

花椒品种间化感效应的差异

王进闯^{1, 2}, 潘开文^{1,*}, 吴 宁¹, 罗 鹏¹, 李富华¹

(1. 中国科学院成都生物研究所, 成都 610041; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要: 实验对 4 个常见的花椒品种(大红袍、汉源椒、大毛椒和七月椒)的化感效应进行了研究。花椒叶的浸提液分成 2.5、5.0、10.0、20.0 和 40.0 g·L⁻¹ 5 个浓度, 以紫花苜蓿种子作为受试植物。结果表明, 与对照相比, 各品种叶浸提液都显著地抑制了苜蓿种子萌发和幼苗生长, 同时也促进了幼苗根和茎生物量的增加。4 个品种间对种子萌发的化感效应有轻微的差异, 而对幼苗生长和生物量的影响由于品种的不同而有所不同。4 个品种叶的浸提液化感效应依次增强的顺序为: 汉源椒、七月椒、大毛椒和大红袍。另外, 花椒人工林地内的土壤对紫花苜蓿的生长发育也产生了显著的化感效应。最后, 对 4 个花椒品种的叶挥发油进行了 GC-MS 化学成分分析, 结果显示: 不同品种的花椒体内化感物质的含量有区别, 但它们的挥发油主要成分都包括桉树酚(cineole)、里哪醇(linalool)、乙酸里哪(醇)酯(linalyl acetate)、β-石竹烯(beta-caryophyllene)和萜品-4-醇(terpinen-4-ol)等。

关键词: 化感作用; 种子萌发; 幼苗生长; 花椒; 紫花苜蓿

文章编号: 1000-0933(2005)07-1591-08 中图分类号: Q946.8 文献标识码: A

The study on varietal differences in allelopathic potential of Chinese prickly ash (*Zanthoxylum piperitum*)

WANG Jin-Chuang^{1, 2}, PAN Kai-Wen^{1,*}, WU Ning¹, LUO Peng¹, LI Fu-Hua¹ (1. Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China; 2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(7): 1591~1598.

Abstract: Chinese prickly ash (*Zanthoxylum piperitum*) is an important cash crop in the mountain areas of the eastern Tibetan Plateau, especially in the fragile dry valleys of the upper Minjiang Rivers which is one of the most important branches of Yangtze River. Monoculture of the species on the slopes was a common practice which has caused serious soil erosion and many other problems such as serious pest and disease plagues, aborted seedling replant, and declined production. It is thus urgent for creating a suitable pattern of the Chinese prickly ash incorporated with nitrogen fixation plants to improve economic and environmental benefits sustainably.

The perennial alfalfa (*Medicago sativa*) is presently used as a forage crop or cover plant to reduce soil erosion caused by wind and water and to improve the quality of soil by nitrogen fixation in many regions of China. However, their allelopathic compatibility may be crucial to determine if the Chinese prickly ash can successfully be intercropped with the perennial alfalfa though their allelopathic interaction has seldom been studied.

The experiments were conducted to test the varietal differences in allelopathic potential of four common varieties of Chinese prickly ash (*Zanthoxylum piperitum* DC) plants, namely Da Hongpao (DHP), HanYuanjiao (HYJ), Da Maojiao

基金项目: 中国科学院知识创新工程重大资助项目(KSCX1-07-01-03); 国家“十五”科技攻关资助项目(2001BA606A-05-04 和 2004BA606A-05-03); 中国科学院成都生物研究所恢复生态学重点实验室、茂县生态站和瓦屋山生态站资助项目

收稿日期: 2003-11-28; **修订日期:** 2005-03-25

作者简介: 王进闯(1976~), 男, 河北省邯郸市人, 硕士, 主要从事植物学研究。E-mail: wangjc@cib.ac.cn

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: pankw@cib.ac.cn or pkaiwen@yahoo.com.cn

Foundation item: The CAS Knowledge Innovation Project (Grant No. KSCX1-07-01-03), the National “Tenth Five-year Plan” Key Project (Grant No. 2001BA606A-05 and 2004 BA606A-05-03), the Key Lab. for Restoration Ecology, the Maoxian Ecological Station for Mountainous Restoration and Sustainable Development, the Ecological Station for Evergreen Broadleaf Forest of Mt. Wawu (SEBFW) of Chengdu Institute of Biology, CAS

Received date: 2003-11-28; **Accepted date:** 2005-03-25

Biography: WANG Jin-Chuang, Master, mainly engaged in plant ecology. E-mail: wangjc@cib.ac.cn

(DMJ) and Qi Yuejiao (QYJ), for the seed germination and seedling growth of alfalfa. The purpose was to understand better the allelopathic interaction effects among different Chinese prickly ash varieties and alfalfa and to provide farmers the possibility and management techniques for assemble sequence of the incorporation of the Chinese prickly ash and alfalfa.

Allelopathic effects of the Chinese prickly ash were tested with alfalfa seed under a range gradients including 2.5, 5.0, 10.0, 20.0 and 40.0 g·L⁻¹ aqueous extracts of the leaves from the four varieties. It was found that the aqueous extracts from the four Chinese prickly ash varieties significantly inhibited both the germination and the growth, and promoted root and shoot biomass of alfalfa compared with the controls. The results showed that allelopathic effects of the four Chinese prickly ash varieties on alfalfa seed germination were only a slightly difference amongst the varieties while the influences on growth and root and shoot biomass of alfalfa significantly varied with the variety. In generally, allelopathic potential of the leaf extracts of the four varieties synthetically ranked HYJ, QYJ, DMJ, and DHP from the weakest to the strongest. In addition, allelopathic effects of the soil of the Chinese prickly ash plantation on the seed germination and early seedling growth of the alfalfa were also significant. Finally, allelochemicals were revealed in all the four Chinese prickly ash varieties on the basis of the component analysis of the volatile oils from the four varietals using GC-MS. The allelochemicals of volatile oil from Chinese prickly ash varieties mainly included cineole, linalool, linalyl acetate, β -caryophyllene and terpinen-4-ol. All correlative issues with the allelopathic effects of Chinese prickly ash on alfalfa were discussed at the end of the paper.

Key words: Allelopathy; seed germination; seedling growth; Chinese prickly ash; alfalfa

农林复合生态系统是可持续土地利用的主要形式之一。根据资源多层利用的原则,利用生态学原理将树木与农作物以某种时空序列进行搭配种植,这种农林复合生态系统的建立对于生态恢复与建设,以及满足产品需求都有重要的意义^[1]。

岷江上游是长江的主要支流之一,其地形地貌类型以高山峡谷为主,山体从上到下包含了寒带、温带和亚热带等气候条件,分布有亚高山草甸、灌丛、暗针叶林等多种典型的植被类型,该区是长江上游重要的生态屏障区^[2]。该区域的花椒(*Zanthoxylum piperitum*)林生态系统是一个比较独特的,且多分布于生态环境极端脆弱的干旱、半干旱地段;长期以来,花椒一直都是岷江上游羌族群众致富的重要经济树种之一。当地农民为了提高花椒产量,增加收入,往往除去林地内的杂草,使得花椒林内物种单一,导致水土流失和病虫害日趋严重*,并带来严重的生态、经济和社会问题。其中,最为严重的就是一则水土流失严重;二则因花椒寿命缩短,重茬失败,经济利益的驱动导致大量毁坏半干旱地区的自然植被而种花椒,使得生态环境本已脆弱和恶化的地段更加难以恢复和治理。所以,建立多物种组成、多层次结构配置的经济价值高、生态效益好的坡地花椒农林复合生态系统对于提高花椒质量,延长花椒寿命,减少水土流失,进而推动和促进该区域的生态建设与社会经济的可持续发展有重要意义。

苜蓿是一种多年生牧草和培肥植物,由于可以用来饲养家畜,而且能够固定空气中的N₂,增加土壤中N的含量,因而在其适生区内广泛种植。因苜蓿具有以上优点,所以,目前试图将苜蓿引入花椒农林模式中作为地面覆盖植物,来改变现有的单一种植模式,进而提高花椒农林系统的生态经济效益。苜蓿是否能与花椒树成功地共存,关键在于它们之间的化感效应的大小和生态位重叠的幅度,而目前尚无有关花椒与苜蓿之间化感效应的研究报道。

本文研究的主要内容为:(1)研究4个花椒品种的化感潜力;(2)评价花椒叶浸提液对于苜蓿化感效应的品种间差异;(3)鉴定哪个品种具有最强的化感潜力以及其挥发油成分分析,目的是为建立健康可持续发展的花椒农林复合生态系统提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

品种采用大红袍、七月椒、汉源椒和大毛椒,受试植物为紫花苜蓿(*Medicago sativa*)。

1.2 方法

1.2.1 浸提液制备

(1)不同品种花椒叶的采集与浸提液的制备 6月底在四川阿坝州茂县花椒林地选取健康的不同品种10a生花椒树,在树体周围随机采集花椒叶,把叶子风干,然后混合冷藏,保存在-4℃下直到使用。将40.0 g干重的叶粉碎后过2mm孔径的筛,在22℃下1L蒸馏水中浸泡48 h。浸泡后经过双层棉纱布和11 um孔径大小的滤纸过滤。得到叶浸提液的母液,然后稀释成1/2、

* 王进闯,潘开文,等.花椒农林复合生态系统的简化对某些相关因子的影响.应用与环境生物学报(待刊)

1/4、1/8 和 1/16 等不同浓度的浸提液。

(2) 土壤的采集与浸提液的制备 土壤采自茂县当地 10 a 生大红袍花椒林下。在实验地随机选取 20 株花椒树,在其根部取表层土壤(直径 7 cm,深 0~10 cm);在距花椒林地 10 m 处,无花椒树的地方,按同样方法采集土壤,用聚乙烯塑料袋密封带回。采回的土壤在阴暗处风干,研磨后以 40 目的网筛过筛,每一类型的土壤样品分别均匀混合。然后将土壤分置于试剂瓶中密封,作为土样待用^[3]。称取土样,按重量比 1:1 加蒸馏水,在摇床上振荡 60 min(转速 40 r/min,分成两部分,一部分在黑暗处静置 24 h,过滤后待用;另一部分经 120 °C 高温处理 40 min 后,在黑暗处静置 24 h,过滤后待用。

1.2.2 种子萌发实验 用 0.525 g · L⁻¹ 次氯酸钠对苜蓿种子消毒 15 min,然后用蒸馏水洗 4 次,每次 3 min。将种子浸泡在测试液中 4 h,以蒸馏水为对照。将 50 粒种子放入有两层滤纸 90 mm 的培养皿中,每个处理 3 个重复。在每个培养皿中,加入 4 ml 测试液,对照用 4 ml 蒸馏水。种子在人工气候箱中培养,条件为:30 °C 下,16 h 光周期;20 °C 下,8 h 暗周期;光强 400 umol photo. nsm⁻² · s⁻¹。种子放入 3 d 后,每个培养皿再补充 4 ml 测试液或蒸馏水。实验重复 2 次^[4]。

每天记录种子萌发数量(以胚根突破种皮为准),7 d 后结束萌发实验。测量所有活幼苗的根和茎长度。幼苗分根和茎,在 70 °C 下,烘至恒重,再测量生物量^[5]。

1.2.3 花椒挥发油成分的分析

(1) 挥发油的提取 4 月底采集 4 个品种花椒叶晾干,粉碎。水蒸气蒸馏法蒸馏 10 h,馏出液用乙醚萃取,将有机相中乙醚在水浴中蒸发,用无水 Na₂SO₄ 干燥,得浅黄色透明油状物,低温保存待用。该油状物有强烈辛辣芳香的气味,即为花椒挥发油。

(2) 化学成分测定 采用 HP6890/5973GC/MS 进行测定。气相色谱条件:HP-INNOMax 石英毛细管柱,25 m × 2 mm × 25 μm;程序升温,40 °C 保持 1 min,40~120 °C,4 °C/min,保持 1 min,120~240 °C,10 °C/min,240 °C 保持 28 min;载气为高纯氮,流速 1 ml/min,进样口温度 250 °C,分流比 10,界面温度 255 °C。质谱条件:EI 离子源,电子能量为 70 eV,分子分离器温度为 155 °C;扫描范围 35~400 AMU,结果经 NIST107 和 NIST21 谱库检索。

1.2.4 数据处理

(1) 种子萌发数据处理 进行以下几个参数的计算:

① 最终萌发数(FG) 实验期间最大萌发数

② 最终萌发的平均周期 MPFG = $\sum N_i D_i / FG$.

③ 萌发率 RG = $\sum N_i / D_i$.

④ 抑制或促进百分比 $100 - [FG \text{ 测试液中} (\%) / FG \text{ 蒸馏水中} (\%) \times 100]$ ^[5]

(2) 苜蓿萌发和生长数据处理 采用 ANOVA 和 LSD 进行数据统计与分析。

2 结果与分析

2.1 叶浸提液对苜蓿种子萌发的影响

苜蓿种子的 RG 和 MPFG 受到 4 个品种叶浸提物的显著影响,而且七月椒(QYJ)受到的影响最小。在 5.0 g · L⁻¹ 时,RG 有轻微的降低。随着浓度的增高,RG 显著降低(10.0 g · L⁻¹, p < 0.05; 20.0 g · L⁻¹ 和 40.0 g · L⁻¹, p < 0.001)。浓度为 20.0 g · L⁻¹ 时,只有大毛椒(DMJ)显著抑制 FG;40 g · L⁻¹ 时,所用品种的叶浸提物都显著抑制 FG。此时,大毛椒的抑制作用最强,为 74.40%。

大红袍(DHP)和七月椒在 5.0 g · L⁻¹ 时已经开始显著地增加 MPFG,而大毛椒和汉源椒(HYJ)则不是很显著。此后,浓度增加,MPFG 被所有品种浸提液显著增加,大毛椒的作用最强为 1.93 d。在最高浓度时,大毛椒对于苜蓿种子萌发的 RG 和 MPFG 的影响最强,七月椒的最小(表 1)。

在 40 g · L⁻¹ 时,4 个品种的叶浸提物都显著抑制了 FG,而在 ≤ 10 g · L⁻¹ 时,对 FG 的抑制都不显著。在 20 g · L⁻¹ 时,大毛椒表现为显著抑制,其它 3 个品种则不显著。

4 个品种叶浸提物对于种子萌发抑制率呈现出了相同的趋势,即随着浓度的增加,抑制效应越强。在 40 g · L⁻¹ 时,大毛椒的萌发抑制率最大,为 15.4%;七月椒的最小,为 8.0%。

综上所述,几种不同花椒品种叶浸提液对苜蓿种子的萌发效应较为复杂。一般来说,花椒各品种叶浸提液在浓度 < 5.0 g · L⁻¹ 时,其对苜蓿种子萌发的化感效应不显著;叶浸提液浓度 > 5.0 g · L⁻¹,尤其 ≥ 10 g · L⁻¹ 以上时,其对种子萌发的化感达到极显著(如对萌发率、萌发平均周期等)或显著(如对最终萌发百分比等)水平。

2.2 叶浸提液对幼苗生长的影响

2.2.1 浸提液对根和茎生长的影响 大红袍浸提液显著地减少了苜蓿根($F = 56.93$, $n = 420$, $p < 0.001$)和茎($F = 5.04$, $n = 420$, $p < 0.001$)的生长。在 40 g · L⁻¹ 时,大红袍根的长度最小,为 1.54 cm,仅是对照组的 32.30%;汉源椒的最大,为 3.05 cm,是对照组的 64.40%。可见,汉源椒叶浸提液对于苜蓿根长的抑制作用最弱,大红袍的最强。另外,在品种之间,对根的抑制效应

也有显著性差异($F=18.24, p<0.001$) (图1)。与其它3个品种相比,汉源椒浸提液对于苜蓿茎的生长抑制作用最弱,但它的抑制效应是极显著的($F=33.58, p<0.001$)。在 $40.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,大红袍浸提液最大程度地减少了苜蓿茎的生长,为28.40%。汉源椒、大毛椒和七月椒的分别是19.60%、27.50%和23.60% (图2)。

表1 花椒叶浸提液对苜蓿种子萌发的影响

Table 1 Effect of the leaf extracts of Chinese prickly ash on the seed germination of alfalfa

品种 Variety	浸提液浓度 Extract concentration ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	萌发率(RG) Rate of germination (seeds d^{-1})	萌发平均周期(MPFG) Mean period of final germination (d)	最终萌发百分比(FG) Final germination(%)	萌发的抑制或促进 百分比 Germination inhibition/stimulation(%)
大红袍 DHP	40.0	26.73D	1.79D	89.30b	-10.7
	20.0	36.00C	1.51C	96.00a	-4.0
	10.0	46.17B	1.12B	97.30a	-2.7
	5.0	48.50A	1.06A	99.30a	-0.7
	2.5	48.83A	1.05A	100.00a	0.0
<i>p</i> value		<i>p</i> <0.001	<i>p</i> <0.001	<i>p</i> <0.05	
汉源椒 HYJ	40.0	27.28D	1.79D	87.30b	-12.7
	20.0	38.94C	1.46C	97.30a	-3.7
	10.0	43.44B	1.18B	98a	-2.0
	5.0	48.33A	1.04A	98.70a	-1.3
	2.5	49.17A	1.04A	100.00a	0.0
<i>p</i> value		<i>p</i> <0.001	<i>p</i> <0.001	<i>p</i> <0.05	
大毛椒 DMJ	40.0	20.89D	1.93D	74.70c	-15.4
	20.0	33.17C	1.64C	90.60b	-9.4
	10.0	43.50B	1.24B	97.30ab	-2.7
	5.0	47.44AB	1.11AB	100a	0.0
	2.5	47.56AB	1.09A	100a	0.0
<i>p</i> value		<i>p</i> <0.001	<i>p</i> <0.001	<i>p</i> <0.05	
七月椒 QYJ	40.0	33.72D	1.56D	92.00b	-8.0
	20.0	40.89C	1.3C	98.70a	0.0
	10.0	46.28B	1.17B	100.00a	0.0
	5.0	47.89AB	1.09AB	100.00a	0.0
	2.5	49.17A	1.04A	100.00a	0.0
<i>p</i> value		<i>p</i> <0.001	<i>p</i> <0.001	<i>p</i> <0.05	
0	49.28A	1.03A	100a	0.0	

表中显示了显著性水平;不同的字母表示浓度间显著性差异,通过LSD检验获得 The levels of significance are also shown; Different letters indicate significant differences between concentrations for each of the measure parameters, using LSD tests

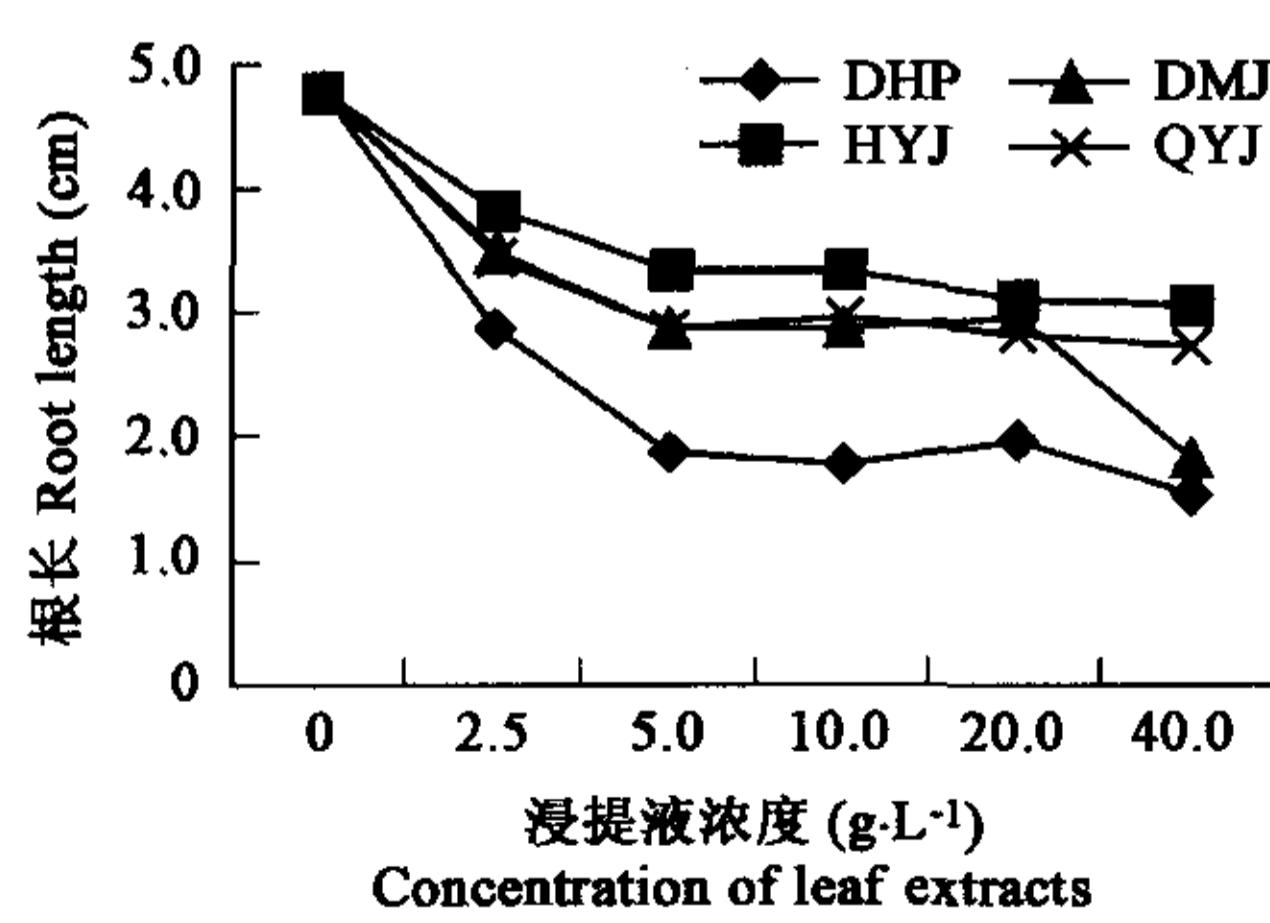


图1 花椒叶浸提液对根长的影响

Fig. 1 Effect of leaf extracts on root growth DHP, HYJ, DMJ and QYJ are the same as that in table 1

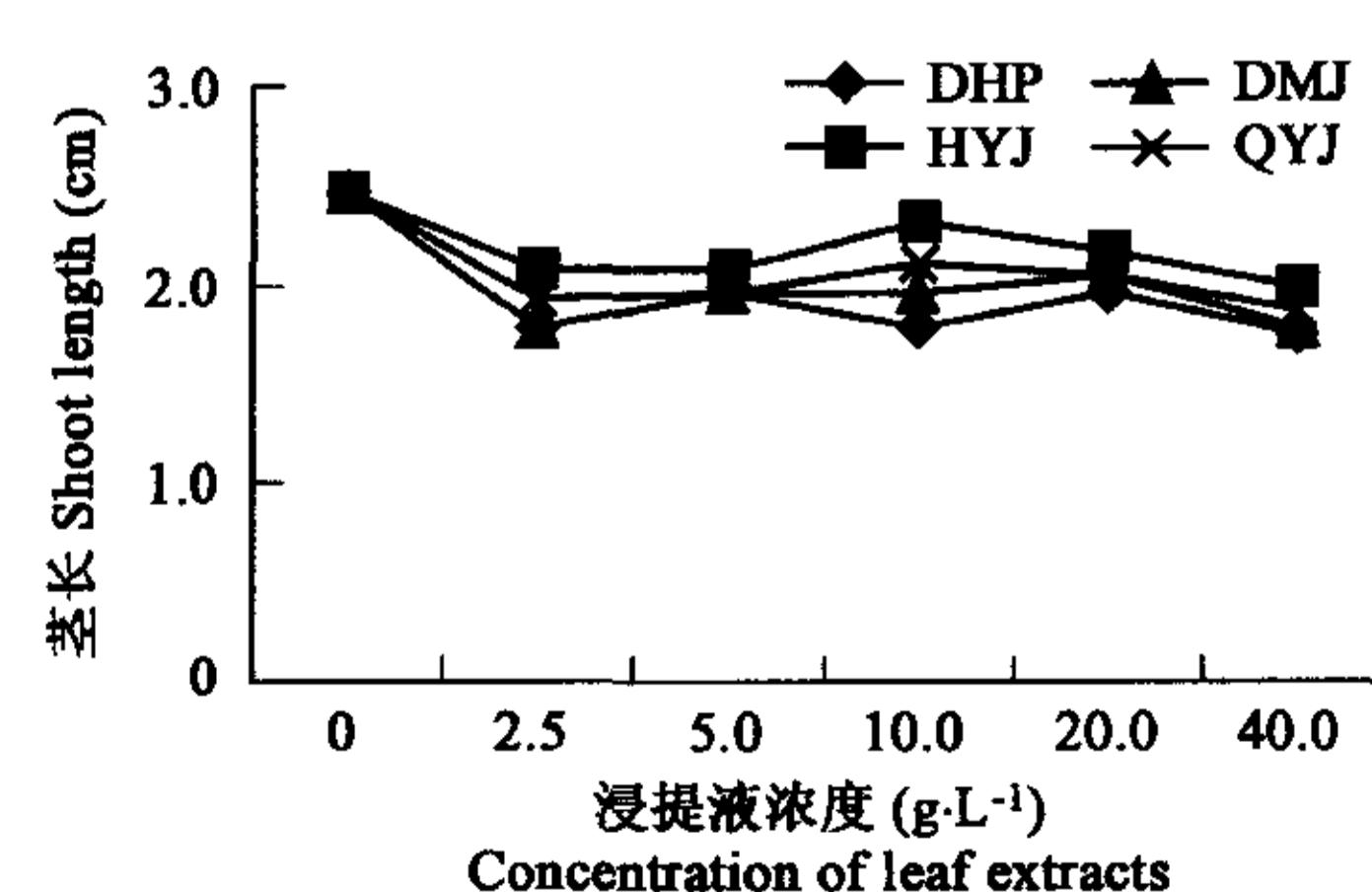


图2 花椒叶浸提液对茎长的影响

Fig. 2 Effect of leaf extracts on shoot growth DHP, HYJ, DMJ and QYJ are the same as that in table 1

总体而言,花椒各品种不同浓度叶浸提液对苜蓿根和茎生长的影响有相似性,主要表现在:(1)无论是在低浓度或高浓度

下,花椒各品种叶浸提液都对苜蓿根和茎生长起抑制作用。一般来说,浓度越大,抑制效应越强。(2)浓度对叶浸提物抑制苜蓿根、茎生长有极显著的作用($p<0.001$),对苜蓿根和茎生长而言,浓度抑制效应均达到显著($p<0.05$)或极显著水平($p<0.01$)。(3)花椒各品种之间,其叶浸提液对苜蓿根长($p<0.001$)或茎长($p<0.05$)的影响是极显著或显著的,几乎都表现为大红袍的抑制作用最强,其次,分别是大毛椒和七月椒,而汉源椒的最弱。(4)各品种在不同浓度下,对苜蓿根长的抑制变化规律比对茎的要明显。

2.2.2 浸提液对生物量的影响 所用浓度的浸提液都显著地促进了根的生物量,随着浓度的增加,促进作用越强。其中,汉源椒的效应最弱,在叶浸提液浓度为 $2.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,根生物量为 0.209 mg ;浸提液浓度为 $40.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,根生物量为 0.246 mg ;而大红袍的作用最强,在上述浓度下根生物量各为 0.24 mg 和 0.316 mg 。与根相似,所有浓度浸提液也都显著地增加了茎的生物量,且随着浓度的增加,茎的生物量增加更加明显。大红袍产生的效应最明显,其次为大毛椒,再次为七月椒,最后是汉源椒。结果表明,在 $2.5\sim40.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间,所用品种的浸提液对于根和茎生物量都有促进效应(图3和4)。

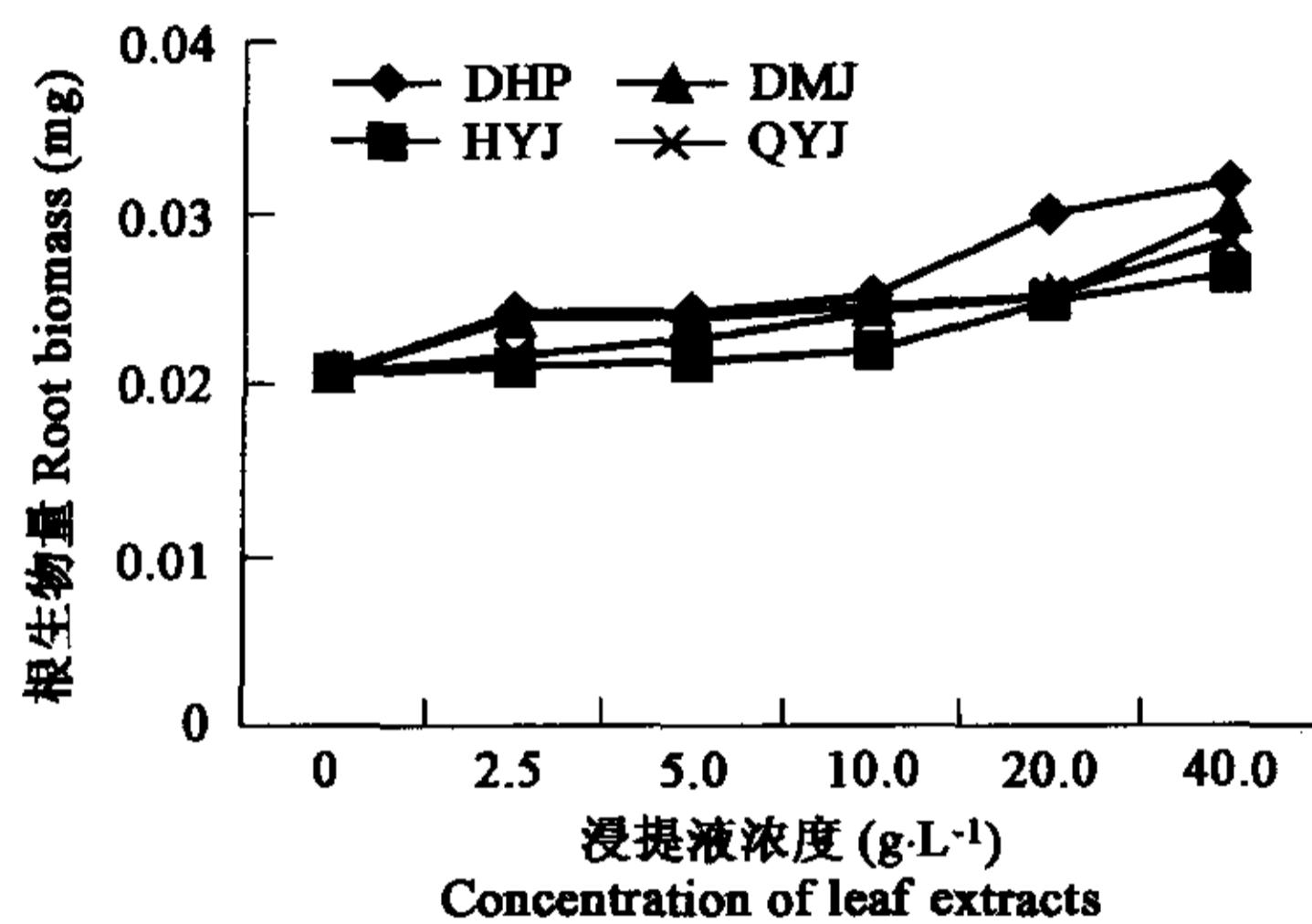


图3 花椒叶浸提液对根生物量的影响

Fig. 3 Effect of leaf extracts on root biomass DHP, HYJ, DMJ and QYJ are the same as that in table 1

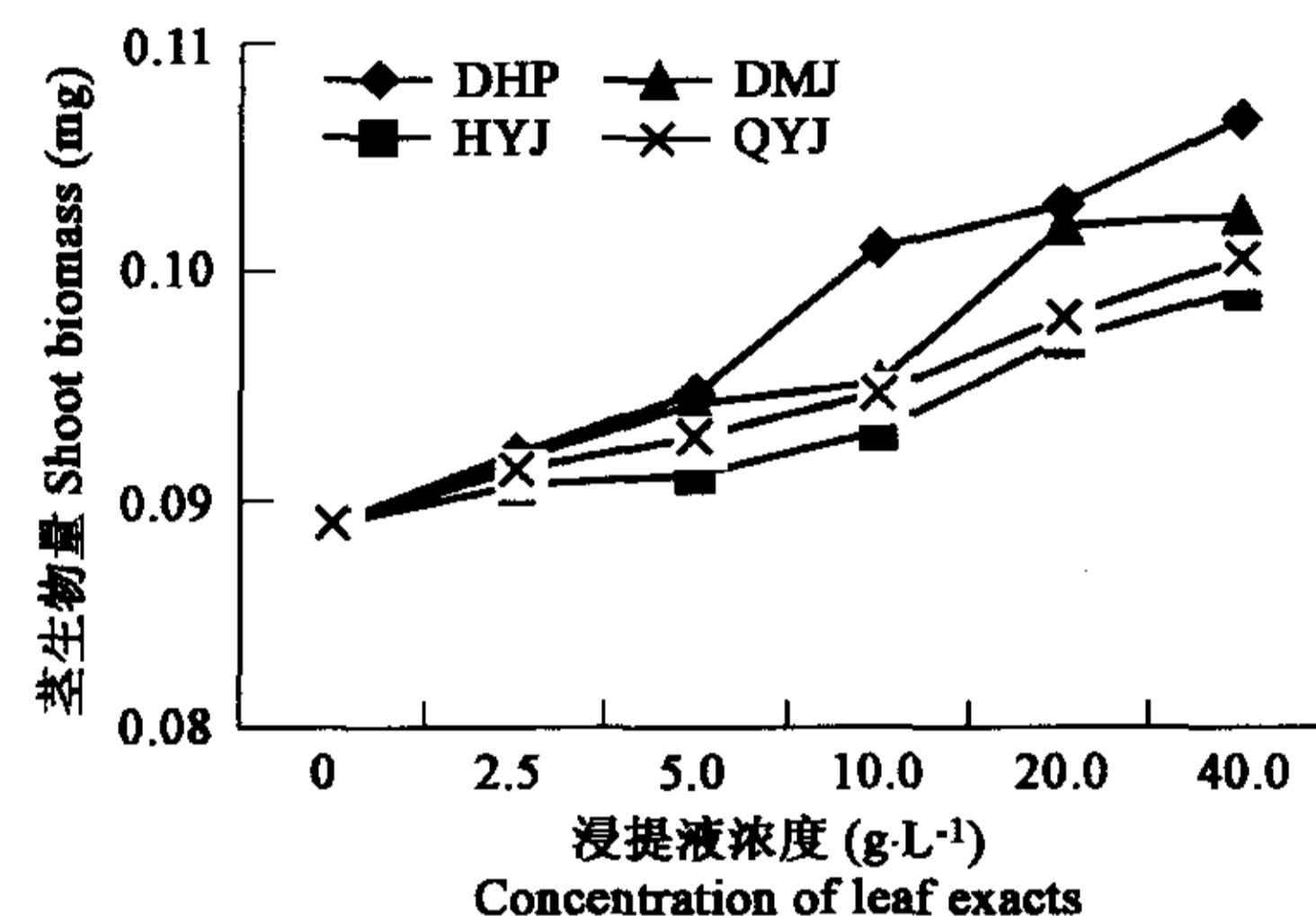


图4 花椒叶浸提液对茎生物量的影响

Fig. 4 Effect of leaf extracts on shoot biomass DHP, HYJ, DMJ and QYJ are the same as that in table 1

表2 土壤水浸液对苜蓿萌发和生长的影响

Table 2 Effect of soil extracts on alfalfa germination and growth

处理 Treatment	种子萌发数(%) Seed germination	根长度(cm) Root length	茎长度(cm) Shoot length	根生物量(mg) Root biomass	茎生物量(mg) Shoot biomass
对照 CK	98.67a	2.56a	2.87a	0.1272a	0.1092a
椒林土壤 Nonautoclaved soil	95.33a (-4.67%)	1.87b (-26.95%)	1.98b (-26.67%)	0.1057b (-16.90%)	0.0978b (-10.44%)
高温土壤 Autoclaved soil	96.67a (-3.43%)	1.93b (-24.61%)	2.00b (-30.31%)	0.1048b (-17.61%)	0.0970b (-11.17%)

表中不同的字母代表 LSD 多重比较结果,字母不同者示彼此差异显著 Different letters indicate significant differences between concentrations for each of the measure parameters, at the 5% level using LSD tests;括号中的值表示与对照相比增加或减少的百分比,“+”表增加,“-”表减少;Value in parentheses are % increase(+values) and % decrease (-values) with reference to control (1)

2.2.3 土壤浸提液对苜蓿种子萌发和生长的影响 表2显示椒林土壤水浸液对紫花苜蓿种子萌发和幼苗的影响。椒林土壤对种子萌发的影响比对照组减少4.67%。虽然椒林土壤对苜蓿种子萌发的影响不明显,但其对幼苗的生长(包括根长度、茎长度以及根和茎的生物量)却有显著的影响。实验组根长仅1.87 cm,比对照组减少26.95%;茎长为1.98 cm,比对照组减少了26.67%。根和茎的生物量被显著抑制,分别减少了16.90%和10.44%。与土壤水溶液产生的效应相似,经过高温处理的土壤也显著抑制了苜蓿生长,同时抑制了根和茎生物量,但椒林土壤和高温土壤水浸提液之间对苜蓿种子萌发和幼苗生长的影响差异并不显著。这说明在10年生的大红袍花椒林土壤中存在化感物质,且对苜蓿生长会产生重要的影响。

2.3 花椒挥发油成分分析

大红袍、汉源椒、七月椒和大毛椒色谱图中可辨认的峰数分别为56、23、48和25,鉴定出结构的组分分别为41、17、36和17(表3)。

4个品种的花椒挥发油成分,因品种不同,差异较大,这种差异表现在:(1)不同品种里的相同成分的含量差异较大,如里哪醇的含量在大红袍、大毛椒和七月椒中分别为16.67%、17.89%和16.47%,而在汉源椒中却只有10.55%。又如1,8-桉树酚的含量在七月椒中高达8.77%,而在汉源椒中只有3.28%。(2)不同品种里的挥发油成分差异亦大,如大红袍中 α -柯拜巴烯(α -

copaene)、莰烯(camphene)、丙酸里哪酯(linalyl propionate)和古芸烯(gurjunene)等化学成分在其它品种里都没有;另外,七月椒中所含的蒈烯(carene)和丁子香烯(germacrene)含量分别为4.50%和7.31%,而其它品种却不含此成分(表3)。

尽管不同品种的挥发油成分和含量有较大差异,但4个品种花椒叶挥发油的相同组分有7个,这些组分分别占大红袍、汉源椒、七月椒和大毛椒全部组分含量的45.92%、21.98%、46.96%和45.01%。四个品种中均含有桉树酚(cineole)、里哪醇(linalool)、乙酸里哪(醇)酯(linalyl acetate)、 β -石竹烯(β -caryophyllene)和萜品-4-醇(terpinen-4-olp)等共有成分(表3)。

汉源椒挥发物的主要成分为丁子香酚乙酸酯、里哪醇和1,8-桉树酚。大红袍、七月椒和大毛椒挥发物主要成分基本相同,其中,里哪醇、 β -石竹烯、乙酸里哪(醇)酯和1,8-桉树酚含量都较高(表3)。

3 讨论

3.1 花椒叶浸提液对种子萌发和幼苗生长的影响

结果显示4个品种的花椒均具有一定的化感效应,也不同程度地抑制了苜蓿种子萌发(表1),种子萌发的几个参数,如萌发率、萌发平均周期、最终萌发百分比和萌发的抑制或促进百分比等虽有不同的含义与定义,但本文分析结果显示,各花椒品种不同浓度叶浸提液对苜蓿种子萌发的几个参数具有大致相同的变化规律,表明这几个参数都可以用于化感物质对种子萌发的影响研究,但萌发率和萌发周期这两个参数相对于最终萌发百分比和萌发的抑制或促进百分比等参数而言,对化感物质影响种子萌发的效应更敏感;而萌发的抑制或促进百分比这一参数结果更直观。花椒各品种不同浓度的叶浸提液对苜蓿种子萌发的化感效应都表现出抑制效应,未出现“低浓度促进,高浓度抑制”的现象,只是在低浓度时,抑制效应不明显,在高浓度时抑制作用加强,并达到显著或极显著水平。这种对种子萌发的抑制效应具体表现出:降低种子萌发率和最终萌发百分比,延长萌发平均周期,增大萌发的抑制百分比等。

花椒叶浸提液对幼苗根和茎的生长也产生了抑制,而且根比茎受到的抑制效应更强(图1,2),显示出根长比种子萌发和茎长对化感效应的响应更敏感,这和早期的研究结果相一致,可能是根直接接触化感溶液造成的^[6,7]。这种抑制具有浓度效应,即抑制作用强度随化感物质浓度的增加而增大,国外众多同类研究也得到了相同的结果^[8,9]。这说明在降雨量少或不稳定的地区,进入土壤中的化感物质浓度不能被充分稀释,而更容易表现出强的化感效应(表2)。在干旱胁迫下,植物不仅产生的化感物质更多,而且受试植物对化感效应的反应强度越大^[10]。岷江上游干旱河谷区,不但降雨量少,而且蒸发量也大,水分就更容易成为胁迫因子。这些因素都有可能增加花椒林地中化感物质的浓度,因此,在自然条件下,花椒叶中的化感物质可能对于苜蓿的影响更强。

浸提液对根和茎的生物量均表现为显著的促进作用。Saxena^[5]研究发现,在<40.0 g·L⁻¹时,大豆的根和茎的浸提液对于幼苗生物量有显著的促进效应。随着浓度增加,表现为抑制作用。因此,本文的结果也可能是浸提液的浓度不够大造成,不但未表现为抑制,反而有促进的趋势,这与化感物质在低浓度下起促进作用的观点相符^[11]。

Tsuchiya等^[12]研究表明,连年生长的芋头土壤水浸液能抑制莴苣的生长,而且土壤经过高温处理后,依然有此现象,证明这种抑制效应是由于化感物质的存在而不是有害的土壤有机体造成的。结合本文土壤对苜蓿幼苗生长的抑制效应的研究结果,可以推测椒林土壤中积累了化感物质,但花椒地里积累的化感物质是否存在自毒效应尚值得进一步探讨。

3.2 不同品种之间的化感潜力及挥发油成分

4个花椒品种叶浸提物也表现出不同的化感效应。根据种子萌发、根长、茎长和生物量的综合结果,显示4个品种的化感效应由小到大顺序为汉源椒<七月椒<大毛椒<大红袍。花椒叶中的化感物质能够引起负面效应(表1和2,图1和2)。这也说明了作物种间和种内的化感作用都与品种显著相关^[13]。显然,品种间化感作用的差异是与其化学成分相关的,也与花椒体内化感物质的种类和含量之间可能还存在着协同或拮抗效应有关^[14~16]。

花椒释放出的这些萜类和烯醇类化感物质进入环境后,它们除了直接保护母体植株自身不受侵害外,对其他植物的萌发和幼苗生长既产生抑制作用,又在一定条件下具有促进作用。但需注意的是,这种抑制和促进作用在不同的植物群体中,有不同的选择性,而且发生作用的剂量和等级也是不同的^[14]。当椒树在幼年时,有可能释放出或积累于土壤中化感物质的量少,浓度不大,可以使苜蓿正常生长、发育,而且能够固氮改变土壤条件,提供牧草饲喂牲畜;但随着椒树年龄的增长,释放到环境中的化感物质增多,当其积累到一定程度后就会对苜蓿的生长、发育产生抑制作用。因此,在配置健康和可持续发展的花椒农林种植模式时,不但要重视加强病虫害的防治和花椒的管理,而且花椒的化感效应也不容忽视。

就化感活性是否与遗传相关这一问题,许多学者已经进行了研究。Putnam等^[17]观察到多个黄瓜品种对受试植物具有明显的抑制效应的差异,进一步研究发现黄瓜的化感活性是一种遗传性状。Dilday等^[18]报道水稻的不同品种间的化感效应有数量遗传的区别。4个花椒品种间的化感效应的差异、品种间挥发物成分的区别和含量上的不同是否与遗传有关,还需要进一步研究。

表 3 花椒 4 个品种叶挥发油化学成分分析

Table 3 Analysis of volatile oil from the fresh leaves of Chinese prickly ash by GC-MS

成分 Component	含量 Relative amount (%)			
	大红袍 DHP	汉源椒 HYJ	七月椒 QYJ	大毛椒 DMJ
未鉴定 unknown	1.88	—	1.49	—
未鉴定 unknown	0.39	—	—	—
α-蒎烯 α-pinene	0.43	—	0.55	—
桧烯 sabinene	0.48	—	0.96	—
β-月桂烯 β-myrcene	1.70	—	1.66	1.36
α-萜品烯 α-terpinene	0.19	—	0.29	—
柠檬烯 limonene	6.20	—	3.95	5.50
1,8-桉树酚 1,8-cineole	7.83	3.28	8.77	4.03
顺式-罗勒烯 cis-ocimene	1.20	—	3.40	1.72
γ-萜品烯 γ-terpinene	0.61	—	0.80	—
反式-β-罗勒烯 trans-β-ocimene	1.61	—	2.87	1.62
异松油烯 terpinolene	0.29	—	0.31	—
α-柯拜巴烯 α-copaene	0.42	—	—	—
里那醇 linalool	16.67	10.55	16.47	17.89
乙酸里那(醇)酯 linalyl acetate	8.12	0.33	4.48	8.77
反式-石竹烯 trans-caryophyllene	0.15	—	—	—
β-石竹烯 β-caryophyllene	8.79	5.35	7.26	6.34
萜品-4-醇 terpinen-4-ol	3.29	1.01	5.06	2.09
榄香烯 elemene	—	—0.53	—	—
β-蛇麻烯 β-selinene	—	0.69	—	—
α-乙酸松油酯 α-terpinenyl acetate	—	0.76	—	4.59
α-萜品醇 α-terpineol	—	1.99	—	3.28
α-啤酒花烯 α-humulene	—	—	—	3.63
丁子香烯 germacrene	—	0.72	—	4.50
香树烯 aromadendrene	0.25	—	—	—
未鉴定 unknown	0.22	—	—	0.80
β-芹子烯 β-selinene	2.44	—	2.58	—
α-衣兰油烯 α-amorphene	0.15	—	0.23	—
(+)-2-蒈烯 (+)-2-carene	—	—	4.50	—
丁子香烯 germacrene	—	—	7.31	—
莰烯 camphene	5.88	—	—	—
丙酸里哪酯 linalyl propionate	4.62	—	—	—
α-紫穗槐烯 α-muurolene	0.19	—	0.55	—
环丁子香烯 bicyclogermacrene	0.78	—	0.84	—
橙花醇乙酸酯 neryl acetate	1.19	—	0.82	1.92
Δ-杜松烯 Δ-cadinene	1.32	0.72	2.20	1.92
牻牛儿乙酸酯 geranyl acetate	2.11	0.34	1.27	—
2-十三烷酮 2-tridecanone	0.55	0.63	0.84	—
顺式-去氢白烯 1s, cis-calamenene	0.11	—	—	—
反式-香叶醇 trans-geraniol	0.53	—	—	—
香叶醇 geraniol	1.67	—	1.05	—
β-紫香酮 β-ionone	0.14	—	—	—
石竹烯环氧化物 caryophyllene oxide	0.40	—	0.34	—
橙花叔醇 nerolidol	0.61	—	0.70	3.31
未鉴定 unknown	0.20	—	0.33	—
斯巴醇 spathulenol	—	—	0.36	—
未鉴定 unknown	—	—	1.11	—
+ -匙叶按油烯醇 + -Spathulenol	0.22	—	—	—
丁子香酚 eugenol	2.89	0.63	4.09	—
未鉴定 unknown	0.45	0.74	2.72	3.97
α--柯巴拜烯 α-copaene	0.18	—	0.38	—
未鉴定 unknown	—	—	0.55	—
未鉴定 unknown	0.19	—	—	—
α-红没药醇 α-bisabolol	0.85	—	0.77	—
古芸烯 gurjunene	0.69	—	—	—
2-甲氧基-4-(2-丙烯基)-苯酚 phenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl)	—	—	0.36	—
未鉴定 unknown	0.99	—	1.05	—
丁子香酚乙酸酯 eugenyl acetate	2.72	16.75	—	2.62
对丙烯基苯酚 chavicol	—	0.55	—	—
月桂酸 dodecanoic acid	—	0.44	—	—
未鉴定 unknown	—	0.66	—	—
未鉴定 unknown	0.25	0.73	0.34	4.64
未鉴定 unknown	0.25	—	1.35	4.94
棕榈酸 hexadecanoic acid	2.67	1.45	3.73	—
未鉴定 unknown	0.56	—	—	—

4 结语

本研究在实验室条件下证明了4个品种的花椒对苜蓿种子萌发和幼苗生长具有一定的抑制作用,只不过不同品种之间的效应强弱有别,也证明了椒林土壤对苜蓿种子萌发和生长有化感抑制效应,但在自然条件下,化感物质的效应还受到很多因素的影响,例如落叶的密度、凋落物的分解速率、与其它植物的距离以及降雨量等^[5,19,20]。另外,根和树干可能都含有特有的化感物质。因此,紫花苜蓿作为牧草与花椒套作的可行性和相关技术尚需进一步通过田间实验进行研究。此外,虽然已鉴定出了4个品种叶挥发油的化学成分,这些成分为进一步研究花椒化感作用打下了基础,但进一步评价各组分对苜蓿种子萌发生长的化感效应对于构建花椒-苜蓿混合种植模式具有重要意义。

References:

- [1] Rizvi S J, Haque H, Singh H, et al. A discipline called allelopathy. In: Rizvi S J, Rizvi H V, Eds. *Allelopathy: Basic and Applied Aspects*, Chapman & Hall, London, UK, 1992. 1~10.
- [2] Pan K W, Wu N, Pan K Z, et al. A discussion on the issues of the re-construction of ecological shelter zone on the upper reaches of the Yangtze River. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, **24**(3): 617~629.
- [3] Dietz H T, Steinlein P, Winterhalter, et al. Role of allelopathy as a possible factor associated with the rising dominance of *Bunias orientalis* L. (Brassicaceae) in some native plant assemblages. *Journal of Chemical Ecology*, 1996, **22**(10): 1797~1810.
- [4] Turk M A, Shatnawi M K, Tawaha A M. Inhibitory effects of aqueous extracts of black mustard on germination and growth of alfalfa. *Weed Biology and Management*, 2003, **3**: 37~40.
- [5] Saxena A, Singh D V, Joshi N L. Autotoxic effects of pearl millet aqueous extracts on seed germination and seedling growth. *Journal of Arid Environment*, 1996, **33**: 255~260.
- [6] Chon S U, Coutts J H, Nelson C J. Effects of light, growth media, and seedling orientation on bioassays of alfalfa autotoxicity. *Agronomy Journal*, 2000, **92**: 715~720.
- [7] Chung I M, Miller D A. Effect of alfalfa plant and soil extracts on germination and seedling growth. *Agronomy Journal*, 1995, **87**: 762~767.
- [8] Turk M A, Tawaha A M. Allelopathic effect of black mustard (*Brassica nigra* L.) on germination and growth of wild oat (*Avena fatua* L.). *Crop Protection*, 2003, **22**: 673~677.
- [9] Djurdjevic L, Dinic A, Pavlovic P, et al. Allelopathic potential of *Allium ursinum* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2004, **32**: 533~544.
- [10] Kong C H, Xu T, Hu F, et al. Allelopathy under environmental stress and its induced mechanism. *Acta Ecologica Sinica*. 2000, **20**(5): 849~854.
- [11] Rice E L. *Allelopathy*. 2nd Edition, Orlando, FL: Academic press, 1984.
- [12] Tsuchiya, Ohno Y. Analysis of allelopathy in vegetable cultivation I. Possibility of occurrence of allelopathy in vegetable cultivation. *Plants Tea Japanese*, 1992, **5**: 37~44.
- [13] Kong C H, Hu F, Chen X H, et al. Assessment and utilization of allelopathic crop varietal resources. *Scientia Agricultura Sinica*, 2002, **35**: 1159~1164.
- [14] Asplundro. Monoterpenes: Relationship between structure and inhibition of germination. *Phytochemistry*, 1968, **7**: 1995~1997.
- [15] Bradow J M, Connick W J. Volatile seed germination inhibitors from plant residues. *Journal of Chemical Ecology*, 1990, **16**: 645~666.
- [16] Kong C H, Xu T, Hu F, et al. Study on interactions among allelochemicals of *Ageratum conyzoides*. *Acta Phytoecologica Sinica*, 1998, **22**(5): 403~408.
- [17] Putnam A R, Duke W B. Biological suppression of weeds: evidence for allelopathy in accessions of cucumber. *Science*, 1974, **186**: 370~372.
- [18] Dilday R H, Yan W G, Moldenhauer K A K, et al. Allelopathic activity in rice for controlling major aquatic weeds. In *Allelopathy in rice*. Ed, M Olofsdotter. Los Banos. Philippines: IRRI Publishing, 1998. 7~26.
- [19] Tsuchiya, Ohno Y. Analysis of allelopathy in vegetable cultivation I. Possibility of occurrence of allelopathy in vegetable cultivation. *Plants Tea Japanese*, 1992, **5**: 37~44.
- [20] Yu F L, Ma M H, Kong L S. Study on allelopathic effects of essential oil from *Artemisia ordosica*. *Acta Phytoecologica Sinica*, 1999, **23**(4): 345~350.

参考文献:

- [2] 潘开文, 吴宁, 潘开忠, 等. 关于建设长江上游生态屏障的若干问题的讨论. 生态学报, 2004, **24**(3): 617~629.
- [10] 孔垂华, 徐涛, 胡飞, 等. 环境胁迫下植物的化感作用及其诱导机制. 生态学报, 2000, **20**(5): 849~854.
- [13] 孔垂华, 胡飞, 陈雄辉, 等. 作物化感品种资源的评价利用. 中国农业科学, 2002, **35**: 1159~1164.
- [16] 孔垂华, 徐涛, 胡飞. 胜红蓟化感物质之间相互作用的研究. 植物生态学报, 1998, **22**(5): 403~408.
- [20] 于凤兰, 马茂华, 孔令韶. 油蒿挥发油的化感作用研究. 植物生态学报, 1999, **23**(4): 345~350.