

## 巨桉枯落物化感物质的研究

高丹<sup>1,2</sup>, 胡庭兴<sup>1</sup>, 万雪<sup>1</sup>, 唐天云<sup>1</sup>, 陈良华<sup>1</sup>

(1. 四川农业大学 林学院园艺学院, 四川 雅安 625014; 2. 四川农业大学 资源环境学院, 四川 雅安 625014)

**摘要:** 为了解巨桉 *Eucalyptus grandis* 的枯落物内含物对其他物种的化感作用, 试验以正己烷作溶剂, 用超声波浸提巨桉枯落物, 采用 GC-MS 联用技术, 鉴定了巨桉枯落物中所含的有机化学成分。结果表明: 巨桉枯落物中含有烷烃、烯烃、芳香烃、醇、醛、酮、酚和酯等 8 类 35 种化合物。证明巨桉枯落物中存在化感物质, 主要为烷烃、芳香烃和酯类物质。这些化感物质可能对植物种子萌发、幼苗生长有重要的影响。表 1 参 13

**关键词:** 植物学; 巨桉; 枯落物; 浸提; 气相色谱-质谱法; 化感物质

**中图分类号:** S718.3      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1000-5692(2008)02-0191-04

### Allelopathic constituents from litterfall of *Eucalyptus grandis*

GAO Dan<sup>1,2</sup>, HU Ting-xing<sup>1</sup>, WAN Xue<sup>1</sup>, TANG Tian-yun<sup>1</sup>, CHEN Liang-hua<sup>1</sup>

(1. Forestry and Horticulture College, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, Sichuan, China;

2. Resources and Environment College, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, Sichuan, China)

**Abstract:** *Eucalyptus grandis* is the most widely cultivated eucalyptus. The undergrowths of *E. grandis* forest are few. To identify the components of litterfall from *E. grandis* that could affect other species, organic compounds of litterfall from *E. grandis* were ultrasonically extracted with hexane and identified with a gas chromatograph-mass spectrometer (GC-MS). Results showed that extracts of litterfall from *E. grandis* contained 35 components within 8 different categories, including alkanes, alkenes, arenes, alcohols, aldehydes, ketones, hydroxybenzenes, and esters with the main allelochemicals being alkanes, arenes, and esters. These results could have important implications on seed germination and seedling growth and could be used as a reference for research of allelopathic influences on plants in the *E. grandis* understory. [Ch, 1 tab. 13 ref.]

**Key words:** botany; *Eucalyptus grandis*; litterfall; water extract; GC-MS; allelopathic substances

巨桉 *Eucalyptus grandis* 是世界上栽培面积最大的桉树树种, 1986 年引入四川, 1992 年开始在盆地推广, 1995 年到 2000 年在乐山地区得到较大规模的发展, 已栽培 1.9 万  $\text{hm}^2$ , 现已逐步成为发展四川短周期纤维工业原料林的主要树种<sup>[1]</sup>。近些年, 国内外大量研究证明桉树存在化感作用, 并因此导致林内群落结构简单, 林下灌木和草本植物稀少和严重的水土流失等一系列生态问题<sup>[2-4]</sup>。植物化感作用及其在生态学方面的作用, 已成为当今研究的热点之一。陈秋波等<sup>[5,6]</sup>对刚果 12 号桉 *Eucalyptus* 12ABL 的叶片和根的化感物质进行了研究, 王晗光等<sup>[7]</sup>对巨桉根系和叶片挥发性物质的化感成分进行了研究, 但迄今还没有对巨桉枯落物所含化感物质的研究报道。巨桉枯落物中包含了枯枝、落叶、树皮和根等植物残体, 具有较高的化感活性。作者对巨桉枯落物所含化合物进行了 GC-MS 分析鉴定, 旨在为巨桉化感作用的研究和巨桉次生代谢产物的利用提供参考, 为桉树人工林的持续经营提供理论依据。

收稿日期: 2007-04-16; 修回日期: 2007-07-12

基金项目: 四川省教育厅资助项目(SZD0419)

作者简介: 高丹, 硕士研究生, 从事环境生态研究。E-mail: gaodan926@163.com。通信作者: 胡庭兴, 教授, 博士生导师, 从事森林游憩、林业生态工程、森林经营管理和森林生产力评价研究。E-mail: hutx001@yahoo.com.cn

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

巨桉枯落物样品取至四川省洪雅县洪川镇四川农业大学试验基地8年生人工巨桉林。选取层次结构完整的枯落物,收集表层到半腐殖层的枯落物混合均匀备用。

仪器:微型植物试样粉碎机(型号FZ102)、超声波清洗机(SB-5200),旋转浓缩仪(BuchiR-200),0.45  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜,GC-MS(Agilent 6890N),具塞锥形瓶,具塞试管。

试剂:无水硫酸钠( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )和正己烷(分析纯)。

### 1.2 方法

1.2.1 GC-MS检测 将巨桉枯落物自然风干,剪成小块,碎至30目,取20g于具塞锥形瓶,加正己烷淹没样品,超声波浸提20min,先用滤纸过滤,再用0.45  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤,所得滤液用无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 除水后于25  $^{\circ}\text{C}$ 低压真空旋转浓缩至5mL,作GC-MS检测。

1.2.2 GC-MS分析系统 Agilent 6890N气相色谱仪、Agilent Technologies 5973质量选择检测器、Agilent Chemstation分析软件。色谱柱:30m  $\times$  0.25mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$  HP-5MS;进样口:不分流;进样体积:1  $\mu\text{L}$ ;箱温度程序:180  $^{\circ}\text{C}$  (1min),以5  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至240  $^{\circ}\text{C}$ ;保持18min;载气流速:1.0  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$  (He);离子源:EI;温度:接口250  $^{\circ}\text{C}$ ,离子源230  $^{\circ}\text{C}$ ;电极电压:1000V;四极杆温度:150  $^{\circ}\text{C}$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 枯落物化合物成分

取1  $\mu\text{L}$ 巨桉枯落物的正己烷溶液,用GC-MS分析鉴定,通过Agilent Chemstation化学工作站检索Nist标准质谱图库,并通过该站数据处理系统,对匹配指数800以上的化合物进行鉴定和峰面积归一化计算各组分相对百分含量,确认了35种化学成分。“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(%)。由化学工作站给出的总离子流图,确定巨桉枯落物化学成分及其相对含量的分析结果见表1。

从表1可知,巨桉枯落物中主要含35种有机分子,属于烷烃、烯烃、芳香烃、醇、醛、酮、酚和酯等8类,占总峰面积的95.97%。35种成分中相对含量 $>3.00\%$ 的成分依次是:二十五烷(pentacosane, 14.95%),二十三烷(tricosane, 12.79%),二十七烷(heptacosane, 7.94%),1,2-环氧十九烷(1,2-epoxynonadecane, 5.49%),二十八烷(octacosane, 4.41%),正二十九烷(nonacosane, 4.23%),1,30-三十烷二醇(1,30-triacontanediol, 4.23%),甲酸二十一酯(1-heneicosyl formate, 3.54%),十七烷基环氧乙烷(oxirane, heptadecyl-, 3.23%)。这9个组分合计相对含量为60.81%。可见,其相对总量较高的是烷烃、芳香烃和酯类物质。其中有10种是含苯环的化合物, $\alpha$ -桉叶油醇( $\alpha$ -eudesmol)有检出,但是相对含量很低,只有0.40%。

迄今为止所发现的化感物质几乎都是植物的次生代谢产物,一般分子量较小,结构较简单。包括水溶性有机酸、直链醇、脂肪族醛和酮、简单不饱和内酯、长链脂肪酸和多炔、内萜、氨基酸、生物碱、苯甲酸及其衍生物等,其中最常见的是低分子有机酸、酚类和内萜类化合物<sup>[8]</sup>。本实验所分离鉴定到的化合物中不乏此类物质,证明巨桉枯落物中含有抑制其他植物生长的化感物质。

## 3 讨论

本研究中,由GC-MS联用鉴别到巨桉枯落物中含有烷烃、烯烃、芳香烃、醇、醛、酮、酚、酯等化合物。其中的酚类、萜类和酯类等多数都是已经被人们证实对植物、微生物和昆虫具有化感作用的物质<sup>[9]</sup>。酚类和萜类是高等植物主要的化感物质。研究发现,酚类物质能够影响植物幼苗的多种生理活动,如净光合速率、蒸腾速率、气孔导度和根系活力等<sup>[10]</sup>。萜类化合物广泛存在于高等植物叶和皮细胞中,单萜和倍半萜常常引起化感效应。桉烷型倍半萜类化合物广泛分布于自然界中,普遍

表1 巨桉枯落物的化学成分

Table 1 Chemical constituents from the litterfall of *Eucalyptus grandis*

序号	保留时间/min	化合物名称	结构式	相对含量/%
1	8.086	hexahydrofarnesyl acetone (6, 10, 14-三甲基-2-十五烷酮)	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	2.24
2	9.618	(Z)-7-hexadecenal (Z-7-十六烯醛)	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O	0.34
3	9.823	cis-9-hexadecenal (顺-9-十六烯醛)	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O	0.18
4	10.504	heneicosane (二十一烷)	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	2.97
5	10.646	phytol (植醇)	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O	2.20
8	12.332	tricosane (二十三烷)	C <sub>23</sub> H <sub>48</sub>	12.79
9	12.395	2-nonadecanol (十九醇)	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub> O	0.26
10	13.173	1-docosene (1-二十二碳烯)	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub>	0.50
11	13.23	tetracosane (二十四烷)	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	0.99
12	13.573	1-docosanol (二十二醇)	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> O	2.56
13	13.784	octacosane (二十八烷)	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	4.41
14	14.316	1-heneicosyl formate (甲酸二十一酯)	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	3.54
15	14.504	pentacosane (二十五烷)	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	14.95
16	14.619	2-heptadecanol (2-十七醇)	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub> O	0.46
17	14.841	octadecanal (十八碳醛)	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	0.89
18	14.984	oxirane, heptadecyl-(十七烷基环氧乙烷)	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O	3.23
19	15.133	1, 2-benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester (邻苯二甲酸二异辛酯)	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	0.22
20	15.596	(Z)-14-tricosenyl formate (Z-14-二十四碳烯酸)	C <sub>24</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>	0.51
21	15.745	1-hexacosanol (1-二十六醇)	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub> O	0.96
22	15.819	hexacosane (二十六烷)	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	0.80
23	16.413	tetracosanal (环氧二十四烷)	C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> O	2.39
24	17.533	1-eicosanol (二十醇)	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub> O	0.80
25	17.751	heptacosane (二十七烷)	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	17.94
26	17.996	oxirane, [(hexadecyloxy) methyl] (十六烷氧基甲基环氧乙烷)	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	0.29
27	19.288	D, α-tocopherol (生育酚)	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O <sub>2</sub>	0.44
28	19.877	α-eudesmol (α-桉叶油醇)	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	0.40
29	20.728	2, 6, 10, 14, 18, 22-tetracosahexaene, 2, 6, 10, 15, 19, 23-hexamethyl-, (all-E)- (全E)-2, 6, 10, 15, 19, 23-六甲基-2, 6, 10, 14, 18, 22-二十四碳己烯)	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>	0.64
30	21.008	1, 2-epoxynonadecane (1, 2-环氧十九烷)	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O	5.49
31	22.923	nonacosane (正-二十九烷)	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	4.23
32	24.152	oxirane, tetradecyl-(1, 2-环氧十六烷)	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O	0.24
33	24.649	pregn-4-en-3, 20-dione, 6-hydroxy-6, 16-dimethyl-, (6β, 16α)-((6β, 16α)-6, 16-二甲基-6-羟-3, 20-二酮-4-烯-孕甾)	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>	0.37
34	25.306	β-sitosterol (β-谷甾醇)	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	2.30
35	28.512	1, 30-triacontanediol (1, 30-三十烷二醇)	C <sub>30</sub> H <sub>62</sub> O <sub>2</sub>	4.23

具有昆虫拒食、植物生长调节、细胞生长抑制等生物活性<sup>[11]</sup>。孔垂华等<sup>[7]</sup>的研究发现许多内酯在水中的溶解度适中,不易被雨水冲洗流失,又能缓慢溶解释放。本研究分离鉴定的35种化学物质中,酚类、萜类和酯类均有较高含量。可见,巨桉枯落物中的酚类、萜类和酯类化感物质对抑制受体植物的萌发和生长有重要作用,表明巨桉确实具有化感作用的化学基础。

巨桉枯落物在林下主要以叶片挥发、雨水淋溶、根系分泌、枯落物腐解等途径产生化感物质。在本研究分离鉴别出的所有组分中,与王晗光等<sup>[6]</sup>研究报道的巨桉根系及根系土壤化感物质有7种相同的化学成分,分别为:二十三烷(tricosane),二十四烷(tetracosane),二十八烷(octacosane),2-十七醇(2-heptadecanol),十八碳醛(octadecanal),二十七烷(heptacosane),正-二十九烷(nonacosane)。与陈秋波等<sup>[12]</sup>研究报道的刚果12号桉叶片化感物质有3种相同的化学成分,分别为: $\alpha$ -桉叶油醇( $\alpha$ -eudesmol),二十一烷(heneicosane)和植醇(phytol)。可见虽然桉树不同器官向环境释放化感物质的途径不同,但是巨桉枯落物释放的化感物质与桉树种其他器官分泌和释放的化感物质种类有相同之处,且有机物类别差不多。由于桉树各器官的作用方式和作用机制均有差异,故具体化感物质组分差异也较大。桉树的化感作用值得重视,但必须与阳光、水分、养分和微生物等因子结合起来考虑,如在土壤生态系统中化感物质大多要经过微生物的转化和修饰后才能发挥作用。化感物质与受体植物的作用机理还有待研究。

已有研究证明,桉叶油醇可能是桉树的主要化感物质之一<sup>[13]</sup>。本研究中,由GC-MS联用分离鉴定的化学物质中, $\alpha$ -桉叶油醇( $\alpha$ -eudesmol)有检出,但是相对含量很低,只有0.40%,可能由于桉叶油醇具有很强的挥发性,故在枯落物的化感物质成分中含量很少,但是桉叶油醇对巨桉枯落物化感作用的贡献仍不容忽视。至于巨桉的主要化感物质是什么,还需要经过深入的研究才能进一步确定。

#### 参考文献:

- [1] 陈小红,胡庭兴,李贤伟,等.四川省巨桉生长状况调查与发展前景分析[J].四川林业科技,2000,21(4):23-26.
- [2] 刘小香,谢龙莲.桉树化感作用研究进展[J].热带农业科学,2004,24(2):54-61.
- [3] SINGH H P, BATISH D R, KOHLI R K. Allelopathic interactions and allelochemicals: New possibilities for sustainable weed management [J]. *Crit Rev Plant Sci*, 2003, 22(3/4): 239-311.
- [4] 郑海水,翁启杰,曾杰,等.桉树与相思混交林生产力及生态特性研究[C]//沈国舫,翟明普.混交林研究:全国混交林与树种关系学术讨论会文集[M].北京:中国林业出版社,1997:171-175.
- [5] 陈秋波,彭黎旭,贺利民,等.刚果12号桉树根及根际土壤中化感物质的成分分析[J].热带农业科学,2002,22(4):28-34.
- [6] 王晗光,张健,杨婉身,等.巨桉根系和根系土壤化感物质的研究[J].四川师范大学学报:自然科学版,2006,29(3):368-371.
- [7] 孔垂华,胡飞.植物他感(相生相克)作用及其应用[M].北京:中国农业出版社,2001.
- [8] 阎飞,杨振明,韩丽梅.植物化感作用及其作用物的研究方法[J].生态学报,2000,20(4):692-696.
- [9] INDERJIT S O, DUKE S O. Ecophysiological aspects of allelopathy [J]. *Planta*, 2003, 217(4): 529-539.
- [10] 汪思龙,陈龙池,廖利平,等.几种化感物质对杉木幼苗生长的影响[J].应用与环境生物学报,2002,8(6):588-591.
- [11] WEIDENHANER J D, MACIAS F A, FISCHER N H, et al. Just how insoluble are monoterpenes [J]. *Chem Ecol*, 1993, 19: 1799-1807.
- [12] 陈秋波,贺利民,袁洪球,等.刚果12号桉叶片化感物质的初步分离分析[J].热带作物学报,2004,25(4):84-91.
- [13] 王晗光,张健,杨婉身,等.气相色谱-质谱法分析巨桉叶的挥发性化感成分[J].四川农业大学学报,2006,24(1):51-54.