

豌豆根系中分泌物质的分离鉴定及其化感效应的研究

张允^{1, #}, 马绍英^{1, #}, 卢旭¹, 柴强², 张绪成³, 李胜^{1, 2, *}

¹甘肃农业大学生命科学技术学院, 兰州730070

²甘肃省干旱生境作物学国家重点实验室, 兰州730070

³甘肃省农业科学院旱地农业研究所, 兰州730070

摘要: 本文实验采用GC-MS分析法对豌豆组培苗、土培苗重茬两代的根系分泌物进行鉴定。实验结果表明, 能被二氯甲烷提取的豌豆根系分泌物有醇类、脂类、醛类、萜类、炔类等。用不同浓度的豌豆化感物质2,4-二叔丁基苯酚(2,4-DB)和2,6-二叔丁基对甲酚(2,6-DM)处理豌豆、绿豆、小麦和玉米4种作物种子, 进行萌发和幼苗生长的化感效应研究。结果表明, 0~2 mmol·L⁻¹ 2,4-DB和2,6-DM处理对豌豆和绿豆种子萌发呈促进作用, 而3~5 mmol·L⁻¹ 2,4-DB和2,6-DM处理则呈抑制的作用。随浓度的增大, 2种化感物质对小麦和玉米种子萌发的抑制作用逐渐增强。对于豆科作物豌豆和绿豆, 2,4-DB对绿豆萌发时根系的抑制作用较强; 而对于禾本科作物玉米和小麦, 则2,4-DB对小麦萌发时根系的抑制作用最强。

关键词: GC-MS; 组培苗; 豌豆; 根系分泌物; 化感效应

豌豆属豆科豌豆属, 一年生或越年生的矮生或攀缘草本植物(宗绪晓等2009)。是我国和全世界重要的粮食作物。

随着豌豆生产的产业化、规模化发展, 豌豆的连作障碍问题日趋严重。许多研究证实自毒作用是导致作物产生连作障碍的主要原因之一, 由于大豆自毒作用造成的连茬减产, 幅度可达15%~25% (胡江春和王书锦1996)。自毒作用即化感作用, 化感作用是指一种植物或微生物(供体)向环境释放某些化学物质而影响其他有机体包括植物、微生物和动物(受体)的生长和发育的化学生态学现象, 包括促进和抑制两方面作用(Anaya 1999; Hierro和Callaway 2003; Inderjit 2001)。研究表明, 酚类物质对某些土壤微生物的生长有抑制作用。吴凤芝和王伟(1999)研究大棚黄瓜连作障碍时发现, 随着连作年限增加, 有害微生物增加, 这可能与黄瓜分泌的酚酸物质的积累有关。Murray等(1996)研究认为, 酚酸能抑制微生物产生气体与挥发性脂肪酸作用, 并减少微生物对其生长介质的消耗。许艳丽等(1995)在连、轮作大豆土壤微生物生态分布特征与大豆根部病虫害关系的研究中发现, 重茬使得微生物的数量和组成发生改变, 即重茬土壤中微生物和细菌的数量明显低于正茬土壤, 而真菌数量则高于正茬土壤, 细菌/真菌的比值变小, 放线菌的数量没有明显变化。一些研究也证实了豌豆栽培残液的生长抑制作用, 但至今仍缺少有关由根系分泌物引起的自毒作用的

直接证据, 更未能从中分离鉴定出抑制物质(陈玉玲等1999; 喻景权和松井佳久1999)。有关豌豆根系分泌物及其在豌豆连作障碍中的作用等问题仍鲜有报道, 因此本文采用GC-MS分析法对豌豆根系分泌物的二氯甲烷提取物进行了鉴定和分析, 并对其化感物质进行了初步的生物学效应研究, 以期为解决豌豆连作障碍问题的研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

以甘肃省农业科学院作物研究所提供的豌豆(*Pisum sativum* L.)品种‘陇碗一号’、玉米(*Zea mays* L.)品种‘长征706’、小麦(*Triticum aestivum* L.)‘西农979’和绿豆(*Vigna radiate* L.)‘吉绿3号’为实验材料。实验中采用的沙子均是经过流水冲洗, 再用无菌水冲洗, 高温烘干杀菌至恒重。培养基质采用MS培养基、只加琼脂的培养基和土样3种, 土样取自甘肃省兰州市永登县上川镇重茬种植过2次‘陇碗一号’的土样。在获取豌豆分泌物时, 土培苗采用的是‘陇碗一号’的种子苗, 组培苗直接采用实验室保存的‘陇碗一号’无菌试管苗。

收稿 2018-03-06

资助 国家绿肥产业技术体系。

共同第一作者。

* 通讯作者(lish@gsau.edu.cn)。

1.2 实验方法

本实验于2015年03月至2016年12月在甘肃农业大学植物细胞工程实验室进行。

1.2.1 土培苗的种植

豌豆土培苗种植于直径为12 cm的营养钵中, 将外形未受损害的豌豆种子, 用5%的84消毒液消毒15 min后, 用无菌水冲洗2~3次, 分别种植于从永登县上川镇取的种植过2茬豌豆的土壤中, 设3个重复, 观察土培苗的生长状态, 并作记录。

1.2.2 豌豆组培苗的重茬培养

第1茬培养基是将豌豆无菌种子种植在灭菌过的只含琼脂的培养基中, 生长7 d后, 将未污染的豌豆种子苗接种到只含琼脂的培养基和MS培养基中生长1个周期(90 d), 收取豌豆根部以上部分。将新配置的只含琼脂的培养基和MS培养基灭菌后分别加入到豌豆种子苗生长1个周期后的培养基中, 冷却后对豌豆进行第1次重茬培养, 再经过1个周期后用同样的方法进行第2次重茬培养, 获得豌豆重茬2次的培养基。

1.2.3 豌豆根系分泌物的提取

分别取重茬2次的只加琼脂的培养基和MS培养基, 在三角瓶中加入100 mL蒸馏水, 在室温下震荡1 h, 过滤后得到的水溶液即为根系分泌物。

土培苗收集豌豆根系周围2 cm的土壤, 自然风干, 研磨至80目, 称取10 g的样品, 加入100 mL蒸馏水, 室温下震荡1 h后, 过滤得到的水溶液, 即豌豆的根系分泌物。

1.3 豌豆幼苗根系分泌物的GC-MS鉴定

将豌豆的根系分泌物用分析纯二氯甲烷萃取后浓缩, 再用色谱纯二氯甲烷溶解定容至10 mL, 取样1 mL, 后用0.02 μm 的滤膜过膜上样。检测仪器为岛津GC-MS-QP2010。采用电子轰击源, 轰击电压70 eV, 扫描范围M/Z30-500, 扫描速度0.4 s, 扫全程。毛细管柱: SE-54 (30 m \times 0.32 μm \times 0.25 mm), 离子源温度200 $^{\circ}\text{C}$, 进样口温度250 $^{\circ}\text{C}$, 柱温50 $^{\circ}\text{C}$ (保持3 min), 以6 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 程序升温至250 $^{\circ}\text{C}$ (保持5 min)。载气为He, 流量1 mL $\cdot\text{min}^{-1}$, 不分流进样, 进样量为1 μL 。溶剂延迟时间3.0 min。人工分析与NIST05谱库核对, 确定各组物质结构及名称。

1.4 2,4-DB和2,6-DM的化感效应实验

根据GC-MS检测出的豌豆幼苗根系基质中的物质, 并从中筛选出2,4-DB和2,6-DM 2种化感物

质。分别设置6个浓度(0、1、2、3、4和5 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$)的2,4-DB和2,6-DM (实验试剂2,4-DB和2,6-DM均来自上海源叶生物科技有线公司)对豌豆、玉米、小麦和绿豆进行发芽及幼苗生长实验。实验选取颗粒饱满、均匀的种子, 用5%的84消毒液消毒15 min后, 用无菌水冲洗2~3次。将处理好的种子放入直径为15 cm且底部铺有纱布和滤纸的培养皿中, 每个培养皿36粒种子, 3次重复。发芽率(%)=发芽7 d全部正常发芽的种子数/供试种子数 \times 100。发芽势(%)=发芽3 d的正常发芽粒数/供试种子数 \times 100。

将处理好的种子种植于直径为15 cm、添加300 g灭菌后沙子的培养皿中, 在沙子中加入不同浓度的试剂, 之后每隔12 h往每个培养皿中加入20 mL无菌水, 不再加入实验试剂; 对照组只加无菌水。培养温度为(24 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$, 光照时间为24 h。每个培养皿18粒种子, 设3次重复。于20 d测定4种作物的地下部分和地上部分重量, 并观察在6个浓度梯度下4种作物根系生长的状态。

1.5 数据处理

用Excel软件处理数据和绘图, SPSS 19.0软件进行统计分析, 用Duncan's新复极差法进行差异显著性检验($P<0.05$)。

2 实验结果

2.1 豌豆重茬2次后不同基质中根系分泌物的GC-MS分析

据报道, 植物通过初级代谢和次生代谢产生的根系分泌物有糖、氨基酸、酚、酶及生长刺激物质等(罗永清和赵学勇2012)。

GC-MS检测结果表明, 在只含琼脂的培养基中的豌豆根系分泌物最多, 为70种; 而MS培养基和土样的次之, 分别为56种和54种。这说明了后两种培养基中原来含有的物质可能对豌豆根系分泌出的物质具有分解和中和的作用。在检测出的物质中, 烷类占的比例最大(表1)。

从表1可以看出, 2,4-DB和2,6-DM化感物质是由豌豆根系分泌生产。如果是土壤中的微生物分泌产生, 那么在只含琼脂的培养基和MS培养基中就不应该有这两种物质, 而上述三种基质均检测出2,4-DB和2,6-DM。

研究表明, 酚酸类物质对核酸以及蛋白质合成的影响是其影响植物生长的机制之一(Bazira-

表1 三种不同培养基质中的豌豆根系分泌物分析

Table 1 Analysis of root exudates of pea in 3 different culture substrates

根系分泌物中的化合物		只加琼脂的培养基	MS培养基	土样
烷类	3,3-二甲基己烷	+	+	+
	1-碘壬烷	+	+	+
	壬烷	+	+	+
	4-甲基辛烷	+	+	+
	4,4-二甲基庚烷	+	+	+
	2,3,4-三甲基正己烷	+	+	+
	2,3,4-三甲基正己烷	+	+	+
	2,4-二甲基庚烷	+	+	+
	3-甲基-3-乙基庚烷	+	+	+
	十一烷	+	+	+
	十二烷	+	+	+
	四十四烷	+	+	+
	二甲基二甲氧基硅烷	+	+	-
	烯类	苯乙烯	+	+
1-十二烯		+	+	+
醇类	1-十一醇	+	+	-
	2-丁基-1-辛醇	+	+	+
酚类	己基癸醇	+	-	+
	2,4-二叔丁基酚	+	+	+
	2,5-二叔丁基酚	-	+	+
	2,6-二叔丁基对甲酚	+	+	+
醛类	2,6-二叔丁基苯酚	+	+	+
	2,4-二甲基苯甲醛	+	+	+
	3,4-二甲基苯甲醛	+	+	+
其他	2-乙基苯甲醛	-	+	+
	癸醚	+	+	+
	盐酸	+	-	+
	氮	+	+	-

“+”表示已测出,“-”表示未测出。

makenga等2011; 孙海燕和王炎2012), 周宝利等(2013)在研究番茄时发现2,4-DB对番茄的生长有低促高抑的作用, 而2,6-DM的化感作用报道甚少。所以, 本文选用2,4-DB和2,6-DM两种物质对豌豆、绿豆、小麦和玉米进行实验。

2.2 化感物质2,4-DB和2,6-DM对不同作物种子萌发和幼苗生长的影响

种子发芽和幼苗生长发育测定是研究根系分泌物对植物作用最直接的方法, 目前在国内外化感领域得到广泛应用。

2.2.1 不同浓度的2,4-DB和2,6-DM对豌豆和绿豆种子萌发和根冠比的影响

由图1和2可以看出, 低浓度的2,4-DB和2,6-DM对豌豆和绿豆的发芽势、发芽率呈现促进作用, 而高浓度的呈现抑制作用。豌豆种子的发芽

势和发芽率均在2,4-DB浓度为2 mmol·L⁻¹和2,6-DM浓度为3 mmol·L⁻¹时达到峰值, 且2,4-DB的抑制作用总体大于2,6-DM。2,4-DB和2,6-DM处理下绿豆种子的萌发趋势相近, 2,4-DB的促进作用略高于2,6-DM。

2,4-DB处理下豌豆的根冠比呈现先上升后下降的趋势, 在浓度2 mmol·L⁻¹时达到峰值; 而2,6-DM处理下根冠比变化比较平稳。绿豆的根冠比在2,4-DB处理下急剧下降; 在2,6-DM处理下呈现先上升后下降的变化。这说明2,4-DB和2,6-DM对不同植物根系的作用差异较大。

2.2.2 不同浓度的2,4-DB和2,6-DM对豌豆和绿豆根系生长的影响

通过图3和4对比看出, 2,4-DB对根系的抑制作用强于2,6-DM。随着2,4-DB浓度的增加, 豌豆和绿

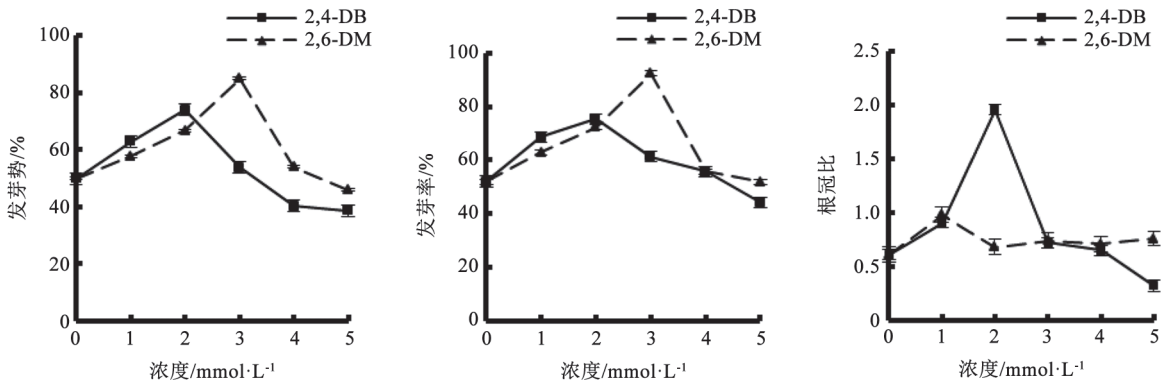


图1 不同浓度2,4-DB和2,6-DM对豌豆种子萌发和根冠比的影响

Fig.1 Effects of different concentrations of 2,4-DB and 2,6-DM on seed germination and root-shoot ratio of pea

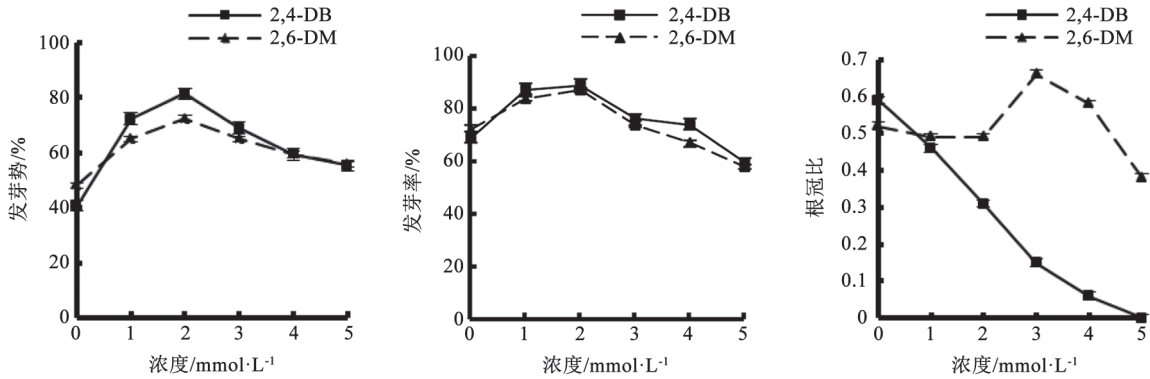


图2 不同浓度2,4-DB和2,6-DM对绿豆种子萌发和根冠比的影响

Fig.2 Effects of different concentrations of 2,4-DB and 2,6-DM on the seed germination and root-shoot ratio of mung bean

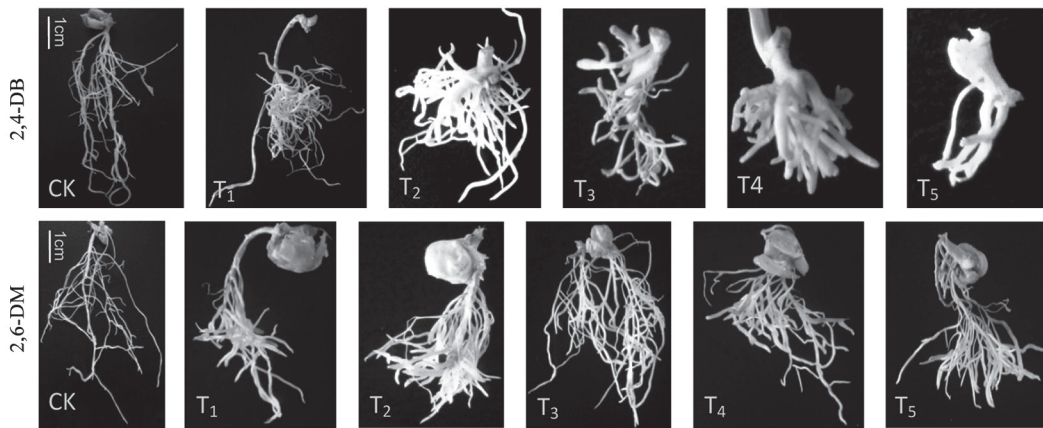


图3 不同浓度2,4-DB和2,6-DM对豌豆根系生长的影响

Fig.3 Effects of different concentrations of 2,4-DB and 2,6-DM on the root growth of pea

CK: 浓度为0 mmol·L⁻¹; T₁~T₅: 浓度为1~5 mol·L⁻¹。下图同此。

豆的根系总体表现为侧根变少、根系变粗,且逐渐呈现褐化现象。2,6-DM对豌豆和绿豆根系的作用

表现为随着浓度的增加,侧根变粗,数量增加,之后又逐渐减少。当2,6-DM浓度到达3 mmol·L⁻¹时,豌

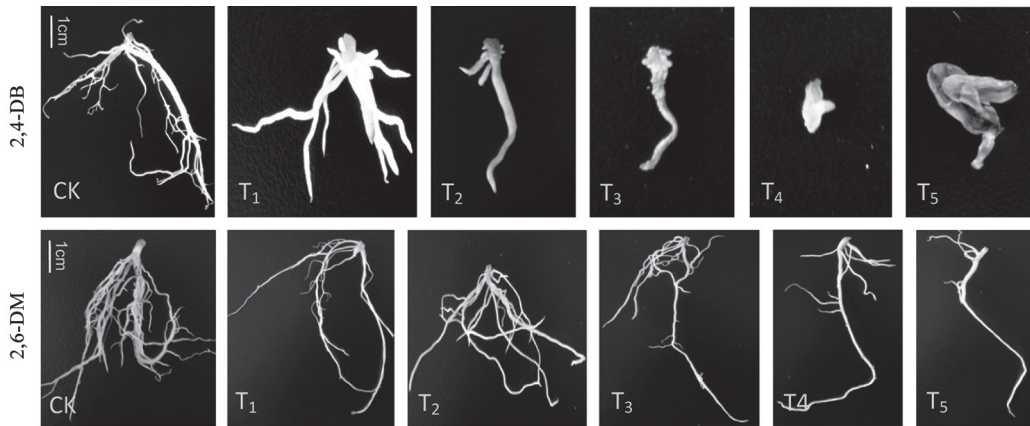


图4 不同浓度的2,4-DB和2,6-DM对绿豆根系生长的影响

Fig.4 The effects of different concentrations of 2,4-DB and 2,6-DM on the root growth of mung bean

豆的侧根数量最多。不同浓度的2,4-DB和2,6-DM对碗豆和绿豆根系的影响差别较大。这两种化感物质对绿豆侧根条数的抑制作用明显强于碗豆。

2.2.3 不同浓度的2,4-DB和2,6-DM对小麦和玉米种子萌发和根冠比的影响

由图5和6可以看出,随着浓度的增大,2,4-DB与2,6-DM对小麦、玉米的发芽势和发芽率表现出抑制作用,2种化感物质之间差异不明显。随着2,4-DB浓度的增大,小麦和玉米的根冠比逐渐增大,结合图7和8来看,2,4-DB不仅抑制小麦和玉米根系的生长,对其地上部的抑制作用还要强于根系。在2,6-DM处理下,小麦和玉米的根冠比都是先增大后减小,在2,6-DM为4 mmol·L⁻¹后小麦根冠比保持不变。

2.2.4 不同浓度的2,4-DB和2,6-DM对小麦和玉米根系生长的影响

从图7可以看出,随着化感物质浓度的增大,

对小麦根系的抑制作用增强,表现为根系变短变粗。当浓度达5 mmol·L⁻¹时,2,4-DB处理的小麦种子不能生根;而同浓度2,6-DM处理下的小麦种子还有少量较短的粗根系。

由图8可以看出,2种化感物质对玉米种子根系的抑制作用也随浓度的增大而增强,其中,当2,4-DB浓度达2 mmol·L⁻¹时种子很难生根;而2,6-DM浓度达5 mmol·L⁻¹时,才基本抑制了种子萌发生根。就2种作物而言,2,4-DB对玉米的抑制作用强于小麦;而2,6-DM在低浓度(1~3 mmol·L⁻¹)时可使玉米发生大量的侧根,而对小麦来说,2 mmol·L⁻¹低浓度处理已基本抑制了侧根的发生。

3 讨论

化感作用是多种化感物质协同作用的结果(高承芳等2009),其含量少,且易挥发或易发生化学反应,因此,在检测方法上有较高的要求。周宝利等

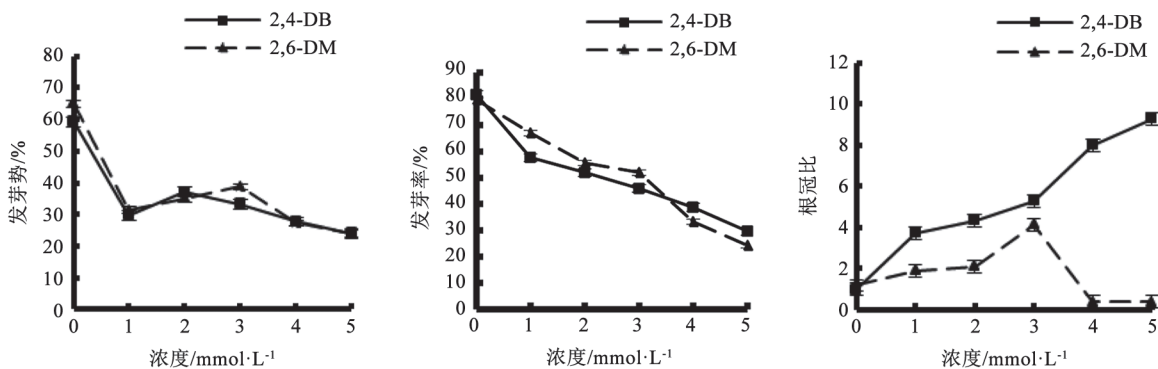


图5 不同浓度2,4-DB和2,6-DM对小麦种子萌发和根冠比的影响

Fig.5 Effects of different concentrations of 2,4-DB and 2,6-DM on seed germination and root-shoot ratio of wheat

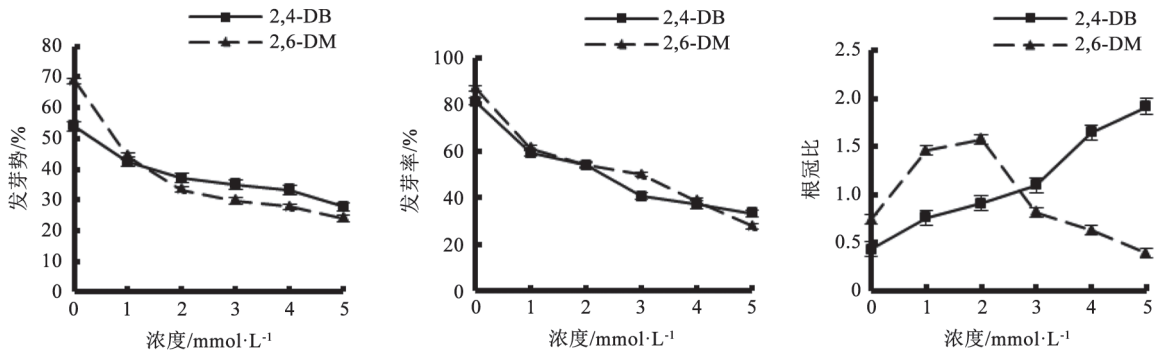


图6 不同浓度2,4-DB和2,6-DM对玉米种子萌发和根冠比的影响

Fig.6 Effects of different concentrations of 2,4-DB and 2,6-DM on seed germination and root-shoot ratio of maize

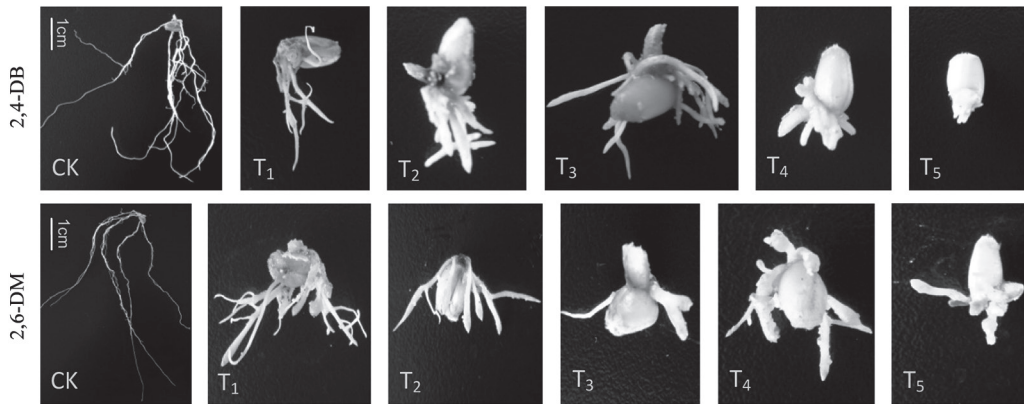


图7 不同浓度的2,4-DB和2,6-DM对小麦根系生长的影响

Fig.7 Effects of different concentrations of 2,4-DB and 2,6-DM on wheat root growth system

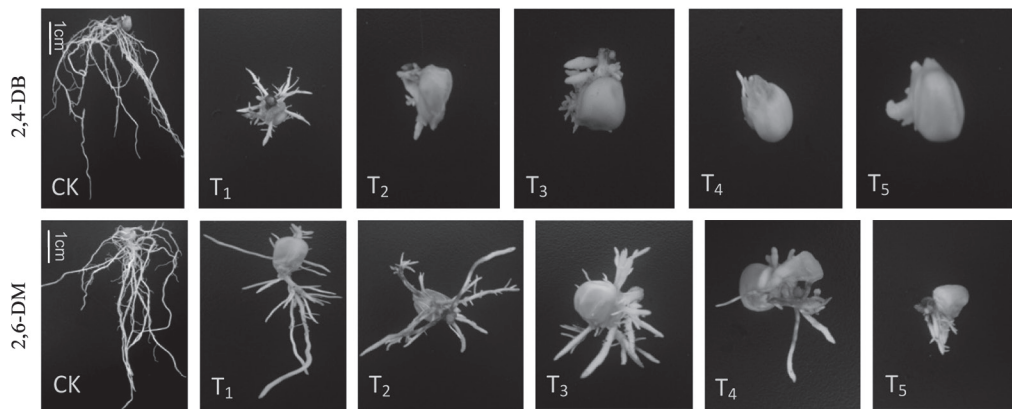


图8 不同浓度的2,4-DB和2,6-DM对玉米根系生长的影响

Fig.8 Effects of different concentrations of 2,4-DB and 2,6-DM on maize root growth system

(2013)在对番茄的研究中发现2,4-DB对番茄幼苗的生长呈现“低促高抑”的作用,而2,6-DM对植物的化感作用仍鲜见报道(周艳丽和程智慧2012)。

本实验中,2种化感物质对4种作物种子萌发

的生理效应表现不仅相同,2,4-DB和2,6-DM在浓度为0~2 mmol·L⁻¹时促进豌豆和绿豆种子萌发,而3~5 mmol·L⁻¹则呈抑制作用,这与柴强和黄高宝(2003)化感物质对植物的作用表现为“低促高抑”

的结论一致。而对于小麦和玉米种子的萌发,则随2种化感物质浓度的增大,抑制作用逐渐增强。对于豆科作物豌豆和绿豆,2,4-DB对绿豆萌发的根系抑制作用较强;而对于禾本科作物玉米和小麦,则2,4-DB对小麦萌发的根系抑制作用最强,这表明小麦和绿豆的根系对化感物质2,4-DB较2,6-DM和其他二种作物敏感,因而在农业生产中,对连作限制栽培作物的化感物质,应进行分类系统的鉴定和分析,以确定限制作物生长的主效因子,分析限制生长的内在机理,从而针对性地提出解决限制栽培的可能措施。

解决豌豆连作障碍的问题,还需要大量的实验来研究抑制豌豆有害根系分泌物质的产生或分解豌豆有害根系分泌物的方法。本实验通过组培和土培的方式研究豌豆的化感物质,光照、温度和水分保持一致,避免了自然条件下各种因素的干扰,能较好反映豌豆的化感效应。在自然条件下,化感作用极为复杂,除了要受到温度、水分、养分和太阳辐射等环境因子错综复杂的影响外(Urube-Carvajal等2008),植株间竞争效应也会对化感作用表现出重要影响(Bais等2003)。因此化感效应的研究应将大田调控与实验的离体微观调控相结合,以进一步阐释农业生产中化感效应的真实机理。

植物次生代谢产生的根系分泌物主要用来适应不良环境,且根系分泌物中包含很多化感物质(李杨瑞等1993;吴辉和郑师章1992;刘素萍和扬之为1998),而这些物质间往往能够产生累加效应(Einhellig 1996;柴强和黄高宝2004)。目前对化感作用的有害性研究较多,而对其有益性的研究较少(鹏少麟和邵华2001)。因此,急需加强对植物化感作用有益性的研究,以进一步阐明通过植物间合理的轮作倒茬与品种配制,降低植物重茬自毒作用的内在机理。

参考文献(References)

- Anaya LA (1999). Allelopathy as a tool in the management of biotic resources in agroecosystems. *Crit Rev Plant Sci*, 18 (6): 697-739
- Bais HP, Vepachedu R, Gilroy S, et al (2003). Allelopathy and exotic plant invasion: from molecules and genes to species interactions. *Science*, 301 (5638): 1377-1380
- Baziramakenga R, Leroux GD, Simard RR, et al (2011). Allelopathic effects of phenolic acids on nucleic acid and protein levels in soybean seedlings. *Can J Bot*, 75 (3): 445-450
- Chai Q, Huang GB (2003). Review on action mechanism affecting factors and applied potential of allelopathy. *Aeta Bot Boerali-Occident Sin*, 23 (3): 509-515 (in Chinese with English abstract) [柴强, 黄高宝(2003). 植物化感作用的机理、影响因素及应用潜力. *西北植物学报*, 23 (3): 509-515]
- Chai Q, Huang GB (2004). Allelopathic effects of root exudates in different cropping patterns. *J Gansu Agri Univ*, 4 (2): 163-167 (in Chinese with English abstract) [柴强, 黄高宝(2004). 根系分泌物在不同播种模式中的化感效应研究. *甘肃农业大学学报*, 4 (2): 163-167]
- Chen YL, Shang ZL, Bai XR (1999). The effect of plant growth inhibitor. *Bull Biol*, 1: 8-9 (in Chinese) [陈玉玲, 尚忠林, 白晓茹(1999). 植物生长抑制物质的作用. *生物学通报*, 1: 8-9]
- Einhellig FA(1996). Interactions involving allelopathy in cropping systems. *Agron. J*, 88 (6): 886-893
- Gao CF, Weng BQ, Wang YX, et al (2009). Advances in research on effect of plant allelopathy on forages. *Chin J Grassland*, 31 (3): 92-99 (in Chinese with English abstract) [高承芳, 翁伯琦, 王义祥(2009). 植物化感作用对牧草影响的研究进展. *中国草地学报*, 31 (3): 92-99]
- Hierro JL, Callaway RW (2003). Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant Soil*, 256 (1): 29-39
- Hu CJ, Wang SJ (1996). Study on sickness by soybean continuous cropping I. Effect of mycotoxin produced by *Penicillium purpurogenum*. *Chin J Appl Ecol*, 7 (4): 396-400 (in Chinese with English abstract) [胡江春, 王书锦(1996). 大豆连作障碍研究I. 大豆连作土壤紫青霉菌的毒素作用研究. *应用生态学报*, 7 (4): 396-400]
- Inderjit (2001). Soils: environmental effects on allelochemical activity. *Agron J*, 93 (1): 79-84
- Li YR (1993). Plant biochemical interaction phenomenon. *Soil*, (5): 248-251 (in Chinese) [李扬瑞(1993). 植物的生化互作现象. *土壤*, (5): 248-251]
- Liu SP, Yang ZW (1998). Plant root exudates. *Eco-Agri Res*, 6 (2): 34-36 (in Chinese with English abstract) [刘素萍, 扬之为(1998). 根系分泌物. *中国生态农业学报*, 6 (2): 34-36]
- Lou YQ, Zhao XY (2012). Review on ecological effects of plant root exudates and their influencing factors. *J Appl Ecol*, 23 (12): 3496-3504 (in Chinese with English abstract) [罗永清, 赵学勇(2012). 植物根系分泌物生态效应及其影响因素研究综述. *应用生态学报*, 23 (12): 3496-3504]
- Murray AH, Lason GR, Stewart C (1996). Effect of simple phenolic compounds of heather (*Calluna vulgaris*) on rumen microbial activity *in vitro*. *J Chem Ecol*, 22 (8):

- 1493–504
- Peng SL, Shao H (2001). Research significance and foreground of allelopathy. *Chin J Appl Ecol*, 12 (5): 780–786 (in Chinese with English abstract) [鹏少麟, 邵华(2001). 化感作用的研究意义及发展前景. *应用生态学报*, 12 (5): 780–786]
- Sun HY, Wang Y (2012). Effects of allelochemicals secreted by pepper roots on antioxidant metabolism in lettuce seedlings. *Plant Physiol J*, 48 (9): 887–894 (in Chinese with English abstract) [孙海燕, 王炎(2012). 辣椒根系分泌的潜力化感物质对生菜幼苗抗氧化代谢的影响. *植物生理学报*, 48 (9): 887–894]
- Uribe-Carvajal S, King-Diaz GC, Henssen BL (2008). Allelochemicals targeting the phospholipid bilayer and the proteins of biological membranes. *Allelopathy J*, 21 (1): 1–24
- Wu FZ, Wang W (1999). Study on soil microbial flora of greenhouse tomato. *North Hortic*, 3: 1–2 (in Chinese) [吴凤芝, 王伟(1999). 大棚番茄土壤微生物区系研究. *北方园艺*, 3: 1–2]
- Wu H, Zheng SZ (1992). Root exudates and their ecological effects. *J Ecol*, 11 (6): 42–47 (in Chinese with English abstract) [吴辉, 郑师章(1992). 根分泌物及其生态效应. *生态学杂志*, 11 (6): 42–47]
- Xu YL, Wang GH, Han XZ (1995). Study on the relationship between continuous cropping soybean and rotation soybean of soil microbial ecological distribution and soybean root diseases and insect pests. *Soil Crop*, 4: 311–314 (in Chinese) [许艳丽, 王光华, 韩晓增(1995). 连、轮作大豆土壤微生物生态分布特征与大豆根部病虫害关系的研究. *土壤与作物*, 4: 311–314]
- Yu JQ, Yoshihisa M (1999). Study on Autotoxicity of root exudates of pea. *Acta Horti Sin*, 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]
- Zhou BL, Li N, Liu S-S, et al (2013). Effects of 2,4-di-tert-butylphenol on tomato leaf mould and seedling growth. *Chin J Ecol*, 32 (5): 1203–1207 (in Chinese with English abstract) [周宝利, 李娜, 刘双双等(2013). 2,4-二叔丁基苯酚对番茄叶霉病及幼苗生长的影响. *生态学杂志*, 32 (5): 1203–1207]
- Zhou YL, Chen ZH (2012). Comparative analysis of allelopathy and allelochemicals of the root exudates in garlic. *J Northwest A&F Univer (Nat Sci Ed)*, 40 (02): 116–120 (in Chinese with English abstract). [周艳丽, 程智慧(2012). 大蒜根系分泌物化感作用及化感物质的比较. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 40 (02): 116–120]
- Zong XX, Rebecca F, Robert RR, et al (2009). Identification and analysis of genetic diversity structure within *Pisum* genus based on microsatellite markers. *Sci Agri Sin*, 42 (1): 36–46 (in Chinese with English abstract) [宗绪晓, Rebecca F, Robert RR等(2009). 豌豆属(*Pisum*) SSR标记遗传多样性结构鉴别与分析. *中国农业科学*, 42 (1): 36–46]

Isolation, identification and biological effects of allelochemicals from the root exudates of pea

ZHANG Yun^{1,#}, MA Shao-Ying^{1,#}, LU Xu¹, CHAI Qiang², ZHANG Xu-Cheng³, LI Sheng^{1,2,*}

¹College of Life Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China,

Gansu Provincial Key Lab of Aridland Crop Science, Lanzhou 730070, China,

³Institute of Dryland Agriculture, Gansu Academy of Agricultural Science, Lanzhou 730070, China

Abstract: The GC-MS analysis method was used to identify the root exudates in two generations of pea tissue culture seedling and soil culture seedling. The experimental results showed that the root exudates of pea which could be extracted by dichloromethane had alcohols, lipids, aldehydes, benzene, hydrocarbons and so on. The seeds of pea, mung bean, wheat and corn were treated by different concentrations of 2,4-di-tert-butylphenol (2,4-DB) and 2,6-di-tert-butyl-p-cresol (2,6-DM) to study their allelopathic effects on germination and seedling growth. The results showed that the treatments of 0–2 mmol L⁻¹ 2,4-DB and 2,6-DM promoted the germination of pea and mung bean seeds, while the treatments of 3–5 mmol L⁻¹ 2,4-DB and 2,6-DM inhibited them. With the increase of concentrations, the inhibitory effect of two allelochemicals on the germination of wheat and corn seeds gradually increased. For leguminous crops pea and mung bean, 2,4-DB had a strong inhibition on the root of mung bean during germination, while for graminaceous crop corn and wheat, the 2,4-DB had the strongest inhibitory effect on the root during the germination of wheat.

Key words: GC-MS; tissue culture seedling; pea; root exudates; allelopathic effects

Received 2018-03-06

This work was supported by National Green Fertilizer Industry Technical System.

#Co-first authors.

*Corresponding author (lish@gsau.edu.cn).