

磷影响大豆根系分泌有机酸总量和不同根区有机酸量

苗淑杰^{1,2}, 乔云发², 刘晓冰²

(1. 农业部油料作物生物学重点开放实验室, 湖北 武汉 430062; 2. 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:采用营养液培养的方法, 设置由无磷转化为供磷(0-50)和由供磷转换为无磷(50-0)2个处理, 分析了磷转换处理对不同根区有机酸的影响。结果表明:大豆生长对磷素的需求非常迫切, 50-0处理根系可溶性磷含量相对较高, 而0-50处理地上部可溶性磷含量相对较高; 50-0处理根系有机酸分泌量较0-50处理大, 而且分泌量随着距离根尖越远越少, 50-0处理根区分泌有机酸的变化比0-50处理平缓。

关键词: 低分子量有机酸; 磷转换; 可溶性磷; 大豆

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2011)01-0127-04

Phosphorus Affected Organic Acid Exudation from Soybean Root

MIAO Shu-jie^{1,2}, QIAO Yun-fa², LIU Xiao-bing²

(1. Key Laboratory for Oil Crops Genetic Improvement, The Ministry of Agriculture, Wuhan 430062, Hubei; 2. Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, Heilongjiang, China)

Abstract: To study the effect of phosphorus on organic acid exudation of soybean root, the phosphorus level changed from 0 to 50 μM and 50 to 0 μM in nutrient solution was carried out. The low-molecular-weight organic acids in root exudates of soybean were determined by high performance liquid chromatography under nutrient solution culture. The dynamics of low-molecular-weight organic acids under different root region were investigated. The influence of P-deficiency on soluble phosphorus content was analyzed. The results showed that the soluble phosphorus content of root in 50-0 treatment was relative higher, while that of shoot in 0-50 treatment was relative higher. Otherwise, organic acid exudation from 50-0 treatment soybean root was larger than 0-50 treatment. The amount of organic acid exudation from soybean root was reduced as far away root tip. The trend of decrease in 50-0 treatment was more slowly than 0-50 treatment.

Key words: Low molecular weight organic acid; Phosphorus transform; Soluble phosphorus; Soybean

豆科作物根系通过分泌有机酸, 使根际酸化, 促进难溶磷溶解, 可以从根际吸收大量的难溶性磷^[1-4]。有研究发现, 苜蓿减磷处理 24 d 后缺磷苜蓿根系分泌的柠檬酸是全营养时的 182%^[5]。Gardner 等^[6]和 Dinkelaker 等^[7]发现缺磷胁迫条件下, 白羽扇豆分泌柠檬酸的量可达植株总干重的 15% ~ 23%。申建波等^[8]发现大豆缺磷时, 根分泌物中有机酸特别是苹果酸、柠檬酸和反丁烯二酸的数量增加, 缺磷处理苹果酸和顺丁烯二酸的释放高峰先于供磷处理。

植物在长期适应养分胁迫的条件下形成了高效利用磷的某些机制, 白羽扇豆已经成为研究这些机制的模式作物。由于大豆根系分泌有机酸的种类较多, 数量较少, 目前其机制还不清楚。该文设置供磷后瞬时缺磷和缺磷后瞬间供磷 2 种条件, 研究了短期缺磷和供磷处理对大豆根分泌有机酸和

不同根区有机酸分泌情况的影响, 为进一步深入研究豆科植物对磷胁迫的适应机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

供试品种为黑农 35。以 KH_2PO_4 为磷源, 设 2 个磷处理, 一个在培养开始时即供给 50 μM 磷, 处理 14 d 后变为无磷, 该处理记为 50-0; 另一个处理是在培养时无磷, 14 d 后供给 50 μM 磷, 该处理记为 0-50。3 次重复, 完全随机排列。大豆种子处理、基本水培方法和管理方法见苗淑杰等^[9]。

1.2 测定项目与方法

在进行磷转换处理后的第 0、6、9、12 和 15 天分别取样。测定植株体地上部和根系干重; 收集整个根系和不同根区根系分泌的有机酸。

1.2.1 有机酸收集方法 如图 1a 所示, 将所有根

收稿日期: 2010-09-30

基金项目: 农业部油料作物生物学重点开放实验室开放课题资助项目(201009); 黑龙江省青年科学基金资助项目(QC2009C59); 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。

第一作者简介: 苗淑杰(1975-), 女, 博士, 副研究员, 主要从事大豆营养生理方面的研究。E-mail: miaoshujie@126.com。

通讯作者: 刘晓冰(1963-), 男, 博士, 研究员, 主要从事作物生理生态、种植制度与土壤管理的研究。E-mail: liuxb@neigae.ac.cn。

系放入收集液中,而不同根区是从根尖开始,每 10 cm 为 1 段,置于装有收集液的培养皿中(图 1b)。在中午光照最强的 12:00 ~ 14:00 收集根系分泌物。将植株从营养液中取出,用去离子水清洗 3 遍,然后放入收集液中,收集液为 200 mL 1% CaCl_2 溶液

中,连续收集 2 h。立即加入 0.5 mL 浓硫酸抑制微生物活性,然后放入低温冰箱中待测。在利用高效液相色谱分析有机酸含量前,将待测液经过旋转蒸发仪浓缩处理后,过树脂柱,然后用高效液相色谱进行测定。



图 1 根系有机酸收集方法

Fig.1 Method of collecting organic acid exudation

1.2.2 大豆体内可溶性磷的测定方法 取 1.0 g 大豆叶片研磨成匀浆,用蒸馏水定容至 25 mL,加入活性炭,过滤;取 1 mL 样液,加 2 mL 蒸馏水和 3 mL 定磷试剂(蒸馏水:6 mol · L⁻¹ H₂SO₄:2.5% 钼酸铵:10% 抗坏血酸 = 2:1:1:1),摇匀,45℃ 水浴中保温显色 25 min,测定 650 nm 的吸光值。

1.3 数据分析

应用 SAS 软件程序(SAS Institute,1997)对数据进行统计分析和 LSD 检验,采用 Excel 2003 绘图。

2 结果与分析

2.1 大豆生物量变化

为了阐明短期磷处理对大豆生物量的影响,利用每次取样时大豆植株体的干重与未磷转换时大

豆干重的差值表示生物量的变化情况。从图 2 可以看出,在处理后的前 12 d,大豆的生物量变化较小,没有明显的差异。而处理后第 15 天,无论是地上部还是根系,0-50 处理大豆生物量的变化明显比 50-0 处理大,分别增加 34.4% 和 19.6%。这表明大豆生长对磷素的需求很迫切,在无磷条件下,供给适当的磷,促进大豆的生长发育。而对于充足磷营养条件下生长的大豆,短期缺磷并不能立即影响到大豆的生长发育,这是因为大豆体内原来储备的磷,可以供给短期大豆生长对磷素的需求,随着时间的延长,缺磷对大豆生长的影响会逐渐表现出来。

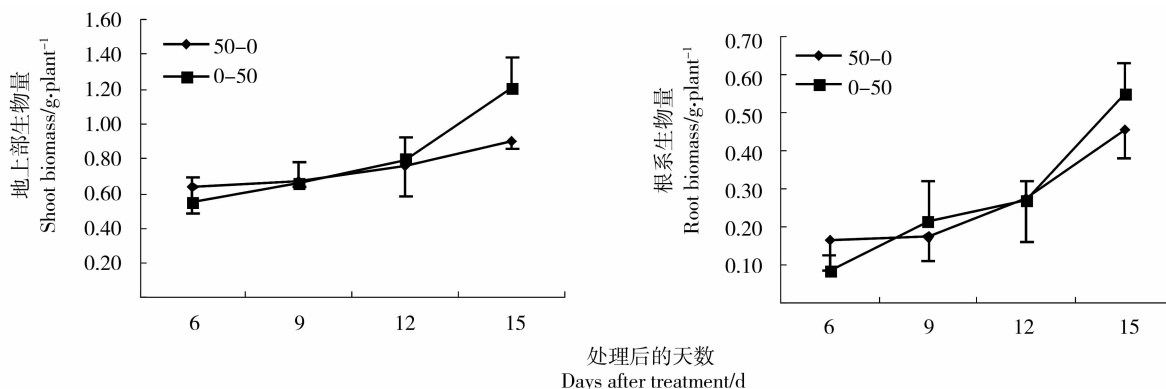


图 2 磷转换处理后大豆生物量

Fig.2 Soybean biomass after phosphorus change treatment

2.2 植物体内可溶性磷含量

植株体内可溶性磷的含量是表征植物磷素状态的一个非常敏感的指标。通过测定植物鲜样品内可溶性磷含量来评价磷转换处理对大豆体内磷状态的影响。在磷处理后的第6天和第9天,大豆不同组织内可溶性磷含量受到明显的影响(图3),地上部可溶性磷含量表现为0-50处理较50-0处理高,在处理后的第6天,2个处理地上部可溶性磷含量的差为 $8.23 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,达到了5%差异显著水平。而根系表现出相反的规律,尤其是处理后第9天,根系内可溶性磷含量的差为 $6.16 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,也达到了显著水平($P < 0.05$)。这一结果表明,充足磷素条件下生长的大豆,短期缺磷处理促进大豆体内可溶性磷向根系移动,而长期生长在无磷条件下的大豆,供给磷后,可溶性磷主要在大豆地上部累积。

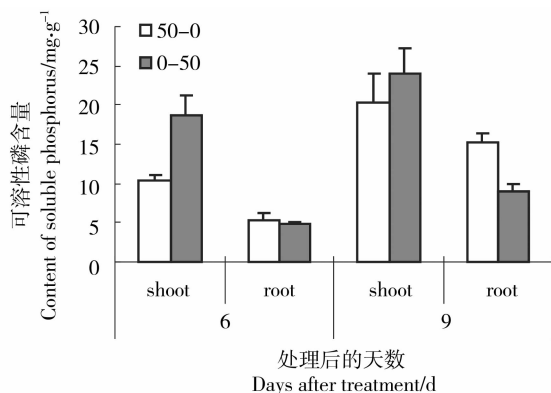


图3 磷转换处理后大豆体内可溶性磷含量的变化

Fig.3 The content of soluble phosphorus in soybean tissues after phosphorus treatment

2.3 根系分泌有机酸总量

在磷转换后,分析了根系分泌有机酸量(图4)。从处理后的第6天到第15天,50-0处理大豆根系分泌的有机酸量远远高于0-50处理,基本为4.39~5.53倍,达到了差异显著水平($P < 0.01$)。尤其在缺磷后的第6天,50-0处理根系分泌的有机酸量是0-50处理的5.53倍。而后随着缺磷处理时间的延长,根系分泌有机酸的量逐渐减小。在大豆生长前期,缺磷对生物量的影响不大(数据没有列出),因为籽粒中储备的磷可供给前期生长对磷素的需求,短期生物量的变化也很小(图2)。但是,根系分泌有机酸对缺磷非常敏感,如50-0处理,进行无磷转换后,立即刺激根系分泌出大量的有机酸。同时表现出体内可溶性磷含量也明显降低(图3),可见大豆体内可溶性磷水平负调控着根系分泌有机酸

的数量。对白羽扇豆进行分根供磷试验,结果表明缺磷促进白羽扇豆根系分泌柠檬酸的速率大幅度增加,并高于单侧根系供磷的植株所形成的根簇的柠檬酸分泌速率。在一侧根系供磷的植株中,簇根分泌柠檬酸的速率没有差别。这些结果也表现出羽扇豆根系柠檬酸分泌受植物体内的磷浓度调节,但调节机制可能不同。

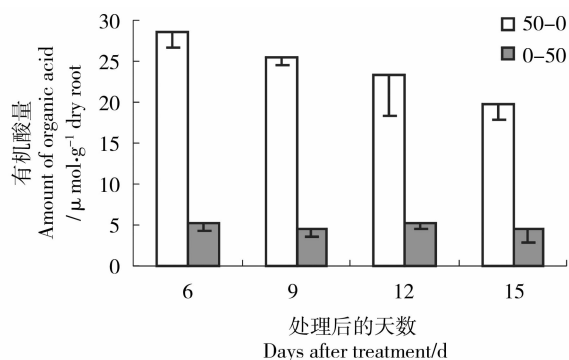


图4 磷转换处理后大豆根系有机酸分泌量的变化

Fig.4 Change of organic acid exudation amount after phosphorus treatment

2.4 不同根区根系分泌有机酸量

以根尖作为起始点,测定了50 cm区段内大豆根系分泌有机酸的情况(表1)。从根尖到10 cm区段根系分泌的有机酸量最多,这一现象与磷处理条件和取样时间无关。随着距离根尖越远,分泌出的有机酸量越少。磷转换后,0~10 cm与40~50 cm根区分泌的有机酸差异量,50-0处理和0-50处理分别为4.3~5.65倍和3.38~10.30倍。这一结果表明,在正常生长的大豆缺磷后,诱导根系有机酸分泌量虽然随着距离根尖越远有降低的趋势,但是变化幅度较小。而无磷条件生长的大豆供给充足的磷后,在供磷前期仍有一定量的有机酸从根系分泌出来,但是随着距离根尖越远分泌量急剧减少。充分表明根尖是大豆根系分泌有机酸的敏感区域和主要区域。根系的不同部位影响根系分泌物的种类和数量可能是由于根系的不同部位所执行的功能及作用不同。Neumann^[10]对白羽扇豆不同根区有机酸分泌情况进行了研究,发现缺磷胁迫的状态下,白羽扇豆的分泌物主要是柠檬酸和苹果酸。其中苹果酸的分泌部位是距根尖5 mm的非根毛区,而柠檬酸的分泌部位是逆境形成的簇状排根区。这些结果表明,胁迫条件根系分泌的有机酸存在着根区差异。

表 1 不同根区分泌有机酸情况

Table 1 Amount of organic acid exudation from different root zone

处理 Treatment	处理后天数 DAT/d	有机酸分泌量 Amount of organic acid exudation/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ dry root				
		0 ~ 10 cm	10 ~ 20 cm	20 ~ 30 cm	30 ~ 40 cm	40-50 cm
50-0	6	39.91 \pm 1.20	31.16 \pm 2.07	17.03 \pm 1.26	15.02 \pm 2.01	9.81 \pm 1.04
	9	30.67 \pm 0.69	23.93 \pm 3.03	14.22 \pm 1.88	10.93 \pm 1.96	5.43 \pm 1.52
	12	24.43 \pm 3.60	18.53 \pm 1.03	9.82 \pm 1.40	8.78 \pm 1.25	5.68 \pm 1.09
	15	23.08 \pm 2.20	11.97 \pm 1.59	10.36 \pm 2.09	7.18 \pm 2.21	5.24 \pm 3.49
0-50	6	21.21 \pm 3.89	18.53 \pm 2.68	11.33 \pm 0.76	5.91 \pm 0.94	2.06 \pm 0.39
	9	16.27 \pm 0.69	13.37 \pm 2.65	6.55 \pm 2.12	4.64 \pm 0.66	1.81 \pm 0.27
	12	13.03 \pm 1.30	8.66 \pm 0.94	3.40 \pm 0.59	3.36 \pm 0.69	3.08 \pm 0.55
	15	9.08 \pm 2.49	7.76 \pm 1.92	2.00 \pm 0.52	2.13 \pm 0.36	2.69 \pm 0.84

根区以根尖为起点分成的区段。Root zone calculated from root tip.

3 结论与讨论

生长环境中的磷水平直接调控着大豆体内的可溶性磷含量,而且影响其在大豆不同组织内的分布。充足磷素条件下生长的大豆,短期缺磷处理促进大豆体内可溶性磷向根系移动,而长期生长在无磷条件下的大豆,供给磷后,可溶性磷主要在大豆地上部累积。如果正常生长的大豆受到缺磷刺激后,会立即诱导大豆根系分泌大量的有机酸,而已经适应了缺磷环境的大豆,供磷对有机酸分泌表现出明显的抑制作用。而且不同根区分泌有机酸量有明显差异,随着距离根尖越来越远,有机酸分泌量也越少。该研究表明,根尖是大豆根系分泌有机酸的敏感区域和主要区域。

参考文献

- [1] Aguilar S A, Van D A. Root-phosphate metabolism induced by the alkaline uptake pattern of legume utilizing symbiotically fixed nitrogen[J]. Plant Soil, 1981, 61: 27-42.
- [2] Bekes T, Cibo B J, Ehlert P A I, et al. An evaluation of plant-borne factors promoting the solubilization of alkaline rock phosphate[J]. Plant Soil, 1983, 75: 361-378.
- [3] Hinsinger P, Elsass F, Jaillard B, et al. Root-induced irreversible transformation of a triotahedral mica in the rhizosphere of rape [J]. Journal of Soil Science, 1993, 44: 535-545.
- [4] Hinsinger P, Gilkes R J. Root-induced dissolution of phosphate rock in the rhizosphere of lupins grown in alkaline soil[J]. Australian Journal of Soil Research, 1995, 33: 477-489.
- [5] Lipton D S, Blanchar R W, Blevins D G. Citrate, malate and succinate concentration in exudates from P-sufficient and P-stressed *Medicago sativa* L. seedlings [J]. Plant Physiology, 1987, 85:315-317.
- [6] Gardner W K, Barber D A, Parberry D G. The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L. III. The probable mechanism by which phosphorus movement in the soil/root interface is enhanced [J]. Plant Soil, 1983, 70: 107-124.
- [7] Dinkelaker, Romheld B V, Marchner H. Citric acid excretion and precipitation of calcium citrate in rhizosphere of white lupi (*Lupinus albus* L.) [J]. Plant, Cell and Environment, 1989, 12: 285-295.
- [8] 申建波, 张福锁, 毛达如. 磷胁迫下大豆根分泌有机酸的动态变化[J]. 中国农业大学学报, 1998, 3 (增刊): 44-48. (Shen J B, Zhang F S, Mao D R. Dynamics of low-molecular-weight organic acids in root exudates of soybean under P-deficiency[J]. Journal of China Agricultural University, 1998, 3 (Supplement): 44-48.)
- [9] 苗淑杰, 乔云发, 韩晓增, 等. 根瘤形成后缺磷对大豆生长和根瘤固氮功能的影响[J]. 作物学报, 2009, 35 (7): 1344-1349. (Miao S J, Qiao Y F, Han X Z, et al. Effects of phosphorus deficiency on growth and nitrogen fixation of soybean after nodule formation[J]. Acta Agronomica Sinica, 2009, 35 (7): 1344-1349.)
- [10] Neumann G, Massonneau A, Langlade N, et al. Physiological aspects of cluster root function and development in Phosphorus-deficient White Lupin (*Lupinus albus* L.) [J]. Annals of Botany, 2000, 85: 909-919.