pogostemon cablin* seedling

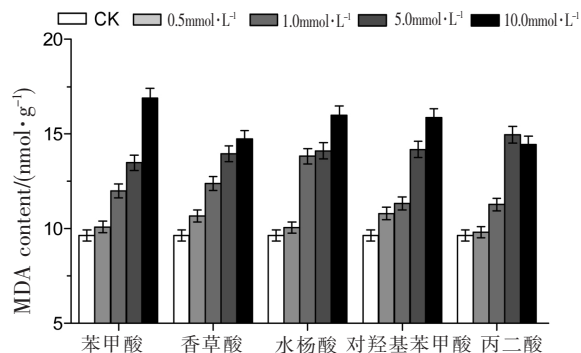


图 4 5 种化感物质处理广藿香幼苗叶 MDA 含量的影响
Fig.4 Effects of 5 allelochemicals on MDA contents in the leaves of *Pogostemon cablin* seedling

2.2 不同化感物质处理对广藿香幼苗叶片 MDA 含量的影响 从图 4 可见 5 种化感物质处理的广藿香幼苗,其叶片 MDA 含量均随浓度增加而升高。与 CK 相比 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的苯甲酸、水杨酸和丙二酸处理对幼苗的 MDA 含量基本无影响。5 种化感物质 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度各处理中,水杨酸处理的幼苗 MDA 含量显著高于其他 4 种处理,且比 CK 增加了 43.33%。 $5.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度各处理中丙二酸处理组的 MDA 含量达到最高,且比 CK 增加了 55.06%,与其他 4 个处理无显著差异。 $10.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的苯甲酸、香草酸、水杨酸、对羟基苯甲酸处理广藿香幼苗,MDA 含量均上升达到最大值。

2.3 不同化感物质处理对广藿香幼苗叶片 SOD 活性的影响 5 种化感物质均能诱导广藿香幼苗叶片 SOD 活性增加,且随着处理浓度的增加表现出先上升后下降的趋势(图 5)。 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 对羟基苯甲酸处理广藿香幼苗,其 SOD 活性达到峰值,其他 4 种化感物质均在 $5.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下,幼苗的 SOD 活性达到最大值。与 CK 峰值相比,苯甲酸、香草酸、水杨酸、对羟基苯甲酸和丙二酸处理的 SOD 活性峰值,分别增加了 182.33%、132.76%、126.90%、114.03% 和 149.31%。

2.4 不同化感物质处理对广藿香幼苗叶片 POD 活性的影响 由图 6 可知 5 种化感物质的不同浓度处理广藿香幼苗,其 POD 活性变化与 MDA 含量变化趋势相似,表现出随处理浓度增加,POD 活性基本升高。 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度各处理中,丙二酸对 POD 活性基本无影响,对羟基苯甲酸对 POD 活性影响最大,且比 CK 增加了 100.56%。 $5.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 苯甲酸和水杨酸及 $10.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的香草酸、对羟基苯甲酸和丙二酸处理的幼苗,其叶片 POD 活性分别达到最大值。当 POD 活性达到最大时,对羟基苯甲酸处理的峰值比 CK 增加了 141.75%,明显高于其他 4 种化感物质的处理,而苯甲酸处理所得峰值最低,仅比 CK 增加了 69.66%。

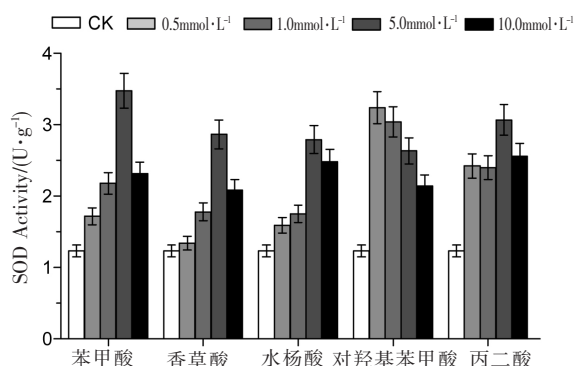


图 5 5 种化感物质处理广藿香幼苗叶 SOD 含量的影响
Fig.5 Effects of 5 allelochemicals on SOD activity in the leaves of *Pogostemon cablin* seedling

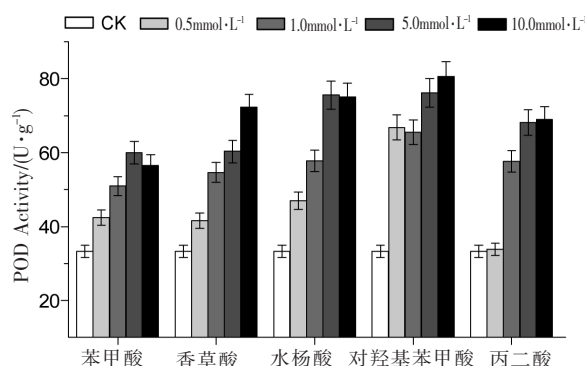


图 6 5 种化感物质处理广藿香幼苗叶 POD 含量的影响
Fig.6 Effects of 5 allelochemicals on POD activity in the leaves of *Pogostemon cablin* seedling

3 讨论

化感作用是化感物质释放到环境中作用于植物。酚、酸类物质(苯甲酸、香草酸、对羟基苯甲酸、水杨酸及丙二酸)为常见的化感物质。水杨酸作为诱导植物防御生物和非生物的胁迫,已有研究报道,张士功等人^[11]研究发现外源水杨酸能提高盐胁迫下小麦胚乳内可溶性蛋白质的含量,而马向丽等人^[12]则认为外源水杨酸降低逆境条件下 1 年生黑麦草可溶性蛋白质含量,而孙立军等人的研究则认为外源水杨酸使葡萄幼苗可溶性蛋白质的含量则先增加后下降,且其下降速度明显低于对照组,提高了葡萄的耐热性^[13]。2007 年,吴凤芝等研究发现,外源酚酸对羟基苯甲酸和肉桂酸能够显著抑制黄瓜幼苗对 N、P、K 的吸收,且均随着处理时间的延长和浓度的增加化感抑制效应逐渐增强^[14]。作物连作后出苗率低,也可能与酚酸类物质的积累有关^[15]。苯甲酸、丙二酸等酸酚类化感物质处理大豆幼苗后,MDA、WSS、Chlorophyll a、Chlorophyll b、Chlorophyll 等含量均增加,POD、SOD 活性则均显著升高,GO 活性降低,丙二酸促进大豆种子萌发,而苯甲酸则起到抑制作用^[16]。香草酸等处理苜蓿幼苗,表现出“低促高抑”的趋势,在 $10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时显著降低种子萌发速率,推迟种子半数萌发时间;在 $10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时萌发速率则增加了 17.3%^[17]。

三七根际土壤中存在对羟基苯甲酸、香草酸、苯甲酸等6种化感物质,在供试浓度范围内,苯甲酸对小麦的化感抑制作用最强,而阿魏酸对于三七的化感抑制作用最强^[18]。

化感物质会影响受体植物细胞膜系统的功能,抑制SOD和POD等防御类酶活性,导致体内活性氧增多,启动膜脂质过氧化,破坏膜的结构,最终表现出生长抑制^[17]。另有研究表明,阿魏酸、(6aR,11aR)-山槐素、(6aR,11aR)-三叶豆紫檀苷、紫檀碱和德莺尾素等有机酸和酚酸类物质会影响受体植物的赤霉素和生长素水平^[19-20],抑制受体植物ATP酶的活性,并且影响受体植物的光合与呼吸作用,最终抑制植物生长发育^[21]。本研究结果表明,低浓度(0.5,1.0 mmol·L⁻¹)的苯甲酸、香草酸、水杨酸处理广藿香幼苗,使地上部、地下部鲜质量有所上升,这可能是由于幼苗生长对低浓度处理作出的应急反应,与宋亮等^[17]的试验结果一致。当处理浓度升高到10.0 mmol·L⁻¹时,各生长指标均为最小,这表明高浓度的化感物质处理显著地抑制了广藿香幼苗的生长。

MDA是脂质过氧化的主要产物之一,能干扰细胞正常的生理活动,其含量与植物受到氧化胁迫的程度成正比,是一项重要的逆境生理指标^[22]。本试验中,MDA含量随着5种化感物质处理浓度的增加而增加,表明化感物质处理引起的膜脂过氧化作用并破坏了质膜结构。特别是在苯甲酸10.0 mmol·L⁻¹处理后,MDA含量达到最大值,比CK增加了76.04%,这与吴凤芝^[23]的研究结果一致。SOD主要功能是清除O²⁻,是防护氧自由基对细胞膜系统伤害的一种很重要的保护酶。SOD活性和植物的抗逆性成正相关,是反映植物抗逆性的1个重要指标。5种化感物质处理盆栽广藿香幼苗,均使叶片的SOD活性升高,总体表现为随化感物质的浓度增加,SOD活性呈现出先上升后下降的趋势,说明低浓度处理可诱导广藿香幼苗叶片的SOD活性增强,能有效地清除氧自由基,阻止膜被破坏。当超过一定浓度范围(10.0 mmol·L⁻¹)后,SOD活性下降,这表明植物细胞内的活性氧代谢失衡,因为大量的活性氧攻击细胞内包括蛋白、核酸和脂类等各种类型的分子,从而导致了MDA含量增加和SOD活性下降。最终导致植物生长抑制,甚至叶片细胞程序性死亡。实验中所观察到的随着处理浓度的升高,广藿香出现叶片焦枯、黄化和脱落的现象也印证了这一点。POD广泛存在于植物体内,是以酚类物质为底物催化过氧化氢分解的一类酶。一方面,POD活性的增加有利于清除体内的活性氧,从而保护细胞免受伤害。本实验结果表明,广藿香幼苗POD活性对化感物质的响应,表现为随处理浓度的增加而增加,这与李振方^[24]的研究结果一致;5种化感物质均能诱导POD活性增加,达到清除活性氧的水平,但活性氧清除机制包括众多酶类相互协作的结果,仅仅POD活性增加并不能完全改变活性氧水平,因此,本试验结果表现出POD活性和MDA含量均随处理浓度的增加而增加。由此推测,这5种化感物质还可能对其他抗氧化酶类活性的影响,最终导致植物生长受限,甚至死亡。为了进一步明确酚酸类化感物质对广藿香生长发育的影响,笔者选用苯甲酸等5种化感物质作用于广藿香幼苗,为探讨广藿香连作障碍、提高药材产量提供了一定的理论依据。

参考文献:

- [1] 吴友根,郭巧生,郑焕强.广藿香本草及引种历史考证的研究[J].中国中药杂志,2007,32(20):2114-2117.
- [2] 中华人民共和国药典委员会编.中国药典(一部)[M].北京:中国医药科技出版社,2015:42-43.
- [3] 张重义,林文雄.药用植物的化感自毒作用与连作障碍[J].中国生态农业学报,2012,14(1):514-516.
- [4] Wu Y G, Guo Q S, He J C, et al. Genetic diversity analysis among and within populations of *Pogostemon cablin* from China with ISSR and SRAP markers [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2010, 38(1): 63-72.
- [5] Wu Y G, Li X C, Yang D M, et al. Isolation and Identification of the water-soluble components of *Pogostemon cablin* [J]. *Chemical Engineering III*, 2014(1): 71-76.
- [6] Xu Y, Wu Y G, Chen Y, et al. Autotoxicity in *Pogostemon cablin* and their allelochemicals [J]. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2015(25): 117-123.
- [7] 徐岩.广藿香连作障碍及其土壤生态学研究[D].海口:海南大学,2015.
- [8] 杨家学.西洋参酚酸类化合物的化感作用及影响因子研究[D].北京:北京协和医学院研究生院,2008.
- [9] Cramer G R, Abdel B R, Seemann J R. Salinity calcium interactions on root growth and osmotic adjustment of two corn cultivars differing in salt tolerance [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1990, 13: 1453-1462.

- [10] 王学奎, 黄建良. 植物生理生化试验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2015.
- [11] 张士功, 高吉寅, 宋景芝. 水杨酸和阿斯匹林对小麦盐害的缓解作用 [J]. 植物生理学报, 1999, 25(2): 159–164.
- [12] 马向丽, 魏小红, 龙瑞军, 等. 外源一氧化氮提高一年生黑麦草抗冷性机制 [J]. 生态学报, 2005, 25(6): 1269–1274.
- [13] 孙立军, 赵宝龙, 俞松林. 外源水杨酸(SA)对高温胁迫下葡萄幼苗耐热性有源研究 [J]. 水土保持学报, 2014, 28(3): 290–299.
- [14] 吴凤芝, 黄彩红, 邓旭红. 酚酸类物质对黄瓜幼苗养分吸收的化感作用 [J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2007, 91(3): 131–133.
- [15] 张付斗, 徐高峰, 单芹丽, 等. 4 种酚酸类化感物质与丁草胺混用对稗草生长抑制的互作效应 [J]. 南京农业大学学报, 2010, 128(3): 62–66.
- [16] 焦浩. 三种外源酚酸类物质对大豆种子萌发及幼苗生长的影响 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学, 2015.
- [17] 宋亮, 潘开文, 王进闯, 等. 酚酸类物质对苜蓿种子萌发及抗氧化酶活性的影响 [J]. 生态学报, 2006, 26(10): 3393–3401.
- [18] 吴立洁. 三七根际土壤中酚酸类物质化感作用及其干预措施研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [19] 徐蕊. 红车轴草潜在化感物质对生长素和抗氧化酶生理功能的影响和研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2011.
- [20] 刘秀芬, 胡小军. 化感物质阿魏酸对小麦幼苗内源激素水平的影响 [J]. 中国生态农业学报, 2001, 9(1): 86–88.
- [21] 王丽敏. 几种酚酸类物质胁迫下不同杉木无性系叶绿素荧光参数的比较分析 [D]. 福州: 福建农林大学, 2010.
- [22] 朱会娟, 王瑞刚, 陈少良, 等. NaCl 胁迫下胡杨(*Populus euphratica*)和群众杨(*P. popularis*)抗氧化能力及耐盐性 [J]. 生态学报, 2007, 27(10): 4113–4121.
- [23] 吴凤芝. 外援酚酸对黄瓜自毒作用的生理生化机制研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2002.
- [24] 李振方. 自毒物质与病原真菌协同对连作地黄的致害作用研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2011.

Effects of Five Allelochemicals on the Seedling Growth and the Antioxidant Enzymes Activities of *Pogostemon cablin*

GUO Jiao, WU Yougen, ZHANG Junfeng, YU Jing, HUANG Mianjia

(College of Horticulture and Landscape Architecture, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: *Pogostemon cablin* seedlings were watered with 5 allelochemicals (benzoic acid, vanillic acid, salicylic acid, p-hydroxy benzoic acid and malonic acid) at the concentration of 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 mmol · L⁻¹, respectively to observe their growth, and their activities of superoxide disproportionation enzyme (SOD), peroxidase (POD) and membrane lipid peroxidation products (MDA). The results showed that these 5 allelochemicals had obvious effects on the growth of *P. cablin* seedlings, and tended to promote the plant growth at a low concentration and suppress plant growth at a high concentration. The membrane permeability, MDA content and POD activities were obviously increased with the concentration of the allelochemicals, but the SOD activities were first increased at a lower concentration and then decreased at a higher concentration. The growth of *P. cablin* seedling depended on both allelochemicals and their concentrations. The growth and development of *P. cablin* was restrained obviously in the treatment of p-hydroxy benzoic acid at a concentration of 10.0 mmol · L⁻¹.

Keywords: *Pogostemon cablin*; allelochemicals; antioxidant enzymes