

胡椒化感作用及其机理研究

占胜利, 朱朝华*, 王兰英, 戴进用, 邓昌盛 (海南大学环境与植物保护学院, 海南儋州 571737)

摘要 [目的] 为建立合理的植物间套作机制、杂草的生物防治及研制新型植物源除草剂提供科学依据。[方法] 通过测定胡椒叶水浸液对绿豆、萝卜、柱花草和刺苋种子萌发和幼苗生长的影响, 对胡椒的化感作用及其机理进行研究。[结果] 胡椒叶水浸液对萝卜、柱花草和刺苋的种子萌发表现出不同程度的抑制作用, 且随着水浸液浓度的增加, 抑制效应增大, 达到 0.05 g/ml 时, 抑制作用最强; 对不同受体植物幼苗生长的影响表现为低浓度促进, 高浓度抑制的双重效应。萝卜体内的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性随着水浸液浓度的增加呈先升高后降低的趋势, 丙二醛(MDA)含量增大。[结论] 该研究为胡椒化感作用的开发和利用提供了科学的理论依据。

关键词 胡椒; 化感作用; 机理

中图分类号 Q143, Q948.12 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)03-00943-03

Preliminary Study on the Allelopathy of *Piper nigrum* L.

ZHAN Sheng-li et al (College of Environment and Plant Protection, Hainan University, Danzhou, Hainan 571737)

Abstract [Objective] The scientific basis for the establishment of reasonable crop inter-planting, the efficient bio-control of weeds and the preparation of new type of herbicides was provided through the experiment. [Method] The allelopathy and its mechanism of *Phaseolus radiatus* L. was researched through the effect-testing of the aqueous extract from *Piper nigrum* L. leaf on the seed germination and seedling growth of *Phaseolus radiatus* L., *Raphanus sativus* L., *Stylosanthes guianensis* and *Amaranthus spinosus*. [Result] The results showed that the aqueous extract inhibited seed germination of *Raphanus sativus* L., *Stylosanthes guianensis* and *Amaranthus spinosus*, and this inhibited effect became strong as the concentration of the aqueous extract was increased. With the concentration-increasing of the aqueous extract, the inhibited effect was gradually raised and its strongest inhibited effect was at the concentration of 0.05 g/ml. The treatment of low concentration of the aqueous extract could promote the seedling growth of different crops, but there was inhibited effect on seedling growth under the high concentration treatment. The activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) of *Raphanus sativus* L. was firstly increased and then decreased with the concentration-increasing of the aqueous extract and the content of malondialdehyde (MDA) was getting higher. [Conclusion] The scientific basis for the development and utilization of *Phaseolus radiatus* L. allelopathy was provided.

Key words *Piper nigrum* L.; Allelopathy; Mechanism

植物化感作用是植物与周围环境中生物之间的相互作用, 是植物通过释放化学物质到环境中而产生对自身和其他生物直接或间接的作用, 是生态系统中植物的自然化学调控现象和植物适应环境的一种生态机制^[1]。在化感作用中作为媒介的化学物质被称为化感物质(Allelochemical)^[2]。化感作用广泛存在于农林生态系统中, 它影响着群落的结构, 群落的演替和农作物的产量, 在农作物耕作制度的合理安排、农田杂草的生物控制、作物病虫害的防治以及新型植物源除草剂的研制等方面起着重要的作用^[3-4]。胡椒(*Piper nigrum* L.)是一种重要的热带香料作物, 海南岛目前有大面积的胡椒种植且行间距较大, 如果能间种一些周期短的经济作物, 可达到增加复种指数、提高土地利用率、以短养长等良好的经济和生态效益。颜桂军等报道了胡椒叶水浸液对花生(*Arachis hypogaea* L.)、马唐(*Digitaria sanguinalis*)、稗草(*Echinochloa crusgalli*)的生长具有较强的抑制作用, 对玉米(*Zea mays* L.)的生长影响较弱^[5]。但目前国内外对胡椒化感作用机理方面的研究还未见报道。为了进一步研究胡椒的化感作用, 笔者通过提取其活性物质^[6], 应用室内生物测定方法, 对胡椒的化感效应和作用机理进行了研究, 旨在为建立合理间套作机制、杂草的生物防治及研制新型植物源除草剂等提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材料 供体植物胡椒采于海南大学环境与植物保护学院教学基地, 取5龄胡椒成熟鲜叶, 经风干后粉碎, 过40目

筛, 冷藏备用。受体植物绿豆(*Phaseolus munge* L.)、萝卜(*Raphanus sativus* L.)种子购于儋州市种子分公司, 柱花草(*Stylosanthes guianensis*)、刺苋(*Amaranthus spinosus*)种子由海南大学环境与植物保护学院教学基地提供。

1.2 方 法

1.2.1 胡椒叶水浸液的制备。取胡椒叶片干样, 按5 g/100 ml比例加蒸馏水置摇床上25℃, 160 r/min浸提48 h, 减压抽滤即得质量浓度为0.05 g/ml(1 ml水浸液中含有0.05 g干物质的提取物)的水浸原液, 于4℃冷藏备用。

1.2.2 胡椒叶水浸液对受体植物种子萌发的化感效应测定。采用培养皿滤纸法, 将胡椒叶水浸原液稀释成0.01、0.02、0.03、0.04、0.05 g/ml的不同浓度。取不同浓度水浸液10 ml加入铺有2层定性滤纸的培养皿中, 每皿播50粒均匀一致、经浓度0.3%高锰酸钾溶液浸泡消毒10 min的受体植物种子, 对照加蒸馏水, 重复4次, 于25℃的光照培养箱中暗培养。种子萌发过程中, 适当补充水浸液或水, 使滤纸保持湿润, 每24 h调查发芽数, 5 d后计算各处理种子的发芽率、发芽指数。种子发芽标准是芽长为种子长度的一半。

$$\text{发芽指数} = (G/D)$$

式中, G 为第 t 天的发芽数; D 为相应的发芽天数。

化感效应分析参照 Williamson 等^[7]提出的化感效应指数(R)进行。当 $T \geq C$ 时, $R = 1 - C/T$; 当 $T < C$ 时, $R = T/C - 1$, 其中, C 为对照值; T 为处理值; R 为化感效应指数。 $R > 0$ 为促进作用, $R < 0$ 为抑制作用, 绝对值大小与作用强度一致。

1.2.3 胡椒叶水浸液对受体植物幼苗生长的化感效应测定。选取经催芽露白的受体植物种子50粒, 播于铺有2层滤纸的培养皿中, 对照与处理设置同“1.2.2”, 重复4次, 于25

基金项目 国家科技支撑计划项目(2007BAD48B03); 海南大学科技基金(Rnd0616)资助。

作者简介 占胜利(1977-), 男, 安徽桐城人, 硕士研究生, 研究方向: 植物源农药。* 通讯作者, 副教授, E-mail: zch200518@21cn.com。

收稿日期 2008-11-17

的光照培养箱中14 h 光照,10 h 黑暗,光照强度4 000 lx 的条件下培养。幼苗生长过程中,适当补充水浸液或水,使滤纸保持湿润,7 d 后测定受体植物幼苗的地上部长和根长。

1.2.4 胡椒叶水浸液对萝卜幼苗生理生化指标的影响。取“1.2.3”试验的萝卜幼苗,参照郝再彬等^[8]试验方法,分别采用NBT 还原法、愈创木酚氧化法、紫外吸收法测定萝卜幼苗体内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)的活性,以及膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)的含量。

1.2.5 数据处理。数据用SAS9.0 软件 Duncan's 法进行统计。

2 结果与分析

2.1 胡椒叶水浸液对受体植物种子萌发的化感效应 试验

表1 胡椒叶水浸液对受体植物种子萌发的化感作用

Table 1 Allelopathy of the aqueous extract from *Piper nigrum* L. leaves on the seed germination of receptor plants

浓度 g/ml Concentration	绿豆 <i>Phaseolus mungo</i> L.		萝卜 <i>Raphanus sativus</i> L.		柱花草 <i>Stylosanthes guianensis</i>		刺苋 <i>Amaranthus spinosus</i>	
	发芽率 %	发芽指数	发芽率 %	发芽指数	发芽率 %	发芽指数	发芽率 %	发芽指数
	Germination rate	Germination index	Germination rate	Germination index	Germination rate	Germination index	Germination rate	Germination index
	rate	index	rate	index	rate	index	rate	index
CK	100.0 aA	49.723 aA	96.7 aA	42.223 aA	47.7 aA	9.120 aA	89.0 aA	28.520 aA
0.01	99.0 aA	48.053 aA	94.5 aA	39.723 aAB	46.7 aA	8.611 aA	83.0 aA	25.093 bAB
0.02	98.0 aA	47.183 aA	93.3 aA	35.093 bB	44.3 aA	8.102 aA	77.7 aA	21.020 bB
0.03	99.0 aA	47.353 aA	90.0 aA	28.520 cC	22.0 bB	3.472 bB	52.3 bB	10.833 cC
0.04	98.0 aA	46.963 aA	86.7 aAB	25.370 cC	16.8 cB	2.252 cB	38.6 bB	4.685 dC
0.05	98.0 aA	46.353 aA	72.2 bB	17.040 dD	7.7 cC	1.111 cC	21.0 cC	3.610 dD

注:同列数据后不同小写和大写字母分别表示在0.05 和0.01 水平有差异。下表同。

Nte :Different lowercases and capital letters indicate significant differences at 0.05 and 0.01 levels , respectively . The same as follows .

2.2 胡椒叶水浸液对受体植物幼苗生长的化感效应 试验
结果表明,胡椒叶水浸液对不同受体植物地上部长和根长的影响表现不尽相同(表2)。各浓度胡椒叶水浸液对不同受体植物地上部长的影响表现为低浓度促进高浓度抑制的双重效应,浓度0.01 g/ml 的水浸液对柱花草和绿豆地上部长的

结果表明,胡椒叶水浸液对受体植物种子萌发具有不同程度的影响(表1),绿豆种子的发芽率及发芽指数均未受胡椒叶水浸液化感效应的显著影响,而萝卜、柱花草、刺苋种子的发芽率和发芽指数受胡椒叶水浸液化感效应的显著或极显著影响。各浓度胡椒叶水浸液对萝卜、柱花草和刺苋种子的发芽率和发芽指数的影响表现一致的抑制作用,浓度0.02 g/ml 的水浸液对萝卜种子的发芽率抑制效应不显著,但发芽指数与对照的差异达到了极显著水平,化感效应指数为-0.169。当浓度增大到0.05 g/ml 时,萝卜、柱花草和刺苋种子的发芽率和发芽指数与对照的差异均达到极显著水平。

促进效应不显著,但对其他受体植物地上部长的促进效应都达到显著或极显著水平。对萝卜的化感效应指数为0.153。当浓度大于0.03 g/ml 时,萝卜、柱花草、刺苋的地上部长与对照相比都受到显著或极显著抑制,对萝卜的化感效应指数为-0.226,随着浓度的升高,抑制效应逐渐增强。

表2 胡椒叶水浸液对受体植物幼苗生长的化感作用

Table 2 Allelopathy of the aqueous extract from *Piper nigrum* L. leaves on the seedling growth of receptor plants

浓度 g/ml Concentration	绿豆 <i>Phaseolus mungo</i> L.		萝卜 <i>Raphanus sativus</i> L.		柱花草 <i>Stylosanthes guianensis</i>		刺苋 <i>Amaranthus spinosus</i>	
	地上部长	根长	地上部长	根长	地上部长	根长	地上部长	根长
	Length of above-ground part	Root length	Length of above-ground part	Root length	Length of above-ground part	Root length	Length of above-ground part	Root length
	ground part	length	ground part	length	ground part	length	ground part	length
CK	10.73 cC	6.19 cC	6.55 bAB	8.70 aA	3.48 aA	2.89 aA	2.52 bB	3.17 aA
0.01	11.62 bcABC	7.03 bcBC	7.73 aA	8.48 aAB	3.53 aA	2.62 bAB	3.01 aA	3.11 aA
0.02	12.56 abAB	8.53 aA	5.25 cB	7.38 bB	3.46 aA	2.56 bAB	2.97 aA	2.67 bB
0.03	13.05 aA	7.73 abAB	5.16 cB	6.75 bB	3.05 bB	2.25 cB	2.25 cB	1.98 cC
0.04	12.18 bAB	7.68 abAB	3.28 dC	4.19 cC	1.92 cC	1.94 cB	1.75 cBC	1.07 dD
0.05	10.40 bcC	7.66 abAB	2.88 dC	2.46 dD	1.67 dC	1.26 dC	1.25 dC	0.69 eD

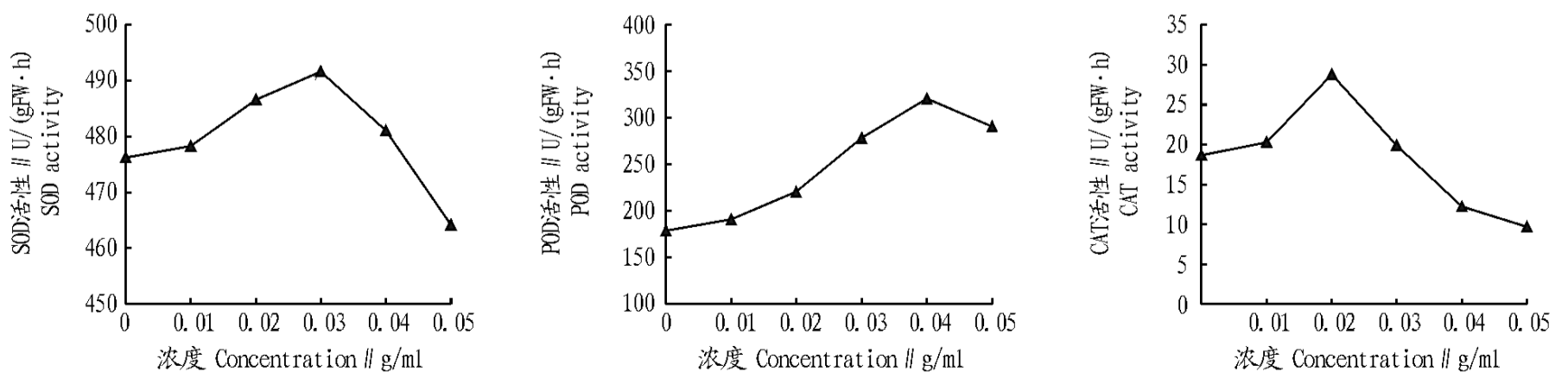


图1 胡椒叶水浸液对萝卜幼苗SOD、CAT 和POD 活性的影响

Fig.1 Effects of the aqueous extract from *Piper nigrum* L. leaves on the activities of SOD, CAT and POD of *Raphanus sativus* L.

除浓度 0.01 g/ml 外,各浓度胡椒叶水浸液对绿豆根长均具有极显著的促进作用,浓度为 0.02 g/ml 时促进效应最强,化感效应指数为 0.274;高浓度水浸液对萝卜、柱花草和刺苋根长的影响则表现一致的抑制作用。浓度 0.02 g/ml 的水浸液对萝卜、柱花草和刺苋根长的抑制效应与对照相比都达到了显著或极显著水平,对萝卜的化感效应指数为 -0.129,随着浓度的升高,抑制效应逐渐增强。在高浓度时,幼苗根部有畸形和烂根现象。通过比较同一浓度下根长和地上部长化感效应指数可知,各浓度胡椒叶水浸液对萝卜、柱花草和刺苋根长的影响明显大于对地上部长的影响。

从各浓度胡椒叶水浸液对绿豆、萝卜、柱花草和刺苋的化感效应来看,其对萝卜、柱花草和刺苋的抑制作用都比较显著,而萝卜种子由于发芽快,整齐度高,对化感物质敏感,因此该试验选择萝卜作为进一步研究胡椒化感作用的受体植物。

2.3 胡椒叶水浸液对萝卜生理生化指标的影响

2.3.1 胡椒叶水浸液对萝卜幼苗抗氧化酶活性的影响。SOD、CAT 和 POD 是植株体内广泛存在的能清除活性氧的膜保护酶,它们能把活性氧转变为低活性物质,从而保护细胞膜系统,避免活性氧对有机体的毒害。因此,这些酶活性的高低反映了有机体的自我解毒能力。由图 1 可知,不同浓度胡椒叶水浸液处理后萝卜幼苗体内的 SOD、POD 和 CAT 活性变化趋势相似,随着水浸液浓度的增大呈先升高后降低的变化趋势。当浓度增大到 0.05 g/ml 时,SOD 和 CAT 的活性已低于对照。

2.3.2 对 MDA 含量的影响。MDA 是膜脂过氧化最重要的产物之一,其含量的多少可表示植物受胁迫伤害的程度。由图 2 可知,当胡椒叶水浸液浓度在 0~0.03 g/ml 低浓度时,萝卜幼苗体内的几种抗氧化保护酶活性增强,MDA 含量低,当胡椒叶水浸液浓度大于 0.03 g/ml 时,化感抑制效应使得膜脂过氧化程度增强,同时几种保护酶的活性下降,综合保护能力降低,MDA 含量快速增加,标志着细胞受伤害的程度加剧。

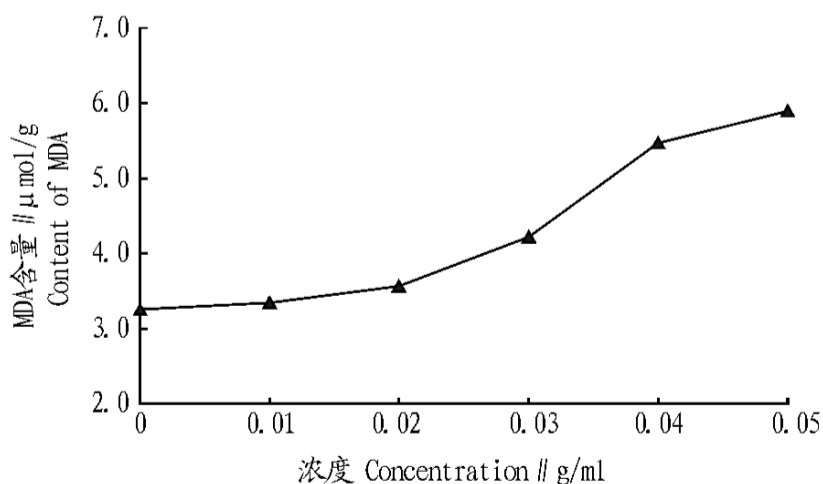


图2 胡椒叶水浸液对萝卜 MDA 含量的影响

Fig.2 Effects of the aqueous extract from *Peper nigrum* L. leaves on the content of MDA in *Raphanus sativus* L.

3 结论与讨论

(1) 研究结果表明,胡椒叶水浸液对受体植物的不同生长发育阶段和不同部位具有不同的化感效应,促进、抑制或无显著影响。在种子萌发阶段,胡椒叶水浸液对受体植物种子的化感效应主要表现为延迟萌发和抑制萌发 2 种方式;在幼苗生长阶段,胡椒叶水浸液对绿豆的幼苗生长具有一定的

促进作用。对萝卜、柱花草和刺苋的地上部长影响表现为低浓度促进和高浓度抑制的双重效应,但对根长的影响则表现为一致的抑制作用,同一浓度时,对根长的影响明显大于对地上部长的影响,说明萝卜、柱花草和刺苋根部对化感物质更为敏感,耿广东等对西瓜的化感作用研究也有相似的结果^[9]。因此,同一植物的化感物质对不同受体植物的效应可能不同,同一作物的不同部位对同一化感物质的敏感性也可能不同。

(2) 胡椒叶水浸液对绿豆的幼苗生长具有一定的促进作用,对萝卜、柱花草的种子萌发和幼苗生长具有不同程度的抑制作用。在实际生产中,合理利用胡椒的化感作用对配置合适的间、套种作物形成多层次、生物多样性较高的农业生态系统具有一定的理论和现实意义,如胡椒园套种绿豆在该浓度范围内是安全的,可能还会使其增产。胡椒叶水浸液对刺苋的种子萌发和幼苗生长均有抑制作用,通过对杂草产生抑制作用化感物质的提纯、分离、鉴定以及人工合成除草活性物质,对开发植物源除草剂对杂草的防治和综合治理的研究具有一定的参考价值。

(3) 植物体内的 SOD、POD 和 CAT 3 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,使植物体内的活性氧维持在一个低水平上,防止活性氧引起的膜脂过氧化及其他伤害过程。林文雄等报道,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^[10]。该试验结果表明,胡椒叶水浸液处理萝卜后,SOD、POD 和 CAT 通过提升酶活力来抵御胡椒叶水浸液对其产生的胁迫。但是随着胡椒叶水浸液浓度的增加,酶活力开始下降,这可能是由于胡椒叶水浸液的胁迫程度超过了酶自身的调节能力,萝卜幼苗的生理代谢已受到显著影响。当浓度大于 0.03 g/ml 时,MDA 含量快速增加,膜脂过氧化程度加剧。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、多学科地进行研究。胡椒叶水浸液对萝卜的化感作用机理也不可能是单一的生理机制影响,还有待于进一步的研究,探明其初始反应和次生变化,从而对胡椒的化感作用有深入的了解,为其开发和利用提供科学的理论依据。

参考文献

- [1] 苏小青,林思祖,曹光球,等.木荷叶及根生化物质对闽楠种子的化感效应[J].江西农业大学学报,2006,28(5):703-705.
- [2] 孔垂华.植物化感作用研究中应注意的问题[J].应用生态学报,1998,9(3):332-336.
- [3] 喻景权,杜尧舜.蔬菜设施栽培可持续发展中的连作障碍问题[J].沈阳农业大学学报,2000,31(1):124-126.
- [4] 陈小军,张志祥,徐汉虹.植物源化感除草剂的研究进展[J].世界农药,2005,27(1):15-19.
- [5] 颜桂军,朱朝华,骆焱平,等.胡椒、芒果和黄皮的化感作用潜力[J].应用生态学报,2006,17(9):1633-1636.
- [6] 林武星,洪伟,叶功富.木麻黄水浸液对其幼苗生长的影响[J].江西农业大学学报,2005,27(1):46-51.
- [7] WILLIAMSON G B, RICHARDSON D. Bioassays for allelopathy: Measuring treatment responses with independent controls[J]. J Chem Ecol, 1988,14(1):181-187.
- [8] 郝再彬,苍晶,徐仲,等.植物生理实验[M].哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社,2004:111-116.
- [9] 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.
- [10] 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.