

孙 萌,吴立洁,刘海娇,等. 酚酸对三七、小麦的化感作用及其差异[J]. 江苏农业科学,2016,44(4):233-236.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.04.065

酚酸对三七、小麦的化感作用及其差异

孙 萌, 吴立洁, 刘海娇, 程新宇, 张子龙
(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

摘要:对不同浓度单体酚酸及混合酚酸对三七及小麦的化感作用进行生物测定。结果表明:酚酸对小麦、三七的化感作用表现为在种子萌发阶段大于幼苗生长阶段;酚酸对三七的化感作用表现为低浓度促进、高浓度抑制的浓度效应;酚酸类物质对三七及小麦的化感作用具有一定协同作用;2~3 年生三七根际土壤中酚酸抑制三七幼苗生长,但可促进小麦幼苗生长。酚酸类物质的化感作用应为三七连作障碍的原因之一,三七与小麦轮作具有合理性。

关键词:酚酸;三七;小麦;化感作用;轮作
中图分类号: S567.23⁺6.01;S344.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)04-0233-04

三七 [*Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen] 为五加科人参属植物,是我国特有的名贵中药材^[1],对血液系统、心脑血管系统、中枢神经系统、免疫系统等具有良好的药理作用^[2]。三七主要分布在云南省文山州及其周边区域。三七种植存在严重的连作障碍问题,轮作是缓减三七连作障碍的主要措施,主要农作物小麦则是重要的轮作植物之一。研究表明,化感自毒作用是引起植物连作障碍的重要原因之一,而酚酸类物质则是常见的重要化感自毒物质^[3]。目前已从三七连作土壤中分离鉴定出香草酸、对羟基苯甲酸、苯甲酸、丁香酸、阿魏酸、对香豆酸等 6 种酚酸类物质^[4],但这些酚酸类物质对三七种子萌发及幼苗生长影响的研究尚未见报道。虽然发现阿魏酸、香草酸及其混合物对小麦幼苗生长有较弱的抑制作用^[5],但三七连作土壤中其他酚酸类物质对小麦的化感作用,以及酚酸类物质对三七、小麦化感作用的差异性值得探讨。本研究利用生物测定的方法,研究三七连作土壤中检测到的 6 种酚酸单体及其模拟混合配比对三七、小麦的化感作用,并比较三七与小麦的敏感性差异,以期从化感自毒作用角度揭示三七连作障碍的形成机理,并为建立三七-小麦合理轮作体系提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

对香豆酸、阿魏酸、对羟基苯甲酸、丁香酸、香草酸均购自 Sigma 公司,苯甲酸购自上海源叶生物科技有限公司。小麦种子(中麦 8 号)购自中国农业科学院。三七种子由文山三七研究院栽培研究所提供,三七种子采摘后湿沙(含水量 25% 左右)埋藏,5℃ 避光保存备用。

收稿日期:2015-03-24
基金项目:国家自然科学基金(编号:81102751)。
作者简介:孙 萌(1991—),男,山西运城人,硕士研究生,主要从事中药资源生态研究。E-mail:meng.119@163.com。
通信作者:张子龙,博士,副研究员,主要从事中药资源与生态、中药材规范化生产与质量控制研究。Tel:(010)84738334;E-mail:zhangzilong76@163.com。

1.2 试验方法

1.2.1 酚酸浓度设置

1.2.1.1 单体酚酸 将香草酸、对羟基苯甲酸、苯甲酸、丁香酸、阿魏酸、对香豆酸等 6 种酚酸分别配制成 1、10、100、500 mg/L 等 4 种浓度。

1.2.1.2 混合酚酸 根据三七根际土壤中各种酚酸的实际含量^[4]:香草酸 9.79 μg/g,对羟基苯甲酸 2.78 μg/g,苯甲酸 5.27 μg/g,丁香酸 1.26 μg/g,阿魏酸 2.33 μg/g,对香豆酸 24.01 μg/g,设置混合酚酸。按照香草酸:对羟基苯甲酸:苯甲酸:丁香酸:阿魏酸:对香豆酸=10:3:6:2:3:24 的比例进行 6 种酚酸的混合,分别配制成 A、B、C、D、E 等 5 种浓度(表 1),分别约为土壤中酚酸含量的 0.5、1、5、10、20 倍。

表 1 混合酚酸浓度设置

处理	浓度(mg/L)					
	香草酸	对羟基苯甲酸	苯甲酸	丁香酸	阿魏酸	对香豆酸
CK	0	0	0	0	0	0
A	5	1.5	3	1	1.5	12
B	10	3	6	2	3	24
C	50	15	30	10	15	120
D	100	30	60	20	30	240
E	200	60	120	40	60	480

1.2.2 种子发芽试验 先用自来水将三七、小麦种子洗净,然后用 1% 次氯酸钠溶液表面消毒 10 min,再用去离子水洗净后备用。取灭菌后的培养皿(直径 90 mm),铺 1 层滤纸,再均匀铺 20 g 过 14 目筛且经灭菌的石英砂,分别加入各浓度处理酚酸液 10 mL。取三七、小麦种子各 30 粒,均匀摆放在培养皿中,置于自然光、25℃ 恒温环境中培养,每个处理重复 3 次,以蒸馏水作对照。从播种后次日开始,每天统计发芽率,并及时补充等量蒸馏水,以保持石英砂湿润。7 d 后测定小麦苗高、根长等生长指标;35 d 后测定三七苗高、根长等生长指标。

1.3 指标测定及数据处理

发芽试验结束后,选定培养皿中生长整齐均一的幼苗 10 株,采用常规方法测量其苗高、根长、分根数。

发芽率 = (发芽种子总数/供试种子总数) × 100%。
用 Williamson 等提出的敏感指数 (RI)^[6] 作为指标来衡量化感强度。

$$RI = \begin{cases} 1 - C/T (T \geq C) \\ T/C - 1 (T < C) \end{cases}^{\circ}$$

式中: C 为对照值; T 为处理值。当 RI > 0 时表示促进作用, RI < 0 时为抑制作用。RI 绝对值代表化感作用强度的大小。

为了比较不同物种、发育阶段和各测定指标间的化感作用, 以平均化感指数进行评价^[7-8]。

$$MSI_R = \frac{\sum_{j=1}^n a_j}{n}^{\circ}$$

式中: R 为平均敏感指数 (M) 的级别或层次; a 为数据项; n 为该级别或层次数据 (RI) 的总数。当 MSI > 0 时为促进作用, 当 MSI < 0 时为抑制作用, 其绝对值大小与作用强度 (敏感性) 一致。

试验数据在 DPS 7.05 软件平台上处理, 先采用 ANOVA 法分析, 再采用 LSD 法进行显著性检测。

2 结果与分析

2.1 单体酚酸的化感作用

2.1.1 单体酚酸对三七的化感作用 不同浓度单体酚酸对三七发芽率、苗高均有一定抑制作用, 总体表现为浓度越高抑制作用越强。对三七根长而言, 香草酸、对香豆酸具有一定的促进作用, 对羟基苯甲酸、阿魏酸则表现为抑制作用, 苯甲酸表现为低浓度促进、高浓度抑制, 丁香酸则与之相反; 对分根数而言, 香草酸、丁香酸具有促进作用, 且香草酸在低浓度时具有显著促进作用, 对羟基苯甲酸、苯甲酸、阿魏酸、对香豆酸大都表现为抑制作用。总体来看, 各单体酚酸主要抑制三七种子萌发以及地上部分生长 (表 2)。

2.1.2 单体酚酸对小麦的化感作用 由表 3 可见, 不同浓度单体酚酸溶液对小麦发芽率大都表现出一定抑制作用, 但不显著。对幼苗根长和苗高而言, 单体酚酸基本表现为低浓度促进、高浓度抑制; 对于分根数而言, 香草酸、丁香酸、对香豆酸基本没有影响, 苯甲酸、阿魏酸均表现为抑制作用, 且浓度为 1 mg/L 时达显著水平, 对羟基苯甲酸则表现为浓度越高, 抑制作用越强, 且浓度为 500 mg/L 时达显著水平。

2.2 混合酚酸的化感作用

2.2.1 混合酚酸对三七的化感作用 由表 4 可见, 不同浓度混合酚酸均可降低三七种子的发芽率, 其中 B 处理下显著抑制三七种子发芽率, E 处理下极显著抑制三七种子发芽率。由图 1 可见, 随着混合酚酸浓度升高, 其对三七生长指标的影响总体呈低浓度促进、高浓度抑制的趋势。混合酚酸对三七根长、分根数的影响未达显著水平; 而对苗高的影响则达显著或极显著水平。C、D 处理下混合酚酸显著抑制了三七苗高, B、E 处理下混合酚酸对苗高的抑制作用达极显著水平。可见 B 处理下混合酚酸已经开始抑制三七幼苗生长, 并随着酚酸浓度增大持续抑制其生长。

2.2.2 混和酚酸对小麦的化感作用 由表 4、图 2 可见, 混合酚酸对小麦发芽率、分根数的影响不显著; 而对小麦苗高、根长的影响同样表现出低浓度促进、高浓度抑制的趋势。A、

表 2 单体酚酸对三七的化感作用强度 (RI)

酚酸种类	酚酸浓度 (mg/L)	化感作用强度 (RI)			
		发芽率	根长	苗高	分根数
香草酸	1	-0.02	0.07	-0.02	0.19 *
	10	-0.04	0.24	-0.07	0.19 *
	100	-0.07 *	0.15	-0.10	0.08
	500	0.00	0.06	-0.01	0.05
	1	-0.03	-0.02	0.07	-0.07
对羟基苯甲酸	10	-0.01	-0.11	-0.15	-0.06
	100	-0.06	-0.05	-0.13	-0.05
	500	-0.01	0.10	-0.20 *	-0.04
	1	-0.02	0.31	-0.03	0.01
	10	-0.04	0.16	-0.05	-0.09
苯甲酸	100	0.00	0.24	-0.05	0.21 *
	500	-0.11 **	-0.09 **	-0.33 **	-0.11
丁香酸	1	0.01	-0.06	-0.07	0.04
	10	-0.05	-0.01	-0.11	0.13
	100	-0.06	0.16	-0.08	0.05
	500	-0.06	0.19	0.02	0.13
阿魏酸	1	-0.11	-0.22	0.04	-0.05
	10	-0.06	-0.11	-0.01	0.07
	100	-0.06	-0.25	-0.15	-0.03
	500	-0.04	-0.13	-0.31 *	-0.06
对香豆酸	1	-0.02	0.21	-0.02	-0.06
	10	0.00	0.20	-0.07	0.07
	100	-0.05	0.10	-0.01	-0.02
	500	0.01	0.08	-0.13	-0.07

注: “*” “**” 分别表示在 0.05、0.01 水平上差异显著。下同。

表 3 单体酚酸对小麦的化感作用强度

酚酸种类	酚酸浓度 (mg/L)	化感作用强度 (RI)			
		发芽率	根长	苗高	分根数
香草酸	1	-0.04	0.11	0.02	-0.03
	10	-0.02	0.12	0.07	0.00
	100	-0.02	0.07	0.04	0.02
	500	-0.02	-0.17	-0.07	0.04
	1	-0.03	0.23 **	0.09 *	-0.01
对羟基苯甲酸	10	-0.03	0.23 **	0.09 *	-0.03
	100	0.00	0.23 **	0.07	-0.04
	500	0.00	-0.12	-0.07	-0.11 *
	1	-0.05	0.21 *	0.08 *	-0.14 *
	10	-0.02	0.29 **	0.15 **	-0.15 **
苯甲酸	100	-0.02	0.06	0.07 *	-0.07
	500	-0.12	-0.78 **	-0.46 **	-0.05
丁香酸	1	-0.02	0.19	0.17 *	-0.04
	10	-0.04	0.22	0.15 *	0.00
	100	0.00	0.19	0.11	0.03
	500	-0.07	0.02	-0.07	0.00
阿魏酸	1	0.00	-0.02	-0.03	-0.13 *
	10	-0.02	0.14	0.05	-0.03
	100	0.00	0.16	0.02	-0.05
	500	-0.05	-0.15	-0.18 **	-0.04
对香豆酸	1	0.00	0.15	0.17 **	0.00
	10	-0.02	0.26 **	0.18 **	0.00
	100	0.00	0.26 **	0.18 **	0.02
	500	-0.02	-0.18	0.00	-0.04

表 4 混合酚酸对三七、小麦种子发芽率的影响

处理	发芽率 (%)	
	三七	小麦
CK	95.56	100.00
A	88.89	98.33
B	85.56 *	100.00
C	90.00	98.33
D	92.22	98.33
E	82.22 **	98.33

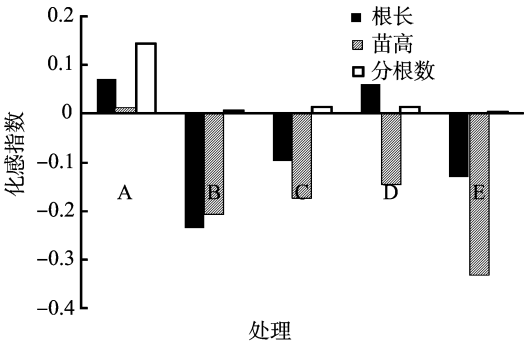


图1 混合酚酸对三七幼苗生长的影响

B、C、D 处理下混合酚酸对小麦苗高、根长均有一定促进作用,其中对小麦根长的促进达到显著水平(A 处理)或极显著水平(B、C 处理);只有 E 处理下混合酚酸才极显著抑制小麦苗高、根长。由此可知,三七根际土壤中的实际酚酸浓度可以促进小麦生长。

2.3 酚酸对小麦、三七的化感作用比较

由表 5 可以看出,一级敏感指数、二级敏感指数、三级敏

感指数大部分为负值,表明单体酚酸对小麦、三七普遍存在抑制作用。就一级敏感指数 M_1 而言,所有酚酸都抑制了小麦、三七发芽率,基本抑制了苗高、分根数,而对根长则大部分表现为促进作用。就二级敏感指数 M_2 而言,酚酸对小麦、三七均表现为种子萌发阶段抑制,幼苗生长阶段促进(苯甲酸、阿魏酸除外)。就三级敏感指数 M_3 而言,在受试浓度内,小麦对于苯甲酸的化感抑制作用更敏感,敏感程度为苯甲酸 > 对香豆酸 > 丁香酸 > 对羟基苯甲酸 > 阿魏酸 > 香草酸,其中苯甲酸、阿魏酸对小麦生长表现为抑制作用,其他酚酸表现为促进作用。三七对阿魏酸、对羟基苯甲酸的化感抑制作用比较敏感,敏感程度为阿魏酸 > 对羟基苯甲酸 > 香草酸 > 丁香酸 > 对香豆酸 > 苯甲酸,其中阿魏酸、对羟基苯甲酸对三七表现为抑制作用,其他酚酸表现为促进作用。这说明不同物种对于同一种化感物质的敏感程度不同,而阿魏酸对于小麦、三七均表现为抑制作用。

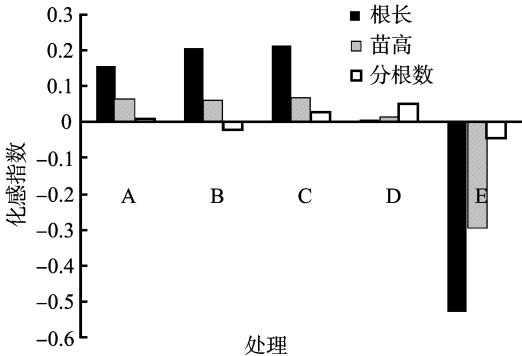


图2 混合酚酸对小麦幼苗生长的影响

表 5 小麦、三七对单体酚酸化感作用敏感指数

酚酸种类	受体	三级敏感指数 (M_3)	二级敏感指数 (M_2)		一级敏感指数 (M_1)			
			种子萌发阶段	幼苗生长阶段	发芽率	根长	苗高	分根数
香草酸	小麦	0.008	-0.025	0.018	-0.025	0.033	0.015	0.008
	三七	0.044	-0.033	0.069	-0.033	0.130	-0.050	0.128
对羟基苯甲酸	小麦	0.031	-0.015	0.047	-0.015	0.143	0.045	-0.048
	三七	-0.052	-0.030	-0.059	-0.030	-0.020	-0.103	-0.055
苯甲酸	小麦	-0.063	-0.053	-0.066	-0.053	-0.055	-0.040	-0.103
	三七	0.001	-0.043	0.015	-0.043	0.155	-0.115	0.005
丁香酸	小麦	0.053	-0.033	0.081	-0.033	0.155	0.090	-0.003
	三七	0.015	-0.040	0.033	-0.040	0.070	-0.060	0.088
阿魏酸	小麦	-0.021	-0.018	-0.022	-0.018	0.033	-0.035	-0.063
	三七	-0.093	-0.068	-0.101	-0.068	-0.178	-0.108	-0.018
对香豆酸	小麦	0.060	-0.010	0.083	-0.010	0.123	0.133	-0.005
	三七	0.014	-0.015	0.023	-0.015	0.148	-0.058	-0.020

注: M_1 中,样本数为 12,表示每个品种有 1 个处理,每处理有 4 种浓度,每浓度 3 次重复; M_2 中,种子萌发阶段(包括发芽率)样本数为 12,幼苗生长阶段(包括根长、苗高、分根数指标)样本数为 $12 \times 3 = 36$; M_3 中,品种水平的综合化感作用(包括种子萌发、幼苗生长 2 个阶段)样本数为 $12 + 36 = 48$ 。

由表 6 可以看出,一级敏感指数、二级敏感指数、三级敏感指数大部分为负值,说明混合酚酸对于小麦、三七均有一定化感抑制作用。小麦各指标对于混合酚酸化感作用的敏感性(一级敏感指数 M_1)依次为苗高 > 发芽率 > 根长 > 分根数。三七对于混合酚酸化感作用的敏感性(一级敏感指数 M_1)依次为苗高 > 发芽率 > 根长 > 分根数。可以看出,混合酚酸对

于三七、小麦的化感作用表现出一致的作用规律,即混合酚酸对小麦、三七苗高的抑制作用较强,其次是发芽率、根长,而对分根数的化感作用最弱。从供试小麦、三七种子萌发阶段和幼苗生长阶段对于混合酚酸化感作用敏感性(二级敏感指数 M_2)来看,在种子萌发阶段更容易受到混合酚酸的化感作用影响,且受到的抑制程度较大。从物种(三级敏感指数 M_3)

表 6 小麦、三七对混合酚酸化感作用敏感指数

受体	三级敏感指数 (M ₃)	二级敏感指数(M ₂)		一级敏感指数(M ₁)			
		种子萌发阶段	幼苗生长阶段	发芽率	根长	苗高	分根数
小麦	-0.006	-0.016	-0.002	-0.016	0.012	-0.024	0.006
三七	-0.072	-0.084	-0.067	-0.084	-0.068	-0.166	0.032

注:M₁ 中,样本数为 15,表示每个品种有 1 个处理,每处理有 5 种浓度,每浓度有 3 次重复;M₂ 中,种子萌发阶段(包括发芽率)样本数为 15,幼苗生长阶段(包括根长、苗高、分根数指标)样本数为 15×3=45;M₃ 中,品种水平的综合化感作用(包括种子萌发、幼苗生长 2 个阶段)样本数为 15+45=60。

来看,三七对于混合酚酸化感作用更为敏感,且表现为抑制作用。

3 结论与讨论

3.1 酚酸类物质与三七连作障碍的关系

研究表明,三七存在明显的自毒作用^[9-11]。本研究分析了三七连作土壤中 6 种酚酸对三七种子萌发及幼苗生长的影响,发现酚酸对三七的化感作用有如下特点:(1)单体酚酸、混合酚酸对三七萌发与生长都有一定的抑制作用,且表现为种子萌发阶段大于幼苗生长阶段。有研究发现,酚酸类物质可以抑制种子萌发所需的关键酶类^[12],这可能是导致酚酸对种子萌发的影响大于幼苗的原因。(2)不同酚酸类物质存在一定的协同作用,而这种协同作用可能和酚酸种类及其组成有紧密关系。(3)高浓度酚酸对三七根长、苗高有显著抑制作用。有研究发现,酚酸类物质可以增加细胞膜通透性,诱导脂质过氧化,导致细胞内溶物外流^[13],还可以抑制叶绿素的正常积累而造成短缺^[14],最终抑制植物生长,这可能是导致本研究中酚酸抑制苗高、根长的原因。(4)随着酚酸浓度变化,其对三七的化感作用表现出一定变化趋势,这与孙玉琴等有关阿魏酸对三七化感作用的研究结果^[15]基本一致。由此推测,三七根际土壤中酚酸类物质对三七的化感作用可能是造成三七连作障碍的重要原因。

3.2 小麦与三七轮作的合理性

轮作是目前缓解三七连作障碍最为直接有效的措施,本研究以当地常见农作物小麦为受体,探讨了酚酸及其混合配比的化感作用。结果发现,三七连作土壤中的酚酸类物质对三七种子萌发有显著抑制作用,且极显著抑制三七苗高;而对小麦幼苗生长则表现出很强的促进作用,极显著促进了小麦根长。这表明小麦与三七轮作具有一定的合理性,为生产上采用小麦与三七进行轮作提供了理论依据。

研究发现,供体植物对受体植物不同品种的化感作用不同,张子龙等研究三七水浸液对不同玉米品种的化感作用发现,常规品种白糯 1 号对三七化感作用敏感性更强,杂交种云瑞 1 号、鲁三 3 号的敏感性较弱,更适合与三七轮作^[16]。小麦品种繁多,文山州是云南省小麦良种繁育基地之一^[17],针对此情况,笔者认为须要进一步研究不同小麦品种对混合酚酸的敏感性差异,以期找到更适宜与三七轮作的小麦品种,更加有效地缓解三七连作障碍。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部 [M]. 2015 版. 北京:中国医药科技出版社,2015.

[2] 杨志刚,陈阿坚,俞颂东. 三七药理研究新进展[J]. 上海中医药杂志,2005,39(4):59-60.

[3] 顾元,常志州,于建光,等. 外源酚酸对水稻种子和幼苗的化感效应[J]. 江苏农业学报,2013,29(2):240-246.

[4] 吴立洁,刘杰,王文伟,等. 三七根际土壤中酚酸类物质的鉴定及含量测定[J]. 世界科学技术:中医药现代化,2014(4):825-829.

[5] 邵庆勤,李孟良,毕亚玲. 酚酸类物质对小麦幼苗生长特性的影响[J]. 安徽科技学院学报,2009,23(1):23-26.

[6] Williamson G B, Richardson D. Bioassays for allelopathy: Measuring treatment responses with Independent controls [J]. Journal of Chemical Ecology, 1988, 14(1): 181-187.

[7] 马瑞君,惠继瑞,朱慧,等. 当归营养期的化感作用[J]. 中国生态农业学报,2008,16(6):1483-1488.

[8] 马瑞君,王明理,赵坤,等. 高寒草场优势杂草黄帚橐吾水浸液对牧草的化感作用[J]. 应用生态学报,2006,17(5):845-850.

[9] 游佩进,王文全,张媛,等. 三七根区土壤提取物对三七幼苗的化感作用[J]. 西南农业学报,2009,22(2):308-310.

[10] 游佩进,王文全,张媛,等. 三七连作土壤对三七、莪苳的化感作用[J]. 西北农业学报,2009,18(1):139-142.

[11] 张子龙,王文全,杨建忠,等. 三七连作土壤对其种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 土壤,2010,42(6):1009-1014.

[12] 吴凤芝,赵凤艳,马凤鸣. 酚酸物质及其化感作用[J]. 东北农业大学学报,2001,32(4):402-407.

[13] Li Z H, Wang Q, Ruan X, et al. Phenolics and plant allelopathy [J]. Molecules, 2010, 15(12): 8933-8952.

[14] Yang C M, Chang I F, Lin S J, et al. Effects of three allelopathic phenolics on chlorophyll accumulation of rice (*Oryza sativa*) seedlings: II. Stimulation of consumption-orientation [J]. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 2004, 45(2): 119-125.

[15] 孙玉琴,陈中坚,韦美丽,等. 阿魏酸对三七化感作用的初步研究[J]. 特产研究,2008,30(2):39-41.

[16] 张子龙,侯俊玲,王文全,等. 三七水浸液对不同玉米品种的化感作用[J]. 中国中药杂志,2014,39(4):594-600.

[17] 农丕忠. 小麦新品种“文麦 9 号”的选育与应用[J]. 云南农业科技,2010(6):53-54.