

N-苯基-2-萘胺和邻苯二甲酸对生菜抗氧化系统及矿质养分吸收的影响

郭伟¹, 孙海燕^{2*}, 王炎³

黑龙江八一农垦大学¹农学院/寒地作物种质改良与栽培重点实验室, ²测试中心, 黑龙江大庆163319; ³哈尔滨工业大学基础与交叉科学研究院, 哈尔滨150001

摘要: 为明确辣椒(*Capsicum annuum* L.)根系分泌的潜在化感物质对生菜幼苗抗氧化特性及矿质养分吸收的影响, 分别采用5、10、15、20和25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的N-苯基-2-萘胺(P2NA)和邻苯二甲酸(PA)与Hoagland营养液混合胁迫处理生菜幼苗, 测定抗氧化酶活性、渗透调节物质浓度和矿质养分含量, 以期丰富辣椒根系分泌物化感机制研究。结果表明: 与营养液对照比较, P2NA、PA, 以及两者的混合处理在0~15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内, 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性增强, 谷胱甘肽(GSH)和游离脯氨酸(Fpro)含量增加, 活性氧自由基(ROS)和丙二醛(MDA)含量降低; 处理浓度达到20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 以上, ROS含量增加, 抗氧化酶系活性和GSH含量显著降低, 膜脂过氧化程度提高; 潜在化感物质作用下, 生菜幼苗的抗坏血酸氧化酶(AAO)活性降低, 氮、磷、钾大量元素积累量均不同程度降低, 钙和镁含量随着处理浓度增加先升后降, 峰值处理浓度分别为10和15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的P2NA和PA处理最适于生菜幼苗抗逆能力的提高, 浓度>15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 则因ROS积累, 尤其是过氧化氢(H_2O_2)积累, 造成膜脂过氧化程度加强, 细胞渗透调节能力和矿质营养吸收能力降低, 且P2NA的潜在化感作用强于PA, 可能两者具有一定的互作效应。

关键词: 辣椒; 根系分泌物; 化感作用; 生菜; 抗氧化; 植物营养

1937年德国科学家Molish首次提出了化感作用一词以来, 国外学者在这一领域的研究日益活跃, 我国自二十世纪九十年代开始植物化感作用研究(彭少麟和邵华2001)。植物分泌的化感物质一般认为是次生代谢产物, 包括酚类(Herro和Callaway 2003)、酯类(别聪聪等2012)、酸类(耿广东等2008)等物质。这些化感物质除自毒作用外(Yu和Matsui 1997), 还会干扰矿质营养吸收和高级代谢过程, 从而影响其他作物的正常生长和发育(Lyu和Blum 1990; Batish等2007; 耿小娟等2009)。落叶松根系分泌物的研究表明, 增加土壤碳氮代谢酶系活性促进植物营养物质吸收, 是化感作用的重要途径(Yang等2010); 沙芥的水浸提取液通过降低抗氧化系列酶系活性而抑制白菜生长(鲍红春等2015); 辣椒分泌的疑似化感物质邻苯二甲酸二异丁酯和邻苯二甲酸二丁酯降低生菜叶片谷胱甘肽含量, 而抗氧化系列酶系的活性则随着化感物质浓度而先增后降(孙海燕和王炎2012)。N-苯基-2-萘胺(N-phenyl-2-naphthylamine, P2NA)和邻苯二甲酸(phthalic acid, PA)是辣椒根系分泌的两种潜在化感物质(Sun和Wang 2013)。P2NA是一种应用广泛的抗氧化制剂, 特别是应用于橡胶工业, 其代谢产物2-萘胺为一种致癌物质(Weiss等2013)。藻类细胞对P2NA极为敏感, 当浓度>0.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, ϕP_0 、 RC/CS_0 、 PI_{ABS} 等叶绿素荧光诱导动力学参

数均显著降低, 过氧化氢酶、过氧化物酶等抗氧化酶活性增强, 减少P2NA损伤(Weiss等2013)。青菜叶片的抗坏血酸氧化酶(ascorbic acid oxidase, AAO)随着P2NA处理浓度的增加而降低, 当浓度<2.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)活性先增后降, 浓度>0.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 青菜的株高和生物量均显著降低(薛延丰等2013)。PA是另一种被证实的化感物质, 其浓度超过0.1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时莴苣的过氧化物酶(peroxidase, POD)活性降低, 过氧化氢酶(catalase, CAT)和钙泵(Ca^{2+} -ATPase)活性先升后降, 丙二醛(malonaldehyde, MDA)含量逐渐增加, 细胞膜受损(耿广东等2008)。本研究以化感作用模式植物生菜为受体(Sun和Wang 2013), 研究了辣椒分泌的潜在化感物质P2NA和PA对生菜的抗氧化酶系统及矿质营养吸收的影响, 对其化感机制进行探讨, 以期为蔬菜生产中生防制剂的开发、应用, 及轮作倒茬的设计提供参考。

材料与方法

1 试验材料与设计

将取自黑龙江省农科院大庆分院的生菜(*Lactuca*

收稿 2016-09-20 修定 2016-11-11

资助 国家自然科学基金(31470489)。

* 通讯作者(E-mail: shysun7908@126.com)。

sativa var. *ramosa*)种子,用10%的双氧水溶液漂洗30 min,再用蒸馏水反复冲洗5次,然后将种子均匀放在铺有两层滤纸的发芽盒中,在培养箱中30°C培养15 d,选取整齐一致的幼苗转移到自制的循环水培系统中,处理间幼苗数量和溶液体积一致,每天18 h光照、6 h黑暗条件下1/2Hoagland营养液培养20 d,营养液pH 6.5、电导率 $0.5 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$,每10 d更换一次培养液。

将培养20 d后的生菜幼苗,分别用溶有不同剂量P2NA、PA,以及两者混合(P2NA:PA=3:2,辣椒根系分泌物中实际测定比例约为3:2,代号PNP)的Hoagland营养液胁迫培养7 d, P2NA、PA和PNP的处理浓度为0、5、10、15、20和25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,3次重复。

2 测定项目与方法

2.1 测定项目

胁迫7 d后,用镊子和剪刀取生菜幼苗叶片鲜样,用千分之一电子天平称量后用液氮速冻, -80°C条件下保存;剩余叶片在100°C条件下烘箱杀青30 min,然后80°C条件下烘干至恒重,带有干燥剂的抽真空容器保存。

2.2 测定方法

在室温21~23°C条件下,采用郭伟和王庆祥(2011)的方法测定超氧阴离子自由基(reactive oxygen species, ROS)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)、游离脯氨酸(free proline, Fpro)含量,以及过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性。高俊凤(2006)方法测定抗坏血酸氧化酶(AAO)活性。

称取烘干粉碎的叶片试样(0.500 ± 0.002) g,置于消煮管中,先加入2 mL蒸馏水润湿,再加入5 mL硫酸,摇匀,将样品消化成清亮的蓝绿色溶液时,再继续消煮10 min,冷却后将消煮液全部转移至50 mL容量瓶中,蒸馏水定容。用凯氏定氮仪测定全氮的含量;钒钼黄比色方法测定全磷的含量。

称取烘干粉碎的叶片试样(0.500 ± 0.002) g,放入坩埚中,放在电炉上预灰化至样品为灰白色,将坩埚放入550°C高温炉中灼烧8 h,冷却至室温后用5 mL $3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸润洗灰分并转移至50 mL容量瓶中,然后用 $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸定容至刻度,用原子吸收分光光度计测定钾、钙、镁的含量。

3 数据处理与统计分析

所有的数据采用Excel 2007进行方差分析处理,结果以三次测量的算术平均值表示, Duncan's进行显著性差异检验($P<0.05$);图表采用Excel 2007绘制。

实验结果

1 潜在化感物质对生菜幼苗抗氧化系统的影响

逆境生长的植物器官中ROS和MDA含量会显著提高,潜在化感物质P2NA、PA和PNP处理下,生菜叶片的ROS和MDA含量随着浓度的增加先降低再升高(图1和图2);含量最低的为 $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 处理;浓度超过 $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 生菜叶片中ROS含量显著增加;MDA含量最高的为 $25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 处理;但P2NA、PA和PNP处理间的ROS和MDA含量差异不显著。

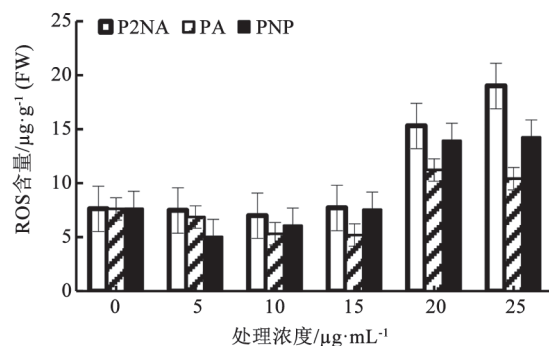


图1 潜在化感物质对生菜叶片活性氧自由基含量的影响
Fig.1 Effects of potential allelochemicals on superoxide anion content in lettuce leaves

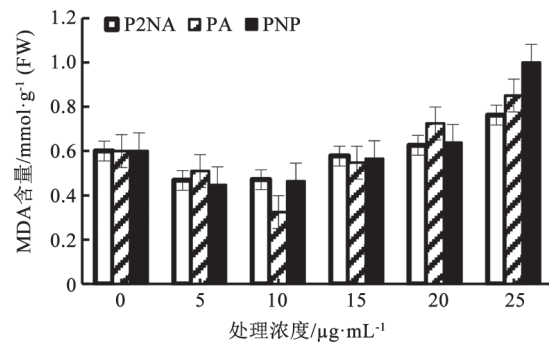


图2 潜在化感物质对生菜叶片丙二醛含量的影响
Fig.2 Effects of potential allelochemicals on malondialdehyde content in lettuce leaves

25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 潜在化感物质作用下, P2NA处理ROS含量增加的幅度>100%; PA处理>35%, PNP处理>80% (图1); 而P2NA、PA处理的MDA含量增加的幅度>20%, PNP处理>60% (图2)。可见, P2NA处理对ROS积累的效应大于PA处理, 而P2NA和PA的混合处理导致更高的MDA含量。

ROS积累将诱导其清除酶系活性的增强, 由图3可知, 随着潜在化感物质P2NA、PA处理浓度的增加, 生菜叶片SOD活性先增加后降低, 峰值浓度处理为10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 其中, PA处理的SOD活性均高于P2NA的相应处理, 且高于CK; 而PNP处理的SOD活性没有改变。结合ROS含量变化可知, 0~15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的P2NA和PA处理下生菜叶片的SOD活性较高, 缓解了ROS对细胞膜的氧化危害, 而处理浓度超过20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 则严重降低了SOD对ROS的清除能力。

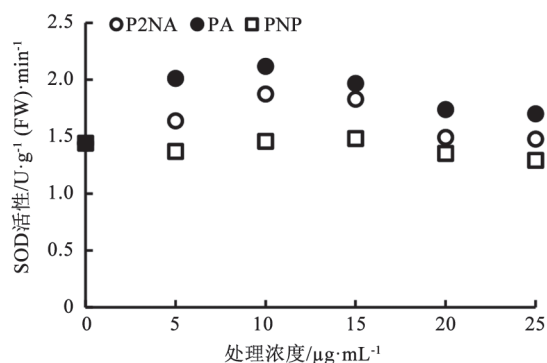


图3 潜在化感物质对生菜叶片超氧化物歧化酶活性的影响
Fig.3 Effects of potential allelochemicals on superoxide dismutase activity in lettuce leaves

植物体内适量的过氧化氢将诱导一系列防御机制以保护植物细胞免受氧化胁迫, 而过量的过氧化氢则导致细胞膜过氧化损伤。潜在化感物质作用下(图4), 生菜叶片CAT活性随处理浓度增加先增加后降低, 峰值处理浓度为10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 与潜在化感物质处理下的SOD活性变化规律相似; 但与SOD不同, 各潜在化感物质处理的CAT活性表现为PNP>P2NA>PA; 且当处理的浓度>20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, CAT活性明显低于对照。

作为酶促防御系统的关键酶, POD的活性随着潜在化感物质浓度的增加先增高(图5), 在20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 处理降低后再度升高; 其活性的峰值浓度为

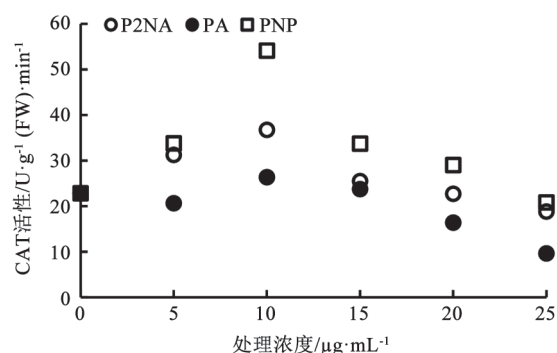


图4 潜在化感物质对生菜叶片过氧化氢酶活性的影响
Fig.4 Effects of potential allelochemicals on catalase activity in lettuce leaves

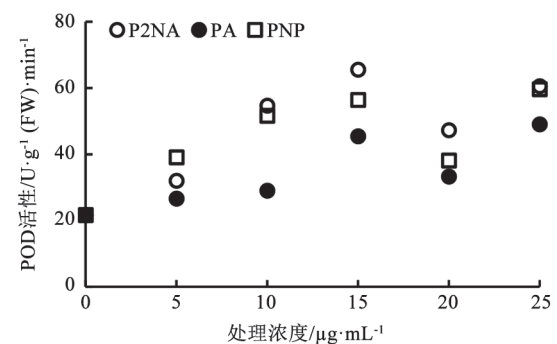


图5 潜在化感物质对生菜叶片过氧化物酶活性的影响
Fig.5 Effects of potential allelochemicals on peroxidase activity in lettuce leaves

15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 处理; P2NA处理的POD活性最高, PA处理的POD活性最低, PNP处理介于两者之间; P2NA、PA和PNP各浓度处理的POD活性均高于对照。

由图6可知, 潜在化感物质作用下, AAO受到抑制, 随着处理浓度的增加AAO活性降低, 处理浓度>15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 降低幅度加大; 各处理间AAO活性表现为PNP>P2NA>PA。

GSH既参与植物叶片的衰老机制, 也是细胞的重要渗透调节物质。由图7可知, 潜在化感物质浓度0~15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的范围内, 随处理浓度的增加生菜叶片中GSH的含量逐渐增加, 15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的P2NA、PA、PNP处理的GSH含量分别较对照增加了69.7%、75.1%和79.4%; 处理浓度大于15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ GSH含量显著降低, 略低于对照; 其中, PNP处理的GSH含量最高, PA处理次之, P2NA处理含量最低。

随潜在化感物质浓度的增加, 叶片Fpro含量

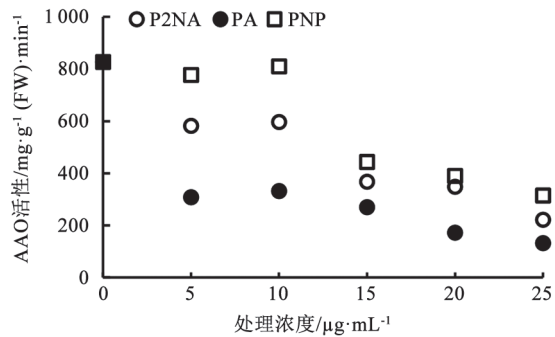


图6 潜在化感物质对生菜叶片抗坏血酸氧化酶活性的影响
Fig.6 Effects of potential allelochemicals on ascorbic acid oxidase in lettuce leaves

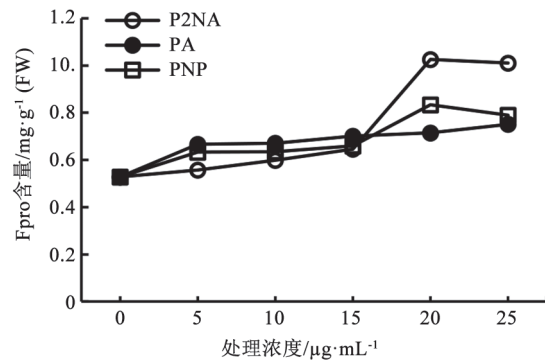


图8 潜在化感物质对生菜叶片脯氨酸含量的影响
Fig.8 Effects of potential allelochemicals on proline content in lettuce leaves

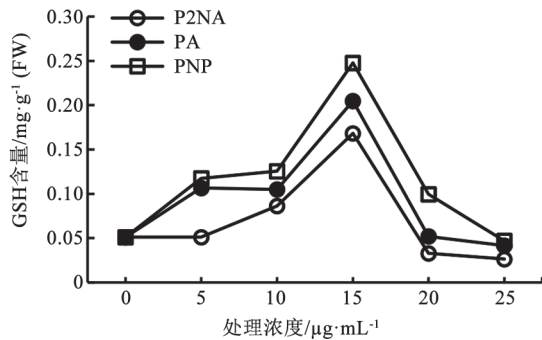


图7 潜在化感物质对生菜叶片谷胱甘肽含量的影响
Fig.7 Effects of potential allelochemicals on glutathione content in lettuce leaves

逐渐增加(图8), 在0~15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内, PA处理的Fpro含量略高于P2NA处理, 且高于对照13.4%~32.8%; 处理浓度 $>15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, P2NA处理的Fpro含量急剧增加, 高于对照90%以上, PNP处理的脯氨酸含量变化规律与PA处理相同, 高于对照35.3%~57.9%。

2 潜在化感物质对生菜幼苗矿质元素吸收的影响

由图9可知, 潜在化感物质处理下生菜幼苗含氮、磷、钾的总含量降低, 且处理浓度越高降低幅度越大; P2NA、PA在0~15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内, 随着处理浓度的增加植株氮含量逐渐降低, 分别较对照降低4.4%~19.3%和15.6%~31.5%, PNP则显著降低了22.3%~51.0%; 当处理浓度 $>15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 植株氮含量有所增加, 但P2NA、PA、PNP处理的含氮量仍低于对照8.5%、28.9%和39.0%。

生菜植株磷含量变化与氮含量相似; 在0~15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内, 随着P2NA、PA、PNP处理浓度的增加, 植株磷含量逐渐降低了8.8%~28.7%、22.2%~38.1%、20.1%~38.1%, 而后小幅度升高; PA处理降低的幅度大于P2NA处理, 而PNP处理的磷含量与PA处理相似(图9)。

与氮、磷的吸收积累不同, 随着潜在化感物质P2NA浓度的增加, 生菜植株钾含量(图9)逐渐降低了12.7%~26.9%; 而PA在0~15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内, 随

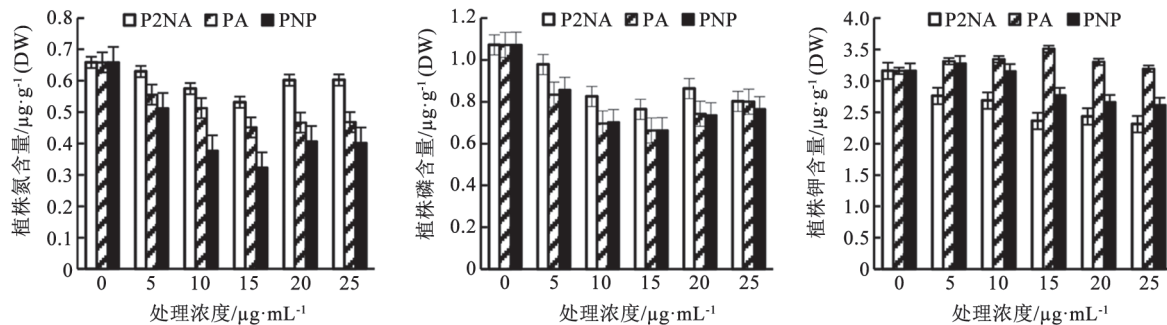


图9 潜在化感物质对生菜植株氮、磷、钾含量的影响
Fig.9 Effects of potential allelochemicals on nitrogen, phosphorus and potassium content in lettuce plant

处理浓度的增加钾含量逐渐增加了4.9%~11.1%, 浓度高于 $15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 钾含量增幅变小, 但仍高于对照; PNP $>10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 钾含量逐渐降低, 且PNP相应的钾含量介于P2NA、PA处理之间。

由图10和11可知, 潜在化感物质PA促进了生菜植株钙和镁离子的积累, 随着处理浓度的增加钙和镁含量先增加再降低, 钙和镁含量的峰值处理分别为10和 $15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 增加幅度分别为15.5%~38.6%和18.2%~40.6%; $0\sim 15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的P2NA处理下钙和镁含量高于对照11.7%~21.9%、2.3%~6.5%, P2NA浓度 $>15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 处理的钙和镁含量低于对照。

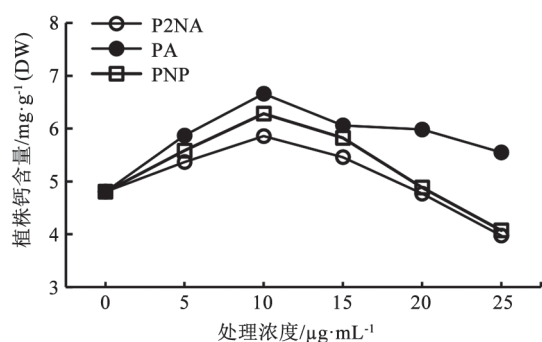


图10 潜在化感物质对生菜植株钙含量的影响

Fig.10 Effects of potential allelochemicals on calcium content in lettuce plant

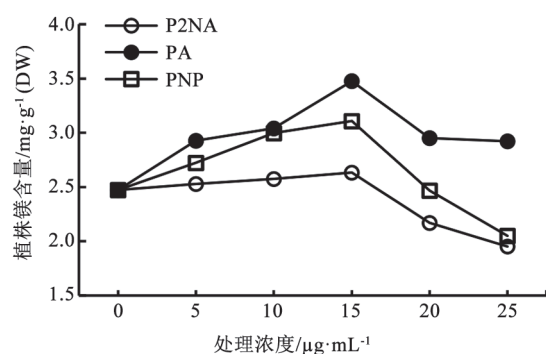


图11 潜在化感物质对生菜植株镁含量的影响

Fig.11 Effects of potential allelochemicals on magnesium content in lettuce plant

讨 论

逆境条件下ROS的大量积累是造成植物衰老的最重要因子(Medhy 1994; Wang等2016), H_2O_2 作为一种ROS本身将造成膜脂过氧化, 破坏蛋白质结

构(Piquery等2000); 同时, 作为信号分子激发植物抗病机制和过氧化损伤(Medhy 1994; de Rio等1998), 诱导叶片衰老(Piquery等2000)。SOD和CAT是重要的清除ROS的诱导酶系, ROS的积累导致酶活性的增强, 潜在化感物质浓度为 $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时SOD和CAT活性出现峰值, 浓度 $>10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 活性下降但仍高于对照, 浓度 $>20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ CAT活性低于对照。同时, 作为叶绿体中清除 H_2O_2 的关键酶, AAO的活性在潜在化感物质P2NA、PA的作用下显著降低, 严重影响了 H_2O_2 的清除。可见, H_2O_2 的积累可能是造成SOD-CAT系统活性受到反馈抑制的重要原因。这与Piquery等(2000)、Li等(2016)的研究结果相似, 即 H_2O_2 的积累是造成植物叶片抗氧化系统整体活性降低的重要原因, 它会引起细胞膜突起, 形成大量液泡, 最终导致细胞的空洞化死亡(别聪聪等2012)。

依靠合成更多的酚类大分子物质增加细胞的渗透调节能力, 是生物逆境下植物自我调节的又一重要途径(Batish等2007; Saberi等2011)。高浓度的化感物质抑制种子萌发和幼苗生长, 而低浓度化感物质作用较小(Reigosa等1999; Wu等2009), 化感物质对作物的影响具有浓度和他感的双重效应(Wu等2009)。潜在化感物质浓度 $<20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时生菜叶片的ROS含量较对照小幅降低, Fpro含量增加不显著; 但当处理浓度达到 $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 以上ROS含量显著提高, Fpro含量也显著提高, MDA含量激增。可见, 生菜幼苗对细胞渗透性的保护机制, 在化感物质浓度 $<20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时主要是依靠抗氧化酶系统对ROS的清除; 而 $>20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 主要依靠合成脯氨酸等小分子物质的渗透调节, 这可能是 H_2O_2 诱导氮代谢过程产生更多渗透调节物质的直接结果(Saberi等2011; Wang等2016), 化感物质改变了正常的植物激素合成过程(Holappa和Blum 1991), 诱导衰老, 相应也将激发植物的渗透调节机制(Holappa和Blum 1991; Batish等2007)。

化感物质引起的营养吸收障碍直接导致干物质积累的降低, 而前者与叶片的光合碳代谢活性降低高度相关, 研究发现P2NA处理后PSII有活性的反应中心减少, 电子传递受到阻碍, 光合效率下降(耿小娟等2009)。抑制叶绿素合成, 触发活性氧的生成机制, 从而导致膜脂过氧化水平明显上

升,破坏细胞的完整性是P2NA的重要化感机制(刘瑞等2015)。潜在化感物质作用下生菜幼苗表现为大量营养元素的吸收障碍,大量元素(氮、磷、钾)含量整体下降6.5%~19.5% (其中, P2NA处理降低10.7%~25.2%, PA处理降低3.8%~8.7%), 而处理浓度 $<15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时钙、镁吸收增加, 钙、镁离子浓度的增加与钾离子吸收高度相关(表1), 同时镁含量与谷胱甘肽合成显著正相关, 可见, 潜在化感物质作用下, 维持细胞膜的完整性与渗透平衡是系统抗性提高的重要表现。研究发现, 当PA处理胁迫

程度较低时, Ca^{2+} -ATPase活性增加, 积极调节 Ca^{2+} 浓度, 使 Ca^{2+} 信使维持正常的信号传导功能(耿广东等2008), 成为逆境条件下稳定膜结构的重要机制之一(Sanchez-Moreiras和Reigosa 2005)。本研究结果表明潜在化感物质对细胞膜完整性的影响主要体现在处理浓度上, 当处理浓度达到 $25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, P2NA和PA处理的MDA含量较对照增加了27.0%和41.8%, 而PNP处理显著增加了到66.5%, 虽然化感物质间差异并不显著, 但P2NA和PA混合处理对膜脂过氧化的作用似乎强于两者单独作用。

表1 抗氧化系统指标与矿质元素吸收指标间相关分析

Table 1 Analysis of correlation between antioxidant system and micro nutrient content

	浓度	活性氧自由基	过氧化氢酶	抗坏血酸氧化酶	钙含量	镁含量
活性氧自由基	0.547*	1.000	-0.220	-0.369	-0.490	-0.452
丙二醛	0.524*	0.500*	-0.112	-0.399	-0.309	-0.245
抗坏血酸氧化酶	-0.771*	-0.369	0.513*	1.000	-0.148	-0.138
谷胱甘肽	-0.032	-0.196	0.211	-0.075	0.420	0.502*
脯氨酸	0.778*	0.609*	-0.188	-0.584*	-0.349	-0.359
氮含量	-0.502*	0.008	-0.161	0.306	-0.273	-0.408
磷含量	-0.600*	-0.024	-0.032	0.511*	-0.326	-0.372
钾含量	-0.377	-0.372	-0.074	0.105	0.506*	0.650*
钙含量	-0.190	-0.490	0.182	-0.148	1.000	0.789*

参考文献

- Bao HC, Hao LZ, Zhang FL, Yang ZR, Li XL, Zheng QL (2015). Allelopathic effects of aqueous extracts of *Pugionium cornutum* on seed germination and seedling growth of cabbage. *Plant Physiol J*, 51 (7): 1109–1116 (in Chinese with English abstract) [鲍红春, 郝丽珍, 张凤兰, 杨忠仁, 李小雷, 郑清岭(2015). 沙芥水浸提液对白菜种子萌发和幼苗生长的化感作用. *植物生理学报*, 51 (7): 1109–1116]
- Batish DR, Lavanya K, Singh HP, Kohil RK (2007). Phenolic allelochemicals released by *Chenopodium murale* affect the growth, nodulation and macromolecule content in chickpea and pea. *Plant Growth Regul*, 51 (2): 119–128
- Bie CC, Li FM, Wang YF, Wang HY, Zhao YH, Zhao W, Wang ZY (2012). Mechanism of the inhibitory action of allelochemical dibutyl phthalate on algae *Gymnodinium breve*. *Environ Sci*, 33 (1): 228–232 (in Chinese with English abstract) [别聪聪, 李锋民, 王一斐, 王昊云, 赵雅菡, 赵薇, 王震宇(2012). 邻苯二甲酸二丁酯对短裸甲藻的抑制机制研究. *环境科学*, 33 (1): 228–232]
- del Rio LA, Pastori GM, Palma JM, Sandalio LM, Sevilla F, Corpas FJ, Jimenez A, López-Huertas E, Hernández JA (1998). The activated oxygen role of peroxisomes in senescence. *Plant Physiol*, 116: 1195–1200
- Gao JF (2006). *Plant Physiology Experiment Guide*. Beijing: Higher Education Press (in Chinese) [高俊凤(2006). *植物生理学实验指导*. 北京: 高等教育出版社]
- Geng GD, Zhang SQ, Cheng ZH (2008). Allelopathy of 1,2-benzenedicarboxylic acid and its mechanism. *J Hunan Agri Univ (Nat Sci)*, 34 (6): 656–659 (in Chinese with English abstract) [耿广东, 张素勤, 程智慧(2008). 邻苯二甲酸对莴苣的化感作用及其作用机理. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 34 (6): 656–659]
- Geng XJ, Fan Y, Wang XQ, Fu HL, Lan LQ (2009). Effects of an allelochemical, N-phenyl-2-naphthylamine, from *Eichhornia crassipes* on the growth of *Microcystis aeruginosa*. *J Sichuan Univ (Nat Sci Ed)*, 46 (5): 1493–1496 (in Chinese with English abstract) [耿小娟, 范勇, 王晓青, 傅华龙, 兰利琼(2009). 水葫芦化感物质N-苯基-2-萘胺对铜绿微囊藻生长的影响. *四川大学学报(自然科学版)*, 46 (5): 1493–1496]
- Guo W, Wang QX (2011). Effects of seed soaking with humic acid on wheat seedlings antioxidant system under saltalkali stress. *Chin J Appl Ecol*, 22 (10): 2539–2545 (in Chinese with English abstract) [郭伟, 王庆祥(2011). 腐植酸浸种对盐碱胁迫下小麦幼苗抗氧化系统的影响. *应用生态学报*, 22 (10): 2539–2545]
- Herro JL, Callaway RM (2003). Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant Soil*, 256: 29–39
- Holappa LD, Blum U (1991). Effects of exogenously applied ferulic acid, a potential allelopathic compound, on leaf growth, water utilization, and endogenous abscisic acid levels of tomato, cucumber, and bean. *J Chem Ecol*, 17 (5): 865–886

- Li S, Su L, Ma SY, Shi ZZ, Zhang Z, Liu H, Zhang JL, Yang XM, Sun ZW (2016). The impacts of exogenous H₂O₂ on primary root horizontal bending of pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Growth Regul*, 78: 287–296
- Liu R, Bai F, Ran XF, Yang YJ, Yang SQ, Shi JQ, Wu ZX (2015). Effect of N-phenyl-2-naphthylamine on the growth, antioxidative enzyme and PSII in *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Acta Hydrobiol Sin*, 39 (4): 774–781 (in Chinese with English abstract) [刘瑞, 白芳, 冉小飞, 杨燕君, 杨宋琪, 施军琼, 吴忠兴(2015). N-苯基-2-萘胺对拟柱胞藻生长、抗氧化酶及光合系统II的影响. *水生生物学报*, 39 (4): 774–781]
- Lyu SW, Blum U (1990). Effects of ferulic acid and allelopathic compound, on P, K and water uptake by cucumber seedlings in a split-root system. *J Chem Ecol*, 16 (8): 2429–2439
- Medhy MC (1994). Active oxygen species in plant defense against pathogens. *Plant Physiol*, 105: 467–472
- Peng SL, Shao H (2001). Research significance and foreground of allelopathy. *Chin J Appl Ecol*, 12 (5): 780–786 (in Chinese with English abstract) [彭少麟, 邵华(2001). 化感作用的研究意义及发展前景. *应用生态学报*, 12 (5): 780–786]
- Piquery L, Davoine C, Huault C, Billard JP (2000). Senescence of leaf sheaths of ryegrass stubble: changes in enzyme activities related to H₂O₂ metabolism. *Plant Growth Regul*, 30: 71–77
- Reigosa MJ, Souto XC, Gonzalez L (1999). Effect of phenolic compounds on the germination of six weeds species. *Plant Growth Regul*, 28: 83–88
- Saberi M, Shahriari A, Tarnian F, Jafari M, Safari H (2011). Influence of some chemical compounds on germination and early seedling growth of two range species under allelopathic conditions. *Front Agric Chin*, 5: 310–321
- Sanchez-Moreiras AM, Reigosa MJ (2005). Whole plant response of lettuce after root exposure to BOA (2(3*H*)-benzoxazolinone). *J Chem Ecol*, 31 (11): 2689–2703
- Sun HY, Wang Y (2012). Effect of root exudated potential allelochemicals in hot pepper (*Capsicum annum* L.) on antioxidative metabolism for lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Plant Physiol J*, 48 (9): 887–894 (in Chinese with English abstract) [孙海燕, 王炎(2012). 辣椒根系分泌的潜力化感物质对生菜幼苗抗氧化代谢的影响. *植物生理学报*, 48 (9): 887–894]
- Sun HY, Wang Y (2013). Hollow fiber liquid-phase microextraction with *in situ* derivatization combined with gas chromatography–mass spectrometry for the determination of root exudate phenylamine compounds in hot pepper (*Capsicum annum* L.). *J Agr Food Chem*, 61: 5494–5499
- Wang FB, Zhu H, Kong WL, Peng RH, Liu QC, Yao QH (2016). The *Antirrhinum AmDEL* gene enhances flavonoids accumulation and salt and drought tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Planta*, 244 (1): 59–73
- Weiss T, Bolt HM, Schlüter G, Koslitz S, Taeger D, Welge P, Bruning T (2013). Metabolic dephenylation of the rubber antioxidant N-phenyl-2-naphthylamine to carcinogenic 2-naphthylamine in rats. *Arch Toxicol*, 87 (7): 1265–1272
- Wu AP, Yu H, Gao SQ, Huang ZY, He WM, Miao SL, Dong M (2009). Differential belowground allelopathic effects of leaf and root of *Mikania micrantha*. *Trees*, 23 (1): 11–17
- Xue YF, Feng HF, Shi ZQ, Yan SH (2013). Effects of N-phenyl-2-naphthylamine on the growth and AsA–GSH circulation metabolism in Chinese cabbage. *Acta Agri Boreali-Sin*, 28 (2): 191–196 (in Chinese with English abstract) [薛延丰, 冯慧芳, 石志琦, 严少华(2013). N-苯基-2-萘胺对青菜生长及AsA–GSH循环影响研究. *华北农学报*, 28 (2): 191–196]
- Yang LX, Wang P, Kong CH (2010). Effect of larch (*Larix gmelini* Rup.) root exudates on Manchurian walnut (*Juglans mandshurica* Maxim.) growth and soil juglone in a mixed-species plantation. *Plant Soil*, 329 (1): 249–258
- Yu JQ, Matsui Y (1997). Effects of root exudates of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals on ion uptake by cucumber seedling. *J Chem Ecol*, 23 (3): 817–827

Effect of N-phenyl-2-naphthylamine and phthalic acid on antioxidant system and mineral nutrient uptake of lettuce

GUO Wei¹, SUN Hai-Yan^{2*}, WANG Yan³

¹Key Laboratory of Crop Germplasm Improvement and Cultivation in Cold Regions, College of Agronomy, ²Test Centre, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China; ³Academy of Fundamental and Interdisciplinary Sciences, Harbin Institute of Technology, Harbin 150001, China

Abstract: To evaluate effects of potential allelochemicals from hot pepper (*Capsicum annuum* L.) root exudates on antioxidant ability and mineral nutrient uptake of lettuce, N-phenyl-2-naphthylamine (P2NA) and phthalic acid (PA) were mixed to Hoagland nutrient solution with 5, 10, 15, 20 and 25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for growth of lettuce under stress. Leaves of lettuce were sampled and determined about activities of antioxidant enzyme system, concentrations of osmotic regulation substances, and contents of mineral nutrient elements in order to explore allelopathic mechanism of root exudates of hot pepper. The results of present study showed that P2NA, PA and mixture solution with 0–15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ enhanced activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) compared to control, increased contents of glutathione (GSH) and free proline (Fpro), which reduced contents of reactive oxygen species (ROS) and methane dicarboxylic aldehyde (MDA). The levels of membrane lipid peroxide of lettuce were improved by high concentration ($>20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) because of increasing of ROS content, which were caused by decreasing of activities of anti-oxidative enzymes and GSH content. Phenomenon was observed which lettuce seedlings exposed to potential allelochemicals had lower activity of ascorbic acid oxidase (AAO), lower content of nitrogen, phosphorus and potassium, and abundance content of calcium and magnesium. The distribution of calcium and magnesium contents appeared single peak curve with peak value of 10 or 15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. As optimum concentration of P2NA or PA, 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ was recommended to apply to lettuce for enhancing adversity ability. However, the high concentration exceeded 15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ of P2NA or PA resulted in the accumulation of ROS, especially the accumulation of hydrogen peroxide (H_2O_2), thus caused membrane lipid peroxide, osmotic loss and nutrition absorption barrier. P2NA was inconclusively deduced have better potential allelopathy than PA, and allelopathic interaction could be showed between P2NA and PA.

Key words: hot pepper; root exudates; allelopathy; lettuce; antioxidant; plant nutrient

Received 2016-09-20 Accepted 2016-11-11

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31470489).

*Corresponding author (E-mail: shysun7908@126.com).