

高羊茅腐解物的自毒作用初探

王晓英

(唐山师范学院 生命科学系,河北 唐山 063000)

**摘要:**为探明高羊茅草坪逐年退化现象是否与化感作用有关,在室内用生物测定方法测定了高羊茅腐解物对高羊茅自身的化感作用,并探讨了相关的作用机制。结果表明,高羊茅腐解液能抑制高羊茅种子的萌发和幼苗生长,且腐解液质量浓度越大,抑制作用越明显。在腐解液质量浓度为0.06 g/mL时,其对高羊茅种子发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数、根长、苗高、单株鲜质量的抑制率分别达58.64%、81.68%、73.34%、81.63%、37.86%、41.13%、30.43%。随着高羊茅腐解液质量浓度的增加,其幼苗SOD活性先升后降;POD活性与空白对照差异不显著;CAT活性先升后降,在高质量浓度时,与空白对照的差异达到显著水平;膜脂过氧化产物MDA含量持续升高;可溶性蛋白含量下降。可见,高羊茅残体腐解是其草坪逐年退化的原因之一。

**关键词:**高羊茅;退化;化感作用;自毒作用

**中图分类号:**S688.4      **文献标志码:**A      **文章编号:**1004-3268(2015)05-0107-05

Preliminary Studies on Autotoxicity Effects of Tall Fescue  
(*Festuca arundinacea* Schreb) Decomposition Products

WANG Xiaoying

(Department of Life Science,Tangshan Teachers College,Tangshan 063000,China)

**Abstract:** The allelopathic autotoxicity effect of the decomposed liquid of tall fescue on its seed germination and seedling growth was tested in laboratory by adopting indoor bioassay,aiming to approach whether the allelopathic autotoxicity effect exists in the degradation of tall fescue lawn year by year. The results showed that,the decomposed liquid of tall fescue remarkably inhibited the germination of tall fescue seed and the growth of tall fescue seedlings,and the inhibition effect became stronger as the concentration of the decomposed liquid increased. At 0.06 g/mL of the decomposed liquid,the germination rate,germination energy,germination index,vigor index,root length,seedling height,single plant weight were reduced by 58.64% ,81.68% ,73.34% ,81.63% ,37.86% ,41.13% ,30.43% ,respectively. With the concentration of the decomposed liquid increased,the activity of SOD *in vivo* first increased and then decreased, while the activity of POD showed no significant difference with the control. The activity of CAT first increased and then decreased, and had significant difference with the control when the concentration of the decomposed liquid was 0.06 g/mL. And the decomposed liquid of tall fescue increased the content of MDA,and decreased the content of soluble protein. We conclude that decomposition of tall fescue residue is one of the reasons why the tall fescue lawn degrades year by year.

**Key words:** tall fescue; degradation; allelopathic effect; autotoxicity

化感作用是植物通过淋溶、挥发、残茬降解和根系分泌向环境中释放化学物质,从而对自身或周围其他植物的生长产生影响的现象<sup>[1]</sup>。这种作用对群落中的植物组成和分布、群落演替、协同演化、生

物入侵等均有重大影响<sup>[2]</sup>。自毒作用是化感作用的一种特殊类型,它是指供体与受体属于同一种植物,又称自化感作用或自体中毒。在国内外,越来越多具有自毒作用的植物被发现,如紫花苜蓿<sup>[3]</sup>、水稻<sup>[4]</sup>、豌豆<sup>[5]</sup>、西瓜<sup>[6]</sup>等。高羊茅作为一种具有广泛生态适应性、耐践踏和粗放管理的多年生草坪草,常被用作护坡草种和粗放管理地草坪草种。随着栽培时间的延长,高羊茅会出现逐年退化的现象。为探明高羊茅草坪在退化过程中是否存在自毒作用,研究了高羊茅残体腐解物对自身种子萌发及幼苗生长、生理指标的影响,为高羊茅的合理养护管理提供一定的理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料处理

取枯黄的高羊茅残体,剔除杂草,筛去土粒,在烘箱中 70 ℃ 下烘至恒质量。将其剪成约 1 cm 的小段备用。

取 60 g 烘干后的高羊茅残体于烧杯中,与 300 g 园土混匀,空白对照不加植株残体。浇透水,置于人工气候箱内 25 ℃ 恒温遮光腐解 40 d。在腐解物中加入 600 mL 蒸馏水混合均匀,8 层纱布过滤后,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液用循环水真空泵抽滤 4 次,使滤液通过 0.45 μm 微孔滤膜,所得液体即为质量浓度为 0.10 g/mL 的腐解液母液,分别稀释至 0.01、0.02、0.04、0.06 g/mL,4 ℃ 保存备用。

### 1.2 试验方法

将高羊茅种子用 0.3% KMnO<sub>4</sub> 溶液消毒 10 min,自来水冲洗后,再用蒸馏水冲洗 2~3 次,置于 40~45 ℃ 的恒温水浴锅中水浴 20 min 催芽,取出于滤纸上晾干备用。

试验设 0 (CK)、0.01、0.02、0.04、0.06 g/mL 5 个腐解液质量浓度梯度处理,每个处理设 3 次重复。取已消毒的高羊茅种子,放入铺有滤纸的培养皿中,每皿中均匀播入 50 粒种子。每个培养皿中分别加入 3 mL 不同质量浓度的腐解液,对照组用园土浸提液,每天根据培养皿干燥程度适量补充处理液,保持培养皿内滤纸湿润。

从种子露白开始,每隔 24 h 记录萌发的种子数(胚根或胚轴突破种皮 1~2 mm 为萌发)。连续记录 7 d,计算发芽率、发芽势、发芽指数。

发芽率 = 7 d 内正常发芽的种子数/供试种子总数 × 100%。

发芽势 = 前 3 d 内正常发芽的种子数/供试种子总数 × 100%。

发芽指数(GI) =  $\sum (Gt/Dt)$ ,式中  $Gt$  表示在第  $t$  天种子的发芽数, $Dt$  代表相应的发芽天数。

发芽后第 7 天从每个培养皿中挑选 10 株健壮幼苗,吸水纸吸干水分后,用直尺测定每株幼苗的根长和苗高,用分析天平称量整株鲜质量,并计算种子活力指数。

活力指数(VI) =  $GI \times S$ ,式中  $S$  为第 7 天测得的整株鲜质量(g)。

抑制率(IR) = (处理值 - 对照值)/对照值 × 100% (IR < 0 表示抑制;IR > 0 表示促进),抑制率绝对值的大小与作用强度一致。综合效应(SE)是供体对同一受体各个测试项目抑制率的算术平均值<sup>[7]</sup>。

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性测定均参照《植物生理学实验指导》<sup>[8]</sup>;丙二醛(MDA)含量测定参照赵世杰等<sup>[9]</sup>的方法;可溶性蛋白含量测定采用 Bradford 方法<sup>[10]</sup>。

### 1.3 数据处理

数据统计分析采用 Excel 2007 软件进行,用 SPSS 19.0 软件进行差异显著性分析(LSD)。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同质量浓度高羊茅腐解液对其种子萌发的影响

从表 1 可以看出,与对照相比,高羊茅腐解液对其种子萌发有显著的抑制作用( $P < 0.05$ ),随着质量浓度的增加,高羊茅腐解液对其种子萌发的抑制作用显著增强。各腐解液处理组种子发芽指标与对照均差异显著( $P < 0.05$ ),不同腐解液处理组间各种子发芽指标差异也达到显著水平。随着腐解液质量浓度的增加,高羊茅种子发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数均逐渐降低,当腐解液质量浓度为 0.06 g/mL 时,其对高羊茅种子发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数的抑制率达到最大,分别为 58.64%、81.68%、73.34%、81.63%,说明高羊茅腐解液对其种子发芽速度、整齐度以及种子活力均有抑制作用。

### 2.2 不同质量浓度高羊茅腐解液对其幼苗生长的影响

从表 2 可以看出,与对照相比,高羊茅腐解液对其幼苗生长有显著的抑制作用( $P < 0.05$ )。随着质量浓度的增加,腐解液对高羊茅幼苗生长的抑制作用显著增强。各腐解液处理组的根长、苗高和单株鲜质量与对照组相比差异显著( $P < 0.05$ )。高羊茅腐解液对其幼苗根长的抑制率在 12.55% ~

37.86%,对苗高的抑制率在 3.71% ~ 41.13%,对单株鲜质量的抑制率在 10.43% ~ 30.43%。在低质量浓度范围内(0.01 ~ 0.02 g/mL),同质量浓度腐解液处理下的高羊茅幼苗根长受抑制程度大于苗

高;而在高质量浓度范围内(0.04 ~ 0.06 g/mL),同质量浓度腐解液处理下的高羊茅幼苗根长受抑制程度小于苗高,说明随质量浓度升高,高羊茅腐解液对其幼苗地上部分的抑制作用逐渐增强。

表 1 不同质量浓度高羊茅腐解液对其种子萌发的影响

质量浓度/(g/mL)	发芽率/%	IR/%	发芽势/%	IR/%	发芽指数	IR/%	活力指数	IR/%
0(CK)	88.67 ± 1.76a		40.00 ± 1.15a		42.42 ± 0.28a		0.49 ± 0.00a	
0.01	80.00 ± 1.15b	-9.77	30.00 ± 1.15b	-25.00	36.14 ± 0.93b	-14.80	0.37 ± 0.01b	-24.49
0.02	69.33 ± 2.91c	-21.81	21.33 ± 2.40c	-46.68	28.39 ± 0.38c	-33.07	0.27 ± 0.00c	-44.90
0.04	61.33 ± 2.40d	-30.83	16.00 ± 1.15d	-60.00	24.41 ± 1.42d	-42.46	0.22 ± 0.01d	-55.10
0.06	36.67 ± 2.91e	-58.64	7.33 ± 1.76e	-81.68	11.31 ± 1.43e	-73.34	0.09 ± 0.01e	-81.63

注:同一指标不同处理数据标不同字母表示在 0.05 水平差异显著,下同。

表 2 不同质量浓度高羊茅腐解液对其幼苗生长的影响

质量浓度/(g/mL)	根长/cm	IR/%	苗高/cm	IR/%	单株鲜质量/g	IR/%
0(CK)	4.86 ± 0.02a		7.27 ± 0.05a		0.011 5 ± 0.000 1a	
0.01	4.25 ± 0.02b	-12.55	7.00 ± 0.01b	-3.71	0.010 3 ± 0.000 1b	-10.43
0.02	4.00 ± 0.01c	-17.70	6.10 ± 0.06c	-16.09	0.009 6 ± 0.000 1c	-16.52
0.04	3.78 ± 0.01d	-22.22	5.28 ± 0.04d	-27.37	0.008 9 ± 0.000 1d	-22.61
0.06	3.02 ± 0.03e	-37.86	4.28 ± 0.08e	-41.13	0.008 0 ± 0.000 1e	-30.43

2.3 不同质量浓度高羊茅腐解液对其种子萌发和幼苗生长影响的综合效应

从表 3 可以看出,在试验所设质量浓度范围内,高羊茅腐解液对其种子萌发、幼苗生长均有较强的抑制作用,且随着腐解液质量浓度的升高,抑制作用逐渐增强。0.01 ~ 0.06 g/mL 腐解液处理下,种子萌发指标的抑制率分别为 18.52%、36.62%、47.10%、73.82%,幼苗生长指标的抑制率分别为 8.90%、16.77%、24.07%、36.47%,综合效应分别为 13.71%、26.70%、35.59%、55.15%。腐解液对高羊茅种子萌发和幼苗生长抑制率均值分别为 44.02%、21.55%,说明高羊茅腐解液对其种子萌发的抑制作用强于对幼苗生长的抑制作用。

表 3 不同质量浓度高羊茅腐解液对其种子萌发和幼苗生长影响的综合效应

质量浓度/(g/mL)	种子萌发 IR/%	幼苗生长 IR/%	SE/%
0.01	-18.52	-8.90	-13.71
0.02	-36.62	-16.77	-26.70
0.04	-47.10	-24.07	-35.59
0.06	-73.82	-36.47	-55.15
均值	-44.02	-21.55	-32.79

2.4 不同质量浓度高羊茅腐解液对其幼苗生理指标的影响

从图 1—图 5 可以看出,腐解液处理下,高羊茅幼苗体内抗氧化酶活性、MDA 含量和可溶性蛋白含量均发生变化。与对照相比,各质量浓度腐解液处理的高羊茅幼苗 SOD 活性显著升高( $P < 0.05$ ),且

随处理液质量浓度的升高,SOD 活性表现出先升后降趋势;POD 活性呈先升后降的趋势,但与对照差异均不显著;CAT 活性也随处理液质量浓度的升高呈先升后降的趋势,当腐解液质量浓度升至 0.06 g/mL 时,高羊茅幼苗 CAT 活性与对照相比显著降低。MDA 含量显著升高,这说明随腐解液质量浓度

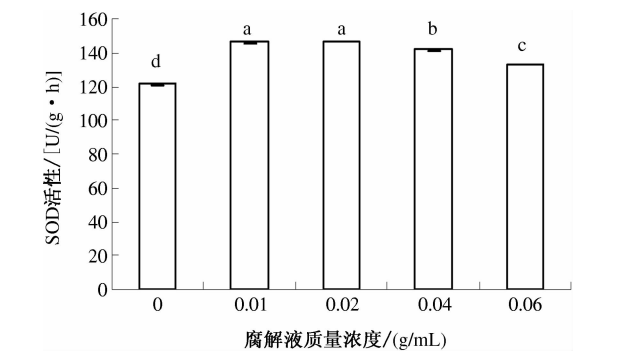


图 1 高羊茅腐解液对其幼苗 SOD 活性的影响

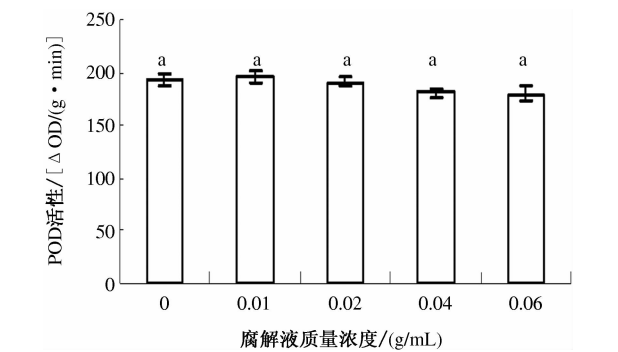


图 2 高羊茅腐解液对其幼苗 POD 活性的影响

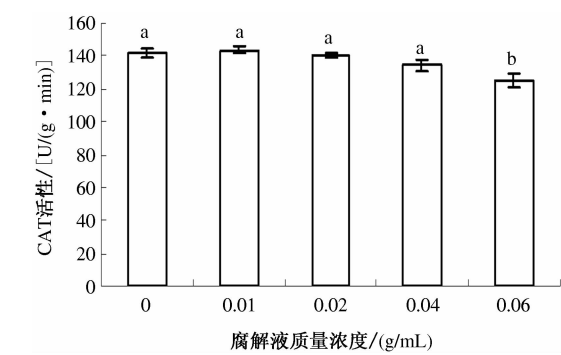


图 3 高羊茅腐解液对其幼苗 CAT 活性的影响

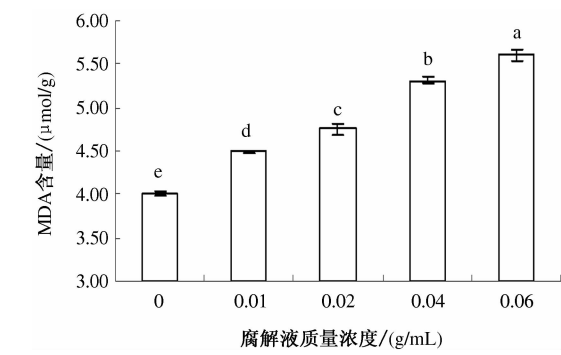


图 4 高羊茅腐解液对其幼苗 MDA 含量的影响

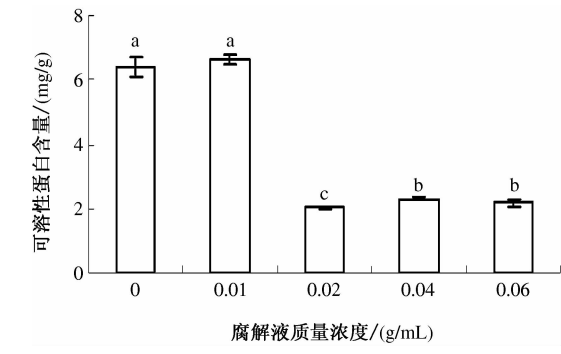


图 5 高羊茅腐解液对其幼苗可溶性蛋白含量的影响

的增加,幼苗膜脂过氧化程度明显加重。高羊茅幼苗可溶性蛋白含量随腐解液质量浓度增加呈先升后降的趋势,且腐解液质量浓度大于 0.01 g/mL 时可溶性蛋白含量急剧下降,与对照差异显著。

3 结论与讨论

高羊茅具有较强的化感作用,其分泌的化感物质影响油菜、红三叶草的生长<sup>[11]</sup>,高羊茅的全草化感液无论是对美丽胡枝子种子的最终萌发率还是动态萌发过程都表现出明显抑制作用,且随其浓度的升高,抑制作用增强<sup>[12]</sup>。对高羊茅腐解物的研究表明,不同浓度腐解液对其种子萌发和幼苗生长都表现为化感抑制作用,说明高羊茅具有自毒作用,并呈浓度效应,即随着腐解液浓度的增大,自毒作用增

强。这与在其他植物上的试验结果基本相似,但没有低浓度促进高浓度抑制的双重浓度效应。

高羊茅腐解液对其种子发芽势的影响趋势与对发芽率的影响一致,但在同一质量浓度下,对发芽势的抑制率高于发芽率,表明发芽势是衡量化感作用更敏感的指标,这与郑丽等<sup>[13]</sup>研究的结果一致。比较对幼苗根长和苗高的抑制率可看出,低质量浓度腐解液对高羊茅根生长的抑制作用明显强于对苗高生长的抑制,而高质量浓度作用下抑制作用则相反,这与前人研究结果不一致<sup>[14]</sup>,具体原因还有待于进一步研究。

植物遭受胁迫时,体内抗氧化酶类和非酶抗氧化剂协同作用,共同维护体内活性氧代谢的平衡。本研究结果表明,随着高羊茅腐解液质量浓度增加,高羊茅幼苗膜脂过氧化产物 MDA 含量持续升高;POD 与对照差异不显著;CAT 活性先升后降,在高质量浓度时与对照的差异达到显著水平;SOD 活性在低质量浓度时升高,随着质量浓度升高活性又下降。由此可见,高羊茅腐解液中的化感物质打破了其幼苗体内的活性氧平衡系统,使植物受到伤害。可溶性蛋白含量的高低与植物抗逆性密切相关。本试验中,高质量浓度腐解液处理的高羊茅幼苗体内可溶性蛋白含量与对照相比显著降低,说明高质量浓度腐解液处理后高羊茅幼苗抗逆性显著降低,这与王硕等<sup>[15]</sup>试验结果一致。化感作用还与植物的光合作用、酶活性、电子传递、细胞分裂和分化、蛋白质合成、基因表达等有关<sup>[16-17]</sup>,高羊茅其他的自毒作用机制有待于进一步试验研究。

凋落物和植株残体是化感物质重要来源之一,在土壤微生物作用下,植株残体腐解物具有一定的化感作用。本试验在室内证实了高羊茅植株腐解物具有自毒作用。高羊茅残体腐解物能够抑制高羊茅种子的萌发及幼苗生长,因此在高羊茅草坪的养护管理中应清除枯落物,尽量减轻草坪草的自毒作用,延长草坪的使用年限。

参考文献:

[1] 李登武,王冬梅,姚文旭. 油松的自毒作用及其生态学意义[J]. 林业科学,2010,46(11):174-178.  
[2] 彭少麟,邵华. 化感作用的研究意义及发展前景[J]. 应用生态学报,2001,12(5):780-785.  
[3] Chon S U, Choi S K, Jung S. Effects of alfalfa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfalfa and barnyard[J]. Crop Prot, 2002,21:1077-1082.

- noma[J]. *Anticancer Res*,2000,20(4):2489-2494.
- [6] 许琰,丛喆,魏强,等.实时定量PCR的研究进展及应用[J]. *中国试验动物学报*,2007,15(2):155-158.
- [7] 黄河,帅素容.藏猪心脏脂肪酸结合蛋白基因(*H-FABP*)组织表达差异性研究[J]. *四川农业大学学报*,2007,25(4):480-484.
- [8] 齐小辉,马玺,李珊珊,等.基于PCR的基因差异表达分析技术[J]. *生物技术通讯*,2004,15(4):389-391.
- [9] 史建伍,盛军庆,曾柳根,等.萍乡红鲫卵母细胞透明带糖蛋白ZP3基因及其侧翼序列的克隆和分析[C].中国南方十六省(市、区)水产学会渔业学术论坛第二十六次学术交流大会论文集(下册),2010.
- [10] 杨华,刘守仁,钟发刚,等.*BMPR-IB*基因在绵羊不同组织的表达差异性研究[J]. *中国畜牧杂志*,2009,45(11):6-10.
- [11] 陈修栋,桂宏翔,赵泉阳,等.DDK综合症部分相关基因的实时定量PCR分析[J]. *河南农业科学*,2013,42(7):141-144,149.
- [12] 郑梦月,姜冬梅,康波,等.四川白鹅*ENO1*基因特征及其在HPG轴组织中发育性表达的研究[J]. *华北农学报*,2014,29(1):93-97.
- [13] 秦彤,王皓宇,郝海生,等.日粮精粗比对围产期奶牛乳腺内参基因表达的影响[J]. *华北农学报*,2013,28(4):75-78.
- [14] 张萍,周慧芳,孙正华,等.恒河猴*CD1d*基因的克隆及其组织表达差异性分析[J]. *细胞与分子免疫学杂志*,2009,25(7):581-584.
- [15] 张晶,陈修栋,王善强,等.淮南猪品种遗传特性的AFLP分析[J]. *中国畜牧杂志*,2011,38(5):130-133.
- [16] Gudipati R K, Neil H, Feuerbach F, *et al.* The yeast *RPL9B* gene is regulated by modulation between two modes of transcription termination[J]. *EMBO*,2012,31(10):2427-2437.

\*\*\*\*\*

(上接第110页)

- [4] 胡帅珂,高岩,王莘.水稻残茬自毒作用研究[J]. *现代农业科技*,2012(5):51-52.
- [5] 喻景权,松井久佳.豌豆根系分泌物自毒作用的研究[J]. *园艺学报*,1999,26(3):175-179.
- [6] 杨广超,吕卫光,朱静,等.西瓜根、茎、叶水浸提液对西瓜种子萌发及幼苗中酶活性的影响[J]. *西北农业学报*,2005,14(1):46-51.
- [7] 沈慧敏,郭鸿儒,黄高宝.不同植物对小麦、黄瓜和萝卜幼苗化感作用潜力的初步评价[J]. *应用生态学报*,2005,16(4):740-743.
- [8] 张志良.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2004:154-155.
- [9] 赵世杰,许长成,邹琦,等.植物组织中丙二醛含量测定方法的改进[J]. *植物生理学通讯*,1991,30(3):207-210.
- [10] Bradford M M. A rapid and sensitive method for quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding[J]. *Anal Biochem*,1976,72:248-254.
- [11] 白雪芳,张宝琛.植物化学生态学中的克生作用在草业上的表现[J]. *草业科学*,1995(12):70-72.
- [12] 孙益群,柏明娥,徐高福,等.高羊茅等3种植物对美丽胡枝子的化感作用[J]. *林业科技开发*,2010,24(5):67-70.
- [13] 郑丽,冯云龙.入侵植物的生理生态特性对碳积累的影响[J]. *生态学报*,2005,25(10):2782-2787.
- [14] Turk M A, Tawaha A M. Inhibitory effects of aqueous extracts of black mustard on germination and growth of lentil[J]. *Pakistan Journal of Agronomy*,2002,1(1):28-30.
- [15] 王硕,慕小倩,杨超,等.黄花蒿浸提液对小麦幼苗的化感作用及其机理研究[J]. *西北农林科技大学学报*,2006,34(6):106-110.
- [16] 刘建新,胡浩斌,王鑫.多裂骆驼蓬水浸液对多年生黑麦草的化感作用与生理生化表现[J]. *草地学报*,2008,16(4):374-379.
- [17] 朱慧,马瑞君,陈树思,等.高寒草场主要牧草对黄帚橐吾水浸液化感胁迫的生理响应[J]. *草业学报*,2007,16(5):102-106.