

DOI: 10.11766/trxb201508180222

# 间作小麦蚕豆不同生长期根际有机酸和酚酸变化\*

肖靖秀<sup>1</sup> 郑毅<sup>1, 2†</sup> 汤利<sup>1</sup> 王戈<sup>3</sup> 董艳<sup>1</sup>

(1 云南农业大学资源与环境学院, 昆明 650201)

(2 西南林业大学校长办公室, 昆明 650224)

(3 云南农业大学烟草学院, 昆明 650201)

**摘要** 有机酸和酚酸是根系分泌物的主要组成部分, 其在根际过程中发挥重要作用。根系有机酸和酚酸的分泌及其在根际中的含量与作物种类、营养状况、耕作方式有关。但人们对种植方式(间作)改变根际过程的研究并不多, 尤其是间作条件下根际有机酸、酚酸的变化情况尚不清楚。小麦蚕豆间作是云南最常见的间作模式, 它可以显著提高作物产量、提高养分利用效率, 且其间作优势的形成与地下部根际效应密切相关。为了探讨间作对根际的影响, 通过建立高效液相色谱(HPLC)分析方法, 分析了盆栽试验条件下小麦蚕豆间作不同生育期根际有机酸和酚酸的变化特征。结果表明: 在营养生长阶段(57~120 d), 间作改变了蚕豆根际有机酸的含量, 尤其在蚕豆分枝期(57 d)、结荚期(120 d), 间作根际有机酸总量是单作的21.7倍和1.95倍, 其中主要是促进了柠檬酸和富马酸在蚕豆根际的累积。在生殖生长阶段(120~169 d), 间作提高了小麦根际有机酸的含量, 尤其在孕穗期(120 d)、灌浆期(142 d), 间作根际有机酸总量是单作的3.73倍和2.3倍; 其中主要是改变了乳酸、富马酸和乙酸在小麦根际的累积。此外, 间作降低了小麦根际酚酸的含量, 抑制了酚酸在小麦根际的累积, 但对酚酸种类没有影响; 间作也改变了蚕豆根际酚酸的种类, 其中主要是促进了蚕豆根际香草酸和丁香酸的累积、减少了香豆酸含量。总之, 间作可能通过改变根际有机酸和酚酸的累积而改变根际过程。

**关键词** 高效液相色谱; 间作; 根际; 有机酸; 酚酸

**中图分类号** S344.2 **文献标识码** A

根际是物理、化学、生物学性质极其活跃、特殊的土壤微生态系统<sup>[1-2]</sup>。随着研究手段的不断深入, 人们逐步认识到根际在植物生长及农业生产中的重要作用<sup>[1, 3]</sup>。因此, 根际的研究一直为人们关注的热点。

近来, 根际及根际过程的有机酸、酚酸变化在轮作、间作等种植体系中的作用备受关注。在玉米蚕豆间作系统中, 根际有机酸含量的提高是间作提高土壤磷有效性的机制之一<sup>[4]</sup>。因为根际中的有机酸能提高难溶性养分的活性<sup>[5]</sup>、与根际微生

物数量及土壤酶活性密切相关<sup>[6]</sup>。在旱作水稻西瓜间作<sup>[7]</sup>、玉米大豆间作<sup>[8]</sup>系统中, 间作改变了根际酚酸的种类和含量, 从而降低了西瓜、大豆等土传病害的发生。总之, 间作根际有机酸和酚酸与作物养分吸收、病害发生、产量的形成有着密切关系。但是, 间作根际有机酸、酚酸的相关研究报道不多, 间作根际有机酸、酚酸的作用机制, 尚不明确。需要系统深入的研究。

根际有机酸和酚酸在根际过程中发挥了十分重要的作用。但由于原位动态监测技术的限制,

\* 国家自然科学基金项目(31260504, 31560581, 31260503)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 31260504, 31560581, 31260503)

† 通讯作者 Corresponding author: 郑毅, 教授, 博士生导师。E-mail: zhengyi@swfu.edu.cn, zhengyi-64@163.com

作者简介: 肖靖秀(1980—)女, 云南昆明人, 博士, 讲师, 从事间作系统中养分吸收利用与病害控制方面的研究。

E-mail: xiaojingxiuxjx@126.com

收稿日期: 2015-08-18; 收到修改稿日期: 2015-12-09

系统研究作物系统、尤其是间作系统中作物根际有机酸、酚酸的成熟方法还较少。高效液相色谱 (HPLC) 具有快速、简便、准确的特点, 目前广泛用于各类有机化合物的分离、鉴定工作<sup>[9]</sup>。近年来, 此方法在根际研究中也运用的越来越多。但此方法在间作系统中同时分离测定多种酚酸和有机酸的研究报道还不多, 仍需要深入研究。

小麦蚕豆间作是云南乃至西南地区重要的间作种植模式, 其具有显著的增产<sup>[10]</sup>、控病优势<sup>[11]</sup>, 是农民增产增收的重要手段之一<sup>[12]</sup>。前人大量的研究已经明确了小麦蚕豆间作系统中养分的吸收利用规律<sup>[13]</sup>、病害发生规律<sup>[14]</sup>、根际微生物的动态变化特征<sup>[15]</sup>, 但是根际中的有机酸及酚酸的特征, 及其在间作优势形成中的作用尚不清楚。因此, 本研究以小麦蚕豆间作为研究对象, 通过建立高效液相色谱 (HPLC) 分析技术, 结合前人在小麦蚕豆根系分泌物中已经检测到的主要有机酸和酚酸种类, 系统探讨间作条件下, 全生育根际有机酸 (8种)、酚酸 (5种) 的动态变化及累积特征, 以期明确根际有机酸和酚酸在间作系统中的作用, 为进一步探明间作增产控病机制提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试土壤采自云南农业大学水资源与利用工程中心试验田, 前茬作物为水稻。土壤有机质含量 36.3 g kg<sup>-1</sup>、pH 6.73、速效氮 123 mg kg<sup>-1</sup>、有效磷 24 mg kg<sup>-1</sup>、速效钾 135 mg kg<sup>-1</sup><sup>[16]</sup>。

供试作物品种: 小麦为云麦 42 (*Triticum aestivum* L. cv. Yunmai 42); 蚕豆为云豆 8363 (*Vicia faba* L. cv. Yundou 8363)。种子由云南省农业科学院提供。

### 1.2 试验设计

试验于 2011 年 10 月—2012 年 4 月在云南农业大学植物营养系温室完成, 试验设小麦单作、小麦蚕豆间作、蚕豆单作 3 个处理, 3 次重复。试验所用盆钵大小为 238 mm × 320 mm, 每盆装土 10 kg。全生育期采样 5 次, 共计 3 × 3 × 5 = 45 盆。

肥料施用量: 试验所用氮肥品种为尿素, 施用量 N 150 mg kg<sup>-1</sup>土; 磷肥品种为过磷酸钙, 施用量 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 75 mg kg<sup>-1</sup>土。其中, 磷肥全部作为基肥一次性施入; 氮肥 1/2 为基肥, 1/2 为追肥, 并于拔节期

追施。氮肥追施时仅施用于单作小麦处理和间作处理的小麦一侧, 蚕豆均不施用追肥。

种植密度: 单作小麦每盆留苗 28 株, 单作蚕豆每盆留苗 6 株, 间作种植小麦蚕豆留苗数分别是单作的 1/2, 即每盆留苗蚕豆 3 株、小麦 14 株。

管理方式: 小麦蚕豆同时播种, 在整个生长过程中, 单、间作小麦、蚕豆采用统一的肥水管理措施。

### 1.3 样品采集

在播种后 57 d、98 d、120 d、142 d、169 d, 即小麦分蘖期、拔节期、孕穗期、灌浆期、收获期, 蚕豆分枝期、开花期、结荚期, 籽粒膨大期、收获期, 分别取单间作小麦、蚕豆根际土。

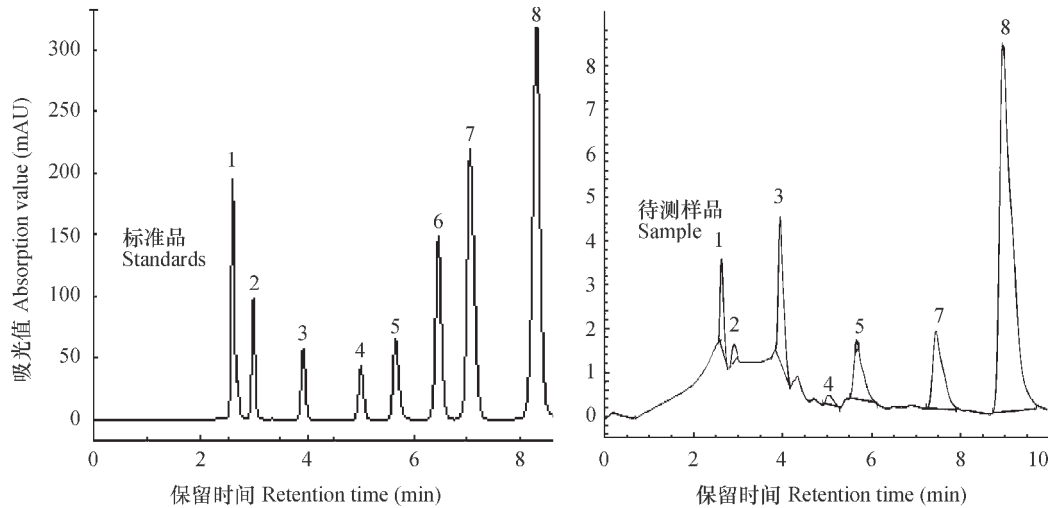
根际土浸提液采集方法: “采用抖土法”去除非根际土, 用 100 ml 蒸馏水提取根际土溶液, 迅速离心过滤、浓缩至 5 ml, 滤液过 0.45 μm 滤膜, -20 °C 冷冻保存、备用<sup>[14-15]</sup>。

### 1.4 样品分析

有机酸、酚酸的测定采用 HPLC 法, 所用仪器型号为: Agilent 1200 高效液相色谱仪 (四元泵, 可变波长检测器, 自动进样器、控温箱)。

有机酸测定所用的色谱条件如下: 色谱柱为 Synergi 4u Hydro-RP 80A 色谱柱 (250 × 4.6 mm ID), 流动相为 10 mmol L<sup>-1</sup> pH=2.45 的磷酸二氢钾溶液, 柱温 30 °C, 流速为 1 000 μl min<sup>-1</sup>, 进样量为 10 μl, 检测波长 214 nm, 分析时间 10 min。在选定的色谱条件下, 得到 8 种有机酸草酸 (25 μg ml<sup>-1</sup>)、酒石酸 (25 μg ml<sup>-1</sup>)、苹果酸 (50 μg ml<sup>-1</sup>)、乳酸 (25 μg ml<sup>-1</sup>)、乙酸 (25 μg ml<sup>-1</sup>)、马来酸 (25 μg ml<sup>-1</sup>)、柠檬酸 (100 μg ml<sup>-1</sup>)、富马酸 (100 μg ml<sup>-1</sup>) 的混合标准品色谱图及待测样品有机酸色谱图如图 1 所示。8 类有机酸的检出限分别为: 草酸 0.030 μg ml<sup>-1</sup>、酒石酸 0.020 μg ml<sup>-1</sup>、苹果酸 0.020 μg ml<sup>-1</sup>、乳酸 0.010 μg ml<sup>-1</sup>、乙酸 0.025 μg ml<sup>-1</sup>、马来酸 0.020 μg ml<sup>-1</sup>、柠檬酸 0.020 μg ml<sup>-1</sup>、富马酸 0.030 μg ml<sup>-1</sup>。

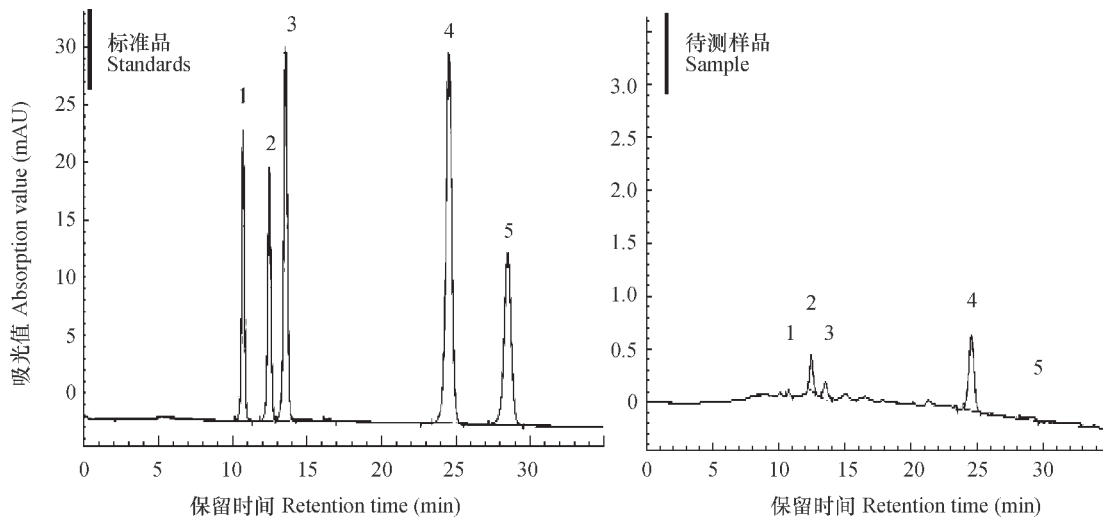
酚酸测定采所用色谱条件如下: 色谱柱为 Synergi 4u Hydro-RP 80A 色谱柱 (250 × 4.6 mm ID), 流动相为 70% 的 0.2% 乙酸和 30% 的甲醇, 柱温 30 °C, 流速为 1 000 min<sup>-1</sup>, 进样量为 10 μl, 检测波长 286 nm, 分析时间 35 min。在选定的色谱条件下, 得到 5 种酚酸: 对羟基苯甲酸 (20 μg ml<sup>-1</sup>)、香草酸 (20 μg ml<sup>-1</sup>)、香豆酸 (20 μg ml<sup>-1</sup>)、



1. 草酸 Oxalic acid; 2. 酒石酸 Tartaric acid; 3. 苹果酸 Malic acid; 4. 乳酸 Lactic acid; 5. 乙酸 Acetic acid;  
6. 马来酸 Maleic acid; 7. 柠檬酸 Citric acid; 8. 富马酸 Fumaric acid

图1 有机酸色谱图

Fig. 1 Chromatograms of organic acids



1. 对羟基苯甲酸 *p*-hydrobenzoic acid; 2. 香草酸 Vanillic acid; 3. 丁香酸 Syringic acid; 4. 香豆酸 *p*-Coumaric acid;  
5. 富马酸 Ferulic acid

图2 酚酸色谱图

Fig. 2 Chromatograms of phenolic acids

丁香酸 ( $20 \mu\text{g ml}^{-1}$ )、阿魏酸 ( $20 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) 的混合标准品及待测样品的色谱图如图2所示。5种酚酸的检测限为对羟基苯甲酸  $0.032 \mu\text{g ml}^{-1}$ 、香草酸  $0.024 \mu\text{g ml}^{-1}$ 、丁香酸  $0.020 \mu\text{g ml}^{-1}$ 、香豆酸  $0.010 \mu\text{g ml}^{-1}$ 、阿魏酸  $0.025 \mu\text{g ml}^{-1}$ 。

### 1.5 数据处理

数据处理使用Excel (Microsoft) 2007, 统计分析方法采用SPSS17.0软件进行多重比较分析和t检验。

## 2 结果

### 2.1 间作条件下小麦蚕豆根际有机酸的变化特征

表1反映了单间作小麦根际土中有机酸种类和含量的差异。从表1中可以看出, 随着生育期的推移, 小麦(单作和间作)根际土有机酸含量呈上升趋势。在灌浆期(142 d), 根际土中有机酸含量达到最大值。这主要是由于在小麦旺盛生长期, 根系活力最强、生物量最大, 根系有机酸分泌能力最

强<sup>[16]</sup>，因此根际有机酸累积量最大。伴随着小麦根系的衰老、籽粒的成熟，根际土中有机酸总量迅速下降。

表1中还可以看出，在营养生长阶段（57~98 d），间作种植对小麦根际有机酸含量没有影响；进入生殖生长阶段，间作显著提高或降低了小麦根际有机

酸含量。与单作小麦相比，在孕穗期（120 d）、灌浆期（142 d），间作小麦根际有机酸总量增幅为3.73倍和2.3倍；在收获期（169 d），降幅为3.66倍。说明在小麦不同生育期，间作种植对根际有机酸含量的累积影响并不相同。

与单作小麦相比，在拔节期（98 d）、孕穗期

表1 单间作小麦根际土中有机酸的种类和含量

Table 1 Types and contents of organic acids in the rhizospheres of inter-and mono-cropping wheat (mg plant<sup>-1</sup>)

播种天数 Days after sowing	种植模式 Planting pattern	乳酸 Lactic acid	乙酸 Acetic acid	柠檬酸 Citric acid	富马酸 Fumaric acid	总量 Total amounts
57 d	I	0.30 ± 0.02a	0.01 ± 0.00a	0.42 ± 0.04a	—	0.73 ± 0.07a
	M	0.51 ± 0.25a	0.01 ± 0.00a	0.62 ± 0.27a	—	1.13 ± 0.23a
98 d	I	—	0.93 ± 0.88a	—	—	0.93 ± 0.88a
	M	0.27 ± 0.19	1.33 ± 0.79a	—	0.01 ± 0.00	1.60 ± 0.97a
120 d	I	—	0.37 ± 0.17	0.19 ± 0.03a	—	0.56 ± 0.16a
	M	0.05 ± 0.01	—	0.10 ± 0.03a	—	0.15 ± 0.03b
142 d	I	1.13 ± 0.22a	1.51 ± 0.97a	2.32 ± 0.88a	—	4.96 ± 1.98a
	M	0.29 ± 0.14b	0.96 ± 0.22a	0.90 ± 0.51a	—	2.15 ± 0.59b
169 d	I	0.06 ± 0.02b	—	—	0.01 ± 0.00	0.06 ± 0.14b
	M	0.18 ± 0.04a	0.04 ± 0.006	—	—	0.22 ± 0.02a

注：M, I表示单作和间作。—表示未检出。表中数值为平均值±标准差，不同的小写字母表示对同一种类有机酸含量在同一生育期，单间作之间差异显著（ $p < 0.05$ ）。下同 Note: M and I stands for mono and intercropping, respectively and “—” for “not detected”. Different letters in the same column mean significant difference (LSD < 5%) between inter and/or mono cropping. The value in table is mean ± SD. The same below

（120 d）、收获期（169 d），间作种植改变了根际有机酸的种类（表1）。其中有机酸种类的差异主要体现在乳酸、富马酸和乙酸。但不同生育期单间作的差异并不相同，这主要是由于不同生育期，作物分泌有机酸的种类不同；不同生育期间作种间相互作用也不同<sup>[18]</sup>而导致的。

从表2可以看出，蚕豆根际有机酸含量的变化趋势与小麦一致。随着生育期的推移，蚕豆根际土有机酸含量呈上升趋势，至蚕豆籽粒膨大期（142 d），根际土有机酸含量达到最大值；随着蚕豆根系的衰老、籽粒的成熟，根际有机酸含量迅速降低。但与小麦不同的是，在蚕豆生长发育前期（57 d、98 d、120 d），间作种植改变了蚕豆根际有机酸的含量。与单作相比，在蚕豆分枝期（57 d）及结荚期（120 d），间作根际有机酸总量增幅为21.7倍和1.95倍，在开花期（98 d），降幅为1.49倍。在蚕豆生育后期，单间作没有差异。

在本研究中，单间作蚕豆根际土中共检测到4种有机酸：乳酸、乙酸、柠檬酸、富马酸（表2）。除蚕豆结荚期（120 d）外，间作种植均改变了蚕豆各生育期根际有机酸的种类。其中，与单作相比，间作主要是促进了各生育期柠檬酸和富马酸在根际的累积，这也是间作提高根际有机酸含量的主要原因。

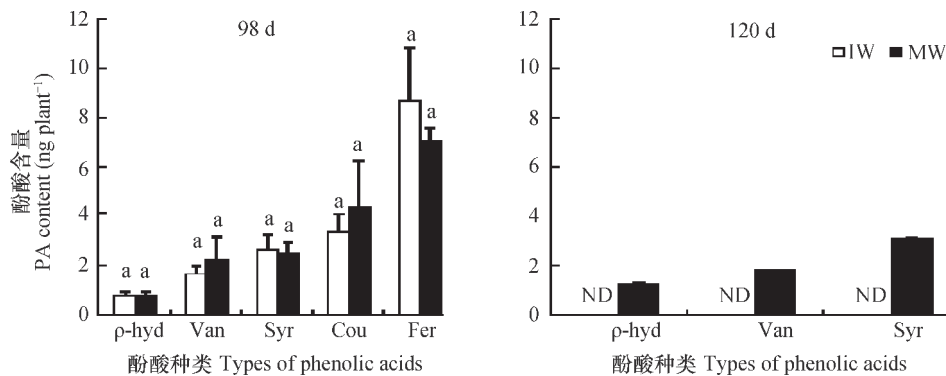
## 2.2 间作条件下小麦蚕豆根际酚酸的变化特征

对单间作小麦全生育期根际酚酸含量进行检测（图3），单作小麦在拔节期（98 d）和孕穗期（120 d）均检测到酚酸，而间作小麦仅在拔节期（98 d）检测到酚酸。在拔节期（98 d），单间作小麦根际土中均检测到5种酚酸：对羟基苯甲酸、香草酸、丁香酸、香豆酸、阿魏酸，单间作之间没有差异。在孕穗期，单作小麦根际检测到3种酚酸，而间作小麦根际未检测到酚酸。说明小麦生长发育阶段不同，根际酚酸种类和含量存在较大差



表2 单间作蚕豆根际土中有机酸的种类和含量

Table 2 Types and contents of organic acids in the rhizospheres of inter-and mono-cropping faba bean ( $\mu\text{g plant}^{-1}$ )						
播种天数	种植模式	乳酸	乙酸	柠檬酸	富马酸	总量
Days after sowing	Planting pattern	Lactic acid	Acetic acid	Citric acid	Fumaric acid	Total amounts
57 d	I	20.43 $\pm$ 4.84a	—	—	0.86 $\pm$ 0.09	21.29 $\pm$ 4.85a
	M	0.98 $\pm$ 0.02b	—	—	—	0.98 $\pm$ 0.02b
98 d	I	21.84 $\pm$ 5.13a	26.97 $\pm$ 5.83b	89.01 $\pm$ 0.84	1.38 $\pm$ 0.44	139.2 $\pm$ 9.9b
	M	43.13 $\pm$ 27.74a	164.9 $\pm$ 62.7a	—	—	208.1 $\pm$ 84.0a
120 d	I	32.35 $\pm$ 4.04a	—	—	2.07 $\pm$ 0.02a	34.42 $\pm$ 4.03a
	M	15.95 $\pm$ 1.14b	—	—	1.68 $\pm$ 0.40b	17.63 $\pm$ 1.16b
142 d	I	342.3 $\pm$ 259.0a	432.5 $\pm$ 246.2a	1.81 $\pm$ 0.53	—	776.6 $\pm$ 505.3a
	M	342.6 $\pm$ 98.8a	952.4 $\pm$ 330.0a	—	—	1295.0 $\pm$ 303.2a
169 d	I	67.86 $\pm$ 42.59a	66.78 $\pm$ 42.23a	18.96 $\pm$ 0.32	0.72 $\pm$ 0.3	154.3 $\pm$ 45.9a
	M	192.1 $\pm$ 90.6a	36.56 $\pm$ 14.60a	—	—	229.3 $\pm$ 59.6a



注：IW，MW分别表示间作小麦、单作小麦。不同的字母表示单间作处理间有差异（LSD < 5%） Note: IW and MW stands for intercropping wheat and monocropping wheat, respectively. Different letters mean significant difference (LSD < 5%) between inter and/or mono-cropping

图3 单间作小麦根际土中酚酸的种类和含量

Fig. 3 Types and contents of phenolic acids in the rhizosphere of mono-and inter-cropping wheat

异，而间作种植能显著降低小麦根际酚酸的累积。

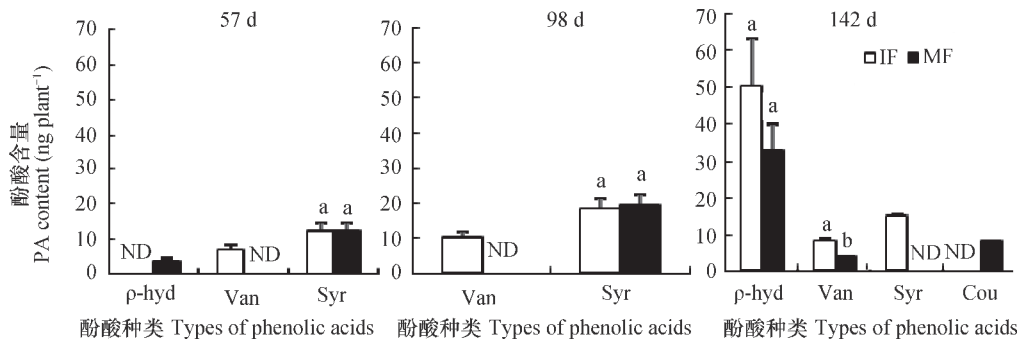
与小麦不同的是，在蚕豆分枝期（57 d）、开花期（98 d）及籽粒膨大期（142 d）均检测到酚酸（图4），分别是对羟基苯甲酸、香草酸、香豆酸和丁香酸。间作种植在整个生育期均影响了蚕豆根际酚酸的种类和含量。与单作相比，在蚕豆分枝期、开花期及籽粒膨大期，间作种植主要是增加了根际香草酸的累积。其中，在籽粒膨大期，间作根际香草酸含量是单作的1.95倍。同时，在籽粒膨大期，间作促进了丁香酸在蚕豆根际的累积，却降低了香豆酸在根际中累积。说明小麦蚕豆间作改变了蚕豆根际酚酸的累积，在酚酸种类和数量上均存在较大差异。

### 3 讨论

#### 3.1 低分子量有机酸的根际效应

根系分泌物的产生是根际环境中土壤生态效应的核心问题<sup>[19]</sup>。根系分泌物中的低分子量有机酸，由于其能活化根际养分、降低Al毒、螯合重金属<sup>[5-6]</sup>等，在根际微生态过程中发挥着重要作用。本研究发现，间作改变了根际有机酸的数量和种类（表1，表2），可以推断间作根际过程和根际效应与单一种植存在较大区别。这或许也可以解释地上部的多样性带来了地下部的生物多样性。

本研究发现，小麦蚕豆间作主要是促进了柠檬酸、富马酸在根际的累积。柠檬酸可以活化土壤



注: IW, MW, IF, MF分别表示间作小麦、单作小麦、间作蚕豆、单作蚕豆。不同的字母表示单间作处理间有差异 (LSD < 5%)

Note: IW, MW, IF and MF stands for intercropping wheat, monocropping wheat, intercropping faba bean and mono-cropping faba bean, respectively. Different letters mean significant difference (LSD < 5%) between inter-and mono-cropping

图4 单间作蚕豆根际土中酚酸的种类和含量

Fig. 4 Types and contents of phenolic acids in the rhizosphere of mono-and inter-cropping faba bean

难溶性磷, 提高根际有效磷含量<sup>[20]</sup>。小麦蚕豆间作促进根际柠檬酸的累积, 为间作提高根际磷含量提供了保障。此外, 研究还发现富马酸在间作根际的累积。但是, 关于根系分泌物中富马酸与根际环境的研究还不多, 故富马酸在间作根际环境中的作用尚不清楚。苹果酸、柠檬酸、草酸、乙酸等与植物体内的许多生理代谢过程密切相关, 也是根系分泌物中常见的有机酸组分<sup>[21]</sup>。因此, 植物往往通过改变体内有机酸代谢和根际有机酸的分泌来适应环境胁迫<sup>[22]</sup>。从本研究结果来看, 多样性种植改变了根际有机酸的种类, 可能是由于种间相互作用改变了作物的代谢过程, 最终引起根际有机酸的变化。本研究结果发现, 间作对乳酸和乙酸在根际的累积影响较大, 说明这2类有机酸与间作根际环境密切相关。但是乳酸和乙酸的根际生态效应缺乏系统研究, 尚需深入探讨。

### 3.2 酚酸的根际效应

近年来, 根际酚酸的研究备受人们的关注。因为酚酸类物质在土壤中累积是造成连作障碍的原因之一, 最终导致根际土壤微生态系统和功能的改变<sup>[23]</sup>。本研究发现, 小麦蚕豆间作降低了根际酚酸的累积, 改变了根际酚酸的种类。说明合理的间作可以降低连作障碍, 稳定根际微生态环境。但小麦和蚕豆对间作的响应程度并不相同。间作主要是改变了蚕豆根际酚酸种类, 而对小麦而言, 间作主要是抑制了各类酚酸物质在根际土中的累积。对羟基苯甲酸、香草酸、丁香酸、香草酸和阿魏酸是一类自毒物质, 在小麦、大豆、黄瓜等作物上均发现, 它们会抑制种子的萌发, 影响幼苗的生

长<sup>[24]</sup>。但它们对根际微生物的生长则表现为低促、高抑的趋势。在小麦蚕豆间作系统中, 间作降低了香草酸在蚕豆根际的累积, 却增加了丁香酸和香草酸。说明间作可能通过改变或降低酚酸的累积, 从而降低自毒效应, 改变根际微环境。

西瓜、旱作水稻间作、玉米大豆间作系统中的研究均表明, 间作改善了西瓜枯萎病、大豆枯萎病的发生, 主要是由于某些酚酸类物质的组分抑制了尖孢镰刀菌的生长<sup>[7-8]</sup>。小麦蚕豆间作系统中的研究也表明, 间作可以降低蚕豆枯萎病的发生<sup>[15]</sup>, 其原因可能也与酚酸类物质的累积有关。本研究发现, 对羟基苯甲酸、香草酸、香草酸和丁香酸是小麦蚕豆间作系统中的主要酚酸种类, 它们与蚕豆枯萎病病原菌有怎样的关系? 其组分和含量的改变与枯萎病的发生有怎样的关系, 尚不清楚。需要进一步探讨。

蚕豆是云南重要的小春作物之一, 连作障碍较为普遍。本研究发现小麦蚕豆间作可以改变蚕豆根际酚酸类物质的累积。对羟基苯甲酸、香草酸、香草酸、丁香酸、阿魏酸均为自毒物质, 这几类自毒物质是否与蚕豆连作障碍有关? 或者某一(几)类酚酸对蚕豆连作障碍相关性最大? 小麦蚕豆间作能否通过减少这几类自毒物质的累积, 从而缓解蚕豆连作障碍, 都有待进一步深入研究。

本研究仅关注了前人在小麦、蚕豆根系分泌物中主要检测到的8类有机酸和5类酚酸, 同时探讨了几类有机酸和酚酸在不同生育期、单间作根际中的变化情况。实际上, 根系分泌物中有机酸和酚酸种类繁多, 小麦蚕豆间作对其他低分子量有机酸

或者酚酸在根际的累积是否有影响, 目前并不清楚。从本研究结果来看, 不同种类根际有机酸和酚酸对间作的响应程度并不相同, 间作对小麦和蚕豆根际有机酸和酚酸的影响也不同。间作种植是否会促进或抑制其他某种(类)有机酸和酚酸在根际的累积, 目前尚不明确。这些问题均有待深入研究。

### 3.3 根际有机酸和酚酸研究方法

本研究中根际土的采集采用的是传统的“抖土法”取样, 样品采集过程中会存在一定的人为影响因素。本研究结果初步阐明了间作种植对根际有机酸酚酸的影响, 但试验结果相对偏差较大(表1, 表2)。从本研究结果来看, 根际中有机酸和酚酸的含量不高, 尤其是酚酸的含量较低。在今后的根际研究中, 应采用更为准确的根际土采样方法, 以便更好地进行根际研究。

高效液相色谱(HPLC)分析方法广泛用于食品、药品、环境样品中有机酸、酚酸类等化合物的定性和定量分析<sup>[25]</sup>。本研究通过反相高效液相色谱, 实现了根际5种酚酸和8种有机酸的有效分离及同时测定。通过此方法, 明确了间作小麦、蚕豆根际有机酸、酚酸的变化特征。为间作系统中根际的深入研究, 在方法上提供了借鉴。当然, 根际有机酸、酚酸种类较多, 本研究仅明确了间作根际土壤中少数几类有机酸和酚酸的变化特征, 如何优化分析条件, 进一步分离鉴定根际中各类有机酸和酚酸类化合物, 仍值得进一步研究。

## 4 结 论

通过建立高效液相色谱(HPLC)分析技术, 在小麦蚕豆不同生育期, 共检测到4种有机酸: 乳酸、乙酸、柠檬酸和富马酸和5种酚酸: 对羟基苯甲酸、香草酸、丁香酸、香豆酸、阿魏酸。与单一种植相比, 间作改变了作物根际有机酸的种类和含量, 促进了根际有机酸的累积, 同时降低了根际酚酸的含量, 抑制了根际酚酸的累积。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Bais H P, Weir T L, Perry L G, et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, 57: 233—266
- [ 2 ] Brzostek E R, Greco A, Drake J E, et al. Root carbon inputs to the rhizosphere stimulate extracellular enzyme activity and increase nitrogen availability in temperate forest soils. *Biogeochemistry*, 2013, 115 ( 1/3 ) : 65—76
- [ 3 ] 张福锁, 曹一平. 根际动态过程与植物营养. *土壤学报*, 1992, 29 ( 3 ) : 239—250
- Zhang F S, Cao Y P. Rhizosphere dynamics and plant nutrition ( In Chinese ). *Acta Pedologica Sinica*, 1992, 29 ( 3 ) : 239—250
- [ 4 ] Li H G, Shen J B, Zhang F S, et al. Phosphorus uptake and rhizosphere properties of intercropped and monocropped maize, faba bean, and white lupine in acidic soil. *Biology and Fertility of Soils*, 2010, 46 ( 2 ) : 79—91
- [ 5 ] Ding X D, Fu L, Liu C J, et al. Positive feedback between acidification and organic phosphate mineralization in the rhizosphere of maize (*Zea mays* L.). *Plant and Soil*, 2011, 349 ( 1 ) : 13—24
- [ 6 ] Ryan P R, Delhaize E, Jones D L. Function and mechanism of organic anion exudation root. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 2001, 52: 527—560
- [ 7 ] Hao W Y, Ren L X, Ran W, et al. Allelopathic effects of root exudates from watermelon and rice plants on *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Plant and Soil*, 2010, 336 ( 1/2 ) : 485—497
- [ 8 ] Gao X, Wu M, Xu R N, et al. Root interactions in a maize/soybean intercropping system control soybean soil-borne disease, red crown rot. *PLoS ONE*, 2014, DOI:10.1371/journal.pone.0095031
- [ 9 ] Swartz M. HPLC: Continuing to answer challenges to food and drug safety. *LC GC North America*, 2010, 28 ( 1 ) : 50—52
- [ 10 ] 姜卉, 赵平, 汤利, 等. 云南省不同试验区小麦蚕豆间作的产量优势分析与评价. *云南农业大学学报(自然科学版)*, 2012, 27 ( 5 ) : 646—652
- Jiang H, Zhao P, Tang L, et al. Analysis and evaluation of yield advantages in wheat and faba bean intercropping system in Yunnan Province ( In Chinese ). *Journal of Yunnan Agricultural University ( Natural Science )*, 2012, 27 ( 5 ) : 646—652
- [ 11 ] Chen Y X, Zhang F S, Tang L, et al. Wheat powdery mildew and foliar N concentrations as influenced by N fertilization and belowground interactions with intercropped faba bean. *Plant and Soil*, 2007, 291 ( 1 ) : 1—13
- [ 12 ] 杨进成, 刘坚坚, 安正云, 等. 小麦蚕豆间作控制病虫害与增产效应分析. *云南农业大学学报(自然科学版)*, 2009, 24 ( 3 ) : 340—348

- Yang J C, Liu J J, An Z Y, et al. Analyses on effect of interplanting on diseases and pests control and yield increase of wheat and faba bean (In Chinese). *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2009, 24 (3): 340—348
- [ 13 ] 赵平, 郑毅, 汤利, 等. 小麦蚕豆间作施氮对小麦氮素吸收、累积的影响. *中国生态农业学报*, 2010, 18 (4): 742—747
- Zhao P, Zheng Y, Tang L, et al. Effect of N supply and wheat/faba bean intercropping on N uptake and accumulation of wheat (In Chinese). *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2010, 18 (4): 742—747
- [ 14 ] 乔鹏, 汤利, 郑毅, 等. 不同抗性小麦品种与蚕豆间作条件下的养分吸收与白粉病发生特征. *植物营养与肥料学报*, 2010, 16 (5): 1086—1093
- Qiao P, Tang L, Zheng Y, et al. Characteristics of nutrient uptakes and powdery mildew incidence of different resistant wheat cultivars intercropping with faba bean (In Chinese). *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2010, 16 (5): 1086—1093
- [ 15 ] 董艳, 董坤, 汤利, 等. 小麦蚕豆间作对蚕豆根际微生物群落功能多样性的影响及其与蚕豆枯萎病发生的关系. *生态学报*, 2013, 33 (23): 7445—7454
- Dong Y, Dong K, Tang L, et al. Relationship between rhizosphere microbial community functional diversity and faba bean fusarium wilt occurrence in wheat and faba bean intercropping system (In Chinese). *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33 (23): 7445—7454
- [ 16 ] 鲍士旦. *土壤农化分析*. 北京: 中国农业出版社, 2011
- Bao S D. *Soil and agricultural chemistry analysis (In Chinese)*. Beijing: China Agriculture Press, 2011
- [ 17 ] 肖靖秀, 郑毅, 汤利. 小麦-蚕豆间作对根系分泌低分子量有机酸的影响. *应用生态学报*, 2014, 25 (6): 1739—1744
- Xiao J X, Zheng Y, Tang L. Effect of wheat and faba bean intercropping on root exudation of low molecular weight organic acids (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25 (6): 1739—1744
- [ 18 ] Li C, Dong Y, Li H, et al. The Dynamic process of interspecific interactions of competitive nitrogen capture between intercropped wheat (*Triticum aestivum* L.) and faba bean (*Vicia faba* L.). *PLoS ONE*, 2014, DOI: 10.1371/journal.pone.0115804
- [ 19 ] Weir T L, Perry L G, Gilroy S, et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, 57: 233—266
- [ 20 ] Rafaca-Livingston K A, Martinez-Amezcuca C, Parsons C M, et al. Citric acid improves phytate phosphorus utilization in crossbred and commercial broiler chicks. *Poultry Science*, 2005, 84 (9): 1370—1375
- [ 21 ] Aoki M, Fujii K, Kitayama K. Environmental control of root exudation of low-molecular weight organic acids in tropical rainforests. *Ecosystems*, 2012, 15 (7): 1194—1203
- [ 22 ] Henry A, Doucette W, Norton J, et al. Changes in crested wheatgrass root exudation caused by flood, drought, and nutrient stress. *Journal of Environmental Quality*, 2007, 36 (3): 904—912
- [ 23 ] Hans L, Christophe M, Benoit J, et al. Plant-microbe-soil interactions in the rhizosphere: An evolutionary perspective. *Plant and Soil*, 2009, 321 (1/2): 83—115
- [ 24 ] Zhou X G, Wu F Z. p-Coumaric acid influenced cucumber rhizosphere soil microbial communities and the growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* Owen. *PLoS ONE*, 2012, DOI:10.1371/journal.pone.0048288
- [ 25 ] Castellari M, Versari A, Spinabelli U, et al. An improved HPLC method for the analysis of organic acids, carbohydrates, and alcohols in grape musts and wines. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2000, 23 (13): 2047—2056



## Changes in Organic and Phenolic acids in Rhizosphere of Interplanted Wheat and Faba Bean with Growth Stage

XIAO Jingxiu<sup>1</sup> ZHENG Yi<sup>1, 2†</sup> TANG Li<sup>1</sup> WANG Ge<sup>3</sup> DONG Yan<sup>1</sup>

(1 College of Resources and Environmental Science, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

(2 Dean's Office, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

(3 College of Tobacco Science, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

**Abstract** Organic and phenolic acids are the major components of root exudates, and they play important roles in rhizosphere. Studies have demonstrated that root exudates vary with species and nutrient condition of a plant and tillage. However, little work has been done on effect of planting model, especially intercropping, on root exudation, and rhizospheric process. Wheat and faba bean intercropping is a common planting model in Yunnan Province, Southwest China. A number of researchers have found that wheat and faba bean intercropping could significantly improve yields and nutrients use efficiency of the crops, and the beneficial effects of intercropping are partly attributed to the changes it causes in rhizosphere process. In order to explore effects of the intercropping of wheat and faba bean on rhizosphere, a pot experiment was conducted, and HPLC analysis was performed of the rhizospheric soils of the plants for contents of organic and phenolic acids at different growth stages of wheat and faba bean. Results show that intercropping increased the content of organic acids in the rhizosphere of faba bean at the vegetative stage (57 ~ 120 d), and especially at the branching and pod setting stages, it did the content of total organic acids in the rhizosphere up to 21.7 and 1.95 times, respectively, as high as in the rhizosphere of mono-cropping faba bean. The effect was reflected particularly on accumulation of citric and fumaric acids. Besides, intercropping also increased the content of organic acids in the rhizosphere of wheat during its reproductive stage (120 ~ 169 d), and especially at the booting and filling stages, it did the content of total organic acids up to 3.73 and 2.3 times, respectively, as high as in the rhizosphere of mono-cropping wheat. The effects were particularly apparent on accumulation of lactic, acetic and fumaric acids. In addition, wheat and faba bean intercropping decreased the content of phenolic acids and inhibited accumulation of the acid in the rhizosphere of wheat, but did not have any influence on type of phenolic acid. However, intercropping altered composition of phenolic acids by enhancing the accumulation of vanillic and syringic acids, and reducing the content of  $p$ -Coumaric acid in the rhizosphere of faba bean. In conclusion, intercropping of wheat and faba bean can alter rhizospheric processes of the plants by affecting the accumulation and composition of organic acids and phenolic acids in the rhizosphere.

**Key words** HPLC; Intercropping; Rhizosphere; Organic acids; Phenolic acids

(责任编辑：卢 萍)