

油菜根系分泌物的 GC-MS 检测方法研究

张 红, 高亚军, 安 蓉

(西北农林科技大学资源环境学院, 农业部西北植物营养与农业环境重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:为筛选建立 BP-5MS 毛细管柱检测油菜根系分泌物的方法, 本文采用水培试验, 利用 CH_2Cl_2 提取油菜幼苗的根系分泌物, 通过 GC-MS 检测分离鉴定。结果表明, 根据待测物质组分性质, 采用合适的溶剂延迟, 分阶段细化升温程序, 检测出来的特征峰较多且分布密集, 特征峰分离相对比较好。从检测结果看, 油菜苗期根系分泌物主要包括烃类、醇类、酯类和酸类化合物, 且烃类和醇类化合物的相对含量较高, 这些物质大多数具有化感作用, 对植物在逆境环境中的生长和发育有一定的影响。

关键词:油菜; 根系分泌物; GC-MS; 化感作用

中图分类号: X830.2

文献标志码: A

文章编号: 2095-6819(2014)03-0290-06

doi: 10.13254/j.jare.2013.0209

Testing Method of Rape Root Exudates by GC-MS Analysis

ZHANG Hong, GAO Ya-jun, AN Rong

(College of Resources and Environment, Northwest A&F University, Key Laboratory of Plant Nutrition and Agri-environment in Northwest China, Yangling 712100, China)

Abstract: In order to establish a method for the detection of rape root exudates, the hydroponic experiment was conducted using CH_2Cl_2 extract to detect, isolate and identify root exudates of rape seedlings by GC-MS. The results showed that the detected peaks had more densely distributed and relatively good separation of peaks according to the composition of the testing substance by using a suitable solvent delay stages and refining temperature program. From the results, rape seedling root exudates included hydrocarbons, alcohols, esters and acids, while compounds of hydrocarbons and alcohols had relatively high levels. Most of these substances had allelopathic effects which had a certain impact on the environment in adversity plant growth and development.

Keywords: rape; root exudation; GC-MS; allelopathic effect

植物根系在生长发育过程中, 除溢泌质子和其他无机离子外, 还不断向生长介质中释放大量有机物质, 即根系分泌物。根系分泌物在土壤结构形成、土壤矿物风化、土壤养分活化、促进植物养分吸收、根系土壤养分移动及环境胁迫缓解等方面都具有重要作用^[1-6]。由于植物根系分泌物的组分复杂, 其种类和数量随植物类型、根际环境而异。对根系分泌物的研究是土壤形成、植物营养、化感作用、生物污染胁迫、环境污染修复等研究领域的重要内容, 受到国内外学者的普遍关注^[7-8]。

根系是连接植物、土壤及土壤微生物的桥梁和纽

带, 植物根系在正常生长过程中会向根际排泄大量的分泌物, 其中含有许多具有生物活性的化学物质, 这些物质不仅影响植物根际微生态环境, 还影响植物根系周围有机体和其他植物的生长, 同时表现出多种形式的化感作用^[9-12], 所以深入研究植物根系分泌物的种类、影响因素及根系分泌物的分离、提纯方法和功能, 对根系分泌物的形成及其作用机理具有重要意义^[13-15]。采集根际土壤研究植物的根系分泌物是比较直接的方法, 其结果最接近于植物自然生长状态下的根系分泌物组成特点, 但这种方法难于把根系分泌物与土壤中的其他物质完全分离, 容易受到其他外源物质的影响^[16]。而溶液收集法是通过植株的液体培养, 分析其溶液中的物质组成, 从而确定根系释放物质组成的方法^[17-18]。虽然这种方法不能完全接近于自然状态下的根系分泌物组成特点, 但却容易排除外来物质的干扰, 对于研究植物的根系分泌物组成有重要意义。

收稿日期: 2013-11-21

基金项目: 西北农林科技大学大型仪器设备新功能开发项目 (dysb130201); 黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室 (K318009902-1310)

作者简介: 张 红 (1981—), 女, 陕西韩城人, 在读博士, 实验师, 研究方向为环境化学与土壤化学。

E-mail: zhanghong628@nwsuaf.edu.cn

油菜是我国主要油料作物之一,是对水分敏感的作物,在不同养分供应水平下,根系首先引起形态和生理特征变化,来适应不同的养分供应环境,以便吸收更多的养分,这些变化必然会影响作物产量^[19]。在环境胁迫下,油菜在苗期尤以对外界环境的变化反应最为敏感^[20]。近年来,在根系分泌物的研究过程中用到多种仪器手段,如分光光度法测定铝胁迫下外源有机酸对油菜根系分泌物特性^[21],液相色谱法测定根系分泌物中的有机酸^[22-24],而应用 GC-MS 通过数据库检索鉴定植物根系分泌物的手段越来越广泛^[25-26]。GC-MS 充分联合发挥了色谱仪的高分辨率和质谱仪的高鉴别能力,具有需样量小、灵敏度高,能对待测组分的功能团进行有效鉴定等优点,不少学者利用它检测不同植物根系分泌物的组分和化合物种类^[27-29]。目前对油菜根系分泌物方面的研究报道不多。很多学者利用 GC-MS 研究根系分泌物,因根系分泌物的组分属性不同,大多数研究采用极性或非极性毛细管柱分离检测其有效成分,且毛细管柱的规格也不尽一致,因此检测结果略有不同。本研究以水培的油菜植株为材料,利用化学溶剂 CH₂Cl₂ 浸提,在减压状态浓缩后,选用 BP-5MS 毛细管柱分离油菜苗期根系分泌物。由于 BP-5MS 柱兼有非极性柱与极性柱的优点,柱流失低,且在检测分离过程中相对稳定,对非极性的烃类组分及中等极性的酯、醚等成分有较好的分离效果,以此摸索优化检测条件,建立油菜苗期根系分泌物的测试方法,为此类研究工作提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试油菜(*Brassica campestris* L.)为华协 1 号。用 10%的盐酸浸泡石英砂 1 周,用水冲洗至无氯离子为

止,再用去离子水冲洗至 pH 稳定,120 ℃烘干至恒重后作培养基质。营养器采用 10 L 的圆形塑料桶,带孔塑料泡沫板作盖板。试验设 3 次重复,供试化学药品均为分析纯。本试验在西北农林科技大学人工气候室内进行。

1.2 溶液培养

供试营养液为 Hoagland 营养液。供试种子经 H₂O₂ 表面消毒后播于用 CaSO₄ 溶液浸泡过的备用石英砂中,温度为 20~25 ℃避光发芽,当根长至 2~3 cm 时,进行溶液培养,小心取出生长均一的幼苗,用去离子水轻轻洗去石英砂,置于 Hoagland 营养液中定植,每周更换 1 次,以保证幼苗正常生长。每孔定苗 1 株,每桶定苗 10 株,一共 20 桶。采用自动定时小型通气泵连续通气。

1.3 根系分泌物的收集

将水培生长到抽薹期的油菜植株,移栽至 2 L 0.5 mmol·L⁻¹ 的 CaCl₂ 溶液中,在温室光线良好的条件下培养 4 h(9:00—13:00),用 250 mL CH₂Cl₂ 提取根洗液 3~4 次,减压浓缩至 1~1.5 mL 左右,用烘干的无水硫酸钠干燥处理(过夜),再将处理过的提取液过 0.22 μm 膜,提取液用作 GC-MS 上机测定。

1.4 根系分泌物的分离鉴定

样品提取好后,在西北农林科技大学资源环境学院实验教学中心色谱分析仪器室中运用 GC-MS 测定完成。仪器型号为 Thermo Fisher Trace GC 2000 DSQII,毛细管柱 BP-5MS,30 m×0.25 mm×0.25 μm,载气为 He,采用不分流进样。

根据杨瑞吉等^[15]、柴强等^[29]研究方法分别选择以下参数条件进行测定,并从中优化建立测定方法,具体见表 1。

为了避免每个样品测定结束对下个样品测定带

表 1 GC-MS 测定油菜根系分泌物的不同检测方法
Table 1 Determination of rape root exudates in different measures by GC-MS

参数设定	方法 1	方法 2	方法 3
进样口温度/℃	250	250	250
升温程序	50 ℃ $\xrightarrow{6\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 250 ℃(15 min)	50 ℃ $\xrightarrow{6\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 250 ℃(15 min)	50 ℃(1 min) $\xrightarrow{10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 120 ℃(1 min) $\xrightarrow{3\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 250 ℃(15 min)
进样量/μL	1	1	1
流量/mL·min ⁻¹	1	1	1
扫描模式	全扫描 33~453 m/z	全扫描 33~453 m/z	全扫描 33~453 m/z
溶剂延迟/min	3	5	5
电子轰击源/eV	70	70	70
离子源温度/℃	250	250	250
传输线温度/℃	250	250	250

来干扰,特设高温老化检测柱程序,将残留在柱子中的样品高温烧掉。每种方法最后得出的 GC-MS 谱图应用 NIST2009 质谱数据库,通过计算机检索进行未知物以及相对含量的测定。

2 结果与讨论

2.1 油菜根系分泌物 GC-MS 扫描图谱

3 种方法的测试结果见图 1~图 3。

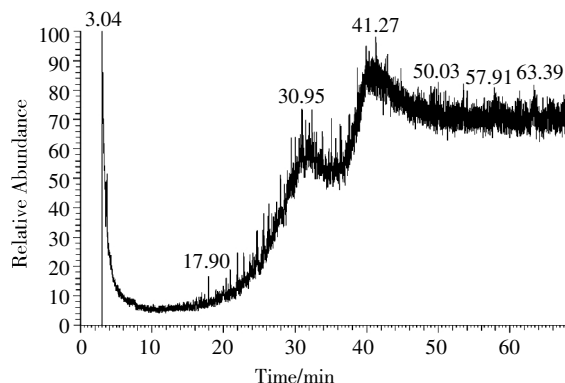


图 1 方法 1 测定油菜苗期根系分泌物的 GC-MS 扫描图谱

Figure 1 Determination of GC-MS scan graph of rape root exudation by Method 1

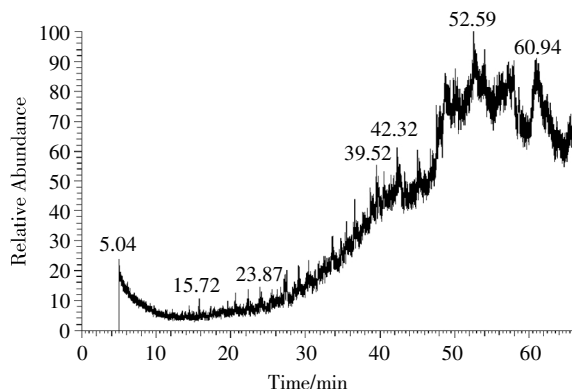


图 2 方法 2 测定油菜苗期根系分泌物的 GC-MS 扫描图谱

Figure 2 Determination of GC-MS scan graph of rape root exudation by Method 2

图 1 可以看出,方法 1 中由于溶剂延迟设定的时间过短,3 min 后出现较强的溶剂峰,对样品检测结果影响较大,所以必须加长溶剂延迟的时间。

方法 2 中升温程序相对比较简单,而根系分泌物的组分复杂。从图 2 可以看出,通过该方法测定得出的总离子流谱图发现,前期基本不出峰,后期出峰较多,且峰与峰之间分离较差,基线漂移较高,不能得出很好的结果。

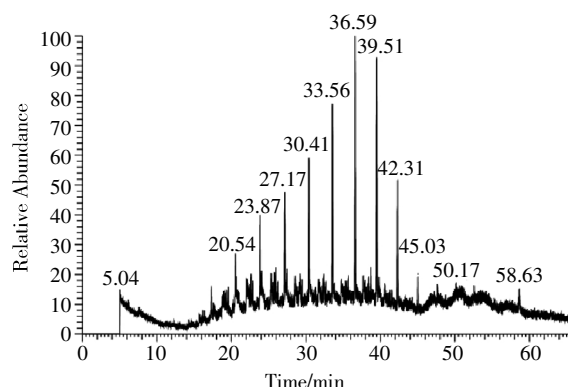


图 3 方法 3 测定油菜苗期根系分泌物的 GC-MS 扫描图谱

Figure 3 Determination of GC-MS scan graph of rape root exudation by Method 3

方法 3 中将升温程序进一步细化,通过加快升温速率把前期不出峰时段简单略过,然后再减慢升温速率,使后期组分相对复杂的峰形得以更好的分离。从图 3 可以看出,在油菜苗期,根系能分泌大量有机化学物质,检测出来的特征峰较多且分布密集,特征峰分离相对比较好,基线漂移不大,结果可信。

2.2 油菜根系分泌物 GC-MS 鉴定结果

通过 3 种方法之间的比较,方法 3 所得出的结果比较好,说明 GC-MS 用 BP-5MS 毛细管柱建立检测油菜根系分泌物的方法是可取的。BP-5MS 毛细管柱兼有非极性柱与极性柱的优点,对非极性的烃类组分及中等极性的酯、醚等成分有较好的分离效果。将图 3 的质谱图经 NIST2009 谱库检索和分析,确定了油菜在苗期的根系分泌物的化学成分,分析结果见表 2。

由表 2 可见,油菜根系分泌物的 CH_2Cl_2 提取物共鉴定出 44 种有机化合物,主要包括烃类、醇类、酯类和酸类化合物,其中烃类有 34 种,醇类有 6 种,酯类有 3 种,酸类 1 种,且烃类和醇类化合物的相对含量较高。而在烃类中,二十烷的相对丰度最高,达到 22.60%,其次是二十一烷 7.97%,9-己基十七烷 7.33%,十六烷 4.28%,2-甲基十八烷 4.20%。由此可见,油菜苗期的根系分泌物主要以结构较简单的直链或支链烷烃为主,结构相对复杂的醇、酯、酸类有机化合物较少,而烃类、酸类和酯类本身或者其次生代谢的产物具有一定的化感作用,包括抑制或刺激其他作物种子的萌发以及对土壤中微生物的影响^[18,30],这和杨瑞吉等^[15]的研究结果是一致的。由于油菜苗期的根系分泌能力较强,可以通过加强根系代谢来调控自身生理变化,适应周围环境。

本试验共设 3 个重复,每个重复之间的总离子流

表2 油菜苗期主要根系分泌物鉴定结果
Table 2 Identification results of rape in the main root exudates

类别	化学名称	英文名称	Area/%	类别	化学名称	英文名称	Area/%
烃类	5-丙基十碳烷	Decane,5-propyl-	0.70	烃类	3-乙基-5-(2-乙丁基)十八烷	Octadecane,3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)-	3.95
	4-环己基十一烷	Undecane,4-cyclohexyl-	1.13		2-甲基十九烷	Nonadecane,2-methyl-	0.98
	3-甲基十三烷	Tridecane,3-methyl-	0.33		3-甲基十九烷	Nonadecane,3-methyl-	0.70
	5-丙基十三烷	Tridecane,5-propyl-	1.34		9-甲基十九烷	Nonadecane,9-methyl-	0.84
	2,6,10-三甲基十四烷	Tetradecane,2,6,10-trimethyl-	3.71		二十烷	Eicosane	22.60
	4-二乙基十四烷	Tetradecane,4-diethyl-	0.85		2-甲基二十烷	Eicosane,2-methyl-	0.74
	十五烷	Pentadecane	1.03		3-甲基二十烷	Eicosane,3-methyl-	0.92
	2-甲基十五烷	Pentadecane,2-methyl-	0.51		7-己基二十烷	Eicosane,7-hexyl-	0.38
	3-甲基十五烷	Pentadecane,3-methyl-	0.56		10-甲基二十烷	Eicosane,10-methyl-	0.94
	2,6,10-三甲基十五烷	Pentadecane,2,6,10-trimethyl-	2.35		二十一烷	Heneicosane	7.97
	8-己基十五烷	Pentadecane,8-hexyl-	1.34		11-(1-乙烷基丙基)二十一烷	Heneicosane,11-(1-ethylpropyl)-	2.06
	十六烷	Hexadecane	4.28		17-三十五烷	17-Pentatriaconten	1.15
	3-甲基十六烷	Hexadecane,3-methyl-	0.91	醇类	2-(十八环氧基)乙醇	Ethanol,2-(octadecyloxy)	1.19
	7-甲基十六烷	Hexadecane,7-methyl-	1.19		2-苯基-2-丙醇	Benzenemethanol,α,α-dimethyl-	0.39
	十七烷	Heptadecane	3.52		2-己基-1-辛醇	2-Hexyl-1-otcanol	1.01
	3-甲基十七烷	Heptadecane,3-methyl-	0.62		2-甲基 1-十六醇	1-Hexadecanol,2-methyl-	3.61
	9-己基十七烷	Heptadecane,9-hexyl-	7.33	酯类	叔十六硫醇	Tert-Hexadecanethiol	3.66
	9-辛基十七烷	Heptadecane,9-octyl-	0.63		柏木醇	Cedrol	0.85
	2,6,10,15-四甲基十七烷	Heptadecane,2,6,10,15-tetramethyl-	0.95		戊酸,5-羟基-2,4-二-叔丁基苯基酯	Pentanoic acid,5-hydroxy-2,4-di-t-butylphenyl esters	0.50
	2-甲基十八烷	Octadecane,2-methyl-	4.20		亚硫酸丁基脂	Sulfurous acid,butyl tridecyl ester	0.44
	5-甲基十八烷	Octadecane,5-methyl-	0.39		7-甲基-Z-十四烯-1-醇酯	7-Methyl-Z-tetradecen-1-olacetate	0.26
	6-甲基十八烷	Octadecane,6-methyl-	0.59	酸类	二十六烷基醋酸	Hexacosyl acetate	0.94

强度在 3.11×10⁸~3.12×10⁸ 之间,出峰时间与峰面积重复度达到 100%,整体误差率不超过 3%,所以结果准确可靠。

3 结论

通过比较发现方法 3 中设定的参数比较合理,图谱中检测出来的特征峰较多且分布密集,特征峰分离相对比较好,基线漂移不大,表明用 GC-MS 法和 BP-5MS 毛细管柱对检测分离油菜根系分泌物的效果较好,重现性高,其精密度和准确度都能满足油菜根系分泌物的测定要求,结果可信。

从分析结果看,油菜苗期根系分泌物主要包括烃类、醇类、酯类和酸类化合物,且烃类和醇类化合物的相对含量较高,说明油菜苗期的根系分泌物主要以结构较简单的直链或支链烷烃为主,结构相对复杂的醇、酯、酸类有机化合物较少,且这些分泌物中的多数

物质或其次生代谢产物具有一定的化感作用。

参考文献:

[1] Guo T, Zhang G, Zhou M, et al. Influence of aluminum and cadmium stresses on mineral nutrition and root exudates in two barley cultivars[J]. *Pedosphere*, 2007, 17(4): 505-512.

[2] 谢明吉, 严重玲, 叶菁. 菲对黑麦草根系几种低分子量分泌物的影响[J]. *生态环境*, 2008, 17(2): 576-579.

XIE Ming-ji, YAN Chong-ling, YE Jing. Effect of phenanthrene on the secretion of low molecule weight organic compounds by ryegrass root[J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(2): 576-579. (in Chinese)

[3] Zeng F, Chen S, Miao Y, et al. Changes of organic acid exudation and rhizosphere pH in rice plants under chromium stress[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 155(2): 284-289.

[4] Jones D L. Organic acid in the rhizosphere-critical review[J]. *Plant Soil*, 1998, 205: 25-44.

[5] 涂书新, 孙锦荷, 郭智芬. 植物根系分泌物与根际营养关系评述[J]. *土壤与环境*, 2000, 9(1): 64-67.

- TU Shu-xin, SUN Jin-he, GUO Zhi-fen. On relationship between root exudates and plant nutrition in rhizosphere[J]. *Soil and Environmental Sciences*, 2000, 9(1): 64-67.(in Chinese)
- [6] 常学秀, 段昌群, 王换校. 根分泌作用与植物对金属毒害的抗性[J]. *应用生态学报*, 2000, 11(2): 315-320.
CHANG Xue-xiu, DUAN Chang-qun, WANG Huan-xiao. Root excretion and plant resistance to metal toxicity[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2000, 11(2): 315-320.(in Chinese)
- [7] 涂书新, 吴佳. 植物根系分泌物研究方法评述[J]. *生态环境学报*, 2010, 19(9): 2493-2500.
TU Shu-xin, WU Jia. A review on research methods of root exudates[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2010, 19(9): 2493-2500.(in Chinese)
- [8] 李汛, 段增强. 植物根系分泌物的研究方法[J]. *基因组学与应用生物学*, 2013, 32(4): 540-547.
LI Xun, DUAN Zeng-qiang. Progress on the research methods for root exudates[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2013, 32(4): 540-547.(in Chinese)
- [9] 周宝利, 尹玉玲, 李云鹏, 等. 嫁接茄根系分泌物与抗黄萎病的关系及其组成分析[J]. *生态学报*, 2010, 30(11): 3073-3079.
ZHOU Bao-li, YIN Yu-ling, LI Yun-peng, et al. Relationship between root exudates of grafted eggplants and verticillium wilt resistance and their components identification[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(11): 3073-3079.(in Chinese)
- [10] Bais H P, Park S W, Weir T L, et al. How plants communicate using the underground information superhigh way[J]. *Trends in Plant Science*, 2004, 9(1): 26-32.
- [11] Bais H P, Weir T L, Perry L G, et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, 57: 63-66.
- [12] 谢振华, 赵尊练, 武国平, 等. 线辣椒不同生育阶段根系分泌物的组成分析[J]. *西北农业学报*, 2012, 21(8): 175-181, 206.
XIE Zhen-hua, ZHAO Zun-lian, WU Guo-ping, et al. Component analysis of the root exudates at different growth stages in Chili pepper [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2012, 21(8): 175-181, 206.(in Chinese)
- [13] Ofori-Bud K G, Fujita U K, Ogata S. Excretion of urine and other nitrogenous compounds by the root system of soybean at different growth stage[J]. *Plant and Soil*, 1990(128): 135-142.
- [14] 刘洪升, 宋秋华, 李凤民. 根分泌物对根际矿物营养及根际微生物的效应[J]. *西北植物学报*, 2002, 22(3): 693-702.
LIU Hong-sheng, SONG Qiu-hua, LI Feng-min. The roles of root exudation on rhizosphere nutrient and rhizosphere microorganisms[J]. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 2002, 22(3): 693-702.(in Chinese)
- [15] 杨瑞吉, 牛俊义. 磷胁迫对油菜根系分泌物的影响[J]. *西南农业大学学报: 自然科学版*, 2006, 28(6): 895-899.
YANG Rui-ji, NIU Jun-yi. Effects of phosphorus deficiency on root exudation of rape (*Brassica Campestris* L.)[J]. *Journal of Southwest Agricultural University: Natural Science*, 2006, 28(6): 895-899.(in Chinese)
- [16] 王文斌, 吴小平, 尹玉莲, 等. 水培条件下橡胶树幼苗根系分泌物的 GC-MS 分析[J]. *热带作物学报*, 2010, 31(12): 2281-2286.
WANG Wen-bin, WU Xiao-ping, YIN Yu-lian, et al. GC-MS analysis of rubber seedling root exudates with nutrient solution cultivation[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2010, 31(12): 2281-2286.(in Chinese)
- [17] 苗玉新. 大田作物根系研究法概述[J]. *黑龙江农业科学*, 2005(3): 50-52.
MIAO Yu-xin. Field crop root research methods[J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2005(3): 50-52.(in Chinese)
- [18] 张照然, 范黎明, 吴毅歆, 等. 大白菜根系分泌物的 GC-MS 分析[J]. *江西农业学报*, 2013, 25(9): 75-77.
ZHANG Zhao-ran, FAN Li-ming, WU Yi-xin, et al. GC-MS analysis for root exudates of Chinese cabbage[J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2013, 25(9): 75-77.(in Chinese)
- [19] 王琼, 张春雷, 李光明, 等. 渍水胁迫对油菜根系形态与生理活性的影响[J]. *中国油料作物学报*, 2012, 34(2): 157-162.
WANG Qiong, ZHANG Chun-lei, LI Guang-ming, et al. Influences of waterlogging stress on roots morphology and physiology for rapeseed[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2012, 34(2): 157-162.(in Chinese)
- [20] 杨明, 陈历儒, 王继玥, 等. 氮素对油菜根系生长和产量形成的影响[J]. *西北农业学报*, 2010, 19(4): 66-69.
YANG Ming, CHEN Li-ru, WANG Ji-yue, et al. Effect of nitrogen on root growth and yield formation of rape[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2010, 19(4): 66-69.(in Chinese)
- [21] 鄢盛尧, 王月平, 王志颖, 等. 铝胁迫下外源有机酸对油菜根系分泌物特性的影响[J]. *广东农业科学*, 2013, 11: 16-20.
YAN Sheng-yao, WANG Yue-ping, WANG Zhi-ying, et al. Effects of the exogenous organic acids on rape root exudates characteristics under aluminum stress[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2013, 11: 16-20.(in Chinese)
- [22] 刘颖坤, 蔡莎艺, 喻卫武, 等. 超高效液相色谱测定铝胁迫下水培毛竹根系分泌物中有机酸[J]. *浙江农林大学学报*, 2011, 28(4): 533-537.
LIU Ying-kun, CAI Sha-yi, YU Wei-wu, et al. Organic acid exudates from roots of *Phyllostachys pubescens* with aluminum stress[J]. *Journal of Zhejiang A & F University*, 2011, 28(4): 533-537.(in Chinese)
- [23] 王平, 周荣. 高效液相色谱法测定植物根系分泌物中的有机酸[J]. *色谱*, 2006, 24(3): 239-242.
WANG Ping, ZHOU Rong. Determination of organic acids exuded from plant roots by high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2006, 24(3): 239-242.(in Chinese)
- [24] 李德华, 贺立源, 李建生, 等. 一种根系分泌物中有机酸的前处理和高效液相色谱检测方法[J]. *植物生理学通讯*, 2004, 40(2): 219-222.
LI De-hua, HE Li-yuan, LI Jian-sheng, et al. A method for pretreatment and determination of organic acid in root secretion by high performance liquid chromatography[J]. *Plant Physiology Communications*, 2004, 40(2): 219-222.(in Chinese)
- [25] 韩丽梅, 阎飞, 王树起, 等. 重迎茬大豆根际土壤有机化合物的初步鉴定及对大豆种子萌发的化感作用[J]. *应用生态学报*, 2000, 11(4): 582-586.

- HAN Li-mei, YAN Fei, WANG Shu-qi, et al. Primary identification of organic compounds in soy bean rhizospheric soil on continuous and alternate cropping and their allelopathy on soybean seed germination[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2000, 11(4): 582-586.(in Chinese)
- [26] 徐婉明, 张志红, 雷艳宜, 等. 气质联用方法测定香蕉根系分泌物[J]. *热带作物学报*, 2010, 31(8): 1403-1408.
- XU Wan-ming, ZHANG Zhi-hong, LEI Yan-yi, et al. A study on banana root exudates by GC-MS analysis[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2010, 31(8): 1403-1408.(in Chinese)
- [27] 李 勇, 黄小芳, 丁万隆. 营养元素亏缺对人参根分泌物主成分的影响[J]. *应用生态学报*, 2008, 19(8): 1688-1693.
- LI Yong, HUANG Xiao-fang, DING Wan-long. Effects of nutrient deficiency on principal components of ginseng root exudates[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(8): 1688-1693.(in Chinese)
- [28] 曹丽霞, 陈贵林, 敦惠霞, 等. 缺磷胁迫对黑籽南瓜幼苗根系生长和根系分泌物的影响[J]. *华北农学报*, 2009, 24(5): 164-169.
- CAO Li-xia, CHEN Gui-lin, DUN Hui-xia, et al. Effect of phosphorus deficiency on root growth and root exudates of *Cucurbita ficifolia* B[J]. *Acta Agriculturae Boreau-Sinica*, 2009, 24(5): 164-169.(in Chinese)
- [29] 柴 强, 冯福学. 玉米根系分泌物的分离鉴定及典型分泌物的化感效应[J]. *甘肃农业大学学报*, 2007, 42(5): 43-48.
- CHAI Qiang, FENG Fu-xue. Identification of root exudation of *Zea mays* L. and allelopathy of 1,2-benzenedicarboxylic acid[J]. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2007, 42(5): 43-48.(in Chinese)
- [30] 王立祥. 农作学[M]. 北京:科学出版社, 2003: 176-210.
- WANG Li-xiang. *Geponics*[M]. Beijing: Science Press, 2003: 176-210.(in Chinese)