

大葱根系分泌物对黄瓜种子萌芽和枯萎病病原菌的化感作用及其 GC - MS 分析

徐 宁¹, 王 超^{1,2}, 魏 珉^{1,2,*}, 时 伟¹, 王秀峰^{1,2}

(¹山东农业大学园艺科学与工程学院, 山东泰安 271018; ²作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018)

摘 要: 采用连续根系分泌物收集系统 (CRETS) 收集大葱根系分泌物, 研究其对黄瓜种子萌芽及其枯萎病病原菌的化感作用, 并利用气相色谱-质谱技术 (GC - MS) 分析其化学组成。结果表明: 大葱根系分泌物对黄瓜种子萌发和芽苗生长均表现低浓度促进、高浓度抑制的作用, ‘元藏大葱’比‘章丘大葱’的化感作用更强; 随着根系分泌物浓度升高, 对病原菌菌丝生长和孢子萌发的抑制作用逐渐增强, ‘元藏大葱’根系分泌物的抑制程度大于‘章丘大葱’。大葱根系分泌物中含有杂环化合物、酯类、酰胺类、酸类、烃类、醛酮类、酚类、醇醚类以及萜类等物质, 其中, 前三者所占的比例较大。邻苯二甲酸酯类和苯并噻唑类物质相对含量较高, 2,2’-亚甲基双(4-甲基-6-叔丁基苯酚)、苯甲酸苄酯、苯甲酸-4-甲基苯酯、2-甲基异硫氰酸苄酯相对含量较低, 同一物质‘元藏大葱’根系分泌物中相对含量高于‘章丘大葱’。

关键词: 大葱; 黄瓜; 根系分泌物; 化感作用; 枯萎病病原菌

中图分类号: S 633.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2012) 08-1511-10

Allelopathy of Welsh Onion Root Exudates on Cucumber Seed Germination and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* and the GC - MS Analysis

XU Ning¹, WANG Chao^{1,2}, WEI Min^{1,2,*}, SHI Wei¹, and WANG Xiu-feng^{1,2}

(¹College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; ²State Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an, Shandong 271018, China)

Abstract: The allelopathy of welsh onion root exudates collected by continuous root exudates trapping system (CRETS) was studied on cucumber seed germination and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, and the components of the root exudates were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GS - MS). The results showed that the seed germination and sprout growth of cucumber were promoted by root exudates of welsh onion at low concentration while suppressed at high concentration, the allelopathy of ‘Yuanzang’ was stronger than ‘Zhangqiu’. Inhibitory effects on hypha growth and spore germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* enhanced with increasing concentration of root exudates, and ‘Yuanzang’ showed stronger effects than ‘Zhangqiu’. Heterocyclic,

收稿日期: 2012 - 03 - 19; **修回日期:** 2012 - 07 - 20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31071830); 高等学校博士学科点专项科研基金项目 (20103702110005); ‘十二五’国家科技支撑计划项目 (2011BAD12B04)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: minwei@sdau.edu.cn)

ester, amide, acid, hydrocarbon, aldehyde, ketone, phenol, alcohol, ether, naphthalene compounds were detected in root exudates of Welsh onion, of which heterocyclic, ester and amide were the most compounds. Phthalate esters and benzothiazole derivatives had greater relative contents while p-cresol 2,2'-methylenebis 6-tert-butyl-, benzyl benzoate, benzoic acid p-tolyl ester, 2-(methylthio) phenyl isothiocyanate had lower relative contents, which were higher in 'Yuanzang' than in 'Zhangqiu'.

Key words: welsh onion; cucumber; root exudate; allelopathy; *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*

化感作用是植物或微生物代谢过程中对环境其它植物或微生物所产生的直接或间接、有利或不利的影 响 (Rice, 1984; 阎飞 等, 2000)。化感作用包括促进和抑制两个方面。植物在生长发育过程中由根系向根际环境分泌大量物质, 其中一部分物质或进一步的分解产物具有一定化感潜力, 对作物生长会产生有益或有害的作用 (Yu et al., 2000; Hao et al., 2007), 并显著改变根际微域环境 (Bertin et al., 2003; Kong et al., 2008), 对根际养分状况产生重要影响 (Yu & Matsui, 1997)。越来越多的试验表明, 植物的连作障碍与根系分泌物密切相关, 根系分泌物及其化感作用研究成为揭示连作障碍问题的热点 (Inderjit, 2003; 吴凤芝和赵凤艳, 2003; 郭修武 等, 2010)。前人研究探明了西瓜 (Hao et al., 2007)、黄瓜 (Yu & Matsui, 1994)、豌豆 (喻景权和松井佳久, 1999)、茄子 (张凤丽 等, 2005; 刘娜 等, 2008, 2009)、辣椒 (程智慧 等, 2005; 耿广东 等, 2009) 等多种蔬菜根系分泌物的化感作用及其中的部分化感物质, 为揭示连作障碍机理和开展有效防控提供了理论依据。

葱蒜类是瓜类蔬菜理想的轮作前茬 (中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 2010)。随着研究手段不断进步, 对其内在机理的认识逐渐深入。人们已通过研究证实了分蘖洋葱根系分泌物对黄瓜及其枯萎病病原菌 (杨阳, 2010)、大蒜根系分泌物对不同受体作物和瓜类枯萎病病原菌的化感作用, 并初步明确了大蒜根系分泌物中的部分化感物质 (周艳丽, 2007)。经试验发现, 大葱轮作可有效减轻温室黄瓜连作土壤障碍, 改善土壤性状, 增加细菌和放线菌数量, 减少真菌数量, 促进植株生长发育, 提高产量 (李元 等, 2008; 杨凤娟 等, 2009)。分析其原因, 可能与根系分泌物及其化感作用有关。为此, 本试验中研究了不同大葱品种根系分泌物对黄瓜及其枯萎病病原菌的化感作用, 并分析其化学组成, 以期从化感作用角度揭示大葱轮作防控黄瓜连作障碍的机理。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试大葱 (*Allium fistulosum* L.) 品种为 '元藏大葱' 和 '章丘大葱', 黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 品种为 '新泰密刺'。黄瓜枯萎病病原菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*) 从山东农业大学园艺试验站日光温室内的黄瓜枯萎病株中分离获得。

1.2 大葱根系分泌物的收集

大葱根系分泌物的收集采用连续根系分泌物收集系统 (Continuous Root Exudates Trapping System, CRETS) (Tang & Young, 1982)。将培育 6 个月的 30 株大葱幼苗小心挖出, 洗根, 移栽到连续根系分泌物收集装置的种植盆中, 恢复生长 3 d 后, 在种植盆中加 500 mL Hoagland 营养液, 开动循环泵, 让营养液从盆底部流出, 通过内装 80 mL XAD-4 吸附树脂 (Sigma) 的色谱柱 (2 cm × 30

cm), 重新回到种植盆中, 控制流速 $1 \sim 1.5 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ 。每天补充营养液, 连续培养 10 d, 取下色谱柱, 先用 500 mL 去离子水清洗, 再用 200 mL 甲醇洗脱。收集结束后称量取样植株的根系鲜质量。洗脱液在 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 下减压浓缩至干, 加 50 mL 去离子水溶解, 每个品种 2 次重复, 将两个色谱柱的溶液合并, 浓度为 $1.2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 为 1 mL 水溶液中含有 1 g 鲜根的根系分泌物)(张凤丽 等, 2005), 分别稀释到 0.6、0.3、0.2 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 备用。

1.3 大葱根系分泌物对黄瓜种子萌芽的化感作用试验

采用滤纸培养皿法(曾任森, 1999)。在直径 9 cm 的培养皿中铺 2 层定性滤纸, 加入 5 mL 根系分泌物稀释液, 均匀摆放 20 粒健康饱满的黄瓜种子, 然后加盖一层打孔薄膜, 置于 $28 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中发芽。从第 3 天开始, 在种子表面加盖一层滤纸, 每天补充 2 mL 根系分泌物稀释液。以加入等量去离子水为对照。自第 1 天起每天统计萌发种子数, 计算发芽率, 第 3 天计算发芽指数, 第 5 天调查胚芽、胚根长度和芽苗鲜质量。试验重复 3 次。发芽指数 $GI = \Sigma$ (第 T 天的发芽数/相应的发芽天数)。化感效应指数 (RI), 当处理值 $T \geq$ 对照值 C 时, $RI = 1 - C/T$; 当 $T < C$ 时, $RI = T/C - 1$ 。 $RI \geq 0$, 为促进作用; $RI < 0$, 为抑制作用; RI 绝对值的大小与作用强度一致 (Williamson & Richardson, 1988)。化感综合效应 (SE) 是发芽指数、胚根长、胚芽长、芽苗鲜质量化感效应指数的平均值 (沈慧敏 等, 2005)。

1.4 大葱根系分泌物对枯萎病病原菌的化感作用试验

根系分泌物对病原菌菌丝生长和孢子萌发的化感作用试验参考周艳丽 (2007) 的方法。

(1) 对菌丝生长的影响: 无菌条件下, 将过滤灭菌的根系分泌物稀释液和 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 的 PDA 培养基 (1 000 mL 中含有马铃薯 300 g、琼脂 25 g、蔗糖 30 g) 等体积混匀, 对照加去离子水混合倒平板。用直径 5 mm 的打孔器打取菌落圆片置于培养基上, 每皿 3 片, 每处理 3 皿, 倒置于 $28 \text{ }^\circ\text{C}$ 黑暗条件下培养, 3 d 后测量菌落直径, 并计算菌丝抑制率。

菌丝抑制率 (%) = (对照皿菌落直径 - 处理皿菌落直径) / 对照皿菌落直径 $\times 100$ 。

(2) 对孢子萌发的影响: 将载玻片放入铺有滤纸的培养皿中, 用直径 15 mm 的打孔器打取水琼脂培养基置于载玻片上, 吸取等体积混匀的根系分泌物稀释液和菌悬液 20 μL 于培养基上, $28 \text{ }^\circ\text{C}$ 黑暗培养 12 h 后, 40 倍物镜下镜检病原菌孢子萌发情况并计算孢子萌发抑制率。试验重复 3 次。

孢子萌发抑制率 (%) = (对照孢子萌发数 - 处理孢子萌发数) / 对照孢子萌发数 $\times 100$ 。

1.5 大葱根系分泌物的 GC-MS 分析

采用连续根系分泌物收集系统收集根系分泌物, 方法同 1.2。洗脱液于 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 下减压浓缩至干, 加 100 mL 去离子水溶解, 用乙酸乙酯按体积比 1:1 萃取 3 次, 合并萃取液, $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 下减压浓缩至 5 mL, 过 $0.45 \mu\text{m}$ 有机膜后用于 GC-MS 分析。

色谱条件为 Rtx-5MS 色谱柱, $30.0 \text{ m} \times 0.32 \text{ mm}$ 毛细管柱, $0.25 \mu\text{m}$ 滤膜; 先在 $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 保持 2 min, 以 $6 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 速度升温至 $250 \text{ }^\circ\text{C}$, 保持 10 min; 进样口温度 $230 \text{ }^\circ\text{C}$, 载气 He, 流速 $2.4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量 1 μL 。质谱条件为 EI 电离方式, 电子能量 70 eV, 离子源温度 $200 \text{ }^\circ\text{C}$, 扫描范围 45 ~ 550 amu。

通过谱图库 NIST 08 检索确定根系分泌物成分, 采用峰面积归一法计算各成分相对含量。气相色谱—质谱仪 (GC-MS-QP2010Plus) 以及处理峰值软件均来自 Shimadzu 公司。

1.6 数据处理

采用 Microsoft Excel 2003 软件处理原始数据和绘图, 采用 DPS 软件对数据进行方差分析及最小显著差异性检验 (Duncan's 新复极差法, $P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 大葱根系分泌物对黄瓜种子萌发和芽苗生长的影响

由表 1 可以看出,两个大葱品种的根系分泌物对黄瓜种子发芽率无显著影响。 0.2 、 0.3 、 $0.6 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 低根系分泌物浓度时对芽苗生长表现为促进作用,以 $0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 作用最显著,‘章丘大葱’根系分泌物使黄瓜发芽指数、胚根长、胚芽长和芽苗鲜质量分别比对照增加 0.86% 、 31.33% 、 16.17% 和 35% ,‘元藏大葱’分别比对照增加 0.86% 、 53.67% 、 16.62% 和 45% ; $1.2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 高根系分泌物浓度时对黄瓜胚根长、胚芽长、芽苗鲜质量表现出抑制作用,‘章丘大葱’使之分别降低 13.33% 、 9.24% 和 5% ,‘元藏大葱’使之分别降低 24.67% 、 18.01% 和 15% 。

表 1 大葱根系分泌物对黄瓜种子萌发和芽苗生长的影响
Table 1 Effects of welsh onion root exudates on seed germination and sprout growth of cucumber

大葱 Welsh onion	分泌物/ Exudate ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	发芽率/% Germination rate	发芽指数 Germination index	胚根长/cm Radicle length	胚芽长/cm Shoot length	芽苗鲜质量/g Sprout fresh weight
章丘	0	100.00	19.83 ± 0.29 a	6.00 ± 0.42 b	4.33 ± 0.28 b	0.20 ± 0.01 b
Zhangqiu	0.2	100.00	20.00 ± 0 a	7.32 ± 0.33 a	4.80 ± 0.25 a	0.26 ± 0.02 a
	0.3	100.00	20.00 ± 0 a	7.88 ± 0.67 a	5.03 ± 0.29 a	0.27 ± 0.02 a
	0.6	100.00	19.83 ± 0.29 a	7.72 ± 0.31 a	4.75 ± 0.32 a	0.26 ± 0.02 a
	1.2	100.00	19.67 ± 0.58 a	5.20 ± 0.64 c	3.93 ± 0.19 c	0.19 ± 0.01 b
元藏	0	100.00	19.83 ± 0.29 a	6.00 ± 0.42 c	4.33 ± 0.28 b	0.20 ± 0.01 c
Yuanzang	0.2	100.00	20.00 ± 0 a	8.23 ± 0.33 b	4.88 ± 0.25 a	0.26 ± 0.02 b
	0.3	100.00	20.00 ± 0 a	9.22 ± 0.29 a	5.05 ± 0.14 a	0.29 ± 0.02 a
	0.6	100.00	19.83 ± 0.29 a	7.85 ± 0.66 b	4.90 ± 0.28 a	0.26 ± 0.01 b
	1.2	100.00	19.50 ± 0.50 a	4.52 ± 0.39 d	3.55 ± 0.34 c	0.17 ± 0.02 d

注:同一品种同列不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different letters in the same column of the same cultivar meant significant difference among treatments at 0.05 level.

由表 2 可见,不同测定指标间比较,大葱根系分泌物对胚根长和芽苗鲜质量的化感效应指数绝对值较大;两个品种间比较,‘元藏大葱’根系分泌物的化感作用强于‘章丘大葱’。

化感综合效应可反映供体对受体的总体化感作用强度(杨阳, 2010)。由表 2 看出,两个大葱品种的根系分泌物对黄瓜种子萌发和芽苗生长的化感综合效应与单一指标一致。

表 2 大葱根系分泌物对黄瓜种子萌发和芽苗生长的化感作用评价
Table 2 Allelopathic potential of welsh onion root exudates on seed germination and sprout growth of cucumber

大葱 Welsh onion	分泌物/ Exudate ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	化感效应指数 RI				化感综合效应 Synthesis effect
		发芽指数 Germination index	胚根长 Radicle length	胚芽长 Shoot length	芽苗鲜质量 Sprout fresh weight	
章丘	0	0 a	0 c	0 c	0 c	0 c
Zhangqiu	0.2	0.008 ± 0.014 a	0.180 ± 0.034 b	0.097 ± 0.028 b	0.214 ± 0.029 b	0.124 ± 0.008 b
	0.3	0.008 ± 0.014 a	0.238 ± 0.020 a	0.139 ± 0.031 a	0.264 ± 0.021 a	0.161 ± 0.006 a
	0.6	0.000 ± 0.000 a	0.223 ± 0.030 a	0.087 ± 0.022 b	0.225 ± 0.033 b	0.134 ± 0.012 b
	1.2	-0.009 ± 0.015 a	-0.136 ± 0.049 d	-0.091 ± 0.029 d	-0.067 ± 0.040 d	-0.075 ± 0.012 d
元藏	0	0 ab	0 d	0 b	0 c	0 c
Yuanzang	0.2	0.008 ± 0.014 a	0.271 ± 0.038 b	0.113 ± 0.026 a	0.229 ± 0.035 b	0.154 ± 0.013 b
	0.3	0.008 ± 0.014 a	0.350 ± 0.028 a	0.142 ± 0.036 a	0.313 ± 0.029 a	0.202 ± 0.012 a
	0.6	0.000 ± 0.000 ab	0.235 ± 0.016 c	0.116 ± 0.012 a	0.226 ± 0.027 b	0.144 ± 0.005 b
	1.2	-0.017 ± 0.015 b	-0.248 ± 0.030 e	-0.182 ± 0.036 c	-0.134 ± 0.054 d	-0.143 ± 0.020 d

注:同一品种同列不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different letters in the same column of the same cultivar meant significant difference among treatments at 0.05 level.

2.2 大葱根系分泌物对黄瓜枯萎病病原菌的抑制作用

由图 1 可知, 随着大葱根系分泌物浓度升高, 对病原菌菌丝生长和孢子萌发的抑制作用逐渐增强。‘章丘大葱’对菌丝生长和孢子萌发的抑制率分别达到 5.03%~22.03%和 3.51%~27.46%, ‘元藏大葱’分别达到 4.32%~25.05%和 4.44%~33.61%。

当根系分泌物浓度 $\geq 0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, ‘元藏大葱’对菌丝生长的抑制率大于 ‘章丘大葱’; 浓度 $\geq 0.2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, ‘元藏大葱’对孢子萌发的抑制率大于 ‘章丘大葱’。随着根系分泌物浓度升高, 两个大葱品种对菌丝生长和孢子萌发的抑制率差异逐渐增大, 当根系分泌物浓度为 $1.2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, ‘元藏大葱’菌丝抑制率和孢子萌发抑制率分别比 ‘章丘大葱’高出 13.71%和 22.40%。

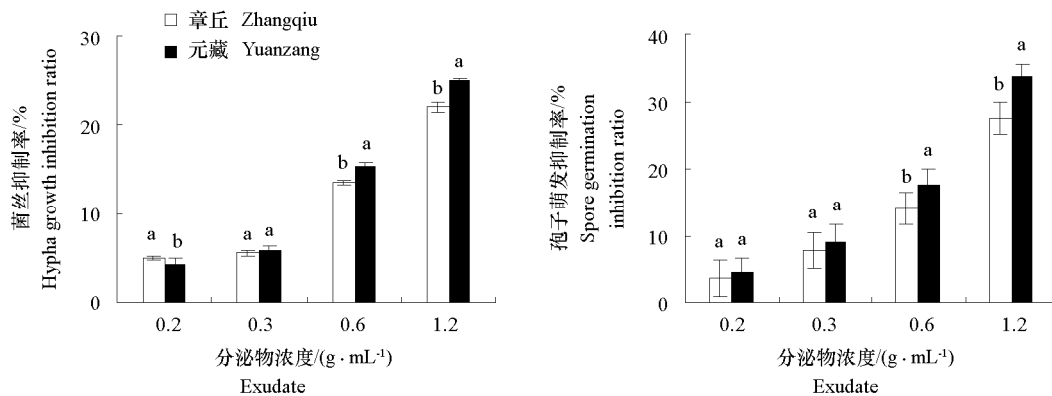


图 1 大葱根系分泌物对黄瓜枯萎病原菌菌丝生长和孢子萌发的抑制作用

Fig. 1 Inhibitory effects of welsh onion root exudates on hypha growth and spore germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*

2.3 大葱根系分泌物的 GC-MS 分析

图 2 是 ‘章丘大葱’和 ‘元藏大葱’根系分泌物的总离子流色谱图, 可以看出, 两个大葱品种根系分泌物的成分和相对含量都存在一定差异。经 GC-MS 分析, ‘章丘大葱’中检测出 10 大类 59 种物质, ‘元藏大葱’中检测出 9 大类 48 种物质 (表 3)。分泌物中主要含有杂环化合物、酯类、酰胺类、酸类、烃类、醛酮类、酚类、醇醚类以及萘类等物质。其中, 杂环化合物、酯类和酰胺类化合物所占的比例较高, ‘章丘大葱’中分别占 58.31%、30.48%和 2.54%, ‘元藏大葱’中分别占 62.62%、26.39%和 4.21%。

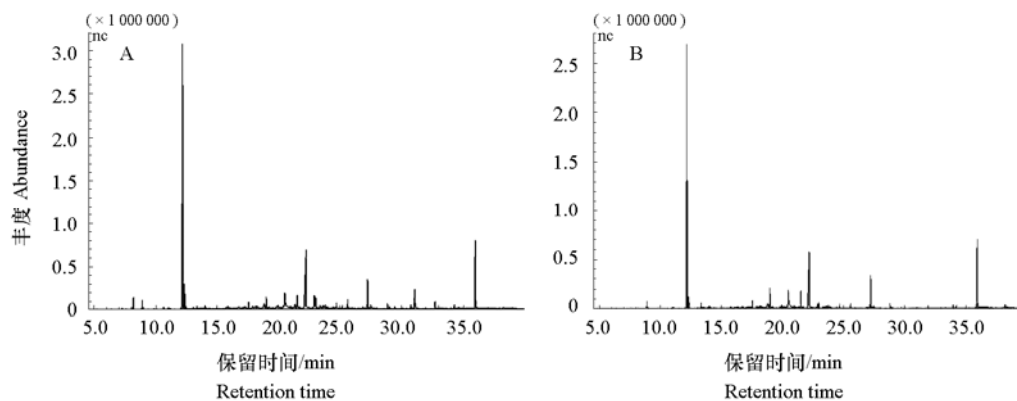


图 2 ‘章丘大葱’ (A) 和 ‘元藏大葱’ (B) 根系分泌物的总离子流色谱图

Fig. 2 Total ion current chromatogram of root exudates of ‘Zhangqiu’ (A) and ‘Yuanzang’ (B) welsh onion

由表 3 可以看出, 苯并噻唑、苯并噻唑酮、邻苯二甲酸二异辛酯、邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸二乙酯为两个品种共有的物质, 且相对含量较高。‘章丘大葱’根系分泌物中邻苯二甲酸酯类占酯类总量的 60.50%, 苯并噻唑类占杂环化合物总量的 97.56%; ‘元藏大葱’中则分别占 81.85%和 97.32%。2,2'-亚甲基双(4-甲基-6-叔丁基苯酚)、苯甲酸苄酯、苯甲酸-4-甲基苯酯、2-甲硫基异硫氰酸苯酯也属于两个大葱品种根系分泌物中共有的物质, 但相对含量较低。

表 3 不同品种大葱根系分泌物的化学组分

Table 3 The chemical components of root exudates of different varieties of welsh onion

化合物名称 Name of the chemical	相对含量/% Relative content		化合物名称 Name of the chemical	相对含量/% Relative content	
	章丘 Zhangqiu	元藏 Yuanzang		章丘 Zhangqiu	元藏 Yuanzang
1. 烃类 Hydrocarbon	2.08	0.26	环十一酮 Cycloundecanone	-	0.13
1-甲氧基十五烷 1-methoxypentadecane	0.38	-	3,5,6,7,8,8a-六氢-4,8a-二甲基-6-(1-甲乙烯基)-2(1H)萘酮 2(1H)Naphthalenone, 3,5,6,7,8,8a-hexahydro-4,8a-dimethyl-6-(1-methylethenyl)-	-	0.08
愈创奥 Azulol	1.70	-	6. 酸类 Acid	1.11	1.28
3-甲基-3-丙基-2,5-吡咯烷 3-methyl-3-propyl-2,5-pyrrolidinedione	-	0.26	4-甲基苯丁酸 Benzenebutanoic acid, 4-methyl-	0.18	-
2. 醇、醚类 Alcohol, Ether	1.37	0.67	庚酸酐 Heptanoic anhydride	0.17	0.22
乙基己醇 Ethylhexanol	0.17	-	6-氧基十二烷二羧酸 6-oxododecanedioic acid	0.11	-
甲基苯甲醇 Benzenemethanol, alpha-methyl-	0.19	-	十二酸 Dodecanoic acid	0.15	-
9-苻醇 9-fluorenol	0.33	-	十三酸 Tridecanoic acid	0.17	-
异雪松醇 Epicedrol	-	0.27	5-羟基-6-甲基-3,4-吡啶二羧酸 5-hydroxy-6-methyl-3,4-pyridinedicarboxylic acid	0.20	-
3-甲基-1-戊烯-3-醇 3-methyl-1-penten-3-ol	-	0.17	硫代苯甲酸 Benzoic acid, thio-	-	0.93
1,3-二氯-2-丙基-2,3-二氯-1-丙醚 1,3-dichloro-2-propyl-2,3-dichloro-1-propyl ether	0.40	0.23	十二烯基丁二酸酐 2,5-furandione, 3-dodeceny-	-	0.13
1,4-丁二醇二缩水甘油醚 Butane, 1,4-bis(2,3-epoxypropoxy)-	0.28	-	4-苯腈氧基乙酸 Benzeneacetic acid, 4-cyano-alpha-oxo-	0.13	-
3. 酚类 Phenol	1.52	0.47	7. 酯类 Ester	30.48	26.39
2,2'-亚甲基双(4-甲基-6-叔丁基苯酚) p-cresol, 2,2'-methylenebis[6-tert-butyl-	0.36	0.36	环己基异氰酸酯 Cyclohexane, isocyanato-	0.12	0.14
3-叔丁基苯酚 m-tert-butylphenol	0.30	-	环己基异硫氰酸酯 Cyclohexane, isothiocyanato-	2.86	1.59
2,4-二叔丁基苯酚 2,4-di-tert-butylphenol	0.86	-	庚酸烯丙酯 Allyl enanthate	0.21	-
5,8-二甲基-1,2,3,4-四氢-1-萘酚 5,8-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydro-1-naphthol	-	0.11	苯甲酸甲酯 Methyl benzoate	1.01	-
4. 苯类 Benzene	0.15	-	甲基二乙基二硫代氨基甲酸酯 Carbamodithioic acid, diethyl-, methyl ester	0.15	-
卡达萘 Cadalene	0.15	-	亚氨基二硫代碳酸甲基二甲酯 Carboni- midodithioic acid, methyl-, dimethyl ester	0.27	0.66
5. 醛、酮类 Aldehyde, Ketone	1.98	0.70	苯甲酸苄酯 Benzyl benzoate	0.45	0.49
3,5-二甲基苯甲醛 3,5-dimethylbenzaldehyde	0.19	0.16	2-甲硫基异硫氰酸苯酯 2-(methylthio) phenyl isothiocyanate	0.26	0.35
苯乙酮 Acetophenone	1.25	0.14	4-氰基苯甲酸丁酯 4-cyanobenzoic acid, butyl ester	1.79	-
3-乙基苯甲醛 3-ethylbenzaldehyde	-	0.10	9-十二炔基环戊烷甲酸酯 Cyclopentanecarboxylic acid dodec-9-ynyl ester	0.30	-
四氢化-1,3-恶嗪-2-硫酮 Tetrahydro-1,3-oxazine-2-thione	0.34	-	对苯二甲酸 2-氯乙烷异丁酯 Terephthalic acid, 2-chloroethyl isobutyl ester	0.52	-
4-甲氧基-2,5-二氢-1H-2-吡咯酮 1H-2-pyrrolone, 4-methoxy-2,5-dihydro	0.20	-	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	3.70	4.71
2-环戊基环戊酮 Cyclopentanone, 2-cyclopentyl-	-	0.09	邻苯二甲酸二异丁酯 Diisobutyl phthalate	1.12	0.74

续表 3

化合物名称 Name of the chemical	相对含量/% Relative content		化合物名称 Name of the chemical	相对含量/% Relative content	
	章丘	元藏		章丘	元藏
	Zhangqiu	Yuanzang		Zhangqiu	Yuanzang
邻苯二甲酸二乙酯 Diethyl Phthalate	2.42	3.24	9. 杂环化合物 Heterocyclic	58.31	62.62
邻苯二甲酸二甲酯 Dimethyl phthalate	0.70	0.92	2-己基-5-甲基-3(2H)-呋喃	0.18	-
苯甲酸-4-甲基苯酯	0.08	1.13	2-hexyl-5-methyl-3(2H)-furanone		
Benzoic acid, p-tolyl ester			3-甲基苯并呋喃	0.17	0.21
邻苯二甲酸二异辛酯	9.45	11.43	Benzofuran, 3-methyl-		
Diisooctyl phthalate			2,3-二氢-2,2-二甲基-7-苯并呋喃	-	0.30
邻苯二甲酸二异丙酯	1.05	-	7-benzofuranol, 2,3-dihydro-2,2-dimethyl		
Diisopropyl phthalate			二苯并呋喃 Dibenzofuran	-	0.99
邻苯二甲酸丁基甲酯	-	0.56	2-甲硫基苯并噻唑	0.44	0.86
Phthalic acid, butyl methyl ester			Benzothiazole, 2-(methylthio)-		
对甲苯磺酸正辛酯	0.44	-	苯并噻唑 Benzothiazole	38.87	41.32
Benzenesulfonic acid, 4-methyl-, octyl ester			苯并噻唑酮 Benzothiazolone	15.28	15.75
双(2-羟乙基)对苯二甲酸酯	2.89	-	2-巯基苯并噻唑	0.54	0.43
Bis(2-hydroxyethyl) terephthalate			2-mercaptobenzothiazole		
3-巯基丁酸酯	0.69	-	2-巯基苯并咪唑	0.32	-
3-sulfanylhexyl butyrate			2-benzimidazolethiol		
延胡索酸 2-甲代烯丙基乙酯	-	0.12	2-乙氨基苯并噻唑	1.76	2.58
Fumaric acid, ethyl 2-methylallyl ester			Benzothiazole, 2-(ethylamino)-		
苯甲酰基异硫氰酸酯 Benzoyl isothiocyanate	-	0.17	2-羟基-4-二氟甲氧基嘧啶	-	0.18
吡啶甲代-2-thia-硬脂酸酯	-	0.14	2-hydroxy-4-difluormethoxy-pyrimidine		
Picolinyl-2-thia-stearate			异喹啉 Isoquinoline	0.28	-
8. 胺类 Amine	2.54	4.21	5H-茚[1,2-b]吡啶	0.31	-
环己基甲酰胺	0.28	0.19	5H-indeno[1,2-b]pyridine		
Cyclohexylformamide			2,2,4-三甲基-1,2-二氢喹啉	0.16	-
1,3-二环己基脲 1,3-dicyclohexylurea	0.72	0.71	Quinoline, 1,2-dihydro-2,2,4-trimethyl-		
环莠隆 Cycluron	1.41	2.67	10. 其它 Others	0.31	1.42
N,N-二甲基-1-氨基硫脲	0.13	0.13	4,4,5,7,8-五甲基二氢香豆素	0.31	0.61
Hydrazinecarbothioamide, N,N-dimethyl			4,4,5,7,8-pentamethyl-2-chromanone		
2-甲基苯磺酰胺	-	0.23	2-甲硫基苯腈	-	0.27
Benzenesulfonamide, 2-methyl-			2-(Methylthio) benzonitrile		
S-苯甲酰亚磺酰胺	-	0.28	甲基-4-O-辛基- α -D-吡喃葡萄糖苷	-	0.54
S-benzoylsulfenamide			alpha-D-glucopyranoside, methyl-4-O-octyl-		

注: - 未检测到。

Note: - not detected.

3 讨论

本试验结果表明, 大葱根系分泌物对黄瓜种子萌发和芽苗生长均呈现低浓度促进、高浓度抑制的作用, 与茄子(张凤丽等, 2005)、大蒜(周艳丽, 2007)等的研究结果一致。但分蘖洋葱根系分泌物随着浓度升高, 对黄瓜胚根、胚芽生长的促进作用增强(杨阳, 2010)。上述结果的差异, 可能由于作物种类(包括供体和受体)不同, 而且采用不同的根系分泌物收集方法, 获得根系分泌物的物质构成和浓度也不一样。

枯萎病是黄瓜连作障碍的主要原因。本试验中, 随着大葱根系分泌物浓度的升高, 对黄瓜枯萎病原菌菌丝生长和孢子萌发的抑制作用逐渐增强, 这与分蘖洋葱(杨阳, 2010)、大蒜根系分泌物(周艳丽, 2007)对枯萎病原菌化感作用的研究结果一致。说明葱蒜类作物的根系分泌物可以明显抑制枯萎病原菌生长和繁殖, 这可能是合理轮作有效减轻瓜类蔬菜土壤连作障碍的重要原因之一。

孔垂华等(2004)认为, LC-MS 是研究作物根系分泌物最理想的手段。但是, 何海斌等(2005)指出, 分析根系分泌物粗提物时, 通常会出现几十个检测峰, 且大多是未知物, 故利用有谱图库的

GC - MS 进行前期检测更为可行。本试验的研究对象是大葱根系分泌物中容易气化的小分子物质, 利用 GC - MS 分析方法是可行的。

本试验结果表明, 大葱根系分泌物中含有杂环化合物、酯类、酰胺类、酸类、烃类、醛酮类、酚类、醇醚类以及萜类等物质, 其中, 苯并噻唑及其衍生物、邻苯二甲酸酯类物质相对含量较高。前人研究表明, 邻苯二甲酸二丁酯是辣椒和茄子根系分泌物中的主要化感物质, 对黄瓜种子萌发及幼苗生长有显著促进作用, 且具有抑菌作用(耿广东 等, 2009; 李轶修 等, 2009; 周宝利 等, 2010a); 苯并噻唑及其衍生物是分蘖洋葱根系分泌物中的重要组分(何海斌 等, 2005), 具有抗菌、杀虫、除草、调节植物生长等生物活性(洪艳平等, 2005)。因此, 邻苯二甲酸酯类和苯并噻唑类物质可能是大葱根系分泌物中的重要化感物质。

前人研究表明, 大蒜根系分泌物中的 2,6 - 二异丙基苯酚对萝卜幼苗生长表现抑制化感作用(周艳丽, 2007); 茄子根系分泌物中的 2,6 - 二叔丁基苯酚使茄子幼苗叶片光合作用和叶绿素荧光参数先降低后升高(郁继华 等, 2006)。黄瓜和豌豆根系分泌物中的苯甲酸、肉桂酸及其衍生物具有自毒作用(Yu & Matsui, 1994; 喻景权和松井佳久, 1999); 茄子根系分泌物中的苯甲酸苄酯可提高茄子对黄萎病的抗性, 促进种子萌发和幼苗生长(周宝利 等, 2010b)。十字花科植物中的异硫氰酸酯类衍生物对黄萎病病原菌表现为抑制作用(Yamane et al., 1992; Olivier et al., 1999)。由此推断, 大葱根系分泌物中的 2,2' - 亚甲基双(4 - 甲基 - 6 - 叔丁基苯酚)、苯甲酸苄酯、苯甲酸 - 4 - 甲基苯酯、2 - 甲硫基异硫氰酸苄酯也可能是具有化感潜力的组分, 但究竟以哪些组分为主尚需要通过进一步试验确定。

References

- Bertin C, Yang X H, Weston L A. 2003. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant and Soil*, 256: 67 - 83.
- Cheng Zhi-hui, Geng Guang-dong, Zhang Su-qin, Meng Huan-wen. 2005. Allelopathy to lettuce and related chemicals of hot pepper. *Acta Horticulturae Sinica*, 32 (1): 100. (in Chinese)
- 程智慧, 耿广东, 张素勤, 孟焕文. 2005. 辣椒对莴苣的化感作用及其成分分析. *园艺学报*, 32 (1): 100.
- Geng Guang-dong, Zhang Su-qin, Cheng Zhi-hui. 2009. Allelopathy and allelochemicals of root exudates in hot pepper. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (6): 873 - 878. (in Chinese)
- 耿广东, 张素勤, 程智慧. 2009. 辣椒根系分泌物的化感作用及其化感物质分析. *园艺学报*, 36 (6): 873 - 878.
- Guo Xiu-wu, Li Kun, Sun Ying-ni, Zhang Li-heng, Hu Xi-xi, Xie Hong-gang. 2010. Allelopathic effects and identification of allelochemicals in grape root exudates. *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (6): 861 - 868. (in Chinese)
- 郭修武, 李 坤, 孙英妮, 张立恒, 胡禧熙, 谢洪刚. 2010. 葡萄根系分泌物的化感效应及化感物质的分离鉴定. *园艺学报*, 37 (6): 861 - 868.
- Hao Z P, Wang Q, Christie P, Li X L. 2007. Allelopathic potential of watermelon tissues and root exudates. *Scientia Horticulturae*, 112 (3): 315 - 320.
- He Hai-bin, Chen Xiang-xu, Lin Rui-yu, Lin Wen-xiong, He Hua-qin, Jia Xiao-li, Xiong Jun, Shen Li-hua, Liang Yi-yuan. 2005. Chemical components of root exudates from allelopathic rice accession PI312777 seedlings. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 16 (12): 2383 - 2388. (in Chinese)
- 何海斌, 陈祥旭, 林瑞余, 林文雄, 何华勤, 贾小丽, 熊 君, 沈荔花, 梁义元. 2005. 化感水稻 PI312777 苗期根系分泌物中化学成分分析. *应用生态学报*, 16 (12): 2383 - 2388.
- Hong Yan-ping, Song Bao-an, Wu Ping, Yan Xian-zai, Liu Nan. 2005. Research advances in synthesis and biological activity of benzothiazole derivatives. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 33 (7): 1254 - 1257. (in Chinese)
- 洪艳平, 宋宝安, 吴 平, 颜贤仔, 刘 楠. 2005. 苯并噻唑类农药生物活性研究进展. *安徽农业科学*, 33 (7): 1254 - 1257.
- Inderjit Duke S O. 2003. Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta*, 217: 529 - 539.
- Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences. 2010. *Cultivation of China vegetable*. Beijing: China Agriculture

- Press. (in Chinese)
- 中国农业科学院蔬菜花卉研究所. 2010. 中国蔬菜栽培学. 北京: 中国农业出版社.
- Kong Chui-hua, Xu Xiao-hua, Liang Wen-ju, Zhou Yong-jun, Hu Fei. 2004. Non-phenolic allelochemicals in root exudates of an allelopathic rice variety and their identification and weed-suppressive activity. *Acta Ecologica Sinica*, 24 (7): 1317 - 1322. (in Chinese)
- 孔垂华, 徐效华, 梁文举, 周勇军, 胡 飞. 2004. 水稻化感品种根分泌物中非酚酸类化感物质的鉴定与抑草活性. *生态学报*, 24 (7): 1317 - 1322.
- Kong C H, Wang P, Zhao H, Xu X H, Zhu Y D. 2008. Impact of allelochemical exuded from allelopathic rice on soil microbial community. *Soil Biology & Biochemistry*, 40: 1862 - 1869.
- Li Yi-xiu, Zhou Bao-li, Liu Na, Fu Ya-wen. 2009. Effect of different concentration dibutyl phthalate (DBP) on the germination and seedlings growth of three vegetable seeds. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 18 (2): 217 - 220, 224. (in Chinese)
- 李轶修, 周宝利, 刘 娜, 付亚文. 2009. 邻苯二甲酸二丁酯对 3 种蔬菜作物种子萌发及幼苗生长的影响. *西北农业学报*, 18 (2): 217 - 220, 224.
- Li Yuan, Si Li-shan, Zhang Xue-yan, Tian Yong-qiang, Guo Rui-ying, Ren Hua-zhong, Gao Li-hong. 2008. Comparative study on the effects of catch crops on soil environment in solar greenhouse. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 24 (1): 224 - 229. (in Chinese)
- 李 元, 司力珊, 张雪艳, 田永强, 郭瑞英, 任华中, 高丽红. 2008. 填闲作物对日光温室土壤环境作用效果比较研究. *农业工程学报*, 24 (1): 224 - 229.
- Liu Na, Zhou Bao-li, Li Yi-xiu, Hao Jing, Fu Ya-wen. 2008. Allelopathy of the eggplant/tomato grafted eggplants root exudates to *Verticillium* wilt (*Verticillium dahliae*). *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (9): 1297 - 1304. (in Chinese)
- 刘 娜, 周宝利, 李轶修, 郝 晶, 付亚文. 2008. 茄子/番茄嫁接植株根系分泌物对茄子黄萎病菌的化感作用. *园艺学报*, 35 (9): 1297 - 1304.
- Liu Na, Zhou Bao-li, Li Yi-xiu, Zhang Jian, Chen Feng, Jia Qian, Lu Bo. 2009. Allelopathy of hexanedioic acid, bis (2-methylpropyl) ester to *Verticillium* wilt (*Verticillium dahliae*) and eggplant seedling growth. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (7): 1065 - 1070. (in Chinese)
- 刘 娜, 周宝利, 李轶修, 张 健, 陈 丰, 贾 倩, 鲁 博. 2009. 化感物质己二酸二异丁酯对茄子黄萎病及幼苗生长的效应. *园艺学报*, 36 (7): 1065 - 1070.
- Olivier C, Vaughn S F, Mizubuti E S G, Loria R. 1999. Variation in allyl isothiocyanate production within *Brassica* species and correlation with fungicidal activity. *Journal of Chemical Ecology*, 25 (12): 2687 - 2701.
- Rice E L. 1984. Allelopathy. New York: Academic Press Inc.
- Shen Hui-min, Guo Hong-ru, Huang Gao-bao. 2005. Allelopathy of different plants on wheat, cucumber and radish seedlings. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 16 (4): 740 - 743. (in Chinese)
- 沈慧敏, 郭鸿儒, 黄高宝. 2005. 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. *应用生态学报*, 16 (4): 740 - 743.
- Tang C S, Young C C. 1982. Collection and identification of allelopathic compounds from the undisturbed root system of *Bigatta limpograss* (*Hemarthria altissima*). *Plant Physiology*, 69: 155 - 160.
- Williamson G B, Richardson D. 1988. Bioassays for allelopathy: Measuring treatment responses with independent controls. *Journal of Chemical Ecology*, 14: 181 - 187.
- Wu Feng-zhi, Zhao Feng-yan. 2003. Study on root exudates and continuous cropping obstacle. *Journal of Northeast Agricultural University*, 34 (1): 114 - 118. (in Chinese)
- 吴凤芝, 赵凤艳. 2003. 根系分泌物与连作障碍. *东北农业大学学报*, 34 (1): 114 - 118.
- Yamane A, Fujikura J, Ogawa H, Mizutani J. 1992. Isothiocyanates as allelopathic compounds from *Rorippa indica* Hiern (Cruciferae) roots. *Journal of Chemical Ecology*, 18 (11): 1941 - 1954.
- Yan Fei, Yang Zhen-ming, Han Li-mei. 2000. Review on research methods for allelopathy and allelochemicals in plants. *Acta Ecologica Sinica*, 20 (4): 692 - 696. (in Chinese)
- 阎 飞, 杨振明, 韩丽梅. 2000. 植物化感作用 (Allelopathy) 及其作用物的研究方法. *生态学报*, 20 (4): 692 - 696.
- Yang Feng-juan, Wu Huan-tao, Wei Min, Wang Xiu-feng, Shi Qing-hua. 2009. Effects of rotation and fallowing on the microbial communities and

- enzyme activities in a solar greenhouse soil under continuous cucumber cropping. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 20 (12): 2983 - 2988. (in Chinese)
- 杨凤娟, 吴焕涛, 魏 珉, 王秀峰, 史庆华. 2009. 轮作与休闲对日光温室黄瓜连作土壤微生物和酶活性的影响. *应用生态学报*, 20 (12): 2983 - 2988.
- Yang Yang. 2010. Allelopathy of Chinese onion root exudates on cucumber and its application [Ph. D. Dissertation]. Harbin: Northeast Agricultural University. (in Chinese)
- 杨 阳. 2010. 分蘖洋葱根系分泌物对黄瓜的化感作用及其应[博士论文]. 哈尔滨: 东北农业大学.
- Yu Ji-hua, Zhang Yun, Niu Cai-xia, Li Jian-jian. 2006. Effects of two kinds of allelochemicals on photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters of *Solanum melongena* L. seedlings. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 17 (9): 1629 - 1632. (in Chinese)
- 郁继华, 张 韵, 牛彩霞, 李健建. 2006. 两种化感物质对茄子幼苗光合作用及叶绿素荧光参数的影响. *应用生态学报*, 17 (9): 1629 - 1632.
- Yu J Q, Matsui Y. 1994. Phytotoxic substances in root exudates of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Chemical Ecology*, 20 (1): 21 - 31.
- Yu J Q, Matsui Y. 1997. Effects of root exudates of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals on ion uptake by cucumber seedling. *Journal of Chemical Ecology*, 23 (3): 817 - 827.
- Yu Jing-quan, Matsui Y. 1999. Auto-intoxication of root exudates in *Pisum sativus*. *Acta Horticulturae Sinica*, 26 (3): 175 - 179. (in Chinese)
- 喻景权, 松井佳久. 1999. 豌豆根系分泌物自毒作用的研究. *园艺学报*, 26 (3): 175 - 179.
- Yu J Q, Shou S Y, Qian Y R, Zhu Z J, Hu W H. 2000. Autotoxic potential of cucurbit crops. *Plant and Soil*, 223: 147 - 151.
- Zhang Feng-li, Zhou Bao-li, Wang Ru-hua, He Yu. 2005. Allelopathic effects of grafted eggplant root exudates. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 16 (4): 750 - 753. (in Chinese)
- 张凤丽, 周宝利, 王茹华, 何 雨. 2005. 嫁接茄子根系分泌物的化感效应. *应用生态学报*, 16 (4): 750 - 753.
- Zeng Ren-sen. 1999. Review on bioassay methods for allelopathy research. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 10 (1): 123 - 126. (in Chinese)
- 曾任森. 1999. 化感作用研究中的生物测定方法综述. *应用生态学报*, 10 (1): 123 - 126.
- Zhou Bao-li, Yin Yu-ling, Li Yun-peng, Xu Yan, Chen Shao-li, Ye Xue-ling. 2010a. Relationship between root exudates of grafted eggplants and *Verticillium* wilt resistance and their components identification. *Acta Ecologica Sinica*, 30 (11): 3073 - 3079. (in Chinese)
- 周宝利, 尹玉玲, 李云鹏, 徐 妍, 陈绍莉, 叶雪凌. 2010a. 嫁接茄根系分泌物与抗黄萎病的关系及其组分分析. *生态学报*, 30 (11): 3073 - 3079.
- Zhou Bao-li, Jia Qian, Liu Na, Ye Xue-ling, Hu Jun-feng. 2010b. Allelopathy of benzyl benzoate to *Verticillium* wilt (*Verticillium dahliae*) and the growth of eggplant seedling. *Journal of Northwest A & F University: Nat Sci Ed*, 38 (2): 135 - 139, 146. (in Chinese)
- 周宝利, 贾 倩, 刘 娜, 叶雪凌, 胡俊峰. 2010b. 苯甲酸苄酯对茄子黄萎病及幼苗生长的化感效应. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 38 (2): 135 - 139, 146.
- Zhou Yan-li. 2007. Research on allelopathy and identification of allelochemicals of garlic root exudates [Ph. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 周艳丽. 2007. 大蒜根系分泌物的化感作用研究及化感物质鉴定[博士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.