

辣椒根系分泌物的化感作用及其化感物质分析

耿广东^{1,2}, 张素勤^{1,2}, 程智慧^{2*}

(¹贵州大学农学院, 贵阳 550025; ²西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100)

摘要: 利用生物测定和 GC-MS 分析的方法, 研究了辣椒根系分泌物各组分的化感作用及其优势组分的化感物质。结果表明: 辣椒根系分泌物各组分对莴苣的化感作用不同, 以乙醚洗脱组分的化感作用最强; 对乙醚洗脱组分进行再分离, 最后得出 80%乙醚 + 20%乙酸乙酯洗脱组分的化感作用最强; 对 80%乙醚 + 20%乙酸乙酯洗脱组分进行 GC-MS 分析鉴定, 确定辣椒根系分泌的主要化感物质为邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸 - 丁基 - 环己烷基酯、邻苯二甲酸 - 丁基 - 异丁酯、邻苯二甲酸二叔丁酯、二苯胺、4, 4'-叔丁基二苯酚、苯萘胺、邻苯二甲酸, 其中, 邻苯二甲酸二丁酯的含量最高。

关键词: 辣椒; 根系分泌物; 化感作用; 化感物质; 莴苣

中图分类号: S 641.3 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2009) 06-0873-06

Allelopathy and Allelochemicals of Root Exudates in Hot Pepper

GENG Guang-dong^{1,2}, ZHANG Su-qin^{1,2}, and CHENG Zhi-hui^{2*}

(¹Agricultural College, Guizhou University, Guiyang 550025, China; ²College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The allelopathy and major allelochemicals in root exudates of hot pepper were studied by bioassay and GC-MS methods. The results showed that different components of root exudates of hot pepper had different allelopathy on lettuce. The allelopathy of aether soluble component was the highest, which was further separated and analyzed, and we found that 80% aether + 20% ethyl acetate component held the highest allelopathy. Finally, the component of 80% aether + 20% ethyl acetate was analyzed by GC-MS, and the main allelochemicals were identified as dibutyl phthalate, 1, 2-benzenedicarboxylic acid, butyl cyclohexyl ester, 1, 2-benzenedicarboxylic acid, butyl 2-methylpropyl ester, 1, 2-benzenedicarboxylic acid, bis (2-methylpropyl) ester, diphenylamine, 4, 4'- (1-methylethylidene) bis-phenol, 1-naphthalenamine, n-phenyl-, 1, 2-benzenedicarboxylic acid, among which dibutyl phthalate held the highest level of chemical content.

Key words: hot pepper; root exudate; allelopathy; allelochemical; lettuce

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 (受体) 的生长和发育的化学生态学现象, 化感作用包括促进和抑制两方面作用 (Rice, 1984), 其产生的化学物质称为化感物质 (Wittacker & Feeny, 1971)。化感物质的释放途径有以下 4 条: 从植物表面溢出, 被雨水冲洗到下层植物上或渗入到土壤后表现出化感效应 (李绍文, 1989); 从植物根部溢出直接产生化感效应 (喻景权 and 松井佳久, 1999; Hao et al, 2007); 一些挥发性化感物质通过植物体表面挥发到环境中发生作用 (孔垂华等, 2001); 植物残株或凋落物分解产生化感物质 (高丹等, 2008)。

自然界很多植物根系能够分泌化感物质, 如水稻、小麦、大豆、豌豆、豚草、牛鞭草、三叶鬼针

收稿日期: 2008 - 12 - 01; 修回日期: 2009 - 05 - 11

基金项目: 国家 '十五' 科技攻关重大专项课题 (2004BA516A09)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: chengzh@nwsuaf.edu.cn)

草、胜红蓟、杨树、苹果、黄瓜、辣椒、大蒜、茄子等，这些植物根系分泌的化感物质能够对周围其它植物产生化感作用，有些情况下对自身也产生毒害，抑制其生长（Yu et al, 2003; 何海斌等, 2007; 杨广君等, 2008）。

对辣椒的化感作用研究的较多（程智慧等, 2005; Morgan & Overholt, 2005; Siddiqui, 2007），但都是通过生物鉴定的方法研究其化感作用，而对辣椒的化感物质进行分离及成分分析的报道较少。本试验中从辣椒根系分泌的途径研究了辣椒的化感作用，并对化感物质进行逐级分离，寻找主要的化感物质，以便为辣椒化感作用的进一步研究和应用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供体材料为辣椒‘8819’；受体材料为莴苣（意大利耐抽薹莴苣）。

试验于2004年3—6月在西北农林科技大学进行。

1.2 根系分泌物的收集和分离方法

用塑料桶、泡沫板和通气泵自制辣椒水培系统，用蒸馏水配制成1/2剂量的Hoagland营养液，每桶盛4L营养液。在泡沫板上小孔中定植辣椒幼苗，每桶定植第一片真叶展平的辣椒幼苗34株，室内人工光照下培养，15~30d更换一次营养液，共培养60d。收集更换的营养液，通过XAD-4树脂吸附柱，随后分别用乙醚、50%乙醚+50%乙酸乙酯、乙酸乙酯、50%乙酸乙酯+50%甲醇、甲醇各200mL洗脱，各洗脱液依次简称为B₁、B₂、B₃、B₄、B₅组分，收集洗脱液，减压浓缩至干，溶于10mL甲醇中，放入-20℃冰箱中备用。

1.3 根系分泌物各组分化感作用的生物鉴定

准确吸取浓缩后甲醇溶解液1mL，放入底部铺有滤纸的培养皿中，在50℃烘箱中烘至甲醇完全挥发，然后加7mL蒸馏水，在滤纸上均匀摆放30粒莴苣种子，置25℃、4000lx下，每天调查发芽情况，4d后测量地上部和根部的长度，3次重复。对照中先加入1mL甲醇，蒸发后再加蒸馏水。根据生物检测结果，并结合隶属函数值确定水培营养液中化感优势组分。

发芽率(%) = 发芽终期全部正常发芽的种子数 / 供试种子数 × 100。

发芽指数(G_t) = G_t / D_t 。

式中 G_t 代表浸种后 t 日的发芽数， D_t 代表相应的发芽日数。

化感隶属函数值 $X(u) = (X - X_{min}) / (X_{max} - X_{min})$ 。

1.4 化感优势组分的分离鉴定

取生物测定确定的化感优势组分(B₁)甲醇溶液5mL，转移到长40cm、直径2.0cm的XAD-4吸附树脂柱上，使甲醇自然挥发，然后分别用80%乙醚+20%乙酸乙酯、60%乙醚+40%乙酸乙酯、40%乙醚+60%乙酸乙酯各200mL洗脱，洗脱液简称为B₁₋₁、B₁₋₂、B₁₋₃，收集洗脱液，减压浓缩至干，溶于5mL甲醇中，放入-20℃冰箱中备用。对其组分进行生物检测，方法同1.3。然后通过GC-MS（气相色谱—质谱联用仪，GC为Agilent 6890，MS为HP5973）分析鉴定生物活性较强组分物质。

2 结果与分析

2.1 辣椒根系分泌物各组分对莴苣的化感作用

由表1可知，B₁组分处理的发芽率比对照降低了10%，其它处理影响均不显著。各组分处理均降低了莴苣的发芽指数，以B₁影响最大，其次依次为B₂、B₄、B₃、B₅。B₃和B₅均促进莴苣根的生

长, 根长分别比对照增加了 12.62%和 2.66%, 但其根却比对照细, 并且没有根毛, 其余各组分均降低了根的长度, 其中以 B_1 的抑制效应最为明显, B_2 次之, B_4 再次之。除 B_5 外, 其余各组分均显著抑制了莴苣地上部生长, B_1 、 B_3 、 B_2 和 B_4 处理后的地上部长分别比对照降低了 37.81%、28.57%、26.05%和 23.52%。

表 1 辣椒根系分泌物各组分对莴苣的化感作用

Table 1 Allelopathy of the various fractions of hot pepper root exudates on lettuce

洗脱液 Eluant	发芽率 / % Germination rate	发芽指数 Germination index	根长 /cm Root length	地上部长 /cm Top length
对照 Control	100 aA	14.42 aA	3.01 abAB	1.19 aA
B_1	90 bB	8.33 cD	1.12 dD	0.74 bB
B_2	95 abAB	9.71 dC	1.93 cC	0.88 bB
B_3	100 aA	12.58 bcB	3.39 aA	0.85 bB
B_4	98 aA	12.33 cB	2.71 bB	0.91 bB
B_5	100 aA	13.33 bAB	3.09 abAB	1.21 aA

注: B_1 : 乙醚; B_2 : 50%乙醚 + 50%乙酸乙酯; B_3 : 乙酸乙酯; B_4 : 50%乙酸乙酯 + 50%甲醇; B_5 : 甲醇。

Note: B_1 : Aether; B_2 : 50% aether + 50% ethyl acetate; B_3 : Ethyl acetate; B_4 : 50% ethyl acetate + 50% methanol; B_5 : Methanol

由表 2中各指标的隶属函数值的大小可得出, B_1 的平均隶属函数值最小, 即对莴苣的化感抑制作用最大, B_2 次之, 其余依次为 B_4 、 B_3 、 B_5 。

因此, 可得出 B_1 (乙醚洗脱组分) 中含有较多的化感物质, 为优势组分, 研究辣椒根系分泌的化感物质, 应从 B_1 组分中寻找起主要作用的化感物质。

表 2 辣椒根系分泌物各组分化感作用的隶属函数值

Table 2 Allelopathy subjection value of the various fractions of hot pepper root exudates on lettuce

洗脱液 Eluant	各指标的隶属函数值 Subjection value of each index				
	发芽率 Germination rate	发芽指数 Germination index	地上部长 Top length	根长 Root length	平均 Average
对照 Control	1.000	1.000	0.833	0.957	0.948
B_1	0.900	0.000	0.000	0.000	0.225
B_2	0.950	0.226	0.357	0.298	0.458
B_3	1.000	0.699	1.000	0.234	0.733
B_4	0.983	0.657	0.700	0.362	0.676
B_5	1.000	0.822	0.868	1.000	0.923

注: B_1 : 乙醚; B_2 : 50%乙醚 + 50%乙酸乙酯; B_3 : 乙酸乙酯; B_4 : 50%乙酸乙酯 + 50%甲醇; B_5 : 甲醇。

Note: B_1 : Aether; B_2 : 50% aether + 50% ethyl acetate; B_3 : Ethyl acetate; B_4 : 50% ethyl acetate + 50% methanol; B_5 : Methanol

由表 3可知, B_{1-1} 组分处理的莴苣种子的发芽率比对照降低了 50个百分点, B_{1-2} 、 B_{1-3} 虽然也降低莴苣种子发芽率, 但与对照的差异未达到显著性水平。各组分对莴苣种子发芽指数也有不同程度的抑制作用, B_{1-1} 抑制作用最大, B_{1-2} 次之, B_{1-3} 最小。 B_{1-1} 显著抑制了莴苣幼苗根和地上部的生长, 与对照相比, 根长和地上部长分别降低了 78.57%和 43.72%; B_{1-2} 也抑制了莴苣的根和地上部生长; B_{1-3} 抑制莴苣的地上部生长, 但对根长却产生了促进作用, 这可能是由于莴苣不同器官对化感物质的反应敏感程度不同的缘故。

由以上分析可知, B_{1-1} 组分对莴苣的影响最大, 化感作用最强。由此推出, 辣椒根系分泌物中起主要作用的化感物质在这个组分中。

表 3 B₁ 各组分对莴苣的化感作用Table 3 Allelopathy of various fractions in B₁ on lettuce

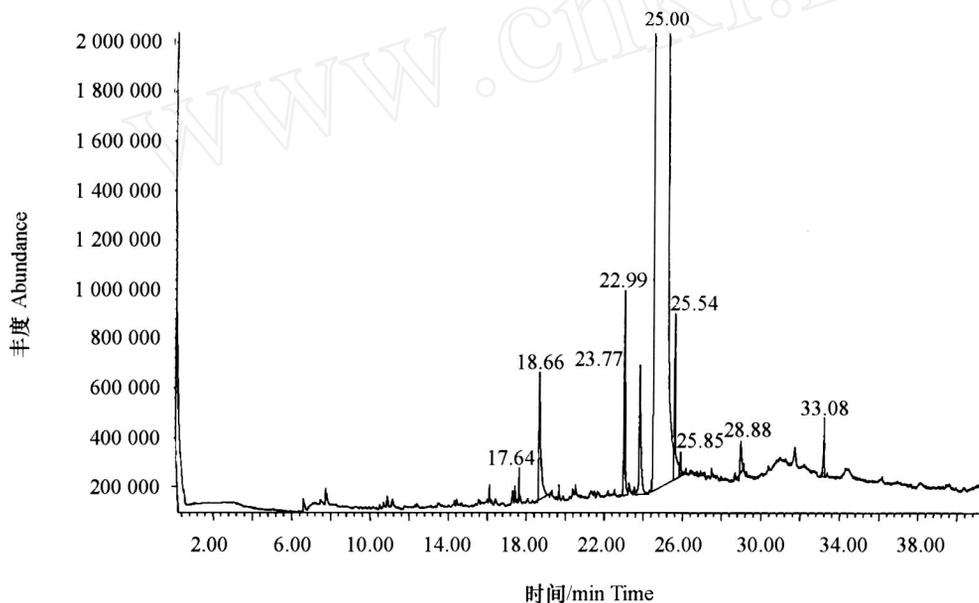
洗脱液 Eluant	发芽率 / % Germination rate	发芽指数 Germination index	根长 / cm Root length	地上部长 / cm Top length
对照 Control	100 a A	14.71 a A	4.62 b B	2.15 a A
B ₁₋₁	50 b B	4.51 c C	0.99 d D	1.21 d C
B ₁₋₂	78 a AB	8.51 b BC	3.66 c C	1.69 b B
B ₁₋₃	97 a A	13.54 a AB	5.79 a A	1.46 c BC

注: B₁₋₁: 80%乙醚 + 20%乙酸乙酯; B₁₋₂: 60%乙醚 + 40%乙酸乙酯; B₁₋₃: 40%乙醚 + 60%乙酸乙酯。

Note: B₁₋₁: 80% aether + 20% ethyl acetate; B₁₋₂: 60% aether + 40% ethyl acetate; B₁₋₃: 40% aether + 60% ethyl acetate

2.2 辣椒根系分泌的化感物质成分分析

将 B₁₋₁ 组分通过微膜过滤, 然后进行 GC-MS 分析, 结果见图 1。由图 1 和标准图谱比较可知, 辣椒根系分泌物中的化感物质如表 4 所示。

图 1 辣椒根系分泌物中 B₁₋₁ 组分的 GC-MS 鉴定图谱Fig. 1 GC-MS spectrum of B₁₋₁ components of root exudates in hot pepper表 4 辣椒根系分泌物中 B₁₋₁ 组分的化感物质Table 4 Allelochemicals of B₁₋₁ components of root exudation in hot pepper

化感物质 Allelochemicals	百分含量 / % Percentage	相似度 / % Similar degree	保留时间 / min Time of apex
邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	41.49	91	24.994
邻苯二甲酸 - 丁基 - 环己烷基酯 1,2-benzenedicarboxylic acid, butyl cyclohexyl ester	15.60	86	22.99
邻苯二甲酸 - 丁基 - 异丁酯 1,2-benzenedicarboxylic acid, butyl 2-methylpropyl ester	13.08	78	25.54
邻苯二甲酸二叔丁酯 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	10.09	94	23.77
二苯胺 Diphenylamine	9.03	87	18.66
4,4'-叔丁基二苯酚 4,4'-(1-methylethylidene) bisphenol	4.42	88	33.08
苯萘胺 1-naphthalenamine, n-phenyl-	3.76	93	28.88
邻苯二甲酸 1,2-benzenedicarboxylic acid	2.53	90	17.64

由表 4 可知, 辣椒营养液栽培, 根系分泌物 B_{1-1} 组分中含量较高的物质有 8 种, 其中邻苯二甲酸二丁酯含量最高, 为 41.49%; 邻苯二甲酸 - 丁基 - 环己烷基酯次之; 再次之为二苯胺。

3 讨论

根系分泌物中含有化感物质已在牛鞭草 (Tang et al, 1995)、杉木 (陈龙池和汪思龙, 2003)、大豆 (张顺捷等, 2008)、水稻 (何海斌等, 2007)、花生 (胡飞和孔垂华, 2003)、茄子 (刘娜等, 2008) 等作物上得以证实。豌豆根系分泌苯甲酸、对羟基苯甲酸、香草酸、肉桂酸、香豆酸、3, 4 - 二羟基苯甲酸、3, 5 - 二甲羟基香豆酸等化感物质 (喻景权和松井佳久, 1999)。茄子根系分泌的主要化感物质为邻苯二甲酸的多种衍生物、2, 6 - 二甲基乙基苯酚、十六烷酸甲酯、十七烷酸甲酯 (王芳, 2003)。侯永侠等 (2007) 对辣椒的根系分泌物进行了测定, 其化感物质为烷烃、芳香烃、醇、酮、烯酸酯、芳香酸酯和含 N 的化合物, 其中大量是芳香族和烷烃。本试验得出, 辣椒根系分泌的主要化感物质为邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸二叔丁酯、邻苯二甲酸 - 丁基 - 环己烷基酯、邻苯二甲酸 - 丁基 - 异丁酯、二苯胺、4, 4' - 叔丁基二苯酚、苯萘胺、邻苯二甲酸, 其中, 邻苯二甲酸二丁酯的含量最高。这与茄子 (王芳, 2003) 分泌的化感物质有些相似, 但与豌豆 (喻景权和松井佳久, 1999) 和辣椒 (侯永侠等, 2007) 的不尽相同。可能是因为茄子与辣椒统属茄科, 所含物质基本相同, 与豌豆亲缘关系相差很远, 其所含物质不同所致; 与侯永侠等 (2007) 研究的结果不尽相同, 可能是因为处理方法不同。侯永侠等是通过水培的方法收集辣椒根系分泌物后, 直接用 GC - MS 分析; 本试验是首先从辣椒根系分泌物中分离出化感作用最强的化感组分, 然后用 GC - MS 分析测定辣椒根系分泌的主要化感物质。辣椒根系分泌物不一定是化感物质, 本试验对辣椒化感作用优势组分进行分析, 获得的结果将更为准确可靠。

References

- Chen Long-chi, Wang Si-long 2003. Preliminary study of allelopathy of root exudates of Chinese fir. *Acta Ecologica Sinica*, 23 (2): 394 - 398. (in Chinese)
- 陈龙池, 汪思龙. 2003. 杉木根系分泌物化感作用研究. *生态学报*, 23 (2): 394 - 398.
- 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.
- Gao Dan, Hu Ting-xing, Wan Xue, Tang Tian-yun, Chen Liang-hua 2008. Allelopathic constituents from litterfall of *Eucalyptus grandis*. *Journal of Zhejiang Forestry College*, 25 (2): 191 - 194. (in Chinese)
- 高丹, 胡庭兴, 万雪, 唐天云, 陈良华. 2008. 巨桉枯落物化感物质的研究. *浙江林学院学报*, 25 (2): 191 - 194.
- Hao Z P, Wang Q, Christie P, Li X L 2007. Allelopathic potential of watermelon tissues and root exudates. *Scientia Horticulturae*, 112 (3): 1673 - 1679.
- He Hai-bin, Wang Hai-bin, Chen Xiang-xu, Lin Wen-xiong, Jia Xiao-li, Fang Chang-xun, Gan Qiu-feng, Ni Ni-na, Wu Wen-xiang 2007. Allelopathic effects of aqueous extracts from different parts and root exudates of rice on banyardgrass. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 15 (2): 14 - 17. (in Chinese)
- 何海斌, 王海斌, 陈祥旭, 林文雄, 贾小丽, 方长旬, 甘邱锋, 倪妮娜, 吴文祥. 2007. 化感水稻苗期不同器官水浸液及根系分泌物对稗草的化感作用. *中国生态农业学报*, 15 (2): 14 - 17.
- Hou Yong-xia, Zhou Bao-li, Wu Xiao-ling, Fu Ya-wen 2007. Allelopathy of root exudates of pepper. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 38 (4): 504 - 507. (in Chinese)
- 侯永侠, 周宝利, 吴晓玲, 付亚文. 2007. 辣椒根系分泌物化感作用的研究. *沈阳农业大学学报*, 38 (4): 504 - 507.
- Hu Fei, Kong Chui-hua 2003. Allelopathic potentials of *A. nichii hypogaea* on crops. *Journal of South China Agricultural University*, 23 (1): 9 - 12. (in Chinese)
- 胡飞, 孔垂华. 2003. 花生对作物的化感作用. *华南农业大学学报*, 23 (1): 9 - 12.

- Kong Chui-hua, Huang Shou-shan, Hu Fei 2001. Allelopathy of *Ageratum conyzoides* V., biological activities of the volatile oil from *ageratum* on fungi, insects and plants and its chemical constituents. *Acta Ecologica Sinica*, 21 (4): 584 - 587. (in Chinese)
- 孔垂华, 黄寿山, 胡 飞. 2001. 胜红蓟化感作用研究 V. 挥发油对真菌、昆虫和植物的生物活性及其化学成份. *生态学报*, 21 (4): 584 - 587.
- Li Shao-wen 1989. Ecological biochemistry (2): Biochemical relation between higher plants. *Journal of Ecology*, 8 (1): 66 - 70. (in Chinese)
- 李绍文. 1989. 生态生物化学 (二): 高等植物之间的生化关系. *生态学杂志*, 8 (1): 66 - 70.
- 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.
- Morgan E C, Overholt W A. 2005. Potential allelopathic effect of Brazilian pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi, *Anacardiaceae*) aqueous extract on germination and growth of selected Florida native plants. *J Torrey Bot Soc*, 132: 11 - 15.
- Rice E L. 1984. Allelopathy. Second edition. New York: Academic Press: 1 - 3.
- Siddiqui Zam in Shaheed 2007. Allelopathic effects of black pepper leachings on *Vigna mungo* (L.) Hepper. *Acta Physiol Plant*, 29: 303 - 308.
- Tang C S, Cai W F, Kohl K, Nishimoto R K 1995. Plant stress and allelopathy. *ACS Symp Ser*, 582: 142 - 157.
- Wang Fang 2003. The mechanism of eggplant (*Solanum melongena* L.) replanting problem [Ph. D. Dissertation]. Beijing: China Agricultural University. (in Chinese)
- 王 芳. 2003. 茄子连作障碍机理研究 [博士论文]. 北京: 中国农业大学.
- Wittacker R H, Feeny P P. 1971. Allelochemics: Chemical interactions between species. *Science*, 171 (3937): 757 - 770.
- Yang Guang-jun, Zhao Zun-lian, Gong Zhen-hui, Zhao Hai-yan, Liang Li-peng 2008. Allelopathy functions of the root exudates of line pepper to pepper and other crops. *Journal of Northwest A & F University: Nat Sci Ed*, 36 (10): 146 - 152. (in Chinese)
- 杨广君, 赵尊练, 巩振辉, 赵海燕, 梁丽鹏. 2008. 线辣椒根系分泌物对辣椒等受体作物的化感效应. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 36 (10): 146 - 152.
- Yu J Q, Ye S F, Zhang M F. 2003. Effects of root exudates and aqueous root extracts of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31: 129 - 139.
- Yu Jing-quan, Matsui Yoshihisa 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.
- Zhang Shun-jie, Ma Feng-ming, Shi Zhen, Hou Jing 2008. Study on allelopathy of soybean root exudates in seedling stage. *Crops*, (4): 43 - 45. (in Chinese)
- 张顺捷, 马凤鸣, 石 振, 侯 静. 2008. 大豆苗期根系分泌物化感作用的初步研究. *作物杂志*, (4): 43 - 45.

工具书推荐

《新编拉汉英植物名称》 王宗训主编

本书收集具有经济价值和学术价值或通俗常见的种子植物、蕨类植物、苔藓植物、藻类植物、真菌、地衣名称约 55 800 条。每种植物名称有拉、汉、英三种文字对照, 按拉丁文字母顺序排列。书后附有英文俗名和汉名索引。

本书可供农、林、医药、环境保护等学科的管理机构、科研单位、大学中的科技人员以及生物工程、植物检疫、花卉园艺、新闻出版、旅游、外贸等专业的技术人员使用, 也是各类图书馆典藏的重要工具书。定价: 185 元 (含邮费)。

购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街 12 号中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部, 邮编 100081。