

烟蒜轮作模式下烟苗根际土粗提物成分研究

张锐静¹, 张书畅¹, 苏嘉骥¹, 曾庆宾², 杨军伟², 陈强¹, 李瑜¹, 王海平³, 王春涛⁴, 李焕秀¹, 赖云松^{1*}

(1. 四川农业大学园艺学院, 四川成都 611130; 2. 四川省烟草公司攀枝花市公司, 四川攀枝花 617000; 3. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081; 4. 四川省石棉县农业局, 四川石棉 625400)

摘要 [目的]研究烟蒜轮作对高海拔地区烤烟生产发育的影响,以及与之关联的根际土壤提取物成分变化,进而探索缓解高海拔烤烟连作障碍的烟蒜轮作模式。[方法]在海拔约 1 500 m 连续单季连作烤烟 8 年以上的烟区引进温江大蒜、金乡大蒜、中蒜 1 号,调查烟蒜轮作对云烟 87 生长发育的影响,通过 GC-MS 对根际土的乙醇提取物进行组分分析,初步确定可能与烟蒜轮作效应关联的根际土化学成分。[结果]大蒜轮作显著提高烤烟农艺性状,大蒜品种间存在轮作效应差异,小瓣蒜类型的温江大蒜因密植轮作效应最好。烟苗根际土粗提物组分以酯类为主,其次为有机酸、酚苯类、醇类等化感物质。3 种大蒜轮作处理下,烟苗根际土壤中的酯类物质种类和丰度显著降低,总有机组分数量增加,推测可能与烟蒜轮作效应有关。[结论]温江大蒜在高海拔地区轮作效应最好。

关键词 连作障碍;烟蒜轮作;根际土;GC-MS;烟草;高海拔烟区

中图分类号 S 153.6 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)01-0141-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.01.043



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on the Rhizosphere Soil Extraction of Tobacco Seedlings in the Crop Rotation with Three Garlic Cultivars

ZHANG Rui-jing, ZHANG Shu-chang, SU Jia-qi et al (College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130)

Abstract [Objective] To evaluate the effect of tobacco-garlic rotation on tobacco farming and the dynamic rhizosphere soil extract in the rotation, which will help us to explore the underlying mechanism of rotation effect. [Method] Three garlic varieties 'Wenjiang', 'Jingxiang' and 'Zhongsuan No. 1' were introduced to tobacco field with an elevation of about 1 500 meters that have been monocropping for over 8 years. The effect of garlic rotation on tobacco growth were evaluated and the dynamic ethanol extract from tobacco rhizosphere soil were detected by GC-MS. [Result] Garlic rotation significantly increased the yield and quality of tobacco. There was obvious difference in rotation effect between different garlic varieties and 'Wenjiang' garlic was the best. The garlic rotation decreased the amounts of esters but increased the number of organic components in three garlic cultivars, which might account for the rotation effect. [Conclusion] The rotation effect of 'Wenjiang' garlic in high altitude area is the best.

Key words Continuous cropping obstacle; Tobacco and garlic rotation; Rhizosphere soil; GC-MS; Tobacco; High altitude tobacco growing area

由于高海拔烟田种植条件差,普通作物越冬困难,烟农种植习惯落后等原因,高海拔烟区春夏季常年连作烟草(*Nicotiana tabacum*),秋冬季闲置,复种指数低。此种简单、粗犷的单季连作模式不仅使土地综合利用效率低下,而且导致烤烟连作障碍严重,主要体现在病虫害频发,肥料利用率不断下降,烤烟产量、品质严重下降^[1]。合理的耕作制度和农艺措施是克服烤烟连作障碍的有效手段,如稻草还田、水肥耦合等^[2]。相关研究主要集中在不同栽培制度对烤烟产量、品质以及对土壤理化性质的影响^[3-6]。

烟草忌连作,其连作障碍的主要诱因包括植烟土壤非均衡性富集和耗减严重导致的土壤养分劣化、失衡,根际微生态失调,以及化感自毒作用^[7-8]。高欣欣等^[9]、于会泳等^[10]通过 GC-MS 检测推测烤烟化感物质可能是有机酸类、酰胺类、酯类以及甘油和烟碱。符建国等^[11]通过比较连作与水旱轮作烤烟根系分泌物成分,推测烤烟根系分泌物自毒作用的主要原因是酸性有机组分。郭亚利等^[12]研究表明,烤烟根系分泌物尤其是酚酸类物质达到一定浓度时可抑制烤烟种子发芽、幼苗生长和养分吸收。

大蒜(*Allium sativum*)根系分泌物具有良好的抗菌消毒

作用,是烤烟理想的轮作作物^[13]。研究表明,虽然新鲜大蒜挥发物和提取物对烤烟发芽和生长有抑制作用,但前茬大蒜土壤对烟苗生长无显著抑制作用^[14]。黄光荣等^[15]比较了油菜-烤烟,小麦-烤烟及大蒜-烤烟 3 种轮作栽培模式,发现烟蒜轮作效应最佳。事实上,大蒜根系分泌物对莴苣、辣椒、萝卜、黄瓜、白菜和番茄等蔬菜作物均有促进作用^[16-17]。阳显斌等^[4-5]研究表明烟蒜轮作与烟蒜套种均能提高烟叶质量,且烟蒜轮作效果最明显。

尽管不同轮作模式在烤烟生产上已有不少探索 and 实际应用,其轮作效应的土壤理化性质基础也有不少报道,然而轮作效应与根际土壤有机物成分变化的关系研究甚少。笔者在高海拔烟区引进 3 个大蒜品种,比较前茬大蒜的烤烟根际土壤与连作烤烟根际土壤的粗提物组分,初步解释了烟蒜轮作效应的化学基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料 大蒜品种为温江大蒜、金乡大蒜、中蒜 1 号。其中,中蒜 1 号由中国农业科学院蔬菜花卉所国家无性繁殖及多年生蔬菜资源圃最新选育品种。选取无病斑、无机械损伤的蒜头作为种蒜。温江大蒜的种植密度为 30 万株/hm²,由于金乡大蒜和中蒜 1 号属于大瓣蒜,故种植密度设置为 27 万株/hm²。供试烤烟品种为云烟 87,由四川省烟草公司攀枝花市公司提供。

1.2 试验设计 轮作的试验地点为攀枝花市米易县攀莲镇

基金项目 中国烟草总公司四川分公司重点科技项目(SCYC201504)。
作者简介 张锐静(1996—),女,四川成都人,硕士研究生,研究方向:蔬菜遗传育种及生物技术。*通信作者,副研究员,博士,从事蔬菜学研究。
收稿日期 2018-08-21;修回日期 2018-09-04

双沟村,海拔约1 500 m。采用田间小区试验,随机设计。设置烤烟-温江大蒜、烤烟-金乡大蒜、烤烟-中蒜1号3个轮作处理。考虑到边际效应、坡度、肥力差异等因素,在每个轮作处理的旁边设置空白对照(即烤烟单季连作模式)。每个轮作处理和相应空白对照均设置3次重复,每个重复面积约100 m²。在整个大蒜和烤烟的生育期内,轮作处理与空白对照施肥、浇水保持完全相同。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 大蒜生育期。调查和记录大蒜出苗期、蒜薹采收期、蒜头采收期。

1.3.2 大蒜后茬烤烟性状。每个小区随机取20株烟株挂牌定株,对烟草旺长期、采收期的田间长势进行调查,调查项目包括株高、叶数、节距、茎围。

1.3.3 大蒜后茬烤烟根系分泌物检测。运用GC-MS气质联用仪测定烤烟根际土的粗提成分。在烟株移栽45 d后,沿着烤烟植株根系周围挖开土壤取出完整植物根系土壤,轻轻抖动去掉在根系附着的较松散土壤,后抖动收集与根附着紧密的土壤为根际土壤,过60目筛,放置冰箱备用。

用萃取的方法对根际土有机组分进行粗提。取土样30 g,加入85%乙醇200 mL,磁力搅拌器搅拌浸提24 h。用高速离心机在3 500 r/min条件下离心15 min,取上清液,用旋转蒸发器浓缩至50 mL。乙酸乙酯(1:1)萃取2次,物相中性。用1 mol/L盐酸将水相pH调至3.0,再用等量乙酸乙酯萃取2次,物相酸性。将分液漏斗中的水相用1 mol/L NaOH

溶液调pH至8,等量乙酸乙酯萃取2次,物相碱性。合并酸性、中性、碱性条件下的萃取液,用旋转蒸发器浓缩,并用乙酸乙酯定容至5 mL,用0.45 μm有机滤膜过滤,为烤烟根际土粗提物液待测样品。

色谱仪为安捷伦7890A,毛细管柱为HP-5,进样口温度为250℃。程序升温:柱温50℃(2 min),以6℃/min速率升温至250℃,并保持15 min。载气为高纯氮气,流速1.0 mL/min,进样量1 μL。质谱仪为安捷伦5975C,扫描范围m/z为30~600 amu,扫描速度0.2 s。离子源温度200℃,四级杆温度150℃。不分流进样品。通过搜索计算机标准谱库NIST2011初步确定组分,仅考虑匹配得分≥70且在同一保留时间在3个重复中均出现的组分。取3个重复的峰面积平均值进行简单定量分析。

2 结果与分析

2.1 烟蒜轮作对烤烟生长发育的影响 分别在旺长期和采收期,调查大蒜轮作模式对烤烟主要农艺性状的影响。由表1可知,不同对照地块的云烟87长势有差异,表明存在土壤肥力不均的现象。但将大蒜轮作处理与其相邻的连作对照进行比较,前茬大蒜的烟草在株高和最大叶上显著高于对照,表明大蒜的轮作效应显著。大蒜轮作对烟草茎围无显著影响。3种大蒜轮作对烟草长势的促进程度具有品种差异。温江大蒜、金乡大蒜、中蒜1号对旺长期株高的提高幅度分别为19.0%、15.4%、16.6%。这可能是由于温江大蒜是小头蒜,其种植密度高于金乡大蒜和中蒜1号,因而轮作效应更明显。

表1 烤烟主要农艺性状及产量

Table 1 The main agronomic traits and yield of tobacco

品种 Varieties	处理 Treatment	旺长期 Vigorous growing stage				采收期 Harvesting stage				产量 Yield kg/hm ²
		株高 Plant height cm	茎围 Stem circ- umference cm	最大叶长 maximum leaf length cm	最大叶宽 Maximum width cm	株高 Plant height cm	茎围 Stem circ- umference cm	最大叶长 maximum leaf length cm	最大叶宽 Maximum width cm	
前茬温江大蒜 Wenjiang garlic before stubble	处理	142.4±13.8 a	2.9±0.2 a	70.8±5.6 a	35.6±3.0 a	142.4±13.8 a	3.2±0.3 a	66.4±4.4 a	24.4±3.1 a	2 779.5 a
	对照	119.7±1.7 b	2.9±0.2 a	64.0±7.0 b	31.1±4.0 b	139.7±1.7 b	3.3±0.2 a	55.4±7.0 b	18.6±4.0 b	2 320.5 b
前茬金乡大蒜 Jinxiang garlic before stubble	处理	133.5±6.7 a	2.8±0.2 a	61.2±5.3 a	28.8±4.5 a	133.5±6.7 a	3.6±0.2 a	53.7±4.7 a	18.6±3.5 a	2 715.0 a
	对照	115.7±6.8 b	2.8±0.2 a	58.1±5.0 b	24.3±4.2 b	115.7±6.8 b	3.2±0.2 a	49.4±5.1 b	17.5±3.7 b	2 443.5 b
前茬中蒜1号 Garlic No. 1 before stubble	处理	141.5±4.5 a	2.8±0.2 a	61.8±2.8 a	26.6±2.0 a	141.5±4.5 a	3.3±0.2 a	61.8±2.4 a	22.7±2.0 a	2 641.5 a
	对照	121.4±7.8 b	2.9±0.3 a	57.4±4.6 b	23.8±4.3 b	121.4±7.8 b	3.2±0.3 a	54.4±3.7 b	18.1±3.3 b	2 193.0 b

注:同列不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)

Note: Different lowercases in the same column stand for significant differences at 0.05 level

2.2 烟蒜轮作对大蒜生育期和经济效益的影响 由于高海拔烟田肥力较差,后期慎重追肥,3种大蒜在连作烟田的产量均低于平原地区。由表2可知,中蒜1号产量最高,经济效益最好,金乡大蒜其次,最差的为温江大蒜。比较3个大蒜品种在高海拔的生育期特征,温江大蒜出苗早,苗期最短,为41 d;其次为中蒜1号,三者中最晚的为金乡大蒜,二者的苗期分别为51和46 d。无论是蒜薹采收还是老蒜采收,温江大蒜均远早于金乡大蒜和中蒜1号。考虑到温江大蒜轮作模式不影响后茬烟苗移栽,在高海拔烟区最宜与烟草轮作的是温江大蒜。

2.3 烟蒜轮作对烟草根际土粗提物成分的影响

2.3.1 温江大蒜轮作。在烟草苗期,搜集根际土,用GC-MS分析其粗提物成分,比较温江大蒜轮作模式和烟草连作模式。由表3可知,前茬温江大蒜轮作的根系土壤中共检测到21种物质,酯类物质10种,有机酸4种,酚苯类3种,醇、酮类3种,以及1-甲基萘。酯类物质丰度最高,达83.38%,其次为有机酸类,达3.54%。丙酸乙酯含量占23.22%。从连作土壤中,共检测到16种物质,酯类物质11种,有机酸1种,酚苯类3种,以及环己酮。酯类物质含量最高,达98.56%,丙酸乙酯占比达87.7%。轮作与连作共有的成分有丙酸乙

酯、乙酸异丁酯、丁酸乙酯等 13 类物质。大蒜轮作处理显著增加的物质仅为丁酸乙酯,显著降低的物质有丙酸乙酯、乙酸丁酯、环己酮。轮作模式和对对照分别检测到 8 种和 3 种独

有成分,但总体含量均不高。丙酸乙酯和乙酸丁酯含量占比较大(>1.5%),可能与烟蒜轮作效应有关。

表 2 3 个大蒜品种在高海拔山区的物候期和产量

Table 2 Phenological period and yield of garlic in high altitude region

品种 Varieties	播种期 Sowing stage	苗期 Seedling stage	蒜薹采收期 Young garlic shoot harvesting stage	蒜头采收期 Garlic harvest stage	蒜头直径 The diameter of garlic/cm	单球重 Single head weight/kg	产量 Yield kg/hm ²
温江大蒜 Wenjiang garlic	10-20	11-30	03-20	05-15	4.95±0.43	0.031	9 300
金乡大蒜 Jinxiang garlic	10-20	12-10	04-15	06-20	5.11±0.49	0.039	10 530
中蒜 1 号 Garlic No. 1	10-20	12-05	04-05	06-10	5.53±0.51	0.046	12 420

表 3 前茬温江大蒜对烤烟苗期根际土提取物成分的影响

Table 3 Effect of rotation with garlic cultivar 'Wenjiang' on tobacco rhizosphere soil extracts

成分 Constituent	保留时间 Retention tim//min	相似度 Similarity %	峰面积 Peak area//×10 ⁵	
			温蒜 Wenjiang garlic	空白 Control
丙酸乙酯 Propanoic acid, ethyl ester	3.48	86.0	38.04 b	1 013.44 a
乙酸异丁酯 Isobutyl acetate	4.30	83.0	3.73 a	5.82 a
丁酸乙酯 Butanoic acid, ethyl ester	4.80	72.0	16.90 a	2.48 b
乙酸丁酯 Acetic acid, butyl ester	5.06	83.0	1.56 b	25.04 a
琥珀酸二乙酯 Butanedioic acid, diethyl ester	16.02	78.0	—	5.21
肉豆蔻酸乙酯 Tetradecanoic acid, ethyl ester	28.81	78.0	0.67	—
邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	31.61	96.0	25.95 a	25.95 a
油酸乙酯 Ethyl 9-hexadecenoate	31.73	90.0	4.37 a	6.15 a
棕榈酸乙酯 Hexadecanoic acid, ethyl ester	32.16	95.0	19.53 a	24.82 a
亚油酸乙酯 Linoleic acid ethyl ester	35.58	98.0	—	11.15
油酸乙酯 Ethyl Oleate	35.67	99.0	13.13 a	14.69 a
硬脂酸乙酯 Octadecanoic acid, ethyl ester	36.07	95.0	3.01 a	4.10 a
桐油酸 Ethyl 9. cis., 11. trans. -octadecadienoate	35.58	99.0	9.71	—
2-(1-环戊烯基)乙酸 2,6-Dimethylpiperidine-1-thiocarboxylic acid	4.59	72.0	1.06	—
亚油酸 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)	35.06	91.0	3.89 a	1.19 a
N-亚麻基肌氨酸 Methyl 9,12-heptadecadienoate	35.14	87.0	0.85	—
乙苯 Ethylbenzene	6.13	81.0	1.72 a	2.15 a
邻二甲苯 o-Xylene	6.33	90.0	1.61	—
2,4-二(1,1-二甲基乙基)苯酚 Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)	25.20	90.0	1.36 a	1.38 a
2'-亚甲基双-(1,1-二甲基乙基)-4-甲基苯酚 Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-	39.50	90.0	—	5.24
γ-谷甾醇 gamma. -Sitosterol	36.52	95.0	1.36	—
(3β,25R)-螺甾-5-烯-3-醇 Stigmast-7-en-3-ol, (3. beta., 5. alpha., 24S)	36.60	88.6	8.49	—
环己酮 Cyclohexanone	6.98	99.0	5.46 b	6.71 a
1-甲基萘 Naphthalene, 1-methyl-	20.65	72.0	1.42	—

注:同行数据后不同小写字母表示处理与空白对照间差异显著($P < 0.05$)

Note: Different lowercases in the same line stand for significant differences between treatment and control at 0.05 level

2.3.2 金乡大蒜轮作。比较金乡大蒜轮作模式和烟草连作模式下烟苗根际土粗提取物组分,结果见表 4。由表 4 可知,前茬金乡大蒜轮作中共检测到 23 种物质,酯类 6 种,有机酸 3 种,酚苯类 5 种,烷烃类 4 种,醇、酮类 4 种,以及甲基萘。通过比较峰面积,酯类物质含量最高,达 95.13%;其中丙酸乙酯占比最高,达 90.9%。其他组分含量很少,酸类 1.00%,醇类 1.18%,酚苯类 0.81%,烷烃类 0.48%,苯类 0.42%。从连作土壤中共检测到 17 种物质,酯类物质含量最高,达 97.58%。另外,连作土仅检测到 3 种酚苯类,含量为 0.44%,3 种醇、酮类含量为 1.67%,未检测到烷烃类和有机酸类物质。轮作与连作共有组分 10 种。大蒜轮作处理显著增加的物质只有 2,4-二(1,1-二甲基乙基)苯酚,显著降低的组分有丙酸乙酯、乙酸丁酯和 γ-谷甾醇。轮作模式和对对照分别检测到 13 种和 7 种独有成分。这些独有组分中含量较高的有邻苯二甲酸异丁酯和邻苯二甲酸二丁酯,在轮作样本中未检测到。丙酸乙酯、乙酸丁酯、邻苯二甲酸异丁酯含量占比

较大(>1.5%),可能与烟蒜轮作效应有关。

2.3.3 中蒜 1 号大蒜轮作。比较中蒜 1 号轮作模式和烟草连作模式下烟苗根际土粗提取物组分,结果见表 5。由表 5 可知,中蒜 1 号轮作土壤中共检测到 19 种物质,酯类 8 种,有机酸 4 种,醇、酮类 3 种,烷烃类 1 种,酚苯类 1 种。对照共检测出 16 种物质,酯类 9 种,酚苯类 2 种,醇类 2 种,有机酸 1 种,烷烃类 1 种,以及甲基萘。无论是轮作处理还是连作对照,酯类组分含量最高,分别达 82.35%和 94.01%。在轮作和连作样本中,组分含量次高的分别是有机酸类(15.90%)和醇酮类(3.98%),其他组分含量均很少。轮作与连作共有组分 12 种。中蒜 1 号轮作处理显著提高的组分有亚油酸乙酯和亚油酸,显著降低的组分有丙酸乙酯、邻苯二甲酸二丁酯、β-谷甾醇。轮作模式和对对照分别检测到 7 种和 4 种独有成分。在轮作中未检测到且在对照中含量较高的有油酸乙酯,仅在轮作中检测到且含量较高的有棕榈酸、亚麻酸、硬脂酸。由此可知,中蒜 1 号轮作大大增加了有机酸含量。丙酸乙酯、

邻苯二甲酸异丁酯、油酸乙酯、 β -谷甾醇以及有机酸含量占比较大($>1.5\%$),可能与烟蒜轮作效应有关。

表4 前茬金乡大蒜对烤烟苗期根际土提取物成分的影响

Table 4 Effect of rotation with garlic cultivar 'Jinxiang' on tobacco rhizosphere soil extracts

成分 Constituent	保留时间 Retention tim//min	相似度 Similarity %	峰面积 Peak area// $\times 10^5$	
			温蒜 Wenjiang garlic	空白 Control
丙酸乙酯 Propanoic acid, ethyl ester	3.47	86	1 376.83 b	1 669.27 a
乙酸异丁酯 Isobutyl acetate	4.29	83	7.12 a	8.76 a
丁酸乙酯 Butanoic acid, ethyl ester	4.79	91	2.65 a	3.08 a
乙酸丁酯 Acetic acid, butyl ester	5.06	83	26.18 b	32.19 a
棕榈酸乙酯 Hexadecanoic acid, ethyl ester	32.16	89	10.09 a	9.20 a
硬脂酸乙酯 Octadecanoic acid, ethyl ester	36.07	83	4.50	—
邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	31.61	97	—	19.57
丁二酸二乙酯 Butanedioic acid, diethyl ester	6.33	90	—	4.95
邻苯二甲酸异丁酯	20.64	90	—	32.98
1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 2-methylpropyl ester				
油酸乙酯 Ethyl Oleate	35.58	87	—	8.88
乙苯 Ethylbenzene	6.13	91	2.51a	2.24 a
1,3-二甲苯 Benzene, 1,3-dimethyl-	6.32	87	1.78	—
1,2,3,5-四氯苯 Benzene, 1,2,3,5-tetramethyl	13.63	90	2.01	—
邻二甲苯 o-Xylene	6.33	90	—	2.35
2,4-二(1,1-二甲甲基)苯酚 Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	25.20	90	8.04 a	2.02 b
2,2'-亚甲基双[6(1,1-二甲甲基)-4-甲基-苯酚 Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-	39.50	98	4.35	—
十二烷 Dodecane	11.73	86	4.11	—
(正)二十四(碳) Tetracosane	24.36	72	0.51	—
二十一烷 Heneicosane	27.81	78	1.26	—
2-溴代十二烷 2-Bromo dodecane	24.92	72	1.43	—
N-亚麻基肌氨酸 Methyl 9,12-heptadecadienoate	35.08	91	3.63	—
桐油酸 Ethyl 9. cis., 11. trans. -octadecadienoate	35.58	87	3.63	—
油酸 Oleic Acid	35.67	93	7.90	—
γ -谷甾醇. gamma. -Sitosterol	36.36	93	5.39 b	7.60 a
β -谷甾醇. beta. -Sitosterol	36.52	95	10.03 a	10.13 a
菠菜甾醇 Chondrillasterol	37.76	84	2.62	—
环己酮 Cyclohexanone	6.97	87	6.63 a	7.57 a
2-甲基萘 Naphthalene, 2-methyl	16.02	78	—	1.51
1-甲基萘 Naphthalene, 1-methyl	20.65	91	1.50	—
苯甲胺 Benzenemethanamine	31.61	91	—	2.84

注:同行数据后不同小写字母表示处理与空白对照间差异显著($P<0.05$)

Note: Different lowercases in the same line stand for significant differences between treatment and control at 0.05 level

表5 前茬中蒜1号对烤烟苗期根际土提取物成分的影响

Table 5 Effect of rotation with garlic cultivar 'Zhongsuan No. 1' on tobacco rhizosphere soil extracts

成分 Constituent	保留时间 Retention tim//min	相似度 Similarity %	峰面积 Peak area// $\times 10^5$	
			温蒜 Wenjiang garlic	空白 Control
丙酸乙酯 Propanoic acid, ethyl ester	3.47	86	1 763.54 b	1 873.33 a
乙酸异丁酯 Isobutyl acetate	4.29	83	8.72 a	9.15 a
乙酸乙酯 Butanoic acid, ethyl ester	4.79	86	3.17 a	3.05 a
琥珀酸二乙酯 Butanedioic acid, diethyl ester	16.01	78	3.69	—
乙酸丁酯 Acetic acid, butyl ester	5.05	83	30.27 a	34.14 a
13-甲基-十四烷酸乙酯 Ethyl 13-methyl-tetradecanoate	29.69	92	—	1.32
邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	31.61	97	27.08 b	39.10 a
9-十六碳烯酸乙酯 Ethyl 9-hexadecenoate	31.94	92	—	5.54
棕榈酸乙酯 Hexadecanoic acid, ethyl ester	32.16	97	11.20	—
油酸乙酯 Ethyl Oleate	35.67	91	—	23.15
亚油酸乙酯 Linoleic acid ethyl ester	35.57	99	21.12 a	16.78 b
棕榈酸 n-Hexadecanoic acid	31.42	99	46.37	—
亚油酸 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	35.08	81	200.34 a	7.32 b
亚麻酸 9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	35.17	99	96.41	—
硬脂酸 Octadecanoic acid	35.51	91	21.50	—
邻二甲苯 o-Xylene	6.33	93	2.24 a	2.24 a
2,4-二(1,1-二甲甲基)苯酚 Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	25.20	93	2.98 a	3.25 a
豆甾醇 Stigmasterol	37.67	93	10.55 a	14.71 a
β -谷甾醇 beta. -Sitosterol	36.50	89	22.30 b	59.67 a
环己酮 Cyclohexanone	6.97	87	6.45 a	9.81 a
乙酸十三烷 Ethyl tridecanoate	32.15	93	—	13.68
双环 2-乙基-[2.2.1]庚烷 Bicyclo[2.2.1]heptane, 2-ethyl-	35.37	83	13.29	—
1-甲基萘 Naphthalene, 1-methyl-	20.64	87	1.61	—

注:同行数据后不同小写字母表示处理与空白对照间差异显著($P<0.05$)

Note: Different lowercases in the same line stand for significant differences between treatment and control at 0.05 level

2.3.4 不同大蒜品种轮作处理间差异。比较 3 种大蒜品种引起的根际土有机组分差异。结果发现,轮作导致酯类组分降低,有机酸类组分增加(图 1A)。这在不同大蒜品种间得到互相印证。其他类别的有机组分如醇酮类、酚苯类、烷烃类变化一致性不明显。对具体有机组分而言,丙酸乙酯含量在 3 个轮作处理中均为下降,尤其在温江大蒜轮作处理中,下降幅度高达 96.25%(图 1B)。此外,乙酸丁酯和亚油

酸乙酯在温江大蒜轮作处理中也大幅度降低。邻苯二甲酸异丁酯和邻苯二甲酸二丁酯在金乡大蒜轮作处理中大幅下降。中蒜 1 号轮作处理大幅度降低 β -谷甾醇和乙酸十三烷含量,大幅度增加有机酸类和庚烷类含量。这表明不同大蒜品种轮作导致的烟苗根际土有机组分变化既存在较大的一致性,也存在较大的差异性。有机组分数的增加和酯类含量的减少可能是大蒜轮作效应的土壤化学基础。

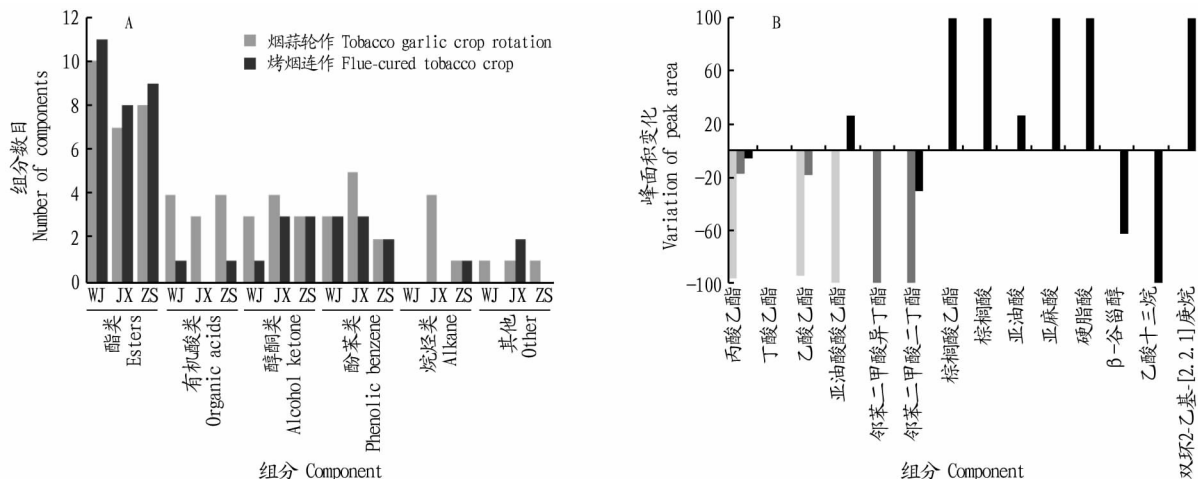


图 1 不同大蒜品种轮作模式下烟苗根际土粗提有机成分比较

Fig. 1 Comparison of crude organic constituents extracted from the rhizosphere soil of tobacco seedlings under different rotation patterns of garlic varieties

3 结论与讨论

该研究探讨了不同类型、不同品种的大蒜在海拔烟区轮作效应的差异和轮作模式的优劣。研究表明,烟蒜轮作效应显著的有玉米^[3]、水稻^[11]、大蒜^[5]等,不适宜进行轮作的有辣椒和大豆^[3]。玉米和水稻由于生育期与烤烟冲突,正常情况下与烤烟仅实行隔年轮作,不能达到提高复种指数的目的。作为秋冬茬口的大蒜耐低温,经济效益高,能实现周年轮作模式。该试验比较了 3 种不同大蒜品种与烤烟轮作的种植模式。结果表明,3 个大蒜品种的轮作效应明显。这与前人的研究结果相符^[15]。3 个大蒜品种中,温江大蒜是典型的小蒜瓣品种,主要种植区域为云贵川渝;金乡大蒜和中蒜 1 号均匀大瓣蒜,主要在北方种植。结果表明,温江大蒜轮作效应最显著。这可能是由于在相同土壤肥力及施肥条件下,温江大蒜植株蒜头较小,植株密度大,对连作烟土的改良效果最好。另外,在海拔烟区条件下,由于冬春气温较低,大蒜生长被抑制,所有大蒜品种的生育期均变长,平均比低海拔延长 20~40 d。温江大蒜相对其他 2 个品种生育期较短,整个生育期在 200 d 左右,刚好能与烟实现轮作。综合比较,小瓣蒜适宜高海拔烟区烟蒜轮作模式。

该研究结果表明,烟苗根际土粗提物主要有机成分为酯类,占比在 80% 以上。其次为有机酸类。高欣欣等^[9]在酸性、中性、碱性提取物中均检测到大量有机酸,最高含量分别为丁二酸(54.13%)、肉豆蔻酸(63.65%)、棕榈酸(22.43%)。于会永等^[10]分析烤烟根系分泌物,发现酸性、中性、碱性提取物中含量最高的均为酯类,分别为 47.75%、69.09%、

47.17%,其中最高的都是邻苯二甲酸二丁酯。不同研究结果差异很大,这与烤烟的种植方式、生长状况以及根系分泌物的搜集方式和检测方法有关。温度和水分条件等细微环境变化也能影响根系分泌物组分含量^[18]。该研究从烟苗根际土测定的粗提物成分还包含前茬大蒜残留物以及其他土壤化学物质。尽管从严格意义上讲并不完全是烤烟根系分泌物,但对分析大蒜轮作效应的综合土壤化学基础具有重要意义。

对比 3 种大蒜轮作处理下烟苗根际土粗提物有机组分的动态变化,总有机组分增加以及酯类组分数量和含量减少可能是大蒜轮作效应的土壤化学基础。有机组分多样化有利于构建健康的土壤微生态环境,平衡烟苗土壤养分吸收。研究表明,烟蒜轮作提高根际土壤细菌和放线菌数量高于烤烟连作,尤其是解钾菌、解磷菌等活化土壤养分的有益菌^[4]。而烟草根系分泌物具有促进病原菌(茄科劳尔氏菌)抑制拮抗菌(芽孢杆菌)的负面作用^[19]。酯类物质减少,可能减少烤烟根系分泌物的自毒作用。人工加入烤烟根系分泌物提取液显著降低烟苗根系活力,降低根系对 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 、 K^+ 的吸收,抑制幼苗的生长,大蒜轮作作为解决烤烟连作障碍的重要手段之一^[12]。从土壤农化性状、土壤微生物类群 2 个方面进行研究。该研究利用 GC/MS 检测轮作处理下烟苗根际土粗提物有机成分,从另一个角度初步解释轮作效应的土壤化学基础,下一步将进一步鉴定主要有机组分与大蒜轮作效应的关系。

(下转第 201 页)

小依次为 B(提取温度 T_1)、D(亚氯酸钠用量)、C(提取时间 t_1)、A(NaOH 溶液质量分数);可确定最佳方案为 $A_3B_3C_3D_3$ 。因此,正交试验优化得到的最佳工艺条件为:提取过程中,搅拌速度为 500 r/min;半纤维素脱除过程中,称取 5 g 秸秆粉末,NaOH 溶液质量分数为 9%,提取温度 T_1 为 60 °C,提取时间 t_1 为 120 min,将产物洗涤烘干;木质素脱除过程中,取上述产物进行试验,亚氯酸钠用量为 1.5 g,醋酸用量为 10 mL,提取温度 T_2 为 70 °C,提取时间 t_2 为 60 min,将产物洗涤烘干得到纤维素。

2.3 验证试验 根据以上正交试验确定的最佳工艺条件,进行 3 次重复试验。结果发现,提取的产品纤维素含量较高,平均可达 81.45%,最高可达 82.29%。

2.4 红外分析 从原料与产品纤维素的红外光谱(图 9)可看出,波数 $1\ 731.78\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰表征与木质素、半纤维素有关的羰基伸缩振动;木质素的特征吸收峰为 $1\ 515.81\ \text{cm}^{-1}$;经过处理后两峰都已消失^[14-16]。原料中波数 $1\ 162.83$ 和 $1\ 426.74\ \text{cm}^{-1}$ 以及产品中波数 $1\ 162.48$ 和 $1\ 432.95\ \text{cm}^{-1}$ 都是纤维素的特征吸收峰,说明经过处理后纤维素的结 构基本没有发生变化。因此,经过处理后,原料秸秆中木质素与半纤维素已经基本被去除,得到了纯度较高的纤维素。

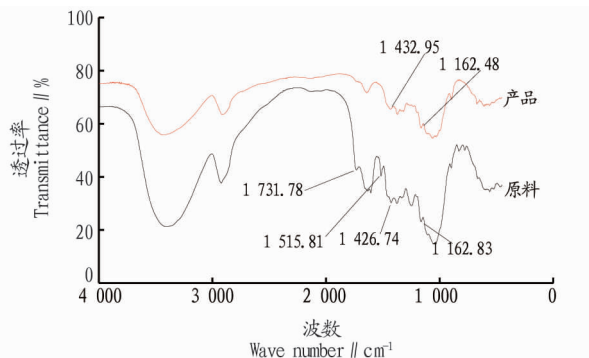


图 9 红外光谱图

Fig. 9 FTIR spectra

3 结论

该试验以单因素试验为基础,通过正交试验优化得到提

取玉米秸秆纤维素的最佳工艺条件如下:提取过程中,搅拌速度为 500 r/min;半纤维素脱除过程中,称取 5 g 秸秆粉末,NaOH 溶液质量分数为 9%,提取温度 T_1 为 60 °C,提取时间 t_1 为 120 min,将产物洗涤烘干;木质素脱除过程中,取上述产物进行实验,亚氯酸钠用量为 1.5 g,醋酸用量为 10 mL,提取温度 T_2 为 70 °C,提取时间 t_2 为 60 min,将产物洗涤烘干得到纤维素。在此最优工艺条件下,提取的产品纤维素含量较高,平均可达 81.45%,最高可达 82.29%。而且经红外分析可发现半纤维素和木质素已基本被去除。该工艺研究可为玉米秸秆纤维素的批量生产提供理论指导。

参考文献

- [1] 周良. 对国内秸秆利用现状的思考[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(32): 15853-15855.
- [2] 来水利, 国维娜, 肖雨晨, 等. 小麦秸秆中纤维素提取工艺的研究[J]. 纸和造纸, 2016, 35(2): 11-14.
- [3] 董春燕, 朱美静, 张鹏飞, 等. 棉秸秆提取纤维素纤维的预处理工艺及结构研究[J]. 上海纺织科技, 2017, 45(8): 37-40.
- [4] 黄思维. 玉米秆纳米纤维素的提取、表征及应用[D]. 南京: 南京林业大学, 2017.
- [5] 刘长水. 玉米秸秆中半纤维素的提取[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2016.
- [6] SUN J X, SUN X F, ZHAO H, et al. Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse[J]. Polymer degradation & stability, 2004, 84(2): 331-339.
- [7] 毛微曦, 赵晓胜, 王立华, 等. 高压蒸煮法提取玉米秸秆纤维素的工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(34): 13387-13389.
- [8] 李春光, 董令叶, 吉洋洋, 等. 花生壳纤维素提取及半纤维素与木质素脱除工艺探讨[J]. 中国农学通报, 2010, 26(22): 350-354.
- [9] 王立华, 王永利, 赵晓胜, 等. 秸秆纤维素提取方法比较研究[J]. 中国农学通报, 2013, 29(20): 130-134.
- [10] 李丹丹, 周杰, 刘文红. 响应面优化玉米秸秆纤维素提取工艺[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(30): 18781-18783, 18820.
- [11] 周灿灿, 宋晓明, 陈夫山. 废弃物秸秆纤维提取研究进展[J]. 天津造纸, 2016, 38(4): 34-37.
- [12] 许颖, 韩洪玲, 王金凤. 二种测定纤维素含量方法的比较与分析[J]. 黑龙江粮食, 2002(3): 41, 46.
- [13] 王林凤, 程远超. 硝酸乙醇法测定纤维素含量[J]. 化学研究, 2011, 22(4): 52-55, 71.
- [14] 郑明霞, 李来庆, 郑明月, 等. 碱处理对玉米秸秆纤维素结构的影响[J]. 环境科学与技术, 2012, 35(6): 27-31.
- [15] GASTALDI G, CAPRETTI G, FOCHER B, et al. Characterization and properties of cellulose isolated from the *Crambe abyssinica* hull[J]. Industrial crops & products, 1998, 8(3): 205-218.
- [16] 孙晓锋, 王海洪, 胡永红. 秸秆纤维素的一步快速提取和水解[J]. 高等学校化学学报, 2010, 31(9): 1901-1904.
- [17] 于会泳, 申国明, 高欣欣, 等. 烟草根系分泌物的 GC-MS 检测[J]. 中国烟草学报, 2013, 19(4): 64-72.
- [18] 符建国, 易建华, 贾志红, 等. 轮作与连作烟田根际土壤酸性有机组分的初步分离与鉴定[J]. 中国烟草科学, 2011, 32(6): 67-71.
- [19] 郭亚利, 李明海, 吴洪田, 等. 烤烟根系分泌物对烤烟幼苗生长和养分吸收的影响[J]. 植物营养与肥料科学, 2007, 13(3): 458-463.
- [20] 苏美琼, 杨柏崇, 成密红, 等. 大蒜的功效及综合利用研究进展[J]. 西北农业学报, 2003, 12(4): 151-156.
- [21] 赖荣泉, 赖碧添, 钟秀金. 大蒜对不同烤烟品种的化感作用[J]. 烟草科技, 2010(4): 59-64.
- [22] 黄光荣, 赵致. 烤烟与不同作物轮作对烤烟生长发育及产质的影响[J]. 耕作与栽培, 2007(6): 30-31.
- [23] 周艳丽, 程智慧, 孟焕文. 大蒜根系分泌物对不同受体蔬菜的化感作用[J]. 应用生态学报, 2007, 18(1): 81-86.
- [24] 周艳丽, 王艳, 李金英, 等. 大蒜根系分泌物的化感作用[J]. 应用生态学报, 2011, 22(5): 1368-1372.
- [25] 高欣欣. 烤烟根系分泌物成分鉴定与分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
- [26] 刘艳霞, 李想, 蔡刘体, 等. 烟草根系分泌物酚酸类物质的鉴定及其对根际微生物的影响[J]. 植物营养与肥料科学, 2016, 22(2): 418-428.

(上接第 145 页)

参考文献

- [1] 石秋环, 焦枫, 耿伟, 等. 烤烟连作土壤环境中的障碍因子研究综述[J]. 中国烟草学报, 2009, 15(6): 81-84.
- [2] 张继光, 申国明, 张久权, 等. 烟草连作障碍研究进展[J]. 中国烟草科学, 2011, 32(3): 95-99.
- [3] 贾健, 朱金峰, 杜修智, 等. 不同种植模式对烤烟根际土壤微生物、土壤养分和烟叶质量的影响[J]. 西南农业学报, 2016, 29(10): 2300-2306.
- [4] 阳显斌, 李廷轩, 张锡洲, 等. 烟蒜轮作与套作对土壤微生物类群数量的影响[J]. 土壤, 2016, 48(4): 698-704.
- [5] 阳显斌, 李廷轩, 张锡洲, 等. 烟蒜轮作与套作对土壤农化性状及烤烟产量的影响[J]. 核农学报, 2015, 29(5): 980-985.
- [6] 晋艳, 杨宇虹, 段玉琪, 等. 烤烟轮作、连作对烟叶产量质量的影响[J]. 西南农业学报, 2004, 17(S1): 267-271.
- [7] 吴林坤, 林向民, 林文雄. 根系分泌物介导下植物-土壤-微生物互作关系研究进展与展望[J]. 植物生态学报, 2014, 38(3): 298-310.
- [8] 邓阳春, 黄建国. 长期连作对烤烟产量和土壤养分的影响[J]. 植物营养与肥料科学, 2010, 16(4): 840-845.
- [9] 高欣欣, 于会泳, 张继光, 等. 烤烟根系分泌物的分离鉴定及对种子萌发的影响[J]. 中国烟草科学, 2012, 33(3): 87-91.