

引用格式: 吴东洋, 陈灿, 陈桂信, 等. 3个树种叶片提取液对木麻黄种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 西北植物学报, 2025, 45(1): 0000-0000. [WU D Y, CHEN C, CHEN G X, et al. Effects of leaf extract from three trees on seed germination and seedling growth of *Casuarina equisetifolia*[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2025, 45(1): 0000-0000.] DOI:10.7606/j.issn.1000-4025.20240496

## 3个树种叶片提取液对木麻黄种子萌发和幼苗生长的影响

吴东洋<sup>1,2</sup>, 陈 灿<sup>2,3</sup>, 陈桂信<sup>4</sup>, 何 叶<sup>5</sup>, 陈增焰<sup>1,2</sup>, 林 晗<sup>1,2</sup>

(1 福建农林大学 林学院, 福州 350002; 2 福建省南方森林资源与环境工程技术研究中心, 福州 350002; 3 福建农林大学 菌草与生态学院, 福州 350002; 4 福建农林大学 园艺学院, 福州 350002; 5 江西省南昌野生动植物保护中心, 南昌 330000)

**摘要** 【目的】探讨木麻黄防护林环境 DNA(eDNA)对木麻黄种子萌发和幼苗生长的影响,为林下天然林更新提供理论依据。【方法】从木麻黄、台湾相思和湿地松新鲜叶片获得不同浓度浸提液(0.01, 0.1, 0.5 g/mL)和 DNA 提取液(20, 200, 2 000  $\mu\text{g/mL}$ ),以及经 Dnase I 处理的 2 000  $\mu\text{g/mL}$  DNA 降解液,观察温室培养皿中 3 类溶液处理木麻黄种子萌发和幼苗生长情况。【结果】(1)自体叶片 0.1 g/mL 浸提液对木麻黄种子萌发产生抑制,并随浓度增加而加剧;0.5 g/mL 可能为他感物质限制木麻黄种子萌发的阈值,具有低促高抑效应。(2)高浓度的自体叶片 DNA 溶液显著抑制木麻黄种子萌发与幼苗生长,2 000  $\mu\text{g/mL}$  可能为木麻黄种子和幼苗生长的自毒作用阈值。(3)非自体叶片 DNA 溶液对木麻黄种子萌发无显著影响,其叶片浸提液和 DNA 溶液对木麻黄幼苗根系的伤害均显著高于茎和叶。【结论】自体叶片浸提液和高浓度 DNA 溶液均对木麻黄种子萌发和幼苗生长产生显著抑制,化感自毒物质和自体 eDNA 可能是阻碍木麻黄林天然更新的重要因素。

**关键词** 自毒作用;木麻黄;种子萌发;环境 DNA;提取液

中图分类号 S718.43 文献标志码 A

## Effects of leaf extract from three trees on seed germination and seedling growth of *Casuarina equisetifolia*

WU Dongyang<sup>1,2</sup>, CHEN Can<sup>2,3</sup>, CHEN Guixin<sup>4</sup>, HE Ye<sup>5</sup>, CHEN Zengyan<sup>1,2</sup>, LIN Han<sup>1,2</sup>

(1 Forestry College, Fujian Agriculture and Forestry University [FAFU], Fuzhou 350002, China; 2 Fujian Provincial Research Center of Southern Forest Resources and Environmental Engineering, Fuzhou 350002, China; 3 College of Juncao Science and Ecology, FAFU, Fuzhou 350002, China; 4 College of Horticulture, FAFU, Fuzhou 350002, China; 5 Nanchang Wildlife Conservation Center, Nanchang 330000, China)

**Abstract** [Objective] The study is to investigate whether the environmental DNA (eDNA) of *Casuarina equisetifolia* shelter forests inhibits seed germination and seedling growth of *C. equisetifolia*, thereby providing a theoretical basis for natural forest regeneration in the understory. [Methods] We extracted DNA from the fresh leaves of three plants: *C. equisetifolia*, *Acacia formosana*, and *Pinus elliottii*. We

收稿日期: 2024-09-06; 修改稿收到日期: 2024-10-23

基金项目: 福建省林业局科技项目(2024); 福建农林大学优秀研究生学位论文资助基金项目(1122YS01010); 福建农林大学科技创新专项基金项目(2024)

作者简介: 吴东洋(2000-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事城市林业及管理研究。E-mail: 2016104734@qq.com

通信作者: 陈 灿, 男, 副教授, 主要从事海岸带森林与环境研究。E-mail: canchen@fafu.edu.cn

prepared leaf extractions of 0.01, 0.1, and 0.5 g/mL, as well as DNA extractions of 20, 200, and 2 000  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. Additionally, we used DNA solutions from the three types of fresh leaves at a concentration of 2 000  $\mu\text{g/mL}$ , to which an equal volume of DNase I was added for degradation. Seed germination and seedling growth of *C. equisetifolia* seeds treated with three types of solutions were observed in greenhouse. [Results] (1) The 0.1 g/mL extract from *C. equisetifolia* leaves inhibited seed germination, and the inhibitory effect was increased with the increase in concentration. The 0.5 g/mL concentration was identified as the threshold for allelopathic substances that limit seed germination, demonstrating a promotion effect at low concentrations and an inhibitory effect at high concentrations. (2) High concentrations of self-derived eDNA inhibited both seed germination and seedling growth of *C. equisetifolia*. A concentration of 2 000  $\mu\text{g/mL}$  of the leaf DNA solution was the threshold for eDNA autotoxicity on seed germination and seedling growth. (3) Non-self eDNA had no significant effect on seed germination of *C. equisetifolia*. Both allelopathic autotoxic substances and self-derived eDNA caused greater damage to roots than to stems and leaves. [Conclusion] The seed germination and seedling growth of *C. equisetifolia* are inhibited by autotoxicity and elevated levels of endogenous DNA, resulting in the inhibition of natural regeneration of *C. equisetifolia* forests.

**Key words** autotoxicity; *Casuarina equisetifolia*; seed germination; environmental DNA (eDNA); extract

木麻黄(*Casuarina equisetifolia*)是中国东南沿海海岸线主要防护树种之一,因其优良的生态适应性,被广泛栽植于山东半岛以南到广西一线的沿海地区,尤其在贫瘠沙地和盐碱土壤中表现出良好的耐旱性和抗风性,常与台湾相思和湿地松混栽于沿海基干林带,在保护海岸生态环境方面发挥重要作用<sup>[1-2]</sup>。然而,近年来由于造林区域地理环境的独特性和恶劣性,海防林建设面临着林木天然更新困难、伴生树种稀缺以及林下植被缺乏等突出问题,严重影响了沿海防护林生态功能和可持续发展<sup>[3]</sup>。在诸多影响木麻黄天然更新因素中,植物自毒作用是影响木麻黄天然更新的关键生物因素之一<sup>[4]</sup>。自毒作用是化感作用的特定表现形式,指植物通过雨水淋溶、根系分泌和残枝分解等途径释放化学物质,对同种个体产生直接或间接的毒害效应<sup>[5]</sup>。研究表明,环境 DNA(eDNA)是驱动植物自毒作用和植物-土壤负反馈机制的重要因素<sup>[6]</sup>,可通过影响土壤微生物群落结构和功能减少同种植物的根系生长和种子发芽,从而对植物的种群更新产生物种特异性抑制作用<sup>[7]</sup>,导致植物无益代谢产物积累,阻碍林分更新。植物体内产生的次生代谢产物种类繁多,且这些化学物质在自毒作用中的作用机制各异,其中叶片浸提液中常含有酚类、萜类化合物等较强活性的自毒物质,多数研究已证实植物自身凋落物浸提液均会显著抑制植物种子萌发及根茎伸长<sup>[8-10]</sup>。相关研究还表明,不同植物提取液对种子萌发影响不同,

马永林等<sup>[11]</sup>发现新疆杨(*Populus alba*)浸提液对火炬树(*Rhus typhina*)种子萌发抑制作用最显著,且对根生长呈低促高抑效果;阮坤非等<sup>[12]</sup>发现桔梗(*Platycodon grandiflorus*)种子随浸提液浓度增加抑制效果加强,但黄芩(*Scutellaria baicalensis*)和甘草(*Glycyrrhiza uralensis*)浸提液则表现出低促高抑的浓度效应。

自体 eDNA 是影响木麻黄种子萌发和幼苗生长甚至是沿海防护林天然更新的关键因子。木麻黄林下凋落叶常堆积成较厚的凋落物层,由于不易分解,且凋落物层常保持着一定的湿度,极有可能保留着高浓度的化感自毒物质和 eDNA。同时,木麻黄种子小而轻,易散落至较厚的凋落物层上,并长期处于该环境中,可能导致萌发受到抑制。目前,众多研究主要集中于树种凋落物及土壤浸提液<sup>[9-13]</sup>等化感效应方面,对于沿海防护林树种间的化感效应尚不明确。因此,本研究通过木麻黄叶片浸提液处理结合 eDNA 分析,研究其种子在不同自毒物质浓度和 eDNA 环境下的发芽率、幼苗生长情况及根系发育状况,确定木麻黄防护林 eDNA 是否对木麻黄的种子萌发和幼苗生长产生抑制作用,为木麻黄天然更新及管理提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

于 2023 年 4 月在福建省惠安赤湖国有防护林

场(24.58°N,118.92°E)采集试验所需短枝木麻黄植株上的成熟果实,晾晒后选取颗粒饱满的种子于7月进行萌发实验,木麻黄千粒重为(0.87±0.12)g,采用TTC法<sup>[14]</sup>测定木麻黄的种子活力在85%以上。所需木麻黄、台湾相思(*Acacia formosana*)以及湿地松(*Pinus elliotii*)的新鲜叶片均来自福建省惠安赤湖国有防护林场苗圃,其中采叶样品木麻黄与萌发实验品种相同,均为短枝木麻黄。

## 1.2 浸提液制备

### 1.2.1 叶片浸提液制备

将供体植物木麻黄、台湾相思和湿地松新鲜叶片剪碎,根据前人相关研究及浸提液可能影响,分别称取10,100,500g植物叶片置1000mL无菌水中浸泡48h,经120目纱布过滤后分别得到0.01,0.1,0.5g/mL3个浓度<sup>[15-16]</sup>木麻黄叶片浸提液(M1、M2、M3),台湾相思叶片浸提液(T1、T2、T3),湿地松叶片浸提液(S1、S2、S3)。

### 1.2.2 叶片DNA溶液制备

采用SDS法分别大量粗提3个供体植物叶片DNA<sup>[17-18]</sup>,通过微量分光光度计检测DNA溶液中DNA含量,将其稀释后分别得到20,200,2000μg/mL3个浓度<sup>[19]</sup>木麻黄叶片DNA溶液(M4、M5、M6),台湾相思叶片DNA溶液(T4、T5、T6),湿地松叶片DNA溶液(S4、S5、S6)。自然环境中,植物组织会因生物降解、机械作用或其他因素而自然破碎,本试验通过超声破碎,可以模拟这种自然过程获得更加碎片化的DNA。因此,使用超声波细胞破碎机将获得的DNA溶液进行片段化分割,以获得100~1000bp的DNA片段,并在2%的琼脂糖凝胶上进行超声波段大小验证<sup>[19]</sup>。

### 1.2.3 叶片DNA降解溶液制备

根据各树种叶片DNA溶液琼脂糖凝胶电泳结果,向提取制备浓度为2000μg/mL的木麻黄、台湾相思和湿地松叶片DNA溶液中加入与DNA含量等量的Dnase I降解DNA<sup>[20]</sup>,分别得到木麻黄、台湾相思和湿地松叶片DNA降解液,分别表示为M7、T7和S7。

## 1.3 试验设计

研究采用培养皿滤纸法进行种子发芽率测定<sup>[21,12]</sup>。将种子用1%KMnO<sub>4</sub>溶液浸泡20min消毒,用无菌水反复冲洗后用45℃无菌水浸种24h。将处理后的种子置于直径为9cm并铺有双层

滤纸的培养皿当中,每皿均匀放50粒种子。用等量上述制备的各树种不同浓度的叶片浸提液、叶片DNA溶液和叶片DNA降解溶液浸润滤纸,采用称重法每隔2d补充相应溶液,以加入无菌水作为共同对照,共计22个处理,每个处理重复3次,然后将培养皿放入人工气候箱(RTOP-500Y)中进行种子萌发实验,设置恒温为25℃,湿度为75%,光照强度为2000μmol/(m<sup>2</sup>·s),昼夜各12h,后续每天定量补充培养皿中对应的溶液。

## 1.4 试验方法

以胚根露出种皮超过种子长度作为种子萌发的标准<sup>[23]</sup>。连续3d无种子萌发结束实验,待种子发芽恒定后统计发芽总数,计算第3天发芽势、第7天发芽率、第18天发芽指数以及活力指数。第18天每个处理选取10棵幼苗测量株高、根长及根、茎、叶鲜重。根据观测数据计算种子发芽率(发芽种子数/供试种子数×100%)、发芽势(种子萌发高峰期种子数/供试种子数×100%)、发芽指数( $\sum G_t/D_t$ ,  $G_t$ 为在第 $t$ 天的发芽数, $D_t$ 为发芽天数)、活力指数(鲜重×发芽指数)及根冠比(地下鲜重/地上鲜重)<sup>[21-22]</sup>。

## 1.5 数据处理

用Excel 2016整理数据,并用平均值±标准误表示,统计分析采用SPSS 26.0软件在单因素方差(One-way ANOVA)基础上进行LSD显著差异性检验( $P<0.05$ ),用Origin 2022软件绘图,Photoshop 2024处理图片。

## 2 结果与分析

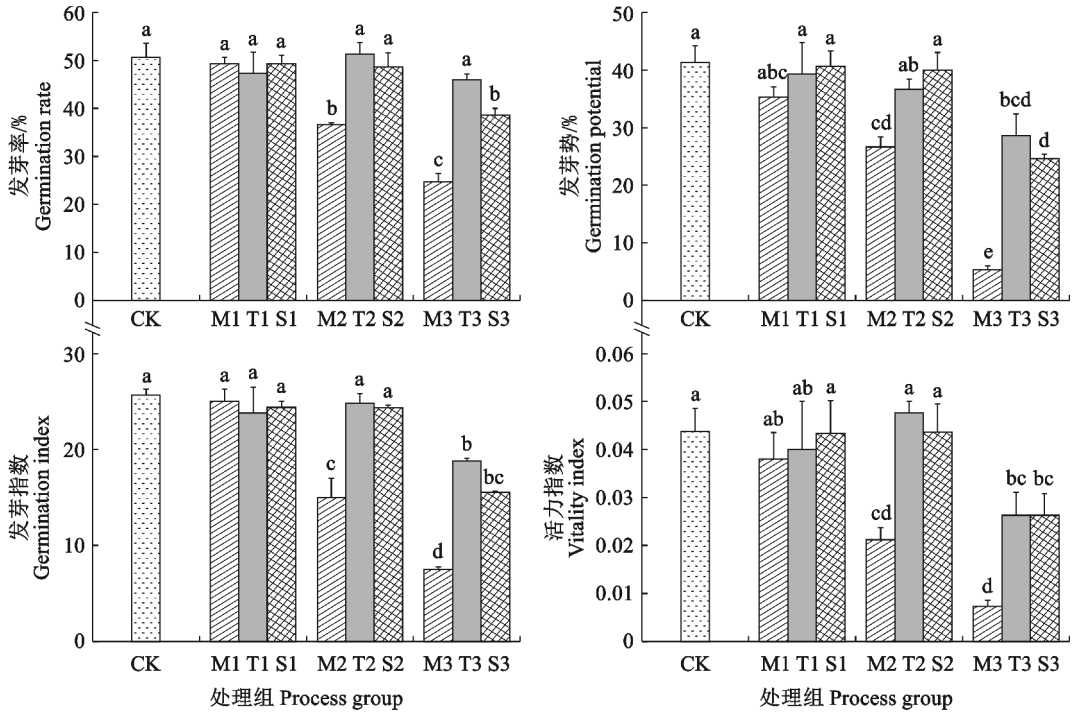
### 2.1 各树种叶片水浸提液对木麻黄种子萌发及幼苗生长的影响

#### 2.1.1 木麻黄种子萌发

不同树种和浓度的叶片浸提液对木麻黄种子萌发具有显著抑制作用(图1)。其中,在各树种叶片低浓度浸提液(M1、T1、S1)处理下,木麻黄各项种子萌发指标均与CK无显著差异( $P>0.05$ )。在中浓度浸提液(M2、T2、S2)处理下,仅M2处理木麻黄种子发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数均显著低于CK,降幅分别为27%、35%、41%、52%,其余处理各项指标均与CK无显著差异。在高浓度浸提液(M3、T3、S3)处理下,木麻黄各项种子萌发指标均不同程度低于CK,除T3处理发芽率外降幅均达

到显著水平,且均表现为 M3 处理显著低于 S3、T3 处理,S3 处理又低于 T3 处理但多无显著差异,M3 处理种子发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数分别

比相应 CK 显著降低。可见,整体上 3 种叶片浸提液对木麻黄种子萌发的抑制作用表现为木麻黄强于伴生植物台湾相思、湿地松,且浓度越高抑制作用越强。



CK 为无菌水对照,M1-M3、T1-T3 和 S1-S3 分别为 0.01,0.1,0.5 g/mL 木麻黄(M)、台湾相思(T)和湿地松(S)叶片浸提液。

不同小写字母表示各树种叶片浸提液浓度处理间在 0.05 水平差异显著( $P < 0.05$ )。下同。

图 1 不同树种叶片浸提液对木麻黄种子萌发的影响

CK is the sterile water (control), M1-M3, T1-T3, and S1-S3 represent the extract solutions from the leaves of *C. equisetifolia*, *A. confusa*, *P. elliottii* at concentrations of 0.01, 0.1, and 0.5 g/mL, respectively.

Different normal letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) between treatments with leaf extract solutions at varying concentrations for different trees. The same as below.

Fig. 1 Effects of leaf extracts from different trees on seed germination of *C. equisetifolia*

## 2.1.2 木麻黄幼苗生长

木麻黄幼苗株高、根长及生物量随叶片浸提液种类和浓度的变化表现出显著差异(图 2)。在各树种低浓度叶片浸提液处理下,木麻黄幼苗生长指标除 M1 处理株高显著低于 CK 20%外,其他指标在处理与 CK 之间及各处理之间均无显著差异;在中浓度叶片浸提液处理下,木麻黄幼苗生长指标除 M2 处理株高、根长分别显著低于相应 CK 和 T2、S2 处理外,其他指标在处理与 CK 之间及处理之间均无显著差异;在高浓度叶片浸提液处理下,各处理木麻黄幼苗茎重以及 T3、S3 处理株高、叶重仍与 CK 无显著差异,其余生长指标在各处理下均显著降低,其中 M3 处理株高、根长、叶重、根重和根冠比分别比 CK 显著降低 45%、76%、41%、90%和 86%。以上结果说明木麻黄叶片浸提液对自身幼苗的生长抑

制作用明显强于台湾相思、湿地松,且浓度越高抑制作用越强,并以株高、根长表现得更突出。

## 2.2 不同树种叶片 DNA 溶液对木麻黄种子萌发及幼苗生长的影响

各树种叶片不同浓度(2 000,200,20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )的 DNA 溶液在琼脂糖凝胶电泳中的条带清晰度不同(图 3)。木麻黄(B、C、D)、台湾相思(E、F、G)和湿地松(H、I、J)的 DNA 条带分布在 100~1 000 bp 范围内,其中 2 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  高浓度(木麻黄的 B、台湾相思的 E、湿地松的 H)样品显示出较大、清晰的 DNA 条带,这表明高浓度 DNA 在电泳中移动缓慢,片段较大。结合后续的种子发芽和幼苗生长实验,高浓度的自体 eDNA(2 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )对木麻黄的种子萌发和幼苗生长表现出显著的抑制作用,这进一步验证了自体 eDNA 可能通过阻碍根系生长影响整株幼苗发育。

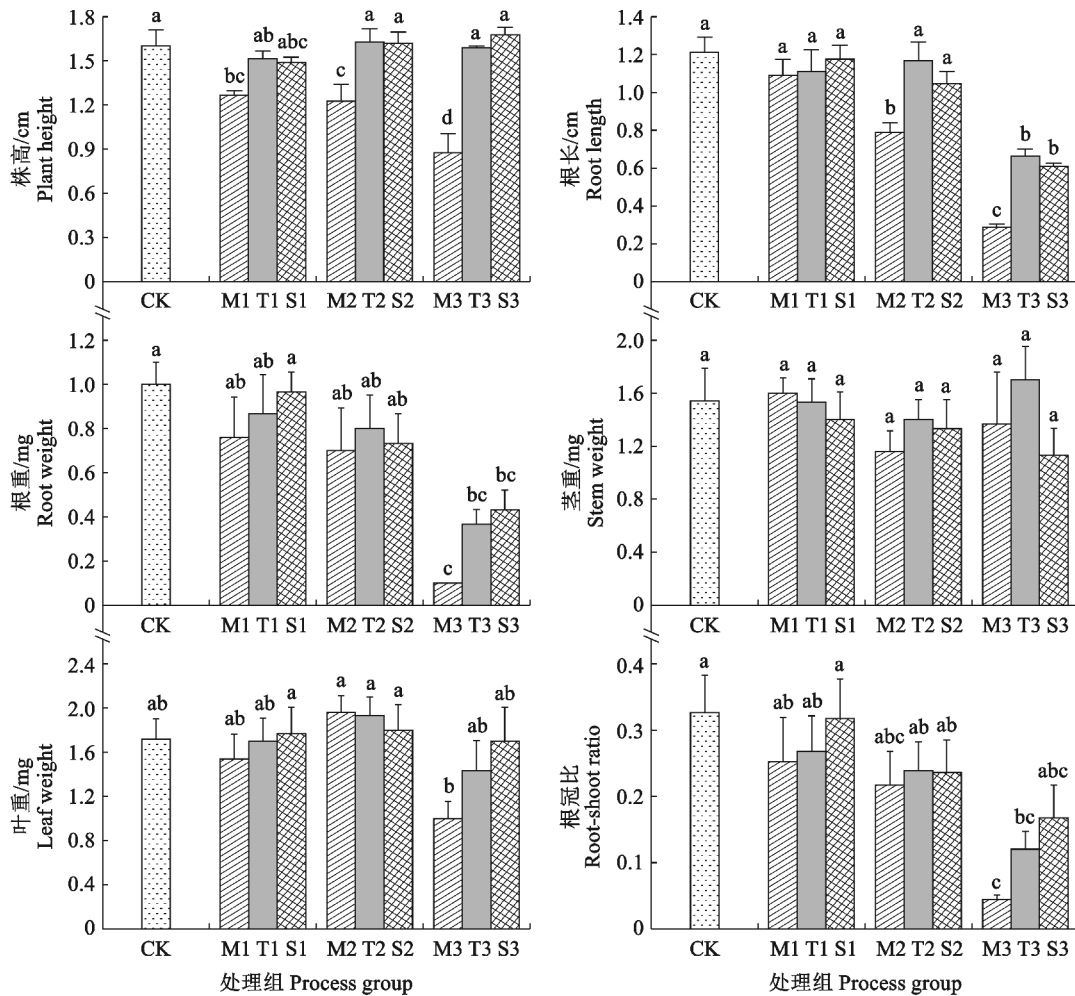
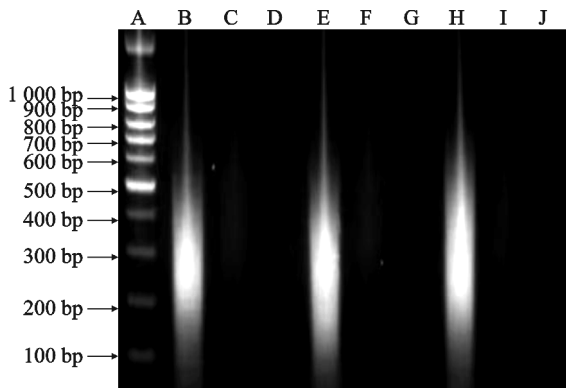


图 2 不同树种叶片水浸提液对木麻黄幼苗生长指标的影响

Fig. 2 Effects of leaf water extracts from different trees on growth indexes of *C. equisetifolia* seedlings



A 为 100~1 500 bp DNA 条带;B-D、E-G、H-J 分别为木麻黄、台湾相思、湿地松叶片 2 000, 200, 20 µg/mL DNA 溶液条带。

图 3 不同树种叶片各浓度 DNA 溶液琼脂糖凝胶电泳图

A represents the 100-1 500 bp DNA bands. B-D, E-G, and H-J represent the DNA solution bands from the leaves of *C. equisetifolia*, *A. confusa*, and *P. elliotii* at concentrations of 2 000, 200, and 20 µg/mL, respectively.

Fig. 3 Agarose gel electrophoresis of different concentration of DNA solutions from the leaves of three trees

### 2.2.1 木麻黄种子萌发

不同树种和浓度的叶片 DNA 溶液对木麻黄种子萌发特性的影响具有显著差异(图 4)。在各树种低浓度(M4、T4、S4)叶片 DNA 溶液处理下,木麻黄种子萌发指标均与 CK 无显著差异,且除 M4 发芽率显著低于 T4 外,各指标在 M4、T4、S4 间也无显著差异;在中浓度(M5、T5、S5)叶片 DNA 溶液处理下,除 M5 处理的发芽势及 T5 处理的活力指数显著低于 CK 及其他处理外,木麻黄种子各萌发指标在处理之间、处理与 CK 之间均无显著差异,其中 M5 处理发芽势比 CK 显著降低 20%;在高浓度(M6、T6、S6)叶片 DNA 溶液处理下,M6 处理木麻黄种子发芽率、发芽势、萌发指数和活力指数均显著低于 CK 及 T6、S6 处理,分别比 CK 显著降低 69%、88%、76% 和 83%,T6、S6 处理发芽势和 T6 处理发芽指数也显著低于 CK,但 T6 与 S6 处理间多无显著差异。以上结果说明中高浓度木麻黄和高

浓度台湾相思、湿地松叶片 DNA 溶液会显著抑制木麻黄种子萌发,且高浓度下木麻黄的抑制作用显著强于台湾相思和湿地松。

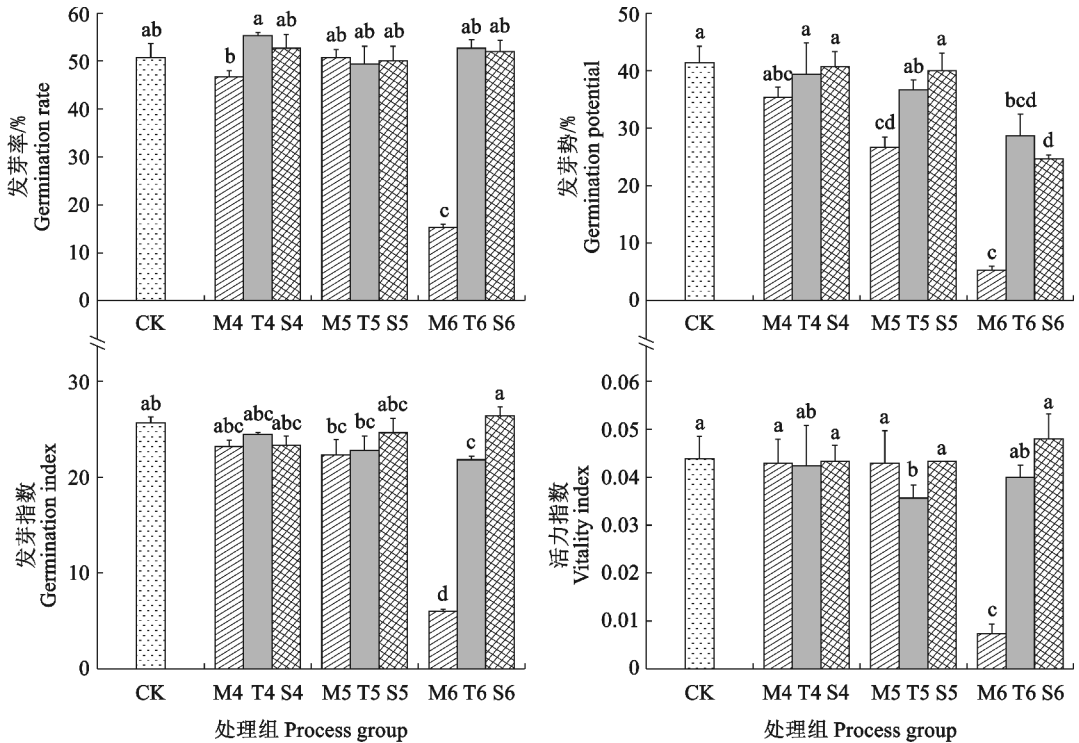
### 2.2.2 木麻黄幼苗生长

各树种不同浓度叶片 DNA 溶液处理木麻黄幼苗株高、根长及生物量表现出显著差异(图 5)。在各树种低浓度(M4、T4、S4)叶片 DNA 溶液处理下,木麻黄生长指标均与 CK 无显著差异,且 M4、T4、S4 处理间均无显著差异。在中浓度(M5、T5、S5)叶片 DNA 溶液处理下,各指标仍均与 CK 处理无显著差异,但 M5 处理根长显著低于 S5 处理,比 S5 显著降低 22%;在高浓度(M6、T6、S6)叶片 DNA 溶液处理下,M6 处理株高、根长、根重、茎重、叶重、根冠比均显著低于 CK 处理,降幅分别为 78%、76%、86%、33%、28%、82%;处理间相比较,M6 处理株高、根长、根重、根冠比均显著低于 T6、S6 处理,而

M6 处理茎重、叶重仅显著低于 S6 处理,降幅分别为 33%、28%。以上结果说明高浓度木麻黄叶片 DNA 溶液显著抑制木麻黄幼苗生长,台湾相思和湿地松叶片 DNA 溶液均未表现出显著抑制作用。

### 2.3 不同树种叶片 DNA 降解溶液对木麻黄种子萌发及幼苗生长的影响

各树种叶片 DNA 降解溶液 M7、T7、S7 处理下各项种子萌发和幼苗生长指标整体波动范围较小(表 1)。其中,M7、T7、S7 处理的根冠比均不同程度低于 CK,但仅 S7 处理比 CK 显著降低 27%,且低于 M7、T7 处理均达 12%,而 M7、T7 处理均与 CK 无显著差异,它们的其他各项种子萌发和幼苗生长指标均与 CK 无显著差异。以上结果说明自体 eDNA 降解后对木麻黄种子萌发及幼苗生长抑制效果基本消失,非自体 eDNA 降解后抑制效果降低且无显著影响。



CK 为无菌水对照, M4-M6、T4-T6、S4-S6 分别为 20, 200, 2 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  木麻黄(M)、台湾相思(T)、湿地松(S)叶片 DNA 溶液。下同。

图 4 不同树种叶片 DNA 溶液对木麻黄种子萌发的影响

CK is the sterile water (control), M4-M6, T4-T6, S4-S6 represent the DNA solutions from the leaves of *C. equisetifolia* (M), *A. confusa* (T), *P. elliottii* (S) at concentrations of 20, 200, and 2 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively. The same as below.

Fig. 4 Effects of different leaf DNA solutions on seed germination of *C. equisetifolia*

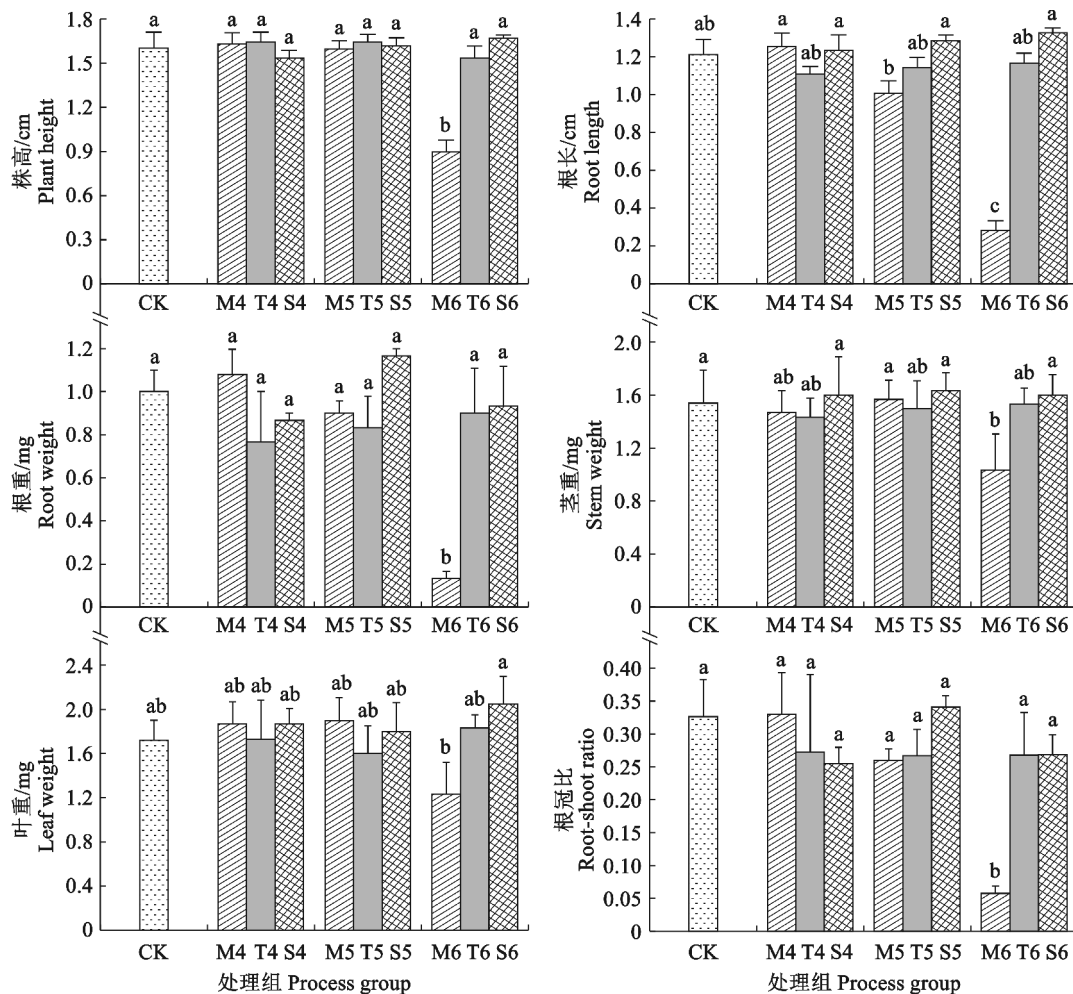


图5 不同树种叶片DNA溶液对木麻黄幼苗生长指标的影响

Fig. 5 Effects of leaf DNA solutions from different trees on growth indexes of *C. equisetifolia* seedlings

表1 不同叶片DNA降解溶液对木麻黄种子萌发及幼苗生长的影响

Table 1 Effects of the degraded leaf DNA solutions from different trees on the seed germination and seedling growth of *C. equisetifolia*

处理 Treatment	发芽率/% Germination rate	发芽势/% Germination potential	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index	株高/cm Plant height
CK	50.67±2.91a	41.33±2.91a	25.65±0.63a	0.044±0.005a	1.60±0.11a
M7	53.33±1.76a	40.67±3.71a	23.28±0.40a	0.043±0.001a	1.58±0.02a
T7	51.33±0.67a	42.00±4.62a	23.38±0.27a	0.042±0.006a	1.59±0.05a
S7	52.67±3.71a	39.33±1.76a	24.58±1.54a	0.046±0.005a	1.70±0.03a
处理 Treatment	根长/cm Root length	根重/mg Root weight	茎重/mg Stem weight	叶重/mg Leaf weight	根冠比 Root-shoot ratio
CK	1.21±0.08a	1.00±0.10a	1.54±0.25a	1.72±0.18a	0.33±0.06a
M7	1.22±0.05a	0.97±0.12a	1.43±0.12a	1.87±0.09a	0.29±0.04ab
T7	1.16±0.07a	0.93±0.20a	1.47±0.35a	1.80±0.26a	0.29±0.08ab
S7	1.19±0.10a	0.87±0.19a	1.57±0.35a	1.90±0.32a	0.24±0.04b

注:同列不同小写字母表示处理间在0.05水平存在显著差异( $P < 0.05$ )。M7、T7、S7分别为木麻黄、台湾相思、湿地松叶片DNA降解溶液。

Note: Different lowercase letters within same column indicate significant differences between treatments at 0.05 level ( $P < 0.05$ ). M7, T7, and S7 stand for DNA degradation solutions from the leaves of *C. equisetifolia*, *A. confusa*, and *P. elliotii*, respectively.

## 3 讨论

### 3.1 不同树种叶片提取液对木麻黄种子萌发及幼苗生长的影响

种子萌发及幼苗生长是植物整个生命周期中至关重要的阶段,直接影响植物形态建成,并且是对外界逆境最为敏感的关键时期<sup>[24]</sup>。植物自体毒素存在于各组织器官(包括根、茎、叶),其中叶片是自毒物质最稳定的来源,具有很强的自毒作用<sup>[25]</sup>。相关研究表明,叶片浸提液的化感物质通过作用于植物的不同生长发育阶段而对植物产生影响,最终导致植物种群被抑制<sup>[26-28]</sup>。

研究中发现,叶片浸提液中化感物质对木麻黄种子和幼苗生长的抑制表现为低促高抑,且自根向茎叶扩散。0.1 g/mL的木麻黄叶片浸提液会对木麻黄种子萌发与幼苗生长产生抑制,当浓度增加至0.5 g/mL时抑制作用愈加显著。这可能与植物体内以黄酮衍生物为主的自毒化感物质大量积累有关,造成自身毒性物质抑制了芽的生长,其抑制作用强于种子萌发<sup>[29]</sup>,植物体内的自身毒性物质随着浓度增加而不断加强,迫使植物对其吸收,进而减少养分吸收,阻碍有机质快速积累,细胞功能性损伤,改变膜的通透性,导致离子平衡紊乱<sup>[30-31]</sup>。其次,本研究中0.5 g/mL台湾相思和湿地松的叶片浸提液处理使木麻黄种子萌发与幼苗生长各项指标均较CK显著下降,也表现出明显抑制作用,推断0.5 g/mL台湾相思和湿地松叶片浸提液浓度可能为木麻黄种子萌发阈值。此外,本研究表明,各树种叶片浸提液对木麻黄种子萌发及幼苗生长表现出“低促高抑”效果,该结果与多数植物化感研究的“质量浓度效应”结果<sup>[32-33]</sup>一致,这可能因为低浓度浸提液化感物质激活了植物的抗氧化防御机制,促使种子及植物内部各器官加速运转代谢,通过提高种子发芽率和生长速度等措施来应对外界逆境<sup>[34]</sup>;高浓度浸提液中的酚类、碱类、类黄酮等<sup>[29]</sup>多种复杂的化感物质含量超过种子自身调节阈值,干扰植物内部抗氧化系统、渗透调节及内源激素平衡和各器官之间养分转运、细胞膜受损导致细胞内稳态遭到破坏,影响到细胞的分裂和伸长,进而自身毒性刺激质膜诱导植物产生破坏细胞膜的代谢产物,从而对种子萌发及幼苗生长造成负面影响<sup>[35-36]</sup>。本研究中的木麻黄幼苗根系生长受到的抑制作用显著高于茎和叶,这一现象可能由于根系是植物最先获取感知的组织,提取液中的化感物质接触到根部,迅速抑制分

生组织细胞分裂,该研究结果与陈国豪等<sup>[37]</sup>的研究结果一致。

### 3.2 不同树种叶片 DNA 提取液对木麻黄种子萌发及幼苗生长的影响

本研究表明,自体 eDNA 提取液能影响木麻黄种子萌发和幼苗生长,非自体 eDNA 提取液则无显著影响。据报道,200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  自体 eDNA 溶液明显抑制紫花苜蓿幼苗生长<sup>[19]</sup>,本研究中木麻黄种子发芽势与幼苗根长在该浓度下也表现出抑制效果,这与 Mazzoleni 等发现纯化的自身 DNA 对植物生长具浓度依赖性的物种特异性毒性作用的研究结果<sup>[19]</sup>一致。可能由于细胞外片段化的自身 DNA 充当信号分子,触发对同种植物的抑制作用<sup>[38]</sup>;相关研究还表明细胞外 DNA 通过减少同种植物根生长和种子萌发而不影响异种根,会抑制植物产生物种特异性<sup>[39]</sup>。同时,自体叶片 eDNA 提取液能影响木麻黄种子萌发和幼苗生长存在浓度峰值。2 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  自体 eDNA 溶液让木麻黄种子萌发及幼苗生长各项指标均呈大幅度降低。该浓度下的片段化自体 eDNA 可能会导致质膜离子产生变化,改变跨膜电位,最终影响其生长发育及抗逆能力<sup>[37-38]</sup>。另外,本研究中自体叶片 eDNA 提取液处理木麻黄幼苗根生物量及根长相较于株高、茎叶生物量下降幅度显著,这进一步表明根系是感应自体 eDNA 作用的主要靶位点,诱导膜去极化,导致细胞通透性降低,最终导致细胞损伤生长停滞<sup>[40]</sup>。另外,自体 eDNA 被人为降解后对木麻黄种子萌发和幼苗生长的影响会消失。本研究中添加 DNA 降解酶的试验结果表明,非自体 eDNA 降解溶液对木麻黄种子萌发和幼苗生长无显著影响,而自体 eDNA 的抑制作用在添加 DNA 降解酶后出现消除现象,这可能是降解酶切割 eDNA 主链中的磷酸二酯键这一关键结构部分,将其降解为短链片段,导致 eDNA 的完整性破坏<sup>[41-42]</sup>,这些短链片段失去了在细胞内外传递遗传信息或产生生物效应的能力,因此原本对木麻黄种子和幼苗的抑制作用消失,进一步表明自体 eDNA 是导致木麻黄种子与幼苗自毒效应的关键因素。

## 4 结论

台湾相思和湿地松叶片浸提液对木麻黄种子萌发表现为低促高抑效应,0.5 g/mL 台湾相思和湿地松叶片浸提液可能是抑制木麻黄种子萌发的阈值;木麻黄叶片浸提液对木麻黄种子萌发和幼苗生



长具有浓度依赖效应,当浸提液浓度达到 0.1 g/mL 时便产生自毒作用,升至 0.5 g/mL 时自毒物质大量积累,显著甚至完全抑制种子萌发与幼苗生长,尤其是根系生长受到的抑制尤为明显。木麻黄种子萌发在非自体 eDNA 处理下没有受到显著影响,而在

自体 eDNA 处理下发生显著的自毒作用,并呈现出浓度依赖效应,且根系是 eDNA 主要作用的靶点。此外,添加 DNA 降解酶能够消除自体 eDNA 的抑制作用,进一步证实了自体 eDNA 是木麻黄种子萌发和幼苗生长发生自毒效应的驱动因素。

## 参考文献:

- [1] 高伟,叶功富,岳新建,等. 福建海岸沙地 5 种防护林土壤微生物群落特征[J]. 水土保持研究, 2024, 31(3): 204-212.  
GAO W, YE G F, YUE X J, et al. Soil microbial communities in different protection forest types in coastal sand dunes of Fujian Province[J]. *Research of Soil and Water Conservation*, 2024, 31(3): 204-212.
- [2] 何晨阳,陈珑,王耘籽,等. 低磷胁迫下内生真菌对台湾相思叶绿素荧光特性的影响[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2022, 61(5): 872-879.  
HE C Y, CHEN L, WANG Y Z, et al. Effects of endophytic fungi on chlorophyll fluorescence characteristics of *Acacia confusa* under low phosphorus stress[J]. *Journal of Xiamen University (Natural Science)*, 2022, 61(5): 872-879.
- [3] 杨彬,王玉,郝清玉. 海南岛木麻黄林下植物天然更新影响因素的研究[J]. 广西植物, 2020, 40(3): 422-432.  
YANG B, WANG Y, HAO Q Y. Impact factors of undergrowth natural regeneration for *Casuarina equisetifolia* forests in Hainan Island[J]. *Guihaia*, 2020, 40(3): 422-432.
- [4] 张世博. 闽楠凋落物浸提液对其种子萌发和幼苗生长及生理的影响[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2023.
- [5] 张雅倩,黄蕊,左林芝,等. 海南岛不同林龄木麻黄凋落物内外细菌多样性及其化感潜力[J]. 应用生态学报, 2020, 31(7): 2185-2194.  
ZHANG Y Q, HUANG R, ZUO L Z, et al. Diversity of bacteria and allelopathic potential of their metabolites in differently aged *Casuarina equisetifolia* litter[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31(7): 2185-2194.
- [6] RONCHI A. Exploration of plant early response mechanisms to self-DNA exposure [D]. Trieste: University of Trieste, 2023.
- [7] SINGH A A, RAJESWARI G, NIRMAL L A, et al. Synthesis and extraction routes of allelochemicals from plants and microbes: A review[J]. *Reviews in Analytical Chemistry*, 2021, 40(1): 293-311.
- [8] 张世博,李铁华,郭淑芸,等. 闽楠凋落物浸提液对其种子萌发和幼苗生长及生理指标的影响[J]. 植物科学学报, 2024, 42(1): 114-124.  
ZHANG Y B, LI T H, GUO S Y, et al. Effects of litter extract of *Phoebe bournei* (Hemsl.) Yang on seed germination, seedling growth, and physiological indices[J]. *Plant Science Journal*, 2024, 42(1): 114-124.
- [9] 王丽红,赵东平,陈贵林. 青海云杉凋落物对种子萌发和幼苗生长的自毒作用[J]. 分子植物育种, 2017, 15(10): 4275-4281.  
WANG L H, ZHAO D P, CHEN G L. Autotoxicity of litters from *Picea crassifolia* on its seed germination and seedling growth[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2017, 15(10): 4275-4281.
- [10] 管国伟,廖周瑜,陈鹏,等. 云南松凋落叶浸提液对其种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 种子, 2020, 39(3): 20-23.  
GUAN G W, LIAO Z Y, CHEN P, et al. Effects of leaf litters extracts from of *Pinus yunnanensis* on seed germination and seedling growth[J]. *Seed*, 2020, 39(3): 20-23.
- [11] 马永林,武利玉,张钰嫣,等. 兰州主要阔叶造林树种凋落物对火炬树种子萌发的影响[J]. 草原与草坪, 2022, 42(3): 91-99.  
MA Y L, WU L Y, ZHANG Y Y, et al. Effects of litter of main afforestation tree species on seed germination of *Rhus typhina* in Lanzhou[J]. *Grassland and Turf*, 2022, 42(3): 91-99.
- [12] 阮坤非,王天琪,毕宁宁,等. 元宝枫凋落物浸提液对 3 种中草药化感作用的研究[J]. 草业学报, 2024, 33(7): 151-159.  
RUAN K F, WANG T Q, BI N N, et al. Allelopathic effects of aqueous extracts of fallen leaves of *Acer truncatum* on three medicinal plants[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2024, 33(7): 151-159.
- [13] 于森,王丹,张建逢,等. 日本落叶松根际土壤水浸提液对林下山参的化感作用[J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(8): 29-34.  
YU M, WANG D, ZHANG J K, et al. Allelopathic effect of *Larix kaempferi* (Lamb.) Carr. soil water extract on ginseng cultivated under forest[J]. *Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 26(8): 29-34.
- [14] 项小燕,吴甘霖,段仁燕,等. 大别山五针松种子活力的测定[J]. 生物学杂志, 2017, 34(3): 57-58.  
XIANG X Y, WU G L, DUAN R Y, et al. Measurement of the seed viability of *Pinus dabeshanensis*[J]. *Journal of Biology*, 2017, 34(3): 57-58.
- [15] 王秀青,王进鑫,马戎,等. 紫穗槐叶片浸提液对长柄扁桃种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 应用生态学报, 2021, 32(1): 57-65.  
WANG X Q, WANG J X, MA X, et al. Effects of leaf extracts of *Amorpha fruticosa* on seed germination and seedling growth of *Amygdalus pedunculata*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2021, 32(1): 57-65.
- [16] 王明祖,陈冀,韩瑞宏. 桉树叶水浸提液对 2 种植物种子萌发特性的影响[J]. 种子, 2012, 31(7): 32-34.  
WANG M Z, CHEN J, HAN R H. The allelopathy effects of *Eucalyptus* on seed germination characteristics of two kinds of plant[J]. *Seed*, 2012, 31(7): 32-34.
- [17] 赵姝华,王富德,张世章,等. 提取、纯化植物 DNA 方法的

- 比较[J]. 国外农学-杂粮作物, 1998, 18(2): 36-39.
- ZHAO S H, WANG F D, ZHANG S P, *et al.* Comparison of methods for extracting and purifying plant DNA[J]. *Horticulture & Seed*, 1998, 18(2): 36-39.
- [18] 单志, 吴宏亮, 李成磊, 等. 改良 SDS 法提取多种植物基因组 DNA 研究[J]. 广东农业科学, 2011, 38(8): 113-115.
- SHAN Z, WU H L, LI C L, *et al.* Improved SDS method for general plant genomic DNA extraction[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2011, 38(8): 113-115.
- [19] MAZZOLENI S, BONANOMI G, INCERTI G, *et al.* Inhibitory and toxic effects of extracellular self-DNA in litter: A mechanism for negative plant-soil feedbacks? [J]. *New Phytologist*, 2015, 205(3): 1195-1210.
- [20] 谢素霞, 王力军, 袁红雨, 等. 基因组探针非试剂盒标记系统中 DNase I 用量优化[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版), 2006, 19(3): 294-296.
- XIE S X, WANG L J, YUAN H Y, *et al.* Optimizing DNase I dosage in non-kit labeling system of genomic probe [J]. *Journal of Xinyang Normal University (Natural Science Edition)*, 2006, 19(3): 294-296.
- [21] 袁锋, 罗倩, 夏心慧, 等. 盐磷胁迫对木麻黄和台湾相思种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 广西植物, 2023, 43(4): 587-595.
- YUAN F, LUO Q, XIA X H, *et al.* Effects of salt and phosphorus stress on seed germination and seedling growth of *Casuarina equisetifolia* and *Acacia confusa* [J]. *Guihaia*, 2023, 43(4): 587-595.
- [22] 邹雨函, 朱涛, 王雪宏, 等. 贮存时间对盐地碱蓬种子萌发及生长特征的影响[J]. 生态学杂志, 2023, 42(10): 2345-2350.
- ZOU Y H, ZHU T, WANG X H, *et al.* Effects of storage time on seed germination and growth characteristics of *Suaeda salsa* [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2023, 42(10): 2345-2350.
- [23] 王玉, 杨彬, 郝清玉. 木麻黄种子萌发的限制生态因子[J]. 广西植物, 2020, 40(3): 403-411.
- WANG Y, YANG B, HAO Q Y. Limiting ecological factors for seed germination of *Casuarina equisetifolia* [J]. *Guihaia*, 2020, 40(3): 403-411.
- [24] RAJJOU L, DUVAL M, GALLARDO K, *et al.* Seed germination and vigor [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2012, 63: 507-533.
- [25] SU P, LIU X L, WANG R L, *et al.* Autotoxicity of *Ambrosia artemisiifolia* and *Ambrosia trifida* and its significance for the regulation of intraspecific populations density [J]. *Scientific Reports*, 2022, 12(1): 17424.
- [26] HESLOP-HARRISON G, NAKABAYASHI K, ESPINOSA-RUIZ A, *et al.* Functional mechanism study of the allelochemical myrigalone A identifies a group of ultrapotent inhibitors of ethylene biosynthesis in plants [J]. *Plant Communications*, 2024, 5(6): 100846.
- [27] XU L X, YAO L, AI X R, *et al.* Litter autotoxicity limits natural regeneration of *Metasequoia glyptostroboides* [J]. *New Forests*, 2023, 54(5): 897-919.
- [28] BONANOMI G, ZOTTI M, IDBELLA M, *et al.* Field evidence for litter and self-DNA inhibitory effects on *Alnus glutinosa* roots [J]. *New Phytologist*, 2022, 236(2): 399-412.
- [29] XU L, YAO L, ZHOU D, *et al.* Allelopathy of aqueous extract from *Metasequoia glyptostroboides* litter on its seed germination and growth [J]. *CABI Digital Library*, 2022, 42(11): 1949-1958.
- [30] 陶苒. 香豆素、咖啡酸对紫花苜蓿及轮作作物幼根形态和结构的影响及其生理变化[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2019.
- [31] ZHANG Z J, LIU Y J, YUAN L, *et al.* Effect of allelopathy on plant performance: A meta-analysis [J]. *Ecology Letters*, 2021, 24(2): 348-362.
- [32] CEN Z X, ZHENG Y R, GUO Y T, *et al.* Nitrogen fertilization in a faba bean-wheat intercropping system can alleviate the autotoxic effects in faba bean [J]. *Plants*, 2023, 12(6): 1232.
- [33] YANG H, SU J L, QI J. Autotoxicity effect of water extracts from rhizosphere soil of *Elymus sibiricus* in different planting years on seed germination, physiological characteristics and phytohormones of seedlings [J]. *PeerJ*, 2022, 10: e13768.
- [34] CRAINE J M, DYBZINSKI R. Mechanisms of plant competition for nutrients, water and light [J]. *Functional Ecology*, 2013, 27(4): 833-840.
- [35] XU L X, YAO L, AI X R, *et al.* Litter autotoxicity limits natural regeneration of *Metasequoia glyptostroboides* [J]. *New Forests*, 2023, 54(5): 897-919.
- [36] ZHANG Z Z, ZHANG Z D, HAN X Y, *et al.* Specific response mechanism to autotoxicity in melon (*Cucumis melo* L.) root revealed by physiological analyses combined with transcriptome profiling [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 200: 110779.
- [37] 陈国豪, 杨光, 刘琪琪, 等. 杂草水提液对3种1年生牧草种子萌发特性和幼苗生长的化感效应[J]. 草业科学, 2024, 41(7): 1690-1701.
- CHEN G H, YANG G, LIU Q Q, *et al.* Allelopathic effects of water extract from three species of annual forage on seed germination and seedling growth [J]. *Pratacultural Science*, 2024, 41(7): 1690-1701.
- [38] CEN Z X, ZHENG Y R, GUO Y T, *et al.* Nitrogen fertilization in a faba bean-wheat intercropping system can alleviate the autotoxic effects in faba bean [J]. *Plants*, 2023, 12(6): 1232.
- [39] DURAN-FLORES D, HEIL M. Extracellular self-DNA as a damage-associated molecular pattern (DAMP) that triggers self-specific immunity induction in plants [J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2018, 72: 78-88.
- [40] CHIUSANO M L, INCERTI G, COLANTUONO C, *et al.* *Arabidopsis thaliana* response to extracellular DNA: Self versus nonself exposure [J]. *Plants*, 2021, 10(8): 1744.
- [41] CEJKA P, SYMINGTON L S. DNA end resection: Mechanism and control [J]. *Annual Review of Genetics*, 2021, 55: 285-307.
- [42] ŠOLN K, KLEMENČIČ M, KOCE J D. Plant cell responses to allelopathy: From oxidative stress to programmed cell death [J]. *Protoplasma*, 2022, 259(5): 1111-1124.