

不同基因型大豆对难溶性磷胁迫的生理响应

谷思玉, 刘爽, 王佳佳, 闫琰

(东北农业大学 资源与环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要: 阐明大豆适应难溶性磷胁迫的生理反应, 对筛选和培育磷高效基因型大豆工作具有重要意义。采用砂培和水培试验研究了大豆利用难溶性磷源的基因型差异及其生理指标的变化。结果表明: 难溶性磷处理下大豆植株磷浓度和含磷量都显著低于高磷处理 ($P < 0.05$), 不同基因型大豆的磷浓度和含磷量表现出较大的差异。难溶性磷诱导下, 大豆叶片酸性磷酸酶增加; 在处理后期, 叶片丙二醛 (MDA) 含量远高于高磷对照; Ca-P 和 Fe-P 处理下, 植株磷浓度与叶片酸性磷酸酶呈极显著负相关。

关键词: 大豆; 难溶性磷; 适应性机制

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2012)03-0411-05

Physiological Response of Different Soybeans under Sparingly Soluble Phosphate

GU Si-yu, LIU Shuang, WANG Jia-jia, YAN Yan

(College of Resources and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

Abstract: Studying the adaptation of soybean plant to low P stress was very important for screening or breeding P-efficient soybean genotypes. A sand culture and a solution culture experiment were conducted to study the genotypic discrepancy and physiology variation of soybean in using insoluble phosphates. The results showed that the P concentration and uptake in insoluble phosphates treatment were lower than that in high phosphates treatment ($P < 0.05$), and there were differences in phosphorus concentration and uptake among different soybean genotypes. The insoluble phosphate induced the increase of acid phosphatase (APA) in leaf and root. At late stage of insoluble phosphates treatment, the malondialdehyde (MDA) content of soybean was higher than that in high phosphates treatment, indicating that P deficiency stress could lead to the accumulation of superoxide free radical and the increase of membrane lipid peroxidation. In Ca-P and Fe-P treatment, the plant P concentration had very significant negative correlation with leaf APA.

Key words: Soybean; Sparingly soluble phosphate; Adaption mechanism

磷是作物生长发育所必需的大量元素之一, 中国大豆生产的限制因素很多, 土壤缺磷是其中重要的障碍因子之一^[1]。据统计我国有 2/3 的耕地缺磷^[2], 大部分磷素以难溶性磷酸盐形式 (如 Al-P 和 Fe-P) 存在于土壤中, 致使土壤全磷含量较高而有效磷含量很低。可见, 一般的土壤磷缺乏是遗传学缺乏, 而不是土壤学缺乏。因此, 充分利用基因型的差异挖掘生物自身潜力和有效利用土壤潜在磷源^[3-4], 节约化肥投入成本, 促进农业持续发展具有重要的意义。大豆是喜磷作物, 对低磷较为敏感, 增施磷肥可获得高产。相关研究表明, 不同植物以及同一植物的不同基因型在吸收利用难溶性磷酸盐能力方面存在非常显著的差异^[5-8]。因此, 筛选和培育具有高效利用难溶性磷酸盐能力的作物基因型可能是缓解磷矿资源危机和提高磷肥利用率的一条有效途径。现有研究多以可溶性磷酸盐

为磷源^[9-12], 关于难溶性磷源对植物生长及其保护酶变化的研究尚少。该试验对难溶性磷酸盐处理下大豆植株磷浓度、丙二醛含量和酸性磷酸酶活性变化进行初步研究, 旨在明确大豆吸收利用难溶性磷酸盐能力与生理特征的关系, 一方面可以对植物适应低磷胁迫的生理机制进行探索; 另一方面, 为利用与改良大豆磷营养特性, 提高大豆磷营养效率, 筛选和培育耐低磷大豆基因型提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

选取东农 44、东大 1 号、黑河 13、黑河 24、黑河 35、绥农 16、绥农 21 和北丰 16 共 8 个大豆基因型, 由东北农业大学大豆研究所和黑龙江省农业科学院提供。

收稿日期: 2012-03-23

基金项目: 黑龙江省教育厅资助项目 (10551033)。

第一作者简介: 谷思玉 (1964-), 女, 博士, 副教授, 主要从事土壤肥力方面的研究。E-mail: gusiyu777@163.com。

1.2 试验设计

试验在智能型人工气候植物箱(HPG-400HX)中进行。砂培实验装置为将一个装有石英砂的塑料篮(底部放有300目的尼龙布以控制大豆根系生长在石英砂中)放置在装有大豆营养液的塑料桶上。精选种子用0.1%双氧水消毒后播于石英砂中,用1/2Hoagland^[13]正常供磷营养液浇灌,待种子萌发到2片子叶刚展开时取出,移植到上述砂培装置中,每桶10株,每天早晚各通气2h。试验设4个磷处理:对照仅提供高磷营养液,其它处理为Al-P: AlPO_4 (0.262 g/盒); Ca-P: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (0.247 g/盒); Fe-P: $\text{FePO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.478 g/盒),均与石英砂混匀后加入无磷营养液,上述难溶性磷酸盐的浓度均为假设其全部可溶时的浓度,相当于 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

高磷营养液磷源为 KH_2PO_4 ($1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$),无磷营养液中的 K^+ 离子用 K_2SO_4 补齐。每个处理设3次重复。大豆生长阶段,定时用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 和 NaOH 调 pH 至 6.0~7.0,每3d更换营养液。移入到砂培试验装置后,分别于移栽后5、10、15、20d的上午9:00取样,测定大豆植株的叶片酸性磷酸酶活性和丙二醛含量。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 植株干重和磷浓度 砂培20d后收获植株,样品用 H_2SO_4 (浓)- H_2O_2 消煮,分光光度计比色法测定植物全磷含量^[14]。

1.3.2 植株叶片酸性磷酸酶(APase)活性 参照 McLachlan 等^[15]的方法测定。

1.3.3 丙二醛(MDA)含量 参照张宪政^[16]的方法测定。

1.4 数据分析

数据统计分析均在 Microsoft Excel 2007 和 SAS 9.0 软件上进行。

2 结果与分析

2.1 植株磷浓度差异

由表1看出,不同磷源对供试大豆基因型植株磷浓度有显著影响($P < 0.05$)。从整体看,难溶性磷处理的植株磷浓度都显著低于高磷处理($P < 0.05$),说明难溶性磷源对供试大豆基因型的磷吸收产生了显著的胁迫作用。除绥农21外,其它7个基因型的植株磷浓度在Ca-P条件下最大,植株磷浓度均为 $\text{HP} > \text{Ca-P} > \text{Al-P} > \text{Fe-P}$,北丰16在各磷源条件下的植株磷浓度都较高,说明该品种对各种难溶性磷利用效率较高。在植株相对磷浓度方面,难溶性磷源对绥农21的影响最小,其相对磷浓度分别为0.960,0.884和0.984,说明该品种对缺磷最不敏感;难溶性磷源对黑河35的影响最大,其磷浓度分别为高磷时的0.533,0.551和0.492,不同基因型的相对植株磷浓度差异较大($P < 0.05$)。

表1 不同磷处理下大豆植株磷浓度的差异

Table 1 Genotypic variation of P concentration in soybean plant under different P Treatments

基因型 Genotype	植株磷浓度 Plant P Concentration/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$				相对磷浓度 Relative P content		
	HP	AL-P	Ca-P	Fe-P	AL-P/HP	Ca-P/HP	Fe-P/HP
东农44 Dongnong44	19.87d	11.36f	13.90d	10.11f	0.571e	0.699d	0.509g
东大1 Dongda1	20.07c	14.13c	14.86c	11.76c	0.704c	0.740b	0.586e
黑河13 Heihe33	16.63g	11.20g	11.83g	10.10f	0.673d	0.711c	0.607d
黑河24 Heihe24	17.23f	13.89d	15.22b	11.22d	0.806b	0.884a	0.651b
黑河35 Heihe35	18.42e	9.81h	10.15h	9.06g	0.533g	0.551g	0.492h
绥农16 Suinong16	21.58b	11.81e	12.00f	11.11e	0.547f	0.556f	0.515f
绥农21 Suinong21	15.11h	14.51b	13.36e	14.87a	0.960a	0.884a	0.984a
北丰16 Beifeng16	22.45a	15.11a	15.29a	14.35b	0.673d	0.681e	0.639c

同列数值标以不同字母者差异达0.05水平;相对磷浓度(RC) = P0水平植株磷浓度/P1水平植株磷浓度,其中P0为难溶性磷源下的各项测定数值,P1为对照(正常供磷)下的各项测定数值。

Values within a column followed by different lowercase letters are significantly different at 0.05 probability level. Relative concentration of P(RC) = P0(the measured values of insoluble phosphate source)/P1(the measured values in the condition of normal phosphorus).

2.2 生理生化特性变化

2.2.1 叶片酸性磷酸酶活性 低磷胁迫条件下,植物体内分泌酸性磷酸酶活性增加是大部分植物受到低磷胁迫比较普遍的反应之一^[17-18]。在高磷和难溶性磷源处理条件下,不同大豆基因型的植株叶片酸性磷酸酶活性均呈显著差异(图1)。大豆叶片酸性磷酸酶活性对难溶性磷的反应因大豆基因

型和处理时间的不同而异。在难溶性磷条件下,大豆叶片酸性磷酸酶活性随处理时间的延长呈上升趋势。在处理第10天,难溶性磷处理使黑河35,绥农16和北丰16的叶片酸性磷酸酶显著增加($P < 0.05$);在处理第15天,难溶性磷处理使供试大豆基因型叶片酸性磷酸酶活性均显著高于高磷处理;在处理第20天,难溶性磷处理使供试8个大

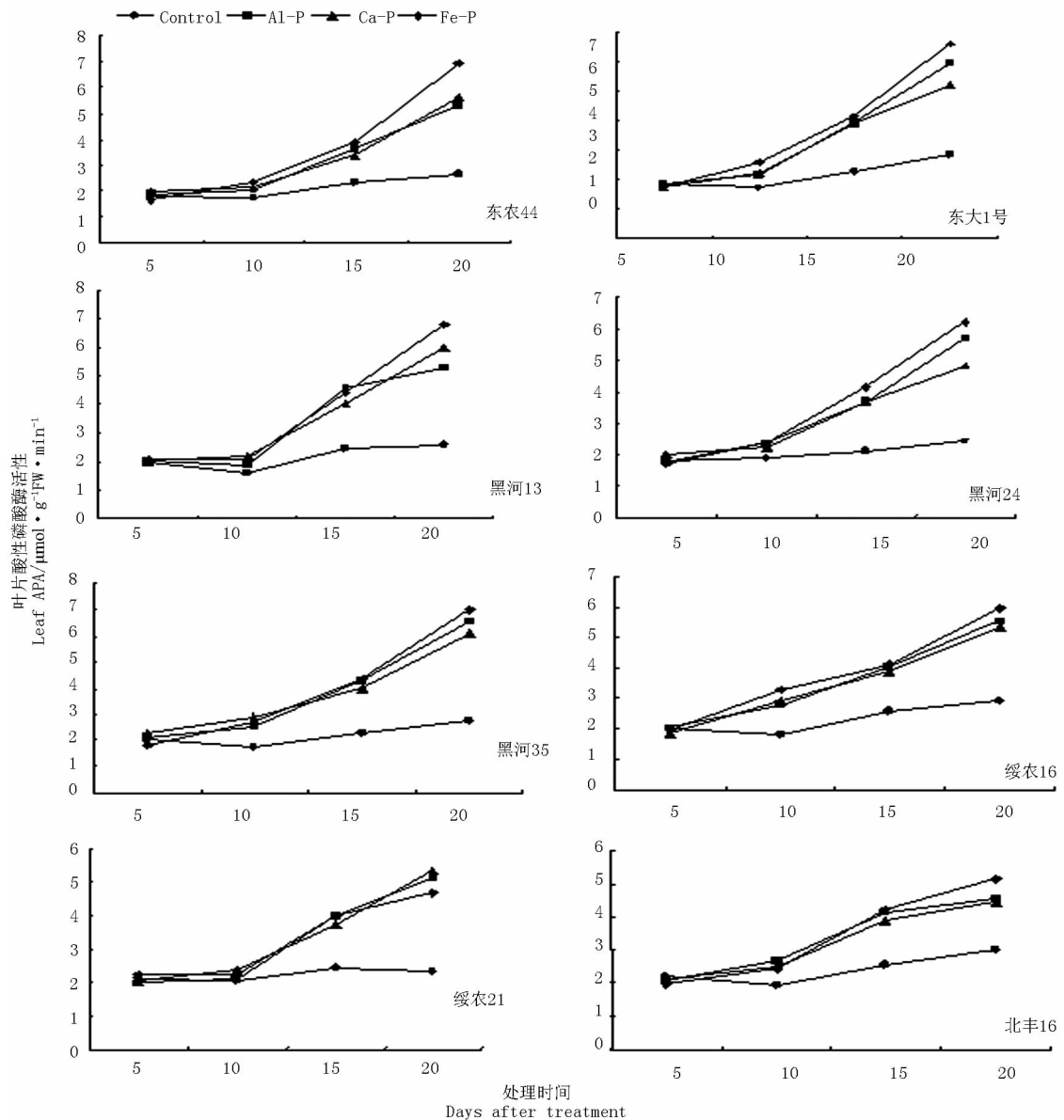


图1 高磷处理和难溶性磷处理下供试大豆基因型叶片酸性磷酸酶的动态变化

Fig. 1 Changes in leaf APA of eight soybean genotypes

豆基因型叶片酸性磷酸酶活性都有极显著的增加 ($P < 0.01$), 其中, 东大1, 黑河24, 黑河35, 绥农16和北丰16的叶片酸性磷酸酶活性表现为 $Fe-P > Al-P > Ca-P > HP$, 说明难溶性 Fe-P 对大豆胁迫较为严重。

2.2.2 叶片丙二醛(MDA)含量 从图2可看出, 随着时间的延长各大豆基因型的叶片MDA含量都有不同幅度的增加。各处理大豆基因型在前期MDA含量相差不大; 难溶性磷处理处理第10天后MDA含量逐渐升高, 第20天时显著大于高磷处理(对照), 表明缺磷可导致氧化胁迫, 引起大豆超氧自由基的积累, 引起叶片膜脂过氧化程度加大。相关分析表明, 在难溶性磷源条件下的MDA含量没有显著性差异 ($P > 0.05$), 且MDA含量的升高趋势与植株体内全磷含量并没有表现出相关性。

2.2.3 难溶性磷处理下大豆叶片酸性磷酸酶活性

与植株全磷浓度的关系 低磷胁迫培养下大豆叶片酸性磷酸酶的活性与植株全磷浓度的相关性如图3所示。在高磷处理条件下, 叶片酸性磷酸酶活性与植株全磷浓度没有显著的相关性。在难溶性磷处理条件下, 二者的相关性随磷源不同而异, 在AL-P条件下, 叶片酸性磷酸酶活性与植株磷浓度没有显著相关性, 在Ca-P和Fe-P条件下, 二者呈极显著负相关 ($P < 0.01$)。

3 讨论

MDA含量高低是反映细胞膜脂过氧化作用强弱和质膜破坏程度的重要指标。该研究表明, 难溶性磷源下各大豆基因型的MDA含量显著增加, 尤其是在处理10d后, 低磷胁迫下叶片MDA含量显著高于高磷处理, 叶片在较短的时间内积累了大量

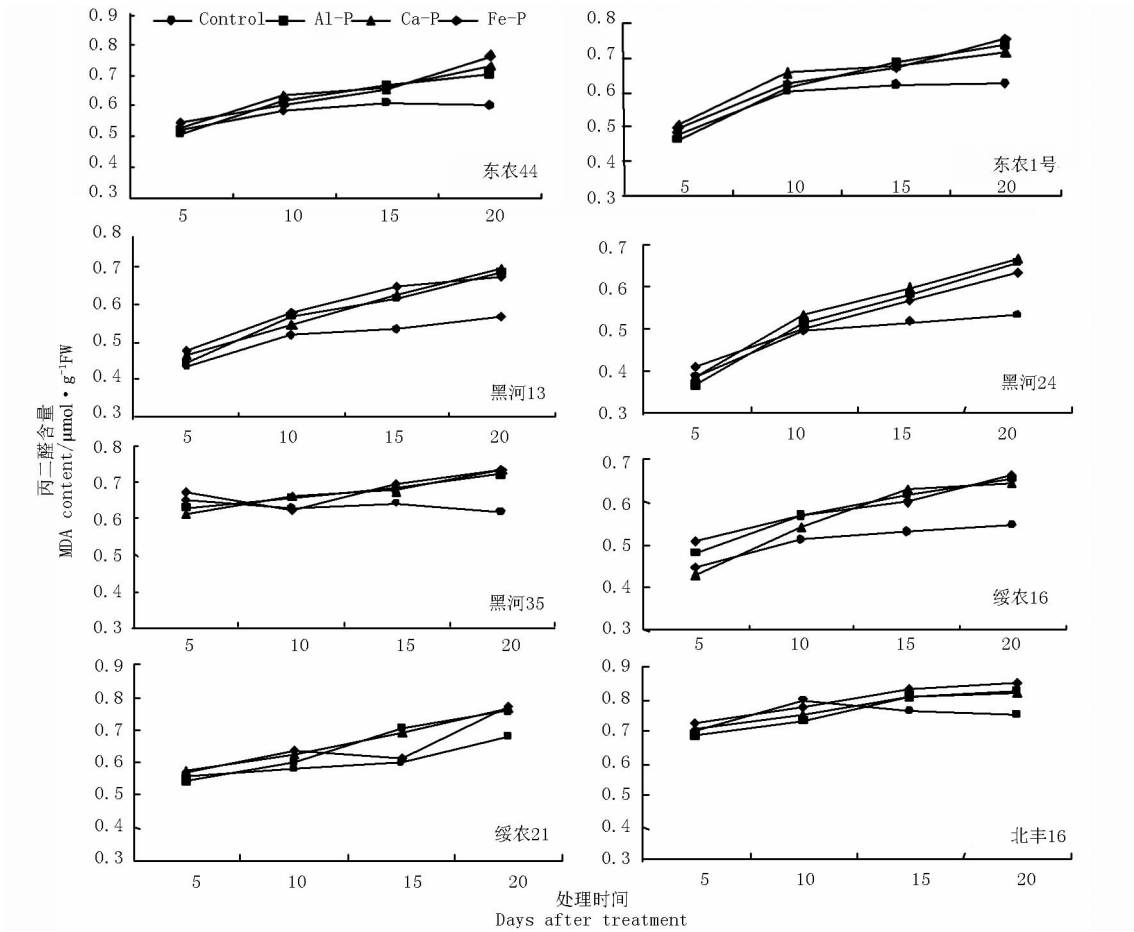
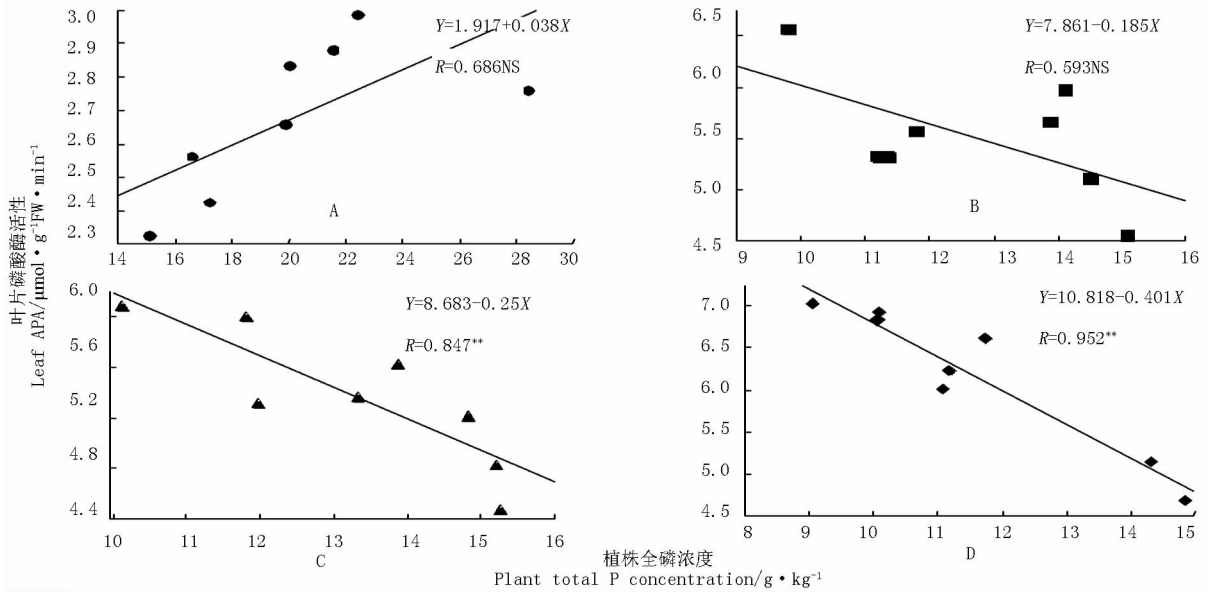


图2 高磷处理和难溶性磷处理下供试大豆基因型丙二醛含量的动态变化
 Fig. 2 Changes of MDA content in different soybean genotypes



A: 高磷处理; B: 铝磷处理; C: 钙磷处理; D: 铁磷处理
 A: HP; B: Al-P; C: Ca-P; D: Fe-P

图3 高磷处理和难溶性磷处理下第20天叶片酸性磷酸酶与植株全磷浓度的相关性
 Fig. 3 Correlation between leaf APA and total phosphorus concentration at 20th day under sufficient P treatment (Control) and sparingly soluble phosphate

的 MDA,可能导致叶片组织严重受损。所以,叶片 MDA 含量可作为抗低磷胁迫的指标之一。

增加磷素吸收、提高酸性磷酸酶活性是植物在缺磷胁迫条件下适应逆境的生理机制之一。前人在玉米^[19-20]、小麦^[21]、菜豆^[22]、大豆^[23]等多种作物中证实了酸性磷酸酶可作为耐低磷和磷高效的一个生化指标。该研究表明,难溶性磷处理显著增加 8 个大豆基因型叶片酸性磷酸酶活性,但不同大豆基因型间的反应存在显著差异(图 1),如低磷处理 10 d 后,黑河 35、绥农 16 和北丰 16 的叶片酸性磷酸酶活性显著增加($P < 0.05$);而其它基因型的叶片酸性磷酸酶活性在处理 15 d 后显著增加,这说明黑河 35、绥农 16、北丰 16 对低磷敏感,对低磷耐受性低。研究还发现,供试 8 个大豆基因型的全磷浓度存在显著差异,因此,推测这种差异与难溶性磷胁迫下供试材料叶片酸性磷酸酶活性的差异有关;在难溶性磷特别是 Ca-P 和 Fe-P 胁迫条件下,大豆叶片酸性磷酸酶活性与全磷浓度的相关性结果证实了这一点。供试材料长期栽培在北方 Ca-P 丰富的土壤上,这种相关性是否意味着其适应的一种反应机制,有待于进一步探讨。

参考文献

- [1] 徐青萍,罗超云,廖红,等. 大豆不同品种对磷胁迫反应的研究[J]. 大豆科学,2003,22(2):108-114. (Xu Q P, Luo C Y, Liao H, et al. Study on the response of soybean varieties to P deficiency[J]. Soybean Science, 2003, 22(2): 108-114.)
- [2] 李继云,孙建华,刘全友,等. 不同小麦品种的根系生理特性、磷的吸收及利用效率对产量影响的研究[J]. 西北植物学报, 2000, 20(4): 503-510. (Li J Y, Sun J H, Liu Q Y, Tong Y, et al. A study on the physiological properties of root systems in various wheat varieties and the effects of their phosphorus uptake and utilization efficiency on the yields[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2000, 20(4): 503-510.)
- [3] Fageria N K, Baligar V C. Phosphorus use efficiency of wheat genotypes[J]. Nutrition, 1999, 22: 331-264.
- [4] Yan X L, Liao H, Beebe S E, et al. QTL mapping of root hair and acid exudation traits and their relationship to phosphorus uptake in common bean[J]. Plant and Soil, 2004, 265: 17-29.
- [5] Subbarao G V, Ae N T. Genetic variation in acquisition, and utilization of phosphorus from iron-bound phosphorus in pigeonpea[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 1997, 43: 511-519.
- [6] Wissuwa M, Ae N. Genotypic variation for phosphorus uptake from hardly soluble iron-phosphate in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. Plant and Soil, 1999, 206: 163-171.
- [7] Osborne L D, Rengel Z. Genotypic differences in wheat for uptake and utilization of P from iron phosphate[J]. Australian Journal of Agricultural Research, 2002, 53: 837-844.
- [8] Shen H, Yan X L, Zhao M, et al. Exudation of organic acids in common bean as related to mobilization of aluminum- and iron-bound phosphates[J]. Environmental and Experimental Botany, 2002, 48: 1-9.
- [9] Newman E I, Andrews R E. Uptake of phosphorus and potassium in relation to root growth and root density[J]. Plant and Soil, 1973, 38: 49-69.
- [10] Borkert C M, Barber S A. Effect of supplying P to a portion of the soybean root system on root and P uptake kinetics[J]. Journal of Plant Nutrition, 1983, 6: 685-910.
- [11] 李海波, 夏铭, 吴平. 低磷胁迫对水稻苗期侧根生长及养分吸收的影响[J]. 植物学报, 2001, 43(11): 1154-1160. (Li H B, Xia M, Wu P. Effect of phosphorus deficiency stress on rice lateral root growth and nutrient absorption[J]. Acta Botanica Sinica, 2001, 43(11): 1154-1160.)
- [12] Gahoonia T S, Asmar F, Giese H, et al. Root-released organic acids and phosphorus uptake of two barley cultivars in laboratory and field experiments[J]. European Journal of Agronomy, 2000, 12: 281-289.
- [13] 申建波, 毛达如. 植物营养研究方法[M]. 北京: 中国农业大学, 2011: 14-21. (Sheng J B, Mao D R. Plant nutrition research methods[M]. Beijing: China Agricultural University, 2011: 14-21.)
- [14] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999: 146-188. (Lu R K. Methods in agricultural chemical analysis[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1999: 146-188.)
- [15] McLachlan K D. Acid phosphatase activity of intact roots and phosphorus nutrition in plants. II Variations among wheat roots[J]. Australian Journal of Agricultural Research, 1980, 31: 429-448.
- [16] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1990: 15. (Zhang X Z. Research method of crop physiology[M]. Beijing: Agricultural Press, 1990: 15.)
- [17] Vance C P, Ljhd-Stone C, Allan D L. Phosphorus acquisition and use critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource[J]. New Phytologist, 2003, 157: 423-447.
- [18] George C E, Lauchli A. Evaluation of an acid phosphatase assay for detection of phosphorus deficiency in leaves of maize (*Zea mays* L.) [J]. Journal of Plant Nutrition, 1986, 9: 1469-1477.
- [19] Yun S J, Kaeppler S M. Induction of maize acid phosphatase activities under phosphorus starvation[J]. Plant and Soil, 2001, 237: 109-115.
- [20] McLachlan K D. Effects of drought, aging and phosphorus status on leaf acid phosphatase activity in wheat[J]. Australian Journal of Agricultural Research, 1984, 35: 777-787.
- [21] Yan X L, Liao H. Induction of a major Leaf acid phosphatase does not confer adaptation to low phosphorus availability in common bean[J]. Plant Physiology, 2001, 125: 1901-1911
- [22] 丁洪, 李生秀, 郭庆元, 等. 酸性磷酸酶活性与大豆耐低磷能力的相关研究[J]. 植物营养与肥料学报, 1997, 3(2): 123-128. (Ding H, Li S X, Guo Q Y, et al. Study on correlation between acid phosphatase activity and low phosphorus tolerance of soybean[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 1997, 3(2): 123-128.)