

磷亏缺下不同植物根系有机酸的分泌^①

陈凯^② 马敬 曹一平 张福锁

(中国农业大学资源与环境学院)

摘要 通过液培试验,采用直接收集法和气相色谱技术测定了适应性较强的6种植物根分泌物中低分子量有机酸的种类和数量。结果表明:在磷亏缺下6种植物根系有机酸分泌的总量与正常供磷下相比都呈不同倍数的增长。不同植物种根系分泌的有机酸种类与数量(某有机酸占有有机酸总量的百分率)以及增长的倍数有所差异。其中肥田萝卜:酒石酸(73%)和苹果酸(20%),总量增长43倍;印度豇豆:酒石酸(99%)增长4倍;荞麦:酒石酸(84%)总量和草酸(16%)总量增长8倍;玉米(农大60):酒石酸(94%)增长4倍;白羽扇豆:柠檬酸(65%)增长11倍。油菜:苹果酸(80%)和柠檬酸(17%)增长38倍。

关键词 磷亏缺;根分泌物;低分子量有机酸

分类号 Q945

Exudation of Organic Acids by the Roots of Different Plant Species under Phosphorus Deficiency

Chen Kai Ma Jing Cao Yiping Zhang Fusuo

(College of Resources and Environment, CAU)

Abstract The kinds and amount of low molecular weight (LMW) organic acids collected directly from roots of six plant species with high ability of P adaptation under water solution culture were analyzed by gas chromatography technique. Results showed that the total amount of LMW organic acids excreted by the roots of six plants with P deficiency treatment increased in different extents and the release of LMW organic acid also varied in the kind and proportion of total amount of LMW organic acid, compared to the plants with adequate P supply. For example, 73% and 20% of LMW organic acids released by radish were tartaric acid and malic acid respectively and their total released amount increased by 43 times. 99% of LMW organic acids was tartaric acid and only increased by 4 times in India cowpea. In buckwheat 84% and 16% of LMW organic acids were tartaric acid and oxalic acid respectively and their total released amount increased by 8 times. In corn (ND60) 94% of LMW organic acids with 4-time increment was tartaric acid. However, for white lupin the dominant LMW organic acid, 65% of LMW organic acids was citric acid and increased by 11 times. For rape, 80% and 17% of LMW organic acids were malic acid and oxalic acid respectively and the increment was 38 times.

Key words phosphorus deficiency; root exudate; low molecular-weight organic acid

收稿日期: 1997-10-16

①国家自然科学基金资助项目 39790100

②陈凯,北京圆明园西路2号中国农业大学(西校区),100094

鉴于我国与世界都存在着大面积的低有效磷的土壤,尽管土壤中全磷贮量并不太低。而施肥方面,磷肥的利用率又最低。因此,国内外研究者都较早地开始了寻找植物遗传特性中高效利用磷的基因潜力。早在50年代我国知名学者李庆逵等^[1]发现江西红壤地区的肥田萝卜和猪屎豆等植物对难溶性磷矿粉的利用能力较高,但未深入研究机理。80年代Gardner^[5]和Marschner^[8]等又先后对白羽扇豆适应缺磷胁迫的根系形态变化和大量分泌柠檬酸的机理进行了深入研究,90年代初中国农业大学林翠兰^[2]等初步提出不同玉米品种在磷亏缺下有机酸分泌量的差异。为了广泛探索植物对缺磷胁迫的适应机理,本研究对6种植物在磷亏缺下根系有机酸的分泌作用进行了比较研究。

1 材料和方法

1.1 供试植物

肥田萝卜(*Raphanus sativus* L.), 荞麦(*Fagopyrum esculentum* L. 1224), 玉米(*Zea mays* L. cv. ND60), 印度豇豆(*Vigna sinensis* L.), 白羽扇豆(*Lupinus albus* L.), 油菜(*Brassica chinensis* L. 五月慢)

1.2 植物培养

将种子播于用饱和CaSO₄溶液浸润过的石英砂中,用黑塑料布盖好,在20~25℃下放置发芽。当2片子叶展开时,小心将幼苗取出,用水轻轻冲洗,然后将其移栽至pH6.0的营养液中。此时,对于肥田萝卜、油菜、印度豇豆、玉米和白羽扇豆5种作物,其起始营养液浓度是正常培养时的1/6,3d后浓度上升为正常时的1/3,7d后供应正常浓度。荞麦起始时营养液浓度是双子叶植物营养液配方中浓度的1/12,3d后浓度变为正常时的1/10,以后均按此浓度培养。玉米在转移至营养液之前先去除胚乳。印度豇豆和白羽扇豆待完全抽出一片真叶时,切去子叶。肥田萝卜每盆30株,油菜每盆60株,印度豇豆每盆10株,荞麦每盆30株,盆体积3L。白羽扇豆和玉米每盆均5株,盆体积1L。每3d换一次营养液(玉米和白羽扇豆每2d)。昼夜连续通气。温度保持在26℃/14h光照和20℃/10h黑暗。光照强度为7²00~7⁸00 lx。

1.3 营养液组成

双子叶植物营养液配方(mmol·L⁻¹):K₂SO₄ 0.75; MgSO₄·7H₂O 0.65; KH₂PO₄ 0.25; KCl 1; Ca(NO₃)₂·4H₂O 2; 及(mol·L⁻¹)Fe-EDTA 1×10⁻⁴; H₃BO₃ 10×⁻⁴; MnSO₄·H₂O 1×10⁻⁶; ZnSO₄·7H₂O 1×10⁻⁶; CuSO₄·5H₂O 5×10⁻⁷; (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 5×10⁻⁸; 缺磷植物的营养液中不含KH₂PO₄,K⁺但以KCl 0.25 mmol·L⁻¹补齐。

单子叶植物营养液配方除H₃BO₃为1×10⁻⁵mol·L⁻¹外,其余均相同。

1.4 根分泌物的收集

上午10:00,将光照2h的植株从营养液中取出,用去离子水冲洗根系后,置根于体积300 mL的去离子水(2 mmol·L⁻¹CaSO₄)中通气培养4h。此时根洗液中含有包括有机酸在内的根分泌物。

1.5 有机酸的测定

将收集的根洗液在真空旋转蒸发仪上浓缩。然后,分别加入一定浓度的十三酸(内标物),15 mL无水甲醇,1.5 mL浓硫酸,并在150℃下甲酯化1h。然后用20% NaCl 40 mL溶液把酯化液洗入分液漏斗中,用三氯甲烷24 mL(分3次)萃取有机酸,收集萃取液并在KD浓缩器上浓缩至0.5 mL。将处理好的样品在气相色谱仪上测定^[3],采取程序升温。

1.6 试验设计

6种植物的培养,分别设正常供磷(+P)与缺磷(-P)2种处理。每种处理重复3次。

2 结果

在液培条件下,对于6种植物分别在磷亏缺与供磷正常2种条件下根系有机酸分泌的种类与数量进行系统分析如下。

2.1 肥田萝卜

这是分布于我国江西、湖南、广西等南方省份的绿肥作物,从肥田萝卜根洗液中主要检测出3种有机酸(表1):丁二酸、苹果酸和酒石酸。在磷胁迫6d时3种酸的分泌量都显著多于正常供磷时的水平。其中以酒石酸的分泌量为最多,占检出总酸量的约73%。无论是在正常或是在缺磷条件下,酒石酸都是该作物根分泌有机酸组成中的绝对主要成分。而且磷亏缺时有有机酸分泌的总量达到正常时的43倍之多。其中酒石酸的增加达58倍。

2.2 印度豇豆

印度豇豆起源于热带、生长在印度的豆科作物,根洗液中可检测出2种有机酸(表1):丁二酸和酒石酸。在缺磷处理6d时,丁二酸的分泌量与正常供磷相比差异不显著,而酒石酸的分泌则是正常供磷的3.8倍。根分泌的有机酸总量是正常时的4倍。

2.3 荞麦

荞麦源于亚洲东北部,目前在我国分布较广但种植面积不大的一种作物。具有耐瘠薄特性。在缺磷条件下从荞麦(1224)的根洗液中可检测出2种有机酸(表1):草酸和酒石酸。在缺磷处理10d时,2种酸的分泌量分别是正常供磷的6倍和8.8倍。酒石酸无论在正常或是在缺磷条件下,都是荞麦根分泌有机酸组成中的主要成分,分别约占78%和84%。缺磷时根分泌的有机酸总量是正常供磷的约8倍。

2.4 玉米

从玉米(农大60)的根洗液中可检测出2种有机酸(表1):丁二酸和酒石酸。在缺磷处理25d时,2种酸的分泌量分别是对照的3.4倍和4倍。缺磷时根分泌的有机酸总量是对照的4倍,与荞麦类似,酒石酸无论在正常或在缺磷条件下,都是该品种玉米根分泌有机酸组成中的主要成分。盆栽试验中不同处理间植株已出现差异,缺磷玉米茎秆已呈紫色。

2.5 白羽扇豆

长期生长于石灰性土壤的白羽扇豆,其根分泌物中可检测出3种有机酸(表1):丁二酸、酒石酸和柠檬酸。在正常条件下,酒石酸是根洗液有机酸组成中的主要成分。在缺磷处理10d时,丁二酸和酒石酸与对照相比差异不显著,而柠檬酸的分泌量却是正常时的11倍。

2.6 油菜

从油菜(五月慢)的根分泌物中检测出3种有机酸(表1):丁二酸、苹果酸和柠檬酸。在正常供磷条件下,苹果酸和柠檬酸的分泌量相差不多,而在缺磷处理8d时,苹果酸成为根分泌有机酸组成中的主要成分。3种酸的分泌量都显著高于正常时的水平。缺磷油菜根分泌的有机酸的总量是正常供磷的38倍。其中苹果酸增加65倍。

表 1 磷亏缺下供试植物根系分泌有机酸的种类与含量

 $\mu\text{g} \cdot \text{盆}^{-1}$

作物及处理	处理时 间 t/d	收集时 间 t/h	有机酸种类					总量
			丁二酸	苹果酸	酒石酸	柠檬酸	草酸	
肥田萝卜	+P	6	4	2.46(16.44)*	4.48(29.95)	8.02(53.61)		14.96(100.00)
	-P	6	4	44.15(6.87)	130.00(20.23)	468.40(72.90)		642.55(100.00)
印度豇豆	+P	6	4	0.38(2.12)		17.55(97.88)		17.93(100.00)
	-P	6	4	0.40(0.60)		66.00(99.40)		66.40(100.00)
荞麦	+P	10	4			177.26(78.36)		226.20(100.00)
	-P	10	4			1519.62(83.80)		1 813.28(100.00)
玉米	+P	25	5	18.50(6.40)		268.70(93.60)		287.20(100.00)
	-P	25	5	62.10(5.60)		1 042.50(94.40)		1104.60(100.00)
白羽扇豆	+P	10	4	43.18(11.24)		286.70(74.63)	54.26(14.13)	384.14(10 0.00)
	-P	10	4	26.38(2.92)		292.26(32.40)	583.40(64.68)	902.04(100.00)
油菜	+P	8	4	0.25(3.52)	3.25(45.77)		3.60(50.71)	7.10(100.00)
	-P	8	4	8.90(3.32)	214.05(79.96)		44.75(16.72)	267.70(100.00)

* () 括号内指各有机酸占总量的百分数。

3 结论与讨论

3.1 磷胁迫下植物根系有机酸分泌增加是一种较为普遍的主动的适应性反应

本试验所研究的 6 种植物,包括豆科、禾本科、十字花科和蓼科,它们在感受到磷亏缺胁迫后不同时间,都表现出根系有机酸的分泌量显著地增加。增加的倍数可达 4~65 倍,6 种供试植物在生产中所表现出的共同特点都是适应性强。早期的田间试验^[2]表明:肥田萝卜、油菜、荞麦等都是利用难溶性磷矿粉能力很强的植物。农大 60 玉米品种亦是生产中共认的高产、适应性广,生育期内根系活力保持长^[2]的品种,关于白羽扇豆和印度豇豆的耐低磷特性,国际上也早有过报道^[9,10]。通过本项研究进一步证实了国内外这 6 种植物种或品系,既有耐低磷的表现特性,又有磷亏缺下根系大量分泌相应有机酸的规律,根据这种普遍存在的表现型特征与根分泌物之间的紧密相关关系。可以初步判断:磷亏缺下植物根系有机酸的分泌是一种主动的适应性反应机制。尽管 80 年代有的研究者^[6]曾提出,磷亏缺条件下由于磷脂水平降低,根细胞膜被动渗漏增加可能是导致根分泌物增加的原因。但本研究结果表明,肥田萝卜根系有机酸分泌量随时序变化的规律是:缺磷后 3 d 明显增加,6 d 时达高峰,随后又逐渐下降。如果缺磷后根分泌物增加是由被动渗漏所造成的,那么分泌物应随缺磷时间的延长而增加。Hoffeand 等^[7]和 Ohwaki 等^[8]的研究结果也支持了本实验所得的结论。

3.2 磷亏缺下植物根系分泌有机酸的种类及其活化磷的机理

供试 6 种植物在磷亏缺下,根系所分泌的有机酸种类主要包括以下 4 种:柠檬酸、草酸、酒石酸和苹果酸。不同种植物分泌有机酸的种类及其占全量的百分率的差异是:肥田萝卜:酒石酸 72%,草酸 22%;印度豇豆:酒石酸 99%;荞麦:酒石酸 83%和草酸 17%,玉米:酒石酸 94%;羽扇豆:柠檬酸 64%和酒石酸 32%,油菜:苹果酸 80%和柠檬酸 18%。这 4 种低分子量有机酸在植物根际的富集均能明显促进土壤中磷的释放^[11],提高植物对磷酸吸收,缓解植物的磷胁迫。据陆文龙等的研究^[4]表明,上述 4 种低分子量有机酸活化土壤磷的化学机理为:柠

柠檬酸和草酸对石灰性土壤磷的活化作用较强,主要与Ca的释放量有关。在红壤上4种有机酸活化磷的作用大小顺序为柠檬酸>草酸>酒石酸>苹果酸,此顺序与4种有机酸的 $\log K(\text{Al})$ 的大小顺序一致,说明酸性土壤上有机酸对磷的活化主要与Al,Fe的释放量有关。并进而指出:在低pH时,柠檬酸所活化的磷中大约有38%是质子的作用,32%左右是柠檬酸阴离子的作用,其余30%为质子与阴离子的交互作用。此外,关于植物通过分泌柠檬酸,酸化根际微环境,活化土壤的Ca-P的机理也已有报道^[9,10]。

总之,6种适应性较强的植物种类或品系在磷亏缺下,分别增加4种有机酸的主动分泌,这对于植物根际的酸化、螯溶、解吸等作用均有促进,进而起到活化磷的作用。所以,低分子量有机酸的分泌作用是磷高效型植物的适应性表现。

参 考 文 献

- 1 李庆逵,胡祖光. 甘家山试验场对于磷灰石肥效试验第三次报告. 土壤学报,1956,4(1):43~49
- 2 林翠兰,曹一平,张福锁. 缺磷对不同基因型玉米根系形态及吸收生活特性的影响. 土壤与植物营养研究新动态(第一卷),1992,120~124
- 3 戴祥韵,衣纯真,严衍禄等. 气相色谱法测定水果蔬菜中的有机酸. 北京农业大学学报,1989,15(1):51~55
- 4 陆文龙,张福锁,曹一平. 低分子量有机酸对土壤磷的活化作用. 中国农业大学学报,1998,3(增刊):49~53
- 5 Gardner W K, Parbery D G, Barber D A. The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus*L. : I. Some characteristics of the soil/root interface. Plant and Soil, 1982a, 68:19~32
- 6 Graham J H, Leonard R T, Menge J A. Membrane-mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. Plant Physiol, 1981, 68:548~552
- 7 Hoffland E, Findenegg G R, Nelemans J A. Solubilization of rock phosphate by rape: II. Local root exudation of organic acids as a response to P-starvation. Plant and Soil, 1989b, 113:161~165
- 8 Ohwaki Y, Hirata H. Differences in carboxylic acid exudation among P-Starved leguminous crops in relation to carboxylic acid contents in plant tissues and phospholipid level in roots. Soil Sci Plant Nutr, 1992, 38(2):235~243
- 9 Dinkelaker B, Romheld V, Marschner H. Citric acid excretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.). Plant, Cell and Environment, 1989, 12: 285~292
- 10 Grierson P F. Organic acids in the rhizosphere of *Banksia integrifolia* L. Plant and Soil, 1992, 144: 259~265
- 11 陆文龙,王敬国,曹一平等. 低分子量有机酸对土壤磷释放动力学的影响. 土壤学报,1998,35(4):493~499