果 树 学 报 2023,40(11):2359-2370
Journal of Fruit Science

DOI:10.13925/j.cnki.gsxb.20230101

磷胁迫下苹果砧木根系分泌物差异对磷吸收的影响

纪国翡,李梦珂,卢 念,赵雪雯,苏泽彬,许雪峰,张新忠,韩振海,邱昌朋*

(中国农业大学园艺学院•北京市果树逆境生理与分子生物学重点实验室,北京 100193)

摘 要:【目的】探究不同供磷水平下根系分泌物对苹果砧木磷元素吸收的影响,为解决苹果园区普遍存在的有效磷易被固定为难溶态磷而导致的缺磷问题提供参考。**【方法】**以平邑甜茶(*Malus hupehensis* Rehd.)、八棱海棠(*M. robusta* Rehd.)、M26(*M. pumila* Mill.)、M9(*M. pumila* Mill.)、楸子(*M. prunifolia*)、中砧一号(*M. xiaojinensis*)、山丁子(*M. baccata* Borkh.)7种苹果砧木为试验材料,采用基质培养在正常供磷(对照)(0.5 mmol·L^{-1} KH_2PO_4)、低磷(LP)(0.01 mmol·L^{-1} KH_2PO_4)、额外施加磷酸钙(LP-$Ca_3(PO_4)_2$)[0.01 mmol·L^{-1} KH_2PO_4+ $Ca_3(PO_4)_2$]条件下处理50 d,测定7种苹果砧木的磷效率、根系分泌物、根系构型(root system architecture,RSA)、光合及荧光参数等指标,结合相关性及主成分分析探究根系分泌物对苹果砧木磷元素高效吸收的影响。**【结果】**与正常施磷相比,经低磷处理后,平邑甜茶、M26、M9、中砧一号的根冠比均显著提高,中砧一号的上升幅度为49.5%;除山丁子外其余6种砧木的光合速率均显著降低。在RSA方面,除根总表面积外其他3个指标均受低磷处理的显著影响。在柠檬酸分泌速率(citric acid secretion rate,CASR)方面,与正常施磷相比,低磷处理显著提高了除M26外其余6种砧木的分泌速率,中砧一号的CASR最高;经低磷处理后,苹果酸分泌速率(malic acid secretion rate,MASR)与CASR有着相似的变化规律,中砧一号的MASR显著高于除八棱海棠以外的其余5种砧木,M26在7种砧木中最低。**【结论】**供试的7种苹果砧木在低磷胁迫耐性方面存在显著差异。在低磷胁迫下,7种砧木根系的酸类物质分泌与磷吸收效率(phosphorus acquisition efficiency,PAE)呈正相关,中砧一号的PAE最高,其柠檬酸和质子分泌速率(proton secretion rate,PSR)也均高于其他6种砧木,同时其MASR也显著高于除八棱海棠以外的其余5种砧木。

关键词:苹果砧木;低磷胁迫;磷酸钙;根系分泌物;有机酸

中图分类号:S661.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-9980(2023)11-2359-12

Effects of root exudation of apple rootstocks on phosphorus acquisition efficiency under low phosphorus

JI Guofei, LI Mengke, LU Nian, ZHAO Xuewen, SU Zebin, XU Xuefeng, ZHANG Xinzhong, HAN Zhenhai, QIU Changpeng*

(College of Horticulture, China Agricultural University/Key Laboratory of Stress Physiology and Molecular Biology for Fruit Trees in Beijing Municipality, Beijing 100193, China)

Abstract:【Objective**】** The aim of this study was to explore the effects of root exudates on the phosphorus acquisition efficiency of apple rootstocks under different phosphorus supply levels, so as to provide the theoretical basis for solving the common problem of phosphorus deficiency in apple orchards. An additional calcium phosphate treatment was also designed to investigate the effect of root exudation on alleviating phosphorus stress. **【**Methods**】** Seven kinds of apple rootstocks including Pingyi Tiancha (*Malus hupehensis* Rehd.), Baleng (*M. robusta* Rehd.), M26 (*M. pumila* Mill.), M9 (*M. pumila* Mill.), Qiuzi (*M. prunifolia*), Chistock-1 (*M. xiaojinensis*) and Shandingzi (*M. baccata* Borkh.) were used as experimental materials. The differences in tree growth, root exudates, root architecture, photosynthesis

收稿日期:2023-03-16 **接受日期:**2023-08-18

基金项目:国家重点研发计划项目(2019YFD1000103);国家自然科学基金项目(31801810);国家苹果产业技术体系项目(CARS-27);农业农村部园艺作物营养与生理重点实验室;中国农业大学2115人才工程(00109023);北京市教委高精尖学科建设项目(PXM2019_014207_000032)

作者简介:纪国翡,女,在读硕士研究生,主要从事根系分泌物响应矿质元素缺乏的机制探究。Tel:18518010063,E-mail:guofeiji@163.com

***通信作者** Author for correspondence. E-mail:changpengqiu@hotmail.com

and fluorescence parameters, and phosphorus efficiency of each rootstock under normal phosphorus (CK) (0.5 mmol · L^{-1} KH_2PO_4), low phosphorus (LP) (0.01 mmol · L^{-1} KH_2PO_4), and additional calcium phosphate treatments (LP-$Ca_3(PO_4)_2$) (0.01 mmol · L^{-1} KH_2PO_4+$Ca_3(PO_4)_2$) for 50 days were studied. After 50 d, the plants were oven-dried for 72 h. The dried plants were digested using a microwave oven (Mars, CEM, USA). An inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES, Optima 5300DV, PerkinElmer, USA) was used to measure the phosphorus content. Root images were collected with an EPSON scanner and root total length, root surface area, root total volume and root tips were analyzed with the software WinRHIZO version 5.0 (Regent Instruments Inc., Canada). The photosynthetic and fluorescence parameters of leaves were measured with a Li-6400 XT portable photosynthetic measurement system (Li-Cor Biosciences, Lincoln, USA). The effects of root exudates on phosphorus acquisition efficiency of apple rootstocks were investigated by correlation and principal component analysis. All experiments had eight biological replicates. Statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics (Version 25, SPSS, Chicago, IL, USA) and Origin software (2022, Origin Lab, Northampton, MA, USA).【Results】Compared with the normal phosphorus treatment, the root-shoot ratios of Pingyi Tiancha, M26, M9, and Chistock-1 were significantly increased under low phosphorus condition, and the increase rate of Chistock-1 was 49.5%. The root-shoot ratio of Shandingzi was the largest after additional application of calcium phosphate. Except for root total surface area, the other three root indexes were significantly affected by low phosphorus treatment. The root total length of Pingyi Tiancha, Baleng, M26 and M9 increased after low phosphorus treatment, of which Baleng increased by 37.5% compared with CK. Compared with normal phosphorus, the root total volume of Baleng and M26 increased significantly, and the number of root tips of Pingyi Tiancha, M9 and Chistock-1 increased significantly under low phosphorus treatment, and the increase rate of Chistock-1 reached 89.2%. Under low phosphorus treatment, the PAE of Chistock-1 was the highest. After additional application of calcium phosphate, the PAE of Chistock-1 and Shandingzi increased significantly compared with low phosphorus treatment, with an increase rate of 40% in Chistock-1. Low phosphorus treatment resulted in a significant decrease in the photosynthetic rate in Shandingzi leaves compared to CK. Low phosphorus treatment significantly increased citric acid secretion rate in the rootstocks except M26, and the citric acid secretion rate in Chistock-1 was the highest. After low phosphorus treatment, the change pattern of malic acid secretion rate was similar to that of the citric acid secretion rate. The malic acid secretion rate of Chistock-1 was significantly higher than that of the remaining rootstocks except Baleng. M26 was the lowest in malic acid secretion among the seven rootstocks.【Conclusion】The seven apple rootstocks tested differed significantly in their tolerance to low phosphorus stress. Under low phosphorus stress, the secretion of organic acids was positively correlated with the phosphorus acquisition efficiency of apple rootstocks. The phosphorus acquisition efficiency of Chistock-1 was the highest, and its citric acid and proton secretion rates were all higher than those of the other six rootstocks. At the same time, its malic acid secretion rate was significantly higher than that of the other rootstocks except Baleng.

Key words: Apple rootstock; Low phosphorus stress; Calcium phosphate; Root exudates; Organic acid

磷是植物必需的营养元素，参与脂质代谢、含氮化合物代谢和碳水化合物运输等生物化学过程，在植物的生长发育、抗逆性和产量品质等方面发挥着重要作用。土壤中的磷以无机磷酸盐（Pi）的形式被植物吸收和同化[1-2]。据统计，大部分土壤的总磷含量（w，后同）在50~1500 mg·kg^{-1}之间[3-4]。然而，土壤中有效磷含量远远不足以满足植物的需求，主要是磷元素大多数以磷酸根的形式与土壤中的钙、铁、铝等结合，转变成不溶性的磷酸钙、磷酸铝、磷酸铁等[5]，导致磷素难以被植物体所吸收。

为了应对土壤中有效磷含量低的状况，植物进化出了广泛的适应策略以促进对磷元素的吸收和利用。根系构型（root system architecture，RSA）重建是从土壤中获得更多有效磷的关键策略，如根长度、根表面积、根直径和根毛数量等[6-7]。在拟南芥中，主根缩短、侧根和根毛数量和长度增加是磷缺乏的典型特征[8]。对苹果的研究也表明，苹果砧木在磷胁迫下会增加吸收根的总面积和长度，根毛数量也会显著增加[9]。据报道，植物通过激活高亲和性磷转运蛋白来优化磷的吸收和利用。PHT1 作为一类高亲和力磷转运蛋白，通常在植物根系中显著高表达[10]，在植物根系对土壤有效磷的吸收中起着至关重要的作用。在苹果的研究中还测定了 14 个 *MdPHT1* 基因在不同组织中的表达，其中，*MdPHT1;7* 在提高植物磷积累和低磷耐受性方面发挥重要作用[11]。磷缺乏还强烈影响生物化学反应，包括促进有机酸、质子和酸性磷酸酶的分泌，从而增加根际有效磷含量[12]。植物根系分泌的多种化合物，如氨基酸、脂肪酸、糖、有机酸、维生素等，也为土壤中微生物的生长提供了充足的养分[13]，同时溶磷微生物能有效提高土壤可溶性磷含量，改善植物缺磷环境[14-15]。

在低磷胁迫下，果树根系分泌的有机酸和酸性磷酸酶活性与磷供给水平呈负相关[16]。随着磷供给水平的降低，不同果树根系分泌的酸性磷酸酶活性增强，有机酸含量增加[17]。许多研究者把低磷胁迫下植物根系有机酸分泌量和酸性磷酸酶活性作为评价植物低磷耐受性的重要指标，然而关于苹果根系分泌物对磷元素高效吸收影响的研究较少。鉴于此，笔者在本试验中探究了不同供磷水平下各苹果砧木类型的生理响应，对 7 种苹果砧木在磷吸收利用效率、根系分泌物、RSA 及光合、荧光参数等层面进行了较全面的分析，通过相关性及主成分分析探讨根系分泌物对苹果砧木磷元素高效吸收的影响并设计磷酸钙试验，为揭示苹果砧木磷元素高效吸收的生理机制提供依据。

1　材料和方法

1.1　试验材料

试验于 2022 年 5—6 月在中国农业大学科学园温室内进行。以 1 年生苹果砧木平邑甜茶（*Malus hupehensis* Rehd.）、八棱海棠（*M. robusta* Rehd.）、M26（*M. pumila* Mill.）、M9（*M. pumila* Mill.）、楸子（*M. prunifolia*）、中砧一号（*M. xiaojinensis*）、山丁子（*M. baccata* Borkh.）为试验材料。

1.2　试验处理

每个砧木类型选择 24 株生长势一致的健康植株，每个处理设置 8 株重复。将 1 年生植株栽植到直径 10 cm、高 14 cm 的黑色方形塑料盆中。栽培基质为 *V*（沙子）∶*V*（蛭石）∶*V*（珍珠岩）=5∶4∶1 的混合物[18]。移栽后缓苗 7 d，其间用去离子水浇灌。试验分别设置 3 个处理，正常供磷对照（0.5 mmol · L^{-1} KH_2PO_4）、低磷 LP（0.01 mmol · L^{-1} KH_2PO_4）、额外施加磷酸钙 LP-$Ca_3(PO_4)_2$（0.01 mmol · L^{-1} KH_2PO_4，每 1 kg 基质混入 2.5 g $Ca_3(PO_4)_2$）[19]。

用以下营养液处理生长良好的幼苗：（1）正常供磷（对照），1/2 Hoagland 溶液，含 500 μmol · L^{-1} KH_2PO_4；（2）低磷（LP），1/2 Hoagland 溶液，含 10 μmol · L^{-1} KH_2PO_4；（3）额外施加磷酸钙处理（LP-$Ca_3(PO_4)_2$），1/2 Hoagland 溶液，含 10 μmol · L^{-1} KH_2PO_4。每 2 d 给植株浇 1 次营养液，每次浇灌 50 mL。处理 50 d 后进行指标测定。

1.3　生理指标的测定方法

生长指标的测定：用直尺测量植株茎基部到顶芽的高度；采用 EPSON 扫描仪和根图像分析软件 WinRHIZO version 5.0（Regent Instruments Inc., Canada）测定总根长度（root total length，RTL）、根总体积（root total volume，RTV）、根系总表面积（root surface，RS）和根尖数（root tips，RT）。

光合指标：采用便携式光合仪（Li-6400 XT, Li-Cor Biosciences, Lincoln, USA）测定净光合速率（P_n），采用配置 2 cm^2 荧光叶室的便携式光合仪测定叶片的叶绿素荧光参数。于黑暗环境下对叶片进行完全暗适应处理，再将叶片在自然光下进行充分活化，于 1000 μmol · m^{-2} · s^{-1} 的光照度下进行 *PSII* 实际光化学效率（*PhiPS2*）的测定。不同砧木不同供磷处理随机选取 3 株，每株选取生长情况良好的功能叶片 2 枚。

根分泌物的收集：在处理 50 d 后收集根系分泌物。将根系从基质中轻轻剥离并摇动。采用 Kidd 等[20]的方法。用蒸馏水轻轻洗净苹果砧木根系，立即将洗净的根系放入装有 100 mL 0.05 mmol · L^{-1} $CaCl_2$ 溶液的黑色塑料瓶中，此时将根系完全浸没，从 10:00—16:00 连续收集 6 h，用气泵不断通气，以保证

根系的正常呼吸。收集的根分泌物立即放于−80 ℃冰箱，用于后续测定。将收集的液体冻干后溶解在1 mL去离子水中。

根系分泌物的测定：柠檬酸分泌速率（citric acid secretion rate，CASR）采用柠檬酸含量检测试剂盒进行测定（购于Solarbio公司，货号：BC2155）；苹果酸分泌速率（malic acid secretion rate，MASR）采用苹果酸含量测定试剂盒进行测定（购于苏州格锐思生物科技有限公司，货号：G0862F）；根系分泌酸性磷酸酶活性的测定参照Ni等[21]的方法；质子分泌速率（proton secretion rate，PSR）的测定参照M'sehli等[22]的方法。

磷吸收和磷利用效率的测定：处理50 d后，将采集的植物样品洗净并于烘箱放置72 h烘干，研磨后采用微波消解法进行消解，采用电感耦合等离子体发射光谱仪法（ICP-OES）测定磷含量。

1.4 数据处理与分析

利用Microsoft Excel 2019、Origin 2022软件处理试验数据并绘图，通过Origin 2022和SPSS Statistics 25.0软件进行统计分析，利用*T*检验进行差异显著性分析（$p<0.05$），采用最小显著性差异（LSD）法进行多重比较，并对数据进行相关性分析、标准化处理和主成分分析。

2 结果与分析

2.1 低磷及额外施加磷酸钙对苹果砧木生长的影响

在正常施磷条件下，7种砧木中山丁子的根冠比最大。与正常施磷相比，在低磷条件下，平邑甜茶、M26、M9、中砧一号的根冠比均显著提高，中砧一号的上升幅度为49.5%。额外施加磷酸钙后山丁子的根冠比最大；M9的根冠比小于除M26以外的其他5种砧木。相较于低磷处理，经额外施加磷酸钙后，平邑甜茶的根冠比显著提高，其他6种砧木无显著变化。7种砧木在正常施磷时中砧一号的株高增长比例最大，平邑甜茶最小。在低磷条件下，除M26和平邑甜茶外，其余5种砧木的株高增长比例均低于正常施磷条件。额外施加磷酸钙后，中砧一号和M9的株高增长比例显著高于平邑甜茶、M26、山丁子；相较于低磷处理，在额外施加磷酸钙后平邑甜茶的株高增长比例显著下降，而八棱海棠和M9则显著提高（表1）。

2.2 根系构型对低磷及额外施加磷酸钙处理的差异响应

对7种砧木在不同供磷条件下RSA的研究结果表明，所有4个根系功能性状在不同砧木间均有显著差异（图1）。除根总表面积外，其他3个指标均受低磷处理的显著影响。在总根长度方面，低磷处理后平邑甜茶、八棱海棠、M26、M9的总根长度均增大，其中八棱海棠与对照相比提高了37.5%；同时在低磷条件下，楸子和M26的总根长度显著高于其他5种砧木。相较于低磷处理，额外施加磷酸钙后，7种砧木中M26的总根长度显著增加，上升幅度为19.5%。在根系总表面积方面，在低磷条件下，M26、楸子、中砧一号的根系总表面积显著高于其他砧木。相较于低磷处理，额外施加磷酸钙后，各砧木的根总表面积无显著变化。在根总体积方面，与正常磷相比，低磷处理后八棱海棠、M26的根

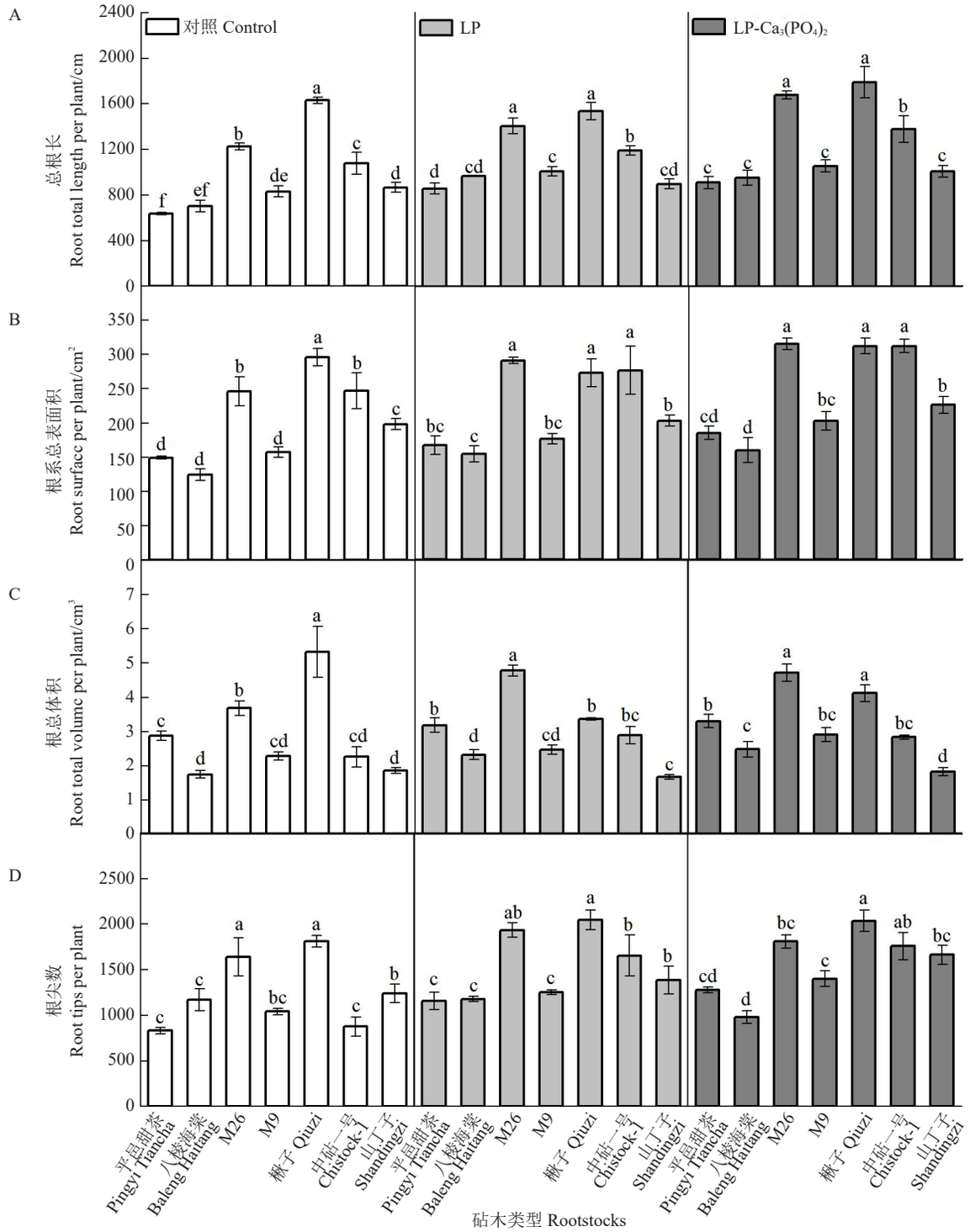
表1 低磷及额外施加磷酸钙对7种苹果砧木生长的影响

Table 1 Effects of low phosphorus and additional calcium phosphate on the growth of seven apple rootstocks

砧木类型 Rootstock	根冠比 Root-shoot ratio			株高增长比例 Percentage of plant height increase/%		
	对照 Control	LP	LP-$Ca_3(PO_4)_2$	对照 Control	LP	LP-$Ca_3(PO_4)_2$
平邑甜茶 Pingyi Tiancha	0.54±0.04 b	0.69±0.03 b	0.90±0.11 b	0.37±0.02 e	0.45±0.02 c	0.27±0.05 d
八棱海棠 Baleng Haitang	0.32±0.01 cd	0.35±0.02 cd	0.39±0.01 de	1.09±0.05 d	0.62±0.13 c	1.28±0.14 abc
M26	0.21±0.02 de	0.26±0.01 d	0.28±0.01 ef	1.10±0.07 d	1.01±0.04 b	0.90±0.07 bc
M9	0.20±0.01 e	0.24±0.01 d	0.28±0.02 f	1.69±0.08 c	1.30±0.06 a	1.60±0.04 a
楸子 Qiuzi	0.39±0.01 c	0.39±0.03 c	0.56±0.07 c	2.12±0.09 b	1.21±0.13 ab	1.45±0.38 ab
中砧一号 Chistock-1	0.40±0.02 c	0.60±0.05 b	0.48±0.02 cd	2.25±0.20 a	1.36±0.30 b	1.61±0.25 a
山丁子 Shandingzi	0.93±0.06 a	1.10±0.07 a	1.14±0.05 a	0.90±0.04 d	0.42±0.03 c	0.81±0.14 cd

注：同列不同小写字母表示苹果砧木间差异显著（$p<0.05$）。下同。

Note: Different small letters in the same column indicate significant differences between apple rootstocks ($p<0.05$). The same below.



A. 总根长度；B. 根系总表面积；C. 根总体积；D. 根尖数。不同小写字母表示在 $p<0.05$ 水平差异显著。下同。

A. Root total length; B. Root surface; C. Root total volume; D. Root tips. Different small letters indicate significant difference at $p<0.05$. The same below.

图 1　7 种苹果砧木在不同磷水平下的根系构型差异

Fig. 1　Differences in root architecture of seven apple rootstocks at different phosphorus levels

总体积显著增加；与低磷处理相比，额外施加磷酸钙后，7 种砧木的根总体积均未显著变化。在根尖数方面，与正常磷相比，低磷处理后平邑甜茶、M9、中砧一号的根尖数显著增加，中砧一号的上升幅度达到 89.2%。

2.3　低磷及额外施加磷酸钙对苹果砧木磷吸收利用的影响

磷吸收效率（phosphorus acquisition efficiency，

PAE）是植物在一定介质有效磷浓度下吸收的总磷量，它反映了植株对介质中磷的吸收能力。由图2-A可知，在低磷处理下，中砧一号的PAE最高；山丁子、八棱海棠、M26的PAE显著低于除楸子外的其他砧木；与正常磷供给相比，除楸子和中砧一号外其余5种砧木的PAE在低磷处理后均降低。在额外施加磷酸钙后，相较于低磷处理，中砧一号、山丁子的PAE均有所提高，其中，中砧一号的上升幅度为40.0%。

磷利用效率（phosphorus utilization efficiency，PUE）是指植株体内单位磷所生产的生物量。在正常磷条件下，M26和楸子的磷利用效率显著高于其他5种砧木，中砧一号和山定子的PUE较低。相较于正常磷处理，在低磷处理后中砧一号的磷利用效率显著提高（图2-B）。

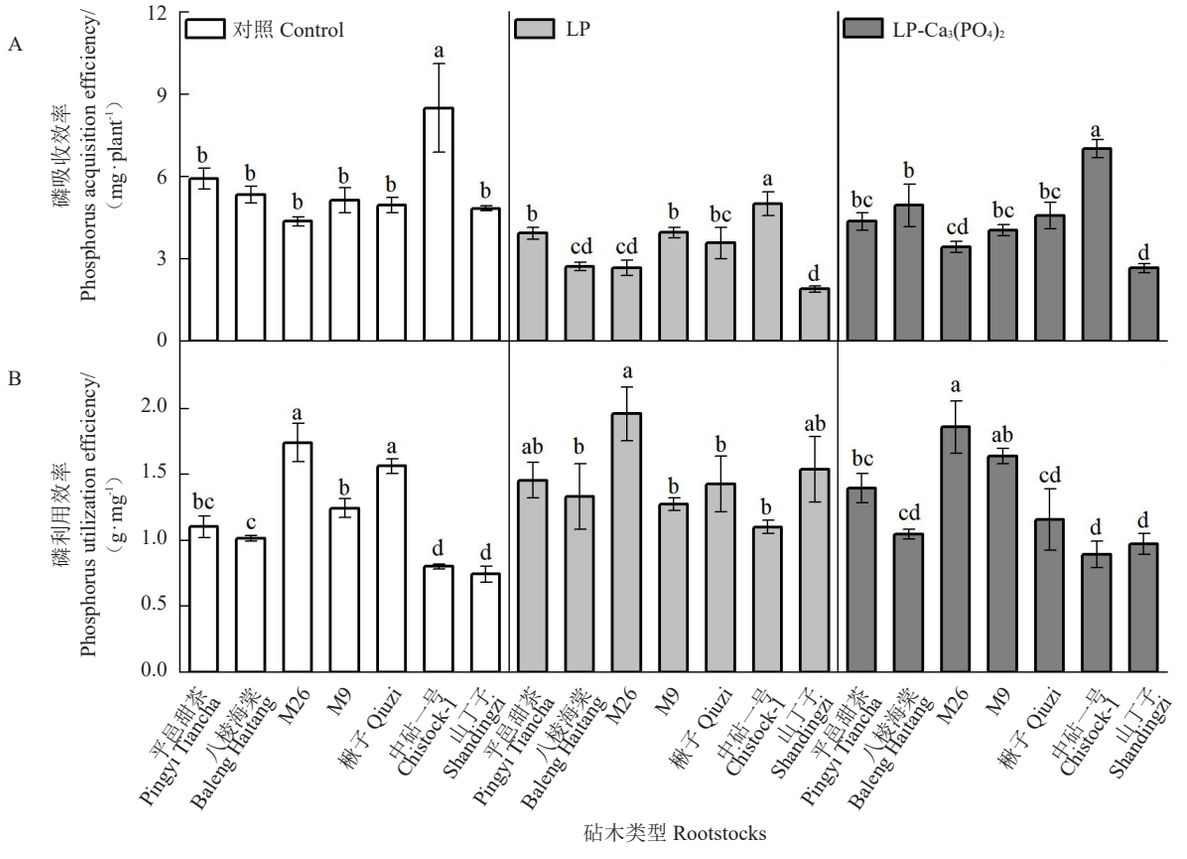


图2 7种苹果砧木在不同磷水平下的磷吸收效率及利用效率差异

Fig. 2 Differences in phosphorus acquisition efficiency and utilization efficiency of seven apple rootstocks at different phosphorus levels

2.4 低磷及额外施加磷酸钙对苹果砧木光合及荧光参数的影响

磷是叶绿体和ATP的组成部分。与正常施磷相比，经低磷处理后，除山丁子外其余6种砧木的光合速率均降低。由图3-A可知，低磷处理后，M9和M26的光合速率显著高于除平邑甜茶外的其他砧木。在额外施加磷酸钙后，相较于低磷处理，八棱海棠叶片的光合速率显著提高，其他6种砧木无显著变化。

*PSII*反应中心的光化学效率*PhiPS2*代表了苹果砧木叶片的实际光能转换效率，是反映植物光合能力的重要指标之一。不同砧木类型的光化学效率在响应低磷处理时表现出显著差异。相较于正常磷处理，平邑甜茶、M26、楸子叶片的*PhiPS2*在低磷处理后显著降低，其余4种砧木无显著变化。在额外施加磷酸钙后，相较于低磷处理，楸子叶片的*PhiPS2*显著上升，且幅度达到22.2%（图3-B）。

2.5 根系分泌物对低磷及额外施加磷酸钙的差异响应

为研究不同磷处理是否影响7种砧木的根系分泌，对其根系的CASR、MASR、PSR和酸性磷酸酶分泌活性（acid phosphatase activity，APA）进行了测定（图4）。

在柠檬酸分泌方面，与正常施磷相比，低磷处理显著提高了除M26以外其余6种砧木的分泌速率，

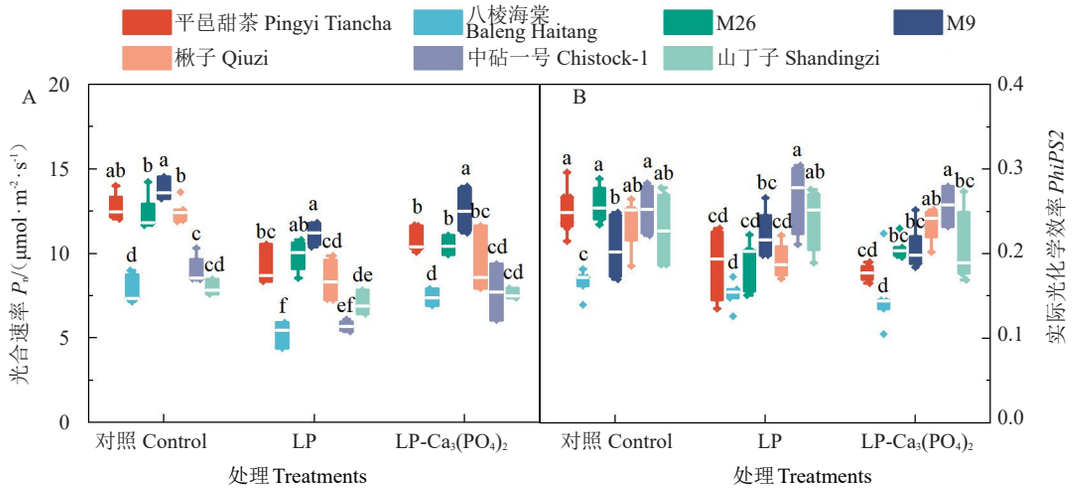


图 3　7 种苹果砧木在不同磷水平下的光合及荧光参数差异

Fig. 3　Differences in photosynthetic and fluorescence parameters of seven apple rootstocks at different phosphorus levels

其中，中砧一号的 CASR 最高。在额外施加磷酸钙后，相较于低磷处理，M26、楸子、中砧一号、山丁子的 CASR 均提高，中砧一号的上升幅度为 43.9%（图 4-A）。经低磷处理后，MASR 与 CASR 有着相似的变化规律，中砧一号的 MASR 显著高于除八棱海棠以外的其余 5 种砧木，同时发现 M26 的 MASR 在 7 种砧木中最低。在额外施加磷酸钙后，相较于低磷处理，M26 的 MASR 显著上升，其他砧木无显著变化（图 4-B）。

在质子分泌方面，相较于正常磷，低磷处理显著提高了楸子和山丁子的 PSR；且低磷条件下中砧一号的 PSR 在 7 种砧木中最高。在额外施加磷酸钙后，相较于低磷处理，八棱海棠、M26、中砧一号的 PSR 均有所提高，其中 M26 上升幅度为 84.7%（图 4-C）。在根系分泌的酸性磷酸酶活性方面，在低磷条件下，八棱海棠的酸性磷酸酶活性显著高于除山丁子外的其余 5 种砧木；在额外施加磷酸钙后，八棱海棠有着最高的酸性磷酸酶活性；相较于低磷处理，7 种砧木的酶活性在额外施加磷酸钙后均未表现出显著差异（图 4-D）。

2.6　苹果砧木磷效率、各生理指标相关性分析

2.6.1　相关性分析　苹果砧木磷效率与各生理指标之间并不是独立的，而是具有一定的相关性，相关性分析可以用来衡量各变量因素之间的相关密切程度。在额外施加磷酸钙条件下，对 7 种苹果砧木的 19 项指标进行的相关性分析，结果显示（图 5-A），PAE 与 CASR（r=0.715）、MASR（r=0.746）、质子分泌速率 PSR（r=0.566）呈正相关。磷利用效率 PUE 与 MASR（r=−0.667）呈负相关，与光合速率 P_n（r=0.778）呈正相关。植株总干质量 DW 与根总体积 RTV（r=0.796）呈正相关。实际光化学效率 *PhiPS2* 与根系总表面积 RS（r=0.605）、电子传递速率 ETR（r=0.742）呈正相关。

2.6.2　主成分分析　主成分分析是一种将多个指标转化为几个不相关的综合指标的多元统计分析方法，它可以从多个因素中分析出重要的影响因素，从而简化多指标分析。为了进一步明确影响苹果砧木磷高效的关键指标，笔者在本研究中对额外施加磷酸钙条件下的各指标进行了主成分分析。由图 5-B 可知，主因素分析进一步将 9 项指标分为了 2 个主成分，累积贡献率达到 69.3%，将其归纳为光合产物合成代谢和根系分泌 2 个方面。第一分量（*PC1*）的贡献率为 45.7%，包括 PAE、CASR、MASR、PSR、P_n 和 *PhiPS2*；第二分量（*PC2*）的贡献率为 23.6%，包括 RS、RT 和 F_v/F_m。

3　讨　论

3.1　7 种苹果砧木对低磷胁迫的差异响应

植物进化出了不同的机制以适应低磷胁迫。在长期缺磷条件下，由于遗传因素和环境因素等植物会在形态、生理等方面发生变化，植物的耐低磷胁迫能力也受 RSA、根系分泌物、光合等多种因素的共同影响[23-25]。研究表明，不同植物品种的耐低磷机制存在着显著差异[26-27]。本试验结果表明，7 种苹果砧木 PAE、RSA、根系分泌物及光合等特征差异显著。中砧一号 PAE 最高，这与其柠檬酸、苹果酸及质子总

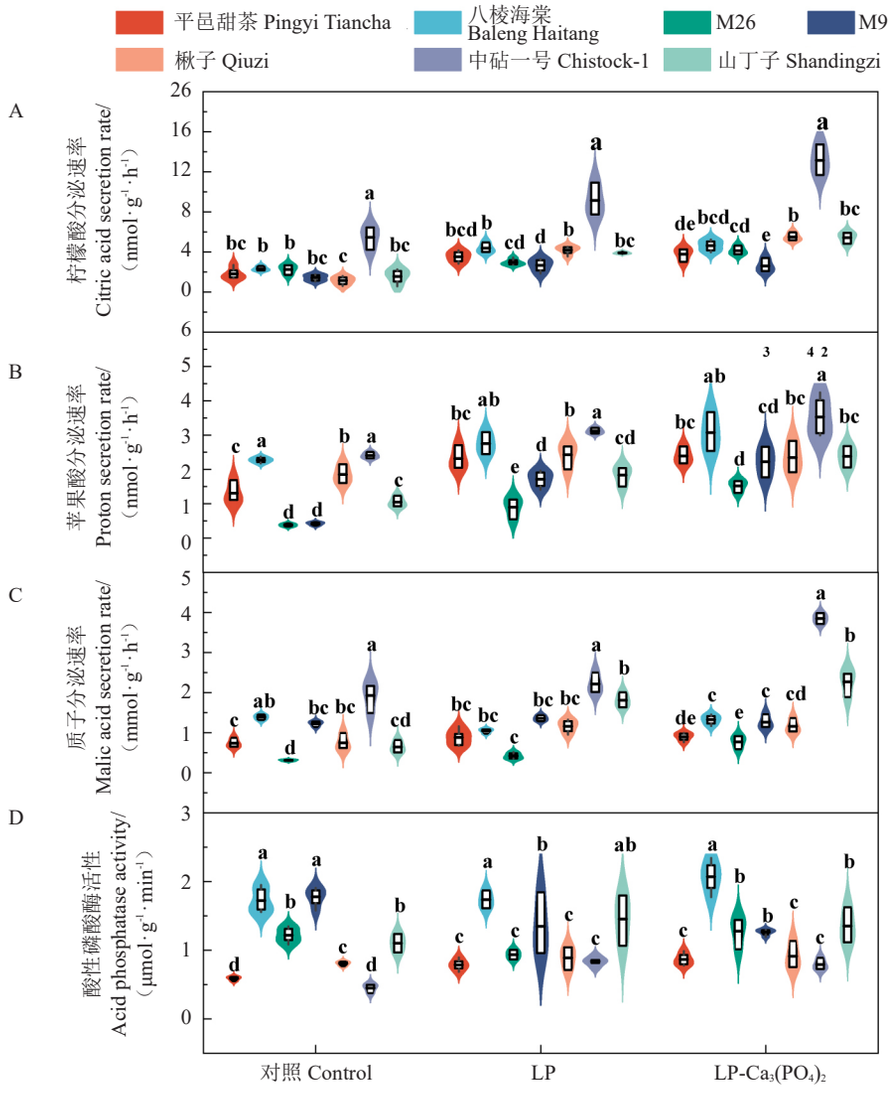


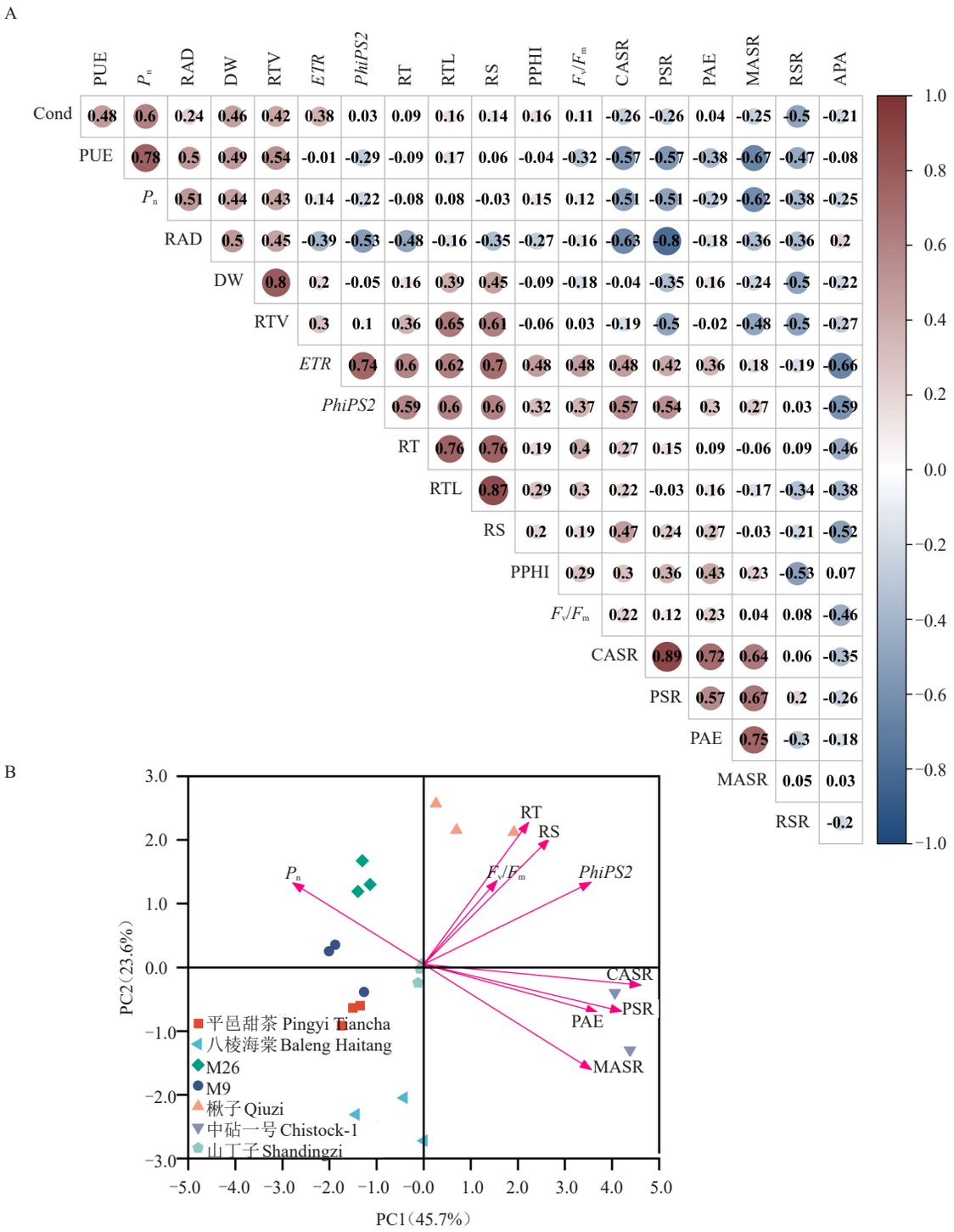
图 4　7 种苹果砧木在不同磷水平下的根系分泌物差异

Fig. 4　Differences in root exudates of seven apple rootstocks at different phosphorus levels

分泌量大有关，因此其耐低磷胁迫能力较强；八棱海棠有机酸及质子分泌量也较大，且其根系分泌的酸性磷酸酶活性显著高于除山丁子外的其余 5 种砧木；楸子和 M26 的耐低磷机制与 RSA 关系密切，楸子的总根长度长、根系总表面积大、根尖数多，M26 则在低磷条件下有着较大的根总体积，这与季萌萌等[28]对 5 种苹果砧木低磷胁迫下的研究结果一致；M9 则以较高的 P_n 来应对低磷胁迫。为适应低磷环境植物也会提高根冠比，促进根系发育，进而有效利用环境中的磷[29]。这与本研究结果一致，山丁子相较于其他 6 种砧木有着最大的根冠比，将更多的光合产物分配到根系，促进根系对磷的吸收。

3.2　根系分泌物与苹果砧木磷吸收的关系

相关性分析结果表明，在额外施加磷酸钙后，PAE 与 CASR、MASR、PSR 等指标之间关系密切，且均呈正相关。其中，中砧一号在 7 种苹果砧木中有着最大的 PAE，其根系分泌的柠檬酸、苹果酸及质子等酸性物质也较多，这表明增加根系分泌物是磷高效苹果砧木对低磷胁迫的生理适应性特征，也是影响苹果砧木磷元素高效吸收的重要机制，这与前人研究结果一致[30-31]。此外，多项研究也表明低磷胁迫下植株的净光合速率、气孔导度等均下降[32]，*PSII* 开放中心的活性、电子传递效率及光能转换效率也受到抑制，以此促发热能耗散保护光合器官[33]。韩梦等[34]对茄子幼苗进行了不同浓度磷的处理，结果也表明不同磷浓度对茄子幼苗叶片的光合作用、荧光特性有着不同程度的影响。本试验的相关性分析结果表明，P_n 与根系分泌物相关指标之间呈负相关，主



A. 相关性热图；B. 主成分分析。PAE. 磷吸收效率；PUE. 磷利用效率；PPHI. 株高增长比例；RSR. 根冠比；DW. 总干质量；CASR. 柠檬酸分泌速率；MASR. 苹果酸分泌速率；PSR. 质子分泌速率；APA. 酸性磷酸酶活性；RTL. 总根长度；RS. 根系总表面积；RTV. 根总体积；RAD. 根平均直径；RT. 根尖数；P_n. 光合速率；Cond. 气孔导度；F_v/F_m. 最大光化学量子效率；*ETR*. 电子传递速率；*PhiPS2*. 实际光化学效率。

A. Correlation heat map; B. Principal component analysis. PAE. phosphorus acquisition efficiency; PUE. phosphorus utilization efficiency; PPHI. percentage of plant height increase; RSR. root-shoot ratio; DW. dry weight; CASR. citric acid secretion rate; MASR. malic acid secretion rate; PSR. proton secretion rate; APA. acid phosphatase activity; RTL. root total length; RS. root surface; RTV. root total volume; RAD. root average diameter; RT. root tips; P_n. photosynthetic rate; Cond. stomatal conductance; F_v/F_m. maximum photochemical efficiency of *PSII* ; *ETR*. photosynthetic electron transport rate; *PhiPS2*. actual photochemical efficiency.

图 5　额外施加磷酸钙后 7 种苹果砧木各指标的相关性及主成分分析

Fig. 5　Correlation and principal component analysis of seven apple rootstocks treated with extra calcium phosphate

成分分析进一步证实了在低磷胁迫下，苹果砧木的光合速率与根系分泌物各指标之间呈现相反的趋势，这表明低磷胁迫使苹果砧木的光合速率降低，进而促使根系分泌更多的分泌物来溶解土壤中难溶态磷，以此来提高磷高效苹果砧木的磷元素吸收效率达到缓解低磷胁迫的目的。

3.3 苹果砧木根系柠檬酸和苹果酸的分泌促进了低磷条件下的磷吸收

根分泌有机酸被认为是有效获取磷酸盐的重要策略[35]，原因是有机酸可以通过阴离子交换或金属离子螯合取代不溶性配合物中的磷，使磷更容易被根系吸收[36-37]。在低磷胁迫下，柠檬酸、苹果酸和草酸是植物根系分泌的常见有机酸[38]。在缺磷胁迫下，根系分泌的有机酸总量能在一定程度上反映植物的耐低磷能力，磷高效植物通过增加某些特定有机酸的分泌来溶解土壤中难溶态磷，以此来提高根际土壤的有效磷含量应对缺磷胁迫。黄爱缨等[30]分别对磷高效和磷低效玉米自交系在低磷胁迫时的有机酸分泌量进行了测定，结果表明，无论是4叶期的草酸柠檬酸分泌量、5~6叶期的草酸苹果酸分泌量，还是7叶期的苹果酸分泌量，磷高效玉米自交系的有机酸分泌总量显著高于磷低效玉米自交系。因此，在低磷条件下，根系分泌有机酸的量一定程度上能代表植株的耐低磷能力，分泌越多，对磷元素的吸收利用越高效。在本试验中，与正常施磷相比，低磷处理显著提高了除M26以外其余6种砧木的根系CASR，也显著提高了除M26和楸子以外其余砧木的MASR。另外，中砧一号有着最高的PAE和CASR，同时其MASR也显著高于除八棱海棠以外的其余5种砧木。额外施加磷酸钙后，部分砧木的酸类物质分泌增加，PAE提高，相关性结果也表明这2种酸与PAE的相关性显著，表明这2种酸的分泌在苹果砧木响应低磷胁迫时有着重要的作用，增加根系柠檬酸和苹果酸的分泌是耐低磷苹果砧木植物应对磷胁迫的重要机制。但是，是否是通过促进土壤难溶态磷的分解来耐低磷的机制还有待进一步研究。

4 结 论

在低磷胁迫下，7种苹果砧木的耐低磷机制有所差异，主要表现为总根长度、总表面积及根尖数的增加；根系分泌的增加；光合速率的降低等。其中楸子和M26的总根长度显著高于其余5种砧木；M9和M26的光合速率显著高于除平邑甜茶外的其他砧木；八棱海棠根系分泌的酸性磷酸酶活性较高。此外，根系酸类物质分泌与各砧木的吸收效率呈正相关，中砧一号的PAE最高，其柠檬酸和质子分泌速率也均高于其余6种砧木，同时其MASR也显著高于除八棱海棠以外的其余5种砧木，在低磷条件下表现出了磷元素高效吸收的能力。与低磷处理相比，额外施加磷酸钙能显著提高苹果砧木中砧一号和山丁子的PAE。

参考文献 References：

[1] SCHACHTMAN D P，REID R J，AYLING S M. Phosphorus uptake by plants：From soil to cell[J]. Plant Physiology，1998，116(2)：447-453.

[2] VANCE C P，UHDE-STONE C，ALLAN D L. Phosphorus acquisition and use：Critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource[J]. New Phytologist，2003，157(3)：423-447.

[3] SHEN J B，YUAN L X，ZHANG J L，LI H G，BAI Z H，CHEN X P，ZHANG W F，ZHANG F S. Phosphorus dynamics：From soil to plant[J]. Plant Physiology，2011，156(3)：997-1005.

[4] MA J C，HE P，XU X P，HE W T，LIU Y X，YANG F Q，CHEN F，LI S T，TU S H，JIN J Y，JOHNSTON A M，ZHOU W. Temporal and spatial changes in soil available phosphorus in China (1990-2012)[J]. Field Crops Research，2016，192：13-20.

[5] RICHARDSON A E，BAREA J M，MCNEILL A M，PRIGENT-COMBARET C. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms[J]. Plant and Soil，2009，321(1)：305-339.

[6] WILLIAMSON L C，RIBRIOUX S P，FITTER A H，LEYSER H M. Phosphate availability regulates root system architecture in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology，2001，126(2)：875-882.

[7] DESNOS T. Root branching responses to phosphate and nitrate[J]. Current Opinion in Plant Biology，2008，11(1)：82-87.

[8] ZHOU J，JIAO F C，WU Z C，LI Y Y，WANG X M，HE X W，ZHONG W Q，WU P. OsPHR2 is involved in phosphate-starvation signaling and excessive phosphate accumulation in shoots of plants[J]. Plant Physiology，2008，146(4)：1673-1686.

[9] CHAI X，XIE L，WANG X，WANG H，ZHANG J，HAN Z，WU T，ZHANG X，XU X，WANG Y. Apple rootstocks with different phosphorus efficiency exhibit alterations in rhizosphere bacterial structure[J]. Journal of Applied Microbiology，2020，128(5)：1460-1471.

[10] GORDON-WEEKS R，TONG Y P，EMYR DAVIES T G，LEGGEWIE G. Restricted spatial expression of a high-affinity phosphate transporter in potato roots[J]. Journal of Cell Science，2003，116(15)：3135-3144.

[11] SUN T T，ZHANG J K，ZHANG Q，LI X L，LI M J，YANG Y Z，ZHOU J，WEI Q P，ZHOU B B. Transcriptome and metabolome analyses revealed the response mechanism of apple to different phosphorus stresses[J]. Plant Physiology and Biochemistry，2021，167：639-650.

[12] LÓPEZ- ARREDONDO D L，LEYVA- GONZÁLEZ M A，GONZÁLEZ- MORALES S I，LÓPEZ- BUCIO J，HERRERA-ESTRELLA L. Phosphate nutrition：improving low- phosphate tolerance in crops[J]. Annual Review of Plant Biology，2014，65：95-123.

[13] GONZÁLEZ-PÉREZ E，ORTEGA-AMARO M A，SALAZAR-BADILLO F B，BAUTISTA E，DOUTERLUNGNE D，JIMÉNEZ-BREMONT J F. The *Arabidopsis-Trichoderma* interaction reveals that the fungal growth medium is an important factor in plant growth induction[J]. Scientific Reports，2018，8：16427.

[14] GHAHREMANI M，TRAN H，BIGLOU S G，O'GALLAGHER B，SHE Y M，PLAXTON W C. A glycoform of the secreted purple acid phosphatase AtPAP26 co- purifies with a mannose-binding lectin (AtGAL1) upregulated by phosphate-starved *Arabidopsis*[J]. Plant，Cell & Environment，2019，42(4)：1139-1157.

[15] LUGLI L F，ANDERSEN K M，ARAGÃO L E O C，CORDEIRO A L，CUNHA H F V，FUCHSLUEGER L，MEIR P，MERCADO L M，OBLITAS E，QUESADA C A，ROSA J S，SCHAAP K J，VALVERDE- BARRANTES O，HARTLEY I P. Multiple phosphorus acquisition strategies adopted by fine roots in low- fertility soils in Central Amazonia[J]. Plant and Soil，2020，450(1/2)：49-63.

[16] VALENTINUZZI F，PII Y，VIGANI G，LEHMANN M，CESCO S，MIMMO T. Phosphorus and iron deficiencies induce a metabolic reprogramming and affect the exudation traits of the woody plant *Fragaria* × *ananassa*[J]. Journal of Experimental Botany，2015，66(20)：6483-6495.

[17] 樊卫国，罗燕 . 不同磷水平下 4 种柑橘砧木的生长状况、根系形态和生理特性[J]. 中国农业科学，2015，48(3)：534-545.
FAN Weiguo，LUO Yan. Growth status，root morphology and physiological characteristics of four *Citrus* rootstocks under different phosphorus levels[J]. Scientia Agricultura Sinica，2015，48(3)：534-545.

[18] GUO H C，YORK L M. Maize with fewer nodal roots allocates mass to more lateral and deep roots that improve nitrogen uptake and shoot growth[J]. Journal of Experimental Botany，2019，70(19)：5299-5309.

[19] PENG W T，WU W W，PENG J C，LI J J，LIN Y，WANG Y N，TIAN J，SUN L L，LIANG C Y，LIAO H. Characterization of the soybean GmALMT family genes and the function of GmALMT5 in response to phosphate starvation[J]. Journal of Integrative Plant Biology，2018，60(3)：216-231.

[20] KIDD D R，RYAN M H，HAHNE D，HALING R E，LAMBERS H，SANDRAL G A，SIMPSON R J，CAWTHRAY G R. The carboxylate composition of rhizosheath and root exudates from twelve species of grassland and crop legumes with special reference to the occurrence of citramalate[J]. Plant and Soil，2018，424(1)：389-403.

[21] NI J J，WU P，LOU A C，ZHANG Y S，TAO Q N. Low phosphorus effects on the metabolism of rice seedlings[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis，1996，27(18/19/20)：3073-3084.

[22] M'SEHLI W，YOUSSFI S，DONNINI S，DELL'ORTO M，DE NISI P，ZOCCHI G，ABDELLY C，GHARSALLI M. Root exudation and rhizosphere acidification by two lines of *Medicago ciliaris* in response to lime-induced iron deficiency[J]. Plant and Soil，2008，312(1)：151-162.

[23] RAMAEKERS L，REMANS R，RAO I M，BLAIR M W，VANDERLEYDEN J. Strategies for improving phosphorus acquisition efficiency of crop plants[J]. Field Crops Research，2010，117(2/3)：169-176.

[24] 陈磊，王盛锋，刘荣乐，汪洪 . 不同磷供应水平下小麦根系形态及根际过程的变化特征[J]. 植物营养与肥料学报，2012，18(2)：324-331.
CHEN Lei，WANG Shengfeng，LIU Rongle，WANG Hong. Changes of root morphology and rhizosphere processes of wheat under different phosphate supply[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science，2012，18(2)：324-331.

[25] ZOU X H，WEI D，WU P F，ZHANG Y，HU Y N，CHEN S T，MA X Q. Strategies of organic acid production and exudation in response to low-phosphorus stress in Chinese fir genotypes differing in phosphorus-use efficiencies[J]. Trees，2018，32(3)：897-912.

[26] GÜLÜT K Y，ÖZDEMIR O. Phosphorus tolerance levels of different chickpea genotypes[J]. Saudi Journal of Biological Sciences，2021，28(9)：5386-5390.

[27] 陈凌，王君杰，王海岗，曹晓宁，刘思辰，田翔，秦慧彬，乔治军 . 耐低氮糜子品种的筛选及农艺性状的综合评价[J]. 中国农业科学，2020，53(16)：3214-3225.
CHEN Ling，WANG Junjie，WANG Haigang，CAO Xiaoning，LIU Sichen，TIAN Xiang，QIN Huibin，QIAO Zhijun. Screening of broomcorn millet varieties tolerant to low nitrogen stress and the comprehensive evaluation of their agronomic traits[J]. Scientia Agricultura Sinica，2020，53(16)：3214-3225.

[28] 季萌萌，许海港，彭玲，任饴华，葛顺峰，姜远茂 . 低磷胁迫下五种苹果砧木的磷吸收与利用特性[J]. 植物营养与肥料学报，2014，20(4)：974-980.
JI Mengmeng，XU Haigang，PENG Ling，REN Yihua，GE Shunfeng，JIANG Yuanmao. Characteristics of phosphorus absorption and utilization in five apple rootstocks under low phosphorus stress[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer，2014，20(4)：974-980.

[29] 栗振义，张绮芯，仝宗永，李跃，徐洪雨，万修福，毕舒贻，曹婧，何峰，万里强，李向林 . 不同紫花苜蓿品种对低磷环境的形态

与生理响应分析[J]. 中国农业科学，2017，50(20)：3898-3907.
LI Zhenyi，ZHANG Qixin，TONG Zongyong，LI Yue，XU Hongyu，WAN Xiufu，BI Shuyi，CAO Jing，HE Feng，WAN Liqiang，LI Xianglin. Analysis of morphological and physiological responses to low pi stress in different alfalfas[J]. Scientia Agricultura Sinica，2017，50(20)：3898-3907.

[30] 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 Aiying，DAI Xianzhu，WANG Sangen，CAI Yilin. Effect of low-phosphorus stress on root exudation of maize inbred lines at the seedling stage[J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition)，2008，30(4)：73-77.

[31] 张振海，陈琰，韩胜芳，张孟臣，王冬梅 . 低磷胁迫对大豆根系生长特性及分泌 H^+ 和有机酸的影响[J]. 中国油料作物学报，2011，33(2)：135-140.
ZHANG Zhenhai，CHEN Yan，HAN Shengfang，ZHANG Mengchen，WANG Dongmei. Effect of P deficiency stress on soybean root system and its secretion of H^+ and organic acid[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences，2011，33(2)：135-140.

[32] 张可炜，王贤丽，李坤朋，张举仁 . 低磷胁迫对耐低磷玉米自交系幼苗光合特性的影响[J]. 山东大学学报（理学版），2007，42(3)：89-94.
ZHANG Kewei，WANG Xianli，LI Kunpeng，ZHANG Juren. Effect of low-level phosphorus stress on photosynthetic characteristics of maize inbred line seedlings with low-level phosphorus tolerance[J]. Journal of Shandong University (Natural Science)，2007，42(3)：89-94.

[33] 王菲，曹翠玲 . 磷水平对不同磷效率小麦叶绿素荧光参数的影响[J]. 植物营养与肥料学报，2010，16(3)：758-762.
WANG Fei，CAO Cuiling. Effects of phosphorus levels on chlorophyll fluorescence parameters of wheat (*Triticum aestivum* L.) with different phosphorus efficiencies[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science，2010，16(3)：758-762.

[34] 韩梦，张荣，陈爽，单光耀，刘晓，徐帅，王巨媛，翟胜 . 不同浓度磷对茄子叶片光合及荧光特性的影响[J]. 中国瓜菜，2019，32(12)：57-59.
HAN Meng，ZHANG Rong，CHEN Shuang，SHAN Guangyao，LIU Xiao，XU Shuai，WANG Juyuan，ZHAI Sheng. Effects of different phosphorus on photosynthetic and fluorescence characteristics of eggplant[J]. China Cucurbits and Vegetables，2019，32(12)：57-59.

[35] NARANG R A，BRUENE A，ALTMANN T. Analysis of phosphate acquisition efficiency in different *Arabidopsis* accessions[J]. Plant Physiology，2000，124(4)：1786-1799.

[36] JONES D L. Organic acids in the rhizosphere：A critical review[J]. Plant and Soil，1998，205：25-44.

[37] RYAN P R，DELHAIZE E，JONES D L. Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology，2001，52(1)：527-560.

[38] LÓPEZ- BUCIO J，NIETO- JACOBO M F，RAMÍREZ- RODRÍGUEZ V，HERRERA-ESTRELLA L. Organic acid metabolism in plants：From adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils[J]. Plant Science，2000，160(1)：1-13.