

基于GC-MS代谢组学分析间作玉米下地黄根际土壤中挥发性有机物特征

古力¹, 陶晓赛², 王丰青³, 李明杰¹, 杨超飞³, 孙瑞斌⁴, 谢彩侠^{1,2*}, 张重义^{1*}

(1. 福建农林大学, 福州 350002; 2. 河南中医药大学, 郑州 450046;

3. 河南农业大学, 郑州 450002; 4. 河南省百疗怀药科技开发有限公司, 河南焦作 454000)

[摘要] 目的:分析地黄-玉米间作模式下地黄根际土壤挥发性有机物特征,筛选间作玉米下地黄根际土壤中特殊的信号物质,为地黄连作障碍中化感物质的研究提供依据。方法:本实验以7~10月份玉米间作及地黄单作模式下的地黄根际土壤为研究对象,利用气相色谱-质谱法(GC-MS)分析其乙酸乙酯部位中的挥发性有机物,并应用SIMCA 14.1对数据进行主成分分析(PCA),聚类分析(HCA)及正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)处理,筛选2种模式下挥发性有机物中潜在的差异成分。结果:间作及单作模式下地黄根际土壤中的挥发性有机物种类主要为烃类、醇类、酯类、酮类、酰胺类、酸类等物质,其中间作模式下烃类、酯类、酰胺类成分的平均相对质量分数分别为58.46%,32.15%,5.42%,而单作模式下则分别为37.27%,36.11%,21.13%;PCA与HCA分析结果表明间作与单作两种模式下根际土壤乙酸乙酯部位的挥发性有机物特征可以明显地被分为两类;基于OPLS-DA分析的潜在差异成分筛选结果表明,从两种模式下的根际土壤中筛选到邻苯二甲酸二丁酯,(Z)-9-油酸酰胺,间苯二甲酸二辛酯,邻苯二甲酸(2-丙基戊基)二酯,正二十六烷,二十八烷,正二十一烷等差异达到显著水平的几种挥发性有机物。结论:地黄-玉米间作模式对地黄根际土壤中的挥发性有机物有一定的影响,筛选到的几种差异成分对地黄生长及质量特征的影响还有待于进一步研究。

[关键词] 间作模式; 地黄; 玉米; 根际土壤; 气相色谱-质谱法; 挥发性有机物

[中图分类号] R284.2;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)10-0102-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20210617

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210317.1356.001.html>

[网络出版日期] 2021-3-18 8:55

Analysis of Volatile Organic Compounds in Rhizosphere Soil of *Rehmannia glutinosa* Under Intercropping *Zea mays* Based on GC-MS Metabonomics

GU Li¹, TAO Xiao-sai², WANG Feng-qing³, LI Ming-jie¹, YANG Chao-fei³, SUN Rui-bin⁴,
XIE Cai-xia^{1,2*}, ZHANG Zhong-yi^{1*}

(1. Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;

2. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;

3. Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

4. Henan Bailiao Huaiyao Science and Technology Development Co. Ltd., Jiaozuo 454000, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the composition characteristics of rhizosphere soil under *Rehmannia glutinosa*-*Zea mays* intercropping model, and screen out special signal substances in rhizosphere soil of *R. glutinosa* under intercropping *Z. mays*, so as to provide the basis for the study of allelopathic substances in continuous cropping obstacle of *R. glutinosa*. **Method:** In this experiment, rhizosphere soils of *R. glutinosa*

[收稿日期] 20210221(011)

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2017YFC1700705)

[第一作者] 古力,博士,讲师,从事中药资源可持续利用研究,E-mail:guli5101@163.com

[通信作者] * 谢彩侠,博士,教授,从事中药质量控制研究,E-mail:nanyang_xcx@163.com;

* 张重义,博士,教授,从事中药资源可持续利用研究,E-mail:zyzhang@fafu.edu.cn

under *Z. mays* intercropping and *R. glutinosa* single cropping models in July, August, September and October were taken as the research objects, and the volatile organic compounds in ethyl acetate fraction were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Principal component analysis (PCA), hierarchical cluster analysis (HCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) analysis were performed on the data by SIMCA 14.1 to screen out potential differences in volatile organic compounds between the two models. **Result:** The types of volatile organic compounds in intercropping and single cropping models were mainly hydrocarbons, alcohols, esters, ketones, amides, acids and other substances. Specifically, the average relative contents of hydrocarbons, esters and amides in intercropping model were 58.46%, 32.15% and 5.42% respectively, while the relative contents of hydrocarbons, esters and amides in single cropping model were 37.27%, 36.11% and 21.13%. The results of PCA and HCA showed that the characteristics of volatile organic compounds in the ethyl acetate fraction of rhizosphere soil under intercropping and single cropping models could be clearly divided into two categories, the screening results of potential differential components based on OPLS-DA analysis indicated that various components, such as dibutyl phthalate, (*Z*)-9-oleamide, β -caryophyllene, dioctyl iso-phthalate, phthalate (2-propylamyl) diester, *n*-hexadecane, octadecane, *n*-heneicosane, were screened from rhizosphere soil under the two models. **Conclusion:** The *R. glutinosa*-*Z. mays* intercropping model has certain effects on the volatile organic compounds in the rhizosphere soil of *R. glutinosa*, and the effect of the selected components on the growth and quality characteristics of *R. glutinosa* still need to be further studied.

[Key words] intercropping pattern; *Rehmannia glutinosa*; *Zea mays*; rhizosphere soil; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); volatile organic compounds

地黄(*Rehmannia glutinosa*)为玄参科地黄属多年生草本植物,以块根入药,其性凉,味甘、苦,具有滋阴补肾、养血补血、凉血的功效^[1],是著名“四大怀药”之一,但地黄在生产中存在着严重的连作障碍,已经成为限制地黄产业健康发展的瓶颈。目前国内学者围绕连作障碍产生机制等问题分别从地黄植株响应时期^[2]、分子机制^[3-5]、化感物质^[6-8]、根际微生物^[9-10]等方面进行了大量的研究,发现地黄的连作障碍是多种因素作用导致根际微生态环境发生变化的一种复杂现象。近年来研究发现通过地黄-大蒜^[11]、玉米-丹参^[12]、大蒜-黄瓜^[13]间作等种植模式可以明显改善地黄、丹参、黄瓜等植物的连作障碍。前期研究发现,间作玉米后可明显降低由于涝害引起的单作地黄死亡的现象,而且怀地黄产区的药农在长期种植地黄的过程中,发现在种植过地黄的土壤中种植玉米等可以改善地黄的连作障碍,这些经验表明间作情况下玉米可能与地黄通过根际互作影响了地黄的微生态环境,使其趋于健康的生长状态。植物与植物根际的相互作用要依赖于合适的化学信号,挥发性有机物(VOCs)作为根际土壤一类特殊的信号物质,具有低相对分子质量、低沸点、高蒸气压、弱极性、亲脂性的特点^[14],具有能够长距离传播、介导有机体间非直接接触的相互作用和低浓度即可被感知等优势,在长距离的根际

互作中起着重要作用。而且挥发性有机物作为根际微生态环境的重要组成部分,在改变微生物的种群结构方面起着重要作用^[15-16]。

玉米和地黄作为怀药产区重要的粮食和药材来源,如果可以发现间作玉米条件下有利于促进地黄生长的根际化学信号物质,并将其应用于地黄的生产中,将有力推动怀地黄产业的健康发展,目前玉米-地黄间作模式下地黄根际土壤中VOCs的特征研究还未见报道。根际土壤中VOCs的提取一般采用乙酸乙酯和正己烷等有机溶剂进行萃取,其中以乙酸乙酯为溶剂浸提的有机成分的总量和种类较多,而气相色谱-质谱法(GC-MS)的代谢组学是目前检测该信号物质常用的技术。本研究利用GC-MS结合多元统计分析方法对玉米-地黄间作及地黄单作2种模式下地黄生育期内根际土壤中乙酸乙酯部位VOCs进行分析,筛选间作玉米下在地黄根际土壤中产生的有利于地黄生长的特殊信号物质,从化学生态学角度初步阐明玉米对地黄生长的促进作用,为地黄连作障碍的缓解提供理论依据。

1 材料

7000-7980A型气相色谱-质谱联用仪(美国Agilent); ZHPL-200型立式振荡培养箱(天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司); 101-3AB型电热鼓风干燥箱(天津泰斯特); AL204型1/1万分析天平(梅特

勒-托利多仪器上海有限公司);KQ-700DB型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,40 kHz,700 W)。乙酸乙酯(分析纯,天津市致远化学试剂有限公司);乙酸乙酯(色谱纯,山东禹王和天下新材料有限公司)。

样地位于河南省焦作市武陟县北郭乡百疗怀药有限公司实验基地,北纬35°12',东经113°41',该地区气候条件属暖温带大陆性季风气候,年平均气温14.4℃,年降水量577.1 mm,无霜期211 d。以当地地黄品种“金九”作为研究对象,考虑到边际效应、坡度、肥力差异等因素,间作处理的旁边设置空白对照(即金九地黄单作模式)。地黄、玉米分别于4月16号,5月11号种植,地黄株距20 cm,地黄-玉米间作行数比例为6:2,间作及地黄单作均设置3次重复,每个小区面积为6 m×6 m,实验期间的管理按照当地常规操作进行。分别在种植地黄后7,8,9,10月份取样,沿着地黄植株根系周围挖开土壤取出完整地黄根系土壤,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,每次取样10~15株,将其根际土壤充分混合均匀后阴干、研磨,过60目筛,置干燥器中备用。玉米于8月15号采收。土壤样品信息及编号分别为S-7(单作-7月),I-7(间作-7月),S-8(单作-8月),I-8(间作-8月),S-9(单作-9月),I-9(间作-9月),S-10(单作-10月),I-10(间作-10月)。

2 方法

2.1 供试品溶液的制备 称取地黄根际土壤约20.00 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入乙酸乙酯25 mL,30℃摇床1 h,静置24 h,超声1 h,放冷至室温,30℃浓缩至2 mL,过0.45 μm微孔滤膜,即得供试品溶液。

2.2 VOCs的GC-MS分析条件 采用DB-5MS色谱柱(0.25 mm×30 m,0.10 μm);载气He和N₂;离子源温度230℃;乙酸乙酯部位:进样口温度250℃;流速1.0 mL·min⁻¹;程序升温,50℃保持2 min,以10℃·min⁻¹升温到130℃并保持4 min,5℃·min⁻¹升温到150℃并保持1 min,4℃·min⁻¹升温到210℃并保持4 min,5℃·min⁻¹升温到250℃并保持5 min。进样量5 μL,不分流;电离方式电子轰击(EI),电子能量70 eV;溶剂延迟时间9 min;质量扫描范围m/z 40~450;采集方式SCAN扫描。应用NIST质谱检索数据库,通过计算机检索系统进行未知物的鉴定。

2.3 数据统计分析 用面积归一化法计算地黄根

际土壤乙酸乙酯部位VOCs的总离子流图中各组分相对含量,各成分的质谱图通过质谱库检索、人工图谱解析、文献核对等多种方法进行综合分析鉴定。利用Agilent Mass Hunter Qualitative Analysis软件以峰面积比大于0.001为标准对峰进行过滤,以色谱峰谷间连线为基线对峰进行积分,根据保留时间将峰进行对齐,采用内标归一化处理数据。利用SIMCA 14.1统计软件对归一化后的数据进行多元统计分析,首先,进行主成分分析(PCA)与聚类分析(HCA),确定2种模式下根际土壤间乙酸乙酯部位VOCs是否存在差异;其次,利用Pareto标度化预处理,对其进行正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA),进一步分析模式间的化学成分差异,并输出得分图和置换检验图;最后,对变量投影重要性(VIP)值>1的成分进行t检验计算P,筛选VIP值>1且P<0.05的成分为差异物质。

3 结果与分析

3.1 两种模式下地黄根际土壤乙酸乙酯部位VOCs种类及含量分析 GC-MS分析表明2种模式下地黄根际土壤乙酸乙酯部位共检测到35种VOCs,其中烃类11个、酯类13个、酮类5个、酸类1个、醇类3个、酰胺类2个。间作模式下根际土壤中烃类、酯类、酰胺类成分的平均相对质量分数分别为58.46%,32.15%,5.42%,而单作模式下3类成分的平均相对质量分数分别为37.27%,36.11%,21.13%,其中烃类和酰胺类成分在2种模式下的相对含量差异较大。

2种模式下地黄根际土壤中相对含量较高的几种主要VOCs含量特征分析表明,间作模式下正二十一烷、二十八烷、正二十四烷、间苯二甲酸二辛酯相对含量整体上高于单作模式,而邻苯二甲酸二丁酯,(Z)-9-油酸酰胺,邻苯二甲酸(2-丙基戊基)二酯的相对含量则低于单作模式。见图1,表1。

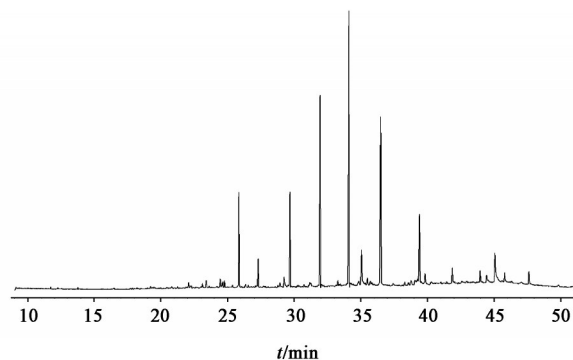


图1 地黄根际土壤乙酸乙酯部位VOCs的GC-MS总离子流
Fig. 1 GC-MS total ion flow chart of VOCs in ethyl acetate of rhizosphere soil of *Rehmannia glutinosa*

表1 2种模式下地黄根际土壤乙酸乙酯部位VOCs种类及相对含量

Table 1 Types and relative contents of VOCs in ethyl acetate fraction of rhizosphere soil of *Rehmannia glutinosa* under two modes

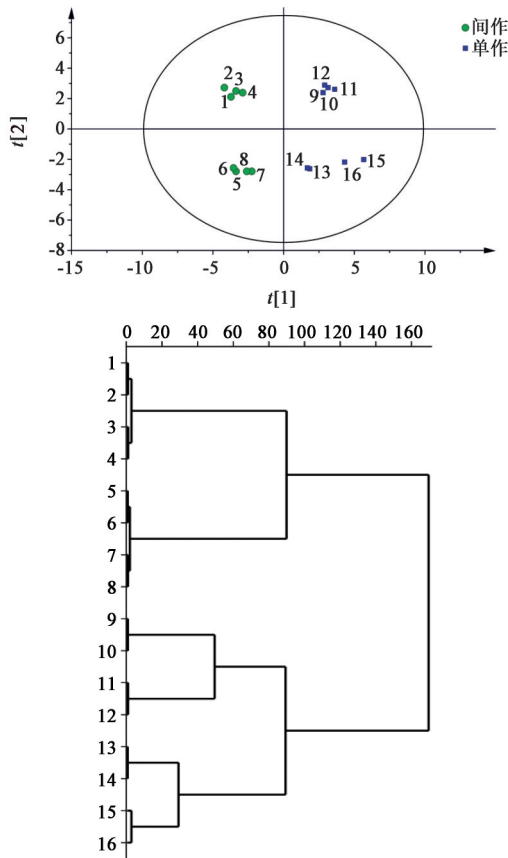
峰号	t_R /min	化合物	分子式	间作模式相对质量分数/%				单作模式相对质量分数/%			
				I-7	I-8	I-9	I-10	S-7	S-8	S-9	S-10
1	11.733	β -石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	0.32	0.25	0.30	0.23	1.36	2.23	2.64	3.34
2	12.566	4-羟基-2-丁酮	C ₄ H ₈ O ₂	0.05	0.05	0.03	-	0.25	0.31	0.36	0.42
3	19.304	甲氧基乙酸葵酯	C ₁₃ H ₂₆ O ₃	0.97	0.68	-	-	0.02	0.10	0.24	-
4	19.475	草酸-6-乙基辛-3-基异己基酯	C ₁₈ H ₃₄ O ₄	-	-	0.12	0.07	0.47	-	0.20	1.60
5	22.080	正十九烷	C ₁₉ H ₄₀	0.22	0.10	0.24	0.22	0.52	0.32	0.82	0.99
6	22.433	6-甲基-2-十三烷酮	C ₁₄ H ₂₈ O	-	0.05	0.08	-	0.15	0.16	0.11	0.21
7	22.619	4-甲基-十八烷	C ₁₉ H ₄₀	1.01	0.91	-	-	0.07	0.15	0.00	0.16
8	23.113	植酮	C ₁₈ H ₃₆ O	0.47	0.37	0.52	0.38	0.06	0.10	0.15	0.24
9	23.393	对-苯甲酸-2-乙基己基酯	C ₁₆ H ₂₄ O ₂	1.50	1.46	0.73	0.94	0.46	3.28	-	0.16
10	23.618	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮	C ₁₈ H ₃₆ O	-	-	0.09	0.19	0.23	0.30	0.30	0.31
11	24.186	邻苯二甲酸-庚-4-基异丁基酯	C ₁₉ H ₂₈ O ₄	0.36	0.56	-	0.13	0.27	0.55	0.52	0.53
12	24.450	14-氯-1-十四醇	C ₁₄ H ₂₉ ClO	0.47	0.59	0.33	0.88	1.55	1.68	0.87	2.47
13	24.573	(Z)-9-十八烯酸-苯甲酯	C ₂₅ H ₄₀ O ₂	0.12	-	-	0.21	0.15	0.11	0.09	0.35
14	24.769	7,9-二叔丁基-1-氧杂螺(4,5)癸-6,9-二烯-2,8-二酮	C ₁₇ H ₂₄ O ₃	0.22	-	0.22	0.24	0.61	0.40	0.39	1.05
15	25.361	邻苯二甲酸十一烷基丁酯	C ₂₃ H ₃₆ O ₄	0.34	0.29	0.19	0.21	0.18	0.16	0.22	0.25
16	25.841	邻苯二甲酸二丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	9.27	10.92	1.90	2.08	55.51	2.43	2.18	4.20
17	26.017	十六烷酸甲酯	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	0.21	0.50	-	0.13	0.19	0.62	0.16	0.55
18	26.345	油酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	-	-	0.24	0.45	0.02	0.18	1.44	0.01
19	26.556	1-甲基二十四烷	C ₂₅ H ₅₂	-	-	0.09	0.19	0.34	-	0.04	0.51
20	27.286	2,6,10-三甲基十四烷	C ₁₇ H ₃₆	1.10	0.97	1.57	1.76	0.06	0.09	-	0.13
21	29.220	2-(十八氧基)-乙醇	C ₂₀ H ₄₂ O ₂	0.87	1.10	0.90	1.80	0.40	0.78	1.44	1.18
22	29.666	正二十一烷	C ₂₁ H ₄₄	4.85	3.81	7.33	7.04	0.67	1.08	0.98	2.10
23	31.923	二十八烷	C ₂₈ H ₅₈	10.06	8.16	17.11	15.58	1.64	4.11	6.61	5.66
24	33.270	2-甲基二十二烷	C ₂₃ H ₄₈	0.44	0.25	-	0.32	0.20	0.39	-	0.16
25	34.073	正二十六烷	C ₂₆ H ₅₄	15.44	13.57	27.21	25.65	4.53	16.89	25.24	20.14
26	35.038	(Z)-9-油酸酰胺	C ₁₈ H ₃₅ NO	2.99	3.48	4.35	5.69	2.98	10.29	15.64	12.26
27	36.468	正二十四烷	C ₂₄ H ₅₀	10.85	9.66	19.69	18.39	3.75	-	18.40	14.75
28	39.391	1,2-苯二甲酸-异十二烷基辛酯	C ₂₆ H ₄₂ O ₄	2.43	4.00	4.34	7.20	1.84	3.91	4.22	10.41
29	39.827	邻苯二甲酸(2-丙基戊基)二酯	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	7.60	6.64	2.55	2.09	1.42	5.59	8.11	6.28
30	41.869	7-甲基-8-十四烯-1-醇乙酸酯	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	0.77	0.90	1.63	1.71	3.83	7.69	1.26	2.19
31	43.955	1-三十七烷醇	C ₃₇ H ₇₆ O	1.14	1.33	1.53	1.18	0.19	1.14	1.40	1.08
32	44.45	间苯二甲酸二辛酯	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	20.27	23.18	2.50	0.17	0.87	1.42	1.42	1.85
33	45.052	(Z)-13-芥酸酰胺	C ₂₂ H ₄₃ NO	1.17	0.85	0.82	2.35	11.31	31.27	0.77	-
34	45.772	邻苯二甲酸二异壬酯	C ₂₆ H ₄₂ O ₄	1.86	3.35	0.93	0.60	0.82	0.91	2.25	2.39
35	47.614	正二十七烷	C ₂₇ H ₅₆	2.62	1.99	2.45	1.88	3.09	1.33	1.53	2.07

3.2 2种模式下地黄根际土壤样品VOCs的PCA

为了分析间作玉米后对地黄根际土壤VOCs特征的影响,对两种模式下地黄根际土壤乙酸乙酯部位VOCs归一化后的数据进行主成分分析,利用Outlier剔除异常样本,建立无监督的PCA模型,并

基于Word算法对根际土壤样品进行HCA,见图2。

PCA得分图中每个点代表一个根际土壤样品,椭圆为95%置信区间,由结果可知所有样品均位于可信区间内,两种模式各自聚为一类;HCA处理中纵坐标表示样品点间的距离,横坐标代表样品编



1, 2.S-7; 3, 4.S-8; 5, 6.S-9; 7, 8.S-10; 9, 10.I-7; 11, 12.I-8; 13, 14.I-9; 15, 16.I-10(图3同)

图2 2种模式下地黄根际土壤乙酸乙酯部位VOCs的PCA得分(A)和HCA(B)

Fig. 2 PCA score (A) and HCA cluster analysis (B) of VOCs in ethyl acetate fraction of rhizosphere soil of *Rehmannia glutinosa* under two modes

号,与PCA处理的样品编号一致,当样品间距离>91.050 1时,间作模式与单作模式各自分为两类。PCA与HCA处理结果一致性表明,间作与单作2种模式下地黄根际土壤VOCs特征存在差异,可以明显的区分开来。

3.3 2种模式下地黄根际土壤样品VOCs的OPLS-DA 为排除2种模式对根际土壤VOCs的组内干扰,进一步分析2种模式之间的差异性,对间作及单作两种模式组的地黄根际土壤VOCs特征进行OPLS-DA,见图3。由得分图可知,2种模式各自分布在两个不同的象限,说明在排除了组内干扰的情况下,2种模式间地黄根际土壤VOCs特征存在差异。为避免建立的OPLS-DA模型出现过拟合而影响分析结果的准确性,笔者利用200次Permutations test分别进行置换检验,结果显示置换后的 R^2 , Q^2 值均高于原始的 R^2 , Q^2 值,表明所建模型可靠,未出现过拟合现象。

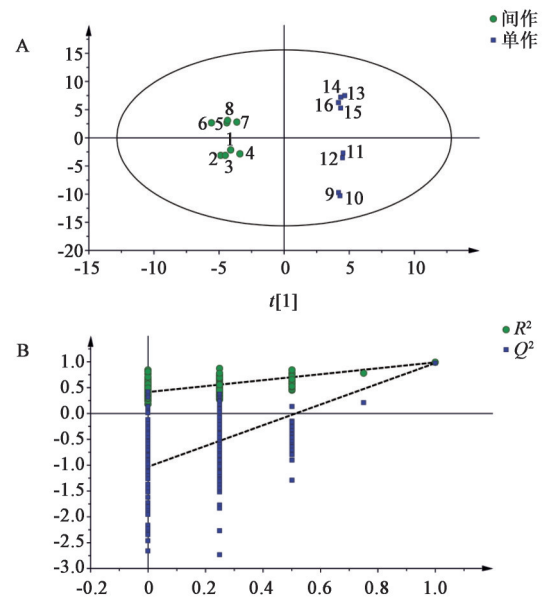


图3 2种模式下地黄根际土壤乙酸乙酯部位VOCs的OPLS-DA得分(A)和置换检验(B)

Fig. 3 OPLS-DA score and replacement test of VOCs in ethyl acetate fraction of rhizosphere soil of *Rehmannia glutinosa* under two modes

3.4 2种模式下地黄根际土壤VOCs潜在差异成分的筛选 PCA,HCA及OPLS-DA结果表明,2种模式下地黄根际土壤中VOCs特征具有明显差异,其中间作模式下7月和8月份的样品比较接近,9月和10月份的比较接近,而单作模式下7月与8月份明显被分为两类,9月与10月份则比较接近。为了分析间作模式下玉米对地黄根际土壤VOCs的影响,以2种模式下地黄与玉米处于间作期的7月份根际土壤为对象,利用建立的OPLS-DA模型筛选间作组与单作组中VIP值>1的VOCs成分,并进行t检验计算其P,选择VIP值>1且P<0.05的物质为潜在的差异成分,见表2,图4。结果表明,间作组与单作组地黄根际土壤在OPLS-DA模型中共得到8个VIP值>1的成分,其中7个成分在2种模式下的差异达到显著水平。间作模式下根际土壤中的邻苯二甲酸二丁酯和(Z)-13-芥酸酰胺含量显著下降,其中邻苯二甲酸二丁酯的差异达极显著水平;间苯二甲酸二辛酯、邻苯二甲酸(2-丙基戊基)二酯、正二十六烷、二十八烷、正二十一烷等则升高,达显著水平;正二十四烷的含量变化较大,但未达显著水平。

4 讨论

植物连作障碍的产生可能是在化感物质的介导下,土壤微生态环境失衡而引起的植物中毒现象^[17]。根际土壤中的VOCs包含了大量的根系分泌

表2 2种植模式下7月份地黄根际土壤中乙酸乙酯部位VOCs中潜在差异成分的筛选

Table 2 Screening of potential differential VOCs in ethyl acetate fraction of rhizosphere soil of *Rehmannia glutinosa* in July under two modes

种类	名称	间作组 VS 单作组		
		VIP 值	P	趋势
酰胺类	(Z)-13-芥酸酰胺	1.670 41	0.024	↓
酯类	邻苯二甲酸二丁酯	3.570 44	0.004	↓
	间苯二甲酸二辛酯	2.311 44	0.025	↑
	邻苯二甲酸(2-丙基戊基)二酯	1.304 17	0.022	↑
烷烃类	正二十六烷	1.731 96	0.022	↑
	二十八烷	1.522 77	0.035	↑
	正二十四烷	1.392 22	0.073	↑
	正二十一烷	1.073 32	0.024	↑

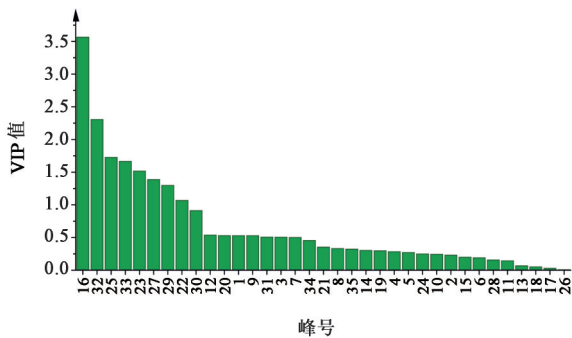


图4 两种模式下7月份地黄根际土壤中乙酸乙酯部位VOCs的VIP

Fig. 4 VIP values of VOCs in ethyl acetate fractions in rhizosphere soil of *Rehmannia glutinosa* in July under two models

物和微生物代谢产物,是植物-植物、植物-微生物之间发生根际互作的重要信号物质,这类物质可以显著影响植物生长^[18-20],是筛选植物化感物质的重要来源。本研究根据怀地黄种植过程中存在的问题和药农的种植经验,利用GC-MS和多元统计学分析方法对间作玉米下地黄根际土壤的VOCs特征进行分析,共筛选出包含烃类、酯类、酰胺类等在内的8个可能引起土壤VOCs变化的潜在差异成分,其中的二十八烷、二十一烷、二十六烷等烷烃类物质几乎存在于所有高等植物的根系分泌物中,他们在传递生物信息方面起着重要作用,而且多数物质在不同植物化感物质的研究文献中曾被多次报道过,属于典型化感物质^[21]。本研究结果显示,间作玉米下地黄根际土壤中某些烃类物质的含量显著升高。这些物质的变化是否与间作模式下地黄植株受玉米影响有关,他们对地黄生长及质量特征形成有何

影响,均需进一步的研究。

土壤VOCs的特征受植物生长环境、植物发育时期等多种因素的影响,7月份玉米和地黄均处于生长旺盛期,间作情况下2种植物的根际互作程度较强,因此根际信号物质的特征表现明显。本研究结果发现,间作玉米后明显改变了地黄不同生育时期根际土壤VOCs的特征,使处于间作期的7月份,8月份根际土壤VOCs特征趋于一致性,而单作地黄则由于受地黄本身生长发育的特点,7月份和8月份根际土壤VOCs的特征则明显不同,因此间作期玉米对地黄根际土壤VOCs的特征具有明显的影响。通过对7月份间作与单作2种植模式下地黄根际土壤中VOCs的特征进行分析发现,邻苯二甲酸二丁酯是该期间作与单作2种植模式下差异较大的成分,间作模式下邻苯二甲酸二丁酯的含量与单作相比明显降低,而且差异达到极显著水平。文献研究表明邻苯二甲酸二丁酯在马铃薯^[22]、辣椒^[23]和百合^[24]等大多数作物上已经被广泛报道为自毒物质,能显著抑制马铃薯的生长,对辣椒生理代谢有“低促高抑”作用。那么邻苯二甲酸二丁酯来源于根系分泌物还是微生物代谢物,间作模式下地黄根际土壤邻苯二甲酸二丁酯的含量下降是否是由于受间作作物玉米的影响发生降解或转换,该物质对地黄生长有何作用及其与地黄连作障碍的关系都有待于进一步研究。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:124.
- [2] WANG X R, LI Z, YANG L, et al. Identification of critical stage responding to consecutive monoculture obstacle in *Rehmannia glutinosa* L [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2019, 41(5):59.
- [3] LI M J, YANG Y H, FENG F J, et al. Differential proteomic analysis of replanted *Rehmannia glutinosa* roots by iTRAQ reveals molecular mechanisms for formation of replant disease [J]. BMC Plant Biol, 2017, 17(1):116.
- [4] WANG F Q, TIAN Y H, WEI H, et al. Identification and expression analysis of *Rehmannia glutinosa* mediator complex genes in response to continuous cropping [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2015, 37(12):264.
- [5] 李明杰,冯法节,张宝,等. 多元组学背景下地黄连作障碍形成的分子机制研究进展[J]. 中国中药杂志,

- 2017,42(3):413-419.
- [6] ZHANG B, LI X Z, WANG F Q, et al. Assaying the potential autotoxins and microbial community associated with *Rehmannia glutinosa* replant problems based on its "autotoxic circle"[J]. *Plant Soil*, 2016, 407(1):307-322.
- [7] ZHANG B, WESTON PAUL A, GU L, et al. Identification of phytotoxic metabolites released from *Rehmannia glutinosa* suggest their importance in the formation of its replant problem[J]. *Plant Soil*, 2019, 441(1):439-454.
- [8] 陈枫. 地黄根际土壤中化感物质的筛选及化感作用研究[D]. 郑州:河南农业大学, 2016.
- [9] WU L K, CHEN J, XIAO Z G, et al. Barcoded pyrosequencing reveals a shift in the bacterial community in the rhizosphere and rhizoplane of *Rehmannia glutinosa* under consecutive monoculture [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(3):850.
- [10] 邱黛玉,沈鹏瑞,张磊,等. 大蒜对膜侧栽培当归连作、轮作土壤环境及产量的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(3):156-162.
- [11] 李磊. 不同连作年限及间作处理对地黄的生理生态效应研究[D]. 郑州:河南农业大学, 2018.
- [12] 邓国生,李晓天,张徽,等. 间作玉米对丹参生长的影响[J]. *安徽农业科学*, 2017, 45(5):122-123.
- [13] XIAO X M, CHENG Z H, LV J, et al. A green garlic (*Allium sativum* L.) based intercropping system reduces the strain of continuous monocropping in cucumber (*Cucumis sativus* L.) by adjusting the micro-ecological environment of soil[J]. *Peer J*, 2019, doi:10.7717/peerj.7267. eCollection.
- [14] SCHULZ-BOHM K, MARTIN-SANCHEZ L, GARBEVA P. Microbial volatiles: small molecules with an important role in intra- and inter-kingdom interactions[J]. *Front Microbiol*, 2017, 8:2484.
- [15] ZHOU X G, WANG J, JIN X, et al. Effects of selected cucumber root exudates components on soil *Trichoderma* spp. communities [J]. *Allelopathy J*, 2016:257-266.
- [16] WU H M, WU L K, WANG J Y, et al. Mixed phenolic acids mediated proliferation of pathogens *Talaromyces helicus* and *Kosakonia sacchari* in Continuously Monocultured *Radix pseudostellariae* rhizosphere soil [J]. *Front Microbiol*, 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.00335.
- [17] 傅靖,张宝,刘红燕,等. 基于中药药效物质“敲出/敲入”辨识模式筛选植物化感物质的思考[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(4):805-808.
- [18] MASSALHA H, KORENBLUM E, THOLL D, et al. Small molecules below-ground: the role of specialized metabolites in the rhizosphere [J]. *Plant J*, 2017, 90(4):788-807.
- [19] PIECHULLA B, LEMFACK MC, KAI M. Effects of discrete bioactive microbial volatiles on plants and fungi [J]. *Plant Cell Environ*, 2017, 40(10):2042-2067.
- [20] RAZA W, MEI X L, WEI Z, et al. Profiling of soil volatile organic compounds after long-term application of inorganic, organic and organic-inorganic mixed fertilizers and their effect on plant growth [J]. *Sci Total Environ*, 2017, 607:326-338.
- [21] 宋宇加. 人参根系分泌物及根际土壤中化感物质的分离与鉴定研究[D]. 长春:吉林农业大学, 2008.
- [22] 顾松松,熊兴耀,谭琳,等. 土壤微生态与马铃薯连作障碍机制的研究进展[J]. *中国农学通报*, 2018, 34(30):42-45.
- [23] 任旭琴,彭莉,章宇萍,等. 邻苯二甲酸二丁酯对辣椒根系生理特性和土壤酶活性的影响[J]. *江苏农业科学*, 2015, 43(12):191-193.
- [24] 陈君良. 兰州百合根系分泌物自毒作用的研究及化感物质的GC-MS分析[D]. 兰州:甘肃农业大学, 2016.

[责任编辑 顾雪竹]