

基于 3DEEM-PARAFAC 研究连作花生不同健康状态下 根际有机质组成特性

刘天顺^{1,2}, 李朋发^{1,2}, 李桂龙^{1,2}, 吴萌¹, 刘明¹, 刘凯^{1,2}, 李忠佩^{1,2*}

1. 中国科学院南京土壤研究所/土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 江苏 南京 210008

2. 中国科学院大学, 北京 100049

摘要 连作花生的土传病害问题突出, 但土传病害发生与土壤环境尤其是根际土壤中可溶性有机质(DOM)组成结构的内在联系尚不清楚。通过在县域范围内多点采集连作地的花生健康植株和发病植株及根际土壤, 测定根际土壤性质的部分指标, 利用三维荧光光谱(3DEEM)技术和平行因子方法(PARAFAC)表征根际土 DOM 的组成特征, 探究花生病害对根际 DOM 组成的影响。结果表明, (1)花生健康与发病植株的根际土壤可溶性有机碳(DOC)等基本特性无显著差异; (2)通过 3DEEM-PARAFAC 方法共识别了五种荧光组分, 包括类色氨酸蛋白质(C1)、类富里酸(C2)、类微生物腐殖质(C3)、类腐殖酸(C4)和类酪氨酸蛋白质(C5), 且花生健康与发病植株的根际土壤 DOM 荧光组分组成存在显著差异。健康植株根际 DOM 类色氨酸组分(C1)平均占比为 53.79%, 显著高于发病植株的 25.72%, 其他组分则相反; 健康植株根际 DOM 的生物源指数(BIX)和腐殖化指数(HIX)分别为(0.95±0.03)和(1.87±0.25), 均显著高于花生病株根际的(0.82±0.02)和(0.98±0.09), 较高 BIX 和 HIX 值可能是根际健康环境发展的内在要求; (3)主坐标轴分析显示, 通过三维荧光表征的荧光特性可以显著分异健康组与发病组; (4)相关性分析表明, 花生生物量与 DOM 各个组分均具有显著相关性, 且与 BIX、HIX 显著正相关, 而 Mcknight 指数与部分土壤性质密切相关; 方差分解结果显示, 花生生物量对 DOM 组成变异的解释率高达 40%, 而土壤性质不能显著解释 DOM 组成的变异, 说明花生的生长状况是影响根际土壤 DOM 组成的重要因子。综上所述, 花生健康状况与根际土壤 DOM 组成和荧光特性之间存在相互关系, 可为认识土传病害发生机理及制定科学的调控方案提供理论参考。

关键词 连作花生; 健康状态; 根际土壤; 可溶性有机质; 三维荧光光谱; 平行因子分析

中图分类号: S153.6+2 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2022)02-0634-08

引言

土壤有机质(soil organic matter, SOM)是影响作物产量的关键因子, 提高 SOM 含量、改善 SOM 化学性质是提升耕地质量和生产力的有效途径^[1]。土壤可溶性有机质(dissolved organic matter, DOM)是 SOM 中生物活性最高的组成部分, 而其活性和生物功能在很大程度上由其化学组成结构决定^[2-3]。探究土壤 DOM 的化学性质对于明确 DOM 组分在土壤生物化学过程中扮演的角色、理解 DOM 的生态功能具有重要意义。

花生是南方低丘红壤区旱地的主要经济作物和油料作物, 由于地质特点、气候条件、种植习惯等因素的影响, 连年连片种植的现象非常常见, 连作障碍问题日益突出。对花生连续种植导致土壤环境恶化已有较多研究^[4], 但是主要都集中在自毒物质的积累、土壤养分失调和微生物区系失衡等方面。作为根际土壤环境中各种生物和非生物过程的重要产物, 根际 DOM 组成与植物生长状态之间的关系却鲜有报道。DOM 是连接植物、土壤微生物的关键物质^[5], 其含量和结构可能与植物健康状态有密切关系。因此探究花生根际土壤 DOM 的组成和结构特征, 对阐明植物-土壤系统的内在关联, 揭示连作条件下花生病害发生的机理具有重要价值。

收稿日期: 2020-12-31, 修订日期: 2021-02-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(41771298)和江西省重点研发计划一般项目(20203BBF63039)资助

作者简介: 刘天顺, 1994 年生, 中国科学院南京土壤研究所/土壤与农业可持续发展国家重点实验室硕士研究生

e-mail: liutianshun@issas.ac.cn * 通讯作者 e-mail: zhpli@issas.ac.cn

三维荧光光谱 (three dimension excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy, 3DEEM) 技术因其具有表征简便、灵敏度高、用量少、不破坏样品结构等特点广泛用于表征 DOM 的荧光性质, 结合平行因子方法 (parallel factor analysis, PARAFAC) 能定性区分和定量测定 DOM 荧光组分含量和特征^[6]。本研究通过多点采集连作地花生的健康植株与发病植株, 利用 3DEEM-PARAFAC 方法研究 DOM 组成及荧光特性, 解析病理上不同健康状态花生根际土壤 DOM 的组成结构差异, 以期深入认识根际 DOM 特征及其与花生健康状态的关系, 为科学制定连作花生土传病害的调控方案提供新思路。

1 实验部分

1.1 研究区概况

采样区域选择在江西省鹰潭市余江县 (116°55'E, 28°15'N)。该区域属亚热带季风气候区, 年平均温度 17.6 °C, 年降雨量 1 795 mm, 无霜期 261 d。土壤发育于第四纪红黏土和第三纪红砂岩风化物。

1.2 方法

1.2.1 样品采集

于 2019 年 6 月底在江西省余江县多点采集土壤和花生植株样本。样点选择的条件为: (1) 样地为多年连作花生地; (2) 每块样地面积 > 667 m²; (3) 每对花生病株和健康植株的采样地块应处于相邻位置; (4) 病株采样地花生发病率 > 50%; 而健康植株采样地花生应无明显发病症状。基于以上原则, 分别选择 9 对发病病株和健康植株采样点, 共计 18 个样点。每个采样点取 10 个样本 (完整花生植株和土壤样本) 组成一个混合样品, 采用抖落法收集植株根际土壤。无菌塑料袋分别封装, 及时运回实验室。土样简单处理后过 4mm 筛, 保存于 4 °C 冰箱中备用, 尽快用于微生物量碳 (MBC) 和可溶性有机碳 (DOC) 以及三维荧光的测定; 另 1 份过 2 mm 筛, 自然风干, 用于土壤基础性质的分析。称量花生全株鲜重代表花生生物量。

1.2.2 土壤基本性质测定

参考鲁如坤^[7]《土壤农业化学分析方法》测定土壤 pH、土壤有机碳 (SOC)、全氮 (TN)、速效氮 (AN)、全磷 (TP)、速效磷 (AN)、全钾 (TK)、速效钾 (AK)。

土壤微生物生物量碳 (MBC) 采用氯仿熏蒸-K₂SO₄ 浸提法测定, 提取液中的有机碳用碳氮自动分析仪 (Multi N/C 3100, Analytik Jena, Germany) 测定, 熏蒸与未熏蒸土壤有机碳含量差值计算为微生物量碳的值, 换算系数为 0.45。未熏蒸土壤的 K₂SO₄ 提取液中有有机碳作为溶解性有机碳 (DOC) 进行分析^[8]。

1.2.3 三维荧光测定

DOM 三维荧光测定^[9-10]: 对提取的 DOM 溶液使用超纯水按比例稀释, 保证可溶性有机物在相同的浓度范围 (以 254 nm 吸光度 0.10 为参照), 降低荧光猝灭作用。三维荧光测量使用日立 F-7000 荧光光谱仪, 激发波长范围设置为 200~450 nm, 发射波长范围设置为 250~600 nm, 分别以 5 和 1

nm 为增量, 激发发射狭缝 5 nm; 扫描速度为 2 400 nm · min⁻¹。将样品的扫描数据减去超纯水的三维荧光数据, 以校正拉曼散射的影响。利用吸光度数据对样品的荧光激发-发射矩阵 (EEM) 进行校正, 消除内滤效应, 样品的荧光强度用超纯水单位进行归一化。

根据以往的研究^[6, 10-11], McKnight 指数使用激发波长为 370 nm 时 450 与 500 nm 处的发射强度比值。生物源指数 (BIX) 使用激发波长 Ex 为 310 nm 时 380 与 430 nm 处的发射强度的比值; 腐殖化指数 (HIX) 为激发波长 255 nm 处发射波长 435~480 nm 处荧光强度峰值与 300~345 与 435~480 nm 荧光强度峰值和荧光强度的比值。荧光强度比值 r 为 2 个荧光峰值 (荧光峰的最大荧光强度) 的比值。

使用平行因子分析 (PARAFAC) 方法对荧光组分进行表征分析, PARAFAC 方法可对复杂的 DOM 混合体系进行组分分解, 参考 Stedmon 等研究方法^[12], 解析土壤 DOM 荧光组分和荧光特征。用每个样品中各鉴定组分的最大荧光强度 (F_{max}) 计算组分比例分数进行后续分析。使用荧光组分构成和荧光指数表示荧光性质。

1.3 数据分析

采用 Microsoft Excel 2019, R-3.6.3, Origin Pro2018 和 MATLAB 2020 对实验数据进行统计分析。利用 MATLAB 2020 软件和 DOMFluor 软件包 (www.models.life.ku.dk) 进行 PARAFAC 分析, 荧光组分特征峰在 Origin Pro2018 软件上利用峰值分析功能识别。若无特别标注, 均使用 t-test 检验组间差异。以下分析方法基于 R 语言, 利用 corrplot 包使用 "spearman" 方法进行相关性分析, vagen 包进行主坐标轴分析 (PCoA) 和方差分解分析 (VPA), ggplot2 包绘图。主坐标轴分析 (PCoA) 分析 DOM 荧光性质的组间变化, Adonis 函数置换检验。采用正向选择筛选对 DOM 荧光组分相关的因素。采用方差分解分析获得解释变量对 DOM 结构的方差变异的解释贡献度。

2 结果与讨论

2.1 花生生物量与根际土壤基本性质

健康花生植株新鲜生物量平均为 (159.67 ± 11.98) g · 株⁻¹, 发病花生平均为 (107.44 ± 10.07) g · 株⁻¹, 发病组花生生物量明显低于健康组 ($p < 0.01$, 表 1)。花生病害显著影响花生生物量大小, 因此花生生物量是有效表征花生病害的生物学指标, 在后续分析中, 利用样本间生物量的变化来表征花生植株健康状况。

发病组与健康组花生根际土壤的各基础性质, 包括 pH、总氮 (TN)、总磷 (TP)、总钾 (TK)、速效氮 (AN)、速效磷 (AP)、速效钾 (AK)、有机质 (OM)、可溶性有机碳 (DOC) 以及土壤微生物量碳 (MBC) 均无显著差异 ($p > 0.05$, 表 1)。

植物发病与否与土壤的基本性质, 尤其是与单项指标之间, 可能并不存在直接的因果关系。植物的健康状态很大程度上取决于土壤养分与微生物群落的平衡, 发病植物往往伴随着根际大量有害微生物的富集、有益微生物的减少^[4], 这可能是造成本研究中花生健康状态差异化的重要因素。土壤

表 1 花生生物量与根际土壤基本性质

Table 1 Peanut biomass and basic properties of rhizosphere soils

组	生物量/ (g·株 ⁻¹)	pH	AN/ (mg·kg ⁻¹)	AP/ (mg·kg ⁻¹)	AK/ (mg·kg ⁻¹)	TN/ (g·kg ⁻¹)	TP/ (g·kg ⁻¹)	TK/ (g·kg ⁻¹)	OM/ (g·kg ⁻¹)	DOC/ (mg·kg ⁻¹)	MBC/ (mg·kg ⁻¹)
发病组	107.44±10.07	5.93±0.14	91.49±7.34	98.78±18.14	256.41±34.38	0.85±0.08	0.77±0.09	10.18±1.45	15.25±2.08	22.38±3.13	114.86±14.51
健康组	159.67±11.98	5.76±0.14	73.95±6.25	129.07±23.4	196.76±33.47	0.83±0.12	0.90±0.15	9.79±2.03	14.34±1.95	23.82±3.51	107.44±14.14
P value	0.004	0.41	0.09	0.32	0.23	0.91	0.48	0.88	0.75	0.76	0.72

注: 数据为平均值±标准误差($n=9$)。TN: 总氮; TP: 总磷; TK: 总钾; AN: 有效氮; AP: 有效磷; AK: 有效钾; OM: 有机质; DOC: 可溶性有机碳; MBC: 微生物量碳(下同)

Note: Use the (mean±standard error) in the table ($n=9$). TN: Total nitrogen; TP: Total phosphorus; TK: Total potassium; AN: Available nitrogen; AP: Available phosphorus; AK: Available potassium; OM: Organic matter; DOC: Soluble organic carbon; MBC: Microbial biomass carbon. (The same below)

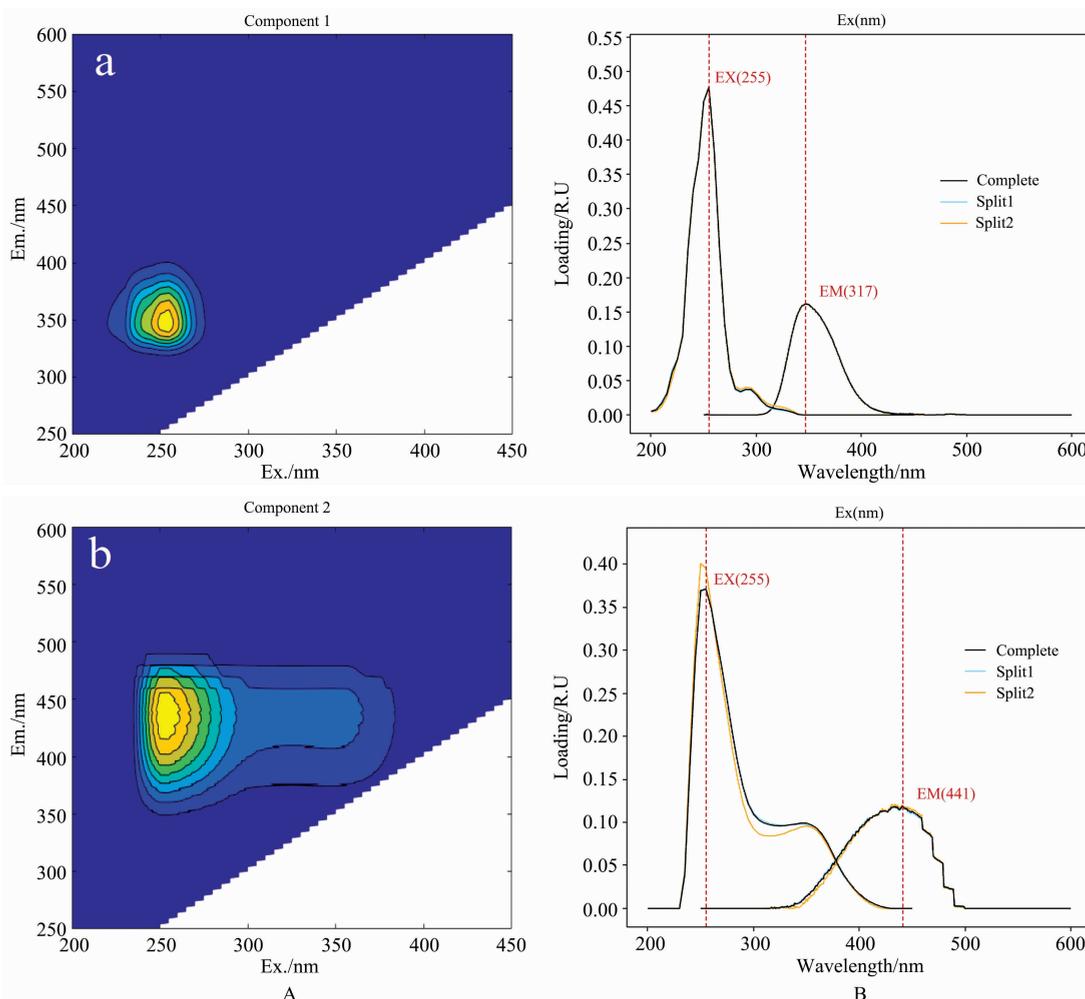
微生物群落中病原菌-有益菌的均衡, 是土壤中各项环境因子综合作用的结果。虽然本研究结果土壤基本性质组间未表现出显著差异, 但不能因此认定花生的健康状态与土壤基本性质无关, 明确它们之间的关系还需要进一步研究。

2.2 PARAFAC 解析根际 DOM 三维荧光光谱

利用 PARAFAC 方法将三维荧光光谱识别为五种组分^[13][图 1(A)]。组分 1 (C1) 在激发/发射波长 255/347 nm 处出现一个荧光峰(T 峰), 其特征与类色氨酸组分相似。组分 2 (C2) 在激发/发射波长 255/441 和 345/441 nm 处出现了两个荧光峰(A 峰和 C 峰), 主荧光特征类似于富里酸。组分 3 (C3) 在激发/发射波长 235/414 和 320/414 nm 处有两个

荧光峰(A 峰和 M 峰), 其荧光特征类似于微生物腐殖质^[14]。组分 4 (C4) 在激发/发射波长 275/490 nm 处有 1 个类腐殖质荧光峰(C 峰), 相比于 C2 出现了较大“红移”, 腐殖质成分具有更高的分子量, 分子结构共轭度和化学稳定性更高, 分析认为主要是类胡敏酸成分, 定义为类腐殖酸。组分 5 (C5) 在激发/发射波长 225/334 和 275/334 nm 处有两个荧光峰(B1 峰和 B2 峰), 荧光特征类似于蛋白质类, 来自于自生过程, 通常认为是酪氨酸类蛋白质荧光。

为了验证 PARAFAC 模型的有效性, 采取基于两个半数集和全数集发射波长和激发波长载荷量的方法对模型进行验证[图 1(B)], 各载荷量重合较好, 满足“解的唯一性”, 说明



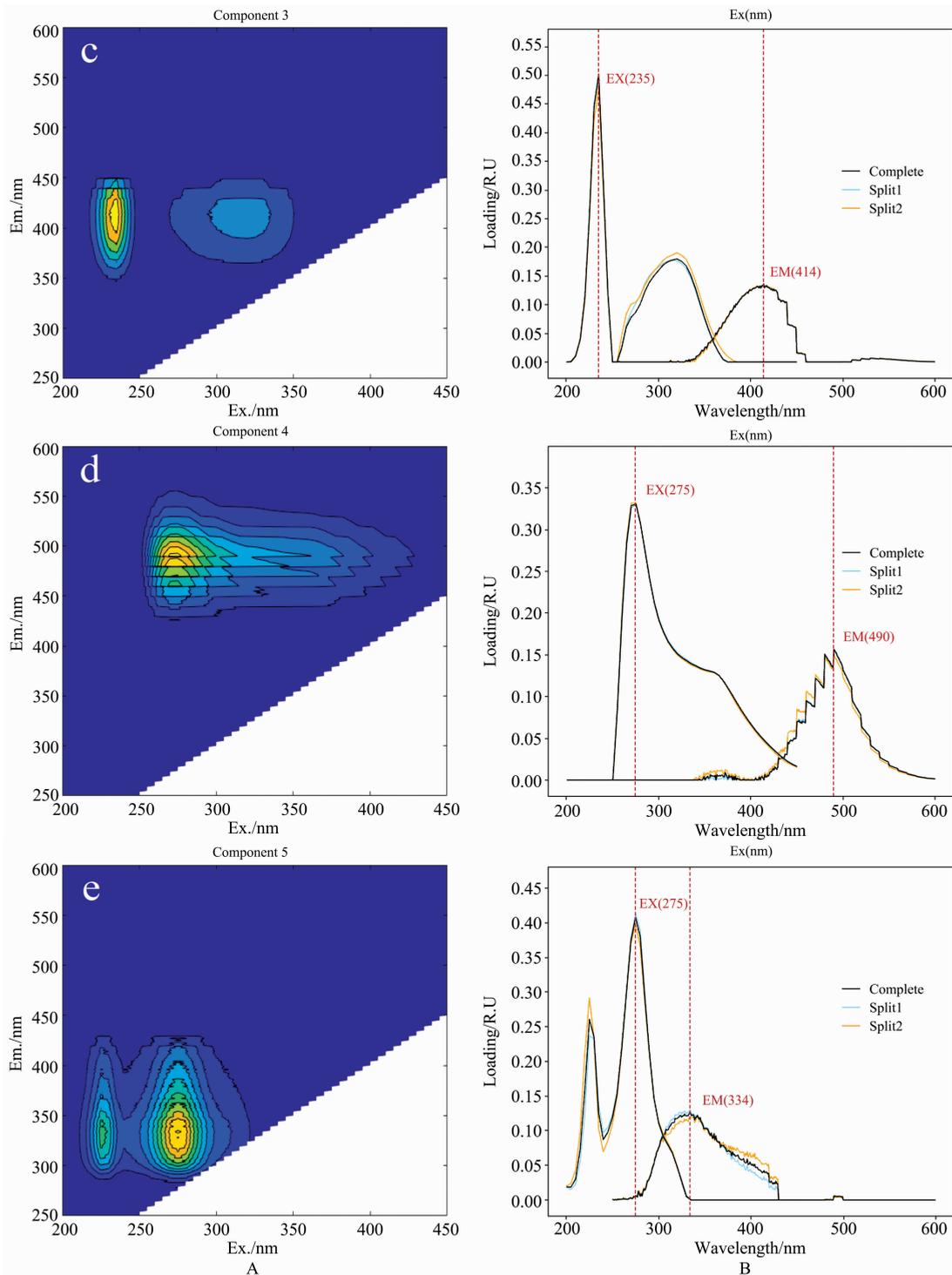


图 1 DOM 组分荧光光谱图的 PARAFAC 模型输出及验证结果：左侧图为 (A)；右侧图为 (B)

(A)：PARAFAC 模型输出荧光组分；(a)：C1 类色氨酸，(b)：C2 类富里酸，(c)：C3 类微生物腐殖质，(d)：C4 类腐殖酸，(e)：C5 类酪氨酸
(B)：组分对应的载荷验证结果，左峰：激发波长载荷，右峰：发射波长载荷；蓝色和橙色分别代表两个半数据集载荷数据，黑色曲线代表全集载荷数据

Fig. 1 Output of DOM components fluorescent signatures from PARAFAC model and validation results of the components. Left (A); Right (B)

The A shows the five fluorescence components, including (a): C1 tryptophan-like, (b): C2 fulvic-like, (c): C3 microbial-humic-like, (d): C4 humic-like, (e): C5 tyrosine-like, outputted from PARAFAC model. The B shows the split-half verification results corresponding to the components; excitation (left) and emission (right) loading spectra were estimated from two random halves of data set (Split1-blue line and Split2-orange line), and the complete data set (black line)

基于 PARAFAC 模型划分的 DOM 结构具有较高的可靠性。

2.3 健康与发病花生根际土壤 DOM 荧光性质差异

花生健康组 C1 组分平均荧光强度占比超过 50%，而发病组仅约 25%。组间检验结果表明，健康组中 C1 的相对荧光强度显著高于发病组，而其他组分的相对荧光强度均为发病组显著高于健康组 ($p < 0.05$, 图 2)。荧光强度比值 $r(A/C)$ 值用来反映 DOM 中腐殖组分发育程度，发病组 $r(A/C)$ 均值为 (2.16 ± 0.16) ，健康组均值为 (4.02 ± 0.55) ，组间显著不同 ($p = 0.005$)。类蛋白荧光与类腐殖质荧光的比值 $r(T/C)$ 可用以评价内源贡献比重，发病组 $r(T/C)$ 均值为 (1.11 ± 0.10) ，而健康组均值为 (2.12 ± 0.29) ，组间 r 值显著不同 ($p = 0.005$)。

Mcknight 指数可表征 DOM 的来源^[10]，Mcknight 指数接近 1.4 时，DOM 主要来自植物残体等植物源输入；Mcknight 指数接近 1.9 时，DOM 主要来自于微生物过程，如微

生物代谢和降解产物、微生物残体等。花生根际土壤 DOM 的 Mcknight 指数均在 1.4 ~ 1.9 之间，但更接近于 1.9 (图 2)，说明根际 DOM 成分具有微生物代谢和植物体残留的混合来源，但主要来源于生物分解的内源过程，分子芳香程度较低，本研究中发病组与健康组之间的 Mcknight 指数差异不显著 ($p > 0.05$)。BIX 指数通常代表 DOM 的本地生物活性(即生物可利用性的高低)，反映了新产生的 DOM 在整体 DOM 中所占的比例。发病组的 BIX 显著低于健康组 ($p < 0.01$, 图 2)，说明健康组 DOM 较高的生物活性和新鲜度，物质转化更为活跃。HIX 指数代表 DOM 的腐殖化程度，健康组和发病组土壤 DOM 的 HIX 平均值分别为 (1.87 ± 0.25) 和 (0.98 ± 0.09) ，两组 HIX 指数均较低，表明根际土壤 DOM 的腐殖化程度都不高，主要由微生物活动产生。然而，健康组 HIX 指数显著高于发病组 ($p < 0.05$, 图 2)，与 BIX 指数一致。

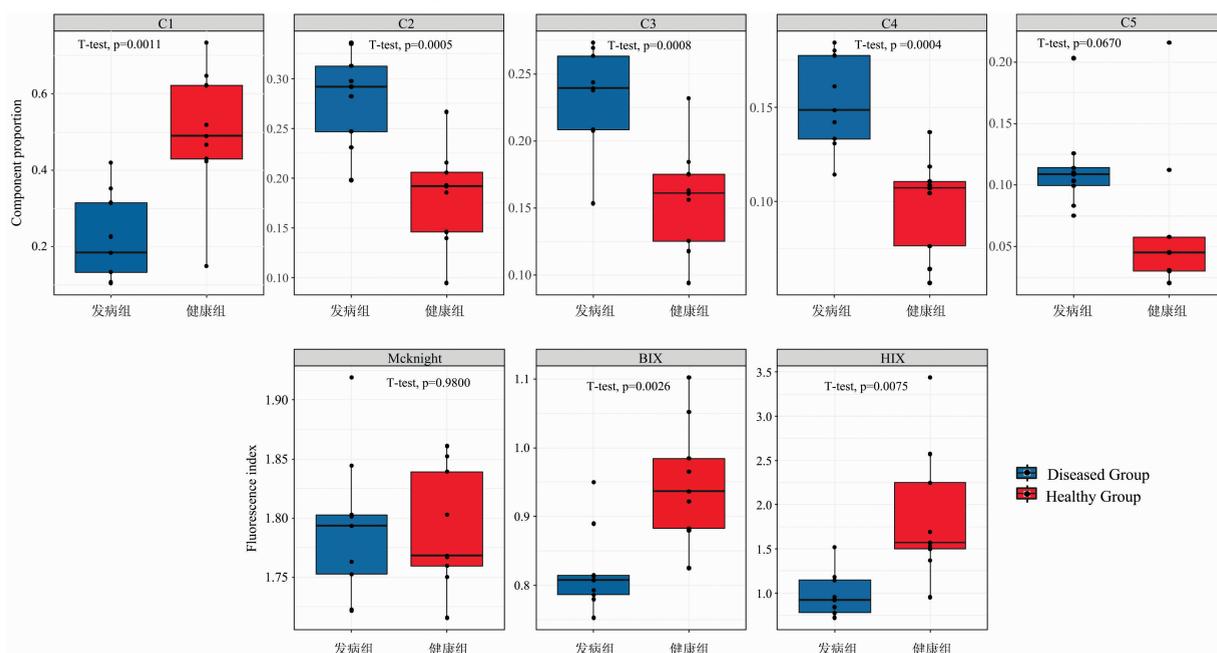


图 2 荧光性质组间差异

注：C1 类色氨酸，C2 类富里酸，C3 类微生物腐殖质，C4 类腐殖酸，C5 类酪氨酸；Mcknight 指数；BIX 生物源指数；HIX 腐殖化指数

Fig. 2 Differences in fluorescence properties between groups

Note: C1 tryptophan-like, C2 fulvic-like, C3 microbial-humic-like, C4 humic-like, C5 tyrosine-like
Mcknight, BIX biological origin index; HIX humification index

依据“病害三角理论”，病原菌对宿主的成功侵染是病原菌、宿主和环境因素的综合结果^[15]，健康与发病花生根际土基本性质无显著差异，但 DOM 的各荧光组分在组间表现出了显著差异(图 2)。提高土壤有机质含量是公认的培肥土壤、改善土壤性质的有效途径，但在植株根际土壤有机质的组成特性可能比有机质含量更敏感。健康花生根际土壤 DOM 的平均荧光总强度远高于发病组平均荧光总强度(数据未列出)，表明健康花生的根际土壤 DOM 中含有更高的有色可溶性有机物(CDOM)。CDOM 作为 DOM 主要活性成分，是有机质转化过程的重要中间物质。发病组 CDOM 含量较少，可能是因为发病花生根系分泌物减少，根际物质转化活动可

能也处于较低水平。DOM 生物活性与其分子量和类蛋白组分的比例有关^[16]，健康组 DOM 组分中 C1 类色氨酸组分显著高于发病组，可能与有益微生物产生的大量蛋白类抑菌物质有关^[17-18]，高蛋白质组分比例暗示着土壤较高的氮素生物有效性，有利于微生物和植物生长。除 DOM 的组成外，健康植物与花生病株根际土壤 DOM 的荧光指标也存在显著差异(图 2)。健康花生根际土壤 DOM 的 BIX 和 HIX 指数更高，说明其具有更强的生物活性、新鲜度和腐殖化程度。健康组根际 DOM 的类色氨酸峰 T 平均发射波长(349 nm)相较于发病组(346 nm)存在显著红移现象 ($p = 0.022$)，表明发病组根际 DOM 类色氨酸蛋白质芳香度及分子量小于健康组，

与 HIX 结果一致；健康组 $r(T/C)$ 比值显著高于发病组，比值越大表明受微生物活动等内源活动影响越大，物质转化越活跃，结果与 BIX 指数一致。高腐殖化程度和生物活性的 DOM 有利于土壤微生物尤其是有益微生物的生长，是作物健康、旺盛生长的重要保障^[1]。因此，健康植株根际土壤 DOM 特性中高 BIX 和 HIX 指数可能是花生健康生长、抵抗病原微生物入侵的重要指标。基于 Bray-Curtis 距离的主坐标轴分析(PCoA)也显示(图 3)，健康与发病花生根际土壤 DOM 荧光性质分异明显，且主要在第一主轴分开，使用 3DEEM-PARAFAC 表征的根际土壤 DOM 性质可有效区别花生健康状态。

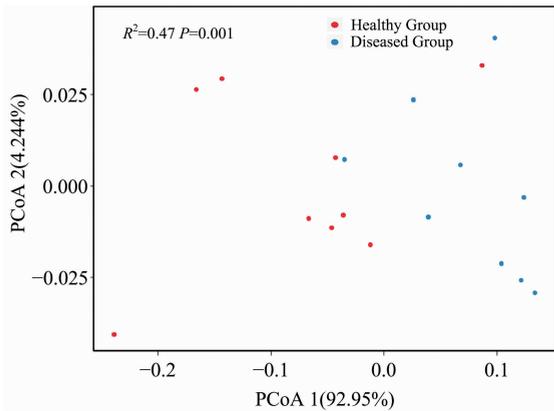


图 3 荧光性质主坐标轴分析

Fig. 3 Principal coordinate axis analysis of fluorescent property

2.4 影响花生根际 DOM 组成的主要因素

植株生物量往往直接受病害影响而显著下降，是花生健康状态的一个重要生物学表现。相关性分析表明，DOM 各荧光组分均与花生生物量呈显著相关性($p < 0.01$)，除 C1 与花生生物量呈显著正相关外，其他组分均与花生生物量呈显著负相关(图 4)。根际土壤基本性质中，仅有 AP 和 AN 与 DOM 的部分荧光组分存在显著相关性($p < 0.05$)，但相关性系数低于生物量与荧光组分的相关性。Mcknight 指数与花生生物量无显著相关性，但与多数土壤性质指标有较强的正相关关系，表明根际土壤营养元素与 DOM 来源密切相关，偏向于微生物的内源过程产生，即主要来源于有机质的分解

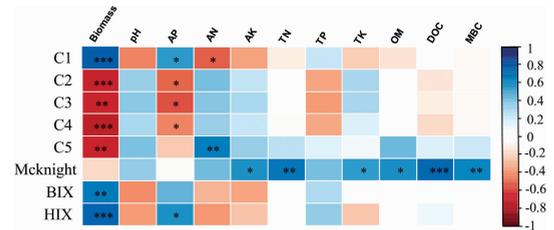


图 4 DOM 荧光性质与花生生物量及土壤性质的相关性

Fig. 4 Correlations between fluorescent property of DOM with peanut biomass and soil properties

转化过程。BIX 指数和 HIX 指数与花生生物量呈显著正相关($p < 0.01$)，而与土壤性质的相关性很弱。

利用正向选择和方差分解分别解析花生生物量与土壤性质对 DOM 组成变异的贡献。正向选择结果中，DOM 组成的变异对花生生物量有显著响应($R^2 = 0.429$, $p < 0.001$)；而 DOM 组成的变异仅对土壤性质中的 AP 有显著响应($R^2 = 0.217$, $p = 0.031$)。方差分解结果表明，花生生物量可极显著解释 DOM 组成变异($p < 0.001$)，且解释量高达 40.00%；土壤环境因子(AP)对 DOM 组成变异的解释量为 7.46%，但无显著性(图 5)。花生生物量与土壤环境因子的交互解释量为 8.55%，未解释部分为 44.00%。

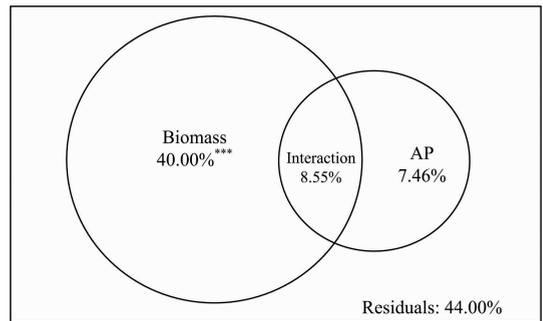


图 5 DOM 组成的方差分解

Fig. 5 Variation partitioning analysis on the composition of DOM

花生植株的生物量与根际 DOM 组成呈显著相关(图 4)，且对根际 DOM 变异的贡献远高于土壤性质(图 5)，说明花生根际 DOM 的组成变异主要受到植株的调控，与花生生长发育状况密切相关。花生在生长发育过程中向根际土壤中源源不断的输入根际沉积物，含有种类繁多的有机物质，作为土壤有机质的主要来源，不仅与植物生长状况及土壤质量的变化关系密切^[19]，而且植物可以通过改变根系分泌物来招募有益的根际群落影响根区微生物群落^[20]，进而造成有机物质转化过程变化。本研究中 DOM 组分与有效磷存在显著相关性，虽然对 DOM 组成变异的直接解释量不显著，但有效磷可能间接影响根区土壤-微生物互作关系，本实验室已有工作认为土壤中有有效磷对土壤菌群互作的影响可能是影响某些病害发生的途径。因此，协同调控 DOM 组分组成和有效磷含量可能是控制花生发病的有效途径。

根际土壤的 DOM 组成，尤其是 BIX 和 HIX 指数可能影响花生植株的生长状况；而花生植株的生长状况也直接调控根际土壤 DOM 的组成，说明花生的生长状况与根际 DOM 组成之间存在相互调控的关系。虽然本研究在 DOM 荧光光谱特征上揭示了根际荧光组分与花生生长状况的强相互作用，但不能明确花生的健康状态在多大程度上调控了根际土壤的 DOM 组成，及根际土壤 DOM 的组成差异在多大程度上影响了花生生长，需要进一步研究。但可以肯定的是，本研究使用荧光光谱技术从根际土壤 DOM 组成的角度判别花生健康状态，可为理解连作障碍的形成机制提供理论参考。

3 结 论

将荧光光谱学分析应用于根际土壤生物与非生物相互关系研究中, 结果表明使用 3DEEM-PARAFAC 方法可以有效表征不同健康状态花生根区 DOM 特性的差异。虽然连作地

花生健康和发病植株根际土壤的基本性质差异不明显, 但 DOM 的组成则显著不同。健康植株根际土壤 DOM 特性中高 BIX 和 HIX 值表征的有机质高腐殖化与高生物活性可能是花生健康生长、抵抗病原微生物入侵的重要因素。花生生长状况与根际土壤 DOM 之间存在相互作用, 这可为认识花生土传病害发生机理提供新的视角。

References

- [1] Liu J, Chen X F, Li D, et al. *Journal of Soils and Sediments*, 2020, 20(7): 2761.
- [2] Kalbitz K, Schmerwitz J, Schwesig D, et al. *Geoderma*, 2003, 113(3-4): 273.
- [3] Musadji N Y, Lemee L, Caner L, et al. *Chemosphere*, 2020, 240: 124808.
- [4] TENG Ying, REN Wen-jie, LI Zhen-gao, et al(滕 应, 任文杰, 李振高, 等). *Soils(土壤)*, 2015, 47(2): 259.
- [5] Del Valle I, Webster T M, Cheng H Y, et al. *Sci. Adv.*, 2020, 6(5): 12.
- [6] Zhang Y L, Zhang E L, Yin Y, et al. *Limnology and Oceanography*, 2010, 55(6): 2645.
- [7] LU Ru-kun(鲁如坤). *Analytical Methods for Soil and Agricultural Chemistry(土壤农业化学分析方法)*. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press(北京: 中国农业科学技术出版社), 1999.
- [8] Novara A, La Mantia T, Ruhl J, et al. *Geoderma*, 2014, 235: 191.
- [9] Santos C H, Nicolodelli G, Romano R A, et al. *J. Brazil. Chem. Soc.*, 2015, 26(6): 1136.
- [10] McKnight D M, Boyer E W, Westerhoff P K, et al. *Limnology and Oceanography*, 2001, 46(1): 38.
- [11] LIU Xiao-han, ZHANG Yun-lin, YIN Yan, et al(刘笑菡, 张运林, 殷 燕, 等). *Transactions of Oceanology and Limnology(海洋湖沼通报)*, 2012, 134(3): 133.
- [12] Stedmon C A, Bro R. *Limnology and Oceanography: Methods*, 2008, 6(11): 572.
- [13] Coble P G. *Chem. Rev.*, 2007, 107(2): 402.
- [14] Shi J, Zhao Y, Wei D, et al. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 2019, 26(4): 3340.
- [15] Scholthof K B. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2007, 5(2): 152.
- [16] Fellman J B, Hood E, Spencer R G M. *Limnology and Oceanography*, 2010, 55(6): 2452.
- [17] Crits-Christoph A, Diamond S, Butterfield C N, et al. *Nature*, 2018, 558(7710): 440.
- [18] Wei Z, GU Y, Friman V P, et al. *Science Advances*, 2019, 5(9): eaaw0759.
- [19] ZHU Zhen-ke, SHEN Bing-jie, GE Ti-da, et al(祝贞科, 沈冰洁, 葛体达, 等). *Acta Ecologica Sinica(生态学报)*, 2016, 36(19): 5987.
- [20] Liu H, Li J, Carvalhais L C, et al. *New Phytologist*, 2021, 229(5): 2873.

Using Three-Dimensional Excitation-Emission Matrix to Study the Compositions of Dissolved Organic Matter in the Rhizosphere Soil of Continuous Cropping Peanuts With Different Health States

LIU Tian-shun^{1, 2}, LI Peng-fa^{1, 2}, LI Gui-long^{1, 2}, WU Meng¹, LIU Ming¹, LIU Kai^{1, 2}, LI Zhong-pei^{1, 2*}

1. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract The soil-borne disease of continuous cropping peanut is serious, but the internal relationship between the occurrence of soil-borne disease and soil factors, especially the dissolved organic matter (DOM) composition of rhizosphere soil, is still unclear. In order to explore the effect of peanut diseases on the rhizosphere soil DOM composition, the rhizosphere soils of healthy and diseased peanut plants were collected from multiple locations in Yu Jiang county. Three-dimensional excitation-emission matrix (3DEEM) and parallel factor method (PARAFAC) were used to analyze the variations of DOM compositions among rhizosphere soils of diseased and healthy peanut plants. Results showed no significant difference in the basic properties of rhizosphere soil between healthy peanut and diseased peanut. Five DOM components, including tryptophan-like (C1), fulvic-like (C2), microbial-humic-like (C3), humic-like (C4) and tyrosine-like (C5) were identified, and the variations of DOM fluorescence component composition in the rhizosphere soil between healthy peanut and diseased peanut were significantly

different. The tryptophan-like (C1) in the rhizosphere soil of healthy plants accounted for 53.79%, which was significantly higher than 25.72% in diseased plants, while the opposite trend appeared in other components; The BIX and HIX of DOM in the rhizosphere soil of healthy peanut were (0.95 ± 0.03) and (1.87 ± 0.25) , respectively, which were significantly higher than (0.82 ± 0.02) and (0.98 ± 0.09) of diseased peanut. Higher BIX and HIX values could be an intrinsic signature to rhizosphere environment keeping healthy. The Principal Co-ordinates Analysis showed that the healthy group and the diseased group could be effectively differentiated by the fluorescence components characterized with the application of 3DEEM-PARAFAC. A significant correlation was found between peanut biomass and each component of DOM by Correlation Analysis. Furthermore, peanut biomass showed a significantly positive correlation with BIX and HIX, while the Mcknight index was only closely related to some soil properties. The Variance Partitioning Analysis showed that the explanation rate of peanut biomass to the variation of DOM composition was up to 40%. However, Soil properties could not significantly explain the variation of DOM composition, indicating that peanut growth status is an important factor affecting the DOM composition of rhizosphere soil. In summary, there is a correlation between peanut health and DOM composition with fluorescence characteristics of rhizosphere soil, which can provide a theoretical reference to understand the pathogenesis of peanut soil-borne diseases and guide the establishment of relevant scientific control schemes.

Keywords Continuous cropping peanuts; Health status; Rhizosphere soil; Dissolved organic matter; Three-dimensional excitation-emission matrices; Parallel factor analysis

(Received Dec. 31, 2020; accepted Feb. 4, 2021)

* Corresponding author