

DOI: 10.5846/stxb201312172977

徐郑, 胡庭兴, 李仲彬, 陈洪, 王茜, 胡红玲. 不同生境条件下核桃凋落叶次生代谢物质的差异及其分解初期对小白菜光合生理特性的影响. 生态学报, 2015, 35(15): 5147-5156.

Xu Z, Hu T X, Li Z B, Chen H, Wang Q, Hu H L. Effect of secondary metabolites in *Juglans regia* leaf litter from different habitats on photosynthetic physiological characteristics of *Brassica chinensis* during early decomposing stage of leaf litter. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(15): 5147-5156.

不同生境条件下核桃凋落叶次生代谢物质的差异及其分解初期对小白菜光合生理特性的影响

徐 郑^{1,2}, 胡庭兴^{1,*}, 李仲彬¹, 陈 洪¹, 王 茜¹, 胡红玲¹

1 四川农业大学林学院, 四川省林业生态工程重点实验室, 雅安 625014

2 重庆市林业局, 重庆市退耕还林管理中心, 重庆 401147

摘要: 采用气质联用技术(GC-MS)分析了秦巴山区大巴山南坡和川西高山峡谷区两个不同生境条件下生长的核桃(*Juglans regia*)凋落叶中次生代谢物质的差异,并采用盆栽试验,研究了这两个地区核桃凋落叶分解对小白菜(*Brassica chinensis*)生长和光合生理特性的影响。试验设置 F0(0 g/pot)、F1(30 g/pot)、F2(60 g/pot)、F3(120 g/pot)和 F4(180 g/pot)5 个凋落叶施用水水平,分别将各处理的凋落叶与 8 kg 土壤混合后装盆,播种小白菜。分别于播种后 20、45 和 75 d 测定小白菜的生长指标,待凋落叶最高添加量处理组 F4 植株的第 3 片真叶完全展开后,测定小白菜的光合生理指标。结果表明:(1) 采用 GC-MS 共检测出 8 类 21 种相对含量>1%的次生代谢物质,其中,川西高山峡谷区核桃 7 类 15 种,相对含量总计 56.03%,秦巴山区大巴山南坡核桃 5 类 12 种,相对含量总计 51.46%。川西高山峡谷区核桃白藜芦醇、莽草醇、 β -桉叶醇、6,10,14-三甲基-2-十五烷酮、亚麻油酸、硬脂酸、十八醇、 γ -谷甾醇、豆甾-4-烯-3-酮等为报道较多的潜在化感物质,其相对含量高于秦巴山区大巴山南坡核桃,而角鲨烯、 δ -生育酚、黑麦草内酯等潜在的化感物质相对含量则低于秦巴山区大巴山南坡核桃;(2) 播种后 20 d 和 45 d,两个地区各添加量核桃凋落叶分解对小白菜生物量积累均产生显著的抑制作用,但 75 d 后效应减弱;(3) 在凋落叶分解初期,小白菜叶片光合色素合成受到明显抑制,且随着凋落叶添加量增加抑制作用增强,与此同时,净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)和蒸腾速率(T_r)也明显受到核桃凋落叶分解的抑制;(4) 总体来看,川西高山峡谷区核桃凋落叶化感作用大于秦巴山区大巴山南坡核桃凋落叶,这可能是由于前者经受较多的环境胁迫,体内积累了更多的酮类、烯烴、醇类和甾族化合物等化感物质造成的。

关键词: 核桃; 凋落叶; 次生代谢物; 化感作用; 小白菜; 光合生理

Effect of secondary metabolites in *Juglans regia* leaf litter from different habitats on photosynthetic physiological characteristics of *Brassica chinensis* during early decomposing stage of leaf litter

XU Zheng^{1,2}, HU Tingxing^{1,*}, LI Zhongbin¹, CHEN Hong¹, WANG Qian¹, HU Hongling¹

1 Key Laboratory of Forestry Ecological Engineering of Sichuan Province, College of Forestry, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China

2 Chongqing Forestry Bureau, Chongqing Returning Farmland to Forest Management Center, Chongqing 401147, China

Abstract: Walnut (*Juglans regia*) has been regarded as an allelopathic tree species for a long time. In the management of agroforestry systems which are able to take good advantage of land resources, the allelopathic effect of walnut on interplanting crops elicits increased concerns. However, the environmental factors may alter markedly the allelopathic effect of a plant. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used in the present study to identify and compare

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2011BAC09B05); 四川省“十二五”农作物育种攻关项目(2011NZ0098-10)

收稿日期: 2013-12-17; 网络出版日期: 2014-09-25

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: hutx001@aliyun.com

chemicals in walnut leaf litter collected from two different habitats, i. e., Qinba mountainous area (QMA) and high-mountain gorge area of West Sichuan (HGWS). A container experiment was performed to investigate the effects of the walnut leaf litter from these two regions on growth and photosynthetic characteristics of pakchoi (*Brassica chinensis*) during the early decomposing stage of the litter. Walnut leaf litter was applied at the rate of 0, 30, 60, 120, and 180 g of leaf litter per pot, resulting in five treatments: F0 (no leaf litter), F1, F2, F3, and F4. Each container was filled with 8 kg of soil mixed with corresponding amount of walnut leaf litter, and the pakchoi seeds were sowed. The growth indices of pakchoi were determined 20, 45, and 75 days after sowing, and the photosynthetic parameters were determined when the 3rd euphylla had emerged in almost all pakchoi seedlings exposed to treatment F4. The results were as follows: (1) Twenty-one compounds with a relative content no less than 1% were identified by GC-MS, which were classified into eight categories. Of them, 12 compounds with a relative content no less than 1% from five categories were identified from the QMA walnut leaf litter, representing 51.46% of the total chemicals, and 15 compounds with a relative content no less than 1% from seven categories were identified from the HGWS walnut leaf litter, representing 56.03% of the total chemicals. Some chemicals which were frequently reported to be allelochemicals, such as calarene, hinesol, beta-eudesmol, hexahydrofarnesylacetone, linolic acid, stearic acid, 1-octadecanol, gamma-sitosterol, and beta-sitostenone were detected in higher quantities in the HGWS walnut leaf litter compared to the relative content; while some other chemicals, such as squalene, delta-tocopherol, and loliolide were higher in the QMA walnut leaf litter. (2) The biomass of pakchoi significantly decreased in the treatments with walnut leaf litter regardless of the amount at 20 and 45 days after sowing; however, at 75 days after sowing, the inhibition effect of the litter decreased. (3) At the early decomposing stage, the contents of all photosynthetic pigments decreased progressively as the amount of leaf litter increased; simultaneously, the net photosynthetic rate (P_n), the stomatal conductance (G_s), and the transpiration rate (T_r) were significantly inhibited by the decomposing walnut leaf litter. (4) On the whole, the allelopathic effect of the HGWS walnut leaf litter was stronger than that of the QMA walnut leaf litter. It is hypothesized that walnut trees accumulate more allelochemicals (ketones, alkenes, alcohols, steroids, etc.) in the high-mountain gorge area of West Sichuan because of the more stressful environmental conditions, thereby exerting stronger allelopathic effect via decomposition of its leaf litter.

Key Words: walnut; leaf litter; secondary metabolites; allelopathic effect; pakchoi; photosynthetic physiology

植物化感作用是指植物或微生物产生并由枝、茎、叶、根等经挥发、淋溶、分泌、分解等途径向环境释放某些化学物质,从而影响周围植物及本身生长和发育的化学生态现象^[1]。化感作用是植物中普遍存在的一种化学生态机制,是其提高自身生存竞争力的化学手段,在自然生态系统和农业生态系统中起着重要作用^[2]。近年来,化感作用在农林复合生产实践,特别是混交林营造、人工林培育和林农间作中越来越受到重视^[3-4]。

核桃(*Juglans regia*)又名胡桃,属胡桃科(Juglandaceae)核桃属(*Juglans*)植物,在我国栽培历史悠久,分布广泛,资源丰富^[5]。据报导核桃是典型的化感植物,其枝叶、青皮和根分泌的胡桃醌(5-羟基苯醌)对周围植物生长和发育有毒害作用^[6-7]。核桃化感作用的研究一直是生态研究的热点,国内外许多学者对核桃的化感成分进行了鉴定^[8-9],并对核桃叶、青皮等水浸提液^[10-12]、有机溶剂浸提液^[13]的化感效应进行了研究。但是,不同生境条件下核桃凋落物次生代谢物状况,其化感作用是否有差异,目前尚未见报道。

我国秦巴山区大巴山南坡气候温和、四季分明,适宜于核桃生长,其伴生植物较多;而川西高山峡谷区自然条件相对恶劣,旱季、低温持续时间长,环境胁迫频繁,核桃多为该生态系统的优势树种。李国和等^[14]分析了生态因子与核桃脂肪性状和脂肪酸组成的典型相关性,陈良华等^[15]和 Xu 等^[16]等通过分子标记,对秦巴山区大巴山南坡和川西高山峡谷区核桃遗传多样性的差异进行了研究,表明两地不同的生境条件对核桃营养物质和遗传多样性产生了不同的影响,核桃器官尤其是以叶片为主的凋落物中的次生代谢物的组成和含量可能也由此产生差异,其对邻体植物产生的化感作用可能也存在差异。本研究拟采用接近自然状态的方法,通过

盆栽试验,在分别在混有秦巴山区大巴山南坡和川西高山峡谷区两地核桃凋落叶的土壤中种植小白菜,探讨核桃凋落叶在土壤中分解过程中对受体植物的作用及其机理,以及不同生境条件对核桃凋落叶次生代谢物质和化感效应的可能产生的影响,为核桃与农作物复合种植以及核桃凋落叶的管理提供理论依据和参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供体

选择川西高山峡谷区和秦巴山区大巴山南坡 20 年生核桃凋落叶作为供体。川西高山峡谷区干旱河谷海拔 2600 m 以下,年平均气温 $<10^{\circ}\text{C}$,年降水量 500—800 mm,旱雨季分明,旱季长达 7 个月以上,年日照 2000—2600 h。秦巴山区大巴山南坡属亚热带季风气候,年平均气温为 14.9°C — 18.4°C ,日照为 1400—1600 h,无霜期 223—290 d,年降水量为 1000—1200 mm,气候温和,四季分明。2012 年 9 月底在核桃林下搜集近期自然凋落到地面上干净的、未分解的核桃叶,取回后风干剪成 1 cm^2 左右的小块,充分混匀,贮存备用。

1.1.2 受体

选择四川各地广泛栽植的园地植物四季小白菜 (*Brassica chinensis*),该作物常种植于核桃、板栗 (*Castanea mollissima*) 和柑橘 (*Citrus reticulata*) 等经济林树种邻近或树下。播种前,选择饱满、大小均一的种粒,晒种 1 d, 0.1% HgCl_2 消毒,待用。

1.1.3 栽植容器与土壤

采用统一规格的聚乙烯塑料盆(口径 29 cm、盆高 25 cm)。土壤选择农耕土(沙壤, pH 值 7.85,有机质 24.382 g/kg,全氮 0.662 g/kg,全磷 0.665 g/kg,全钾 5.571 g/kg,速效磷 14.726 mg/kg,速效钾 16.146 mg/kg),用 1 cm 筛除去大块石砾和草根。

1.2 试验设计

1.2.1 核桃凋落叶主要化学成分的 GC-MS 分析

分别将两地凋落叶干样粉碎,以酒精为浸提剂,用超声波清洗仪提取后浓缩得到样品,采用气相色谱-质谱法(GC-MS),通过 Agilent Chemstation 化学工作站检索 Nist 标准质谱图库确认化学成分,对匹配指数(Qual) 90 以上的化合物进行鉴定,并用峰面积计算各组分相对百分含量。

1.2.2 盆栽试验

本试验中川西高山峡谷区核桃(以下简称川西核桃)与秦巴山区大巴山南坡核桃(以下简称秦巴核桃)凋落叶处理盆栽试验同步进行,处理方式相同。试验于 2012 年 10 月至 2013 年 1 月在雅安市四川农业大学教学科研园区进行,采用单因素随机试验设计。根据野外调查,成熟的核桃叶年凋落量约 8500 kg/hm^2 ,折算到试验所用钵盆口面积上约 60 g,故采用 60 g/盆作为基本施入量(F2)。由于自然及人为干扰因素,不同地块上核桃凋落叶积累量存在差异,因此另设 F1(30 g/盆)、F3(120 g/盆)和 F4(180 g/盆)3 个凋落叶处理水平,对照不施加凋落叶(F0,0 g/盆)。每处理重复 6 次。10 月 18 日,分别将各处理凋落叶与 8 kg 土壤均匀混合装入盆中,适量浇水浸湿表土,每盆均匀点播小白菜种子 50 粒,覆土 1 cm,浇透水。之后,每 2 d 采用 HH2 便携式土壤水分测定仪(ML2x,GBR)监测土壤含水量,将土壤体积含水量(SWC)控制在 18% 左右。待各处理种子全部出芽后间苗 1 次,首次取样(含匀苗)后保留 20 株,第 2 次取样后保留 12 株,第 3 次取样后保留 8 株,最终每盆保留 5 株。

1.3 指标测定及方法

2012 年 11 月 7 日、12 月 2 日和 2013 年 1 月 1 日(对应为出苗后 20、45 d 和 75 d),分别随机抽取各处理小白菜每盆 5 株,去除根系后称重,测定其地上部分鲜重生物量。同时,于 2012 年 12 月 2 日,采用 Li-6400 便携式光合测定仪(Li-Cor Inc., USA),人工控制 CO_2 浓度 $400\mu\text{mol/mol}$ 、温度 25°C 、光照强度 $1500\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$,测定净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、气孔导度(G_s)和胞间 CO_2 浓度(C_i),重复 3 次。将测定了光合作用的

叶片带回实验室,采用丙酮-乙醇混合液提取法^[17]测定叶片光合色素含量。

1.4 数据处理

采用 Williamson 和 Richardson^[18]的方法计算化感作用敏感指数 RI : $RI = 1 - C/T$ ($T \geq C$) 或 $RI = T/C - 1$ ($T < C$) (C 为对照值; T 为处理值。当 $RI > 0$ 时,表示促进作用;当 $RI < 0$ 时,表示抑制作用。 RI 绝对值的大小代表化感作用强度)。

采用 SPSS16.0 统计分析软件 (SPSS Inc., USA) 进行单因素方差分析 (One-way ANOVA), 并用 Duncan 氏新复极差法 (SSR 法) 进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同生境条件下的核桃凋落叶中次生代谢物的差异

GC-MS 检测显示,秦巴核桃凋落叶中主要的有机小分子物质 (相对含量 $> 1\%$) 有 12 种,相对含量总和为 51.46%,其中萜类物质 4 种,相对含量 23.35%,酚类物质 2 种,相对含量 5.58%,甾族化合物 2 种,相对含量 9.4%;川西核桃凋落叶中主要的有机小分子物质 (相对含量 $> 1\%$) 有 15 种,相对含量总和为 56.03%,其中萜类物质 5 种,相对含量 14.42%,酚类物质 1 种,相对含量 3.88%,甾族化合物 2 种,相对含量 11.93%,酮类化合物 1 种,相对含量 1.11%。表明川西核桃体内次生代谢物质的种类和相对含量总和均高于秦巴核桃,化感潜力可能更大 (表 1)。

表 1 秦巴山区大巴山南坡和川西高山峡谷区核桃凋落叶中次生代谢物质对比

Table 1 The chemical constituents in the leaf litter from Qinba mountainous area (QMA) and high-mountain gorge area of West Sichuan (HGWS)

保存时间 Retention time/min	化合物 Compound	类别 Grouped components	分子式 Molecular formula	相对含量 Relative content/%	
				川西核桃 HGWS walnut leaf litter	秦巴核桃 QMA walnut leaf litter
19.25	Calarene 白菖油萜	$C_{15}H_{24}$	萜类	1.82	<1
19.49	Hinesol 茅苍术醇	$C_{15}H_{26}O$	萜类	1.36	<1
19.82	beta-Eudesmol β -桉叶醇	$C_{15}H_{26}O$	萜类	4.76	
19.89	alpha-Eudesmol α -桉叶醇	$C_{15}H_{26}O$	萜类		1.79
23.03	Loliolide 黑麦草内酯	$C_{11}H_{16}O_3$	酯类		1.15
25.00	Hexahydrofarnesylacetone 6, 10, 14-三甲基-2-十五烷酮	$C_{18}H_{36}O$	酮类	1.11	<1
28.60	Palmitic acid 棕榈酸	$C_{16}H_{32}O_2$	脂肪酸	7.15	9.12
32.60	Phytol 叶绿醇	$C_{20}H_{40}O$	萜类	2.43	3.01
33.21	Linolic acid 亚麻油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	脂肪酸	1.61	
33.36	Oleic acid 油酸	$C_{18}H_{34}O_2$	脂肪酸	4.20	
33.87	Stearic acid 硬脂酸	$C_{18}H_{36}O_2$	脂肪酸	2.32	1.61
43.85	1-Docosene 1-二十二烯	$C_{22}H_{44}$	烯烃	2.89	<1
46.35	Squalene 角鲨烯	$C_{30}H_{50}$	萜类	4.05	16.30
47.27	4-pregnen-20- α -ol-3-one N/A	$C_{21}H_{32}O_2$	甾族化合物		1.49
47.59	hencicosyl formate N/A	$C_{22}H_{44}O_2$	酯类		1.26
47.62	1-Octadecanol 十八醇	$C_{18}H_{38}O$	醇类	6.52	
48.52	delta-tocopherol δ -生育酚	$C_{27}H_{46}O_2$	酚类	<1	2.71
52.26	VitaminE 维生素 E	$C_{29}H_{50}O_2$	酚类	3.88	2.88
57.01	gamma-sitosterol γ -谷甾醇	$C_{29}H_{50}O$	甾族化合物	10.42	7.91
58.03	Cycloeucaleanol 环桉树醇	$C_{30}H_{50}O$	萜类		2.25
61.40	beta-sitostenone 豆甾-4-烯-3-酮	$C_{29}H_{48}O$	甾族化合物	1.51	
所有化合物相对含量总和				56.03	51.46

图中仅列出相对含量大于 1% 的物质,“相对含量”指各组分在 GC-MS 分析中出峰面积占总峰面积的比例

2.2 不同生境条件下的核桃凋落叶分解对小白菜生物量的影响

播种后 20 和 45 d,各添加量核桃凋落叶处理下,小白菜地上部分鲜重均显著低于对照 ($P < 0.05$),但两地

核桃凋落叶对小白菜生长的影响程度存在差异(图1)。秦巴核桃凋落叶4种剂量处理在20 d时的 RI 值分别为-0.669、-0.852、-0.836 和-0.901,45 d 时的 RI 值分别为-0.225、-0.694、-0.583 和-0.681;川西核桃凋落叶4种剂量处理在20 d 时的 RI 值分别为-0.520、-0.877、-0.917 和-0.914,45 d 时的 RI 值分别为-0.394、-0.788、-0.823 和-0.878。75 d 时,秦巴核桃凋落叶的抑制作用已经相对不明显,其 RI 值分别为-0.086、-0.089、-0.208 和-0.032;而川西核桃凋落叶在 F1 处理下鲜重相对 CK 有所增加($RI>0$),其余各处理则表现为抑制作用, RI 分别为 0.024、-0.532、-0.659、-0.553。表明川西核桃凋落叶对小白菜生物量的抑制作用大于秦巴核桃的影响(图1)。

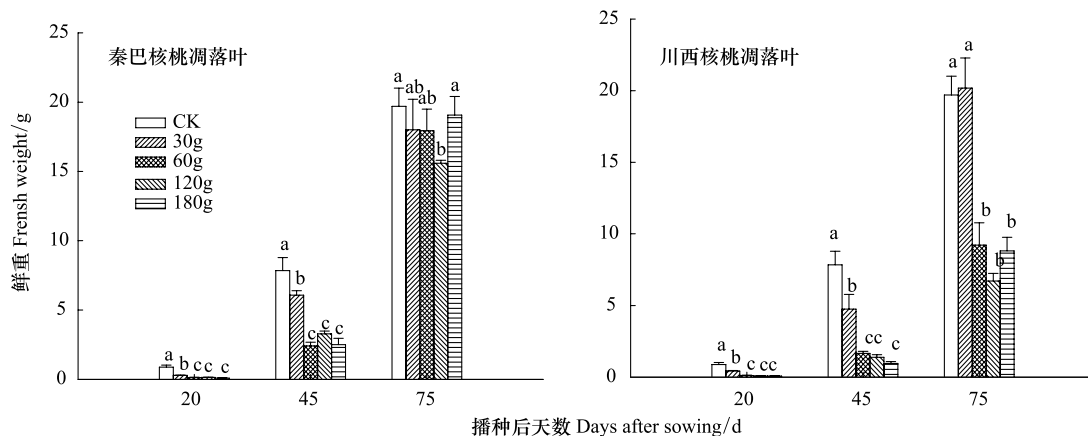


图1 不同添加量的两地核桃凋落叶分解对小白菜地上部分鲜重的影响

Fig.1 The aboveground fresh weight of pakchoi as affected by different doses of decomposing walnut leaf litter from QMA and HGWS

2.3 不同生境条件下的核桃凋落叶分解对小白菜光合色素含量的影响

由表2可见,秦巴核桃凋落叶分解对小白菜叶片光合色素含量有明显抑制作用,在低量处理(F1)下,其叶绿素总量(Chl (a+b))、叶绿素a(Chl a)、叶绿素b(Chl b)和类胡萝卜素(Car)含量已显著低于CK($P<0.05$),到F2处理后抑制作用更加明显,与CK相比,F2处理的叶片Chl (a+b)、Chla、Chlb和Car分别降低了26.8%、26.4%、28.6%和25.2%,但F2、F3和F4处理彼此差异不显著($P>0.05$);川西核桃凋落叶各处理水平小白菜叶片的Chl (a+b)、Chl a、Chl b和Car则表现为F1处理与CK差异不显著($P>0.05$),其余剂量处理显著低于CK($P<0.05$),表现出明显抑制作用。F1处理的叶片Chl (a+b)、Chla、Chlb和Car分别相对于CK升高了2.5%、2.5%、2.7%和2.4%,而F4处理的叶片分别相对于CK降低了25.2%、24.8%、26.9%和23.7%。总体来看,两地核桃凋落叶处理均表现为对Chl b的抑制作用强于对Chl a的抑制作用,总体上在F1、F2和F3处理下,秦巴核桃叶对小白菜光合色素含量的抑制作用强于川西核桃叶,而在F4处理下,秦巴核桃叶对小白菜光合色素含量的抑制作用弱于川西核桃叶。

2.4 不同生境条件下的核桃凋落叶分解对小白菜净光合速率和气体交换参数的影响

由表3可以看出,随着川西核桃凋落叶施入量的增加,各处理小白菜叶片净光合速率 P_n 、气孔导度 G_s 和蒸腾速率 T_r 呈现下降趋势且均表现为抑制作用($RI<0$),其中F4处理抑制作用最强,其 P_n 、 G_s 和 T_r 分别比CK减少了30.4%、30.8%和28.1%,而胞间 CO_2 浓度 C_i 则差异不显著($P>0.05$);秦巴核桃凋落叶在F1处理下对小白菜的 P_n 、 G_s 、 T_r 和 C_i 均表现为促进作用($RI>0$),在F2、F3和F4处理下对小白菜的 C_i 仍表现出促进作用,但对其 P_n 、 G_s 和 T_r 表现为抑制作用且与CK差异显著($P<0.05$),F4处理的抑制作用最强,此时小白菜的 P_n 、 G_s 和 T_r 分别比CK减少了18.1%、18.5%和15.6%。相比之下,川西核桃凋落叶分解对小白菜净光合速率和气体交换参数的影响更为明显。

表 2 秦巴核桃和川西核桃凋落叶处理对小白菜光合色素含量的影响

处理 Treatments	叶绿素 a Chlorophyll a (mg/g 鲜重)				叶绿素 b Chlorophyll b (mg/g 鲜重)				叶绿素总量 Total chlorophyll (mg/g 鲜重)				类胡萝卜素 Carotenoids (mg/g 鲜重)			
	秦巴核桃		川西核桃		秦巴核桃		川西核桃		秦巴核桃		川西核桃		秦巴核桃		川西核桃	
	QMA walnut leaf litter	R/ walnut leaf litter	HCWS walnut leaf litter	R/ walnut leaf litter	QMA walnut leaf litter	R/ walnut leaf litter	HCWS walnut leaf litter	R/ walnut leaf litter	QMA walnut leaf litter	R/ walnut leaf litter	HCWS walnut leaf litter	R/ walnut leaf litter	QMA walnut leaf litter	R/ walnut leaf litter	HCWS walnut leaf litter	R/ walnut leaf litter
CK	0.861±0.021a	—	0.861±0.021a	—	0.186±0.004a	—	0.186±0.004a	—	1.0475±0.0250a	—	1.0475±0.0250a	—	0.2389±0.0058a	—	0.2389±0.0058a	—
F1	0.697±0.033b	-0.191	0.883±0.068a	0.025	0.148±0.008b	-0.206	0.191±0.016a	0.027	0.8450±0.0404b	-0.1934	1.0742±0.0839a	0.0255	0.1953±0.0083b	-0.1823	0.2447±0.0178a	0.0242
F2	0.634±0.016c	-0.264	0.787±0.016b	-0.086	0.133±0.004c	-0.286	0.169±0.004b	-0.092	0.7665±0.0191c	-0.2683	0.9563±0.0198b	-0.0871	0.1787±0.0041c	-0.2521	0.2192±0.0044b	-0.0823
F3	0.666±0.039bc	-0.227	0.704±0.028c	-0.182	0.140±0.009bc	-0.246	0.149±0.007c	-0.198	0.8060±0.0479bc	-0.2306	0.8536±0.0346c	-0.1852	0.1871±0.0105bc	-0.2167	0.1974±0.0073c	-0.1735
F4	0.663±0.027bc	-0.231	0.647±0.042c	-0.248	0.140±0.006bc	-0.249	0.136±0.010c	-0.269	0.8025±0.0326bc	-0.2339	0.7836±0.0520c	-0.2519	0.1863±0.0072bc	-0.2201	0.1823±0.0108c	-0.2368

数据为平均值±标准差 (n=3); 同列具有相同字母标记的数字间无显著差异; R/: 敏感指数

表 3 两个地区不同添加量核桃凋落叶分解对小白菜净光合速率和气体交换参数的影响

处理 Treatments	光合速率 Net photosynthetic rate/ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)				气孔导度 Stomatal conductance/ ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)				胞间 CO_2 浓度 Intercellular CO_2 concentration/ ($\text{mmol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$)				蒸腾速率 Transpiration rate/ ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)			
	秦巴核桃		川西核桃		秦巴核桃		川西核桃		秦巴核桃		川西核桃		秦巴核桃		川西核桃	
	QMA walnut leaf litter	R/ walnut leaf litter	HCWS walnut leaf litter	R/ walnut leaf litter	QMA walnut leaf litter	R/ walnut leaf litter	HCWS walnut leaf litter	R/ walnut leaf litter	QMA walnut leaf litter	R/ walnut leaf litter	HCWS walnut leaf litter	R/ walnut leaf litter	QMA walnut leaf litter	R/ walnut leaf litter	HCWS walnut leaf litter	R/ walnut leaf litter
CK	12.92±0.22 b	—	12.92±0.22 a	—	0.18±0.03 b	—	0.18±0.03 a	—	240.4±9.0 b	—	252.5±19.2 ab	—	1.85±0.22 b	—	1.85±0.22 a	—
F1	14.89±1.77 a	0.152	11.40±1.77 b	-0.118	0.23±0.00 a	0.268	0.17±0.00 a	-0.056	279.3±12.2 a	0.162	249.5±29.3 b	-0.012	2.20±0.04 a	0.188	1.71±0.03 ab	-0.077
F2	11.51±1.07 c	-0.109	11.59±1.09 a	-0.103	0.17±0.03 b	-0.065	0.15±0.03 a	-0.159	251.2±2.9 b	0.045	259.6±8.8 ab	0.028	1.73±0.23 c	-0.062	1.61±0.27 ab	-0.128
F3	11.09±1.59 c	-0.141	9.32±1.07 c	-0.278	0.15±0.03 b	-0.130	0.14±0.04 b	-0.185	249.1±13.7 b	0.036	264.9±10.0 ab	0.049	1.63±0.28 bc	-0.118	1.56±0.34 b	-0.154
F4	10.58±0.29 d	-0.181	8.99±0.23 c	-0.304	0.15±0.04 b	-0.185	0.12±0.01 b	-0.308	260.5±27.9 b	0.083	267.1±4.7 a	0.058	1.56±0.35 bc	-0.156	1.33±0.06 c	-0.281

R/: 敏感指数

3 讨论

3.1 不同生境条件下的核桃凋落叶分解对小白菜生长的影响

本试验表明,两地核桃凋落叶在分解到 20 d 和 45 d 时,各处理剂量下,小白菜的地上部分鲜重均显著低于 CK,表现出凋落叶施入量越大抑制作用越强的规律,到 75 d 时,可能由于凋落叶分解释放的化感物质减少且不断释放养分,秦巴核桃叶片各处理与 CK 间差异已经不显著,而川西核桃叶片除 F1 处理外,其余各处理仍然处于明显的受抑制状态,但相比于 20 d 和 45 d,抑制作用也有一定的减缓。这说明核桃凋落叶分解释放化感物质和产生化感作用具有时间效应和浓度效应。这与核桃根系提取物对白菜 (*Brassica rapa*)^[19],以及巨桉凋落叶分解的化感作用研究结果一致^[20-22]。在本研究中,没有观察到受体生物量在低剂量处理下受到促进,即所谓的低促高抑的现象,与前人利用核桃青皮的水提液^[10-12]、有机溶剂浸提液^[13]以及核桃醌^[23-24]的研究结果不同。造成这种差异的原因可能有两个方面:一是在水浸提过程中,已有大量营养物质从凋落物中浸出,因而在浸提液水培初期,受体幼苗能吸收到较丰富的养料,营养成分对受体生长的促进作用大于化感物质的抑制作用;二是供体器官不同,其所含化感物质的种类和量有差异,可能对不同的受体植物作用时间也不同。

3.2 不同生境条件下的核桃凋落叶分解对小白菜光合生理的影响

本研究表明,两地核桃凋落叶在分解过程中均抑制了小白菜叶片气孔的开放和蒸腾作用(表 3),特别在 F2、F3 和 F4 处理下的 G_s 较低,气孔限制值较高,因而不利于水分和气体扩散,致使 T_r 下降,最终导致 P_n 的降低,这与郁继华等^[25]和吴秀华等^[21]的研究结果一致。Farquhar 和 Sharkey^[26]的观点则是只有当 P_n 和 G_s 、 C_i 的变化方向相同,同时降低,才能认为主要是气孔因素引起的。本试验中, P_n 和 G_s 受抑制降低,而 C_i 并未降低,部分处理下甚至表现为有所升高,表明核桃凋落叶在分解中并不主要通过气孔因素来影响小白菜光合作用,可能也通过非气孔因素影响受体的光合反应和光合酶活性^[27,28]。本试验也的确发现,除较低剂量下川西核桃凋落叶处理(F1)以外,其余各水平凋落叶处理的小白菜光合色素含量均受到了抑制。

川西核桃凋落叶分解对小白菜 P_n 的抑制程度大于秦巴核桃凋落叶,其对小白菜叶片 G_s 和 T_r 的抑制作用更是在各处理剂量下均大于秦巴核桃。这表明,小白菜在整个生长过程中受到川西核桃凋落叶分解的化感抑制作用更强,这与其形态指标上的观察结果相吻合。至于川西核桃凋落叶对叶绿素的抑制作用低于秦巴核桃,但对光合的抑制作用又强于秦巴核桃,可能叶绿素含量并不是决定植物光合能力的唯一因素,鲁美娟等^[29]就发现,酸雨并不是通过叶绿素而是通过内在生理生化过程及光的利用来影响刨花楠 (*Machilus pauhoi*) 的光合作用,许大全^[30]也指出只有在弱光下,叶绿素含量与光合速率间才具有良好的线性关系,而在饱和和光下,光合速率的高低往往与叶绿素含量无关。因此在本试验中,川西核桃凋落叶可能在除叶绿素以外的其他非气孔因素上的作用强于秦巴核桃凋落叶。

3.3 不同生境条件下的核桃凋落叶化感物质成分的差异

本试验从秦巴核桃和川西核桃凋落叶中,共检测出 8 类 21 种相对含量>1%的次生代谢物质,其中,萜类物质 7 种,脂肪酸 4 种,甾族化合物 3 种,酚类 2 种,酯类 2 种,醇类 1 种,酮类 1 种,烯烃 1 种。根据 Rice^[31]对化感物质的分类,本研究检测出的 8 类相对含量>1%的次生代谢物质都具有化感潜力,其中,川西核桃 7 类,相对含量 56.03%;秦巴核桃 5 类,相对含量 51.46%。川西核桃酮类、脂肪酸、烯烃、醇类和甾族化合物的相对含量均高于秦巴核桃,而酚类、萜类、酯类则低于秦巴核桃。

在川西核桃相对含量低于秦巴核桃的次生代谢物质中,最为明显的是角鲨烯(川西核桃相对含量为 4.05%,秦巴核桃相对含量为 16.30%),但川西核桃凋落叶对受体植物却表现出上述更强的化感效应。可能的原因是:(1)根据 Guil-Guerrero^[32]和 Kim^[33]的研究,角鲨烯对植物不但没有毒性反而具有一定的益处,如抗氧化和保护细胞的作用,因此,角鲨烯可能并不是核桃凋落叶的主要化感物质;(2)角鲨烯可进一步衍生为谷甾醇^[32-35],而谷甾醇被氧化可变成化感活性较高的谷甾酮^[36]。因此,川西核桃可能由于环境胁迫,叶片中部分

角鲨烯衍生为谷甾醇及其他化合物,导致其体内角鲨烯相对含量降低,谷甾醇相对含量增大(川西核桃 10.42% > 秦巴核桃 7.91%),同时,谷甾醇进一步被氧化为谷甾酮(最终在川西核桃叶中检测出相对含量 1.51% 的豆甾-4-烯-3-酮($C_{29}H_{48}O$))。酚类主要是 δ -tocopherol(δ -生育酚),是高等植物的必须营养素之一,具有抗氧化的功能^[37],尚未见其化感作用相关的研究报道;酯类主要是 hencicosyl formate 和 Lolilide(黑麦草内酯),具有一定的化感效应^[38-39]。

在两地区核桃凋落叶中,川西核桃相对含量高于秦巴核桃的 5 类物质中,白菖油萜^[40]、茅苍术醇、 β -桉叶醇^[41]、6,10,14-三甲基-2-十五烷酮^[42]、亚麻油酸^[43]、硬脂酸^[44]、十八醇^[45]、 γ -谷甾醇^[46]和豆甾-4-烯-3-酮^[47]经研究都具有一定的化感效应,这些物质可能正是川西核桃凋落叶化感作用强于秦巴核桃凋落叶的物质基础。

3.4 不同生境条件下的核桃凋落叶化感效应差异的原因

环境因子(气候、光、温、水、营养、土壤结构和理化条件等)不同,核桃的生理生化响应可能不同而导致其次生代谢过程和产物的变化^[48],从而影响到核桃的化感作用强弱。川西高山峡谷区气温较低,降水量小,土壤瘠薄,但日照却比秦巴山区大巴山南坡多出 1000—1400 h,这些因素可能导致川西核桃叶片积累更多具有较强化感作用的次生物质。在环境胁迫条件下,植物通过物理手段与其它植物竞争有限资源的能力大为降低,其自身的化学的方法就上升为竞争的重要手段^[2]。有研究表明,植物生境对化感作用的表达有显著的影响,植物在干旱、缺肥等环境胁迫条件下生长缓慢、体内次生代谢物质多;一方面,植物可通过释放化感物质的方式抑制周围其它植物的生长,从而提高其对养分、水分等的相对竞争能力;另一方面,有些化感物质(如酚类、酸类物质)有助于植物吸收 N、P 以及金属离子等营养元素,提高植物的抗逆性^[49-50],从而增加了植物在逆境条件下的相对竞争能力。而在较好的自然条件下,植物生长较快且次生代谢物质较少^[51-52]。另外,控制化感物质的 DNA 序列和蛋白质表达在两地核桃间可能存在差异。两地核桃经过环境的长期作用,分别适应了当地的自然环境,最终表现出遗传上的差异。李国和等^[14]研究表明,秦巴核桃和川西核桃的脂肪含量差异显著($P < 0.05$),饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸也存在不同程度的差异;Xu 等^[16]运用 RAPD、AFLP 分子标记,证实了秦巴核桃和川西核桃遗传多样性的差异,川西核桃平均遗传距离 $GD = 0.266$,秦巴核桃平均遗传距离 $GD = 0.206$,这种遗传性状的差异可能也表现在其体内次生代谢物质上的不同,最终导致其对小白菜的化感效应不同。

综上所述,秦巴山区大巴山南坡和川西高山峡谷区核桃凋落叶在分解过程中抑制了小白菜的光合作用和形态生长。但是,由于生境条件的差异,川西核桃凋落叶次生代谢物质种类和相对含量均高于秦巴核桃,导致川西核桃凋落叶化感效应比秦巴核桃凋落叶更强,持续时间也更长。在开展农林复合种植的生产实践中,应尽量避免较多的核桃凋落叶翻耕进入土壤,同时辅之以合理的水肥管理。同时本研究表明,在凋落叶较少的核桃林下间作小白菜是可行的。

参考文献(References):

- [1] Rice E L. Allelopathy. New York: Academic Press, 1974: 166-179.
- [2] 孔垂华, 胡飞. 植物化感(相生相克)作用及其应用. 北京: 中国农业出版社, 2001: 168-181.
- [3] 彭少麟, 邵华. 化感作用的研究意义及发展前景. 应用生态学报, 2001, 12(5): 780-786.
- [4] 张健, 杨万勤. 短轮伐期巨桉人工林生态系统. 成都: 四川科技出版社, 2008: 61-66.
- [5] 火树华. 树木学(第二版). 北京: 中国林业出版社, 1992: 12.
- [6] Jose S, Gillespie A R. Allelopathy in black walnut (*Juglans nigra* L.) alley cropping II. Effects of juglone on hydroponically grown corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L. Merr.) growth and physiology. Plant and Soil, 1998, 203: 199-206.
- [7] Jose S, Gillespie A R. Allelopathy in black walnut (*Juglans nigra* L.) alley cropping I. Spatio-temporal variation in soil juglone in a black walnut-corn (*Zea mays* L.) alley cropping system in the midwestern USA. Plant and Soil, 1998, 203: 191-197.
- [8] Pereira J A, Oliveira I, Sousa A, Ferreira I C, Bento A, Estevinho L. Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(6): 2103-2111.

- [9] 姚焕英,唐静成,张鞅灵,胥耀平. 核桃属植物化学成分及生物活性研究. 西北植物学报, 2003, 23(9): 1650-1655.
- [10] 张凤云,翟梅枝,毛富春,赵彬希. 核桃青皮提取物对几种作物幼苗生长的影响. 西北农业学报, 2005, 14(1): 62-65.
- [11] 翟梅枝,高小红,赵彩霞,黄钰铃. 核桃枝叶水溶物的化感作用研究. 西北农业学报, 2006, 15(3): 179-182.
- [12] 王婷,翟梅枝,贾彩霞,张瑞启. 核桃青皮中次生代谢物质的化感活性研究. 西北林学院学报, 2008, 23(3): 160-162.
- [13] 赵彩霞. 核桃青皮化感作用的初步研究 [D]. 西安: 西北农业科技大学, 2006.
- [14] 李国和,杨冬生,胡庭兴. 四川省不同产地核桃脂肪酸含量的变化. 林业科学, 2007, 43(5): 36-41.
- [15] 陈良华,胡庭兴,张帆,李国和. 用 AFLP 技术分析四川核桃资源的遗传多样性. 植物生态学报, 2008, 32(6): 155-165.
- [16] Xu Z, Hu T X, Zhang F. Genetic diversity of walnut revealed by AFLP and RAPD markers. Journal of Agricultural Science, 2012, 4(7): 271-276.
- [17] 张宪政. 植物生理学实验技术. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1989: 71-74.
- [18] Williamson G B, Richardson D. Bioassays for allelopathy: measuring treatment responses with independent controls. Journal of Chemical Ecology, 1988, 14(1): 181-187.
- [19] 晏婷,翟梅枝,王元,郝飞. 核桃根系提取物对 3 种植物种子萌发和幼苗生长的化感作用. 华中农业大学学报, 2012, 31(6): 59-65.
- [20] 陈洪,胡庭兴,杨万勤,吴秀华,尹丽,李彬,米小华,曾凡明,弓平. 巨桉凋落叶分解初期对老芒麦幼苗生长和抗性生理的影响. 草业学报, 2011, 20(5): 57-65.
- [21] 吴秀华,胡庭兴,杨万勤,陈洪,胡红玲,涂利华,泮永祥,曾凡明. 巨桉凋落叶分解对菊苣生长及光合特性的影响. 应用生态学报, 2012, 23(1): 1-8.
- [22] 李羿桥. 巨桉凋落叶分解过程中养分和化感物质释放及其对三种草种的化感效应研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2013.
- [23] 潘丹,翟明普,李晓艳. 核桃醌对黄芩种子萌发和幼苗生长的影响. 中国农学通报, 2010, 26(17): 132-136.
- [24] 郝飞,翟梅枝,王元,晏婷. 胡桃醌对小麦种子萌发及幼苗生长的化感效应. 西北植物学报, 2012, 32(3): 518-524.
- [25] 郁继华,张韵,牛彩霞,李建建. 两种化感物质对茄子幼苗光合作用及叶绿素荧光参数的影响. 应用生态学报, 2006, 17(9): 1629-1632.
- [26] Farquhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis. Annual Review of Plant Physiology, 1982, 33: 317-345.
- [27] 柴强,黄高宝. 植物化感作用的机理、影响因素及应用潜力. 西北植物学报, 2003, 23(3): 509-515.
- [28] Hartley I P, Armstrong A F, Murthy R, Barron-Gafford G, Ineson P, Atkin O K. The dependence of respiration on photosynthetic substrate supply and temperature: Integrating leaf, soil and ecosystem measurements. Global Change Biology, 2006, 12(10): 1954-1968.
- [29] 鲁美娟,江洪,李巍,余树全,曾波,蒋馥蔚,李佳,金清. 模拟酸雨对刨花楠幼苗生长和光合生理的影响. 生态学报, 2009, 29(11): 5986-5994.
- [30] 许大全. 叶绿素的含量测定及其应用中的几个问题. 植物生理学通讯, 2009, 45(9): 896-898.
- [31] Rice E L. Allelopathy. Orlando, FL: Academic Press, 1984.
- [32] Guil-Guerrero J L, Garcia-Maroto F, Campra-Madrid P, Gomez-Mercado F. Occurrence and characterization of oils rich in g-linolenic acid Part II: fatty acids and squalene from Macaronesian *Echium* leaves. Phytochemistry, 2000, 54: 525-529.
- [33] Kim S K. Marine Medicinal Foods: Implications and Applications-Animals and Microbes. New York: Academic Press, 2012: 224-225.
- [34] Bennett R D, Heftmann E. In vivo conversion of squalene to β -sitosterol. Phytochemistry, 1965, 4(3): 475-479.
- [35] Xu R, Fazio G C, Matsuda, S P. On the origins of triterpenoid skeletal diversity. Phytochemistry, 2004, 65(3): 261-291.
- [36] Mekhtiev A R, Misharin A L. Biological activity of phytosterols and their derivatives. Biochemistry (Moscow) Supplement Series B. Biomedical Chemistry, 2008, 2(1): 1-17.
- [37] Sattler S E, Gilliland L U, Magallanes-Lundback M, Pollard M, DellaPenna D. Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination. Plant Cell, 2004, 16(6): 1419-1432.
- [38] Sampathkumar S, Ramakrishnan N. GC-MS analysis of *Naringi crenulata* (ROXB.) Nicols. leaves. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 2011, 4: 146-148.
- [39] Ana L A. Allelopathy as a tool in the management of biotic resources in agroecosystems. Critical Reviews in Plant Sciences, 1999, 18(6): 697-739.
- [40] Mehmet D K, Fatih O. Allelopathic role of essential oils in sunflower stubble on germination and seedling growth of the subsequent crop. International Journal of Agriculture & Biology, 2013, 15(2): 337-341.
- [41] 郭兰萍,黄璐琦,蒋有绪,陈保冬,朱永官,曾燕,付桂芳,付梅红. 苍术根茎及根际土水提取物生物活性研究及化感物质的鉴定. 生态学报, 2006, 26(2): 528-535.
- [42] Seyed M R, Samad N E. Phytochemical analysis and allelopathic activity of essential oils of *Echallium elaterium* A. Richard growing in Iran. Natural Product Research, 2010, 24(18): 1704-1709.
- [43] Gross E M. Allelopathy of Aquatic Autotrophs. Critical Reviews in Plant Sciences, 2003, 22(3): 313-339.

- [44] Yu J Q, Yoshihisa M. Phytotoxic substances in root exudates of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Chemical Ecology*, 1994, 20(1): 21-31.
- [45] Zhai C M, Song S, Zou S H, Liu C H, Xue Y R. The mechanism of competition between two bloom-forming *Microcystis* species. *Freshwater Biology*, 2013, 58(9): 1831-1839
- [46] Baruah N C, Sarma J C, Sarma S, Sharma R P. Seed germination and growth inhibitory cadinenes from *Eupatorium adenophorum* Spreng. *Journal of Chemical Ecology*, 1994, 20(8): 1885-1892.
- [47] Li H T, Ruan S W, Huang J C, Chen H L, Chen C Y. Antioxidant and tyrosinase inhibitor from *Leucaena leucocephala*. *African Journal of Biotechnology*, 2012, 77(11): 14182-14185.
- [48] Inderjit, Foy C L, Dakshini K M M. *Pluchea lanceolata*: A noxious perennial weed. *Weed Technology*, 1988, 12(1): 190-193.
- [49] Northup R R, Yu Z S, Dahlgren R A, Vogt K A. Polyphenol control of nitrogen release from pine Litter. *Nature*, 1995, 377(6546): 227-229.
- [50] Chapin F S III. New cog in the nitrogen cycle. *Nature*, 1995, 377(6546): 199-200.
- [51] Oleszek W, Jurzysta M. The allelopathic potential of alfalfa root medicagenic acid glycosides and their fate in soil environments. *Plant and Soil*, 1987, 98(1): 67-80.
- [52] 钟宇, 张健, 杨万勤, 吴福忠, 冯茂松, 陈小红. 不同土壤水分条件下生长的巨桉对紫花苜蓿的化感作用. *草业学报*, 2009, 18(4): 81-86.