

小麦根区的化感物质及其生物活性的研究^{*}

STUDY ON THE ALLELOCHEMICALS PRODUCED BY BACTERIA AND FUNGI IN RHIZOSPHERE AND THEIR BIOACTIVITY

马瑞霞 刘秀芬 袁光林 孙思恩

Ma Ruxia Liu Xiufen Yuan Guanglin Sun Sien

(中国科学院生态环境研究中心, 北京, 100085)

(Research Center Eco-Environmental Sciences, Academia Sinica, Beijing, 100085, China)

根区是一个极为复杂的微生境, 其中有很多化感物质, 直接或间接地影响着作物的生长发育及产量。这些化感物质, 来源于植物体, 土壤生物及植物残体的分解。植物及土壤生物的不同种类、不同生长阶段以及在不同的生态条件下, 所产生的化感物质不同。^[1~3]近年来国外这方面研究相当活跃, 发表的文章成指数增长^[1]。我国在这方面的研究起步于 80 年代末, 研究报告很少。本文着重研究小麦根区土壤中细菌和真菌产生的化感物质及其生物活性, 通过 HPLC、GC-MS 分析测定, 确定小麦根区的细菌和真菌所产生的化感物质的种类, 通过生物活性检验, 明确化感物质对作物生长的影响。为研究根区作物与微生物之间的化感作用及影响作物生长的生物化学机制提供依据。

1 材料与方法

在中国农业大学小麦品种为“北京 437”的实验地中, 随机取小麦 10 撮, 将根上所附着的土, 放入消过毒的三角瓶内, 磨碎, 混合均匀备用。采用牛肉汁、蛋白胨普通细菌培养液及 PDA 真菌培养液, 向 250 ml 培养液中放入 20 mg 小麦根际土作为菌源, 在 28~30℃ 下恒温培养, 分别培养土壤细菌和真菌。

培养 3d, 1 周、2 周、4 周后, 分别取样, 分别在 pH2 和 pH12 条件下, 用二氯甲烷提取, 分别得到真菌、细菌酸性提取液(以下简称 Fa、Ba、CKa), 和碱性提取液(以下简称 Fb、Bb、CKb), 提取液经旋转蒸发器浓缩至 1 ml, 从中取出 0.5 ml 备做色谱(GC-MS)测定, 另外 0.5 ml 蒸干后, 加入 10 ml 水, 用于生物活性、高压液相色谱(HPLC)测定。

分别用上述各提取液, 进行小麦、玉米种子萌发实验。用直径为 9 cm 的培养皿, 每皿摆 10 粒小麦种子, 用 13 cm 的培养皿, 摆入 20 粒玉米种子。每皿底铺一层滤纸用于保湿, 每处理均重复 3 皿。9 cm 的皿内放 3 ml 上述提取液, 13 cm 皿内放 5 ml 上述提取液。培养皿在 25℃ 恒温上, 培养 48 h 后, 取出分别测量小麦、玉米的根长和芽长。

高压液相色谱及色谱的测定条件, 同文献[12]。

2 实验结果与分析

2.1 小麦根区土壤细菌、真菌所产生的化感物质, 对小麦玉米根长的影响

培养 3 d 的提取液, Ba 和 Fa 对小麦和玉米根长有明显的抑制作用。对小麦的抑制更为显著($P < 0.01$)。Fb 对小麦根长有促进作用($P < 0.01$)。培养一周样品的提取液, Fa、Fb 和 Ba 对小麦及玉米的根长

* 国家自然科学基金资助项目。

收稿时间: 1995-02-10, 修改稿收到时间: 1997-01-16。

有显著的刺激作用, Fa、Ba 的差异显著性 $P < 0.01$ 。培养 2 周的样品提取液, Ba 对小麦、玉米根生长抑制作用明显, $P < 0.01$ 。但培养 4 周后的提取液, 抑制作用均不明显, Fb、Bb 对小麦及玉米根长反而有刺激作用, 其差异显著性分别为 $P < 0.01$ 及 0.05 (详见表 1)。

表 1 根区土壤微生物对小麦、玉米根长、芽长的影响

Table 1 Influences of microorganisms in wheat rhizosphers to root and shoot length of wheat and maize

处理 Treatment	培养时间(d) Incubation time	小麦 Wheat		玉米 Maize	
		根长/CK 根长	芽长/CK 芽长	根长/CK 根长	芽长/CK 芽长
		Root length in compare with CK (%)	Shoot length in compare with CK (%)	Root length in compare with CK (%)	Shoot length in compare with CK (%)
Ba	3	40	100	90	20
	7	130	90	115	110
	14	40	70	60	30
	28	150	150	100	100
Bb	3	100	105	80	30
	7	100	50	150	190
	14	70	90	90	95
	28	120	50	110	110
Fa	3	20	100	70	60
	7	210	50	150	120
	14	105	60	80	60
	28	140	210	90	105
Fb	3	170	180	95	100
	7	105	40	150	110
	14	180	60	80	90
	28	240	210	130	140

2.2 GC-MS 测定结果

GC-MS 的分析出的化合物, 主要有有机酸(如苯丙酸、二甲基丙二酸、四甲基乙酸、四甲基戊酸等), 酚类(如 4-甲酚等), 醛类(如二甲基糠戊醛等), 醇类(如 1, 2-乙基-3-吡啶醇、1, 3-丁二醇等), 胺类(如 2, 7-二甲基-1, 7-辛二烯-3-胺、丁酰胺等), 酮类(如 5-庚基-2(3H)-呋喃酮、四-6-丙基-2H-吡喃-2-酮等)。

Fa 和 Ba 中含有许多酸性化合物, 并且有些是类似的化合物, 所以两者的生物检测结果也比较近似, 对小麦根的生长都具有明显的抑制作用。而 Bb 中的化合物与它们不同, 没有酸类化合物, 因而对小麦的抑制作用不明显。起抑制作用是由于样品中的酸类, 醛类, 醇类, 酮类物质所致。

2.3 GC-MS 鉴定出的某些化合物的生物活性检验

由 GC-MS 鉴定出的化合物中, 因标样所限, 只选择苯丙酸、4-甲酚、1, 3-丁二醇几种化合物, 再进行生物活性检验, 进一步明确根区微生物产生的化感作用, 结果列入表 2。

表 2 质谱鉴定出的化学物质生物检验结果

Table 2 Bioassay of allelochemicals identified by GC-MS

化感物质 Allelochemical	浓度 (mg/L) Concentration	小麦 Wheat		玉米 Maize	
		根 Root	芽 Shoot	根 Root	芽 Shoot
1, 3-丁二醇	200	++	++++	+++	++++
1, 3-Butanediol	500	++	++++	+++	+++
4-甲酚	200	++++	++++	++++	++++
4-methylphenol	500	++++	++++	++++	++++
苯丙酸	200	++	+++	++++	++++
Benzenepropanoic acid	500	++++	+++	++++	++++

+ 抑制率在 15% 以下 Low then 15% of inhibition, ++ 抑制率在 15%~30% 15%~30% of inhibition, +++ 抑制率在 30%~40% 30%~40% in inhibition, ++++ 抑制率在 40% 以上 More then 40% of inhibition.

3 讨论

3.1 不同培养时间所产生的化感物质及生物活性的差别

不同培养时间所产生的化感物质的数量以及种类有明显差别。培养两周的细菌及真菌产生的化感物质较多,生物活性检验结果也反应出抑制作用最强,这与 Kimber^[8-9]和张玉铭^[10]等人的研究结果一致。他们研究小麦秸秆在堆放过程中,发现对作物所产生的毒害作用,在2~10 d内最强。毒性物质是由于微生物本身分泌及其分解秸秆的结果。掌握这一规律后,可以更合理地科学地安排作物的种植期,以避免减少化感的有害作用。

3.2 不同 pH 条件下提取液的化感作用

在细菌和真菌的酸性提取物中,主要是低碳脂肪族与芳香族有机酸,酚酸,芳香酸等,这类化合物对种子萌发起抑制作用。在碱性提取物中,主要是胶类及氮杂环化合物,大部分表现对小麦、玉米种子萌发起促进作用。在生态农业中,充分利用能产生促进作用及起抑制作用的化感物质的微生物,制成生物生长调节剂或抑制剂,作为新一代生物农用化学品,前景广阔。

3.2 对不同作物的影响

相同时间的细菌、真菌酸性提取液,对小麦和玉米种子萌发的抑制效果不同。如第3天的细菌(A)和真菌(A)对小麦根生长的抑制作用明显强于玉米。对小麦根抑制强度又高于对芽的强度,这一结果与 Kimber 在研究小麦秸秆腐烂产生毒性物质结果一致,小麦根部比顶部对毒性物质更敏感。而对玉米的根和芽影响差别不大,有时对玉米芽的影响反而强于对根的影响。根区微生物分泌的化感物质多种多样,不同作物及同一作物中的不同品种,其反应不同。S. V. Hicks^[11]等人研究棉花时,发现抗病品种,耐病品种,感病品种对同一种化感物质的反应大不相同。由此得到启发,化感物质可用于抗病品种的鉴定及在作物育种中得以应用。

参 考 文 献

- 1 Fred A. Norstadt and T. M. McCalla, Division S-3 soil microbiology and biochemistry, Microbially induced phytotoxicity in stubble-Mulched soil. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 1968, **132**: 23~25
- 2 W. H. White, J. N. Jenkins, W. L. Parrott, J. C. McCarty et al, Strain and Within-Season variability of various allelochemicals within a diverse group of cottons. *Crop. Sciences* 1982, **122** November December, 56~75
- 3 James W. Steinsiek, Lawrence R. Oliver and Fred C. Collins, Allelopathic potential of wheat (*Triticum aestivum*) straw on selected weed species, *Weed science*, 1982, **130**: 495~499
- 4 Will A. Cope, Inhibition of germination and seedling growth of eight forage species by leavhates from seeds, *Crop sciences*, 1982, **122**: 34~38
- 5 Ramesh S. Hegade and D. A. Miller, Allelopathy and Autotoxicity in alfalfa: characterization and effects of preceding crops and residue incorporation. *Crop Sciences* 1990, **30**: 1255~1259
- 6 S. K. Hicks, C. W. Wendt, J. R. Gannaway, and R. B. Baker, Allelopathic effects of wheat straw on cotton germination, Emergence and yield. *Crop Science* 1989, **29**: 1057~1061
- 7 R. L. Z. Thorne, G. R. Waller, J. K. McPherson, E. G. Krenzer, Jr., and C-C Yong Autotoxic effects of old and new wheat straw in conventional tillage and no-tillage wheat soil. *Bot. Bull. Academia Sinica*, 1990, **31**: 35~49
- 8 马瑞霞, 刘秀芬, 袁光林等. 小麦根区微生物分泌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
- 9 R. W. L. Kimber, phytotoxicity from plant residues I. The influences of growth wheat straw on seedling growth Australia. *J. Agr. Res.*, 1967, **18**: 361~374
- 10 R. W. L. Kimber, phytotoxicity from plant residues I. The relative effect of toxins and nitrogen immobilization on the germination and growth of wheat. *Plant and Soil*, 1973, **38**: 347~361
- 11 张玉铭, 马永清. 麦秸覆盖玉米对苗期生长发育的生化他感作用研究初报. *生态学杂志*, 1994, **13**(3): 70~72
- 12 S. K. Hicks, C. W. Wendt, J. R. Gannaway, and R. B. Baker Crop ecology production & anagement allelopathic effects of wheat straw on cotton germination emergence and yield, *Crop Science*, 1989, **29**: 1057~1061