

连作大豆化感作用研究^{*}

阎吉昌¹ 张 奕¹ 韩丽梅²

(1. 东北师范大学分析测试中心, 长春 130024; 2. 解放军军需大学, 长春 130062)

THE REVIEW OF CONTINUOUS CROPPING SOYBEAN ALLELOPATHY

Yan Jichang¹ Zhang Yi¹ Han Limei²

(1. Chemistry College of Northeast Normal University, Changchun 130024;
2. The Quartermaster University of PLA, Changchun 130062)

摘要 对连作大豆体系中化感物质的种类、来源途径、提取、分离、鉴定方法等进行了较详细的阐述,并介绍了有关于连作大豆化感作用的研究成果,以及今后研究应该注意的一些问题。

关键词 大豆;连作;化感作用;化感物质

中图分类号 S158.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2002)03-0214-04

已有许多学者对大豆重迎茬障碍问题进行了研究。江修业、王建国、王光华^[1]总结了其研究成果,对大豆重迎茬减产原因进行了探讨:①病害加重②虫害加重③土壤中速效养分下降④证实了大豆根系分泌物对大豆生长发育影响的存在。韩晓增、许艳丽^[2]通过4年定位试验对重迎茬大豆的土壤系统监测表明,重迎茬大豆营养失调原因是:根部因受病虫危害而吸收土壤中营养元素能力降低,必须施用营养元素,才能达到增产的目的。马汇泉、郑桂萍等^[3]选择不同连作年限的地块设置试验小区,定期调查大豆根腐病发病程度,大豆收获后测产,并采用稀释平板法测定大豆根际土壤中微生物组成及密度,初步认为连作障碍产生原因是由于大豆根际病原真菌种类增加,有益真菌数量减少所致。同时连作导致大豆根际细菌、放线菌密度下降,造成根腐病加重。许艳丽、王光华、韩晓增^[4]通过盆栽连作大豆表明,连作可使大豆生长发育受阻,病害加重,叶面积减少,根系发育不良,导致产量下降。通过这些研究,可以初步认为,大豆连作障碍原因有以下三点^[5]:①病虫的危害;②营养失调;③来自植物体及

土壤中的有毒物质,即所谓的“毒素学说”,也叫相生相克、异株相克、生化他感和他感作用等。

化感作用现象在很早就为人们所发现。Molish 最早在1937年提出 Allelopathy 这一名词,当时,他用来指植物间的有益和有害的相互作用。Rice 后来也肯定了这一定义,即:化感作用是指一种植物通过向环境释放某些化学物质,在其周围形成一个微环境区域,从而抑制或促进该区域内其它植物(包括其自身)生长的现象。

1 连作大豆化感作用的研究

1.1 化感物质种类

植物化感作用的媒体是化学物质,被称为“化感物质”(Allelochemical),它是指生物体产生的所有非营养性物质,能影响其它植物及其自身的生长、健康、行为或群体关系^[7]。

化感物质是一些次生代谢物质,它们在次生代谢中通过醋酸途径或莽草酸途径而产生。Rice 把化感物质归为14类。

(1)可溶性有机酸、直链醇、脂肪族醛和酮;(2)简

* 收稿日期:2001-12-11

基金项目:国家九五重中之重攻关课题 G95-01-03 的部分内容。

作者简介:阎吉昌(1943-),男,教授,研究方向为有机分析。

单不饱和和内酯; (3)长链脂肪酸和多炔; (4)苯醌、蒽醌和萘醌; (5)简单酚、苯甲酸及其衍生物; (6)肉桂酸及其衍生物; (7)香豆素类; (8)类黄酮; (9)丹宁; (10)类萜和甾类化合物; (11)氨基酸和多肽; (12)生物碱和氰醇; (13)硫化物和芥子油苷; (14)嘌呤和核苷。

除上述 14 种外, 其他牵涉到化感作用的尚有苯基乙酸和 4- 苯基丁酸, 各种果实和 *Pinuts radiata* 落叶分解产生的乙烯也有化感作用。

有关连作大豆体系的化感物质方面已有一些研究, 如在水培条件下通过外加酚酸的方法研究发现, 土壤中酚酸物质对大豆生长起抑制作用; 其中对羟基苯甲酸、香草酸、香草醛、阿魏酸、苯甲酸、香豆素的混合物对土壤中真菌的数量有明显影响^[8]。韩丽梅等^[9~11] 鉴定了大豆根分泌物的二氯甲烷提取物、大豆根茬腐解产物、重迎茬大豆根际土壤有机化合物, 其中含有有机酸、醇、酯、酮、醛、酚、苯、烃等有机化合物。韩丽梅^[10] 等的研究表明 (含微生物菌源根际土中的有机化合物) 十分丰富, 有有机酸、酯、醇、醛、酚、酮、烃等。韩丽梅、阎飞^[11] 等鉴定, 结果表明: 重迎茬大豆根际土壤中主要含有有机酸、酯、醇、酮、醛、苯、酚、烃及萘、呋喃等有机化合物。

1.2 化感物质提取、分离、鉴定

近年来, 人们对化感作用的探索越来越深入, 目

前的研究已不仅仅是表观现象的描述, 也不仅仅是从宏观上将化感物质进行粗略地分类, 而是从分子水平上探讨其作用机制, 其中获得纯净组分或单体是相当关键的一步。由于化感物质往往是微量的, 难以收集、提取和分离, 因此, 化感作用的研究深受现代分析化学的影响。化学分析和鉴定技术的不断提高和完善, 为化感物质的分离鉴定提供了强有力的技术保障, 也使深入研究连作大豆系统产生的化感物质尤其是土壤中的化感物质在连作障碍中的作用和地位成为可能。提取是分离和鉴定的重要前提, 通常比较经典的化感物质提取方法有: 水提取 (包括水煎、水浸和水渗漉)、有机溶剂提取 (酸性、碱性有机溶剂)、水蒸气蒸馏、酶解或抑制酶解、化学处理、升华等。

化感物质通过如 1.3 所述的种种方式进入环境, 根据各自的特点, 可以采取夹层法、常温吸附法、浸提法或腐解法、疏水性根渗出液连续收集法等方法进行提取。在研究工作中, 主要采用浸提法, 浸提剂包括无机和有机两类。在浸提过程中, 常采用复式振荡和索氏提取等方法进行, 近来有研究表明, 超声提取的效果很好, 值得深入探讨。在大豆连作障碍研究中涉及到的一些提取方法见表 1。

分离纯化方法有: 层析法、溶剂处理、酸碱处理、

表 1 大豆连作障碍研究中应用的提取方法

Table 1 The methods of extration in the study on soil sickness by soybean continuous cropping

提取源	提取剂	提取方法	生物检测受体	生物检测结果	参考文献
大豆残茬	水	浸提	大豆、小麦	抑制小麦生长	12
苗期鲜根	乙醇	浸提	大豆、小麦莠苣	抑制三种作物的种子萌发	12
干豆根茬和连作大豆根际土	水	腐解	大豆	抑制大豆种子萌发	13
大豆根茬和根际土壤	蒸馏水	腐解	大豆	抑制种子萌发 抑制大豆生长	14
大豆根茬腐解培养液	二氯甲烷	萃取	大豆	抑制大豆生长	10
土壤	无水乙醇	浸提	大豆	对大豆种子萌发和生长有一定影响	11
根系分泌物	二氯甲烷	萃取	大豆	对种子萌发和生长有一定影响	9

制备衍生物、吸附法、沉淀法、分馏法、盐析法、透析法等。另外, 自本世纪 80 年代以来, 一些新的分离纯化方法, 超临界流体色谱法 (SFC) 和超临界流体萃取法 (SFE), 已稳步成熟, 越来越引起人们的兴趣。

在鉴定方面, 由于所得提取物通常是微量的, 所以, 目前多采用精密度和分辨率高的仪器来分析。如: 超临界流体色谱 (SFC)、超临界流体萃取法 (SFE)、气相色谱 (GC)、高效液相色谱 (HPLC)、色质联用仪 (GC/MS)、核磁共振仪 (NMR)、傅立叶红外光谱 (FTIR) 等, 但应用较多的为气质联机和高效液相色谱。

表 2 对文献中一些植物的化感物质的提取、分离、鉴定方法及得到的具体的化感物质进行了总结^[6], 对重迎茬大豆体系的研究可起一定借鉴作用。

1.3 化感物质及其产生途径

化感物质存在于植物的各部分组织中, 包括叶、花、果、种子、茎、根、须根, 其向环境的释放途径为^[5]: ①由植物地上部分 (主要是叶) 分泌, 被雨水或雾滴溶解淋洗到土壤中; ②通过植物根系分泌到土壤中; ③残体腐解物; ④地上部挥发物; ⑤花粉。

对重迎茬大豆的研究表明, 土壤中大量存在的微生物自身也产生代谢产物, 同时影响化感物质在土壤中的转化。

表 2 化感物质的提取、分离、鉴定方法及获得的化感物质

Table 2 Methods of extraction, separation and identification of the allelochemicals and the allelochemicals attained

植物	提取方法	得到的化感物质	参考文献
凤眼莲	根系→-30℃冷冻→研碎→丙酮渗漉→减压浓缩→石油醚溶解,过滤→硅胶柱层析→依次用石油醚,含5%乙醚的石油醚,含50%乙醚的石油醚以及丙酮洗脱→减压浓缩→硅胶柱层析,反向层析、高压液相层析再分离	N-苯基-2-萘胺(尚属首次报道)、亚油酸、亚油酸甘油酯	15
木麻黄	新鲜小枝→捣烂取其汁液,并将残渣用水浸泡一天,混合提取液和汁液→滤取清液浓缩→硅胶柱层析→氯仿:甲醇/50:1洗脱→薄层层析→溶解→加压柱柱层析→高效液相色谱纯化 山奈黄素-3- α -鼠李糖苷、槲皮黄素-3- α -阿拉伯糖苷、槲草素-3',4'-二甲氧基-7- β -鼠李糖、苷山奈黄素-3- β -双鼠李糖苷、槲皮黄素-3- β -葡萄糖苷		16
蜚螬菊	蜚螬菊→氯仿浸提→抽滤→浓缩→真空液相色谱法(VLC)分离→快速柱色谱法(FC,洗脱剂为石油醚、乙酸乙酯混合物)	Oxidosotriolobolide-6-0-isobutyrate, Trilobolide-6-0-isobutyrate, 5, 22-二烯-3-豆甾醇乙酸酯、十六烯酸甲酯和十八烯酸甲酯的混合物	17
根际土	土壤→风干→研细→加入无水乙醇→振荡1h→过滤→浓缩→乙醚溶解→GDX102树脂层析→甲醇洗脱→浓缩→乙酸乙酯溶解→GC/MS鉴定	十四烯-1、苯甲醛、对叔丁基苯甲酸(该物质首次报道)	18
胜红蓟	新鲜胜红蓟→剪碎→加入蒸馏水浸提90h→过滤,取上清液→硅胶柱色谱法层析→石油醚→乙酸乙酯混合液洗脱→进一步用柱色谱分离	早熟素I、早熟素II、5, 22-二烯豆甾醇	19
豚草	豚草植株→分成地上、地下两部分→按一定比例用蒸馏水浸泡24h→过滤→乙酸乙酯萃取→无水Na ₂ SO ₄ 干燥→GC/MS鉴定	α -蒎烯、 β -蒎烯、樟脑、桉树脑、2-冰片烯、蒎烯、冰片、匀叶桉醇、法尼烯、尼丁子香酚、里那醇、3-己烯-1-醇、橙花叔醇、2-甲基苯酚和环戊烷十一酸、壬二酸、3-羟基癸酸、3,4-二羟基苯甲醇等	20

1.3.1 地上部淋洗液

大豆植株地上部淋洗液及其有机提取物对大豆种子萌发和幼苗生长表现出化感抑制作用(此方面资料课题组正在报道之中)。

1.3.2 根系分泌物

韩丽梅等^[9]采用GC/MS分析法,鉴定了由水培试验方法获得的2周、8周大豆根分泌物的二氯甲烷提取物,并对其化感作用进行了初步研究。结果表明,能被二氯甲烷提取出来的根分泌物有有机酸、醇类、酯类、酮类、醛类、酚类、苯类、烃类等有机化合物,其中包含一些资料报道过的化感物质,2周与8周大豆根分泌物的种类和数量有所不同。其中2周根分泌物对胚根生长表现出极显著的抑制作用。

1.3.3 根茬腐解液和根茬腐解物

王光华等^[12]研究了大豆残茬根水浸提液、大豆苗期根浸提液对大豆、小麦、莒荻种子萌发过程中的化感现象,表明残茬根水浸提液对大豆不具有化感作用,苗期根浸提液经分离后所得三种组份中,以酸性部分对大豆自身萌发化感作用最强,大豆苗期根浸提液对大豆、小麦、莒荻种子萌发都表现出不同程度的化感作用。王光华等^[13]报道了大豆根残体腐解液对大豆胚根伸长的抑制作用及根残体对大豆生长的影响。试验表明,腐解液和大豆残茬在一定浓度下具有自毒作用。王树起等^[14]通过水培试验和室内分析相结合的方法研究了大豆根茬腐解液和营

养液残液对大豆种子萌发和大豆生长发育的影响。结果表明,与对照相比,营养液残液和根茬腐解液显著地抑制大豆种子的萌发、抑制大豆植株根系的生长,降低大豆植株生物量,降低根系活力和根系活跃吸收面积,降低了大豆的抗逆性,破坏了细胞膜稳定性。王树起^[21]等通过大豆腐解根茬盆栽试验表明:与对照相比,大豆腐解根茬降低了大豆的根系活力,降低了大豆的抗逆性,表现在 α -萘胺氧化酶活性下降;同时,腐解根茬使大豆植株的生物膜结构受到破坏。产量分析结果也表明:腐解根茬的综合效应使大豆产量和百粒重都较对照降低,差异极显著,达11.16%—24.61%。由此表明了大豆根茬腐解物(包括腐解的中间产物)是大豆连作的主要化感物质之一。韩晓增^[22]等研究表明:大豆根系腐解物对正茬大豆生长发育有显著影响,在正茬土壤中较对照可减产6%—24%;在大豆连作土中减产加重,较对照可减产20%—42%,随着根系加入量的增加,减产幅度增大。大豆根系盆栽腐解一年后,对大豆产量不产生显著影响。韩丽梅^[10]等采用气相色谱—质谱联用技术(GC-MS)鉴定了培养试验获得的大豆根茬腐解产生的有机化合物的酸、碱性组分产物,并对各组分产物进行了化感作用的研究。结果表明:大豆根茬腐解产物(含微生物菌源根际土中的有机化合物)十分丰富,有酸类、酯类、醇类、醛类、酚类、酮类、烃类等物质,大豆根茬腐解2周、4周、8周

产生的有机化合物其酸性、碱性组分均抑制大豆种子萌发和胚根生长。

1.3.4 根际土壤中有机化合物

土壤是一个十分复杂的生态环境, 特别是最具有活性的植物根际区。由 3.3 可以看出, 几种途径产生的化感物质最终都富集到土壤中去, 所以弄清楚土壤在植物化感作用中所扮演的角色是十分重要的。

对大豆重迎茬土壤中酚酸物质的研究发现, 土壤中的酚酸对大豆生长发育有一定影响^[8]。韩丽梅^[11]等采用 GC-MS 分析法鉴定了用无水乙醇浸提的结荚期重迎茬大豆根际土壤有机化合物, 并对其化感作用进行了初步研究。结果表明: 重迎茬大豆根际土壤中主要含有有机酸类、酯类、醇类、酮类、醛类、苯类、酚类、烃类及萘、呋喃类等有机化合物, 其中包含很多曾被报道过的化感物质。

2 连作大豆化感作用研究应注意的问题

目前关于大豆连作障碍机理的研究成果很多, 但对连作大豆化感作用及化感物质的研究方面报道较少, 且尚停留在表面阶段, 有许多问题亟待深入研究。对连作大豆的化感物质的分离提取等方面所做工作较少, 而此方面在其它植物中已有很多研究^[15~17]。为了进一步探求大豆连作系统产生的化感物质在大豆连作障碍中作用和地位, 必须清楚连作大豆土壤中化感物质的种类和数量及其作用机制, 因此, 提取、分离出纯净的化感物质是必经之路。

此外, 针对一些化感物质作用的特点及机制等方面, 在连作大豆体系所进行的研究也有很多不足之处。例如对化感物质作用的选择性和专一性、对同一植物化感物质高浓度和低浓度时作用产生的差异、化感物质多种成分之间产生的复合效应等等。还有环境因素(如光、温度等)对化感物质的产生、释放的影响, 提取方法对化感物质作用的影响(如提取剂的选择、提取时间、提取液的 pH 值的选择等等), 这些问题都有待于研究者们深入的探讨和研究。

参 考 文 献

1 江修业, 王建国, 王光华. 关于大豆重迎茬问题的探讨[A]. 大豆

重迎茬研究[C]. 哈尔滨工程大学出版社, 1995, 92—94.
2 韩晓增, 许艳丽. 重迎茬大豆营养失调原因及其调控技术的研究[J]. 农业现代化研究, 1996, 17(5): 302—307.
3 马汇泉, 郑桂萍, 赵九洲, 等. 大豆连作障碍及产生机理[J]. 土壤, 1997, 1: 46—48.
4 许艳丽, 王光华, 韩晓增, 等. 连作大豆生物障碍研究[J]. 中国油料作物学报, 1997, 19(3): 46—49.
5 阎飞, 杨振明, 邹永久. 大豆连作障碍中的生化互作效应[J]. 大豆科学, 1998, 17(2): 147—152.
6 贺锋, 陈辉蓉, 吴振斌. 植物间的相生相克效应[J]. 植物学通报, 1999, 16(1): 19—27.
7 孔垂华. 植物化感作用研究中应注意的问题[J]. 应用生态学报, 1998, 9(3): 332—336.
8 韩晓增, 许艳丽. 大豆重迎茬减产控制与主要病虫害防治技术[M]. 科学出版社, 1999, 35—51.
9 韩丽梅, 王树起, 鞠会艳, 等. 大豆根分泌物的鉴定及其化感作用的初步研究[J]. 大豆科学, 2000, 19(2): 119—125.
10 韩丽梅, 王树起, 鞠会艳, 等. 大豆根茬腐解产物的鉴定及化感作用的研究[J]. 生态学报, 2000, 20(5).
11 韩丽梅, 阎飞, 王树起, 等. 重迎茬大豆根际土壤有机化合物的初步鉴定及对大豆种子萌发的化感作用[J]. 应用生态学报, 2000, 11(4).
12 王光华, 许艳丽, 大豆根浸提液生化他感现象的研究[A]. 大豆重迎茬研究[C]. (许艳丽、韩晓增主编), 哈尔滨工程大学出版社, 1995, 73—77.
13 王树起, 韩丽梅, 杨振明, 等. 大豆根茬腐解液和营养液残液对大豆生长发育的自感效应[J]. 中国油料作物学报, 2000, 22(3): 43—47.
14 王光华, 许艳丽. 大豆根残体对大豆生长的影响[A]. 大豆重迎茬研究[C]. (许艳丽、韩晓增主编), 哈尔滨工程大学出版社, 1995, 84—86.
15 杨善元, 俞子文, 孙文浩, 等. 凤眼莲根系中抑藻物质分离与鉴定[J]. 植物生理学报, 1992, 18(4): 399—402.
16 邓兰桂, 孔垂华, 骆世明, 等. 木麻黄小枝提取物的分离鉴定及其对幼苗的化感作用[J]. 应用生态学报, 1996, 7(2): 145—149.
17 曾任森, 林象联, 骆世明, 等. 蟛蜞菊的生化他感作用及生化他感作用物的分离鉴定[J]. 生态学报, 1996, 16(1): 20—27.
18 刘秀芬, 马瑞霞, 袁光林, 等. 根际区他感化学物质的分离、鉴定与生物活性的研究[J]. 生态学报, 1996, 16(1): 1—10.
19 胡飞, 孔垂华. 胜红蓟化感作用研究 I. 水溶物的化感作用及其化感物质分离鉴定[J]. 应用生态学报, 1997, 8(3): 304—308.
20 王大力, 祝心如. 豚草的化感作用研究[J]. 生态学报, 1996, 16(1): 11—19.
21 王树起, 杨振明, 韩丽梅. 大豆残茬腐解液对大豆生长发育的自感效应[J]. 大豆科学, 2001, 20(2): 89—93.
22 韩晓增, 许艳丽. 连作大豆根系腐解物的障碍效应[J]. 大豆科学, 1998, 17(3): 207—212.