

网络出版日期:2017-06-05
网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1220.S.20170605.1728.030.html>

青稞白酒糟醅粗提物抑草活性研究

李 玮^{1,2,3}, 沈 硕¹, 郭青云^{1,2,3}

(1. 青海农林科学院, 西宁 810016; 2. 农业部西宁作物有害生物科学观测实验站, 西宁 810016; 3. 青海省农业有害生物综合治理重点实验室, 西宁 810016)

摘 要 为研究青稞白酒糟醅粗提物的抑草活性。采用超冷浸提法制备青稞白酒糟醅粗提物, 种子萌发和室内盆栽的方法测定粗提物的抑草活性, 硫代巴比妥酸(TBA)、丙酮浸提等方法测定优势杂草的生理指标。结果表明, 当青稞白酒糟醅粗提物质量浓度为 100 mg/mL 时, 对单子叶和双子叶杂草幼苗生长的抑制率分别为 100% 和 80%。安全性评价显示, 青稞白酒糟醅粗提物对油菜、蚕豆、豌豆风险高, 对春小麦安全。当粗提物质量浓度为 200 mg/mL 时, 对麦田优势杂草野燕麦具有明显的抑制作用, 且使野燕麦叶片的各项生理生化指标产生不同程度的变化。

关键词 青稞白酒糟醅; 抑草作用; 野燕麦; 安全性

中图分类号 S482.49 **文献标志码** A **文章编号** 1004-1389(2017)06-0916-10

农田杂草因与作物争夺光、水、肥等资源而成为影响作物产量和品质的重要因子^[1], 给作物的生长和发育带来危害, 每年对作物生产造成巨大的经济损失。草害是导致作物减产的最主要因素之一, 每年导致全球农业 950 亿美元损失。中国农田草害面积约 7 880 万 hm², 每年投入约 235 亿元人民币进行杂草防除, 但仍然造成粮、棉、油减产 1 460 万 t, 直接经济损失近千亿元人民币。目前, 农田杂草控制还是以化学除草剂为主^[2]。但随着生产力水平的进步和公众健康意识的提高, 广泛、长期、大量使用化学除草剂所带来的负面影响日益显现, 倍受全球关注。一方面, 大量化学除草剂的施用带来环境污染, 尤其是长残效除草剂的应用引起残毒药害、导致下茬作物的减产甚至人畜中毒。目前, 全世界已经有 100 余种化学除草剂在 30 多个国家被禁用或取消登记; 另一方面, 使用化学除草剂给当地杂草群落施加强大的选择压力, 影响杂草的微观进化, 致使杂草抗药性生物型不断产生^[3-10]。中国在农业“十三·五”规划中提出“双减(减化肥和农药)”目标。除草剂在整个农药市场中占比超过 50%, 因此, 要想顺

利实现这个目标, 必须想办法大幅降低化学除草剂的用量^[11]。而从天然生物资源中探索发现具有高效除草活性物质, 因其对人、畜低危险性、环境兼容性好、不易产生抗性、生产开发费用低等优点, 必然将成为农药产业发展的热点和重点^[12]。

白酒糟醅是酿酒原料经过固态发酵、蒸馏提取酒精后的残留物, 中国白酒酿造行业每年产生约 2 500 万 t 的糟醅^[13-14]。糟醅含水量大, 极易腐败, 容易造成环境污染。目前糟醅的利用多用于动物饲料, 但酿酒过程中加入的原料中含有植酸, 会降低蛋白质在动物体内的生物效价^[15]。虽然目前中国在糟醅利用方面的研究已经取得一定的成绩, 如利用白酒糟醅制取甘油、培养食用菌、提取复合氨基酸及微量元素、提取植酸和植酸钙、酿醋、提取蛋白质、生产淀粉酶和纤维素酶等^[16-17], 但利用白酒糟醅防治农业有害生物方面的研究很少, 曾铁林^[18]利用白糟醅进行水田杂草防除试验, 结果表明白糟醅对水田稗草、扁杆蔗草等有不同程度的防效, 且对水稻安全。但关于白酒糟醅及其粗提物对旱地杂草和作物安全性的研究报道较少。

收稿日期: 2016-05-04 修回日期: 2016-06-15
基金项目: 国家自然科学基金(31260438); 国家公益性行业(农业)科研专项(201303022)。
第一作者: 李 玮, 男, 硕士, 副研究员, 主要从事农田杂草综合防治研究。E-mail: lwbaby@163.com
通信作者: 郭青云, 女, 硕士, 研究员, 主要从事农田杂草综合防治研究。E-mail: guoqingyunqh@163.com

青稞是禾本科大麦属的一种禾本科作物,又叫裸大麦、米大麦、元麦^[18],青稞白酒是以青藏高原的特产青稞为原料,以青稞、豌豆两者粉碎后合理配料制得的中低温大曲作为糖化发酵剂,采用一次投料,清蒸清烧 4 次清工艺生产^[19-20]。由于白酒糟醅中微生物的种类多、数量大及其发展不同过程的次生代谢产物多样化^[21-25],加之青稞的次生代谢产物在酿造过程中的化学变化,使从青稞白酒糟醅中发现抑草活性物质成为可能。本研究通过青稞白酒糟醅及其粗提物对不同杂草的抑草活性研究和作物安全性评价,旨在发现来源于青稞白酒糟醅的除草活性物质,为生物除草剂开发提供基础,同时可解决青稞糟醅高效利用及环境保护问题。

1 材料与方法

1.1 材料

青稞白酒糟醅由青海省乐都县红青稞酒厂提供,野燕麦(*Avena fatua* L.)、旱雀麦(*Bromus tectorum* L.)、冬葵(*Malva crispa* L.)、酸模叶蓼(*Polygonum lapathifolium* L.)、春油菜[(*Brassica napus* L.)('青杂 305 号')],春小麦[(*Triticum aestivum* L.)('青春 38 号')],春蚕豆[(*Vicia faba* L.)('青海 13 号')],豌豆[(*Pisum sativum* L.)('草原 26 号')]等种子均由青海省农林科学院植物保护研究所杂草课题组提供。

1.2 方法

1.2.1 不同质量浓度青稞白酒糟醅粗提物水溶液的制备 将新鲜青稞白酒糟醅取回后,置于阴凉干燥处翻动、阴干后,按四分法将处理好的青稞糟醅缩分,称取 200 g 装入 1 000 mL 三角瓶中,加甲醇盖过糟醅界面,充分摇匀,室温下浸泡 24 h,每 6 h 置于超声波振荡仪中超声振荡 15 min。将浸提液过滤,45~50 °C 条件下低压旋蒸至浸膏^[26]。将其分别配制成质量浓度为 200、100、50、25 mg/mL 的水溶液后,过 0.22 μm 水性滤膜,除去水溶液中杂菌,所得不同质量浓度的水溶液供生物测定用。

1.2.2 培养皿种子萌发及幼苗生长测定方法 选取大小一致、颗粒饱满的野燕麦、旱雀麦、冬葵、酸模叶蓼,用 $w=2.5\%$ 次氯酸钠溶液浸泡,同时用磁力搅拌器搅拌 10 min,再用无菌水搅拌冲洗 3 次(每次 3 min),吸水纸吸干,25 °C 条件下催芽 24 h。挑选露白一致的供试种子进行测定。

在高压灭菌后的玻璃培养皿($d=9$ cm)中铺双层滤纸,分别加入制备好的不同质量浓度(200、100、50、25 mg/mL)的水溶液 5 mL,以清水为对照(CK)。每皿放置露白一致的供试种子 16 粒,每个处理 3 次重复。将培养皿放在 25 °C 恒温培养箱中黑暗条件下培养 3 d,第 4 天开始培养箱内的光照周期为 18 h 光照/6 h 黑暗。培养期间加适量无菌水保持种子及幼苗生长所需的水分^[27]。第 3 天测定种子发芽率,种子发芽的标准为胚根突破种皮 2 mm^[28],第 7 天同时测定根长、芽长、鲜质量、干质量及计算抑制率^[29-30],公式如下:

抑制率=(空白对照处理-糟醅粗提物水溶液处理)/空白对照处理 $\times 100\%$

所得数据用 SPSS 20.0 进行方差分析。

1.2.3 盆栽植株测试方法 青稞白酒糟醅和土壤不同比例混种供试作物:将青稞白酒糟醅阴干后,随机取糟醅(含水量 34.2%)和种植土按质量比为 1:3、1:5、1:7、1:10 均匀混合后,在花盆($d=15.0$ cm)中种植供试作物,每个处理每种作物种植 10 盆,同时完全用种植土种植空白对照 3 盆。在空白对照出苗后记录出苗率,野燕麦空白对照生长到二叶一心期至三叶一心期时,测定其株高、根长度、鲜质量、干质量及计算抑制率。

青稞白酒糟醅粗提物对杂草生长及对作物安全性的影响:用种植土种植供试作物,每种作物 20 盆,在春小麦、春油菜、春蚕豆、豌豆、野燕麦三~四叶期,按每盆 20 mL 用手持喷壶茎叶喷施 1 次。每处理 4 盆,重复 4 次,以清水喷施的植株作为空白对照(CK)。

野燕麦生理特性影响测定:丙二醛(MDA)质量摩尔浓度采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定;叶绿素测定采取丙酮直接浸提法;超氧化歧化酶(SOD)活性参照李玲^[31]的方法测定。

2 结果与分析

2.1 青稞白酒糟醅粗提物对杂草种子萌发及幼苗生长的影响

2.1.1 对杂草种子萌发的影响 为验证青稞白酒糟醅粗提物的抑草活性,选取 2 种单子叶禾本科杂草野燕麦和旱雀麦、2 种双子叶杂草为锦葵科的冬葵和蓼科的酸模叶蓼为供试杂草进行除草活性测试。由表 1 可知,青稞白酒糟醅粗提物可显著抑制单双子叶杂草种子的萌发,在质量浓度为 200 mg/mL 时,4 种供试植物的种子没有萌发

迹象。青稞白酒糟醅粗提物对单子叶杂草旱雀麦的 50% 杂草种子萌发受到抑制的质量浓度 (ED_{50}) 和 90% 杂草种子萌发受到抑制的质量浓度 (ED_{90}) 分别为 30.62 和 160.11 mg/mL; 单子叶杂草野燕麦的 ED_{50} 和 ED_{90} 分别为 92.14 和 170.02 mg/mL; 对锦葵科植物冬葵的 ED_{50} 和 ED_{90} 分别为 42.95 和 158.76 mg/mL; 对蓼科植物酸模叶蓼的 ED_{50} 值和 ED_{90} 值分别为 71.93 和 168.04 mg/mL。

2.1.2 对杂草幼苗生长的影响

由表 2 可知,青

表 1 青稞白酒糟醅粗提物对杂草种子萌发的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of crude extracts from hulless barley distiller's grains on seed germination

供试种子 Test seed	质量浓度/ (mg/mL) Mass concentration	发芽数 Germination number	发芽抑制率/% Germination inhibition rate	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation index	ED_{50} / (mg/mL)	ED_{90} / (mg/mL)
旱雀麦 <i>Bromus tectorum</i> L.	0	19.67±0.50 a	0.00	$y=0.308\ 9x+40.541$	0.972 2	30.62	160.11
	25	11.00±0.82 b	44.08				
	50	8.33±1.41 c	57.63				
	100	4.67±1.26 d	76.28				
	200	0.00±0.00 e	100.00				
野燕麦 <i>Avena fatua</i> L.	0	20.00±0.00 a	0.00	$y=0.513\ 6x+2.678\ 3$	0.951 7	92.14	170.02
	25	18.33±0.58 ab	8.33				
	50	14.33±1.53 b	28.33				
	100	6.67±0.58 c	66.67				
	200	0.00±0.00 d	100.00				
冬葵 <i>Malva crispa</i> L.	0	19.00±1.00 a	0.00	$y=0.345\ 4x+35.165$	0.932 3	42.95	158.76
	25	12.00±1.00 b	36.84				
	50	8.67±0.58 c	54.39				
	100	4.00±1.00 d	78.95				
	200	0.00±0.00 e	100.00				
酸模叶蓼 <i>Polygonum lapathifolium</i> L.	0	18.33±0.58 a	0.00	$y=0.416\ 2x+20.061$	0.951 7	71.93	168.04
	25	14.33±1.15 b	21.80				
	50	9.67±0.58 c	47.26				
	100	6.00±1.00 d	67.27				
	200	0.00±0.00 e	100.00				

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),下同。y 代表粗提物对种子萌发的抑制率,x 代表粗提物的质量浓度。
Note: Data marked with different lowercase letters in the same column mean significant difference($P<0.05$), the same as below. y means inhibition rate of crude extracts against seed germination,x means mass concentration of crude extracts.

2.2 青稞白酒糟醅粗提物水溶液对 4 种作物植株生长安全性的影响

青稞白酒糟醅粗提物水溶液对春油菜、春小麦、春蚕豆、豌豆的株高、鲜质量、干质量有显著的抑制作用,而对根系长度有促进作用。随质量浓度的升高,对 3 种阔叶作物的安全性越差,对春小麦植株生长越安全,从图 1 和表 3 可以看出小麦株高、根长、鲜质量、干质量等指标与对照处理基

稞白酒糟醅粗提物水溶液在供试质量浓度为 100 mg/mL 以上时,对 2 种单子叶禾本科杂草幼苗的根长和芽长生长抑制率为 100%。从鲜质量和干质量数据分析可知,供试杂草种子失水降低发芽活力,且对单子叶杂草幼苗生长的影响高于双子叶杂草。通过表 1 和表 2 结果可知,青稞白酒糟醅粗提物水溶液不仅可以抑制单双子叶杂草种子萌发,同时可以抑制其幼苗生长,随质量浓度的增大,影响作用加大。

本相当,说明采用茎叶喷施后,在供试质量浓度下对春小麦植株生长安全。按安全性评价标准,粗提物水溶液质量浓度 25 mg/mL 时,对春油菜、春蚕豆、豌豆属安全等级为 3 级以下;50 mg/mL 质量浓度下,春油菜、豌豆安全等级为 4 级,对蚕豆为 3 级;在 100 mg/mL 质量浓度以上,春油菜、豌豆安全等级都达到 5 级以上,春蚕豆为 4 级,对作物生长严重影响。

表 2 青稞白酒糟醅粗提物对供试种子幼苗生长特征影响

Table 2 Effects of crude extracts from hulless barley distiller’s grains on growth of seeds

供试种子 Test seed	质量浓度/ (mg/mL) Mass concentration	芽长抑制率/% Shoot inhibition rate	根长抑制率/% Root inhibition rate	鲜质量抑制率/% Fresh mass inhibition rate	干质量抑制率/% Dry mass inhibition rate
旱雀麦 <i>Bromus tectorum</i> L.	25	35.23(1.64) a	76.28(0.48) a	7.81(0.66) a	6.02(0.30) a
	50	83.69(0.42) b	87.64(0.25) a	15.66(0.60) a	10.37(0.29)a
	100	100.00(0.00) c	100.00(0.00) b	17.20(0.59) a	10.43(0.29)a
	200	100.00(0.00) c	100.00(0.00) b	24.60(0.54) a	20.06(0.26)a
	0	0.00(2.45) d	0.00(2.02) c	0.00(0.72) b	0.00(0.32) b
野燕麦 <i>Avena fatua</i> L.	25	42.59(4.11) a	33.91(2.84) a	27.37(1.31) a	11.77(0.38) a
	50	62.24(2.49) b	70.08(1.29) b	47.81(0.94) b	15.35(0.36) a
	100	100.00(0.00) c	100.00(0.00) c	58.83(0.74) c	23.89(0.33) a
	200	100.00(0.00) c	100.00(0.00) c	68.58(0.57) c	34.20(0.28) a
	0	0.00(7.15) a	0.00(4.30) d	0.00(1.80) d	0.00(0.43) b
冬 葵 <i>Malva crispa</i> L.	25	37.04(1.42) a	78.38(0.32) a	29.98(0.34) a	16.84(0.05) a
	50	68.59(0.71) b	85.32(0.22) b	49.06(0.25) b	30.47(0.04) b
	100	83.11(0.38) bc	100.00(0.00) c	74.92(0.12) c	30.47(0.04) b
	200	100.00(0.00) c	100.00(0.00) c	82.00(0.09) c	33.84(0.04) b
	0	0.00(2.25) d	0.00(1.47) d	0.00(0.49) d	0.00(0.06) c
酸模叶蓼 <i>Polygonum lapathi folium</i> L.	25	46.09(0.68) a	64.89(0.28) a	84.34(0.28) a	15.52(0.04) a
	50	76.69(0.29) b	69.14(0.24) a	89.78(0.19) b	47.12(0.02) b
	100	81.72(0.23) b	100.00(0.00) b	90.59(0.17) b	49.63(0.02) b
	200	100.00(0.00) c	100.00(0.00) b	90.74(0.17) b	51.47(0.02) b
	0	0.00(1.26) d	0.00(0.78) c	0.00(1.82) c	0.00(0.04) a

注:括号内为根长、芽长、鲜质量、干质量平均数据,根长、芽长长度<2 mm 等同于未萌发。
Note: Data in brackets represent average of root length,shoot length,fresh mass,dry mass,length of root and shoots less than 2 mm are equal to no germination.

表 3 青稞白酒糟醅粗提物对作物生长影响($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Effects of crude extracts from hulless barley distiller’s grains on growth of plants

供试植物 Test plant	质量浓度/(mg/mL) Mass concentration	株高/cm Plant height	根长/cm Root length	鲜质量/g Fresh mass	干质量/g Dry mass
春油菜 <i>Brassica napus</i> L.	25	6.62±1.03 b	1.56±1.04 b	0.70±0.04 b	0.05±0.01 a
	50	5.96±1.01 bc	1.56±0.48 b	0.55±0.02 ab	0.04±0.02 d
	100	5.30±1.02 c	1.58±0.62 b	0.32±0.08 a	0.02±0.01 c
	200	4.99±1.45 c	1.69±0.62 b	0.24±0.05 a	0.01±0.00 b
	0	8.92±1.20 a	1.17±0.48 a	1.05±0.08 ab	0.06±0.01 a
春蚕豆 <i>Vicia faba</i> L.	25	36.10±7.12 b	12.13±2.43 b	80.07±1.05 a	9.36±0.18 b
	50	34.25±6.94 b	12.41±3.15 bc	76.76±11.77 ab	9.16±1.01 b
	100	32.55±6.90 b	12.62±4.13 c	74.03±10.32 b	9.15±0.43 b
	200	12.17±3.64 c	12.65±3.77 c	24.62±4.76 c	2.77±0.13 c
	0	42.25±3.83 a	11.95±1.34 a	81.85±3.61 a	10.73±0.17 a
豌豆 <i>Pisum sativum</i> L.	25	11.80±3.51 b	5.35±1.88 d	10.14±0.29 d	0.99±0.11 d
	50	11.75±2.34 b	6.10±3.10 b	8.19±2.96 c	0.83±0.18 cd
	100	11.05±1.69 b	6.23±1.60 c	7.55±0.18 b	0.70±0.03 c
	200	8.10±1.60 c	6.65±2.39 c	7.38±0.76 b	0.45±0.04 b
	0	15.13±1.90 a	5.05±2.32 a	12.96±2.47 a	1.06±0.23 a
春小麦 <i>Triticum aestivum</i> L.	25	18.64±2.83 a	4.98±1.13 b	7.13±0.78 a	1.37±0.31 a
	50	18.21±2.14 a	5.01±0.55 b	7.19±0.88 a	1.34±0.09 a
	100	18.30±3.02 a	5.10±1.22 bc	7.20±0.08 a	1.39±0.20 a
	200	18.19±3.01 a	5.26±0.89 c	7.08±1.15 a	1.39±0.15 a
	0	18.51±2.38 a	4.96±0.98 a	7.15±1.08 a	1.34±0.05 a

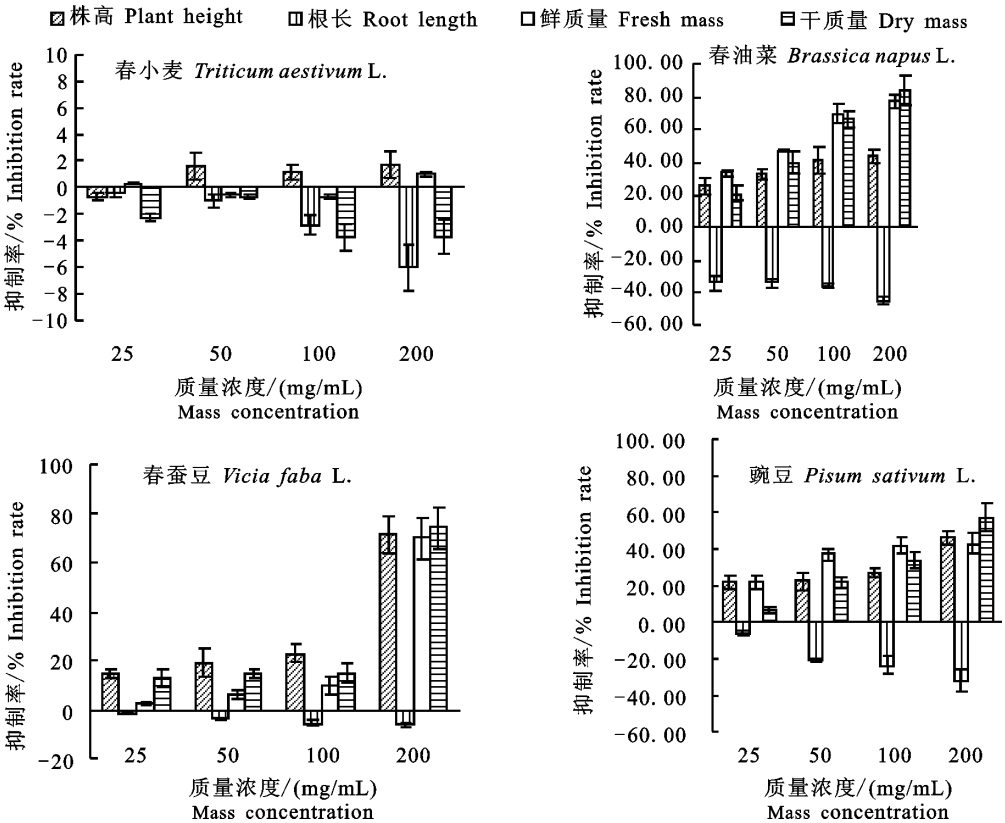


图 1 青稞白酒糟醅粗提物对作物的安全性影响

Fig. 1 Effects of crude extracts from distiller's grains of hulless barley wine on safety of experimental plants

2.3 青稞白酒糟醅粗提物对小麦田优势杂草野燕麦抑制效果

2.3.1 青稞白酒糟醅与土壤混配盆栽抑制效果

根据抑草作用效果及对作物安全性分析后,选取小麦田中优势杂草野燕麦为研究对象,采用种植土与青稞糟醅按不同质量比例混配后室内盆栽野燕麦,观察野燕麦出苗率及植株生长情况。如表 4 所示,野燕麦种子萌发及生长受到显著抑制,随青稞白酒糟醅比例增大,抑制作用越明显。野燕麦的根系发育抑制效应明显,在 4 种混配比例下,根系生长抑制率分别为 24.82%、29.99%、

34.86%、100.00%。

2.3.2 对野燕麦抑制效果 在野燕麦三叶一心期至四叶一心期,青稞白酒糟醅粗提物不同质量浓度的水溶液,茎叶喷施后,对野燕麦株高抑制率为 12.44%~43.28%,根长抑制率为-34.39%~48.73%,鲜质量抑制率为 30.33%~71.34%,干质量抑制率为 33.33%~72.55%。说明青稞糟醅粗提物水溶液通过茎叶喷施后,可对野燕麦植株生长明显抑制(表 5 和图 2)。在供试质量浓度为 200 mg/mL 时,野燕麦 7 d 时大部分已干枯死亡。

表 4 青稞白酒糟醅与土壤不同比例混配对盆栽野燕麦生长影响

Table 4 Effects of mixture of hulless barley distiller's grains and soil on growth of *Avena fatua* L.

$w(\text{糟醅}) : w(\text{种植土})$ $w(\text{Distilled grains}) : w(\text{Soil})$	株高/cm Plant height	根长/cm Root length	鲜质量/g Fresh mass	出苗率/% Germination rate
1 : 10	10.70±1.78(10.61) a	5.09±1.26(24.82) b	0.22±0.03(21.43) b	77.78
1 : 7	8.02±1.45(33.00) b	4.74±0.53(29.99) b	0.20±0.04(28.57) b	70.00
1 : 5	6.25±0.73(47.79) b	4.41±0.51(34.86) b	0.17±0.01(39.29) c	55.56
1 : 3	3.44±0.57(71.26) c	0.00±0.00(100.00) c	0.12±0.05(57.14) d	7.33
CK	11.97±2.78 a	6.77±0.76 a	0.28±0.03 a	88.89

注:括号内为根长、株高、鲜质量平均数据抑制率。

Note: Data in the brackets represent the average inhibition of plant height, root length, fresh mass.

表 5 青稞白酒糟醅粗提物不同浓度水溶液对野燕麦抑制效果($\bar{x}\pm s$)

Table 5 Suppressive effects of crude extracts from hulless barley distiller's grains on growth of *Avena fatua* L.

质量浓度/(mg/mL) Mass concentration	株高/cm Plant height	根长/cm Root length	鲜质量/g Fresh mass	干质量/g Dry mass
25	17.60±2.55 b	6.37±2.04 b	5.42±1.75 c	0.68±0.05 e
50	16.90±2.08 b	6.61±1.77 b	3.54±0.99 b	0.41±0.13 d
100	14.80±2.78 c	6.82±1.64 b	2.57±0.75 b	0.34±0.02 c
200	11.40±1.26 c	7.05±2.34 b	2.23±0.71 b	0.28±0.01 c
0	20.10±1.66 a	4.74±1.29 a	7.78±1.63 a	1.02±0.23 a

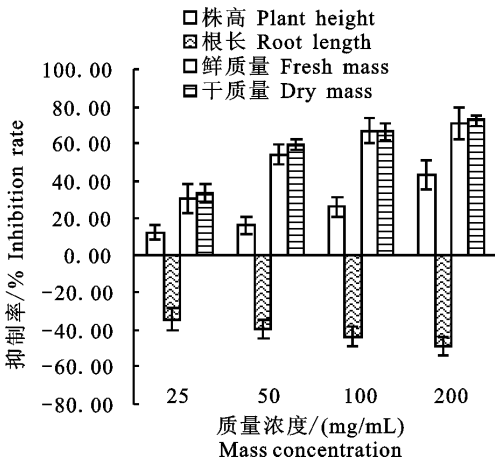


图 2 青稞白酒糟醅粗提物水溶液对野燕麦生长的抑制作用

Fig. 2 Suppressive effects of crude extracts from hulless barley distiller's grains on growth of *Avena fatua* L.

2.3.3 对野燕麦生理生化指标的影响 通过测试不同质量浓度青稞白酒糟醅粗提物水溶液对野燕麦植株叶片生理生化指标影响,由图 3 可知:青

稞白酒糟醅粗提物水溶液可使野燕麦叶片的光合作用受到影响,叶绿素质量分数明显降低,野燕麦叶片脱水失绿,随时间变化叶片完全失绿逐渐凋亡,且质量浓度越大,影响越明显。在质量浓度为 200 mg/mL 7 d 时大部分叶片已完全死亡。丙二醛是生物膜系统脂质过氧化产物之一,其含量高低指示脂质过氧化强度和膜系统的伤害程度,化感胁迫下,·O₂⁻含量的增加使幼苗受害严重,体内丙二醛质量摩尔浓度因此增加^[32]。青稞白酒糟醅粗提物水溶液喷施在野燕麦株上后,叶片上丙二醛质量摩尔浓度随即升高。在 25、50、100 mg/mL 质量浓度下,1、2、3 d 时,野燕麦叶片上丙二醛质量摩尔浓度明显升高后降低。而 200 mg/mL 时,野燕麦叶片中丙二醛质量摩尔浓度持续升高。另外,青稞白酒糟醅粗提物不同质量浓度水溶液喷施后,野燕麦叶片中 SOD 酶活性逐渐上升达到峰值后降低,说明植物体迅速做出应激反应。另外,随粗提物水溶液质量浓度的增加,SOD 酶的峰值出现时间发生延迟。

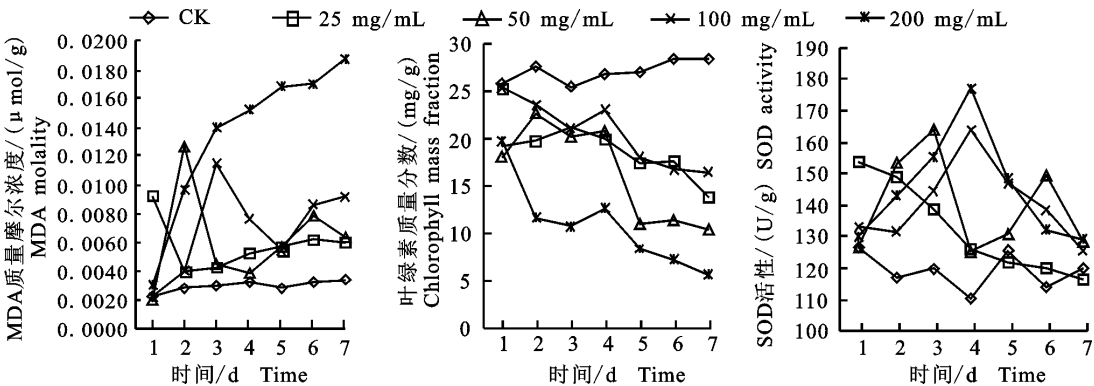


图 3 青稞白酒糟醅粗提物水溶液对野燕麦生理指标的影响

Fig. 3 Effects of crude extracts from hulless barley distiller's grains on the physiological indexes of *Avena fatua* L.

3 讨论与结论

3.1 青稞白酒糟醅粗提物对杂草种子的萌发及幼苗生长的影响

种子萌发时期既是植物生活史起点,也是对外界环境变化最为敏感时期^[33]。种子萌发率降

低可能会降低植物在群落中的多度,种子发芽速率降低,发芽时间延长,出苗延后,将严重影响植物对地上和地下资源的竞争能力^[34]。本研究结果表明,青稞白酒糟醅粗提物水溶液在 200 mg/mL 时,4 种供试杂草种子均未萌发,而 25、50、100 mg/mL 质量浓度下发芽率显著下降。且

在青稞白酒糟醅粗提物水溶液质量浓度为 100 mg/mL 时,2 种单子叶杂草幼苗停止生长,而 2 种双子叶供试种子的幼苗生长抑制率达到 80% 以上,说明青稞白酒糟醅粗提物中存在具有抑制单双子叶杂草种子萌发及幼苗生长的活性物质。

3.2 青稞白酒糟醅粗提物对作物安全性的研究

青稞白酒糟醅粗提物不同质量浓度水溶液采用每盆 20 mL,喷施在 4 种作物上,供试作物春油菜、豌豆、春蚕豆植株的生长受到抑制,春油菜受到的影响最大,豌豆、春蚕豆次之。其株高、鲜质量、干质量受到明显抑制,但对根长的生长起到促进作用,是否由于 3 种作物受到外源物质的侵害后,通过根部伸长吸收土壤中的营养和水分,以求抵御伤害的作用机制是进一步研究中需要阐明的问题。而小麦植株的生长没有受到影响,说明青稞白酒糟醅粗提物中含有的除草活性物质具有被开发为小麦田防除单双子叶杂草的新型生物源除草剂的潜力。

3.3 青稞白酒糟醅粗提物对小麦田优势杂草野燕麦生长的影响

采用青稞白酒糟醅和种植土按不同质量比例混配后种植野燕麦,其出苗率显著下降,且株高、根长、鲜质量、干质量明显受到抑制。这与本研究培养皿法结果一致,尤其是野燕麦出苗后,其根部生长明显看出与对照处理的差异。说明青稞白酒糟醅对野燕麦种子胚根及胚芽的发育功能具有明显抑制作用。随后对二叶一心期至四叶一心期野燕麦植株采用青稞白酒糟醅水浸提液茎叶喷施后,发现低质量浓度下野燕麦生长受到延缓和抑制,随质量浓度增大,症状越明显。在供试质量浓度为 200 mg/mL 时,野燕麦大部分在 7 d 内死亡。而在试验中同样发现,野燕麦根部伸长,且随青稞白酒糟醅粗提物水溶液质量浓度增大,影响越大,与本研究作物安全性试验中 2 种阔叶作物根部情况一致。青稞白酒糟醅粗提物对野燕麦作用的机制及野燕麦受外源物质侵害后植株生理性状的改变需进一步深入研究。

3.4 青稞白酒糟醅粗提物对小麦田优势杂草野燕麦生理指标的影响

植物新陈代谢过程中,组织内及细胞内不断产生活性氧,SOD 等保护性酶协同作用可及时清除活性氧,使植物体内活性氧的产生和清除处于动态平衡,自由基含量维持在一个较低水平,从而可避免活性氧对细胞造成伤害^[35]。本研究结果

表明,青稞白酒糟醅粗提物水溶液通过茎叶喷施后,野燕麦体内的 SOD 活性增强,达到峰值后降低,且随供试质量浓度的增大,峰值出现的时间推迟。植物为了适应逆境条件,会主动增加叶片细胞 MDA 质量摩尔浓度^[36],本研究结果显示,青稞白酒糟醅粗提物水溶液在质量浓度 100 mg/mL 以下时,野燕麦叶片中 MDA 质量摩尔浓度均会出现峰值随后降低,但在 200 mg/mL 供试质量浓度下,在野燕麦死亡前,其体内 MDA 持续升高。分析此结果,是否由于在高质量浓度水溶液喷施于叶面上后,由于质量浓度过高不能透过蜡质层进入叶片,使其 SOD、MDA 质量摩尔浓度出现的最大峰值时间较低浓度推后。而低质量浓度(25 mg/mL)下喷施后 1 d,野燕麦叶片的 SOD、MDA 质量摩尔浓度均达到峰值,而随着质量浓度的增加,其峰值出现的时间延后。本研究结果与此推论吻合,最适质量浓度范围需进一步研究。

叶绿素质量分数是植物体光合作用的重要指标,通过茎叶喷施青稞糟醅粗提物水溶液后,野燕麦叶片中叶绿素质量分数测定结果表明,1 d 后野燕麦叶片叶绿素质量分数明显降低,叶片失绿萎蔫。结合目测观察结果分析,青稞白酒糟醅粗提物水溶液对野燕麦光合作用有显著影响。

本研究结果发现青稞白酒糟醅不仅可抑制单、双子叶杂草种子萌发及幼苗生长,同时可通过影响其生理功能从而显著抑制三叶至四叶期野燕麦植株生长。在对作物安全性方面的测定表明,对供试作物小麦生长安全。白酒的生产是以大曲微生物、糟醅微生物、窖泥微生物等复杂微生物的物质能量代谢过程为前提,其中糟醅微生物是浓香型白酒、酱香型白酒等白酒风味品质的菌源基础^[37]。探明青稞白酒糟醅中除草活性物质是何种微生物的次生代谢产物,或存在于青稞原料自身的次生代谢产物在酿酒过程中发生了转化,是进一步研究的重点。将青稞白酒糟醅作为新型来源,从中发现具有抑草活性的化合物,将其开发为生物源除草剂,对化学除草剂的减量使用、糟醅废物利用、保护生态环境具有重要意义。

参考文献 Reference:

- [1] BASTIAANS L, PAOLINI R, BAUMANN D T. Focus on ecological weed management; what is hindering adoption? [J]. *Weed Research*, 2008, 48: 481-491.

[2] 强 胜,陈世国.生物除草剂研发现状及其面临的机遇与挑战[J].杂草科学,2011,29(1):1-6.
QIANG SH, CHEN SH G. Current status of bioherbicide research and development and its opportunities and challenges [J]. *Weed Science*, 2011, 29(1): 1-6 (in Chinese with English abstract).

[3] FERNANDO B P, EMILIO A L, DAVID J M, *et al.* Relating rice traits to weed competitiveness and yield: a path analysis [J]. *Weed Science*, 2006, 54: 1122-1131.

[4] SARMAH A K, SABADIE J. Hydrolysis of sulfonylurea herbicides in soils and aqueous solutions [J]. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2003, 50 (22): 6263-6265.

[5] 周军英,程 燕.农药生态风险评价研究进展[J].生态与农村环境学报,2009,25(4):95-99.
ZHOU J Y, CHENG Y. Advancement in the study of pesticides ecological risk assessment [J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2009, 25 (4): 95-99 (in Chinese with English abstract).

[6] PRADO J R, SEGERS G, VOELKER T, *et al.* Genetically engineered crops: from idea to product [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2014, 65: 769-790.

[7] CZAJA K, GRALCZYK K, STRUCINSKI P, *et al.* Biopesticides-towards increased consumer safety in the European Union [J]. *Pesticide Management Science*, 2015, 71 (1): 3-6.

[8] GREEN J M. Current state of herbicides in herbicide-resistant crops [J]. *Pesticide Management Science*, 2014, 70(9): 1351-1357.

[9] 黄顶成,尤民生,侯有明,等.化学除草剂对农田生物群落的影响[J].生态学报,2005,25(6):1451-1458.
HUANG D CH, YOU M SH, HOU Y M. Effects of chemical herbicides on bio-communities in agroecosystem[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25 (6): 1451-1458 (in Chinese with English abstract).

[10] 李 贵,吴竞仑,王一专,等.不同水稻品种抑制杂草潜力的田间评价[J].中国农业科学,2010,43(5):965-971.
LI G, WU J L, WANG Y ZH, *et al.* Field evaluation of suppressive effect of different rice varieties on weeds in paddy field[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(5): 965-971 (in Chinese with English abstract).

[11] 陈世国,强 胜.生物除草剂的研究与开发的现状及未来的发展趋势[J].中国生物防治学报,2015,31(5):770-779.
CHEN SH G, QIANG SH. The status and future directions of bioherbicide study and development [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2015, 31 (5): 770-779 (in Chinese with English abstract).

[12] 谢普清,杨 剑.植物源除草活性产物研究[J].安徽农业科学,2011,39(17):10307-10309,10320.
XIE P Q, YANG J. Research progress of plant-derived herbicidal active products [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39(17): 10307-10309, 10320 (in Chinese with English abstract).

[13] 施安辉.国内白酒工业固体糟醅环保生态利用的现状 & 前景[J].中国酿造,2006(3):4-6.
SHI AN H. Present and future of environmentally friendly distiller's grains in China [J]. *China Brewing*, 2006(3): 4-6 (in Chinese with English abstract).

[14] 王印召,吴正云,杨 健,等.白酒丢糟资源化利用的研究进展[J].酿酒科技,2013(9):86-89.
WANG Y ZH, WU ZH Y, YANG J, *et al.* Research progress in the reclamation of distiller's grains [J]. *Liquor-Making Science and Technology*, 2013(9): 86-89 (in Chinese with English abstract).

[15] 任海伟,张 飞,张 轶,等.白酒糟醅水解液摇瓶发酵生产木糖醇的工艺优化[J].农业工程学报,2012,28(10):287-292.
REN H W, ZHANG F, ZHANG Y, *et al.* Process optimization for producing xylitol by shaking-flask fermentation from distillers grains hydrolysates[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2012, 28(10): 287-292 (in Chinese with English abstract).

[16] 谢正军,曹镜明,万建华,等.白酒糟醅饲用价值分析与 应用探讨[J].饲料工业,2014,35(12):51-53.
XIE ZH J, CAO J M, WAN J H, *et al.* Analysis and application of distiller's grains for feed [J]. *Feed Industry*, 2014, 35(12): 51-53 (in Chinese with English abstract).

[17] 谭之磊,刘建辉,马 凯,等.白糟醅综合利用新技术[J].广东化工,2015,42(7):72-73.
TAN ZH L, LIU J H, MA K, *et al.* New technologies for comprehensive utilization of distillers grains [J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2015, 42 (7): 72-73 (in Chinese with English abstract).

[18] 曾铁林.白酒糟醅防除水田杂草试验初探[J].黑龙江环境通报,2010,34(3):72-74.
ZENG T L. Discussion on paddy field weeds control by distiller's grain [J]. *Heilongjiang Environmental Journal*, 2010, 34 (3): 72-74 (in Chinese with English abstract).

[19] 谢宗万.本草纲目药物彩色图鉴[M].北京:人民卫生出版社,2001:221.
XIE Z W. Drug Compendium of Materia Medica Color Illustrations [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2001: 221 (in Chinese).

[20] 王晓芹,代 宇,张宿义,等.青稞酒酿造研究进展[J].酿酒科技,2015(3):102-104.
WANG X Q, DAI Y, ZHANG S Y, *et al.* Research progress in highland barley wine production [J]. *Liquor-Making Science and Technology*, 2015 (3): 102-104 (in Chinese with English abstract).

[21] 赵扬扬,梁泽新,宋 川,等.浓香型白酒不同窖帽高度典型微生物变化趋势研究[J].酿酒科技,2015(10):28-31.
ZHAO Y Y, LIANG Z X, SONG CH, *et al.* The change

- trend of typical microbes in fermented grains of Nongxiang Baijiu(Liquor) after the change of pit cap height[J]. *Liquor-Making Science and Technology*, 2015(10): 28-31 (in Chinese with English abstract).
- [22] 赵 爽,杨春霞,窦 岫. 白酒生产中酿酒微生物研究进展[J]. 中国酿造, 2012, 1(4): 5-10.
- ZHAO SH, YANG CH X, DOU SH. Research advance about microbes in Chinese liquor production [J]. *China Brewing*, 2012, 1(4): 5-10 (in Chinese with English abstract).
- [23] 唐贤华,杨官荣,黄志瑜,等. 传统浓香型白酒窖池发酵糟醅研究现状及其展望[J]. 酿酒, 2014(3): 14-17.
- TANG X H, YANG G R, HUANG ZH Y, *et al.* A review of current research and outlook about the traditional Luzhou-flavor liquor fermentation in pits [J]. *Liquor Making*, 2014(3): 14-17 (in Chinese with English abstract).
- [24] ZHANG W X, QIAO Z W, TANG Y Q, *et al.* Analysis of the bacterial community in Zaopei during production of Chinese Luzhou flavor liquor [J]. *Journal of the Institute of Brewing*, 2005, 111(2): 215- 222.
- [25] 陈 玲,曾丽云,袁玉菊,等. 浓香型白酒大曲与入窖糟醅细菌多样性的对比[J]. 酿酒科技, 2015(10): 39-43.
- CHEN L, ZENG L Y, YUAN Y J, *et al.* Comparative analysis of bacteria diversity in Nongxiang Daqu and in Pit-entry fermented grains [J]. *Liquor Making Science and Technology*, 2015(10): 39-43 (in Chinese with English abstract).
- [26] 李 翔,杨顺义,沈慧敏,等. 黄花棘豆水浸提液对燕麦的化感作用及其作用机理[J]. 西北植物学报, 2011, 31(7): 1367-1375.
- LI X, YANG SH Y, SHEN H M, *et al.* Allelopathy and its mechanism of extract solution of oxytropis ochrocephala on *Avena sativa* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sonica*, 2011, 31(7): 1367-1375 (in Chinese with English abstract).
- [27] WEIDENHAMER J D, HARTNETT D C, ROMEO J T. Density dependent phytotoxicity: distinguishing resource competition and allelopathy interference in plants [J]. *Journal of Applied Ecology*, 1989, (26): 613-624.
- [28] 曾任森. 化感作用研究中的生物测定方法综述[J]. 应用生态学报, 1999, 10(1): 123-126.
- ZENG R S. Review on bioassay methods for allelopathy research [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1999, 10(1): 123- 126 (in Chinese with English abstract).
- [29] 魏卫东. 甘肃马先蒿化感作用对禾本科牧草种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 种子, 2010, 29(12): 48-51.
- WEI W D. Effect of allelopathic action of pedicularis kansuensis on seed germination and seedling growth in graminaceous grass species [J]. *Seed*, 2010, 29(12): 48-52 (in Chinese with English abstract).
- [30] 张晓珂,梁文举,姜 勇. 东北地区不同小麦品种对黑麦草的化感作用[J]. 应用生态学报, 2006, 17(7): 1191-1195.
- ZHANG X K, LIANG W J, JIANG Y. Allelopathic potentials of different wheat varieties in Northeast China against ryegrass [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(7): 1191-1195 (in Chinese with English abstract).
- [31] 李 玲. 植物生理学模块实验指导[M]. 北京: 科学出版社, 2009.
- LI L. Plant Physiology Module Experimental Guidance [M]. Beijing: Science Press, 2009 (in Chinese).
- [32] SMIRNOF N. Antioxidant systems and plant response to the environment[M]. Oxford: Bins Scientific Press, 1995: 217-243.
- [33] 马红媛,梁正伟,孔祥军,等. 盐分、温度及其互作对羊草种子发芽率和幼苗生长的影响[J]. 生态学报, 2008(28): 4710-4717.
- MA H Y, LIANG ZH W, KONG X J, *et al.* Effects of salinity, temperature and their interaction on the germination percentage and seedling growth of *Leymus chinensis* (Trin.) Tzvel. (Poaceae) [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008(28): 4710-4717 (in Chinese with English abstract).
- [34] 万欢欢,刘万学,万方浩,等. 紫茎泽兰叶片凋落物对入侵地 4 种草本植物的化感作用[J]. 中国农业生态学报, 2011, 19(1): 130-134.
- WANG H H, LIU W X, WAN F H, *et al.* Allelopathic effect of *Ageratina adenophora* (Spreng.) leaf litter on four herbaceous plants in invaded regions [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2011, 19(1): 130-134 (in Chinese with English abstract).
- [35] 张凤银,雷 刚,张 萍,等. 水杨酸对低温胁迫下藜豆种子萌发和幼苗生理特性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2012, 40(4): 205-209, 216.
- ZHANG F Y, LEI G, ZHANG P, *et al.* Effects of salicylic acid on the germination of velvetbean seeds and phylogical characteristics of velvetbean seedlings under cold stress [J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2012, 40(4): 205-209, 216 (in Chinese with English abstract).
- [36] 张 凯,慕小倩,孙晓玉,等. 温度变化对油菜及其伴生杂草种苗生长和幼苗生理特性的影响[J]. 植物生态学报, 2013, 37(12): 1132-1141.
- ZHANG K, MU X Q, SUN X Y, *et al.* Effects of temperature change on seed germination, seedling growth and physiological characteristics in rape and companion weeds [J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2013, 37(12): 1132-1141 (in Chinese with English abstract).
- [37] 黄 丹,刘超兰,张文学. 荧光定量 PCR 在研究白酒发酵糟醅优势菌种的应用[J]. 酿酒科技, 2014(4): 49-52.
- HUANG D, LIU CH L, ZHANG W X. The application of qPCR in the research on dominant bacteria in fermented grains [J]. *Liquor-Making Science and Technology*, 2014(4): 49-52 (in Chinese with English abstract).

Study on Inhibitory Activity of Crude Extracts from
Distiller’s Grains of Hulless Barley against Weeds

LI Wei^{1,2,3}, SHEN Shuo¹ and GUO Qingyun^{1,2,3}

(1. Qinghai Academy of Agriculture and Forestry Science, Xining 810016, China; 2. Xining Scientific Observing and Experimental Station of Crop Pest, Ministry of Agriculture of China, Xining 810016, China; 3. Key Laboratory of Agricultural Integrated Pest Management in Qinghai Province, Xining 810016, China)

Abstract To study the inhibitory activity of crude extracts from hulless barley distiller’s grains against weeds, The crude extracts from hulless barley distiller’s grains were obtained by ultrasonic extraction in cold methanol. the inhibitory activity of crude extract against weeds were tested by method of seed germination and pot experiment; the biological and biochemical indexes of dominant weeds were measured by thiobarbituric acid method and acetone extraction method, respectively. The results showed when the mass concentration was 100 mg/mL that inhibition rates of the crude extracts against seeds growth in four monocotyledon and dicotyledon weeds were 100 % and 80 %, respectively. The safety evaluation of crops showed that crude extracts had a high risk to rape(*Brassica napus* L.), broad bean(*Vicia faba* L.), and pea(*Pisum sativum* L.), but safe to spring wheat(*Triticum aestivum* L.). When the concentration of crude extracts reached 200 mg/mL, inhibitory effect on dominant weed, *Avena fatua* L. in wheat field was significant, and this caused change of biological and biochemical indexes of *Avena fatua* L. at defferent degree.

Key words Hulless barley distiller’s grains; Inhibitory activity against weed; *Avena fatua* L.; Safety

Received 2016-05-04 **Returned** 2016-06-15

Foundation item National Natural Science Foundation of China (No. 31260438); Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest(No. 201303022).

First author LI Wei, male, master, associate research fellow. Research area: integrated management of crop weed. E-mail: lwbabylw@163. com

Corresponding author GUO Qingyun, female, master, research fellow. Research area: integrated management of crop weed. E-mail: guoqingyunqh@163. com

(责任编辑:史亚歌 Responsible editor: SHI Yage)