

紫茎泽兰一种潜在化感活性物质的分离鉴定

张梅^{1,2}, 毕海红¹, 任慧^{1,2}, 谭建文¹, 万方浩³

¹中国科学院华南植物园, 植物资源保护与可持续利用国家重点实验室, 广东 广州 510650;

²中国科学院研究生院, 北京 100049; ³中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193

摘要:【背景】紫茎泽兰潜在的化感效应可能是其具有极强入侵性的重要原因。目前, 针对紫茎泽兰潜在化感活性物质的研究主要集中于偏小极性的萜烯类化合物, 而对大极性化学物质的研究相对较少。【方法】采用活性跟踪分析法对紫茎泽兰乙酸乙酯提取物大极性亚组分进行潜在化感活性物质的跟踪分离, 并用现代波谱技术解析其化学结构, 最后就分离获得的单体成分与已报道的化感活性物质羟基泽兰酮(2)和泽兰二酮(3)以及信号分子 JA-Ile 在抑制拟南芥种子萌发和幼苗根生长方面进行潜在化感活性的对比分析。【结果】分离鉴定出一个具有潜在强化感活性的大极性化合物 2-香豆酸葡萄糖苷(1), 研究发现该化合物虽然对拟南芥种子萌发的抑制作用不显著, 但在 0.1 mmol·L⁻¹ 的浓度条件下对拟南芥幼苗根生长却有着比羟基泽兰酮和泽兰二酮更为显著的抑制活性, 且其抑制作用的浓度—活性关系与信号分子 JA-Ile 类似。【结论与意义】紫茎泽兰中潜在大极性的非萜烯类化感活性物质对于紫茎泽兰的综合化感效应可能同样具有重要而不可或缺的作用, 化合物 1 等潜在大极性化感活性物质的逐步揭示对于系统解析紫茎泽兰的化感效应机制具有重要意义。

关键词: 紫茎泽兰; 2-香豆酸葡萄糖苷; 化感; 拟南芥; 种子萌发; 根生长

Isolation and identification of a potential allelochemical from the invasive plant *Eupatorium adenophorum*

Mei ZHANG^{1,2}, Hai-hong BI¹, Hui REN^{1,2}, Jian-wen TAN¹, Fang-hao WAN³

¹Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Sustainable Utilization, South China Botanic Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, Guangdong 510650, China; ²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; ³State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China

Abstract: 【Background】 Being capable of strongly exerting allelopathic effects on neighboring plants possibly would be the most important factors that enables *Eupatorium adenophorum* to be such a strongly aggressive plant world-wide. Presently, studies on potential allelochemicals of *E. adenophorum* were mainly focused on less polar compounds, especially terpenoids, while few reports is focusing on large polar ones. 【Method】 Bioassay-directed phytochemical study was carried out to isolate potential allelochemicals from polar sub-fractions of EtOAc extract of *E. adenophorum*. The chemical structures of the purified compounds were identified by spectroscopy, including MS and NMR techniques. The allelopathic potential of sub-fractions of EtOAc extract and isolated pure compounds as well as two literature reported terpenoid allelochemicals, 8-hydroxy-4-cadinen-3-one (2) and 4,7(11)-cadinadiene-3,8-dione (3), and signaling compound JA-Ile, were all evaluated by detecting their inhibitory activity against seeds germination and seedling root growth using *Arabidopsis thaliana* as test plant. 【Result】 A bioactive compound was isolated from one polar sub-fraction of EtOAc extract of *E. adenophorum* and its chemical structure was identified as 2-coumaric acid glucoside (1). Bioassay indicated that compound 1 showed significant inhibitory activity against *A. thaliana* seedling root growth at concentration as low as 0.1 mmol·L⁻¹, which is more potent than the other two identified compounds. A closely similar inhibition pattern of 1 to that of the signaling compound JA-Ile were also observed. 【Conclusion and significance】 In addition to less polar terpenoids, potentially existing large polar allelochemicals in *E. adenophorum* might significantly contribute the total allelopathic effects. The discovery of com-

pound 1 and other potential polar allelochemicals from *E. adenophorum* may significantly promote the elucidation of the potential allelopathic mechanism possessed by this well-known invasive plant.

Key words: *Eupatorium adenophorum*; 2-coumaric acid glucoside; allelopathy; *Arabidopsis thaliana*; seeds germination; root growth

紫茎泽兰 *Eupatorium adenophorum* (Spreng.) 为菊科泽兰属多年生草本植物,原产于墨西哥,现已广泛分布于世界热带、亚热带的 30 多个国家和地区,是一种世界性的入侵杂草(强胜,1998;王进军,2005)。紫茎泽兰于 20 世纪 40 年代自中缅边境进入我国云南省,现已广泛分布于我国云南、贵州、四川、重庆、广西、西藏以及台湾等省(市、自治区)(赵国晶和马云萍,1989)。在世界诸多地区,紫茎泽兰的入侵扩张给入侵地原有生态系统造成了极大危害,严重破坏了当地的生物多样性,并给当地的农、林、畜业生产造成巨大经济损失。如我国仅云南省在农业方面每年因紫茎泽兰灾害引起的损失就高达 7 亿多元(Wang *et al.*, 2005)。

紫茎泽兰因其极强的入侵性和危害性而广受国内外专家学者的关注。目前,有关紫茎泽兰的研究不仅涉及描述其生物学特征、分布范围、可能扩散的区域及控制与防除方法等宏观层面,也涉及分析其入侵扩张机制的微观层面(Arunachalam *et al.*, 1999; Papes & Peterson, 2003; 鲁萍等, 2005)。近年来,关于紫茎泽兰入侵扩张机制的研究显示,紫茎泽兰潜在的化感效应可能是其得以获得入侵竞争优势的重要甚或关键性因素(Baruah *et al.*, 1994; 宋启示等, 2000; Yang *et al.*, 2006, 2008; 吕霞等, 2008),由此使得探索紫茎泽兰具体潜在化感活性物质的研究逐步成为紫茎泽兰相关研究领域的一大热点。目前已报道的具代表性的紫茎泽兰化感活性物质有羟基泽兰酮(8-hydroxy-4-cadinen-3-one)(2)和泽兰二酮[4,7(11)-cadinadiene-3,8-dione](3),其化学结构式如图 1(Yang *et al.*, 2006, 2008; 万方浩等, 2011),以及具潜在化感活性的小分子物质 5,6-dihydroxycadinan-3-ene-2,7-dione 与 Cadinan-3-ene-6,7-diol 等(Zhao *et al.*, 2009)。然而,这些活性物质均为偏小极性的萜烯类化合物,至于紫茎泽兰中是否存在大极性的重要化感活性物质尚有待于进一步的研究与探索。

为此,笔者近期采用抑制拟南芥 *Arabidopsis thaliana* L. 种子萌发及幼苗根生长的试验筛选模式对紫茎泽兰乙酸乙酯提取物的多个大极性亚组分进行化感抑制活性的跟踪分析,旨在为揭示紫茎泽兰化感效应机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

紫茎泽兰于 2009 年 7 月采自云南省昆明市郊,拟南芥种子由华南植物园植物生理实验室提供;信号分子 JA-Ile 由本实验室以 MeJA 为原料合成,结构由 GC-MS 分析确认;化合物 2 和 3 由本实验室自紫茎泽兰组织提取物中分离获取,结构经核磁共振谱分析验证;柱色谱用正相层析硅胶(200 ~ 300 目)为青岛海洋化工有限公司产品;反相层析硅胶 YMC ODS-A(50 μ m)为日本 YMC Co. Ltd. 生产;薄层色谱(TLC)用正相硅胶板(HFGF₂₅₄)为山东烟台江友硅胶开发有限公司产品;显色方法包括紫外荧光显色(254 nm)及喷洒硫酸—乙醇(10:90, v/v)溶液加热显色。

1.2 仪器

旋转蒸发仪用 Eyela Rotary Evaporator N21000(日本 Tokyo Rikakikai Co. Ltd. 生产);ESIMS 用 API2000 LC/MS/MS(美国 Applied Biosystems 公司),甲醇为溶剂,直接进样测定;中压半制备采用上海利穗科技有限公司的 Dr Flash-S 分离纯化系统;高效液相半制备使用北京创新通恒科技有限公司的 HPLC 半制备系统,泵型号为 P3000,检测器为 UV3000 UV-VIS,色谱柱为 Fuji-C18(10 μ m-100 Å);¹H NMR 和 ¹³C NMR 用 Bruker DRX2400 型超导核磁共振仪测定(瑞士 Bruker 公司),以四甲基硅烷(TMS)为内标测定。

1.3 提取和分离

将紫茎泽兰全株(鲜重 1.4 kg)粉碎,在常温下用 95% 的乙醇浸泡提取 3 次,每次 24 h;合并 3 次的提取液用旋转蒸发仪减压浓缩至浸膏状,加入适量水后转移至 1000 mL 分液漏斗中,用乙酸乙酯萃取 3 次(3 × 0.5 L),蒸干后得 9 g 乙酸乙酯萃取物。将萃取物样品拌样后上正相硅胶柱(200 ~ 300 目),采用不同比例的氯仿甲醇洗脱剂进行梯度洗脱,每个洗脱体积为 1000 mL,减压浓缩得到 6 个不同极性亚组分,分别为 Fr. 1(氯仿:甲醇 = 95:5)(1.5 g)、Fr. 2(氯仿:甲醇 = 85:15)(2.8 g)、Fr. 3(氯仿:甲醇 = 8:2)(3.2 g)、Fr. 4(氯仿:甲醇 = 7:3)(0.55 g)、Fr. 5(纯甲醇)(0.6 g)。通过对各部

分进行活性测试筛选,发现较大极性亚组分 Fr. 2 对拟南芥种子萌发及根生长均具有明显的抑制作用,随后对其进行潜在主要单体活性化学成分的分离纯化:将 Fr. 2 上正相硅胶柱层析,用氯仿与甲醇(85:15)进行等度洗脱,多余的馏分通过减压蒸馏移除大部分溶剂后室温静置,待大部分浓缩馏分中析出白色沉淀后收集沉淀物,用少量冰冷甲醇进行清洗,然后将约 45 mg 沉淀物溶解于少量 50% 甲醇水溶液并用半制备型 HPLC 进行制备纯化(C-18 柱,20% 甲醇水溶液为等度洗脱系统),收集主要峰($t_R = 230$ min)对应的洗脱液进行浓缩,经 TLC 检测(氯仿:甲醇=7:3, R_f 值为 0.5)及 HPLC 分析证实其结构。

1.4 拟南芥种子萌发及其根生长抑制试验

对待试拟南芥种子进行灭菌消毒,即先将拟南芥种子用 70% 的乙醇冲洗 2 min,再用 1% 次氯酸钠(NaClO)溶液消毒 2 min,最后用蒸馏水漂洗 3 min 后于 4 °C 冰箱中保存 3 d 备用。在直径为 6 cm 的培养皿中放置直径略小的双层滤纸,将已经分别溶于 2 mL 甲醇中的样品溶液倒入培养皿中(亚组分浓度分别为 $3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 单体化合物浓度为 0.1 mmol 与 0.25 mmol),其中空白对照培养皿中倒入 2 mL 纯甲醇。待各个培养皿中的甲醇溶剂完全挥发后,加入 1 mL 的蒸馏水,并将存于 4 °C 冰箱中的拟南芥种子取出,在各个培养皿的滤纸片上分别放置 20 粒,每个样品与对照各设置 3 个重复。将这些培养皿置于培养箱中,温度控制为 24 ~ 26 °C,光强度为 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光照周期为 L: D = 12: 12,待空白对照中 90% 以上的拟南芥

种子已经萌发时记录各培养皿中拟南芥的萌发数,并测量其根长。

1.5 数据统计分析

用 SPSS13.0 统计软件对试验数据进行分析。用 Excel 软件录入数据和制作图表,差异显著性用邓肯氏新复极差法(DMRT)检验。

2 结果与分析

2.1 结构鉴定

分离纯化获得的单体化合物:白色粉末;ESIMS m/z : 349 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 365 $[\text{M} + \text{K}]^+$, 325 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{15} \text{H}_{15} \text{O}_8$, 326). ^1H NMR (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz): 7.6(d, 1H, $J = 8$ Hz, H-3), 7.28(ddd, 1H, $J = 8, 7.6, 1.6$ Hz, H-4), 6.99(t, 1H, $J = 7.6, 7.6$ Hz, H-5), 7.72(dd, 1H, $J = 7.6, 1.6$ Hz, H-6), 7.08(d, 1H, $J = 16$ Hz, H-2'), 8.79(d, 1H, $J = 16$ Hz, H-3'), 5.72(d, 1H, $J = 7.2$ Hz, H-1''), 4.14 ~ 4.4(m, 5H, H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', Hb-6'') 和 4.53(dd, 1H, $J = 12, 2$, Ha-6''). ^{13}C NMR (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz): 122.5(C-1), 157(C-2), 116.1(C-3), 131.8(C-4), 125(C-5), 128.4(C-6), 169.7(C-1'), 121.3(C-2'), 139.5(C-3'), 102(C-1''), 74.7(C-2''), 79.1(C-3''), 71.1(C-4''), 78.9(C-5'') 和 62.4(C-6'')。依据文献,发现该化合物光谱数据与肉桂酸吡喃葡萄糖苷的数据一致(Yang *et al.*, 2009; 李蓉涛等, 1997),即确定该化合物的结构为 2-香豆酸葡萄糖苷(2-coumaric acid glucoside)(1)(图 1)。

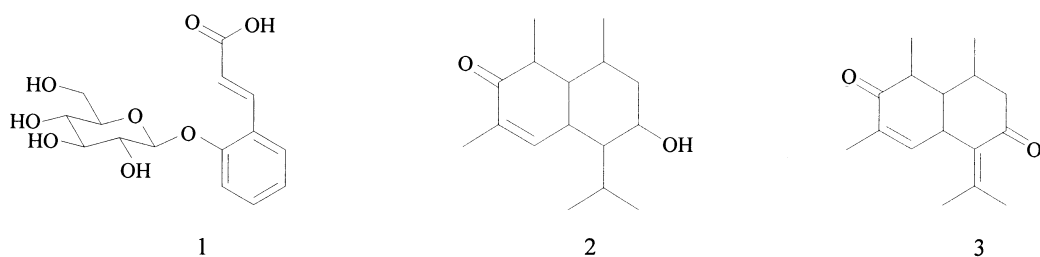


图 1 化合物 1~3 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1 ~ 3

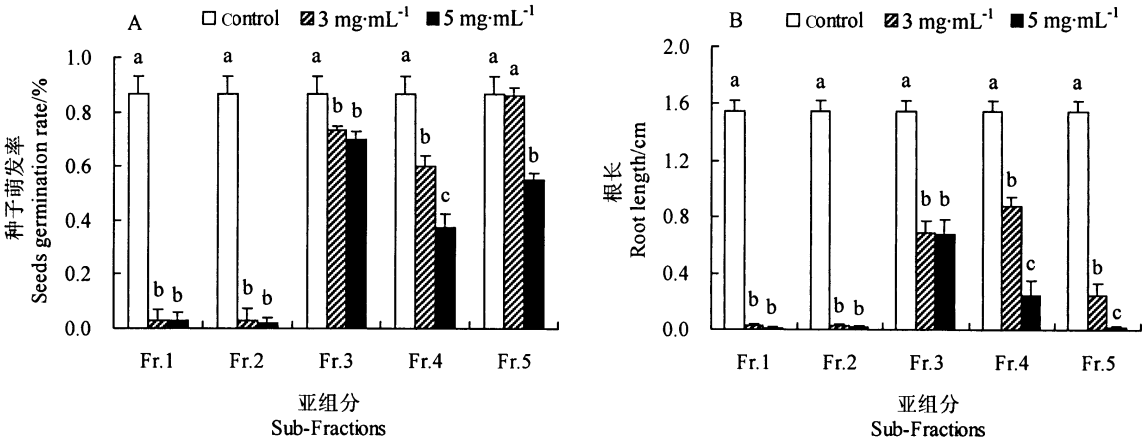
2.2 乙酸乙酯提取物不同极性亚组分对拟南芥种子萌发及根生长的抑制活性

紫茎泽兰乙酸乙酯总提取物的 5 个不同极性亚组分 Fr. 1(小极性)、Fr. 2(极性)和 Fr. 3~5(大极性)分别的 2 个不同浓度的水溶液(0.1 和 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)

与水处理对照对拟南芥种子萌发率和幼苗根生长的影响结果如图 2 所示。结果表明:除含有已知萜烯类化感物质的 Fr. 1 在 $3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度条件下便可完全抑制拟南芥种子萌发和根生长外,Fr. 2 在 $3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度条件下也显现几乎完全抑制拟南芥种子

萌发和根生长的强化感活性,并显示 Fr. 2 中含有较强化感抑制活性的化学物质;对于 Fr. 3 ~5,它们在 3 mg·mL⁻¹ 浓度条件下对拟南芥种子萌发和根生长均只显现较弱的抑制活性,并且浓度达到 5 mg

·mL⁻¹时依然不具备完全抑制拟南芥种子萌发和根生长的能力,表明它们中的主要化学物质对拟南芥种子萌发和根生长的化感抑制活性不显著。



图中所示数据为 3 次重复数据的平均数,每组柱状图中不同的字母表示同组不同处理间存在显著差异 ($P < 0.05$)。

Each bar presents mean. Bar heads with different letters in each cluster indicate significant differences among different treatments at $P < 0.05$.

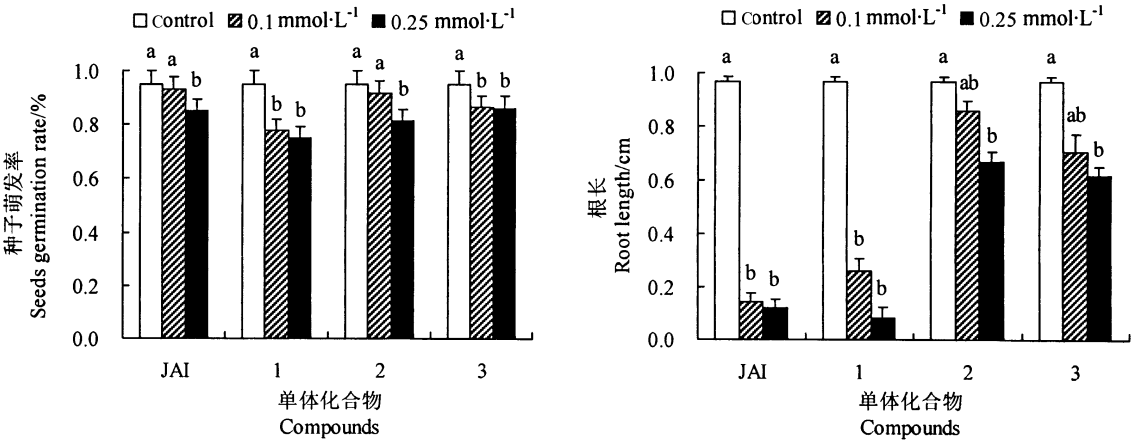
图 2 亚组分 Fr. 1 ~ Fr. 5 对拟南芥种子萌发及幼苗根生长的抑制活性

Fig. 2 Inhibition activities of sub-fractions Fr. 1 ~ Fr. 5 on *A. thaliana* seed germination and seedling root growth

2.3 信号分子 JA-Ile 与化合物 1 ~3 对拟南芥种子萌发及根生长抑制活性的比较分析

单体化合物 1 ~3 与信号分子 JA-Ile 对拟南芥种子萌发及幼苗根生长化感抑制活性的比较分析结果如图 3 所示。结果显示:在拟南芥种子萌发抑制试验中化合物 1 ~3 及 JA-Ile 在浓度为 0.1 和 0.2 mmol·L⁻¹ 时均不呈现显著抑制活性。但在拟南芥幼苗根生长的抑制试验中,化合物 1 和信号分子

JA-Ile 在浓度为 0.1 mmol·L⁻¹ 时便呈现显著的化感抑制活性;对于化合物 2 和 3,即便是当浓度达到 0.25 mmol·L⁻¹ 时也只表现出弱的化感抑制活性,这说明化合物 1 对于拟南芥幼苗根生长的化感抑制活性显著强于倍半萜类化感物质 2 和 3。另外,结果还显示,化合物 1 的浓度—活性关系与信号分子 JA-Ile 很类似。



图中所示数据为 3 次重复数据的平均数,柱状图中不同的字母表示同组不同处理间存在显著差异 ($P < 0.05$)。

Each bar presents mean. Bar heads with different letters in each cluster indicate significant differences among different treatments at $P < 0.05$.

图 3 信号 JA-Ile 及化合物 1 ~3 对拟南芥种子萌发及幼苗根生长的抑制活性

Fig. 3 Inhibition activities of JA-Ile (JAI) and compounds 1 ~3 on *A. thaliana* seeds germination and seedling root growth

3 结论与讨论

紫茎泽兰能产生结构多样和种类丰富的次生代谢化学物质,目前该植物中已报道的次生代谢成分包括单萜、倍半萜、三萜、甾体、黄酮、苯丙素及其衍生物等结构类型(李蓉涛等,1997;闫乾坤等,2006;李永明等,2008),其中倍半萜和单萜等萜烯类成分极为丰富。近年来,对紫茎泽兰化感活性物质的探索主要围绕偏小极性的萜烯类物质而展开(Yang *et al.*,2008; Zhao *et al.*,2009),关于大极性成分的研究相对欠缺,这与紫茎泽兰中萜烯类成分含量极为丰富具有很大的关系。

从理论上分析,入侵植物成功实施其化感效应需满足3个方面的条件:(1)该入侵植物能产生具有强化感活性的化学物质;(2)这些化感活性物质具有从入侵植物中释放或分泌出来并进入周围环境中的合适途径;(3)释放或分泌到植物体外的强化感活性物质在周围环境中能适度扩散以实现与周围植物或微生物间的相互接触进而完成化感互动。基于入侵植物在真实自然环境中直面的是以土壤为基础的水媒介环境,因而更具良好水溶性的潜在大极性化感活性物质在紫茎泽兰具体实施其化感效应的过程中可能起着比偏中小极性活性物质更为重要甚或关键性的作用,因而本研究对紫茎泽兰潜在大极性化感活性物质进行探索,这对于系统解析紫茎泽兰的潜在化感效应机制有着重要的意义。

本研究采用活性跟踪法自紫茎泽兰乙酸乙酯提取物的大极性亚组分 Fr. 2 中分离获得了具潜在强化感活性的一种单体化合物 2-香豆酸葡萄糖苷(1)。研究发现,该化合物对拟南芥种子萌发的抑制活性不显著,但其对拟南芥幼苗根生长却有着比羟基泽兰酮(2)和泽兰二酮(3)更为强烈的化感抑制活性。由于化感抑制活性会因受体植物的不同而存在很大差异,因此我们目前以拟南芥为受体植物进行的活性测试或许并不足以判定化合物 1 与已知活性物质 2 和 3 的化感活性的相对强弱,然而本试验结果却能在一定程度上反映化合物 1 是具有潜在化感效应的生物活性分子,同时也暗示紫茎泽兰中的潜在大极性非萜烯类活性物质对于紫茎泽兰的综合化感效应同样起着重要而不可或缺的

作用。当然就化合物 1 具体能以何种途径自紫茎泽兰组织内分泌释放进入到土壤环境,以及其进入自然环境后化感潜力是否会因其他生物因子,特别是微生物因子的影响而发生显著变化等均还需要进一步研究。

在活性分析试验结果中我们注意到,极性亚组分 Fr. 2 不仅在抑制拟南芥幼苗根生长方面活性突出,而且还在抑制拟南芥种子萌发方面呈现出强的化感抑制活性。然而,我们自该活性亚组分中分离获得的化合物 1 则仅在抑制拟南芥幼苗根生长方面具显著活性,在抑制拟南芥种子萌发方面的活性却不显著,这一结果暗示在极性亚组分 Fr. 2 中还存在其他能显著抑制拟南芥种子萌发的化感活性成分,这也有待于进一步研究。另外,我们发现,化合物 1 对拟南芥幼苗根生长表现出的化感抑制活性其浓度—活性关系与信号分子 JA-Ile(Staswick & Tiryaki,2004)的抑制作用浓度—活性关系具有相似性,这是否意味着该化合物对拟南芥的化感抑制作用过程与其可能激活的拟南芥内源 JA 及 JA-Ile 相关的信号调控存在某种关联同样值得探索研究。

参考文献

- 李蓉涛,丁智慧,丁靖垠. 1997. 紫茎泽兰化学成分. 云南植物研究,19(2):196-200.
- 李永明,李正跃,叶敏. 2008. 紫茎泽兰不同部位的化学成分及其生物活性. 云南农业大学学报,23(1):42-46.
- 鲁萍,桑卫国,马克平. 2005. 外来入侵种紫茎泽兰研究进展与展望. 植物生态学报,29(6):1029-1037.
- 吕霞,张汉波,张庭,张明攀. 2008. 紫茎泽兰根分泌物的化感潜力. 云南大学学报,30(3):314-317.
- 强胜. 1998. 世界恶性杂草——紫茎泽兰研究的历史及现状. 武汉植物学研究,16(4):366-372.
- 宋启示,付陶,唐建维,冯志立,杨崇仁. 2000. 紫茎泽兰的化学互感潜力. 植物生态学报,24(3):362-365.
- 万方浩,刘万学,郭建英,强胜,李保平,王进军,杨国庆,牛红榜,桂富荣,黄文坤,蒋智林,王文琪. 2011. 外来植物紫茎泽兰的入侵机理与控制策略研究进展. 中国科学,41(1):13-21.
- 王进军. 2005. 紫茎泽兰//万方浩,郑小波,郭建英. 重要农林外来入侵物种的生物学与控制. 北京:科学出版社,650-661.
- 闫乾坤,杨婕,李华民,曹勘程,陈华庆,文永奇,何兰. 2006.

- 入侵物种紫茎泽兰化学成分及生物活性研究进展. 北京师范大学学报:自然科学版, 42(1): 70–73.
- 赵国晶, 马云祥. 1989. 云南省紫茎泽兰的分布与危害的调查研究. 杂草学报, (3): 37–40.
- Arunachalam K, Arunachalam A and Melkania N P. 1999. Influence of soil properties on microbial populations, activity and biomass in humid subtropical mountainous ecosystems of India. *Biology and Fertility of Soils*, 30: 217–223.
- Baruah N C, Sarma J C, Sarma S and Sharma R P. 1994. Seed germination and growth inhibitory cadinenes from *Eupatorium adenophorum* Spreng. *Journal of Chemical Ecology*, 20(8): 1885–1892.
- Papes M and Peterson A T. 2003. Predicting the potential invasive distribution for *Eupatorium adenophorum* Spreng. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 21: 137–142.
- Staswick P E and Tiryaki I. 2004. The oxylipin signal jasmonic acid is activated by an enzyme that conjugates it to Isoleucine in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 16: 2117–2127.
- Wang Y C, Zhao B Y, Fan Z F, Fan Y Y and Tan C J. 2005. The advance in *Eupatorium adenophorum* Spreng and its damage. *Progress Inveterinary Medicine*, 26(5): 45–48.
- Yang G Q, Wan F H, Liu W X and Guo J Y. 2008. Influence of two allelochemicals from *Ageratina adenophora* Spreng on ABA, IAA and ZR contents in roots of upland rice seedlings. *Allelopathy Journal*, 28(2): 253–262.
- Yang G Q, Wan F H, Liu W X and Zhang X W. 2006. Physiological effects of allelochemicals from leachates of *Ageratina adenophora* (Spreng.) on rice seedlings. *Allelopathy Journal*, 18(2): 237–246.
- Yang Z Y, Endo S, Tanida A, Kai K and Watanabe N. 2009. Synergy effect of sodium acetate and glycosidically bound volatiles on the release of volatile compounds from the unscented cut flower (*Delphinium elatum* L. “Blue Bird”). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57: 6396–6401.
- Zhao X, Zheng G W, Niu X M, Li W Q, Wang F S and Li S H. 2009. Terpenes from *Eupatorium adenophorum* and their allelopathic effects on *Arabidopsis* seeds germination. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57: 478–482.

(责任编辑: 彭露)