

不同供磷水平对饭豆体内铁有效性的影响

都韶婷

(浙江工商大学环境科学与工程学院, 浙江杭州 310035)

摘要: 采用溶液培养试验研究了低铁条件下(1 $\mu\text{mol/L}$ FeEDTA)不同供磷水平 P 3、30 和 300 $\mu\text{mol/L}$ 对饭豆叶绿素含量、生物量、铁含量以及质外体铁的影响。结果表明,饭豆叶片叶绿素含量及根系干重均随磷处理浓度的增加而显著降低;低磷处理的植株地上部的铁含量明显高于中磷和高磷处理。随着供磷水平的增加,地上部和根系总铁量的比值呈降低趋势,说明铁由根系向地上部的转运显著减少,从而加剧了植株缺铁症状。进一步分析发现,低磷处理的根系质外体铁含量显著低于中磷和高磷处理。说明在铁吸收过程中,供磷水平增加促使铁在根系质外体空间中的固定,不利于根系中的铁转运至地上部,这可能是磷是对铁产生拮抗作用造成植物铁营养不利的原因之一。

关键词: 铁;磷;根;质外体;叶绿素

中图分类号: S643.9.601

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2010)01-0247-05

Effect of phosphorus supply on iron efficiency in rice bean (*Vigna umbellata*)

DU Shao-ting

(School of Environmental Science and Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China)

Abstract: In low iron condition (1 $\mu\text{mol/L}$ FeEDTA), hydroponic experiments were carried out to study the effects of different phosphorus supply levels: P 3, 30 and 300 $\mu\text{mol/L}$ on iron efficiency in rice bean (*Vigna umbellata*). The results indicate that chlorophyll contents in leaves and dry weights of roots are all significantly decreased along with increase of phosphate supply amounts, and iron content of shoots by the low-P supply is also higher than that of other two treatments. The ratios of shoot total Fe to root total Fe are reduced with the increase of P supply levels, which indicates that the transportation of root Fe to shoot might be blocked, and thereby Fe deficiency is stimulated. Further analysis shows that apoplastic Fe concentration of roots is remarkable lower in the low-P treatment than that of the high P supply levels. These results indicate that the increase of P supply enhances the Fe fixation in the apoplast of root during Fe acquisition, and consequently inhibits Fe transfer from root to shoot. This may be a mechanism that how the P antagonistically acts on Fe, and also a reason why high P supply is disadvantageous to Fe nutrient status of plants grown in low Fe condition.

Key words: iron; phosphorus; root; apoplast; chlorophyll

铁是植物生长发育所必需的营养元素之一。虽然土壤中铁的含量相当高,但在多数情况下,尤其是在通气性良好的碱性土壤中,土壤中铁的生物有效性却非常低^[1]。因此,在农业生产中缺铁对植物生长发育造成的影响可与缺氮和缺磷相并列^[2]。除土壤中铁的生物有效性对植物铁营养存在影响外,植物本身的遗传特征以及农艺耕作措施也是影响植物铁营养状况的重要因素。关于植物铁营养遗传特征的研究较多。1986年 Römheld 和 Marschner^[3]就已经

在总结大量研究工作的基础上,将植物的耐缺铁机理划分为双子叶植物和其他非禾本科植物所共有的机理 I, 以及为禾本科植物特有的机理 II。机理 I 植物的特点为在低铁条件下主要通过分泌质子^[4]、诱导铁还原酶^[5]和亚铁离子高亲和转运体的高表达^[6]来促进铁的吸收;机理 II 植物则主要通过分泌高铁载体和诱导合成高铁载体—铁螯合物的转运体来促进植物的铁吸收^[7-8]。关于农艺耕作措施对植物铁营养的影响有一些报道。如张福锁等^[9]研究玉

收稿日期: 2008-11-26

接受日期: 2009-05-19

基金项目: 国家自然科学基金(30900920, 30900170); 浙江省自然科学基金(Y5090106); 中国博士后科学基金(200902643, 20080440204)资助。

作者简介: 都韶婷(1980—),女,浙江海宁人,博士,主要从事植物营养生理学机理方面的研究。

Tel: 0571-86971147; E-mail: dushaoting@gmail.com

米和花生间作发现,花生的铁营养状况可以得到极大的改善,这可能归功于玉米根系分泌的高铁载体与土壤铁的螯合。相反,不合理的农艺耕作措施反而会会引起植物缺铁,如在低铁环境中,大量施用磷肥容易导致植物缺铁^[10]。众所周知,两种或多种不同的植物营养元素的联合作用,可能会小于它们各自效应之和,即拮抗效应。关于磷与铁之间的拮抗作用,多年来一直倍受关注。然而,迄今为止,在植物体内磷是如何对铁产生拮抗作用仍尚未明确。机理 I 植物从根际环境中吸收铁时,需要利用细胞膜上的铁还原酶,在质外体空间先将 Fe^{3+} 螯合物还原成游离态的 Fe^{2+} 离子,才能被根系细胞膜上的铁转运体吸收利用。此外,部分游离态的 Fe^{2+} 离子也可能在质外体空间再氧化成 Fe^{3+} 离子^[11]。在供磷水平较高的缺铁环境中,磷酸根离子很有可能通过与游离的铁离子结合,在质外体空间发生共沉淀,进而阻碍了铁的吸收利用,最后加剧了植物的缺铁症状。据此,本研究以饭豆(*Vigna umbellata*)为材料,在低铁条件下,研究了外界供磷水平对植物铁营养的影响,并重点研究了供磷水平对根系质外铁再利用的影响,以期进一步揭示磷对植物铁营养状况的影响机制。

1 材料与方 法

1.1 试验设计

溶液培养试验于 2008 年 7 月中旬开始浙江大学农业化学研究所进行。饭豆(*Vigna umbellata*)种子洗净后于 25℃ 浸种一昼夜,在 0.5 mmol/L $CaSO_4$ 溶液中发芽。播种 7 d 后,移苗至 1 L 烧杯,置于网室内自然光照条件下培养,温湿度条件与当地气候条件一致。采用不同磷浓度(以 NaH_2PO_4 形式供应)分别为 P 3、30 和 300 $\mu\text{mol/L}$ 的低铁营养液培养,其余营养配方如下:3 mmol/L $Ca(NO_3)_2$ 、0.5 mmol/L $MgSO_4$ 、0.5 mmol/L K_2SO_4 、3 $\mu\text{mol/L}$ H_3BO_3 、0.4 $\mu\text{mol/L}$ $ZnSO_4$ 、0.2 $\mu\text{mol/L}$ $CuSO_4$ 、0.5 $\mu\text{mol/L}$ $MnCl_2$ 、0.01 $\mu\text{mol/L}$ $(NH_4)_2(MO_7)_{24}$ 和 1 $\mu\text{mol/L}$ $Fe(III)-EDTA$,并用 NaOH 将 pH 调至 6.5。每个磷浓度处理,重复 3 次。不同磷浓度处理 14 d 后,取样测定。

1.2 测定项目与方法

叶绿素和生物量:植物在不同磷浓度处理 14 d 后,用便携式叶绿素仪(SPAD-502,Minolta)测定新叶的叶绿素含量。并收获植物,分成根系和地上部,并在 70℃ 烘箱内烘干称重。

铁含量:将烘干的根系或地上部组织磨成粉末

状,用优级纯浓硝酸在 120℃ 条件下消煮至无氮氧化物释放后,再用 $HNO_3/HClO_4$ 混合酸在 180℃ 条件下消煮至液体澄清透明。消煮液用超纯水稀释,然后用火焰原子吸收分光光度计(Shimadzu AA6800)测定。同时,用铁原子标样做标准曲线,进行铁含量分析。

质外体铁含量:根系质外体铁含量按 Biefait 等^[12]的方法测定。剪下整株植物的根系,将其转入 150 mL 的 0.5 mmol/L $CaSO_4$ 溶液中清洗 15 min 后取出,转入 150 mL 的 1.5 mmol/L 2,2-二联吡啶测定液,并通氮气以排除测定液中的氧气,5 min 后,加入 $Na_2S_2O_4$ 使终浓度为 1.5 mmol/L。继续通氮气反应 5 min 后,用紫外-可见分光光度计在 520 nm 处测定 $Fe(II)-2$ 二联吡啶的浓度,并计算质外体铁含量。

试验数据用 DPS 数据处理软件分析。

2 结果与分析

在低铁条件下,饭豆叶片叶绿素含量随磷处理浓度的增加而显著降低,P 30 和 300 $\mu\text{mol/L}$ 处理叶片的 SPAD 值分别比 P 3 $\mu\text{mol/L}$ 处理降低了 39% 和 69%(图 1)。此外,不同磷供应水平还显著影响了根系的生物量(图 2),并表现出低磷浓度处理下根系生物量最大,中磷浓度处理次之,高磷处理则最低。但磷供应水平的变化对饭豆地上部的生物量并未产生显著影响。铁含量分析表明,低磷处理的根系的铁含量显著低于中磷和高磷处理的根系,但后两者之间的铁含量并没有显著差异。相反,低磷处理的地上部铁含量却显著高于中磷和高磷处理的地上部(图 3),这应是低磷处理下饭豆叶片叶绿素含量高于中磷和高磷处理的主要原因。图 3 还看出,与中磷处理相比,尽管高磷处理的根系和地上部的铁含量之间并不存在统计学上的显著差异,但高磷处理的根系和地上部的铁含量仍分别略高于及略低于中磷处理的根系和地上部。

进一步分析不同供磷水平处理下地上部和根系总铁量的比值,结果表明,随着供磷水平的增加,该比值呈降低趋势。尤其是从低磷至中磷处理,该比值明显降低(图 4)。说明供磷水平增加不利于根系的铁向地上部转运。对根系质外体铁含量分析发现,低磷处理下根系的质外体铁含量显著低于中磷和高磷处理,说明磷营养供应水平能显著影响植物对质外体铁の利用。但是,中磷和高磷处理的质外体铁含量之间并不存在明显的差异(图 5)。

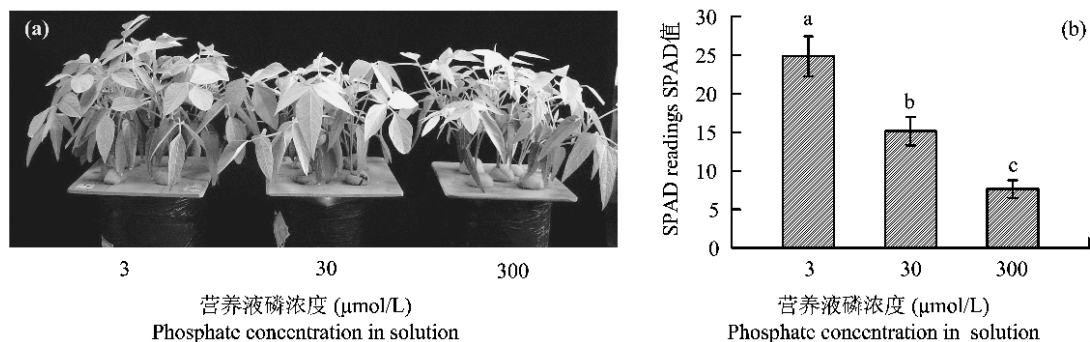


图1 不同供磷水平对低铁培养的饭豆叶片叶绿素含量的影响。

Fig.1 Effects of phosphorus supply levels on chlorophyll contents of rice bean leaves

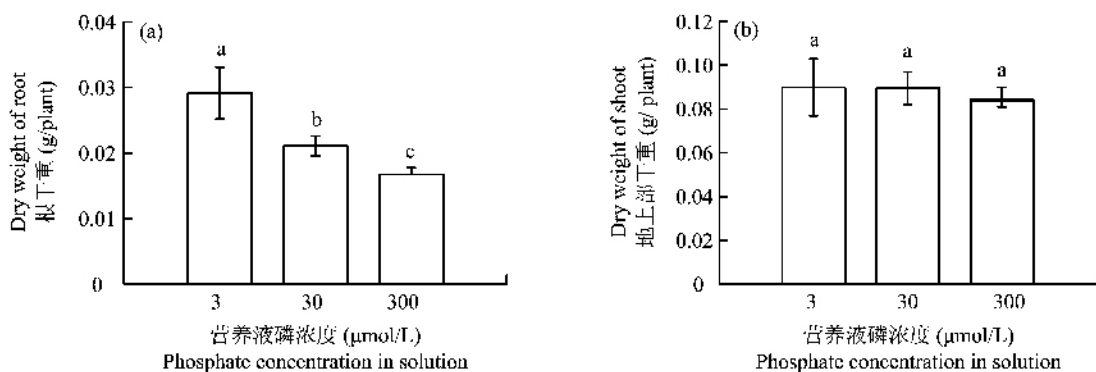


图2 不同供磷水平对低铁培养的饭豆生长的影响。

Fig.2 Effects of phosphorus supply levels on growth of rice bean

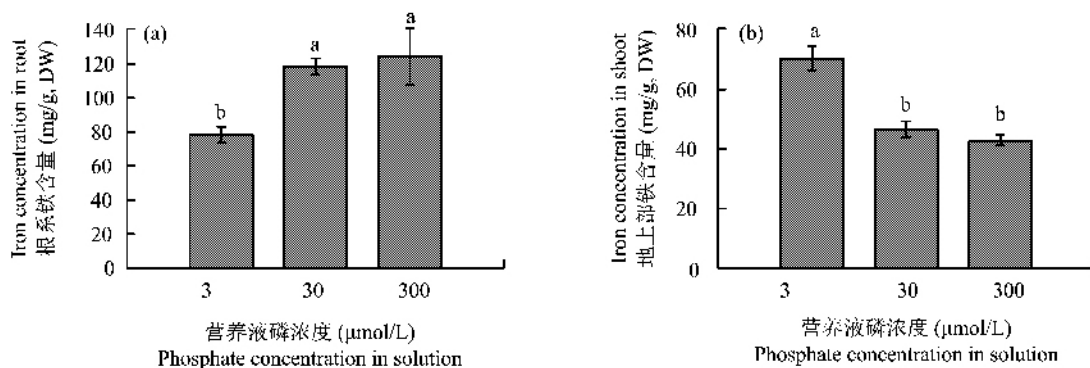


图3 不同供磷水平对低铁培养的饭豆铁含量的影响。

Fig.3 Effects of phosphorus supply levels on Fe contents of rice bean

3 讨论

磷是植物生长发育必需的大量元素之一,主要以无机磷酸盐的形式被植物从根际环境中吸收进入根系细胞内。在中碱性的生长条件下,磷酸根能与大多数的多价金属离子,如铜、锌、镉、铝、铁等结合,发生共沉淀^[12]。关于磷与铁之间的拮抗作用多年来一直倍受关注^[13]。本研究也看出,在低铁条件

下,植物地上部的铁含量和叶片中的叶绿素含量随供磷水平的提高而降低(图1和3),这证实了磷与铁之间的拮抗作用。但是,磷是如何影响植物铁营养仍不很明确。有研究认为,失绿大豆地上部Fe浓度基本正常,但其P/Fe比异常增高($P/Fe = 135 \sim 166$),为健全植株的6.9~7.1倍^[14];最近,Hirsch等^[15]利用X-射线能谱技术,对不同供磷水平的拟南芥进行研究,表明,高磷条件下叶肉细胞内的磷主

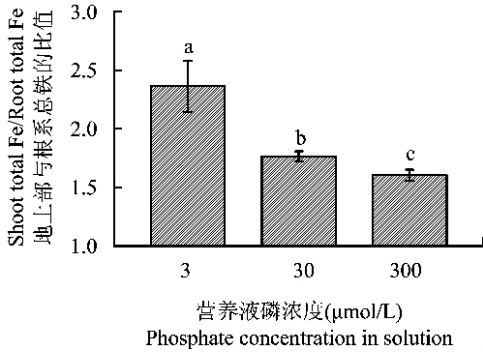


图4 不同供磷水平对低铁饭豆地上部与根系总铁量比值的影响

Fig.4 Effects of phosphorus supply levels on the ratios of shoot total Fe to root total Fe of rice bean

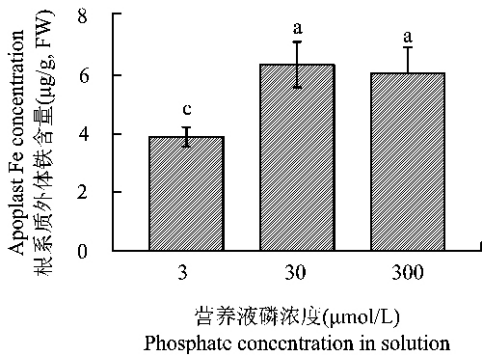


图5 不同供磷水平对低铁饭豆质外体铁含量的影响

Fig.5 Effects of phosphorus supply levels on apoplastic Fe concentration of rice bean

要以磷酸铁的形式沉淀于液泡内,但是当供磷水平降低后液泡内的铁会转移至叶绿体内,并用于铁蛋白的合成。在本研究也看出,随着供磷水平的增加,地上部和根系总铁量的比值呈变小趋势,尤其是从低磷到中磷处理,该比值明显降低(图4)。表明供磷水平增加也能明显降低根系内Fe的活动性,从而阻碍铁从根系向地上部的转运。

众所周知,植物根系吸收养分时需要先经过质外体。因此,若磷酸根离子与游离的铁离子在质外体结合发生共沉淀,便会阻碍铁吸收进入细胞以及向地上部的转运。对不同供磷水平条件下根系质外体铁含量的分析结果表明,低磷处理的根系的质外体铁含量显著低于中磷和高磷处理(图5),说明植物在铁的吸收过程中,磷营养的供应水平能显著影响铁在根系质外体空间中的固定。因此,可认为在低铁条件下,低磷可能有利于减少铁在根系质外体中的固定,促进铁向地上部运输,从而有利于叶绿素

的合成,减缓缺铁症状。需要指出的是,中磷和高磷供应植物根系的质外体铁含量并没有差异(图5),而叶片中的叶绿素含量却有明显的差异。这可能是磷影响了铁在其他部位移动性的缘故,如影响铁在叶肉细胞内移动^[15]。

植物根系的质外体被认为是一个重要铁贮存库。Bienfait等^[11]发现,水培条件下根系中至少有75%铁贮存于质外体空间;而在缺铁条件下,这部分铁可被植物有效再利用^[16]。Longnecker和Welch^[17]曾发现不同基因型大豆的耐缺铁能力与根系质外体铁库大小密切相关,并指出缺铁条件下质外体铁的有效再利用是植物耐缺铁的一种重要机制。自然环境中,植物处于慢速生长阶段时,如苗期,植物体对铁的需求往往较低,而此时根际土壤中的有效养分浓度也可能相对较高,因而苗期植物根系组织内会积累较高的养分^[18]。然而,当植物进入快速生长阶段后,一方面根系养分吸收量大幅度提高,另一方面由于土壤溶液中的 Fe^{3+} 扩散速度慢,从周边土壤向根际土壤迁移的 Fe^{3+} 十分有限,两者综合的结果是导致根际土壤中有效铁的耗竭。当外界不能及时补充铁源时,就容易使植物处于缺铁状态。因此,植物根系在生长缓慢阶段所积累的铁,如果能在生长快速阶段有效利用贮存在质外体的铁,那么将有助于改善植物地上部的铁营养状况,减少缺铁对农作物产量和品质的影响。然而,根据双子叶植物铁吸收机制推测可知,质外体空间中铁的再利用最终也需以铁离子的形态进入细胞内。所以,就植物根系的质外铁再利用而言,高磷水平的营养环境,容易使质外体中解离的铁离子与磷结合,发生再沉淀,从而不利于质外铁的再利用。为验证这一推测,我们把植物正常供铁一段时间后,转入完全缺铁的不同磷水平培养,发现高磷培养的植物更加容易失绿(数据未发表),表明高磷营养环境很有可能不利于质外体空间中的铁进行再利用。

在许多地区的农业生产中,人们为了获得作物增产而大量施用磷肥。然而,根据本研究的结果,我们认为,在缺铁或潜在性缺铁的土壤环境中,如我国北方的土壤,大量施用磷肥可能反而会给作物提供一个更加不利的生长环境。因此,在农业生产中不能盲目多施磷肥,磷肥过多会加剧作物缺铁。

参考文献:

- [1] Guerinot M L, Yi Y. Iron: Nutritious, noxious, and not readily available[J]. Plant Physiol., 1994, 104: 815-820.

- [2] Lindsay W L , Schwab A P . The chemistry of iron in soils and its availability to plants [J] . J. Plant Nutr. , 1982 , 5 : 821-840 .
- [3] Römheld V , Marschner H . Mobilization of iron in the rhizosphere of different plant species [J] . Adv. Plant Nutr. , 1986 , 2 : 155-204 .
- [4] Landsberg E C . Transfer cell formation in the root epidermis : a prerequisite for Fe-efficiency [J] . J. Plant Nutr. , 1982 , 5 : 415-432 .
- [5] Robinson N J , Procter C M , Connolly E L , Guerinot M L . A ferric-chelate reductase for iron uptake from soils [J] . Nature , 1999 , 397 : 694-697 .
- [6] Vert G , Grotz N , Dedaldechamp F *et al.* IRT1 , an *Arabidopsis* transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth [J] . Plant Cell , 2002 , 14 : 1223-1233 .
- [7] Manthey J A , Crowley D E , Luster D G . Biochemistry of metal micronutrients in the rhizosphere [M] . Boca Raton : Lewis Publisher , 1994 .
- [8] 段立红 , 丁红 , 李文学 , 张福锁 . 机理 [植物铁吸收与运输的分子机制] J] . 植物营养与肥料学报 , 2007 , 13 (4) : 739-744 .
Duan L H , Ting H , Li W X , Zhang F S . Molecular biological mechanism of iron uptake and translocation in strategy I plant [J] . Plant Nutr. Fert. Sci. , 2007 , 13 (4) : 739-744 .
- [9] Zuo Y M , Zhang F S , Li X L , Cao Y P . Studies on the improvement in iron nutrition of peanut by intercropping with maize on a calcareous soil [J] . Plant Soil , 2000 , 220 : 13-25 .
- [10] Ladouceur A , Tozawa S , Alam S *et al.* Effect of low phosphorus and iron-deficient conditions on phytosiderophore release and mineral nutrition in barley [J] . Soil Biol. Biochem. , 2006 , 52 (2) : 203-210 .
- [11] Bienfait H F , van den Briel W , Mesland-Mul N T . Free space iron pools in roots : generation and mobilization [J] . Plant Physiol. , 1985 , 78 : 596-600 .
- [12] 吴永贵 , 熊焱 , 林初夏 , 袁玲 . 不同形态 P 对 Cu、Zn、Cd 联合生物毒性效应的影响 [J] . 环境科学学报 , 2006 , 26 (12) : 2045-2051 .
Wu Y G , Xiong Y , Lin C X , Yuan L . The joint-biototoxicity effect of the different forms of phosphorus on heavy metal (Cu , Zn , Cd) [J] . Acta Sci. Circum. , 2006 , 26 (12) : 2045-2051 .
- [13] 肖艳 , 陈清 , 王敬国 , 等 . 滴灌施肥对土壤铁、磷有效性及番茄生长的影响 [J] . 中国农业科学 , 2004 , 37 (9) : 1322-1327 .
Xiao Y , Chen Q , Wang J G *et al.* Citrate on mobilization of Fe and P in Calcareous soil and its impact on growth of drip-irrigated tomato [J] . Sci. Agric. Sin. , 2004 , 37 (9) : 1322-1327 .
- [14] Brown J C , Tiffin L O , Holmes R S *et al.* Internal inactivation of iron in soybeans as affected by root growth medium [J] . Soil Sci. , 1959 , 87 : 89-94 .
- [15] Hirsch J , Marin E , Floriani M *et al.* Phosphate deficiency promotes modification of iron distribution in *Arabidopsis* plants [J] . Bioch. , 2006 , 88 : 1767-1771 .
- [16] Becker R , Fritz E , Manteuffel R . Subcellular localization and characterization of excessive iron in the nicotianamine-less tomato mutant chloronervd [J] . Plant Physiol. , 1995 , 108 : 269-275 .
- [17] Longnecker N , Welch R M . Accumulation of apoplastic iron in plant roots : a factor in the resistance of soybeans to iron-deficiency induced chlorosis [J] . Plant Physiol. , 1990 , 92 : 17-22 .
- [18] Marschner H . Mineral nutrition of higher plant [M] . Boston : Academic Press , 1995 .