

DOI:10.11937/bfyy.201509003

大蒜秸秆水浸液化感作用的研究

刘素慧, 徐金强, 刘庆涛, 尉辉

(山东农业工程学院, 山东 济南 250100)

摘要:以大蒜秸秆水浸液为试材,以番茄、辣椒、黄瓜、莴苣、大葱和洋葱为受体材料,研究了大蒜秸秆水浸液对不同受体蔬菜的发芽率、胚芽和胚根长及鲜重的影响,用薄层层析试验,分离大蒜秸秆水浸液中的化感物质,研究其对莴苣的生物活性,并鉴定出抑制物质,为高效利用大蒜秸秆的化感作用提供理论依据。结果表明:不同浓度的大蒜秸秆水浸液对番茄和辣椒种子发芽率均有抑制作用,但对黄瓜种子的发芽率无明显影响;水浸液对番茄、黄瓜、辣椒胚芽和胚根的影响均为低浓度促进高浓度抑制的双重浓度效应;但对同属作物洋葱和大葱的萌芽指标均表现为抑制作用。经薄层层析得到的5个斑点中,斑点2、3、5对莴苣的萌芽有抑制作用,经GC-MS鉴定:斑点2中以芳香族化合物为主;斑点3主要以联苯和1-甲基萘等为主;斑点5以脂肪族酯类和芳香族化合物为主。

关键词:大蒜秸秆;水浸液;化感作用

中图分类号:S 633.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)09-0010-04

1984年Rice将化感作用(AAllelopathy)定义为一种植物(包括微生物)通过释放化学物质到环境中来影响另一种植物生长的作用,包括促进作用和抑制作用2个方面^[1]。化感作用研究早期主要集中在黄瓜^[2-3]、番茄^[4-6]等蔬菜上,近年来随着蔬菜连作障碍的日趋严重,国内外研究人员越来越重视对蔬菜化感作用的研究。大蒜是公认的良好前茬作物,可抑制多种微生物^[7]、植物病害病原菌^[8]。有关大蒜化感作用前人进行过探索,如周艳丽等^[9]利用组织培养技术,发现大蒜根系分泌物可提高受试作物叶绿素含量及根系活力。董林林等^[10]研究结果表明,20 mg/mL浓度范围内的大蒜鳞茎浸提液对黄瓜生长有益。程智慧等^[11]发现低浓度蒜苗挥发物促进黄瓜幼苗生长,而高浓度则相反。该研究利用大蒜秸秆水浸液来检测对不同受体蔬菜的化感,分离大蒜秸秆水浸液中的化感物质,研究其对莴苣的生物活性,鉴定出抑制物质。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 大蒜秸秆水浸液 将大蒜植株洗净,自然风干。

第一作者简介:刘素慧(1981-),女,山东菏泽人,博士,讲师,现主要从事蔬菜栽培生物学等研究工作。E-mail:liusuhui2003@163.com。

基金项目:国家公益性行业(农业)科研专项经费资助项目(200903018);山东省农业重大创新资助项目。

收稿日期:2015-01-22

取40 g风干的大蒜植株放入三角瓶中,加1 000 mL清水,封口,置摇床上,在25℃下,160 r/min浸提2 d,再真空抽滤,得到大蒜秸秆水浸液的浓度为0.04 g/mL。将大蒜秸秆水浸液于55℃在旋转蒸发仪上真空减压浓缩至干,用约50 mL的无水甲醇溶解,过滤,滤液再减压浓缩至干,再用约50 mL无水甲醇溶解,最后定容100 mL, -20℃冷藏备用。

1.2 受体蔬菜 番茄、辣椒、黄瓜、莴苣、大葱和洋葱,用随机法测得所用种子的发芽率均高于90%。

1.2 试验方法

1.2.1 对受体蔬菜萌芽的影响 分别吸取0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL原液,滴入培养皿(底部铺上滤纸)中,待甲醇挥发干,分别加入8 mL去离子水,得到培养皿中的浓度分别为0.01(A)、0.02(B)、0.03(C)、0.04(D)和0.05(E)g/mL。将供试种子用0.3% K₂MnO₄溶液浸泡10 min,再用蒸馏水冲洗2~3次,然后将20粒供试种子均匀地摆放在滤纸上,于25℃,4 000 lx,8 h光照下培养4 d,测其发芽率、胚根和胚芽的长度和鲜重。对照加8 mL去离子水,各处理均5次重复。

1.2.2 薄层层析试验 将大蒜秸秆醇溶液点在TLC板进行展层,计算R_f值。取下班点处硅胶,用甲醇洗脱后蒸发至干,一部分溶于丙酮,用于GC-MS分析,另一部分溶于甲醇,用于对莴苣化感作用的检测。

1.2.3 对莴苣的化感作用 吸取每个斑点的各1 mL甲醇液,滴入培养皿(底部铺上滤纸)中,待甲醇挥发干,分别加入8 mL去离子水,然后将莴苣种子用0.3%

K_2MnO_4 溶液浸泡 10 min, 再用蒸馏水冲洗 2~3 次, 然后将 20 粒的莴苣种子均匀地摆放在滤纸上, 于 25℃, 4 000 lx, 8 h 光照下培养 4 d, 测其发芽率、胚根和胚芽的长度和鲜重。

1.2.4 GC-MS 条件 HP-5 色谱柱;载气为 He;50℃下保持 5 min, 以 5℃/min 速度升至 280℃, 保持 25 min;质谱条件:EI 源;扫描的范围在 30~600 amu;控制 GC-MS 系统以及处理峰值的软件由 Shimadzu 公司提供。

1.3 项目测定

胚根和胚芽的长度用量尺测量, 鲜重用天平称量。

1.4 数据分析

试验数据的差异比较采用 LSD 法, $\alpha=0.05$ 为显著性水平。数据分析采用 DPS V12.01 统计软件进行。

2 结果与分析

2.1 大蒜秸秆水浸液对受体作物的化感作用

2.1.1 大蒜秸秆水浸液对番茄的化感作用 由图 1 可知, 大蒜秸秆水浸液对番茄发芽率有抑制作用, 且浓度越大抑制作用越强, 但对胚芽、胚根的鲜重和长度的影响表现为低浓度促进高浓度抑制, 当浓度高达 0.05 g/mL(E)时, 仅小幅度增加了胚根鲜重。随浓度逐渐增大, 胚根长、胚根和胚芽鲜重的变化趋势为先升后降, 促进作用最强时的浓度为 0.03 g/mL(C)时, 但随浓度的增加, 对胚芽长的影响表现为逐渐降低的趋势, 浓度达 0.05 g/mL(E)时为抑制作用。

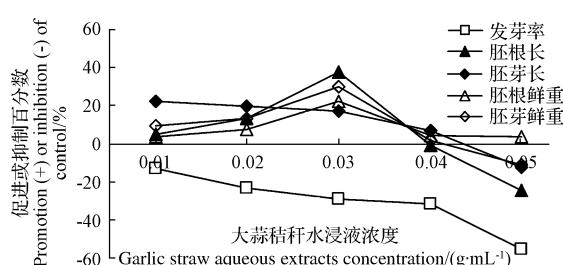


图 1 大蒜秸秆水浸液对番茄发芽率的影响

Fig. 1 Effect of garlic straw aqueous extracts on emergence of tomato

2.1.2 大蒜秸秆水浸液对辣椒的化感作用 由图 2 可知, 辣椒发芽率变化趋势同番茄相似, 大蒜秸秆水浸液浓度越大抑制作用越强。辣椒胚芽和胚根受到大蒜秸秆水浸液的化感作用相类似, 表现为高浓度抑制低浓度促进, 其中对长度的影响更明显, 浓度为 0.04 g/mL(D)时均为抑制作用, 浓度为 0.05 g/mL(E)时抑制作用急剧增强; 水浸液对鲜重的影响也表现为先促后抑的趋势, 但幅度相对较小, 仅浓度为 0.05 g/mL(E)时呈现微弱的抑制。

2.1.3 大蒜秸秆水浸液对黄瓜的化感作用 从图 3 可

以看出, 除浓度为 0.05 g/mL(E)时对胚芽鲜重有抑制作用外, 大蒜秸秆水浸液对黄瓜发芽率和胚芽鲜重的影响不明显。对胚芽长、胚根长的影响为低浓度促进、高浓度抑制, 随浓度增大促进作用逐渐减弱而抑制作用逐渐增强。水浸液对胚根鲜重的影响较大, 随水浸液浓度增大, 对胚根鲜重的促进作用逐渐增强, 浓度为 0.03 g/mL(C)时达到最大值, 而后急剧减弱。

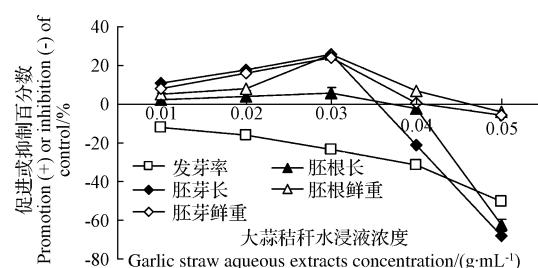


图 2 大蒜秸秆水浸液对辣椒发芽率的影响

Fig. 2 Effect of garlic straw aqueous extracts on emergence of pepper

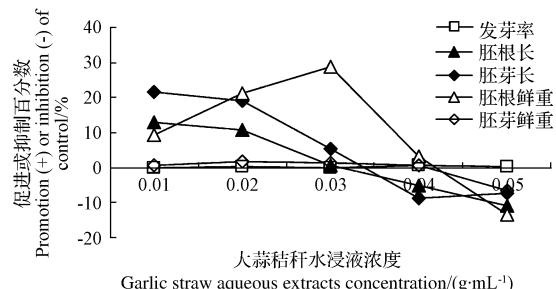


图 3 大蒜秸秆水浸液对黄瓜发芽率的影响

Fig. 3 Effect of garlic straw aqueous extracts on emergence of cucumber

2.1.4 大蒜秸秆水浸液对洋葱的化感作用 由图 4 可得出, 洋葱的发芽率、胚芽长、胚芽鲜重、胚根长和胚根鲜重均受到秸秆水浸液的抑制, 且浓度越大抑制作用越强。其中洋葱胚芽长和胚根长受到的抑制作用最强, 依次分别为发芽率、胚根鲜重和胚芽鲜重。

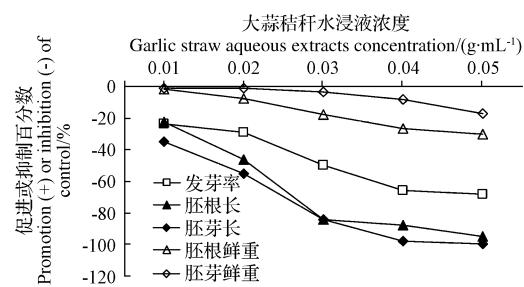


图 4 大蒜秸秆水浸液对洋葱发芽率的影响

Fig. 4 Effect of garlic straw aqueous extracts on emergence of onion

2.1.5 大蒜秸秆水浸液对大葱的化感作用 由图 5 可看出, 秸秆水浸液对大葱发芽的影响类似于对洋葱的影响, 即对发芽率、胚芽长、胚芽鲜重、胚根长和胚根鲜重均表现为抑制作用, 且水浸液浓度越大抑制作用越强, 抑制作用增强幅度除发芽率的较小外, 胚芽长、胚芽鲜重、胚根长和胚根鲜重的变化幅度相一致, 其大小依次为: 胚根长>胚芽长>胚根鲜重>胚芽鲜重。

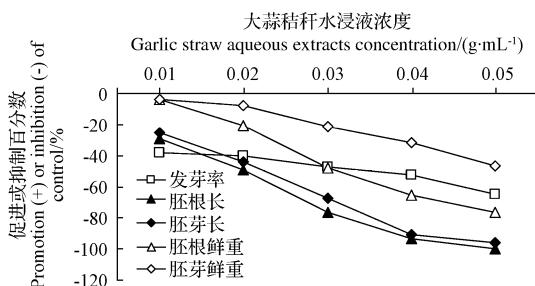


图 5 大蒜秸秆水浸液对大葱发芽率的影响

Fig. 5 Effect of garlic straw aqueous extracts on emergence of Chinese onion

2.2 分离物质对莴苣的化感作用

薄层层析试验表明, 氯仿:乙酸乙酯:甲醇:氨水=30:7.5:7.5:1时, 展层效果最好。试验得到5个斑点, Rf值分别为0.12、0.43、0.64、0.74和0.88。5个斑点所含物质对莴苣发芽影响见表1。表明斑点1和斑点4促进莴苣萌芽, 其中斑点4对莴苣胚根长的促进率高达7.94%, 斑点1对莴苣胚芽长促进率为6.73%, 斑点4对莴苣萌芽的促进作用强于斑点1的。斑点2、3和5抑制莴苣萌芽, 且抑制率远高于斑点1和斑点4对其的促进率, 斑点2对莴苣胚芽长的抑制最高, 为67.89%, 其次为斑点2对莴苣胚根鲜重的抑制, 为66.50%。总的来说, 斑点2对莴苣萌芽的抑制作用最强, 斑点3最弱、斑点5居中。

表 1 大蒜秸秆水浸液对莴苣萌芽的影响

Table 1 Effect of garlic straw aqueous extracts on emergence of lettuce

斑点 Spot	Rf	抑制(—)或者促进(+)率 Inhibition(—) or promotion(+) of control/%				
		发芽率 Germination rate	胚根长 Radicle length	胚芽长 Plumule length	胚根鲜重 Radicle fresh weight	胚芽鲜重 Plumule fresh weight
1	0.12	2.00aA	2.85bB	6.73aA	0.93bA	0.93aA
2	0.43	-51.67dD	-36.08dD	-67.89eD	-66.50eD	-57.30cC
3	0.64	-21.67bB	-19.29cC	-41.65Cb	-55.79dC	-32.16bB
4	0.74	2.22aA	7.94aA	4.31bA	2.96aA	2.65aA
5	0.88	-37.44cC	-36.27dD	-64.39dC	-50.21cB	-56.99cC

2.3 分离物质的GC-MS分析

由表2可以看出, 斑点2的化学物质以芳香族化合物为主, 邻苯二甲酸二异丁酯已被证实对多种植物具有化感作用^[11-16]。斑点3中的联苯已被证实为化感物

质^[17]。斑点4中的化学物质以酯类物质为主, 其中邻苯二甲酸二丁酯^[18-19]、雪松醇^[20-21]已被证实对多种植物具有化感作用。斑点5中的化学物质以脂肪族酯和芳香族化合物为主。

表 2 斑点中的化学物质

Table 2 Substances identified from spots

斑点 Spot	化合物名称 Chemical name	峰面积 Peak area/%
1	双丙酮醇 Diacetone alcohol	10.23
	己内酰胺 Caprolactam	7.56
	N,N-二丁基甲酰 N,N-dibutyl-Formamide	1.50
	异美沙酮 Isomethadone	0.17
	萘嵌戊烷 Acenaphthene	0.64
	9-十八碳烯酸甲酯 9-Octadecenoic acid, methyl ester	15.28
2	邻二甲苯 O-Xylene	0.50
	联苯 Biphenyl	2.36
	2,3-二甲基萘 2,3-dimethyl-Naphthalene	3.26
	二苯并呋喃 Dibenzofuran	5.78
	邻苯二甲酸二乙酯 Diethyl Phthalate	10.03
	邻苯二甲酸二异丁酯 Phthalic bis(2-methylpropyl) ester	0.63
3	邻苯二甲酸二正己酯 Phthalic acid, dihexyl ester	0.18
	2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚)	19.77
	2,2'- methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-Phenol]	
	3-巯基丙酮酸乙酯 3-mercaptopyruvate Ethyl	5.52
	1-甲基萘 1-methyl-Naphthalene	6.96
	1,8-二氨基环十四烷基-2,9-二酮 1,8-Diazacyclotetradecane-2,9-dione	13.05
4	联苯 Biphenyl	8.14
	雪松醇 Cedrol	2.79
	2-羟基丙酸异丁基酯 2-hydroxy-Propanoic acid 2-methylpropyl	0.46
	棕榈酸甲酯 Hexadecanoic acid, methyl ester	1.47
	7,10-十八碳二烯酸甲酯 7,10-Octadecadienoic acid, methyl ester	2.78
	8-十八碳烯酸甲酯 8-Octadecenoic acid, methyl ester	22.47
5	13-十四碳烯乙酸酯 13-Tetradeccenyl acetate	0.79
	苯并环庚 Benzocycloheptatriene	11.35
	2,3-二甲基萘 2,3-dimethyl-Naphthalene	3.06
	二苯并呋喃 Dibenzofuran	6.67
	反-9-十八碳烯酸甲酯 Elaidic acid, methyl ester	5.28

3 讨论

试验表明, 不同浓度的大蒜秸秆水浸液均抑制番茄和辣椒的发芽率, 但对黄瓜的发芽率无太大影响; 对番茄、黄瓜、辣椒胚芽和胚根的影响均呈现出低浓度促进高浓度抑制的双重浓度效应, 何海滨等^[22]研究结果与之相一致; 均抑制了同属作物大葱和洋葱的发芽率、胚芽和胚根长及鲜重。表明大蒜秸秆水浸液对番茄、辣椒和黄瓜具有有利的化感作用, 但同时对同属作物具有有害的化感作用。因此, 在生产中尽可能地避免有害影响利用有益影响, 具体要避免大蒜与洋葱和大葱轮作以及大

蒜连作,可通过大蒜秸秆还田缓解设施番茄、辣椒、黄瓜等蔬菜的连作障碍提供理论依据。

经薄层层析得到的5个斑点中,斑点1、4促进莴苣的萌芽,斑点2、3和5抑制莴苣的萌芽。经GC-MS检测有化感物质的存在,为大蒜具有化感作用提供直接的证据。但已检测出的化感物质并不一定就是水浸液中发挥化感作用的成分,原因是不同的提取方法、不同的溶剂、不同的检测条件等均有可致使一些物质检测不出来。因此,有关大蒜秸秆化感作用的研究重点应是其它化感物质的逐步分离、鉴定和验证。

参考文献

- [1] Rice E L. Allelopathy[M]. 2nd ed. New York: Academy Press Ascience publishers Incorporated,1984;151-187,309-315.
- [2] 吕卫光,张春兰,袁飞,等. 化感物质抑制连作黄瓜生长的作用机理[J]. 中国农业科学,2002,35(1):106-109.
- [3] 沈慧敏,郭鸿儒,黄高宝. 不同植物对小麦、黄瓜和萝卜幼苗化感作用潜力的初步评价[J]. 应用生态学报,2005,16(4):740-743.
- [4] 周志红,骆世明,牟子平. 番茄(Lycopersicon)的化感作用研究[J]. 应用生态学报,1997,8(4):445-449.
- [5] 周志红,骆世明,牟子平. 番茄植株中几种化学成分的化感效应[J]. 华南农业大学学报,1998,19(3):56-60.
- [6] 蒋红云,张燕宁,冯平章. 石蒜对萝卜、黄瓜、番茄和油菜幼苗的化感效应[J]. 应用生态学报,2006,17(9):1655-1659.
- [7] 李允祥,国淑梅,张艳君,等. 大蒜提取液对平菇菌丝及其杂菌的抑菌效果研究[J]. 北方园艺,2014(15):150-152.
- [8] 廖静静,刘屹湘,杨敏,等. 大蒜挥发物和浸提液对辣椒疫霉菌的抑菌活性分析[J]. 云南农业大学学报,2014,29(3):337-346.
- [9] 周艳丽,程智慧,孟焕文. 大蒜根系分泌物对不同受体蔬菜的化感作用[J]. 应用生态学报,2007,18(1):81-86.
- [10] 董林林,李振东,王倩. 大蒜鳞茎浸提液对黄瓜幼苗的化感作用[J]. 华北农学报,2008,23(增刊):47-50.
- [11] 程智慧,金瑞,佟飞. 蒜苗挥发物对黄瓜幼苗生长的化感效应研究[J]. 西北农业学报,2007,16(3):149-152.
- [12] 黄小芳,李勇,丁万隆. 人参根系分泌物对种子萌发的自毒效应[J]. 种子,2009,28(10):4-7.
- [13] 黄小芳,李勇,易茜茜,等. 五种化感物质对人参根系酶活性的影响[J]. 中草药,2010(1):126-130.
- [14] 周宝利,陈丰,刘娜,等. 邻苯二甲酸二异丁酯对茄子黄萎病及其幼苗生长的化感作用[J]. 西北农业学报,2010,19(4):179-183.
- [15] 郝群辉,刘红彦,王飞,等. 怀地黄根际土壤水提物的GC-MS分析[J]. 河南农业科学,2007(2):78-80.
- [16] 李勇,刘时轮,黄小芳,等. 人参(Panax ginseng)根系分泌物成分对人参致病菌的化感效应[J]. 生态学报,2009,29(1):161-168.
- [17] 田志佳. 大型海藻化感物质对短裸甲藻的抑制作用[D]. 青岛:中国海洋大学,2009.
- [18] 陶月红,张昭,张本刚,等. 关于脂溶性化感物质研究方法的商榷[J]. 武汉植物学研究,2008,26(5):542-546.
- [19] 耿广东,张素勤,程智慧,邻苯二甲酸二丁酯的化感作用及其作用机理研究[J]. 江西农业大学学报,2008,30(6):1045-1048.
- [20] 佟飞,程智慧,金瑞,等. 大蒜植株水浸液醇溶成分的化感作用[J]. 西北农林科技大学学报,2007,35(6):119-124.
- [21] 王海斌,何海斌,曾聪明,等. 含氧萜类化合物对稗草的化感抑制作用[J]. 中国生态农业学报,2009,17(2):307-311.
- [22] 何海斌,何华勤,林文雄,等. 不同化感水稻品种根系分泌物中萜类化合物的差异分析[J]. 应用生态学报,2005,16(4):732-736.

Study of Allelopathy on Straw Aqueous Extracts of Garlic (*Allium sativum* L.)

LIU Su-hui, XU Jin-qiang, LIU Qing-tao, WEI Hui
(Shandong Agricultural and Engineering University, Jinan, Shandong 250100)

Abstract: With different garlic stalks aqueous extracts as materials, and with tomatoes, peppers, cucumbers, lettuce, onions and welsh onions as receptor material, different receptors vegetable germination' germ length and fresh weight, radicle length and fresh weight were studied by using different concentrations of aqueous extracts of garlic stalks. Afterward, allelochemicals of garlic stalks aqueous extracts were separated by thin layer chromatography test, and their biological activity on lettuce and then identified inhibitory substances were studied, in order to provide the theoretical basis for effectively using allelopathy of garlic stalks. The results showed that all concentration designed in this test restrained the germination rates of tomato and pepper, but had no obvious effect on cucumber' germination rate; the influence of garlic straw aqueous extracts on the germination (embryo and radicle) of tomato, pepper and cucumber was dual concentration effect: the high concentration inhibited but the low concentrations displayed promoter action; garlic straw aqueous extracts had inhibition on the germination of onion and welsh onion. Five spots were observed on TLC plates under UV light, of these, spot 2, spot 3 and spot 5 suppressed lettuce emergence. The second spot contained diethyl phthalate and a derivative of phenol, biphenyl and 1-methyl-naphthalene were detected in the third spot. In the fifth spot, aromatic compounds and aliphatic ester were identified.

Keywords: garlic stalks; aqueous extracts; allelopathy