



赵娜娜,王盼盼,冯佳楠.鱼腥草叶片甲醇浸提液对瓜列当和向日葵列当种子萌发的诱导[J].黑龙江农业科学,2022(4):51-54.

鱼腥草叶片甲醇浸提液对瓜列当和向日葵列当种子萌发的诱导

赵娜娜,王盼盼,冯佳楠

(新疆农业大学 农学院,新疆 乌鲁木齐 830052)

摘要:列当属杂草对新疆地区的加工番茄、向日葵、西甜瓜等经济作物造成严重危害。为促进列当种子“自杀发芽”物质的化学合成,本研究探索了鱼腥草叶片甲醇浸提液对两种列当种子萌发的诱导效果。结果表明:鱼腥草对列当种子的萌发刺激作用表现为“低促高抑”效应。不同产地的鱼腥草对两种列当种子萌发的影响不同,广西产鱼腥草的甲醇提取物在浓度为 $3\,570.000\,\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,瓜列当种子的发芽率最高(65.38%);四川产鱼腥草甲醇提取物则是在浓度为 $8.925\,\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,瓜列当种子的发芽率最高(89.18%)。广西产鱼腥草在浓度为 $0.450\,\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,向日葵列当种子的发芽率最高(85.39%);四川产鱼腥草在浓度为 $8.925\,\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,向日葵列当种子的发芽率最高(77.57%)。综合分析表明鱼腥草可以作为诱捕植物诱导瓜列当和向日葵列当种子“自杀式萌发”。

关键词:鱼腥草;瓜列当;向日葵列当;种子萌发

列当是一种全寄生性根寄生杂草,在世界各地均有分布,被认为是世界范围内危害最严重的寄生性杂草,对多种重要农作物造成严重侵害,如向日葵、豆类、番茄以及瓜类^[1]。新疆是我国列当为害发生面积最大、危害最重和种类最多的地区,列当对该地区的加工番茄、向日葵、西甜瓜等主要经济作物已造成严重危害^[2];其中瓜列当和向日葵列当是新疆分布最广泛、危害最为严重的两种列当属根寄生杂草^[3]。瓜列当在国内仅分布于新疆,主要寄生于瓜类、番茄上,特别是西瓜、甜瓜受害最重,可导致西甜瓜减产 20%~70%^[1]。尤其以新疆的南疆、东疆地区发生最为普遍,其中又属哈密、巴州、喀什等地区尤为突出^[4]。在新疆,向日葵列当主要危害的作物是向日葵^[5],在向日葵上单株寄生率可达 72%~90%^[1],造成植株萎蔫、矮小、瘪粒增多、花盘小,产量大幅度降低,严重发生时可致向日葵绝收^[3]。

列当种子细而小,结实量惊人,具有寄生性杂草的典型特征。瓜列当每枝平均生产 3.8 万粒(0.5 万~8.1 万粒)种子,平均千粒重 12.27 mg(1.88~32.23 mg)。向日葵列当每株平均生产

17.4 万粒(3.0 万~38.5 万粒)种子,平均千粒重 4.14 mg(1.48~7.55 mg)^[6]。经年累月,列当种子会在农田中积累形成庞大的土壤列当种子库,且列当种子生命力较长,可以在土壤中保存生命活力达 20 年^[7-8],因此土壤种子库的消除成为列当防除的研究重点。目前生产上对杂草列当的综合防除措施主要包括加强检疫措施、培育抗性品种、人工除草、施用化学除草剂等^[9],但均不能有效降低土壤中列当种子库的数量。

列当种子在土壤中经过一段时间的预培养后,需要寄主植物分泌的刺激物质才能诱导种子萌发,研究发现目前为止共有 3 类植物的次生代谢产物能够刺激列当种子萌发,包括脱水高粱内酯、倍半萜内酯和独脚金内酯^[10-12]。部分非寄生植物也能分泌刺激物质诱导种子萌发,但列当不能成功寄生,最终导致种子死亡,这类非寄主植物被称为“诱捕作物”。采用“诱捕作物”诱导列当种子“自杀发芽”是一种常用于防除杂草列当的方法^[13]。这种“自杀发芽”式生物防除可以大量消灭土壤中的列当种子库,从而减轻列当的寄生率^[14]。

西北农林科技大学的马永清教授团队^[13]近 10 年来探索了多种植物对列当种子发芽的刺激作用,其中广西和四川产地的鱼腥草根茎的甲醇浸提液对瓜列当和向日葵列当种子具有较强的诱导萌发作用,但未研究两产地鱼腥草叶片是否能

收稿日期:2022-01-11

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(2017D01B16);教育部农作物生物灾害综合治理重点实验室/农业部华东作物有害生物综合治理重点实验室开放基金(2019)。

第一作者:赵娜娜(1989—),女,硕士,副教授,从事天然产物与化学生物学研究。E-mail:znnxnd2013@163.com。

诱导列当种子萌发。因此,本试验选取来自广西和四川的鱼腥草,研究鱼腥草叶片的甲醇浸提液对瓜列当和向日葵列当种子的诱导萌发作用,以期是关键刺激物质的分离纯化奠定基础,为田间生物防除提供诱捕植物。

1 材料与方法

1.1 材料

供试鱼腥草分别购买于广西省和四川省的农贸市场。瓜列当采集于新疆哈密市淖毛湖镇,寄主为甜瓜;向日葵列当采自阿勒泰地区福海县,寄主为油菜。

供试仪器和药品主要有 LE204E 电子天平,梅特勒-托利多仪器有限公司;体视显微镜, Motic;独脚金内酯 GR24,上海翊圣生物科技有限公司;次氯酸钠溶液,75%消毒酒精,甲醇溶液(分析纯),天津市致远化学有限公司;玻璃纤维滤纸 GF/A 8×10,Whatman。

1.2 方法

1.2.1 提取甲醇浸提物 鱼腥草叶片晒干剪碎后,甲醇溶液浸泡 7 d,旋转蒸发器浓缩后得到甲醇浸膏,收集放入棕色瓶中密封保存,置于 4℃冰箱中备用。

1.2.2 列当种子的表面消毒及预培养 选取适量的列当种子装入 5 mL 的离心管中,向离心管中加入 2 mL 1%次氯酸钠溶液,振动摇匀 4 min,静置 1 min 至沉淀,将上层液体小心倒出;加入蒸馏水冲洗 3 次;再加入 75%酒精 2 mL 浸泡 1 min,种子沉淀后,用移液枪移除上层液体;最后用蒸馏水冲洗 3 次,晾干备用。在一次性培养皿(直径 90 mm,高 20 mm)内铺上双层 90 mm 定性滤纸,加入适量的蒸馏水浸湿(致倾斜滤纸,无积水)。在滤纸上放入多片适当大小的玻璃纤维滤纸,将消毒过的列当种子均匀地撒在玻璃纤维滤纸片上,盖上培养皿,Parafilm 封口膜密封口,置于 25℃恒温培养箱中暗培养 4 d。

1.2.3 列当种子发芽试验 于超净工作台上称取适量植物提取物于离心管中,甲醇为溶剂进行稀释,将浸提液稀释成等比系列浓度:71 400.000, 3 570.000,178.500,8.925,0.450,0.022 g·mL⁻¹。移液枪吸取各浓度的浸提液各 40 μL 于玻璃纤维滤纸圆片上(直径 8 mm),放置 2 min 至甲醇溶剂挥发。在 90 mm 一次性塑料培养皿中铺上双层定性滤纸,加入蒸馏水浸湿至不滴漏以保持培养

皿内湿润。将干燥后的玻璃纤维滤纸片放在定性滤纸上,在显微镜下挑选完成预培养的饱满列当种子,每个滤纸片上放 25~30 粒。盖上培养皿,用 Parafilm 封口膜密封,置于 25℃恒温培养箱中暗培养 7 d 后,在体视显微镜下观察列当种子的发芽情况,并记录供试种子数和发芽种子数。以甲醇溶液作为空白对照,适当浓度独脚金内酯 (GR24)为参比对照。

1.2.4 数据分析 使用 Excel 2010 和 SPSS 19.00 对试验数据进行处理和分析,计算列当种子发芽率,运用 Duncan's 新复极差法、独立样本 t 检验进行差异显著性分析。

发芽率(%)=发芽种子数/供试种子数×100

2 结果与分析

2.1 GR24 标准物刺激对列当种子发芽率的影响

由表 1 可知,参试的列当种子生物活性较好,发芽率均在 80% 以上。随着 GR24 浓度的增加,瓜列当种子的萌发率增加,瓜列当在 GR24 浓度为 25 μg·mL⁻¹ 时种子萌发率最高,显著优于 1 μg·mL⁻¹ 浓度处理,与 5 μg·mL⁻¹ 浓度下的种子萌发率相当。向日葵列当种子在不同 GR24 浓度下的萌发率差异不显著,差异不显著。

表 1 不同浓度 GR24 标准物对列当种子发芽率的影响

浓度/(μg·mL ⁻¹)	发芽率/%	
	瓜列当	向日葵列当
1	82.30±2.61 b	80.24±1.21 a
5	88.20±1.91 ab	81.07±1.10 a
25	89.20±1.47 a	81.62±1.22 a

注:不同小写字母表示在 P<0.05 水平差异显著。

2.2 鱼腥草甲醇提取物对瓜列当种子发芽的影响

由表 2 可知,两种鱼腥草的甲醇浸提液在高浓度(71 400.000 μg·mL⁻¹) 时,均不能刺激瓜列当种子萌发。不同产地的鱼腥草在相同浓度时对瓜列当种子萌发的影响不同,在 0.022~178.500 μg·mL⁻¹ 范围内,四川鱼腥草的活性显著优于广西鱼腥草。广西鱼腥草甲醇提取物在 3 570.000 μg·mL⁻¹ 时,瓜列当种子发芽率最高,为 65.38%;而四川鱼腥草甲醇浸提液则是在 8.925 μg·mL⁻¹ 时,瓜列当种子发芽率最高,为 89.18%。

表 2 两种鱼腥草甲醇提取物对瓜列当种子发芽率的影响

浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	发芽率/%	
	广西鱼腥草	四川鱼腥草
71400.000	0 Ae	0 Af
3570.000	65.38 \pm 1.77 Aa	61.54 \pm 1.72 Ac
178.500	34.37 \pm 1.38 Bb	75.38 \pm 1.97 Ab
8.925	27.94 \pm 1.58 Bcd	89.18 \pm 2.23 Aa
0.450	25.05 \pm 3.00 Bd	50.40 \pm 2.04 Ad
0.022	31.45 \pm 2.85 Bbc	39.58 \pm 1.64 Ae
CK(甲醇)	0 Ae	0 Af

注:表中数据为平均值 \pm 标准误。不同大写字母表示在同一浓度下两种鱼腥草在 0.05 水平上差异显著;不同小写字母表示同一种鱼腥草不同浓度在 0.05 水平上有显著差异。下同。

2.3 鱼腥草甲醇提取物对向日葵列当种子发芽的影响

由表 3 可知,在最高浓度 71 400.000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,广西鱼腥草甲醇提取物不能刺激向日葵列当种子发芽,而四川鱼腥草甲醇提取物诱导向日葵列当种子的发芽率较低。在浓度为 178.500 和 3 570.000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,两产地鱼腥草诱导向日葵列当种子的发芽率均在 20%~40% 之间,四川鱼腥草的诱导作用略优于广西鱼腥草。在 0.022~8.925 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内,向日葵列当种子的发芽率明显升高,达到 60% 以上。广西鱼腥草在浓度为 0.450 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,向日葵列当种子发芽率最高,为 85.39%,显著优于四川鱼腥草对向日葵列当诱导的发芽率(67.01%)。四川鱼腥草在浓度为 8.925 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,向日葵列当种子的发芽率最高,为 77.57%。

表 3 两种鱼腥草甲醇提取物对向日葵列当种子发芽率的影响

浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	发芽率/%	
	广西鱼腥草	四川鱼腥草
71400.000	0 Ae	1.33 \pm 0.82 Ad
3570.000	37.57 \pm 2.18 Ac	39.16 \pm 2.23 Ac
178.500	23.28 \pm 2.30 Bd	34.62 \pm 3.22 Ac
8.925	73.08 \pm 2.72 Ab	77.57 \pm 6.09 Aa
0.450	85.39 \pm 2.55 Aa	67.01 \pm 2.05 Bb
0.022	71.88 \pm 1.45 Ab	66.15 \pm 2.24 Ab
CK(甲醇)	0 Ae	0 Ad

3 讨论

本研究表明产自广西和四川两地的鱼腥草叶片中存在能诱导两种列当种子发芽的刺激物质,且对两种列当种子的萌发刺激作用表现为“低促高抑”效应。同一种鱼腥草甲醇浸提液对两种列当种子的诱导活性不一致,说明植物体内诱导列当种子发芽的刺激物质可能不尽相同。独脚金内酯是大部分列当科植物种子萌发刺激物,而 Joel 等^[15]认为向日葵根系分泌物中刺激向日葵列当种子萌发的主要作用物质不是独脚金内酯,而是脱氢木香内酯。

不同鱼腥草甲醇浸提液对同一种列当种子的生物活性也不一致,这是由于不同地区的鱼腥草因为生长环境不同或者遗传变异的原因,其对列当种子发芽刺激物质的种类和含量也有所差异^[16]。对于瓜列当而言,四川产地的鱼腥草优于广西产地的鱼腥草,这与郝志强^[17]的研究结果相反,表明叶片中存在的发芽刺激物质的种类和含量可能与根茎中的不同,也可能与列当种子生物活性、种质资源差异、植物采集地点、植物采摘时期以及植物处理方式有关。对于向日葵列当而言,两产地的鱼腥草在同一浓度时的诱导活性差异大多不显著,在浓度为 178.500 和 0.450 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时活性差异显著,但不一致;具体表现为在浓度为 178.500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,四川鱼腥草的诱导活性显著优于广西鱼腥草,而在浓度为 0.450 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时广西鱼腥草的诱导活性显著优于四川鱼腥草。这表明鱼腥草叶片中可能不止一种刺激物质能诱导向日葵列当种子发芽,在低浓度时和高浓度时起主要诱导作用的物质不同。

在本研究中瓜列当和向日葵列当种子在鱼腥草甲醇浸提液的诱导下,发芽率均优于郝志强^[17]的研究结果,这可能与植物采集部位、植物产地、植物提取方式、列当种子生物活性有关。

综上所述,鱼腥草体内可能含有多种能够诱导列当种子萌发的刺激物质,这与郝志强^[17]的结果一致。而鱼腥草作为列当种子的非寄主植物,体内可能存在有与独脚金内酯等不同的分子框架结构和官能团,这些都值得后续进一步研究。分离纯化鱼腥草甲醇浸提液,为列当种子“自杀发芽”新物质的化学合成提供分子结构,有望消除庞大的土壤种子库,以此达到“竭库”的目的。

4 结论

在不同浓度 GR24 刺激下,瓜列当种子和向日葵列当种子的萌发率均在 80% 以上,GR24 对两种列当种子的萌发均有较好的诱导效果。不同产地的鱼腥草叶片对两种列当种子的诱导效果不同,其中,四川产鱼腥草在浓度为 $8.925 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,瓜列当种子萌发率最高,可达 89.18%;广西产鱼腥草在浓度为 $0.450 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,向日葵列当种子萌发率最高,可达 85.39%。结果表明鱼腥草叶片能够诱导两种列当种子萌发,有潜力作为诱捕植物诱导土壤种子库中的列当种子“自杀式萌发”。

参考文献:

- [1] 余蕊.大麻诱导列当种子发芽研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2014.
- [2] 姚兆群,曹小蕾,付超,等.新疆列当的种类、分布及其防治技术研究进展[J].生物安全学报,2017,26(1):23-29.
- [3] 方黎.新疆农田常见的两种寄生性列当[J].新疆农业科技,2013(5):8.
- [4] 支金虎,吴静,王德胜.氮素对番茄根系分泌物刺激瓜列当种子萌发的调节[J].西南农业学报,2014,27(6):2393-2397.
- [5] 陈明,薛丽静.向日葵列当的发生规律及防治措施[J].现代农业科技,2009(8):85,88.
- [6] 王焕,赵文团,陈连芳,等.列当(*Orobanch* spp. and *Phelipanche* spp.)种子的采集与预处理方法[J].杂草学报,2016,34(1):22-25.
- [7] KEBREAB E, MURDOCH A J. Effect of temperature and humidity on the longevity of *Orobanch* seeds[J]. Weed Research, 2010, 39(3): 199-211.
- [8] JOHNSON A W, ROSEBERRY G, PARKER C. A novel ap-

proach to *Striga* and *Orobanch* control using synthetic germination stimulants[J]. Weed Research, 2010, 16(4): 223-227.

- [9] 郭振国,陈杰, NIZAMANI M R, 等. 生防菌对向日葵列当的防除作用的初步研究[J]. 中国农业大学学报, 2018, 23(6): 59-69.
- [10] BUTLER L G. Chemical communication between the parasitic weed *Striga* and its crop host. A new dimension in allelochemistry[J]. ACS Symposium Series, 1995, 582: 158-168.
- [11] WIGCHERT S C, ZWANENBURG B. A critical account on the inception of *Striga* seed germination[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47: 1320-1325.
- [12] XIE X N, KUSUMOTO D, TAKEUCHI Y, et al. 2'-Epi-orobanchol and solanacol, two unique strigolactones, germination stimulants for root parasitic weeds, produced by tobacco[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55: 8067-8072.
- [13] 马永清,张维,董淑琦,等.传统中草药浸提液对3种列当种子萌发的诱导作用[J].中国科学:生命科学,2012,42(4):304-315.
- [14] 宋文坚,金宗来,曹栋栋,等.寄生植物种子萌发特异性及其与寄主的识别机制[J].应用生态学报,2006(2):335-339.
- [15] JOEL D M, CHAUDHURI S K, PLAKHINE D, et al. Dehydrocostus lactone is exuded from sunflower roots and stimulates germination of the root parasite *Orobanch* *cumana* [J]. Phytochemistry, 2011, 72(7): 624-634.
- [16] 郝智强,马永清,叶晓馨.不同处理方式下鱼腥草浸提液刺激瓜列当种子发芽的研究[J].北方园艺,2013(4):176-180.
- [17] 郝智强.鱼腥草浸提液刺激列当种子萌发的研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2013.

Germination Stimulation of *Orobanch* *aegyptiaca* and *Orobanch* *cernua* var. *cumana* by *Houttuynia cordata*

ZHAO Na-na, WANG Pan-pan, FENG Jia-nan

(College of Agriculture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: *Orobanch* *aegyptiaca* and *Orobanch* *cernua* var. *cumana* cause serious harm to the processing tomato, sunflower, watermelon, muskmelon and other main economic crops in Xinjiang. Methanol extracts of *Houttuynia cordata* leaves from Guangxi and Sichuan were used as experimental materials, to evaluated induction effect of seed germination of *O. aegyptiaca* and *O. cernua* var. *cumana* and to lay a foundation for the chemical synthesis of "suicide germination" substances. The results showed that the stimulating effect of methanol extract of *H. cordata* on the germination of seeds was "low promoting and high inhibiting". When the concentration of methanol extract of *H. cordata* from Sichuan was $8.925 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, the germination rate of seeds of *O. aegyptiaca* and *O. cernua* var. *cumana* were the highest, 89.18% and 77.57%, respectively. When the concentration of methanol extract of *H. cordata* from Guangxi was $3570.000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, the germination rate of *O. aegyptiaca* seeds was the highest, which was 65.38%; At the concentration $0.450 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, the germination rate of *O. cernua* var. *cumana* seeds was the highest, which was 85.39%. In conclusion, *H. cordata* can be used as a trapping plant to induce suicide germination of *O. aegyptiaca* and *O. cernua* var. *cumana* seeds.

Keywords: *Houttuynia cordata*; *Orobanch* *aegyptiaca*; *Orobanch* *cernua* var. *cumana*; seed germination