

EVALUATION OF SOYBEAN ROOT SYSTEM – INFLUENCE OF DIFFERENT SEED PROVENANCE*

L. Bláha¹, S. Kálalová¹, T. Šimon¹, A. Bouniols², M. Mondies², G. Piva²

¹Research Institute for Plant Production, Prague-Ruzyně, Czech Republic

²Institut National de la Recherche Agronomique, Research Center of Toulouse, France

The irrigation during vegetation period shows a positive influence on the seed weight and in next generation on the root development, volume of roots, dry matter of roots, dry matter of shoots and roots and root/shoot ratio. Inoculation by *Bradyrhizobium japonicum* positively affected the growth and especially root traits in both cultivars.

soybean; cultivar differences; seed provenance; root system; root/shoot ratio; nitrogenase activity; nodule number

INTRODUCTION

The soybean is grown for the oil of seed and for the high protein content of the meal. The soybean (*Glycine max.* /L./ Merrill) is one of most adaptable crops. The importance of individual traits of seeds and especially of roots for plant production is based on genotype and at the same time the level of manifestation in this group of characters is highly dependent on environmental conditions.

The basic aim of presented work is an analysis of behavior of plants providing from seeds harvested on dry crop or watered crop, i.e. analysis of relation among seed provenance and number of nodules, TNA (total nitrogenase activity) with root morphology. For this purposes two cultivars Imari and X3 were used in our experiments.

MATERIAL AND METHODS

The two cultivars of soybean Imari and *line* X3 were evaluated in pot experiments (volume of pots: 15 l, mixture of clay loam soil with 30% of sand. Surface of the soil in the pots was covered by 3 cm of sand). The same seed stock has been used throughout the all experiments. Plants have been cultivated in the greenhouse, 5 plants per pot, 10 repetitions of every cultivar and variant. The seeds of both cultivars were from plants harvested on semiarid and on watered conditions. In our experiments the following basic variants were analysed:

Seeds were sterilized with ethanol and inoculated by *Bradyrhizobium japonicum* (strain D577, Rhizobia collection RICP Prague) as 10^6 cells per seed at sowing. The chosen genotypes had different pedigree in order to avoid the common parents influence. Environmental conditions – greenhouse with climatic control were maintained as follows: 25 °C – day, 17 °C – night, 18 hours period of light, light intensity $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, clay loam soil with sand. At R1 total nitrogenase activity (TNA) was measured using C_2H_2 reduction technique (method *in vivo*, Hardy et al., 1973) and the total number of nodules per plant and dry matter of shoot (g/plant) was measured. The kinetics of nodulation was not determined.

At the beginning of R1 and R3 plants were harvested. Plants were washed. Root system was analysed. The following basic traits of plants by standard methods (Bláha, 1990) were analysed:

- 1) Weight of 1 seed-dry matter (drying room, 72 h, 45 °C).
- 2) Dry matter of roots (g/plant) (drying room, 0.5 h with 105 °C and after this time 36 h, 75 °C).
- 3) Volume of roots (cm^3 /plant), root volume after washing and drying of root surface were measured in glass calibrated cylinder with water.
- 4) Nodule number – No/plant (at present calculation by system of image analysis is also under preparation).
- 5) Depth of penetration of main root (longest root in cm).

Seed provenance: (first generation) → Pot greenhouse experiment: (filial generation)

Irrigation	→	Imari inoculation
Without irrigation-standard conditions	→	Imari inoculation
Irrigation	→	Imari without inoculation
Without irrigation-standard conditions	→	Imari without inoculation
Irrigation	→	X3 inoculated
Without irrigation-standard conditions	→	X3 inoculated
Irrigation	→	X3 without inoculation
Without irrigation-standard conditions	→	X3 without inoculation

* This research was supported by the project QD 1352 of the Czech Ministry of Agriculture and by international project COST 828.

6) Dry matter of shoot – g/plant (drying room, 0.5 h with 105 °C and after this time 36 h, 75 °C).

7) Root/shoot ratio (dry matter).

Number of nodules, volume of roots and weight of root system were analysed at the degree of plant development R1, other parameters at R3.

RESULTS

The substantial effect of seed provenance, inoculation and the cultivar (genotype) on the root development exists.

It was concluded (Table 1) that irrigation during vegetation period has positive influence on the seed weight and in the following generation positive influence on the root development, volume of roots, dry matter of roots, dry matter of shoots and roots, root/shoot ratio. Positive effects of inoculation by *Bradyrhizobium japonicum* on the traits of roots was also obtained. No nodules were formed on noninoculated soybean plants at the beginning of flowering due to the absence of native *Bradyrhizobia* in soil used for experiments (Table 3). Plants lacking the symbiotic apparatus have uptaken nitrogen from the soil

Table 1. Average value of measured traits

Cultivar	Seed provenance	Weight of 1 seed (g/seed)	Dry matter of roots (g/plant)	Volume of roots (cm ³)	Nodule number (No/plant)	Depth of penetration of main root (cm)	Dry matter of shoot (g/plant)	Root/shoot ratio (g/plant)
Imari (inoculum)	irrigation	0.265	1.43	6.2	49	38	4.82	0.29
Imari (inoculum)	without irrigation	0.250	0.57	4.5	48	37	2.75	0.20
Imari (control)	irrigation	0.265	0.58	4.3	0	41	2.00	0.29
Imari (control)	without irrigation	0.250	0.50	4.3	0	43	1.76	0.28
X3 (inoculum)	irrigation	0.235	1.22	5.9	60	39	4.60	0.26
X3 (inoculum)	without irrigation	0.174	0.96	5.1	57	41	3.93	0.24
X3 (control)	irrigation	0.235	0.54	4.7	0	42	2.16	0.25
X3 (control)	without irrigation	0.174	0.46	4.0	0	37	2.08	0.22
LSD 0.05		x	0.08	0.6	x	x	0.12	x

LSD – least significant difference

Table 2. Correlation coefficients

Relationship	Correlation coefficient
Weight of one seed x dry matter of roots	Imari: 0.90** X3 0.83*
Weight of one seed x dry matter of shoots	Imari: 0.84* X3 0.85*
Weight of one seed x volume of roots	Imari: 0.85* X3 0.84*
Weight of one seed x deep of penetration of main root	Imari: 0.15 X3 0.50
Weight of one seed x root /shoot ratio	Imari: 0.99** X3 0.90**
Weight of one seed x nodule number	Imari: 1.00** X3 1.00**
Depth of penetration of main root x nodule number	Imari: -1.00** X3 -1.00**

Statistical significance: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Table 3. Nitrogenase activity

Cultivar	Seed provenance	Nodule number No/plant (beginning of flowering)	TNA (μmol/plant/h)	Dry matter of shoot (g/plant)
Imari (inoculum)	irrigation	25	0.066	2.035
Imari (inoculum)	without irrigation	22	0.066	1.278
Imari	irrigation	0	0	1.270
Imari	without irrigation	0	0	1.160
X3 (inoculum)	irrigation	36	0.468	2.246
X3 (inoculum)	without irrigation	33	0.122	1.408
X3	irrigation	0	0	1.960
X3	without irrigation	0	0	1.300
LSD 0.05		7.2	0.35	0.520

LSD – least significant difference

and were limited in the growth of roots and shoots because the soil nitrogen was consumed and no N_2 fixation existed (Table 1). Inoculation positively affected the growth of root system and development of shoot characteristics in both cultivars. Inoculation + irrigation increased the nodule number per plant by 5–10% compared to nonirrigated treatments. Simultaneously, TNA substantially increased in X3, and dry matter of shoots increased more than 50% in both cultivars (Table 3). Comparing the treatments – inoculation without irrigation versus irrigation without inoculation, the better results (dry matter of roots, volume of roots, nodule number, dry matter of shoot) were obtained in growth of shoots in plants inoculated but nonirrigated (Table 1).

As follows from the morphology of the root system irrigation during production of seeds, i.e. in the previous generation and the inoculation of seeds in the following generation, has positive effect on the majority of measured traits of root system, especially on the diameter of main roots and number of branches (Figs 1, 2, 3, 4 upper parts of root system, phase of development R6). The pre-

sented results confirmed importance of seed traits and root traits in plant production.

On the basis of correlation analysis (Pearson coefficient, Table 2), there is a possibility to conclude, that the influence of irrigation has from agronomical point of view a positive, important influence on the development of plants in next generation by the seed quality.

DISCUSSION

Cultivars with a complex resistance to the abiotic stress factors – i.e. cultivars with higher root development have larger probability of ecological stability. Analysis of seed traits and root traits is in research work still neglected, but seed provenance has positive effect on the morphology of root system, plant development and yield (Bláha et al., 1993). In case of the presented results (soybean), there is also a possibility to claim, that in wheat at the root morphology very similar results were obtained.

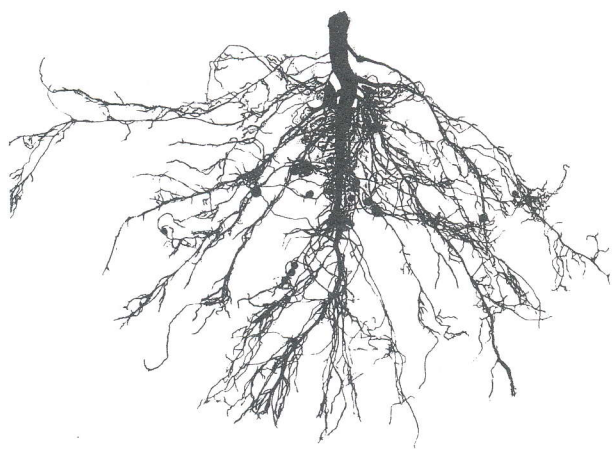


Fig. 1. Cv. Imari, with irrigation and inoculation

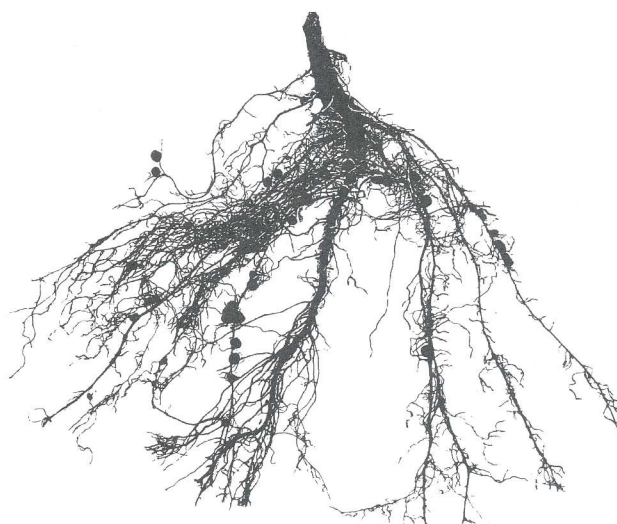


Fig. 3. Cv. X3, with irrigation and inoculation

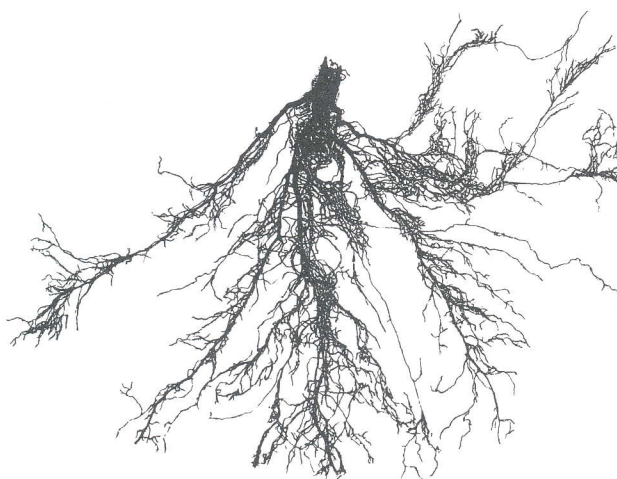


Fig. 2. Cv. Imari, without irrigation and inoculation

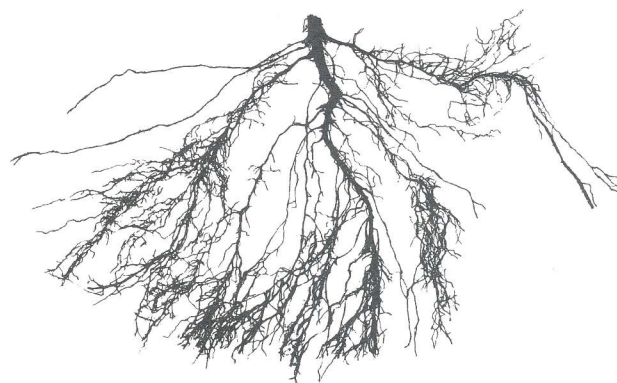


Fig. 4. Cv. X3, without irrigation and inoculation

The degree of tolerance to the abiotic stress is previously under genetic control (cultivar differences). Stress abiotic factors affect the basic seed traits and traits of sprouting plants – especially basic root traits (volume of the roots, depth of penetration, number of root tips, number of root branches). The chemical composition under stress conditions depends on the genotype. It is known that the grains from stressed plants have at majority significantly lower germination power activity compared to unstressed plants. It is a result of chemical composition of seeds. The vigour of seeds is not only the result of weight and chemical composition of endosperm, but there is also an influence of embryo size and embryo vigour (preliminary results).

The change of root morphology is connected with different level of tolerance to abiotic stresses, change of nutrient uptake, and especially with seed size (G u b e r a c et al., 1998). For each type of stress different type of change of trait exists. The order of importance of individual morphological traits of the roots for plant production depends on genotype and on the environmental conditions (M a e r t e n s , 1986). The presented results confirmed importance of irrigation in production of soybean. Nevertheless, the soybean yield can be increased by 50% using appropriate excellent inoculum (O b a t o n , 1996) and in soils containing poor native rhizobia like the soil of our experiment the inoculation is necessary operation.

In the presented work the morphology of root system was not analysed by image analyser because of very dense network of root system.

The improved response of cultivars (seed traits, seed vigour, growth...) to stress conditions is accessible via plant breeding. Statistically significant effect of seeds vigour on the juvenile plants from different stress conditions on yield exists (T e k r o n y , E g l i , 1991). Seed traits, seed vigour and especially traits of roots of sprouting plants are ones of the key issues for crop production.

CONCLUSION

It is known that drought, high temperature and other abiotic stresses have a large influence on the basic metabolic processes, yielding traits and traits of technological quality. It is possible to conclude, on the basis of the presented work, that “seed provenance“, i.e. in this experiment seeds from irrigation and from semiarid condi-

tions has very important effect on the traits of the root system in the next generation. It is very important because plant root system has a large number of functions in growth and yield formation. The order of importance of changes of individual traits of roots for plant production depends on the cultivar and on the individual conditions.

We can also conclude, that not only seed provenance, but also inoculation of seeds has positive, important influence on the development of root system and on the nitrogen fixation in analysed generation. In measured traits cultivar differences exist. The improved response of cultivars to stress conditions is accessible via plant breeding.

REERENCES

- BLÁHA, L.: Evaluation of varietal differences in the root system of wheat. *Rostl. Výr.*, 36, 1990: 573–579.
- BLÁHA, L. – KUČERA, V. – KOSTKANOVÁ, E. – MALÝ, J.: The effect of provenance on the properties of seed, growth and yield of winter wheat. *Rostl. Výr.*, 39, 1993: 787–700.
- GUBERAC, J. – MARTINCIC, J. – MARIC, S.: Influence of seed size on germinability, germ length, length of rootlet and grain yield in spring oat. *Bodenkultur*, 49, 1998: 13–18.
- HARDY, R. W. F. – BURNS, R. C. – HOLSTEN, R. D.: Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. *Soil Biol. Biochem.*, 5, 1973: 47–81.
- MAERTENS, C.: Soja-systeme racinaire et exploitation du sol. In: *Le Soja: Physiologie de la plante et adaptation aux conditions francaises, Supplément Informations Techniques CETIOM (1er trimestre 1986)*, CETIOM Ed., 1986: 33–37.
- NIEHAUS, K. – BECKER, A.: The role of microbial surface polysaccharides in the *Rhizobium*–Legume interaction. *Subcell. Biochem.*, 29, 1998: 73–116.
- OBATON, M.: Inoculation of soybean in the French conditions. *Eurosoya*, 10, 1996: 34–43.
- TEKRONY, D. M. – EGLI, B. E.: Relationship of seed vigour to crop yield: A review. *Crop Sci.*, 31, 1991: 816–822.

Received for publication on August 5, 2003

Accepted for publication on December 16, 2003

BLÁHA, L. – KÁLALOVÁ, S. – ŠIMON, T. – BOUNIOLS, A. – MONDIES, M. – PIVA, G. (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně, Česká republika; Institut National de la Recherche Agronomique, Toulouse, France):

Hodnocení kořenového systému u sóji – vliv provenience osiva.

Scientia Agric. Bohem., 35, 2004: 21–25.

Optimální vláhové podmínky (zavlažování či dostatečné srážky) během vegetace vykazují pozitivní efekt na celou řadu vlastností semen, zejména na jejich hmotnost, a v následné generaci prostřednictvím jejich vlastností mají vliv na růst kořenů, zejména na jejich objem, hloubku pronikání kořenů, sušinu, sušinu nadzemní biomasy a poměr sušiny

kořenů a nadzemní biomasy. Opačný efekt vyvolává nedostatek srážek – tedy sucho. Inokulace pomocí bakterií *Bradyrhizobium japonicum* pozitivně ovlivňuje nejen tvorbu hlízek na kořenech, ale i jejich růst a růst kořenů.

Sója je pro svůj obsah oleje a pro vysoký obsah proteinů pěstována nejen jako potravina, ale i jako krmná plodina. V České republice se pěstuje na poměrně malých plochách. I když je sója (*Glycine max.* /L./ Merrill) na naše poměry teplomilná plodina, patří mezi nejvíce adaptabilní rostliny k podmínkám vnějšího prostředí.

Cílem výzkumu ve spolupráci s Francií byla analýza vlivu závlahy a semiaridních podmínek na hmotnost semen a vývoj kořenů v následné generaci, včetně tvorby bakteriálních hlízek a aktivity nitrogenázy. Paralelně byl hodnocen vývoj kořenů a nadzemní části rostlin z neinokulovaných a z inokulovaných semen pomocí bakterií *Bradyrhizobium japonicum*.

Význam jednotlivých znaků semen a kořenů pro rostlinnou produkci je dán vždy genotypem a podmínkami vnějšího prostředí. U leguminóz hraje roli navíc další faktor, tj. symbióza s hlízkovými bakteriemi.

Jako pokusný materiál byly v rámci spolupráce s INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) využity dva genotypy – odrůda Imari a novošlechtění X3. Semena byla dodána přímo z Francie. U obou odrůd byla použita semena dvojího původu – ze zavlažovaných (optimální zásobenost půdy vodou) a z nezavlažovaných (semiaridních) podmínek. U těchto pokusných materiálů byly vždy ještě dvě podskupiny, a to s inokulací a bez inokulace pomocí *Bradyrhizobium japonicum*. Celkem tedy bylo v následné generaci pěstováno osm variant. Pokusy probíhaly v nádobách v řízeném prostředí skleníku a klimaboxů.

Jak vyplývá z výsledků (tab. 1, 2 a 3), závlaha má vliv na hmotnost semen a v následné generaci má prostřednictvím vlastností semene vliv i na vývoj kořenů, jejich sušinu, objem kořenů a poměr kořenů a nadzemní biomasy. Pozitivní efekt inokulace pomocí *Bradyrhizobium japonicum* (příprava bakteriální kultury probíhala ve VÚRV Praha-Ruzyně) na vlastnosti kořenů byl evidentní u většiny znaků, ne však u hloubky pronikání kořenů do půdy. Žádné hlízky se nevyvinuly u kořenů bez inokulace díky absenci *Bradyrhizobium japonicum* v prostředí.

Rostliny bez symbiotického aparátu tedy odebíraly dusík pouze z půdy a byly limitovány jak v růstu kořenů, tak i v růstu nadzemní biomasy, protože nebyla přítomna existence fixace N_2 . Inokulace semen + zavlažování rostlin během jejich růstu zvyšovalo počet hlízek na rostlinu o 5–10 % ve srovnání s nezavlažovanou variantou. Současně též TNA (total nitrogenase aktivity) narůstala, a to zejména u novošlechtění X3. Sušina nadzemní části rostla více než o 50 % u obou kultivarů.

Jak vyplývá z morfologie kořenové soustavy, která je zobrazena na čtyřech detailních záběrech kořenového systému – obr. 1 (Imari, závlaha a inokulace), obr. 2 (Imari, bez závlahy a inokulace), obr. 3 (X3, závlaha a inokulace), obr. 4 (X3, bez závlahy a inokulace), závlaha během vývoje semen, tj. v předcházející generaci, a inokulace semen mají pozitivní efekt na většinu měřených vlastností kořenového systému.

Na uvedených příkladech je vidět, kde byla pro kultivaci kořenů použita semena, která vyrostla bez závlahy a nebyla aplikována inokulace, v porovnání s opačným příkladem, tj. kde byla použita semena, která vyrostla v zavlažovaných podmínkách a byla inokulována. Rozdíl je v mohutnosti kořenů a v tvorbě bakteriálních hlízek. Obrázky vzhledem k délce kořenového systému zobrazují jen horní část kořenového systému u bazální uzliny. Získané výsledky potvrzují význam provenience osiva v produkci rostlin.

Z výsledků korelační analýzy vyplývá (tab. 2, Pearsonův korelační koeficient), že vliv dostatečné zásobenosti půdního prostředí má z agronomického hlediska pozitivní a významný vliv (prostřednictvím vlastností semen) na vývoj rostlin i v následující generaci. Z hlediska fyziologického je totiž známo, že sucho a ostatní abiotické stresory mají velký vliv na metabolické procesy, výnosové prvky, většinu vlastností semen a znaky jejich technologické kvality.

Z předložených výsledků studia vlivu provenience semen u sóji vyplývá, že i u tak adaptabilní plodiny, jako je sója, má provenience vliv na hmotnost semen a v následné generaci na vývoj kořenového systému a nadzemních částí rostlin od prvních fází vývoje. Růst rostlin a kořenů je největší v případě původu osiva ze zavlažovaných podmínek a při současné aplikaci očkování *Bradyrhizobium*. (Tento jev se většinou promítá i do konečné fáze pěstování rostlin, tj. do výnosu a do zvýšení jeho stability.)

sója; odrůdové rozdíly; původ osiva; kořenový systém; poměr kořeny/nadzemní část; aktivita nitrogenázy; počet hlízek na kořenech

Contact Address:

Ing. Ladislav Bláha, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel.: +420 2 330 22 448, fax: +420 2 330 22 86, e-mail:blaha@vurv.cz
