

磷胁迫对不同基因型甜菜根系形态及根分泌物的影响

周建朝^{1,2,3}, 王孝纯^{1,2,3}, 邓艳红^{1,2,3}, 林晓坤⁴, 王艳^{1,2,3}

¹黑龙江大学, 哈尔滨 150080; ²中国农业科学院甜菜研究所, 哈尔滨 150080;

³黑龙江省普通高校甜菜遗传育种重点实验室, 哈尔滨 150080; ⁴福建农林大学, 福州 350002)

摘要: 选用了3种不同抗磷胁迫能力的基因型甜菜种质材料‘品14’、‘品17’和‘品20’, 通过液培和沙培法对低磷胁迫下甜菜根长、根冠比、根系H⁺及有机酸分泌等形态和生理特性进行了研究。结果表明: (1)磷胁迫对甜菜根系的形态特征影响显著, 与正常磷营养水平比, 各基因型甜菜的根系长度和根冠比均有显著增加($P<0.05$), 其中抗磷胁迫能力最强的‘品20’增加幅度显著高于其他2个基因型; (2)甜菜根系主要分泌草酸、乳酸、马来酸及反丁烯二酸, 其中大部分为草酸和乳酸, 在低磷胁迫下, 只有抗磷胁迫能力最强的‘品20’此两种酸的分泌达到显著增加水平; (3)不同基因型甜菜受磷胁迫后, 近根区生长环境变化各异, 其中抗磷胁迫能力最强的‘品20’H⁺的分泌量的增幅显著高于其他2个基因型。

关键词: 甜菜; 磷胁迫; 根系形态; 根系分泌物

中图分类号: S566.3

文献标志码: A

论文编号: 2010-2068

Effects of Phosphorus Stress on the Root Morphology and Root Exudates in Different Sugar Beet Genotypes

Zhou Jianchao^{1,2,3}, Wang Xiaochun^{1,2,3}, Deng Yanhong^{1,2,3}, Lin Xiaokun⁴, Wang Yan^{1,2,3}

¹Heilongjiang University, Harbin 150080;

²Sugarbeet Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150080;

³The Key Laboratory of Sugarbeet Genetic Breeding, Heilongjiang Common College, Harbin 150080;

⁴Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002)

Abstract: Phosphorus deficiency was induced in sugar beet plants (*Beta vulgaris* L., ‘var. 14’, ‘var. 17’ and ‘var. 20’ with different resistance ability to phosphorus stress), cultured hydroponically and sandily under standardized environmental conditions, by removing phosphorus from the nutrient supply at the seedling stage. Root morphology, H⁺ excretion and organic acid in rhizosphere were investigated. The main results were showed as following: the average length of roots and the ratio of root to shoot in all genotypes were increased significantly ($P<0.05$), among which, the decreasing range of ‘var. 14’ was the biggest one; sugar beet root mainly excreted oxalic, lactic, maleic acid and trans-butenedioic acid, among which, the first two kinds of the organic acids were the main ingredient, and the phenomena of the significant increase in the secretion amount of those two kinds acids was only appeared in ‘var. 20’ with higher resistance to phosphorus stress; phosphorus deficiency stimulated the environment changed in root vicinity of sugar beet, and showed as an increase of the H⁺ secretion in all the genotypes used in the experiment, but the increased amount of H⁺ were genetic dependent, i.e. ‘var.20’>‘var.17’>‘var.14’.

Key words: sugar beet (*Beta vulgaris* L.); phosphorus deficiency; root morphology; root exudates

基金项目: 国家自然科学基金项目“甜菜抗耐低磷胁迫的生理机理研究”(30471111)。

第一作者简介: 周建朝, 男, 1959年出生, 辽宁省大连人, 研究员, 博士生导师, 主要从事植物营养与施肥技术的研究。通信地址: 150080 哈尔滨市学府路74号 黑龙江大学农作物研究院, Tel: 0451-86609496, E-mail: caaszjc@yahoo.com.cn。

收稿日期: 2010-07-08, 修回日期: 2010-09-25。

0 引言

在绝大多数农业土壤中,全磷含量比较充足(在0.02%~0.08%范围内),但土壤溶液中植物有效态磷只占很小的比例^[1]。然而,土壤溶液中的磷处于动态平衡过程中,被固定、吸附的磷在一定条件下可向有效态磷方向转化。土壤中的多种因素,如pH值、有机质含量、水分状况、微生物活动和植物根系分泌的质子和有机酸等均可影响磷的有效性,其中土壤中的微生物和植物通过根系的生命活动产生的柠檬酸、苹果酸等有机酸类物质起着主导作用^[2-3]。研究表明,红三叶草^[4]、小麦^[5]、水稻^[6-7]等植物在低磷胁迫条件下,会通过改变根系形态、增加根际H⁺及有机酸分泌量来增加对磷的活化作用,以适应低磷胁迫对自身生长的影响。应用菜豆根系几何模型的理论研究结果表明^[8],根系形态空间分布上的不同,在很大程度上影响磷吸收的生理效应,决定着根系获取磷时所消耗的有机碳量、呼吸及排泄。甜菜不同品种根毛长度和根毛密度各异^[9],受到磷胁迫后,对根组织空隙度、根中柱面积、根维管束环间薄壁组织面积、根组织分化度及皮层细胞密度等解剖学特征产生明显阻碍,且具有明显的生物多样性特点^[9]。同时,低磷对甜菜根系有机酸的分泌有促进作用^[2]。甜菜是需磷较高的作物,在磷营养不足时,甜菜如能通过自身形态或代谢的改变,提高吸磷能力,维持或接近正常营养时的生长水平,将为农业生产的减投增效开辟新途径。作物吸磷能力的提高主要通过两种方式,即根系形态的改变和通过根的生命活动使根际营养环境改变。目前,在磷胁迫对甜菜根形态、根有机酸分泌的影响方面,特别是不同基因型间的差异特征等还不清楚,进行本研究有助于探明甜菜耐低磷的生理机制,为甜菜生产中的磷营养科学管理、磷高效品种的培育和改良提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

选用3个亲缘关系较远的甜菜种质材料,代号分别是‘品14’,‘品17’,‘品20’号,它们分别来源于德国KWS(Kleinwanzlebener Saatzucht AG)育种公司的二倍体、中国农业科学院甜菜研究所产业发展研究室的四倍体和荷兰Advanta育种公司的三倍体材料。其中‘品14’为不耐磷胁迫型,‘品17’为中度耐低磷型,‘品20’为耐低磷型^[10]。

1.2 试验设计

1.2.1 水培试验 饱满、大小均匀的甜菜种子在1:600的福美霜溶液浸泡6 h,然后用蒸馏水洗净备用。取经250℃高温消毒3 h的石英沙2 kg于瓷盘中,浇500 mL

高压灭菌的蒸馏水,将种子均匀散播其上,再覆400 g沙,置于无菌人工培养室培养,待子叶完全展平后开始移苗。将3个基因型的甜菜幼苗分别移入盛有7 L半倍Hoagland营养液的玻璃槽中,营养液中磷分别设成含1 μmol/L KH₂PO₄(P₁)和100 μmol/L KH₂PO₄(P₁₀₀)2个浓度,重复3次,于昼12 h、光强200 μmol/(m²·s)、温度25℃,夜间18℃的培养室培养,植物生长所需的氧气通过人工供给,每3天更换1次营养液,待苗龄20天后测定。

1.2.2 沙培试验 取消毒灭菌后的甜菜种子(同水培试验),按每盆20粒均匀播于装有2.5 kg沙的塑料盆中,于室外培养。磷的浓度设2个,即P₁和P₁₀₀,每个处理重复10次,基质中磷的浓度通过每天用含1 μmol/L KH₂PO₄和100 μmol/L KH₂PO₄的半倍Hoagland营养液控制。在苗龄60天时进行有机酸分泌特性的测定。

1.3 测定方法

1.3.1 H⁺分泌量 水培第19天时每槽取出30组幼苗分别置于涂墨的6个烧杯中,即每个烧杯有5组幼苗,培养25 h后,分别测定其中3个烧杯中培养液的pH值,并记录25 h营养液的变化量,另外三个烧杯中的甜菜幼苗继续培养,42 h后再进行pH值测定。根据[H⁺]=1/10^{pH}来换算H⁺分泌量。

1.3.2 根长 测定过pH值后的各组幼苗用蒸馏水洗净,称取幼苗地上部及地下部的鲜重,并分别取0.5 g鲜根,采用Tennant^[11]的直线截点法,根据公式 $RL=(11/14) \times G \times N \times (FW/SW)$ 计算根系长度。式中RL—根系总长度(cm);11/14—换算系数;G—方形网格边长(2 cm);N—根段与网格线的交叉点数;FW—根系总鲜重(g);SW—测定根段鲜重(g)。

1.3.3 有机酸的收集与测定 沙培60天后,将甜菜苗小心地自沙盆取出,蒸馏水洗净,置于0.05 mmol/L的CaCl₂溶液中,光下培养4 h,过滤该液冷冻保存,有机酸含量的测定利用HPLC法^[12]。

1.4 数据处理

本试验的数据为3次重复的平均值,数据的方差分析、Duncan多重比较均在Microsoft Excel和DPS V3.01软件上进行。

2 结果与分析

2.1 低磷胁迫条件下不同基因型甜菜根长、根冠比的变化

从表1中可以看出,3种不同基因型甜菜苗期的根长、根冠比在不同磷水平下各不相同,但有一个共同变化趋势,即P₁>P₁₀₀,其中耐低磷型甜菜‘品20’根长增加1倍,根冠比增加4倍;不耐低磷‘品14’根长增加0.5

表1 不同磷水平下不同基因型甜菜苗期的根长、根冠比

测定项	基因型	P ₁	P ₁₀₀	P ₁ 比P ₁₀₀ 增加率/%
平均根长/cm	品14	384.07±1.48 a	255.67±1.42 ab	50
	品17	366.40±1.73 a	270.43±1.32 ab	36
	品20	384.47±1.47 a	190.77±1.54 b	101
根冠比	品14	0.328±0.031 ab	0.079±0.004 c	317
	品17	0.258±0.055 b	0.088±0.001 c	194
	品20	0.357±0.079 a	0.071±0.015 c	401

倍,根冠比增加3倍多,而中度耐低磷‘品17’根长和根冠比增加最少,说明光合产物在分配方向和强度上随磷素水平的不同而改变,即在P₁处理下,光合产物分配到地下部的比例高,以促使根系发达,扩大与土壤的接触面积,从而有可能使其获得的磷素增加。

2.2 低磷胁迫条件下不同基因型甜菜根系有机酸的变化

甜菜可向根际分泌多种有机酸,其中主要有草酸、乳酸、马来酸和反丁烯二酸,而前2种又占绝对主导地位。图1是磷胁迫对各品种分泌草酸的影响结果。可见,在磷胁迫时,抗磷胁迫能力较低的‘品14’和‘品17’的草酸分泌量或是变化不大,或是显著降低,而抗性较强的‘品20’草酸分泌量极显著地增加。

图2是磷胁迫对各品种甜菜乳酸含量的影响结

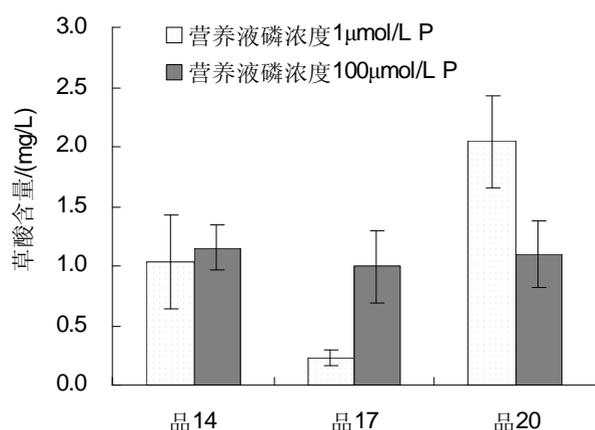


图1 磷胁迫对不同基因型甜菜培养基中草酸含量影响

果,和草酸的分泌趋势相似,与足磷处理相比,磷胁迫条件下,‘品14’的乳酸分泌量有所增加,‘品17’有所下降,但增减的幅度都没有达到统计显著水平,而‘品20’受到磷胁迫时,乳酸的分泌能力得到了极显著的改善,介质中乳酸含量增加了1倍以上。

甜菜生长介质中的马来酸和反丁烯二酸含量与前2种有机酸相反,在磷胁迫时,抗磷胁迫能力较差的‘品14’2种酸均有增加,其中马来酸含量达到显著水平,抗性中等的‘品17’反丁烯二酸含量增加也达到显著水平,而抗性最强的‘品20’均有一定程度降低,但没达到统计显著水平(表2)。

2.3 低磷胁迫条件下不同基因型甜菜根H⁺分泌量的变化

将处于正常磷营养条件下的3个甜菜品种分别置

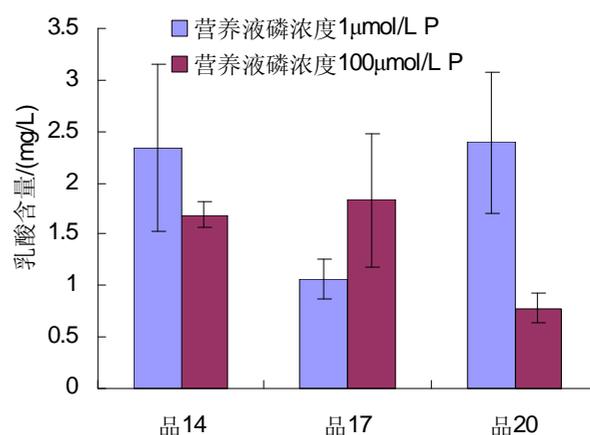


图2 磷胁迫对不同基因型甜菜培养基中乳酸含量影响

表2 不同磷处理介质中马来酸和反丁烯二酸含量

磷处理 (μmol/L)	项目	马来酸含量/(mg/L)			反丁烯二酸含量/(mg/L)		
		品14	品17	品20	品14	品17	品20
1	平均	0.007	0.006	0.009	0.012	0.009	0.007
	Sx(标准差)	0.002	0.003	0.002	0.003	0.002	0.002
100	平均	0.003	0.008	0.010	0.008	0.005	0.011
	Sx(标准差)	0.001	0.002	0.002	0.002	0.002	0.004

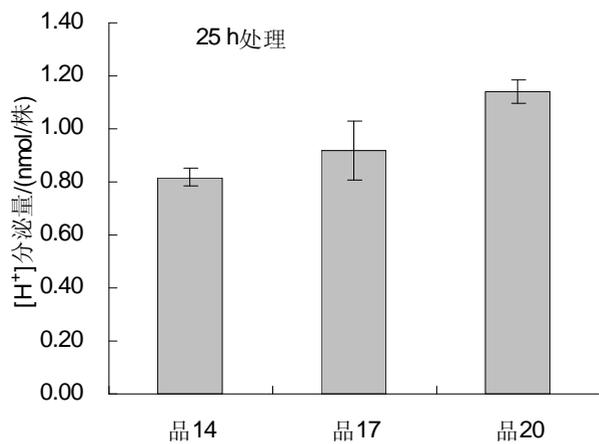


图3 与100 mol/L P比, 1 μmol/L P处理25 h
根系分泌H⁺增加量

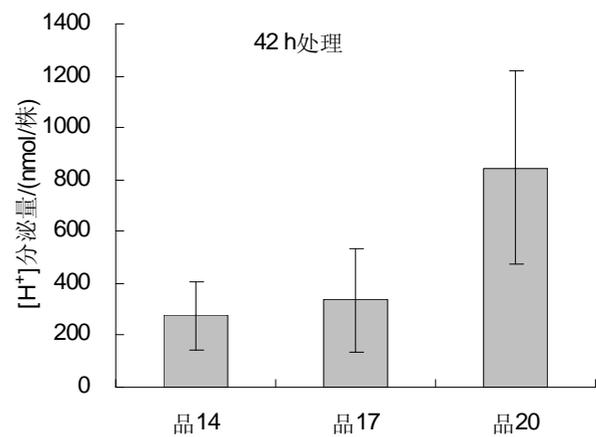


图4 与100 μmol/L P比, 1 μmol/L P处理42 h
根系分泌H⁺增加量

于1 μmol/L P的营养液中进行低磷胁迫处理,结果表明,在胁迫后25 h,甜菜根系H⁺分泌量表现出明显地增加,不同品种表现各异,其中‘品14’最低,‘品17’居中,‘品20’最高,并且比前2个品种达到显著(图3)。当磷胁迫达到42 h时,各品种H⁺分泌量的增加值与25 h的趋势一致,仍然是‘品14’最低,‘品17’居中,‘品20’最高,只是‘品20’的H⁺分泌量增加值比前2个品种增加的幅度更大(图4),说明其根际环境更有利于磷素的吸收,减少磷亏缺的影响。

3 结论与讨论

磷是对光合作用及影响光合同化物在地上部与根系之间分配的较重要元素之一^[13]。低磷胁迫下,最先感受养分胁迫信号并对这一逆境信号加工、处理和传递的应该是根系^[14]。地上部接受根部传递过来的胁迫信号后,整个植物对环境养分缺乏胁迫迅速做出反应,采取相应的调节措施(如改变根系形态等)以适应胁迫环境。拟南芥在低磷条件下,根毛的长度和密度增加,证明了其对养分吸收能力的优越性^[15]。本研究中,不同基因型甜菜在低磷条件下,根长均表现为不同程度的增加,耐低磷型的‘品20’增加尤为明显,为其扩大与磷素的接触表面积和增强对磷素的吸收奠定了基础,说明根长的增加是甜菜适应低磷逆境的适应性反应。

低磷胁迫能使根冠比增加有两种机理:一是相对促进根系生长之故,这是植物适应贫瘠土壤的主动反应机制;二是由于低磷条件下地上部生长速率下降比根系更明显所致,它是植物对磷胁迫的一种被动反应方式^[16]。前人对甜菜的研究结果表明低磷胁迫促进碳水化合物向根系运输^[17],玉米、大豆、小麦等在缺磷胁迫早期也表现为更多的碳水化合物向根系运输,使根

冠比增加^[5]。然而,白羽扇豆在缺磷胁迫40天后相对于正常生长的植株,叶片组织中的磷水平大大降低,光合速率开始下降,向根系中运输的同化物也显著低于正常植株^[14]。本研究结果表明,不同基因型甜菜的根冠比均有不同程度的增加,其中‘品20’低磷胁迫下的根冠比较之正常磷水平增加最多,‘品14’、‘品17’也有明显增加。¹⁴CO₂示踪表明^[6],耐低磷品种低磷胁迫下¹⁴C同化物向根系分配比率明显增加,而低磷敏感品种有所下降。可见,不同品种根冠比增加的机理不同,耐低磷品种由于适应低磷胁迫而向地下部转运更多的碳水化合物以促进根系生长,使根冠比增加,低磷敏感品种的地上部和地下部均受到抑制,而地下部受抑制的程度更小,从而使根冠比亦有所增加。

植物对低磷胁迫的反应与吸收土壤中磷素能力及体内磷素利用效率2种机制有关,耐低磷基因型植物对土壤中磷素吸收优势主要取决于根系活化作用,体现在根系分泌质子和有机酸能力上^[19]。在磷亏缺条件下,植物通常会促进根系向根际分泌H⁺,从而造成根圈酸化,辅助磷的吸收。许多研究表明,低磷胁迫下根系分泌的有机酸(如柠檬酸、苹果酸等),对于将土壤中的难溶性无机磷活化为有效磷起重要作用^[20-21]。不同植物缺磷胁迫时根系分泌主要有有机酸成分不同,水稻根系在低磷胁迫条件下,其根系分泌物中主要为苹果酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸等,而且苹果酸相对分泌量较大^[19]。本研究中,甜菜在低磷胁迫下根系主要分泌草酸、乳酸、马来酸及反丁烯二酸,其中大部分为草酸和乳酸,马来酸和反丁烯二酸含量较少。耐低磷型甜菜‘品20’在低磷胁迫下的H⁺分泌量和有机酸总量均较其他2个品种显著增加,说明‘品20’对缺磷环境具有较好的适应能力,H⁺量和有机酸含量的增加能有效活

化根际环境中束缚态的无机磷, 从而提供自身生长发育所需的磷素。低磷敏感型甜菜‘品 14’和适度耐低磷胁迫的‘品 17’在低磷胁迫下 H⁺量分泌较少, 有机酸含量增加幅度不大, 甚至降低, 说明根际有机酸分泌量的多少是判定甜菜耐低磷能力的一个重要指标。

参考文献

- [1] Rahmatullah M A, Gill B Z, Shaikh M. Salim. Bioavailability and distribution of phosphorus among inorganic fractions in calcareous soils[J]. *Arid Soil Res. Rehabil*, 1993.
- [2] Gerke J. Kinetics of soil phosphate desorption as affected by citric acid [J]. *Z. Pflanzenernahr Bodenkd.*, 1994, 157: 17-22.
- [3] Gerke J. Chemische Prozesse der Nährstoffmobilisierung in der Rhizosphäre und ihre Bedeutung für den Übergang vom Boden in die Pflanze[J]. Göttingen: Cuvillier Verlag, 1995.
- [4] Meyer U. Phosphatmobilisierung in der Rhizosphäre verschiedener Pflanzenarten auf einem Humuspodsol. Diplomarbeit, Institut f. Agrikulturchemie Universität Göttingen, 1993.
- [5] 庞欣, 李春俭, 张福锁. 部分根系供磷对小麦幼苗生长及同化物分配的影响[J]. *作物学报*, 2000, 26(6): 721-724.
- [6] 李锋, 潘晓华, 刘水英, 等. 低磷胁迫对不同水稻品种根系形态和养分吸收的影响[J]. *作物学报*, 2004, 30(5): 438-442.
- [7] 李德华, 向春雷, 姜益泉, 等. 低磷胁迫条件下不同水稻品种根系生理特性的研究[J]. *华中农业大学学报*, 2006, 25(6): 626-629.
- [8] Nielsen K L, Lynch J, et al. Carbon cost of root systems: an architectural approach [J]. *Plant Soil*, 1994, 165: 161-169.
- [9] 周建朝, 奚红光. 不同基因型甜菜根形态解剖学研究[J]. *中国甜菜糖业*, 2006, 193(4): 2-5.
- [10] 周建朝, 於丽华, 王孝纯. 无机磷形态对甜菜生长和磷吸收的效应[J]. *中国糖料*, 2007, 4: 1-5.
- [11] 伯姆 W 著. 根系研究法[M]. 薛德榕, 谭协麟译. 北京: 科学出版社, 1980.
- [12] Ma J F, Zheng S J, Matsumoto H. Specific secretion of citric acid induced by Al stress in *Cassia tora*. L[J]. *Plant Cell Physiol*, 1997, 38(9): 1019-1025.
- [13] 李锋, 潘晓华. 植物适应缺磷胁迫的根系形态及生理特征研究进展[J]. *中国农学通报*, 2002, 18(5): 65-69.
- [14] 庞欣. 黄瓜和小麦对磷胁迫的响应和调节[D]. 北京农业大学, 1999.
- [15] Bates T R, Lynch J P. Stimulation of root hair elongation in *Arabidopsis thaliana* by low P availability[J]. *Plant Cell Environ*, 1996, 19: 529-235.
- [16] 欧阳延生, 余继红, 张云兰. 禾本科牧草对低磷反应的研究[J]. *草业科学*, 1995, 12(3): 53-59.
- [17] I. Madhusudana Rao, Arthur L. F, Norman T. Leaf phosphate status, photosynthesis, and carbon partitioning in sugar beet[J]. III. *Plant Physiol*, 1990, 92: 29-36.
- [18] Qiu J, Israel D W. Diurnal starch accumulation and utilization in phosphorous-deficient soybean plants[J]. *Plant Physiol*, 1992, 98: 316-323.
- [19] 明凤, 米国华, 张福锁, 等. 水稻对低磷反应的基因型差异及其生理适应机制的初步研究[J]. *应用与环境生物学报*, 2000, 6(2): 138-141.
- [20] Hoffland E, Vanden B R, Nelemans J, et al. Biosynthesis and root exudation of citric and malic acid in phosphate-starved rape plants [J]. *New Phytol*, 1992, 122: 675-680.
- [21] 李德华, 贺立源, 刘武定. 土壤中非生物逆境胁迫与根系有机酸分泌[J]. *武汉植物学研究*, 2001, 19(6): 497-507.