植物营养与肥料学报 2012,18(5):1046-1055
Plant Nutrition and Fertilizer Science

水稻氮高效基因型根系分泌物中有机酸和氨基酸的变化特征

戢 林,李廷轩*,张锡洲,余海英
(四川农业大学资源环境学院,四川成都 611130)

摘要:采用溶液培养试验,研究水稻氮高效基因型在不同供氮水平下,根系分泌物中有机酸和氨基酸种类及含量的变化情况,并探讨其与氮素利用效率之间的关系。结果表明:1)水稻氮高效基因型氮积累量随着供氮水平的降低明显下降,而氮素利用效率显著提高;在供氮水平为 20 mg/L 时,高效基因型具有较高的氮积累量,且氮素利用效率较低效基因型高 42.9%(分蘖期)和 21.4%(拔节期)。2)草酸为高效基因型根系分泌的主要有机酸种类,其分泌量占有机酸总量的 80% 以上,其次是乙酸和柠檬酸;有机酸分泌总量和草酸分泌量在分蘖期和拔节期随供氮水平的降低而降低,乙酸和柠檬酸分泌量在拔节期也呈相同趋势;相同供氮水平下,高效基因型有机酸分泌总量均显著低于低效基因型,且在 20 mg/L 时差异明显。3)丙氨酸为高效基因型根系分泌的主要氨基酸种类,其分泌量占氨基酸总量的 50% 以上,其次是丝氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸和苏氨酸,且氨基酸分泌总量和各组分氨基酸分泌量均随供氮水平的降低而降低;在低氮水平(10 mg/L 和 20 mg/L)下,高效基因型氨基酸分泌总量均显著低于低效基因型。4)在分蘖期和拔节期,水稻根系分泌有机酸和氨基酸总量与氮素利用效率均呈显著或极显著负相关,有机酸分泌组分中的草酸和氨基酸分泌组分的天冬氨酸分泌量与氮素利用效率也呈显著或极显著负相关。以上结果表明,低氮条件下水稻氮高效基因型氮效率优势明显,高效基因型氮素利用效率高,有利于体内同化物质的合理分配。

关键词:水稻;氮高效基因型;有机酸;氨基酸;氮素利用效率
中图分类号:S511.01;Q945.12　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1008-505X(2012)05-1046-10

Characteristics of organic acid and amino acid in root exudates of rice genotype with high nitrogen efficiency

JI Lin, LI Ting-xuan*, ZHANG Xi-zhou, YU Hai-ying
(*College of Resource and Environmental Science, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130*)

Abstract: Nitrogen plays important roles in promoting plant growth and development. The purpose of this study was to investigate how N nutrient affect the changes in the root exudates under different nitrogen levels and their relations with nitrogen utilization efficiency of rice nitrogen efficiency genotype. In this research, a hydroponic experiment was carried out in a net room on the farm of Sichuan Agricultural University, Sichuan province, China in 2009, with four nitrogen fertilizer applications, 10 mg/L, 20 mg/L, 40 mg/L and 60 mg/L. The results show that the nitrogen accumulations of the rice nitrogen efficiency genotype significantly are decreased with the nitrogen level decrease at the tillering stage and jointing stage, while the nitrogen utilization efficiencies are significantly increased. The nitrogen accumulations of the nitrogen efficiency genotype are 42.9% at the tillering stage and 21.4% at the jointing stage, which are higher than those of the inefficiency genotype under the nitrogen level of 20 mg/L. As the main kind of organic acids of the nitrogen efficiency genotype, the secretion volume of oxalate acid accounts for more than 80% of the total organic acid, and those of acetic acid and citric acid are followed. The

收稿日期:2012-02-06　　**接受日期**:2012-04-20
基金项目:国家自然科学基金(40901138);国家科技支撑计划子课题(2008BAD98B03);四川省科技厅应用基础项目(2008JY0022)资助。
作者简介:戢林(1984—),男,四川简阳人,博士研究生,主要从事作物养分高效利用研究。E-mail:jilin_sicau@163.com
*通讯作者 Tel:028-87118722, E-mail:litinx@263.net

secretion amounts of organic acid and oxalate acid are significantly decreased with the nitrogen level decrease at the tillering and jointing stages, and the amounts of acetic acide and citric acid show the same trend at the jointing stage. Under the same nitrogen level, the total organic acid secretion of the nitrogen efficiency genotype is significantly lower than that of the inefficiency genotype. As the main kinds of amino acid of the nitrogen efficiency genotype, the secretion volume of alanine accounts for more than 50% of the total amino acid, and is followed by serine, glutamic, aspartic, phenylalanine, glycine and threonine acids. Total amino acids' secretion and all components of amino acid secretion are decreased with the nitrogen level decrease. Under the low nitrogen levels of 10 mg/ L and 20 mg/ L, the total amino acids secretion of the nitrogen efficiency genotype is significantly lower than that of the inefficiency genotype. At the tillering and jointing stages, the total organic acid and oxalate acid are significant or very significant negative correlated with the nitrogen utilization efficiency, and amino acid secretion and aspartic acid as the same. It could be concluded that rice nitrogen efficiency genotype has certain regulation mechanism, which can reasonable allocation in vivo assimilation substance, promote the efficient uptake and utilization of nitrogen in low nitrogen condition.

Key words: rice; nitrogen efficiency genotype; organic acid; amino acid; nitrogen utilization efficiency

在养分胁迫条件下,植物可通过调节根系分泌物的组成来改变根际微生态系统以适应外界环境,而根系分泌物的组成及变化反映了植物新陈代谢和生长发育状况。一般情况下,植物根系通过分泌作用向土壤释放的有机碳量占植物固定总碳量的4%～7%[1-3]。这些物质一方面作为根系生理的重要组成部分,直接对植株的生长发育起调节作用[4-5]。如水稻根系分泌的草酸、柠檬酸对稻米的外观品质和食味品质有明显的影响[6]; 养分胁迫对水稻根系分泌的氨基酸组分和含量有调控作用,进而影响产量和稻米的营养品质[7]。另一方面通过改善生长环境,促进土壤中养分的活化,进而促进植物对矿质养分的吸收利用,从而提高植物对养分的利用效率[8-10]。李廷轩等[11-12]发现籽粒苋对钾的富集与根系分泌有机酸和氨基酸的作用密切相关; 缺磷胁迫下,磷高效植物可通过增加有机酸的分泌,促进植物对难溶性磷的活化与吸收[13]; 禾本科植物缺铁时,其根系能分泌一种麦根酸类的高铁载体(phytosiderophore, PS)对 Fe^{3+} 具有极强的络合能力,从而提高根际环境中铁的有效性[14]。目前,关于水稻根系发育状况与氮素吸收利用关系的研究,主要集中在根系形态结构和根系活性等方面[15-17],但有关水稻根系分泌物组成及变化与氮素利用效率关系的研究很少。水稻移栽至拔节期植株吸氮量占全生育期的80%以上[18],拔节期为水稻氮高效基因型筛选和鉴定的最佳时期[19]。为此,本研究选择前期筛选得到的水稻氮高效和低效基因型为试验材料,分析其在分蘖期和拔节期根系分泌有机酸和氨基酸量的差异,探讨根系分泌物种类及分泌量与氮素吸收利用效率的关系,揭示水稻氮高效的生理机制。

1　材料与方法

1.1　供试材料

水稻氮高效基因型为美国谷,低效基因型为IR32429[16,20],均由四川农业大学农学院提供。

1.2　试验设计

试验于2009年4月至7月在四川农业大学农场有防雨设施的网室中进行,采用自然光照。水稻种子经30%的 H_2O_2 消毒30 min,再用0.1%的 $NaClO_3$ 浸种1 d后,于2009年4月15日在恒温恒湿箱(温度35℃,湿度60%)中催芽,然后播于已消毒的石英砂育苗盘中,每天用一定量的去离子水浇灌,以保持一定湿度。出苗后用1/4浓度的营养液浇灌培养,二叶一心时转移至10 L的黑色塑料盆中,每盆7孔,每孔1株,用打孔的硬质泡沫板(厚度2 cm,孔径2 cm)和海绵固定幼苗。移入盆后,用1/2营养液培养,三叶一心后用完全营养液,并每4 d更换一次,营养液体积为10 L。培养期间每天用0.1 mol/L的HCl或NaOH调节营养液的pH到5.5左右,同时补充适量去离子水维持营养液体积。试验设4个氮水平: N10、N20、N40和N60,浓度分别为10 mg/L、20 mg/L、40 mg/L和60 mg/L(其中40 mg/L为水稻正常供氮水平)。营养液选择国际水稻所常规配方,其中 $H_2PO_4^-$、K^+、Ca^{2+}、Mg^{2+}、Na^+ 及微量元素浓度保持不变,Fe用Fe(EDTA-Na_2)代替,并加入 Na_2SiO_3 以保持营养液中的 SiO_2 为120 mg/L。完全随机排列,每处理重复5次。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 根系分泌物的收集 分别在出苗后40 d(分蘖期)和75 d(拔节期)时收集根系分泌物,具体收集方法参照李廷轩等[12]的方法。于上午8:00植株自然光照2 h后,将植株从营养液中取出,先后用自来水和去离子水将根系洗净,然后分别顺次放入0.2 mmol/L $CaCl_2$和30 mg/L氯霉素溶液中,各浸泡2 h和0.5 h,再用自来水和去离子水冲洗干净,而后将根系置于装有250 mL去离子水并用黑色塑料袋包裹的三角瓶中,用海绵固定。每瓶植1株,重复5次。每4 h更换收集一次,共2次,将收集到的溶液储存于棕色瓶并保存在4℃冰箱中。分取收集到的根系分泌物200 mL置于真空旋转蒸发器内,于40℃下浓缩至5 mL,贮于-20℃下冰箱中保存待测。

1.3.2 有机酸的测定 采用反相高效液相色谱仪(HPLC)VARIAN ProStar和紫外检测器对根系分泌物中的低分子量有机酸进行测定,色谱柱为ODS-C_{18}柱(150 mm×46 mm)。标准样品包括草酸、酒石酸、苹果酸、丙二酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸。样品上机前通过0.45 μm滤膜,以去除杂质。检测波长为210 nm,柱温25℃,流动相为磷酸二氢钾和甲醇(比例为97:3,并用磷酸调pH到2.80),流速0.8 mL/min,进样量20 μL。

1.3.3 氨基酸的测定 采用氨基酸全自动分析仪(L-8800, Hitachi Instruments Engineering, Tokyo, Japan)测定根系分泌的氨基酸。氨基酸标准样品有20种:酪氨酸、甘氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、亮氨酸、精氨酸、脯氨酸、赖氨酸、谷氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、组氨酸、丝氨酸、丙氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、色氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺。

1.3.4 植株氮含量的测定 采集植株样品,置105℃杀青30 min,75℃烘干至恒重,分别测定干重。干样粉碎后经浓$H_2SO_4-H_2O_2$消化,用全自动定氮仪(Foss Kjeltec™2300, Swiss)测定植株全氮含量[21]。

1.4 数据处理

氮积累量(mg/plant,DW)=单株干重×氮含量

氮素利用效率(g/g)=单株干重/氮积累量[19,22]。

统计分析采用DPS(11.0)软件,其中方差分析采用两因素完全随机设计,多重比较选择LSD法;图表制作采用Origin(8.0)和Excel(2007)。

2 结果与分析

2.1 不同供氮水平下水稻氮高效基因型氮素吸收利用效率

氮效率是氮素吸收、同化、运转和再利用等多个生理过程综合作用的结果,同一供氮水平下,氮积累量可反映水稻对氮素的吸收能力[19]。由图1可以看出,氮高效基因型氮积累量在分蘖期和拔节期随着供氮水平的降低而降低,在N10处理(供氮水平为10 mg/L)时显著低于其它水平。与N40(正常供氮40 mg/L)相比,N10处理的氮积累量在分蘖期和拔节期分别降低了27.2%和45.7%。低效基因型也呈现同样趋势,即低氮胁迫不利于水稻氮素的积累。而相同供氮水平下,高效基因型氮素积累量高于低效基因型。在分蘖期,高效基因型氮积累量在N10、N20、N40、和N60处理比低效基因型分别高39.2%、42.9%、29.1%、20.5%;在拔节期分别高3.9%、28.9%、25.9%、30.0%。即两类基因型氮积累量差异较大,且在供氮水平为20 mg/L(N20)时差异明显。

理想的氮高效基因型即具有较高的吸收效率,又具有较高的利用效率[19]。由图2可以看出,高效基因型氮素利用效率在分蘖期和拔节期随着供氮水平的提高呈降低的趋势,在低氮水平(N10和N20)下显著高于正常供氮(N40)和高氮水平(N60),而正常供氮与高氮水平间差异不明显。分蘖期,N10和N20处理的氮素利用效率较N40的(正常供氮水平)分别高29.4%和12.4%;拔节期,分别高29.7%和12.8%。低效基因型也呈现相似的趋势。这表明,低氮胁迫有利于水稻氮素利用效率的提高。而相同供氮水平下,高效基因型氮素利用效率均高于低效基因型,且达到显著水平。在分蘖期,高效基因型的氮素利用效率在N10、N20、N40和N60处理下比低效基因型分别提高了38.7%、42.9%、29.1%、20.2%;在拔节期,分别提高了21.6%、21.4%、32.5%、10.0%。可见,两类基因型氮素利用效率在高氮条件下差异最小,而低氮条件下更能体现高效基因型氮素利用效率的优势。

外界氮浓度过低会影响水稻对氮素的吸收,进而抑制根系和地上部正常生长,浓度过高又不利于氮素利用效率的提高。氮素吸收和利用效率一般表现为此消彼长的关系,提高氮素利用效率一直是遗传改良的重点,而改良的前提是植株体内需具备足够的氮积累量[1]。结合图1和图2可以看出,氮高效基因型在两个时期N20处理下已具有较高的氮积累量,氮素利用效率较正常供氮水平分别提高了12.4%(分蘖期)和12.8%(拔节期),且两类基因型

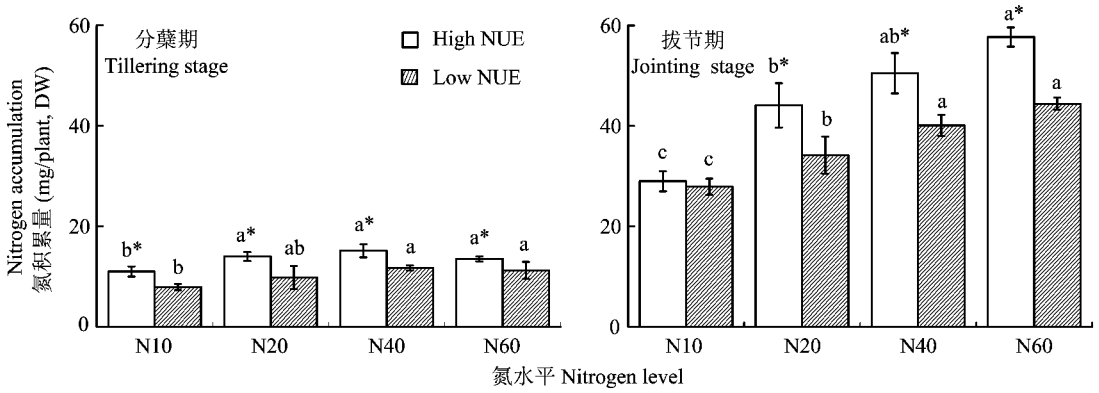

图 1　不同供氮水平对水稻氮高效基因型氮积累量的影响

Fig. 1　Effects of nitrogen accumulation for the nitrogen efficiency genotypes in different nitrogen levels

[注(Note): High NUE—氮高效基因型 High nitrogen utilization efficiency genotype; Low NUE—氮低效基因型 Low nitrogen utilization efficiency genotype. 柱上不同小写字母表示同一基因型不同氮水平间在 $P \leqslant 0.05$ 水平上差异显著 Different letters above the bars indicate significant at $P \leqslant 0.05$ level among nitrogen levels; * 表示同一氮水平不同基因型间在 $P \leqslant 0.05$ 水平上差异显著 Indicates significant at $P \leqslant 0.05$ level between the two genotypes.]

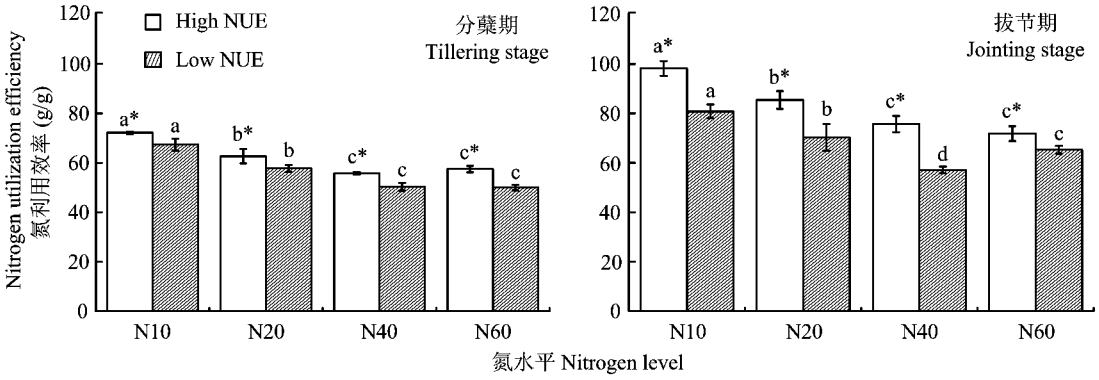

图 2　不同供氮水平对水稻氮高效基因型氮素利用效率的影响

Fig. 2　Effects of nitrogen utilization efficiency for the nitrogen efficiency genotypes in different nitrogen levels

[注(Note): High NUE—氮高效基因型 High nitrogen utilization efficiency genotype; Low NUE—氮低效基因型 Low nitrogen utilization efficiency genotype. 柱上不同小写字母表示同一基因型不同氮水平间在 $P \leqslant 0.05$ 水平上差异显著 Different letters above the bars indicate significant at $P \leqslant 0.05$ level among nitrogen levels; * 表示同一氮水平不同基因型间在 $P \leqslant 0.05$ 水平上差异显著 Indicates significant at $P \leqslant 0.05$ level between the two genotypes.]

氮积累量和氮素利用效率在此水平下差异较大,供氮水平为 20 mg/L 是水稻氮高效基因型氮效率的最佳胁迫浓度。

2.2　有机酸和氨基酸种类及其含量的变化

2.2.1 有机酸　有机酸为植物碳氮代谢的重要产物之一。由表 1 可知,两类基因型水稻根系分泌物中检测出草酸、丙二酸、乙酸和柠檬酸 4 种低分子量有机酸。相同供氮水平下,根系分泌物中有机酸均以草酸为主,其分泌量占有机酸总量的 80% 以上,其次是乙酸和柠檬酸; 高效基因型的草酸分泌量在分蘖期和拔节期均显著低于低效基因型,乙酸和柠檬酸分泌量则在拔节期低氮水平下显著低于低效基因型。不同供氮水平下,高效基因型的草酸分泌量在分蘖期和拔节期随着供氮水平的降低而下降,在 N10 处理分泌量最低; 乙酸和柠檬酸分泌量仅在拔节期随着供氮水平的降低明显下降,且均以 N20 处理分泌量最少。低效基因型的草酸、乙酸和柠檬酸分泌量随着供氮水平的变化与高效基因型趋势基本一致。可见,草酸是造成氮高效和低效基因型有机酸分泌量存在明显差异的主要因素,而乙酸和柠檬

酸主要在拔节期低氮条件下表现出明显差异。

由根系分泌物中有机酸总量的分析可知,高效基因型有机酸总量在分蘖期和拔节期随着供氮水平的降低显著下降,分蘖期在N10处理下有机酸总量最低,拔节期在N20处理最低,而低效基因型均在N10处理最低。同一供氮水平下,高效基因型的有机酸总量均显著低于低效基因型。分蘖期高效基因型的有机酸总量在N10、N20、N40、N60处理比低效基因型分别低25.2%、36.7%、43.8%、10.4%;拔节期分别低12.8%、94.4%、83.6%、64.1%。可见,两类基因型在N20处理差异较大。表明缺氮条件下水稻根系有机酸的分泌量减少,且高效基因型的有机酸总量相对较低,更有利于同化物质的积累。

表1 水稻氮高效基因型根系分泌有机酸种类及含量差异

Table 1 Differences of kinds and contents of organic acids in nitrogen efficiency rice genotypes

生育期 Growth stage	基因型 Genotype	品种 Cultivar	氮水平 Nitrogen level	有机酸含量 Organic acids content (mg/g,RDW)				
				草酸 Oxalic acid	丙二酸 Malonic acid	乙酸 Acetic acid	柠檬酸 Citric acid	总量 Total
分蘖期 Tillering stage	氮高效型 High NUE	美国谷 Meiguogu	N10	7.973 c*	0.167 b	0.497 a	0.270 a	8.907 c*
			N20	11.268 b*	0.260 ab	1.173 a*	0.320 a	13.019 b*
			N40	10.489 b*	0.366 a	0.765 a	0.467 a	12.086 b*
			N60	17.154 a*	0.152 b	0.736 a	0.233 a	18.274 a*
	氮低效型 Low NUE	IR32429	N10	10.987 c	0.197 a	0.481 a	0.245 a	11.909 b
			N20	20.551 ab	0.184 a	0.340 a	0.157 a	21.232 a
			N40	20.846 a	0.268 a	0.300 a	0.073 a	21.486 a
			N60	18.421 b	0.270 a	1.496 a	0.202 a	20.388 a
拔节期 Jointing stage	氮高效型 High NUE	美国谷 Meiguogu	N10	0.684 c*	0.070 a	0.283 b	0.093 b	1.130 c*
			N20	0.995 c*	0.022 a	0.055 c*	0.034 c*	1.106 c*
			N40	4.332 b*	0.018 a	0.358 ab*	0.087 b	4.793 b*
			N60	8.358 a*	—	0.456 a*	0.160 a	8.974 a*
	氮低效型 Low NUE	IR32429	N10	10.870 c	0.015 a	0.342 c	0.068 b	11.295 c
			N20	18.735 b	0.009 a	0.741 b	0.217 a	19.701 b
			N40	28.483 a	0.030 a	0.563 bc	0.090 ab	29.166 a
			N60	24.294 ab	—	1.217 a	0.194 a	25.704 a

注(Note): NUE—Nitrogen utilization efficiency; RDW—根干重 Root dry weight. 同列不同小写字母表示同一基因型不同氮水平间在 $P \leq 0.05$ 水平上差异显著 Different letters indicate significant at $P \leq 0.05$ level among nitrogen levels; * 表示同一氮水平不同基因型间在 $P \leq 0.05$ 水平上差异显著 Indicates significant at $P \leq 0.05$ level between the two genotypes. "—"表示未检出 Not detected.

2.2.2 氨基酸 植物根系分泌的氨基酸主要来源于体内的游离氨基酸,而游离氨基酸含量与氮素的再利用关系密切。从表2可以看出,两类基因型水稻根系分泌物中的氨基酸组分在分蘖期和拔节期主要有8种,且分泌量均随着供氮水平的下降而降低。相同供氮水平下,根系分泌物中氨基酸均以丙氨酸为主,其分泌量占总量的50%左右,其次是丝氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸和苏氨酸。其中,高效基因型天冬氨酸分泌量在分蘖期和拔节期均显著低于低效基因型(N10处理除外);丝氨酸和丙氨酸分泌量在分蘖期显著低于低效基因型,在拔节期差异不明显;甘氨酸和苯丙氨酸分泌量与低效基因型的差异在两个时期正好相反;而苏氨酸和谷氨酸分泌量在两个时期差异均不大。由此可见,两类基因型根系分泌氨基酸的差异分蘖期主要受天冬氨酸、丝氨酸和丙氨酸的影响,拔节期主要受天冬氨酸和苯丙氨酸的影响。

从根系分泌氨基酸的总量可知,不同供氮水平

表 2　水稻氮高效基因型根系分泌氨基酸种类及含量差异

Table 2　Differences of kinds and contents of amino acids in the nitrogen efficiency rice genotype

生育期 Growth stage	基因型 Genotype	品种 Cultivar	氮水平 Nitrogen level	氨基酸含量 Amino acids content (μg/g, RDW)												
				天冬氨酸 Aspartic acid	苏氨酸 Threonine acid	谷氨酸 Glutamic acid	丝氨酸 Serine acid	甘氨酸 Glycine acid	丙氨酸 Alanine acid	苯丙氨酸 Phenylalanine acid	酪氨酸 Tyrosine acid	精氨酸 Arginine acid	蛋氨酸 Methionine acid	异亮氨酸 Isoleucine acid	亮氨酸 Leucine acid	总量 Total
分蘖期 Tillering stage	氮高效型 High NUE	美国谷 Meiguogu	N10	13.74 b	7.76 c	29.15 b	21.41 b*	8.70 b	74.77 b*	12.80 b*	—	—	—	—	—	168.73 c*
			N20	15.96 a*	8.99 bc	29.57 b	23.78 b*	10.78 a	86.80 b*	—	—	—	—	—	—	175.63 c*
			N40	16.62 a*	10.08 b	30.08 b*	26.33 b*	10.96 a*	109.61 a*	21.58 a*	—	—	—	—	—	225.07 b*
			N60	13.54 b*	13.40 a	39.41 a	47.05 a	12.20 a*	109.86 a*	18.86 a*	17.78	—	—	—	—	272.09 a
	氮低效型 Low NUE	IR32429	N10	13.37 b	7.16 b	25.86 c	24.54 b	5.47 b	92.76 b	8.45 b	12.67 b	—	—	—	—	190.30 c
			N20	18.46 b	8.37 b	23.05 bc	38.43 a	10.23 a	110.13 b	—	12.74 b	—	—	—	—	260.98 bc
			N40	22.80 ab	10.54 a	45.19 a	39.40 a	13.74 a	129.05 ab	11.65 a	15.20 a	—	—	—	—	287.56 a
			N60	27.77 a	11.58 a	33.79 ab	40.11 a	16.03 a	149.72 a	13.00 a	16.36 a	—	—	—	—	268.76 ab
拔节期 Jointing stage	氮高效型 High NUE	美国谷 Meiguogu	N10	1.39 b	0.83 c	1.49 b	2.53 c	0.66 c	8.91 c	1.65 b*	—	—	—	—	—	17.45 d*
			N20	2.63 b*	1.36 bc	2.81b	4.25 bc	1.55 b*	9.17 c*	3.37 ab*	2.40 b	1.87 a	—	2.40 b	1.28 a	33.09 c*
			N40	6.24 a*	2.57 a	4.78 a	6.69 a	2.17 a*	17.49 a	3.52 ab*	5.13 a*	2.19 a	1.68 a*	5.13 a	1.48 a	59.06 a
			N60	4.18 ab*	1.86 ab	3.13 ab	4.85 ab*	2.56 a*	22.14 b	3.67 a*	2.17 b*	1.89 a	1.70 a*	2.17 b*	1.85 a	52.15 b*
	氮低效型 Low NUE	IR32429	N10	1.42 b	1.07 b	1.16 c	1.81 c	0.78 b	8.36 d	3.65 c	—	—	—	—	—	18.28 d
			N20	3.45 b	1.65 ab	3.20 b	4.64 b	0.75 b	18.63 b	5.85 b	—	3.52 a	—	—	—	41.68 c
			N40	7.12 a	1.39 b	3.80 ab	4.52 c	0.81 b	13.24 c	8.38 a	10.22 a	—	3.39 a	—	—	52.87 b
			N60	6.31 a	2.64 a	5.13 a	6.93 a	1.30 a	23.30 a	5.50 bc	4.15 b	1.98 b	5.05 a	4.15	—	66.06 a

注(Note):NUE—Nitrogen utilization efficiency; RDW—根干重 Root dry weight. 同列不同小写字母表示同一基因型不同氮水平间在 $P \leqslant 0.05$ 水平上差异显著 Different letters indicate significant at $P \leqslant 0.05$ level among nitrogen levels; "*"表示同一氮水平不同基因型间在 $P \leqslant 0.05$ 水平上差异显著 Indicates significant at $P \leqslant 0.05$ level between the two genotypes. "—"表示未检出 Not dected.

下,高效基因型氨基酸分泌总量在分蘖期和拔节期随着供氮水平的下降而降低,在N10处理分泌量最低,低效基因型也呈相同趋势。同一供氮水平下,高效基因型氨基酸分泌总量在两个时期的低氮水平下均显著低于低效基因型。分蘖期高效基因型分泌氨基酸总量在N10和N20处理比低效基因型分别低11.3%和16.0%;拔节期分别低4.5%和20.6%。因而,低氮条件下水稻根系氨基酸的分泌量减少,且高效基因型分泌量相对较低,这样可更有效地控制同化物质的流失。

2.3 有机酸和氨基酸各组分含量与氮素利用效率的关系

表3分析表明,水稻根系有机酸和氨基酸分泌总量在分蘖期和拔节期与氮素利用效率均呈显著或极显著负相关。在有机酸分泌组分中,分蘖期和拔节期草酸分泌量与氮素利用效率呈显著或极显著负相关;在氨基酸分泌组分中,分蘖期天冬氨酸、丝氨酸和甘氨酸分泌量与氮素利用效率均呈显著或极显著负相关;拔节期天冬氨酸、苯丙氨酸和蛋氨酸分泌量与氮素利用效率均呈显著或极显著负相关。因此说明,水稻根系分泌的有机酸和氨基酸影响植株对氮素的吸收利用。

表3 水稻根系分泌有机酸和氨基酸组分与氮素利用率的关系

Table 3 Relationship between organic and amino acids and nitrogen utilization efficiency of rice

有机酸和氨基酸 Organic and amino acids		相关系数 Correlation coefficient	
		分蘖期 Tillering stage	拔节期 Jointing stage
有机酸 Organic acid	草酸 Oxalic acid	-0.780*	-0.874**
	丙二酸 Malonic acid	-0.498	0.640
	乙酸 Acetic acid	-0.275	-0.632
	柠檬酸 Citric acid	0.298	-0.385
	有机酸总量 Total organic acids	-0.820*	-0.870**
氨基酸 Amino acid	天冬氨酸 Aspartic acid	-0.751*	-0.823**
	苏氨酸 Threonine acid	-0.690	-0.509
	谷氨酸 Glutamic acid	-0.605	-0.672
	丝氨酸 Serine acid	-0.725*	-0.303
	甘氨酸 Glycine acid	-0.840**	-0.119
	丙氨酸 Alanine acid	-0.693	-0.610
	苯丙氨酸 Phenylalanine acid	-0.220	-0.910**
	酪氨酸 Tyrosine acid	-0.532	-0.693
	精氨酸 Arginine acid		-0.238
	蛋氨酸 Methionine acid		-0.716*
	异亮氨酸 Isoleucine acid		-0.145
	亮氨酸 Leucine acid		0.081
	氨基酸总量 Total amino acids	-0.885**	-0.755*

注(Note):* 和 ** 分别表示显著和极显著相关 Indicate significant correlation and extremely significant correlation, respectively.

3 讨论

3.1 不同供氮水平对水稻氮高效基因型根系分泌物中有机酸和氨基酸种类及含量的影响

矿质营养缺乏不仅会改变植物根系分泌物的总量,而且会影响根系分泌物的组成及比例。已有研究表明,缺氮抑制了水稻有机酸的分泌[7];缺钾降低了水稻根系分泌的柠檬酸浓度,缺钙则显著降低了草酸浓度[23]。本研究也得到了类似的结果,水稻氮高效基因型有机酸分泌量在低氮条件下明显下

降，特别是草酸浓度，其次是乙酸和柠檬酸。有机酸在植物组织中积累较多，其中一个重要的作用是它们参与了植物阴离子平衡[24]。硝态氮作为植物吸收无机氮的主要形态之一，一旦进入细胞内部就会被转化为铵根离子，而铵根离子再参与氨基酸的生物合成。植物细胞吸收 1 个 NO_3^-，会协同吸收 2 个 H^+，为了维持细胞内的 pH 平衡，植物一般通过呼吸作用不断地向细胞外排放 H^+，或者通过分泌作用向外界释放酸性物质[25-26]。在有机酸组分中，草酸是最简单的二元羧酸，酸性较强，其次是乙酸。而缺氮条件下水稻氮高效基因型可吸收利用的 NO_3^- 相对较少，从而向环境中释放的有机酸浓度相对较低；相反，高氮条件下向环境中释放的有机酸浓度较高，尤其是草酸。

养分缺乏也会导致植物根系分泌氨基酸种类和含量的变化。缺磷条件下水稻根系氨基酸分泌量明显增加[6]；缺钾条件下籽粒苋富钾基因型根系分泌氨基酸种类明显多于一般基因型[11]。本研究表明，水稻氮高效基因型在缺氮条件下氨基酸分泌种类较少，且分泌总量和各组分分泌量较高氮条件低。水稻根系分泌的氨基酸主要来源于植物体内游离氨基酸，而游离氨基酸含量与经济器官中的氮含量关系密切，影响氮素在体内的转移及再利用[27]。因而，根系氨基酸的分泌必然会影响水稻氮素的再利用。水稻氮高效基因型在缺氮条件下根系分泌的有机酸和氨基酸浓度较低，可能与低氮条件下具有较高的氮素利用率有关。

3.2　水稻根系分泌物中有机酸和氨基酸种类及含量与氮素吸收利用的关系

根系分泌物可以作为植物营养效率基因型差异的重要标记物，植株在一定营养胁迫条件下可以通过调节根系分泌物的组成来改变根际状态以适应外界环境，而这些植物一般都具有较高的养分利用效率[28]。据报道，籽粒苋富钾基因型根系分泌物中氨基酸和有机酸含量始终大于一般基因型[12]。本研究表明，同一供氮水平下，水稻不同氮效率基因型根系分泌有机酸和氨基酸总量存在较大差异。

在分蘖期和拔节期，氮高效基因型有机酸总量始终小于低效基因型，这种差异主要受草酸分泌量的影响，其次是乙酸；两类基因型氨基酸总量的差异小于有机酸，且总体趋势也是氮高效基因型小于低效基因型，这种差异分蘖期主要受天冬氨酸、丝氨酸和丙氨酸分泌量的影响，拔节期主要受天冬氨酸和苯丙氨酸分泌量的影响。说明水稻氮高效基因型可能通过启动某种调控机制，既能适应环境，又能控制同化物质的流失，保证氮素的高效利用。

有机酸作为碳、氮代谢的偶联纽带，而氨基酸又是氮同化的初级产物，通过分泌作用向环境排放这两种物质必然影响氮素的吸收利用。近年来，常二华等[6-7]通过水培的方法观察了水稻结实期根系分泌物与植株氮素吸收利用的关系，发现稻株中氮的累积量与根系分泌有机酸和氨基酸含量呈显著正相关。本研究也得到了类似的结果，即随着供氮水平的降低，水稻根系分泌有机酸和氨基酸总量均明显下降，与之相应的是植株体内氮积累量明显下降。然而相关性分析表明，水稻氮素利用效率与有机酸和氨基酸分泌总量、有机酸组分中的草酸和氨基酸组分中的天冬氨酸均呈显著或极显著的负相关，即控制有机酸（特别是草酸）和氨基酸（特别是天冬氨酸）的分泌，有利于氮素利用效率的提高。水稻氮高效基因型根系有机酸和氨基酸分泌量较低效基因型低，有效地控制了同化物质的流失，这可能是其氮高效的机理之一。

4　结论

1）外界氮浓度过低会影响水稻对氮素的吸收，浓度过高又不利于氮素利用效率的提高。在低氮水平（N20）下，水稻氮高效基因型具有较高的氮积累量，且分蘖期和拔节期氮素利用效率较低效基因型高 42.9% 和 21.4%，即低氮水平下更能体现氮高效基因型氮效率优势。

2）水稻氮高效基因型根系分泌的有机酸主要是草酸，其分泌量占有机酸总量的 80% 以上，其次是乙酸和柠檬酸；氨基酸以丙氨酸为主，其分泌量占氨基酸总量的 50% 以上，其次是丝氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸和苏氨酸。有机酸和氨基酸过多地分泌不利于氮素利用效率的提高。在分蘖期和拔节期，高效基因型有机酸和氨基酸分泌总量随供氮水平的降低而降低，且分泌总量均低于低效基因型，并在低氮水平下差异明显。

3）水稻根系分泌有机酸和氨基酸与氮素利用效率关系密切，控制有机酸（特别是草酸）和氨基酸（特别是天冬氨酸）的分泌，有利于氮素利用效率的提高。

参 考 文 献：

[1]　杨建昌. 水稻根系形态生理与产量，品质形成及养分吸收利用的关系[J]. 中国农业科学，2011，44(1)：36-46.

Yang J C. Relationships of rice root morphology and physiology with the formation of grain yield and quality and the nutrient absorption and utilization[J]. Sci. Agric. Sin., 2011, 44(1): 36-46.

[2] 常二华,杨建昌. 根系分泌物及其在植物生长中的作用[J]. 耕作与栽培, 2006, (5): 13-16.
Chang E H, Yang J C. Root exudates and its function in plant growth[J]. J. Till. Cultiv., 2006, (5): 13-16.

[3] Lynch J M, Whipps J M. Substrate flow in the rhizosphere[J]. Plant Soil. 1990, 129(1): 1-10.

[4] Liu B, Wu F Z, Yang Y, Wang Z X. Amino acids in watermelon root exudates and their effect on growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. nevium[J]. Allelopathy J., 2009, 23(1): 139-148.

[5] 韩晓增, 乔云发, 严君, 李晓慧. 缺磷条件下低分子量有机酸对大豆氮积累和结瘤固氮的影响[J]. 应用生态学报, 2009, 20(5): 1079-1084.
Han X Z, Qiao Y F, Yan J, Li X H. Effects of low molecular organic acids on nitrogen accumulation, nodulation, and nitrogen fixation of soybean (*Glycine max* L.) under phosphorus deficiency stress[J]. Chin. J. Appl. Ecol., 2009, 20(5): 1079-1084.

[6] 常二华, 张耗, 张慎凤, 等. 结实期氮磷营养水平对水稻根系分泌物的影响及其与稻米品质的关系[J]. 作物学报, 2007, 33(12): 1949-1959.
Chang E H, Zhang H, Zhang S F *et al*. Effects of nitrogen and phosphorus on the root exudates during grain filling and their relations with grain quality of rice[J]. Acta Agron. Sin., 2007, 33(12): 1949-1959.

[7] 常二华, 张慎凤, 王志琴, 等. 结实期氮磷营养水平对水稻根系和籽粒氨基酸含量的影响[J]. 作物学报, 2008, 34(4): 612-618.
Chang E H, Zhang S F, Wang Z Q *et al*. Effect of nitrogen and phosphorus on the amino acids in root exudates and grains of rice during grain filling[J]. Acta Agron. Sin., 2008, 34(4): 612-618.

[8] 雍太文, 陈小容, 杨文钰, 等. 小麦/玉米/大豆三熟套作体系中小麦根系分泌特性及氮素吸收研究[J]. 作物学报, 2010, 36(3): 477-485.
Yong T W, Cheng X R, Yang W Y *et al*. Root exudates and nitrogen uptake of wheat in wheat/maize/soybean relay cropping system[J]. Acta Agron. Sin., 2010, 36(3): 477-485.

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

[10] 周明, 涂书新, 孙锦荷, 等. 富钾植物籽粒苋(*Amaranthus* spp.)对土壤矿物钾的吸收利用研究[J]. 核农学报, 2005, 19(4): 291-296.
Zhou M, Tu S X, Sun J H *et al*. Uptake of potassium in soil and mineral by grain amaranth (*Amaranthus* spp.)[J]. Acta Agric. Nucl. Sin., 2005, 19(4): 291-296.

[11] 李廷轩, 马国瑞, 张锡洲. 富钾基因型籽粒苋主要根系分泌物及其对土壤矿物态钾的活化作用[J]. 应用生态学报, 2006, 17(3): 368-372.
Li T X, Ma G R, Zhang X Z *et al*. Root exudates of potassium-enrichment genotype grain amaranth and their activation on soil mineral potassium[J]. Chin. J. Appl. Ecol., 2006, 17(3): 368-372.

[12] 李廷轩, 马国瑞, 张锡洲, 王昌全. 籽粒苋不同富钾基因型根系分泌物中有机酸和氨基酸的变化特点[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(5): 647-653.
Li T X, Ma G R, Zhang X Z, Wang C Q. Change characteristics of organic acid and amino acid in root exudates in different grain amaranth genotypes[J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 2005, 11(5): 647-653.

[13] 黄爱缨, 代先祝, 王三根, 蔡一林. 低磷胁迫对玉米自交系苗期根系分泌有机酸的影响[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2008, 30(4): 73-77.
Huang A Y, Dai X Z, Wang S G, Cai Y L. Effect of low-phosphorus stress on root exudation of maize inbred lines at the seedling stage[J]. J. Southwest Univ. (Nat. Sci. Ed.), 2008, 30(4): 73-77.

[14] Shi W M, Chino M, Youssef R A *et al*. The occurrence of mugineic acid in the rhizosphere soil of barley plant[J]. Soil Sci. Plant Nutr., 1988, 34(4): 585-592.

[15] 汪洪, 高翔, 陈磊, 等. 硝态氮供应下植物侧根生长发育的响应机制[J]. 植物营养与肥料学报, 2011, 17(4): 1005-1011.
Wang H, Gao X, Chen L *et al*. The mechanisms underlying plant lateral root development in response to nitrate[J]. Plant Nutr. Fert. Sci, 2011, 17(4): 1005-1011.

[16] Ji L, Zhang X Z, Li T X, Yu H Y. Root morphological characteristics of nitrogen efficiency genotype[A]. International conference on cellular, molecular biology, biophysics and bioengineering[C]. Qiqihar, China: IEEE., 2010. 224-232.

[17] Zhang H, Xue Y, Wang Z *et al*. Morphological and physiological traits of roots and their relationships with shoot growth in "super" rice[J]. Field Crops Res., 2009, 113(1): 31-40.

[18] 闫德智, 王德建, 林静慧. 太湖地区氮肥用量对土壤供氮、水稻吸氮和地下水的影响[J]. 土壤学报, 2005, 42(3): 440-446.
Yan D Z, Wang D J, Lin J H. Effects of fertilizer-N application rate on soil N supply, rice N uptake and ground water in Taihu region[J]. Acta Pedol. Sin., 2005, 42 (3): 440-446.

[19] 程建峰, 蒋海燕, 刘宜柏, 等. 氮高效水稻基因型鉴定与筛选方法的研究[J]. 中国水稻科学, 2010, 24(2): 175-182.
Cheng J F, Jiang H Y, Liu Y B *et al*. Methods for indentification and screening of rice genotypes with high nitrogen efficiency[J]. Chin. J. Rice Sci., 2010, 24(2): 175-182.

[20] 戢林. 水稻氮高效基因型筛选及其生理机制研究[D]. 成都: 四川农业大学硕士学位论文, 2010.
Ji L. Study on screening for rice with high nitrogen efficiency and its physiological mechanism[D]. Chengdu: MS thesis, Sichuan Agricultural University, 2010.

[21] 李素梅, 施卫明. 不同氮形态对两种基因型水稻根系形态及氮吸收效率的影响[J]. 土壤, 2007, 39(4): 589-593.

Li S M, Shi W M. Effect of nitrogen form on root morphology and nitrogen absorption efficiency of two cultivars of rice[J]. Soils, 2007, 39(4): 589-593.

[22] Balihar V C, Fageria N K, Li H Z. Nutrient utilization efficiency of crops[J]. Comm. Soil Sci. Plant Anal., 2001, 32: 921-950.

[23] 刘立军，常二华，范苗苗，等. 结实期钾，钙对水稻根系分泌物与稻米品质的影响[J]. 作物学报，2011，37(4)：661-669.
Liu L J, Chang E H, Fang M M *et al*. Effects of potassium and calcium on root exudates and grain quality during grain filling [J]. Acta Agron. Sin., 2011, 37(4): 661-669.

[24] 汪建飞，沈其荣. 有机酸代谢在植物适应养分和铝毒胁迫中的作用[J]. 应用生态学报，2006，17(11)：2210-2216.
Wang J F, Shen Q R. Roles of organic acid metabolism in plant adaptation to nutrient deficiency and aluminum toxicity stress [J]. Chin. J. Appl. Ecol., 2006, 17(11): 2210-2216.

[25] 印莉萍，黄勤妮，吴平. 植物营养分子生物学及信号转导[M]. 北京：科学出版社，2006. 1-8.
Yin L P, Huang Q N, Wu P. Plant nutrition molecular biology and signal transduction[M]. Beijing: Science Press, 2006. 1-8.

[26] Buchanan B B, Gruissem W, Jones R L. Biochemistry and molecular biology of plants [M]. Rockville, Maryland: American Society of Plant Physiologists, 2000. 815-824.

[27] Barneix A J. Physiology and biochemistry of source-regulated protein accumulation in the wheat grain[J]. J. Plant Physiol., 2007, 164(5): 581-590.

[28] 张锡洲，李廷轩，王永东. 植物生长环境与根系分泌物的关系[J]. 土壤通报，2007，38(4)：786-789.
Zhang X Z, Li T X, Wang Y D. Relationship between growth environment and root exudates of plants: a review[J]. Chin. J. Soil Sci., 2007, 38(4): 786-789.

欢迎订阅 2013 年《农产品质量与安全》

主管　中华人民共和国农业部　　**主办**　中国农业科学院
支持单位　农业部农产品质量安全监管局
协办单位　农业部农产品质量安全中心 中国绿色食品发展中心
承办单位　中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所

主要栏目：本刊特稿、本刊专稿、政策法规、质量安全监管、无公害农产品、绿色食品、有机农产品、农产品地理标志、农业标准化、检验检测、学科建设与发展、研究与探讨、安全生产技术、地方经验交流、海外博览、农业标准公告、市场信息与动态等。

读者对象：与农产品质量安全、农业质量标准和检验检测有关的各级行政管理、科研教学、检验监测、技术推广、生产企业等部门的相关人员。

本刊为双月刊，逢双月 10 日出版。大 16 开本，彩色四封，80 页。全国各地邮局（所）均可订阅，也可直接到本刊编辑部办理订阅手续。邮发代号：82-223。每册定价 10.00 元，全年共 60.00 元。

通讯地址：北京市中关村南大街 12 号中国农科院质标所《农产品质量与安全》编辑部，邮政编码：100081。

联系电话/传真：（010）82106522、82106521　　E-mail：aqs@caas.net.cn

欢迎各界朋友订阅、赐稿和刊登广告