

低磷胁迫对熊猫豆生殖生长及某些生理特性的影响

李君¹, 田霄鸿², 曹翠玲¹

(1. 西北农林科技大学生命科学学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 在水培条件下研究了低磷胁迫对熊猫豆形态学及一些生理特性的影响。结果表明: 低磷胁迫下, 熊猫豆根、茎、叶及全株磷含量减小, 开花期和成熟期延迟; 叶面积减小, 正常供磷条件下第一、第二和第三片三出复叶分别比低磷组高出 21.38%、19.24% 和 26.76%; 低磷条件下植株生物量减小, 但根冠比显著增加至对照组 1.5 倍; 根系活力和硝酸还原酶活性减小; 但是低磷环境下其根系和叶片酸性磷酸酶 (APase) 活性显著增加, 根系 APase 活性增加至 220%; 但根、叶的膜透性几乎没有变化。因此熊猫豆适应贫瘠可能主要是通过较大根系的构建, 具有较高的膜稳定性及提高酸性磷酸酶的活性而实现的。

关键词: 低磷胁迫; 熊猫豆; 酶活性; 磷含量

中图分类号: S311 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-7601(2013)02-0191-05

Effects of P deficiency on reproductive growth and some physiological characteristics of *Phaseolus coccineus* L. seedlings

LI Jun¹, TIAN Xiao-hong², CAO Cui-ling¹

(1. College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. College of Resources and Environmental Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Under hydroponic condition, the effects of P deficiency stress on reproductive growth and some physiological characteristics of *Phaseolus coccineus* L. seedlings were investigated. The results indicated that under P deficiency, the P contents in roots, stems leaves and whole plants were decreased, and the flowering stage and maturity stage were delayed, as compared to those under adequate P; the area of the 1st, 2nd and 3rd leaf of the seedlings under P deficiency was reduced by 21.38%, 19.24% and 26.76% respectively; the biomass of plants was reduced, but the root/shoot ratio was significantly increased by 50%; the root vigor and the activity of nitrate reductase were reduced, the activity of APase in roots and leaves was increased significantly, but the membrane permeability was not affected by P deficiency. It was concluded that the physiological mechanism of tolerance to poor soil fertility of *Phaseolus coccineus* L. was mostly due to the improvement of roots so as to maintain the membrane permeability and to raise the activity of APase.

Keywords: P deficiency stress; *Phaseolus coccineus* L.; enzyme activity; P content

磷(P)是植物生长发育必需的矿质元素之一, 参与植物的光合和呼吸、能量的储存和传递, 并且与各种有机物的合成和分解代谢、细胞信号转导、基因表达调控等过程密切相关, 对植物生长发育、生理代谢、产量与品质等都有重要作用。缺磷会导致细胞分裂受阻, 分蘖分枝减少, 生长停滞, 茎、根直径减小, 植株变矮, 花果脱落, 成熟延迟^[1]。土壤缺磷是当今农业生产中限制作物产量的主要因素之一^[2]。我国黄土高原地区土壤有效磷含量仅是 $6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全磷含量却达到 $1230 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 说明大部分磷素以

无效态结合于土壤之中^[3]。因此, 探究耐贫瘠植物适应低磷胁迫的形态改变和生理生化特点, 是选育耐低磷作物品种的重要理论依据, 这些已经成为植物营养学家和遗传育种学家共同关注的热点问题。

熊猫豆(*Phaseolus coccineus* L.)是产于我国河西走廊的彩色豆种, 外形椭圆, 半面白色, 脐背面咖啡色, 脐白色, 种皮表面生有酷似熊猫眼睛、鼻子形状的斑点, 所以称为“熊猫豆”。熊猫豆适应性较广, 具有耐旱、耐低温、耐瘠薄等特点, 全国各地均可种植^[4-5]。关于熊猫豆耐贫瘠研究的报道几乎是空

收稿日期: 2012-10-30

作者简介: 李君(1987—), 陕西西安人, 硕士研究生, 主要从事植物养分生理研究。E-mail: angie-lee@live.cn

通讯作者: 曹翠玲(1960—), 陕西眉县人, 博士, 教授, 主要从事植物养分生理和抗旱生理的研究。E-mail: cuilingcao@tom.com

白,所见报道多为介绍其外形和生长周期。因此本试验研究熊猫豆耐低磷的形态和生理变化以及低磷对熊猫豆生殖生长的影响,以期选育耐低磷植物提供理论依据。

1 试验材料

熊猫豆(豆科菜豆属)于2010年3月购自杨陵区种子市场。

2 试验方法

2.1 材料处理

挑选大小一致且饱满无病虫害的熊猫豆种子,在25℃蒸馏水中吸胀7h后播于塑料小盆中,置于25℃、40%湿度条件下进行无光照催芽,10d后萌发。第一对真叶完全展开后掐去子叶,选取长势一致的植株分别移入高磷(+P,正常Hoagland营养液,磷含量为 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)和低磷(-P,减少Hoagland营养液中 KH_2PO_4 的用量,使磷含量最终为 $1\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,不足的钾离子以KCl补足)营养液中进行水培,每盆装营养液2L,栽熊猫豆4株。每个处理设6个平行。幼苗在光照 $14\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 、全光照、25℃恒温、60%湿度的人工气候箱中培养。30d后取样测定各项生理指标。

2.2 各项指标的测定

2.2.1 花蕾数、叶片面积及生物量测定

1) 按照常规方法在熊猫豆萌发40d后测定花蕾数,55d后测定豆荚数。

2) 叶面积测定:分别选取高磷和低磷两个处理组第五三出复叶(完全展开)的植株各10棵,用CI-202 Area Meter分别测量其第一、第二、第三片三出复叶的叶面积。单位 cm^2 。

3) 生物量测定:熊猫豆出苗20d后,每处理各取3株,将其冲洗干净后,分离根、茎、叶并分别称量鲜重,然后置于烘箱中,80℃烘干至平衡重,分别称量根、茎、叶干重。单位g。

2.2.2 生理指标的测定

1) TTC法^[6]测定根系活力。

2) 细胞膜透性测定用DDS电导仪测定。

3) 硝酸还原酶(NR)活性^[6]测定用活体外源基质法测定。

4) 酸性磷酸酶(APase)活性测定:根表面酸性磷酸酶活性采用p-NPP比色法测定,以单位时间内单位重量鲜根水解p-NPP生成的对硝基苯酚(NPP)的量表示根表面酸性磷酸酶活性($\text{NPP, mg}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)^[7]。

5) 植株全磷含量(20d收获的植株)测定用钒钼黄法^[8]。

3 结果与分析

3.1 低磷胁迫对熊猫豆花蕾数和豆荚数的影响

磷是植物生长发育所需的大量元素之一,参与多种代谢过程,而且在生命活动最旺盛的分生组织中含有较高。在植物生长发育过程中如果缺少磷的供应会影响细胞生长和分裂,还会造成开花结果少,开花期和成熟期都延迟。本文试验结果(图1)可以明显看出,正常供磷(+P)条件下,熊猫豆在萌发40d后花蕾数明显高于低磷(-P)组;萌发55d后豆荚数也高于低磷组。在试验中还观察到,生长40d后高磷组已有豆荚4个,但低磷组还未见,说明缺磷延迟了熊猫豆的生殖生长进程。

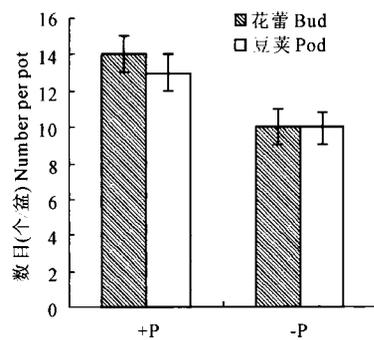


图1 低磷胁迫对熊猫豆花蕾数和豆荚数的影响

Fig.1 Effect of P deficiency on bud and pod number of *Phaseolus coccineus* L.

3.2 低磷胁迫对熊猫豆叶面积的影响

磷脂是构成生物膜的物质基础,核酸是细胞核和细胞质的主要成分,而磷元素是构成磷脂和核酸的主要元素,因此植物在低磷胁迫下会影响细胞生长和分裂,缺磷时植株的叶片较小,分枝或分蘖减少,植株明显矮小。

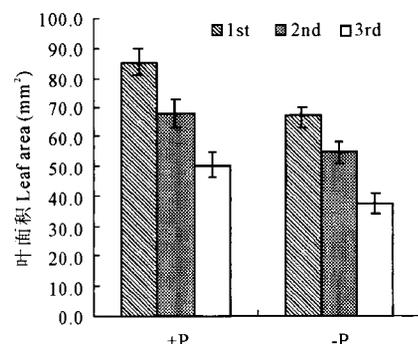


图2 低磷胁迫对熊猫豆叶面积的影响

Fig.2 Effect of P deficiency on leaf area of *Phaseolus coccineus* L.

试验结果(图 2)表明,相同叶位的叶片面积, + P 组明显的大于 - P 组, + P 组第一片、第二片、第三片三出复叶分别比 - P 组高出 21.38%、19.24% 和 26.76%, 差异极显著 ($P < 0.01$), 说明磷在叶片的形态建成中起重要作用。本结果与曹翠玲等^[9]的研究结果相似。但低磷影响叶片的细胞数量还是影响细胞的扩大过程, 还需做进一步的研究。

3.3 低磷胁迫对熊猫豆生物量的影响

根系生物量和根冠比增加被视为植物适应低磷条件的特征之一^[10-11]。试验结果(表 1)表明, 低磷

胁迫对熊猫豆各部分干重均有影响, 磷胁迫下根系干重增加至对照组的 149%, 而地上部分干重下降, 表明磷素对植物体内有机物的分配有显著影响; 全株干重降低表明磷匮乏严重影响植物的物质积累, 根冠比相对增加反映了根系与地上部之间干物质积累的关系。

综合分析熊猫豆在低磷下的物质分配可知, 熊猫豆之所以耐低磷, 很可能是因为熊猫豆有极强的调整物质分配的能力, 在低磷条件下显著加强了根系的构建, 从而保证植株吸收的养分的功能。

表 1 低磷胁迫对熊猫豆生物量的影响

Table 1 Effect of P deficiency on biomass of *Phaseolus coccineus* L.

处理 Treatment	根干重/株 Root dry weight /(g·plant ⁻¹)	茎干重/株 Stem dry weight /(g·plant ⁻¹)	叶干重/株 Leaf dry weight /(g·plant ⁻¹)	全株干重/株 Total dry weight /(g·plant ⁻¹)	根冠比 Root/shoot ratio
+ P	0.163 ± 0.016(100)	0.517 ± 0.014(100)	0.537 ± 0.038(100)	1.217 ± 0.036(100)	0.155 ± 0.029
- P	0.243 ± 0.001(149)	0.453 ± 0.019(88)	0.450 ± 0.004(84)	1.146 ± 0.016(94)	0.269 ± 0.002

注: 括号中数字为相对值。 Note: Data in the brackets are relative values(%).

3.4 低磷胁迫对熊猫豆根活力的影响

根系活力是反映根系代谢是否强盛的一个综合生理指标。根系活力高, 说明根系整体生理代谢良好。由图 3 可知, 磷素明显影响了熊猫豆的根系活力, 低磷胁迫下熊猫豆根系活力明显下降, 仅是对照的 61%, 二者差异极显著 ($P < 0.01$)。

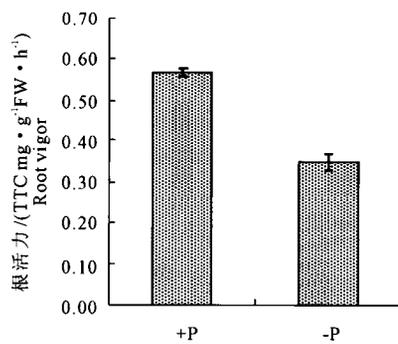


图 3 低磷胁迫对熊猫豆根活力的影响
Fig.3 Effect of P deficiency on root vigor of *Phaseolus coccineus* L.

者比例近似为 2:1, 但是不论是根系还是叶片, 与对照相比, 供磷和不供磷的膜透性几乎无差别, 相差仅为 2%。说明熊猫豆在低磷环境中仍能保持稳定的膜结构; 也说明同一株植物的不同器官, 其膜透性存在组织差异性。

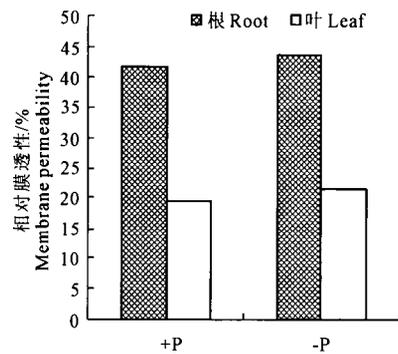


图 4 低磷胁迫对熊猫豆膜透性的影响
Fig.4 Effects of P deficiency on membrane permeability of *Phaseolus coccineus* L.

3.5 低磷胁迫对熊猫豆膜透性的影响

各种逆境下, 处于细胞最外层的细胞膜的结构和功能首先受到伤害, 导致膜透性增大。因此细胞膜透性的变化反映了外部不良环境对植物细胞的伤害程度, 同时细胞膜在逆境下的稳定性也反映了植物抗逆性的高低。

试验结果(图 4)表明, 熊猫豆根系和叶片的膜透性相差较大, 根组织膜透性远大于叶片膜透性, 二

3.6 低磷胁迫对熊猫豆硝酸还原酶活性的影响

磷对氮代谢有重要作用, 特别是硝酸还原过程, 主要是由于磷是 NAD⁺ 和 FAD 的组成成分, 参与硝酸还原为亚硝酸的过程。表 2 表明, 熊猫豆的硝酸还原过程主要是在根部进行。同时, 低磷胁迫导致熊猫豆根系和叶片硝酸还原酶活性大幅下降。低磷胁迫下, 根系和叶片的 NRA 分别降为对照的 43% 和 35%。

表 2 低磷胁迫对熊猫豆硝酸还原酶活性的影响

Table 2 Effect of P deficiency on activity of NRA in *Phaseolus coccineus* L.

处理 Treatment	硝酸还原酶活性/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ Activity of NRA	
	根系 Root	叶片 Leaf
+P	41.667 ± 1.634	7.178 ± 0.644
-P	12.044 ± 1.290	2.474 ± 0.253

试验结果说明,磷素供给水平强烈影响熊猫豆根系和叶片的硝酸还原酶活性,因此磷素直接影响氮素同化,间接影响了氮素的后续代谢过程。此结果与齐炳林等^[12]研究结果一致。

3.7 低磷胁迫对熊猫豆根系分泌性酸性磷酸酶活性的影响

酸性磷酸酶(acid phosphatase, APase)是植物体和土壤中普遍存在的一种非常重要的水解酶,其活性高低与植物体和土壤中的磷素丰缺状况有着密切的联系。低磷胁迫能够诱导植物体内和根系分泌的APase活性显著增加,分解土壤中的有机磷(占土壤总磷的50%~80%)供植物吸收利用^[12-14]。本文试验结果(图5)表明,低磷胁迫下熊猫豆根系表面酸性磷酸酶活性远高于正常供磷条件下根系酸性磷酸酶活性,是对照的2.2倍,差异达到极显著($P <$

0.01)水平。说明低磷条件增强了熊猫豆根系酸性磷酸酶活性,促进了根系对环境中的磷的吸收。

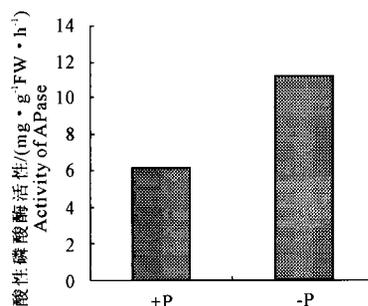


图 5 低磷胁迫对熊猫豆酸性磷酸酶活性的影响

Fig.5 Effect of P stress on activity of APase in *Phaseolus coccineus* L.

3.8 低磷胁迫对熊猫豆植株磷含量和磷积累量的影响

表3表明,不论是正常供磷还是磷胁迫下,熊猫豆的磷含量均依根、茎、叶次序依次升高,说明熊猫豆吸收磷素后,主要是将其运输到叶片中同化或者贮藏。磷胁迫条件下,熊猫豆茎和叶片磷含量相对增加,植株含磷量(相对值)也大幅度提高。这可能是生物的浓缩效应或者是熊猫豆对低磷有较强适应能力的表现。

表 3 磷胁迫对熊猫豆植株磷含量影响

Table 3 Effect of P deficiency on P content in *Phaseolus coccineus* L.

处理 Treatment	磷含量 P content/ $(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$			植株含磷量 P content/ $(\text{mg}\cdot\text{plant}^{-1})$		
	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf
+P	54.5 ± 0.3(100)	67.5 ± 3.9(124)	120.2 ± 7.1(221)	13.22(100)	30.58(231)	64.55(488)
-P	14.7 ± 0.3(100)	30.8 ± 1.5(210)	59.5 ± 0.9(405)	2.39(100)	15.91(666)	26.78(1121)

4 讨论与结论

尽管熊猫豆能够适应贫瘠土壤环境,但是缺磷还是影响了熊猫豆生长发育。磷胁迫下,熊猫豆的叶片面积、根系活力都减小。叶片面积是植物光合作用的最主要器官,根系活力减小会导致熊猫豆养分吸收能力下降,同时磷胁迫下,熊猫豆的氮素同化能力下降显著(NRA下降),因此而导致叶片面积减小,磷素含量降低,生物量降低,最终导致花蕾数和豆荚数都明显低于供磷植株,且花发育被延迟。

虽然如此,但是本文测定结果也显示,熊猫豆之所以能耐贫瘠,其主要原因是:(1)低磷胁迫下,其根系和叶片的膜透性比较稳定。植物细胞膜起着调节和控制细胞内外物质交流的屏障作用,当植物在低温、高温、干旱及各种污染物危害等不利环境条件

下,刺激首先作用于细胞膜。而细胞膜一旦遭到破坏,其透性就会发生改变,从而影响膜内外的水分及其他物质的交换,引起离子失衡,生理代谢紊乱,严重时会导致细胞膜解体和细胞死亡^[15]。(2)酸性磷酸酶活性在低磷胁迫下明显升高,是对照的2.2倍。酸性磷酸酶是一种诱导酶,其活性受植物供磷状况的影响。很多研究表明,磷胁迫能够显著提高植物体内的酸性磷酸酶活性,其活性增加是植物对缺磷胁迫的一种适应性反应^[16]。(3)低磷胁迫下,熊猫豆植株内磷素向茎和叶的分配比例增大。充足的磷素供应是植物正常生长的重要保证。郭延平等^[17]研究表明,在缺磷条件下,温州蜜柑叶片中的无机磷含量, P_n 和 Rubisco 活性下降,光系统II反应中心可逆地失活;给缺磷培养的植株叶片饲喂 KH_2PO_4 后, P_n 和光系统II反应中心活性等迅速恢

复,说明叶片磷含量与叶片光合性能有密切关系。因此磷胁迫下熊猫豆磷素向茎和叶片分配比例增大是其适应贫瘠的主要原因之一。因此,需要进一步探究膜透性稳定性、磷酸酶活性高低以及茎叶较高磷含量是否可作为筛选耐磷作物的生理指标。

参 考 文 献:

- [1] 张继澍.植物生理学[M].北京:高等教育出版社,2006:68-69.
- [2] 李迟园,田霄鸿,曹翠玲,等.外源有机酸对玉米磷吸收及其生长发育的影响[J].西北植物学报,2011,31(7):1376-1383.
- [3] 王庆仁,李继云,李振声,等.高效利用土壤磷素的植物营养学研究[J].生态学报,1999,19(3):417-421.
- [4] 孟延发,孟雪琴,杜毅峰,等.熊猫豆 β -D-半乳糖苷酶的基本性质研究[J].兰州大学学报(自然科学版),2001,37(5):88-93.
- [5] 珍稀名贵彩色豆种——熊猫豆[J].中国农业信息,2003,(10):24.
- [6] 斯琴巴特尔,吴红英.不同逆境对玉米幼苗根系活力及硝酸还原酶活性的影响[J].干旱地区农业研究,2001,19(2):67-70.
- [7] 严 宽,王昌全,李焕秀,等.磷水平对杂交水稻及其亲本根系酸性磷酸酶活性的影响[J].中国水稻科学,2010,24(1):43-48.
- [8] 邹大琼,詹志春.应用钼黄法和钼兰法测定植酸酶活性测定条件的研究[J].中国饲料,2005,(3):37-39.
- [9] 曹翠玲,毛圆辉,曹朋涛,等.低磷胁迫对豇豆幼苗叶片光合特性及根系生理特性的影响[J].植物营养与肥料学报,2010,16(6):1373-1378.
- [10] Duff S M A, Sarath G, Plaxon W C. The role of acid phosphatase in plant phosphorus metabolism[J]. Plant Physiol, 1994,90:791-800.
- [11] Baldwin J C, Athikkattuvalase S K, Raghoothama K G. LEPS2, a phosphorus starvation-induced novel acid phosphatase from tomato [J]. Plant Physiology, 2001,125:728-737.
- [12] 齐炳林,曹翠玲,王菲等.磷胁迫对豇豆幼苗硝酸还原酶活性和硝态氮含量的影响[J].干旱地区农业研究,2010,28(1):147-151.
- [13] Raghoothama. Type 5 acid phosphates gene from Arabidopsis thaliana is induced by phosphate starvation and by some other types of phosphate mobilizing/oxidative stress conditions[J]. Plant J, 1999,19(5):579-589.
- [14] 黄 宇,张海伟,徐芳森,等.植物酸性磷酸酶的研究进展[J].华中农业大学学报,2008,27(1):148-154.
- [15] 庞士铨.植物逆境生理学基础[M].哈尔滨:东北林业大学出版社,1990.
- [16] Tadano T, Sakia H. Secretion of acid phosphatase by the roots of several crop species under phosphorus-deficient conditions[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 1991,37(1):129-140.
- [17] 郭延平,陈屏昭,张良诚,等.不同供磷水平对温州蜜柑叶片光合作用的影响[J].植物营养与肥料学报,2002,8(2):186-191.

(上接第 185 页)

- [6] Waller F, Achatz B, Baltruschat H, et al. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield[J]. Proceedings of the National Academy of Science of United States of America, 2005,102:13386-13391.
- [7] Sun C, Johnson J M, Cai D G, et al. *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein[J]. Journal of Plant Physiology, 2010,167:1009-1017.
- [8] Sherameti I, Tripathi S, Varma A, et al. The root-colonizing endophyte *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Arabidopsis by stimulating the expression of drought stress-related genes in leaves[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2008,21:799-807.
- [9] 兰州干旱气象研究所干旱监测预测研究室.2009年夏季全国干旱状况及其影响[J].干旱气象,2009,27(3):298-303.
- [10] 王素萍,段海霞,冯建英.2010年夏季全国干旱状况及其影响与成因[J].干旱气象,2010,28(3):367-373.
- [11] 王素萍,段海霞,冯建英.2011年夏季全国干旱状况及其影响与成因[J].干旱气象,2011,29(2):261-268.
- [12] 严美玲,李向东,林英杰,等.苗期干旱胁迫对不同抗旱花生品种生理特性、产量和品质的影响[J].作物学报,2007,33(1):113-119.
- [13] 程 曦,王月福,赵长星,等.不同生育期干旱对花生衰老特性及产量的影响[J].花生学报,2010,39(2):33-36.
- [14] Hill T W, Kafer E. Improved protocols for *Aspergillus* minimal medium: trace element and minimal medium salt stock solutions[J]. Fungal Genetics Newsletter, 2001,48:20-21.
- [15] 楼兵干,孙 超,蔡大广.印度梨形孢的多种功能及其应用前景[J].植物保护学报,2007,34(6):653-656.