

磷和根瘤菌交互作用对大豆结瘤和生长的影响

苗淑杰, 乔云发, 韩晓增

(中国科学院东北地理与农业生态研究所, 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要:为了阐明营养液中磷浓度和不同数量根瘤菌的交互作用对大豆结瘤和生长的影响,在营养液培养条件下,进行3种磷水平[P1-0、P2-4和P3-30($\mu\text{mol P} \cdot \text{L}^{-1}$)]和3种根瘤菌浓度[R1- 10^2 、R2- $10^{3.5}$ 和R3- 10^5 ($\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$)]处理,培养大豆25 d,测定大豆生物量和根瘤性状指标。结果表明:在相同根瘤菌数量条件下,不同磷浓度对大豆总生物量的影响不大,对根冠比的影响较大。营养液中接种的根瘤菌浓度越高,根瘤原基数量越大,低磷明显抑制根瘤原基发育形成根瘤,进而减少了低磷处理大豆根瘤数量。从P1到P3,R1根瘤菌浓度处理根瘤原基形成根瘤的几率分别为:79%、86%和100%。营养液中磷浓度促进生物量向根瘤中分配,高磷处理相对根瘤生物量较高。随着生育进程,大豆各组织器官含磷量逐渐降低,在所有取样时期含磷量均表现为根瘤>根>地上部;含氮量表现为根瘤>地上部>根。可见磷和根瘤菌对大豆生长和结瘤形成有交互作用。

关键词:磷;根瘤菌;大豆;根瘤生长

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2009)02-0271-04

Effect of Phosphorus and Rhizobium on Growth and Nodule Development in Soybean

MIAO Shu-jie, QIAO Yun-fa, HAN Xiao-zeng

(Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, CAS, Harbin 150081, Heilongjiang, China)

Abstract: To study the interaction of phosphorus(P) level and rhizobium content on nodulation and nodule development in soybean, soybean was grown in nutrient solution culture for 25 days. We designed three solution P levels as P1-0, P2-4 and P3-30($\mu\text{mol P} \cdot \text{L}^{-1}$), and three rhizobium contents were R1- 10^2 , R2- $10^{3.5}$ and R3- 10^5 ($\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$). Soybean biomass and nodulation characters were measured after treatment. Results showed that P had little effect on total plant biomass, however, affected the ratio of root to shoot in this experiment. Nodule initiation increased as rhizobium content increase, but P deficiency inhibited nodule initiation, so nodule number was lower in low phosphorus treatment. From P1 to P3 level, the ratio of nodule initiation to nodule was 79%, 86% and 100%. Relocate of biomass to nodule was affected by P concentration in nutrient solution. P concentration in tissues decreased as growing, which was in an order of nodule > root > shoot; N concentration was in an order of nodule > shoot > root. All these suggested that the interaction of phosphorus level and rhizobium content had important effect on soybean growth and nodule formation.

Key words: Phosphorus; Rhizobium; Soybean; Nodule development

磷是限制作物产量的重要营养元素之一^[1],尤其在固氮豆科作物的生长和结瘤固氮过程中发挥着重要的作用^[1-2]。磷素对多种豆科作物与根瘤菌的共生固氮过程和生长的影响研究表明,豆科作物共生固氮和生长过程中都必须有磷素的参与^[3-8]。但作用机制还不清楚,一方面认为,磷直接影响一种常绿乔木(*Casuarina*)植株生长,间接促进结瘤^[9-10];

另一方面研究认为,在豌豆^[3],大豆^[4-5],红三叶草^[8]和*Casuarina*^[11]等作物的研究发现,磷直接促进结瘤。总体来讲,根瘤生长与整株作物的生长密切相联,而且又受到环境因子(如硝酸盐的供应,盐胁迫和干旱胁迫)的影响。自从20世纪50年代,我国就开始研究大豆根瘤菌的接种技术,到目前,不同接种方式对大豆根瘤分布和产量的影响已较清楚。

收稿日期:2008-12-03

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973计划)资助项目(2005CB121101);黑龙江省攻关资助项目(GB05C201-01);中国科学院东北地理与农业生态研究所青年博士基金资助项目。

作者简介:苗淑杰(1975-)女,博士,主要从事植物营养生理方面研究。E-mail:miaoshujie@126.com。

通讯作者:韩晓增,研究员,博士生导师。E-mail:hanxz@cern.ac.cn。

但将不同根瘤菌浓度与磷水平结合起来研究大豆根瘤生长的较少。利用水培技术,研究磷和根瘤菌交互作用对大豆根瘤生长的影响,旨在为大豆根瘤生长过程研究提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验设计

供试品种为黑农 35,设 3 个磷水平,以 KH_2SO_4 作为磷源,分别为 P1 ($0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), P2 ($4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 P3 ($30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 3 个根瘤菌浓度,分别为 R1- 10^2 、R2- $10^{3.5}$ 和 R3- 10^5 ($\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$),共 9 个处理,3 次重复,完全随机排列。移栽时接种根瘤菌合丰 25,4 d 后再接一次根瘤菌悬液,以后换为无根瘤菌营养液。

1.2 大豆培养

大豆种子用 70% 乙醇灭菌 3~5 min,以无菌水冲洗 78 次,放入带有 5~7 mm 孔径的塑料板上,然后放入盛有 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2$ 和 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_3\text{BO}_3$, pH 为 5.0~5.5 的塑料桶中,桶中液面恰好浸没种子一半。25~30℃ 条件下,避光催芽,待主根长 4~5 cm,须根尚未长出时,移栽,5L 盆中,6 株/盆,同时进行不同浓度的磷处理。用脱脂棉将豆苗固定住,24 h 连续通气供氧。整个试验过程都用蒸馏水。营养液组成 ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), K_2SO_4 , 600; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 200; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 600; H_3BO_3 , 5; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.75; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 1; $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.2; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.03; Fe- NaEDTA, 10。移栽后每周更换营养液 2 次,每天用 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{HCl}$ 或 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaOH}$ 调营养液 pH 为 5.0~6.0。

1.3 测定方法

磷处理后第 4、7、10、13、16、22 和 25 (DAT) d 分别取样。每次取样时,将整株大豆用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 蘸洗一次,再用蒸馏水洗两次。然后,将植株分为地上、根和根瘤三部分,分别测定鲜重、干重,调查根瘤原基数^[12]和根瘤数。再将所有的部分在 105℃ 杀青 30 min,然后将温度降至 80℃ 烘干,备用氮磷分析。全氮用凯氏定氮仪测定,磷用钼锑抗比色法测定。

2 结果与分析

2.1 磷和根瘤菌交互作用对大豆生长的影响

在各个取样时期,所有处理中施加的磷和接种

根瘤菌数量对大豆总干物质产量的影响差异不大 (图 1, a b c)。在相同根瘤菌浓度条件下,磷对根冠比的影响较大,尤其在磷和根瘤菌处理 16 d 后,低根瘤菌浓度处理中,营养液中磷浓度越低根冠比越大,处理后 22 d,从无磷到高磷处理的根冠比分别为 0.884、0.635 和 0.562,但是,随根瘤菌浓度增加,磷对根冠比的影响降低,尤其在低根瘤菌浓度处理中,不同磷水平处理的根冠比没有明显差异 (图 1 d e f)。这是因为,根瘤菌在植株体内的生长和存活需要一定的磷,所以,接种的根瘤菌浓度较高时,相对于低根瘤菌,磷对根冠比的影响降低了。

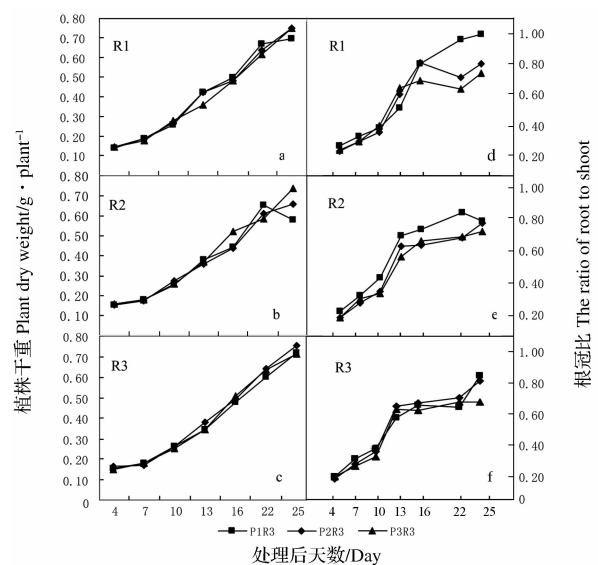


图 1 磷和根瘤菌对大豆生物量和根冠比的影响

Fig. 1 The effect of P and rhizobium on biomass and root/shoot in soybean

2.2 磷和根瘤菌交互作用对根瘤形成的影响

营养液中接种根瘤菌浓度较高,各处理根瘤原基数和根瘤数也较多 (图 2)。磷对根瘤原基的形成影响不大,而对根瘤形成影响较大。在无磷水平条件下,根瘤原基形成根瘤的几率降低,接种根瘤菌浓度越大,低磷对根瘤形成的抑制作用越大。根瘤菌浓度最大 (R3) 时,从 P1 到 P3 各处理,根瘤原基形成根瘤的几率分别为:79%、100% 和 100%。在接种较低根瘤菌浓度条件下,磷胁迫对根瘤原基形成根瘤的几率影响较小,从 P1 到 P3, R1 根瘤菌浓度处理根瘤原基形成根瘤的几率分别为:79%、86% 和 100%。

2.3 磷和根瘤菌交互作用对根瘤生长的影响

根瘤菌接种量较少时,磷对根瘤数的影响不大

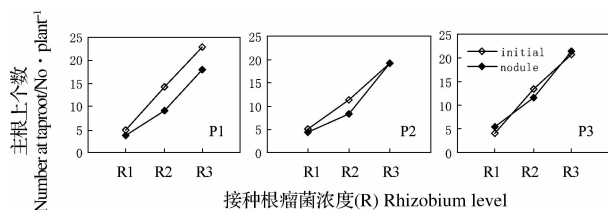


图2 磷和根瘤菌对根瘤原基和根瘤形成的影响

Fig. 2 The effect of P and rhizobium on initiation and nodule formation

(图3,a)。随着营养液中接种根瘤菌数量增加,磷对根瘤数的影响越来越明显,营养液中磷浓度越高,根瘤数越多,接种根瘤菌数量最多的R3处理,从无

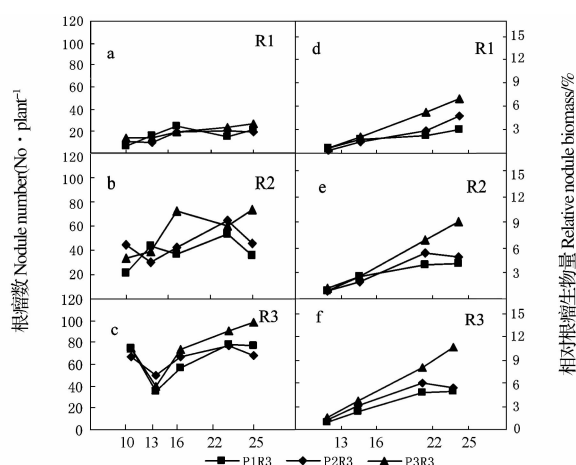


图3 营养液中磷和根瘤菌对根瘤生长的影响

Fig. 3 The effect of P and rhizobium on nodule development

磷到高磷各处理的根瘤数分别为77、68和59(图3,b,c)。磷对根瘤生物量的影响较大,R1和R2根瘤菌数量的各处理,从处理后16d开始,磷对根瘤生物量的影响有明显差异,达到了5%显著水平,随营养液中磷水平的增加,分配到根瘤中的生物量逐渐增加(图3,d,e),而接种R3根瘤菌数量的处理,从处理后10d开始,磷对根瘤生物量的影响就达到了5%的显著水平(图3,f)。然而,较高根瘤菌数量无磷的处理,从处理后22d起,根瘤生物量略有降低(图3,e,f)。

2.4 磷和根瘤菌交互作用对大豆植株氮磷含量的影响

随着生育进程,大豆各组织器官含磷量逐渐降低,在所有取样时期含磷量均表现为,根瘤>根>地上部(表1)。然而,在磷处理后13到22d,根瘤含磷量明显比根和地上部高,从磷处理后的25d起,根瘤贮藏磷的优势降低,根和地上部含磷量相当,表明,根瘤形成后,根瘤是磷素的主要贮藏器官,而另一方面,可能是根瘤能从营养液中直接吸收磷素的缘故。随着植株的生长发育,根瘤中磷向其它组织输送,因而,含磷量开始下降。营养液中磷浓度较低的处理,根瘤菌数量对各组织中含磷量的影响没有明显差异,而磷浓度较高的处理,根瘤菌数量高组织中含磷量较高(表1)。磷对大豆组织中的含氮量的影响与含磷量不同,含氮量表现为,根瘤>地上部>根(表2)。

表1 磷处理后第13和第25天组织中含磷量

Table 1 Content in different tissues at 13 and 25 DAT/mg · g⁻¹ DW

磷处理 P supply /μM	根瘤菌 Rhizobium/cell · L ⁻¹	13DAT			25DAT		
		地上部 Shoot	根 Root	根瘤菌 Nodule	地上部 Shoot	根 Root	根瘤菌 Nodule
0	10 ²	0.70 ± 0.28	0.99 ± 0.12	n. s.	0.62 ± 0.43	0.72 ± 0.50	0.83 ± 0.609
	10 ³	0.94 ± 0.50	0.89 ± 0.34	3.41 ± 0.45	0.46 ± 0.37	0.41 ± 0.11	1.11 ± 0.583
	10 ³	1.16 ± 0.62	1.08 ± 0.23	4.44 ± 0.07	0.48 ± 0.42	0.46 ± 0.32	0.92 ± 0.077
4	10 ²	0.80 ± 0.31	0.96 ± 0.52	3.64 ± 0.86	0.56 ± 0.32	0.44 ± 0.31	1.26 ± 0.294
	10 ³	0.99 ± 0.13	1.09 ± 0.31	3.99 ± 1.65	0.45 ± 0.08	0.37 ± 0.21	1.13 ± 0.512
	10 ⁵	0.89 ± 0.39	n. s.	3.87 ± 2.75	0.48 ± 0.70	n. s.	1.17 ± 0.236
50	10 ²	1.81 ± 0.28	1.95 ± 1.72	4.49 ± 0.83	1.24 ± 0.15	1.37 ± 0.10	1.45 ± 0.239
	10 ³⁵	1.95 ± 0.85	2.62 ± 0.11	5.23 ± 2.10	1.33 ± 0.22	1.38 ± 0.10	1.45 ± 0.134
	10 ⁵	2.02 ± 0.51	2.82 ± 0.49	4.13 ± 1.56	1.25 ± 0.26	1.04 ± 0.55	1.39 ± 0.050

表2 磷处理后第13和第25天组织中含氮量
Table 2 N content in different tissues at 13 and 25DAT/mg · g⁻¹ DW

磷处理 P supply/ μ M	根瘤菌 Rhizobium/cell · L ⁻¹	13DAT			25DAT		
		地上部	根	根瘤菌	地上部	根	根瘤菌
		Shoot	Root	Nodule	Shoot	Root	Nodule
0	10 ²	17.50 ± 8.84	8.88 ± 2.03	n. s.	6.69 ± 3.57	6.82 ± 1.75	169.89 ± 52.64
	10 ³⁵	15.62 ± 4.56	9.25 ± 1.57	n. s.	8.15 ± 2.31	7.27 ± 1.00	168.75 ± 52.75
	10 ⁵	21.76 ± 3.27	9.93 ± 1.82	239.70 ± 42.77	9.06 ± 3.73	6.14 ± 2.23	144.76 ± 38.78
4	10 ²	16.56 ± 6.45	9.77 ± 0.48	375.90 ± 90.12	6.90 ± 1.60	6.28 ± 1.74	151.15 ± 39.44
	10 ³⁵	18.65 ± 5.49	10.21 ± 0.88	246.43 ± 175.78	8.14 ± 2.16	6.73 ± 1.61	151.37 ± 20.38
	10 ⁵	21.36 ± 7.51	9.25 ± 1.51	230.10 ± 86.37	8.42 ± 1.96	7.12 ± 1.21	124.86 ± 19.31
50	10 ³	15.95 ± 3.57	9.21 ± 0.94	229.35 ± 104.61	7.46 ± 0.94	8.06 ± 0.41	154.33 ± 19.98
	10 ³⁵	17.60 ± 2.81	0.83 ± 2.54	222.15 ± 153.30	8.14 ± 1.22	6.32 ± 1.01	136.36 ± 96.99
	10 ⁵	22.86 ± 9.90	9.32 ± 0.86	236.38 ± 171.03	9.53 ± 1.75	6.57 ± 0.72	158.18 ± 82.28

3 讨论

根瘤菌能有效地固氮,不仅可以满足自身对氮素的需求,又能供寄主植物利用^[13],但是,接种不同的根瘤菌数量对大豆生长、根瘤形成和固氮能力的影响不同。而磷又是影响豆科作物结瘤固氮的一个非常重要的因素,直接影响根瘤的形成和生长,或是通过影响豆科作物的生长而间接影响根瘤的形成和生长,目前国内外的研究结果仍存有争议。通过不同的磷水平和接种根瘤菌数量研究其对根瘤形成和生长的影响,结果表明:施磷和接种根瘤菌对大豆生物量的影响不大,而对根冠比的影响较大,尤其在接种低根瘤菌数量条件下,影响更明显(图1)。随营养液中接种根瘤菌浓度的增加,根瘤原基数和根瘤数都增加。在相同接种根瘤菌数量条件下,低磷抑制根瘤原基形成根瘤,而对根瘤数的影响不大,磷对根瘤生长的影响达到了5%的显著水平,尤其当根瘤菌浓度较大时,磷对相对根瘤生物量表现出明显的抑制作用。然而,根瘤含磷量一直保持在较高的水平,说明,根瘤含磷量不是影响根瘤生长的决定因素,而地上部光合产物向根瘤的输送是决定根瘤生长的重要因素^[14]。

参考文献

[1] Marschner H. Mineral nutrition of higher plants [M]. 2nd ed. London: Academic Press, 1995: 899.
[2] Robson A D, O'Hara G W, Abbott L K. Involvement of phosphorus in nitrogen fixation by sybterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) [J]. Australian Journal of Plant Physiology, 1981, 8: 427-436.
[3] Jakobsen I. The role of phosphorus in nitrogen fixation by young pea plants (*Pisum sativum*) [J]. Physiologia Plantarum, 1985, 64: 190-196.

[4] Israel D W. Investigation of the role phosphorus in symbiotic dinitrogen fixation [J]. Plant Physiology, 1987, 84: 835-840.
[5] Israel D W. Symbiotic dinitrogen fixation and host- plant growth during development of and recovery from phosphorus deficiency [J]. Physiologia Plantarum, 1993, 88: 294-300.
[6] Drevon J J, Hartwig U A. Phosphorus deficiency increased the argon-induced decline of nodule nitrogenase activity in soybean and alfalfa [J]. Planta, 1997, 201: 463-469.
[7] Almeida J P F, Hartwig U A, Frehner M, et al. Evidence that P deficiency induces feedback regulation of symbiotic N₂ fixation in white clover (*Trifolium repens* L.) [J]. Journal of Experimental Botany, 2000, 51: 1289-1297.
[8] Hellsten A, Huss Danell K. Interaction effects of nitrogen and phosphorus on nodulation in red clover (*Trifolium pratense* L.) [J]. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B, Soil and Plant Science, 2001, 50: 135-142.
[9] Yang Y. The effects of phosphorus on nodule formation in the *Casuarina- Frankia* symbiosis [J]. Plant and Soil, 1995, 176: 161-169.
[10] Reddell P, Yang Y, Shipton W A. Do *Casuarina cunninghamiana* seedlings dependent on symbiotic N₂ fixation have higher phosphorus requirement than those supplied with adequate fertilizer nitrogen [J]. Plant and Soil, 1997, 189: 213-219.
[11] Sanginga N, Danso S K A, Bowen G D. Nodulation and growth response of *Allocauarina* and *Casuarina* species to phosphorus fertilization [J]. Plant Soil, 1989, 118: 125-132.
[12] Tang C, Hinsinger P J, Drevon J J, et al. Phosphorus deficiency impairs early nodule functioning and enhances proton release in roots of *Medicago truncatula* L. [J]. Annals of Botany, 2001, 88: 131-138.
[13] 左元梅, 刘永秀, 张福锁. NO₃⁻ 态氮对花生结瘤与固氮作用的影响 [J]. 生态学报. 2003, 23(4): 758-764. (Zuo Y M, Liu Y X, Zhang F S. Effects of the NO₃⁻ -N on nodule formation and nitrogen fixing of peanut [J]. Acta Ecologica Sinica, 2003, 23(4): 758-764.)
[14] Voisin A S, Salon C, Jeudy C, et al. Root and nodule growth in *Pisum sativum* L. in relation to photosynthesis: analysis using ¹³C-labelling [J]. Annals of Botany, 2003, 92: 557-563.