自然科学基金项目进展专栏

论 文

磷和外源生长素对白羽扇豆(*Lupinus albus* L.)根形态和生理特性的影响唐宏亮^{①②}, 申建波^{①*}, 张福锁^①, Zed Rengel^③^① 中国农业大学资源环境与粮食安全研究中心, 北京 100193;^② 河北大学生命科学学院, 保定 071002;^③ Soil Science & Plant Nutrition, School of Earth and Environment, The University of Western Australia, Crawley WA 6009, Australia

* 联系人, E-mail: jbshe@cau.edu.cn

收稿日期: 2012-08-14; 接受日期: 2013-02-11

国家自然科学基金(批准号: 30925024, 30890131, 30871591 和 31121062)、北京市自然科学基金(批准号: 6122021)和中国农业大学研究生科研支持计划(批准号: KYCX2011040)资助项目

摘要 白羽扇豆(*Lupinus albus* L.)对磷和生长素表现出高度的根系形态和生理可塑性反应, 然而磷和生长素如何调节根形态和生理特性以及它们对根形态和生理的交互效应尚不清楚. 本研究通过水培实验旨在评价磷(0或250 $\mu\text{mol/L}$)和生长素(10^{-8} mol/L NAA)对白羽扇豆根特性的影响及其交互效应. 结果表明, 缺少磷和生长素施用均明显改变了白羽扇豆的根形态(主根长度减少、一级侧根数目增加和排根大量形成)和生理特性(质子释放、柠檬酸分泌和酸性磷酸酶活性增加). 外源生长素的施用增加了缺磷白羽扇豆根系的响应度和敏感性. 磷和生长素对白羽扇豆根系形态和生理具有明显的交互作用. 主成分分析表明, 磷解释了根特性 64.8%的信息, 而生长素解释了 21.3%的信息, 表明磷供应对白羽扇豆根特性的影响比外源生长素施用更为重要. 白羽扇豆能够通过协调根系形态和生理对外部刺激(如缺磷和施用生长素)作出应答, 以及优化根形态和生理之间的关系从而最大化获取磷素资源.

关键词排根
有机酸分泌
质子
缺磷
白羽扇豆

磷是非常重要的养分因子, 参与植物体内许多生理生化反应的调节, 对植物生长发育有着至关重要的作用^[1,2]. 土壤中积累有较高水平的总磷, 然而它们大多对植物有效性很低^[3]. 在酸性土壤(形成氧化态或氢氧化态的铁磷或铝磷复合体)和钙质土壤(形成磷酸钙沉淀)中, 低磷有效性极大限制了作物的生长^[4,5].

植物已经形成了一些适应性的机制来提高其对磷的吸收和获取能力. 这些机制包括根形态和构型

的改变, 特异根系分泌物的产生以及与菌根形成互利共生体^[2,6]. 植物通过根形态(根的增生)和根生理(吸收速率的增加)的改变获取土壤中的异质性养分资源^[7]. 早期的研究大多基于根长、侧根密度、根毛长度、生物量分配、根系分泌物、磷酸酶活性等根形态和生理参数来研究植物根系对缺磷或低磷适应的可塑性反应. 植物根系对低磷的反应主要表现在使更多的资源向地下部的分配^[8,9], 这引起根冠比以及磷获取能力的提高^[10,11]. 植物对低磷的适应性反应

引用格式: 唐宏亮, 申建波, 张福锁, 等. 磷和外源生长素对白羽扇豆(*Lupinus albus* L.)根形态和生理特性的影响. 中国科学: 生命科学, 2013, 43: 201-212, doi: 10.1360/052012-284

英文版见: Tang H L, Shen J B, Zhang F S, et al. Interactive effects of phosphorus deficiency and exogenous auxin on root morphological and physiological traits in white lupin (*Lupinus albus* L.). Sci China Life Sci, 2013, 56, in press

也表现在根系形态的改变, 如比根长^[12]、根毛密度和长度^[13,14]以及侧根分枝数和长度的增加^[15]。根系在形态上的这些可塑性反应在很大程度上增加了与土壤的接触面积^[16], 使植物能从磷亏缺的土壤或从土壤中的磷富足区捕获磷^[17~19]。

除了形态上的改变外, 根系在生理上的适应性改变对磷资源的获取同样尤为重要^[20~22]。根系在生理上的改变有助于增强对磷的获取, 这些改变普遍与质子释放^[4,23]、有机酸的分泌^[4]和酸性磷酸酶活性^[24]密切相关。一些植物为了适应土壤中磷营养分的不足, 形成了特异的根结构, 称为排根^[25~29]。在白羽扇豆(*Lupinus albus* L.)中, 排根的形成不仅极大地扩展了根表面积, 更重要的是, 排根通过释放质子, 分泌有机酸和酸性磷酸酶等根系分泌物^[30~33], 活化和利用土壤中矿物束缚态磷和矿化有机磷, 从而增加土壤磷的生物有效性。总之, 低磷有效性和具有低磷背景的磷富足区均能引起根系形态和生理特性的改变。

生长素在缺磷诱导的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)根毛伸长、侧根起始^[34]以及白羽扇豆排根形成中具有非常重要的作用^[35,36]。当施用外源生长素时, 缺磷的拟南芥比磷供应充足的拟南芥形成更多的侧根^[34]。相比较, 缺磷的白羽扇豆排根对外源生长素施用的响应程度则不如磷供应充足那样明显^[35,37]。在水稻(*Oryza sativa*)中, 缺磷和生长素的结合施用使 OsIPS1 和 OsIPS2 的表达量比单独缺磷处理提高了 20%, 说明生长素对缺磷信号具有放大效应^[38]。基因表达微阵列数据分析表明, 缺磷也能使水稻根系中大多能被生长素诱导的基因上调, 表明生长素和缺磷信号之间也许存在交互作用^[39]。由此可见, 植物对磷和生长素的响应紧密关联在一起。生长素除了能够明显改变根形态外, 更重要的是生长素能诱导小麦和大豆根系质膜 H⁺-ATPase 活性的增强^[23,40]。质膜 H⁺-ATPase 活性的增强通常引起膜电势的增加, 促进离子跨膜运输, 导致质外体的酸化以及由此所引起的有机酸分泌^[33,41]。由此可见, 生长素在很大程度上可以调节植物的根形态和根生理。

白羽扇豆是一个用以研究根系对磷的响应的模式植物^[22,42], 其对缺磷具有强烈的根系形态和生理反应。前期的大量研究已经揭示, 白羽扇豆根系对磷或生长素的形态学反应, 然而很少涉及磷和生长素如何同时影响根形态和根生理以及它们之间的交互

作用。本研究以白羽扇豆为目标植物, 主要目的在于: (i) 磷和生长素对白羽扇豆根形态和生理的交互效应; (ii) 磷和生长素引起白羽扇豆根形态和生理改变的相对重要性; (iii) 磷或生长素在白羽扇豆根形态和根生理相对重要性的相互转变中所起的作用。

1 材料与方法

1.1 植物培养

白羽扇豆种子经 10% 过氧化氢消毒 20 min, 去离子水冲洗 5 次后, 置于两层湿润的滤纸上, 25℃ 下避光培养 4 天。选取 3 株大小一致的幼苗, 移栽到盛有 2.0 L 不同磷水平的营养液中通气培养。营养液的组成如下 (μmol/L): Ca(NO₃)₂ 2000, K₂SO₄ 700, MgSO₄ 500, KCl 100, H₃BO₃ 10, ZnSO₄ 0.5, MnSO₄ 0.5, CuSO₄ 0.2, (NH₄)₆Mo₇O₂₄ 0.01 和 EDTA-FeNa 20。磷以 KH₂PO₄ 的形式加入, 设 2 个磷水平: 0 μmol/L P(缺磷)和 250 μmol/L P(供磷)^[28]。由于生长素对植物根系形态的影响具有明显的浓度依赖性, 因此系列浓度(10⁻⁶~10⁻¹⁰ mol/L)的外源生长素 α-萘乙酸(NAA)和生长素极性转运抑制剂 2,3,5-三碘苯甲酸(TIBA)用于评价最佳的施用剂量。结果发现, 1×10⁻⁸ mol/L 为最佳的施用剂量, 该浓度既能引起根形态的明显变化, 又不影响地上部分的生长。从白羽扇豆出苗后第 4 天开始, 每隔 3 天更换一次营养液, 并按 1×10⁻⁸ mol/L 的浓度添加生长素及其转运抑制剂到营养液中。白羽扇豆培养于人工气候室中: 光照时间(白天/夜晚: 16 h/8 h), 昼夜温度 28℃/22℃, 光照强度为 200 μmol/m² s, 相对湿度为 75%~85%。实验设 -P(0 μmol/L), +P(250 μmol/L), -P+Auxin, +P+ Auxin, +P+TIBA 和 -P+TIBA 共 6 个处理, 每处理 4 个重复, 完全随机排列, 每 7 天改变盆的位置, 以最大化消除环境效应。

1.2 根形态

分别于出苗后的不同时间测量主根长度, 统计一级侧根数目, 并计算侧根密度(主根长/侧根数目)^[15]。排根定义为每厘米一级侧根上密集生长大于 10 个小侧根(图 1A 和 B)或侧根原基(图 1C)的根簇。收获时统计突出的和未突出的排根数(光紫显微镜下可见, 但未突破根表皮)。突出的排根可用肉眼直接观察统计, 而未突出的排根, 则需经过固定、透明和染色

图 1 缺磷条件下生长的白羽扇豆根系

A: 缺磷条件下生长 8 天的白羽扇豆, 箭头分别指示主根轴和一级侧根, 圆圈代表单个排根; B: 缺磷条件下形成的单个典型的排根, 箭头指示排根的小侧根; C: 缺磷条件下亚甲基蓝染色的白羽扇豆排根(用于显微观察), 图中箭头分别代表突出的排根和尚未突出的排根

后^[43], 在 10 倍体视显微镜下观察并统计侧根原基的数目, 以确定未突出排根的数目。

1.3 质子释放

每天用 0.05 mol/L NaOH 调节营养液 pH 为 5.8, 同时记录加入 NaOH 的量。质子分泌量根据所消耗的碱量可以计算获得^[44]。

1.4 根系分泌物的收集

为了确定生长素是否能够刺激柠檬酸的分泌, 植株收获时, 采用两种方法收集白羽扇豆完整根系的分泌物和单个排根的分泌物。在第一种方法中, 白羽扇豆在 0 或 250 $\mu\text{mol/L}$ P(每隔 3 天施用或不施用生长素)条件下生长 15 天后, 将整个根系从水培液中取出, 用根系分泌物收集液($\mu\text{mol/L}$: H_3BO_3 5, CaCl_2 600, KCl 100 和 MgCl_2 200, pH 调至 5.6)清洗 3 次, 然后将根系转至盛有 200 mL 收集液并持续通气的 250 mL 烧杯中进行根系分泌物的收集。收集 2 h 后, 取约 10 mL 收集液, 加入 3 滴微生物抑制剂抑制微生物对有机酸的分解, 然后迅速置于 -18°C 冰箱冷冻保存备用; 在第二种方法中, 将缺磷和供磷处理的白羽扇豆根系分为非排根和排根, 用根系分泌物收集液冲洗 3 次后, 称取一定质量, 放于 5 mL 包括 10^{-8} mol/L 生长素 NAA 的(对照不加)根系分泌物收集液中, 在摇

床上慢速摇动以利于根系分泌物的收集。收集 2 h 后, 向根系分泌物收集液中加入 3 滴微生物抑制剂防止微生物的分解, 随后放入 -18°C 冰箱冷冻保存直到分析。

1.5 根系分泌物中有机酸的高效液相色谱检测

收集液解冻, 过 0.22 μm 滤膜后, 直接用高效液相色谱仪检测根系分泌物中的有机酸浓度。分析条件如下: 250 $\times$ 4.6 mm Altima C-18 反相色谱柱; 流动相为 25 mmol/L KH_2PO_4 (pH 2.25); 流速为 1 mL/min; 柱温为 31°C ; 紫外检测器(SPD-10A)检测波长为 214 nm, 进样体积为 20 μL 。根据已知标准品的保留时间和吸收光谱来鉴别有机酸的种类^[29]。

1.6 植株磷浓度和生物量的确定

白羽扇豆生长 15 天后, 将地上部和地下部分开, 在 70°C 下烘 72 h 至恒重, 分别称重(g)。将烘干的植株样品研磨成细粉状, 称取约 0.3 g, 用浓 H_2SO_4 - H_2O_2 消煮, 钒钼黄比色法确定消煮液中的磷含量^[45]。

1.7 根表酸性磷酸酶活性的测定

根表酸性磷酸酶活性根据 Neumann^[46]所描述的方法测定。切取不同处理的非排根和排根(约 0.1 g), 去离子水冲洗 3 次后, 放入 2 mL 含有 0.4 mL 乙酸纳缓冲液(0.2 mol/L, pH 5.2)和 0.5 mL 去离子水的离心管中, 再加入 0.1 mL 对硝基苯磷酸二钠(pNPP)溶液, 使反应体系为 1 mL。缓冲液和 pNPP 在 4°C 下可以存放 1 周时间。在 25°C 水浴中反应 5~10 min 后, 取反应液 0.8 mL, 加入 0.4 mL 0.5 mol/L 的 NaOH 终止反应。将所得溶液在 405 nm 的波长下比色, 计算溶液中对硝基酚(p-nitrophenol, pNP)的含量, 最后称取所取根的鲜重。分别以不同浓度的对硝基酚(0, 2, 4, 8, 12, 16, 20 $\mu\text{g/mL}$)溶液比色绘制标准曲线。酸性磷酸酶活性表述为 $\mu\text{mol pNP/g DW min}$ 。

1.8 数据统计分析

采用 SPSS 13.0 for Windows(September 2004, SPSS Inc., USA)对数据进行统计分析。一元方差(One-way ANOVA)分析后, 采用 Turkey'HSD 事后检验比较不同处理平均值之间的差异显著性($P \leq 0.05$); 二元方差分析(Two-way ANOVA)用于检验磷、生长素以及两者之间的交互作用对单个根形态和生理参

数的影响; 多变量方差分析(MANOVA)用于研究磷、生长素以及两者之间的交互作用对根形态和生理参数的影响。

主成分分析用于研究磷和生长素对根形态(主根长、一级侧根数、侧根密度、突出的排根数和未突出的排根数)和根生理参数(质子释放、整个根系的有机酸分泌、离体根段的有机酸分泌、非排根酸性磷酸酶活性和排根酸性磷酸酶活性)的影响。提取的前两个主成分用于描述白羽扇豆根系对磷供应和生长素的响应。

2 结果与分析

2.1 磷和生长素对白羽扇豆生物量及地上磷浓度的影响

在培养 15 天后, 缺磷处理的白羽扇豆开始出现如叶黄化、坏疽、脱落以及大量排根的形成等缺磷症状。二元方差分析表明, 磷供应对苗干重、根干重和苗磷浓度有明显的影响(表 1, $P<0.01$)。与供磷植物相比, 缺磷分别引起白羽扇豆 39%~44% 苗干重和 44%~47% 根干重的减少(图 2A)。尽管生长素施用对苗干重和根干重没有显著的影响(表 1 和图 2A), 但其对白羽扇豆苗磷浓度有明显的影响(表 1 和图 2B)。磷和生长素对苗磷浓度存在明显的交互作用($P<0.01$), 对供磷植物来说, 生长素提高了 10.5% 的苗磷浓度, 但对缺磷植物没有显著影响(图 2B)。

2.2 磷和生长素对白羽扇豆主根长度、侧根数量和侧根密度的影响

与供磷相比, 缺磷明显减少了整个生长期白

图 2 磷和生长素对白羽扇豆地上地下干重(A)和苗磷含量(B)的影响

每个数值代表 4 次重复的平均值($\pm$ SE), 不同字母表示具有明显差异($P<0.05$)

羽扇豆的主根长度, 增加了一级侧根的数量(仅在出苗后第 9 天往后), 除了出苗后第 6 天外, 缺磷对侧根密度没有明显影响(图 3A~C)。不管磷供应, 生长素 NAA 的施用减少了主根长度, 增加了侧根数量和侧

表 1 磷和生长素对生物量、苗磷浓度、排根数量、质子释放、柠檬酸分泌和酸性磷酸酶活性影响的二元方差分析

参数		磷		生长素		磷×生长素	
		<i>F</i> 值	<i>P</i> 值	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
	苗干重	93.27	<0.01	1.88	0.19	—	—
	根干重	136.40	<0.01	0.36	0.56	—	—
	苗磷浓度	1700.25	<0.01	14.56	<0.01	9.138	<0.01
排根数量	未突出的排根	38.34	<0.01	20.28	<0.01	8.73	<0.01
	突出的排根	73.92	<0.01	33.93	<0.01	0.695	0.42
	质子释放速率	31.12	<0.01	35.24	<0.01	3.098	0.11
	整个根系	231.51	<0.01	58.03	0.07	58.03	<0.01
柠檬酸分泌速率	离体非排根	42.18	0.68	112.46	0.15	42.83	0.24
	离体排根	46.98	<0.01	125.122	0.04	46.98	0.115
酸性磷酸酶活性	非排根	169.47	<0.01	3.85	0.07	6.34	<0.05
	排根	725.48	<0.01	40.15	0.06	32.99	<0.01

根密度(仅在出苗后第 6 天往后), 生长素对侧根数量和侧根密度的正效应在缺磷植物中比供磷植物更为明显(图 3B 和 C). 相比而言, 生长素转运抑制剂 TIBA 的施用尽管没有明显影响白羽扇豆的主根长度, 但从出苗第 6 天向后明显减少了一级侧根的数量和密度(图 3D~F).

2.3 磷和生长素对白羽扇豆排根形成的影响

二元方差分析表明, 磷和生长素对突出的和未突出的排根数量有明显的影响(表 1, $P<0.01$). 当白羽扇豆培养至第 15 天时, 缺磷白羽扇豆形成 37 个排根(12 个突出的排根, 7 个未突出的排根), 而供磷植物仅有 11 个排根(4 个突出的排根, 7 个未突出的排根). 除了对缺磷条件下未突出的排根没有明显影响外, 外源生长素的施用明显增加了突出和未突出排根的数量. 由此可见, 磷和生长素对未突出排根的数量

有一个明显的交互作用(表 1, $P<0.01$). 供磷条件下, 外源生长素的施用增加了 154% 的排根数量(突出的排根增加了 147%, 未突出的排根增加了 158%); 在缺磷条件下, 排根数量仅增加了 19%; 生长素转运抑制剂的施用明显减少了缺磷植物排根的数量(65%), 但对供磷植物来说, 仅减少了 9%(图 4).

2.4 磷和生长素对白羽扇豆质子释放、柠檬酸分泌和酸性磷酸酶活性的影响

为了更准确地描述质子的释放, 本研究在实验期间每天动态检测了质子的释放过程. 在生长的前 8 天, 质子积累释放量呈现缓慢增加的趋势. 8 天后, 质子累积释放量快速增加; 在第 15 天时, 供磷植物的质子累积释放量有所下降. 在出苗第 7 天往后, 缺磷植物的质子释放积累量均高于供磷植物; 在出苗第 10 天以后, 生长素的施用增加了缺磷和供磷植物

图 3 不同磷供应条件下, 生长素(NAA)及其转运抑制剂(TIBA)对白羽扇豆主根长度(A 和 D)、侧根数量(B 和 E)和侧根密度(C 和 F)的影响

每个数值代表 4 次重复的平均值($\pm$ SE)

图4 不同磷供应条件下生长素及其转运抑制剂对白羽扇豆排根形成的影响

每个数值代表4次重复的平均值($\pm$ SE), 不同字母表示具有明显差异($P < 0.05$)

的质子累积释放量(图5)。此外, 本研究也计算了白羽扇豆生长最后3天的质子释放速率(图5插图)。二元方差分析结果表明, 磷和生长素对质子释放速率具有明显的影响(表1, $P < 0.01$)。不管是否供应生长素, 缺磷明显提高了白羽扇豆的质子释放速率。对供磷植物而言, 生长素的施用提高了69%的质子释放速率; 对缺磷植物来说, 生长素的施用使质子释放速率提高了133%(图4插图)。

为了确定生长素的施用是否能够刺激柠檬酸的分泌, 在出苗后第15天, 白羽扇豆整个根系用于收集根系分泌物。二元方差分析表明, 磷对整个根系柠檬酸分泌具有明显的影响, 生长素的作用不显著, 两者对整个根系柠檬酸分泌存在明显的交互作用(表1)。缺磷植物每小时每克鲜重的根能分泌 $0.214 \mu\text{mol}$ 的柠檬酸, 当加入生长素后, 柠檬酸的分泌量几乎增加了2倍; 对供磷植物来说, 不管是否添加生长素, 均未检测到柠檬酸的分泌(图6A)。为进一步评价生长素对柠檬酸分泌的贡献, 对缺磷和供磷条件下白羽扇豆离体的非排根和排根段在生长素存在条件下分别处理2 h。结果表明, 磷和生长素对离体排根的柠檬酸分泌具有明显的影响(表1)。与磷供应相比, 缺磷使离体排根柠檬酸的分泌速率提高了4.7~5.2倍, 生长素的施用使供磷植物和缺磷植物排根的柠檬酸分泌分别提高了70.6%和56.6%(图6B)。相比而言,

磷和生长素对非排根柠檬酸分泌速率并无明显的影响(表1和图6B)。

本研究通过同时测定非排根和排根根表酸性磷酸酶活性来研究磷和生长素对酸性磷酸酶活性的影

图5 磷和生长素对白羽扇豆质子累积释放量的影响

插图: 为收获前3天的质子释放速率, 每个数值代表4次重复的平均值($\pm$ SE), 不同字母表示具有明显差异($P < 0.05$)

图6 磷和生长素对白羽扇豆整个根系(A)以及离体的排根和非排根(B)柠檬酸分泌的影响

每个数值代表4次重复的平均值($\pm$ SE), 不同字母表示具有明显的差异($P < 0.05$), nd表示未检测到

响. 二元方差分析结果表明, 磷对排根和非排根酸性磷酸酶活性有明显的影响, 生长素并未明显影响两种类型根的酸性磷酸酶活性, 然而磷和生长素对两种类型根的酸性磷酸酶活性的影响存在明显的交互效应(表 1). 不论是否施用生长素, 缺磷明显增加了非排根和排根的酸性磷酸酶活性(图 7). 缺磷条件下, 排根比非排根有更高的酸性磷酸酶活性, 但在供磷条件下两者并没有明显的差异. 生长素的施用使缺磷植物的酸性磷酸酶活性提高了 37%~39%, 但对供磷植物排根和非排根酸性磷酸酶活性均无显著的影响(图 7).

2.5 磷、生长素对白羽扇豆根形态和生理变异模式和相对重要性的影响

对根形态和生理参数进行主成分分析表明, 提取的前两个主成分解释了数据组 86.1% 的总变异, 其中主成分 1 解释了 64.8%, 主成分 2 解释了 21.3%, 并将 4 个不同的处理组(+P+NAA, +P-NAA, -P+NAA, -P-NAA)明显分开(图 8A). 主成分 1 基于磷供应可将 4 个处理分成两大类, 即缺磷和供磷两个类别; 主成分 2 基于生长素也可以将 4 个处理组分成两大类, 即添加生长素和不添加生长素两个处理. 进一步对前两个主成分得分的多变量方差分析表明(表 2), 磷和生长素对根形态和生理参数具有明显的影响(磷: Hotelling 轨迹=354, $F=106$, $P<0.001$; 生长素:

图 7 磷和生长素对白羽扇豆离体排根和非排根酸性磷酸酶分泌的影响

每个数值代表 4 次重复的平均值($\pm$ SE), 不同字母表示具有明显差异($P<0.05$)

图 8 磷和生长素对根形态和生理特性变异模式和相对重要性的影响

A: 主成分分析排序图, 10 个根参数(5 个根形态参数: 主根长、一级侧根数、侧根密度、突出的排根数和未突出的排根数; 5 个根生理参数: 质子释放、整个根系的有机酸分泌、离体根段的有机酸分泌、非排根酸性磷酸酶活性和排根酸性磷酸酶活性)用于提取主成分; B: 根形态和生理的相对重要性, 对根形态和生理参数分别进行主成分提取, 基于提取的前两个主成分, 分别计算根形态得分和根生理得分

表 2 磷和生长素对根形态和生理特性影响的多变量方差分析

变异来源	Hotelling 轨迹	F 值	P 值
磷	353.647	106.094	<0.001
生长素	145.274	43.582	0.005
磷×生长素	103.358	31.007	0.008

Hotelling 轨迹=145, $F=43.6$, $P<0.001$), 同时二者对根形态也存在一个明显的交互作用(磷×生长素: Hotelling 轨迹=103, $F=31.0$, $P<0.001$). 通过主成分分析可见, 缺磷植物比供磷植物具有更强的根形态和根生理; 且在缺磷条件下, 根生理对于磷资源的获取比根形态更为重要(图 8B). 生长素的施用改变了根

形态和根生理之间的平衡. 对供磷植物来说, 这种改变效应趋向于以根形态为主导, 但对缺磷植物来说, 这种改变效应几乎可以忽略(图 8B).

3 讨论

3.1 磷和生长素对根形态参数的影响

植物根系对环境变化具有高度的可塑性, 新根的不断产生使其能不断适应磷有效性的变化^[47,48]. 这种可塑性反应通过提高根的觅食和吸收能力来增强对磷的获取^[26,49]. 与前期研究结果^[15,35,37,47]类似, 本实验表明, 磷是侧根发育(图 3)和排根形成(图 4)的关键控制因子. 然而, 磷对侧根发育和排根形成的机制并没有得到充分理解.

此前的研究表明, 生长素在植物根形态对缺磷适应中发挥着极其重要的作用^[34,35,48,49]. 在模式植物拟南芥中, 缺磷能够引起生长素在体内的重新分配和生长素敏感性的增加^[15,34,47,49]. 在白羽扇豆中, 源自于根的生长素(并非苗)对缺磷所引起的排根形成具有至关重要的作用^[36]. 在水稻中, 外源生长素能够扩大缺磷所引起的适应性反应^[38], 生长素和缺磷信号通路之间存在交互作用^[39]. 外源生长素的施用明显增加了拟南芥侧根的发育和白羽扇豆排根的形成, 然而生长素对抗剂则抑制了根的这些反应^[35,50,51]. 以上研究表明, 缺磷引起的根形态改变在很大程度上依赖于生长素信号. 在本研究中, 不管是否供应磷, 生长素的施用减少了白羽扇豆主根长度, 促进了侧根形成和排根的产生(图 3A~C 和图 4), 然而生长素转运抑制剂的施用抑制了白羽扇豆侧根的形成和排根的产生(图 3D~F 和图 4). 有研究表明, TIBA 是一种生长素转运的竞争性抑制剂, 高浓度的 TIBA 能够明显抑制生长素的活性, 但 TIBA 本身也有较弱的生长素活性^[52]. 在本研究中, TIBA 的施用明显干预了生长素的转运, 表现出对白羽扇豆一级侧根和排根形成的抑制作用(图 3D~F 和图 4), 这与前人的研究结果相一致^[15,35,36]. 这些结果证实, 生长素在白羽扇豆根系发育中有着至关重要的作用.

众所周知, 排根在一级侧根上产生, 由短小密集生长的小侧根组成^[30]. 这种特性说明, 排根的形成在很大程度上也依赖于一级侧根的产生. 本研究中, 缺磷或与生长素结合均产生更多数量的一级侧根, 同时也形成了大量的排根. 由此可见, 排根的形成与一

级侧根的产生有密切的关系. 有趣的是, 本研究同时发现, 当施用生长素时, 缺磷植物产生比供磷植物更多的侧根(图 3B 和 C), 但对排根的形成来说恰恰相反(图 4), 表明磷和生长素对白羽扇豆根系发育存在一个复杂的交互调节作用. 这些结果与在拟南芥中的报道结果“缺磷的植物比供磷的植物对生长素的响应更为敏感”相一致^[15]. 最近的一项研究表明, 缺磷对生长素敏感性的调节与生长素受体 TIR1(转运抑制响应元件 1)相关, 其参与了生长素响应抑制元件 AUX/IAA 的泛素化降解, 从而促进了侧根的产生^[34]. 这些结果支持了本研究在白羽扇豆上的研究结果, 缺磷增加了白羽扇豆侧根对生长素的敏感性.

3.2 磷和生长素对根生理参数的影响

根生理可塑性对养分获取具有非常重要的作用^[20]. 缺磷条件下, 一些植物, 如白羽扇豆和菜豆(*Phaseolus vulgaris*)能够释放大量的有机酸、酸性磷酸酶和质子进入根际, 活化并获取难溶性的土壤磷素^[4,12,24]. 在本研究中, 与供磷相比, 缺磷明显增加了白羽扇豆根系的质子释放(图 5), 酸性磷酸酶活性(图 6)和柠檬酸分泌(图 7). 这些结果与在玉米(*Zea mays*)^[53]、菜豆^[24]、白羽扇豆^[26,28,29,35]和紫羽扇豆(*Lupinus pilosus*)^[4]中的报道结果相一致. 相比之下, 缺磷并没有增加大豆(*Glycine max*)根系质子释放^[54]和有机酸分泌量的增加^[55,56]; 在油菜(*Brassica napus*)中, 缺磷也没有增强有机酸的分泌^[57]. 这些结果表明, 缺磷诱导的根系分泌生理的改变高度依赖于植物种类.

缺磷引起的质子释放增加被认为与质膜 H^+ -ATPase 活性和 H^+ 泵的刺激有关^[23,58,59]. 白羽扇豆排根柠檬酸分泌的增加一方面与质子外排有关^[58], 另一方面与平衡电荷所引起的其他阳离子(如 K^+ , Na^+ 和 Mg^{2+})的外排有关^[28,60]. 已有研究表明, 生长素作用的最终靶标是质膜 H^+ -ATPase, 并因此导致质子的分泌^[41]. 本研究中, 不管磷供应如何, 生长素的施用同时提高了质子释放和柠檬酸分泌(图 5 和 6). 缺磷和生长素施用所引起柠檬酸分泌的增加在很大程度上与 H^+ -ATPase 活性有关, 然而两者之间的关系需要进一步研究. 已有研究表明, 白羽扇豆排根柠檬酸的分泌是通过阴离子通道进行的^[32,61,62]. 本研究中, 生长素施用所引起柠檬酸分泌的增加部分归功于阴离子通道的激活^[63,64], 但这仅是一种推测. Sas 等人^[65]研

究发现, 缺磷白羽扇豆的质子分泌量是柠檬酸分泌量的 2~3 倍. 因此, 为了电荷平衡的需要, 柠檬酸分泌的增加反过来会刺激质子释放量的增加. 在本研究中, 白羽扇豆根系的质子释放量总是高于柠檬酸的释放量, 两者之间呈现明显的正相关关系($Y=0.4042X-8.3954$, $R^2=0.6137$, $P=0.0215$), 遵循 3~9:1 的化学计量关系, 这与 Sas 等人^[65]所认为的柠檬酸的分泌解释了大约 50% 的质子分泌量类似. 总之, 缺磷或生长素施用引起质子释放量增加的同时, 必然伴随着柠檬酸分泌的增加.

大量研究表明, 缺磷可以提高白羽扇豆和其他植物种类(玉米、菜豆和大豆等)根系酸性磷酸酶的活性^[24,66]. 在白羽扇豆中, 缺磷植物的排根往往比非排根和供磷植物的排根或非排根有较高的酸性磷酸酶活性^[67]. 本研究中, 缺磷的白羽扇豆非排根和排根比供磷植物具有更高的酸性磷酸酶活性(图 7), 这很可能与缺磷所引起的质外体酸化有关^[68]. 缺磷或生长素施用所引起的质外体酸化为酸性磷酸酶创造了一个最佳的环境条件, 最大化根系酸性磷酸酶活性. 由此来看, 由于缺磷或生长素施用直接或间接地影响质膜 H^+ -ATPase, 促进了质子释放, 同时引起质外体的酸化, 从而增加了酸性磷酸酶活性.

3.3 磷和生长素对根形态参数和生理参数相对重要性的影响

植物根系对资源有效性的时空变化表现出高度的可塑性反应^[69]. 根可塑性的大小和类型在很大程度上依赖于植物种类^[7,21]、资源供应状况^[21]、资源类型和分布的均匀度^[18,20,70]以及竞争者的存在^[71]. 一些植物对外部环境的改变表现出较强的根可塑性反应^[71,72], 然而另一些植物则表现出较弱的根可塑性反应^[7]. 本研究通过主成分分析表明, 白羽扇豆对磷和生长素均表现出明显的根系形态和生理可塑性反应. 由于磷供应解释了 64.8% 的总变异, 生长素解释了 21.3% 的总变异, 因此磷供应对根可塑性的影响要比生长素更为重要(图 8A). 然而, 磷和生长素如何调节根系形态和生理是相对复杂的问题. 在本研究中, 当磷和外源生长素作为外部刺激因素考虑时, 磷比生长素更为重要的研究结果是合理的. 由于生长素对根形态和生理特性调节的复杂性, 因此完全基于外源生长素和磷所获得的关于两者相对重要性的认

识是不充足的. 因此应当注意, 本研究关于磷和生长素对根形态和生理特性的调节及其相对重要性的认识需要在更广泛的条件下进一步研究来确定.

由于根可塑性的复杂性和缺乏综合的理解, 关于根形态和根生理的总体大小和相对重要性的定量较为困难^[73]. Grams 和 Andersen^[74]提出一个观点来解释根形态和生理在获取有限资源时的相对重要性: 当植物根系对养分资源的竞争为“大小不对称性”时, 植物偏向于以根形态改变为主导的获取资源的适应策略; 当植物根系对养分资源的竞争为“大小对称性”分布时, 植物偏向于以根生理改变为主导的获取资源的适应策略. 在土壤中, 养分资源的供应具有单向性和斑块状分布的特点^[20], 植物根系对有限资源的竞争属于“大小不对称性”, 可以认为植物偏向于以根形态改变为主导的获取养分资源的适应策略. 在水培体系中, 养分资源的供应具有多向性的特点, 植物根系对有限资源的竞争属于“大小对称性”, 可以认为植物偏向于以根生理改变为主导的获取资源的适应策略. 即使这样, 根形态和根生理的相对重要性和程度到目前为止并没有被很好地理解. 本研究发现, 水培条件下缺磷或供磷的白羽扇豆偏向于以根生理改变为主导的适应策略, 支持“大小对称性”假说. 然而, 外源生长素的施用使根形态和生理的相对重要性发生了较大的转变. 由于生长素对根形态和根生理的改变程度不同, 因此两者的相对重要性发生了转变, 使供磷的白羽扇豆偏向于以根形态为主导的适应策略(图 8B). 由此可见, 根形态和生理的变异模式和相对重要性在很大程度上依赖于磷和生长素的交互作用. 本研究为植物获取资源的“大小对称与不对称”分布观点提供了重要证据, 表明磷和生长素能够调节白羽扇豆根形态和生理的相对重要性. 本研究中所使用的描述根形态和生理相对重要性的方法可以用于评价植物对环境胁迫的响应等研究中.

总而言之, 本研究发现缺磷明显影响了白羽扇豆的根形态和生理特性, 提高了白羽扇豆侧根对生长素的敏感性. 磷和生长素对白羽扇豆根形态和生理参数的影响存在明显的交互作用. 磷对白羽扇豆根形态和生理可塑性的调节要比生长素更为重要. 白羽扇豆能够有效地协调根形态和生理反应, 提高对磷的获取; 外部环境刺激, 如磷供应和生长素可以使根形态和根生理的相对重要性发生转变.

参考文献

- 1 Holford I C R. Soil phosphorus: its measurement, and its uptake by plant. *Aust J Soil Res*, 1997, 35: 227–239
- 2 Lin W Y, Lin S I, Chiou T J. Molecular regulators of phosphate homeostasis in plants. *J Exp Bot*, 2009, 60: 1427–1438
- 3 Schachtman D P, Reid R J, Ayling S M. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiol*, 1998, 116: 447–453
- 4 Ligaba A, Shen H, Shibata K, et al. The role of phosphorus in aluminium-induced citrate and malate exudation from rape (*Brassica napus*). *Physiol Plantarum*, 2004, 120: 575–584
- 5 Marschner H. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2nd ed. London: Academic Press, 1995
- 6 Vance C P, Uhde-Stone C, Allan D L. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytol*, 2003, 157: 423–447
- 7 Fransen B, Blijenberg J, de Kroon H. Root morphological and physiological plasticity of perennial grass species and the exploitation of spatial and temporal heterogeneous nutrient patches. *Plant Soil*, 1999, 211: 179–189
- 8 Ericsson T. Growth and shoot-root ratio of seedlings in relation to nutrient availability. *Plant Soil*, 1995, 168: 205–214
- 9 Hermans C, Hammond J P, White P J, et al. How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? *Trends Plant Sci*, 2006, 11: 610–617
- 10 Nielsen K L, Eshel A, Lynch J P. The effect of phosphorus availability on the carbon economy of contrasting common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. *J Exp Bot*, 2001, 52: 329–339
- 11 Lynch J P, Ho M D. Rhizoeconomics: carbon costs of phosphorus acquisition. *Plant Soil*, 2005, 269: 45–56
- 12 Pang J Y, Ryan M H, Tibbett M, et al. Variation in morphological and physiological parameters in herbaceous perennial legumes in response to phosphorus supply. *Plant Soil*, 2010, 331: 241–255
- 13 Bates T R, Lynch J P. Stimulation of root hair elongation in *Arabidopsis thaliana* by low phosphorus availability. *Plant Cell Environ*, 1996, 19: 529–538
- 14 Zhu J M, Zhang C C, Lynch J P. The utility of phenotypic plasticity of root hair length for phosphorus acquisition. *Funct Plant Biol*, 2010, 37: 313–322
- 15 López-Bucio J, Hernandez-Abreu E, Sanchez-Calderon L, et al. Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the *Arabidopsis* root system. *Plant Physiol*, 2002, 129: 244–256
- 16 Casper B B, Jackson R B. Plant competition underground. *Annu Rev Ecol Syst*, 1997, 28: 545–570
- 17 He Y, Liao H, Yan X L. Localized supply of phosphorus induces root morphological and architectural changes of rice in split and stratified soil cultures. *Plant Soil*, 2003, 248: 247–256
- 18 Jing J, Rui Y, Zhang F, et al. Localized application of phosphorus and ammonium improves growth of maize seedlings by stimulating root proliferation and rhizosphere acidification. *Field Crop Res*, 2010, 119: 355–364
- 19 Li H G, Shen J B, Zhang F S, et al. Localized application of soil organic matter shifts distribution of cluster roots of white lupin in the soil profile due to localized release of phosphorus. *Ann Bot-London*, 2010, 105: 585–593
- 20 Hodge A. The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients. *New Phytol*, 2004, 162: 9–24
- 21 Jackson R B, Manwaring J H, Caldwell M M. Rapid physiological adjustment of roots to localized soil enrichment. *Nature*, 1990, 344: 58–60
- 22 Neumann G, Martinoia E. Cluster roots—an underground adaptation for survival in extreme environments. *Trends Plant Sci*, 2002, 7: 162–167
- 23 Shen H, Chen J H, Wang Z Y, et al. Root plasma membrane H⁺-ATPase is involved in the adaptation of soybean to phosphorus starvation. *J Exp Bot*, 2006, 57: 1353–1362
- 24 Kouas S, Debez A, Slatni T, et al. Root proliferation, proton efflux, and acid phosphatase activity in common bean (*Phaseolus vulgaris*) under phosphorus shortage. *J Plant Biol*, 2009, 52: 395–402
- 25 Hocking P J, Jeffery S. Cluster-root production and organic anion exudation in a group of old-world lupins and a new-world lupin. *Plant Soil*, 2004, 258: 135–150
- 26 Lambers H, Shane M W, Cramer M D, et al. Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: matching morphological and physiological traits. *Ann Bot-London*, 2006, 98: 693–713
- 27 Lamont B B. Structure, ecology and physiology of root clusters—a review. *Plant Soil*, 2003, 248: 1–19
- 28 Shen J, Li H, Neumann G, et al. Nutrient uptake, cluster root formation and exudation of protons and citrate in *Lupinus albus* as affected by localized supply of phosphorus in a split-root system. *Plant Sci*, 2005, 168: 837–845
- 29 Wang B L, Tang X Y, Cheng L Y, et al. Nitric oxide is involved in phosphorus deficiency-induced cluster-root development and citrate exudation in white lupin. *New Phytol*, 2010, 187: 1112–1123
- 30 Dinkelaker B, Hengeler C, Marschner H. Distribution and function of proteoid roots and other root clusters. *Bot Acta*, 1995, 108:

183–200

- 31 Neumann G, Massonneau A, Martinoia E, et al. Physiological adaptations to phosphorus deficiency during proteoid root development in white lupin. *Planta*, 1999, 208: 373–382
- 32 Neumann G, Römheld V. Root excretion of carboxylic acids and protons in phosphorus-deficient plants. *Plant Soil*, 1999, 211: 121–130
- 33 Tomasi N, Kretschmar T, Espen L, et al. Plasma membrane H^+ -ATPase-dependent citrate exudation from cluster roots of phosphate-deficient white lupin. *Plant Cell Environ*, 2009, 32: 465–475
- 34 Pérez-Torres C A, López-Bucio J, Cruz-Ramírez A, et al. Phosphate availability alters lateral root development in *Arabidopsis* by modulating auxin sensitivity via a mechanism involving the TIR1 auxin receptor. *Plant Cell*, 2008, 20: 3258–3272
- 35 Gilbert G A, Knight J D, Vance C P, et al. Proteoid root development of phosphorus deficient lupin is mimicked by auxin and phosphonate. *Ann Bot-London*, 2000, 85: 921–928
- 36 Meng Z B, You X D, Suo D, et al. Root-derived auxin contributes to the phosphorus-deficiency-induced cluster-root formation in white lupin(*Lupinus albus*). *Physiol Plantarum*, 2012
- 37 Neumann G, Massonneau A, Langlade N, et al. Physiological aspects of cluster root function and development in phosphorus-deficient white lupin(*Lupinus albus* L.). *Ann Bot-London*, 2000, 85: 909–919
- 38 Hou X L, Wu P, Jiao F C, et al. Regulation of the expression of OsIPS1 and OsIPS2 in rice via systemic and local Pi signalling and hormones. *Plant Cell Environ*, 2005, 28: 353–364
- 39 Shen C, Wang S, Zhang S, et al. OsARF16, a transcription factor, is required for auxin and phosphate starvation response in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Environ*, 2012
- 40 Rober-Kleber N, Albrechtova J T P, Fleig S, et al. Plasma membrane H^+ -ATPase is involved in auxin-mediated cell elongation during wheat embryo development. *Plant Physiol*, 2003, 131: 1302–1312
- 41 Hager A. Role of the plasma membrane H^+ -ATPase in auxin-induced elongation growth: historical and new aspects. *J Plant Res*, 2003, 116: 483–505
- 42 Skene K R. Cluster roots: model experimental tools for key biological problems. *J Exp Bot*, 2001, 52: 479–485
- 43 Johnson J F, Vance C P, Allan D L. Phosphorus deficiency in *Lupinus albus*: altered lateral root development and enhanced expression of phosphoenolpyruvate carboxylase. *Plant Physiol*, 1996, 112: 31–41
- 44 Tang C, Barton L, Raphael C. Pasture legume species differ in their capacity to acidify soil. *Aust J Agr Res*, 1998, 49: 53–58
- 45 Westerman R L. Soil Testing and Plant Analysis, 3rd ed. Madison: Soil Science Society of America, 1990
- 46 Neumann G. Quantitative determination of acid phosphatase activity in the rhizosphere and on the root surface. In: Luster J, Finlay R, eds. *Handbook of Methods Used in Rhizosphere Research*. Birmensdorf: Swiss federal Research Institute WSL, 2006
- 47 Malamy J E, Ryan K S. Environmental regulation of lateral root initiation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2001, 127: 899–909
- 48 Williamson L C, Ribrioux S P C P, Fitter A H, et al. Phosphate availability regulates root system architecture in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2001, 126: 875–882
- 49 Nacry P, Canivenc G, Muller B, et al. A role for auxin redistribution in the responses of the root system architecture to phosphate starvation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2005, 138: 2061–2074
- 50 Casimiro I, Marchant A, Bhalerao R P, et al. Auxin transport promotes *Arabidopsis* lateral root initiation. *Plant Cell*, 2001, 13: 843–852
- 51 Reed R C, Brady S R, Muday G K. Inhibition of auxin movement from the shoot into the root inhibits lateral root development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 1998, 118: 1369–1378
- 52 Katekar G F, Geissler A E. Auxin transport inhibitors: IV. Evidence of a common-mode of action for a proposed class of auxin transport inhibitors-the phytoalexins. *Plant Physiol*, 1980, 66: 1190–1195
- 53 Gaume A, Machler F, De Leon C, et al. Low-P tolerance by maize (*Zea mays* L.) genotypes: Significance of root growth, and organic acids and acid phosphatase root exudation. *Plant Soil*, 2001, 228: 253–264
- 54 Tang C, Han X Z, Qiao Y F, et al. Phosphorus deficiency does not enhance proton release by roots of soybean (*Glycine max* (L.) Murr.). *Environ Exp Bot*, 2009, 67: 228–234
- 55 Tang C, Qiao Y F, Han X Z, et al. Genotypic variation in phosphorus utilisation of soybean (*Glycine max* (L.) Murr.) grown in various sparingly soluble P sources. *Aust J Agr Res*, 2007, 58: 443–451
- 56 Yang Z M, Sivaguru M, Horst W J, et al. Aluminium tolerance is achieved by exudation of citric acid from roots of soybean (*Glycine max*). *Physiol Plantarum*, 2000, 110: 72–77
- 57 Ligaba A, Yamaguchi M, Shen H, et al. Phosphorus deficiency enhances plasma membrane H^+ -ATPase activity and citrate exudation in greater purple lupin (*Lupinus pilosus*). *Funct Plant Biol*, 2004, 31: 1075–1083
- 58 Yan F, Zhu Y Y, Müller C, et al. Adaptation of H^+ -pumping and plasma membrane H^+ -ATPase activity in proteoid roots of white lupin under phosphate deficiency. *Plant Physiol*, 2002, 129: 50–63

- 59 Zandonadi D B, Santos M P, Dobbss L B, et al. Nitric oxide mediates humic acids-induced root development and plasma membrane H^+ -ATPase activation. *Planta*, 2010, 231: 1025–1036
- 60 Zhu Y Y, Yan F, Zorb C, et al. A link between citrate and proton release by proteoid roots of white lupin (*Lupinus albus* L.) grown under phosphorus-deficient conditions? *Plant Cell Physiol*, 2005, 46: 892–901
- 61 Wang B, Shen J, Zhang W, et al. Citrate exudation from white lupin induced by phosphorus deficiency differs from that induced by aluminum. *New Phytol*, 2007, 176: 581–589
- 62 Zhang W H, Ryan P R, Tyerman S D. Citrate-permeable channels in the plasma membrane of cluster roots from white lupin. *Plant Physiol*, 2004, 136: 3771–3783
- 63 Diatloff E, Roberts M, Sanders D, et al. Characterization of anion channels in the plasma membrane of *Arabidopsis* epidermal root cells and the identification of a citrate-permeable channel induced by phosphate starvation. *Plant Physiol*, 2004, 136: 4136–4149
- 64 Thomine S, Lelièvre F, Boufflet M, et al. Anion-channel blockers interfere with auxin responses in dark-grown *Arabidopsis* hypocotyls. *Plant Physiol*, 1997, 115: 533–542
- 65 Sas L, Rengel Z, Tang C. Excess cation uptake, and extrusion of protons and organic acid anions by *Lupinus albus* under phosphorus deficiency. *Plant Sci*, 2001, 160: 1191–1198
- 66 Tadano T, Ozawa K, Sakai H, et al. Secretion of acid-phosphatase by the roots of crop plants under phosphorus-deficient conditions and some properties of the enzyme secreted by lupin roots. *Plant Soil*, 1993, 155: 95–98
- 67 Gilbert G A, Knight J D, Vance C P, et al. Acid phosphatase activity in phosphorus-deficient white lupin roots. *Plant Cell Environ*, 1999, 22: 801–810
- 68 Hayes J E, Richardson A E, Simpson R J. Phytase and acid phosphatase activities in extracts from roots of temperate pasture grass and legume seedlings. *Aust J Plant Physiol*, 1999, 26: 801–809
- 69 Novoplansky A. Picking battles wisely: plant behaviour under competition. *Plant Cell Environ*, 2009, 32: 726–741
- 70 Yano K, Kume T. Root morphological plasticity for heterogeneous phosphorus supply in *Zea mays* L. *Plant Prod Sci*, 2005, 8: 427–432
- 71 Semchenko M, John E A, Hutchings M J. Effects of physical connection and genetic identity of neighbouring ramets on root-placement patterns in two clonal species. *New Phytol*, 2007, 176: 644–654
- 72 Cahill J F, McNickle G G, Haag J J, et al. Plants integrate information about nutrients and neighbors. *Science*, 2010, 328: 1657
- 73 Schwinning S, Weiner J. Mechanisms determining the degree of size asymmetry in competition among plants. *Oecologia*, 1998, 113: 447–455
- 74 Grams T E E, Andersen C P. Competition for resources in trees: physiological versus morphological plasticity. In: Esser K, Lüttge U, Beyschlag E, eds. *Progress in Botany*. Heidelberg: Springer-Verlag, 2007