

刘忠德, 刘淑娟, 吴仁涛, 等. 臭椿提取物对杂草藜种子萌发和生理活性的影响[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(3): 88–90.

# 臭椿提取物对杂草藜种子萌发和生理活性的影响

刘忠德<sup>1</sup>, 刘淑娟<sup>1</sup>, 吴仁涛<sup>2</sup>, 何真真<sup>1</sup>

(1. 泰山学院生物与酿酒工程学院, 山东泰安 271021; 2. 泰山学院化学与化工学院, 山东泰安 271021)

**摘要:**采用索氏提取法对臭椿树皮进行分离、提取及浓缩, 获得臭椿提取物, 采用不同浓度的提取液处理杂草藜的种子, 测定其萌发率、幼根长度、幼芽长度、鲜重, 以及藜叶绿素含量、丙二醛(MDA)含量、过氧化物酶(POD)活性。结果表明, 臭椿提取物能够抑制杂草藜种子萌发率, 影响幼苗生长, 降低幼苗鲜重叶绿素含量, 增加 MDA 含量和 POD 活性。

**关键词:**臭椿提取物; 萌发率; 叶绿素; 丙二醛(MDA); 过氧化物酶(POD)

**中图分类号:** S451.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)03-0088-03

臭椿(*Ailanthus altissima*)在我国分布广泛, 生长速度快, 在臭椿树周围, 很少生长其他杂草, 臭椿是否产生某些化学物质对杂草生长造成影响值得探讨。Heisey 进行了臭椿提取物对美国当地水芹的化感作用等研究<sup>[1-2]</sup>。我国在臭椿提取物对昆虫的作用方面, 也有少量报道, 主要是臭椿提取物对光肩星天牛取食、产卵的驱避作用<sup>[3-4]</sup>; 对植物的作用方面, 主要是臭椿提取物对播娘蒿的抑制作用<sup>[5]</sup>, 对刺槐种子发芽的影响<sup>[6]</sup>, 对油菜种子萌发和核酸含量的影响<sup>[7]</sup>, 但在臭椿提取物除草机理方面研究尚未见报道。本试验通过研究臭椿提取物对杂草藜生长、叶绿素含量、丙二醛含量(MDA)、过氧化物酶(POD)活性的影响, 以期明确臭椿提取物抑制杂草生长的作用机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 臭椿提取物的制备

将臭椿树皮烘干后进行粉碎, 过 20 网筛后准确称取干粉 10 g, 滤纸包好装入索氏提取器, 无水乙醇回流提取 6 h, 然后将提取液在旋转蒸发器内减压浓缩至稠膏状, 最后将膏状物用乙醇定容至 50 mL, 装入磨口棕色广口瓶内密封, 置于 4 ℃ 冰箱中备用。

### 1.2 臭椿提取物对杂草藜种子生长的影响

试验设 6 个处理, 分别为臭椿提取物原液, 稀释 2、5、10、15 倍, 清水对照(CK), 每处理重复 3 次。分别用不同浓度梯度提取液处理培养皿里的圆形滤纸片, 待滤纸干后继续滴加各浓度溶液, 每个培养皿中总共滴加 10 mL 不同浓度梯度的提取液, 待滤纸上的无水乙醇挥发完全后, 在培养皿中分别放入 30 粒大小一致、颗粒饱满、各部分生理结构完整健康的藜种子, 将培养皿贴好标签后放入 25 ℃ 恒温光照培养箱中培养 7 d。每天记录培养皿中种子发芽数量、计算发芽率, 测定各个培养皿中种子根长、芽长, 7 d 后称量各培养皿中种子鲜重, 计算抑制率。

### 1.3 臭椿提取物对杂草藜生理活性的影响

**1.3.1 叶绿素 a、b 含量测定**<sup>[8]</sup> (1) 色素的提取: 分别取不同浓度处理的藜叶片, 剪成碎块, 称取 0.1 g 放入研钵中加纯丙酮 2 mL, 少许碳酸钙和石英砂, 研磨成匀浆, 将匀浆转入离心管, 并用 2 mL 80% 丙酮洗涤研钵, 一并转入离心管, 离心后沉淀。(2) 光密度测定: 取上述色素提取液 1 mL, 加 80% 丙酮 4 mL, 稀释后转入比色杯中, 以 80% 丙酮为对照, 分别测定  $D_{663\text{ nm}}$ 、 $D_{645\text{ nm}}$ 。(3) 计算: 计算色素提取液中叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a + b 的浓度。根据稀释倍数分别计算叶片中色素的含量(mg/L):

$$\text{叶绿素 a 含量} = 12.7D_{663\text{ nm}} - 2.69D_{645\text{ nm}};$$

$$\text{叶绿素 b 含量} = 22.9D_{645\text{ nm}} - 4.68D_{663\text{ nm}};$$

$$\text{叶绿素 a + b 含量} = 8.02D_{663\text{ nm}} + 20.21D_{645\text{ nm}}。$$

**1.3.2 MDA 含量的测定**<sup>[8]</sup> (1) MDA 的提取: 分别取各浓度梯度提取物处理的藜叶片 0.1 g, 剪碎, 加入 10% 三氯乙酸(TCA) 2 mL 和少量石英砂, 研磨; 进一步加入 2 mL TCA 充分研磨, 匀浆液以 4 000 g 离心 10 min, 上清液即为样品提取液。(2) 显色反应及测定: 吸取 2 mL 提取液, 加入 2 mL 0.6% TBA 液, 混匀, 在试管上加盖塞, 置于沸水浴中煮沸 15 min, 迅速冷却, 离心。取上清液测定 532 nm 和 450 nm 下的吸光度。对照管以 2 mL 水代替提取液。(3) 计算: MDA-TBA 反应产物的最大吸收峰在 532 nm, TBA-可溶性糖(以蔗糖为例)的反应产物的最大吸收峰在 450 nm, 吸收曲线彼此又有重叠。根据 Lambert-Beer 定律, 按以下公式即可计算样品提取液中 MDA 的含量(C)。

$$C(\text{mmol/L}) = 6.45D_{532\text{ nm}} - 0.56D_{450\text{ nm}}$$

**1.3.3 POD 活性的测定**<sup>[8]</sup> (1) 粗酶液的提取: 称取各浓度梯度提取物处理的藜叶片各 0.1 g, 加 4 mL 20 mmol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  于研钵中研磨成匀浆, 4 000 r/min 离心 15 min, 收集上清液保存在冷处。(2) 酶活性的测定: 取光径 1 cm 比色杯 2 只, 1 只中加入反应混合液 3 mL,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 mL, 作为校零对照, 另 1 只中加入反应混合液 3 mL, 上述酶液 1 mL, 立即开启秒表计时, 于分光光度计 470 nm 波长下测定吸光度, 1 min 读数 1 次。以 1 min  $D$  变化值  $D_{470\text{ nm}}/\text{min}$  表示酶活性的大小。

$\text{POD}[U/(g \cdot \text{min})] = \Delta D_{470\text{ nm}} \times V_T / (m \times V_s \times 0.01 \times t)$   
式中:  $\Delta D_{470\text{ nm}}$  为反应时间内  $D$  变化值。  $V_T$  为提取酶液总体积

收稿日期: 2013-07-29

基金项目: 山东省自然科学基金(编号: ZR2010CL012)。

作者简介: 刘忠德(1967—), 男, 山东莱芜人, 硕士, 副教授, 主要从事植物保护研究。E-mail: sdliuzhongde@126.com。

(mL);*m* 为植物鲜重(g);*V<sub>s</sub>* 为测定时取用酶液体积(mL);*t* 为反应时间(min)。

2 结果与分析

2.1 臭椿提取物对藜种子生长的影响

2.1.1 臭椿提取物对藜种子萌发率的影响 由表 1 可以看出,藜种子在培养 1 d 时不萌发,2 d 时稀释 5、10、15 倍 3 个处理种子开始萌发,萌发率分别为 1.1%、8.9%、22.2%,对照为 33.3%;3 d 时稀释 2 倍处理种子开始萌发,4 个稀释液

处理藜种子萌发率分布为 2.2%、14.4%、41.1%、42.2%,对照为 46.7%;4 d 时 4 个稀释液处理藜种子萌发率分别为 3.3%、15.6%、52.2%、53.3%,对照为 70.0%。7 d 时原液处理始终没有萌发,稀释 2、5 倍处理萌发率均较低,分别为 5.5%、17.8%;稀释 10、15 倍处理的萌发率相对较高,分别为 63.3%、62.2%;对照最终萌发率达到 70%。结果表明,臭椿提取物对藜种子的萌发有明显的抑制作用,随着稀释倍数的增加抑制作用降低。

表 1 不同浓度臭椿提取物对藜种子萌发率的影响

处理时间 (d)	种子萌发率(%)					
	原液	稀释 2 倍	稀释 5 倍	稀释 10 倍	稀释 15 倍	清水
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	1.1	8.9	22.2	33.3
3	0	2.2	14.4	41.1	42.2	46.7
4	0	3.3	15.6	52.2	53.3	70.0
5	0	4.4	16.7	54.4	56.7	70.0
6	0	4.4	17.8	60.0	57.7	70.0
7	0	5.5	17.8	63.3	62.2	70.0

2.1.2 臭椿提取物对藜种子萌发后根长的影响 由表 2 可知,不同浓度提取物对藜种子萌发后胚根的伸长有明显影响。藜种子在培养 1 d 时均不萌发,胚根没有伸长。2 d 时稀释 5、10、15 倍 3 个处理种子胚根开始伸长,长度分别为 0.1、0.2、0.2 cm,对照为 0.3 cm。3 d 时稀释 2 倍处理种子胚根开始伸长,稀释 2、5、10、15 倍 4 个处理藜种子胚根长度分别为 0.1、0.1、0.3、0.3 cm,对照为 0.7 cm。4 d 时处理稀释 2、5、10、15

倍 4 个处理藜种子胚根长度分别为 0.1、0.1、0.3、0.4 cm,对照为 1.3 cm。7 d 时原液处理胚根始终没有伸出;稀释 2、5 倍处理胚根伸长较短,为 0.2 cm;稀释 10、15 倍处理胚根伸长较长,分别为 0.6、0.7 cm;对照胚根伸长到 2.6 cm。结果表明,臭椿提取物对藜种子萌发后胚根长度有明显的抑制作用,随着稀释倍数的增加,抑制作用降低。

表 2 不同浓度臭椿提取物对藜胚根根长的影响

处理时间 (d)	胚根长(cm)					
	原液	稀释 2 倍	稀释 5 倍	稀释 10 倍	稀释 15 倍	清水
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0.1	0.2	0.2	0.3
3	0	0.1	0.1	0.3	0.3	0.7
4	0	0.1	0.1	0.3	0.4	1.3
5	0	0.1	0.1	0.4	0.4	1.7
6	0	0.1	0.1	0.6	0.6	2.0
7	0	0.2	0.2	0.6	0.7	2.6

2.1.3 臭椿提取物对藜胚芽长的影响 由表 3 可知,不同浓度提取物对藜种子萌发后胚芽的伸长有明显影响。藜种子在培养 1 d 时均不萌发,胚芽没有伸长。2 d 时只有稀释 15 倍处理种子胚芽开始伸长,长度分别为 0.1 cm,对照为 0.1 cm;3 d 时稀释 10 倍处理种子胚芽开始伸长,稀释 10、15 倍处理藜种子胚芽长度分别为 0.1、0.3 cm,对照为 0.4 cm。4 d 时

稀释 10、15 倍处理藜种子胚芽长度分别为 0.2、0.4 cm,对照为 0.7 cm。7 d 时原液处理胚芽始终没有伸出;稀释 2、5 倍处理胚芽伸长较短,分别为 0.1、0.3 cm;稀释 10、15 倍处理胚芽伸长较长,分别为 0.5、0.9 cm;对照胚芽伸长至 1.1 cm。结果表明,臭椿提取物对藜种子萌发后胚芽长度有明显的抑制作用,随着稀释倍数的增加,抑制作用降低。

表 3 不同浓度臭椿提取物对藜胚芽长的影响

处理后时间 (d)	胚芽长(cm)					
	原液	稀释 2 倍	稀释 5 倍	稀释 10 倍	稀释 15 倍	清水
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0.1	0.1
3	0	0	0	0.1	0.3	0.4
4	0	0	0	0.2	0.4	0.7
5	0	0	0	0.4	0.5	0.8
6	0	0	0.1	0.4	0.7	0.9
7	0	0.1	0.3	0.5	0.9	1.1

2.1.4 臭椿提取物对杂草藜幼苗种子萌发后鲜重的影响

由表 4 可知,藜的鲜重随提取物浓度的递减而递增。原液、稀释 2、5、10、15 倍 5 个处理对杂草藜鲜重的抑制效果分别为 85.43%、85.11%、84.36%、66.45%、60.41%,抑制效果明显。

表 4 不同浓度臭椿提取物对藜种子生长的鲜重的影响

处理	藜鲜重(mg)	抑制效果(%)
原液	13.5	85.43
稀释 2 倍	13.8	85.11
稀释 5 倍	14.5	84.36
稀释 10 倍	31.1	66.45
稀释 15 倍	36.7	60.41
清水	92.7	

2.2 臭椿提取物对藜生理活性的影响

2.2.1 臭椿提取物对藜叶绿素含量的影响 由表 5 可知,不同浓度臭椿提取物处理藜后,叶绿素含量受到较大影响,臭椿提取物稀释 2、5、10、15 倍 4 个处理叶绿素 a + b 含量分别为 1.104、0.914、1.231、1.683 mg/g,清水为 2.224 mg/g。随着稀释倍数的增加,叶绿素含量总体呈递增趋势,但均明显低于清水,说明臭椿提取物处理杂草藜后使藜体内叶绿素含量降低。

2.2.2 臭椿提取物对藜 MDA 含量的影响 由表 6 可知,不同浓度臭椿提取物处理草藜后,MDA 含量受到较大影响,臭椿提取物稀释 2、5、10、15 倍 4 个处理 MDA 含量分别为 1.585、1.133、0.900、0.956 μmol/g,清水为 0.822 μmol/g,随

表 5 不同浓度臭椿提取物对藜叶绿素含量的影响

处理	含量(mg/g)		
	叶绿素 a	叶绿素 b	叶绿素 a + b
稀释 2 倍	0.707	0.397	1.104
稀释 5 倍	0.580	0.334	0.914
稀释 10 倍	0.734	0.497	1.231
稀释 15 倍	1.139	0.544	1.683
清水	1.301	0.923	2.224

表 6 不同浓度臭椿提取物对藜 MDA 含量的影响

处理	<i>D</i> <sub>450 nm</sub>	<i>D</i> <sub>532 nm</sub>	MDA 含量 (μmol/g)
稀释 2 倍	0.325	0.274	1.585
稀释 5 倍	0.246	0.197	1.133
稀释 10 倍	0.202	0.157	0.900
稀释 15 倍	0.228	0.168	0.956
清水	0.225	0.147	0.822

着稀释倍数的增加,MDA 含量呈下降的趋势,但均明显高于清水。表明臭椿提取物藜植物体内 MDA 的含量升高。

2.2.3 臭椿提取物对藜 POD 活性的影响 由表 7 可知,不同浓度臭椿提取物处理藜后,POD 活性受到明显影响,臭椿提取物稀释 2、5、10、15 倍 4 个处理 POD 活性分别为 0.717、0.559、0.473、0.466 U/(g · min),清水为 0.372 U/(g · min)。藜 POD 活性受到提取物的影响,随着提取物浓度的递减,POD 活性呈递减趋势,但均明显高于清水。说明臭椿提取物处理使藜植物体内 POD 活性升高。

表 7 不同浓度臭椿提取物对藜叶片在及 POD 活性的影响

处理	<i>D</i> <sub>470 nm</sub>							POD 活性 [ U/(g · min) ]
	1 min	2 min	3 min	4 min	5 min	6 min	7 min	
稀释 2 倍	0.356	1.065	1.794	2.507	3.010	3.010	3.010	0.717
稀释 5 倍	0.245	0.841	1.395	1.907	2.482	3.010	3.010	0.559
稀释 10 倍	0.167	0.725	1.172	1.613	2.081	2.533	3.010	0.473
稀释 15 倍	0.126	0.680	1.118	1.538	1.994	2.458	3.010	0.466
清水	0.106	0.541	0.952	1.215	1.563	1.927	2.335	0.372

3 小结

臭椿提取物能够抑制藜种子的萌发率、根长、芽长、鲜重;显著降低叶绿素的含量,提高丙二醛含量,增加过氧化物酶的活性。

臭椿提取物对藜种子的萌发和生长有明显的抑制作用,随着稀释倍数的增加抑制强度降低,表现出一定的除草活性,这种抑制作用并不能杀死藜的完全种子,但能延缓种子的萌发时间,导致藜生长不良。

本研究测定了臭椿提取物对杂草藜叶绿素、丙二醛含量、过氧化物酶活性的影响,对常见植物保护酶如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶等活性的影响,还有待于进一步研究。

参考文献:

[1] Heisey R M. Herbicidal effects under field conditions of *Ailanthus altissima* bark extract, which contains ailanthone [J]. Plant & Soil,

2003,256(1):85-99.

[2] Heisey R M. Identifiation of an allelopathic compound from *Ailanthus altissima* and characterization of its herbicidal activity [J]. American journal of Botany,1996,83(2):192-200.  
[3] 曹 兵,李治中. 臭椿提取物对光肩星天牛的驱避作用[J]. 南京林业大学学报 2004(1):47-49.  
[4] 曹 兵,宋丽华,徐锡增. 臭椿内含物对光肩星天牛取食、产卵的抑制作用[J]. 南京林业大学学报,2004(9):15-18.  
[5] 刘忠德,刘淑娟. 臭椿提取物对油菜生长抑制作用和核酸含量的研究[J]. 江苏农业科学,2009(4):95-96.  
[6] 刘忠德,孙 冬,杨勤民. 臭椿提取物对播娘蒿生长抑制作用的研究[J]. 中国植保导刊,2009(5):43-44.  
[7] 曹 兵,宋丽华,张婷婷. 臭椿根区土壤水浸提液对刺槐种子发芽的影响[J]. 南京林业大学学报,2009,33(3):51-58.  
[8] 张志良,瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 3 版. 北京:高等教育出版社,2003:151-152.