

施氮对不同分隔方式间作蚕豆根系分泌柚皮素的影响

刘英超, 肖靖秀, 汤利, 郑毅*

云南农业大学资源与环境学院, 昆明650201

摘要: 合理间作可以促进豆科植物结瘤, 促进与之间作作物氮素的固定和利用。柚皮素作为能被根瘤菌识别的重要根系分泌物, 在豆科作物根瘤的形成过程中具有十分重要的作用, 但施氮量和根系分隔方式对间作蚕豆根系分泌柚皮素的变化尚不清楚。本文通过盆栽和水培试验, 采用尼龙分隔(MB)、塑料分隔(PB)、无分隔(NB)三种分隔方式, 研究了小麦蚕豆间作在不同氮水平条件下, 蚕豆根系柚皮素分泌量及分泌速率。结果表明, 低氮条件下, 与塑料分隔(PB)相比, 尼龙分隔(MB)柚皮素分泌量提高了34.1%, 分泌速率提高了31.1%; 无分隔(NB)柚皮素分泌量提高了54.6%, 分泌速率无明显差异。推荐施氮条件下, 尼龙分隔(MB)和无分隔(NB)柚皮素的分泌量提高了67%和24.6%, 不同根系分隔方式对蚕豆柚皮素的分泌速率没有明显影响。高氮条件下, 三种分隔方式间差异不显著, 但分泌速率较低氮和推荐施氮条件明显减小。总之, 施氮和间作根系分隔方式能影响蚕豆植物根系柚皮素的分泌。

关键词: 氮; 分隔方式; 蚕豆; 柚皮素

近年来, 为了满足迅速膨胀人口的粮食需要, 农业生产追求高产、再高产的目标(Li等2013b)。间套作作为我国传统农业的精髓, 具有充分利用资源和大幅度增加产量的特点(冯晓敏等2015)。豆科禾本科间作体系作为最传统的间作模式之一(吴娜等2015), 利用了生物固氮的优点, 是一种稳产、高产、高效、可持续的种植体系(肖靖秀等2014)。

适量使用氮肥可以使豆科与非豆科间作体系优势增加(Corre-Hellou等2007)。如小麦蚕豆间作体系, 适量供氮条件下, 间作小麦随供氮量的提高产量不断增加(Tosti和Guiducci 2010), 这是因为禾本科竞争能力强于豆科, 吸收到更多的土壤无机氮肥, 促进了自身的生长。但施氮也是有一定限度的, 不可以无休止的增加, 过量的施氮使蚕豆的产量相对下降(Fan等2006)。由于豆科本身具有固氮能力, 过多的氮素只能引起营养体的增长, 造成氮素的分配失衡, 影响根瘤菌的固氮活性, 对产量产生负效应(Waddington等2007)。因此氮肥的施用就相当重要。

最新研究表明, 豆科禾本科间作系统根系分泌物尤其黄酮类物质在豆科作物结瘤固氮中发挥着重要作用(Novák等2002)。柚皮素作为一种二氢黄酮类化合物, 在抗菌、抗氧化、抗癌、抗病毒、抗衰老、保护肝功能以及类雌激素等方面具有重要作用(季鹏等2015; 刘晓燕等2008; Haugaard-Nielsen等2009)。已有研究表明, 将柚皮素、橙皮素和槲皮素等黄酮类物质分别加入到豌豆的

培养体系中, 发现高浓度(10~100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)柚皮素促进了豌豆根毛的卷曲变形, 即早期的结瘤响应(Li等2007), 说明柚皮素在豌豆结瘤过程中发挥着重要作用, 并且是促进豌豆等豆类作物结瘤响应的重要成分之一。结瘤固氮作用受到间作种植模式和施氮量的影响, 柚皮素作为诱导根瘤菌结瘤的重要黄酮类物质, 氮肥施用量对柚皮素的分泌具有哪些影响目前还不清楚。已有研究表明, 根系的互作程度可以改变间作作物磷的吸收(张雷昌等2015), 间作种植模式下根系不同交互作用是否对根系分泌黄酮也有影响目前尚不清楚。因此, 本试验以豆科与禾本科间作种植模式下的小麦//蚕豆作为研究对象, 探究间作种植模式下根系分隔方式和施氮量对柚皮素分泌的影响不仅有利于深入认识合理间作增产的本质, 对阐明豆科禾本科间作提高养分利用效率、提高农田生态系统生产力和稳定性具有重要意义。

材料与方法

1 供试材料

盆栽试验种植土取自云南农业大学后山红壤, 基本理化性质为: 碱解氮 $68\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 速效磷 $16\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 速效钾 $137\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, pH 6.08, 有机质 $28.07\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。土壤磨碎过5 mm筛子, 混匀, 每盆装土10

收稿 2017-02-13 修定 2017-05-02

资助 国家自然科学基金(31460551、41361065和31260504)。

* 通讯作者(E-mail: yzheng@ynau.edu.cn)。

kg, 装盆时基肥与土混匀。水培试验培养液采用莫拉德配方表($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$): K_2SO_4 0.75×10^{-3} 、 MgSO_4 0.65×10^{-3} 、 KCl 0.1×10^{-3} 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 2.0×10^{-3} 、 KH_2PO_4 0.25×10^{-3} 、 H_3BO_3 1×10^{-5} 、 MnSO_4 1×10^{-6} 、 CuSO_4 1×10^{-7} 、 ZnSO_4 1×10^{-6} 、 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ 5×10^{-6} 和 Fe-EDTA 1×10^{-4} 。

作物供试品种为小麦‘云麦42’ (*Tricum aestivum* L. cv. Yunmai 42), 蚕豆‘玉溪大粒豆’ (*Vicia faba* L. cv. Yuxi bean), 种子由云南省农业科学研究所粮食作物研究所提供。

2 试验方法

2.1 试验设计

小麦蚕豆间作试验采用土培和溶液培养模式完成。试验设计为两因素试验, A为根系分隔方式, 设小麦//蚕豆尼龙分隔(mesh barrier, MB, 尼龙网孔径为300目, 保证水分养分通过, 根系间无交互作用), 小麦//蚕豆塑料分隔(polythene barrier, PB, 根系无交互作用), 小麦//蚕豆无分隔(no barrier, NB, 根系完全交互作用)三种根系分隔方式(图1); B为氮肥施用水平, 设低氮、推荐施氮和高氮三种氮素供应水平。盆栽试验所用盆钵大小为238 mm×320 mm, 每盆装土10 kg; 所用氮肥品种为尿素, 正常氮肥施用量为 $150\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 磷肥品种为过磷酸钙, 施用量为 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 钾肥为硫酸钾, 施用量为 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。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。液体培养试验所用容器为容积3 L的

PVC桶, 营养液内时刻保持通氧气, 且每3天更换一次, 保持pH值在6.8~6.95范围内, 氮肥供应为浓度 $2.0\times 10^{-3}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 溶液, 其中, 试验所有低氮处理均为推荐施氮量的一半, 高氮处理为推荐施氮量的1.5倍。土培和液体培养试验均为9个处理, 每个处理4次重复, 采样3次, 共计108桶。

2.2 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, 剩下饱满种子, 用饱和 CaSO_4 溶液浸润30 cm×20 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20~25°C下放置发芽。种子萌发至2片子叶展开时, 将均匀一致的幼苗取出, 小心用水冲洗后移栽。水培试验大粒种子在移栽时去胚乳。每盆移栽的幼苗为间作4株蚕豆、8株小麦, 土培试验为间作6株蚕豆、12株小麦, 分2行种植。

分别于出苗后60、95和131 d采集植株样品, 收取根系分泌物, 测定作物生物量, 并烘干后称重。根系分泌物收集方法: 将植株从培养容器中取出, 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 $0.005\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl_2 溶液的收集袋中, 将袋子放入原生长容器中, 用锡箔纸将收集瓶包裹, 在补光灯照射下, 通气收集根系分泌物2 h, 收集后将植株取出, 收集液整理后存放在-20°C冰箱冷冻备用(Neumann和Römheld 2007; 董艳等2015)。将植株样品分为根茎叶称鲜重后烘干杀青, 烘干后称重。

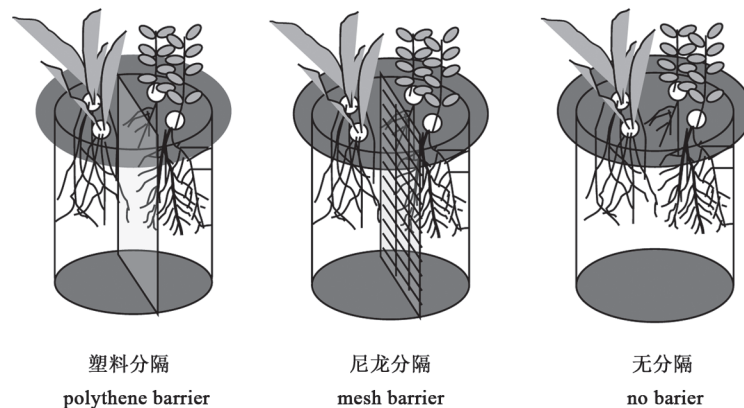


图1 小麦蚕豆间作不同根系分隔示意图

Fig.1 Schematic diagram of different root barriers in wheat and faba bean intercropping system

2.3 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, 将3次萃取液混匀后倒入旋转蒸发器中蒸发浓缩, 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 μm 滤膜后放入HPLC中测定柚皮素的含量。

色谱柱为Synergi 4u Hydro-RP 80A (250 mm \times 4.6 mm ID), 测定流动相A为色谱纯甲醇, B为超纯水, 洗脱条件为: A 30%~40% (5 min) \rightarrow 40%~60% (10 min) \rightarrow 60%~90% (25 min) \rightarrow 90% (29 min) \rightarrow 90%~30% (34 min) \rightarrow 30% (37 min) \rightarrow 停止洗脱(37 min)。液相色谱测定条件: 波长270 nm、柱温30 $^{\circ}\text{C}$ 、流速 0.9 mL \cdot min $^{-1}$, 在选定的色谱条件下,

得到柚皮素(10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的混合标准品及待测样品的色谱图(图2)。柚皮素的检测限为0.01 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。根据保留时间来确定柚皮素, 通过外标法计算出柚皮素的含量。

2.4 数据处理与分析

分泌速率的计算公式为单位时间(h)单位鲜根(g)分泌的柚皮素含量, 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, $\alpha=0.05$)。

实验结果

1 施氮和根系不同分隔方式对蚕豆根重的影响

由表1可以看出, 蚕豆根重受到氮肥施用水平

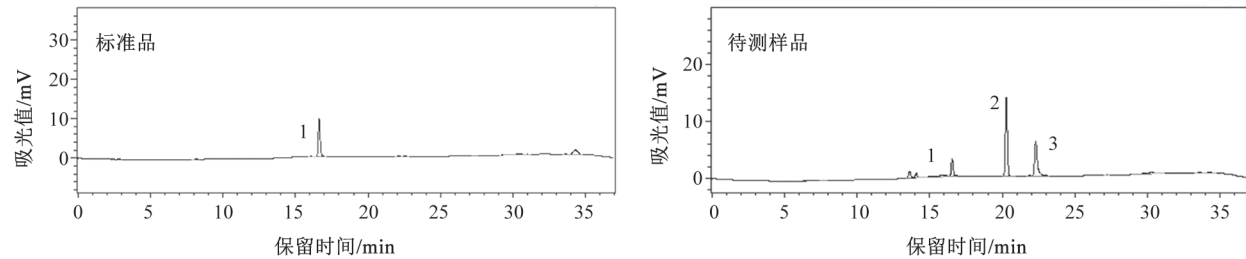


图2 柚皮素色谱图

Fig.2 Chromatograms of naringenin

1: 柚皮素(naringenin); 2: 染料木素(genistein); 3: 橙皮素(hesperitin)。

表1 不同处理对蚕豆根重的影响

Table 1 Effect of different treatments on weight of faba bean root

时间/d	处理	水培				盆栽			
		低氮	推荐施氮	高氮	平均值	低氮	推荐施氮	高氮	平均值
60	NB	0.32 ^a	0.40 ^a	0.47 ^a	0.40 ^A	0.40 ^a	0.48 ^a	0.56 ^a	0.48 ^A
	MB	0.14 ^b	0.32 ^b	0.38 ^b	0.28 ^B	0.26 ^b	0.29 ^b	0.33 ^b	0.29 ^B
	PB	0.15 ^b	0.25 ^c	0.31 ^c	0.23 ^B	0.22 ^b	0.37 ^b	0.40 ^b	0.33 ^B
	平均值	0.20 ^a	0.32 ^b	0.39 ^c		0.29 ^a	0.38 ^b	0.43 ^c	
95	NB	1.15 ^a	1.58 ^a	1.69 ^a	1.47 ^A	1.31 ^a	1.46 ^a	1.62 ^a	1.46 ^A
	MB	0.78 ^b	1.14 ^b	1.21 ^b	1.05 ^B	1.02 ^b	1.08 ^c	1.16 ^c	1.08 ^B
	PB	0.79 ^b	1.00 ^c	1.11 ^c	0.97 ^B	0.94 ^c	1.23 ^b	1.31 ^b	1.16 ^B
	平均值	0.91 ^a	1.24 ^b	1.34 ^b		1.09 ^a	1.26 ^b	1.36 ^b	
131	NB	3.79 ^a	4.41 ^a	4.62 ^a	4.27 ^A	3.87 ^a	4.17 ^a	4.48 ^a	4.17 ^A
	MB	3.31 ^b	3.79 ^b	4.04 ^b	3.72 ^B	3.53 ^b	3.66 ^b	3.81 ^b	3.67 ^B
	PB	3.08 ^c	3.51 ^c	3.73 ^c	3.44 ^B	3.12 ^c	3.86 ^b	3.96 ^b	3.65 ^B
	平均值	3.40 ^a	3.90 ^b	4.13 ^c		3.51 ^a	3.90 ^b	4.08 ^b	

不同小写字母表示同一生育期内相同氮水平不同一分隔方式下0.05水平下差异显著($P<0.05$), 不同大写字母表示对应变量平均值间0.05水平下差异显著($P<0.05$)。表2同此。

和根系分隔方式的影响, 施氮量越高, 根重越重, 无分隔蚕豆根重高于塑料和尼龙分隔。无论土培还是水培种植模式下, 蚕豆根重随施氮量增加逐渐增加, 但增加量随生长天数增加而逐渐减少。液体培养方式下, 植株生长60、95和131 d时, 随施氮量增加, 蚕豆根重分别增加47.8%、22.4%和10.4%, 土培条件下, 蚕豆根重分别增加23.4%、12.3%和8.2%。相同氮水平条件下, 蚕豆根重无分隔远大于尼龙和塑料分隔, 蚕豆生长60、95和131 d时, 无分隔分别高于尼龙分隔61.3%、38.2%和14.4%, 无分隔分别高于塑料分隔64.5%、39.5%和19.6%, 但尼龙分隔和塑料分隔之间差异不大。说明蚕豆根重同时受到氮肥施用水平和根系分隔方式的影响, 同时说明, 根系之间交互作用越大对蚕豆根系生长的影响越大。

2 施氮和根系不同分隔方式对蚕豆根系分泌柚皮素的影响

图3表明, 施氮水平与根系分隔方式对柚皮素分泌均有影响, 相同氮水平下, 尼龙分隔柚皮素分

泌数量和速率均高于塑料分隔。盆栽试验中, 相比于氮肥施用量, 根系分隔方式对小麦//蚕豆体系柚皮素分泌量影响更明显。相同根系分隔方式下, 蚕豆柚皮素分泌量随生育期逐渐减少。同一生育期内, 不同分隔方式条件下, 尼龙分隔和无分隔方式蚕豆根系柚皮素分泌量高于塑料分隔, 尤其蚕豆开花期(60 d)时, 低氮条件下, 无分隔和尼龙分隔分别高于塑料分隔54.6%和34.1%, 推荐氮肥用量条件下, 无分隔和尼龙分隔高于塑料分隔67%和24.6%; 蚕豆结荚(95 d)和鼓粒期(131 d), 不同分隔方式间差异不显著, 根系之间有相互作用(无分隔、尼龙分隔)时更能促进蚕豆柚皮素的分泌, 同时说明蚕豆开花期(60 d)间作根系不同分隔方式对柚皮素分泌影响较大。高氮条件下, 不同根系分隔方式间柚皮素分泌差异不显著。液体培养试验具有相同的趋势。

3 施氮和根系不同分隔方式对蚕豆根系柚皮素分泌速率的影响

表2表明, 蚕豆根系分泌柚皮素的速率随施氮

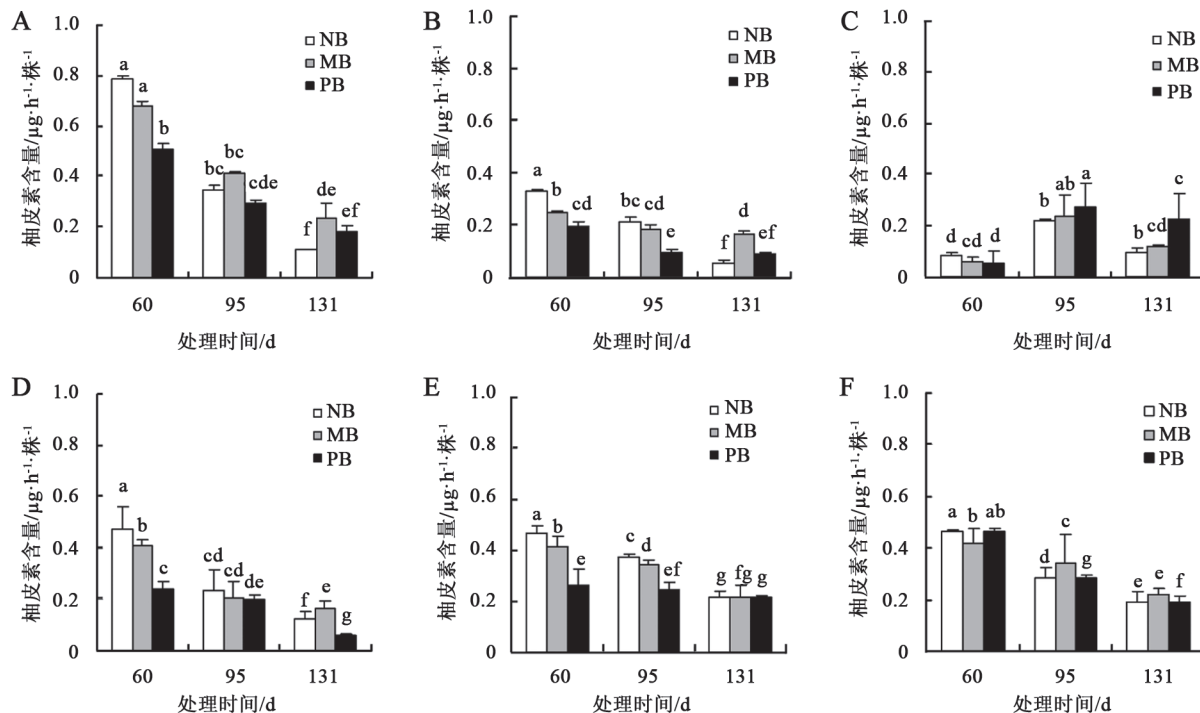


图3 不同处理对蚕豆根系分泌柚皮素的影响

Fig.3 Effect of different treatments on naringenin secretion in faba bean root

A~C分别为盆栽试验中低氮、推荐施氮和高氮水平下不同分隔方式蚕豆柚皮素分泌量, D~F分别为液体培养试验中低氮、推荐施氮和高氮水平下不同分隔方式蚕豆柚皮素分泌量, 不同字母表示相同氮水平条件0.05水平下差异显著($P < 0.05$)。

表2 不同处理对蚕豆根系柚皮素分泌速率的影响

Table 2 Effects of different treatments on naringenin secretion rate in faba bean root

时间/d	处理	水培				盆栽			
		低氮	推荐施氮	高氮	平均值	低氮	推荐施氮	高氮	平均值
		$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$							
60	NB	1.82 ^c	0.62 ^a	0.14 ^a	0.86 ^B	0.59 ^b	0.49 ^a	0.21 ^a	0.43 ^A
	MB	3.64 ^a	0.57 ^b	0.11 ^a	1.44 ^A	0.80 ^a	0.42 ^b	0.24 ^a	0.49 ^A
	PB	2.62 ^b	0.58 ^b	0.13 ^a	1.11 ^A	0.56 ^b	0.36 ^c	0.18 ^a	0.37 ^B
	平均值	2.69 ^a	0.59 ^b	0.13 ^c		0.65 ^a	0.42 ^b	0.21 ^c	
95	NB	0.23 ^b	0.10 ^a	0.10 ^b	0.14 ^A	0.09 ^a	0.13 ^{ab}	0.09 ^b	0.10 ^A
	MB	0.40 ^a	0.12 ^a	0.15 ^a	0.22 ^A	0.10 ^a	0.16 ^a	0.15 ^a	0.14 ^A
	PB	0.28 ^b	0.07 ^a	0.18 ^a	0.18 ^A	0.11 ^a	0.10 ^b	0.11 ^b	0.11 ^A
	平均值	0.30 ^a	0.10 ^b	0.14 ^b		0.10 ^a	0.13 ^a	0.12 ^a	
131	NB	0.02 ^b	0.01 ^a	0.02 ^a	0.02 ^A	0.02 ^a	0.03 ^a	0.02 ^a	0.02 ^A
	MB	0.05 ^a	0.03 ^a	0.02 ^a	0.03 ^A	0.02 ^a	0.03 ^a	0.03 ^a	0.03 ^A
	PB	0.04 ^{ab}	0.02 ^a	0.05 ^a	0.04 ^A	0.01 ^a	0.03 ^a	0.02 ^a	0.02 ^A
	平均值	0.04 ^a	0.02 ^a	0.03 ^a		0.02 ^a	0.03 ^a	0.02 ^a	

量的增加逐渐减小,尤其在作物生长前期(60 d)差异明显。盆栽试验中,蚕豆生长60 d时,低氮处理蚕豆根系柚皮素分泌速率分别高于推荐氮肥用量和高氮用量3.6和21.1倍,水培试验分别高于推荐氮肥用量和高氮用量0.6和2.1倍,说明养分胁迫条件会促进蚕豆柚皮素分泌速率增加。蚕豆柚皮素的分泌速率还受到根系分隔方式的影响,同样在蚕豆生长60 d时差异最显著。试验中,低氮条件下,与塑料分隔和无分隔相比,尼龙分隔柚皮素的分泌速率分别提高了31.1%和41.8%,推荐施氮和过量施肥条件下,不同根系分隔方式对蚕豆柚皮素的分泌速率没有明显影响。这可能一方面由于养分胁迫条件下,诱导根系产生大量的分泌物,另一方面根系间有相互作用时,邻近植物的根系会影响作物的生长和根系柚皮素的分泌。

讨 论

本研究中,土培和水培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,故两个试验结果存在一定偏差,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,以便更好地进行根际研究。

试验研究表明,蚕豆根重随施氮量增加而增

加,但增加幅度随生长天数逐渐减少,试验中,结荚(95 d)和鼓粒期(131 d),常规施氮和高氮蚕豆根重无明显差异,说明高氮并没有促进蚕豆根系生长的作用。高氮环境下,作物受到过量养分的负荷,产生“氮阻遏”现象,可见,间作蚕豆生长并不需施用大量氮肥(Xiao等2004)。试验结果还表明,相比于尼龙和塑料分隔,根系无分隔条件下蚕豆根重明显增加,说明根系交互作用程度会影响蚕豆根系的生长。这可能是由于根系交互作用,使作物根系接触面积不同,影响两种间作物根系互相生长。塑料分隔时,其地下部生长模式相当于单作,作物根系之间没有质流扩散作用引起的水分养分吸收竞争性,也缺乏促进根系生长的动力和机制。尼龙分隔根系时,地下部具有半交互作用,水分养分可以透过尼龙网相互流动,根系之间没有交互影响,根重量整体会有增加,说明小麦蚕豆间作在只有水分养分交互作用的条件下,在一定程度上也有利于蚕豆根系的生长(Li等2012),但与塑料分隔相比并没有明显差异。作物之间具有完全交互作用时(无分隔),根系之间的表皮接触面积增加,促使地下部的生长。也可能是由于两种作物根系有交互作用时根系分泌物进一步促进根系生长(Lian等2002),目前机理还不清楚,需要下一步的研究和验证。

与小麦间作,蚕豆柚皮素分泌量并不会随施

氮量的增加而增加,与之相反,低氮条件下,柚皮素分泌量和分泌速率最高,这是由于养分胁迫条件下,间作体系竞争氮素更加激烈,为了更多的固定氮素(Li等2016),作为结瘤的信号物质,柚皮素分泌量随之上升。但这些现象主要在作物生长前期(Li等2013a),氮素已经被固定后,固氮的信号物质的分泌量受氮水平的影响较小(Wang等2012)。不同根系分隔方式条件下,尼龙分隔的柚皮素分泌量和分泌速率总是大于塑料分隔,这是因为根系间养分的相互作用促进了作物根系分泌物的产生(Zhang和Li 2003),且主要是在蚕豆生长前期和非高氮水平下作用明显。但同样具有养分互相流通的无分隔方式柚皮素分泌量最大,分泌速率并没有达到最大,相比于柚皮素的分泌,根重增加更多,这也可能是因为无分隔条件下,蚕豆根系分泌柚皮素的同时,与之具有交互作用的小麦分泌物分解了蚕豆分泌的柚皮素(Maj等2010),但具体机理尚不清楚,需要进一步研究。

相比液体培养和其他培养方式,土培试验更能模拟蚕豆的生长真实环境,但液体培养试验能相对减少采样过程中的偶然误差,故将土培和液体培养试验结果相比较,相互验证。本研究明确了氮素施用水平和不同根系分隔方式均对柚皮素的分泌产生作用,而这种作用可能是影响蚕豆结瘤固氮的因素之一。当然,黄酮的种类很多,其他对结瘤固氮过程有影响的黄酮类物质是否也受到氮素施用水平和种植模式的影响,仍值得进一步研究。

参考文献

- Corre-Hellou G, Brisson N, Launay M, Fustec J, Crozat Y (2007). 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 Res*, 103 (1): 76–85
- Dong Y, Dong K, Tang L, Zheng Y, Li XR, Hu GB, Liu YM (2015). Relationship of free amino acids in root exudates with wilt disease (*Fusarium oxysporum*) of faba bean. *Acta Pedol Sin*, 52 (4): 919–925 (in Chinese with English abstract) [董艳, 董坤, 汤利, 郑毅, 李欣然, 胡国彬, 刘一鸣(2015). 蚕豆根系分泌物中氨基酸含量与枯萎病的关系. *土壤学报*, 52 (4): 919–925]
- Fan FL, Zhang FS, Song YN, Sun JH, Bao XG, Guo TW, Li L (2006). Nitrogen fixation of faba bean (*Vicia faba* L.) interacting with a non-legume in two contrasting intercropping systems. *Plant Soil*, 283 (1): 275–286
- Feng XM, Yang Y, Ren CZ, Hu YG, Zeng ZH (2015). Effects of legumes intercropping with oat on photosynthesis characteristics and grain yield. *Acta Agron Sin*, 41 (9): 1426–1434 (in Chinese with English abstract) [冯晓敏, 杨永, 任长忠, 胡跃高, 曾昭海(2015). 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*, 41 (9): 1426–1434]
- Haugaard-Nielsen H, Gooding M, Ambus P, Corre-Hellou G, Crozat Y, Dahlmann C, Dibet A, Fragsteind P, Pristerie A, Montie M, et al (2009). Pea-barley intercropping for efficient symbiotic N₂-fixation, soil N acquisition and use of other nutrients in European organic cropping systems. *Field Crops Res*, 113 (1): 64–71
- Ji P, Zhao WM, Yu T (2015). Recent research progress of naringenin. *Chin J New Drugs*, 24 (12): 1382–1387 (in Chinese with English abstract) [季鹏, 赵文明, 于桐(2015). 柚皮素的最新研究进展. *中国新药杂志*, 24 (12): 1382–1386]
- Li B, Knunbeinb A, Neugarth S, Li L, Schreiner M (2012). Mixed cropping with maize combined with moderate UV-B radiations lead to enhanced flavonoid production and root growth in faba bean. *J Plant Interact*, 7 (4): 1–8
- Li B, Li YY, Wu HM, Zhang FF, Li CJ, Li XX, Lambers H, Li L (2016). Root exudates drive interspecific facilitation by enhancing nodulation and N₂ fixation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 113 (23): 6496–6501
- Li L, Sun JH, Zhou LL, Bao XG, Zhang HG (2007). Diversity enhances agricultural productivity via rhizosphere phosphorus facilitation on phosphorus-deficient soils. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104 (27): 11192–11196
- Li L, Zhang L, Zhang F (2013a). Crop mixtures and the mechanisms of overyielding. In: Waisel Y, Eshel A, Kalkafi U (eds). *Encyclopedia of Biodiversity* (2nd Edn). Beijing: China Agricultural University Press, 382–395
- Li XP, Li M, Hai N, Mu YH (2013b). Effects of intercropping sugarcane and soybean on growth, rhizosphere soil microbes, nitrogen and phosphorus availability. *Acta Physiol Plant*, 35 (4): 1113–1119
- Lian B, Souleimanov A, Zhou XM, Smith DL (2002). *In vitro* induction of lipo-chitooligosaccharide production in *Bradyrhizobium japonicum* cultures by root extracts from non-leguminous plants. *Microbiol Res*, 157 (1): 157–160
- Liu XY, He P, Jin JY (2008). 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 Nutr Fert Sci*, 14 (5): 929–934 (in Chinese with English abstract) [刘晓燕, 何萍, 金继运(2008). 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*, 14 (5): 929–934]
- Maj D, Wielbo J, Marek-Kozaczuk M, Skorupska A (2010). Response to flavonoids as a factor influencing competitiveness and symbiotic activity of *Rhizobium leguminosarum*. *Microb Res*, 165 (1): 50–60
- Neumann G, Römheld V (2007). The release of root exudates as affected by the plant physiological status. In: Pinton R, Varanini Z, Nannipieri Z (eds). *The Rhizosphere. Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface* (2nd Edn). Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 23–72
- Novák K, Chovanec P, Škrdleta V, Kropáčová M, Lisá L, Němcová

- M (2002). Effect of exogenous flavonoids on nodulation of pea (*Pisum sativum* L.). *J Exp Bot*, 53 (375): 1735–1745
- Tosti G, Guiducci M (2010). Durum wheat-faba bean temporary intercropping: Effects on nitrogen supply and wheat quality. *Eur J Agron*, 33 (3): 157–165
- Waddington SR, Mekuria M, Siziba S, Karigwindi J (2007). Long-term yield sustainability and financial returns from grain legume-maize intercrops on a sandy soil in sub humid north central Zimbabwe. *Exp Agric*, 43 (4): 489–503
- Wang D, Yang SM, Tang F, Zhu H (2012). Symbiosis specificity in the legume-rhizobial mutualism. *Cell Microbiol*, 14 (3): 334–342
- Wu N, Liu XX, Liu JL, Lu W (2015). Effects of intercropping potatoes with oats on the photosynthetic characteristics and yield of potato. *Acta Pratac Sin*, 24 (8): 65–72 (in Chinese with English abstract) [吴娜, 刘晓侠, 刘吉利, 鲁文(2015). 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*, 24 (8): 65–72]
- Xiao JX, Zheng Y, Tang L (2014). Effects of wheat and faba bean intercropping on root exudation of low molecular weight organic acids. *Chin J Appl Ecol*, 25 (6): 1739–1744 (in Chinese with English abstract) [肖靖秀, 郑毅, 汤利(2014). 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*, 25 (6): 1739–1744]
- Xiao YB, Li L, Zhang FS (2004). Effect of root contact on interspecific competition and N transfer between wheat and faba bean using direct and indirect ¹⁵N techniques. *Plant Soil*, 262 (1): 45–54
- Zhang FS, Li L (2003). Using competitive and facilitative interactions in intercropping systems enhance crop productivity and nutrients-use efficiency. *Plant Soil*, 248 (1): 305–312
- Zhang LC, Tang L, Zheng Y (2015). Phosphorus absorption of crops affected by root interaction in maize and soybean intercropping system. *Plant Nutr Fert Sci*, 21 (5): 1142–1149 (in Chinese with English abstract) [张雷昌, 汤利, 郑毅(2015). 根系互作对玉米大豆间作作物磷吸收的影响. *植物营养与肥料学报*, 21 (5): 1142–1149]

Effects of nitrogen application rate on the naringenin exudation from intercropped faba bean's roots in different separation patterns

LIU Ying-Chao, XIAO Jing-Xiu, TANG Li, ZHENG Yi*

College of Resources and Environmental Science, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

Abstract: Rational intercropping can promote nodulation of legumes and facilitate the fixation and utilization of nitrogen between crops. As an important root secreted material that identified by rhizobium, naringenin plays a very important role in the formation of root nodules of legumes, but how to nitrogen levels affect naringenin, it is not clear. By pot and water cultural experiments of wheat//faba bean, used mesh barrier (MB), polythene barrier (PB), and no barrier (NB) separation patterns, secretion and secretion rate of naringenin of faba bean were studied at different nitrogen levels in wheat and faba bean intercropping system. The results showed that, under the condition of nitrogen deficiency, compared with PB, secretion of naringenin in MB system was increased by 34.1%, and secretion rate increased by 31.1%; in NB system, secretion of naringenin was increased by 54.6%, but there was no significant change in secretion rate. Under the condition of nitrogen adequate, secretion of naringenin in MB and NB system were increased by 67% and 24.6%, while secretion rate were not obviously affected in different separation systems. Under the condition of high nitrogen, the differences among three separation patterns are not significant, but the secretion rates were decreased significantly compared to deficiency and adequate nitrogen obviously. In short, nitrogen fertilizer and roots separation in intercropping system could change the secretion of naringenin secreted by faba bean.

Key words: nitrogen; root barriers; faba bean; naringenin

Received 2017-02-13 Accepted 2017-05-02

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 31460551, 41361065 and 31260504).

*Corresponding author (E-mail: yzheng@ynau.edu.cn).