

# 青藏地区中草药浸提液诱导瓜列当和向日葵列当种子萌发的研究

贾雪婷<sup>1</sup> 马永清<sup>2\*</sup> 田丰<sup>3</sup> 安雨<sup>4</sup>

(1. 西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100;

2. 西北农林科技大学 水土保持研究所, 陕西 杨凌 712100;

3. 青海大学 农牧学院, 西宁 810018;

4. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所, 长春 130102)

**摘要** 本试验采用甲醇和蒸馏水浸提法,从69种青藏地区传统中草药中筛选具有诱导瓜列当(*Phelipanche Aegyptiaca* Pers.)和向日葵列当(*Orobancha Cumana* Wallr.)种子萌发作用的植物,旨在通过寻找稳定的种子萌发刺激物质来为根寄生杂草列当防除提供依据。结果表明:1)供试材料中,16种中草药的甲醇或蒸馏水浸提液诱导瓜列当种子的萌发率 $\geq 20\%$ ,21种中草药的甲醇或蒸馏水浸提液诱导向日葵列当种子的萌发率 $\geq 20\%$ ;2)其中,黄花蒿、雪参、鸡血藤、青兰、甘松和独一味6种中草药诱导2种列当的发芽率均高于20%,表明上述中草药种含有较高活性或较高浓度的列当种子萌发诱导物质,上述6种中草药可作为列当诱捕作物或列当种子萌发刺激物的潜在供体而应用于列当的生物防除。

**关键词** 向日葵列当;瓜列当;中草药;浸提液;发芽

中图分类号 S 512.1; Q 948.9

文章编号 1007-4333(2016)02-0082-11

文献标志码 A

## Study on Chinese medicinal herbs in Qinghai-Tibet inducing germination of *Orobancha cumana* Wallr. and *Phelipanche aegyptiaca* Pers. seeds

JIA Xue-ting<sup>1</sup>, MA Yong-qing<sup>2\*</sup>, TIAN Feng<sup>3</sup>, AN Yu<sup>4</sup>

(1. College of Natural Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;

2. Institute of Soil and Water Conservation, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;

3. College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810018, China;

4. Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130102, China)

**Abstract** By using distilled water and methanol extracts,69 Chinese traditional medicinal herbs from the Qinghai-Tibet region were screened to find stable compounds,which could control root parasitic weeds by inducing the germination of *Orobancha* and *Phelipanche* seeds. The results showed that:1) Of all the test materials,16 herbs could induce *P. aegyptiaca* seeds germination( $\geq 20\%$ ),21 herbs were able to induce germination of *O. cumana* seeds( $\geq 20\%$ );2) *Artemisia annua*, *Meconopsis racemosa*, *Kadsura interior*, *Dracocephalum ruyschiana*, *Nardostachys chinensis* and *Lamiophlomis rotata* could induce both *O. cumana* and *P. aegyptiaca* seeds to germinate ( $> 20\%$ ),indicating that these herbs contained germination stimulant(s) for *Orobancha* and *Phelipanche* seeds to germinate. We suggested that herbs inducing high rates of *Orobancha* and *Phelipanche* seeds germination could be used as trap crops or donors to reduce the soil seed bank of *Orobancha* and *Phelipanche*.

**Keywords** *Orobancha cumana*; *Phelipanche aegyptiaca*; Chinese medicinal herbs; extract; seed germination

收稿日期: 2015-05-28

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划项目(2011BAD31B05)

第一作者: 贾雪婷, 硕士研究生, E-mail: jiaxueting029@163.com

通讯作者: 马永清, 教授, 主要从事植物化感作用研究, E-mail: mayongqing@ms.iswc.ac.cn

列当(*Orobanche* spp. 和 *Phelipanche* spp.) 是一种根寄生杂草, 不含叶绿素, 需要从寄主植物中获取水分和营养物质来完成自身生命周期, 这样会造成寄主植物生长缓慢。列当广泛分布在地中海地区、亚洲西部和欧洲东部, 在世界多个国家危害严重<sup>[1]</sup>, 在我国北方地区也有列当危害的相关报道<sup>[2]</sup>。如向日葵列当(*O. cumana*) 可使经济作物向日葵(*Helianthus annuus*) 产量减少、品质下降, 列当在每株向日葵上寄生数量达到 51 株以上, 将造成向日葵绝收<sup>[3]</sup>。番茄(*Solanum lycopersicum*) 被瓜列当(*P. aegyptiaca*) 寄生后, 结实少且果实小, 严重时减产 20%<sup>[4]</sup>。据估计, 锯齿列当(*O. crenata*) 对非洲 400 万  $\text{hm}^2$  的豆科(*Leguminosae* spp.) 作物造成危害<sup>[5]</sup>。

列当的萌发需要来自寄主的信号物质, 目前已发现能够刺激列当发芽的物质有: 独脚金内酯(Strigolactones)、倍半萜内酯(Sesquiterpene lactones) 和脱水高粱内酯(Dihydrosorgoleone) 等。这些物质中, 独脚金内酯的活性最高。目前为止, 已经有 15 种独脚金内酯在不同植物中获得; 其中包括独脚金醇(Strigol)、高粱醇(Sorgomol) 和高粱内酯(Sorgolactone)、列当醇(Orobanchol)、5-脱氧独脚金醇(5-deoxy-strigol) 等, 除去已经鉴定出化学结构的独脚金内酯, 植物中还大量存在新型的独脚金内酯<sup>[6]</sup>。

成熟的列当种子在适宜的温湿环境中, 经过一段时间预培养, 在寄主(或非寄主) 根系分泌物等外源萌发诱导物的刺激下萌发之后产生吸器, 吸器通过与寄主的维管束联结, 形成寄生关系。植物种子的萌发为生物不可逆过程, 如果列当在萌发后数日或数周内未与寄主形成寄生关系, 将会由于自身营养耗尽而死亡, 这种萌发被称为“自杀萌发”。因此, 通过“捕获作物”和“诱捕作物”<sup>[7-11]</sup> 或人工大田施加列当萌发刺激物, 诱导列当自杀性萌发, 成为大田防除列当的新途径<sup>[12-13]</sup>。Fernández-Aparicio<sup>1</sup> 等<sup>[14]</sup> 研究了 41 种经济作物的根系分泌物对 9 种列当属(*Orobanche*) 和黑蒴属(*Melasma*) 种子萌发的诱导作用, 发现非寄主植物具有诱导列当种子“自杀萌发”的能力。Zwanenburg 等<sup>[15-16]</sup> 尝试通过将人工合成独脚金醇类似物释放到大田的方法来降低土壤列当种子库。然而, 目前由于列当萌发刺激化合

物的人工合成成本较高, 且它们在土壤中的稳定性等问题, 相关研究仍停留在实验室阶段。

人类对草药的使用有数千年的历史。中草药的许多次级代谢产物可以抑菌除虫、治疗疾病。金付平等<sup>[17]</sup> 研究发现在 240 种中草药中, 有 40 多种中草药甲醇浸提液能够刺激小列当的种子萌发。马永清等<sup>[18]</sup> 以 606 种中草药浸提液刺激列当种子萌发, 发现有 37 种中草药的甲醇浸提液可以刺激小列当种子萌发, 18 种中草药的蒸馏水浸提液可以刺激向日葵列当种子萌发, 21 种中草药的甲醇浸提液可以刺激瓜列当种子萌发, 推断我国传统中药材是列当种子萌发刺激物的天然资源库。青藏高原由于地形与气候的影响, 药物资源野生种类多, 高原特有种类多, 有药用植物宝库之称。经过努力, 笔者所在课题组收集到了青藏地区的中草药, 为利用该地域中草药诱导根寄生杂草自杀萌发的研究提供了物质基础。

本研究拟以目前收集到的 69 种青藏地区中草药为研究对象, 筛选对向日葵列当和瓜列当有刺激作用的中药草, 以期寻找列当的新型萌发刺激物提供筛选依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试材料及试剂

向日葵列当和瓜列当种子于 2009 年分别采自于新疆生产建设兵团第十师的向日葵和甜瓜列当发生地, 种子在试验前进行表面消毒: 将种子在超声清洗机中依次浸没于 1% 次氯酸钠和 75% 酒精中, 各超声 1 min; 超净工作台中用灭菌水冲洗若干次至沥出液无色为止; 超净工作台晾干, 储存于 100 mL 离心管中备用。列当种子萌发诱导物独脚金内酯类似物(GR24) 由荷兰 Zwanenburg 教授提供。本次试验采用的常见藏医中草药购买于藏医药店(表 1), 将其药用部位风干、用粉碎机粉碎并过 0.45 mm 筛, 待用。

### 1.2 列当种子的预培养

在无菌培养皿中, 将列当种子均匀撒于底部铺有双层滤纸的玻璃纤维滤纸(直径 8 mm) 上, 使每片玻璃纤维滤纸上约有 30~50 粒列当种子, 加 4 mL 无菌水浸湿滤纸及列当种子, 培养皿以封口膜封口, 置于 25 °C 的恒温培养箱中暗培养 4 d。

表1 供试中草药

Table 1 Chinese herbal medicine used in the study

科 Family	植物名称 Plant name	拉丁文名 Latin name
百合科 Liliaceae	黄精	<i>Polygonatum sibiricum</i> Delar. ex Redoute
	天门冬	<i>Asparagus cochinchinensis</i> (Lour.) Merr.
	藏贝母	<i>Fritillaria cirrhosa</i> D. Don
败酱科 Valerianaceae	甘松	<i>Nardostachys chinensis</i> Bat.
蚌壳蕨科 Dicksoniaceae	金毛狗脊	<i>Cibotium barometz</i> (L.) J. Sm.
唇形科 Labiatae	地参	<i>Lycopus lucidus</i> Turcz.
	独一味	<i>Lamiophlomis rotata</i> (Benth.) Kudo
	甘青青兰	<i>Dracocephalum tanguticum</i> Maxim.
	青兰	<i>Dracocephalum ruyschiana</i> L.
大戟科 Euphorbiaceae	余甘子	<i>Phyllanthus emblica</i>
地茶科 Thamnoliaeae	白雪茶	<i>Thamnoliaeae vermicularis</i> (Sw.) Ach
	红雪茶	<i>lethariella cladonioides</i>
豆科 Leguminosae	黄芪	<i>Hedysarum longigynophorum</i> Ni
	棘豆	<i>Oxytropis chiliophylla</i> Royle ex Benth.
杜鹃花科 Ericaceae	杜鹃花	<i>Rhododendron simsii</i> Planch
葫芦科 Cucurbitaceae	蛇连	<i>Hemsleya sphaerocarpa</i> Kuang et A. M. Lu
	阴阳子	<i>Momordica dioica</i> Roxb. ex Willd.
虎耳草科 Saxifragaceae	虎耳草	<i>Saxifraga stolonifera</i> Curt.
	金腰草	<i>Chrysosplenium forrestii</i> Diels
夹竹桃科 Apocynaceae	罗布麻叶	<i>Apocynum venetum</i> L.
景天科 Crassulaceae	红景天	<i>Rhodiola rosea</i> L.
菊科 Asteraceae	冰山雪菊	<i>Cavea tanguensis</i> (Drumm.) W. W. Smith et J. Small
	苞叶雪莲花	<i>Saussurea obvallata</i> (DC.) Edgew.
	长毛风毛菊	<i>Saussurea hieracioides</i> Hook. f.
	大黄	<i>Ligularia duciformis</i> (C. Winkl.) Hand. -Mazz.
	黄花蒿	<i>Artemisia annua</i> L.
	土木香	<i>Inula helenium</i> L.
	雪莲	<i>Saussurea involucrata</i> (Kar. et Kir.) Sch. -Bip.
	西藏彩菊	<i>Dendranthema morifolium</i> (Ramat.) Tzvel.
	藏木香	<i>Inula helenium</i> L.
藏三七	<i>Gynura cusimbua</i> (D. Don) S. Moore	
壳斗科 Fagaceae	龟头子	<i>Lithocarpus pachylepis</i> A. Camus
兰科 Orchidaceae	人生果	<i>Hermidium monorchis</i> (L.) R. Br.
	双肾子	<i>Habenaria dentata</i> (Sw.) Schltr.
	手掌参	<i>Gymnadenia crassinervis</i> Finet
	野生天麻	<i>Gastrodia elata</i> Bl.

表1(续)

科 Family	植物名称 Plant name	拉丁文名 Latin name
龙胆科 Gentianaceae	花锚	<i>Halenia corniculata</i> (L.) Cornaz
	龙胆花	<i>Gentiana scabra</i> Bunge
	秦艽	<i>Gentiana macrophylla</i> Pall. Fl. Ross.
	乌龙丹花	<i>Gentiana depressa</i> D. Don.
	藏茵陈	<i>Swertia tetraptera</i> Maxim.
毛茛科 Ranunculaceae	甘青乌头	<i>Aconitum tanguticum</i> (Maxim.) Stapf
	铁棒锤	<i>Aconitum pendulum</i> Busch
萝藦科 Asclepiadaceae	白参	<i>Cynanchum otophyllum</i> Schneid.
木兰科 Magnoliaceae	辛夷花	<i>Magnolia denudata</i> Desr. in Lam. Encycl. Bot.
蔷薇科 Rosaceae	金樱子	<i>Rosa laevigata</i> Michx.
	悬钩木	<i>Rubus treutleri</i> Hook. f.
茄科 Solanaceae	马尿泡	<i>Przewalskia tangutica</i> Maxim.
伞形科 Umbelliferae	当归	<i>Angelica sinensis</i> (Oliv.) Diels
	藏茴香	<i>Carum carvi</i> Linn. f. gracile (Lindl.) Wolff
	孜然片	<i>Cuminum cyminum</i> L.
山榄科 Sapotaceae	长寿子	<i>Manilkara zapota</i> (L.) van Royen
十字花科 Cruciferae	菥冥子	<i>Thlaspi arvense</i> L.
	雪域玛咖	<i>Lepidium meyenii</i> Walp.
石竹科 Caryophyllaceae	米参	<i>Pseudostellaria heterophylla</i> (Miq.) Pax
	雪灵芝	<i>Renaria roborowskii</i> Maxim.
使君子科 Combretaceae	藏青果	<i>Terminalia chebula</i> Retz.
天南星科 Araceae	绿萝花	<i>Epipremnum aureum</i> (Linden et Andre) Bunting Ann.
	藏菖蒲	<i>Bhizoma acori calami</i>
梧桐科 Sterculiaceae	胖大海	<i>Sterculia scaphigera</i> Wall.
五味子科 Schisandraceae	鸡血藤	<i>Kadsura interior</i> A. C. Smith
小檗科 Berberidaceae	鬼臼	<i>Sinopodophyllum hexandrum</i> (Royle) Ying
玄参科 Scrophulariaceae	马先蒿花	<i>Pedicularis reaupinanta</i> L.
	肉果草	<i>Lancea tibetica</i> Hook. f. et Thoms.
旋花科 Convolvulaceae	兔耳草	<i>Calystegia hederacea</i> Wall. ex. Roxb.
罂粟科 Papaveraceae	绿绒蒿	<i>Meconopsis aculeata</i> Royle Illustr. Bot. Him.
	雪参	<i>Meconopsis racemosa</i> var. racemosa
鸢尾科 Iridaceae	藏红花	<i>Crocus sativus</i> L.
紫茉莉科 Nyctaginaceae	西藏紫茉莉	<i>Mirabilis jalapa</i> L.

### 1.3 列当种子发芽试验

试验方法采用 Parker 等<sup>①</sup>方法,并有所改进,详细试验步骤如下:

浸提液配制如下:1)蒸馏水浸提液:将 0.1 g 中草药粉末和 1.0 mL 蒸馏水加入 1.5 mL 离心管中,超声 30 min,离心 3 min 后取上清液作为原液(中草药质量浓度 100 mg/L),将原液用蒸馏水稀释 10 倍(中草药质量浓度 10 mg/L)和 100 倍(中草药质量浓度 1 mg/L)。2)甲醇浸提液:将 0.1 g 中草药粉末和 1.0 mL 甲醇加入 1.5 mL 离心管中,其余步骤同 1)。

浸提液提取前先将盛有列当种子的玻璃纤维滤纸放于滤纸上片刻,以除去多余水分。具体提取方法如下:1)蒸馏水浸提液提取方法:将 15  $\mu$ L 含有 100 mg/L、10 mg/L 或 1 mg/L 中草药的浸提液加在已预培养的列当种子的玻璃纤维滤纸片上;2)甲醇浸提液提取方法:先将 15  $\mu$ L 甲醇浸提液加于无种子的玻璃纤维滤纸上,待甲醇完全挥发后,再将含有种子的玻璃纤维滤纸盖于其上,并加 30  $\mu$ L 无菌水;3)试验过程中采用 15  $\mu$ L 1 pp 的 GR24 和 15  $\mu$ L 无菌水分别加在已预培养的列当种子的玻璃纤维滤纸片上,作为向日葵列当和瓜列当种子萌发的正对照和负对照。培养皿中间放一湿润的三角形滤纸以保持培养皿内部的湿润,培养皿用 Parafilm 封口膜封口,置于 25  $^{\circ}$ C 的恒温培养箱中暗培养 10 d 后在显微镜下观察发芽率。

每个质量浓度设置 3 个重复。

### 1.4 数据分析

采用 Microsoft Excel 2010 和 SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 进行数据处理,将同一质量浓度下不同种中草药诱导的列当种子发芽率进行方差分析。对不同浸提液的列当发芽率进行降维处理,通过因子分析提取中草药浸提液刺激列当种子萌发主成分因子(解释率 74.7%)。把处理的标志点(0、G、C 和 A)用直线连接起来,形成一个把所有处理都囊括在内的多边形。越靠近 CG 连线的中草药诱导向日葵列当萌发效应越高,越靠近 AG 连线的中草药诱导瓜列当的萌发效应越高。中草药蒸馏水和甲醇浸提液原液(中草药质量浓度 100

mg/L)不能诱导列当萌发,或者列当萌发率很低,数据未引用。

## 2 结果

### 2.1 两种列当对供试药材的萌发响应

供试藏药的甲醇浸提液对向日葵列当的萌发诱导作用最强,平均值为 20.3%;而蒸馏水浸提液对向日葵列当的萌发诱导作用均值仅为 14.0%,说明甲醇浸提液的诱导作用高于蒸馏水浸提液。然而,供试中草药的 2 种浸提液对 2 种列当的诱导作用存在个别奇异值(图 1),即部分中草药甲醇或蒸馏水浸提液对 2 种列当的萌发诱导作用显著高于样本箱图上四分位数 1.5 倍,推测在这几种中草药中可能存在能够诱导瓜列当和向日葵列当种子萌发的高活性化合物。

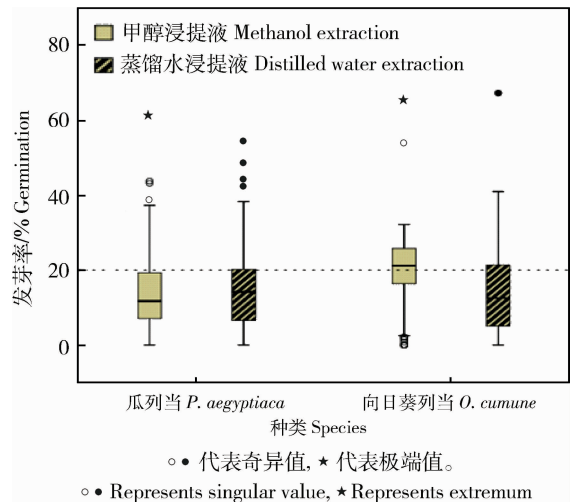


图 1 两种列当对供试药材的总体响应特征

Fig. 1 Germination responses of the two broomrapes to medicinal herbs

### 2.2 不同中草药诱导列当发芽的能力

#### 2.2.1 不同因素对诱导列当种子萌发的影响

中草药浸提液诱导向日葵列当和瓜列当种子的萌发率存在差异(表 2)。此外,不同浸提液类型(甲醇和蒸馏水)、中草药质量浓度对向日葵列当种子萌发的诱导作用存在显著差异,表现为甲醇浸提液诱导向日葵列当萌发率(20.3%)高于蒸馏水诱导效果(14.0%);中草药质量浓度则表现为 10 mg/L 中草

<sup>①</sup> Parker C, Hitchcock A M, Ramaiah K V. The germination of *Striga* species by crop root exudates: techniques for selecting resistant crop cultivars[C]//Proceedings of the Sixth Asian-Pacific Weed Science Society Conference. The Asian-Pacific Weed Science Society: Jakarta, Indonesia, 1977: 67-74

药诱导向日葵列当萌发率(18.5%)高于1 mg/L 中草药诱导的萌发率(15.8%)(表2)。不同中草药种类与浸提液类型以及中草药质量浓度间对于向日葵列当的萌发诱导作用存在显著或极显著的两两交互作用。以上结果说明向日葵列当的发芽受到中草药

种类、浸提液类型和中草药质量浓度3种因素及其两两交互作用的显著影响。瓜列当的萌发虽然不受浸提液类型和中草药质量浓度的直接影响,但这2个试验因素分别与中草药种类的交互作用也可影响瓜列当的萌发。

表2 不同因素对诱导列当种子萌发的影响

Table 2 Effects of different factors on the germination of *O. cumana* and *P. aegyptiaca* seeds

因子 Factor	水平 Level	列当萌发率/% Germinationrate	
		瓜列当 <i>O. cumana</i>	向日葵列当 <i>O. cumana</i>
中草药种类(H) Herbal species	69	15.2	17.2
浸提液类型(E) Extracts type	甲醇	14.9	20.3
	蒸馏水	15.4	14.0
中草药质量浓度/(mg/L)(C) Herbal mass concentration	10	15.5	18.5
	1	14.9	15.8
F 值 F value	H	17.9**	16.9**
	E	1.0	189.9**
	C	1.6	34.8**
	H×E	5.5**	5.3**
	H×C	1.3*	3.8**
	E×C	1.6	11.3*
	H×E×C	1.3*	3.9**

注: \* 代表显著差异( $P < 0.05$ ), \*\* 代表极显著差异( $P < 0.01$ )

Note: \* represents significant difference ( $P < 0.05$ ), \*\* represents extremely significant difference ( $P < 0.01$ ).

### 2.2.2 中草药浸提液诱导瓜列当种子的萌发率

本试验中 GR24(正对照)诱导瓜列当的萌发率为73%, 无菌水(负对照)可造成瓜列当5.4%的萌发率。供试中草药中16种植物样品的甲醇或蒸馏水浸提液诱导瓜列当的发芽率高于20%(表3)。甲醇浸提液诱导瓜列当的萌发率表现为: 10 mg/L 鸡血藤诱导瓜列当萌发率最高(43.7%), 1 mg/L 鸡血藤时诱导的瓜列当萌发率降低(至29.0%); 10 mg/L 甘松诱导的瓜列当萌发率(37.3%)比1 mg/L 甘松诱导的瓜列当萌发率(61.7%)低。蒸馏水浸提液诱导瓜列当的萌发率表现为: 10 mg/L 菥蓂子诱导瓜列当萌发率最高(48.7%), 1 mg/L 菥蓂子诱导的瓜列当萌发率略有降低(43.7%); 10 mg/L 长寿子诱导瓜列当萌

发率为33.3%, 1 mg/L 长寿子诱导的瓜列当萌发率升高(55.0%)。马先蒿、悬钩木、菥蓂子、黄花蒿和当归5种中草药的甲醇和蒸馏水浸提液中, 10 mg/L 中草药诱导瓜列当的萌发率高于1 mg/L 中草药的诱导效果; 反之, 甘松和绿萝花的甲醇和蒸馏水浸提液中, 10 mg/L 中药诱导瓜列当萌发率低于1 mg/L 中药的诱导效果。鸡血藤、甘松和青兰诱导瓜列当的萌发率较高于其余中草药。苞叶雪莲花、雪域玛咖、孜然芹的蒸馏水浸提液诱导瓜列当萌发率高于甲醇浸提液, 长毛风毛菊的甲醇浸提液诱导瓜列当萌发率高于20%, 青兰的甲醇和蒸馏水浸提液诱导瓜列当萌发率高于35%, 西藏彩菊和冰山雪菊浸提液的甲醇或蒸馏水浸提液诱导瓜列当萌发率高于20%。

表3 中草药浸提液诱导瓜列当种子萌发率

Table 3 Germination rates of *P. aegyptiaca* seeds induced by Chinese medicinal herbal extracts

%

中草药名称 Medicinal herbal	中草药质量浓度/(mg/L) Herbal mass concentration	甲醇浸提液 Methanol extract	蒸馏水浸提液 Distilled water extract
鸡血藤	10	43.7 a	28.0 abcd
<i>Kadsura interior</i> A. C. Smith	1	29.0 bc	44.7 abc
青兰	10	38.7 a	37.0 ab
<i>Dracocephalum ruyschiana</i> L.	1	43.3 ab	34.7 abcd
甘松	10	37.3 ab	38.3 ab
<i>Nardostachys chinensis</i> Bat.	1	61.7 a	49.0 ab
长毛风毛菊	10	34.3 ab	6.0 d
<i>Saussurea hieracioides</i> Hook. f.	1	23.7 bcd	16.7 bcd
马先蒿	10	30.3 ab	28.3 abcd
<i>Pedicularis reaupinanta</i> L.	1	23.0 bcd	7.0 d
西藏彩菊	10	28.7 ab	10.3 cd
<i>Dendranthema morifolium</i> (Ramat.) Tzvel.	1	14.0 cd	33.0 abcd
悬钩木	10	25.0 ab	19.7 bcd
<i>Rubus treutleri</i> Hook. f.	1	21.0 cd	14.0 cd
菥蓂子	10	24.7 ab	48.7 a
<i>Thlaspi arvense</i> L.	1	23.3 bcd	43.7 abc
黄花蒿	10	24.7 ab	33.2 abc
<i>Artemisia annua</i> L.	1	17.0 cd	29.7 abcd
长寿子	10	22.7 ab	33.3 abc
<i>Manilkara zapota</i> (L.) van Royen	1	2.7 d	55.0 a
冰山雪菊	10	20.3 ab	34.0 abc
<i>Cavea tanguensis</i> (Drumm.) W. W. Smith et J. Small	1	21.7 cd	19.7 bcd
当归	10	19.3 ab	38.3 ab
<i>Angelica sinensis</i> (Oliv.) Diels	1	4.0 d	22.0 abcd
苞叶雪莲花	10	18.7 ab	31.0 abcd
<i>Saussurea obvallata</i> (DC.) Edgew.	1	18.7 cd	33.7 abcd
雪域玛咖	10	18.7 ab	21.7 bcd
<i>Lepidium meyenii</i> Walp.	1	14.0 cd	25.3 abcd
孜然芹	10	15.7 ab	28.7 abcd
<i>Cuminum cyminum</i> L.	1	16.3 cd	20.0 bcd
绿萝花	10	9.0 b	20.3 bcd
<i>Epipremnum aureum</i> (Linden et Andre) Bunting Ann.	1	26.3 bc	26.7 abcd

注:不同字母表示在5%水平有显著差异(Tukey HSD,  $P < 0.05$ )。表4同。

Note: Different letters indicate significant difference at 5% level (Tukey HSD,  $P < 0.05$ ). The same as table 4.

### 2.2.3 中草药浸提液诱导向日葵列当种子的萌发率

GR24(正对照)诱导向日葵列当的萌发率为73%,无菌水(负对照)不能诱导向日葵列当萌发。供试中草药中21种植物的甲醇或蒸馏水浸提液诱导向日葵列当的萌发率高于20%(表4)。不同中草药诱导向日葵列当种子的萌发率表现为:甲醇浸提液中,10 mg/L的黄花蒿诱导向日葵列当萌发率最高(65.8%),1 mg/L黄花蒿诱导向日葵列当的萌发

率略有降低(53.9%);蒸馏水浸提液中仍以10 mg/L黄花蒿诱导向日葵列当萌发率最高(67.3%),1 mg/L黄花蒿诱导向日葵列当的萌发率降低(37.7%)。黄花蒿诱导向日葵列当萌发率显著高于其他中草药。10 mg/L甘松蒸馏水浸提液诱导向日葵列当萌发率(30.0%)比1 mg/L甘松蒸馏水浸提液诱导向日葵列当萌发率(41.0%)低。10 mg/L黄花蒿、青兰、罗布麻、当归、鸡血藤、雪参、雪灵芝和杜

表4 中草药浸提液诱导向日葵列当种子萌发率

Table 4 Germination rates of *O. cumana* seeds induced by Chinese medicinal herbal extracts

%

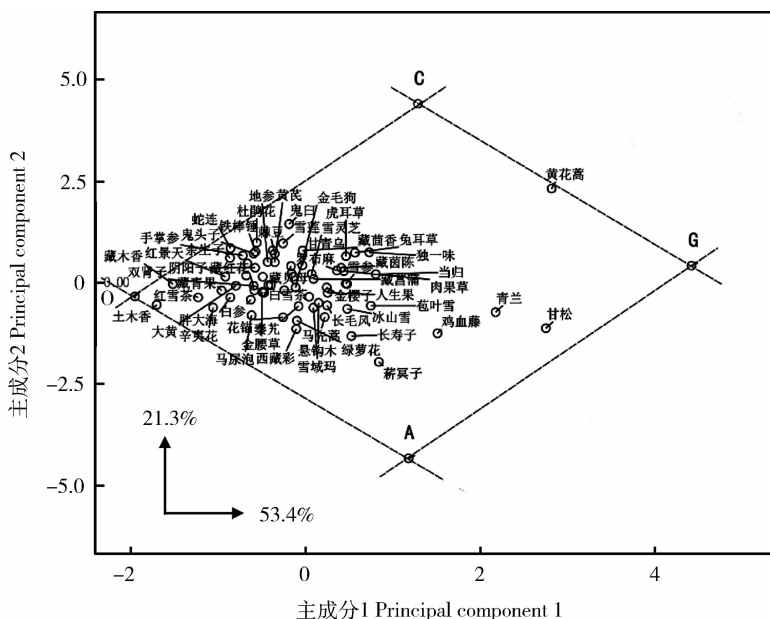
中草药名称 Medicinal herb	中草药质量浓度/(mg/L) Herbal mass concentration	甲醇浸提液 Methanol extract	蒸馏水浸提液 Distilled water extract
黄花蒿 <i>Artemisia annua</i> L.	10 1	65.8 a 53.9 a	67.3 a 37.7 ab
甘松 <i>Nardostachys chinensis</i> Bat.	10 1	32.0 b 29.7 b	30.0 bcd 41.0 a
青兰 <i>Dracocephalum ruyschiana</i> L.	10 1	31.7 bc 23.7 b	37.0 bc 34.0 abc
当归 <i>Angelica sinensis</i> (Oliv.) Diels	10 1	29.0 bcd 22.3 b	31.7 bcd 23.0 abcd
虎耳草 <i>Saxifraga stolonifera</i> Curt.	10 1	27.7 bcd 29.0 b	40.0 b 7.0 d
罗布麻 <i>Apocynum venetum</i> L.	10 1	27.0 bcd 25.3 b	23.3 bcd 15.0 bcd
独一味 <i>Lamiophlomis rotata</i> (Benth.) Kudo	10 1	26.7 bcd 28.3 b	33.7 bcd 27.0 abcd
甘青乌头 <i>Aconitum tanguticum</i> (Maxim.) Stapf	10 1	16.7 d 31.3 b	23.0 bcd 10.3 cd
鸡血藤 <i>Kadsura interior</i> A. C. Smith	10 1	26.3 bcd 25.7 b	20.7 cd 16.3 abcd
雪莲 <i>Saussurea involucreata</i> (Kar. et Kir.) Sch. -Bip.	10 1	26.0 bcd 26.3 b	19.0 cd 16.7 abcd
孜然芹 <i>Cuminum cyminum</i> L.	10 1	25.7 bcd 27.7 b	17.7 d 13.3 bcd
鬼白 <i>Sinopodophyllum hexandrum</i> (Royle) Ying	10 1	25.7 bcd 26.3 b	21.3 bcd 29.7 abcd
藏茵陈 <i>Swertia tetraptera</i> Maxim.	10 1	25.0 bcd 21.0 b	23.3 bcd 24.3 bcd
雪参 <i>Meconopsis racemosa</i> var. <i>racemosa</i>	10 1	24.7 bcd 19.7 b	26.0 bcd 16.0 abcd
雪灵芝 <i>Renaria roborowskii</i> Maxim.	10 1	23.7 bcd 22.7 b	20.7 cd 12.0 cd
肉果草 <i>Lancea tibetica</i> Hook. f. et Thoms.	10 1	21.3 bcd 27.3 b	24.7 bcd 20.3 abcd
藏贝母 <i>Fritillaria cirrhosa</i> D. Don	10 1	20.3 bcd 24.7 b	20.3 cd 13.0 bcd
兔耳草 <i>Calystegia hederacea</i> Wall. ex. Roxb.	10 1	19.3 cd 22.3 b	30.7 bcd 38.0 ab
苞叶雪莲花 <i>Saussurea obvallata</i> (DC.) Edgew.	10 1	18.7 d 27.7 b	27.3 bcd 9.3 cd
藏茴香 <i>Carum carvi</i> Linn. f. <i>gracile</i> (Lindl.) Wolff	10 1	18.7 d 19.3 b	31.7 bcd 23.0 abcd
杜鹃花 <i>Rhododendron simsii</i> Planch	10 1	26.7 bcd 19.3 b	20.3 cd 11.3 cd



鹃花的甲醇和蒸馏水浸提液诱导向日葵列当萌发率分别高于相应 1 mg/L 中草药的甲醇和蒸馏水浸提液诱导向日葵列当的萌发率;反之,1 mg/L 鬼臼和兔耳草的甲醇和蒸馏水浸提液诱导向日葵列当萌发率分别高于 10 mg/L 鬼臼和兔耳草的甲醇和蒸馏水浸提液诱导向日葵列当的萌发率。独一味、藏茵陈和肉果草的甲醇和蒸馏水浸提液诱导向日葵列当的萌发率均高于 20%,雪莲、孜然芹的甲醇浸提液诱导向日葵列当萌发率高于 20%,虎耳草、甘青乌头、藏贝母、苞叶雪莲花、藏茴香的甲醇或蒸馏水浸提液诱导向日葵列当萌发率高于 20%。黄花蒿、甘松、青兰和当归诱导向日葵列当种子的萌发率较高。

### 2.3 供试中草药诱导列当萌发作用的主成分分析

由于不同供试材料诱导 2 种列当的萌发率存在显著差异,为综合评价各个样品对瓜列当和向日葵列当的诱导能力,将不同供试药材浸提液诱导 2 种列当的萌发率进行极差标准化处理后,进行主成分分析(图 2)。从图 2 可以看出大部分供试药材诱导 2 种列当的萌发率低于所有样品诱导萌发率最高值的 1/2,仅个别中草药对列当的萌发表现出较强诱导作用,其中黄花蒿对向日葵列当的诱导作用最强,甘松对瓜列当的诱导作用最强。甘松、青兰、鸡血藤、长寿子和菥蓂子这 5 种中草药对瓜列当的诱导作用高于向日葵列当。



O 代表中草药对 2 种列当的诱导最低效应点,G 代表中草药对 2 种列当的诱导最高效应点,C 代表中草药对向日葵列当的诱导最高效应点,A 代表中草药对瓜列当的诱导最高效应点。

O represents the lowest response point of Chinese medicinal herbs to *O. cumana* and *P. aegyptiaca* seeds,G represents the highest response point of Chinese medicinal herbs to *O. cumana* and *P. aegyptiaca* seeds,C represents the highest response point of Chinese medicinal herbs to *O. cumana*,A represents the highest response point of Chinese medicinal herbs to *P. aegyptiaca* seeds.

图 2 两种列当对 69 种中草药响应的主成分分析

Fig. 2 Principal component analysis on the responses of *O. cumana* and *P. aegyptiaca* seeds to Chinese medicinal herbs

## 3 讨论

本研究以蒸馏水为浸提液能够提取亲水性物质,以甲醇作为浸提液,能提取大量有机物。中草药中分离鉴定出的天然物质种类多,都可以产生几种不同的萌发刺激物质,因为每种萌发刺激物的产生量、产生时期和化合物活性存在差异,这些化合物诱

导列当萌发有协同或抑制作用等原因,导致不同中草药对列当的诱导萌发作用存在差异。

根寄生植物列当的发生可降低作物品质和产量,列当防除难点在于单株列当产生大量种子和列当种子在土壤中能够存活较长时间<sup>[19]</sup>。目前,诱导列当种子“自杀萌发”是降低农田土壤列当种子库最有前景的方法之一<sup>[12-13,20]</sup>。Macías 等<sup>[21]</sup>通过提出

在作物播种之前,以列当萌发刺激物处理土壤,使寄生植物种子萌发后在无寄主存在下死亡。报道<sup>[22-24]</sup>称已开发的人工合成的独脚金类似物 GR24、Nijmegen 1 在低浓度仍可诱导列当种子较高的萌发率,但先决条件是这种化合物可以在土壤中稳定存在。由于独脚金内酯是列当的主要萌发刺激物质,目前关于鉴定自然界中新型独脚金内酯的研究很多<sup>[25-27]</sup>。另外一种是利用诱捕作物根系分泌寄生植物种子萌发刺激物,诱导列当种子自杀萌发。已有研究发现独脚金的非寄主豆科作物间作可以诱导其自杀萌发<sup>[28]</sup>,葫芦巴和豆科植物间作能够降低土壤锯齿列当(*O. crenata*)寄生率<sup>[29]</sup>。中草药中蕴含大量植物次生代谢产物,金付平等<sup>[17]</sup>、马永清等<sup>[18]</sup>在中国常用中草药中筛选出灯心草(*Juncusef fusus* L.)、狗尾草(*Setaria viridis* (L.) Beauv.) 和千里光(*Senecio scandens* Buch. -Ham.) 等能够诱导列当萌发的中草药。

向日葵列当是一种起先寄生于菊科蒿属植物上的非杂草植物,随着向日葵在全世界范围内的推广,逐渐进化寄生在向日葵上,成为一种杂草作物<sup>[30]</sup>。黄花蒿属于菊科蒿属,有研究报道黄花蒿中有 600 多种次级代谢产物<sup>[31]</sup>,作为向日葵列当的寄主,其浸提液诱导向日葵列当萌发率高于其他植物,最高可达 65.0% 以上(表 4),同时诱导瓜列当萌发率也较高。瓜列当寄主范围广,可以寄生在茄科、豆科和十字花科等作物上,甘松甲醇浸提液诱导瓜列当种子的萌发率最高可达 61.7%,蒸馏水浸提液诱导最高可达 49.0%(表 3),甘松浸提液对向日葵列当的诱导作用仅次于黄花蒿(图 2);青兰浸提液对瓜列当和向日葵列当种子的萌发诱导作用仅次于黄花蒿和甘松(图 2),甲醇和蒸馏水浸提液诱导瓜列当的萌发率均高于 30%(表 3),对向日葵列当的诱导作用稍弱,但也高于其余中草药;由此推测黄花蒿、甘松和青兰中可能存在能够诱导列当萌发的高活性化合物。作为列当的非寄主,雪参、鸡血藤和独一味在医学上研究很多,对瓜列当有较高诱导萌发作用,有作为诱捕作物的潜势。同时以上 6 种中草药中萌发诱导物质的研究可以成为其药用价值生产的副产品。

种子萌发诱导物质在寄生植物完成整个生命周期的起始阶段起着重要作用。植物根系合成和分泌的萌发诱导物质以很低的浓度就可以诱导列当发芽,例如 GR24 在  $3 \times 10^{-7}$  mol/L 时仍可诱导向日

葵列当种子萌发, $10^{-9}$  mol/L 仍可诱导 *P. ramosa* 种子萌发<sup>[32-33]</sup>。使列当种子“自杀萌发”,找到新型的萌发刺激物或诱捕作物是问题关键。

本研究以青藏地区中草药为材料研究其对列当种子萌发的作用,选出蒸馏水和甲醇浸提液都可以诱导列当萌发的中草药,有望从这些中草药中分离出与独脚金内酯基础分子结构不同的新型萌发诱导物质,合成其类似物可能会获得更高效的萌发诱导作用,从而有效地通过诱导列当种子“自杀萌发”来减少列当的土壤种子库;筛选出的中草药也可以作为诱捕作物,采用轮作或套种的方式诱导土壤种子库中的列当自杀萌发。

## 参 考 文 献

- [1] Parker C. Observations on the current status of *Orobanche* and *Striga* problems worldwide[J]. *Pest Management Science*, 2009, 65(5): 453-459
- [2] Liu L, Li X. The geographical distribution of sunflower diseases in China[J]. *Plant Pathology*, 1998, 37(4): 470-474
- [3] 任文义,李毅,马洪锡,郭禄彬,郭宇,吴宪涛. 向日葵列当对向日葵主要经济性状的影晌及防治方法研究[J]. 河北农业大学学报, 1992, 15(3): 63-66  
Ren W Y, Li Y, Ma H X, Guo L B, Guo Y, Wu X T. Study on the effect of *Orobanche cumana* Wallr on main economic properties of sunflower and its control[J]. *Journal of Hebei Agricultural University*, 1992, 15(3): 63-66 (in Chinese)
- [4] 段晓兰,吐尔洪,马瑞升,巴艳,克才才. 瓜列当对番茄的危害规律及防治措施[J]. 新疆农业科技, 2005(1): 38-38  
Duan X L, Tu E H, Ma R S, Ba Y, Ke C C. Effect of *Melon Broomrape* occurrence on tomato and its control measures[J]. *Xinjiang Agricultural Science and Technology*, 2005(1): 38-38 (in Chinese)
- [5] Amsellem Z, Barghouthi S, Cohen B, Goldwasser Y, Gressel J, Hornok L, Zonno M C H. Recent advances in the biocontrol of *Orobanche* (broomrape) species[J]. *BioControl*, 2001, 46(2): 211-228
- [6] Bouwmeester H J, Matusova R, Zhongkui S, Beale M H. Secondary metabolite signalling in host-parasitic plant interactions[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2003, 6(4): 358-364
- [7] 余蕊,马永清. 大麻对瓜列当和向日葵列当种子萌发诱导作用研究[J]. 中国农业大学学报, 2014, 19(4): 38-46  
Yu R, Ma Y Q. Melon broomrape (*Phelipanche aegyptiaca* Pers) and sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr) seeds germination induced by hemp (*Cannabis sativa* L) plants [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2014, 19(4): 38-46 (in Chinese)
- [8] Ma Y Q, Lang M, Dong S Q, Zhao J X. Screening of some cotton varieties for allelopathic potential on clover broomrape germination[J]. *Agronomy Journal*, 2012, 104(3): 569-573
- [9] Ma Y Q, Jia N J, Wang Z, Mao J C. Potential of some hybrid

- maize lines to induce germination of sunflower broomrape[J]. *Crop Science*, 2013, 53(1):260-270
- [10] Zhang W, Ma Y Q, Wang Z, Ye X X, Shui J F. Some soybean cultivars have ability to induce germination of sunflower broomrape[J]. *PLoS One*, 2013, 8(3):e59715
- [11] 董淑琦, 马永清, 税军峰, 孙亚军. 不同年代冬小麦品种根际土提取液诱导小列当种子发芽的化感作用研究[J]. 中国农业大学学报, 2009, 14(2):59-63
- Dong S Q, Ma Y Q, Shui J F, Sun Y J. Germination of *Orobanche minor* seeds as induced by rhizosphere soil extracts from winter wheat of different historical periods[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2009, 14(2):59-63 (in Chinese)
- [12] 马永清, 董淑琦, 任祥祥, 安雨, 朗明. 列当杂草及其防控措施展望[J]. 中国生物防治学报, 2012, 28(1):133-138
- Ma Y Q, Dong S Q, Ren X X, An Y, Lang M. Parasitic weed *Orobanche* spp and perspective of its control methods[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2012, 28(1):133-138 (in Chinese)
- [13] Mwakaboko A S, Zwanenburg B. Strigolactone analogs derived from ketones using a working model for germination stimulants as a blueprint[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2011, 52(4):699-715
- [14] Fernández-Aparicio M, Flores F, Rubiales D. Recognition of root exudates by seeds of broomrape (*Orobanche* and *Phelipanche*) species[J]. *Annals of Botany*, 2009, 103(3):423-431
- [15] Zwanenburg B, Nayak S K, Charnikhova T V, Bouwmeester H J. New strigolactone mimics; Structure-activity relationship and mode of action as germinating stimulants for parasitic weeds [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2013, 23(18):5182-5186
- [16] Zwanenburg B, Pospíšil T. Structure and activity of strigolactones; New plant hormones with a rich future[J]. *Molecular Plant*, 2013, 6(1):38-62
- [17] 金付平, 华国辉, 马永清, 王德胜, 袁翠萍. 中草药浸提液对小列当种子发芽的影响[J]. 西北植物学报, 2008, 28(4):777-783
- Jin F P, Hua G H, Ma Y Q, Wang D S, Yuan C P. Effect of traditional Chinese medicinal herb extracts on *Orobanche minor* seed germination [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2008, 28(4):777-783 (in Chinese)
- [18] 马永清, 张维, 董淑琦, 任祥祥, 安雨, 朗明. 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
- Ma Y Q, Zhang W, Dong S Q, Ren X X, An Y, Lang M. Induction of seed germination in *Orobanche* spp by distilled water and methanol extracts of traditional Chinese medicinal herbs[J]. *Science China Series C-Life Sciences*, 2012, 55(3):250-260 (in Chinese)
- [19] Linke K H, Saxena M C. Study on viability and longevity of *Orobanche* seed under laboratory conditions [C]. In: *Proc International Workshop in Orobanche Research*. Tübingen; Eberhard-Karls-Universität, 1991:110-114
- [20] Kgosi R L, Zwanenburg B, Mwakaboko A S, Murdoch A J. Strigolactone analogues induce suicidal seed germination of *Striga* spp in soil[J]. *Weed Research*, 2012, 52(3):197-203
- [21] Macías F A, García-Díaz M D, Pérez-de-Luque A, Rubiales D, Galindo J C. New chemical clues for broomrape-sunflower host-parasite interactions; Synthesis of Guaiane strigolactones[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(13):5853-5864
- [22] Nefkens G H L, Thuring J W J F, Beenackers M F M, Zwanenburg B. Synthesis of a phthaloylglycine-derived strigol analogue and its germination stimulatory activity toward seeds of the parasitic weeds *Striga hermonthica* and *Orobanche crenata* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, 45(6):2273-2277
- [23] Wigchert S C M, Kuiper E, Boelhouwer G J, Nefkens G H L, Verkleij J A C, Zwanenburg B. Dose-response of seeds of the parasitic weeds *Striga* and *Orobanche* toward the synthetic germination stimulants GR24 and Nijmegen 1[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47(4):1705-1710
- [24] Zwanenburg B, Mwakaboko A S, Reizelman A, Anilkumar G, Sethumadhavan D. Structure and function of natural and synthetic signalling molecules in parasitic weed germination [J]. *Pest Management Science*, 2009, 65(5):478-491
- [25] Lachia M, Wolf H C, Jung P J M, Screpanti C, De Mesmaeker A. Strigolactam: New potent strigolactone analogues for the germination of *Orobanche Cumana* [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2015, 25(10):2184-2188
- [26] Tokunaga T, Hayashi H, Akiyama K. Medicaol, a strigolactone identified as a putative didehydro-orobanchol isomer, from *Medicago truncatula* [J]. *Phytochemistry*, 2015, 111:91-97
- [27] Xie X, Yoneyama K, Kusumoto D, Yamada Y, Yokota T, Takeuchi Y, Yoneyama K. Isolation and identification of alectrol as (+)-orobanchyl acetate a germination stimulant for root parasitic plants[J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(2):427-431
- [28] Parker C, Riches C R. *Orobanche* species: *The broomrapes* [M]//Parasitic Weeds of the World: Biology and Control. Wallingford; CAB international, 1993:111-164
- [29] Fernández-Aparicio M, Emeran A A, Rubiales D. Control of *Orobanche crenata* in legumes intercropped with fenugreek (*Trigonella Foenum-graecum*) [J]. *Crop Protection*, 2008, 27(3):653-659
- [30] Pujadas-Salvà A J, Velasco L. Comparative studies on *Orobanche Cernua* L and *O Cumana* Wallr (Orobanchaceae) in the Iberian Peninsula [J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2000, 134(4):513-527
- [31] Brown G D. The biosynthesis of artemisinin (Qinghaosu) and the phytochemistry of *Artemisia Annuum* L (Qinghao) [J]. *Molecules*, 2010, 15(11):7603-7698
- [32] Lopez-Raez J A, Charnikhova T, Mulder P, Kohlen W, Bino R, Levin I, Bouwmeester H. Susceptibility of the tomato mutant high pigment-2dg (hp-2dg) to *Orobanche* spp infection[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(15):6326-6332
- [33] Matusova R, Rani K, Verstappen F W A, Franssen, M C, Beale M H, Bouwmeester H J. The strigolactone germination stimulants of the plant-parasitic *Striga* and *Orobanche* spp. are derived from the carotenoid pathway[J]. *Plant Physiology*, 2005, 139(2):920-934