

不同磷效率甘蓝型油菜对土壤磷和铁锰铜锌的吸收差异*

张海伟 徐芳森**

华中农业大学农业部亚热带农业资源与环境重点开放实验室, 武汉 430070

摘要 以甘蓝型油菜磷高效基因型 102 和磷低效基因型 105 为材料, 研究了不同磷处理下根系分泌有机酸的基因型差异及土培条件下对土壤磷和铁锰铜锌等微量元素的吸收利用差异, 探讨了养分吸收差异与根系分泌有机酸的联系。研究表明, 缺磷条件下, 2 个基因型根系分泌的有机酸总量显著高于高磷处理, 且磷高效基因型 102 根系分泌的有机酸总量显著高于磷低效基因型 105。随供磷水平升高, 2 个基因型对土壤中 P、Fe、Mn 和 Zn 的吸收量均显著增加, 且植株体内 P 质量分数与 Fe、Mn 和 Zn 质量分数呈显著负相关。在低磷处理 P15 下, 磷高效基因型 102 比磷低效基因型 105 能吸收更多的磷和微量元素, 表明低磷胁迫下根系分泌的有机酸提高了土壤中磷和微量元素的有效性。

关键词 甘蓝型油菜; 土壤磷; 微量元素; 有机酸

中图分类号 S 565.406 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2010)05-0567-05

磷是植物生长发育必需的矿质营养元素, 农田土壤普遍存在的“生物学缺磷”已成为限制作物产量和品质提高的重要因素^[1-2]。这一方面是由于缺磷引起了植物代谢的紊乱, 另外缺磷影响了植物对其他矿质元素的吸收。在缺磷土壤上, 磷高效品种或基因型能够吸收较多的磷素, 其体内较为平衡的养分比例也促进了其他矿质元素的吸收, 维持了植物的正常生长。另外, 在低磷环境下磷高效品种还能产生一些适应性机制以减轻磷胁迫, 如根系分泌质子^[3]、有机酸^[4-5]、酸性磷酸酶^[6]等。其中有机酸阴离子能与土壤中的金属离子如 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Mn^{2+} 等产生还原和络合作用, 在提高土壤中磷有效性的同时, 也满足植物对微量元素的需求。

甘蓝型油菜是长江流域的主要油料作物, 在苗期对缺磷较为敏感。研究表明, 不同甘蓝型油菜品种和基因型之间存在着显著的磷效率差异^[7-8]。本试验研究不同磷水平下, 不同磷效率基因型甘蓝型油菜根系分泌有机酸及其对土壤磷和其他微量元素吸收利用的差异, 并讨论磷高效的生理机制, 以为研究磷高效的分子机制及遗传育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料和土壤

供试材料为甘蓝型油菜 (*Brassica napus* L.) 磷高效基因型 102 和磷低效基因型 105。该材料均来自以高效品种“97081”和低效品种“97009”为亲本构建的重组自交系 (F9), 经苗期水培和土培两步筛选获得^[7]。

供试土壤为华中农业大学校园中采集的黄棕壤, 其基本理化性质为: 有机质 6.0 g/kg, 全 N 0.85 g/kg, 全 P 0.21 g/kg, 碱解 N 44.3 mg/kg, 速效 P 1.78 mg/kg, 速效 K 146 mg/kg, pH 6.5 ($m_{水}:m_{土} = 2.5:1$)。

1.2 水培试验

2 个基因型的油菜种子用 10% NaClO 溶液消毒 1 min, 用去离子水冲洗 5 min, 在黑暗中浸泡 8 h 后在 25 °C 下催芽, 种子露白后播在干净纱布上, 用去离子水培养, 待根长达到 2~3 cm 后将幼苗移栽到不同磷处理的营养液中培养。试验设 2 个磷处理: (1) 高磷 (200 μ mol/L) 处理培养 18 d; (2) 高磷处理 15 d, 转至无磷 (-P) 营养液培养 3 d。2 个处

收稿日期: 2009-11-20; 修回日期: 2010-03-10

* 国家“973”课题 (2005CB120905) 资助

** 通讯作者. E-mail: fangsenxu@mail.hzau.edu.cn

张海伟, 男, 1980 年生, 博士研究生. 研究方向: 植物营养生理. E-mail: haiweizhang1130@163.com.

理营养液除磷含量不同外,其他养分完全一致,组分如下(g/L): NH_4NO_3 0.240, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.100, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0.100, KCl 0.015, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.360, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.500, Fe-EDTA 0.025, 微量元素用阿农微量元素营养液 1 mL/L。每 3 d 天更换 1 次营养液。

在移苗 18 d 后,将 2 个基因型的幼苗从培养液中取出,用蒸馏水小心冲洗根系上的养分离子和分泌物,再用去离子水洗根,然后将根系完全浸入 250 mL 2 $\mu\text{mol/L}$ 的 CaCl_2 溶液中,连续收集根系分泌物 6 h 后(3 个重复),将根系从收集液中取出,用蒸馏水将根系表面的分泌物冲洗到收集液中,再将收集液分别过阳离子和阴离子树脂,最后用 8 mL 2 mol/L 的 HCl 交换阴离子树脂中吸附的有机阴离子。将 HCl 洗液在 45 $^\circ\text{C}$ 条件下用旋转蒸发仪蒸干,并用 1 mL 去离子水溶解,过 0.45 μm 滤膜后用 HPLC(Agilent 1200, 美国)测定有机酸含量。有机酸测定所用色谱柱为 Alltima C18 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm , 美国),流动相为 25 mmol/L 磷酸二氢钾(pH2.5)和甲醇(V/V = 98 : 2);柱温为 25 $^\circ\text{C}$;进样体积为 20 μL ;流速为 1 mL/min;检测波长为 210 nm。样品中有机酸的定量分析采用外标法(标准曲线法),按峰面积计算。

1.3 土培试验

试验于 2008 年在华中农业大学资源与环境学院盆栽场进行。盆栽容器采用米氏钵,每钵装土 7 kg,内衬聚乙烯塑料薄膜。底肥为每千克土施 N 0.2 g, K 0.2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.25 g, Arnon 营养液 1 mL。试验设置 3 个磷水平: P15(低磷)、P30(中等)、P100(高磷) mg/kg, 每个处理 4 个重复。将各种肥料与土充分混匀后装入钵中,用 1.5 L 蒸馏水将土壤浇透,放置 2 周使各种养分在钵内达到平衡。分别挑选 2 个材料的饱满度一致的种子 10 粒播入土中,表面覆盖一层土壤以减少水分蒸发,2 周后间苗,每盆保留 4 株幼苗。每天观察记录植物生长情况,生长 60 d 后收获地上部,用蒸馏水和去离子水洗净,在 105 $^\circ\text{C}$ 杀青 30 min,然后在 65 $^\circ\text{C}$ 烘 72 h 至质量恒定,称取干物质质量。用玛瑙研钵磨细后保存在封口袋中。

1.4 测定项目和方法

称取 0.1 g 左右植物样品,加入 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-HClO}_4$ (V/V = 95/5)混合酸 5 mL 过夜,然后在红外线消煮炉上消化至无色,利用流动注射分析仪(FIAstar

5000)测定植株 P 质量分数。

称取 0.25 g 左右的植物样品置于瓷坩埚中,在电炉上加热碳化,再移入马弗炉中 500 $^\circ\text{C}$ 灰化 8 h,冷却后准确加入 1 : 1 硝酸溶液 5 mL 溶解灰分,溶解后无损地移入 50 mL 容量瓶中,定容后用干滤纸过滤,取适量滤液稀释后直接用原子吸收分光光度计测定植物样品中 Fe、Mn、Cu、Zn 的含量。

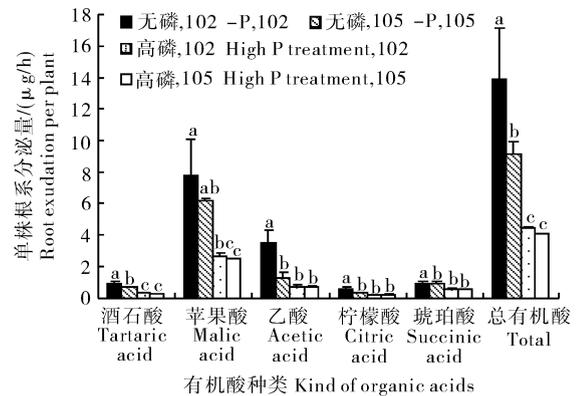
1.5 统计分析

采用 Excel 和 DPS 进行方差统计分析,磷处理及基因型之间的两两比较及多重比较采用 LSD 法。

2 结果与分析

2.1 不同磷处理下甘蓝型油菜根系分泌有机酸的差异

由图 1 可知,在高磷处理下,2 个基因型甘蓝型油菜单株根系分泌的有机酸较少,且均无显著的基因型差异。而高磷处理后再无磷培养的植株,单株根系分泌的有机酸总量显著高于高磷处理,并以苹果酸和乙酸为主,其他相对较少。无磷处理下磷高效基因型 102 分泌的总有机酸量显著高于磷低效基因型 105。



图上不同小写字母表示在 $P = 0.05$ 水平上存在显著差异,下同。The different letters on the column indicate significant difference at $P < 0.05$, and it is the same as follows.

图 1 不同磷处理下甘蓝型油菜根系有机酸分泌量的基因型差异

Fig. 1 Genotypic variations in organic acids exudation under different P treatments

2.2 不同磷水平下甘蓝型油菜苗期生物量的基因型差异

与磷充足处理相比,低磷处理抑制了甘蓝型油菜的生长(图 2)。随土壤磷水平升高,2 个基因型的地上部生物量均显著增加。在 P30 和 P100 处理

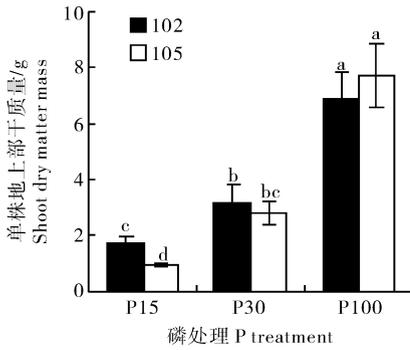


图 2 不同磷水平对甘蓝型油菜地上部生物量的基因型差异

Fig.2 Genotypic variations in shoot dry matter mass at different P levels

下, 2 个基因型的地上部生物量无显著差异, 而在 P15 处理下, 磷高效基因型 102 的地上部生物量显著高于磷低效基因型 105。

2.3 不同磷水平下甘蓝型油菜苗期地上部 P 及 Fe、Mn、Cu、Zn 质量分数及吸收量的基因型差异

由图 3 可知, 随磷水平升高, 2 个基因型地上部 P 质量分数和 P 吸收量均有增加的趋势。在 P100 处理下 2 个基因型的地上部 P 质量分数均显著高于 P15 和 P30 处理, 但 P 质量分数在 P15 和 P30 处理间并无显著差异, 在各磷处理内也无显著的基因型差异。2 个基因型在 3 个磷处理下的磷吸收量存在显著差异, 处理内部也存在显著的基因型差异。磷高效基因型 102 在 P15 和 P30 处理下的磷吸收量均显著高于磷低效基因型 105。

由表 1 可知: 随磷水平升高, 甘蓝型油菜 2 个基因型的地上部 Fe、Mn、Cu 和 Zn 质量分数均呈下降趋势。在 P100 处理, 4 种元素的质量分数均无显著的基因型差异, 而在 P30 处理, 除 Cu 外, Fe、Mn 和 Zn 的质量分数均有显著的基因型差异。值得注意

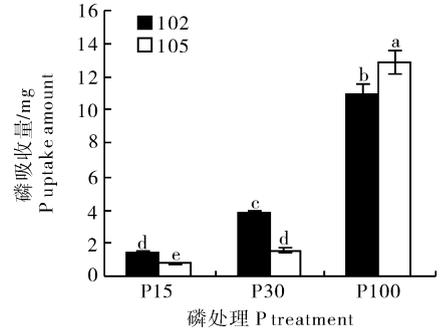
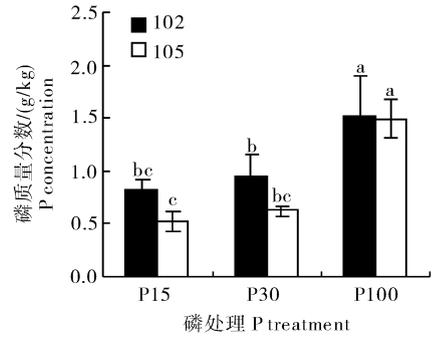


图 3 不同磷水平下甘蓝型油菜地上部 P 质量分数及吸收量的基因型差异

Fig.3 Genotypic variations in shoot P concentration and P uptake at different P levels

的是, 在 P100 和 P30 处理下磷高效基因型 102 的 Fe 和 Mn 质量分数均显著低于磷低效基因型 105, 而 P15 处理下磷高效基因型 102 的 Fe 和 Mn 质量分数却高于磷低效基因型 105。磷高效基因型 102 的地上部 Zn 质量分数在 3 个磷水平下均低于磷低效基因型 105, 2 个基因型的 Cu 质量分数则无差异。甘蓝型油菜体内 P 质量分数与 Fe、Mn、Cu 和 Zn 4 种元素的质量分数均呈显著或极显著负相关。

随磷水平升高, 2 个基因型甘蓝型油菜的地上部 Fe、Mn、Cu 和 Zn 吸收量逐渐增加。尤其是 Fe 和 Mn 的吸收量在磷水平间存在显著差异。相对于

表 1 不同磷水平下甘蓝型油菜地上部 Fe、Mn、Cu、Zn 含量及累积量的基因型差异

Table 1 Genotypic variations in shoot Fe, Mn, Cu, Zn mass fraction and accumulation at different P levels

处理 Treatment	基因型 Genotype	质量分数 Mass fraction/(mg/kg)				单株累积量 Accumulation per plant/ μ g			
		Fe	Mn	Cu	Zn	Fe	Mn	Cu	Zn
P15	102	88.0 b	174.4 bc	2.9 a	63.1 ab	151.2 c	295.2 c	5.5 d	113.7 bc
	105	100.5 a	237.2 a	2.9 a	74.2 a	121.6 c	233.5 c	3.5 e	92.1 c
P30	102	69.2 c	155.2 cd	2.7 a	43.7 c	202.1 b	573.1 b	9.5 bc	161.6 ab
	105	87.9 b	182.8 b	2.8 a	56.7 b	267.5 b	576.6 b	6.4 cd	162.4 ab
P100	102	67.8 c	136.6 de	1.5 b	19.2 d	539.8 a	1250.1 a	12.4 ab	166.2 ab
	105	64.4 c	129.1 e	1.5 b	24.6 d	521.3 a	1119.5 a	14.7 a	217.9 a

与磷水平的相关性
Correlations of metals concentration and P level

-0.89* -0.89* -0.96** -0.96**

Fe 和 Mn, Cu 和 Zn 的吸收量随磷水平升高变化幅度较小。

3 讨 论

由图 2 可知,不同供磷水平对甘蓝型油菜地上部生物量有显著影响,随磷水平升高,2 个基因型的地上部生物量逐渐增加。Jain 等^[9]、Akhtar 等^[10]对不同磷水平下甘蓝型油菜生长状况的研究也得到相似结果。另外,在 P15 处理,磷高效基因型 102 的地上部生物量显著高于磷低效基因型 105,而且其地上部磷吸收量也显著高于磷低效基因型 105(图 3),这表明在低磷处理下,磷高效基因型能够从低磷土壤中吸收较多的磷满足自身生长的需要,从而产生较大的生物量。许多研究表明,当植物生长在缺磷土壤上时,其苗期地上部生物量可以作为预测植物最终经济产量、评价植物磷效率的一个重要指标^[11-12],本研究结果与此一致。

土壤中的有机酸具有减少土壤磷吸附和增加土壤中难溶性磷释放的作用,是提高磷有效性的的重要途径^[13]。根系分泌有机酸和磷酸酶等被认为是植物对低磷胁迫的一种适应性机制。段海燕^[14]的研究表明,甘蓝型油菜磷高、低效品种在无磷处理下根系分泌的有机酸均多于磷正常处理。Hoffland 等^[15]和 Akhtar 等^[16]对甘蓝型油菜的研究也发现,难溶性磷处理下根系分泌的有机酸显著多于可溶性磷处理,有机酸种类主要为苹果酸、柠檬酸、琥珀酸和延胡索酸等。本研究结果表明,无磷处理下 2 个基因型油菜根系分泌的有机酸总量均显著高于磷正常处理,且根系分泌的有机酸以苹果酸和乙酸为主,柠檬酸的含量较低(图 1)。在无磷处理下,磷高效基因型 102 根系分泌的有机酸总量显著高于磷低效基因型 105,表明磷缺乏时磷高效基因型适应磷胁迫环境的能力较强,分泌较多的有机酸能活化更多难溶性磷供植物利用,这也是基因型 102 具有较强活化吸收土壤中磷的重要原因之一。

随着磷水平升高,尽管植物体内的 Fe、Mn 和 Zn 的绝对吸收量不断增加,但其质量分数却显著降低(表 1),这与 Akhtar 等^[16]对甘蓝型油菜的研究结果是一致的,但其认为低磷处理下植物体内金属离子浓度较高是“浓缩效应”的结果,笔者认为并不尽然。本研究中,植物体内磷质量分数与 Fe、Mn 和 Zn 质量分数呈显著负相关,表明在低磷处理下金属

离子对植物的有效性更高,这可能与低磷条件下植物的根系分泌物有关。有研究表明,磷胁迫条件下植物根系分泌大量的质子和有机酸,不仅能提高土壤中难溶性无机磷的有效性,同时还具有较强的还原性,能与根际土壤中的铁、锰、锌等金属离子发生还原或络合反应,提高其生物有效性^[3-4,15]。对甘蓝型油菜的研究表明,不同基因型油菜在低磷处理下均能分泌较多的有机酸阴离子,从而增加了微量元素的吸收^[16]。本研究结果也表明,无磷处理下 2 个基因型甘蓝型油菜根系分泌的有机酸总量均显著高于磷正常处理,进一步支持了上述推测。

参 考 文 献

- [1] HINSINGER P. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review [J]. *Plant Soil*, 2001, 237: 173-195.
- [2] FAIRHUST T, LEFROY R, MUTERT E, et al. The importance, distribution and causes of phosphorus deficiency as a constraint to crop production in the tropics [J]. *Agroforestry Forum*, 1999, 9: 2-8.
- [3] YAN F, ZHU Y Y, MÜLLER C, et al. Adaptation of H⁺-pumping and plasma membrane H⁺-ATPase activity in proteoid roots of white lupin under phosphate deficiency [J]. *Plant Physiol*, 2002, 129: 50-63.
- [4] SHANE M W, LAMBERS H. Cluster roots: a curiosity in context [J]. *Plant Soil*, 2005, 274: 101-125.
- [5] 李德华, 向春雷, 姜益泉, 等. 低磷胁迫下不同水稻品种根系生理特性的研究 [J]. *华中农业大学学报*, 2006, 25(6): 626-629.
- [6] 黄宇, 张海伟, 徐芳森. 植物酸性磷酸酶的研究进展 [J]. *华中农业大学学报*, 2008, 27(1): 148-154.
- [7] ZHANG H W, HUANG Y, YE X S, et al. Genotypic differences in phosphorus acquisition and the rhizosphere properties of *Brassica napus* in response to low phosphorus stress [J]. *Plant Soil*, 2009, 32: 91-102.
- [8] 张海伟, 黄宇, 叶祥盛, 等. 甘蓝型油菜重组自交系苗期磷效率的评价 [J]. *作物学报*, 2008, 34(12): 2152-2159.
- [9] JAIN N K, VYAS A K, SINGH A K. Yield and quality of Indian mustard (*Brassica juncea*) as influenced by phosphorus and sulfur fertilization [J]. *Indian J Agri Sci*, 1996, 69: 539-540.
- [10] AKHTAR M S, GILL M A, AZIZ T, et al. Differential phosphorus requirement and utilization efficiency of *Brassica* genotypes [J]. *Pak J Agric Sci*, 2002, 39: 188-192.
- [11] AHMAD Z, GILL M A, QURESHI R H, et al. Phosphorus nutrition of cotton cultivars under deficient and adequate levels in solution culture [J]. *Commun Soil Sci Plant Anal*, 2001, 32: 171-187.

- [12] ALLOUSH G A. Responses of hydroponically grown chickpea to low P: pH changes, nutrient uptake rates and root morphological changes[J]. *Agronomie*, 2003(2): 123-133.
- [13] 胡红青, 贺纪正, 李学垣, 等. 有机酸对酸性土壤吸附磷的影响[J]. *华中农业大学学报*, 1997, 16(1): 37-42.
- [14] 段海燕. 甘蓝型油菜不同品种磷利用效率及营养生理的研究[D]. 武汉: 华中农业大学资源与环境学院, 1999.
- [15] HOFFLAND E, BOOGAARD R V D, NELEMANS J, et al. Biosynthesis and root exudation of citric and malic acids in phosphate-starved rape plants[J]. *New phytol*, 1992, 122: 675-680.
- [16] AKHTAR M S, YOKO O, TADASHI A, et al. Phosphorus starvation induced root-mediated pH changes in solubilization and acquisition of sparingly soluble P sources and organic acids exudation by *Brassica* cultivars[J]. *Soil Sci Plant Nutri*, 2006, 52: 623-633.

Differences in Acquiring Soil P, Fe, Mn, Cu and Zn between Two *Brassica napus* Genotypes with Different Phosphorus Efficiency

ZHANG Hai-wei XU Fang-sen

Key Laboratory of Subtropical Agriculture Resource and Environment, Ministry of Agriculture, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract Using *Brassica napus* P-efficient genotype 102 and P-inefficient genotype 105 as experiment materials, organic acids exudations based on nutrition solution culture, and the uptake and accumulation of P, Fe, Mn, Cu and Zn in plants under pot experiment were investigated under different P treatments, respectively. The results showed that under low P treatment, the total organic acid exudated by both genotypes was higher than that under high P treatment, and P-efficient genotype 102 released much more organic acids than P-inefficient genotype 105. In pot experiment, P, Fe, Mn and Zn uptake of both genotypes increased significantly with the increased P levels, and P concentration was negative correlated significantly with Fe, Mn, Cu and Zn. Under low-P treatment (P15), P-efficient genotype 102 could acquire much more P, Fe, Mn and Zn than P-inefficient genotype 105, which might be attributed to more organic acids improving the availability of these elements in soil.

Key words *Brassica napus*; soil phosphorus; micronutrients; organic acid

(责任编辑: 张志钰)