

论大豆连作障碍中有关化感作用 (Allelopathy)研究的若干问题^{*}

阎 飞 韩丽梅 杨振明

(解放军军需大学农学系 长春 130062)

摘要 本文着重地探讨了大豆连作障碍中有关化感作用研究应注意的若干问题,具体内容如下:(1)化感物质的提取源、提取剂及其收集方法的选取;(2)生物检测的参数、受体植物及其生长的环境基质的选用;(3)数据统计分析方法的选定等。以便为研究大豆连作障碍机理提供科学的方法。

关键词 大豆连作障碍;化感作用;化感物质;研究方法

虽然对大豆连作障碍的机理已进行了长期的研究,但仍未取得突破性的进展。最近,有关资料表明,化感作用 (Allelopathy)的研究可能是解决这一问题的重要途径^[1, 15, 18, 19]。由于化感作用是在较长时期内发生,并常被掩盖在明显的种内(间)竞争中,加上非生化环境因素同微生物的介入、干扰,使其研究受到了很大的影响。同时,由于该学科内容广泛,研究者的专业结构复杂,所采用的研究方法不尽一致,因而研究结果缺乏可比性。为此,本文就其有关内容作一评述,试图为大豆连作障碍机理的深入研究提供准确、完整的科学方法。

1 大豆连作障碍机理中化感作用的研究路线

经过查阅大量的资料和多次的实验摸索,总结其研究路线为:(1)首先证明大豆连作障碍中存在化感作用,描述其现象,并对其程度进行定量;(2)分离、分析和定性并合成化感物质;(3)在大豆生长的不同阶段,连续地按比率加入此类化感物质,以验证其化感作用;(4)模拟化感物质的释放、转运和吸收的过程,并使其浓度足以表现出大豆连作障碍^[1]。其中,杨振明等(1996)已提出了大豆连作障碍因子的确定及其消除的理论标准^[15],在此就不再赘述了。因而,本文将着重探讨其他方面的有关问题。

2 化感物质的提取方法及其提取源的确定

Putnam和 Tang(1986)认为:化感物质不仅要具有生态活性浓度,而且将对周围其他植物有一个持续的作用^[3]。因此,化感物质的提取源,应是待检的具有化感作用的植物部分,或者是与它有关的环境土壤^[4]。在化感物质的提取过程中,随着植物材料的研碎,可能会释放出材料体内的某些酶、盐分、氨基酸和养分,而这些物质在自然条件下却不一定被

^{*} 本文为国家“九五”重中之重 95-01-05 课题部分研究内容。

收稿日期 1999-09-17
Received on Sep. 17, 1999

释放^[9]。因此,应避免使用研碎的植物材料。Fisher (1979)认为,从植物材料中提取出的化感物质,实际上似乎大多数不可能到达受体植物^[10]。而我们所获得的有关化感物质的信息,几乎都来自从未进入过土壤的提取物。由于化感物质进入土壤后,将发生很大的变化(如:保持、转化和转移等),从而会影响它们的变迁及其化感潜能^[13]。另外,诸如水分、营养状况、土壤温度和有机质含量等土壤因素,也可能影响化感物质的作用及其有效性^[36]。所以,从连作大豆的土壤环境中分离、并检测出化感物质是否存在一个足以影响大豆生长发育的活性浓度是至关重要的。

另外,在室内培养实验过程中获取根系分泌的化感物质时,为了确定它的真实特性,首先需要将微生物从植物的培养和收集系统中除去,以避免其代谢作用的影响^[8];然后把植株从营养液中取出,用去离子水冲洗干净,放入盛有一定量去离子水的容器中,静置一定的时间后,取出植株,收集去离子水中的分泌物。在此过程中,有几个问题值得斟酌:其一、当用纯净的去离子水作收集根系分泌物的基质时,由于它与植株根系细胞存在水势差,很可能会损伤细胞的膜结构,引起细胞质内含物的泄露,而进行非真实、自然的分泌过程;其二、长时间的静置水中,可能会产生缺乏氧气和养分的胁迫作用,也能引起不正常的分泌。因此,收集大豆根系分泌物时,其收集的无菌环境、基质及其浓度、分泌的时间等问题,应作认真的研究。最近,陈凯等^[38]用 2mmol/L 的 CaSO_4 去离子水作为收集基质,于清晨 10 点开始通气,4h 后收集根系分泌物,此法值得借鉴。

3 化感物质提取剂的选择

化感物质一般通过浸析、挥发、植物残体分解和根系分泌等方式进入环境中^[7, 11, 15],通常根据这些作用途径的特点,分别采用夹层法^[11]、常温吸附法^[11]、浸提法或腐解法^[11, 17-19]、疏水性根渗出液连续收集法(CRETS)^[12]等方法提取。而与农业生产密切相关的化感作用,一般是通过多种途径产生的,由于其所处的复杂环境,使化感物质的提取收集更加困难。在研究工作中,主要采用浸提法,浸提剂主要有两类:一是无机化合物:如 H_2O ^[14, 18-22, 24, 26]、 NaOH ^[14, 17]、 $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ^[17]等;二为有机化合物:如石油醚^[24]、氯仿^[24]、二氯甲烷^[30]、丙酮^[31]、乙醚^[26, 32]、乙酸乙酯^[14]、乙醇^[33]等。土壤中对植物生长有作用的化感物质主要是以游离态和可逆束缚态的形式存在于土壤溶液中^[14, 17],若选用 NaOH 和 $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 作为浸提剂则可能将植物残体和土壤有机质中的酚酸类物质提出^[16];而有机溶剂(如氯仿),能够直接从枯枝落叶、土壤腐殖酸和微生物膜中提取出化合物^[23],与自然条件下所产生的化感物质有质和量的区别。所以,对于连作大豆土壤浸提剂的选择应该全面慎重考虑,以便使检测结果与大豆连作障碍的实际情况相吻合。

在室内研究中,Tang 和 Young (1982)提出的连续抽提系统比溶剂提取方法更有效,并有助于从未扰动的根际中分离和鉴定化感物质^[12]。在田间,刘秀芬等^[33]在减压条件下,用带有多孔陶头的塑料管原位收集土壤溶液,并成功地鉴定出了以前未见报道的化感物质(对-叔丁基苯甲酸),其对玉米和小麦生长发育的抑制作用明显强于同浓度的常见化感物质苯甲醛和阿魏酸。最近,吴龙华等^[39]研制的根际土壤溶液取样器(Rhizon SMS)的工作原理与陶土管法相同,却因其更轻便、灵巧和所取样品量少且可直接用于分析等优点,将特别适合在田间和土壤培养实验中连续原位采集根际土壤溶液样品,进行动态研究。

在浸提过程中,常采用往复式振荡^[17, 33]和索式提取^[24, 26, 31, 32]等方法进行,然而,这些方法在处理样品时,浸提时间长且不完全,并且有的样品容易损失。最近,王俊儒等提出用超声波法提取土壤中碳水化合物的设想^[40]。由于其深层的超声破碎作用,从理论上说能够省时并浸提更加完全,因此,本文建议尝试使用超声波浸提方法提取土壤中的化感物质,其实际操作条件还有待于进一步的研究。

4 化感物质生物检测中应注意的几个问题

4.1 环境基质的确定

在许多的研究中,主要通过把待检的化感物质加入营养液或消毒的土壤中,来检验标样的化感作用潜能^[3, 7]。但是,其最合理的检验方法应是向自然土壤中加入待检物质或者加入从与化感作用植物有关的土壤中分离出的化感物质^[25, 27]。田间的一些相互作用过程是依次或同时发生,但在田间条件下,很难分离出这些作用过程^[3]。另一方面,实验室允许研究者通过精确控制试验设计和几乎所有的参数来排除所有可能的干扰,以便研究者能够改变田间的复杂状况,而研究其反应机理。因为实验室内的生物检测很难模拟自然的田间状况^[28],所以,为验证化感作用,实验室的生物检测必须要证明化感物质释放并进入土壤后的反应,及其对受体植物的作用^[3]。在检验时,对化感物质的附加或协和作用要加以重视。因为在田间条件下,特别是化感物质浓度很低时,其附加或协和作用可能变的更有影响^[4]。故而,在大豆连作障碍的研究中,最终一定要在植株生长的自然土壤上进行化感物质的检验。

4.2 检测参数的设计

种子萌发是一个广为使用的参数^[7],而 Weidenhamer 等 (1987) 认为: 在生物检测中,种子萌发的化感作用结果受种子数量、溶液体积等的影响^[30]。另外,由于化感作用包括促进和抑制两种作用,倘若控制体系中为 100% 的发芽率,则不可能用它评价化感物质的刺激作用^[36]。因此,仅使用种子萌发作为生物检测的一个重要的参数是不妥当的。而幼苗的生长反应,特别是其根对化感物质显示出了极好的响应^[37]。所以,幼苗的生长反应被广泛地用来评估实验室生物检测中的化感作用。此外,许多的植物生理生化参数也能真实地反映化感物质的作用^[7],所以,它们有助于确定化感物质的作用机理。因而,在化感作用的生物检测中,不仅要研究大豆种子萌发和幼苗的生长反应,还应关注与大豆植株生长发育有关的生理生化参数。

4.3 受体植物的选择

在生物检测中,选择对化感物质反应敏感的植物作为受体,虽然有益于研究化感物质的作用机理,但对于自然界中化感潜能的研究却几乎没有价值。因此,在选择受体植物时,应避免选用与实际无关的敏感性植物品种^[6, 36]。具体到大豆连作障碍机制中化感作用研究的受体(或目标)植物,应为当地的主栽大豆品种,而非一般生物检测中常用的小麦、玉米、萝卜和莴苣等。

5 数据统计的分析方法

Williamson (1988) 提出的数据统计分析方法^[31],能够比较完整地分析化感作用的效应及其强度。具体内容如下: 设 C 为对照值, T 为处理值, RI 为化感作用指数,则公式为:

$$RI = \begin{cases} 1 - C/T & \text{当 } T \geq C \\ C/T & \text{当 } T < C \end{cases}$$

即: $RI < 0$ 为化感作用的刺激和促进效应
 $RI > 0$ 则为抑制效应, 其绝对值的大小反映
 化感作用的强弱程度。

6 结论

化感作用对于大豆连作障碍机理的研究, 意义非常重大。为了能够从理论上揭示出化感物质的作用机理, 减小实验室生物检测和田间相互作用之间的差距, 促进化感作用的研究向应用化发展, 并最终解决大豆连作障碍的难题, 在本研究中应注意以下问题:

6.1 要准确地选取化感物质的提取源及其提取剂。提取源应为连作大豆的土壤和(或)发生连作障碍的大豆植株; 提取剂则应全面慎重的考虑, 要既利于室内分析, 又要与生产实际相吻合。

6.2 要合理选用验证化感作用的生物检测条件, 即: 检测参数不仅是当地主栽大豆的种子萌发状况, 还应有其幼苗的生长发育和与之有关的生理生化指标, 并最终要在大豆生长的自然土壤上进行化感物质的检验。

6.3 要全面地分析生物检测中化感作用的效应和强度, 不仅要重视化感物质对大豆的抑制作用, 还应注意其刺激效应。

参 考 文 献

- 1 阎飞, 杨振明等, 大豆连作障碍中的生化互作效应, 大豆科学, 1998, 17(2): 147- 151
- 2 王建林, 曹志, 根际营养环境与持续农业, 植物生理学通讯, 1993, 29(5): 329- 336
- 3 Putam, A. R. Tang, C. S., Allelopathy: State of Science, in Putam, A. R. Tang, C. S. (eds), The Science of Allelopathy, New York. 1986, 1- 19
- 4 Inderjit, Dakshini, K. M. M., On laboratory bioassays in allelopathy, The Botanical Review. 1995, 61(1): 28- 44
- 5 杨振明, 阎飞, 关于大豆连作障碍几个问题的理论思考, 大豆通报, 1997, (2): 26- 27
- 6 王大力, 水稻化感作用研究综述, 生态学报, 1998, 18(3): 326- 334
- 7 Rice E. L. Allelopathy (2nd edition). Academic Press., 1984, 1- 50
- 8 北京农业大学植保系植物生态病理教研室编译. 植物根际生态学与根病生物防治进展, 中国人民大学出版社, 1991, 32- 68
- 9 Chou, C. H., Muller, C. H., Allelopathic mechanisms of *Arctostaphylos glandulosa* var *zacaensis*. Amer. Midl. Naturalist, 1972, 88 324- 347
- 10 Fisher, R. F., Allelopathy. in J. G. Horsfall / E. B. Cowling (eds). Plant Disease: An advanced treatise. Academic Press, New York. 1979, 313- 330
- 11 藤井义晴, 植物のアレロパシー, 化学と生物, 1990, 28(7): 471
- 12 Tang C. H., Yong C. C., Collection and identification of allelopathic compounds from the undisturbed root system of *Bigelovia limpogress* (*Hemarthria altissima*). Plant Physiol. 1982, 69 155- 160
- 13 Cheng, H. H., A conceptual framework for assessing allelochemicals in soil environment. in S. J. H. Rizvi, Rizvi (eds). Allelopathy: basic and applied aspects. Chapman and Hall, London. 1992, 21- 29
- 14 Takao Katase., Distribution of different forms of p- hydroxybenzoic, vanillic, p- coumaric and ferulic acids in forest soil. Soil Sci. Plant Nutr., 1981, 27(3): 365- 371
- 15 Patterson D. T. Effects of allelopathic on growth and physiological responses of soybean (*Glycine Max*). Weed Sic., 1981, 29 53- 59
- 16 蔺 1A. D. 麦克拉伦等著 (阎九康等译). 土壤生物化学, 北京: 农业出版社, 1984, 292- 33

- 17 Whitehead D C et al. , Bound phenolic compounds in wheat extracts of soil , plant roots and leaf litter. *Soil Biol. Biochem.* , 1983, 15(2): 133- 136
- 18 王光华等 ,大豆根残体对大豆生长影响 ,大豆重迎茬研究 (韩晓增、许艳丽主编) ,哈尔滨: 哈尔滨工程大学出版社 , 1992, 84- 91
- 19 王光华等 ,大豆根浸提液生化他感现象的研究 ,大豆重迎茬研究 (韩晓增、许艳丽主编) ,哈尔滨: 哈尔滨工程大学出版社 , 1992, 73- 77
- 20 高井康雄 ,水田土壤中有机酸定量について (第 2 报) イオン交換法による土壤有机酸の分离 ,*土肥志* , 1958, 29 77- 78
- 21 Thomas S C Wang. et al , Soil phenolic acids as plant inhibitors. *Soil Sci.* , 1967, 103(4): 239- 246
- 22 Lawongsa P. et al. , Identification of organic acids by HPLC in soil. *Soil Sci. Plant Nutr.* , 1987, 33(2): 299- 302
- 23 Schmidt, S. K. , Ecological implication of the destruction of juglone (5 hydroxy- 1, 4- naphthoquinone) by soil bacteria. *J. Chem. Ecol.* , 1990, 16 3547- 3549
- 24 曾任森,林象联等, 薹苣菊的生化他感作用及生化他感作用物的分离鉴定 ,*生态学报* , 1996, 16(1): 20- 27
- 25 Inderjit, Dakshini, K. M. M. , Hesperetin 7- O- rutinoid (hesperidin) and taxifolin 3- arabinoside as germination and growth inhibitors in soils associated with the weed *pluchea lanceolata* (DC.) C. B. Clarke (Asteraceae). *J. Chem. Ecol.* 1991, 17 1585- 1591
- 26 高井康雄 ,水田土壤中有机酸定量について (第 1 报) シリカゲル° カラムクロマトグラフィーによる有机酸の定量および土壤有机酸の分离 ,*土肥志* , 1958, 28(11): 435- 438
- 27 Inderjit, Dakshini, K. M. M. , Fommononetin 7- o- glucoside (ononin)· an additional growth inhibitor in soils associated with the weed *pluchea lanceolata* (DC.) C. B. Clarke (Asteraceae). *J. Chem. Ecol.* 1992, 18 713- 718
- 28 May, F. E. , Ash, J. E. , An assessment of allelopathic potential of *Eucalyptus*. *Austral. J. Bot.* 1990, 38 245- 254
- 29 Putnam, A. R. , Weston, L. A. , Adverse impacts of allelopathy in agricultural systems. in Putam, A. R. Tang, C. S. (eds), *The Science of Allelopathy* , New York. 1986, 43- 56
- 30 Weidenhamer, J. D. et al , Solution volume and seed number: Often overlooked factors in allelopathic bioassays. *J. Chem. Ecol.* 1987, 13 1481- 1491
- 31 Williamson, G. B. , Richardson, D. , Bioassay for allelopathy: measuring treatment responses with independent control. *J. Chem. Ecol.* 1988, 14 181- 187
- 32 马瑞霞等 ,小麦根区微生物分解小麦残体产生的化感物质及其生物活性的研究 ,*生态学报* , 1996, 16(6): 632- 639
- 33 杨善元等 ,凤眼莲根区中抑藻物质分离与鉴定 ,*植物生理学报* , 1992, 18(4): 399- 402
- 34 龙岛康夫 ,水田土壤中有机酸代谢与水稻生育阻害性に関する研究 (第 1 报) 国产シリカゲルによる有机酸の Chromatography とその应用 ,*土肥志* , 1960, 31(10): 435- 440
- 35 刘秀芬等 ,根际区他感化学物质的分离、鉴定与生物活性的研究 ,*生态学报* , 1996, 16(1): 1- 10
- 36 Inderjit, Plant phenolics in allelopathy, *The Botanical Review.* 1996, 62(2): 186- 202
- 37 Blum , U. , Rebbeck, J. Inhibition and recovery of cucumber roots given multiple treatments of ferulic acid in nutrient culture. *J. Chem. Ecol.* 1989, 15 917- 928
- 38 陈凯 ,马敬 ,曹一平等 ,磷亏缺下不同植物根系有机酸的分泌 ,*中国农业大学学报* , 1999, 4(3): 58- 62
- 39 吴龙华 ,骆永明 ,根际土壤溶液取样器 ,*土壤* , 1999, 31(1): 54- 56
- 40 王俊儒 ,龚月梓 ,尉庆丰等 ,土壤碳水化合物的提取和检测 ,*土壤通报* , 1999, 30(5): 249- 250

DISCUSS SEVERAL RESEARCHED PROBLEMS OF ALLELOPATHY IN SOYBEAN CONTINUOUS CROPPING BARRIER

Yan Fei Han Limei Yang Zhenming

(Department of Agronomy, Changchun University of Quartermaster, Changchun 130062)

Abstract Several problems as follow on allelopathic are mainly approached so as to supply research methods on barrier mechanism of soybean continuous cropping (1) Selecting extraction sources, extracts and collection methods of allelochemicals; (2) Choose para- meters of bioassay, species of test plant and their growth ground substance; (3) Establish data statistical analysis

Key words Soybean; Continuous cropping barrier; Allelopathy; Allelochemicals; Research methods

欢迎订阅 2001年《大豆科学》

《大豆科学》是由黑龙江省农科院主办的学术性期刊 国内外公开发行,季刊,16开本,每期 12万字左右。国内每期订价: 5.00元,全年 20.00元,邮发代号: 14- 95 国外每期订价: 10.00美元(包括邮资),全年 40美元,国外总发行由中国国际图书贸易总公司,北京 399信箱。国外代号 Q1462

《大豆科学》是我国核心期刊,主要刊登有关大豆的遗传育种,品种资源,生理生态,耕作栽培,病、虫、杂草防治,营养施肥,生物技术及食品加工等方面的科研报告,学术论文,国内、外研究进展评述,研究简报,学术活动简讯和新品种介绍等

《大豆科学》主要面向从事大豆科学研究的科技工作者,农业院校师生,国营农场及各级农业技术推广部门的技术人员、干部。本刊热忱欢迎广大科研单位及有关企业刊登广告,广告经营许可证号: 2301004010071

订阅办法: 全国各地邮局,如在邮局漏订,可到编辑部补订。通过邮局汇款至哈尔滨市学府路 368号《大豆科学》编辑部。邮政编码: 150086 联系电话: (0451) 6668735