

紫穗槐茎叶水浸液对大豆和蚕豆的化感作用*

郭忠录 蔡崇法 ** 郑珉娇

华中农业大学农业部亚热带农业资源与环境重点实验室, 武汉 430070

摘要 以大豆和蚕豆为受体作物, 用培养皿滤纸法和土培法等生物测定方法, 研究了 6.25(T4)、12.50(T3)、25.00(T2)、50.00(T1) mg/mL 4 种质量浓度的豆科绿篱紫穗槐茎叶水浸液对豆科作物幼苗生长和发芽的化感效应, 并鉴定了紫穗槐化感作用组分物质。结果表明: 紫穗槐茎叶水浸液对大豆发芽的抑制作用强于蚕豆; 水浸液对大豆苗高、根长、苗干质量和根干质量有显著影响, 其化感综合效应分别为 -12.77%、-31.35%、-27.74%、-36.76%, 对蚕豆的化感综合效应依次为 7.90%、-2.41%、-13.75%、-13.42%; 紫穗槐茎叶水浸液对大豆和蚕豆抑制综合效应随质量浓度升高而增强, 依次是 -2.44%、-16.88%、-20.75% 和 -25.09%; 与对照相比, 水浸液处理过的土壤水溶性总酚、铵态氮和有机磷含量显著增加, 且随水浸液质量浓度升高呈增加趋势, 但是土壤养分含量增加并没有促进大豆和蚕豆的生长, 这与紫穗槐化感作用抑制作物对土壤养分的吸收有关。GC-MS 鉴定结果显示, 乙酸乙酯提取组分中的有机化合物主要是甲酸、丙酸、2-甲基-4-戊烯酸、苯甲酸、 β -苯丙酸、对羟基苯甲酸、酒石酸、肉桂酸、对羟基肉桂酸、丁二酸、丁香酸、原儿茶酸、2-甲基苯酚、2-甲基苯甲醛、柠檬烯、伞花内脂、7-甲氧基香豆素。

关键词 紫穗槐; 茎叶水浸提液; 大豆; 蚕豆; 化感效应

中图分类号 S 157.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2010)04-0452-05

等高绿篱是坡地农林复合经营的主要方式之一, 其主要形式是在坡耕地沿等高线布设灌木或灌化乔木及灌草结合的植物篱带, 带间种植粮食作物和经济作物。该模式被认为是能有效控制土壤侵蚀、防止土壤退化并最终实现坡地可持续利用的有效途径, 20世纪90年代以后, 在我国南方湿润区有了很大发展^[1-2]。紫穗槐(*Amorpha fruticosa* Linn)属豆科紫穗槐属多年生落叶丛生灌木, 是优良的水土保持植物篱, 在我国广泛栽培。Guo 等^[3]研究结果表明紫穗槐与大豆(*Glycine max*)复合种植后大豆产量和紫穗槐生物量均降低, 结合地下部根系分离方法, 发现氮素竞争不是影响紫穗槐和大豆生长的主要原因。有报道指出, 植物可通过茎叶挥发、茎叶淋溶、根系分泌物及植株残体的腐解等途径向环境中释放化感物质, 影响周围植物种子萌发、生长和发育, 以及抑制或削弱其他植物对光、热、水、肥等的利用, 从而影响系统的经济效益和生态环境效益^[4-5]。紫穗槐-大豆复合种植大豆生长受到抑制是否与化感作用有关? 此外, 研究发现化感物质有选

择性和专一性, 同一种化感物质, 对不同植物种子萌发的作用效果也不同^[6-7]。为此, 本研究对豆科绿篱紫穗槐对豆科作物大豆和蚕豆(*Vicia faba*)的化感作用潜力进行了探讨, 以期从植物相生的角度为生产实践中紫穗槐与豆科作物科学搭配、合理种植提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

供试紫穗槐茎叶来源于华中农业大学等高绿篱-坡地农林复合系统长期定位试验田。试验点位于湖北省咸宁贺胜桥(29°40'~30°02'N, 114°15'~114°35'E), 年降雨量 1 370 mm, 年蒸发量 1 490 mm, 年平均气温 16.8 ℃。春夏之交有一“梅雨”季节, 秋季常会出现伏旱, 土壤为第四纪红色粘土发育的红壤。

大豆(*Glycine max*)“泗豆 4 号”和蚕豆(*Vicia faba* Linn)“陵西 1 寸”种子, 均购于湖北省种子管理站。

收稿日期: 2009-09-03; 修回日期: 2009-11-10

* 国家自然科学基金项目(40901132 和 40671114)和华中农业大学自主创新基金项目(08076)资助

** 通讯作者. E-mail: cfcrai2008@126.com

郭忠录, 男, 1980 年生, 博士, 讲师。研究方向: 水土保持与农林复合经营。E-mail: zlguo@mail.hzau.edu.cn.

栽培基质采于试验地附近坡面侵蚀严重裸露的红白网纹层土壤,此前未种植过任何植物,母质为第四纪红色粘土,一部分土样风干后过2 mm筛备用,另一部分用于测定土壤理化性质。土壤pH($m_{\text{土}} : m_{\text{水}} = 1 : 2.5$)为5.98,有机质含量为2.22 g/kg,硝态氮含量为22.14 mg/kg,铵态氮含量为24.18 mg/kg。

1.2 试验设计及实施

从紫穗槐单作试验地采集植株地上部茎叶,携回实验室,风干后剪成<2 cm的小段,按照茎叶10 g、蒸馏水200 mL的比例,25 °C浸泡72 h(每隔24 h摇动5 min)后离心过滤,所得溶液质量浓度为50 mg/mL(T1),用蒸馏水稀释到质量浓度分别为25.00(T2)、12.50(T3)、6.25(T4) mg/mL的培养液,置于4 °C冰柜备用。

1.3 生物检测

1)种子萌发的生物测定。将经10% H₂O₂溶液消毒均匀饱满的大豆和蚕豆种子各30粒分别摆放在预先消毒底垫滤纸(双层)、直径150 mm的培养皿中,分别加入不同质量浓度紫穗槐茎叶水浸液20 mL,光照12 h/d,25 °C条件下萌发,每隔24 h记录种子萌发数;对照组(CK)只加20 mL蒸馏水,每个处理重复4次。7 d后统计种子萌发率(germinate rate, R_G),计算萌发指数(germinate index, I_G)

$$I_G = \sum (n_{Gt} / t_G)$$

其中, n_{Gt} 为 t 时间内的发芽数, t_G 为相应的发芽时间/d。

2)幼苗生长的生物测定。参照Inderjit^[6]的方法,称200 g土壤于250 mL聚乙烯小杯中,加入不同质量浓度浸提液50 mL,蒸馏水作对照(CK),4个重复。每盆播种预先经10% H₂O₂溶液消毒的种子5粒,25 °C室温下种植10 d,每天记录受体植物苗高。第10天测定受体植物株高、根长。将幼苗的叶和根分开,105 °C杀青2 h后,在80 °C烘干至恒重。

用化感作用抑制率(inhibitory rate, R_I)作为化感作用的研究指标。

$$R_I / \% = \frac{R_T - R_C}{R_C} \times 100$$

式中, R_T 为测试项目的处理值, R_C 为对照值。 $R_I \geq 0$ 表示具有促进作用, $R_I < 0$ 为抑制作用。 R_I 的绝对值越大,其化感作用迁移(促进或抑制作用)越大。

化感综合效应(synthesis effect, SE)是供体对同一受体测试项目的化感作用抑制率百分率的算术

平均值。

种子萌发和幼苗生长过程中,适当补加蒸馏水,使滤纸和土壤保持湿润。

1.4 化学测定及水浸液组分分析

土壤铵态氮用靛酚蓝比色法测定,有效磷用0.05 mol/L HCl—0.025 mol/L H₂SO₄浸提法测定,水溶性总酚用福林比色法(folin-ciocalteu)测定,有机质用重铬酸钾外加热法测定。

水浸液提取组分采用GC-MS分析。取100 mL T1水浸液,乙酸乙酯萃取3次(每次100 mL)后取乙酸乙酯相,4 °C条件下在旋转蒸发仪上浓缩至干,10 mL乙酸乙酯溶解后GC-MS分析。采用GC6890/MS5973测定样品,电子轰击源,轰击电压70 eV,扫描速度0.2 s扫全程,离子源温度230 °C。毛细管柱用HP-5MS柱(Crosslinked 5% pH ME Soilxane, 30 m×0.25 mm×0.25 μm),进样口温度250 °C,柱温50 °C(2 min),以6 °C/min程序升温至250 °C(保持15 min);载气为He,流量1 mL/min,进样量为1 μL。应用NIST98质谱数据库,分析质谱图,确定各组分物质名称。

1.5 数据处理

用SPSS 12.0软件进行统计分析,并对平均数用LSD多重比较。

2 结果与分析

2.1 紫穗槐水浸液对大豆和蚕豆萌发的影响

不同质量浓度紫穗槐茎叶水浸液对大豆和蚕豆种子的萌发率均有显著抑制作用($P < 0.01$),但同一质量浓度下的水浸液对大豆和蚕豆的抑制作用存在差异(表1)。随着水浸液质量浓度的降低,蚕豆的萌发率增加,而大豆萌发率呈波动变化。与对照相比,6.25、12.50、25.00、50.00 mg/mL 4种质量浓度紫穗槐茎叶水浸液使大豆种子萌发率分别降低了84.7%、100%、34.7%和78.2%,蚕豆种子萌发率降低了100%、40.0%、34.0%和14.0%。从表1中萌发指数可以看出,无论对蚕豆还是对大豆,4种质量浓度处理的萌发指数均小于1。T2、T1处理水浸液对蚕豆的化感效应指数均为-1.0。

2.2 紫穗槐水浸液对大豆和蚕豆幼苗生长的影响

由表2可以看出,4种质量浓度的茎叶水浸液对大豆苗高、根长、苗干质量、根干质量主要表现为抑制作用。6.25、12.50、25.00、50.00 mg/mL 4种质量浓度茎叶浸提液对大豆苗高抑制率在30%左

表4 施用紫穗槐地上部水浸液后土壤化学性质变化

Table 4 Chemical characteristics of soils treated leaf extract of *A. fruticosa*

处理 Treatment	水溶性总酚/(mg/kg) Water-soluble phenolic			有效磷/(mg/kg) Available phosphorus			铵态氮/(mg/kg) Ammonium nitrogen			有机质/(g/kg) Organic matter		
	大豆 Soybean	蚕豆 Fababean	大豆 Soybean	蚕豆 Fababean	大豆 Soybean	蚕豆 Fababean	大豆 Soybean	蚕豆 Fababean	大豆 Soybean	蚕豆 Fababean	大豆 Soybean	蚕豆 Fababean
CK	7.12 b	5.56 cB	8.48 cB	8.95 bB	15.29 cB	12.23 bB	1.43 a	3.52 bA				
T4	13.28 a	12.25 bAB	13.20 bAB	16.20 aA	19.57 bAB	17.65 bAB	2.82 a	4.02 bA				
T3	11.76 a	13.25 aA	12.35 bAB	18.52 aA	19.81 bAB	16.16 bAB	2.84 a	5.32 aA				
T2	12.77 a	13.23 aA	14.20 aA	20.12 aA	32.42 aA	29.91 aA	2.08 a	5.32 aA				
T1	13.28 a	14.56 aA	15.41 aA	22.12 aA	33.41 aA	36.90 aA	2.15 a	6.32 aA				

表5 紫穗槐茎叶水浸液有机化合物成分

Table 5 Compounds in aerial part of *A. fruticosa* by GC-MS

化学式 Chemical formula	相对分子质量 Molecular weight	有机化合物名称 Organic compound
CH ₂ O ₂	46	甲酸 Formic acid
C ₃ H ₆ O ₂	74	丙酸 Propionic acid
C ₇ H ₈ O	108	2-甲基苯酚 2-methylphenol
C ₆ H ₁₀ O ₂	114	2-甲基-4-戊烯酸
C ₄ H ₆ O ₄	118	2-methyl-4-pentenoic acid
C ₈ H ₈ O	120	2-甲基苯甲醛 2-methylbenzaldehyde
C ₇ H ₆ O ₂	122	苯甲醛 Benzoic acid
C ₁₀ H ₁₆	136	柠檬烯 D-limonene
C ₇ H ₆ O ₃	138	水杨酸 Salicylic acid
C ₇ H ₆ O ₃	138	对羟基苯甲酸 4-hydroxybenzoic acid
C ₉ H ₈ O ₂	148	肉桂酸 Cinnamic acid
C ₉ H ₁₀ O ₂	150	β-苯丙酸 3-phenylpropionic acid
C ₄ H ₆ O ₆	150	酒石酸 DL-tartaric acid
C ₇ H ₆ O ₄	154	原儿茶酸 3,4-dihydroxybenzoic acid
C ₉ H ₆ O ₃	162	伞花内脂 Umbelliferone
C ₉ H ₈ O ₃	164	对羟基肉桂酸 4-coumaric acid
C ₁₀ H ₈ O ₃	176	7-甲氧基香豆素
C ₉ H ₁₀ O ₅	198	7-methoxyxoumarine
		丁香酸 Syringic acid

甲醛、苯甲酸、柠檬烯、对羟基苯甲酸、肉桂酸、 β -苯丙酸、酒石酸、原儿茶酸、伞花内脂、对羟基肉桂酸、7-甲氧基香豆素和丁香酸,主要为低相对分子质量脂肪酸、芳香酸及其衍生物、酚、醛、酯等(表5)。

3 讨论

化感作用广泛存在于生态系统中,在作物合理配置、森林抚育、杂草控制、作物虫害及病害等方面起着非常重要的作用。自然界中,水溶性化感物质主要通过雨水和雾滴等的淋溶而进入土壤发生化感作用^[8]。本研究结果表明紫穗槐茎叶水浸液中存在化感物质。紫穗槐茎叶水浸液在一定质量浓度下,对大豆和蚕豆种子萌发及幼苗生长有显著抑制作用,且对大豆的化感抑制作用强于蚕豆。GC-MS 鉴定结果显示,乙酸乙酯提取的组分如苯甲酸及其衍生物、肉桂酸及其衍生物、低分子脂肪酸、苯甲醛、酚等均是资料报道过的化感物质^[5,7]。紫穗槐水浸液对大豆和蚕豆种子萌发、胚根及幼苗生长所表现的化感抑制作用,是多种化感物质协同作用的结果;而

大豆和蚕豆萌发和生长的差异,一方面与大豆和蚕豆种间差异及其化感物质的敏感度有关,另一方面可能与化感物质的选择性和专一性有关^[7,9]。

本研究结果还表明,施加紫穗槐水浸液,种植蚕豆和大豆后,土壤有效磷、铵态氮和有机质含量均高于对照,且随着浓度的增大,含量升高,土壤有效磷、铵态氮、有机质含量增加,并没有促进大豆和蚕豆种子的生长和萌发,反而表现出抑制作用。Inderjit^[10]研究结果表明,化感物质可以通过影响植物对营养元素的吸收来表达化感效应,如袁光林等^[11]研究发现苯甲醛和苯甲酸影响了小麦幼苗对 NO₃⁻-N 和 NH₄⁺-N 的吸收; Bazirmakenga 等的研究^[12]表明苯甲酸可以降低大豆根对磷和甲硫氨酸的吸收;陈秀华等^[13]研究发现丁香酸可以降低杉木幼苗的叶绿素含量; Yu 等^[14]研究发现丁香酸、肉桂酸有抑制作物对 Ca²⁺、Mg²⁺、K⁺、Fe²⁺ 和 SO₄²⁻ 吸收的作用。另外,许多化感物质不仅影响邻近植物的生长发育,同时也会影晌到土壤的理化性质,改变其养分状况,进而影响植物的吸收和生长。陈龙池等^[15]向土壤加入香草醛和对羟基苯甲酸后,发现土壤有效氮和有效钾含量降低,有效磷含量增加。本研究紫穗槐水浸液乙酸乙酯提取物中也含有肉桂酸、苯甲酸、对羟基苯甲酸、丁香酸等,影响了作物对土壤养分的吸收,从而影响了大豆和蚕豆的生长;但 GC-MS 鉴定的化感物质,到底是哪些对大豆或蚕豆吸收有抑制作用、穗槐-大豆/蚕豆复合系统根际土壤化感物质及其和紫穗槐茎叶化感物质协同作用与豆科作物产量及紫穗槐生物量下降的关系等有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 黄丽,蔡崇法,丁树文,等.几种绿篱中紫色土有机质组分及其性质的研究[J].华中农业大学学报,2000,19(6):559-562.
- [2] 卜崇峰,蔡强国,袁再健.三峡库区等高植物篱的控蚀效益及机制[J].中国水土保持科学,2006,4(4):14-18.
- [3] GUO Z L,ZHONG C,CAI C F,et al. Nitrogen competition in contour hedgerow systems in subtropical China[J]. Nutrient

- Cycling in Agroecosystems, 2008, 81: 71-83.
- [4] 万开元, 陈防, 余常兵, 等. 杨树-农作物复合系统中的化感作用[J]. 生态科学, 2005, 24(1): 57-60.
- [5] 杨期和, 叶万辉, 廖富林, 等. 植物化感物质对种子萌发的影响[J]. 生态学杂志, 2005, 24(12): 1459-1465.
- [6] INDERJIT. Experimental complexities in evaluating the allelopathic activities in laboratory bioassays: a case study[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38: 256-262.
- [7] 孔垂华, 胡飞, 陈雄辉, 等. 作物化感品种资源的评价利用[J]. 中国农业科学, 2002, 35(9): 1159-1164.
- [8] TUKEYH B. Leaching of metabolites from above ground plant parts and its implications[J]. Bull Torrey Bot Cluh, 1996, 93: 385-401.
- [9] 韩丽梅, 沈其荣, 鞠会艳, 等. 大豆地上部分水浸提液的化感作用及化感物质的鉴定[J]. 生态学报, 2002, 22(9): 1425-1432.
- [10] INDERJIT, MALLIKAU. Effect of phenolic compounds on selected soil properties[J]. Forest Ecology and Management, 1997, 92: 11-18.
- [11] 袁光林, 马瑞霞, 刘秀芬, 等. 化感物质对小麦幼苗吸收氮的影响[J]. 生态农业研究, 1998, 6(2): 37-39.
- [12] BAZIRMAKENG A R, LEROUX G D. Allelopathic effects of phenolic acids on nucleic acid and protein levels in soybean seedling[J]. Canadian Journal of Botany, 1997, 75(8): 445-450.
- [13] 陈秀华, 李传涵, 何绍江. 酚酸对杉木幼苗生长的影响[J]. 华中农业大学学报, 2001, 20(6): 550-553.
- [14] YU J Q, MATSUI Y. Effects of root exudates of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals on ion uptake by cucumber seedlings[J]. Journal of Chemical Ecology, 1997, 23(3): 817-827.
- [15] 陈龙池, 廖利平, 汪思龙, 等. 外源毒素对林地土壤养分的影响[J]. 生态学杂志, 2002, 21(1): 19-22.

Allelopathic Effect of Leaf Water Extracts from *Amorpha fruticosa* on Germination and Seedling Growth of Soybean and Fababean

GUO Zhong-lu CAI Chong-fa ZHENG Min-jiao

Key Laboratory of Subtropical Agriculture and Environment, Ministry of Agriculture,
Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract In order to explore the mechanism of yield reduction bean planted under *Amorpha fruticosa*, the allelopathic effect of water extracts of *A. fruticosa* on the seed germination and seedling growth of soybean and fababean, was investigated. The results showed that the allelopathic effect of water extracts of aerial part of *A. fruticosa* on soybean and fababean varied. Inhibition effect of water extracts of aerial parts of *A. fruticosa* on germination of soybean was stronger than that of fababean. The water extracts of *A. fruticosa* affected seedling height and dry weight, root length and dry weight of soybean, the synthetic inhibitory effect(SE) was in turn -12.77%, -31.35%, -27.24% and -36.76% followed with 6.25, 12.5, 25, 50 mg/mL aerial part extracts, and the SE for fababean was 7.90%, -2.41%, -13.75% and -13.42%, respectively. The allelopathic inhibition rate increased with intense concentration of the water extracts of aerial part, with the SE being -2.44%, -16.88%, -20.75% and -25.09%, respectively. A significant increase in water soluble phenolic content, available phosphorus content and ammonium nitrogen content were recorded in soil amended with T1-T4 compared to unamended soil, and they increase with the increase of the concentration of water extracts of aerial part of *A. fruticosa*. However, an increase in the biomasses of soybean and/or fababean was not observed due to the increase of the concentration, the phenomenon may be allopathic effect of *A. fruticosa* on crop nutrient uptake. Main chemical compounds in the fraction extracted by ethyl acetate were formic acid, propionic acid, 2-methyl-4-pentenoic acid, benzoic acid, 3-phenylpropionic acid, 4-hydroxybenzoic acid, DL-tartaric acid, cinnamic acid, 4-coumaric acid, succinic acid, syringic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid, 2-methylphenol, 2-methylbenzaldehyde, *D*-limonene, umbelliferone and 7-methoxyxoumarine.

Key words *Amorpha fruticosa*; water extracts of steamleaf; soybean; fababean; allelopathic effect