

文章编号: 1003-8701(2000)01-0007-05

大豆连作土壤中化感物质浸提剂的生物筛选

阎飞¹, 韩丽梅¹, 孙衍², 刘金萍¹

(1. 中国人民解放军军需大学农学系, 吉林 长春 130062; 2. 吉林省土壤肥料总站, 吉林 长春 130061)

摘要:通过大豆的正茬和重茬土壤水提液、磷酸缓冲液(pH=6.0)的乙醚萃取液和乙醇提取液对大豆和小麦种子萌发的研究表明:水和乙醇的正茬土壤提取液对大豆和小麦种子发芽无显著的抑制作用,它们的重茬土壤提取液对大豆种子发芽则有显著的抑制作用,其中水提液对小麦种子发芽无显著的抑制作用,高浓度的乙醇提取液则显著的抑制(正茬土壤)或促进(重茬土壤)小麦种子的发芽,正茬、重茬土壤磷酸缓冲液——乙醚萃取液对大豆和小麦种子的发芽均有显著的抑制作用。根据大豆和小麦的生产实际情况,我们认为纯水是进一步深入研究大豆连作障碍中土壤化感物质行之有效的土壤提取剂。

关键词:大豆连作;土壤浸提剂;化感物质;生物筛选

中图分类号:S 151.94

文献标识码:A

大豆连作减产已是不容质疑的事实,许多学者对其障碍机理进行了大量的研究。近来,大豆连作中的化感作用愈发引起人们的重视。化感作用是指植物或微生物的分泌或代谢物对环境其他植物或微生物的有利或不利的的作用,其中的化感物质可以通过浸析、挥发、植物残体分解和根系分泌等方式进入环境中。在大豆连作障碍中,归根到底,这些物质都是要通过在环境载体——土壤中积累或转化后才作用于下茬作物的,但有关大豆连作土壤中化感物质浸提剂的研究报道甚少。因此,我们通过生物检测,对此进行了比较和筛选,为进一步深入研究大豆连作土壤中化感物质而提供科学的理论基础。

1 材料和方法

1.1 供试材料

大豆为吉林 35,小麦为长春 2。

1.2 供试土壤

取自长春解放军军需大学农业试验站大豆连作定位实验地的正茬(麦茬)和重茬土壤。

1.3 土壤提取液的制备

将纯水、磷酸缓冲液(pH=6.0)和乙醇各 80 mL,正茬和重茬风干土各 80 g,分别置于 250 mL 塑料瓶中于 25℃ 下往返振荡 30 min,过滤,滤液备用;由于磷酸缓冲液中离子浓度过大,足以抑制种子的萌发,故用乙醚萃取该提取液,萃取后的有机相待用。

收稿日期:1999-07-12

基金项目:本文为国家“九五”重中之重课题部分研究内容(G95-01-05)

作者简介:阎飞(1969-),男,甘肃酒泉人,解放军军需大学讲师,主要从事逆境下的植物营养生态研究。

1.4 发芽试验

将 5 mL 水提液、磷酸一乙醚萃取液和乙醇提取液注入铺有 3 层滤纸的培养皿中,并使每皿中分别含有相当于 5 g 干土、1 g 干土、0.2 g 干土和 0 g 干土(对照)的提取液(分别用 3、2、1、CK 表示)。其中,待加入的乙醚和乙醇液在皿中挥发干净后,再加 10 mL 蒸馏水;而水提液的处理用蒸馏水补充至每皿 10 mL 水液即可。每处理重复 3 次。以上所用试剂均为分析纯。然后选 15 粒饱满无病的大豆或小麦种子,经 12% 的双氧水消毒后,放入培养皿中,于 28℃ 培养箱中恒温保湿培养 3 d 后,测量种子的发芽率、胚根和胚芽长等。

1.5 数据处理

采用 PLSD 法统计分析。

2 结果与分析

2.1 土壤提取液对大豆和小麦种子发芽率的影响

表 1 土壤提取液对大豆和小麦种子发芽率的影响

作物	茬口	处理	水提液	磷酸缓冲液— 乙醚萃取液		乙醇提取液
大豆	正茬	CK	100	98	100	
		1	100	98	100	
		2	100	96	100	
	重茬	CK	100	96	100	
		1	100	89	100	
		2	100	96	100	
小麦	正茬	CK	96	91	87	
		1	87	82	89	
		2	84	58	91	
	重茬	CK	78	13	93	
		1	91	91	93	
		2	89	89	91	
			2	80	73	82
			3	98	20	91

由表 1 可得,水和乙醇的土壤提取液对大豆种子发芽没有影响;而土壤磷酸缓冲液—乙醚萃取液对大豆种子发芽有不同程度的抑制作用,其中并无规律可寻。水和乙醇土壤提取液对小麦种子发芽也有无规律的不显著的抑制作用;正茬和重茬土壤的磷酸缓冲液—乙醚萃取液对小麦种子发芽都表现出随浓度的增加而抑制作用增强的趋势。

2.2 土壤提取液对大豆种子胚根生长的影响

从表 2 可以看出,与中、高浓度的正茬土壤水提液相比,重茬土壤水提液对大豆胚根生长有极显著的抑制作用,而与水提液的浓度无关。

表 2 水提液对大豆种子胚根生长的影响(PLSD 检验)

处理	平均胚根长 (cm)	差异显著性	
		0.05	0.01
正茬 3	3.67	a	A
正茬 2	3.64	a	A
CK	3.32	ab	AB
正茬 1	3.28	abc	AB
重茬 1	2.92	bc	B
重茬 2	2.83	cd	B
重茬 3	2.80	d	B

表 3 土壤磷酸一乙醚萃取液对大豆种子胚根生长的影响(PLSD 检验)

处理	平均胚根长 (cm)	差异显著性	
		0.05	0.01
重茬 1	3.38	a	A
CK	3.36	a	A
正茬 1	3.26	a	A
重茬 2	3.14	ab	A
正茬 2	3.13	ab	A
重茬 3	2.59	b	A
正茬 3	2.16	c	B

注: $F=5.50^{**}$, $df=14$

$PLSD_{0.05}=0.47$, $PLSD_{0.01}=0.66$

注: $F=4.58^{**}$, $df=14$

$PLSD_{0.05}=0.64$, $PLSD_{0.01}=0.89$

高浓度的正茬和重茬土壤磷酸一乙醚萃取液对大豆种子胚根生长分别有极显著和显著的抑制作用,而其余处理的抑制作用不显著(表3)。

正茬土壤乙醇提取液对大豆胚根生长均无显著影响,但其重茬土壤提取液对大豆胚根生长有极显著的抑制作用,而与浓度无关(表4)。

表4 乙醇提取液对大豆种子胚根生长的影响(PLSD 检验)

处理	平均胚根长 (cm)	差异显著性	
		0.05	0.01
正茬 1	5.39	a	A
CK	5.32	a	A
正茬 3	5.10	a	A
正茬 2	4.96	a	A
重茬 2	4.20	b	B
重茬 1	3.90	b	B
重茬 3	3.84	b	B

注: $F=13.03^{**}$, $df=14$

$PLSD_{0.05}=0.56$, $PLSD_{0.01}=0.77$

表5 水提液对小麦种子胚芽生长的影响(PLSD 检验)

处理	平均胚芽长 (cm)	差异显著性	
		0.05	0.01
重茬 1	1.70	a	A
重茬 2	1.66	ab	A
重茬 3	1.56	abc	A
正茬 1	1.50	abc	A
正茬 3	1.47	bc	A
CK	1.44	bc	A
正茬 2	1.39	b	A

注: $F=14.00^{**}$, $df=14$

$PLSD_{0.05}=0.23$, $PLSD_{0.01}=0.32$

通过上述研究发现:水和乙醇的正茬土壤提取液对大豆种子胚根生长无显著的抑制作用,而它们的重茬土壤提取液则有极显著的抑制作用。高浓度的正茬、重茬土壤磷酸一乙醚萃取液则极显著或显著的抑制了大豆种子萌发和胚根的生长,并且不同茬口的中、低浓度处理间无显著差异。

2.3 土壤提取液对小麦种子胚芽和胚根生长的影响

从表5可得,正茬土壤水提液对小麦种子胚芽的生长没有影响,而低浓度的重茬土壤水提液对其生长则有显著的促进作用。通过土壤水提液对小麦胚根生长的方差分析 $F=1.65 < F_{0.05}=2.85$,表明该提取液对小麦胚根的生长无显著影响。

表6 磷酸一乙醚萃取液对小麦种子胚芽生长的影响(PLSD 检验)

处理	平均胚芽长 (cm)	差异显著性	
		0.05	0.01
CK	3.26	a	A
正茬 1	2.83	b	B
重茬 1	2.66	b	B
正茬 2	1.45	c	C
重茬 2	1.43	c	C
重茬 3	0.49	d	D
正茬 3	0.08	e	E

注: $F=344.56^{**}$, $df=14$

$PLSD_{0.05}=0.20$, $PLSD_{0.01}=0.28$

表7 磷酸一乙醚萃取液对小麦种子胚根生长的影响(PLSD 检验)

处理	平均胚根长 (cm)	差异显著性	
		0.05	0.01
CK	4.26	a	A
正茬 1	3.41	b	B
重茬 1	3.07	c	B
重茬 2	1.14	d	C
正茬 2	0.63	e	D
重茬 3	0.23	f	E
正茬 3	0.07	g	F

注: $F=332.03^{**}$, $df=14$

$PLSD_{0.05}=0.28$, $PLSD_{0.01}=0.39$

土壤磷酸缓冲液一乙醚萃取液极显著地抑制了小麦种子胚芽和胚根的生长(表6、表7),并且随浓度的升高抑制作用极显著增强。中、低浓度各处理对胚芽和低浓度处理对胚根的抑制作用在不同的茬口间均无显著差异。

高浓度的正茬土壤乙醇提取液极显著的抑制了小麦胚芽和胚根的生长,而高浓度的重茬土壤提取液则有显著的促进作用(表8、表9),即豆茬比麦茬更有利于小麦种子的萌发。其余的正茬和重茬土壤该提取液之间无显著差异。

综上所述,土壤的水提液对小麦种子胚根、胚芽生长均没有显著的抑制作用,乙醇提取

液的高浓度处理对小麦种子胚根和胚芽生长有显著的抑制(正茬土壤)或促进(重茬土壤)作用,土壤的磷酸缓冲液-乙醚萃取液则显著地抑制了小麦种子胚根和胚芽的生长。

表 8 乙醇提取液对小麦种子胚芽生长的影响(PLSD 检验)

处理	平均胚芽长 (cm)	差异显著性	
		0.05	0.01
重茬 3	3.48	a	A
CK	3.40	ab	A
正茬 1	3.05	bc	AB
重茬 1	3.05	bc	AB
重茬 2	2.98	c	AB
正茬 2	2.67	cd	B
正茬 3	2.53	d	B

注: $F=7.19^{**}$, $df=14$

$PLSD_{0.05}=0.40$, $PLSD_{0.01}=0.55$

表 9 乙醇提取液对小麦种子胚根生长的影响(PLSD 检验)

处理	平均胚根长 (cm)	差异显著性	
		0.05	0.01
重茬 3	4.72	a	A
重茬 1	4.37	ab	A
CK	4.33	ab	AB
正茬 1	4.05	bc	AB
正茬 2	4.02	bc	AB
重茬 2	3.92	bc	AB
正茬 3	3.50	c	B

注: $F=3.77^{*}$, $df=14$

$PLSD_{0.05}=0.61$, $PLSD_{0.01}=0.85$

3 讨论

3.1 化感作用生物检测中受体植物的选择

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,即此类研究成果很少或不能在生产实践中推广和应用。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,并且要结合生产实践来研究化感潜能在生产中的作用。

我国北方大豆主产区的轮作倒茬体系主要是大豆和小麦,故而本试验针对大豆和小麦的种子萌发进行了研究。根据生产中的实际情况,并结合本试验的结果认为,水是进一步深入研究大豆连作障碍中土壤化感物质行之有效的土壤提取剂。

3.2 化感物质浸提剂的选择

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并减弱其化感潜能。所以,从待检植物的土壤环境中分离,并检测出化感物质是否存在一个足以影响有关植物生长发育的活性浓度是至关重要的。浸提剂主要是两类化合物:一是无机化合物,如 H_2O 、 $NaOH$ 和 $Na_4P_2O_7$ 等;二为有机化合物,如石油醚和氯仿、乙酸乙酯和乙醇等。土壤中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,若选用 $NaOH$ 和 $Na_4P_2O_7$ 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,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感物质,与自然条件下所产生的化感物质有质和量的区别。所以,浸提剂的选择应该全面慎重考虑,以便使检测结果更加真实可靠。

由于土壤是具有一定缓冲能力的稀薄水溶液,因此,本试验选用纯水和磷酸缓冲液为备选浸提剂。同时,因为化感物质主要是有机化合物,所以,良好的有机溶剂-乙醇也作为一种备选浸提剂。在试验中发现,磷酸缓冲液-乙醚萃取液对大豆和小麦种子萌发有显著的抑制作用仅与浓度有关,而与茬口无关,这或许与该浸提剂良好的缓冲性能(即保持相对稳定的酸碱环境)以及其中的磷酸根离子与有机阴离子竞争结合位点,从而使游离态和束缚态的化感物质都进入浸提液中,因此,掩盖了茬口间的差异。乙醇提取液对小麦种子生长的影响与其实际栽培情况有所差异,其原因可能是乙醇将几乎全部的(包括溶于水和不溶于水)

有机物质都浸提出来,并参与影响了小麦种子萌发的活动。而纯水则基本反映了不同茬口间大豆和小麦田间的实际生产状况,所以是提取土壤中化感物质的一种切实可行的浸提剂。但是,其中化感物质的具体种类、含量及其在连作障碍中的作用,还有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 于广武,等·大豆连作障碍机制研究[J].大豆科学,1993,12(3):237—243.
- [2] 杨庆凯,等·黑龙江省大豆重迎茬问题及对策[J].大豆科学,1994,13(2):157—163.
- [3] 王震宇,等·重迎茬大豆生长发育障碍机制初探[J].大豆科学,1991,10(1):31—36.
- [4] 董 钻·大豆栽培生理[M].北京:中国农业出版社,1997,148—164.
- [5] 毛达如·植物营养研究方法[M].北京:北京农业大学出版社,1994,197—198.
- [6] Molish H. Der· Einfluss einer pflanze auf die andere allelopathie· Fisher· Jena·, 1937, 13—20.
- [7] Rice E L. Allelopathy (2rd edition)· Academic Press·, 1984, 1—50.
- [8] 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.
- [9] Patterson D T· Effects of allelopathic on growth and physiological responses of soybean (*Glycine Max*)· Weed Sic·, 1981, 29:53—59.
- [10] 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.
- [11] 王光华,等·大豆重迎茬研究:大豆根残体对大豆生长影响[M].哈尔滨:哈尔滨工程大学出版社,1992,84—91.
- [12] 王光华,等·大豆重迎茬研究:大豆根浸提液生化他感现象的研究[M].哈尔滨:哈尔滨工程大学出版社,1992,73—77.
- [13] 曾任森,林象联,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.
- [14] Vance G F, et al· Phenolic compounds in soils of hydrosequences and developmental sequences of spodosols· Soil Sci· Soc· Am· J·, 1986, 50:992—996.
- [15] 阎 飞,杨振明,等·大豆连作障碍中的生化互作用[J].大豆科学,1998,17(2):147—151.
- [16] 王大力·水稻化感作用研究综述[J].生态学报,1998,18(3):326—334.
- [17] Cheng H H· A conceptual framework for assessing allelochemicals in soil environment· Pages 21~29. In: S. J. H. Rizvi & Rizvi (eds)· Allelopathy: basic and applied aspects· Chapman and Hall, London; 1992.
- [18] 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.
- [19] 劳家圣·土壤农化分析手册[M].北京:农业出版社,1988,237—240.
- [20] [美]A·D·麦克拉伦,等·闵九康,等译·土壤生物化学[M].北京:农业出版社,1984,289—303.
- [21] Inderjit· Plant phenolics in allelopathy· The Botanical Review·, 1996, 62(2):186—202.
- [22] 杨善元,等·凤眼莲根系中抑菌物质分离与鉴定[J].植物生理学报,1992,18(4):399—402.

Bioassays with Extraction of Allelochemicals in Soybean Soil on Continuous Cropping

YAN Fei, HAN Li-mei et al.

(Agronomy Department of Changchun Quatermaster University, Changchun 130062 China)

(下转第 28 页)

白杂 8 号在两年 5 个点次的生产试验中,平均公顷产量为 7 567.7 kg,比对照吉杂 70 增产 18.1%,其中 1997 年公顷产量为 5 910.0 kg,比对照吉杂 70 增产 17.15%;1998 年公顷产量为 9 225.3 kg,比对照吉杂 70 增产 19.1%(表 2)。

3.4 异地生产示范

白杂 8 号 1997~1998 年分别在扶余、乾安、前郭及黑龙江的肇源、阿城等地设 11 个试验点,其中有 8 个点次增产 10%以上,平均公顷产量为 9 072.4 kg,比对照吉杂 70 增产 17.3%,而且表现植株整齐度好、抗病性强和增产潜力大等特点。

4 适应区域及栽培技术要点

白杂 8 号适宜在吉林省的白城、松原、长春及黑龙江省的南部地区种植。白杂 8 号生产田要求在 5 月 1 日前后播种,公顷保苗 10 万株,对肥水条件要求不严,一般每公顷施底肥二铵 200 kg,追肥尿素 300 kg 左右或播前一次施用玉米专用肥 600~700 kg。

制种田要求在 5 月 1 日后播种,父母本同期播种,父母本种植比例为 1:5,母本种植密度为 12 万株/hm²,父本种植密度为 10 万株/hm²,制种产量一般为 3 000 kg/hm²。

(上接第 11 页)

Abstract: The soil extracts with water, phosphoric buffer solution-ether and ethanol were prepared and their influences on soybean and wheat germination (SSG and WSG) were studied. The results showed that: Extracts with both water and ethanol of SSRC don't make significantly inhibition on SSG and WSG, while that with water and ethanol of SSCC significantly inhibit SSG, the water extract in which don't significantly inhibit WSG; ethanol extract significantly inhibit (on SSRC) or hasten (on SSCC) WSG. Not only SSG but also WSG is significantly inhibited by phosphoric buffer solution-ether extract on SSRC and SSCC. Combining experiment results with practice, We suggest that water is the best among three extracts, by which allelochemicals of SSRC and SSCC could be made a thorough study.

Key words: Soybean continuous cropping, Extract of soil: Allelochemicals: Bioassays