

The Analysis of Factors Influencing Legumes-Rhizobium Mutualism Systems

Xiaoxiao Yin

School of Statistics and Mathematics, Yunnan University of Finance and Economics, Kunming Yunnan
Email: yinxiaoxiao2011@163.com

Received: Jul. 26th, 2015; accepted: Aug. 15th, 2015; published: Aug. 18th, 2015

Copyright © 2015 by author and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Symbiotic system composed of legumes and rhizobia is one of the typical symbiosis representatives. Based on existing literature, we analyze and integrate them by Meta-analysis and establish Meta regression models. We select the optimal model according to AICc model selection criterion and analyze the importance of various factors and their interaction based on the result of the weight. The results show that measured effect, fertilization and the interaction between them is the important factor influencing symbiotic cooperative system composed of legumes and rhizobia.

Keywords

Legume, Rhizobium, Symbiotic System, Meta-Analysis, Model Selection

豆科植物 - 根瘤菌互利共生系统影响因素分析

尹潇潇

云南财经大学统计与数学学院, 云南 昆明
Email: yinxiaoxiao2011@163.com

收稿日期: 2015年7月26日; 录用日期: 2015年8月15日; 发布日期: 2015年8月18日

摘要

豆科植物与根瘤菌组成的互利共生系统是典型的共生系统代表之一，本文基于已有的文献资料，通过Meta分析对其加以整合、分析，建立Meta回归模型。根据模型选择AICc准则选出最优模型，基于权重结果分析各因素以及它们的交互效应的重要性。结果表明，控制措施、施肥与否以及它们之间的交互作用是影响豆科植物-根瘤菌互利共生合作系统的重要因素。

关键词

豆科植物，根瘤菌，互利共生系统，Meta分析，模型选择

1. 引言

自然界中，物种间的互利共生关系是一种广泛存在并且十分重要的相互依存关系，长期以来这种合作系统一直是生态学家关注和研究的重要领域。在合作行为中，互利共生系统的很多议题存在争论，如互利共生合作系统的影响因素和维持机制有哪些，不同植物的影响因素是否相同，国内外学者的研究结果是多样的。国外学者如 Kiers E. T., Rousseau R. A., West S. A., *et al.* [1]在“Host sanctions and the legume-rhizobium mutualism” (宿主惩罚措施与豆科植物根瘤菌互利共生)中揭示了宿主对根瘤菌的惩罚未能解决它们内部固氮的问题，一个或多个伙伴选择的惩罚在互惠关系中可能是重要的; West S. A., Kiers E. T., Simms E. L., *et al.* [2]等在惩罚措施与互利共生的稳定性中阐述了根瘤菌固氮与宿主之间的互利共生关系，根瘤菌固氮越多越有利于宿主植物生长，同时也对自己有利，说明惩罚措施是维持互利共生合作系统的重要机制; Denison R. F. [3]探究了豆科植物惩罚措施与根瘤菌互利共生的演变。国内学者陈文新等[4]提出“根瘤菌与豆科植物的共生关系因生态环境的差异而具有种的多样性”的新观念; 孙宝发等[5]研究表明植物果实的脱落机制是维持榕树-榕小蜂互利共生合作系统稳定的关键因素之一，也可能存在其它一些未被发现的机制; 张秋磊[6]研究指出共生固氮最典型的例子是豆科植物与根瘤菌，他们的固氮量相当于生物总固氮量的60%以上，对它们构成的互利合作系统维持机制的研究在农作物的生产上起着很重要的作用。研究豆科植物-根瘤菌的互利共生合作系统，检验各变量的重要性，目前我们并没有整体的最优模型和定量估计各变量的重要性。

豆科植物与根瘤菌组成的互利共生系统是典型的共生系统之一，豆科植物为根瘤菌提供碳水化合物、矿物质、水分等营养以及必要的生存场所，而根瘤菌将大气中的氮转化为固态供给豆科植物促进其生长。学者们对豆科植物-根瘤菌互利共生合作系统的研究有很多，但由于实验环境和条件等因素的不同，通常得到的结论之间也会有所不同，有时甚至相左。本文通过Meta分析对不同学者的研究结果加以整合、分析，建立Meta回归模型，然后进行模型选择得到最优的分析模型，最终得出一个统一的结论。

2. 基本理论介绍

2.1. 互利共生系统

美国微生物学家 L. Margulis [7]在共生演化机制中提到，“大自然的本性是把资源更均匀的分给更多的生物体，它厌恶任何一种生物独占资源，这种垄断是不稳定的，所以几乎所有生物都不能单独的占据大量资源或者空间”。自然界中，形成共生关系的主体所具备的实力通常情况下是有一定差距的，常见的共生关系主要包括寄生、竞争共生和互利共生。管俊明等[8]指出互利共生关系是两类生物或者是很多

类生物长期协同进化的产物。互利共生关系是指形成共生关系的双方以各自利益为前提，相互作用，取得各自的利益而共同发展的关系。一般情况下，动植物间存在一定的互利共生关系，如豆科植物与根瘤菌、榕树与榕小蜂以及丝兰与丝兰蛾，它们之间都存在典型的互利共生关系，由它们组成的互利共生系统是生态系统中最具代表性的三类。而本文我们着重探讨豆科植物-根瘤菌组成的互利共生系统。

2.2. 豆科植物 - 根瘤菌

豆科植物根瘤菌[9]是指与豆科植物共生，形成根瘤并将大气中的气态氮固定转化成铵态氮供给植物营养的一类杆状革兰氏阴性细菌，是宿主植物的根系和土壤密切联系的桥梁，因此根瘤菌同时影响着宿主植物的生长发育和土壤的性质。

豆科植物本身具有固氮作用，因此它不仅可以通过该作用获取大气中的氮，也可以利用自身组织直接吸收肥料或土壤中的无机氮。根瘤菌与豆科植物形成的互利共生系统，在生物固氮中的效率很高。高卫东[10]指出，根瘤菌大约有 100 多种，在实际的农业活动中对其加以利用的却不足 5，因此研究根瘤菌这个领域具有重大的现实意义。

豆科植物与根瘤菌所形成的互利共生关系是：根瘤菌依靠豆科植物根部表层细胞中的碳水化合物、矿物质和水分等繁衍生殖，而根瘤菌固定空气中游离态的氮(固氮)使其转化为化合态，为宿主植物供给营养。它们彼此相互依赖，合作并协同发展。

3. 研究方法

3.1. Meta 分析

Meta 分析(Meta-analysis)又称为“荟萃分析”，是对具备特定条件的、同课题的诸多研究结果进行综合的一类统计方法。针对同一个问题，不同学者的研究结果是多种多样的，有时甚至是相左的，那么通过 Meta 分析可以得到一个相对统一的研究结果。Meta 分析常常被用于医学和生态学领域，本文将将其应用于生物领域。Meta 分析的基本步骤如下：

- 第一，分析所要研究的问题确定要收集的资料类型；
- 第二，根据研究问题的关键字检索、收集所需要的文献，然后整理提取文献资料中的数据结果；
- 第三，计算效应值、进行异质性检验等分析，建立统计模型；
- 第四，得出结论并分析说明。

3.2. 模型选择

模型选择是指根据一定的方法或者准则，从诸多备选模型中选择一个分析效果较优的模型。常用的模型选择方法和准则有：逐步回归、AIC (Akaike information criterion)、BIC、AICc、交叉验证以及 Lasso 等等。本文我们使用 AIC 和 AICc 进行模型选择，1971 年，日本统计学家 TuguAkaike 首次提出 AIC 准则。

假设备选模型集中有 k 个模型，则第 i 个模型的 AIC 准则[11]的定义式为：

$$AIC_i = -2 \log \ell_i + l_i, \quad i = 1, 2, \dots, k \quad (1)$$

其中 ℓ_i 为第 i 个模型的极大似然函数， l_i 为第 i 个模型中未知参数的个数。

当我们进行模型选择时，如果样本量较少，此时我们用 AICc 准则进行模型选择，AICc 准则即为修正后的 AIC 准则，结果较之前更精确。AICc 准则同 AIC 准则一样，要根据所建立的统计模型进行计算。假设备选模型为单变量线性形式而且其残差分布是正态的，此时，AICc 的计算公式如(2)式：

$$\text{AICc}_i = \text{AIC}_i + \frac{2l_i(l_i+1)}{n-l_i-1}, \quad i=1,2,\dots,k \quad (2)$$

其中, n 为样本的容量, l_i 为第 i 个模型中未知参数的个数。实际上, 第 i 个模型的 AICc_i 值即为该模型的 AIC_i 值加上一个常数。

当计算出全部的 AICc_i 值时, 我们如何进行模型选择呢? 我们通过 AICc 差值进行模型选择。根据(1)式和(2)式, 可以得到第 i 个模型的 AICc 差值公式 Δ_i :

$$\Delta_i = \text{AIC}_i - \text{AIC}_{\min}, \quad i=1,2,\dots,k \quad (3)$$

其中 AIC_{\min} 为 k 个模型的 AIC 值中的最小值, 当 AIC_i 值越小越接近最小值 AIC_{\min} 时, Δ_i 也就越小越接近 0, 因此当 $\Delta_i = 0$ 时, 所选的模型即为最优模型。

备选模型集中的各个模型所占的权重, 可以通过以下方法计算:

第 i 个模型所占的权重即 ω_i 为:

$$\omega_i = \frac{\exp\left(-\frac{1}{2}\Delta_i\right)}{\sum_{i=1}^k \exp\left(-\frac{1}{2}\Delta_i\right)}, \quad i=1,2,\dots,k \quad (4)$$

当 Δ_i 越小时, 模型所占的权重越大, 最优模型的 $\Delta_i = 0$, 即 $\exp\left(-\frac{1}{2}\Delta_i\right) = 1$, 所占的权重最大。

4. 豆科植物 - 根瘤菌互利共生系统影响因素分析

4.1. 数据来源及说明

依据所要研究的问题即豆科植物与根瘤菌互利共生系统的影响因素, 其中可量化的指标有样本容量 N 、均值 Y 以及方差 S 三个统计量。我们分别以互利共生(mutualism)、根瘤菌(rhizobium)、惩罚(sanction)以及伙伴选择(partner choice)等的中文和英文为关键词, 关键词之间用“和”连接, 以保证所研究的问题一致或相似, 满足 Meta 分析要求的条件。我们在 ISI Web of Knowledge Web of Science database 和谷歌学术(Google Scholar)上进行文献检索。阅读检索结果中的文献标题以及摘要, 初步判断其是否与已知研究问题有关, 相关的文献选出备用。文献选择标准的依据主要包括选择文章的研究内容一致或相近、数据完整性和可计算性等, 所选文献必须针对同一个主题; 研究具有独立性, 尽可能科学、客观; 所选文献报告的测量指标尽可能一致, 报道数据具有可计算性。经过初步筛选, 我们共得到 132 篇备用英文和中文文献, 所筛选文章并无体裁限制, 这些文献发表时间大都分布在 2000 年至 2012 年。文献筛选流程图如图 1 所示。

接下来精读所选的每篇文章, 重点关注文章研究的主要内容、使用的方法以及出现的数据, 提取收集重要的数据信息, 如文章作者(1st author); 发表年份(Publication year); 宿主类型(Host Classification), 即不同的豆科植物类型, 包括苜蓿(Alfalfa)、黄豆(Soybean)、猪屎豆(Crotalaria)、豌豆(Pea)和豇豆(Cowpea)这五个水平; 合作者类型(Cooperator genus), 有三个水平: 根瘤菌(Rhizobium)、中华根瘤菌(Sinorhizobium)和慢生根瘤菌(Bradyrhizobium); 施肥与否(Fertilization)包括 Yes 和 No 两个水平; 控制措施(Measured effect)具有 Sanction、Partner choice、Size 和 Weight 四个水平; 接种复杂度(Design class)分为单一接种(Single)和混合接种(Mixed)以及实验组和对照组的样本量(N)、均值(X)、方差(S)等数据。最后对已经收集到的数据进行整理归类。收集数据时, 我们要注意: 对于数据完整的可直接从文章中提取, 有的文献的数据报道是以图表或者图形的形式报道的, 需要用专业的图形软件 OriginPro 进行提取, 对于可能用到的而文章

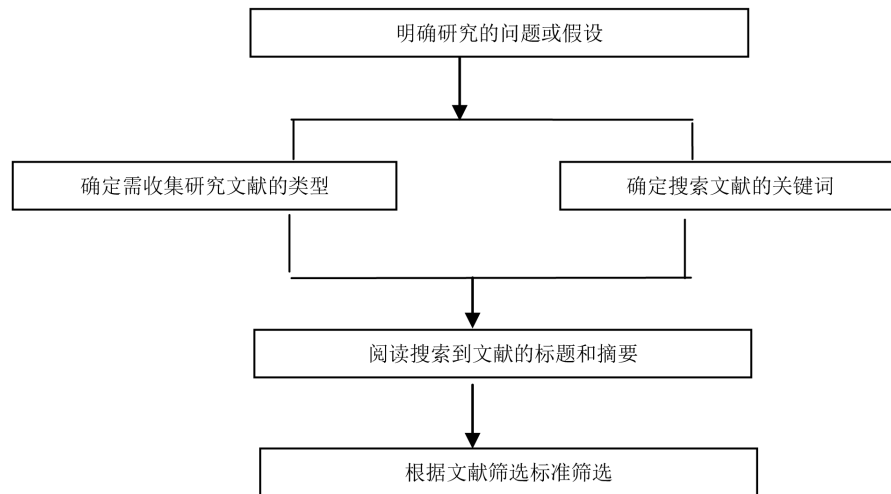


Figure 1. The flowchart of document screening
图 1. 文献筛选流程图

中报告不全面的数据借助邮件向原作者联系以获取需要的信息。对于研究结论不清晰的文献和存在发表偏倚的文献要慎重选择，从相对科学的角度进行取舍。经过上述的数据提取方法，结合要提取数据如宿主类型、合作者类型、施肥与否、控制措施以及接种复杂度，由于每篇文献出现这几个变量个数的不同，因此我们从 132 篇备选文献中最终得到了 157 个数据。

4.2. 建模分析

对收集到的数据，建立 Meta 回归模型，Meta 回归的基本思想是限制性极大似然估计。首先我们建立所有可能的模型，分别计算记录各个模型的 F 统计量、P 值、方差、AIC 以及 AICc；然后根据 A 值对所有模型进行排序，其中 AICc 值最小的模型则为最优模型；最后，基于 AICc 值对各候选模型进行权重分配，选择累计权重达 95% 以上的模型，分析各因素的主要影响程度。

当我们在建立模型时，既要考虑各单因素，又要考虑个单因素之间交互效应(Interaction)的影响。通常，单因素的作用有时可能不太显著，但它们之间的交互效应有可能很显著，原因在于被解释变量的影响因素有很多，我们应该全面的考虑问题，建模要全面。

根据 3.2 中的公式(1)、(2)、(3)和(4)，使用 Matlab (2012a)软件对数据进行分析，分别得到主效应和交互效应所占的权重，结果见表 1 和表 2。

由表 1 可以发现，控制措施(Measured effect)的权重为 0.9509，达到 0.95 以上。通常认为权重大于 0.95 时，因素影响水平相对重要，因此，认为控制措施即豆科植物与根瘤菌之间的合作策略是最重要的。其次，施肥与否所占的比值为 0.904，对豆科植物 - 根瘤菌合作系统的影响仅次于控制措施。而接种复杂度、合作者类型以及宿主类型对其影响较小。

此外，表 1 还说明了控制措施(惩罚措施或伙伴选择)，即豆科植物与根瘤菌之间的合作策略，指宿主植物通过控制提供给寄生者需要的营养从而对其惩罚或是根据自身的利益对寄主进行选择的方式。控制措施是引起实验组和对照组效应值不同的重要因素。惩罚措施的作用过程，如下：豆科植物与根瘤菌合作时，豆科植物供给根瘤菌较少的碳水化合物、矿物质以及水分等，或对寄主生物打击报复，以牺牲自身的利益为代价抑制投机者的大量繁殖，从而使投机根瘤菌的数量减少。通过这种方式，维持了生态系统的稳定性。伙伴选择措施表现在：合作初期，豆科植物通过基因或信号识别选择相对有利的合作者，摒弃投机者，从而维持豆科植物自身的利益。关于惩罚和伙伴选择的存在性在学术界有一些争论，部分

Table 1. Weight of the main effects

表 1. 主效应所占权重

变量(Variable)	权重
控制措施(Measured effect)	0.9509
施肥与否(Fertilization)	0.904
接种复杂度(Design class)	0.3738
合作者类型(Cooperator genus)	0.1029
宿主类型(Host Classification)	0.0053

Table 2. Weight of interaction

表 2. 交互效应所占权重

Variable	w_i
Host Classification*Measured effect	0.9509
Fertilization*Measured effect	0.746
Host Classification*Design class	0.6603
Host Classification*Fertilization	0.061
Fertilization*Design class	0.0572
Measured effect*Design class	0.0465

学者认为两者同时存在，但也有学者认为植物没有识别能力。本文的研究结论表明惩罚或伙伴选择确实存在，而且二者对豆科植物-根瘤菌互利共生系统影响因素的研究非常重要，揭示了豆科植物-根瘤菌内部维持机制的深层次原因。

土壤中本身含有的物质元素是有限的，氮元素是豆科植物生长所必须的，所以施肥与否会使实验和对照组产生明显的区别。豆科植物不仅可以从根瘤菌处获取氮元素，也可以从土壤中直接吸收。在豆科植物与根瘤菌组成的互利共生系统中，当对土壤施肥时，豆科植物所需要的氮元素主要从土壤中吸收供自身生长，同时它在根瘤菌处的需求就较少，因此它给根瘤菌提供的营养就较少，从而抑制其繁殖。所以，施肥与否是影响合作系统维持机制的重要因素。

表 2 表明变量之间的交互作用显著，宿主植物和控制措施的交互效应显著，和单变量控制措施的影响效果一样，所占权重比都是 0.9509。无论是主要效应还是交互效应，都包含控制措施，也就是说豆科植物对根瘤菌的控制措施的影响都是存在的，由此说明控制措施是豆科植物-根瘤菌互利共生系统的重要因素。

还可以发现：不仅控制措施和施肥与否这两个单因素对实验组和对照组的结果影响非常明显，控制措施和施肥与否的交互作用对其影响也是非常大的，二者的交互效应所占比重为 0.746。宿主类型和接种复杂度的交互效应权重为 0.6603，而接种复杂度这个单因素所占比重仅为 0.3738，对实验组和对照组的结果的影响不大。

5. 结论

综上所述，对引起实验组和对照组结果差异的五个因素进行 Meta 回归分析，建立了备选模型集，根据模型选择理论方法，选出权重在 95% 以上的所有模型，最后对各单因素以及它们之间的交互效应的权重进行分析。结果表明：控制措施和施肥与否这两个单因素是实验组和对照组效应值产生差异的重要影

响因素；此外，宿主和控制措施的交互作用会影响效应值。主要结论如下：

1) 控制措施、施肥情况、宿主与控制措施的交互作用、施肥情况与控制措施的共同作用以及宿主与接种复杂度的共同作用是引起实验组和对照组出现区别的重要原因，他们的因素累计权重都超过了 0.5，权重分别为 0.9509、0.9040、0.9509、0.7460、0.6603。由此表明控制措施使影响对照试验不同的根本原因，其维持的不同合作方式导致了不同生态环境和不同合作系统的区别，验证了惩罚措施和伙伴选择这两种方式是维持互利共生合作系统的重要途径。

2) 由于宿主类型、合作者类型以及接种复杂度的累计权重分别为 0.0053、0.1029、0.3738，所占比例非常小，而宿主类型与接种复杂度交互作用时，其累计权重却达到了 0.6603，由此说明不同的宿主、合作者类型和接种的复杂程度这些单因素对实验组和对照组基本上无影响，但它们的交互效应会对实验组和对照组产生一定的影响。有时单因素对系统的稳定性影响很小，但它们的交互作用往往影响力较大。这就说明了生态系统的复杂性，只分析一些单因素并不能完全辨别实验组和对照组的差异，这就需要我们考虑单因素之间的共同作用。

3) 宿主类型与施肥情况的交互作用、施肥情况与接种复杂度交互作用以及控制措施与接种复杂度的交互作用对豆科植物 - 根瘤菌互利共生合作系统的影响较小，它们的累计权重分别为 0.061、0.0572 和 0.0465。由此说明：并不是所有单因素之间的共同作用的影响都是大的。

本文对惩罚机制和伙伴选择这两种控制措施进行了研究，分析了豆科植物 - 根瘤菌互利共生合作系统维持机制的影响因素，得到结论，对互利共生系统维持机制和演化提供了合理解释，对农业种植等方面有一定的参考意义。

参考文献 (References)

- [1] Kiers, E.T., Rousseau, R.A., West, S.A., et al. (2003) Host sanctions and the legume-rhizobium mutualism. *Nature*, **425**, 78-81. <http://dx.doi.org/10.1038/nature01931>
- [2] West, S.A., Kiers, E.T., Simms, E.L., et al. (2002) Sanctions and mutualism stability: Why do rhizobia fix nitrogen? *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **269**, 685-694. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2001.1878>
- [3] Denison, R.F. (2000) Legume sanctions and the evolution of symbiotic cooperation by rhizobia. *The American Naturalist*, **156**, 567-576. <http://dx.doi.org/10.1086/316994>
- [4] 陈文新 (2004) 根瘤菌 - 豆科植物共生多样性与地理环境的关系. *中国农业科学*, **01**, 81-81.
- [5] 孙宝发, 王瑞武, 胡忠, 李耀堂 (2009) 聚果榕两种非传粉小蜂产卵与果实脱落的关系. *生态学报*, **4**, 1770-1776.
- [6] 张秋磊, 林敏, 平淑珍 (2008) 生物固氮及在可持续农业中的应用. *生物技术通报*, **2**, 1-4.
- [7] Margulis, L. (1981) *Symbiosis in cell evolution*. WH Freeman, New York.
- [8] 管俊明, 彭艳琼, 杨大荣 (2007) 榕 - 蜂互惠关系中榕树对未传粉榕小蜂的惩罚效应. *生物多样性*, **6**, 626-632.
- [9] 王金华, 王明月, 张武先, 等 (2014) 石漠化地区 4 株豆科植物根瘤菌与红三叶的共生效应研究. *西部林业科学*, **5**, 53-57.
- [10] 高卫东 (2001) 固氮微生物肥料: 中国种植业大观: 肥料卷. 中国农业科技出版社, 北京.
- [11] 张新雨 (2011) 模型平均方法及其在预测中的应用. *统计研究*, **6**, 97-102.