

施氮量对间作小麦蚕豆根系分泌槲皮素和橙皮素的影响

刘英超¹, 肖靖秀¹, 汤利¹, 郑毅^{1,2}

(¹云南农业大学资源与环境学院, 昆明 650201; ²云南省教育厅, 昆明 650223)

摘要:【目的】系统探讨间作条件下, 不同施氮水平不同生育期小麦和蚕豆根系分泌槲皮素和橙皮素的动态变化及累积特征, 为进一步探明间作增产控病机制提供依据。【方法】通过盆栽试验, 采用小麦与蚕豆根系尼龙分隔 (MB) 和塑料分隔 (PB) 两种间作种植模式, 测定间作小麦蚕豆不同氮水平 (低氮 1/2N: 常规施氮量的一半; 常规施氮 N; 高氮 3/2N: 常规施氮量的 1.5 倍) 条件下, 不同生育期根系分泌槲皮素和橙皮素数量。【结果】施氮水平和间作体系根系不同分隔方式影响作物生物量和根冠比。随着施氮量增加, 小麦和蚕豆生物量增加 45%—62.5% 和 3.2%—18.9%, 根冠比降低 33.8%—47.3% 和 11.8%—26.9%; 与塑料分隔相比, 相同施氮水平条件下, 作物生长 60 d 时, 尼龙分隔小麦和蚕豆生物量分别提高 4.2%—25%、19%—38.6%, 随生长天数增加差异逐渐不显著。间作根系不同分隔方式和施氮量均能影响小麦蚕豆根系槲皮素和橙皮素的分泌量。随施氮量增加, 小麦蚕豆槲皮素和橙皮素分泌量减少, 与低氮条件相比, 常规施氮和高氮条件下, 小麦槲皮素分泌量减少了 23.4% 和 62.3%, 橙皮素分泌量减少了 32.2% 和 64.5%; 蚕豆槲皮素分泌量减少了 35.4% 和 44.1%, 橙皮素减少了 11.9% 和 23.9%。相同氮水平条件下, 尼龙分隔小麦蚕豆槲皮素和橙皮素分泌量高于塑料分隔, 低氮和常规施氮条件下, 尼龙分隔小麦槲皮素的分泌量分别高于塑料分隔 15.3% 和 27.1%, 橙皮素的分泌量分别高于塑料分隔 21% 和 13.7%; 蚕豆根系尼龙分隔槲皮素分泌量高于塑料分隔 34.6% 和 56.6%, 橙皮素高于塑料分隔 16.9% 和 5.1%; 高氮条件下两种根系分隔方式之间差异不显著。【结论】间作根系不同分隔方式影响小麦和蚕豆根系槲皮素和橙皮素的分泌, 但这种影响受施氮水平的调控, 低氮和常规施氮条件下, 尼龙分隔小麦和蚕豆根系槲皮素和橙皮素分泌量高于塑料分隔, 高氮条件下差异不显著。

关键词: 普通小麦; 蚕豆; 间作; 施氮; 槲皮素; 橙皮素

Effect of Nitrogen Application Rates on Quercetin and Hesperetin Exuded by Roots in Wheat and Faba Bean Intercropping System

LIU YingChao¹, XIAO JingXiu¹, TANG Li¹, ZHENG Yi^{1,2}

(¹College of Resources and Environmental Science, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201; ²Yunnan Provincial Department of Education, Kunming 650223)

Abstract: 【Objective】The dynamic changes and accumulation characteristics of quercetin and hesperetin at different nitrogen levels and different growth stages of wheat and faba bean intercropping system in order to provide a basis for further investigation of the mechanism of increasing yield and controlling diseases. 【Method】 In a pot experiment, mesh barrier (MB) and, polythene barrier (PB) were used to determine the secretion amount of quercetin and hesperetin exuded by roots of wheat and faba bean at different nitrogen levels (1/2N : Half of the normal application rate; N: Conventional application rate; 3/2N: 1.5 times rate of the normal application rate) in intercropping system.【Result】N levels and root separations affected biomass and root-shoot ratio of crops in wheat and faba bean intercropping system. With the increase of nitrogen application, the biomass of wheat and faba bean increased by 45%-62.5% and 3.2%-18.9%, and the root-shoot ratio decreased by 33.8%-47.3% and 11.8%-26.9%, respectively; Compared with

收稿日期: 2016-12-07; 接受日期: 2017-03-20

基金项目: 国家自然科学基金 (31460551、31260504)

联系方式: 刘英超, E-mail: liuyingchao_1988@163.com. 通信作者郑毅, Tel: 0871-65166002; E-mail: zhengyi-64@163.com

the plastic separation, the biomass of nylon separated wheat and faba bean increased by 4.2%-25% and 19%-38.6% at the same nitrogen levels at 60 d. With the growth stages, the differences were not significant. Root separation and nitrogen levels affected quercetin and hesperetin exuded by roots of wheat and faba bean in intercropping system. With the increase of nitrogen application, the secretion amount of quercetin and hesperetin were decreased, compared with low nitrogen conditions, under conventional nitrogen application rate and high nitrogen application rate, quercetin exuded by wheat root decreased by 23.4% and 62.3%, hesperetin decreased by 32.2% and 64.5%, quercetin exuded by faba bean root decreased by 35.4% and 44.1%, hesperetin decreased by 11.9% and 23.9%. At the same nitrogen level, quercetin and hesperetin exuded by nylon separated roots of wheat and faba bean were higher than that of plastic partition. Under the condition of low nitrogen and conventional nitrogen application rates, the secretion of quercetin in nylon-separated wheat root were higher 15.3% and 27.1% than that in plastic, the secretion of hesperetin in nylon-separated wheat root were higher 21% and 13.7% than that in plastic; the quercetin secreted by nylon-separated faba bean were higher 34.6% and 56.6% than that of plastic, hesperetin was higher than plastic separated by 16.9% and 5.1%; there was no significant difference between the two root systems under high nitrogen condition. 【Conclusion】 Root separation affected quercetin and hesperetin secretion amount exuded by wheat and faba bean roots, but this effect was controlled by nitrogen application levels, under the conditions of low nitrogen and conventional nitrogen application rates, quercetin and hesperetin that exuded by nylon-separated root in wheat and faba bean intercropping were higher than that of plastic partition, the difference was not significant under high nitrogen condition.

Key words: common wheat; faba bean; intercropping; nitrogen application; quercetin; hesperetin

0 引言

【研究意义】植物根系是植物体的吸收器官和代谢器官, 它对于外界环境条件反应非常敏感^[1]。随着研究手段的不断深入, 人们逐步认识到植物根系及其分泌物在作物高产及农业生产中具有十分重要的作用^[2-3]。因此, 根系分泌物的研究一直是人们关注的热点。【前人研究进展】近年来, 根系分泌物的变化在轮作、间作等种植体系中的作用备受关注。黄酮类根系分泌物作为被根瘤菌感知的初始信号, 在豆科作物结瘤过程中起关键作用^[4]。关于豆科植物根系分泌黄酮类物质, 国内外已经开展了大量研究, 这些研究主要集中在单作大豆、苜蓿、豌豆和木豆上, 并且在这些豆科作物根系分泌物中先后发现了柑桔素、圣草酚、芹菜素、毛地黄黄酮、槲皮黄酮等黄酮类物质^[5-8]。而有关蚕豆根系分泌物中黄酮类分泌物的种类研究不多, 最近在蚕豆根系分泌物中也发现了槲皮黄酮和橙皮素等黄酮类物质^[9]。但这些黄酮类物质的发现均是在单作条件下的研究结果, 间作种植尤其不同施氮水平下对黄酮类物质分泌的影响并不清楚。【本研究切入点】小麦蚕豆间作是云南乃至西南地区重要的间作种植模式, 其具有显著的增产^[10-12]、控病优势^[13], 是农民增产增收的重要手段之一^[14]。前人大量的研究已经明确了小麦蚕豆间作系统中养分的吸收利用规律^[15-16]、病害发生规律^[17]、根际微生物的动态变化特征^[18], 但是不同施氮水平下, 间作对小麦蚕豆根系分泌槲皮素和橙皮素的影响尚不清楚。【拟解决的关键问题】本研

究以小麦蚕豆间作为研究对象, 通过建立高效液相色谱 (HPLC) 分析技术, 结合前人在小麦蚕豆根系分泌物研究的已有结果, 系统探讨不同氮水平条件下, 不同生育期间作小麦和蚕豆槲皮素和橙皮素的动态变化及累积特征, 明确槲皮素和橙皮素在间作系统中的作用, 为进一步探明间作增产机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

盆栽试验于 2014 年 10 月至 2015 年 5 月在云南农业大学植物营养系温室内完成, 种植土取自云南农业大学后山红壤, 基本理化性质为有机质 28.07 g·kg⁻¹, 碱解氮 68 mg·kg⁻¹, 速效磷 16 mg·kg⁻¹, 速效钾 137 mg·kg⁻¹, pH 6.08。试验所用盆钵大小为 238 mm×320 mm。土壤磨碎过 5 mm 筛子, 混匀, 每盆装土 10 kg, 装盆时基肥与土混匀。作物供试品种: 小麦为云麦 42 (*Triticum aestivum* L. cv. Yunmai 42); 蚕豆为玉溪大粒豆 (*Vicia faba* L. cv. yuxi bean), 种子购于云南省农业科学研究院粮食作物研究所。

1.2 试验设计

小麦蚕豆间作试验采用土培模式完成。试验设计为两因素试验, A 为种植方式, 设小麦蚕豆尼龙分隔 (mesh barrier, MB, 尼龙网孔径为 300 目), 小麦蚕豆塑料分隔 (Polythene Barrier, PB) 两种种植方式; B 为氮肥施用水平, 设低氮 (1/2N, 即推荐施氮量的一半), 推荐施氮 (N) 和高氮 (3/2N, 即推荐施氮量的 1.5 倍) 3 种氮素供应水平。盆栽试验所用氮肥品

种为尿素,正常施肥用量为 $150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土;磷肥品种为过磷酸钙,施用量为 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土;钾肥为硫酸钾,施用量 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土。磷钾肥全部作为基肥一次性施入;氮肥 1/2 为基肥,1/2 为追肥,并于小麦拔节期追施。氮肥追施时仅施用于间作处理的小麦一侧,蚕豆均不施用追肥。试验共计 6 个处理,每个处理 4 次重复,采样 3 次,共计 72 盆。

1.3 幼苗培养与样品收集

种子在发芽前用自来水浮选去除瘪粒,挑选大小、饱满度一致,种皮完整的小麦蚕豆种子,用 10% 的 H_2O_2 浸泡 30 min,用去离子水清洗干净;用饱和 CaSO_4 溶液浸润 $30 \text{ cm}\times 20 \text{ cm}$ 滤纸,将种子(小粒)分布于湿润滤纸上(滤纸卷成筒状),用不透光的黑塑料布遮盖,在 $20\text{--}25^\circ\text{C}$ 下放置发芽。发芽后于 2014 年 10 月 18 日进行种植,每盆 6 株蚕豆、12 株小麦,分成两行种植。

分别于 2014 年 12 月 20 日,2015 年 1 月 24 日,2015 年 3 月 1 日(蚕豆出苗后 60、95、131 d)收取根系分泌物(破坏性取样),测定作物生物量,并烘干后称重。根系分泌物收集方法:将植株从试验盆中取出,先用自来水反复冲洗植株根,后用蒸馏水冲洗 3 次,冲洗后放入 5% 浓度百里酚溶液中浸泡 3 min,取出后放入装有 500 mL CaCl_2 溶液的收集袋中,将袋子放入原生长容器中;根系没入收集液液面开始计时,收集时间为 2 h,2 h 后将植株取出,在收集液中滴加 2—3 滴微生物抑制剂,迅速放入 -20°C 冰箱冷冻、保存待测^[19-20]。测定时,从冰箱取出离心管解冻、过膜($0.22 \mu\text{m}$)等处理。将植株样品分为根茎叶称鲜重后烘干杀青,烘干后称重。

1.4 样品处理与测定

将收集的根系分泌物解冻后用滤纸过滤,分别用 200、100、50 mL 乙酸乙酯萃取过滤液 3 次,3 次萃取液混匀后倒入旋转蒸发仪中蒸发浓缩,浓缩液用甲醇冲洗并定容至 10 mL 备用。将准备好的 10 mL 样品过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜后放入 HPLC 中,采用外标法测定槲皮素和橙皮素的含量(标准品购自中国药物研究所,产地为德国)。

槲皮素与橙皮素测定所用的色谱条件为色谱柱 Synergi 4u Hydro-RP 80A ($250\times 4.6 \text{ mm ID}$),测定流动相:30%—40% 5 min;40%—60% 5 min;60%—90% 15 min;90% 4 min;90%—30% 5 min;30% 3 min。测定条件:流速 $0.9 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 、柱温 30°C 、检测波长 270 nm,进样量为 $10 \mu\text{L}$,分析时间 37 min。在选定

的色谱条件下,得到槲皮素($10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、橙皮素($10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的混合标准品及待测样品的色谱图(图 1)。槲皮素与橙皮素的检测限均为 $0.01 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

1.5 数据处理与分析

采用 Microsoft Excel 2003 软件对数据进行处理和绘图,采用 SPSS 17.0 统计分析软件对数据进行差异显著性检验(LSD 法, $\alpha=0.05$)。

2 结果

2.1 根系分隔方式对不同氮水平作物生物量和根冠比的影响

由表 1 可以看出,小麦蚕豆的生物量随施氮量的增加而增加,随生育期的推移增加量逐渐减小。作物生长 60 d 时,与低氮条件相比,常规施氮和高氮条件下小麦生物量 45%—62.5%,蚕豆生物量增加 3.2%—18.9%。这主要是由于养分供应充足环境下,作物生长迅速,伴随着作物的生长和成熟,生物量增加缓慢。不同种植方式对作物的生物量也有明显影响。相同氮水平条件下,尼龙分隔的作物生物量高于塑料分隔,这种差异随生长时间变化逐渐不显著。作物生长 60 d 时,不同施氮量尼龙分隔小麦蚕豆生物量分别比塑料分隔高 4.2%—25%、19%—38.6%。这说明根系的不同交互程度对小麦蚕豆生物量有影响。

小麦和蚕豆根冠比随施氮量增加而减小,这种差异到作物生长后期逐渐不显著。作物生长 60 d 时,低氮和常规施氮条件下小麦根冠比分别比高氮提高 47.3%和 33.8%,蚕豆分别比高氮提高 26.9%和 11.8%。同一生育期内相同氮水平条件下,与塑料分隔相比,除分蘖期(60 d)尼龙分隔小麦根冠比提高 12%外,其他生育期没有明显差异。这说明相比于氮肥施用水平,作物种植方式对根冠比的影响较小。

2.2 根系分隔方式对不同氮水平下小麦分泌槲皮素和橙皮素的影响

表 2 反映了不同处理小麦槲皮素与橙皮素的含量变化。从表 2 可以看出,随着生育期的推移,小麦(尼龙和塑料分隔)槲皮素呈现出先增加后减少的趋势。到作物生长 95 d 时,槲皮素分泌量达到最大值。这主要是由于在小麦旺盛生长期,根系活力最强、生物量最大,根系槲皮素分泌能力最强^[21]。伴随着小麦根系的衰老、籽粒的成熟,根系槲皮素分泌量迅速下降。从表 2 还可以看出,氮肥施用量和根系分隔方式对小麦根系槲皮素的分泌量均有影响。同一生育期内,随着施氮量的增加,小麦根系槲皮素分泌量减少,与常

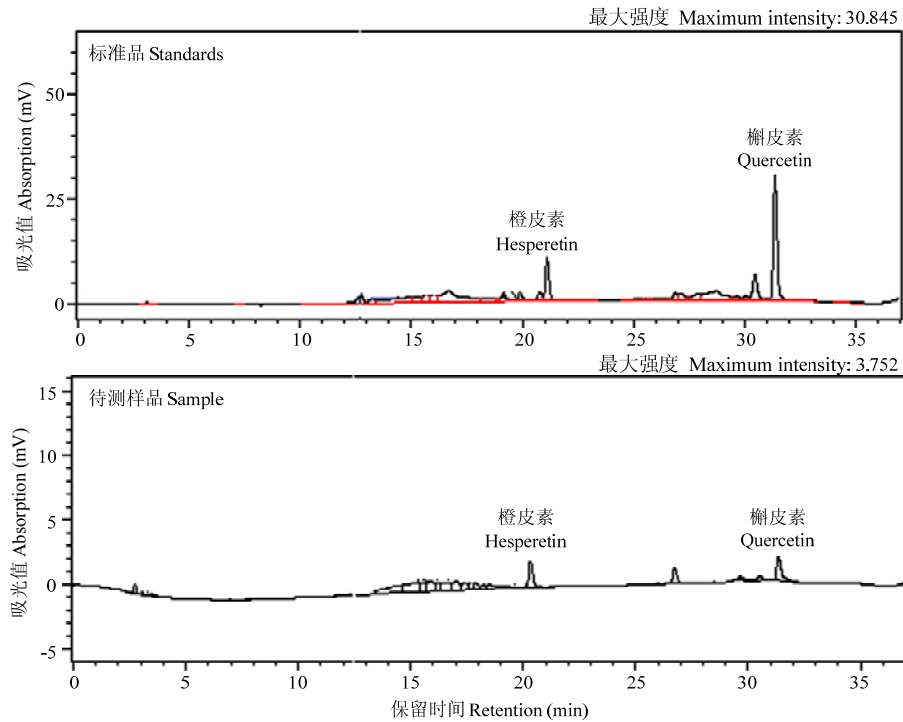


图 1 槲皮素与橙皮素色谱图

Fig. 1 Chromatograms of quercetin and hesperetin

表 1 小麦蚕豆生物量与根冠比

Table 1 Biomass and root-shoot ratio of wheat and faba bean

作物 Plant	指标 Index	氮水平 Nitrogen level	60 d			95 d			131 d		
			MB	PB	平均 Mean	MB	PB	平均 Mean	MB	PB	平均 Mean
小麦 Wheat	生物量 Biomass (g/plant)	1/2 N	0.20a	0.16a	0.18A	1.11a	1.07a	1.09A	6.44a	7.95a	7.2A
		N	0.25b	0.24b	0.25B	1.31b	1.24b	1.28B	8.55b	8.21b	8.38B
		3/2N	0.29b	0.26b	0.28B	1.32b	1.14b	1.23B	9.02c	8.58c	8.8B
		平均 Mean	0.25A	0.22B		1.25A	1.15B		8.0A	8.25A	
	根冠比 Root-shoot ratio	1/2N	0.47a	0.51a	0.49A	0.42a	0.42a	0.42A	0.39a	0.59a	0.49A
蚕豆 Faba bean	生物量 Biomass (g/plant)	N	0.43a	0.46a	0.45A	0.39ab	0.41a	0.40A	0.40a	0.34b	0.37B
		3/2N	0.30b	0.37b	0.34B	0.37b	0.30b	0.34B	0.22b	0.28b	0.25C
		平均 Mean	0.4A	0.45B		0.39A	0.38A		0.34A	0.40A	
		根冠比 Root-shoot ratio	1/2N	0.43a	0.42a	0.43A	0.45a	0.45a	0.45A	0.39a	0.28a
	根冠比 Root-shoot ratio	N	0.34b	0.41a	0.38B	0.46a	0.44a	0.45A	0.38a	0.31a	0.35A
3/2N		0.33b	0.34b	0.34C	0.38b	0.49a	0.44A	0.30a	0.33a	0.32B	
平均 Mean		0.37A	0.39A		0.43A	0.46A		0.36A	0.31A		

Mean 表示相同氮水平不同种植模式的平均值或相同种植模式不同氮水平的平均值；除平均值外，不同字母表示同一生育期同一分隔方式下不同氮水平内差异间显著。下同

Mean means the average value of same nitrogen levels in different cropping patterns or the average nitrogen levels of the same cropping patterns; different letters means significant differences in the same separation manner at the same growth stages expect mean values. The same as below

表 2 尼龙分隔和塑料分隔小麦根系槲皮素和橙皮素的分泌量

Table 2 Contents of quercetin and hesperetin secreted by nylon and plastic separated root of wheat

类别 Type	氮水平 Nitrogen level	60 d			95 d			131 d		
		MB	PB	平均 Mean	MB	PB	平均 Mean	MB	PB	平均 Mean
槲皮素 Quercetin (ng·plant ⁻¹ ·h ⁻¹)	1/2N	114.6a	106.4a	110.5A	130.3a	116.3a	123.3A	104a	82.4a	93.2A
	N	102.6b	86.4b	94.5B	112.6b	105.1b	108.9B	84.9b	54.6b	69.8B
	3/2N	96b	79.2c	87.6C	114.4b	92.2c	103.3C	62.8c	48.3b	55.6B
	平均 Mean	104.4A	90.7A		119.1A	104.5A		83.9B	61.8B	
橙皮素 Hesperetin (ng·plant ⁻¹ ·h ⁻¹)	1/2N	135.3a	110.6a	123A	119.8a	105.8a	112.8A	108.7a	85.3a	97A
	N	106.4b	103.1a	104.8B	99.2a	84b	91.6B	71.9b	60b	66B
	3/2N	82.8c	76.3b	79.6C	71.5b	71.4b	71.5C	71.7b	59.4c	65.6B
	平均 Mean	108.2A	96.7B		91.8A	92.1A		84.1A	68.2A	

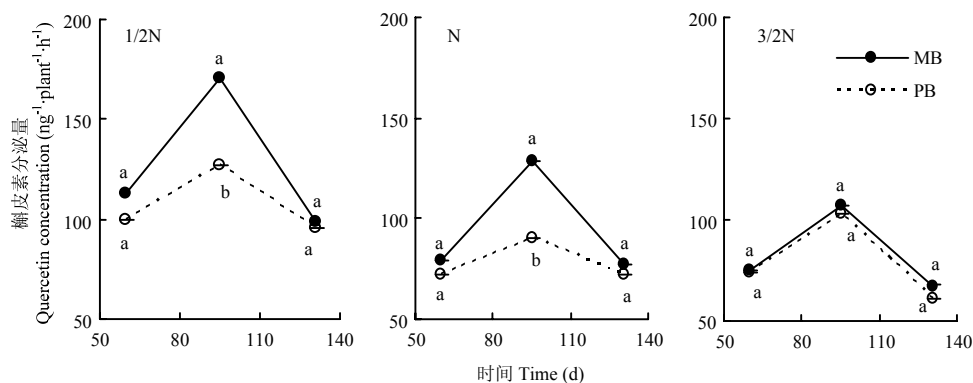
规施氮和高氮相比,低氮条件下,小麦槲皮素分泌量分别增加了 13.2%—33.5%和 19.4%—67.6%;相同氮水平条件下,与塑料分隔相比,尼龙分隔小麦根系槲皮素分泌量增加 15.1%—35.8%。

与小麦根系分泌槲皮素不同,橙皮素的分泌量随生育期逐渐减少。同一生育期内,随施氮量增加,小麦橙皮素分泌量明显减少,与低氮条件相比,常规施氮和高氮小麦橙皮素分泌量分别减少了 17.4%—47%和 54.5%—74.5%。说明低氮胁迫条件促进了小麦根系橙皮素的分泌。相同氮水平条件下,与塑料分隔相比,小麦尼龙分隔根系分泌橙皮素数量增加,但这种差异在高氮条件下不显著。低氮和常规施氮条件下,尼龙分隔小麦根系分泌橙皮素数量高于塑料分隔 13.7%—21%。

2.3 根系分隔方式对不同氮水平下蚕豆分泌槲皮素的影响

由图 2 可以看出,随施氮量增加,蚕豆根系槲皮素分泌量减少,同一氮水平条件下,蚕豆槲皮素分泌量随生育期的变化先增加后减少。这主要是由于在蚕豆生育前期,根系活力强,分泌槲皮素的能力较强,伴随着蚕豆根系的成熟和衰老,槲皮素的分泌量逐渐减少。与推荐施氮和高氮条件相比,低氮条件下蚕豆根系槲皮素分泌量最高。说明氮胁迫条件下,有利于蚕豆根系槲皮素的分泌。

相同氮水平条件下,与根系塑料分隔相比,尼龙分隔蚕豆根系槲皮素的分泌量明显增加。低氮和推荐施氮条件下,尼龙分隔蚕豆根系槲皮素的分泌量分别较塑料分隔提高 34.6%和 56.6%。说明不同根系作用



不同字母表示差异性显著 ($P < 0.05$)。下同
Different letters mean significance ($P < 0.05$). The same as below

图 2 尼龙和塑料分隔蚕豆根系槲皮素分泌量

Fig. 2 Quercetin secreted by nylon and plastic separated root of faba bean

程度可以改变蚕豆槲皮素的分泌, 且在低氮和常规施氮条件下差异显著, 这主要是由于尼龙分隔间作体系作物之间存在根系交互作用, 低氮和常规施氮条件下, 作物之间根系对水分养分激烈竞争, 进一步刺激槲皮素等黄酮类物质的分泌。

2.4 根系分隔方式对不同氮水平下蚕豆分泌橙皮素的影响

图 3 表明, 随生长天数增加, 蚕豆橙皮素的分泌量逐渐减少。同时, 随氮肥施用量的增加, 蚕豆根系橙皮素分泌量减少, 但常规施氮和高氮之间差异不显

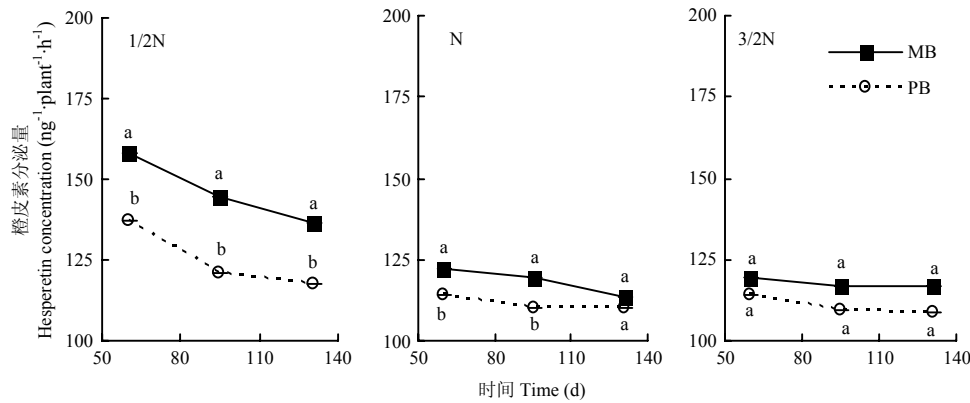


图 3 尼龙和塑料分隔蚕豆根系橙皮素分泌量

Fig. 3 Hesperetin secreted by nylon and plastic separated root of faba bean

著。与常规施氮和高量施氮相比, 低氮条件下, 蚕豆根系橙皮素分泌量分别增加了 23.9%和 11.9%, 这主要是由于低氮条件下, 豆科植物需要增加固氮量, 植物自身调节根系分泌大量的黄酮等诱导物质, 通过根瘤菌的识别来增加氮素固定。

相同氮水平条件下, 间作根系分隔方式不同, 蚕豆根系橙皮素分泌量也不同。与塑料分隔相比, 低氮和常规氮水平条件下, 根系尼龙分隔蚕豆橙皮素分泌量分别增加 17.3%和 6%, 高氮条件下, 两种根系分隔方式之间差异不显著。说明根系分隔方式影响蚕豆根系橙皮素的分泌。

3 讨论

与单作相比, 豆科和禾本科作物间作往往能较大幅度的提高作物的产量, 显示出明显的产量优势^[22-23]。有研究表明, 禾本科与豆类间作时, 土地当量比高达 1.4, 而这种优势主要是由于非豆科作物的增产造成的, 非豆科作物群体密度相对较高, 能够截获更多的光能^[24]。本研究表明, 不同氮水平条件下的小麦蚕豆间作, 常规施氮和高氮的蚕豆生物量明显高于低氮; 同时, 相同氮水平不同根系分隔方式下, 蚕豆的生物量表现为尼龙分隔高于塑料分隔。这可能是由于尼龙分隔方式下, 水分养分可以透过分隔介质, 小麦能够

吸收邻近蚕豆的养分, 而塑料分隔除地上部交互作用外, 根系生长相当于单作, 水分养分无法透过分隔介质转运到周围植物根际, 不会有地下部养分的竞争和共用, 因此, 尼龙分隔的作物生物量高于塑料分隔。

氮素营养是调控作物生长、群体发育、提高水分利用的重要措施, 对作物的根冠关系有重要影响^[25]。已有研究表明, 随着施氮水平的增加, 根冠比降低^[26]。王艳哲等^[27]研究表明, 随着氮肥用量的增加, 冬小麦根冠比减小, 氮肥水平对根冠比的影响达到显著水平。本研究结果显示, 土壤氮肥施用量对小麦根冠比有显著影响, 氮肥对根系生长表现为负效应。随着氮肥施用量增加, 小麦生物量增加, 地下部生物量增加幅度小于地上部, 根冠比减小。蚕豆根冠比具有相同趋势, 但随着生育期变化, 蚕豆根冠比在各氮水平条件下差异不显著, 说明当作物生长到一定阶段后, 增施氮肥不再明显增加地上部分的生物量。同时说明, 氮肥施用量的变化并没有明显影响作物地下部的生长。

已有研究表明, 槲皮素是一种具有多种生物活性的黄酮类化合物, 具有抗氧化、抗过敏、抗菌、抗病毒^[28-29], 清除体内自由基、抑制恶性肿瘤生长和转移^[30-32]等多方面药理作用。近年来, 根际槲皮素的研究也备受关注。最近研究表明, 在豆科植物根际中, 如果根际微生物是同一类, 则随豆科植物根系周

围的微生物增多槲皮素浓度也升高^[33]。表明槲皮素是固氮根瘤形成初期的重要信号分子^[34]。橙皮素也是一类天然黄酮类化合物,研究表明,在短季地区,较低的地温极大地影响豆科植物的固氮作用,进而影响作物的产量^[35]。BEGUM等^[36]研究发现,在较低地温环境下,豌豆播种时加入橙皮素可以增加豌豆根瘤及豆荚数量。但不同植物根系分泌槲皮素和橙皮素数量不同,即使是同种作物,不同生育期根系分泌量也存在显著差异^[37],说明橙皮素也是结瘤固氮的重要信号物质^[38]。本研究结果表明,小麦蚕豆根系均分泌槲皮素和橙皮素,不同的是,蚕豆分泌数量高于小麦。小麦槲皮素和橙皮素分泌量随施氮量增加而减小,这可能与小麦根冠比有关,氮肥增加导致地上部生长迅速,生物量累积增加,地下根系增长缓慢,根系分泌物数量减少^[39]。与根系塑料分隔相比,尼龙分隔方式下槲皮素和橙皮素分泌量明显增加。这主要是因为尼龙分隔根系水分养分互相流通,根系生长状况可以通过养分质流得到缓解。本研究结果还表明,蚕豆槲皮素与橙皮素数量均随施氮量增加而减小,低氮和常规施氮条件下,蚕豆槲皮素和橙皮素分泌量均为尼龙分隔高于塑料分隔,高氮条件下两种根系分隔之间差异不显著。这一方面是因为槲皮素和橙皮素作为影响豆科作物结瘤的重要黄酮类物质,低氮条件下,由于养分胁迫,蚕豆为固定氮素分泌大量信号物质刺激根系的结瘤作用。另一方面,间作环境下,小麦根系分泌物质的刺激导致蚕豆槲皮素和橙皮素分泌量的增加^[40]。

综上所述,从研究方法看,本研究中作物根系分泌物的收集均采用取出植株样品后放入收集液中定时采集,样品采集过程中会存在一定人为的影响因素,故试验结果存在一定误差,但目前的研究尚未有更为精准的根系分泌物收集方法,在今后的根际研究中,应采用更为准确的根系分泌物采样方法进行根际研究。从研究结果来看,氮肥施用水平和作物根系分隔方式能够显著影响小麦蚕豆地上和地下的生长、根冠比的变化,进而影响作物根系槲皮素和橙皮素的分泌,这两种物质的多少又影响豆科结瘤的过程。因此,在农业生产上,如何通过优化施氮和合理种植调控地上和地下生长,使作物维持适中的根冠比,达到既不影响根系对土壤水分养分的有效利用,又能显著控制根系生长,调节根系橙皮素和槲皮素的分泌数量尚需进一步的研究。

4 结 论

小麦蚕豆生物量随施氮量增加而增加,根冠比随

施氮量增加而减小,根系尼龙分隔小麦蚕豆的生物量和根冠比高于塑料分隔。

根系分隔方式和氮肥施用水平均影响小麦蚕豆根系槲皮素和橙皮素的分泌。随施氮量增加,小麦蚕豆槲皮素橙皮素分泌量减少;相同氮水平(尤其低氮和常规施氮)条件下,尼龙分隔小麦蚕豆根系槲皮素和橙皮素分泌量明显高于塑料分隔,高氮条件下差异不显著。

References

- [1] BAIS H P, WEIR T L, PERRY L G, GILROY S, VIVANCO J M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, 57(1): 233-266.
- [2] 张福锁, 曹一平. 根际动态过程与植物营养. *土壤学报*, 1992, 29(3): 239-250.
ZHANG F S, CAO Y P. Rhizosphere dynamics and plant nutrition. *Acta Pedologica Sinica*, 1992, 29(3): 239-250. (in Chinese)
- [3] HAO W Y, SHEN Q R. Allelopathic effects of root exudates from watermelon and rice plants on *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Plant and Soil*, 2010, 336(1/2): 485-497.
- [4] WANG D, YANG S M, TANG F, ZHI H Y. Symbiosis specificity in the legume: Rhizobial mutualism. *Cellular Microbiology*, 2012, 14(3): 334-342.
- [5] NOVAK K, CHOVANEC P, SKRDLETA V, KROPACOVA M, LISA L, NEMCOVA M. Effect of exogenous flavonoids on nodulation of pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53(375): 1735-1745.
- [6] LI L, ZHANG L Z, ZHANG F S. Crop mixtures and the mechanisms ofoveryielding//Levin S A. *Encyclopedia of Biodiversity (Second Edition)*. Waltham, MA: Academic Press, 2013: 382-395.
- [7] BROUGHTON W J, ZHANG F, PENET X, STAEHELIN C. Signals exchanged between legumes and rhizobium: Agricultural uses and perspectives. *Plant and Soil*, 2003, 252(1): 129-137.
- [8] DAYAKAR V, BADRI J M, VIVANCO. Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell and Environment*, 2009, 32(6): 666-681.
- [9] LI B, KRUMBEIN A, NEUGART S, LI L, SCHREINER M. Mixed cropping with maize combined with moderate UV-B radiations lead to enhanced flavonoid production and root growth in faba bean. *Journal of Plant Interactions*, 2012, 7(4): 1-8.
- [10] 姜卉, 赵平, 汤利, 郑毅, 肖靖秀. 云南省不同试验区小麦蚕豆间作的产量优势分析与评价. *云南农业大学学报(自然科学版)*, 2012, 27(5): 646-652.
JIANG H, ZHAO P, TANG L, ZHENG Y, XIAO J X. Analysis and evaluation of yield advantages in wheat and faba bean intercropping

- system in Yunnan province. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2012, 27(5): 646-652. (in Chinese)
- [11] 冯晓敏, 杨永, 任长忠, 胡跃高, 曾昭海. 豆科-燕麦间作对作物光合特性及籽粒产量的影响. *作物学报*, 2015, 41(9): 1426-1434.
FENG X M, YANG Y, REN C Z, HU Y G, ZENG Z H. Effects of legumes intercropping with oat on photosynthesis characteristics and grain yield. *Acta Agronomica Sinica*, 2015, 41(9): 1426-1434. (in Chinese)
- [12] 杨进成, 刘坚坚, 安正云, 朱有勇, 李成云, 陈向东, 卢玉娥, 李红彦, 甸兰芬. 小麦蚕豆间作控制病虫害与增产效应分析. *云南农业大学学报(自然科学版)*, 2009, 24(3): 340-348.
YANG J C, LIU J J, AN Z Y, ZHU Y Y, LI C Y, CHEN X D, LU Y E, LI H Y, DIAN L F. Analyses on effect of interplanting on diseases and pests control and yield increase of wheat and faba bean. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2009, 24(3): 340-348. (in Chinese)
- [13] 董艳, 董坤, 郑毅, 汤利, 杨智仙. 不同品种小麦与蚕豆间作对蚕豆枯萎病的防治及其机理. *应用生态学报*, 2014, 25(7): 1979-1987.
DONG Y, DONG K, ZHENG Y, TANG L, YANG Z X. Faba bean fusarium wilt control and its mechanism in different wheat varieties and faba bean intercropping system. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(7): 1979-1987. (in Chinese)
- [14] 吴娜, 刘晓侠, 刘吉利, 鲁文. 马铃薯/燕麦间作对马铃薯光合特性与产量的影响. *草业学报*, 2015, 24(8): 65-72.
WU N, LIU X X, LIU J L, LU W. Effect of intercropping potatoes with oats on the photosynthetic characteristics and yield of potato. *Acta Prataculturae Sinica*, 2015, 24(8): 65-72. (in Chinese)
- [15] YE Y L, WANG G L, HUANG Y F, ZHU Y J, MENG Q F, CHEN X P, ZHANG F S, CUI Z L. Understanding physiological processes associated with yield-trait relationships in modern wheat varieties. *Field Crops Research*, 2011, 124(3): 316-322.
- [16] 赵平, 郑毅, 汤利, 鲁耀, 肖靖秀, 董艳. 小麦蚕豆间作施氮对小麦氮素吸收、累积的影响. *中国生态农业学报*, 2010, 18(4): 742-747.
ZHAO P, ZHENG Y, TANG L, LU Y, XIAO J X, DONG Y. Effect of N supply and wheat/faba bean intercropping on N uptake and accumulation of wheat. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2010, 18(4): 742-747. (in Chinese)
- [17] 乔鹏, 汤利, 郑毅, 李少明. 不同抗性小麦品种与蚕豆间作条件下的养分吸收与白粉病发生特征. *植物营养与肥料学报*, 2010, 16(5): 1086-1093.
QIAO P, TANG L, ZHENG Y, LI S M. Characteristics of nutrient uptakes and powdery mildew incidence of different resistant wheat cultivars intercropping with faba bean. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2010, 16(5): 1086-1093. (in Chinese)
- [18] 董艳, 董坤, 汤利, 郑毅, 杨智仙, 肖靖秀, 赵平, 胡国彬. 小麦蚕豆间作对蚕豆根际微生物群落功能多样性的影响及其与蚕豆枯萎病发生的关系. *生态学报*, 2013, 33(23): 7445-7454.
DONG Y, DONG K, TANG L, ZHENG Y, YANG Z X, XIAO J X, ZHAO P, HU G B. Relationship between rhizosphere microbial community functional diversity and faba bean fusarium wilt occurrence in wheat and faba bean intercropping system. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(23): 7445-7454. (in Chinese)
- [19] 刘晓燕, 何摇萍, 金继运. 氯化钾对玉米根系糖和酚酸分泌的影响及其与茎腐病菌生长的关系. *植物营养与肥料学报*, 2008, 14(5): 929-934.
LIU X Y, HE Y P, JIN J Y. Effect of potassium chloride on the exudation of sugars and phenolic acids by maize root and its relation to growth of stalk rot pathogen. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2008, 14(5): 929-934. (in Chinese)
- [20] NEUMANN G, RÖMHELD V. The release of root exudates as affected by the plant physiological status//Pinton R, Varanini Z, Nannipieri P. *The Rhizosphere Biochemistry and Organic Substances at the Soil Plant Interface. 2nd Ed.* Boca Raton: CRC Press, 2007: 23-72.
- [21] LI X P, MU Y H, CHENG Y B, LIU Y, HAI N. Effects of intercropping sugarcane and soybean on growth, rhizosphere soil microbes, nitrogen and phosphorus availability. *Acta Physiolog Plant*, 2013, 35(4): 1113-1119.
- [22] TOSTI G, GUIDUCCI M. Durum wheat-faba bean temporary intercropping: Effects on nitrogen supply and wheat quality. *Europe Journal Agronomy*, 2010, 33(3): 157-165.
- [23] 肖靖秀, 郑毅, 汤利. 小麦/蚕豆间作对根系分泌低分子量有机酸的影响. *应用生态学报*, 2014, 25(6): 1739-1744.
XIAO J X, ZHENG Y, TANG L. Effects of wheat and faba bean intercropping on root exudation of low molecular weight organic acids. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(6): 1739-1744. (in Chinese)
- [24] HELLOU G C, BRISSON N, LAUNAY M, FUSTEC J, CROZAT Y. Effect of root depth penetration on soil nitrogen competitive interactions and dry matter production in pea-barley intercrops given different soil nitrogen supplies. *Field Crops Research*, 2007, 103(1): 76-85.
- [25] 任书杰, 张雷明, 张岁岐, 上官周平. 氮素营养对小麦根冠协调生长的调控. *西北植物学报*, 2003, 23(3): 395-400.
REN S J, ZHANG L M, ZHANG S Q, SHANGGUAN Z P. The effect

- of nitrogen nutrition on coordinate growth of root and shoot of winter wheat. *Acta Botanica Boreal-Occident Sinica*, 2003, 23(3): 395-400. (in Chinese)
- [26] 张绪成, 郭天文, 谭雪莲, 高世铭. 氮素水平对小麦根-冠生长及水分利用效率的影响. *西北农业学报*, 2008, 17(3): 97-102. ZHANG X C, GUO T W, TAN X L, GAO S M. The effects of nitrogen level on the root and shoot growth and their relationship with the water use efficiency in wheat plants. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2008, 17(3): 97-102. (in Chinese)
- [27] 王艳哲, 刘秀位, 孙宏勇, 张喜英, 张连蕊. 水氮调控对冬小麦根冠比和水分利用效率的影响研究. *中国生态农业学报*, 2013, 21(3): 282-289. WANG Y Z, LIU X W, SUN H Y, ZHANG X Y, ZHANG L R. Effects of water and nitrogen on root/shoot ratio and water use efficiency of winter wheat. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2013, 21(3): 282-289. (in Chinese)
- [28] CASAGRANDE R, GEORGETTI S R, VERRI W A, JABOR J R, SANTOS A C, FONSECA M J. Evaluation of functional stability of quercetin as a raw material and in different topical formulations by its antilipoperoxidative activity. *AAPS PharmSciTech*, 2006, 7(1): E64-E71.
- [29] NAPIMOGA M H, CLEMENTE-NAPIMOGA J T, MACEDO C G, FREITAS F F, STIPP R N, PINHORIBEIRO F A. Quercetin inhibits inflammatory bone resorption in a mouse periodontitis model. *Journal of Natural Products*, 2013, 76(12): 2316-2321.
- [30] NIU G M, YIN S M, XIE S F, LI Y Q, NIE D N, MA L P, WANG X J, WU Y D. Quercetin induces apoptosis by activating caspase-3 and regulating Bel-2 and cyclooxygenase-2 pathways in human HL-60 cells. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2011, 43(1): 30-37.
- [31] WANG P, VADGAMA J V, SAID J W, MAGYAR C E, DOAN N, HEBER D, HENNING S M. Enhanced inhibition of prostate cancer, enograft tumor growth by combining quercetin and green tea. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2014, 25(1): 73-80.
- [32] CHEN S Y, WU Y C, CHUNG J G, YANG J S, LU H F, MEIFEN T. Quercetin-induced apoptosis acts through mitochondrial and caspase-3-dependent pathways in human breast cancer MDA-MB-231 cells. *Human & Experimental Toxicology*, 2009, 28(8): 493-503.
- [33] LI B, LI Y Y, WU H M, ZHANG F F, LI C, LI X X. Root exudates drive interspecific facilitation by enhancing nodulation and N₂ fixation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(23): 6496.
- [34] HAUGGAARDNIELSEN H, GOODINGB M, AMBUSA P, CORREHELLOUC G, CROZATC Y, DAHLMANNND C, DIBETC A, FRAGSTEIND P, PRISTERIE A, MONTIE M E S. Pea-barley intercropping for efficient symbiotic N₂-fixation, soil N acquisition and use of other nutrients in European organic cropping systems. *Field Crops Research*, 2009, 113(1): 64-71.
- [35] BRZOSTEK E R, GRECO A, DRAKE J E, FINZI A C. Root carbon inputs to the rhizosphere stimulate extracellular enzyme activity and increase nitrogen availability in temperate forest soils. *Biogeochemistry*, 2013, 115(1/3): 65-76.
- [36] LIU L X, CHEN J. Solubility of hesperetin in arious solvents from (288.2 to 323.2) K. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 2008, 53(7): 877-882.
- [37] BEGUMAA, LEIBOVITCH S, MIGNER P, ZHANG F. Inoculation of pea (*Pisum sativum* L.) by rhizobium *leguminosarum* bv. *viciae* preincubated with naringenin and hesperetin or application of naringenin and hesperetin directly into soil increased pea nodulation under short season conditions. *Plant and Soil*, 2001, 237(1): 71-80.
- [38] 于宏伟, 刘树彬, 张东红, 牛辉. 橙皮素应用研究进展. *安徽农业科学*, 2010, 38(8): 3907-3908. YU H W, LIU S B, ZHANG D H, NIU H. Research progress of hesperetin. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2010, 38(8): 3907-3908. (in Chinese)
- [39] CHEN Y X, ZHANG F S, TANG L, ZHENG Y, LI Y J, CHRISTIE P, LI L. Wheat powdery mildew and foliar N concentrations as influenced by N fertilization and belowground interactions with intercropped faba bean. *Plant and Soil*, 2007, 291(1): 1-13.
- [40] LI Q Z, SUN J, WEI X J, CHRISTIE P, ZHANG F S, LI L. Overyielding and interspecific interactions mediated by nitrogen fertilization in strip intercropping of maize with faba bean, wheat and barley. *Plant and Soil*, 2011, 339(1): 147-161.

(责任编辑 杨鑫浩)