

镉胁迫下紫茉莉生物碱的化感效应

胡焱, 王海娟, 王宏镔

引用本文:

胡焱, 王海娟, 王宏镔. 镉胁迫下紫茉莉生物碱的化感效应[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(10): 2139–2157.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0106>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

屎肠球菌胞外多糖对镉胁迫下水稻种子萌发及幼苗生长的影响

罗晟, 赵泽文, 任新宇, 魏宏宇, 马雅静, 潘起涛, 李荣同, 龚国胜, 程新
农业环境科学学报. 2020, 39(9): 1888–1899 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0181>

铀对蚕豆幼苗光合特性和呼吸代谢的毒害机理

刘泽伟, 赖金龙, 李俊柯, 丁峰, 张宇, 罗学刚
农业环境科学学报. 2020, 39(9): 1916–1924 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0390>

卤代阻燃剂和镉对旱稻种子萌发和生长的影响

江秀兰, 谢慧, 常晓云
农业环境科学学报. 2020, 39(7): 1460–1469 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0023>

一株溶磷菌对盐地碱蓬修复盐渍土Cd污染的促进效应

林欣, 王立立, 杨平, 李取生, 徐智敏, 魏佳, 周婷
农业环境科学学报. 2018, 37(5): 883–891 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0087>

微塑料和镉及其复合对水稻种子萌发的影响

王泽正, 杨亮, 李婕, 付东东, 胡维薇, 范正权, 彭丽成
农业环境科学学报. 2021, 40(1): 44–53 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0560>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

胡焱, 王海娟, 王宏宾. 镉胁迫下紫茉莉生物碱的化感效应[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(10): 2139-2157.

HU Y, WANG H J, WANG H B. Allelopathic effects of alkaloids in *Mirabilis jalapa* L. under cadmium stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(10): 2139-2157.



开放科学 OSID

镉胁迫下紫茉莉生物碱的化感效应

胡焱, 王海娟, 王宏宾*

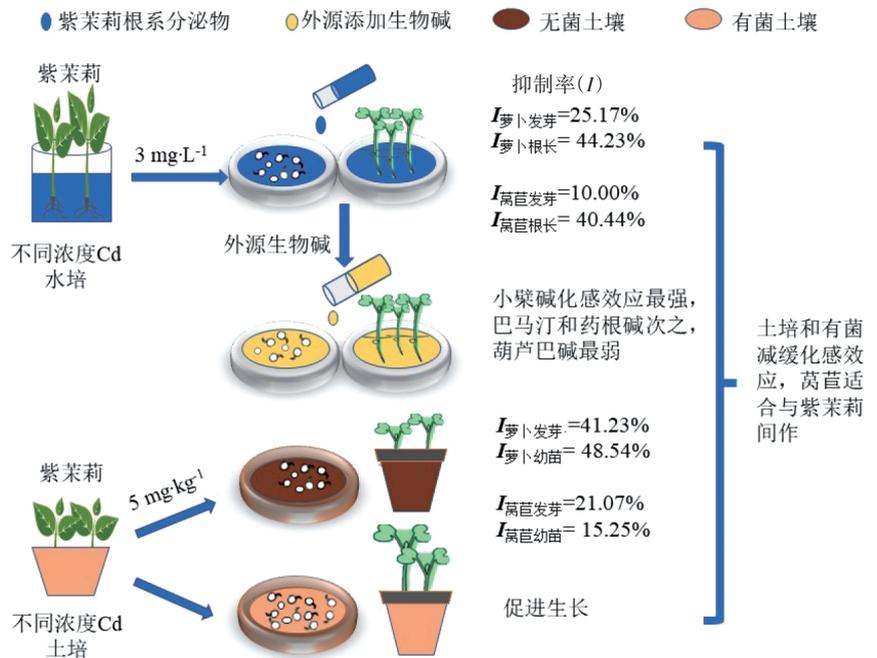
(昆明理工大学环境科学与工程学院/云南省土壤固碳与污染控制重点实验室, 昆明 650500)

摘要:为探究镉(Cd)胁迫下外来入侵植物紫茉莉(*Mirabilis jalapa* L.)中生物碱对本地种的化感效应,采用室内水培和土培实验,运用超高效液相色谱(UPLC)技术测定Cd胁迫下紫茉莉根系分泌的生物碱含量,并研究水培紫茉莉根系分泌物、外源添加生物碱和土培紫茉莉根际土壤对2个本地种(萝卜和莴苣)种子萌发和幼苗生长的影响。结果表明:水培条件下,1~3 mg·L⁻¹ Cd胁迫下紫茉莉根系分泌物中葫芦巴碱、小檗碱和巴马汀含量显著增加;3 mg·L⁻¹ Cd胁迫下紫茉莉根系分泌物对萝卜和莴苣的抑制作用最强,其中萝卜种子萌发率和幼苗根长抑制率分别为25.17%和44.23%,莴苣为10.00%和40.44%,萝卜受到的抑制强于莴苣。外源添加生物碱对萝卜和莴苣幼苗生长的化感效应不同,小檗碱最低抑制浓度分别为0.1

mg·L⁻¹和0.05 mg·L⁻¹,化感效应最强;巴马汀和药根碱均为0.25 mg·L⁻¹,化感效应次之;葫芦巴碱为100 mg·L⁻¹和50 mg·L⁻¹,化感效应最弱。Cd胁迫下种植紫茉莉的土壤在有菌和无菌时的化感效应也不同,除25 mg·kg⁻¹ Cd胁迫外,有菌土壤对萝卜和莴苣种子萌发和幼苗生长均产生不同程度的促进作用,且对莴苣的促进作用强于萝卜;而无菌土壤则产生抑制作用,5 mg·kg⁻¹ Cd胁迫对萝卜种子萌发和幼苗生长的最大抑制率分别为41.23%和48.54%,莴苣则为21.07%和15.25%。研究表明,在Cd胁迫下,紫茉莉水培和土培方式对本地种产生的化感效应不同,土培和有菌条件减缓了生物碱的化感效应,且当利用紫茉莉与本地种进行Cd污染农田土壤的间作修复时,莴苣所受的化感抑制较小,是较为合适的间作种类。

关键词: 镉;紫茉莉;根系分泌物;生物碱;化感效应

中图分类号: X173 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2022)10-2139-19 doi:10.11654/jaes.2022-0106



收稿日期: 2022-01-28 录用日期: 2022-04-18

作者简介: 胡焱(1996—),女,云南曲靖人,硕士研究生,从事重金属污染生态学研究。E-mail: 1250720316@qq.com

*通信作者: 王宏宾 E-mail: whb1974@126.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(31960264)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(31960264)

Allelopathic effects of alkaloids in *Mirabilis jalapa* L. under cadmium stress

HU Yan, WANG Haijuan, WANG Hongbin*

(Faculty of Environmental Science and Engineering, Kunming University of Science and Technology/Yunnan Key Lab of Soil Carbon Sequestration and Pollution Control, Kunming 650500, China)

Abstract: To investigate the allelopathic effects of alkaloids in *M. jalapa* on native species under Cd stress, hydroponic and pot experiments, combined with ultra-performance liquid chromatography (UPLC), were conducted to determine the content of alkaloids in root exudates of *M. jalapa* exposed to Cd. The effects of root exudates, exogenous alkaloids, and rhizospheric soil on seed germination and seedling growth of two native species (radish and lettuce) were investigated, showing that under hydroponic conditions, the contents of trigonelline, berberine, and palmatine in root exudates of *M. jalapa* under 1–3 mg·L⁻¹ Cd stress were significantly increased. Under the stress of 3 mg·L⁻¹ Cd, the root exudates had the strongest inhibitory effect on seed germination and seedling growth in radish and lettuce, with inhibition rates of 25.17% and 44.23% in seed germination and root length in radish, respectively, and of 10.00% and 40.44%, respectively, in lettuce. The inhibitory effect of root exudate from radish was higher than that from lettuce. The allelopathic effects of the exogenous alkaloids on the seedling growth of radish and lettuce were different. The lowest inhibitory concentrations of berberine were 0.1 mg·L⁻¹ and 0.05 mg·L⁻¹, showing the highest allelopathic effect. Palmatine and rhizobine showed a moderate allelopathic effect, with a minimum inhibitory concentration of 0.25 mg·L⁻¹. The weakest allelopathic effect was observed for trigonelline, with minimum inhibitory concentrations of 100 mg·L⁻¹ and 50 mg·L⁻¹. The allelopathic effect of *M. jalapa*-growing soil under Cd stress also differed between non-sterile and sterile soils. Except for 25 mg·kg⁻¹ Cd stress, the non-sterile soil promoted seed germination and seedling growth of radish and lettuce to different degrees, and lettuce showed better promotion. However, an inhibitory effect was observed in sterile soil. Under a stress of 5 mg·kg⁻¹ Cd, the maximum inhibition rates of seed germination and seedling growth in radish were 41.23% and 48.54%, respectively, and those in lettuce were 21.07% and 15.25%, respectively. Our results indicated that under Cd stress conditions, the allelopathic effects of *M. jalapa* on the local species in hydroponic and pot experiments differed, and soil culture and non-sterile conditions mitigated the allelopathic effects of alkaloids. Moreover, lettuce is a suitable species for intercropping with *M. jalapa* for the remediation of Cd-polluted agricultural soil owing to its low allelopathic inhibition.

Keywords: cadmium; *Mirabilis jalapa* L.; root exudate; alkaloid; allelopathic effect

2020年中国农用地土壤污染状况详查结果显示,影响农用地土壤环境质量的主要污染物为重金属,其中镉(Cd)为首要污染物^[1]。在Cd污染土壤的修复植物中,紫茉莉(*Mirabilis jalapa* L.)对Cd具有极强的耐性,在200 mg·kg⁻¹ Cd污染土壤上生长3个月,其地上部生物量仅比对照减少8%,且地上部Cd含量达到92.82 mg·kg⁻¹,已接近Cd超富集植物的标准^[2]。因此,作为外来入侵植物的紫茉莉不失为一种具有Cd富集能力的修复植物。此外,紫茉莉株高可达1 m,生性强健,适应性强,养护管理粗放;喜温和而湿润的气候条件,不耐寒,经霜即凋,冬季地上部分枯死;喜深厚、疏松肥沃的壤土夹砂土,较耐干旱,喜通风良好环境,在略有蔽荫处生长更佳,且在中国南北各地常有栽培。

在我国入侵植物名录中,紫茉莉的入侵级别被认定为4级,即一般入侵类植物^[3]。由于具有入侵性,将紫茉莉用作修复植物时,必须关注其与本地种的种间关系,而化感作用是植物种间关系的一种重要类型。化感作用是植物在长期进化过程中为适应环境而产生的一种化学表现形式,通过植物释放化感物质而实

现^[4]。化感物质可以通过雨雾淋溶植物浸出、植物挥发、植物残体分解和根系分泌等方式释放到环境中^[5]。现代研究发现化感物质主要包括酚类、萜类、糖和糖苷类、生物碱和非蛋白氨基酸类4类^[6]。生物碱是含氮杂环类碱性有机物,具有特定的生物活性。有研究表明,黄连(*Coptis chinensis* Franch.)中所含的小檗碱、黄连碱、巴马汀和药根碱,其单方和组合复方对微囊铜绿藻均具有很好的抑制效果^[7]。大麦(*Hordeum vulgare* L.)根所释放的生物碱能引起白芥(*Sinapis alba* L.)根尖细胞壁损伤,液泡体积增大以及细胞器结构损坏^[8]。牛筋草(*Eleusineindica* L. Daertrn.)、香丝草(*Conyza bonariensis* L. Crinq.)和薇甘菊(*Mikania micrantha* Kunth.)在小檗碱处理7 d后,其根部生长受到显著抑制^[9]。然而,这些研究均在非重金属胁迫条件下进行,在重金属胁迫下生物碱的产生、分泌及其化感效应如何,目前少见文献报道。

本研究以紫茉莉为供试植物,首先在室内水培条件下,研究添加不同浓度Cd对紫茉莉根系生物碱分泌的影响,并依据根系分泌物中的生物碱浓度,研究外源添加紫茉莉根系分泌物和生物碱对本地种种子

萌发和幼苗生长的影响,找出化感作用最强的生物碱种类。通过室内盆栽实验,进一步验证在不同浓度Cd胁迫和有菌无菌下生长过紫茉莉的土壤对本地种子萌发和幼苗生长的影响,探索土壤微生物对化感效应的影响程度。本研究为评估紫茉莉用于Cd污染农田土壤修复的生态风险及入侵植物在植物修复实践中的可行性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

供试紫茉莉、萝卜(*Raphanus sativus* L.)和莴苣(*Lactuca sativa* L.)种子均购于云南省昆明市呈贡区龙街种子销售经营部,萝卜和莴苣品种分别为短叶十三白萝卜和二白皮原叶莴苣。两种受试作物是本地常见的农作物,其种子萌发均匀并对化感物质敏感。紫茉莉种子经70%乙醇表面消毒,萌发生长50 d左右后,挑选大小一致、生长旺盛的植株,转入1/6浓度的改良霍格兰营养液^[10]中适应性培养1周,挑选大小一致、生长旺盛的植株进行水培实验。

1.2 水培实验和样品处理

用容积为4 L的塑料容器进行紫茉莉在不同Cd浓度处理下的水培实验。采用改良霍格兰营养液配方,添加 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 配制Cd浓度分别为0(对照)、1、3、5、10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的营养液(Cd²⁺浓度以纯Cd计)。每个容器分别加入2 L含Cd营养液进行紫茉莉的悬浮培养。待溶液只能淹没根尖时,再加入上述营养液至2 L。如此重复直至培养结束。每个处理设置3个重复,所有培养在温室自然光照下完成,温度日变幅为18~27 ℃。

培养14 d后,将紫茉莉取出,用EDTA- Na_2 和去离子水先后冲洗根系数次以去除根表面附着的Cd²⁺,再将根系放入0.2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 溶液2 h以抑制细菌生长。随后将紫茉莉植株放入盛有500 mL灭菌去离子水的玻璃瓶中(玻璃瓶外包有锡箔纸及黑布避光),保证所有植株根系被淹没,再置入光照培养箱3 d进行根系分泌物释放。设置光照培养箱温度25 ℃,光照12 $\text{h} \cdot \text{d}^{-1}$ 。根系分泌物释放结束后将植株取出,连续收集的根系分泌物经双层滤纸过滤后定容至500 mL,即为根系分泌物溶液。将溶液分为两部分:一部分用于测定根系分泌物中生物碱含量,另一部分进行本地种(莴苣和萝卜)的种子萌发和幼苗生长的生物学测试。

1.3 土培实验及样品处理

供试土壤采自昆明理工大学呈贡校区,土壤为红

壤。采集清洁土壤除去枯枝落叶及石块,过5 mm筛,置于温室自然晾干。取一部分风干土过1 mm筛测定土壤pH,一部分过0.25 mm筛测定土壤中氮、磷、钾全量和Cd含量。土壤pH为(6.20±1.24),有机质含量为(14.39±2.05) $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,全磷、全氮和全钾含量分别为(1.13±0.12)、(1.03±0.08) $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和(3.76±0.50) $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($n=3$)。取适量风干土(过5 mm筛)、腐殖土和细沙以质量比为2:1:1的比例混合均匀,分别加入不同浓度的含Cd溶液,土壤Cd含量设定为0(对照)、1、5、10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和25 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,搅拌均匀,放置进行熟化(熟化时间为25 d),期间定期搅拌并加去离子水保持土壤湿润。土壤平衡结束后,Cd实际含量分别为(0.03±0.01)、(1.25±0.05)、(5.10±0.12)、(10.08±0.55) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和(25.20±1.80) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

准备好供试土壤后,将各浓度土壤分成两份,均称取等量放入直径20 cm、高度20 cm的花盆中,一部分不种植紫茉莉,另一部分种植紫茉莉,每盆播种30粒紫茉莉种子,每一浓度重复4次。让紫茉莉植株高密度生长,保证其须根充满整个花盆的土壤。将两组花盆放置于温室内培养90 d,定期浇水。培养结束后,将紫茉莉植株连同土壤整个取出,用抖落法以及刮片和软毛刷收集根际土壤。将土壤分为两部分:一部分用作紫茉莉根际土壤生物碱的测定,另一部分用于本地种(莴苣和萝卜)的种子萌发和幼苗生长的生物学测试。将土样置于-4 ℃冰盒带回实验室。

1.4 生物碱的提取与测定

1.4.1 生物碱待测溶液的制备

取水培实验中紫茉莉根系分泌物250 mL,加入1 mL 0.5 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CaCl_2 溶液,于旋转蒸发仪上50 ℃浓缩至5 mL,用甲醇定容至10 mL,并经0.45 μm 有机滤膜过滤,用于测定根系分泌物中生物碱含量。

取上述Cd胁迫下生长紫茉莉的土壤50 g于500 mL锥形瓶中,加入200 mL 50%的甲醇溶液,封口,于摇床150 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡24 h,取下后静置,再经3 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心后取上清液。将上清液于旋转蒸发仪上35 ℃浓缩至5 mL,用甲醇定容至10 mL,并经0.45 μm 有机滤膜过滤,用于测定根际土壤中生物碱含量。

1.4.2 标准品溶液制备

生物碱标准品购于四川成都乐美天医药/德斯特生物有限公司,纯度为HPLC≥98%。

葫芦巴碱标准品溶液:取葫芦巴碱标准品10 mg,精密称量,用50%的甲醇溶解,并定容至10 mL,制成质量浓度为1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准品溶液。吸取标准品

溶液适量配制成浓度为0.05、0.1、0.25、0.5、1 mg·mL⁻¹的溶液。

小檗碱、药根碱、巴马汀、黄连碱标准品溶液:取小檗碱、药根碱、巴马汀、黄连碱标准品各5 mg,精密称量,用50%的甲醇溶解定容至50 mL,制备成质量浓度为100 μg·mL⁻¹的标准品混合溶液。吸取标准品混合溶液适量配制成浓度为0.312 5、0.625、1.25、2.5、5 μg·mL⁻¹的溶液。

1.4.3 色谱条件

生物碱含量使用超高效液相色谱仪(Ultra performance liquid chromatography, UPLC, 美国)测定。

葫芦巴碱: Agilent ZORBAX SB-C18 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相为水-乙腈(90:10); 检测波长280 nm; 柱温30 ℃; 流速1 mL·min⁻¹; 进样量10 μL^[11]。

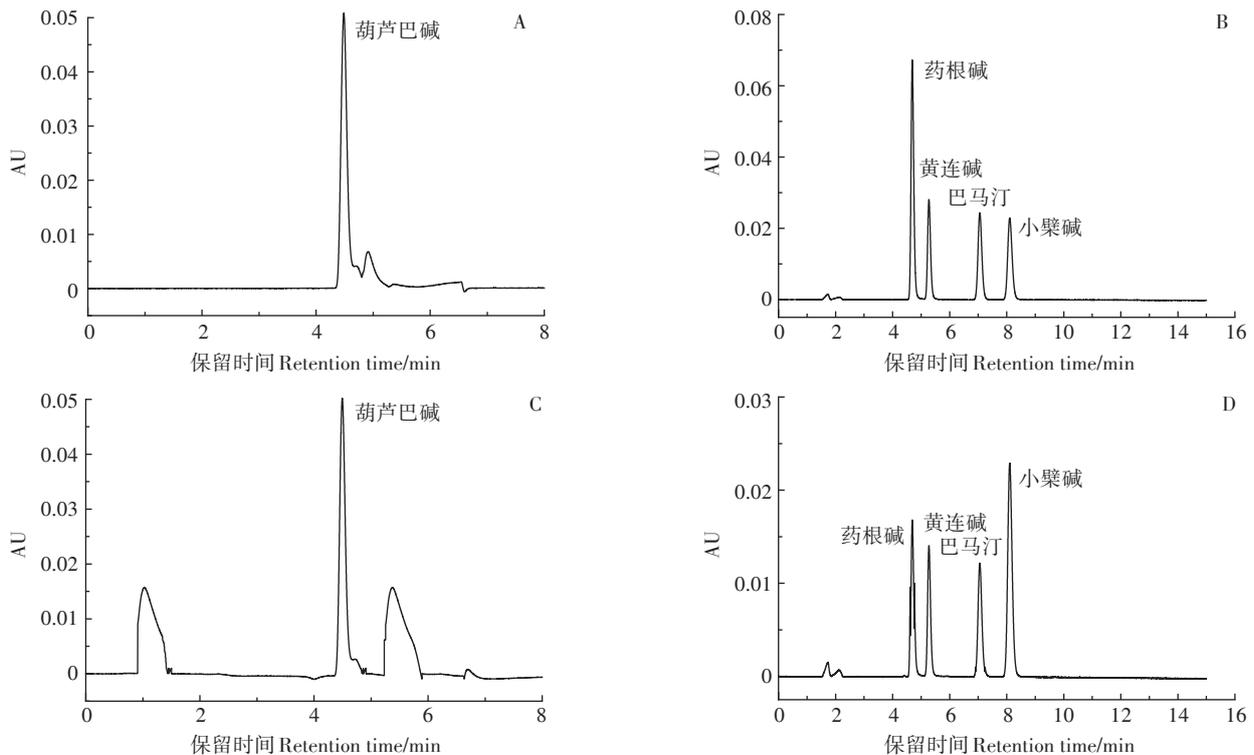
小檗碱、药根碱、巴马汀、黄连碱: Agilent ZORBAX SB-C18 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液(30:70, pH 3.5); 检测波长345 nm; 柱温30 ℃; 流速1 mL·min⁻¹; 进样量10 μL^[12]。5种生物碱的UPLC色谱图如图1所示。

1.5 本地种子萌发和幼苗生长化感实验

1.5.1 水培紫茉莉根系分泌物对本地种子萌发及幼苗生长的化感实验

分别选取饱满且均匀一致的萝卜和莴苣种子,用1% NaClO 浸泡15 min,然后用去离子水清洗3次,每次1 min,吹干备用。在每个铺有双层滤纸的培养皿(Φ=90 mm)中装入50粒种子,分别加入不同浓度Cd溶液培养下的紫茉莉根系分泌物溶液10 mL,以去离子水为对照。种子于恒温培养箱25 ℃暗培养4 d,加入适量的根系分泌物溶液或去离子水,以保证滤纸湿润使种子能够正常萌发。每隔24 h统计一次种子发芽数并记录数据。第5天时开启光照,光照12 h·d⁻¹。培养14 d后,每个培养皿选取20株大小一致且生长旺盛的幼苗,测定其根长、株高、鲜质量及叶面积且每一处理计算3次重复的平均值。处理设置:T0为去离子水对照,T1~T5分别为添加0、1、3、5 mg·L⁻¹和10 mg·L⁻¹ Cd浓度处理下的紫茉莉根系分泌物。

为进一步探明每一种生物碱的化感效应强弱,通过外源添加生物碱的方式,探究其对萝卜和莴苣种子



A: 0.25 mg·mL⁻¹ 葫芦巴碱标准品; B: 0.625 μg·mL⁻¹ 小檗碱、巴马汀、药根碱、黄连碱标准品混合液; C、D: 5 mg·kg⁻¹ Cd胁迫紫茉莉根际土壤提取液中的葫芦巴碱、小檗碱、巴马汀、药根碱、黄连碱

A: Standard solution containing 0.25 mg·mL⁻¹ trigonelline; B: Mixed standard solution containing 0.625 μg·mL⁻¹ rhizobine, coptidine, palmatine, and berberine; C and D: Under 5 mg·kg⁻¹ Cd stress, trigonelline, berberine, palmatine, rhizobine and coptidine were extracted from the rhizosphere soil of *M. jalapa*

图1 5种生物碱的UPLC色谱图

Figure 1 UPLC chromatograms of five alkaloids

萌发和幼苗生长的影响。依据各生物碱在紫茉莉根系分泌物中的含量,设置一系列浓度,具体为葫芦巴碱0、0.01、0.05、0.10 mg·mL⁻¹;小檗碱、巴马汀、药根碱0、0.05、0.10、0.25 μg·mL⁻¹。除将紫茉莉根系分泌物溶液换成不同浓度的生物碱溶液外,其他步骤同上。

1.5.2 Cd胁迫下未种植与种植紫茉莉的土壤对本地种种子萌发和幼苗生长的化感实验

将Cd胁迫下未种植与种植紫茉莉的土壤分为两部分:一部分不灭菌,另一部分用电离辐射灭菌。选取饱满且均匀一致的萝卜和莴苣种子进行同样的预处理。将直径10 cm、高10 cm的塑料花盆先进行灭菌处理,再取适量灭菌与不灭菌的上述土壤分别放置于花盆中,土壤高度7 cm左右,每个花盆播种50粒经过处理的萝卜或莴苣种子,再加盖一层0.5 cm左右薄土。以芽顶出土层为发芽标准,每天观察并记录,共记录7 d。幼苗生长30 d后,将幼苗连同土壤一起取出,轻轻抖落土壤保证植株根部完整,用自来水和去离子水先后冲洗干净,测定其根长、株高、鲜质量及叶面积,每一处理计算3次重复的平均值。具体测定指标和方法如表1所示。

1.6 数据处理

运用IBM SPSS Statistics 20统计软件进行单因素方差分析,并采用Tukey法对不同处理组间萝卜和莴苣种子萌发和幼苗生长参数值的差异进行平均数多重比较, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。Tukey法检验效率高且较稳健,适用于各处理组样本数量相同的情况。

用公式^[21]计算种子萌发和幼苗生长各测定指标的相对抑制率(与对照相比):

$$I = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100\%$$

式中: I 为相对抑制率,%; R_1 为受试植物对照组; R_2 为受试植物处理组。

2 结果与分析

2.1 水培与土培条件下Cd胁迫对紫茉莉根系分泌物和根际土壤中生物碱含量的影响

2.1.1 水培条件下Cd胁迫对紫茉莉根系分泌物中生物碱含量的影响

在紫茉莉根系分泌物中检测到葫芦巴碱、小檗碱、巴马汀和药根碱4种生物碱。如图2所示,紫茉莉根系分泌物中各生物碱含量均存在差别。由图2A可知,在1、3 mg·L⁻¹ Cd浓度处理下,根系分泌物中葫芦巴碱含量显著高于对照($P<0.05$),并在3 mg·L⁻¹ Cd浓度处理下达到0.143 mg·mL⁻¹;但在5、10 mg·L⁻¹ Cd浓度处理下,葫芦巴碱含量与对照相比无显著差异($P>0.05$)。由图2B和图2C可知,在1、3、5 mg·L⁻¹ Cd浓度处理下,根系分泌物中小檗碱和巴马汀含量显著高于对照($P<0.05$),但在10 mg·L⁻¹ Cd浓度处理下,这两种生物碱含量与对照相比无显著差异($P>0.05$)。由图2D可知,随着Cd处理浓度增加,根系分泌物中药根碱含量与对照相比无显著差异($P>0.05$)。

综上,与对照相比,1、3 mg·L⁻¹ Cd处理均显著增加了紫茉莉根系对葫芦巴碱、小檗碱和巴马汀的分泌($P<0.05$),但对药根碱的分泌无显著影响($P>0.05$)。

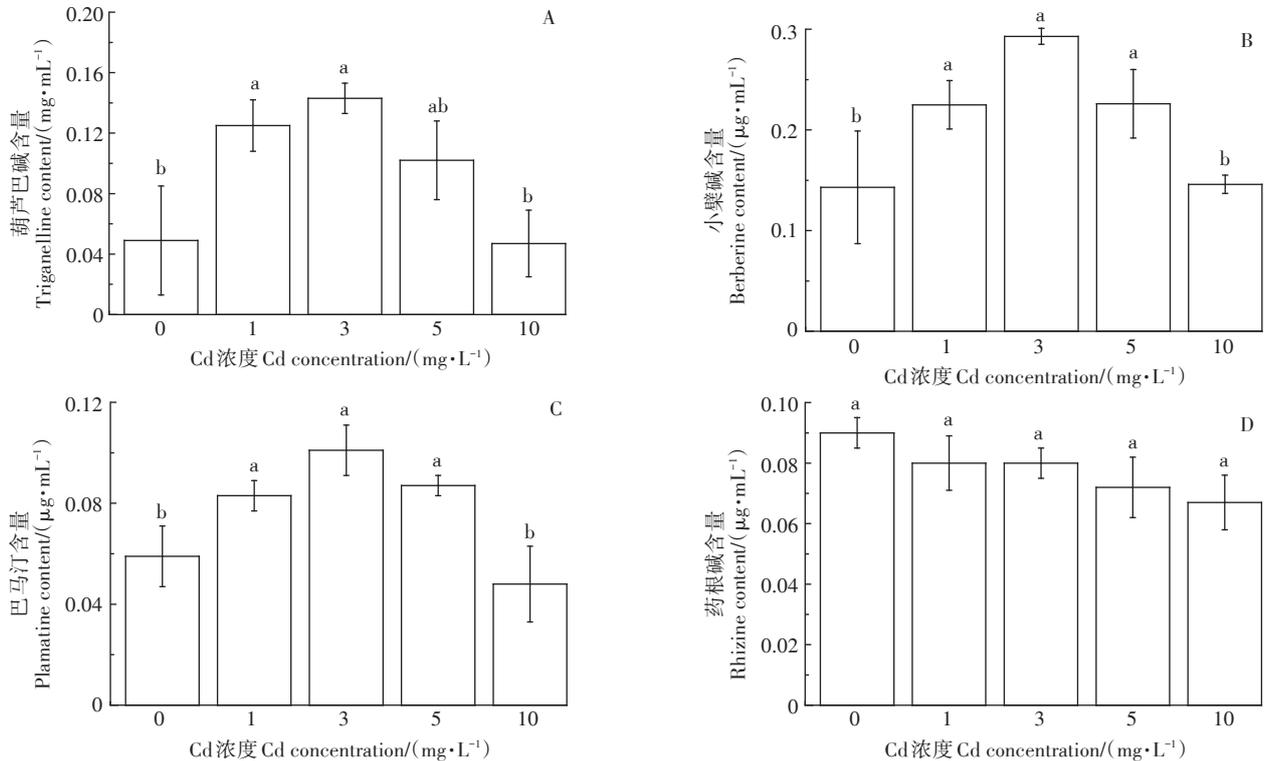
2.1.2 Cd胁迫对紫茉莉根际土壤中生物碱含量的影响

在紫茉莉根际土壤中检测到葫芦巴碱、小檗碱、巴马汀、黄连碱和药根碱(图3)。由图3A可知,5 mg·kg⁻¹ Cd处理下,紫茉莉根际土壤中葫芦巴碱含量显著高于对照和25 mg·kg⁻¹ Cd胁迫($P<0.05$),达到3.75 g·kg⁻¹,但1~10 mg·kg⁻¹ Cd处理下,根际土壤葫芦巴碱含量无显著差异($P>0.05$)。由图3B可知,在5、10

表1 本地种种子萌发及幼苗生长测定指标

Table 1 Indicators of seed germination and seedling growth of native species

测定指标 Indicator	生态学意义 Ecological significance	方法 Method
发芽率 Germination rate ^[13]	种子的萌发能力	在测试时间内,萌发的种子数量与被测试种子总数的比值
发芽势 Germination potential ^[14]	种子的萌发性能与均匀性	3天内萌发的种子数量与被测试种子总数的比值
发芽指数 Germination index ^[15]	种子的萌发速度与活力	$GI = \sum \frac{G_t}{T_t}$ G_t : 在 t 天内萌发的种子数 T_t : 与 G_t 相对应的时间(d)
平均发芽时间 Mean time to germination ^[16]	种子的萌发速度与活力	$MGT = \frac{\sum T_i \times N_i}{\sum N_i}$ N_i : 在 T_i (d) 内新萌发的种子数
根长 Root length ^[17]	获取水和无机盐的能力	0.1 cm 的直尺测量(根基部到根尖之间的距离)
株高 Plant height ^[18]	获取阳光的能力	0.1 cm 的直尺测量(根基部到顶芽之间的距离)
叶面积 Leaf area ^[19]	进行光合作用的能力	扫描并用 imageJ 软件获得
鲜质量 Fresh weight ^[20]	植物生长的能力	万分之一分析天平称量



不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同
Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$). The same below

图2 Cd胁迫下紫茉莉根系分泌物中各生物碱的含量

Figure 2 Contents of alkaloids in root exudates of *M. jalapa* under Cd stress

$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd浓度处理下,紫茉莉根际土壤中小檗碱含量显著高于对照和 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd胁迫 ($P < 0.05$),并在 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd处理下达到 $99.27 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。但在 $1 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd处理下,小檗碱含量无显著差异 ($P > 0.05$)。由图3C可知,在 $5, 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd处理下,紫茉莉根际土壤中巴马汀含量显著高于 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd胁迫 ($P < 0.05$),但与对照和 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd胁迫相比无显著差异 ($P > 0.05$)。

由图3D和图3E可知,随着Cd含量增加,紫茉莉根际土壤中黄连碱和药根碱的含量与对照相比无显著差异 ($P > 0.05$)。综上,与对照相比, $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd处理显著增加了紫茉莉根系对葫芦巴碱和小檗碱的分泌 ($P < 0.05$),但对巴马汀、黄连碱和药根碱的分泌无显著影响 ($P > 0.05$)。

2.2 Cd胁迫下水培紫茉莉根系分泌物对萝卜和莴苣生长的影响

2.2.1 Cd胁迫下水培紫茉莉根系分泌物对萝卜和莴苣种子萌发的影响

如图4所示,不同处理下,萝卜种子发芽率显著低于T0 ($P < 0.05$),且T3处理下萝卜种子发芽率显著

低于T1处理,仅为25.17%,而其他处理下种子发芽率与T1相比无显著差异 ($P > 0.05$)。T1~T5处理下莴苣种子发芽率先降低,随后又增加并与T0持平。T2、T3处理下莴苣种子发芽率与T0相比显著降低 ($P < 0.05$),且T3处理下莴苣种子发芽率显著低于T1处理,发芽抑制率为10%。不同处理对两个本地种发芽势、发芽指数和平均发芽时间均无显著影响 ($P > 0.05$)。萝卜与莴苣相比,不同Cd浓度处理下的紫茉莉根系分泌物均对萝卜种子萌发产生显著抑制作用,且最大发芽抑制率高于莴苣,由此可知Cd胁迫下紫茉莉根系分泌物对萝卜种子萌发的抑制作用强于莴苣。

2.2.2 Cd胁迫下水培紫茉莉根系分泌物对萝卜和莴苣幼苗生长的影响

如图5A至图5D所示,T3处理下萝卜幼苗根长、株高和鲜质量均显著低于T0及T1处理 ($P < 0.05$),且与T0相比抑制率分别达到44.23%、23.76%和23.30%。在不同处理下,莴苣根长与株高、鲜质量、叶面积表现出不同的效果(图5E至图5H)。T2、T3、T4处理下莴苣幼苗根长显著低于T0及T1处理 ($P < 0.05$),且在T3处理下与T0相比抑制率达最大值

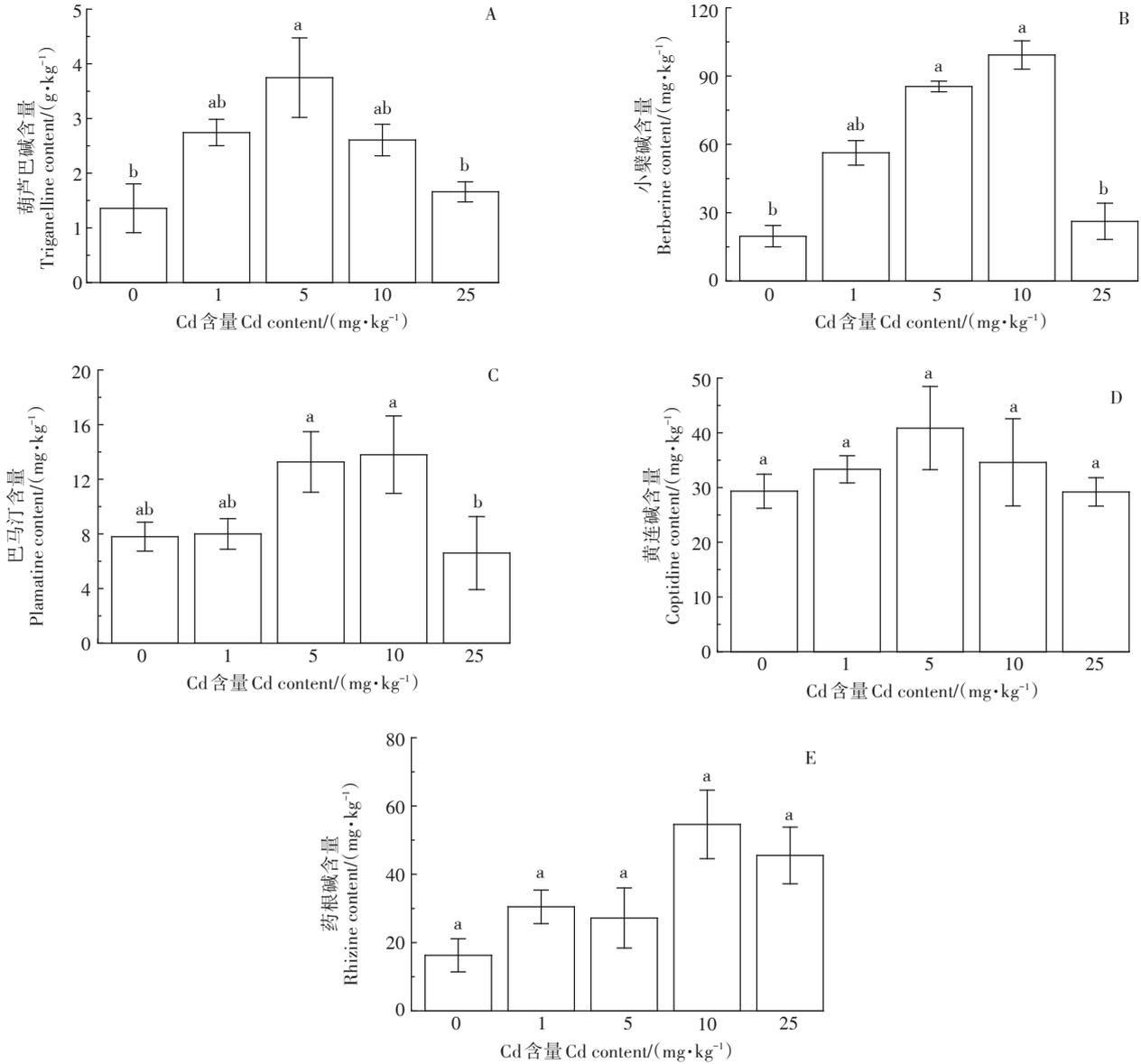


图3 Cd胁迫下紫茉莉根际土壤中各生物碱的含量

Figure 3 Contents of alkaloids in the rhizospheric soil of *M. jalapa* under Cd stress

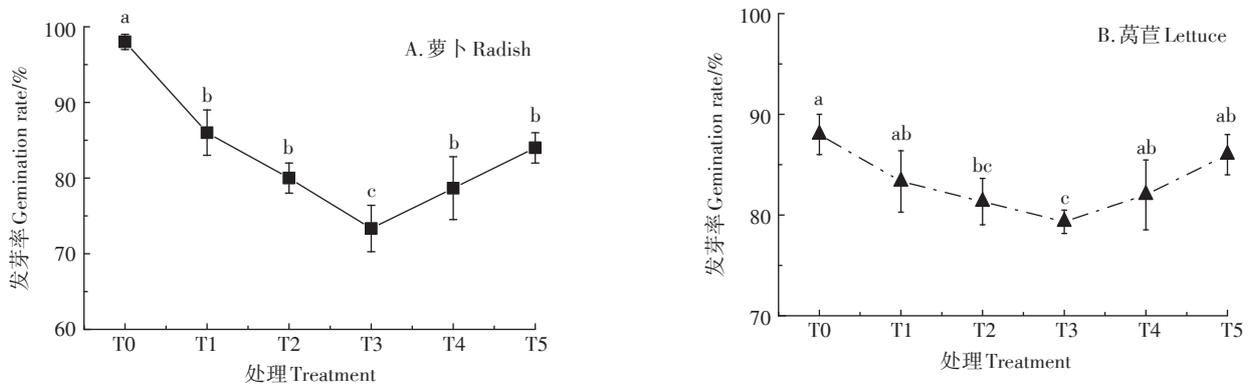


图4 紫茉莉根系分泌物对萝卜和莴苣种子萌发的影响

Figure 4 Effects of root exudates of *M. jalapa* on seed germination of radish and lettuce

(40.44%)。然而,除T3处理外,其他处理下莴苣幼苗株高和鲜质量均显著高于T0($P<0.05$),T1、T2处理下的莴苣叶面积显著高于T0($P<0.05$)。萝卜与莴苣相比,T3处理显著抑制了萝卜幼苗生长,但仅显著抑制了莴苣根长,可见Cd胁迫下紫茉莉根系分泌物对萝卜幼苗生长的抑制作用强于莴苣。

2.3 外源添加生物碱对萝卜和莴苣生长的影响

2.3.1 外源添加生物碱对萝卜和莴苣种子萌发的影响

由图6可知,4种生物碱对萝卜和莴苣种子萌发存在不同程度的抑制作用。当葫芦巴碱浓度为0.10

$\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,萝卜和莴苣的发芽率显著低于对照($P<0.05$,图6A),平均发芽时间显著长于对照($P<0.05$,图6C)。当小檗碱浓度为 $0.25\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,萝卜发芽率显著低于对照($P<0.05$,图6D),莴苣的发芽率、发芽指数及发芽势均显著低于对照($P<0.05$,图6D至图6F)。当巴马汀浓度为 $0.25\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,萝卜种子发芽率显著低于对照($P<0.05$,图6G),平均发芽时间也显著长于对照($P<0.05$,图6J)。莴苣种子的发芽指数显著低于对照($P<0.05$,图6I),平均发芽时间显著长于对照($P<0.05$,图6J)。当药根碱浓度为 $0.25\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

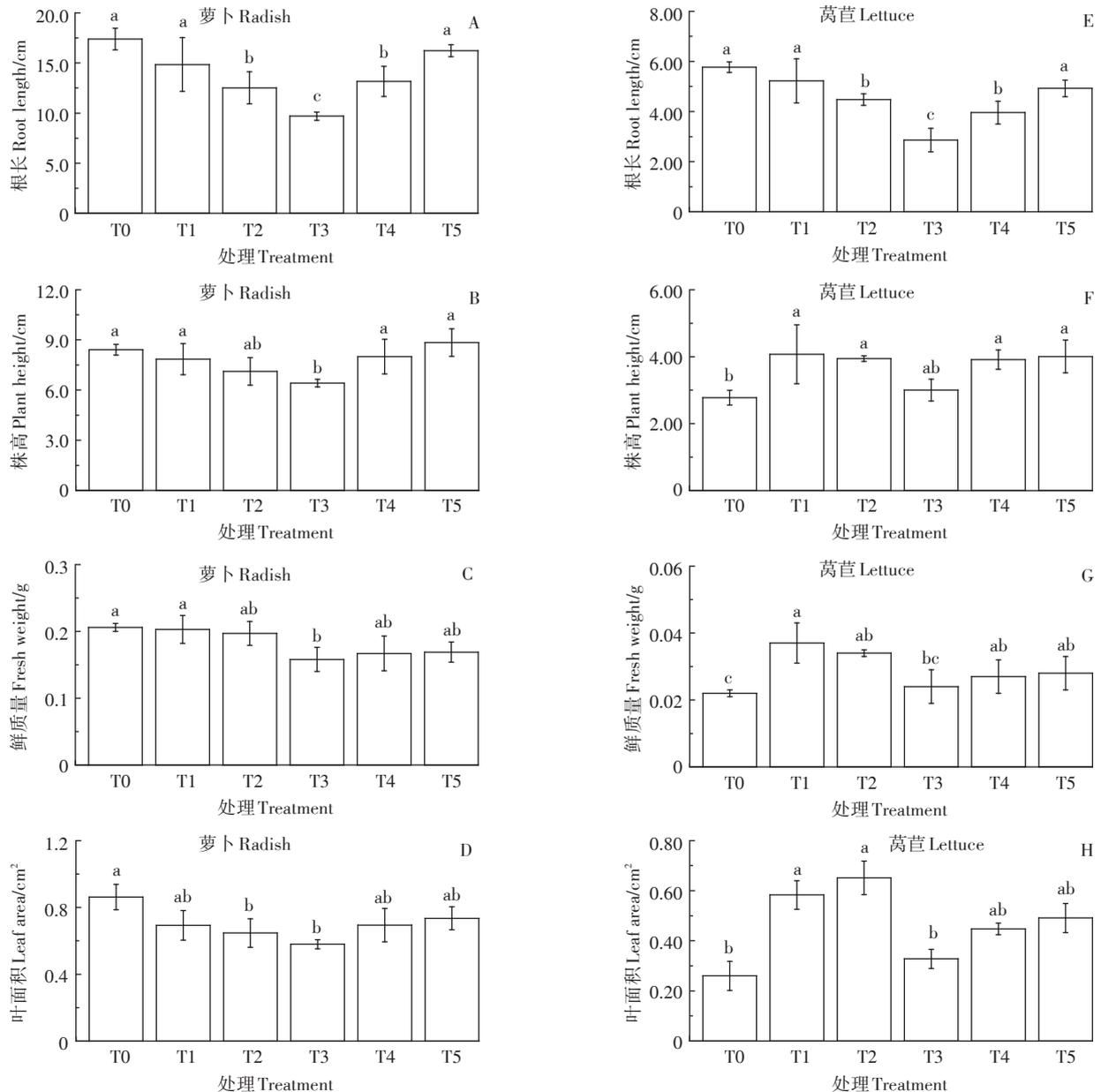


图5 紫茉莉根系分泌物对萝卜和莴苣幼苗生长的影响

Figure 5 Effects of root exudates of *M. jalapa* on the growth of radish and lettuce seedlings

时,萝卜发芽率显著低于对照($P<0.05$,图6K),平均发芽时间显著长于对照($P<0.05$,图6L)。此外,随着药根碱浓度增加,莴苣种子的发芽率、发芽势、发芽指数、平均发芽时间的变化与对照相比差异不显著($P>0.05$)。

2.3.2 外源添加生物碱对萝卜和莴苣幼苗生长的影响
由表2可知,4种生物碱对萝卜幼苗各测定指标

有不同程度的抑制作用。当葫芦巴碱浓度达到 $0.01\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,萝卜幼苗株高及鲜质量显著低于对照($P<0.05$);浓度达到 $0.10\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,萝卜幼苗的根长、株高、鲜质量和叶面积均受到显著抑制。在 0.10 、 $0.25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 小檗碱处理下,萝卜幼苗的根长、株高和鲜质量显著减少($P<0.05$)。当巴马汀和药根碱浓度达到 $0.25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,萝卜幼苗的根长、株高和叶面积显著

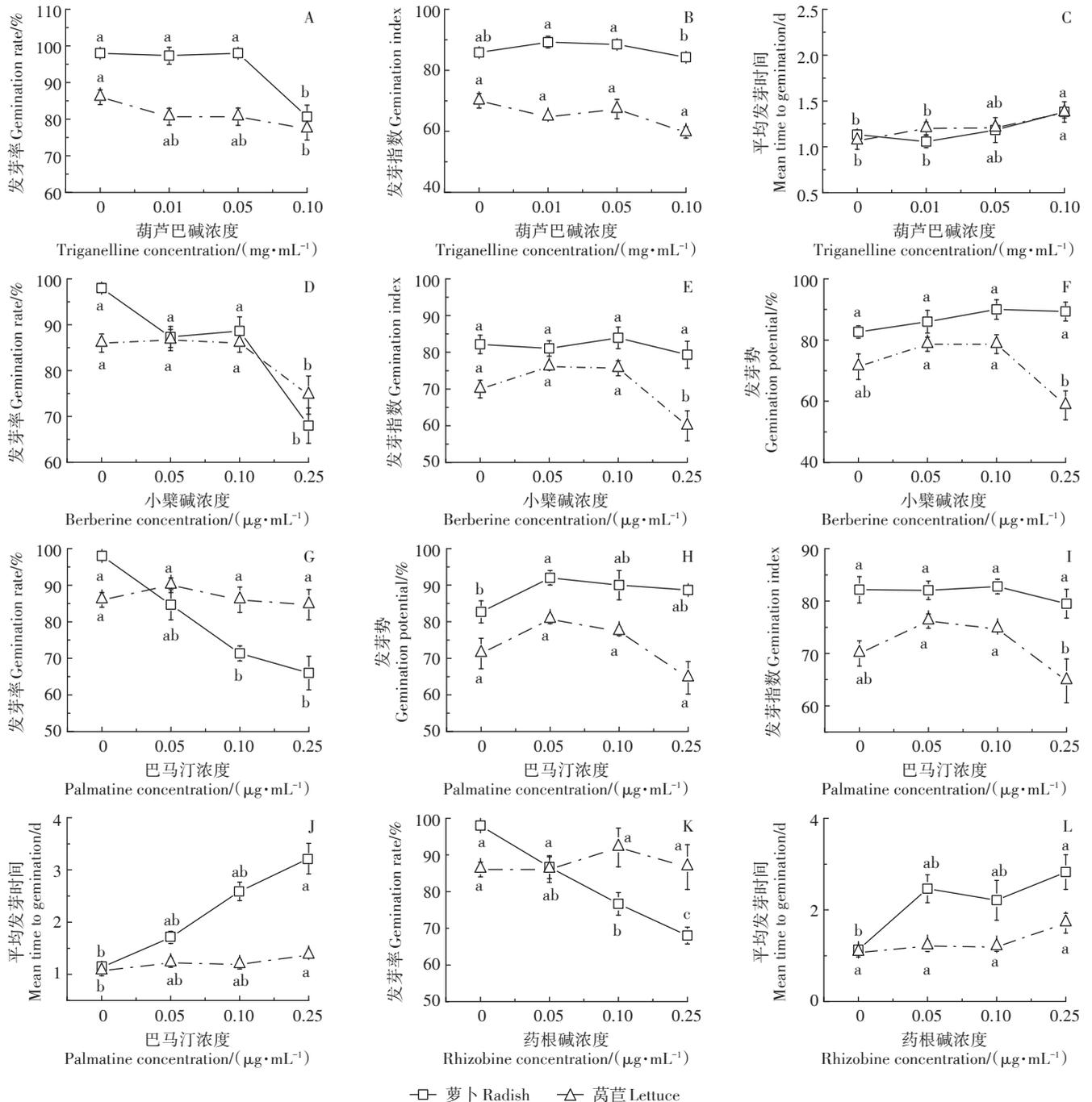


图6 生物碱对萝卜和莴苣种子萌发的影响

Figure 6 Effects of alkaloids on seed germination of radish and lettuce

表2 外源添加生物碱的萝卜幼苗生长指标

Table 2 Effects of exogenous application of alkaloids on seedling growth of radish

生物碱浓度 Alkaloid concentration	根长 Root length/cm	株高 Plant height/cm	鲜质量 Fresh weight/g	叶面积 Leaf area/cm ²	
葫芦巴碱 Trigonelline/(mg·mL ⁻¹)	0	14.85±1.08a	8.41±0.32a	0.158±0.02a	0.580±0.03a
	0.01	14.82±0.77a	7.46±0.31b	0.114±0.01b	0.538±0.02a
	0.05	13.87±0.42ab	6.85±0.40c	0.114±0.01b	0.528±0.03a
	0.10	12.80±0.52b	6.64±0.22c	0.110±0.02b	0.438±0.03b
小檗碱 Berberine/(μg·mL ⁻¹)	0	14.85±1.08a	8.41±0.32a	0.158±0.02a	0.580±0.03a
	0.05	13.20±0.95ab	7.53±0.53ab	0.115±0.01b	0.530±0.08a
	0.10	11.60±1.42bc	6.96±0.52b	0.120±0.01b	0.470±0.05a
	0.25	8.57±1.19c	5.52±0.39c	0.112±0.01b	0.468±0.03a
巴马汀 Palmatine/(μg·mL ⁻¹)	0	14.85±1.08a	8.41±0.32a	0.158±0.02a	0.580±0.03a
	0.05	13.85±0.87a	7.54±0.72ab	0.152±0.01a	0.539±0.04a
	0.10	13.80±1.00a	7.17±0.51ab	0.174±0.03a	0.390±0.08b
	0.25	11.08±1.04b	6.32±1.20b	0.138±0.01a	0.361±0.05b
药根碱 Rhizobine/(μg·mL ⁻¹)	0	14.85±1.22a	8.41±0.32a	0.158±0.02a	0.580±0.03a
	0.05	14.03±1.60a	7.14±0.72ab	0.150±0.01a	0.412±0.02b
	0.10	12.69±1.44a	6.00±1.02b	0.122±0.02a	0.378±0.01b
	0.25	9.86±0.95b	5.88±0.21b	0.117±0.01a	0.368±0.04b

注:表中小写字母表示同一指标在同一生物碱不同处理浓度间的差异(纵向),字母不同表示差异显著($P<0.05$),字母相同表示差异不显著($P>0.05$)。

Note: Lowercase letters in the table indicate differences in the same index among different concentrations of the same alkaloid. Different letters indicate significant differences ($P<0.05$), and the same letters indicate no significant differences ($P>0.05$).

低于对照($P<0.05$)。

由图7可知,葫芦巴碱、小檗碱和巴马汀对莴苣幼苗根长产生了抑制作用。随着葫芦巴碱浓度增加,莴苣根长逐渐减少,并在0.05 mg·mL⁻¹时显著低于对照($P<0.05$,图7A)。当小檗碱浓度为0.05 μg·mL⁻¹时,莴苣根长显著减少($P<0.05$,图7B);随着小檗碱浓度增加,根长受到的抑制作用增强。当巴马汀浓度为0.25 μg·mL⁻¹时,莴苣根长显著低于对照($P<0.05$,图7C)。不同浓度葫芦巴碱、小檗碱和巴马汀对莴苣株高、鲜质量和叶面积影响均不显著($P>0.05$)。药根碱对莴苣根长、株高、鲜质量和叶面积的影响均不显

著($P>0.05$)。

2.4 水培条件下,4种生物碱对2个本地种种子萌发和幼苗生长的最低抑制浓度

通过上述化感指标的测定,得出4种生物碱对2个本地种种子萌发和幼苗生长的最低抑制浓度,如表3所示。小檗碱对2个本地种幼苗生长的抑制效应最大,最低抑制浓度分别为0.1 mg·L⁻¹和0.05 mg·L⁻¹;葫芦巴碱对2个本地种种子萌发和幼苗生长的抑制效应最弱,至少达到50 mg·L⁻¹才对莴苣幼苗生长起抑制作用;在所测定的浓度内,药根碱对莴苣种子萌发和幼苗生长无显著的抑制效应。

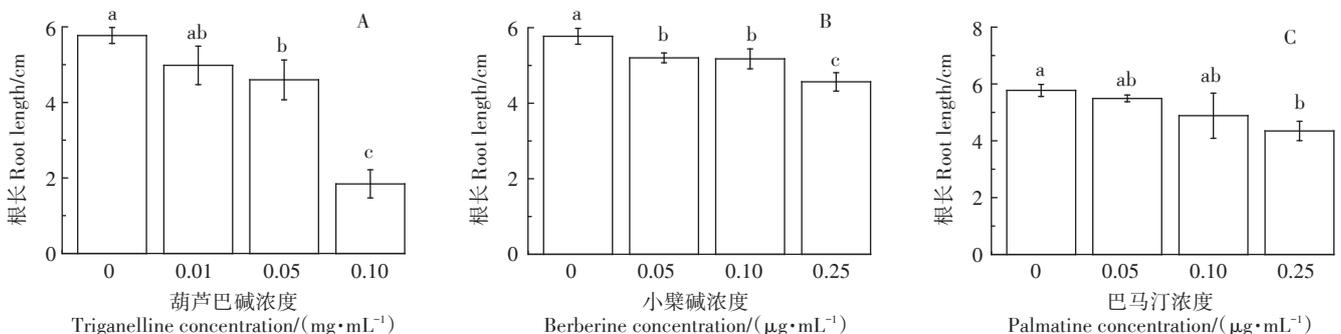


图7 外源添加生物碱对莴苣幼苗根长的影响

Figure 7 Effects of exogenous alkaloids on root length of lettuce seedlings

表3 4种生物碱对2个本地种子萌发和幼苗生长的最低抑制浓度($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)Table 3 The minimum inhibition concentrations of four alkaloids for seed germination and seedling growth of two native species($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

生物碱种类 Alkaloid	萝卜 Radish		莴苣 Lettuce	
	种子萌发 Seed germination	幼苗生长 Seedling growth	种子萌发 Seed germination	幼苗生长 Seedling growth
葫芦巴碱 Trigonelline	100	100	100	50
小檗碱 Berberine	0.25	0.10	0.25	0.05
巴马汀 Palmatine	0.25	0.25	0.25	0.25
药根碱 Rhizobine	0.25	0.25	无影响	无影响

2.5 4种不同处理的土壤对萝卜和莴苣种子萌发和幼苗生长的影响

2.5.1 4种不同处理的土壤对萝卜和莴苣种子萌发的影响

从图8A和图8B可知,除种植过紫茉莉的有菌土壤外,其余3种处理在 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下,萝卜种子的发芽率和发芽势均比无Cd时显著降低($P<0.05$)。种植紫茉莉的无菌土壤在 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下,萝卜种子发芽率和发芽势比无Cd时显著降低且抑制率最大,分别为32.88%和41.23%。但对于种植紫茉莉的有菌土壤,添加Cd对萝卜种子发芽率和发芽势的抑制作用大多不显著($P>0.05$),甚至在 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下起显著促进作用。种植了紫茉莉后,高浓度($25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)Cd胁迫显著降低了萝卜种子的发芽指数(图8C),并显著延长了平均发芽时间($P<0.05$,图8D)。

在 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下,当土壤中有菌时,与不种植紫茉莉相比,种植紫茉莉的土壤使萝卜种子的发芽率和发芽势显著增加,但当土壤中无菌时,种植紫茉莉的土壤反而显著降低了萝卜种子的发芽率和发芽势(图8A和图8B);在 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下,当土壤中有菌时,种植过紫茉莉的土壤使萝卜种子的发芽指数显著增加,但当土壤中无菌时,对萝卜发芽指数的影响不显著(图8C)。无论是否种植紫茉莉,萝卜种子平均发芽时间受到的影响大多不显著,仅个别情况下种植紫茉莉可缩短萝卜种子的平均发芽时间(图8D)。

从图9B可知,未种植紫茉莉的土壤在 $25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下,莴苣种子的发芽势比无Cd时显著降低($P<0.05$)。在种植过紫茉莉的无菌土壤中, $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下莴苣发芽率和发芽指数与无Cd时相比显著降低,平均发芽时间显著延长($P<0.05$,图9A、图9C和图9D),且抑制率分别为14.29%、21.07%和18.75%。而对于种植紫茉莉的有菌土壤, 5 、 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下莴苣发芽率、发芽势和发芽指数与无

Cd时相比显著提高,平均发芽时间显著缩短($P<0.05$)。

在 5 、 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下,当土壤中有菌时,与不种植紫茉莉相比,种植紫茉莉的土壤使莴苣种子的发芽率、发芽势和发芽指数显著增加,平均发芽时间显著缩短(图9)。但当土壤中无菌时,与不种植紫茉莉相比, $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下种植紫茉莉的土壤显著降低了莴苣种子的发芽率(图9A),但 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下未种植紫茉莉的土壤比种植的显著降低了莴苣种子的发芽率和发芽势(图9A和图9B)。

结合两种植物看,在种植紫茉莉的有菌土壤中, 5 、 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫土壤中莴苣种子各萌发指标均受到显著促进作用,而萝卜种子仅在 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫土壤中发芽率和发芽势显著增高,说明莴苣种子受到的促进作用强于萝卜。在种植紫茉莉的无菌土壤中, $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下萝卜和莴苣种子的萌发均受抑制,但萝卜种子萌发指标抑制率大于莴苣,说明萝卜种子萌发所受抑制作用强于莴苣。

2.5.2 4种不同处理的土壤对萝卜和莴苣幼苗生长的影响

从图10A和图10B可知,未种植紫茉莉的土壤在 $25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下,萝卜幼苗的根长和株高均比无Cd时显著降低($P<0.05$)。在种植过紫茉莉的无菌土壤中, $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下萝卜幼苗根长、株高、鲜质量和叶面积与无Cd时相比均显著降低($P<0.05$,图10),各指标抑制率分别为29.05%、25.77%、48.54%和14.20%。而对于种植紫茉莉的有菌土壤, 1 、 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下萝卜幼苗根长、株高、鲜质量和叶面积与无Cd时相比均显著提高($P<0.05$,图10)。

在 5 、 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下,当土壤中有菌时,与不种植紫茉莉相比,种植紫茉莉的土壤使萝卜根长、株高、鲜质量和叶面积显著增加(图10);但当土壤中无菌时,种植紫茉莉的土壤仅在 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下显著降低了萝卜幼苗叶面积(图10D)。在 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下的无菌土壤中,无论种植紫茉莉

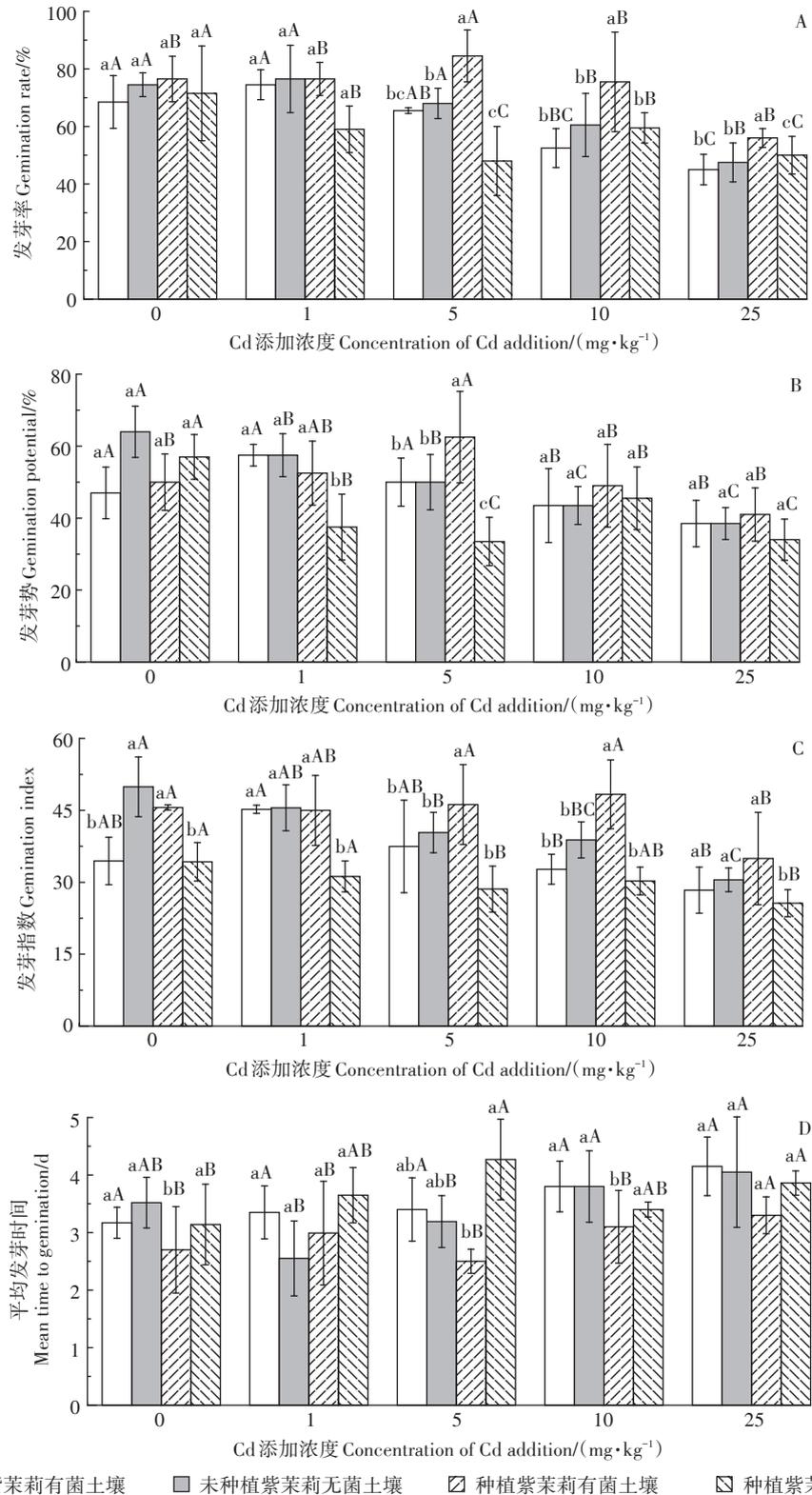


图8 萝卜种子在4种不同处理土壤中的萌发情况

Figure 8 Germination of radish seeds in four different soil treatments

The lowercase letters in the figure show the difference in the measured indicator among the four different treatments at the same Cd concentration. The capital letters show the difference in the measured indicator among the five Cd concentrations in the same treatment. The same letter indicates no significant differences ($P > 0.05$), and different letters indicate significant differences ($P < 0.05$). The same below

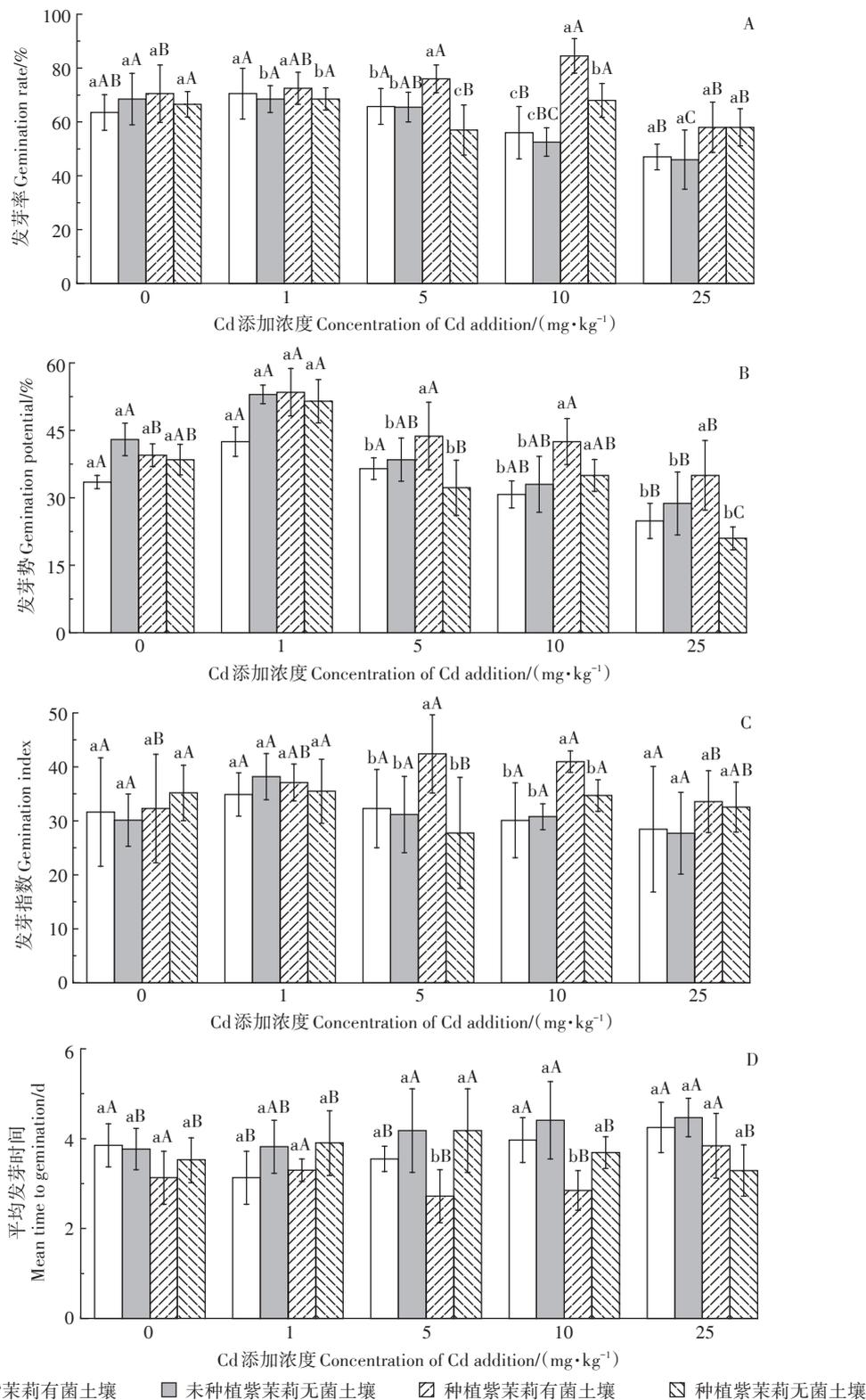


图9 莴苣种子在4种不同处理土壤中的萌发情况

Figure 9 Germination of lettuce seeds in four different soil treatments

与否,萝卜幼苗各指标受到的影响均不显著。

从图11A可知,未种植紫茉莉的土壤在25 mg·kg⁻¹ Cd胁迫下,莴苣幼苗的根长比无Cd时显著降低

($P < 0.05$)。在种植紫茉莉的无菌土壤中,添加Cd对莴苣幼苗生长大多影响不显著,仅在5 mg·kg⁻¹和25 mg·kg⁻¹ Cd胁迫下莴苣幼苗根长以及5 mg·kg⁻¹ Cd胁迫

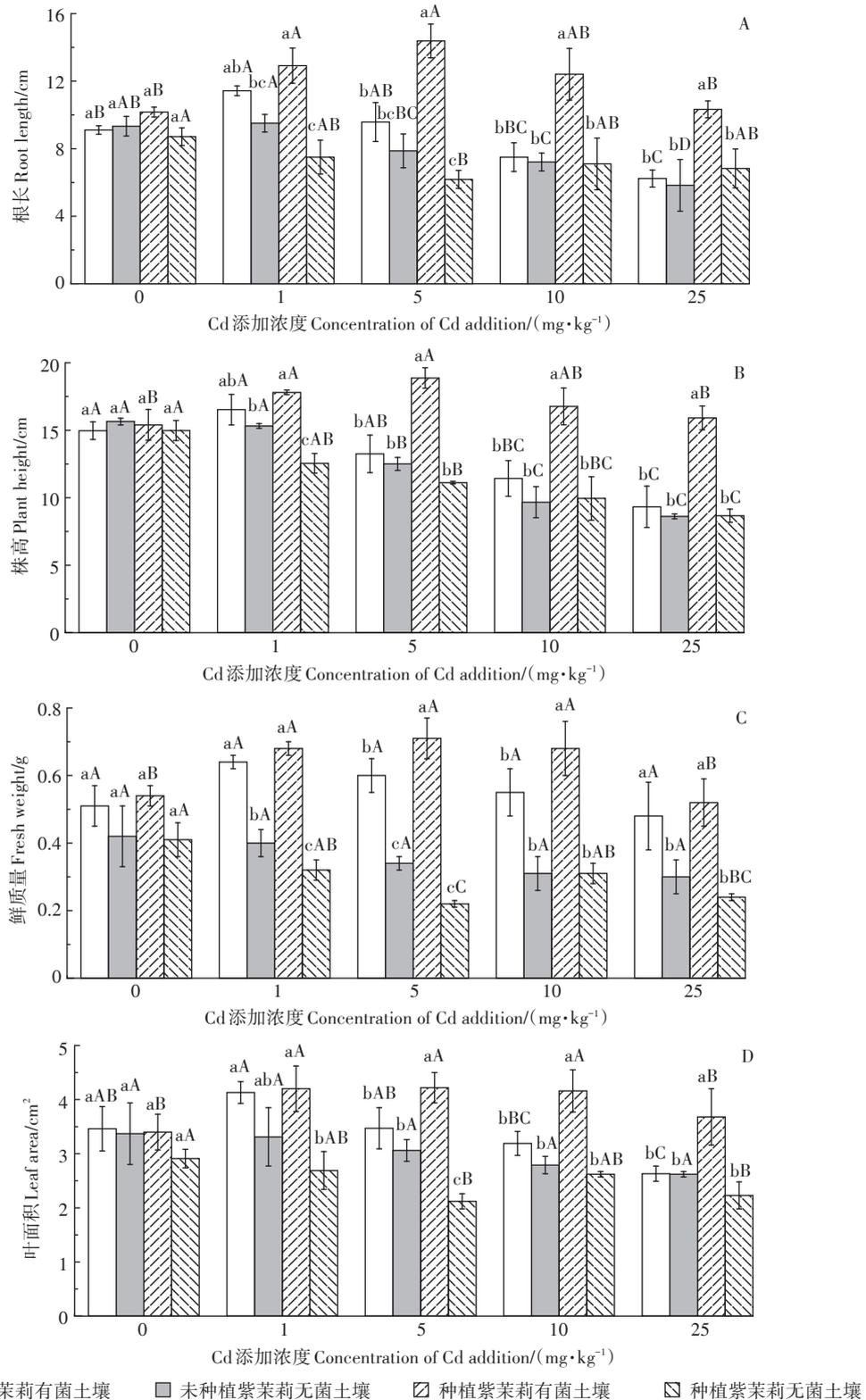


图 10 萝卜幼苗在 4 种不同处理土壤中的生长情况

Figure 10 Growth of radish seedlings in four different soil treatments

胁迫下的株高比无 Cd 时显著降低 ($P < 0.05$, 图 11A 和图 11B), 5 mg·kg⁻¹ Cd 胁迫下根长和株高抑制率最大, 分别为 15.25% 和 15.00%。而对于种植紫茉莉的有菌土

壤, 1、5、10 mg·kg⁻¹ Cd 胁迫下莴苣幼苗株高、鲜质量和叶面积与无 Cd 时相比均显著增加 ($P < 0.05$, 图 11B 至图 11D)。在 1、5 mg·kg⁻¹ 和 10 mg·kg⁻¹ Cd 胁迫下,

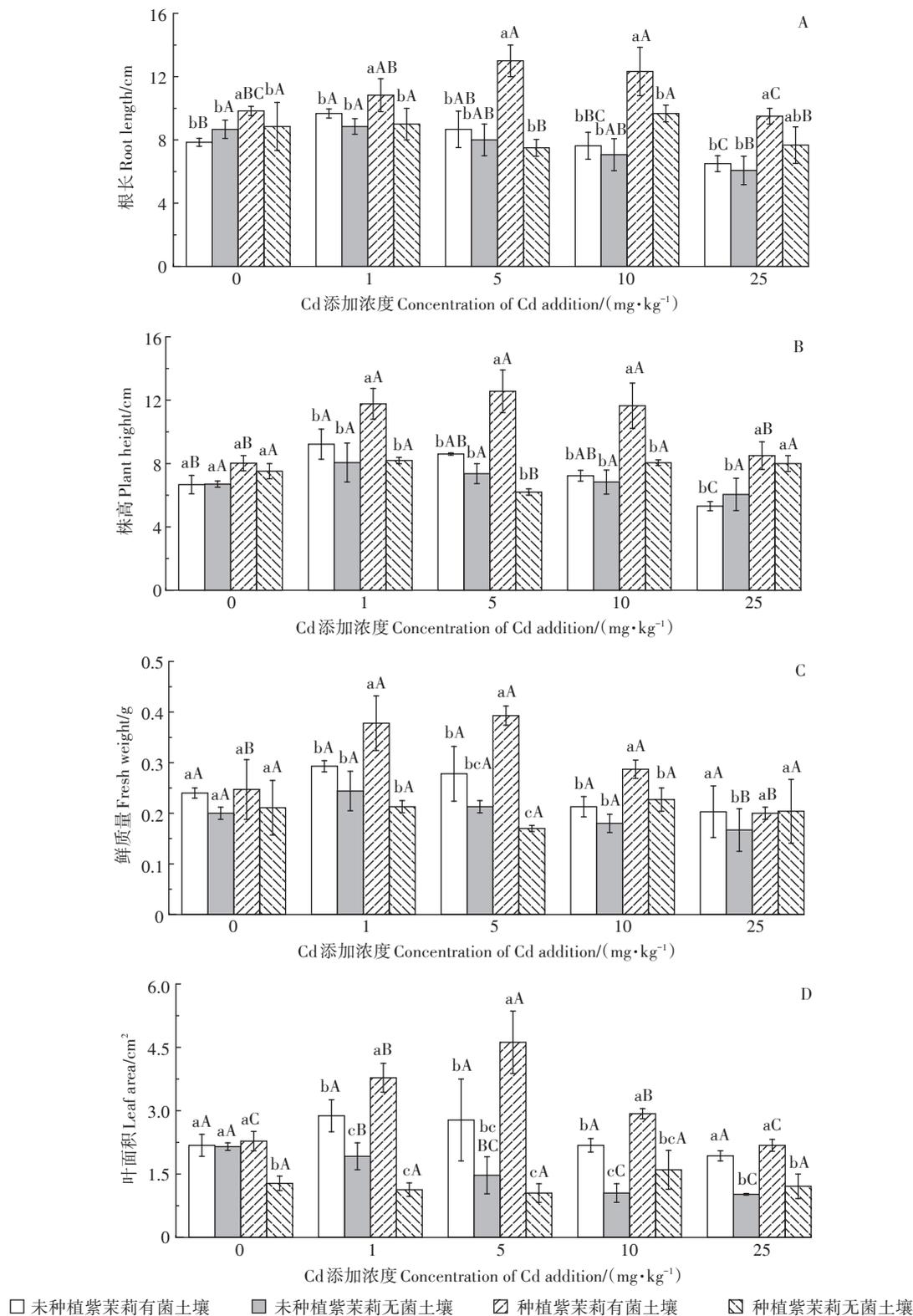


图 11 莴苣幼苗在 4 种不同处理土壤中的生长情况

Figure 11 Growth of lettuce seedlings in four different soil treatments

当土壤中有菌时,与不种植紫茉莉相比,种植过紫茉莉的土壤中莴苣根长、株高、鲜质量和叶面积均显著增加,但当土壤中无菌时,无论种植紫茉莉与否,莴苣

幼苗各测定指标均未受到显著影响(图 11A 至图 11D)。

结合两种植物看,在种植紫茉莉的有菌土壤中,

萝卜幼苗受到的促进作用主要在 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下,而莴苣幼苗主要在 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下,莴苣幼苗受到的促进作用强于萝卜。在种植紫茉莉的无菌土壤中, $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下萝卜和莴苣幼苗生长均受到抑制,但萝卜各生长指标抑制率均大于莴苣,说明萝卜幼苗生长所受抑制作用强于莴苣。

3 讨论

植物会通过化感作用释放次生代谢物质来抵御昆虫、动物和微生物的侵袭,抑制邻近植物的生长,以增强自身的生存竞争能力。目前已有不少研究表明紫茉莉根、茎、叶和种子等浸提液对其他植物的种子萌发和幼苗生长具有化感作用。赵赫南等^[22]的研究表明,紫茉莉甲醇提取物能抑制茄子的种子萌发和根茎生长,并促进黄豆种子萌发但抑制其根茎生长。许桂芳等^[23]发现紫茉莉根、茎和叶的水浸提液对小麦和白菜的种子萌发及幼苗生长产生明显抑制作用。本研究中,Cd胁迫下水培紫茉莉根系分泌物在一定程度上抑制了萝卜、莴苣种子萌发(图4)和幼苗生长(图5),萝卜的最大抑制率分别为25.17%和44.23%,莴苣则为10.00%和40.44%,表明Cd胁迫下紫茉莉根系分泌物具有一定的化感作用。化感作用的产生需要化感物质来实现,已有的文献大多未深入研究紫茉莉产生化感效应的化感物质种类。本研究通过测定Cd胁迫下紫茉莉根系分泌物中的生物碱种类,发现其主要有葫芦巴碱、小檗碱、巴马汀和药根碱。已有研究表明用 $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 葫芦巴碱处理莴苣根尖时,葫芦巴碱可使细胞周期中的G₂期延长或停止,从而减少了原生根系伸长速率^[24]。小檗碱及其衍生物能显著抑制拟南芥主根长和根系细胞分裂,从而抑制植物根系生长^[25]。本研究中,外源添加葫芦巴碱、小檗碱、巴马汀和药根碱在一定程度上抑制了萝卜和莴苣种子萌发和幼苗生长,一方面这与前人的研究结果相似,另一方面本研究也确定了究竟是紫茉莉根系分泌的哪几种生物碱起到了化感作用。

生物碱属于植物次生代谢物,从生态学意义看,它的分泌一般被认为是可防止植物被草食动物吞食^[26]。此外,生物碱大多偏碱性,在Cd胁迫下,紫茉莉分泌的生物碱可以与一部分Cd²⁺发生沉淀,从而降低了Cd的生物有效性。生物碱的分泌受诸多因素的影响,植物生境、水分、养分、温度、动物侵食、微生物侵染等均可影响化感作用^[27]。环境胁迫会影响化感物质的产生和释放,在一定情况下植物产生和释放化

感物质的量会增加,从而增强化感作用^[28]。有研究表明低剂量重金属胁迫会促进次生代谢物的合成,但随着重金属浓度增加,次生代谢物的含量反而下降^[29]。本研究表明,在 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd的水培和 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd的土培条件下,紫茉莉根系分泌的葫芦巴碱和小檗碱均比对照(不加Cd)显著增加。但在高浓度($10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 水培或 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 土培)Cd胁迫下,紫茉莉分泌的几种生物碱均与对照无显著差异,说明高Cd胁迫显著抑制了紫茉莉生物碱的分泌(图2和图3)。这可能是因为重金属对植物生长的“低促高抑”现象普遍存在,高Cd胁迫严重降低了紫茉莉植株的根系活力和生物碱合成的生理生化过程,进而降低了如生物碱等次生代谢物质的产生。当然,有的生物碱如水培和土培中的药根碱和土培中的黄连碱,随着Cd处理浓度的增加其含量均未发生显著变化,说明不同生物碱种类对Cd胁迫的响应存在自身差异。Cd胁迫下植物生物碱的产生、释放和化感效应的研究较少,今后还需要进一步深入研究。

本研究中,当添加紫茉莉根系分泌物和生长过紫茉莉的无菌土壤进行萝卜、莴苣种子萌发和幼苗生长实验时,发现 $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd胁迫下紫茉莉根系分泌物中萝卜、莴苣发芽率和根长显著低于其他处理,可能是由于在此浓度胁迫下,紫茉莉根系分泌物中葫芦巴碱和小檗碱含量达到最大值,分别为 $0.143 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.293 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,均超过其最低抑制浓度($0.10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$); $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下紫茉莉根际土壤葫芦巴碱、小檗碱和巴马汀含量分别为 $3.74 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $90.27 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $13.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (图3),且此浓度Cd胁迫下紫茉莉根际无菌土壤对萝卜种子萌发和幼苗生长的抑制作用最强,表明Cd胁迫下水培与土培无菌土壤中生物碱分泌量的增加显著增强了紫茉莉根系分泌物的化感效应。此外,化感物质间的互作方式也能影响化感作用强度。各化感物质间可能存在的相加或协同作用会导致化感效应增强^[30]。植物化感作用具有选择性,同一种化感物质对不同受体植物的作用不同,对同一受体植物不同生长阶段、不同部位的作用也不同^[22]。本研究中,外源添加的各生物碱对萝卜和莴苣种子萌发和幼苗生长起抑制作用的最低浓度有所不同,且药根碱浓度为 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,只对萝卜有显著影响,对莴苣无显著作用,说明生物碱对萝卜和莴苣的化感作用具有物种选择性和浓度依赖性^[31]。Cd胁迫下紫茉莉根系分泌物及生长过紫茉莉的无菌土壤对萝卜的抑制作用强于莴苣,说明不同受体植物

对化感物质的敏感性不同,也可能与受体植物物种进化有关^[32]。种子萌发和幼苗生长是保证植物个体生存和种族繁衍的重要阶段。本研究中,外源添加生物碱、Cd胁迫下紫茉莉根系分泌物和种植过紫茉莉的无菌土壤都在一定程度上抑制了萝卜和莴苣种子萌发率,可能原因是化感物质影响了种子内部物质代谢及各种代谢关键酶的活性,使代谢受阻,从而减少了种子萌发的正常能量供应,抑制或推迟种子萌发^[33]。萝卜和莴苣幼苗根长显著变短,可能是由于其根部与生物碱直接接触,根部细胞膜受到损伤,使得膜功能失调,进而影响呼吸作用和水吸收,最终影响根部细胞的分裂及生长^[34]。由于植物代谢是一个连锁反应,离子吸收及水分状况等变化必然引起植物营养物质运输、光合作用和呼吸作用等的变化,从而对植物株高、鲜质量和叶面积产生影响。然而,外源添加生物碱仅对莴苣根长有显著抑制作用,对株高、鲜质量和叶面积影响不显著,造成这一现象的原因可能是植物茎叶靠根部运输养分,只有当根系受到的化感胁迫到达一定程度时,茎叶才会表现出明显的响应^[35]。

土壤是植物间相互作用的媒介,是植物化感物质的释放场所。本研究在探明Cd胁迫下水培紫茉莉根系分泌物具有化感作用后,通过土培实验进一步验证在不同浓度Cd胁迫和有菌无菌条件下生长过紫茉莉的土壤中化感作用的差异程度。本研究测定了不同浓度Cd胁迫下紫茉莉根际土壤中生物碱的种类与含量,发现除了得到与水培条件下相同的4种生物碱外,还检测到土壤中存在黄连碱(图3D)。这可能是由于土培实验中紫茉莉生长时间更长(90 d),随着时间的推移,紫茉莉根系分泌的生物碱在土壤中不断积累,当积累到一定量便能够被检测到,而水培实验中紫茉莉根系分泌的时间短(3 d),导致黄连碱分泌量过少而未被检出。紫茉莉根际土壤中生物碱含量在Cd胁迫下的表现趋势与水培条件下基本一致,但含量显著增加时的Cd浓度有所不同。Cd胁迫下紫茉莉根际土壤中葫芦巴碱和小檗碱含量在Cd含量为 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时显著增加,而水培条件下Cd浓度为 $1\sim 3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时此两种生物碱含量显著增加,可能是由于水培条件下的Cd主要是水溶性Cd,其生物有效性更高,而土壤中的Cd由于受生物与非生物因素的影响,其有效性Cd含量相对较低^[36]。因此土培条件下,Cd对紫茉莉根系分泌生物碱起促进作用的浓度高于水培条件。

植物释放的化感物质进入土壤后,能够在滞留、迁移、转化等过程中富集,并达到一定的浓度和持续

的活性,从而产生化感作用。而土壤本身是一个极其复杂的生态系统,化感物质在土壤中可能会经历微生物分解、土壤颗粒吸附、聚合、离子交换等一系列过程,而这些过程均会影响化感物质的作用^[35]。本研究中除 $25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫外,Cd胁迫下种植紫茉莉的有菌土壤对萝卜、莴苣种子萌发和幼苗生长均存在不同程度的促进作用,而水培实验中紫茉莉根系分泌物则抑制了萝卜、莴苣种子萌发和幼苗生长,造成这种相反作用的原因可能是自然土壤环境远比单一的水培环境复杂,微生物和土壤作用等影响更大。紫茉莉根际土壤中的生物碱可被土壤吸附与解吸,以及可被土壤微生物降解或转化为其他物质,从而使得生物碱浓度发生变化,控制生物碱的潜在生物有效性^[37],进而使得Cd胁迫下生长过紫茉莉的有菌土壤化感作用得到缓解。 $25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫下的有菌土壤对2个本地种种子萌发和幼苗生长表现为抑制作用,可能是土壤中Cd含量过高所致。这说明虽然紫茉莉在 5 、 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd胁迫时生物碱含量显著增加,但化感效应并不强烈,且实际农田土壤中Cd含量并非如此高,因此将紫茉莉用于大田实际Cd污染土壤修复的生态风险较小。而种植紫茉莉的土壤灭菌后,萝卜、莴苣种子萌发和幼苗生长受到不同程度的抑制,可能是生物碱留存在土壤中未受到微生物分解,在Cd与生物碱双重胁迫下产生显著抑制作用所致^[38]。这说明微生物在Cd胁迫下生长过紫茉莉土壤的化感作用中起重要作用,但至于哪些微生物在对生物碱起分解作用进而缓解了对本地种的化感效应,将是今后深入研究的一个重点内容。

紫茉莉作为外来入侵植物,其繁殖力强、生物量大、适应性强,且具有一定富集Cd的能力。但是在Cd污染土壤修复过程中,外来入侵植物对本地种的危害不容忽视,探究将其用于Cd污染土壤修复的生态风险和可行性非常必要且重要。目前关于Cd胁迫下紫茉莉生物碱对本地种的化感作用未见相关报道。本研究通过水培与土培实验,对紫茉莉根系分泌的生物碱对萝卜、莴苣种子萌发和幼苗生长的化感效应进行探究,表明在Cd胁迫下,紫茉莉水培和土培方式对本地种产生的化感效应不同,土培和有菌条件减缓了生物碱的化感效应,将紫茉莉用于大田实际Cd污染农田土壤修复生态风险小,且利用紫茉莉与本地种进行Cd污染农田土壤的间作修复时,莴苣是较为合适的间作种类。然而,目前我们的研究结果只能说明紫茉莉根系分泌物及根际土壤中测定到的几种生物碱

的化感效应,但各生物碱间可能存在的协同、相加或拮抗效应等,还有待今后深入研究。

4 结论

(1) 水培条件下, 1、3 mg·L⁻¹ Cd 胁迫下紫茉莉根系分泌物中葫芦巴碱、小檗碱和巴马汀含量显著增加。3 mg·L⁻¹ Cd 胁迫下紫茉莉根系分泌物对萝卜和莴苣的抑制作用最强, 其中萝卜种子萌发和幼苗根长抑制率分别为 25.17% 和 44.23%, 莴苣为 10.00% 和 40.44%, 萝卜受到的抑制作用强于莴苣。外源添加各生物碱对萝卜和莴苣幼苗生长的化感效应不同, 小檗碱最低抑制浓度分别为 0.10 mg·L⁻¹ 和 0.05 mg·L⁻¹, 化感效应最强; 巴马汀和药根碱均为 0.25 mg·L⁻¹, 化感效应次之; 葫芦巴碱为 100 mg·L⁻¹ 和 50 mg·L⁻¹, 化感效应最弱。

(2) 土培条件下, 除 25 mg·kg⁻¹ Cd 胁迫外, 种植紫茉莉的有菌土壤对萝卜、莴苣种子萌发和幼苗生长均产生不同程度的促进作用, 且对莴苣的促进作用强于萝卜; 而无菌土壤则产生抑制作用, 5 mg·kg⁻¹ Cd 胁迫对萝卜种子萌发和幼苗生长的最大抑制率分别为 41.23% 和 48.54%, 莴苣则为 21.07% 和 15.25%。这说明土培和有菌条件减缓了生物碱的化感效应。

(3) 当利用紫茉莉与本地种进行 Cd 污染农田土壤的间作修复时, 莴苣所受的化感抑制作用较小, 是较为合适的间作种类。

参考文献:

- [1] 生态环境部. 2020 中国生态环境状况公报[R]. 北京: 生态环境部, 2021: 39. Ministry of Ecology and Environment. 2020 bulletin on the state of China's ecological environment[R]. Beijing: Ministry of Ecology and Environment, 2021.
- [2] 吴双桃. 紫茉莉修复镉污染土壤的研究[J]. 污染防治技术, 2006, 19(4): 17-18. WU S T. Study on phytoremediation with *Mirabilis jalapa* for soil polluted by Cd[J]. *Pollution Control Technology*, 2006, 19(4): 17-18.
- [3] 马金双, 李惠茹. 中国外来入侵植物名录[M]. 北京: 高等教育出版社, 2018: 300. MA J S, LI H R. The checklist of the alien invasive plants in China[M]. Beijing: Higher Education Press, 2018: 300.
- [4] LU Y J, WANG Y F, WU B D, et al. Allelopathy of three compositae invasive alien species on indigenous *Lactuca sativa* L. enhanced under Cu and Pb pollution[J]. *Scientia Horticulturae*, 2020, 267: 109323.
- [5] ZHANG Y J, LIU Y J, YUAN L, et al. Effect of allelopathy on plant performance: A meta-analysis[J]. *Ecology Letters*, 2020, 24(2): 348-362.
- [6] FAROOQ M, JABRAN K, CHEEMA Z A, et al. The role of allelopathy in agricultural pest management[J]. *Pest Management Science*, 2011, 67(5): 493-506.
- [7] BI X D, ZHANG S L, ZHANG B, et al. Effects of berberine on the photosynthetic pigments compositions and ultrastructure of cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*[J]. *Advanced Materials Research*, 2011, 343/344: 1117-1125.
- [8] KOTZAMANI A, VASILAKOGLU I, DHIMA K, et al. Impact of soil salinity on barley allelopathic potential and main secondary metabolites gramine and hordenine[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2020, 40(1): 137-146.
- [9] ZHANG S L, ZHANG B, DAI W. Oxidative damage and antioxidant responses in *Microcystis aeruginosa* exposed to the allelochemical berberine isolated from golden thread[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2011, 168(7): 639-643.
- [10] 刘丹, 牛贺雨, 彭梦婕, 等. 不同配方营养液对水培紫薇扦插苗生长的影响[J]. 贵州农业科学, 2019, 47(3): 96-100. LIU D, NIU H Y, PENG M J, et al. Effects of different nutrient solution formula on growth of cutting seedlings of hydroponic *Lagerstroemia Indica* L.[J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2019, 47(3): 96-100.
- [11] 陈凤真. 葫芦巴碱提取与测定方法研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2019, 9: 145-149. CHEN F Z. Research progress on extraction and determination of trigonellin[J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2019, 9: 145-149.
- [12] 刘颖, 李世颂, 刘娟. HPLC 测定关黄柏中生物碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(16): 88-91. LIU Y, LI S S, LIU J. Determination of alkaloids in *Phellodendri amurensis* Cortex by HPLC[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2013, 19(16): 88-91.
- [13] WANG C Y, WU B D, JIANG K, et al. Canada goldenrod invasion cause significant shifts in the taxonomic diversity and community stability of plant communities in heterogeneous landscapes in urban ecosystems in east China[J]. *Ecological Engineering*, 2019, 127: 504-509.
- [14] XIA T T, MIAO Y X, WU D L, et al. Active optical sensing of spring maize for in-season diagnosis of nitrogen status based on nitrogen nutrition index[J]. *Remote Sensing*, 2016, 8: 605.
- [15] WANG S, WEI M, WU B D, et al. Combined nitrogen deposition and Cd stress antagonistically affect the allelopathy of invasive alien species Canada goldenrod on the cultivated crop lettuce[J]. *Scientia Horticulturae*, 2020, 261: 108955.
- [16] XIAO Z X, ZOU T, LU S G, et al. Soil microorganisms interacting with residue-derived allelochemicals effects on seed germination[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2020, 27(4): 1057-1065.
- [17] DEMASI S, CASER M, FOGLIATTO S, et al. Ailanthone inhibition data on seed germination and seedling growth of *Lepidium sativum* L. and *Raphanus sativus* L.[J]. *Data in Brief*, 2019, 26: 140550.
- [18] DING T L, YANG Z, WEI X C, et al. Evaluation of salt-tolerant germplasm and screening of the salt-tolerance traits of sweet sorghum in the germination stage[J]. *Functional Plant Biology*, 2018, 45: 1073-1081.
- [19] MURCHA S J, HAQB K, RUPASINGHE H P V, et al. Nickel contamination affects growth and secondary metabolite composition of *St.*

- John's wort (*Hypericum perforatum* L.)[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2003, 49: 251–257.
- [20] HOU Q Q, CHEN B M, PENG S L, et al. Effects of extreme temperature on seedling establishment of nonnative invasive plants[J]. *Biological Invasions*, 2014, 16: 2049–2061.
- [21] AMOO S O, OJO A U, VAN STADEN J. Allelopathic potential of *Tetrapleura tetraptera* leaf extracts on early seedling growth of five agricultural crops[J]. *South African Journal of Botany*, 2008, 74(1): 149–152.
- [22] 赵赫南, 聂争飞, 王凤诏, 等. 紫茉莉甲醇提取物对黄豆、番茄种子萌发与幼苗生长的影响[J]. 沈阳大学学报(自然科学版), 2017, 29(3): 197–200. ZHAO H N, NIE Z F, WANG F Z, et al. Impacts of *Mirabilis jalapa* methanol extract on germination and seedling growth of soybean and eggplant seeds[J]. *Journal of Shenyang University(Natural Science Edition)*, 2017, 29(3): 197–200.
- [23] 许桂芳, 刘明久, 李雨雷. 紫茉莉入侵特性及其入侵风险评估[J]. 西北植物学报, 2008, 28(4): 765–770. XU G F, LIU M J, LI Y L. Invasion characteristics and invasion risk assessment of *Mirabilis jalapa*[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2008, 28(4): 765–770.
- [24] MAZZUCA S, BITONTI M B, INNOCENTI A M, et al. Inactivation of DNA replication origins by the cell cycle regulator, trigonelline, in root meristems of *Lactuca sativa*[J]. *Planta*, 2000, 211: 127–132.
- [25] ZHANG Z H, DENG A J, WANG B. Synthesis and structure-activity relationships of quaternary coptisine derivatives as potential anti-ulcerative colitis agents[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 58(18): 7557–7571.
- [26] 司徒琳莉, 李洪波, 郑险峰. 生物碱的作用及其生产[J]. 牡丹江师范学院学报(自然科学版), 2003(1): 7–8. SITU L L, LI H B, ZHENG X F. Function and production of alkaloids[J]. *Journal of Mudanjiang Normal University (Natural Sciences Edition)*, 2003(1): 7–8.
- [27] 肖辉林, 彭少麟, 郑煜基, 等. 植物化感物质及化感潜力与土壤养分的相互影响[J]. 应用生态学报, 2006, 17(9): 1747–1750. XIAO H L, PENG S L, ZHENG Y J, et al. Interactive effects between plant allelochemicals, plant allelopathic potential and soil nutrient[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(9): 1747–1750.
- [28] GORKA S M, NELSON B D, SARAPAS C, et al. Relation between respiratory sinus arrhythmia and startle response during predictable and unpredictable threat[J]. *Journal of Psychophysiology*, 2013, 27(2): 95–104.
- [29] WANG P, ZHOU D M, LI L Z, et al. Evaluating mechanisms for plant-ion (Ca^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} or Ni^{2+}) interactions and their effectiveness on rhizotoxicity[J]. *Plant and Soil*, 2010, 34(4): 277–288.
- [30] WEIR T L, BAIS H P, VIVANCO J M. Intraspecific and interspecific interactions mediated by a phytotoxin, (–)-catechin, secreted by the roots of *Centaurea maculosa* (Spotted Knapweed)[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2004, 35: 860.
- [31] 黄玉梅, 张杨雪, 刘庆林, 等. 孔雀草水浸提液对4种园林植物化感作用的研究[J]. 草业学报, 2015, 24(6): 150–158. HUANG Y M, ZHANG Y X, LIU Q L, et al. Research on allelopathy of aqueous extract from *Tagetes patula* L. to four garden plants[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2015, 24(6): 150–158.
- [32] CHON S U, CHOI S K, JUNG S, et al. Effects of alfalfa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfalfa and barnyard grass[J]. *Crop Protection*, 2002, 21(10): 1077–1082.
- [33] KAMARA A Y, AKOBUNDU I O, SANGINGA N, et al. Effects of mulch from 14 multipurpose tree species (MPTs) on early growth and nodulation of cowpea (*Vigna unguiculata* L.)[J]. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 1999, 182: 127–134.
- [34] SIYAR S, MAJEED A, MUHAMMAD A, et al. Allelopathic effect of aqueous extracts of three weed species on the growth and leaf chlorophyll content of bread wheat[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39: 63–68.
- [35] QIN F C, LIU S, YU S X. Effects of allelopathy and competition for water and nutrients on survival and growth of tree species in *Eucalyptus urophylla* plantations[J]. *Forest Ecology and Management*, 2018, 424: 387–395.
- [36] TURK M A, TAWAHA A M. Allelopathic effect of black mustard (*Brassica nigra* L.) on germination and growth of wild oat (*Avena fatua* L.)[J]. *Crop Protection*, 2003, 22(4): 673–677.
- [37] 朱政财, 李祥彬, 李文业, 等. 外来植物白千层生长区域土壤的化感作用研究[J]. 生态科学, 2019, 38(6): 131–135. ZHU Z C, LI X B, LI W Y, et al. Allelopathic potential of soil with growth of alien plant species *Melaleuca leucadendra* Linn[J]. *Ecological Science*, 2019, 38(6): 131–135.
- [38] 寇风莲, 郑金伟, 郑英敏, 等. 重金属阻控菌剂的制备及其减少生菜吸收Cd和Pb的作用[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(1): 36–45. KOU F L, ZHENG J W, ZHENG Y M, et al. Preparation of bacterial heavy metal-immobilizing agents and their effects on reducing Cd and Pb uptake in lettuce[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(1): 36–45.