

DOI: 10.11686/cyxb2024068

http://cyxb.magtech.com.cn

邱亚娟, 邵晓龄, 陈莺宇, 等. 连作对纹党生长、生理特性及自毒物质的影响研究. 草业学报, 2025, 34(1): 107-117.

QIU Ya-juan, SHAO Xiao-ling, CHEN Ying-yu, et al. Research on effects of continuous cropping on the growth, physiological characteristics and autotoxic substances of *Codonopsis pilosula* var. *modesta*. Acta Prataculturae Sinica, 2025, 34(1): 107-117.

连作对纹党生长、生理特性及自毒物质的影响研究

邱亚娟¹, 邵晓龄¹, 陈莺宇¹, 黄钰芳^{1,2,4*}, 陈红刚^{1,2}, 杨扶德¹, 高素芳^{1,2}, 袁菊丽³, 高健⁵

(1. 甘肃中医药大学药学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 西北中藏药省部共建协同创新中心, 甘肃 兰州 730000; 3. 甘肃中医药大学教学实验实训中心, 甘肃 兰州 730000; 4. 敦煌医学与转化教育部重点实验室, 甘肃 兰州 730000; 5. 甘肃文县中寨纹党产区代元有限公司, 甘肃 陇南 742500)

摘要:为探究纹党连作障碍效应及发生机制,以正茬(CK)和连作1年(CC₁)、连作2年(CC₂)及连作3年(CC₃)土壤为试验对象,开展盆栽试验,动态研究连作对纹党生长、抗氧化酶系统及叶绿素的影响,并利用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)分析了不同连作年限土壤中自毒物质的种类及含量。结果显示,苗期、开花期、生长旺盛期及收获期各个生育时期内,连作对纹党的生长均存在抑制作用,且随连作年限的延长作用逐渐加强;同一连作年限,随着生育进程的推进,叶片中过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)活性先增加后下降,过氧化物酶(POD)活性先下降后增加再下降,但在同一生长阶段,3种抗氧化酶活性均随连作年限增加逐年下降,而丙二醛(MDA)、脯氨酸(Pro)、可溶性糖含量和相对电导率均逐年增加;从CK、CC₁、CC₂和CC₃中分别鉴定出5、17、13和4种化学物质,主要包括:邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯、邻苯二甲酸二丁酯、丙酸乙酯和油酸酰胺等物质,其中邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯在各种处理土壤中均存在,其相对含量均较高。连作可以通过破坏纹党植株中抗氧化酶系统,降低叶片叶绿素含量抑制纹党生长,产生连作障碍;连作条件下自毒作用是导致纹党发生连作障碍的主要原因之一。

关键词:纹党;连作障碍;生理生化;化感自毒作用;气相色谱-质谱分析

Research on effects of continuous cropping on the growth, physiological characteristics and autotoxic substances of *Codonopsis pilosula* var. *modesta*

QIU Ya-juan¹, SHAO Xiao-ling¹, CHEN Ying-yu¹, HUANG Yu-fang^{1,2,4*}, CHEN Hong-gang^{1,2}, YANG Fu-de¹, GAO Su-fang^{1,2}, YUAN Ju-li³, GAO Jian⁵

1. College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Northwest Chinese and Tibetan Medicine Province Co-construction Collaborative Innovation Center, Lanzhou 730000, China; 3. Gansu University of Chinese Medicine Teaching Experiment Training Center, Lanzhou 730000, China; 4. Key Laboratory of Dunhuang Medicine and Transformation, Ministry of Education, Lanzhou 730000, China; 5. Wenxian Zhongzhai Wen Dang Production Area Daiyuan Co., Ltd., Longnan 742500, China

Abstract: In order to explore the continuous cropping obstacle effect of *Codonopsis pilosula* var. *modesta* and its mechanism, pot experiments were conducted in the soil of normal crop (CK), and continuous cropping 1 year (CC₁), continuous cropping 2 years (CC₂) and continuous cropping 3 years (CC₃) as experimental objects. The effects of continuous cropping on the growth, antioxidant enzyme system and chlorophyll of *C. pilosula* var. *modesta*

收稿日期: 2024-03-04; 改回日期: 2024-04-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(82160714), 甘肃省自然科学基金项目(21JR1RA271), 国家重点研发计划项目(2018YFC1706305), 甘肃省高等学校产业支撑引导项目(2021CYZC-40), 2023年研究生“创新之星”项目(2023CXZX-764)和敦煌医学与转化教育部重点实验室项目(DHYZX20-13)资助。

作者简介: 邱亚娟(1998-), 女, 甘肃岷县人, 在读硕士。E-mail: 2755199296@qq.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: 1049395950@qq.com

were evaluated, and the types and levels of autotoxic substances in the soil of different continuous cropping years were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results showed that continuous cropping had an inhibitory effect on the growth of *C. pilosula* var. *modesta* at the seedling stage, flowering stage, peak growth stage and harvest stage, and the effect gradually strengthened with increase in the number of continuous cropping years. In the same continuous cropping years, with the advancement of growth process, the activities of catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) in leaves initially increased and then decreased, and the activities of peroxidase (POD) initially decreased and then increased and then decreased again, but at the same growth stage, the activities of the three antioxidant enzymes all decreased year by year, and but the levels of malondialdehyde (MDA), proline (Pro), soluble sugar and the relative conductivity all increased year by year. The results of GC-MS showed that 5, 17, 13 and 4 chemical substances were identified from CK, CC₁, CC₂ and CC₃, respectively, including di-2-ethylhexyl phthalate, dibutyl phthalate, ethyl propionate and oleamide, among which di-2-ethylhexyl phthalate was found in all treatments with relatively high levels. It can be seen that continuous cropping can inhibit the growth of *C. pilosula* var. *modesta* by disrupting the antioxidant enzyme system and reducing the leaf chlorophyll content, resulting in continuous cropping disorders. The autotoxicity under continuous cropping is one of the main causes for continuous cropping disorders in *C. pilosula* var. *modesta*.

Key words: *Codonopsis pilosula* var. *modesta*; continuous cropping obstacles; physiology and biochemistry; allelopathic autotoxicity; gas chromatography-mass spectrometry

纹党,为桔梗科(Campanulaceae)植物素花党参(*Codonopsis pilosula* var. *modesta*)的干燥根,是甘肃省道地药材,具有补中益气、健脾益肺、养血生津的功效^[1]。纹党主要分布于四川省和甘肃省交界地带,主产区在甘肃省陇南文县。据统计,至2022年,陇南文县纹党种植面积达7300 hm²,年产量6950 t,产值达29000万元^[2]。然而,近年来随着纹党市场需求量的逐年上升,部分种植户盲目追求经济效益,加上纹党本身适生范围狭窄,种植土地有限等诸多因素导致了纹党连作现象频发,产量和品质严重降低。数据显示,连作3年后的地块再次种植纹党后其减产量高达65%以上^[2],可见连作障碍已成为限制纹党产业可持续发展的重要因素。研究表明,约70%的块根类中药材存在严重的连作障碍问题^[3],如人参(*Panax ginseng*)连续种植7年后,其株高、主根长和须根数均有所下降,植株抗氧化酶系统遭受破坏,生长受到抑制^[4];半夏(*Pinellia ternata*)连作1年后,其株高、块茎直径、地上及地下部分生物量均低于同时期轮作植株,产量和品质均下降^[5];茅苍术(*Atractylodes lancea*)连作3年,种植土壤产生的自毒物质能抑制后茬植株的生长,诱导植株体内抗氧化酶活性的改变,扰乱代谢过程,最终导致产量的下降^[6]。由此可见,连作会影响药用植物生长及生理特性,并造成自毒物质的积累。基于此,本研究利用盆栽试验动态研究了不同连作年限土壤对纹党植株生长、生理特性及自毒物质种类和含量的影响,初步揭示纹党连作障碍效应及生理机制,以期为缓解纹党连作障碍提供一定的科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

纹党幼苗为甘肃省陇南文县当地药农自行培育的一年生纹党种苗,经甘肃中医药大学杨扶德教授鉴定为桔梗科植物素花党参。

1.2 试验设计

试验共设正茬(3年内未种植过纹党)、连作1、2和3年4个处理,不同处理土壤于2022年10月均取自陇南文县相应地块耕层土壤,均为壤土,分别标记为CK、CC₁、CC₂和CC₃。4种处理中土壤碱解N分别为:15.03、15.59、15.28及15.87 mg·kg⁻¹,土壤速效P分别为:16.72、17.21、16.98及17.69 mg·kg⁻¹,土壤速效K分别为:54.89、63.53、64.95及72.74 mg·kg⁻¹。将不同处理土壤肥力补充一致后,于2023年3月20日选择性状优良、大小均一

的纹党种苗,消毒(在浓度为 $3\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的高锰酸钾溶液中灭菌 10 min ,再用无菌蒸馏水冲洗 $2\sim 3$ 次)后移栽至装有 10 kg 土壤的营养盆($32\text{ cm}\times 21\text{ cm}\times 28\text{ cm}$)中,每盆 10 株,每个处理重复 5 次,每个重复 3 个平行,随机排列放置室外,全生育期正常管理。

1.3 测定指标及方法

于苗期(40 d)、开花期(90 d)、生长旺盛期(140 d)及收获期(180 d)分别取样进行生长指标、抗氧化酶活性、渗透调节物质及叶绿素含量的测定;于生长旺盛期分析不同处理土壤中自毒物质的种类及含量。

1.3.1 生长指标的测定 随机选取不同处理各 3 盆,每盆随机选取 3 株,分别使用卷尺测定植株的藤长和根长,用游标卡尺测定其根直径,用万分之一天平称量其根鲜重和干重。

1.3.2 抗氧化酶活性的测定 采用紫外吸收法^[7]测定过氧化氢酶(catalase, CAT)活性;采用愈创木酚显色法^[8]测定过氧化物酶(peroxidase, POD)活性;采用氮蓝四唑光氧化还原法^[9]测定超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性。

1.3.3 渗透调节物质及细胞膜透性相关指标的测定 采用酸性茚三酮法^[7]测定脯氨酸(proline, Pro)含量;采用蒽酮比色法^[10]测定可溶性糖含量;采用硫代巴比妥酸显色法^[7]测定丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量;采用浸泡法^[11]测定相对电导率。

1.3.4 叶绿素含量的测定 分别取各处理同一部位成熟叶片,使用丙酮-乙醇混合液提取法^[12]提取叶绿素,采用分光光度法^[12]测定叶绿素含量。

1.3.5 化感自毒物质的检测 取各处理新鲜根际土壤 500 g ,加入适量蒸馏水超声提取 2 h 后浸泡 24 h , $4000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min ,抽滤上清液, $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤后浓缩至少量,用 3 倍量体积的乙酸乙酯萃取后减压浓缩至 0.5 mL , $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤后,用于气质联用色谱技术(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)检测。

检测条件:美国 Agilent 公司 7890B 型气相色谱-5977B 型质谱联用仪,色谱柱为 HP-5MS($30\text{ m}\times 250\text{ }\mu\text{m}\times 0.25\text{ }\mu\text{m}$),程序升温(起始温度 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 1 min ;以 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升温至 $130\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 2 min ;以 $4\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升温至 $160\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 2 min ;以 $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升温至 $180\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 3 min ;以 $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升温至 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 5 min ;以 $4\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升温至 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 8 min ;以 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升温至 $280\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 14 min ;以 $8\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升温至 $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ 结束),进样口温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$,载气为 He,进样量 $1\text{ }\mu\text{L}$,流速 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,离子源温度 $230\text{ }^{\circ}\text{C}$,电离电压 70 eV ,全扫描,扫描范围为 $m/z\ 50\sim 550$ 。

检测结束后,比对 NIST14.L 数据库,分析质谱图识别结果,利用峰面积归一化法^[13]计算各成分相对含量。

借鉴 Jaccard 相似系数公式,比较不同处理土壤中化合物的相似度(J)。其计算公式为:

$$J(\%) = \frac{e}{a + b + c + d + e} \times 100$$

式中: a 、 b 、 c 、 d 分别为 CK、CC₁、CC₂和 CC₃根际土壤中特有组分的数目; e 为共有组分数目。 a 、 b 、 c 、 d 所代表组分相对含量大于 1% ; e 所代表 4 个处理共有组分中至少有 1 个组分的相对含量大于 1% 。

1.4 数据统计与分析

采用 Excel 2010 软件处理原始数据,绘制图表,利用 SPSS 17.0 软件对试验数据进行方差分析与显著性检验。

2 结果与分析

2.1 连作对纹党生长指标的影响

连作抑制了纹党植株的生长(表1)。在 4 个生长阶段,随连作年限的延长,纹党各生长指标均有所下降。苗期,CC₁中根长、根直径、根鲜重、根干重和藤长较 CK 分别下降了 16.27% 、 9.32% 、 29.77% 、 60.61% 和 30.03% ,CC₂中分别下降了 29.01% 、 27.12% 、 48.63% 、 65.65% 和 35.90% ,CC₃中分别下降了 34.05% 、 48.31% 、 55.25% 、 69.99% 和 50.21% ,且与 CK 相比除 CC₁根直径外,其余生长指标均差异显著($P < 0.05$)。此外,该时期

CC₃与CC₁相比,其根长、根直径、根鲜重、根干重及藤长也分别下降了21.24%、42.99%、36.28%、23.81%和28.84%,除根干重外其余指标间差异均达显著水平($P<0.05$)。开花期、生长旺盛期和收获期,所有连作处理中除开花期CC₁和CC₂的藤长和收获期CC₁的藤长外,其余各生长指标较CK均显著下降($P<0.05$),且随连作年限的延长,下降程度不断加强。

表1 连作对纹党植株生长指标的影响

Table 1 Effects of continuous cropping on growth indexes of *C. pilosula* var. *modesta*

| 生育时期 Growth stages | 处理 Treatment | 根长 Root length (cm·plant ⁻¹) | 根直径 Root diameter (mm·plant ⁻¹) | 根鲜重 Root fresh weight (g·plant ⁻¹) | 根干重 Root dry weight (g·plant ⁻¹) | 藤长 Vine length (cm·plant ⁻¹) |
|----------------------------|-----------------|--|---|--|--|--|
| 苗期 Seedling stage | CK | 24.96±0.238a | 1.18±0.067a | 2.7989±0.286a | 1.0653±0.285a | 52.98±0.748a |
| | CC ₁ | 20.90±0.527b | 1.07±0.040a | 1.9657±0.112b | 0.4196±0.091b | 37.07±3.418b |
| | CC ₂ | 17.72±2.069c | 0.86±0.101b | 1.4378±0.081c | 0.3659±0.115b | 33.96±3.025b |
| | CC ₃ | 16.46±0.186c | 0.61±0.072c | 1.2526±0.160c | 0.3197±0.056b | 26.38±2.038c |
| 开花期 Flowering stage | CK | 25.39±1.346a | 6.91±1.635a | 3.4110±0.145a | 1.4091±0.109a | 96.17±39.391a |
| | CC ₁ | 21.47±0.751b | 4.55±0.142b | 3.1096±0.011b | 1.2741±0.005b | 83.18±8.506ab |
| | CC ₂ | 18.32±0.504c | 4.44±0.189b | 2.7827±0.238c | 1.1582±0.007c | 48.42±12.541ab |
| | CC ₃ | 16.84±0.298c | 3.79±0.617b | 2.4734±0.114d | 1.0183±0.013d | 44.76±19.578b |
| 生长旺盛期 Growth peak stage | CK | 26.68±0.761a | 7.14±0.391a | 5.4969±0.071a | 3.6628±0.072a | 115.27±13.019a |
| | CC ₁ | 22.90±0.070b | 5.24±0.399b | 4.7162±0.309b | 2.6613±0.070b | 96.37±1.683b |
| | CC ₂ | 19.87±0.503c | 5.11±0.578b | 4.4752±0.103b | 2.4587±0.085c | 94.43±0.646b |
| | CC ₃ | 17.50±0.351d | 4.21±0.207c | 4.4629±0.045b | 2.3155±0.116c | 85.88±0.921b |
| 收获期 Harvest stage | CK | 27.39±0.221a | 7.21±0.709a | 6.5721±0.109a | 4.2388±0.017a | 64.07±15.907a |
| | CC ₁ | 23.64±0.068b | 5.45±0.782b | 5.3405±0.065b | 3.6394±0.081b | 52.04±6.917ab |
| | CC ₂ | 22.09±0.785c | 5.15±0.163b | 5.0363±0.027c | 3.5178±0.099b | 42.01±7.289b |
| | CC ₃ | 19.94±0.125d | 4.43±0.339b | 4.6860±0.057d | 2.5348±0.024c | 39.84±3.914b |

表中数据为平均值±标准差,不同小写字母表示同一生育时期不同处理间差异显著($P<0.05$)。Data are mean±standard error, different lowercase letters indicate significant differences among different treatments in the same growth stage ($P<0.05$).

2.2 连作对纹党叶片生理特性的影响

2.2.1 连作对纹党抗氧化酶活性的影响

同一生育时期内,随连作年限的增加,纹党植株CAT、POD和SOD活性均表现出逐年下降趋势(图1~3)。相同连作年限下CAT活性随生育阶段的变化呈先增加后下降的趋势,开花期达到最大值,该时期CC₁、CC₂和CC₃处理的CAT活性较CK分别显著下降了14.61%、15.34%和15.37% ($P<0.05$);随生育时期的推进,POD活性表现出先下降后增加又下降的变化趋势,生长旺盛期达到最大值,这一时期CC₁、CC₂和CC₃处理的POD活性较CK分别显著下降了22.42%、26.13%和35.28% ($P<0.05$);SOD活性的变化趋势与CAT活性一致,同样在开花期达到最大值,此时期CC₁、CC₂及CC₃处理的SOD活性较CK分别显著下降

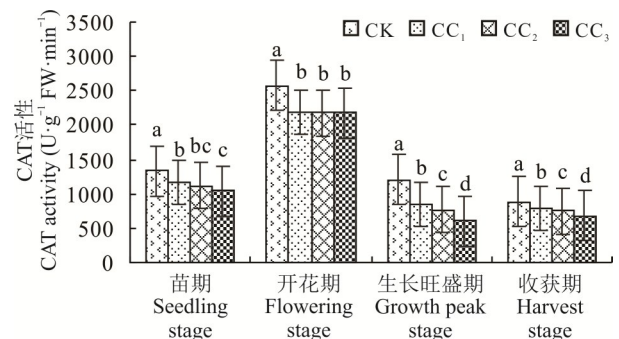


图1 连作对纹党不同生育时期叶片CAT活性的影响

Fig. 1 Effects of continuous cropping on CAT activity in leaves at different growth stages of *C. pilosula* var. *modesta*

不同小写字母表示同一生育时期不同处理间差异显著($P<0.05$),下同。Different lowercase letters indicate significant differences among different treatments in the same growth stage ($P<0.05$), the same below.

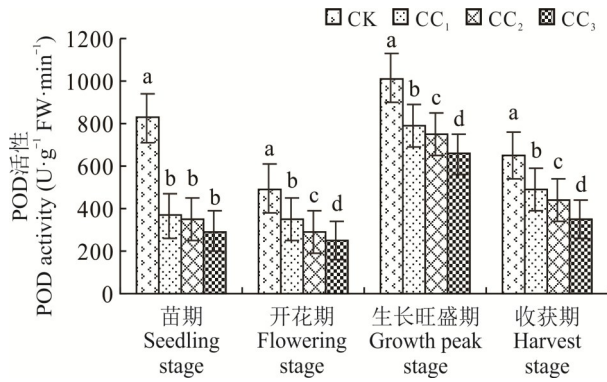


图 2 连作对纹党不同生育时期叶片 POD 活性的影响
 Fig. 2 Effects of continuous cropping on POD activity in leaves at different growth stages of *C. pilosula* var. *modesta*

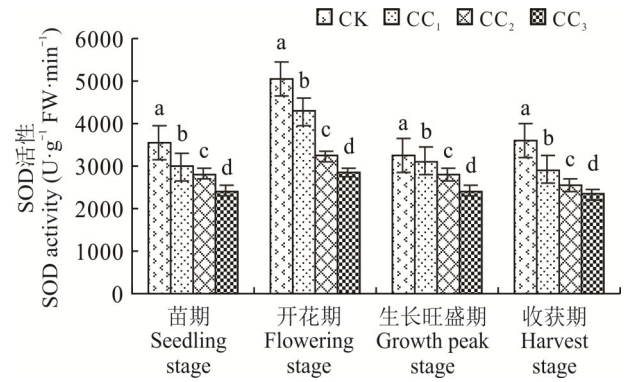


图 3 连作对纹党不同生育时期叶片 SOD 活性的影响
 Fig. 3 Effects of continuous cropping on SOD activity in leaves at different growth stages of *C. pilosula* var. *modesta*

了 15.26%、35.98% 和 43.47% ($P < 0.05$), 与 CAT 变化相比, 二者之间存在差异性, 即开花期 CC_1 、 CC_2 和 CC_3 之间 CAT 活性差异不显著, 而 SOD 活性差异均显著 ($P < 0.05$)。由此可见, 连作可以影响纹党叶片的抗氧化酶活性, 且对不同酶的影响程度有所差异。

2.2.2 连作对纹党细胞膜透性及渗透调节物质的影响 同一生长阶段, 随连作年限的增加, 纹党叶片 MDA、Pro、可溶性糖含量以及相对电导率均逐年增加 (图 4~7), 收获期 CC_1 与 CK 相比, 其叶片 MDA、Pro、可溶性糖含量和相对电导率分别显著增加了 22.27%、15.47%、14.68% 和 25.61% ($P < 0.05$), 同时期 CC_3 较 CC_1 其叶片 MDA、Pro、可溶性糖含量和相对电导率也分别显著增加了 34.28%、34.63%、40.18% 和 47.66% ($P < 0.05$), 且全生育阶段 CC_3 与 CC_1 相比, 除苗期 MDA 和 Pro 含量差异不显著外, 其余指标均显著增加 ($P < 0.05$), 可见连作年限越长, 纹党叶片细胞膜受到的破坏程度越强。此外, 从苗期、开花期、生长旺盛期到收获期, 不同连作年限处理下纹党叶片的 MDA、Pro、可溶性糖含量和相对电导率均呈不断增加趋势, 收获期达到最大值, 这一现象可能与收获期连作土壤中积累的自毒物质含量有关。收获期纹党根系分泌的自毒物质不断累积, 含量增大, 从而对纹党植株细胞膜的破坏作用增强, MDA 含量增加, 电解质外渗量增加, 相对电导率提高。

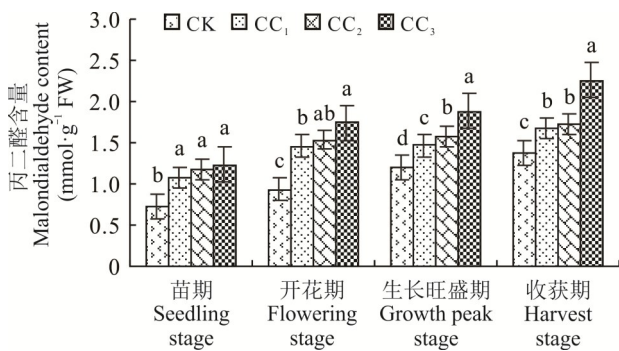


图 4 连作对纹党不同生育时期叶片丙二醛含量的影响
 Fig. 4 Effects of continuous cropping on malondialdehyde content in leaves at different growth stages of *C. pilosula* var. *modesta*

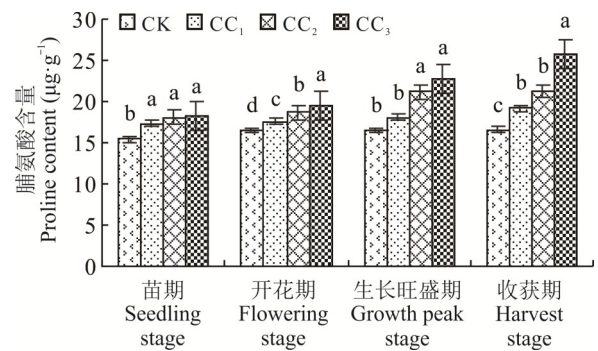


图 5 连作对纹党不同生育时期叶片脯氨酸含量的影响
 Fig. 5 Effects of continuous cropping on proline content in leaves at different growth stages of *C. pilosula* var. *modesta*

2.2.3 连作对纹党叶片叶绿素含量的影响 同一生长阶段, 随连作年限的延长, 纹党叶片中叶绿素含量呈不断下降趋势 (图 8), 所有连作处理叶绿素含量与 CK 相比均显著下降 ($P < 0.05$)。其中, CC_1 处理在苗期、开花期、生长旺盛期及收获期, 其叶绿素含量较 CK 分别显著下降了 24.87%、26.07%、23.08% 和 14.49% ($P < 0.05$), CC_3 处理在 4 个时期其叶绿素含量较 CK 也分别显著下降了 33.13%、42.84%、38.53% 和 32.99% ($P < 0.05$), 且 CC_3 与 CC_1 相比, 4 个时期叶绿素含量差异也均达显著水平 ($P < 0.05$)。由此可见, 连作对纹党植株叶绿素含量具有一定的抑制作用, 且这种作用伴随在整个生育期内。

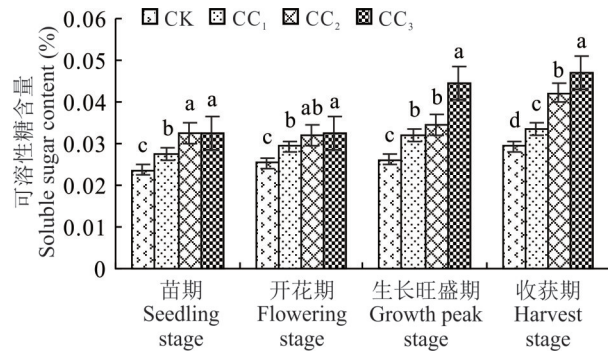


图6 连作对纹党不同生育时期叶片可溶性糖含量的影响

Fig. 6 Effects of continuous cropping on soluble sugar content in leaves at different growth stages of *C. pilosula* var. *modesta*

2.3 连作土壤中自毒物质的鉴定

采用GC-MS分析不同处理中潜在的化感自毒物质。结果发现,CK中检测出5种化合物,主要包括:邻苯二甲酸二丁酯、丙烯醛、邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯等物质;CC₁中检测出17种化合物,主要包括:邻苯二甲酸二丁酯、丙酸乙酯和邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯等;CC₂中鉴定出13种化合物,主要包括:2,4-二叔丁基苯酚、邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯、丙酸乙酯等物质;CC₃中检测到4种化合物,包括:丙酸乙酯、邻苯二甲酸二丁酯、油酸酰胺和邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯(表2~5)。

表2 正茬土壤中存在的主要化学物质

Table 2 Main chemical substances present in regular soil

| 保留时间 Retention time (min) | 化合物 Compound | 分子量 Molecular weight | 分子式 Molecular formula | 相对含量 Relative content (%) |
|------------------------------|--|-------------------------|--|------------------------------|
| 3.236 | 丙烯醛 Acrolein | 56.06 | C ₃ H ₄ O | 18.06 |
| 30.387 | 邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate | 278.34 | C ₁₆ H ₂₂ O ₄ | 4.82 |
| 37.557 | 顺-9-十六烯酸庚酯 <i>Cis</i> -9-Hexadecenoic acid, heptyl ester | 352.30 | C ₂₃ H ₄₄ O ₂ | 2.56 |
| 43.782 | 9-十八烯酸丁酯 Butyl 9-octadecenoate | 338.57 | C ₂₂ H ₄₂ O ₂ | 2.42 |
| 48.068 | 邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯 Di-(2-ethylhexyl) phthalate | 390.56 | C ₂₄ H ₃₈ O ₄ | 72.14 |

计算不同处理纹党土壤中相对含量大于1%组分的相似系数。结果显示,4种处理土壤中所含化合物的相似系数为15.38%,邻苯二甲酸二丁酯和邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯为各处理土壤共存化合物,且相对含量均较高,前者在CC₁、CC₂和CC₃中相对含量均为最高成分,分别为44.73%、64.15%和86.01%,而在CK中占到4.82%;后者在CC₁、CC₂和CC₃中相对含量分别为10.10%、12.18%和5.74%,而在CK中相对含量高达72.14%。表2~5中列出的化学物质均为GC-MS分析匹配度大于80%的化合物。CK、CC₁、CC₂和CC₃处理土壤浸提液的GC-MS色谱图见图9。

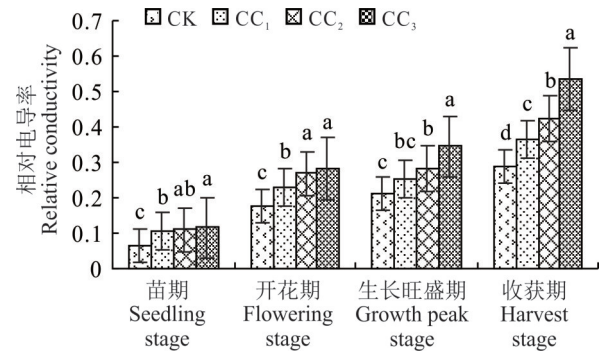


图7 连作对纹党不同生育时期叶片相对电导率的影响

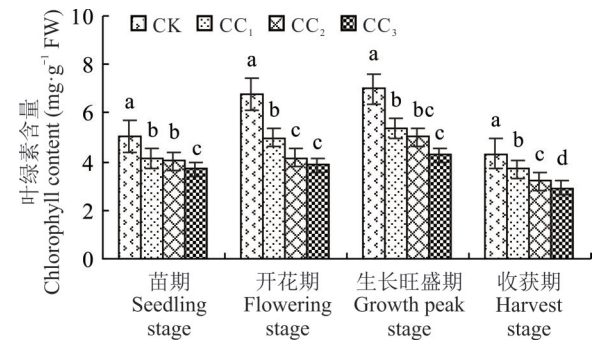
Fig. 7 Effects of continuous cropping on relative conductivity in leaves at different growth stages of *C. pilosula* var. *modesta*

图8 连作对纹党不同生育时期叶片叶绿素含量的影响

Fig. 8 Effects of continuous cropping on chlorophyll content in leaves at different growth stages of *C. pilosula* var. *modesta*

表 3 连作 1 年土壤中存在的主要化学物质

Table 3 The main chemical substances present in the soil of continuous cropping for 1 year

| 保留时间 Retention time (min) | 化合物 Compound | 分子量 Molecular weight | 分子式 Molecular formula | 相对含量 Relative content (%) |
|------------------------------|--|-------------------------|---|------------------------------|
| 3.179 | 丙酸乙酯 Ethyl propionate | 102.13 | C ₅ H ₁₀ O ₂ | 13.71 |
| 3.671 | 甲苯 Toluene | 92.14 | C ₇ H ₈ | 3.19 |
| 4.043 | 四氯乙烯 Tetrachloroethylene | 165.83 | C ₂ Cl ₄ | 1.62 |
| 4.655 | 乙基苯 Ethyl benzene | 106.17 | C ₈ H ₁₀ | 0.66 |
| 4.764 | 对二甲苯 P-xylene | 106.17 | C ₈ H ₁₀ | 5.34 |
| 6.028 | 苯甲醛 Benzaldehyde | 106.12 | C ₇ H ₆ O | 3.53 |
| 7.573 | 苯乙酮 Acetophenone | 120.15 | C ₈ H ₈ O | 2.28 |
| 7.865 | 1-甲氧基丙苯 1-methoxypropylbenzene | 150.22 | C ₁₀ H ₁₄ O | 2.30 |
| 8.312 | 磷酸三乙酯 Triethyl phosphate | 182.15 | C ₆ H ₁₅ O ₄ P | 1.58 |
| 8.918 | 四环[5.3.0.0<2,6>.0<3,10>]癸-4,8-二烯 Tetracyclic [5.3.0.0<2,6>.0<3,10>] decan-4,8-diene | 130.10 | C ₁₀ H ₁₀ | 2.04 |
| 15.332 | 癸酸十四醇酯 Undec-10-ynoic acid, tetradecyl ester | 378.40 | C ₂₅ H ₄₆ O ₂ | 0.99 |
| 17.164 | γ-苯基-γ-丁内酯 Gamma-phenyl-gamma-butyrolactone | 162.19 | C ₁₉ H ₁₀ O ₂ | 3.45 |
| 19.790 | 癸酸十六醇酯 Undec-10-ynoic acid, hexadecyl ester | 406.40 | C ₂₇ H ₅₀ O ₂ | 0.62 |
| 27.292 | 邻苯二甲酸丁十四烷基酯 Phthalic acid, butyl tetradecyl ester | 418.30 | C ₂₆ H ₄₂ O ₄ | 3.35 |
| 30.479 | 邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate | 278.34 | C ₁₆ H ₂₂ O ₄ | 44.73 |
| 36.945 | E, E, Z-1, 3, 12-十九碳三烯-5, 14-二醇 E, E, Z-1, 3, 12- Nonadecatriene-5, 14-diol | 294.30 | C ₁₉ H ₃₄ O ₂ | 0.51 |
| 47.925 | 邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯 Di-(2-ethylhexyl) phthalate | 390.56 | C ₂₄ H ₃₈ O ₄ | 10.10 |

表 4 连作 2 年土壤中存在的主要化学物质

Table 4 The main chemical substances present in soil after 2 years of continuous cropping

| 保留时间 Retention time (min) | 化合物 Compound | 分子量 Molecular weight | 分子式 Molecular formula | 相对含量 Relative content (%) |
|------------------------------|--|-------------------------|--|------------------------------|
| 3.282 | 丙酸乙酯 Ethyl propionate | 102.13 | C ₅ H ₁₀ O ₂ | 2.78 |
| 3.705 | 甲苯 Toluene | 92.14 | C ₇ H ₈ | 0.66 |
| 4.781 | 对二甲苯 P-xylene | 106.17 | C ₈ H ₁₀ | 0.64 |
| 5.073 | 苯乙烯 Styrene | 104.15 | C ₈ H ₈ | 8.84 |
| 6.040 | 苯甲醛 Benzaldehyde | 106.12 | C ₇ H ₆ O | 1.06 |
| 7.579 | 苯乙酮 Acetophenone | 120.15 | C ₈ H ₈ O | 0.88 |
| 8.918 | 四环[5.3.0.0<2,6>.0<3,10>]癸-4,8-二烯 Tetracyclic [5.3.0.0<2,6>.0<3,10>] decan-4,8-diene | 130.10 | C ₁₀ H ₁₀ | 0.49 |
| 16.774 | 2,4-二叔丁基苯酚 2,4-di-tert-butylphenol | 206.32 | C ₁₄ H ₂₂ O | 0.67 |
| 17.426 | 3-氯三环[5.2.1.0(4,8)]癸-2,5-二烯 3-Chlorotricyclo [5.2.1.0(4,8)]deca-2,5-diene | 166.10 | C ₁₀ H ₁₁ Cl | 1.42 |
| 20.917 | 3-苯甲酰基丙酸乙酯 Ethyl 3-benzoylpropionate | 206.24 | C ₁₂ H ₁₄ O ₃ | 1.46 |
| 30.724 | 邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate | 278.34 | C ₁₆ H ₂₂ O ₄ | 64.15 |
| 43.782 | 油酸酰胺 Oleamide | 281.48 | C ₁₈ H ₃₅ NO | 4.77 |
| 47.982 | 邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯 Di-(2-ethylhexyl) phthalate | 390.56 | C ₂₄ H ₃₈ O ₄ | 12.18 |

表5 连作3年土壤中存在的主要化学物质

Table 5 The main chemical substances present in soil after 3 years of continuous cropping

| 保留时间 Retention time (min) | 化合物 Compound | 分子量 Molecular weight | 分子式 Molecular formula | 相对含量 Relative content (%) |
|------------------------------|--|-------------------------|--|------------------------------|
| 3.282 | 丙酸乙酯 Ethyl propionate | 102.13 | C ₅ H ₁₀ O ₂ | 0.84 |
| 30.810 | 邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate | 278.34 | C ₁₆ H ₂₂ O ₄ | 86.01 |
| 43.920 | 油酸酰胺 Oleamide | 281.48 | C ₁₈ H ₃₅ NO | 7.41 |
| 48.028 | 邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯 Di-(2-ethylhexyl) phthalate | 390.56 | C ₂₄ H ₃₈ O ₄ | 5.74 |

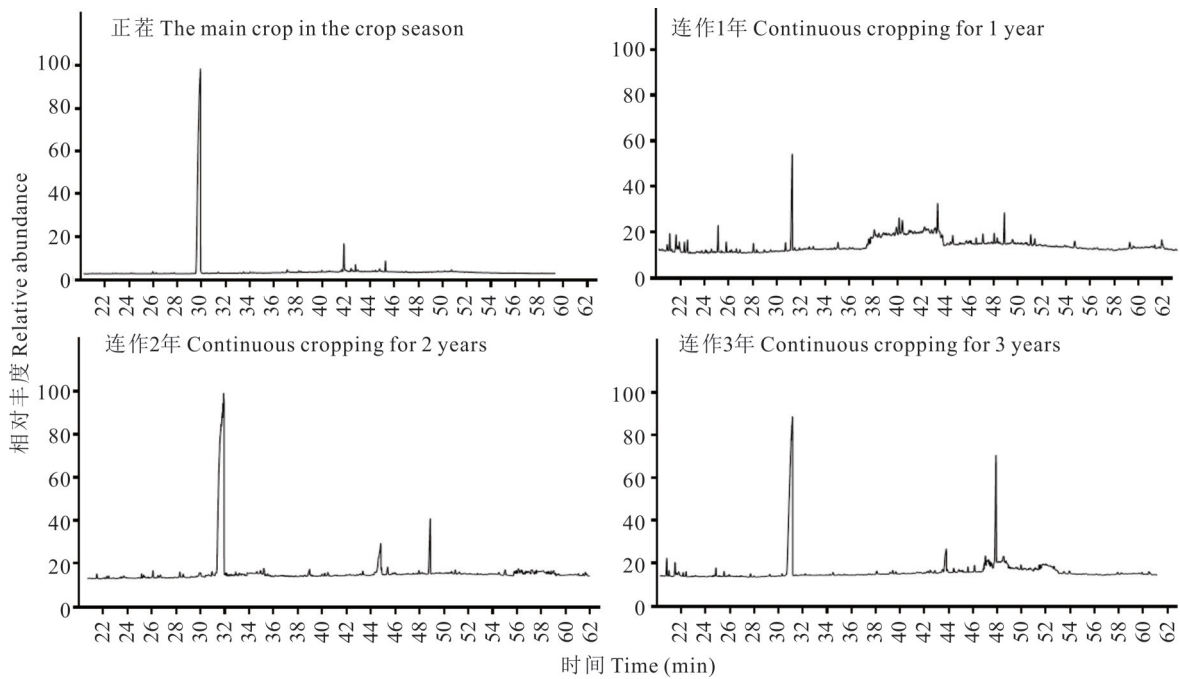


图9 不同连作年限土壤萃取液的GC-MS色谱

Fig. 9 GC-MS chromatogram of soil extract for different years of continuous cropping

3 讨论与结论

3.1 连作对纹党植株生长的影响

植物通过根系吸收土壤中的营养与水分,从而进行自身的生长,生长指标可直接反映连作对纹党生长的影响。赵振利等^[14]研究发现,连续种植2和3年白花泡桐(*Paulownia fortunei*),其各项形态指标均小于正茬。刘诗蓉等^[15]研究发现,半夏连作二茬后,其植株叶片宽度、叶片长度、根长、株高、块茎直径等生长指标均呈下降趋势,且下降现象表现在整个生育时期内。本研究还发现,在纹党的4个生长阶段内,其根长、根直径、根鲜重、根干重及藤长均随连作年限的增加逐年减小,这一结果与上述结论相一致。

3.2 连作对纹党逆境生理指标的影响

CAT、POD和SOD可以清除植物体内过多的活性氧,提高植物抵抗逆境的能力,从而有益于植物在逆境环境下生存^[16]。本研究发现,在苗期、开花期、生长旺盛期和收获期等每一生育时期内,纹党叶片CAT、POD和SOD活性均随连作年限的增加呈逐年下降的趋势,说明连作条件下纹党叶片细胞中抗氧化酶不足以清除过多的自由基,从而加剧叶片细胞的受损程度,这与师桂英等^[17]在研究连作对兰州百合(*Lilium davidii* var. *unicolor*)叶片各生育时期抗氧化酶活性的变化结果相一致。纹党植株叶片中MDA、Pro、可溶性糖含量及相对电导率在各个生育时期内均随连作年限的延长而不断增加,说明逆境下,植物为抵抗连作对自身细胞造成的伤害,需要通过积

累大量的渗透调节物质,以力争稳定细胞膨压,维持原有代谢过程。但是,随着连作年限的增加,纹党植株受到的胁迫程度不断增大,从而引起纹党叶片中MDA、Pro、可溶性糖含量以及相对电导率随着连作年限的延长而不断增加。此外,本研究还发现,各生育时期内,所有连作处理中纹党叶片的叶绿素含量较CK均显著下降,这一现象与杨雪等^[18]研究连作苦荞(*Fagopyrum tataricum*)和杨科等^[19]研究连作藜麦(*Chenopodium quinoa*)时的现象一致,说明连作后纹党的光合作用能力有所减弱,有机物的积累减少,从而影响了纹党的生长,导致连作障碍发生。

3.3 连作障碍与自毒作用

引起药用植物连作障碍发生的原因很多,诸如土壤理化性状的改变、土壤供肥的不足、土壤微生物多样性的变化以及土壤中化感自毒物质的累积等多种因素^[20-23]。研究显示,化感自毒物质引起的自毒作用是导致药用植物连作障碍发生的重要原因之一^[24-27]。基于此,本试验在对连作下纹党植株的生长及生理特性进行研究的基础上,对不同连作年限纹党土壤中的自毒物质种类进行了鉴定。结果显示,从CK、CC₁、CC₂和CC₃处理土壤中分别检测出5、17、13和4种化学成分,化学物质的种类随连作年限的延长反而减少,未呈现出物质种类的累积趋势,造成这一结果的原因可能存在3个方面。第一,不同的化学物质间可能会发生一定的化学反应,且生成物可能不具有挥发性,故仅利用GC-MS技术未能完全检出;第二,生长指标和自毒物质检测结果提示,部分自毒物质并非直接作用于植物,可能通过微生物的转化而间接作用于植物,从而造成生长指标的下降;第三,本研究仅利用了GC-MS技术检测了土壤中的挥发性、低极性物质,鉴定结果提示纹党连作土壤中极有可能还存在中、强极性的其他化学物质,故在后续研究中将进一步利用液质联用非靶向代谢组学技术对纹党连作土壤中的中、强极性物质进行检测。此外,本试验还发现,所有处理土壤中均存在邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯,且相对含量均较高,故推测邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯可能为纹党连作土壤中的低极性典型自毒物质,其自毒效应及作用机制将在后续试验进行研究。

综上所述,连作可以通过抑制纹党植株抗氧化酶活性破坏细胞膜结构,通过降低纹党叶片叶绿素含量影响光合作用能力,降低有机物的合成和累积,进而影响纹党植株的生长,引起连作障碍的发生。

参考文献 References:

- [1] National Pharmacopoeia Committee. Chinese Pharmacopoeia (one). Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020: 281-282.
国家药典委员会. 中国药典(一部). 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 281-282.
- [2] Yang Y, Li H L, Ma K L, et al. Effect of continuous cropping on the physicochemical properties, microbial activity, and community characteristics of the rhizosphere soil of *Codonopsis pilosula*. Environmental Science, 2023, 44(11): 6387-6398.
杨阳, 李海亮, 马凯丽, 等. 连作对党参根际土壤理化性质、微生物活性及群落特征的影响. 环境科学, 2023, 44(11): 6387-6398.
- [3] Wu H M, Lin W X. A commentary and development perspective on the consecutive monoculture problems of medicinal plants. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2020, 28(6): 775-793.
吴红森, 林文雄. 药用植物连作障碍研究评述和发展透视. 中国生态农业学报, 2020, 28(6): 775-793.
- [4] Shen Y L, Cheng L Y, Meng X R, et al. Effects of ginseng continuous soil crop on growth development and antioxidant system of ginseng at different fertility stages. Chinese Journal of Applied Chemistry, 2023, 40(1): 109-115.
沈彦龙, 程立业, 孟祥茹, 等. 人参连作土壤对不同生育期人参生长发育及抗氧化系统的影响. 应用化学, 2023, 40(1): 109-115.
- [5] An Y, Yang D, Li X, et al. Study on the effect and physiological mechanism of continuous cropping obstruction of *Pinellia ternata*. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2018, 27(7): 1017-1022.
安艳, 杨丹, 李鑫, 等. 半夏连作障碍效应及生理机制研究. 西北农业学报, 2018, 27(7): 1017-1022.
- [6] Wang M, Qu C L, Zhang Y, et al. Identification of autotoxic compounds in root exudates of *Atractylodes lancea* and their effects on seedling growth. Journal of Hubei University of Chinese Medicine, 2023, 25(2): 47-51.
王萌, 瞿彩丽, 张燕, 等. 茅苍术根际自毒物质鉴定及其对幼苗生长的影响. 湖北中医药大学学报, 2023, 25(2): 47-51.
- [7] Zhang Z L, Qu W J, Li X F. Experimental guidance in plant physiology (The 4th Edition). Beijing: Higher Education Press, 2009.

张志良, 瞿伟菁, 李小芳. 植物生理学实验指导(第四版). 北京: 高等教育出版社, 2009.

- [8] Jothimani K, Arulbalachandran D. Physiological and biochemical studies of black gram (*Vigna mungo* (L.) Hepper) under polyethylene glycol induced drought stress. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2020, 29: 101777.
- [9] Qi J W, Lu S S, Huang H X, *et al.* Identification of superoxide dismutase gene family in *Gymnocarpus przewalskii* and its response to salt stress. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2023, 38(5): 856–867.
齐建伟, 鲁松松, 黄海霞, 等. 裸果木超氧化物歧化酶基因家族鉴定及对盐胁迫的响应分析. *云南农业大学学报(自然科学)*, 2023, 38(5): 856–867.
- [10] Yang X X, Liu R, Jing M, *et al.* Variation of root soluble sugar and starch response to drought stress in *Foxtail millet*. *Agronomy*, 2023, 13(2): 359.
- [11] Nie M. Research on growth and physiological characteristics of *Rehmannia glutinosa* Libosch. at different continuous cropping years and allelochemicals of its rhizosphere soil. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2017.
聂铭. 不同连作年限地黄生长生理特性及其根区土壤化感物质研究. 郑州: 河南农业大学, 2017.
- [12] Wang Z W. The effects of growth development and composition accumulation of *Codonopsis pilosula* under different soil moisture. Hangzhou: Zhejiang Sci-Tech University, 2018.
王赞文. 土壤水分对党参生长发育和成分积累的影响. 杭州: 浙江理工大学, 2018.
- [13] Bian H, Cao Y, Ge Y. Study on determination of total flavomycin in feedstuff based on area normalization method. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2024, 39(1): 204–211, 217.
卞华, 曹莹, 葛宇. 基于面积归一化法对饲料中黄霉素总残留量的研究. *中国粮油学报*, 2024, 39(1): 204–211, 217.
- [14] Zhao Z L, Li H K, Li X Z, *et al.* Effects of continuous cropping on the growth and endophyte and rhizosphere microbial community structure of *Paulownia fortunei*. *Journal of Forest and Environment*, 2023, 43(4): 407–415.
赵振利, 李慧珂, 李焯楨, 等. 连作对白花泡桐生长及根内外微生物群落的影响. *森林与环境学报*, 2023, 43(4): 407–415.
- [15] Liu S R, Wang H L, Yang P, *et al.* Effects of continuous cropping on the growth and secondary metabolites of *Pinellia ternata*. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2022, 45(1): 1–6.
刘诗蓉, 王红兰, 杨萍, 等. 连作对半夏生长及次生代谢产物的影响. *中药材*, 2022, 45(1): 1–6.
- [16] Zeng L S, Li P Y, Sun Z J, *et al.* Analysis of antioxidant enzyme protection systems and gene expression differences in two Xinjiang bermudagrass genotypes with contrasting drought resistance. *Acta Prataculturae Sinica*, 2022, 31(7): 122–132.
曾令霜, 李培英, 孙宗玖, 等. 两类新疆狗牙根抗旱基因型抗氧化酶保护系统及其基因表达差异分析. *草业学报*, 2022, 31(7): 122–132.
- [17] Shi G Y, Sun H Q, Yu Y L, *et al.* Effect of long-term consecutive cropping on leaf PS II photochemical efficiency and antioxidant enzyme activity of Lanzhou lily. *Journal of Desert Research*, 2020, 40(2): 206–213.
师桂英, 孙鸿强, 于彦琳, 等. 连作栽培对兰州百合(*Lilium davidii* var. *unicolor*)叶片PS II光化学效率和抗氧化作用的影响. *中国沙漠*, 2020, 40(2): 206–213.
- [18] Yang X, Wang X J, Tang Z L, *et al.* Effects of continuous cropping on plant morphology and physiological characteristics of tartary buckwheat seedlings under hydroponics. *Journal of Southern Agriculture*, 2023, 54(3): 887–893.
杨雪, 王晓静, 唐卓磊, 等. 水培条件下连作对苦荞幼苗植株形态和生理特性的影响. *南方农业学报*, 2023, 54(3): 887–893.
- [19] Yang K, Liu W Y, Wang W T, *et al.* Effects of continuous cropping on growth and physiological characteristics of quinoa. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2021, 43(2): 244–252.
杨科, 刘文瑜, 王旺田, 等. 连作对藜麦生长和生理特性的影响. *江西农业大学学报*, 2021, 43(2): 244–252.
- [20] Chen W, Teng Y, Li Z A, *et al.* Mechanisms by which organic fertilizer and effective microbes mitigate peanut continuous cropping yield constraints in a red soil of south China. *Applied Soil Ecology*, 2018, 128: 23–34.
- [21] Liu H, Pan F J, Han X Z, *et al.* A comprehensive analysis of the response of the fungal community structure to long-term continuous cropping in three typical upland crops. *Journal of Integrative Agriculture*, 2020, 19(3): 866–880.
- [22] Ju J D, Fu X Y, Jiao H R, *et al.* Rhizosphere exudate-mediated synergistic harm of soil microorganisms to medicinal plants in continuous cropping. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2022, 28(20): 92–99.
鞠吉东, 付心雨, 焦焕然, 等. 根际分泌物介导土壤微生物协同致害连作药用植物的分析与探讨. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(20): 92–99.
- [23] Lu J, Li W X, Yang Y H, *et al.* The impact of different rotation regime on the soil bacterial and fungal communities in an

- intensively managed agricultural region. *Archives of Microbiology*, 2022, 204(2): 142–154.
- [24] Kato N H, Nakamura K, Ohno O, *et al.* Asparagus decline: Autotoxicity and autotoxic compounds in asparagus rhizomes. *Journal of Plant Physiology*, 2017, 213: 23–29.
- [25] Arafat Y, Din I U, Tayyab M, *et al.* Soil sickness in aged tea plantation is associated with a shift in microbial communities as a result of plant polyphenol accumulation in the tea gardens. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 601.
- [26] Ma S Y, Chen G P, Wang N, *et al.* Identification of potential autotoxic substances in pea soil and analysis of their autotoxic effects. *Acta Prataculturae Sinica*, 2023, 32(6): 134–145.
马绍英, 陈桂平, 王娜, 等. 豌豆土壤中潜在自毒物质的鉴定及自毒效应研究. *草业学报*, 2023, 32(6): 134–145.
- [27] Zheng F, Chen L, Gao J M, *et al.* Identification of autotoxic compounds from *Atractylodes macrocephala* Koidz and preliminary investigations of their influences on immune system. *Journal of Plant Physiology*, 2018, 230: 33–39.