

氮锌配施下冬小麦根系分泌物对石灰性土壤 锌形态转化的影响

侯莹欣¹, 王灵璐¹, 秦世玉^{1,3,4}, 刘亥扬^{1,3,4}, 聂兆君^{1,3,4*}, 许嘉阳^{1,3,4}, 马永飞^{1,3,4},
睢福庆¹, 张玉鹏¹, 李 畅¹, 赵 鹏^{1,2,3}, 刘红恩^{1,2,3,4*}

(1 河南农业大学资源与环境学院, 河南郑州 450046; 2 小麦玉米两熟高效生产全国重点实验室, 河南郑州 450046;
3 农业农村部黄淮海平原耕地质量保育重点实验室, 河南郑州 450046;
4 河南省土壤污染控制工程技术研究中心, 河南郑州 450046)

摘要:【目的】小麦作为重要的粮食作物, 施用氮(N)肥或者氮锌(Zn)配施能明显改善冬小麦的产量和籽粒锌含量, 促进冬小麦吸收土壤锌, 但其机制尚不完全明确。根系分泌物与土壤锌有效性关系密切。因此, 研究氮锌配施条件下外源添加冬小麦根系分泌物对石灰性土壤锌形态转化的影响, 探明氮锌配施通过调控冬小麦根系分泌物提高石灰性土壤锌有效性的机制, 为科学施肥改善冬小麦籽粒锌营养提供理论依据。【方法】以冬小麦(百农207)为供试材料, 首先进行水培试验, 设置2个Zn水平(0、10 μmol/L)和2个N水平(0.5、7.5 mmol/L)共4个处理, 分析根系分泌物中有机酸的组成及含量; 然后进行根箱试验, 设置2个Zn水平(0、10 mg/kg)、2个N水平(0、0.2 g/kg)以及2个根系分泌物水平(50 mL清水、50 mL上述水培采集的根系分泌物收集液)共8个处理, 测定冬小麦籽粒产量、各部位锌含量、根际/非根际土壤pH、有效锌含量及锌形态分级。【结果】与低氮无锌处理(N₀、Zn₀)相比, 氮锌配施(N_{7.5}Zn₁₀)处理显著提高了冬小麦根系分泌物中乌头酸、延胡索酸和苹果酸的含量, 显著降低了丙酮酸、α-酮戊二酸及琥珀酸的含量。无论是否添加根系分泌物, 氮锌配施均显著增加了冬小麦籽粒产量, 根系、茎叶和籽粒锌含量, 颖壳和籽粒氮含量, 根际/非根际土壤有效锌、交换态锌、碳酸盐结合态锌、铁锰氧化物结合态锌含量及比例, 显著降低了残渣态锌含量及比例。在施用氮锌条件下, 添加根系分泌物进一步显著提高了小麦籽粒产量及锌含量, 根系、茎叶和颖壳氮含量, 非根际土壤有效锌含量和交换态锌含量, 根际土壤碳酸盐结合态锌含量及比例, 显著降低了根际土壤pH值、残渣态锌的含量及比例。【结论】在氮锌配施条件下, 外源添加冬小麦根系分泌物可促进根际土壤中残渣态锌向碳酸盐结合态锌转化, 提高根际/非根际土壤碳酸盐结合态锌和铁锰氧化物结合态锌含量, 提高土壤锌的有效性, 促进冬小麦对锌的吸收, 改善冬小麦籽粒锌营养。

关键词: 氮锌配施; 冬小麦根系分泌物; 石灰性土壤; 有效锌; 锌形态转化

Effects of combined application of N-Zn fertilizers and exogenous winter wheat root exudates on transformation of zinc forms in calcareous soil

HOU Ying-xin¹, WANG Ling-lu¹, QIN Shi-yu^{1,3,4}, LIU Hai-yang^{1,3,4}, NIE Zhao-jun^{1,3,4*}, XU Jia-yang^{1,3,4},
MA Yong-fei^{1,3,4}, SUI Fu-qing¹, ZHANG Yu-peng¹, LI Chang¹, ZHAO Peng^{1,2,3}, LIU Hong-en^{1,2,3,4*}

(1 College of Resources and Environment, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450046, China; 2 State Key Laboratory of High-Efficiency Production of Wheat-Maize Double Cropping, Zhengzhou, Henan 450046, China; 3 Key Laboratory of Farmland Quality Conservation in the Huang-Huai-Hai Plain, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Zhengzhou, Henan 450046, China; 4 Soil Pollution Control and Remediation Engineering Technology Research Center of Henan Province, Zhengzhou, Henan 450046, China)

收稿日期: 2025-08-18 接受日期: 2026-01-19

基金项目: 河南省科技攻关项目(252102110149); 河南省自然科学基金项目(262300421472); 河南省重点研发专项(251111112200); 河南省耕地保育产业技术体系(HARS-22-19-S)。

联系方式: 侯莹欣 E-mail: 412145017@qq.com。

* 通信作者 聂兆君 E-mail: nzj0511@126.com; 刘红恩 E-mail: liuhongen7178@126.com

Abstract: 【 Objectives 】 Application of nitrogen (N) fertilizer or a combination of nitrogen and zinc (Zn) can significantly increase the availability of soil Zn, improve the Zn nutrition and grain yield of winter wheat. Root exudates have been widely recognized for their critical role in mobilizing and activating nutrients within the rhizosphere, thereby facilitating their uptake by plants. In this study, we investigated the combined effects of nitrogen-zinc (N-Zn) fertilizer application and exogenous winter wheat root exudates on the transformation of different Zn forms in calcareous soils. **【 Methods 】** A hydroponic culture trial was carried out, using winter wheat cultivar Bainong 207 as the test material. Two Zn application levels (0, 10 $\mu\text{mol/L}$) and two N application levels (0.5, 7.5 mmol/L) were set up to compose 4 treatments. The root exudates were collected, and the composition and concentration of organic acids in the root exudates were analyzed. Subsequently, a rhizobox experiment was carried out using the same wheat cultivar. Each treatment was then divided into two parts: one was added with 50 mL distilled water, and the other with 50 mL root exudates collected in the hydroponic trial. The biomass, N and Zn concentration of various parts of the wheat plant, and the pH, available Zn content, and the contents of Zn fractions in rhizosphere and non-rhizosphere soil were determined. **【 Results 】** Compared with the low-nitrogen, zinc-free treatment ($\text{N}_{0.5}\text{Zn}_0$), co-application of N-Zn fertilizers ($\text{N}_{7.5}\text{Zn}_{10}$) markedly elevated the concentrations of aconitic acid, fumaric acid, and malic acid in root exudates, whereas it significantly depressed the levels of pyruvic acid, α -ketoglutaric acid, and succinic acid. Irrespective of root exudate addition, N-Zn application notably boosted grain yield, Zn concentrations in roots, stems, leaves, and grains, as well as N concentrations in glumes and grains. In both rhizosphere and non-rhizosphere soils, this combined application significantly increased available Zn concentrations, along with the contents and proportions of exchangeable Zn, carbonate-bound Zn, and Fe-Mn oxide-bound Zn, while dramatically reducing the concentration and proportion of residual Zn. Under the regime of combined N-Zn application, the supplementation of root exudates further increased grain yield and Zn content, as well as N content in roots, stems, leaves, and glumes. It significantly elevated available Zn and exchangeable Zn concentrations in non-rhizosphere soil, raised the content and proportion of carbonate-bound Zn in rhizosphere soil, but significantly lowered the pH and decreased the content and proportion of residual Zn in rhizosphere soil. **【 Conclusions 】** Under conditions of combined N and Zn application, exogenous root exudates from winter wheat facilitate the conversion of residual Zn to carbonate-bound Zn in rhizosphere soils, increase the contents of carbonate-bound Zn and Fe-Mn oxide-bound Zn in both rhizosphere and non-rhizosphere soils, thereby effectively improving soil Zn bioavailability and enhancing Zn uptake by winter wheat.

Keywords: combined nitrogen-zinc application; winter wheat root exudates; calcareous soil; available zinc; zinc fraction transformation

锌 (Zn) 是人体必需微量元素, 在免疫调节、蛋白质合成及核酸代谢等关键生理过程中发挥重要作用^[1]。锌对人体内淋巴细胞及中性粒细胞等免疫细胞的正常发育至关重要, 缺锌会直接削弱细胞免疫和体液免疫应答, 导致人体感染疾病, 如腹泻、肺炎、味觉障碍及食欲不振等^[2]。植物缺锌会降低植物体内生长素含量, 抑制茎端和根端的伸长生长, 导致植株矮化、节间缩短^[3]。缺锌还会破坏植物细胞膜的完整性, 严重时导致叶脉间失绿或黄化, 甚至坏死^[4]。因此, 充足的锌供给是保证动植物机体正常生理机能的必要条件^[5]。作为全球主要粮食作物, 小麦为人类提供了约 20% 的能量和 25% 的蛋白质, 同时

也是重要的膳食锌来源^[6]。当前全球小麦籽粒锌含量普遍偏低, 平均含量仅为 27.3 mg/kg, 远低于生物强化目标值 40~60 mg/kg^[7]。我国冬小麦主产区河南的小麦籽粒锌平均含量仅为 30 mg/kg, 低于人体营养健康推荐值^[8-9]。因此, 亟需研究小麦籽粒锌含量低的原因和提升技术。

土壤有效锌缺乏是限制作物锌营养水平的主要因素, 全球有近一半的耕地面临缺锌或严重缺锌问题^[10]。我国部分耕地缺锌, 土壤有效锌含量整体呈现由南向北、由东向西逐渐降低的趋势^[11]。我国北方粮食主产区广泛分布着石灰性土壤, 由于其 pH 值和碳酸钙含量高, 锌主要以难溶的碳酸锌 (ZnCO_3) 和氢

氧化锌 $[\text{Zn}(\text{OH})_2]$ 的形态存在, 有效性普遍偏低^[12-13]。河南省农田土壤整体处于潜在性缺锌状态, 尤其在豫北和豫西北的石灰性土壤区域最为普遍^[14]。

施用锌肥是改善土壤锌供应最常用的技术措施^[15], 由于外源锌肥在石灰性土壤中易被固定或形成难溶态锌, 导致其移动性和生物有效性显著降低^[16-17]。研究表明, 在缺锌土壤上施氮或氮锌配施, 能有效改善作物生长状况, 并显著提高作物产量^[18]。氮锌配施可促进小麦对土壤锌的吸收, 显著改善冬小麦籽粒锌营养^[19-20]。其原因从作物角度是氮锌配施能够刺激根系发育, 并上调根系及地上部锌吸收转运相关蛋白如 *TaZIP3* 和 *TaZIP7* 的基因表达^[21-22], 增强冬小麦根系对锌的吸收与转运能力, 特别是促进锌向籽粒的高效转运与积累^[23-24]; 从土壤角度看, 氮肥可降低土壤 pH, 促进土壤中难溶态锌向交换态、松结有机态和碳酸盐结合态等有效形态转化, 提高土壤锌的有效性, 氮锌配施可减少锌在土壤中的固定^[20]。

根系分泌物作为植物-土壤-微生物互作的关键媒介, 其所含的低分子量有机酸、氨基酸、糖、酚等和分子量的蛋白质、酶和激素等, 在调控根际微域养分有效性方面扮演重要角色^[25-27]。有机酸是根系分泌物中的重要组分, 其羧基官能团能螯合锌、铁、锰等金属离子, 形成可溶性络合物, 促使这些元素从土壤固相中解吸, 并通过酸化根际环境进一步增强其溶解度^[28]。Maqsood 等^[29]指出, 柠檬酸和苹果酸能有效活化土壤中被固定的锌, 提高其生物有效性。这可能与有机酸对根际 pH、氧化还原电位及微生物群落结构的调控有关, 从而促进碳酸盐结合态和氧化物结合态锌的溶解^[26, 30]。禾本科植物分泌的植物铁载体也能协同促进锌、铜等元素的活化与吸收^[31]。根系主动分泌的质子可直接降低根际 pH, 对锌、铁、锰等元素的溶解具有普遍的促进作用^[32-33]。但根系分泌物对养分有效性的影响并非总是正向的, 根系分泌的氨基酸等有机物能螯合微量元素, 从而降低其有效性^[34]。

已有研究表明, 单施氮、施锌及氮锌配施均能显著影响植物根系分泌物的组成和含量。廖李容^[35]研究表明, 施氮显著提高了白羊草分泌物中醇类、氨基酸类、糖酸类和短链有机酸类等组分的相对含量。Taheri 等^[36]也发现, 施锌可促进玉米根系分泌柠檬酸、丙二酸、苹果酸等有机酸。目前关于氮锌配施通过调控根系分泌物影响石灰性土壤锌有效性方面的研究较少。因此, 本研究旨在探究氮锌配施条件下外源添加冬小麦根系分泌物对石灰性土壤中

锌有效性的影响, 并分析其可能机制, 为科学施肥及根际定向调控以改善冬小麦籽粒锌营养提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本试验供试冬小麦品种为‘百农 207’, 所用土壤为石灰性潮土, 其主要理化性质为: pH 8.04、有机质 13.77 g/kg、碱解氮 21.01 mg/kg、速效磷 8.20 mg/kg、速效钾 106.70 mg/kg、有效锌 0.4 mg/kg。

1.2 试验设计

1.2.1 水培试验 采用双因素完全随机区组设计, 设置 2 个锌水平 (0 和 10 $\mu\text{mol/L}$) 和 2 个氮水平 (0.5 和 7.5 mmol/L), 共 4 个处理, 包括 $\text{N}_{0.5}\text{Zn}_0$ 、 $\text{N}_{7.5}\text{Zn}_0$ 、 $\text{N}_{0.5}\text{Zn}_{10}$ 和 $\text{N}_{7.5}\text{Zn}_{10}$, 每个处理重复 3 次。分别以 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 作为氮源和锌源, 用 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 补充低氮处理造成的 Ca^{2+} 差异。

选取籽粒饱满、健康的小麦种子, 经 3% H_2O_2 溶液消毒 15 min 后, 用蒸馏水和去离子水各冲洗 3 次。随后, 将种子置于去离子水中浸泡 12 h, 以促进其萌发。种子萌发后, 将种子胚部朝上等距离排列于育苗盆的隔网上, 在 25℃ 的光照培养箱中培养 5 天。待幼苗生长至 4~5 cm 时, 选取 20 株长势一致的幼苗, 移栽至盛有 4 L 营养液的塑料盆中, 并在 21 天内定期更换营养液。营养液采用霍格兰-阿农配方, 具体配比如下: 1 mmol/L KH_2PO_4 、2.5 mmol/L K_2SO_4 、46 $\mu\text{mol/L}$ H_3BO_3 、2 mmol/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.3 $\mu\text{mol/L}$ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$ EDTA-Fe 、9 $\mu\text{mol/L}$ $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 和 0.2 $\mu\text{mol/L}$ $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 。为适应幼苗生长, 采用梯度营养液培养方法: 第 1 周使用 1/4 浓度营养液, 第 2 周提高至 1/2 浓度, 之后转为全营养液培养直至收获。培养期间, 光照培养室环境条件设置为: 温度 25℃、相对湿度 70%、光照强度 400 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、光周期 14 h/d。冬小麦培养 30 天后收集幼苗根系分泌物, 采用超高效液相色谱-质谱联用仪 (UPLC-MS/MS) 测定有机酸含量, 所得分泌物用于后续根箱试验。

1.2.2 根箱试验 本研究采用三因素完全随机区组设计, 设置锌 (0、10 mg/kg)、氮 (0、0.2 g/kg) 和根系分泌物 (50 mL 清水、50 mL 根系分泌物收集液) 共 8 个处理, 每个处理重复 3 次, 锌肥和氮肥分别选用硫酸锌 ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 和硝酸钙 [$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$], 低氮处理通过 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 调节钙含量, 另

施 0.15 g/kg P_2O_5 (KH_2PO_4) 和 0.20 g/kg K_2O (KCl) 满足冬小麦生长的需要。氮素分次施用, 其中 50% 作基肥施用, 其余部分在返青期施用。

采用 PVC 材质的根箱, 长×宽×高为 15 cm×10 cm×16 cm (内室为 2 cm, 外室为 4 cm)。供试土壤风干后过 20 目 (孔径 0.85 mm) 筛, 按照 3.5 kg/盆的量, 将各类肥料与土壤拌匀后装入根箱, 按照田间持水量的 60% 补充水分, 静置 2 天。然后分别采集上述水培试验中 $N_{0.5}Zn_0$ 、 $N_{7.5}Zn_0$ 、 $N_{0.5}Zn_{10}$ 和 $N_{7.5}Zn_{10}$ 处理对应的根系分泌物溶液 50 mL, 另以 50 mL 清水作为对照, 添加至根箱内室。在每个根箱内室均匀撒播 10 粒饱满小麦种子后覆土 (覆盖土层厚度控制在 2~3 mm), 2 周后每盆定植 5 株小麦。为确保小麦获取足够的水分, 苗期至拔节期每 5 天浇水 200 mL, 孕穗期每 3 天浇水 200 mL, 整个生育期浇水 200 天共 9000 mL。于冬小麦成熟期分别采集植株和土壤样品, 植株样品分为茎叶、颖壳、籽粒和根系, 测定籽粒产量。将样品在 105℃ 杀青, 65℃ 烘干粉碎后测定锌含量; 土壤样品按根箱内室、外室分离, 去除根系后混匀, 四分法取样, 风干后过 20 目 (0.85 mm) 和 100 目 (0.15 mm) 筛, 用于测定根际/非根际土壤 pH 值、有效锌含量及锌化学形态。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 土壤基本理化性质 参照《土壤农化分析》^[37]中的方法, 土壤 pH 值采用 pH 计法测定, 水土比为 2.5 : 1; 有机质采用重铬酸钾-外加热法测定; 碱解氮采用碱解扩散法测定; 速效钾采用 NH_4OAc 溶液浸提—火焰光度法测定; 速效磷采用 $NaHCO_3$ 溶液浸提—钼蓝比色法测定。土壤有效锌采用 DTPA 提取—原子吸收分光光度法测定。

1.3.2 根系分泌物的收集 参考 Suzuki 等^[38]和 Wang 等^[39]描述的方法, 从各处理选取 5 株长势基本一致的植株样本, 依次用自来水与去离子水冲洗 3~5 次, 随后置于 0.2 mmol/L 的硫酸亚铁溶液中浸泡 2 h, 再于 30 mg/L 氯霉素液中浸泡 30 min, 之后用无菌超纯水彻底冲洗植物, 并转移至盛有 200 mL 无菌水的棕色玻璃瓶中, 于 25℃ 恒温培养箱中静置培养 24 h。

1.3.3 根系分泌物有机酸含量的测定 参考 Pan 等^[40]的方法检测有机酸含量, 100 mL 根系分泌物收集液冷冻干燥后, 加入 1 mL 预冷的去离子水复溶, 振摇 5 min 后, 在 4℃ 条件下 1000 r/min 离心 5 min, 将上清液和 400 μ L 去离子水加入 2 mL 离心管中, 涡

旋 10 s 后 12000 r/min 离心 5 min, 使用 MF-Millipore™ 滤膜 (No.GSWP04700, 0.22 μ m) 进行过滤。采用超高效液相色谱—串联质谱仪 (UPLC-MS/MS) 测定有机酸。进样 5 μ L, 使用 WatersXevoTQXS 质谱仪和电喷雾离子化源 ESI 对样品进行分析, 检测模式为负离子模式下多重反应监测 (MRM)。色谱条件为: Acquity UPLC HSS T3 色谱柱, 颗粒度为 1.8 μ m, 内径为 2.1 mm, 长为 100 mm, 流动相为溶剂 A (0.1% 甲酸水) 和溶剂 B (甲醇), 流速为 0.2 mL/min。各个有机酸的含量通过标准曲线进行定量。

1.3.4 植株氮锌含量 参考《土壤农化分析》^[37]中的方法, 对采集到的植物样品进行烘干、粉碎, 采用 H_2SO_4 - H_2O_2 消解样品, 使用凯氏定氮仪 (德国 BRANLUEBBA3) 测定氮含量; 另将部分样品采用 HNO_3 - $HClO_4$ (v/v, 4 : 1) 混合酸消解后, 使用原子吸收分光光度计 (德国 YANAAZEEnit700) 测定锌含量。

1.3.5 土壤锌形态分级 锌形态分析采用 Tessier 等^[41]五步提取法, 交换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态和有机态锌分别采用 1 mol/L $MgCl_2$ (pH 7.0)、1 mol/L $NaOAc$ - $HOAc$ (pH 5.0)、0.04 mol/L $NH_2OH \cdot HCl$ (pH 2.0) 和 30% H_2O_2 (pH 2.0)+3.2 mol/L NH_4OAc 浸提, 所得浸提液采用原子吸收分光光度法测定锌含量。残渣态锌采用 HCl - HNO_3 - $HClO_4$ - HF 酸溶, 原子吸收分光光度法测定。试验条件为室温 (约 25℃), 水土比为 10 : 1。

1.4 统计分析

采用 Excel 2021、SPSS 27.0 完成数据处理、统计分析, 用 Origin 2021 制作各类图, 处理间采用双因素、三因素方差分析, 采用最小显著差异法 (LSD) 对组间均值进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 氮锌配施对冬小麦根系分泌物中有机酸含量的影响

如表 1 所示, 氮锌配施显著改变了根系分泌物中有机酸的含量。与低氮无锌 ($N_{0.5}Zn_0$) 处理相比, 高氮处理 ($N_{7.5}$) 提高了柠檬酸、乌头酸、延胡索酸和草酰乙酸的含量, 高锌处理 (Zn_{10}) 则显著抑制了丙酮酸、 α -酮戊二酸和琥珀酸的含量, 氮锌配施处理 ($N_{7.5}Zn_{10}$) 显著提高了乌头酸、延胡索酸和苹果酸含量, 降低了丙酮酸、 α -酮戊二酸和琥珀酸的含量。方差分析结果表明, 氮锌交互对除丙酮酸以外的其他有机酸含量产生了极显著 ($P < 0.001$) 的影响, 说明氮锌

表 1 不同氮锌配施处理下冬小麦根分泌物中的有机酸含量 (μg/L)

Table 1 Effects of N and Zn combination on the organic acids contents in root exudates of winter wheat

处理 Treatment	丙酮酸 Pyruvate	柠檬酸 Citric acid	乌头酸 Aconitine	α-酮戊二酸 α-Ketoglutaric acid	琥珀酸 Succinic acid	延胡索酸 Corydalis acid	苹果酸 Malic acid	草酰乙酸 Grass acid
N ₀ Zn ₀	21.43 a	82.73 bc	0.16 c	82.33 a	24.10 a	20.50 d	22.83 b	814.33 b
N _{7.5} Zn ₀	20.90 a	121.60 a	0.26 b	65.67 b	8.53 b	47.93 c	11.93 c	1689.43 a
N ₀ Zn ₁₀	5.37 b	96.46 b	0.34 a	17.37 c	4.97 c	65.86 b	4.67 c	1349.90 a
N _{7.5} Zn ₁₀	0.43 c	67.13 c	0.29 b	23.87 c	1.00 d	228.57 a	40.83 a	868.16 b
方差分析F值 F value for ANOVA								
N	4.67	0.67	3.25	6.09*	96.22***	343.14***	30.48***	2.14
Zn	208.87 ***	12.22**	81.25***	671.28***	179.32***	484.81***	5.50*	1.13
N×Zn	3.03	34.27***	35.56***	31.61***	33.93***	173.67***	105.77***	25.43***

注：数据为3次重复平均值。同列数据后不同小写字母表示处理间差异达5%显著水平；*、**、***分别表示变量效应达到0.05、0.01、0.001显著水平。

Note: Data are shown as mean of three replicates. Different small letters after data in the same column indicate significant difference among treatments ($P<0.05$). *, **, and *** indicate the variable effect at 0.05, 0.01, and 0.001 significant levels, respectively.

配施并非简单叠加效应，而是协同调控了根系有机酸的分泌谱。

2.2 氮锌及外源根系分泌物配施对冬小麦籽粒产量的影响

如图 1 所示，氮、锌、根系分泌物均对冬小麦籽粒产量具有极显著影响 ($P<0.01$)，氮、锌肥对产量具有显著互作效应 ($P<0.001$)。氮锌配施 (N+Zn) 的小麦籽粒产量显著高于不施氮锌肥加入清水处理 (CK) 和氮、锌单施处理，外源添加根系分泌物不同程度地提升了各施肥处理的增产效果，尤其 N+Zn 处理的产量显著高于不添加根际分泌物处理 (图 1)。

2.3 氮锌及外源根系分泌物配施对冬小麦氮、锌含量的影响

图 2 显示，施用氮肥、锌肥对小麦植株各部位锌含量的效应不同，外源根系分泌物与氮、锌肥的交互效应各部位间也不相同，可能受锌在体内的运转以及不同处理该部位的生物量的高低影响，但是 N-Zn 交互效应、N-Zn 与根际分泌物三者的交互效应对籽粒中锌含量影响达到 0.001、0.01 显著水平，N-Zn+根际分泌物处理的籽粒含锌量显著高于其他处理 (图 2d)。表明氮锌配施与根系分泌物在促进锌向籽粒转运方面存在协同效应。

由图 3 可知，与不施氮锌肥加入清水处理 (CK) 相比，单施氮肥及氮锌配施处理在不添加根系分泌物时显著提高了冬小麦根系、颖壳和籽粒氮含量；在添加根系分泌物时，单施氮和氮锌配施处理下的冬小麦茎叶、颖壳和籽粒氮含量显著高于不施氮锌

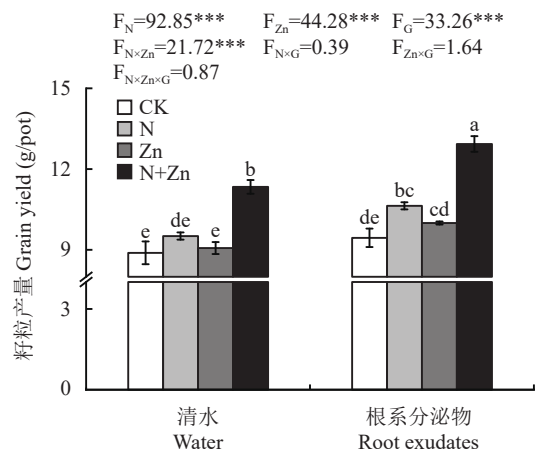


图 1 不同氮锌配施处理下外源添加根系分泌物对冬小麦籽粒产量的影响

Fig. 1 Effects of exogenous root exudates on the grain yield of winter wheat under N and Zn combination

注：CK 为不施氮锌肥；G 为根系分泌物。数据为 3 次重复平均值。柱上不同小写字母表示处理间差异达 5% 显著水平。***表示变量效应达到 0.001 显著水平。

Note: CK is no nitrogen or zinc fertiliser applied; G is root exudates. The data are three repeated averages. Different lowercase letters on the bars indicate significant difference among treatments at 5% level. *** indicates the variable effect at 0.001 significant levels.

肥处理。在氮锌配施处理下，添加根系分泌物显著提高了根系、茎叶和颖壳氮含量。方差分析结果表明，氮锌交互对冬小麦根系和颖壳氮含量达到极显著影响 ($P<0.001$)；氮、锌与根系分泌物交互对冬小麦根系氮含量达到极显著影响 ($P<0.001$)，表明氮锌配施与根系分泌物在提高冬小麦根系氮含量方面存在协同效应。

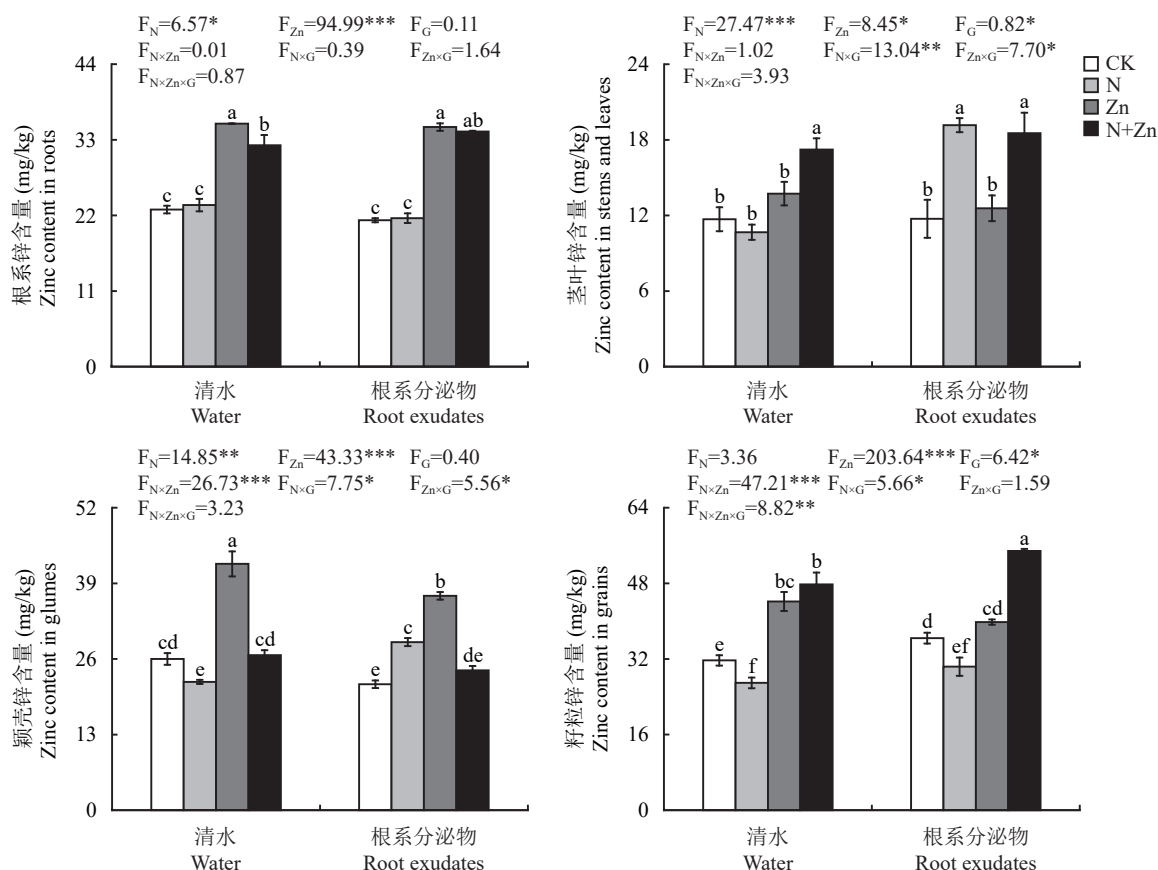


图 2 氮锌和外源根系分泌物配合施用对冬小麦各部位锌含量的影响

Fig. 2 Zn contents in various parts of winter wheat under combined application of N, Zn, and exogenous root exudates

注: CK 为不施氮锌肥; G 为根系分泌物。数据为 3 次重复平均值。柱上不同小写字母表示处理间差异达 5% 显著水平。*、**、*** 分别表示变量效应达到 0.05、0.01、0.001 显著水平。

Note: CK is no nitrogen or zinc fertiliser applied; G is root exudates. Data are shown as mean of three replicates. Different lowercase letters on the bars indicate significant difference among treatments at 5% level. *, **, and *** indicate the variable effect at 0.05, 0.01, and 0.001 significant levels, respectively.

2.4 氮锌和外源根系分泌物配施对根际/非根际土壤 pH 值和有效锌含量的影响

如图 4 所示, 与不施氮锌肥加入清水处理相比, 单施氮处理在不添加根系分泌物时显著提高了根际和非根际土壤的 pH 值, 氮锌配施处理在不添加根系分泌物时显著提高了非根际土壤 pH 值; 与不施氮锌肥只添加根系分泌物处理相比, 单施氮和氮锌配施处理在添加根系分泌物时也显著提高了非根际土壤的 pH 值; 在氮锌配施处理下, 添加根系分泌物显著降低了根际土壤的 pH 值。与不施氮锌肥处理相比, 无论是否添加根系分泌物, 单施锌和氮锌配施处理显著提高了根际/非根际土壤有效锌含量; 在氮锌配施条件下, 外源添加根系分泌物显著提高了非根际土壤有效锌含量。方差分析结果表明, 氮锌交互对根际/非根际土壤 pH 值和根际土壤有效锌含量达到极显著影响 ($P < 0.01$); 施氮、施锌与根系分泌物

交互对非根际土壤有效锌含量达到极显著影响 ($P < 0.01$), 表明氮锌配施与根系分泌物在降低土壤 pH 值、提高有效锌含量方面存在协同效应。

2.5 氮锌和外源根系分泌物配施对根际/非根际土壤锌形态分级的影响

由表 2 结果可知, 与不施氮锌肥加入清水处理相比, 单施氮肥在不添加根系分泌物时显著提高了非根际土交换态锌含量, 显著降低了根际/非根际土壤残渣态锌含量。单施锌在不添加根系分泌物时显著提高了根际和非根际土壤交换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态锌含量以及非根际土壤残渣态锌含量, 显著降低了根际土壤残渣态锌含量, 在添加根系分泌物时提高了根际土壤交换态和有机结合态锌含量, 以及根际/非根际土壤碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态锌含量, 显著降低了根际土壤残渣态锌含量。无论是否添加根系分泌物, 氮锌配施

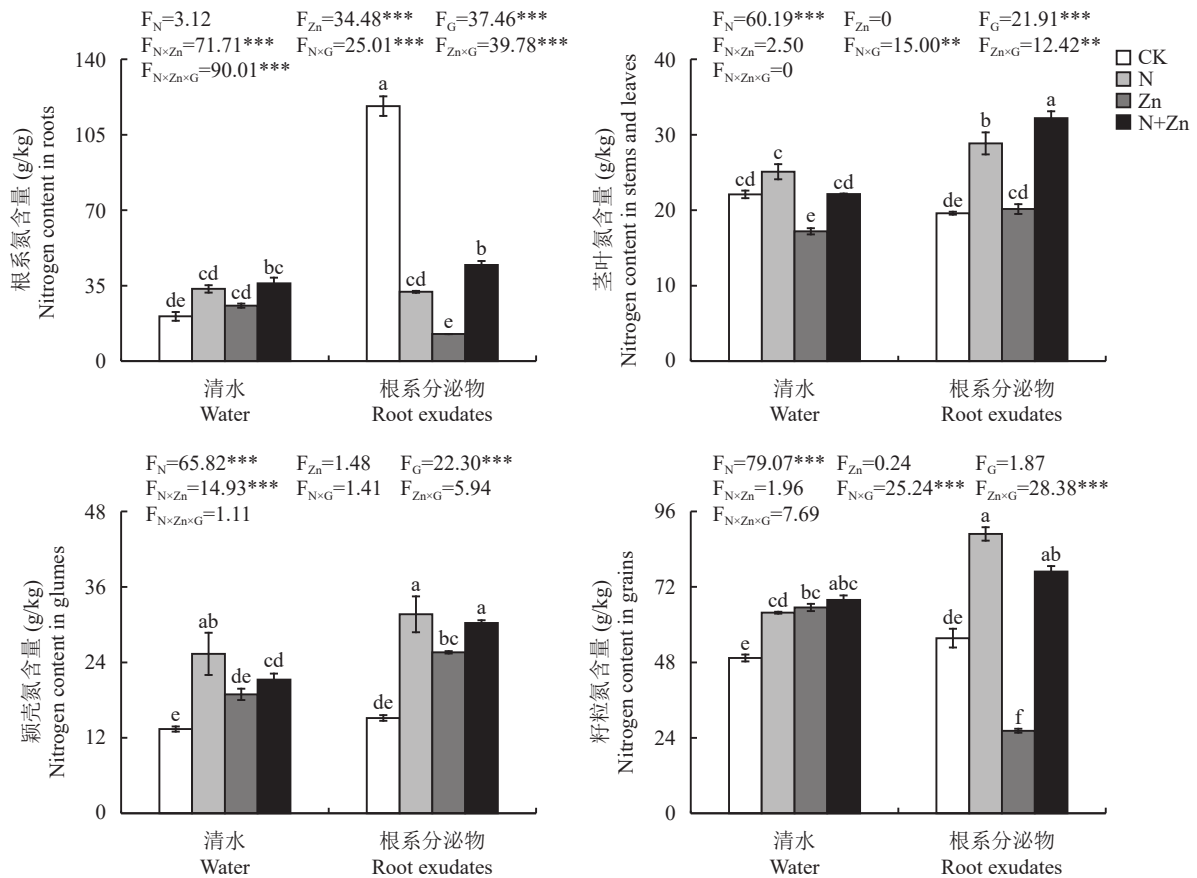


图3 氮锌配施条件下外源添加根系分泌物对冬小麦各部位氮含量的影响

Fig. 3 Effects of exogenous root exudates on N content in various parts of winter wheat under N and Zn combination

注: CK 为不施氮锌肥; G 为根系分泌物。数据为 3 次重复平均值。柱上不同小写字母表示处理间差异达 5% 显著水平。**, *** 分别表示变量效应达到 0.01、0.001 显著水平。

Note: CK is no nitrogen or zinc fertiliser applied; G is root exudates. Data are shown as mean of three replicates. Different lowercase letters on the bars indicate significant difference among treatments at 5% level. **, and *** indicate the variable effect at 0.01, and 0.001 significant levels, respectively.

处理显著提高根际和非根际土壤交换态、碳酸盐结合态以及铁锰氧化物结合态锌含量,显著降低了根际土壤残渣态锌含量。在氮锌配施条件下,添加根系分泌物显著提高了根际/非根际土壤碳酸盐结合态锌含量,显著降低了根际/非根际土壤残渣态锌含量。方差分析结果表明,氮锌交互对根际土壤碳酸盐结合态锌含量产生极显著影响 ($P<0.001$),对非根际土壤有机结合态锌含量产生显著影响 ($P<0.05$);施氮、施锌与根系分泌物交互对非根际土壤交换态和碳酸盐结合态锌含量产生显著影响 ($P<0.05$),对根际/非根际土壤残渣态锌含量产生极显著影响 ($P<0.001$),表明氮锌配施与根系分泌物在提高交换态和碳酸盐结合态锌含量、降低残渣态锌含量方面存在协同效应。

由图 5 可知,与不施氮锌肥处理相比,在不添加根系分泌物时,单施氮显著提高了根际/非根际土壤铁锰氧化物结合态锌的比例,单施锌提高了根际/非根际土壤碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态锌比

例,氮锌配施提高了根际/非根际土壤碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态锌比例,施氮、施锌和氮锌配施均降低了根际/非根际土壤残渣态锌比例。在添加根系分泌物时,单施锌提高了根际/非根际土壤碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态锌比例,氮锌配施提高了根际/非根际土壤交换态、碳酸盐结合态、有机结合态和铁锰氧化物结合态锌比例,单施锌和氮锌配施均降低了根际/非根际土壤残渣态锌比例。在氮锌配施条件下,外源添加根系分泌物提高了根际/非根际土壤交换态、碳酸盐结合态、有机结合态和铁锰氧化物结合态锌比例,降低了根际/非根际土壤残渣态锌比例。

3 讨论

3.1 氮锌配施可改变冬小麦根系分泌物中有机酸含量

在植物-土壤互作系统中,根系分泌物作为关键

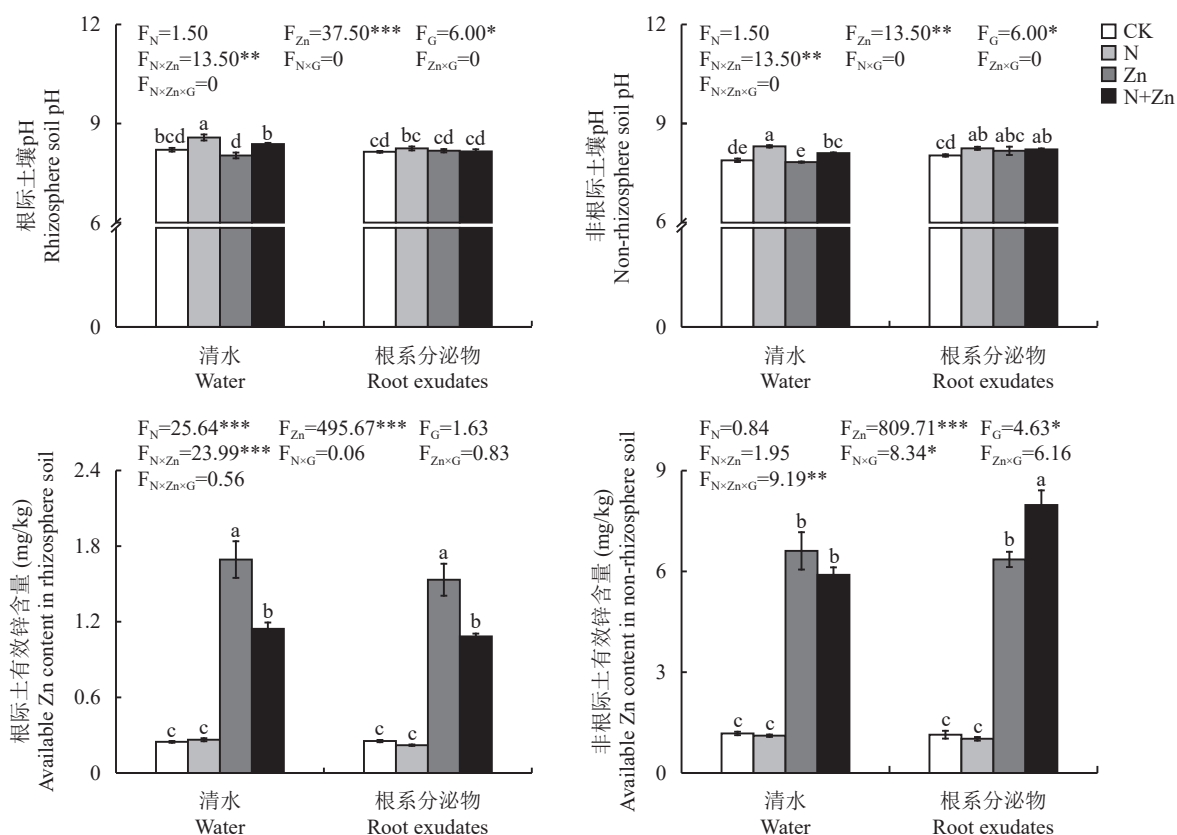


图 4 氮锌配施条件下外源添加根分泌物对冬小麦根际和非根际土壤 pH 和有效锌含量的影响
Fig. 4 Effects of exogenous root exudates on pH and available Zn content of rhizosphere/non-rhizosphere soil of winter wheat under N and Zn combination

注: CK 为不施氮锌肥; G 为根分泌物。数据为 3 次重复平均值。柱上不同小写字母表示处理间差异达 5% 显著水平。*、**、*** 分别表示变量效应达到 0.05、0.01、0.001 显著水平。

Note: CK is no nitrogen or zinc fertiliser applied; G is root exudates. Data are shown as mean of three replicates. Different lowercase letters on the bars indicate significant difference among treatments at 5% level. *, **, and *** indicate the variable effect at 0.05, 0.01, and 0.001 significant levels, respectively.

的化学信息介体, 其组成与浓度特征直接反映了植物在不同养分条件下的生理响应机制^[42]。根分泌物的变化受多种环境因子调控, 既响应于光照、污染、气候等非生物因子, 也显著受到施肥管理措施的影响^[43-44]。研究表明, 施肥能改变植物根分泌物的组成, 并显著提高次生代谢产物的相对含量^[45]。本试验中, 氮锌配施显著提高了根分泌物中乌头酸、延胡索酸和苹果酸的含量, 同时降低了丙酮酸、柠檬酸、 α -酮戊二酸和琥珀酸的含量 (表 1), 表明氮锌配施能改变根分泌物的组成和含量, 这可能与施氮或施锌调控植物体内有机酸的合成与代谢有关。Mishra 等^[46]研究表明, 施氮主要通过上调磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC) 和苹果酸脱氢酶 (malate dehydrogenase, MDH) 基因表达, 促进三羧酸 (tricarboxylic acid cycle, TCA) 循环中草酰乙酸和苹

果酸的合成。Kania 等^[47]研究表明, 施用磷肥可增强柠檬酸合酶 (CS) 的活性以提高 TCA 循环通量, 并特异性地诱导线粒体中乌头酸酶 (aconitase, ACO) 基因表达, 从而促进乌头酸的合成。Rose 等^[48]研究表明, 缺锌会抑制延胡索酸酶 (fumarase) 的活性, 导致延胡索酸在根细胞中积累并减少其分泌, 这可能是植物对缺锌的响应信号。有机酸的合成与分泌还受其他关键调控转录因子与激素信号分子的调控。在缺锌条件下, 水稻中锌指转录因子 *OsZIP48* 的表达被强烈诱导, 该因子能够直接结合多种药物与毒素挤出转运蛋白 (multidrug and toxic compound extrusion, MATE) 基因的启动子区域, 激活其转录, 从而促进有机酸的外排^[49]。养分缺乏会促进生长激素关键信号分子茉莉酸的生物合成, 上调铝活化苹果酸转运蛋白 (aluminum-activated malate transporter, ALMT) 基因表达, 促进苹果酸的分泌^[50]。因此, 氮锌配施可

表 2 氮锌和外源添加根系分泌物配施条件下冬小麦根际和非根际土壤各形态锌的含量 (mg/kg)

Table 2 Zn content in different forms in wheat rhizosphere and bulk soil under combined application of N, Zn, and exogenous root exudates

处理 Treatment	交换态锌 Exchangeable Zn		碳酸盐结合态锌 Carbonate-bound Zn		有机结合态锌 Organically bound Zn		铁锰氧化物结合态锌 Fe/Mn oxide-bound Zn		残渣态锌 Residual Zn	
	根际	非根际	根际	非根际	根际	非根际	根际	非根际	根际	非根际
	Rhizosphere	Bulk	Rhizosphere	Bulk	Rhizosphere	Bulk	Rhizosphere	Bulk	Rhizosphere	Bulk
CK	1.03 d	1.75 e	0.98 e	2.55 c	3.25 b	4.02 a	4.50 c	4.37 c	103.70 a	86.54 b
N	1.08 d	2.08 cd	0.82 e	2.41 c	3.12 b	2.95 b	4.00 cd	3.74 c	67.29 c	62.09 c
Zn	1.34 bc	3.07 a	3.04 d	10.57 a	3.30 b	3.52 ab	5.78 ab	6.95 a	91.14 b	100.43 a
N×Zn	1.51 ab	2.35 bc	5.28 b	8.20 b	2.97 b	4.17 a	6.33 a	5.97 b	87.31 b	96.87 ab
G	1.15 cd	2.09 cd	1.04 e	2.85 c	3.22 b	4.11 a	4.16 cd	4.09 c	100.55 a	91.39 ab
N×G	1.12 d	1.95 de	0.49 e	2.61 c	3.29 b	3.55 ab	3.68 d	4.05 c	99.06 a	97.37 ab
Zn×G	1.58 a	2.31 c	4.04 c	7.47 b	4.18 a	4.26 a	5.83 ab	5.91 b	87.21 b	98.01 ab
N×Zn×G	1.56 a	2.64 b	6.70 a	10.91 a	3.60 ab	3.83 a	5.57 b	6.78 a	63.11 c	58.29 c
方差分析F值 F value for ANOVA										
N	0.77	0.48	57.03***	0.31	2.43	3.56	1.21	1.27	61.84***	26.39***
Zn	64.27***	77.94***	800.59***	462.57***	3.41	2.40	134.42***	176.65***	24.97***	1.82
N×Zn	0.30	4.32	101.92***	1.37	1.87	6.12*	4.24	0.62	1.44	4.24
G	5.02*	0.82	14.78**	0.00	6.92*	2.10	4.84*	0.08	0.00	0.00
N×G	1.72	4.23	0.00	20.94***	0.00	0.57	1.68	11.90**	3.06	0.22
Zn×G	0.42	5.70*	23.55***	0.52	4.68*	0.15	0.00	0.14	45.88***	45.50***
N×Zn×G	0.26	28.86***	2.12	22.64***	0.51	4.45	1.70	3.12	43.53***	30.72***

注: CK为不施氮锌肥; G为根系分泌物。数据为3次重复平均值。同列数据后不同小写字母表示处理间差异达5%显著水平; *、**、***分别表示变量效应达到0.05、0.01、0.001显著水平。

Note: CK is no nitrogen or zinc fertiliser applied; G is root exudates. Data are shown as mean of three replicates. Different small letters after data in the same column indicate significant difference among treatments ($P<0.05$). *, **, and *** indicate the variable effect at 0.05, 0.01, and 0.001 significant levels, respectively.

能是通过多层次调控有机酸的合成、代谢与转运等相关蛋白的基因表达, 影响植物体内有机酸的合成与代谢, 最终改变根系分泌物中有机酸的组成和含量。

3.2 氮锌配施条件下外源添加根系分泌物可促进土壤锌形态之间的转化进而提高锌的有效性

土壤锌的有效性主要受其形态及 pH、有机质含量、碳酸钙含量和水分状况等因素的调控^[51]。根据形态划分, 土壤中的锌可分为交换态、松结有机态、碳酸盐结合态、氧化锰结合态、紧结有机态和残渣态 6 类^[20]。白玲玉等^[52]指出, 交换态锌的生物有效性最高, 而有机结合态锌是锌与有机质通过吸附、交换和络合形成的形态, 决定了锌在土壤中的迁移和对植物的有效性。碳酸盐结合态锌在高 pH 和高碳酸钙土壤中可作为重要的锌缓冲库, 在石灰性土壤中所占比例较高^[53-54]。土壤 pH 与有效锌含量的关系极

为密切, 通常认为, 随着 pH 的升高, 土壤锌的有效性显著降低, 一方面土壤 pH 的升高会增强锌与有机物络合, 有机结合态锌含量增加, 同时铁、锰等阳离子会与 OH⁻形成沉淀, 导致铁锰氧化物结合态含量增多^[55]; 另一方面随着 pH 的提高, 土壤中胶体表面的 H⁺趋于解离, 负电荷数量和表面电荷密度增加, 从而增强土壤胶体对可交换态锌的吸附, 降低土壤可交换态锌含量^[56]。本试验中, 在氮锌配施条件下, 外源添加根系分泌物显著降低了根际土壤 pH 值 (图 4), 这与提高非根际土壤有效锌含量的结果一致 (图 4), 但根系分泌物对根际土壤有效锌含量影响不大, 这可能与根系分泌物促进冬小麦吸收转运锌有关 (图 2)。土壤 pH 值降低可能与植物根系分泌的有机酸有关, 有机酸可能通过羧基释放质子 (H⁺) 提高土壤溶液中 H⁺浓度, 直接导致土壤 pH 值下降^[57], 同时激活土壤原生碳酸酐酶活性, 加速碳酸盐矿物

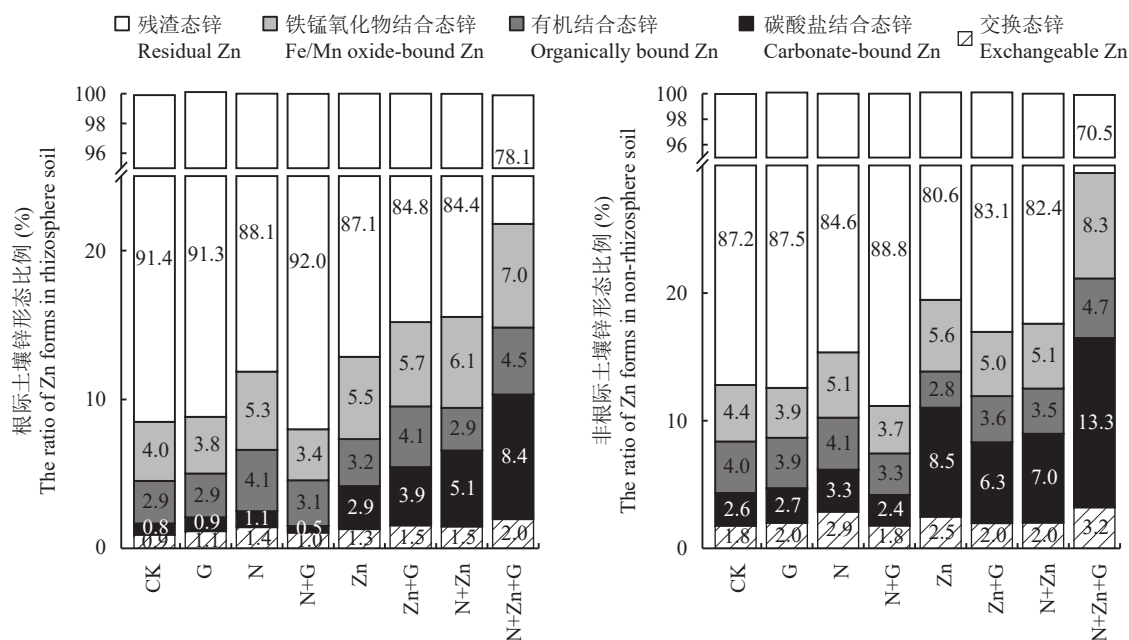


图5 氮锌配施条件下外源添加根系分泌物对冬小麦根际/非根际土壤锌形态比例的影响

Fig. 5 Effects of exogenous root exudates on the ratio of Zn forms in the rhizosphere/non-rhizosphere soil of winter wheat under N and Zn combination

注: CK 为不施氮锌肥; G 为根系分泌物。数据为 3 次重复平均值。

Note: CK denotes the control treatment without N and Zn fertilizer application; G denotes the root exudate. Data are shown as mean of three replicates.

风化, 提高锌等微量元素在碱性土壤中的溶解度^[58]。除此之外, 根系分泌的有机物还通过络合与螯合作用调控土壤养分有效性。本试验中, 外源添加根系分泌物显著提高根际土壤碳酸盐结合态锌的含量及比例, 降低残渣态锌的含量及比例(表 2、图 5), 说明根系分泌物可促进锌从难溶态向有效态锌转化。有机酸可破坏土壤中磷酸盐矿物晶格结构, 释放金属离子, 其羧基官能团还能与金属离子形成可溶性络合物^[59]。有机酸与金属离子形成的络合物存在动态转化机制, 在解离与络合的平衡状态下金属离子既能保持有效性又能避免被重新固定^[60]。而有机酸通过与碳酸钙共沉淀的方式可将金属离子包裹在次生矿物中, 形成缓释型金属离子库^[61]。除直接化学作用外, 有机酸还通过调控根际微生物间接活化土壤养分。作为微生物代谢底物, 有机酸可特异性富集溶磷微生物, 通过调控碱性磷酸酶和微生物等功能基因 *phoD* 和 *pqqC* 的表达, 活化难溶性磷^[62]。有机酸还能促进细菌嗜铁素合成, 增强其对铁、锌等微量元素的螯合能力^[63]。根系分泌物可为根际微生物提供碳源与营养, 促进其定殖与活动, 间接影响植物生长^[64]。在“植物-微生物-土壤”共生体中, 根系分泌物作为关键介导者, 不仅直接参与养分的活化, 还通过招募有益微生物在根际富集, 增强有机物的释放, 协同提升植物对养分的吸收^[65-66]。

3.3 氮锌配施条件下外源添加根系分泌物可促进冬小麦吸收土壤锌

本试验中, 氮锌配施可显著提高冬小麦根系、茎叶和籽粒中的锌含量(图 2), 这与氮锌配施促进冬小麦锌吸收有关。邵运辉等^[67]研究表明, 氮锌配施有助于增强小麦籽粒中锌的累积; 常红等^[68]指出在土壤有效锌水平较低时, 氮锌配施对提高小麦籽粒锌含量的效果最为显著, 这与本研究结论一致。氮锌配施协同互作效应不仅源于养分的叠加供应, 还与其多层次协同调控锌吸收、转运及再分配相关蛋白的基因表达有关。位于质膜上的锌铁调控转运蛋白家族(ZRT-/IRT-like protein family, ZIP)通过调控锌离子跨膜流动, 转运多种金属离子, 促进植物对锌的吸收^[69-70]。Tiong 等^[71]和 Lin 等^[72]研究发现, 不同植物的 ZIP 同源基因, 如大麦锌/铁调控转运蛋白基因(*HvZIP3*、*HvZIP5* 和 *HvZIP7*)以及拟南芥锌/铁调控转运蛋白基因(*AtZIP3*、*AtZIP4* 和 *AtZIP7*)均在锌缺乏条件下被诱导表达, 进而介导锌离子流入根细胞, 促进锌在根系中的积累。Kobae 等^[73]发现, 拟南芥金属耐受蛋白(metal tolerance proteins, MTP)通过将锌离子隔离至液泡中富集, 在缺锌条件下为植物提供锌营养。Hanikenne 等^[74]也发现, 重金属 ATP 酶(heavy metal ATPase, HMA)作为一种 P1B-型 ATP

酶,通过将锌离子泵入木质部,驱动锌从根部向地上部运输。Zhu 等^[75]研究发现,水稻中液泡铁转运蛋白(vacuolar iron transporters, VIT)基因 *OsVIT1*、*OsVIT2* 功能缺失会阻滞锌向液泡转运,降低旗叶中锌含量,因此锌元素被更多地再分配至种子,从而促进了籽粒中锌的积累。Liu 等^[76]研究也发现,玉米 DUF300 蛋白家族成员 *ZmLAZI-4* 在转录因子 *ZmBES1BZR1-11* 的负调控下,通过质膜和液泡膜转运锌离子,调节锌的平衡,促进锌在玉米中的累积。已有研究表明,施氮、施锌及氮锌配施均可显著上调冬小麦根系中锌/铁调控转运蛋白(ZIP)家族中 *TaZIP3* 和 *TaZIP7* 基因表达^[77],从而促进冬小麦锌的吸收和转运。本试验中,氮锌配施条件下籽粒锌含量显著提高(图2),可能与植株体内锌运输相关基因的表达调控有关。同时,氮锌配施条件下外源添加根系分泌物可显著提高冬小麦籽粒锌含量(图2),可能是因为根系分泌的有机物与锌形成复合物,被运输至根表后通过跨膜转运蛋白被吸收并转运到细胞^[78]。Arnold 等^[23]发现,植物铁载体如麦根酸可与锌形成络合物,并通过黄色条纹蛋白(yellow stripe-like protein, YSL)进入植物根细胞。Tauris 等^[25]也发现,小麦根系分泌的麦根酸含量显著增加,可协同调控 *TaYSL* 基因的上调表达,进一步促进锌的吸收。

4 结论

施锌或氮锌配施显著提高了根际与非根际土壤中交换态、碳酸盐结合态及铁锰氧化物结合态锌的含量,并降低了残渣态锌含量。在添加根系分泌物的情况下,锌肥进一步促进了根际与非根际土壤中交换态和碳酸盐结合态锌的累积,提高了根际土壤有机结合态锌和非根际土壤铁锰氧化物结合态锌的含量;氮锌配施则显著提升了根际土壤中交换态、碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态锌的含量,同时显著降低了根际与非根际土壤中残渣态锌的比例。因此,氮锌肥配合施用外源冬小麦根系分泌物能进一步显著提升小麦产量和锌吸收量,这是因为根际分泌物可促进根际和非根际土壤中残渣态锌向碳酸盐结合态锌的转化,提高碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态锌的有效性,进而促进冬小麦吸收土壤锌及向籽粒中锌的转运。

参考文献:

[1] 谢小利,王敏奇. 锌和硒对动物免疫功能影响的研究进展[J]. 中国饲料, 2008, (20): 23–26.

Xie X L, Wang M Q. The advance of zinc and selenium on immune function of animal[J]. China Feed, 2008, (20): 23–26.

[2] Hambidge K M, Krebs N F. Zinc deficiency: A special challenge[J]. The Journal of Nutrition, 2007, 137(4): 1101–1105.

[3] Broadley M R, White P J, Hammond J P, et al. Zinc in plants[J]. New Phytologist, 2007, 173(4): 677–702.

[4] Cakmak I. Tansley review No. 111 possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species[J]. New Phytologist, 2000, 146(2): 185–205.

[5] 曹继琼, 何长华. 锌缺乏对人体健康的影响[J]. 现代医药卫生, 2014, 30(7): 1016–1019.

Cao J Q, He C H. The impact of zinc deficiency on human health[J]. Modern Medical and Health Care, 2014, 30(7): 1016–1019.

[6] Shiferaw B, Prasanna B M, Hellin J, et al. Crops that feed the world 6. Past successes and future challenges to the role played by maize in global food security[J]. Food Security, 2011, 3(3): 307–327.

[7] 田霄鸿, 李雅菲. 石灰性土壤小麦籽粒锌硒生物强化理论技术与推广面临的挑战[J]. 植物营养与肥料学报, 2024, 30(7): 1295–1306.

Tian X H, Li Y F. Theory and technology of zinc and selenium biofortification of wheat grain on calcareous soil and the challenges for extension[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2024, 30(7): 1295–1306.

[8] Liu H, Wang Z H, Li F, et al. Grain iron and zinc concentrations of wheat and their relationships to yield in major wheat production areas in China[J]. Field Crops Research, 2014, 156: 151–160.

[9] Zhang Y, Song Q, Yan J, et al. Mineral element concentrations in grains of Chinese wheat cultivars[J]. Euphytica, 2010, 174(3): 303–313.

[10] 刘敦一. 石灰性土壤上高产小麦玉米生产体系中的锌营养及锌肥管理[D]. 北京: 中国农业大学博士学位论文, 2017.

Liu D Y. Zinc nutrition of high-yield wheat and maize and its management on calcareous soil[D]. Beijing: PhD Dissertation of China Agricultural University, 2017.

[11] 张璐, 蔡泽江, 王慧颖, 等. 中国稻田土壤有效态中量和微量元素含量分布特征[J]. 农业工程学报, 2020, 36(16): 62–70.

Zhang L, Cai Z J, Wang H Y, et al. Distribution characteristics of effective medium and micronutrient element contents in paddy soils of China[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2020, 36(16): 62–70.

[12] 刘铮. 我国土壤中锌含量的分布规律[J]. 中国农业科学, 1994, 27(1): 30–37.

Liu Z. Distribution law of zinc content in soil of China[J]. Scientia Agricultura Sinica, 1994, 27(1): 30–37.

[13] 韩凤祥, 胡露堂, 秦怀英, 等. 石灰性土壤环境中缺锌机理的探讨[J]. 环境化学, 1993, (1): 36–42.

Han F X, Hu A T, Qin H Y, et al. Discussion on the mechanism of zinc deficiency in calcareous soil environment[J]. Environmental Chemistry, 1993, (1): 36–42.

[14] Zou C Q, Zhang Y Q, Rashid A, et al. Biofortification of wheat with zinc through zinc fertilization in seven countries[J]. Plant and Soil, 2012, 361(1): 119–130.

[15] 陶焱金, 井凌琨, 王琪, 等. 锌肥施用对我国小麦籽粒锌含量的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2023, 40(3): 660–666.

- Tao Y J, Jing L K, Wang Q, *et al.* Effects of zinc fertilizer application on zinc content of wheat (*Triticum aestivum* L.) grains in China[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2023, 40(3): 660–666.
- [16] Alloway B J. Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans[J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2009, 31(5): 537–548.
- [17] Leite C M C, Muraoka T, Colzato M, *et al.* Soil-applied Zn effect on soil fractions[J]. *Scientia Agricola*, 2019, 77(2): e20180124.
- [18] Kutman U B, Yildiz B, Cakmak I. Improved nitrogen status enhances zinc and iron concentrations both in the whole grain and the endosperm fraction of wheat[J]. *Journal of Cereal Science*, 2011, 53(1): 118–125.
- [19] Montoya M, Vallejo A, Recio J, *et al.* Zinc–nitrogen interaction effect on wheat biofortification and nutrient use efficiency[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2020, 183(2): 169–179.
- [20] 何忠俊, 华路, 洪常青. 氮锌交互作用对黄棕壤锌形态的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2004, 23(2): 209–212.
- He Z J, Hua L, Hong C Q. Effect of interaction between nitrogen and zinc on forms of zinc in yellow-brown soil[J]. *Journal of Agro-Environment Sciences*, 2004, 23(2): 209–212.
- [21] Qu T, Shen R F, Che J. Transcriptome analysis of wheat identifies key genes involved in iron and zinc distribution and signaling[J]. *Plant and Soil*, 2025, 514: 3173–3189.
- [22] Nanda A K, Pujol V, Wissuwa M. Patterns of stress response and tolerance based on transcriptome profiling of rice crown tissue under zinc deficiency[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68(7): 1715–1729.
- [23] Arnold T I M, Kirk G J D, Wissuwa M, *et al.* Evidence for the mechanisms of zinc uptake by rice using isotope fractionation[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2010, 33(3): 370–381.
- [24] Tauris B, Borg S, Gregersen P L, *et al.* A roadmap for zinc trafficking in the developing barley grain based on laser capture microdissection and gene expression profiling[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(4): 1333–1347.
- [25] Rani N, Chauhan A, Kaur S, *et al.* Molecular mechanistic of Zn-solubilizing bacteria for agronomic eminence: Recent updates and futuristic development[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2025, 44(4): 1337–1351.
- [26] Hinsinger P, Plassard C, Tang C, *et al.* Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review[J]. *Plant and Soil*, 2003, 248(1): 43–59.
- [27] Badri D V, Vivanco J M. Regulation and function of root exudates [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2009, 32(6): 666–681.
- [28] Chai Y N, Schachtman D P. Root exudates impact plant performance under abiotic stress[J]. *Trends in Plant Science*, 2022, 27(1): 80–91.
- [29] Maqsood M A, Hussain S, Aziz T, *et al.* Wheat-exuded organic acids influence zinc release from calcareous soils[J]. *Pedosphere*, 2011, 21(5): 657–665.
- [30] Zhang F, Li L. Using competitive and facilitative interactions in intercropping systems enhances crop productivity and nutrient-use efficiency[J]. *Plant and Soil*, 2003, 248(1): 305–312.
- [31] Marschner P, Crowley D, Rengel Z. Rhizosphere interactions between microorganisms and plants govern iron and phosphorus acquisition along the root axis—model and research methods[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(5): 883–894.
- [32] Mori S. Iron acquisition by plants[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 1999, 2(3): 250–253.
- [33] Kirk G J D, Bajita J B. Root-induced iron oxidation, pH changes and zinc solubilization in the rhizosphere of lowland rice[J]. *New Phytologist*, 1995, 131(1): 129–137.
- [34] Jones D L, Edwards A C, Donachie K, *et al.* Role of proteinaceous amino acids released in root exudates in nutrient acquisition from the rhizosphere[J]. *Plant and Soil*, 1994, 158(2): 183–192.
- [35] 廖李容. 氮添加对白羊草土壤有机碳组分及根系分泌物的影响[D]. 北京: 中国科学院大学硕士学位论文, 2021.
- Liao L R. Effects of nitrogen addition on soil organic carbon components and root exudates of *Bothriochloa ischaemum*[D]. Beijing: MS Thesis of University of Chinese Academy of Sciences, 2021.
- [36] Taheri S, Ronaghi A, Fasaei R G, *et al.* Co-ordination of root salinity and shoot zinc level with rhizosphere organic acid secretion in maize[J]. *Rhizosphere*, 2020, 14: 100197.
- [37] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007.
- Bao Shidan. Soil and agrochemical analysis (third edition) [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2007.
- [38] Suzuki K, Okazaki K, Tawarayama K, *et al.* Gas chromatography–mass spectrometry associated global analysis of rice root exudates under aseptical conditions[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2009, 55(4): 505–513.
- [39] Wang J, Ding Z, Bian J, *et al.* Chemotaxis response of meloidogyne incognita to volatiles and organic acids from root exudates[J]. *Rhizosphere*, 2021, 17: 100320.
- [40] Pan T, Ali M M, Gong J, *et al.* Fruit physiology and sugar-acid profile of 24 pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) cultivars grown in subtropical region of China[J]. *Agronomy*, 2021, 11(12): 2393.
- [41] Tessier A, Campbell P G C, Bisson M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals[J]. *Analytical Chemistry*, 1979, 51(7): 844–851.
- [42] 张晓晓, 安美君, 吴凤芝. 不同生态条件对西瓜根际土壤微生物群落结构的影响[J]. *北方园艺*, 2017, (3): 101–108.
- Zhang X X, An M J, Wu F Z. The influence of different ecological conditions on the microbial community structure of the rhizosphere soil of watermelon[J]. *Northern Horticulture*, 2017, (3): 101–108.
- [43] Li Y, Zhang K, Zhang H, *et al.* Organic pollutant-induced long-distance ROS signaling drives plant systemic acquired acclimation via rhizomicrobiota[J]. *Nature Communications*, 2025, 16(1): 9077.
- [44] Xie L, Yang Y, Ma J, *et al.* Variation in seedling growth, root exudates and rhizosphere microbial communities of two temperate tree species under fluctuating light and extreme drought[J]. *Plant and Soil*, 2025, 517: 487–507.
- [45] 杨平, 吴凤芝. 不同化感效应的小麦根系分泌物对黄瓜幼苗生长及根系生理生化特性的影响[J]. *中国蔬菜*, 2012, (4): 37–42.
- Yang P, Wu F Z. Effects of root aqueous extracts of wheat cultivars with different allelopathy potential on cucumber seedlings growth and physiological and biochemical characters of cucumber root[J].

- Chinese Vegetables, 2012, (4): 37–42.
- [46] Mishra S, Levengood H, Fan J, *et al.* Plants under stress: Exploring physiological and molecular responses to nitrogen and phosphorus deficiency[J]. *Plants*, 2024, 13(22): 3144.
- [47] Kania A, Langlade N, Martinoia E, *et al.* Phosphorus deficiency-induced modifications in citrate catabolism and in cytosolic pH as related to citrate exudation in cluster roots of white lupin[J]. *Plant and Soil*, 2003, 248(1): 117–127.
- [48] Rose M T, Rose T J, Pariasca-Tanaka J, *et al.* Root metabolic response of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes with contrasting tolerance to zinc deficiency and bicarbonate excess[J]. *Planta*, 2012, 236(4): 959–973.
- [49] Hu S, Du B, Mu G, *et al.* The transcription factor OsbZIP48 governs rice responses to zinc deficiency[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2024, 47(5): 1526–1542.
- [50] Kamali S, Sonkar K, Singh A. Cellular transport and multifaceted roles of jasmonates in nutrient deficiency response in plants[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2025, 44(1): 115–130.
- [51] 张敏. 长期秸秆还田活化石灰性土壤锌及促进小麦籽粒锌吸收的过程与机制[D]. 合肥: 安徽农业大学硕士学位论文, 2023.
Zhang M. Mechanism of activating Zn in calcareous soil and promoting Zn uptake in wheat grains by long-term straw returning [D]. Hefei: MS Thesis of Anhui Agricultural University, 2023.
- [52] 白玲玉, 陈世宝, 华珺, 等. 腐植酸与Cd、Zn的络合特性研究[J]. 核农学报, 2000, 14(1): 44–48.
Bai L Y, Chen S B, Hua L, *et al.* Studies on characteristics of complexation of Cd and Zn with humic acids[J]. *Journal of Nuclear Agriculture*, 2000, 14(1): 44–48.
- [53] 杨苏才. 锌、镉、镍、铅在绿洲土壤中形态分布的实验研究[D]. 兰州: 兰州大学硕士学位论文, 2006.
Yang S C. An experimental study speciation distribution for Zn, Cd, Ni, Pb in oasis soils[D]. Lanzhou: MS Thesis of Lanzhou University, 2006.
- [54] 赵爱青. 外源锌对潜在缺锌石灰性土壤中锌扩散—迁移转化—作物吸收的影响[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学博士学位论文, 2015.
Zhao A Q. Effects of zinc fertilizer application on Zn diffusion-transformation-uptake of wheat plants on potentially Zn deficient calcareous soil[D]. Yangling, Shaanxi: PhD Dissertation of Northwest A&F University, 2015.
- [55] Pérez-Esteban J, Escolástico C, Masaguer A, *et al.* Soluble organic carbon and pH of organic amendments affect metal mobility and chemical speciation in mine soils[J]. *Chemosphere*, 2014, 103: 164–171.
- [56] Tahervand S, Jalali M. Sorption and desorption of potentially toxic metals (Cd, Cu, Ni and Zn) by soil amended with bentonite, calcite and zeolite as a function of pH[J]. *Journal of Geochemical Exploration*, 2017, 181: 148–159.
- [57] 程锦, 闫磊, 曾钰, 等. 根系对酸胁迫的应激反应及硼调控耐酸机制的研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2021, 27(7): 1273–1281.
Cheng J, Yan L, Zeng Y, *et al.* Root response to acid stress and the mechanism of acid tolerance regulated by boron[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2021, 27(7): 1273–1281.
- [58] Ojha A, Bandyopadhyay T K, Das D, *et al.* Microbial carbonate mineralization: A comprehensive review of mechanisms, applications, and recent advancements[J]. *Molecular Biotechnology*, 2026, 68: 1079–1105.
- [59] Martínez C E, Jacobson A R, McBride M B. Lead phosphate minerals: Solubility and dissolution by model and natural ligands[J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(21): 5584–5590.
- [60] Qian J W, Tao Y, Zhang W J, *et al.* Presence of Fe³⁺ and Zn²⁺ promoted biotransformation of Cd–citrate complex and removal of metals from solutions[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 263: 367–373.
- [61] Huang G, Su X, Rizwan M S, *et al.* Chemical immobilization of Pb, Cu, and Cd by phosphate materials and calcium carbonate in contaminated soils[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(16): 16845–16856.
- [62] Yang L, Du L, Li W, *et al.* Divergent responses of phoD- and pqqC-harbouring bacterial communities across soil aggregates to long fertilization practices[J]. *Soil and Tillage Research*, 2023, 228: 105634.
- [63] Wang Y, Luo D, Xiong Z, *et al.* Changes in rhizosphere phosphorus fractions and phosphate-mineralizing microbial populations in acid soil as influenced by organic acid exudation[J]. *Soil and Tillage Research*, 2023, 225: 105543.
- [64] 吴清莹, 林宇龙, 孙一航, 等. 根系分泌物对植物生长和土壤养分吸收的影响研究进展[J]. 中国草地学报, 2021, 43(11): 97–104.
Wu Q Y, Lin Y L, Sun Y H, *et al.* Research progress on effects of root exudates on plant growth and soil nutrient uptake[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2021, 43(11): 97–104.
- [65] Pinton R, Varanini Z, Nannipieri P. The rhizosphere: Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface[M]. Boca Raton, USA: CRC press, 2007.
- [66] Feng H, Zhang N, Fu R, *et al.* Recognition of dominant attractants by key chemoreceptors mediates recruitment of plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Environmental Microbiology*, 2019, 21(1): 402–415.
- [67] 邵运辉, 张盼盼, 马耕, 等. 氮钾肥配施对小麦籽粒不同类型混合粉锌营养品质的影响[J]. 麦类作物学报, 2020, 40(12): 1533–1543.
Shao Y H, Zhang P P, Ma G, *et al.* Effect of nitrogen and zinc application on the nutritional quality of mixed powder in wheat grain[J]. *Journal of Cereal Crops*, 2020, 40(12): 1533–1543.
- [68] 常红, 周鑫斌, 于淑慧, 等. 小麦氮钾配施效应研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2013, 35(11): 49–53.
Chang H, Zhou X B, Yu S H, *et al.* Study of the effect of combined application of nitrogen and zinc on wheat[J]. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 2013, 35(11): 49–53.
- [69] Vert G, Barberon M, Zelazny E, *et al.* *Arabidopsis* IRT2 cooperates with the high-affinity iron uptake system to maintain iron homeostasis in root epidermal cells [J]. *Planta*, 2009, 229(6): 1171–1179.
- [70] Shin L J, Lo J C, Chen G H, *et al.* IRT1 degradation factor1, a ring E3 ubiquitin ligase, regulates the degradation of iron-regulated transporter1 in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2013, 25(8): 3039–3051.
- [71] Tiong J, McDonald G, Genc Y, *et al.* Increased expression of six ZIP family genes by zinc (Zn) deficiency is associated with enhanced uptake and root-to-shoot translocation of Zn in barley (*Hordeum vulgare*)[J]. *New Phytologist*, 2015, 207(4): 1097–1109.

- [72] Lin Y F, Liang H M, Yang S Y, *et al.* *Arabidopsis* IRT3 is a zinc-regulated and plasma membrane localized zinc/iron transporter[J]. *New Phytologist*, 2009, 182(2): 392–404.
- [73] Kobae Y, Uemura T, Sato M H, *et al.* Zinc transporter of *Arabidopsis thaliana* AtMTP1 is localized to vacuolar membranes and implicated in zinc homeostasis[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2004, 45(12): 1749–1758.
- [74] Hanikenne M, Talke I N, Haydon M J, *et al.* Evolution of metal hyperaccumulation required cis-regulatory changes and triplication of HMA4[J]. *Nature*, 2008, 453: 391–395.
- [75] Zhu S, Zhang S, Wang W, *et al.* Transcriptome analysis reveals candidate pathways and genes involved in wheat (*Triticum aestivum* L.) response to zinc deficiency[J]. *Biology*, 2025, 14(8): 985.
- [76] Liu B, Yu H, Yang Q, *et al.* Zinc transporter ZmLAZ1-4 modulates zinc homeostasis on plasma and vacuolar membrane in maize[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 881055.
- [77] Nie Z, Zhao P, Shi H, *et al.* Nitrogen supply enhances zinc uptake and root-to-shoot translocation via up-regulating the expression of TaZIP3 and TaZIP 7 in winter wheat (*Triticum aestivum*)[J]. *Plant and Soil*, 2019, 444(1): 501–517.
- [78] Sadeghzadeh B, Rengel Z. Zinc in soils and crop nutrition[A]. Hawkesford M J, Barraclough P. The molecular and physiological basis of nutrient use efficiency in crops[M]. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2011.