

巨桉不同状态叶片浸提液对萝卜幼苗 形态和抗性生理特性的影响

喻秀艳, 胡红玲*, 王 茜, 陈 洪, 胡庭兴, 涂利华, 李鹏飞

(四川农业大学 林学院, 四川雅安 625014)

摘 要:以珍珠岩作为基质,选择4年生巨桉(*Eucalyptus grandis*)嫩叶(T_1)、老叶(T_2)、表层凋落叶(T_3)、腐解凋落叶(T_4)4种状态的叶片,每种状态叶片设置3个浸提液浓度水平[分别称取风干叶片30 g、15 g和7.5 g加入900 mL蒸馏水进行浸提,以蒸馏水为对照(CK)],采用水培法研究了不同状态叶片浸提液对萝卜(*Raphanus sativus*)幼苗形态生长和抗性生理特性的影响。结果显示:(1)巨桉不同状态叶片浸提液显著抑制了萝卜幼苗的根长,其中嫩叶的抑制作用最强,腐解凋落叶抑制作用最弱。(2)各状态叶片浸提液处理后萝卜幼苗中过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)的活性均呈现升高趋势,嫩叶各浓度处理以及其他状态叶片的高浓度处理下超氧化物歧化酶(SOD)活性升高,而其余浓度处理的SOD活性降低。(3)各状态叶片浸提液处理萝卜幼苗的丙二醛(MDA)含量在低浓度处理时低于CK,其余处理下则高于CK。(4)嫩叶各浓度处理萝卜幼苗的可溶性糖(SS)含量显著高于CK,且随着老叶和表层凋落叶浸提液浓度的升高,幼苗SS含量先升后降,腐解凋落叶各浓度处理下则呈渐增的趋势;而可溶性蛋白(SP)含量则随浸提液浓度的增加而升高,且 T_2 和 T_3 两种状态叶片的各浓度处理与CK差异显著。研究表明,巨桉不同状态叶片浸提液对萝卜幼苗生长和抗性生理产生了强烈的抑制作用,其中以嫩叶最强,老叶和表层凋落叶次之,腐解凋落叶最弱。

关键词:巨桉叶片;萝卜;化感作用;形态;抗性生理

中图分类号:Q945.7

文献标志码:A

Effects of Aqueous Extracts from *Eucalyptus grandis* Leaves in Different Status on Morphology and Resistance Physiology of *Raphanus sativus* Seedlings

YU Xiuyan, HU Hongling*, WANG Qian, CHEN Hong, HU Tingxing, TU Lihua, LI Pengfei

(College of Forestry, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China)

Abstract: The allelopathic effects of *Eucalyptus grandis* leaves with different status on morphology and resistance physiology of *Raphanus sativus* seedlings (receiver plant) were studied. The seedling was breed with perlite as cultivated substrate. Different status of *E. grandis* leaves including tender leaves (T_1), old leaves (T_2), the leaf litter from ground surface in a 4-year-old plantation (T_3) and the half-decomposed leaf litter (T_4) were chosen, and their aqueous extracts were prepared by soaking different amount (30 g, 15 g and 7.5 g, dry weight) of leaves in equal amount of water (900 mL), resulting into four concentrations for each kind of leaves. The distilled water was used as the control (CK). The results were as follows: (1) The extracts of *E. grandis* leaves in different status significantly inhibited the root length of *R. sativus*, with the

收稿日期: 2014-05-16; 修改稿收到日期: 2014-09-04

基金项目: 四川省教育厅项目(13ZA0246); 教育部博士点基金(20125103120018); “十二五”科技支撑计划(2011BAC09B05)

作者简介: 喻秀艳(1990—), 女, 在读硕士研究生。E-mail: yuxy19901113@163.com

* 通信作者: 胡红玲, 博士, 讲师, 主要从事森林培育方面的研究。E-mail: 15039081@qq.com

extract of tender leaves having the strongest inhibition and the half-decomposed leaf litter showing the weakest inhibition. (2) The activities of catalase (CAT) and peroxidase (POD) in *R. sativus* were elevated treated with all levels of all extracts. The activity of superoxide dismutase (SOD) in *R. sativus* was increased by exposure to the tender leaves (T_1) extract regardless of the concentration, and to other extracts under the high concentration, while the activity of SOD decreased when exposed to other extracts of low concentrations. (3) The content of malondialdehyde (MDA) decreased under leaf extracts with low concentrations, while increased under those with high concentrations. (4) The soluble sugar (SS) content of the receiver plant was higher in the presence of the extract of tender leaves regardless of the concentrations, compared to CK, while with the increasing extract concentration of old leaves and half-decomposed leaves. SS content presented a decrease trend after an increase. Soluble protein (SP) content increased with the increasing concentration of all kinds of extracts, and the differences became significant under all concentrations for leaves T_2 and T_3 when compared to CK. On the whole, the aqueous extracts of different status leaves of *E. grandis* showed remarkable allelopathic effects on the growth and resistance physiology of *R. sativus* seedlings, with the extract of tender leaves exhibiting the strongest effect, followed by the old leaves and the leaf litter from ground surface, and then the half-decomposed leaf litter.

Key words: *Eucalyptus grandis* leaf; *Raphanus sativus*; allelopathy; morphology; resistance physiology

巨桉(*Eucalyptus grandis*)属桃金娘科(Myrtaceae)桉树属(*Eucalyptus*)高大乔木,具有较强的适应性和较高的经济价值,为优良速生用材树种。四川于1986年引入巨桉,1990年后逐步推广,成为该省发展短周期纤维工业原料的重要树种^[1],目前栽培面积超过 $1.3 \times 10^5 \text{ hm}^2$ ^[2]。随着巨桉人工林的广泛栽植,其产生的生态问题也引起人们的广泛关注。近年来,有关巨桉人工林是否破坏区域水平衡,造成林地土壤退化及降低林地生物多样性等方面存在较大的争议^[3-5],其中对生物多样性影响的争议尤为突出。大量研究^[2,4-8]表明,造成这种现象的一个重要原因很可能是巨桉具有化感作用^[9]。

推行林农复合经营、发展林下经济是保证林业可持续发展的重要途径,对于森林资源保护及林分结构优化也具有非常重要的作用。红皮萝卜(*Raphanus sativus*)属于十字花科(Brassicaceae)萝卜属(*Raphanus*),具有较高的食用和药用价值,是常见的蔬菜。萝卜及白菜等蔬菜常被套种于人工林下或在四旁绿化树下(如桉木、杨树和桉树等),但林木是否会影响其林下或邻近作物的生长或生存却没有得到足够的关注。尤其是像巨桉这一类大规模发展且又被报道具有较强化感潜力的树种,更应引起重视。叶片是巨桉化感物质的重要来源,无论是嫩叶、老叶、表层凋落叶还是腐解凋落叶均可能通过雨雾淋溶或分解的方式释放化感物质从而影响林下及周围植物的生长。但处于不同状态的叶片对化感物质的贡献也可能不相同。因此,为了解巨桉不同状态叶片的化感潜力,本试验分别采集了巨桉嫩叶、老叶、表层凋落叶、腐解凋落叶制成不同浓度的水浸提

液,以珍珠岩作为栽培基质,采用水培的方式,观测其对萝卜发芽和幼苗生长的影响,旨在探究巨桉人工林生物多样性变化的可能原因,为发展巨桉林下经济、进行科学的物种搭配和合理的经营管理提供参考。

1 材料和方法

1.1 试验地概况

试验地位于四川雅安四川农业大学教学基地,地理位置为 $102^\circ 59' 55'' \text{E}$ 、 $29^\circ 58' 48'' \text{N}$,海拔600 m。属亚热带湿润季风气候,多年年均气温 16.2°C ,全年 $\geq 10^\circ \text{C}$ 积温 $5\,231^\circ \text{C}$,7月平均最高温 29.9°C ,1月平均最低温 3.7°C ,年均日照时数 $1\,039.6 \text{ h}$,无霜期304 d,多年平均降雨量 $1\,774.3 \text{ mm}$,多年平均降雨日为208 d,空气平均湿度79%。

1.2 试验方案

1.2.1 试验材料 采用培养箱进行试验,培养基质为珍珠岩,其成分为:二氧化硅(SiO_2)74%、三氧化二铝(Al_2O_3)11.3%、三氧化二铁(Fe_2O_3)2%、氧化钙(CaO)3%、锰(Mn)2%、钠(Na)5%、钾(K)2.3%等。基本理化性质为:容重 0.16 g/cm^3 、总孔隙度60.3%、大孔隙29.5%、小孔隙30.8%、水气比 $1:1.04$ 、pH值6.3。将试验用基质装入高约7 cm,杯口直径约5 cm的玻璃杯中,每杯内珍珠岩填充高度与杯高之比为6:7。将萝卜种子均匀播在距珍珠岩表层下1 cm左右位置,每杯10颗。播种后在 $20\sim 22^\circ \text{C}$ 的培养箱中培养至发芽,后置于室内(紧靠窗户,通风,温度和湿度与室外基本一致,温度约 $10\sim 15^\circ \text{C}$ 左右)培养。每天观察种子发芽情况和

珍珠岩干湿度,适时适量加蒸馏水,定时定量加浸提液,及时间苗。

1.2.2 浸提液制备 巨桉为常绿树种,其叶片从萌发到成熟凋落一般需要 3~4 年,本试验中嫩叶指当年新萌发并已完全展开,叶表面蜡质层未完全形成,叶龄 0.5~1 年生的叶片;老叶指叶龄 2~3 年,蜡质层完整的成熟叶片;表层凋落叶指刚凋落到地面,未分解和分解初期凋落叶;腐解凋落叶指半分解凋落叶。于 2012 年 11 月在雅安市名山县巨桉人工林中收集上述各状态叶片,晾干后用毛刷去除表层灰尘,剪成 1 cm² 左右的小块,风干。分别取干重 30 g、15 g、7.5 g 叶样置于 900 mL 蒸馏水中浸泡 72 h(根据巨桉年凋落量估算用叶量,再根据叶量确定浸提液量,使浸提液浓度不至于过高而完全抑制萝卜种子萌芽或使幼苗致死),间歇振荡。然后将浸提液滤出,做好标记并密封保存于 4 ℃ 冰箱备用。

1.2.3 试验设计 试验于 2012 年 12 月至 2013 年 1 月进行。根据巨桉叶片生长及分解的不同阶段,选择嫩叶(T₁)、老叶(T₂)、表层凋落叶(T₃)、腐解凋落叶(T₄)4 种状态叶片(分别代表叶片幼嫩、成熟、凋落和半分解 4 种不同状态),每种状态叶片设置高、中、低 3 个浓度水平的浸提液(即每 900 mL 蒸馏水中分别加入 30 g、15 g、7.5 g 叶样品)处理,并以蒸馏水培养为对照(CK),各水平设置 3 次重复。播种时,用浸提液(约 20 mL)一次性浇透珍珠岩,之后每 4 d 浇 1 次浸提液,每次 5 mL,共计 5 次。

试验时间约 1 个月,发芽后第 9 天间苗,每杯保留 5 株。观察萝卜幼苗的生长状况(根长、子叶长、子叶宽及苗高)。当萝卜幼苗苗高达到约 4 cm 时(第 22 天),测定萝卜幼苗各项生长指标并取样测定其抗性生理指标。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 生长及形态指标 用常规方法测定萝卜幼苗的根长、子叶长、子叶宽及植株的苗高。

1.3.2 保护酶活性 超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法^[10]测定,以抑制 NBT 光化还原的 50% 为 1 个酶活力单位;过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法^[11]测定,以 1 min 吸光值增加 0.01 为 1 个酶活力单位;过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外分光光度法^[12]测定,以 1 min 内 A₂₄₀ 下降 0.1 为 1 个酶活力单位。

1.3.3 质膜透性与渗透调节物质含量 丙二醛(MDA)及可溶性糖(SS)含量采用硫代巴比妥酸(TBA)加热显色法^[11]测定;可溶性蛋白(SP)含量

采用考马斯亮蓝 G250 染色法^[11]测定。

以上各指标测定均重复测定 3 次。

1.4 数据处理

用 Williamson 等^[13]提出的敏感指数(RI)来度量巨桉不同状态叶片浸提液对萝卜幼苗的化感效应,其表达式为:

$$RI=1-C/T(T \geq C) \text{ 或 } RI=T/C-1(T < C)$$

式中, T 为处理值, C 为对照值, $RI > 0$ 表示促进作用, $RI < 0$ 表示抑制作用, RI 的绝对值代表化感作用强度的大小。

采用 SPSS 20.0 统计分析软件对不同处理下受体的生长指标和抗性生理指标进行单因素方差分析(One-way ANOVA),同时采用双因素方差分析评价叶片浸提液浓度、叶片状态的主效应及它们之间的交互效应,用 Excel 制作图表。

2 结果与分析

2.1 巨桉不同状态叶片浸提液对萝卜幼苗形态指标的影响

由表 1 可见,当萝卜幼苗生长至第 9 天时,随着不同状态叶片浸提液浓度的增加,萝卜幼苗的根长均呈降低的趋势,且与 CK 差异显著;嫩叶(T₁)和表层凋落叶(T₃)浸提液各浓度处理间萝卜幼苗苗高均差异显著;然而,同期幼苗子叶长(T₃H 除外)、子叶宽等指标在巨桉不同状态叶片浸提液各处理间差异不显著。当萝卜幼苗生长至第 22 天时,除嫩叶浸提液处理外,其余不同状态叶片浸提液对萝卜幼苗的子叶宽、子叶长和苗高均表现为促进作用,但随着浸提液浓度的增加促进作用减弱;嫩叶浸提液各处理对萝卜幼苗的子叶宽、子叶长和苗高表现为低浓度促进和高浓度抑制的作用,而对根长则表现为显著抑制作用,且抑制作用随着浸提液浓度的增加而增强,这可能与根直接接触浸提液,受到的影响更加强烈有关。进一步的双因素方差分析显示,培养至第 9 天时,浸提液浓度效应对萝卜幼苗根长和子叶长有显著影响,而叶片状态的主效应显著地影响着萝卜幼苗的根长和苗高;当培养至第 22 天时,浸提液浓度、叶片状态及其交互作用均显著影响萝卜幼苗的子叶长(表 1),这些都表明不同状态叶片间存在作用强度的差异。

另外,从叶片状态间化感综合效应(表 2)来看,当萝卜幼苗生长至第 9 天时,嫩叶(T₁)处理的综合抑制效应最强,其次是表层凋落叶(T₃),再次是老叶(T₂),腐解叶(T₄)最弱;而当萝卜幼苗生长至第

22 天时,综合抑制效应表现为 $T_1 > T_2 > T_3 > T_4$ (表 2)。因此,总的来看,在试验期内,嫩叶(T_1)处理对

表 1 巨桉不同状态叶片浸提液处理萝卜幼苗生长及形态指标的变化

Table 1 The growth and morphological indexes of *R. sativus* seedlings treated with aqueous extracts from *E. grandis* leaves in different status for 9 and 22 days after germination

处理 Treatment	子叶宽 Cotyledon width/cm		子叶长 Cotyledon length/cm		根长 Root length/cm		苗高 Seedling height/cm	
	9 d	22 d	9 d	22 d	9 d	22 d	9 d	22 d
CK	0.93±0.32a	1.20±0.00a	0.57±0.12a	0.83±0.06a	10.43±1.40a	19.23±6.58a	2.85±0.92a	4.13±0.81a
T ₁ L	0.90±0.26a	1.43±0.06b	0.53±0.06a	0.90±0.10a	2.50±0.26b	2.87±0.12b	2.90±0.20a	3.53±0.67ab
T ₁ M	0.77±0.06a	1.23±0.15a	0.47±0.06a	0.67±0.06b	2.40±0.69bc	1.93±0.32b	2.30±0.36a	4.5±0.00a
T ₁ H	0.87±0.06a	1.07±0.06a	0.43±0.06a	0.63±0.06b	0.97±0.15c	1.07±0.06b	1.90±0.36b	2.63±0.32b
CK	0.93±0.32a	1.20±0.00b	0.57±0.12a	0.83±0.06ab	10.43±1.40a	19.23±6.58a	2.85±0.92a	4.13±0.81a
T ₂ L	1.00±0.00a	1.50±0.10ab	0.60±0.00a	0.97±0.06a	5.33±0.58b	5.77±0.67b	3.57±0.55a	4.37±1.27a
T ₂ M	0.9±0.10a	1.57±0.25a	0.50±0.20a	0.90±0.10ab	2.20±0.72c	2.93±0.60b	3.40±0.17a	4.20±0.26a
T ₂ H	0.87±0.06a	1.37±0.21ab	0.50±0.00a	0.77±0.06b	2.00±0.87c	1.8±0.79b	2.23±0.93a	3.90±0.95a
CK	0.93±0.32a	1.20±0.00a	0.57±0.12a	0.83±0.06a	10.43±1.40a	19.23±6.58a	2.85±0.92ab	4.13±0.81a
T ₃ L	0.90±0.10a	1.43±0.55a	0.60±0.10a	0.90±0.20a	4.6±1.35b	6.4±1.21b	4.20±0.56a	4.93±1.00a
T ₃ M	0.77±0.12a	1.63±0.21a	0.43±0.06ab	1.10±0.17a	3.17±1.01bc	5.6±1.25b	1.90±0.70b	4.23±0.78a
T ₃ H	0.70±0.00a	1.40±0.17a	0.37±0.06b	0.83±0.21a	2.03±0.45c	3.6±1.51b	2.03±0.91b	4.23±0.87a
CK	0.93±0.32a	1.20±0.00b	0.57±0.12a	0.83±0.06b	10.43±1.40a	19.23±6.58a	2.85±0.92a	4.13±0.81a
T ₄ L	1.00±0.26a	1.70±0.10a	0.60±0.10a	1.07±0.12a	4.00±0.92b	5.77±0.75b	3.57±0.81a	4.77±0.15ab
T ₄ M	0.93±0.06a	1.30±0.10b	0.60±0.00a	0.90±0.10ab	3.17±0.61b	5.17±0.76b	4.63±1.63a	4.93±0.93ab
T ₄ H	1.17±0.06a	1.33±0.21b	0.60±0.10a	0.90±0.10ab	3.83±0.80b	4.00±0.95b	5.10±0.44a	5.90±0.98b
浓度效应 Concentration effect	0.543	0.001	0.021	0.003	0.000	0.000	0.105	0.689
叶片效应 Leaves effect	0.132	0.085	0.051	0.003	0.017	0.278	0.000	0.008
浓度×叶片 Concentration×leaves	0.768	0.269	0.543	0.045	0.068	0.989	0.005	0.093

注:CK.对照,不添加浸提液;T₁~T₄ 分别表示嫩叶、老叶、表层凋落叶和腐解凋落叶浸提液;L、M、H 分别表示低、中、高浓度浸提液;表中同列不同小写字母表示处理间在 0.05 水平存在显著性差异;下同。

Notes:CK. Control, the treatment without aqueous extracts; T₁~T₄ stand for the aqueous extracts from tender leaf, old leaf, the leaf litter from ground surface in plantation and half decomposed leaf litter; L, M and H stand for the low concentration, medium concentration and high concentration of aqueous extracts; The different letters within the same column indicate significant difference among treatments at 0.05 level; The same as below.

表 2 巨桉不同状态叶片浸提液处理萝卜幼苗生长和形态指标化感指数的变化

Table 2 The inhibitory rate (RI) of growth and morphological indexes of *R. sativus* seedlings treated with aqueous extracts from *E. grandis* leaves in different status for 9 and 22 days after germination

处理 Treatment	子叶宽 Cotyledon width		子叶长 Cotyledon length		根长 Root length		苗高 Seedling height		总化感指数 Total RI	
	9 d	22 d	9 d	22 d	9 d	22 d	9 d	22 d	9 d	22 d
T ₁ L	-0.04	0.16	-0.06	0.07	-0.76	-0.80	0.02	-0.15		
T ₁ M	-0.18	0.03	-0.18	-0.20	-0.77	-0.90	-0.19	0.08	-3.71	-3.36
T ₁ H	-0.07	-0.11	-0.24	-0.24	-0.91	-0.94	-0.33	-0.36		
T ₂ L	0.07	0.20	0.06	0.14	-0.49	-0.70	0.20	0.05		
T ₂ M	-0.04	0.23	-0.12	0.07	-0.79	-0.85	0.16	0.02	-2.17	-1.78
T ₂ H	-0.07	0.12	-0.12	-0.08	-0.81	-0.91	-0.22	-0.06		
T ₃ L	-0.04	0.16	0.06	0.07	-0.60	-0.67	0.32	0.16		
T ₃ M	-0.18	0.27	-0.24	0.24	-0.70	-0.71	-0.33	0.02	-3.41	-1.11
T ₃ H	-0.25	0.14	-0.35	0.00	-0.81	-0.81	-0.29	0.02		
T ₄ L	0.07	0.29	0.06	0.22	-0.62	-0.70	0.20	0.13		
T ₄ M	0.00	0.08	0.06	0.07	-0.70	-0.73	0.38	0.16	-0.48	-0.80
T ₄ H	0.20	0.10	0.06	0.07	-0.63	-0.79	0.44	0.30		

萝卜幼苗的化感潜力最强,腐解凋落叶(T_4)处理最弱。

2.2 巨桉不同状态叶片浸提液对萝卜幼苗抗氧化保护酶活性和丙二醛含量的影响

随着各状态叶片浸提液浓度的增加,萝卜幼苗的 SOD 活性呈增长的趋势,但各浓度处理与 CK 之间差异没有达到显著水平(T_1H 除外);与 CK 相比,除嫩叶的各浓度水平和其余叶片的高浓度水平处理对 SOD 活性表现为促进效应外,其余处理均表现为抑制作用,即具有低浓度抑制、高浓度促进的作用(图 1,A)。同时,与 CK 相比,各状态叶片浸提液浓度处理对萝卜幼苗 CAT 活性均表现为促进作用,但其变化规律不明显(图 1,B)。其中,幼嫩叶浸提液处理幼苗有随浓度而增加的趋势,且在中高浓度下达到显著水平;老叶和表层凋落叶(T_2 、 T_3)处理幼苗生长虽有起伏,但均与对照无显著性差异;腐解凋落叶(T_4)处理幼苗随浓度增加有先增后减的趋势,并在中等浓度下达到最高值且显著高于对照和其余浓度处理。另外,各状态叶片浸提液处理对萝卜幼苗 POD 活性的影响与 CAT 表现相似,均表现为促进作用,但效果比 CAT 表现更明显,有多个

处理与对照相比达到显著水平(图 1,C)。其中,经过嫩叶和老叶处理萝卜幼苗的 POD 活性随其浸提液浓度的增加而增强,而经腐解凋落叶处理的萝卜幼苗 POD 活性则随其浸提液浓度的增加而降低。进一步由图 1,D 可知,各状态叶片浸提液处理萝卜幼苗 MDA 含量仅在 T_2 、 T_3 和 T_4 的低浓度处理下低于相应 CK,而其余处理下均高于相应 CK,且 T_1H 、 T_2L 、 T_2M 、 T_4H 处理中达到显著水平。可见,嫩叶浸提液高浓度处理萝卜幼苗的 SOD、POD、CAT 活性均比 CK 显著增强,可能是嫩叶表面蜡质层尚未形成或不完整,其细胞、组织幼嫩,浸提时化感物质浸出得更加充分,因而对受体作用也就更加强烈。同时,各状态叶片的中、高浓度处理均使萝卜幼苗叶片细胞发生不同程度膜脂过氧化反应。进一步的双因素方差分析显示,浸提液浓度和叶片状态的效应及其交互作用均显著影响萝卜幼苗的 POD 活性和 MDA 含量,而交互作用对 SOD 和 CAT 活性均无显著影响(表 3)。总之,综合图 1 的结果来看,巨桉不同状态叶片对萝卜幼苗抗氧化保护酶活性和丙二醛含量的化感效应以嫩叶最强,腐解凋落叶最弱。

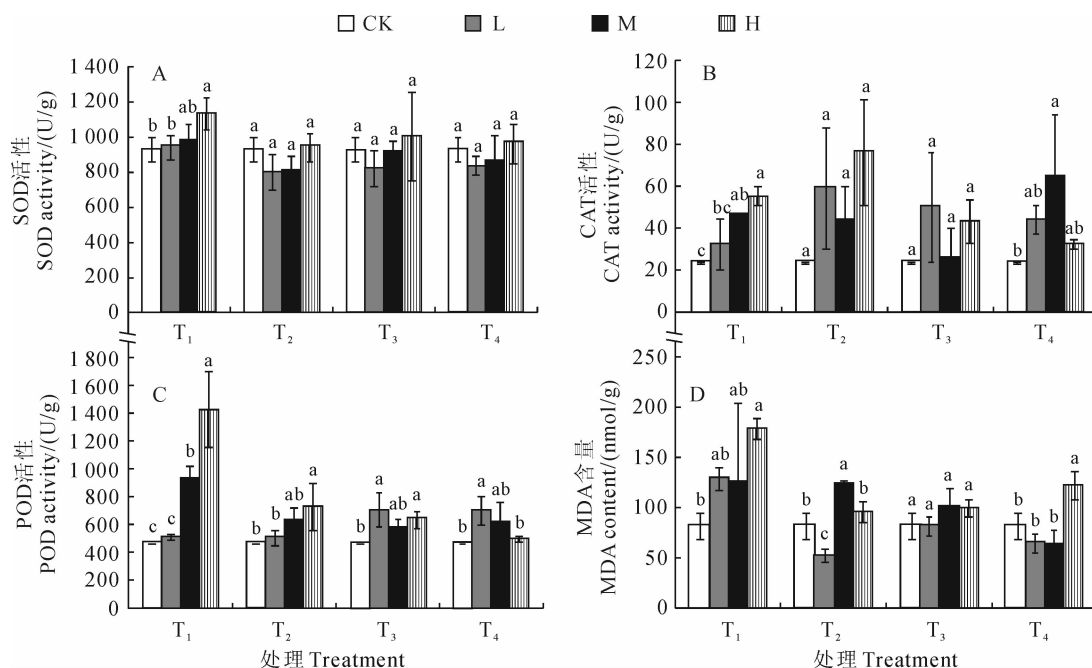


图 1 巨桉不同状态叶片浸提液处理下萝卜幼苗保护酶活性和丙二醛含量的变化

不同小写字母表示同一叶片类型不同浓度处理之间在 0.05 水平存在显著性差异;下同

Fig. 1 SOD, CAT, POD activities and MDA content of *R. sativus* seedlings treated

by aqueous extracts from *E. grandis* leaves in different status

The different normal letters indicate significant differences among treatments

within same leaves status at 0.05 level; The same as below

表 3 浓度、叶片、浓度与叶片交互作用对萝卜幼苗抗性生理指标的影响

Table 3 Effects of concentrations,leaves and their interaction on resistance physiology indexes of *R. sativus* seedlings

效应 Effect	SOD	POD	CAT	MDA	SS	SP
浓度效应 Concentration effect	0.008	0.000	0.550	0.001	0.000	0.003
叶片效应 Leaves effect	0.037	0.000	0.667	0.000	0.000	0.028
浓度×叶片 Concentration×leaves	0.913	0.000	0.468	0.004	0.000	0.529

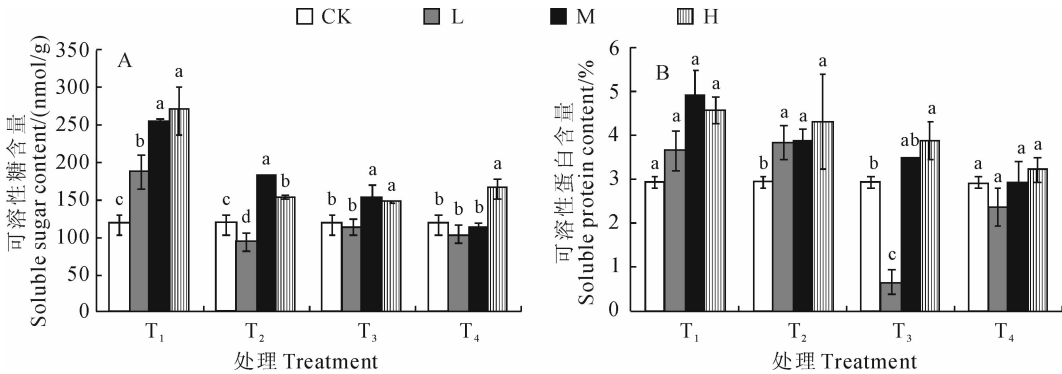


图 2 巨桉不同状态叶片浸提液处理下萝卜幼苗可溶性糖和可溶性蛋白含量的变化

Fig. 2 The soluble sugar and soluble protein contents of *R. sativus* seedlings treated by aqueous extracts from *E. grandis* leaves in different status

2.3 巨桉不同状态叶片浸提液对萝卜幼苗渗透调节物质的影响

随着叶片浸提液浓度的增加,萝卜幼苗可溶性糖(SS)含量在 T₁ 和 T₄ 两种状态叶片浸提液处理中逐渐升高,而在 T₂ 和 T₃ 两个处理中先升高后略有降低,且与相应对照相比大多达到显著水平(图 2,A);同时,萝卜幼苗可溶性蛋白(SP)含量随着各状态叶片浸提液浓度的增加而升高,且多表现为促进作用,但仅 T₂ 和 T₃ 处理下与 CK 差异显著(图 2,B)。可见,各状态叶片浸提液处理对萝卜幼苗可溶性糖的积累存在显著影响,而仅老叶和表层凋落叶浸提液处理对幼苗可溶性蛋白含量有显著影响。而由表 3 可见,浸提液浓度和叶片状态的主效应及其交互作用均显著地影响萝卜幼苗的可溶性糖(SS)和可溶性蛋白(SP)含量;同时,在萝卜幼苗渗透调节物质的化感效应上仍以嫩叶浸提液最强,腐解凋落叶浸提液最弱。

3 讨 论

植物化感物质的淋溶是指活的植物茎、叶及植物残体分解后产生的化感物质,经雨雾等作用溶解,通过植物的表面淋溶转移到植物的根部或其他部位,对周围的植物发生直接或间接的影响作用^[14-16]。且雨雾淋溶出的化感物质和养分都是水溶性的,可以被植物直接吸收,当化感物质达到一定浓度时就

会对周围的植物产生抑制作用。有研究表明,蓝桉叶片通过雨雾淋溶释放的化感物质能抑制其林下硬雀麦(*Bromus rigidus*)幼苗的生长^[17];巨桉叶、凋落物、根的水浸液对莴笋(*Lactuca sativa*)的生长影响明显^[8];此外,陈博雯等^[18]的研究表明巨尾桉(*Eucalyptus grandis* × *E. urophylla*)鲜叶浸提液比凋落叶浸提液对油青菜心(*Brassica parachinensis*)、萝卜、上海青(*Brassica chinensis*)的发芽率和发芽长度的化感作用更为强烈。而本研究中巨桉不同状态叶片浸提液对萝卜幼苗的形态和抗性生理也有明显的化感作用。

3.1 萝卜幼苗形态生长对巨桉不同状态叶片浸提液处理的响应

有研究表明,化感物质能通过抑制细胞分裂和伸长、根的活力,以及对矿质离子的吸收和各种酶活力等来影响受体幼苗根的生长^[19]。在本研究中,萝卜幼苗根生长受到显著抑制,这可能与根系直接接触浸提液中的化感物质有关。同时,本研究结果显示,巨桉各状态叶片的化感作用强弱与其浸提液的浓度及培养时间密切相关。其中,萝卜幼苗生长第 9 天时,高浓度和中浓度处理条件下,巨桉不同状态叶片浸提液对萝卜幼苗生长的化感作用表现为表层凋落叶最强,腐解凋落叶最弱,而低浓度处理下则为嫩叶最强,老叶最弱;萝卜幼苗生长第 22 天时,高浓度和低浓度处理下,其化感作用表现为嫩叶最强,腐

解凋落叶最弱;中浓度处理下则表现为嫩叶最强,表层凋落叶最弱。这一差异可能与巨桉不同状态叶片浸提液的化感物质或营养物质不同并存在浓度差异有关^[8]。总的来说,巨桉不同状态叶片浸提液对萝卜幼苗生长表现出的化感作用以嫩叶最强,腐解凋落叶最弱。这一现象表明巨桉叶片浸提液中可能既含有能促进幼苗生长的营养物质,同时又含有影响生长的有害物质。本研究中,随着浸提液浓度的增加,其浸提液含有的植物毒素和营养物质亦相应增加,但受体植物对不同物质的敏感性和反应程度可能不同,致使供体植物浸提液浓度的增加在受体植物上表现的效应并非一定加强。其中,嫩叶浸提液对萝卜生长的抑制作用最强,腐解凋落叶对萝卜的抑制作用最弱,这一现象可能与嫩叶蜡质层发育还不完全、组织幼嫩、较多化感物质进入浸提液中有关,而腐解凋落叶经过一段时间的分解,部分具有强烈化感作用的物质已经被分解释放,且腐解凋落叶片细胞结构遭到破坏,更容易释放出各种矿质营养。

3.2 萝卜幼苗抗性生理对巨桉不同状态叶片浸提液处理的响应

逆境条件下,植物细胞中活性氧(ROS)产生加快,同时也诱导以超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)为主的保护酶系统活性升高,但胁迫超过一定范围后,保护酶系统会受到破坏,从而降低了清除活性氧自由基的功能,使得植物体内的活性氧代谢失调^[20];同时,ROS的积累会加剧膜脂过氧化,使得细胞膜半透性丧失,影响细胞功能,造成细胞内部电解质外渗,积累过多的膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)等^[21]。本研究中,浸提液处理萝卜幼苗MDA含量较CK而言未表现出显著的升高趋势,说明ROS产生的量还不大,SOD、CAT和POD对细胞膜起到了一定的保护作用,这与陈洪等^[22]用巨桉凋落叶分解物处理老麦芒的研究结果相同。

巨桉嫩叶浸提液各浓度处理对萝卜幼苗SOD、POD和CAT活性和MDA含量均表现为促进作用,且随着浸提液浓度的增加而升高,这可能是因为SOD、POD和CAT仍然不足以清除活性氧带来的氧化损伤,而导致MDA含量增加,破坏膜结构和其功能。同时,在老叶、表层凋落叶和腐解凋落叶的不同浓度浸提液处理对萝卜的POD和CAT活性均表现为促进作用,而其SOD活性和MDA含量则变

化一致:高浓度处理下表现为促进作用,反之为抑制作用。这可能是因为中、低浓度浸提液处理中,萝卜幼苗未调动SOD来清除体内的自由基,只是通过增加POD和CAT的活性来抵御化感作用胁迫,但随着浸提液浓度的增加,细胞生长受到影响,为减弱外界影响,则升高了SOD活性,但是仍然不足以清除活性氧带来的氧化损伤,而最终导致MDA含量的增加。这与韦美玉等^[23]关于紫茎泽兰叶片对2种辣椒幼苗的POD和SOD活性的化感效应相似。

可溶性蛋白是细胞基质的主要成分,具胶体性质,而可溶性糖则在有机质代谢中发挥作用,二者对细胞的渗透调节起着重要的作用^[21]。受巨桉不同状态叶片浸提液的影响,萝卜幼苗体内可溶性糖含量显著升高,而可溶性蛋白含量也表现出明显的增加趋势。原因可能有几个方面:一是巨桉叶片中释放的化感物质妨碍了萝卜对水分的吸收,造成了一定程度的水分胁迫,从而使可溶性糖大量积累;二是化感胁迫导致了细胞内大分子的糖类、蛋白质的降解,转化成了蔗糖、葡萄糖等小分子的可溶性糖或可溶性蛋白。而在低浓度的林地表层凋落叶和腐解凋落叶处理下,萝卜幼苗体内可溶性蛋白含量很低,可能是新鲜叶片与凋落叶存在着不同的化感物质或其浓度差异较大所致。

另外,进一步从敏感指数(RI)的平均值来看,巨桉不同状态叶片浸提液对萝卜幼苗的抗性生理作用以嫩叶处理最强,腐解凋落叶处理最弱。再次表明由于嫩叶和老叶为鲜叶,表层凋落叶和腐解凋落叶都为干枯叶,而鲜叶和干枯叶中所含的化感物质种类和含量不同,因此作用强弱也不同。

综上所述,巨桉不同状态叶片浸提液对萝卜幼苗生长具有一定程度的抑制作用,且随着浸提液浓度的增加作用增强,导致幼苗生长减弱。但是,本研究处理时间较短,而之后各处理对萝卜的形态和生理指标的影响将如何变化,还有待进一步研究。同时,本研究在一定程度上模拟了自然条件下巨桉叶片淋溶引起的化感作用,但与自然条件下的淋溶作用还有较大距离,并且自然条件下的淋溶作用是与根系分泌、地上部挥发和凋落物分解三个途径^[24]共同作用的,相比之下更复杂,需要从更大尺度的实验条件(如盆栽或田间试验)和更长时间(如受体整个生长过程)进行生物测试,才能得到更确切可靠的效果。

参考文献:

- [1] CHEN X H(陈小红), HU T X(胡庭兴), LI X W(李贤伟). Investigation analysis and development prospects of *Eucalyptus grandis* on the growth in Sichuan Province[J]. *Journal of Sichuan Forestry Science and Technology* (四川林业科技), 2000, **21**(4): 23—26 (in Chinese).
- [2] WU X H(吴秀华), HU T X(胡庭兴), YANG W Q(杨万勤), *et al.* Effects of *Eucalyptus grandis* leaf litter decomposition on the growth and photosynthetic characteristics of *Cichorium intybus*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2012, **23**(1): 1—8 (in Chinese).
- [3] YANG G R(杨钙仁), ZHANG X Q(张秀清), CAI D S(蔡德所), *et al.* Litter decomposition of dominant plantations in Guangxi and its effects on leachate quality[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2012, **23**(1): 9—16 (in Chinese).
- [4] WEN Y G(温远光), LIU SH R(刘世荣), CHEN F(陈放). The ecological problems and sustainable management of *Eucalyptus* industrial plantation[J]. *Journal of Guangxi Academy of Sciences* (广西科学院学报), 2005, **21**(1): 13—18 (in Chinese).
- [5] CHEN Q B(陈秋波). A review of researches on biodiversity in *Eucalyptus* plantations[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops* (热带作物学报), 2001, **22**(4): 82—90 (in Chinese).
- [6] ZHONG Y(钟宇), ZHANG J(张健), YANG W Q(杨万勤), *et al.* Allelopathic effects of *Eucalyptus grandis* on *Medicago sativa* growing in different soil water conditions[J]. *Acta Pratacul Turae Sinica* (草业学报), 2009, **18**(4): 81—86 (in Chinese).
- [7] CHEN L Q(陈礼清), ZHANG D J(张丹桔), ZHANG J(张健). Soil microbial biodiversity across a rang of *Eucalyptus grandis* plantation ages[J]. *Journal of Sichuan Agricultural University* (四川农业大学学报), 2011, **29**(4): 472—476 (in Chinese).
- [8] WANG L(王玲), ZHENG R ZH(郑荣周), LI X W(李贤伟), *et al.* Allelopathic effects of the soaking fluid of *Eucalyptus grandis*' leaves, litter and roots on *Lactuca sativa*[J]. *Journal of Sichuan Forestry Science and Technology* (四川林业科技), 2009, **30**(3): 55—60 (in Chinese).
- [9] LIU X X(刘小香), XIE L L(谢龙莲), CHEN Q B(陈秋波), *et al.* A review of allelopathic researches on *Eucalyptus*[J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture* (热带农业科学), 2004, **24**(2): 54—61 (in Chinese).
- [10] GIANNOPOLITIS C N, RIES S K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants[J]. *Plant Physiology*, 1977, **59**(2): 309—314.
- [11] 熊庆娥. 植物生理学实验教程[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2003.
- [12] 赵世杰. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2002.
- [13] WILLIAMSON G B, RICHARDSON D. Bioassays for allelopathy: measuring treatment responses with independent controls[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1998, **14**(1): 181—187.
- [14] CHEN J W(陈静雯), ZHANG L(张丽). The mechanism and application of allelopathy[J]. *Bulletin of Biology* (生物学通报), 2008, **43**(11): 13—15 (in Chinese).
- [15] CUI L(崔磊), ZHAO X H(赵秀海), ZHANG CH Y(张春雨). Dynamics and prospect of research on allelopathy[J]. *Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology* (浙江林业科技), 2006, **26**(1): 65—70 (in Chinese).
- [16] ZHANG W X(张学文), LIU Y X(刘亦学), LIU W X(刘万学), *et al.* Allelochemicals and its releasing modes[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2007, **23**(7): 295—297 (in Chinese).
- [17] DEL MORAL R, MULLER C H. Fog drip: a mechanism of toxin transport from *Eucalyptus globulus*[J]. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 1969: 467—475.
- [18] CHEN B W(陈博雯), LIU H L(刘海龙), CAI L(蔡玲), *et al.* Bioassay of allelopathy of aqueous extracts of four main economic tree species on crop seeds[J]. *Journal of West China Rorestry Science* (西部林业科学), 2012, **41**(3): 31—36 (in Chinese).
- [19] LI SH T(李寿田), ZHOU J M(周健民), WANG H Y(王火焰), *et al.* Research surveys of allelopathy in plants[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture* (中国生态农业学报), 2002, **10**(4): 68—70 (in Chinese).
- [20] POLITYCKA B. Peroxidase activity and lipid peroxidation in roots of cucumber seedlings influenced by derivatives of cinnamic and benzoic acids[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 1996, **18**(4): 365—370.
- [21] 李合生. 现代植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [22] CHEN H(陈洪), HU T X(胡庭兴), YANG W Q(杨万勤), *et al.* Effects of *Eucalyptus grandis* leaf litter on growth and resistance physiology *Elymus sibiricus* in the initial decomposition process of litter in soil[J]. *Acta Pratacul Turae Sinica* (草业学报), 2011, **20**(5): 57—65 (in Chinese).
- [23] WEI M Y(韦美玉), CHEN SH J(陈世军). Allelopathy effects of *Eupatorium adenophorum* leaves on the activities of POD and SOD and the metabolism of ascorbic acid in 2 species of *Capsicum annuum* seedlings[J]. *Journal of Anhui Agriculture Science* (安徽农业科学), 2009, **37**(25): 107—108 (in Chinese).
- [24] KONG CH H(孔垂华). Problems needed attention on plant allelopathy research[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 1998, **9**(3): 332—336 (in Chinese).