

# 磷胁迫下大豆酸性磷酸酶活性变化及 磷效率基因型差异分析

刘 渊<sup>1</sup> 李喜焕<sup>1</sup> 孙 星<sup>1</sup> 张彩英<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>河北农业大学农学院, 保定 071001; <sup>2</sup>河北农业大学生命科学学院, 保定 071001)

**摘要:** 在 3 种磷水平处理后, 对 23 个大豆品种的叶片和根尖酸性磷酸酶活性、根冠比、干物质质量、全磷含量及磷效率进行测定、比较和分析。结果表明, 叶片或根尖酸性磷酸酶活性、叶片或根尖酸性磷酸酶活性相对值、根冠比、磷效率、磷效率相对值之间具有极显著差异 ( $P < P_{0.01}$ ); 且根尖的酸性磷酸酶活性与相应的磷效率存在显著正相关 ( $r = 0.4535$ ), 可作为筛选磷高效品种的参考指标; 根尖的酸性磷酸酶活性相对值与相应的磷效率相对值存在显著正相关 ( $r = 0.5070$ ), 可作为耐低磷敏感程度的重要依据。

**关键词:** 低磷; 酸性磷酸酶活性; 磷效率; 耐低磷

## Variation of Acid Phosphatase Activity and Analysis of Genotypic Difference in P efficiency of Soybean under Phosphorus Stress

LIU Yuan<sup>1</sup>, LI Xi-huan<sup>1</sup>, SUN Xing<sup>1</sup>, ZHANG Cai-ying<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> College of Agronomy, Hebei Agricultural University, Baoding 071001;

<sup>2</sup> College of Life Sciences, Hebei Agricultural University, Baoding 071001)

**Abstract:** Under three levels P stress treatment, shoot and root acid phosphatase activities, crown-root ratio, amount of dry matter, phosphate content and P efficiency of 23 soybean cultivars were studied by determination, comparison and analysis. The result showed that there was significant variance among shoot or root acid phosphatase activities, relative value of shoot and root acid phosphatase activities, crown-root ratio, P efficiency and relative value of P efficiency ( $P < P_{0.01}$ ); and root acid phosphatase activities were significantly correlated with root acid phosphatase activities and P efficiency ( $r = 0.4535$ ), which is able to act as an important indicator to screen P highly-efficient cultivars. There existed a significant correlation ( $r = 0.5070$ ) between relative value of root acid phosphatase activity and P efficiency, which can be used as the important indicator for understanding tolerance to low P condition.

**Key words:** Low-P; Acid phosphatase activity; P efficiency; Low-P tolerance

酸性磷酸酶 (APA) 是植物体内一种重要的诱导酶和水解酶, 磷胁迫下显著提高其活性, 不仅促进碳水化合物的转化和蛋白质的合成, 还可以分解土壤中的有机磷化合物释放相应的无机磷, 提高土壤的有效磷素<sup>[1]</sup>。关于缺磷胁迫下的适应性反应, 酸性磷酸酶活性显著提高的研究结果在玉米<sup>[2]</sup>、花生<sup>[3]</sup>、小

麦<sup>[4-5]</sup>、甜菜<sup>[6]</sup>等作物中均有报道。酸性磷酸酶与土壤有机磷的有效性关系在世界上引起广泛关注。

由于在低磷胁迫下, 酸性磷酸酶、RNA 酶等基因的蛋白表达加强, 诱导体内代谢副通路形成, 通过调节体内一系列生理和生化反应, 发展了一套复杂的代谢系统。因此, 植物磷效率受到很多因素的影

收稿日期: 2011-11-07 修回日期: 2012-02-26

基金项目: 国家转基因重大专项课题 (2009ZX08004-004B); 国家自然科学基金项目 (31071441); 河北省自然科学基金项目 (C2010000749); 河北省高等学校科学技术研究青年基金 (20111113)

作者简介: 刘渊, 助理研究员, 硕士, 研究方向: 作物育种目标性状遗传与改良, E-mail: liuyuan@mail.hebau.edu.cn

通讯作者: 张彩英, E-mail: cyzhang\_60@126.com

响 酸性磷酸酶活性能否作为评价磷效率的生理生化指标一直是近年来学者研究的热点。Helal 等<sup>[7]</sup>的研究表明 在缺磷条件下植物对有机磷的利用能力明显提高 主要是由于缺磷诱导了植物根系的酸性磷酸酶活性显著提高 从而促进了有机磷的转化, 建议将根系分泌酸性磷酸酶活性的高低作为筛选磷高效型植物的一个重要指标。丁洪等<sup>[8]</sup> 也认为酸性磷酸酶可作为低磷条件下筛选磷高效品种资源的一项重要的生化指标。McLachlan 等<sup>[9]</sup> 通过调查一些栽培品种和野生种在缺磷条件下根系的酸性磷酸酶活性、生物学产量和磷的累积量并进行比较分析, 发现根系酸性磷酸酶活性与生物学产量和磷累积量呈极显著负相关。Yan 等<sup>[10]</sup> 利用两个大豆亲本及

其重组自交系研究叶片酸性磷酸酶活性与磷吸收和利用效率的关系 结果表明 叶片酸性磷酸酶活性与其磷吸收效率和利用效率的相关性均不显著 不能仅由叶片酸性磷酸酶活性作为评价植物磷效率高低的指标。目前较多的研究仅停留在少数作物上 植物体内及根系分泌的酸性磷酸酶活性与磷效率的关系至今仍不清楚 能否做为评价磷效率的指标需要进一步的研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试的大豆品种 23 个(表 1) 由河北农业大学作物遗传育种专业大豆课题组提供。

表 1 23 个大豆供试品种在不同磷处理下叶片和根尖的酶活性值

Table 1 Shoot and root acid phosphatase activities list of 23 soybean cultivars under different level of P treatment

编号 Code	品种 Cultivar	高磷( 1000Um)		低磷( 2Um)		无磷( 0Um)	
		High P		Low P		No P	
		叶片 Shoot	根尖 Root	叶片 Shoot	根尖 Root	叶片 Shoot	根尖 Root
1	bn102	0. 0095Kk	0. 1321Aa	0. 0131Jl	0. 0014KLMmn	0. 0069No	0. 0169Ef
2	德豆 99-46	0. 0184HIhi	0. 0038JKjk	0. 0319Dd	0. 0024JKkl	0. 0032Op	0. 0023Ln
3	邯 6197	0. 0097JKk	0. 0071HIhi	0. 0173lk	0. 0036HIij	0. 0116Lm	0. 0019LMn
4	冀 09B3	0. 0107Jj	0. 0866Bb	0. 0101Km	0. 002JKLklm	0. 0163Kk	0. 0018LMn
5	冀豆 18	0. 032Ee	0. 0032KLkl	0. 0056Ln	0. 0006Mn	0. 019Jj	0. 0238Bc
6	冀黄 13	0. 0065Ll	0. 0033JKLkl	0. 0249Fg	0. 0011LMmn	0. 0025OPp	0. 0009MNop
7	蒙 9793-4	0. 0055LMm	0. 0025LMlm	0. 0248Fg	0. 0041GHhi	0. 0015Pq	0. 0006Np
8	牛毛黄	0. 0098JKk	0. 0201Dd	0. 0178Ijk	0. 0075Ef	0. 012Lm	0. 0017LMNno
9	齐交 03-9	0. 0058Llm	0. 0023LMmn	0. 0337Cc	0. 0154Bb	0. 0223Ii	0. 0096Ijk
10	石 76368	0. 0402Cc	0. 0217Cc	0. 0233Gh	0. 0048FGgh	0. 0257Hh	0. 0136Gh
11	石 H570	0. 0389Dd	0. 0166Ee	0. 0425Bb	0. 0202Aa	0. 0403Dd	0. 018De
12	石豆 3 号	0. 0022No	0. 0019MNmno	0. 0297Ef	0. 0092De	0. 0683Aa	0. 0146FGg
13	石品 735	0. 0246Ff	0. 0076Hh	0. 0532Aa	0. 0053Fg	0. 0296FGfg	0. 0247Bb
14	五星 2 号	0. 0391CDd	0. 0087Gg	0. 031De	0. 0195Aa	0. 0154Kl	0. 0053Km
15	五星 3 号	0. 0506Aa	0. 001No	0. 0254Fg	0. 02Aa	0. 0098Mn	0. 0086Jl
16	徐豆 10 号	0. 0198Gg	0. 0097FGf	0. 0124Jl	0. 005FGg	0. 0304Ff	0. 0119Hi
17	郑 92116	0. 0415Bb	0. 0063Ii	0. 0196Hi	0. 0028IJjk	0. 0442Cc	0. 0461Aa
18	中黄 35	0. 0395CDcd	0. 0014MNno	0. 0185Ij	0. 004GHhi	0. 0124Lm	0. 0026Ln
19	中品 03-6025	0. 0176Ii	0. 0103Ff	0. 0175lk	0. 0102Dd	0. 0099Mn	0. 0026Ln
20	中作 056011	0. 0178HIi	0. 0044Jj	0. 0177Ijk	0. 002JKLklm	0. 055Bb	0. 0213Cd
21	中作 5045	0. 0188GHh	0. 0074HIh	0. 0203Hi	0. 0018JKLlm	0. 032Ee	0. 0059Km
22	中作 J5032	0. 0183HIhi	0. 0017MNmno	0. 0182Ijk	0. 0016JKLlm	0. 0315Ee	0. 0149Fg
23	中作 J5044	0. 0046Mn	0. 0018MNmno	0. 0129Jl	0. 0114Cc	0. 029Gg	0. 0105Ij

同列不同大小写字母分别表示  $P < 0.01$  和  $P < 0.05$  的显著性差异。下同

Different capital and small letters are significantly different at  $P < 0.01$  level and  $P < 0.05$  level respectively. The same as below

## 1.2 供试材料培养条件

供试材料的沙培与水培均在河北农业大学农学院作物遗传育种系实验室的人工光照培养室中进行, 催芽和沙培保持 25℃ 黑暗培养 24h, 水培保持 29℃/20℃(白天/黑夜), 光照培养为 24h。

## 1.3 培养方法

选取颜色、大小一致的供试品种种子, 用 1% 的次氯酸钠浸泡消毒 20min, 去离子水冲洗 1min, 至无次氯酸钠气味; 培养钵用 10%  $H_2O_2$  浸泡 10min, 去离子水浸种约 12h 后, 将种子洗净平铺于培养钵内滤纸上, 覆盖湿润的两层滤纸并加盖, 每钵 60 粒, 0.5mmol/L  $CaSO_4$  催芽保持 25℃ 黑暗约 24h, 在催芽过程中不定时喷水以保持一定的湿度。将发根的种子播于湿润石英砂中, 不定时浇灌去离子水, 保持石英砂湿润。7d 后, 幼苗移栽至 40L 的白色塑料培养盒内, 设 3 个磷处理 0Um、2Um、1000Um<sup>[10]</sup>。每个处理设 3 个重复, 调整 pH5.8~6.0, 温度 29℃/20℃(白天/黑夜), 湿度 48%/83%(白天/黑夜), 光照 24h, 平均 2d 换一次营养液, 24h 不间断通入氧气。水培 20d 后, 收获植株, 测定不同供试材料叶片和根尖的酸性磷酸酶活性<sup>[11]</sup>和可溶性蛋白质含量<sup>[12]</sup>; 称取植株地上部与根的干质量, 计算植株的根冠比; 用钼黄比色法测定植株含磷量<sup>[13]</sup>; 计算植株磷效率(植株磷效率 = 植株干质量/植株吸磷量 × 100)。

## 1.4 酸性磷酸酶(APA)活性的测定

**1.4.1 酶液的提取** 分别取新鲜叶片、1cm 根尖称取 0.1~0.3g 放入冰浴研钵中, 加入液氮迅速碾磨至糊状。匀浆转入 1.5ml 离心管中, 加入 0.1mol/L 缓冲液(1mol/L 冰醋酸(HAc)溶液 28.82ml 和 0.3mol/L 醋酸钠(NaAc)溶液 273.3ml, pH4.0) 1.2ml 混匀, 暂时在冰箱 -20℃ 保存。取出离心管在 4℃ 冰冻离心机 14000r/min 离心 30min。取 10μl 上清液, 加入 490μl 酶反应液(0.1mol/L 缓冲液和 0.25mmol/L 硝基苯磷酸二钠(p-NPP)溶液, 即底物缓冲液) 30℃ 下黑暗反应 30min, 加入 2mol/L NaOH 溶液 0.2ml 终止酶促反应。

**1.4.2 酶活性的测定** 吸取 100μl 加入酶标板检测孔内, 设空白对照, p-NP 标准浓度(0.005μmol/孔、0.01μmol/孔、0.015μmol/孔、0.02μmol/孔和 0.025μmol/孔)在 405nm 波长下由酶标仪测定吸光值, 即 OD 值。

## 1.4.3 可溶性蛋白含量的测定

采用考马斯亮兰 G-250 法测定。吸取(1.4.1)中的上清液 0.5ml, 加水稀释到 1ml, 加 5ml 考马斯

亮兰 G-250 溶液, 摇匀, 放置 5min 后, 在 595nm 下比色测定其 OD 值。以牛血清蛋白作为蛋白质标准(BSA: 0.2mg/ml, 0μg/ml, 20μg/ml, 60μg/ml, 100μg/ml, 140μg/ml, 180μg/ml, 200μg/ml)。

酶活性以单位时间内单位可溶性蛋白质内酸性磷酸酶水解对硝基苯磷酸二钠(p-NPP)生成对硝基苯酚(p-NP)的量(μmol/μg·min)表示。

## 1.5 植株干物质质量与根冠比的测定

将 23 个不同供试大豆品种移入 3 个磷处理 0Um、2Um、1000Um 的培养液, 培养方法同 1.3, 第 21 天选取植株带回实验室, 在 80℃ 或 105℃ 下烘干至恒重后称重, 获得植株干物质质量、地上部分干物质产量(即子叶节以上部分)和地下部分干物质产量(即子叶节以下部分)。计算植株的根冠比。

## 1.6 植株全磷含量(植株吸磷量/植株干物质质量)的测定

根据钼黄比色法测定植株全磷含量(植株吸磷量/植株干物质质量): 取烘干样品, 80℃ 再次烘干 20min; 取出, 研磨后称量 0.1g, 放入试管底部(勿粘在瓶颈部); 加 5 滴去离子水, 加入浓硫酸 8ml, 消化过夜; 在每个试管上加一个漏斗, 放入消煮炉内消化, 先调至 170℃ 消煮, 直至温度上升至 220℃, 随后调至 220℃, 保持 30min; 调温至 270℃, 保持 30min, 随后加入  $H_2O_2$  10 滴, 调温至 320℃, 到达 320℃ 时再加 8 滴  $H_2O_2$  调温至 350℃, 到达后再加 6 滴  $H_2O_2$ , 同上升温加  $H_2O_2$  直至溶液变为无色为止。加热 5min 使多余的双氧水分解; 消煮液取下, 加水, 定容至 50ml, 过滤至三角瓶内, 吸取 10ml 滤液至 50ml 容量瓶中, 加 2 滴二硝基酚指示剂, 加入 6mol/L 的 NaOH, 直至溶液呈现浅黄色且均匀一致为止。加入 10ml 的钼酸铵显色剂, 摇匀, 加水定容至 50ml 即可, 显色 15min 后在分光光度计上 450nm 下测定吸光值。

磷标准液配制:  $KH_2PO_4$  经 105℃ 烘干 2h, 放干燥器中冷却后称取 0.2195g, 溶于水, 并转入 1L 容量瓶中, 加水至 400ml, 加浓硫酸 5ml, 用水定容即可, 此即 50mg/L 标准液, 可长期保存使用。

标准曲线的绘制: 分别吸取 50mg/L 的 P 标准液 0、1、2、5、5、7.5、10、15ml(其余不足用水补齐至 15ml)于 50ml 容量瓶, 按前述步骤显色, 即得出 0、1、2、5、5、7.5、10、15mg/L 的 P 标准色阶, 测定吸收值后绘制曲线。

全 P% = { (显色液 P × 显色液体积 × 分取倍数) / (W × 10<sup>6</sup>) } × 100,

其中显色液 P ppm 即从标准曲线上查得的某样品的全 P 的 ppm 的数值,显色液体积 = 50ml,分取倍数 = 消煮液定容体积/吸取消煮液体积 = 100ml/10ml = 10, W = 烘干样品的重量(g),  $10^6$  = 将 ppm 换成 g。

植株磷效率 = 植株干物质质量/植株吸磷量 × 100。

## 1.7 统计分析

对原始数据进行标准化或归一化处理,由 Excel 计算不同处理下幼叶和根尖相对性状的平均值、标准差及变异系数,用 DPS V7.05 版软件的 Duncan 和 Corr 程序进行方差分析和相关性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同磷处理下供试品种叶片与根尖酸性磷酸酶 (APA) 活性、根冠比、磷效率的方差分析及其比较

经 0Um、2Um、1000Um 培养液的 3 个磷处理后,以 23 个供试品种为例,将测定的酶活性和可溶性蛋白含量 OD 值,根据各自的标准曲线换算后确定其

酶活性值,对设定的 3 个重复进行方差分析,其叶片、根尖分别测定,比较其差异。

表 1 所示,在高磷、低磷和无磷处理下,不同供试品种的叶片或根尖的酸性磷酸酶活性之间存在极显著差异。高磷处理下叶片与根尖酸性磷酸酶活性比较,其  $r = -0.1879$ ,自由度  $df = 21$ ,  $r_{0.05} = 0.413$ ,  $r < r_{0.05}$ ;低磷处理下叶片与根尖酸性磷酸酶活性比较,其  $r = 0.4507$ ,  $r > r_{0.05}$ ;无磷处理下叶片与根尖酸性磷酸酶活性比较,其  $r = 0.6011$ ,  $r_{0.01} = 0.526$ ,  $r > r_{0.05}$  且  $r > r_{0.01}$ ;结论是在低磷处理下叶片和根尖的酸性磷酸酶活性间具有显著相关性,无磷处理下其酸性磷酸酶活性间具有极显著相关性,高磷处理下其酸性磷酸酶活性间无显著相关性。

由表 2 可知,分别在高磷、低磷和无磷处理下,不同供试品种的根冠比之间存在极显著差异。高磷与低磷处理下根冠比之间  $r = 0.0567$ ,自由度  $df = 21$ ,  $r_{0.05} = 0.413$ ,  $r < r_{0.05}$ ;低磷与无磷处理下根冠比之间  $r = 0.3359$ ,  $r < r_{0.05}$ ;高磷与无磷处理下根冠比之间  $r = 0.0672$ ,  $r < r_{0.05}$ ;结论是在不同磷处理下根冠比间无显著相关性。

表 2 不同磷处理下的 23 个大豆供试品种地上部、根部的干物质量及根冠比

Table 2 Amounts of dry matter and crown-root ratios in 23 soybean cultivars under different levels of P treatment (g)

编号 Code	品种 Cultivar	高磷(1000Um) High P			低磷(2Um) Low P			无磷(0Um) No P		
		地上部	根部	根冠比	地上部	根部	根冠比	地上部	根部	根冠比
		Overground	Underground	Crown-root ratio	Overground	Underground	Crown-root ratio	Overground	Underground	Crown-root ratio
		part	part	root ratio	part	part	root ratio	part	part	ratio
1	bn102	0.48	0.16	0.33Ll	0.36	0.2	0.56Hh	0.2	0.14	0.7Bb
2	德豆 99-46	0.12	0.1	0.83Aa	0.23	0.16	0.7Ee	0.13	0.07	0.54DEe
3	邯 6197	0.36	0.12	0.33Ll	0.32	0.14	0.44JKl	0.22	0.12	0.55Dde
4	冀 09B3	0.33	0.17	0.52EFe	0.33	0.22	0.67Ff	0.25	0.19	0.76Aa
5	冀豆 18	0.2	0.09	0.45Hh	0.31	0.14	0.45Jl	0.3	0.1	0.33JKm
6	冀黄 13	0.42	0.14	0.33Ll	0.33	0.16	0.48Ik	0.18	0.1	0.56Dd
7	蒙 9793-4	0.15	0.08	0.53Ee	0.12	0.16	1.33Bb	0.15	0.06	0.41j
8	牛毛黄	0.28	0.16	0.57Dd	0.2	0.16	0.8Dd	0.16	0.06	0.38Ik
9	齐交 03-9	0.36	0.14	0.39IJj	0.58	0.28	0.48Ik	0.46	0.24	0.52EFF
10	石 76368	0.14	0.04	0.29Mm	0.11	0.05	0.45Jl	0.35	0.11	0.31Kn
11	石 H570	0.29	0.11	0.38JKj	0.16	0.1	0.61Gg	0.2	0.09	0.45Hi
12	石豆 3 号	0.23	0.18	0.78Bb	0.19	0.16	0.84Cc	0.2	0.15	0.75Aa
13	石品 735	0.16	0.09	0.56Dd	0.34	0.17	0.51j	0.27	0.13	0.48Gh
14	五星 2 号	0.09	0.07	0.78Bb	0.15	0.03	0.2Np	0.13	0.07	0.54DEe
15	五星 3 号	0.27	0.11	0.41Ii	0.15	0.1	1.67Aa	0.17	0.12	0.71Bb
16	徐豆 10 号	0.21	0.12	0.57Dd	0.27	0.1	0.37Ln	0.2	0.07	0.35Jl
17	郑 92116	0.36	0.13	0.36Kk	0.33	0.1	0.3Mo	0.24	0.06	0.25Lo
18	中黄 35	0.27	0.11	0.41Ii	0.18	0.09	0.51j	0.4	0.13	0.33JKm
19	中品 03-6025	0.25	0.12	0.48Gg	0.2	0.09	0.45Jl	0.36	0.18	0.5FGg
20	中作 056011	0.23	0.13	0.57Dd	0.26	0.11	0.42Km	0.28	0.11	0.39Ijk
21	中作 5045	0.19	0.06	0.32Ll	0.16	0.08	0.51j	0.17	0.11	0.65Cc
22	中作 J5032	0.33	0.21	0.64Cc	0.28	0.15	0.54Hi	0.2	0.05	0.25Lo
23	中作 J5044	0.32	0.16	0.5FGf	0.11	0.05	0.45Jl	0.2	0.1	0.5FGg

由表 3 确定, 分别在高磷、低磷和无磷处理下, 不同供试品种的磷效率之间存在极显著差异。高磷与低磷处理下磷效率之间  $r = -0.0624$ ; 低磷与无磷处理下磷效率之间  $r = -0.0743$ , 高磷与无磷处理下

磷效率之间  $r = 0.1413$  (自由度  $df = 21$ ,  $r_{0.05} = 0.413$   $r < r_{0.05}$ )。结论是在不同磷处理下磷效率间无显著相关性。

表 3 不同磷处理下 23 个大豆供试品种的干物质量、全磷含量和磷效率

Table 3 Amounts of dry matter, total phosphorus contents and P efficiencies in 23 soybean cultivars under different levels of P treatment

编号 Code	品种 Cultivar	高磷(1000Um) High P			低磷(2Um) Low P			无磷(0Um) No P		
		干质量(g) Dry weight	全磷(%) Phosphate content	磷效率(%) P efficiency	干质量(g) Dry weight	全磷(%) Phosphate content	磷效率(%) P efficiency	干质量(g) Dry weight	全磷(%) Phosphate content	磷效率(%) P efficiency
1	bn102	0.64	1.0359	96.5344Cc	0.56	0.4266	234.4116Ff	0.34	0.6031	165.81Ii
2	德豆 99-16	0.22	2.5000	40Gg	0.39	0.6119	163.4254Ll	0.2	1.0420	95.9693Vv
3	邯 6197	0.48	1.0262	97.4469Bb	0.46	0.6469	154.5834Oo	0.34	0.4153	240.7898Bb
4	冀 09B3	0.5	3.7045	26.9942Ww	0.55	0.5962	167.729Kk	0.44	0.7500	133.3333Nn
5	冀豆 18	0.29	2.5647	38.9909Hh	0.45	0.5559	179.8885Hh	0.4	0.7972	125.439Pp
6	冀黄 13	0.56	2.8513	35.0717Ll	0.49	0.7028	142.288Qq	0.28	0.3998	250.1251Aa
7	蒙 9793-1	0.23	2.7168	36.808Kk	0.28	0.9650	103.6269Vv	0.21	0.7587	131.8044Oo
8	牛毛黄	0.44	1.0254	97.5229Aa	0.36	0.4230	236.4066Ee	0.22	0.8042	124.3472Qq
9	齐交 03-9	0.5	2.7143	36.8419Jj	0.86	0.6346	157.5796Nn	0.7	0.9126	109.577Tt
10	石 76368	0.18	3.4397	29.0723Tt	0.16	0.7920	126.2626Uu	0.46	0.6399	156.2744Jj
11	石 H570	0.4	3.6571	27.3441Vv	0.26	0.2014	496.5243Aa	0.29	0.8117	123.1982Rr
12	石豆 3 号	0.41	2.3147	43.2021Dd	0.35	0.7483	133.6362Ss	0.35	0.5175	193.2367Gg
13	石品 735	0.25	2.9528	33.8662Oo	0.51	0.5787	172.8011Jj	0.4	0.4441	225.1745Dd
14	五星 2 号	0.16	3.6469	27.4205Uu	0.18	1.1818	84.6167Ww	0.2	0.6871	145.5392Kk
15	五星 3 号	0.38	3.4143	29.2886Ss	0.25	0.2024	494.0711Bb	0.29	0.7203	138.831Ll
16	徐豆 10 号	0.33	2.3864	41.9041Ee	0.37	0.7465	133.9585Rr	0.27	1.0017	99.8303Uu
17	郑 92116	0.49	3.3761	29.62Rr	0.43	0.3776	264.8305Dd	0.3	0.8234	121.4477Ss
18	中黄 35	0.38	2.9318	34.1087Mm	0.28	0.2823	354.2331Cc	0.53	0.4266	234.4116Cc
19	中品 03-6025	0.37	3.1454	31.7925Pp	0.29	0.4614	216.7317Gg	0.54	0.4528	220.8481Ee
20	中作 056011	0.36	3.2902	30.3933Qq	0.37	0.5647	177.0852Ii	0.39	0.7343	136.1841Mm
21	中作 5045	0.25	2.6591	37.6067Ii	0.24	0.7570	132.1004Tt	0.28	0.5280	189.3939Hh
22	中作 J5032	0.54	2.4698	40.4891Ff	0.43	0.6276	159.3372Mm	0.25	0.5144	194.4012Ff
23	中作 J5044	0.48	2.9336	34.0878Nn	0.16	0.6906	144.8016Pp	0.3	0.6871	145.5392Kk

## 2.2 不同磷处理下供试品种叶片或根尖酸性磷酸酶(APA)活性、根冠比与磷效率的相关性分析

### 2.2.1 不同磷处理下供试品种叶片或根尖酸性磷酸酶活性与磷效率之间的比较 根据表 1 中不同磷处理下大豆供试品种叶片和根尖酸性磷酸酶活性与表 3 中不同磷处理下大豆供试品种磷效率的相关分析

可知, 高磷处理下, 叶片酸性磷酸酶活性与磷效率比较  $r_1 = -0.4063$ , 根尖酸性磷酸酶活性与磷效率比较  $r_2 = 0.4092$ , 在自由度  $df = 21$  时,  $r_{0.05} = 0.413$ ,  $r_1 < r_{0.05}$ ,  $r_2 < r_{0.05}$ ; 低磷处理下, 叶片酸性磷酸酶活性与磷效率比较  $r_1 = 0.1722$ , 根尖酸性磷酸酶活性与磷效率比较  $r_2 = 0.4535$ ,  $r_1 < r_{0.05}$ ,  $r_2 > r_{0.05}$ ; 无磷处理下, 叶片酸性磷酸酶活性与磷效率比较  $r_1 = -0.0949$ , 根尖酸性磷酸酶活性与磷效率比较  $r_2 = -0.2199$ ,  $r_1 < r_{0.05}$ ,

$r_2 < r_{0.05}$ ; 结论是在低磷处理下 根尖酸性磷酸酶活性与磷效率之间存在显著的正相关。

**2.2.2 不同磷处理下供试品种根冠比与磷效率之间的比较** 根据表 2 中不同磷处理下大豆供试品种叶片和根尖酸性磷酸酶活性的相对值与表 3 中不同磷处理下大豆供试品种磷效率的相关分析可知,高磷处理下,根冠比与磷效率比较  $r_1 = -0.1339$ ; 低磷处理下,根冠比与磷效率比较  $r_2 = 0.4026$ ; 无磷处理下,根冠比与磷效率比较  $r_3 = 0.1383$ ; 在自由度  $df = 21$  时,  $r_{0.05} =$

$0.413$   $r_1 < r_{0.05}$   $r_2 < r_{0.05}$   $r_3 < r_{0.05}$ , 结论是不同磷处理下,根冠比与磷效率之间无显著相关性。

综上所述,低磷处理下 根尖酸性磷酸酶活性与磷效率存在显著正相关,可推断出根尖酸性磷酸酶活性值越大,其品种的磷效率越高。

**2.3 叶片或根尖在不同磷处理下供试品种酸性磷酸酶活性相对值和磷效率相对值之间的比较** 由表 1 和表 3 中数据分析,统计出在不同磷处理下叶片或根尖酸性磷酸酶活性相对值和磷效率相对值,详见表 4。

表 4 不同磷处理下 23 个大豆供试品种叶片和根尖酸性磷酸酶活性相对值和磷效率相对值

Table 4 Relative values of shoot and root acid phosphatase activities and P efficiencies of 23 soybean cultivars under different levels of P treatment

编号 Code	大豆品种 Cultivar	2Um 与 1000Um 2Um and 1000Um			0Um 与 2Um 0Um and 2Um			0Um 与 1000Um 0Um and 1000Um		
		叶片酶活 相对值	根尖酶活 相对值	磷效率 相对值	叶片酶活 相对值	根尖酶活 相对值	磷效率 相对值	叶片酶活 相对值	根尖酶活 相对值	磷效率 相对值
		Shoot	Root	P	Shoot	Root	P	Shoot	Root	P
		APA	APA	efficiency	APA	APA	efficiency	APA	APA	efficiency
		activity ratio	activity ratio	ratio	activity ratio	activity ratio	ratio	activity ratio	activity ratio	ratio
1	bn102	1.3789Jj	0.0106Ww	2.4283Uu	0.5267Qq	12.0714Cc	0.7073Oo	0.7263Nn	0.1279Uu	1.7176Vv
2	德豆 99-16	1.7337Li	0.6316Ll	4.0856Mm	0.1003Ti	0.9583Kk	0.5872Rs	0.1739Ww	0.6053Pp	2.3992Tt
3	邯 6197	1.7835Hh	0.507Nn	1.5863Ww	0.6705Mm	0.5278Rr	1.5577Cc	1.1959Kk	0.2676Rr	2.471Ss
4	冀 09B3	0.9439Nn	0.0231Vv	6.2135Ff	1.6139Hh	0.9Mm	0.7949Ll	1.5234Hh	0.0208Ww	4.9393Hh
5	冀豆 18	0.175Uu	0.1875Uu	4.6136Li	3.3929Aa	39.6667Aa	0.6973Pp	0.5938Pp	7.4375Dd	3.2171Qq
6	冀黄 13	3.8308Dd	0.3333Rr	4.0571Nn	0.1004Ti	0.8182Oo	1.7579Aa	0.3846Ss	0.2727Qq	7.1318Aa
7	蒙 9793-1	4.5091Cc	1.64Gg	2.8153Ti	0.0605Uu	0.1463Ww	1.2719Gg	0.2727Uu	0.24Ti	3.5809Pp
8	牛毛黄	1.8163Gg	0.3731Qq	2.4241Vv	0.6742Ll	0.2267Vv	0.526St	1.2245Li	0.0846Vv	1.2751Ww
9	齐交 03-9	5.8103Bb	6.6957Bb	4.2772Kk	0.6617Nn	0.6234Qq	0.6954Pq	3.8448Cc	4.1739Hh	2.9742Rr
10	石 76368	0.5796Qq	0.2212Ti	4.3431Jj	1.103Jj	2.8333Hh	1.2377Hh	0.6393Oo	0.6267Nn	5.3754Ee
11	石 H570	1.0925Kk	1.2169Hh	18.1584Aa	0.9482Kk	0.8911Nn	0.2481Vw	1.036Mm	1.0843Ll	4.5055Kk
12	石豆 3 号	13.5Aa	4.8421Dd	3.0933Rr	2.2997Dd	1.587Jj	1.446Dd	31.0455Aa	7.6842Cc	4.4729Mm
13	石品 735	2.1626Ff	0.6974Kk	5.1025Hh	0.5564Pp	4.6604Ff	1.3031Ff	1.2033Jj	3.25Li	6.649Dd
14	五星 2 号	0.7928Oo	2.2414Ff	3.0859Ss	0.4968Rr	0.2718Ti	1.72Bb	0.3939Rr	0.6092Oo	5.3077Ff
15	五星 3 号	0.502Rr	20Aa	16.8691Bb	0.3858Ss	0.43Ss	0.281Uv	0.1937Vv	8.6Bb	4.7401Jj
16	徐豆 10 号	0.6263Pp	0.5155Mm	3.1968Qq	2.4516Cc	2.38Li	0.7452Nn	1.5354Gg	1.2268Kk	2.3824Uu
17	郑 92116	0.4723Ss	0.4365Pp	8.9409Dd	2.2551Ee	16.7636Bb	0.4586Tu	1.0651Ll	7.3175Ee	4.1002Oo
18	中黄 35	0.4684Ti	2.8571Ee	10.3854Cc	0.6703Mm	0.65Pp	0.6617Qr	0.3139Ti	1.8571Jj	6.8725Cc
19	中品 03-6025	0.9943Mm	0.9903Li	6.8171Ee	0.5657Oo	0.2549Uu	1.019Jj	0.5625Qq	0.2524Ss	6.9466Bb
20	中作 056011	0.9944Mm	0.4545Oo	5.8265Gg	3.1073Bb	10.65Dd	0.769Mm	3.0899Dd	4.8409Gg	4.4807Ll
21	中作 5045	1.0798Ll	0.2432Ss	3.5127Pp	1.5764Li	3.2778Gg	1.4337Ee	1.7021Ff	0.7973Mm	5.0362Gg
22	中作 J5032	0.9945Mm	0.9412Jj	3.9353Oo	1.7308Gg	9.3125Ee	1.2201Li	1.7213Ee	8.7647Aa	4.8013Li
23	中作 J5044	2.8043Ee	6.3333Cc	4.2479Ll	2.2481Ff	0.9211Ll	1.0051Kk	6.3043Bb	5.8333Ff	4.2695Nn

根据表 4 相关内容分析可得,不同磷处理下,不同品种叶片或根尖酸性磷酸酶活性相对值之间存在极显著差异,磷效率相对值之间也存在极显著差异。在高磷和低磷处理后,不同品种的叶片酸性磷酸酶活性相对值与磷效率相对值之间比较, $r_1 = -0.2633$ ,不同品种的根尖酸性磷酸酶活性相对值与磷效率相对值之间比较 $r_2 = 0.5070$ ;在低磷和无磷处理后,不同品种的叶片酸性磷酸酶活性相对值与磷效率相对值之间比较 $r_3 = -0.1493$ ,不同品种的根尖酸性磷酸酶活性相对值与磷效率相对值之间比较 $r_4 = -0.2106$ ;在高磷和无磷处理后,不同品种的叶片酸性磷酸酶活性相对值与磷效率相对值之间比较 $r_5 = -0.0118$ ,不同品种的根尖酸性磷酸酶活性相对值与磷效率相对值之间比较 $r_6 =$

$0.0363$ ;  $r_1 < r_{0.05}$ ,  $r_2 > r_{0.05}$ ,  $r_3 < r_{0.05}$ ,  $r_4 < r_{0.05}$ ,  $r_5 < r_{0.05}$ ,  $r_6 < r_{0.05}$ 。故高磷和低磷处理下,不同品种的根尖酸性磷酸酶活性相对值与磷效率相对值之间存在显著正相关。从而说明在磷胁迫下,根尖酸性磷酸酶活性在低磷与高磷状态下的比值越高,其磷效率的增长程度越大,耐低磷性越强。

## 2.4 不同磷处理下的供试品种的磷效率相对值的比较

根据表 4 有关数据,统计整理出 2Um(低磷)处理下的磷效率比 1000Um(高磷)处理下的相对值、0Um(无磷)处理下的磷效率比 1000Um(高磷)处理下的相对值、0Um(无磷)处理下的磷效率比 2Um(低磷)处理下的相对值,在 23 个不同的大豆供试品种间进行比较分析,见图 1。

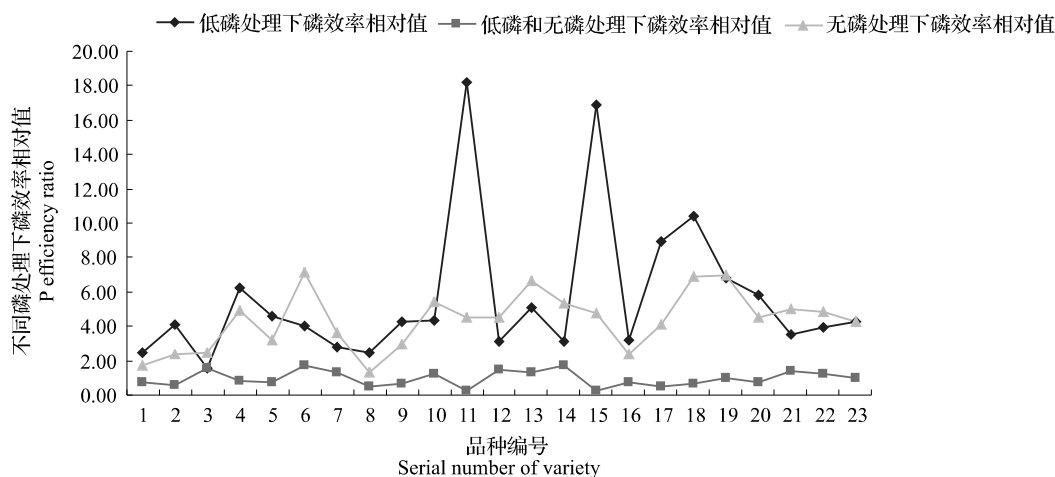


图 1 不同磷处理下 23 个供试品种的磷效率相对值比较

Fig. 1 Comparison of relative values of P efficiencies in 23 soybean cultivars under different levels of P treatment

1: bn102 2: 德豆 99-16 3: 邯 6197 4: 冀 09B3 5: 冀豆 18 6: 冀黄 13 7: 蒙 9793-1 8: 牛毛黄 9: 齐交 03-9, 10: 石 76368, 11: 石 H570, 12: 石豆 3 号, 13: 石品 735, 14: 五星 2 号, 15: 五星 3 号, 16: 徐豆 10 号, 17: 郑 92116, 18: 中黄 35, 19: 中品 03-6025 20: 中作 056011 21: 中作 5045 22: 中作 J5032 23: 中作 J5044

由图 1 分析可知,经低磷处理后,磷效率相对值较高的为石 H570、五星 3 号、中黄 35、郑 92116;经无磷处理后,磷效率相对值较高的为冀黄 13、中品 03-6025、中黄 35、石品 735;其中中黄 35 均达到较高的磷效率相对值,表明该品种在磷降低或缺失的情况下,通过植物体自身调控,增强内部磷的活化机制,促进磷的高效利用,弱化品种敏感性,提高其耐低磷的特性。经低磷和无磷处理下磷效率相对值变化不明显,说明不同品种在低磷和无磷处理下对内部磷的活化利用程度基本一致,磷效率变化不大,在分析耐低磷表现时可忽略此项指标。

根据以上分析比较可推断,中黄 35、中品 03-6025、石品 735 等磷效率升高较快,可属于耐低磷

品种。

## 3 讨论

分别在 1000Um、2Um、0Um 磷处理下,对 23 个大豆供试品种叶片和根尖的酸性磷酸酶(APA)活性、根冠比、磷效率、叶片或根尖的酸性磷酸酶(APA)活性的相对值以及相应的磷效率相对值进行方差分析和相关性检验。

不同处理水平下,不同大豆品种的叶片或根尖酸性磷酸酶(APA)活性、根冠比、磷效率、叶片或根尖的酸性磷酸酶(APA)活性相对值及其相应的磷效率相对值均差异极显著( $P < P_{0.01}$ )。

低磷处理下,叶片和根尖的酸性磷酸酶活性间

存在显著相关性,无磷处理下其酸性磷酸酶活性间存在极显著相关性,高磷处理下其酸性磷酸酶活性间相关性不显著。证明在低磷或无磷处理下,叶片和根尖的酸性磷酸酶(APA)活性存在一定规律,即活性变化表现同步性。但进一步比较分析后,发现在高磷和无磷处理下,叶片或根尖酸性磷酸酶活性与磷效率相关性不显著;低磷处理下,叶片酸性磷酸酶活性与磷效率相关性不显著,根尖酸性磷酸酶活性与磷效率存在显著的正相关。说明根尖的酸性磷酸酶活性,可作为筛选磷高效品种的参考指标。

不同大豆品种,在高磷、低磷、无磷处理下根冠比之间相互比较,其相关性均不显著;在高磷、低磷、无磷处理下,不同大豆品种根冠比与相应磷效率之间,均无显著相关性。因此根冠比不能作为衡量磷效率高低的生理生化指标。

在高磷和低磷处理后,不同品种的叶片酸性磷酸酶活性相对值与磷效率相对值之间无显著相关性;不同品种的根尖酸性磷酸酶活性相对值与磷效率相对值之间存在显著正相关;在低磷和无磷处理以及高磷和无磷处理后,不同品种的叶片或根尖酸性磷酸酶活性相对值与磷效率相对值之间无显著相关性,由此显示在磷胁迫下,根尖酸性磷酸酶活性在低磷与高磷状态下的比值越高,其磷效率的比值越大,耐低磷性越强。根尖的酸性磷酸酶活性相对值可作为耐低磷敏感程度的重要依据。

#### 参考文献

- [1] 黄宇,张海伟,徐芳森.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
- [2] Song J Y, Shawn M K. Induction of maize acid phosphatase activities under phosphorus starvation [J]. Plant Soil 2001, 237: 109-115
- [3] 魏志强,史衍玺,孔凡美.缺磷胁迫对花生磷酸酶活性的影响[J].中国油料作物学报,2002,24(3):44-46
- [4] 郭程瑾,李宾兴,周彦珍,等.不同磷效率小麦品种的磷吸收特性[J].植物遗传资源学报,2006,7(1):49-53,58
- [5] 孙海国,张福锁.缺磷条件下的小麦根系酸性磷酸酶活性研究[J].应用生态学报,2002,13(3):379-381
- [6] 周建朝,韩晓日,奚红光.磷营养水平对不同基因型甜菜根磷酸酶活性的效应[J].植物营养与肥料学报,2006,12(2):233-239
- [7] Helal H M. Varietal difference in root phosphatase activity as related to the utilization of organic phosphorus [M]//BASSAM N. Genetic aspects of plant mineral nutrition. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1990
- [8] 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):123-127
- [9] McLachlan K D. Acid phosphatase activity of intact root and phosphorus nutrition in plants. 2 Variations among wheat roots [J]. Aust J Agric Res, 1980, 31(3): 441-448
- [10] Yan X L, Liao H, Trull M C, et al. Induction of a major leaf acid phosphatase does not confer adaptation to low phosphorus availability in common bean [J]. Plant Physiol 2001, 125: 1901-1911
- [11] McLachlan K D, Elliott D E, Marco D G D, et al. Leaf acid phosphatase isozymes in the diagnosis of phosphorus status in field-grown wheat [J]. Aust J Agric Res, 1987, 38(1): 1-13
- [12] Jungk A, Barber S A. Plant age and the phosphorus uptake characteristics of trimmed and untrimmed corn root systems [J]. Plant Soil, 1975, 42: 227-239
- [13] 赵世杰,刘华山,董新纯,等.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业出版社,1998:69-71
- [14] 马立森,侯淑贞,阚天君.冬小麦鲁麦95多抗型新种质选育及利用[J].作物品种资源,1998(3):18-19
- [15] 刘爱峰,程敦公,李豪圣,等.高产小麦品种济麦22配粉效应及馒头制作品质研究[J].中国农学通报,2010,19:52-57
- [16] 陆懋曾.山东小麦遗传改良[M].北京:中国农业出版社,2007:8-13
- [17] 李永康,于振文,梁晓芳,等.山东省强筋小麦种植区划研究[J].山东农业科学,2001(5):3-9
- [18] 王述民,李立会,黎裕,等.中国粮食和农业植物遗传资源状况报告(II)[J].植物遗传资源学报,2011,12(2):167-177
- [19] 楚秀生,李根英,隋新霞,等.山东小麦种质资源研究回顾与展望[J].植物遗传资源学报,2001,2(4):59-63
- [20] 管延安,李玉莲,王锡波,等.不同地区小麦品种高分子量谷蛋白亚基组成分析[J].山东农业科学,2005,2:12-15
- [21] 李根英,夏先春,何中虎,等.山东小麦籽粒硬度演变规律研究[J].作物学报,2007,33(8):1372-1374

(上接第520页)