DOI: 10.3724/SP.J.1011.2011.01480

不同化感物质对入侵植物五爪金龙保护酶系统的影响

孙延杰[1] 庄东红[2] 杜 红[1] 徐效华[3] 马瑞君[2**]

(1. 汕头大学理学院 汕头 515063; 2. 韩山师范学院生物系 潮州 521041;
3. 南开大学元素有机化学研究所 天津 300071)

中图分类号: Q948.12 文献标识码: A 文章编号: 1671-3990(2011)06-1480-03

Impact of different allelochemicals on protective enzyme system of exotic invasive plant *Ipomoea cairica* (Linn.) Sweet

SUN Yan-Jie[1], ZHUANG Dong-Hong[2], DU Hong[1], XU Xiao-Hua[3], MA Rui-Jun[2]

(1. College of Science, Shantou University, Shantou 515063, China; 2. Department of Biology, Hanshan Normal University, Chaozhou 521041, China; 3. Institute of Elemento-Organic Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, China)

(Received Jan. 24, 2011; accepted Jul. 4, 2011)

五爪金龙[*Ipomoea cairica* (Linn.) Sweet]属旋花科(Convolvulaceae)番薯属多年生草质藤本植物, 原产美洲, 上世纪早期引入中国[1]。该植物有很强的攀援能力, 其生态适应性广泛, 生长迅速, 繁殖力强, 常在路旁、林缘、河岸滩涂、撂荒地及果园等生境中形成群落优势种群, 影响农林业生产[1], 破坏生物多样性, 已成为华南地区的主要入侵杂草。目前对五爪金龙的主要防除措施是使用化学除草剂或人工拔除。众所周知, 化学除草剂不仅会导致降解残毒在环境中累积, 并通过物质循环进入生物链, 而且长期使用化学除草剂往往会使杂草产生抗性; 而人工拔除效率低, 费工费力。因此筛选有效的植物源除草剂十分必要[2−4], 而利用单体化感物质是筛选和开发植物源除草剂的重要途径[5−6]。

高等植物的化感物质多为植物的次生代谢产物, 种类繁多, 但从其生物合成途径可分为酚类、类萜、含氮化合物和其他次生物质4大种类[4]。本文选取广泛存在于植物体内且对多种植物生长均有抑制的香草酸、茶碱、(Z)-2-(3-吡啶基亚甲基)-4,6-二甲氧基苯并呋喃-3(2H)-酮(编号090710)和(Z)-2-(2,3-二甲氧基苯基亚甲基)-6-羟基苯并呋喃-3(2H)-酮(编号081110)4种化感物质, 分别为酚类、含氮类化合物和其他类次生物质, 利用4种单体化感物质处理五爪金龙幼苗, 研究保护酶系统的变化, 以期为开发有效防除五爪金龙的植物源除草剂奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用4种化感物质单体分别为香草酸、茶碱和(Z)-2-(3-吡啶基亚甲基)-4,6-二甲氧基苯并呋喃-3(2H)-酮(编号090710)和(Z)-2-(2,3-二甲氧基苯基亚甲基)-6-羟基苯并呋喃-3(2H)-酮(编号081110)。前2种购自南京郎泽医药有限公司, 纯度为98.6%; 后2种为南开大学元素有机化学研究所依据植物源化感物质单体人工合成的化感物质。受体植物为五爪金龙, 采自广东省汕头大学校园内。

1.2 试验方法

在100 mL锥形瓶中加87 mL Hoagland营养液和3 mL分别配制的浓度为2 mmol·L^{-1}上述4种化感物质溶液, 对受体植物五爪金龙(取茎部颜色为青绿色、叶片较嫩、整株长约30 cm的五爪金龙的一部分用于试验)进行处理, 于光照培养箱中培养1 d、4 d、7 d和13 d(13 d取的材料仅用于叶绿素含量测定)时取叶片作为试验材料, 以用全营养液培养的五爪金

* 广东省自然科学基金项目(2007009850)资助

** 通讯作者: 马瑞君(1956~), 女, 博士, 教授, 主要从事植物生态学研究。E-mail: ruijunma2003@yahoo.com.cn
孙延杰(1983~), 男, 硕士研究生, 主要从事入侵植物防治的研究。E-mail: sunyanjie0628@163.com

收稿日期: 2011−01−24 接受日期: 2011−07−04

龙叶片为对照。测定处理组与对照的叶绿素含量、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、丙二醛(MDA)的变化。多次重复测定。

叶绿素含量用 SPAD-502 叶绿素仪在活体叶片上测定(为叶绿素相对含量), 超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛量测定参照文献[7]测定, 过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性参照文献[8]测定。

利用Microsoft excel 2007进行作图和数据处理。

2　结果与分析

2.1　叶绿素含量的变化

图1表明, 随着处理时间的延长, 对照叶绿素含量无明显变化, 而处理组的叶绿素含量均有下降, 处理时间越长, 下降越明显。其中经茶碱处理13 d后的五爪金龙叶片叶绿素含量仅为对照的67%。试验观察发现, 与对照相比, 处理组幼苗叶片逐渐变黄, 幼苗细弱, 可直观地看出, 4种化感物质对五爪金龙幼苗叶绿素含量的影响。

2.2　抗氧化酶活性的变化

超氧化物歧化酶(SOD)作为生物体内清除自由基的重要酶, 在保护酶系中处于核心地位[8]。图1表明, 与对照相比, 随着处理时间的延长香草酸、茶碱和081110处理的五爪金龙叶片SOD活性呈先上升后下降趋势, 且培养后期均急剧下降; 经090710处理的五爪金龙叶片SOD活性呈持续上升趋势, 在培养第1 d时SOD酶活性显著低于对照, 随着培养时间延长, 培养第7 d时和对照差别很小, 表明090710有可能抑制了SOD活性, 随着处理时间延长, 植物体内自由基的累积激活了SOD活性, 抑制有所减弱。CAT是一种具有高效而低亲和特性, 可将SOD的作用产物进一步转化为H_2O和分子氧的植物脱毒蛋白。4种化感物质处理对五爪金龙叶片CAT活性的影响如图1所示。对照变化不明显; 茶碱、香草酸和081110处理的五爪金龙叶片CAT活性, 从处理第1 d到第4 d均高于对照, 且经茶碱处理的五爪金龙叶片CAT活性高于对照近3倍, 在培养7 d时, 这3种化感物质处理的五爪金龙叶片CAT活性均低于对照; 经090710处理的五爪金龙叶片CAT活性呈先降后升现象外, 且在培养的第1 d低于对照, 随培养时间的延长CAT活性有所上升。试验结果表明了SOD和CAT在植物体内的协作性, 与前人试验结果类似。

POD的主要功能是抑制膜内不饱和脂肪酸的过氧化作用, 维持细胞质膜的稳定性和完整性, 提高植物对逆境的适应性。图1表明, 对照处理下五爪金龙叶片POD活性变化不明显, 经081110、090710和茶碱处理的五爪金龙叶片POD活性呈先上升后下降趋势。培养第1 d后, 这3种化感物质处理的POD活性均高于对照; 培养第7 d时活性均下降, 且均低于第1 d的值。经香草酸处理的五爪金龙叶片POD活性呈持续上升趋势, 处理第1 d POD活性明显低于对照, 第7 d时POD活性与对照持平。由于POD和CAT配合催化分解H_2O_2, 分析本研究中香草酸对五爪金龙叶片CAT和POD的作用结果得出香草酸对五爪金龙的影响较小。

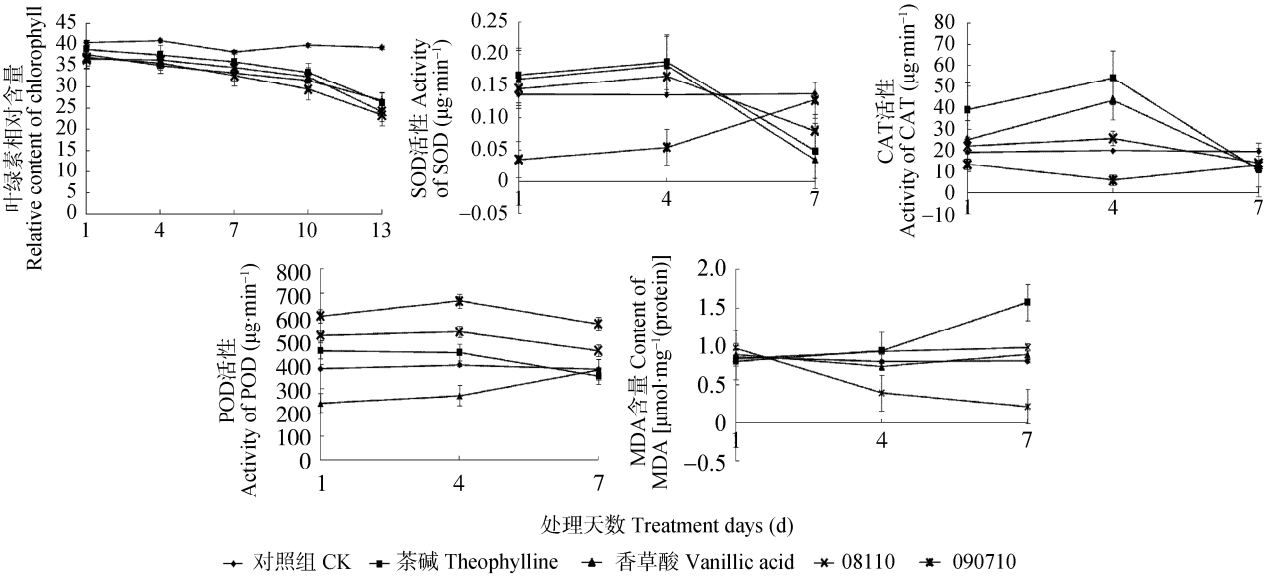

图1　不同化感物质处理对五爪金龙叶绿素、MDA含量和SOD、POD、CAT活性的影响

Fig. 1　Effect of different allelochemicals on the contents of chlorophll and MDA, the activity of SOD, POD and CAT in leaves of *Ipomoea cairica* (Linn.) Sweet

090710: (Z)-2-(3-吡啶基亚甲基)-4,6-二甲氧基苯并呋喃-3(2H)-酮 (Z)-2-(3-pyridylmethylene)-4, 6-dimethoxybenzofuran-3 (2H)-ketone; 081110: (Z)-2-(2,3-二甲氧基苯基亚甲基)-6-羟基苯并呋喃-3(2H)-酮 (Z)-2-(2,3-dimethoxyphenyl methylene)-6-hydroxyl group benzofuran-3(2H)-ketone.

丙二醛(MDA)作为细胞内膜脂过氧化的重要产物，对细胞的生物膜产生损伤，其含量的多少是脂质过氧化作用强弱的一个重要指标[9]。图 1 表明，香草酸、茶碱、081110 处理的五爪金龙叶片 MDA 含量都明显增长，其中茶碱处理的五爪金龙叶片 MDA 含量增长速度最快，培养 7 d 时是培养 1 d 的 1.96 倍。经 090710 处理的五爪金龙叶片 MDA 量呈持续递减趋势变化，且低于对照，表明细胞内脂质过氧化物没有积累，活性氧较少，与前面指标的测定结果相吻合。

3 讨论与结论

叶绿素含量是反映植物光合能力的重要指标之一，在一定程度上也决定着植物的生长速度。化感物质常常会加速叶绿素的分解或抑制其合成，改变叶绿素a/b比值，尤其是酚类物质[10−11]。本试验发现，4种化感物质均能降低五爪金龙叶绿素含量，抑制幼苗生长。这种作用是否具有专一性，还有待进一步证明。

植物体内的SOD、CAT和POD组成一个有效的活性氧清除系统[12]，对酶系统起到防御作用，保护机体免遭伤害；MDA水平一方面表明膜系统受伤害的程度，另一方面较高浓度的MDA还会对膜系统造成更大的潜在性伤害[13]。本研究表明，在化感物质香草酸、茶碱、(Z)-2-(3-吡啶基亚甲基)-4,6-二甲氧基苯并呋喃-3(2H)-酮(090710)和(Z)-2-(2,3-二甲氧基苯基亚甲基)-6-羟基苯并呋喃-3(2H)-酮(081110)的胁迫下，随胁迫时间延长，五爪金龙叶片叶绿素含量普遍下降，叶片在培养15 d时经化感物质处理后的叶片均有不同程度泛黄现象；SOD、CAT、POD活性的试验结果与相关报道[14−16]中先升后降趋势的结果并不完全一致，而表现为090710处理的五爪金龙叶片SOD活性呈现持续上升趋势，CAT活性呈现先降后升趋势，POD活性呈现先升后降趋势。由于经090710处理的五爪金龙叶片POD活性都下降，积累的活性氧只能靠活性较高的POD来完成。香草酸处理的五爪金龙叶片POD活性呈现持续上升趋势，可能原因是香草酸对POD活性有一定抑制作用，随氧化产物的积累，刺激POD活性上升。丙二醛(MDA)含量表现为除090710处理呈现持续递减外，其他均呈现递增趋势，尤其以茶碱最为明显。五爪金龙体内的保护酶活性升高可能是受到化感胁迫后，因体内过氧化物增加而启动的一种应激机制[17]，即植物为适应这种胁迫作用，体内保护酶活性增加，但这种适应性只在一定程度上起作用，当过氧化物积累到一定程度，各种酶不能正常发挥作用，导致保护酶活性下降；当保护酶活性下降，化感胁迫产生的自由基清除效果降低，自由基的累积使植物体内的MDA含量增加，又反作用致使酶活性进一步降低，使植物受害加重，从而出现一系列的连锁反应[18−19]。

本试验结果表明，化感物质 090710 对五爪金龙抑制性较差，而香草酸能够明显降低五爪金龙叶片内 CAT 活性，茶碱和 081110 能明显抑制五爪金龙幼苗的生长。因此，香草酸、茶碱和 081110 有望成为植物源除草剂的候选化感物质，但其具体作用机制还有待于进一步研究。

参考文献

[1] 朱慧，马瑞君. 入侵植物五爪金龙生物学特性研究[J]. 生态科学, 2006, 25(6): 517–520

[2] 颜桂军，朱朝华. 可以开发为植物源除草剂的十种植物[J]. 广西热带农业, 2005(4): 22–25

[3] 马瑞君，朱慧，陈丹生，等. 入侵杂草五爪金龙的除草剂植物筛选[J]. 中国生态农业学报, 2008, 16(2): 391–395

[4] 孔垂华，胡飞. 植物化感相生相克作用及其应用[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 152–167

[5] 王海斌，何海斌，曾聪明，等. 含氧萜类化合物对稗草的化感抑制作用[J]. 中国生态农业学报, 2009, 17(2): 307−311

[6] 王军喜，赵庆芳，叶文斌，等. 单体化感物质的作用机理研究概况[J]. 中国农学通报, 2010, 26(20): 182–186

[7] 李合生，孙群，赵世杰，等. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 105–109

[8] 邹奇. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 54

[9] Dai Q J, Huang S B, Liu X Z, et al. Response of oxidative stress defense systems in rice (*Oryza sativa*) leaves with supplemental UV-B radiation[J]. Physiologia Plantarum, 1997, 101(2): 301–308

[10] 吴凤芝，潘凯，周秀艳. 苯丙烯酸对黄瓜幼苗生理特性的影响[J]. 应用生态学报, 2005, 16(5): 915–918

[11] 吴凤芝，潘凯，马凤鸣，等. 苯丙烯酸对黄瓜幼苗光合作用和细胞超微结构的影响[J]. 园艺学报, 2004, 31(2): 183–188

[12] 余叔文，汤章城. 植物生理学与分子生物学[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 366–389

[13] Hejl A M, Einhellig F A, Rasmussen J A. Effects of juglone on growth, photosynthesis, and respiration[J]. Chem Ecol, 1993, 19(3): 559–568

[14] 聂呈荣，曾任森，黎华寿，等. 三裂叶蟛蜞菊对花生化感作用的生理生化机理[J]. 花生学报, 2002, 31(3): 1–5

[15] 马斌，贾俊英，云兴福. 西芹种子浸提液对黄瓜枯萎病菌化感作用机理的研究——黄瓜植株体内 SOD、POD 和 CAT 活性的变化[J]. 内蒙古农业大学学报: 自然科学版, 2010, 31(2): 173–178

[16] 陈向明，马云飞. 山核桃外果皮黄酮提取液对小麦和绿豆幼苗的化感效应[J]. 西北植物学报, 2010, 30(4): 827–831

[17] Scandalios L G. Oxygen stress and superoxide dismutases[J]. Plant Physiol, 1993, 101(1): 7–12

[18] 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物酶活性的影响[J]. 生态学报, 2006, 26(10): 3393–3403

[19] Politycka B. Peroxidase activity and lipid peroxidation in roots of cucumber seedlings influenced by derivatives of cinnamic and benzoic acids[J]. Acta Physiol Plant, 1996, 18(4): 365–370