

杨国玲, 邓璐璐, 陈康, 等. 低磷条件下接种丛枝菌根真菌对大豆生长和磷吸收的影响 [J]. 华南农业大学学报, 2021, 42(4): 42-50.
 YANG Guoling, DENG Lulu, CHEN Kang, et al. Effects of inoculating arbuscular mycorrhizal fungi on growth and phosphorus uptake of soybean under low phosphorus conditions[J]. Journal of South China Agricultural University, 2021, 42(4): 42-50.

低磷条件下接种丛枝菌根真菌对大豆生长和磷吸收的影响

杨国玲[†], 邓璐璐[†], 陈 康, 王幼娟, 王秀荣

(华南农业大学 根系生物学研究中心/亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】阐明不同磷 (P) 高效基因型大豆在不同生育期对接种丛枝菌根真菌的反应及其与 P 效率的关系, 为接种丛枝菌根真菌提高作物 P 效率的研究提供理论依据。【方法】以 3 个基因型大豆 ‘威廉姆斯 82’ ‘粤春 04-5’ 和 ‘巴西 10 号’ 为试验材料, 设置接种和不接种丛枝菌根真菌 2 个处理, 在开花期和结荚期采样, 分析接种丛枝菌根真菌对大豆植株干质量、菌根侵染率、P 营养状况、根系性状以及菌根诱导的 P 转运蛋白基因表达的影响。【结果】不同基因型大豆在不同生育期对接种丛枝菌根真菌的菌根反应存在显著差异。与不接菌相比, 接菌在开花期显著提高了 3 个菌根诱导表达的 P 转运蛋白基因 *GmPT8*、*GmPT9* 和 *GmPT10* 在 3 个基因型大豆根系中的表达, 从而显著提高了 3 个基因型大豆根部的 P 浓度; 接菌在结荚期显著提高了 3 个基因型大豆的根部干质量, 以及 ‘巴西 10 号’ 的地上部干质量、P 浓度和总 P 吸收量; 此外, 在开花期, 不接菌的 ‘威廉姆斯 82’ 和 ‘粤春 04-5’ 的地上部干质量、总 P 吸收量、总根长和根表面积均显著高于 ‘巴西 10 号’, 而接菌的 ‘巴西 10 号’ 的菌根生长反应和菌根 P 反应显著高于 ‘威廉姆斯 82’ 和 ‘粤春 04-5’。【结论】‘威廉姆斯 82’ 和 ‘粤春 04-5’ 具有更高的 P 效率, 而 ‘巴西 10 号’ 具有更高的菌根依赖性; 大豆生育期的延长有利于菌根植物吸收的 P 转化为生物量, 促进大豆与菌根真菌的有益共生。

关键词: 低磷; 丛枝菌根真菌; 菌根反应; 大豆; 生育期; P 转运蛋白基因; 磷效率

中图分类号: S565.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2021)04-0042-09

Effects of inoculating arbuscular mycorrhizal fungi on growth and phosphorus uptake of soybean under low phosphorus conditions

YANG Guoling[†], DENG Lulu[†], CHEN Kang, WANG Youjuan, WANG Xiurong

(Root Biology Center, South China Agricultural University/State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-bioresources, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 【Objective】To illuminate the response of different P-efficient soybean genotypes to arbuscular mycorrhizal fungi inoculation at different growth stages and the relationship with P efficiency, and provide a theoretical basis for research of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation improving crop P efficiency.

收稿日期: 2020-10-24 网络首发时间: 2021-06-04 10:13:25

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20210603.0839.004.html>

作者简介: 杨国玲 (1995—), 女, 硕士研究生, E-mail: 1277621818@qq.com; 邓璐璐 (1995—), 女, 硕士研究生, E-mail: 328171322@qq.com; [†]表示同等贡献; 通信作者: 王秀荣 (1971—), 女, 研究员, 博士, E-mail: xrwang@scau.edu.cn

基金项目: 广东省重点领域研发计划 (2018B020205003)

【Method】The experiments were conducted using three soybean genotypes of ‘Weilianmusi 82’ ‘Yuechun 04-5’ and ‘Baxi 10’ under mycorrhizal and non-mycorrhizal inoculation treatments at flowering and podding stages. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on soybean plant dry weight, arbuscular mycorrhizal colonization rate, P nutrition status, root traits, and expression of arbuscular mycorrhizal inducible phosphate transporter genes were analyzed. 【Result】The mycorrhizal responses of different soybean genotypes to arbuscular mycorrhizal fungi inoculation were significantly different at different growth stages. Compared with non-mycorrhizal inoculation treatment, the inoculation treatment significantly improved the expression levels of three arbuscular mycorrhizal inducible P transporter genes of *GmPT8*, *GmPT9* and *GmPT10* in the roots of three soybean genotypes at flowering stage, which resulted in the significant increase of P concentrations in roots of these three soybean genotypes, and the inoculation treatment significantly improved the root dry weight of these three soybean genotypes, as well as shoot dry weight, P concentration and total P uptake amount of ‘Baxi 10’ at podding stage. At flowering stage, non-mycorrhizal ‘Weilianmusi 82’ and ‘Yuechun 04-5’ plants had significantly higher shoot dry weight, total P uptake, total root length and root surface area than ‘Baxi 10’, while mycorrhizal growth response and mycorrhizal P response of arbuscular mycorrhizal fungi inoculated ‘Baxi 10’ were significantly higher than those of ‘Weilianmusi 82’ and ‘Yuechun 04-5’. 【Conclusion】‘Weilianmusi 82’ and ‘Yuechun 04-5’ have higher P efficiency, while ‘Baxi 10’ has higher mycorrhizal dependence. The prolonged growth period from flowering stage to podding stage promotes the transformation of acquired P by mycorrhizal plants into biomass, which further stimulates the beneficial symbiosis between soybean and arbuscular mycorrhizal fungi.

Key words: low phosphorus; arbuscular mycorrhizal fungi; mycorrhizal response; soybean; growth stage; phosphate transporter gene; phosphorus efficiency

丛枝菌根真菌 (Arbuscular mycorrhizal fungi) 是一类重要的内生菌根真菌, 能与 80% 以上的陆生植物形成共生关系, 帮助宿主植物从土壤中获取矿物质营养, 特别是磷 (P)^[1-3]。在丛枝菌根真菌与植物共生过程中, 孢子萌发并在宿主植物根周围形成根外菌丝, 从而扩大植物对养分的吸收范围, 根外菌丝进一步侵染, 进入植物根中形成根内菌丝、泡囊和丛枝等侵染结构^[4]。菌根植物有 2 条 P 吸收途径: 直接吸收和菌根吸收^[5]。在直接吸收途径中, 植物通过根表皮的 P 转运蛋白从根际吸收 P^[6-7]; 而菌根吸收途径中, 位于丛枝预共生膜上的菌根诱导的 P 转运蛋白帮助植物将根外菌丝从外界吸收的 P 转运给植物^[8]。研究发现, 在许多作物中, 菌根吸收途径比直接吸收途径发挥更重要的作用, 菌根吸收途径吸收的 P 占植物总 P 吸收量的 70%~100%^[9-12]。

菌根生长反应 (Mycorrhizal growth response) 和菌根 P 反应 (Mycorrhizal phosphorus response) 是衡量一个共生系统中菌根对植物生长和 P 吸收贡献的重要指标^[13]。菌根生长反应和菌根 P 反应在不同的植物种类, 甚至同一植物的不同品种之间都存在较大差异^[14]。前期研究发现,

P 高效的大麦和小麦品种接种丛枝菌根真菌后菌根 P 反应降低, 表现出低菌根依赖性^[15-16]。辣椒不同基因型间菌根依赖性差异较大, 对 8 个不同基因型的辣椒进行丛枝菌根真菌接种后发现, 5 个品种对丛枝菌根真菌的接种表现为正的菌根生长反应, 3 个品种表现为负的菌根生长反应^[17]。并且, 菌根生长反应和菌根 P 反应也与植物的生育时期有密切关系, 有些植物种类或品种接种 4~6 周即表现出正的菌根生长反应或菌根 P 反应, 而有些植物种类或品种接种丛枝菌根真菌后需要更长的时间才能促进生长和 P 吸收^[15, 18-20]。

在大豆中, P 高效大豆品种的菌根生长反应或菌根 P 反应显著低于 P 低效大豆品种^[21-22]。但目前对于不同的 P 高效大豆品种以及大豆基因组测序品种 ‘威廉姆斯 82’ 对接种丛枝菌根真菌的生长响应还少有研究。本研究在低 P 条件下, 以 3 个 P 高效大豆为试验材料, 设置接种和不接种丛枝菌根真菌 2 个处理, 分别在大豆的开花期和结荚期采样, 探究接种丛枝菌根真菌对不同基因型大豆在不同生育时期生长、P 吸收、菌根诱导的 P 转运蛋白基因表达的影响, 及其与 P 效率的关系, 以期对接种

从枝菌根真菌提高作物 P 效率的研究提供理论依据, 指导微生物菌肥在农业生产中的合理应用。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试植物材料为 3 种基因型大豆: ‘威廉姆斯 82’ ‘粤春 04-5’ 和 ‘巴西 10 号’。从枝菌根真菌菌种为根内球囊霉属 *Rhizophagus* 的根内球囊霉 *R. irregularis*。盆栽试验所用的石英砂属于商业购买, 分为粗砂、中砂和细砂。营养液为改良版 1/2 Hoagland 低 P 营养液, 营养液含有以下营养元素: 50 μmol/L KH₂PO₄、250 μmol/L K₂SO₄、80 μmol/L Fe-EDTA (Na)、4.50 μmol/L MnCl₂·4H₂O、0.30 μmol/L ZnSO₄·7H₂O、0.16 μmol/L CuSO₄·5H₂O、0.16 μmol/L (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O、20 μmol/L H₃BO₃、1 000 μmol/L MgSO₄·7H₂O, 营养液 pH 为 5.8~6.0。

1.2 试验方法

试验包括不同采样时间、不同接菌处理以及不同大豆基因型 3 个因素。其中, 采样时间包括植物开花期 (播种后 40 d) 和结荚期 (播种后 75 d); 接菌处理包括接菌和不接菌; 大豆基因型有 ‘威廉姆斯 82’ ‘粤春 04-5’ 和 ‘巴西 10 号’ 3 种。试验共 12 个处理, 每个处理设 4 次重复。石英砂按粗砂、中砂、细砂的质量比为 1:2:1 均匀混合, 经过 2 次 121 ℃ 灭菌 40 min 处理, 每次间隔 24 h, 灭菌后的石英砂装入 2 kg 花盆中备用。

大豆种子使用氯气熏蒸灭菌法灭菌 3 h。每盆播种 3 颗, 待种子出苗 1 周后保留长势均匀的 1 株作为试验材料。在播种的时候接种孢子, 接菌处理每盆接种约 2 000 个孢子, 不接菌处理不接种孢子。试验期间, 每周浇 1 次 200 mL 低 P(50 μmol/L KH₂PO₄) 的 1/2 Hoagland 营养液, 其余时间视干湿情况浇 100~200 mL 二级水保持石英砂湿润。

1.3 收获与分析测定

大豆植株分别在开花期和结荚期收获。根系清洗干净后, 首先称取一定质量的根系样品用于基因表达分析, 然后称取剩余根系质量, 利用根系扫描仪 (Epson1460XL, 日本) 进行扫描, 再通过根系分析软件 WinRHIZO(Regent Instruments Inc., 加拿大) 分析根系性状, 包括总根长、根表面积和根系体积^[15, 19]。

扫描之后, 将根剪成 1 cm 根段混匀, 随机取一部分根样, 加入 100 g/L 氢氧化钾溶液, 在室温下放置 1 周左右, 待根系透明后, 用 5%(φ) 醋酸墨水染

色液进行染色, 采取网格交叉划线法, 通过显微镜观察并记录根系的菌根侵染率。

地上部和根部样品于烘箱 105 ℃ 条件下杀青 30 min, 75 ℃ 条件下烘干至恒质量后称质量。使用磨样机将样品磨碎, P 含量采用干灰化-钼锑抗比色法^[23]测定, 使用酶标仪 (Thermo Fisher, 美国) 于 700 nm 波长处测定光密度, 根据测定的标准曲线计算 P 浓度, 最终计算 P 含量。

1.4 RNA 提取与基因表达的定量分析

使用 Trizol 法提取根部 RNA, 将 RNA 样品反转录后的 cDNA 样品稀释 20 倍作为实时荧光定量 PCR 的反应模板, 使用实时荧光定量 PCR 仪 (Applied Biosystems7500, 美国) 对菌根诱导表达的 P 转运蛋白基因 *GmPT8*、*GmPT9* 和 *GmPT10* 进行基因表达的定量分析, 引物见参考文献 [21, 24], 以大豆看家基因 *EFL-α*(NCBI 编号: X56856) 为参照基因^[20, 25], 采用 2^{-ΔΔCT} 方法对表达数据进行归一化^[25]。

1.5 菌根反应的计算公式

菌根侵染率=侵染的根段在纵横 2 个方向的总交叉点数/根段的总交叉点数×100%^[26]。

菌根生长反应和菌根 P 反应分别根据下面公式^[27]计算:

菌根生长反应=(菌根植物干质量-非菌根植物干质量)/非菌根植物干质量×100%;

菌根 P 反应=(菌根植物 P 含量-非菌根植物 P 含量)/非菌根植物 P 含量×100%。

1.6 数据处理

试验数据均采用 Microsoft Excel 2016 (Microsoft Company, 美国) 软件进行平均值和标准误计算; 采用 SPSS Statistics 23(SPSS Institute, 美国) 统计分析软件进行双因素和三因素方差分析, 多重比较采用 Duncan’s 法进行。

2 结果与分析

2.1 接种丛枝菌根真菌对不同基因型大豆在不同生育期的地上部、根部干质量的影响

由方差分析结果 (表 1) 可知, 不同生育期极显著影响大豆地上部和根部干质量 ($P<0.001$); 不同接菌处理极显著影响根部干质量 ($P<0.001$); 地上部和根部干质量存在极显著基因型差异 ($P<0.001$); 不同生育期和不同接菌处理以及不同生育期和基因型之间对地上部干质量和根部干质量存在显著交互作用 ($P<0.05$ 、 $P<0.01$)。如表 2 所示, 从不同接菌处理来看, 在开花期时, 3 个基因型大豆在不同接菌处理间的地上部和根部干质量均无显著差异; 在结荚

表 1 不同生育期、接菌处理和基因型对大豆生理和分子指标影响的三因素方差分析

Table 1 Three-way ANOVA of the effects of different growth stages, inoculation treatments and genotypes on physiological and molecular indicators of soybean

指标 Indicator	F ¹⁾						
	S	I	G	S×I	S×G	I×G	S×I×G
地上部干质量 Shoot dry weight	538.68***	1.24	14.91***	5.10*	3.53*	0.12	0.64
根部干质量 Root dry weight	239.65***	34.72***	12.19***	10.91**	8.81**	0.47	0.95
地上部P浓度 Shoot P concentration	43.56***	10.56**	3.30*	0.04	0.38	0.30	0.21
根部P浓度 Root P concentration	0.24	15.56***	2.57	9.78	0.43	0.38	0.67
总P吸收量 Total P uptake amount	70.84***	25.10***	3.36*	2.74	4.31*	2.31	0.32
总根长 Total root length	219.27***	7.17*	11.40***	2.59	2.92	0.33	2.65
根表面积 Root surface area	118.70***	11.40**	0.45	1.35	11.55***	0.34	1.23
根系体积 Root volume	52.18***	11.38**	2.82	0.48	26.59***	0.45	0.57
GmPT8表达量 Expression of GmPT8	0.49	36.72***	2.67	1.12	0.02	1.08	0.10
GmPT9表达量 Expression of GmPT9	0.24	36.88***	0.22	1.79	0.91	0.65	0.06
GmPT10表达量 Expression of GmPT10	0.17	4.82*	0.64	1.66	0.27	1.35	1.35

1) S: 生育期, I: 接菌处理, G: 基因型, ×: 不同因素之间的交互作用; “*” : $P<0.05$, “**” : $P<0.01$, “***” : $P<0.001$

1) S: Stage, I: Inoculation, G: Genotype, ×: Interactions between different factors; “*” : $P<0.05$, “**” : $P<0.01$, “***” : $P<0.001$

表 2 接菌处理对不同基因型大豆在不同生育期的地上部和根部干质量的影响¹⁾

Table 2 Effects of inoculation treatments on plant shoot and root dry weight of different soybean genotypes at different growth stages

m/g

植株部位 Plant part	生育期 Growth stage	不接菌 No inoculation			接菌 Inoculation		
		威廉姆斯82	粤春04-5	巴西10号	威廉姆斯82	粤春04-5	巴西10号
		Weilianmusi 82	Yuechun 04-5	Baxi 10	Weilianmusi 82	Yuechun 04-5	Baxi 10
地上部 Shoot	I	1.87±0.19a	1.85±0.21a	1.20±0.06b	1.63±0.13ab	1.65±0.15ab	1.38±0.07b
	II	3.53±0.03ab	3.22±0.01bc	2.96±0.19c	3.87±0.13a	3.23±0.05bc	3.37±0.11b
根部 Root	I	0.71±0.08a	0.60±0.04ab	0.47±0.03b	0.72±0.08a	0.75±0.60a	0.59±0.05ab
	II	1.18±0.06b	0.88±0.06c	1.00±0.07bc	1.52±0.09a	1.13±0.02b	1.39±0.04a

1) I : 开花期, II : 结荚期; 同行数据后不同小写字母表示相同生育期不同基因型大豆在不同接菌处理间差异显著($P<0.05$, Duncan's法)

1) I : Flowering stage, II : Podding stage; Different lowercase letters in the same line indicate significant differences between different inoculation treatments and among different soybean genotypes ($P<0.05$, Duncan's test)

期时, 与不接菌处理相比, 接菌处理的‘巴西10号’地上部干质量显著增加了14.1%, 3个基因型大豆根部干质量分别显著增加28.6%、27.8%和38.7%。从不同基因型来看, 随着处理时间的延长, 无论是否接菌, 3个基因型大豆的地上部和根部干质量都呈现增加的趋势。在结荚期时, 在不接菌条件下, ‘威廉姆斯82’的地上部干质量显著高于‘巴西10号’, 根部干质量显著高于‘粤春04-5’; 而在接菌条件下, ‘威廉姆斯82’的地上部干质量显著高于‘巴西10号’和‘粤春04-5’, 而根部干质量显著高于‘粤春04-5’。

2.2 接种丛枝菌根真菌对不同基因型大豆在不同生育期的P营养状况的影响

由方差分析结果(表1)可知, 不同生育期极显著影响地上部P浓度和总P吸收量($P<0.001$); 接菌处理对地上部P浓度、根部P浓度和总P吸收量有显著影响($P<0.01$ 、 $P<0.001$ 和 $P<0.001$); 地上部P浓度和总P吸收量存在显著基因型差异($P<0.05$)。

如表3所示, 从不同接菌处理来看, 在开花期时, 与不接菌处理相比, 接菌显著提高‘威廉姆斯82’‘粤春04-5’和‘巴西10号’3个基因型大豆的根部P浓度, 分别提高了64.3%、80.4%和

表 3 接菌处理对不同基因型大豆在不同生育期的 P 营养状况的影响¹⁾

Table 3 Effects of inoculation on P nutrition status of different soybean genotypes at different growth stages

指标 Index	生育期 Growth stage	不接菌 No inoculation			接菌 Inoculation		
		威廉姆斯82	粤春04-5	巴西10号	威廉姆斯82	粤春04-5	巴西10号
		Weilianmusi 82	Yuechun 04-5	Baxi 10	Weilianmusi 82	Yuechun 04-5	Baxi 10
地上部P质量分数/(mg·g ⁻¹)	I	0.63±0.09a	0.70±0.08a	0.53±0.01a	0.73±0.09a	0.75±0.05a	0.68±0.03a
Shoot P concentration	II	0.44±0.03bc	0.45±0.03bc	0.39±0.00c	0.52±0.02ab	0.54±0.02a	0.49±0.02ab
根部P质量分数/(mg·g ⁻¹)	I	0.59±0.05b	0.56±0.06b	0.65±0.04b	0.97±0.05a	1.01±0.14a	1.08±0.13a
Root P concentration	II	0.83±0.11a	0.71±0.05a	0.83±0.10a	0.78±0.08a	0.71±0.12a	1.16±0.31a
总P吸收量/mg	I	1.62±0.34a	1.64±0.26a	0.93±0.03b	1.88±0.22a	1.94±0.10a	1.57±0.18a
Total P uptake amount	II	2.53±0.12bc	2.09±0.16c	2.00±0.22c	3.20±0.11ab	2.55±0.05bc	3.26±0.36a

1) I : 开花期, II : 结荚期; 同行数据后不同小写字母表示相同生育期不同基因型大豆在不同接菌处理间差异显著($P<0.05$, Duncan's法)

1) I : Flowering stage, II : Podding stage; Different lowercase letters in the same line indicate significant differences between different inoculation treatments and among different soybean genotypes ($P<0.05$, Duncan's test)

65.6%; 接菌后‘巴西 10 号’的总 P 吸收量显著增加了 68.8%。在结荚期时, 与不接菌处理相比, ‘粤春 04-5’和‘巴西 10 号’的地上部 P 浓度分别显著增加了 19.7% 和 25.1%; 3 个基因型大豆的总 P 吸收量也都有增加的趋势, ‘巴西 10 号’显著增加了 63.5%。从不同基因型来看, 开花期时, 在不接菌条件下, ‘威廉姆斯 82’和‘粤春 04-5’的总 P 吸收量显著高于‘巴西 10 号’; 结荚期时, 在接菌条件下, ‘巴西 10 号’的总 P 吸收量显著高于‘粤春 04-5’。

2.3 接种丛枝菌根真菌对不同基因型大豆在不同生育期的根系性状的影响

由方差分析结果(表 1)可知, 不同生育期极显著影响大豆总根长、根表面积和根系体积 ($P<$

0.001); 接菌处理显著影响总根长 ($P<0.05$)、根表面积和根系体积 ($P<0.01$); 总根长存在极显著基因型差异 ($P<0.001$)。

如表 4 所示, 从不同接菌处理来看, 在开花期时, 3 个基因型大豆的根系性状在不同接菌处理间无显著差异; 而在结荚期时, 与不接菌处理相比, ‘威廉姆斯 82’的总根长显著增长了 22.1%。从不同基因型来看, 开花期时, 在不接菌的条件下, ‘威廉姆斯 82’和‘粤春 04-5’的总根长和根表面积显著高于‘巴西 10 号’; 在接菌条件下, ‘粤春 04-5’的总根长、根表面积和根系体积均显著高于‘巴西 10 号’。而结荚期时, 在不接菌的条件下, ‘巴西 10 号’的根系体积显著高于‘威廉姆斯 82’和‘粤春 04-5’; 在接菌条件下, ‘巴西

表 4 接菌处理对不同基因型大豆在不同生育期的根系性状的影响¹⁾

Table 4 Effects of inoculation on root characteristics of different soybean genotypes at different growth stages

指标 Index	生育期 Growth stage	不接菌 No inoculation			接菌 Inoculation		
		威廉姆斯82	粤春04-5	巴西10号	威廉姆斯82	粤春04-5	巴西10号
		Weilianmusi 82	Yuechun 04-5	Baxi 10	Weilianmusi 82	Yuechun 04-5	Baxi 10
总根长/m	I	2.84±0.02ab	2.74±0.19ab	2.11±0.09c	2.58±0.21abc	3.10±0.19a	2.45±0.15bc
Total root length	II	4.70±0.24b	4.63±0.34b	3.82±0.23b	5.74±0.36a	4.72±0.49b	4.47±0.12b
根表面积/dm ²	I	4.38±0.35ab	4.46±0.39ab	3.27±0.14c	4.30±0.59ab	5.08±0.19a	4.12±0.45bc
Root surface area	II	6.42±0.45bc	5.79±0.43c	6.86±0.43abc	7.90±0.68ab	6.85±0.66bc	8.26±0.21a
根系体积/cm ³	I	5.44±0.87abc	5.86±0.61ab	3.49±0.46c	5.73±0.67ab	7.40±0.65a	4.90±0.75bc
Root volume	II	6.98±0.63cd	5.91±0.83d	9.81±0.72b	8.68±0.97bc	6.80±0.62cd	12.15±0.41a

1) I : 开花期, II : 结荚期; 同行数据后不同小写字母表示相同生育期不同基因型大豆在不同接菌处理间差异显著($P<0.05$, Duncan's法)

1) I : Flowering stage, II : Podding stage; Different lowercase letters in the same line indicate significant differences between different inoculation treatments and among different soybean genotypes ($P<0.05$, Duncan's test)

10 号’ 的根表面积显著高于 ‘粤春 04-5’, 而 ‘威廉姆斯 82’ 的总根长显著高于 ‘粤春 04-5’ 和 ‘巴西 10 号’。

2.4 接种丛枝菌根真菌对不同基因型大豆在不同生育期的 P 转运基因表达的影响

由方差分析结果 (表 1) 可知, 接菌处理显著影响 *GmPT8*、*GmPT9* 和 *GmPT10* 的表达 ($P<0.001$ 、 $P<0.001$ 和 $P<0.05$)。由表 5 可知, 从不同接菌处理来看, 在开花期时, 与不接菌处理相比, 接菌后显著提高了 3 个基因型大豆根系中 *GmPT8*、*GmPT9*

和 *GmPT10* 的表达; 在结荚期时, 与不接菌处理相比, ‘粤春 04-5’ 根系 *GmPT8* 和 *GmPT9* 的表达量分别提高了 6.7 和 19.0 倍, ‘巴西 10 号’ 根系的 *GmPT10* 表达量提高了 52.9 倍。从不同基因型来看, 在不接菌条件下, 在开花期时, ‘威廉姆斯 82’ 和 ‘粤春 04-5’ 根系 *GmPT8* 的表达量显著高于 ‘巴西 10 号’; 而在接菌条件下, 无论在哪个生育期, 3 个 P 转运蛋白基因的表达在 3 个基因型大豆间都无显著差异。

表 5 接菌处理对不同基因型大豆在不同生育期的根系菌根诱导 P 转运蛋白基因表达的影响¹⁾

Table 5 Effects of inoculation on the expression of arbuscular mycorrhizal-inducible P transporter genes in roots of different soybean genotypes at different growth stages

基因 Gene	生育期 Growth stage	不接菌 No inoculation			接菌 Inoculation		
		威廉姆斯82	粤春04-5	巴西10号	威廉姆斯82	粤春04-5	巴西10号
		Weilianmusi 82	Yuechun 04-5	Baxi 10	Weilianmusi 82	Yuechun 04-5	Baxi 10
<i>GmPT8</i>	I	1.07±0.17b	1.07±0.17b	0.27±0.07c	8.52±2.10a	10.02±2.19a	5.46±2.50a
	II	2.37±1.73bc	1.08±0.13bc	0.31±0.10c	6.38±1.46ab	8.27±4.23b	3.97±0.87abc
<i>GmPT9</i>	I	2.33±1.41b	2.58±0.26b	2.49±1.17b	1 149.44±278.42a	1 896.10±588.61a	1 617.45±630.78a
	II	475.87±471.67ab	64.82±38.09b	2.17±0.71b	1 265.27±160.46a	1 296.43±647.04a	955.27±235.69ab
<i>GmPT10</i>	I	10.42±10.42b	2.40±0.98b	2.75±0.66b	68.20±19.46a	384.27±154.98a	261.38±193.35a
	II	141.34±128.79ab	208.36±203.52ab	5.69±3.46b	117.56±24.20a	112.45±103.24ab	306.82±175.38a

1) I : 开花期, II : 结荚期; 同行数据后不同小写字母表示相同生育期不同基因型大豆在不同接菌处理间差异显著($P<0.05$, Duncan’s法)
1) I : Flowering stage, II : Podding stage; Different lowercase letters in the same line indicate significant differences between different inoculation treatments and among different soybean genotypes ($P<0.05$, Duncan’s test)

2.5 接种丛枝菌根真菌对不同基因型大豆在不同生育期的菌根侵染率和菌根反应的影响

由方差分析结果 (表 6) 可知, 不同生育期显著影响菌根侵染率 ($P<0.01$) 和菌根生长反应 ($P<0.05$); 菌根生长反应和菌根 P 反应存在显著的基因型差异 ($P<0.05$ 、 $P<0.01$)。从不同生育期来看, ‘粤春 04-5’ 和 ‘巴西 10 号’ 结荚期的菌根侵染率显著高于开花期的; 从不同基因型来看, 在开花期和结

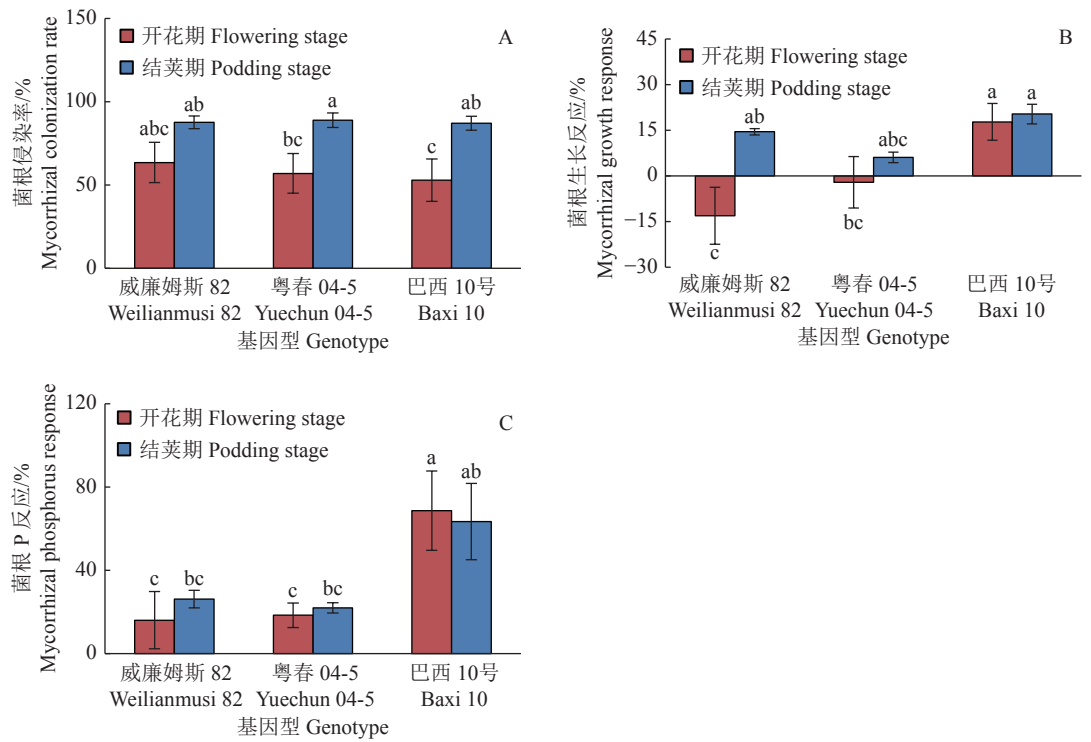
荚期, 3 个基因型大豆间的菌根侵染率均无显著差异 (图 1A)。3 个基因型大豆在结荚期时均表现出正的菌根生长反应, 且与开花期相比, ‘威廉姆斯 82’ 结荚期的菌根生长反应显著增加 (图 1B)。在开花期, ‘巴西 10 号’ 的菌根生长反应和菌根 P 反应显著高于 ‘威廉姆斯 82’ 和 ‘粤春 04-5’; 而在结荚期, 3 个基因型的菌根生长反应和菌根 P 反应无显著差异 (图 1B、1C)。

表 6 生育期和基因型对大豆菌根生长指标影响的双因素方差分析

Table 6 Two-way ANOVA of the effects of growth stages and genotypes on soybean mycorrhizal growth indicators

指标 Index	$F^{1)}$		
	生育期	基因型	生育期×基因型
	Growth stage	Genotype	Growth stage × genotype
菌根侵染率 Mycorrhizal colonization rate	14.93**	0.18	0.16
菌根生长反应 Mycorrhizal growth response	5.86*	5.66*	1.84
菌根P反应 Mycorrhizal phosphorus response	0.07	8.05**	0.18

1) “*” : $P<0.05$, “**” : $P<0.01$



各小图柱子下方不同小写字母表示不同基因型大豆在不同生育期间差异显著 ($P<0.05$, Duncan's 法)
Different lowercase letters on the columns in each figure indicate significant differences among different soybean genotypes at different growth stages ($P<0.05$, Duncan's method)

图 1 接种丛枝菌根真菌时不同基因型大豆在不同生育期的菌根侵染率、菌根生长反应和菌根 P 反应

Fig. 1 Mycorrhizal colonization rate, mycorrhizal growth response and mycorrhizal phosphorus response of different soybean genotypes at different growth stages while inoculating arbuscular mycorrhizal fungi

3 讨论与结论

丛枝菌根真菌能够帮助植物吸收生长发育所需的 P，促进植物生长^[4, 21]。本研究发现，接种丛枝菌根真菌后，在开花期，不同基因型大豆的干质量与不接菌处理无显著差异，但‘巴西 10 号’的总 P 吸收量提高了 68.8%，这与前期研究结果^[22]一致；在结荚期，‘巴西 10 号’的地上部干质量以及 3 个基因型大豆的根部干质量均比不接菌处理显著提高，但只有‘巴西 10 号’的总 P 吸收量显著增加。结果说明，接种丛枝菌根真菌能够促进大豆的生长和 P 吸收，但不同基因型对接种丛枝菌根真菌的反应不同；不同基因型大豆菌根生长反应和菌根 P 反应的差异验证了该结论。

在低 P 水平下，菌根反应用于表示植物接种丛枝菌根真菌后生物量和 P 吸收量的变化，反映植物对菌根的依赖性^[28]。‘威廉姆斯 82’和‘粤春 04-5’的菌根生长反应在开花期为负值，而菌根 P 反应为正值，说明接种丛枝菌根真菌虽然可以帮助‘威廉姆斯 82’和‘粤春 04-5’吸收 P，但并未对其生长产生促进作用；而在结荚期时，3 种基因型大豆的菌根生长反应和 P 反应都为正值，说明接种时

间的延长有利于菌根植物吸收的 P 转化为生物量，更好地促进大豆与菌根真菌的有益共生；此外‘巴西 10 号’的菌根生长反应和 P 反应在不同生育期均为正值，且在开花期显著高于‘威廉姆斯 82’和‘粤春 04-5’，表明不同基因型大豆的菌根反应有所不同，‘巴西 10 号’的反应更加敏感。有研究认为，菌根生长反应出现负值是由于共生系统中丛枝菌根真菌碳 (C) 消耗较高，而提供给宿主植物的 P 较少，二者不平衡所致^[29-30]，丛枝菌根真菌需要依靠宿主植物提供 C 源完成其生活史，而不同基因型大豆在低 P 条件下的净光合速率有所不同，植株体内的 C 分配也存在差异^[31]；因此，丛枝菌根真菌从不同基因型大豆植株中获取 C 的多少及时间早晚不同都可能造成菌根生长反应和菌根 P 反应的差异^[14]。

‘威廉姆斯 82’是用于大豆基因组测序的品种，‘粤春 04-5’和‘巴西 10 号’为 P 高效大豆品种^[32-33]。本研究发现，不接菌条件下，‘威廉姆斯 82’和‘粤春 04-5’开花期的地上部干质量、总 P 吸收量、总根长和根表面积均显著高于‘巴西 10 号’，说明‘威廉姆斯 82’和‘粤春 04-5’比‘巴西 10 号’具有更高的 P 效率；但接菌后‘威

廉姆斯 82’ 的根系性状与 ‘巴西 10 号’ 相比无明显差异, 表明接菌促进了 ‘巴西 10 号’ 的根系生长, 有利于 ‘巴西 10 号’ 通过根系和菌根 2 条途径吸收土壤中的 P。有研究表明, P 低效品种比 P 高效品种具有更高的菌根依赖性^[22, 34], ‘巴西 10 号’ 在 2 个生育期的接菌条件下都有较高的总 P 吸收量, 表明 ‘巴西 10 号’ 比 ‘威廉姆斯 82’ 和 ‘粤春 04-5’ 具有更高的菌根依赖性。

在菌根吸收途径中, 由菌根诱导表达的 P 转运蛋白将从枝菌根真菌从土壤中吸收的 P 转运到植物体内, 目前已鉴定到的菌根诱导表达的 P 转运蛋白基因包括水稻 *Oryza sativa* 的 *OsPT11*^[35]、苜蓿 *Medicago truncatula* 的 *MtPT4*^[36] 以及大豆 *Glycine max* L. 的 *GmPT8*、*GmPT9* 和 *GmPT10*^[21, 37]。在开花期, *GmPT8*、*GmPT9* 和 *GmPT10* 在根部的表达受接菌诱导显著上调, 且菌根侵染率达到 50% 以上, 这与不同基因型大豆根部 P 浓度显著增加的结果一致, 表明 *GmPT8*、*GmPT9* 和 *GmPT10* 在大豆从菌根界面摄取 P 中起重要作用, 这也部分解释了尽管 ‘威廉姆斯 82’ 和 ‘粤春 04-5’ 的菌根生长反应为负值, 但接菌后根部 P 浓度仍然显著增加的原因; 而在结荚期, 接菌显著诱导 *GmPT8* 和 *GmPT9* 在 ‘粤春 04-5’ 根系中的表达、*GmPT10* 在 ‘巴西 10 号’ 根系中的表达。结果说明 3 个菌根诱导的 P 转运蛋白在菌根界面的 P 运输中可能起不同的作用^[21]。

相比于 ‘威廉姆斯 82’ 和 ‘粤春 04-5’, ‘巴西 10 号’ 对菌根的依赖性更强, 接菌对 ‘巴西 10 号’ 的生长促进作用更加明显; 随着接种时间的延长, 菌根对大豆生长的促进作用更加明显。研究结果将为提高作物 P 效率提供理论依据, 并指导微生物菌肥在农业生产中的合理应用。

参考文献:

[1] SMITH S E, SMITH F A. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: New paradigms from cellular to ecosystem scales[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2011, 62(1): 227-250.

[2] 张淑彬, 王幼珊, 殷晓芳, 等. 不同施 P 水平下 AM 真菌发育及其对玉米氮 P 吸收的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23(3): 649-657.

[3] 冯艳梅, 冯固, 王敬国, 等. 植物 P 营养状况对丛枝菌根真菌生长及代谢活性的调控[J]. *菌物系统*, 2003, 22(4): 589-598.

[4] PARNISKE M. Arbuscular mycorrhiza: The mother of plant root endosymbioses[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6(10): 763-775.

[5] CHIU C H, PASZKOWSKI U. Mechanisms and impact of symbiotic phosphate acquisition[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2019, 11(6): a034603.

[6] MISSION J, THIBAUD M C, BECHTOLD N, et al. Transcriptional regulation and functional properties of *Arabidopsis* Pht1; 4, a high affinity transporter contributing greatly to phosphate uptake in phosphate deprived plants[J]. *Plant Molecular Biology*, 2004, 55(5): 727-741.

[7] SHIN H, SHIN H S, DEWBRE G R, et al. Phosphate transport in *Arabidopsis*: Pht1; 1 and Pht1; 4 play a major role in phosphate acquisition from both low- and high-phosphate environments[J]. *Plant Journal*, 2004, 39(4): 629-642.

[8] SMITH S E, READ D J. Mycorrhizal symbiosis[J]. *Quarterly Review of Biology*, 2008, 3(3): 273-281.

[9] SMITH S E, SMITH F A, JAKOBSEN I. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses[J]. *Plant Physiology*, 2003, 133(1): 16-20.

[10] SMITH S E, SMITH F A, JAKOBSEN I. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: The contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake[J]. *New Phytologist*, 2004, 162(2): 511-524.

[11] LI H Y, SMITH S E, HOLLOWAY R E, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi contribute to phosphorus uptake by wheat grown in a phosphorus-fixing soil even in the absence of positive growth responses[J]. *New Phytologist*, 2006, 172(3): 536-543.

[12] YANG S Y, GRONLUND M, JAKOBSEN I, et al. Nonredundant regulation of rice arbuscular mycorrhizal symbiosis by two members of the *PHOSPHATE TRANSPORTER1* gene family[J]. *Plant Cell*, 2012, 24(10): 4236-4251.

[13] MAHERALI H. Is there an association between root architecture and mycorrhizal growth response?[J]. *New Phytologist*, 2014, 204(1): 192-200.

[14] SMITH F A, GRACE E J, SMITH S E. More than a carbon economy: Nutrient trade and ecological sustainability in facultative arbuscular mycorrhizal symbioses[J]. *New Phytologist*, 2009, 182(2): 347-358.

[15] ZHU Y G, SMITH S E, BARRITT A R, et al. Phosphorus (P) efficiencies and mycorrhizal responsiveness of old and modern wheat cultivars[J]. *Plant and Soil*, 2001, 237(2): 249-255.

[16] ZHU Y G, SMITH F A, SMITH S E. Phosphorus efficiencies and responses of barley (*Hordeum vulgare* L.) to arbuscular mycorrhizal fungi grown in highly calcareous soil[J]. *Mycorrhiza*, 2003, 13(2): 93-100.

[17] SENSOY S, DEMIR S, TURKMEN O, et al. Responses of some different pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes to inoculation with two different arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Scientia Horticulturae*, 2007, 113(1): 92-95.

[18] WRIGHT D P, READ D J, SCHOLLES J D. Mycorrhizal sink strength influences whole plant carbon balance of *Trifolium repens* L[J]. *Plant Cell and Environment*, 1998, 21(9): 881-891.

[19] ZHU Y G, SMITH S E. Seed phosphorus (P) content affects growth, and P uptake of wheat plants and their asso-

- ciation with arbuscular mycorrhizal (AM) fungi[J]. *Plant and Soil*, 2001, 231(1): 105-112.
- [20] QIN J, WANG H, CAO H, et al. Combined effects of phosphorus and magnesium on mycorrhizal symbiosis through altering metabolism and transport of photosynthates in soybean[J]. *Mycorrhiza*, 2020, 30(2/3): 285-298.
- [21] WANG X, ZHAO S, BÜCKING H. Arbuscular mycorrhizal growth responses are fungal specific but do not differ between soybean genotypes with different phosphate efficiency[J]. *Annals of Botany*, 2016, 118(1): 11-21.
- [22] 辜晓婷, 覃金转, 王秀荣. 接种菌根真菌对不同 P 效率基因型大豆生长和 P 吸收的影响[J]. *中国生态农业学报(中英文)*, 2020, 28(3): 357-364.
- [23] 崔广娟, 曹华元, 陈康, 等. 镉胁迫对 4 种基因型大豆生长和体内元素分布的影响[J]. *华南农业大学学报*, 2020, 41(5): 49-57.
- [24] CUI G, AI S, CHEN K, et al. Arbuscular mycorrhiza augments cadmium tolerance in soybean by altering accumulation and partitioning of nutrient elements, and related gene expression[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 171: 231-239.
- [25] ZHAO S P, CHEN A, CHEN C, et al. Transcriptomic analysis reveals the possible roles of sugar metabolism and export for positive mycorrhizal growth responses in soybean[J]. *Physiologia Plantarum*, 2019, 166(3): 712-728.
- [26] 刘润进, 陈应龙. 菌根学[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [27] TAWARAYA K. Arbuscular mycorrhizal dependency of different plant species and cultivars[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2003, 49(5): 655-668.
- [28] JANOS D P. Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas[J]. *Mycorrhiza*, 2007, 17(2): 75-91.
- [29] PENG S, EISSENSTAT D M, GRAHAM J H, et al. Growth depression in mycorrhizal citrus at high-phosphorus supply[J]. *Plant Physiology*, 1993, 101(3): 1063-1071.
- [30] KAHILUOTO H, KETOJA E, VESTBERG M. Plant-available P supply is not the main factor determining the benefit from arbuscular mycorrhiza to crop P nutrition and growth in contrasting cropping systems[J]. *Plant and Soil*, 2012, 350: 85-98.
- [31] 赵静, 刘嘉儿, 严小龙, 等. P 有效性对大豆碳代谢的生理调控及基因型差异[J]. *华南农业大学学报*, 2010, 31(3): 1-4.
- [32] ZHAO J, FU J B, LIAO H, et al. Characterization of root architecture in an applied core collection for phosphorus efficiency of soybean germplasm[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2004, 49(15): 1611-1620.
- [33] 程凤娟, 涂攀峰, 严小龙, 等. 酸性红壤中 P 高效大豆新种质的 P 营养特性[J]. *植物营养与肥料学报*, 2009, 16(1): 71-81.
- [34] YAO Q, LI X L, CHRISTIE P. Factors affecting arbuscular mycorrhizal dependency of wheat genotypes with different phosphorus efficiencies[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2001, 24(9): 1409-1419.
- [35] PASZKOWSKI U, KROKEN S, ROUX C, et al. Rice phosphate transporters include an evolutionarily divergent gene specifically activated in arbuscular mycorrhizal symbiosis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(20): 13324-13329.
- [36] JAVOT H, PENMETSA R V, TERZAGHI N, et al. A *Medicago truncatula* phosphate transporter indispensable for the arbuscular mycorrhizal symbiosis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(5): 1720-1725.
- [37] ZHANG S, ZHOU J, WANG G H, et al. The role of mycorrhizal symbiosis in aluminum and phosphorus interactions in relation to aluminum tolerance in soybean[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(23): 10225-10235.

【责任编辑 李庆玲】