第3卷 第4期
1997年12月

植物营养与肥料学报
PLANT NUTRITION AND FERTILIZER SCIENCE

Vol.3 No.4
Dec. 1997

油菜叶片扩展的功能性需硫量及其作为缺硫诊断的探讨①

王庆仁

(中国科学院生态环境研究中心,北京 100085)

P. Randall

(CSIRO Division of Plant Industry, Australia)

摘 要

利用人工气候室进行了双低冬油菜Canola (*Brassica napus* L.)苗期的控硫试验,以探讨供硫不足条件下对植株不同生长参数动态变化的影响效应。结果表明,单位重量叶面积(即A/W)的变化是反映植株硫营养状况的最敏感指示参数。根据其相对增产率的变化求得了对油菜叶片扩展的功能性需硫(S)量为0.32%。这一数值较传统方法,即采用全株或某一器官的干物重(DM)变化所求得的临界值,能更有效地反映植株(器官)的硫素丰缺状况。当再利用能力较弱的硫元素供应不足时,最先受到影响的是幼叶的扩展速率,而植株(或叶片)的干物重往往因净同化率(E_A)和相对生长率(R_W)在缺硫后的一定时间内相对增加而产生累积效应。因此,油菜叶片扩展的功能性需硫量可以作为油菜缺硫的诊断指标。

关键词 功能性需硫量 油菜 叶片扩展

油菜需要较多的硫素供应才能满足其正常的生长发育[1~4]。随着高纯度化肥的广泛应用,作为副成分的硫施入土壤的量日趋减少,油菜缺硫现象日益突出[5~8]。因此硫营养诊断显得愈来愈重要。而当前油菜缺硫的化学诊断,多根据植株干物质重的变化来确定,并利用全株或某一部位(器官)干物重(DM)的增长速率作为诊断的指标得到广泛应用。有关资料认为,养分的临界值为全株或某一部位生产最高干物质产量90%或95%的最小养分浓度[9~12]。但近年来一些研究表明,对于再利用能力较低的元素如Mn、B等因缺少时干物重在一定时间内仍产生积累现象而表现为反应迟钝,由此所确定的养分临界值精确度低,不能及时有效地反映植物的营养状况。所以有人采用养分的功能性需求量(Functional nutrient requirements)(即在植物生长尚未受限而仅能维持其代谢功能的某器官内某种养分的最小浓度[13])来取代养分临界值这一概念[14,15]。同时,对研究从成熟叶向新生部位再转移有限的元素,以幼嫩叶片为取样对象进行组织分析已逐渐引起人们的兴趣[16]。Schnug[7]认为用分化完全的幼叶进行油菜的硫素诊断,更能反映植株的硫营养状况。这也说明了人们已认识到以全株干物重作为生长指示参数的局限性

① 本文为第一作者博士学位论文的部分内容。试验在澳大利亚CSIRO Division of Plant Industry完成,论文得到导师林葆研究员的精心斧正,特致谢意。
② 收稿日期:1996—07—12

以及对此进行改进的必要性。

虽然硫(SO_4^{2-})可通过植物的韧皮部运输，属于可移动性元素[10,16]，但再转运能力较弱[17]，缺硫症状往往首先出现在植物的幼嫩器官。为此，植物一旦缺硫，幼嫩组织，特别是幼叶必先受到影响。根据这一原理，在人工气候室内进行了双低冬油菜Canola的控硫试验，以期寻求一种更为精确可靠的油菜缺硫诊断的方法。

一、材料与方法

采用直径15cm的塑料容器，内装经充分淋洗的河砂。供试油菜品种为甘蓝型澳大利亚双低冬油菜Canola（*B. napus* cv. Hyola）。试验设0.5及0.05mmol/L 2个供硫(S)水平，重复4次，随机排列在生长室的可滑动支架上。生长室温度定为24℃/12℃(昼8:00开始／夜18:00开始)，相对湿度为40%～50%／60%～70%(昼8:00开始／夜18:00开始)。发芽期每日喷洒无离子水维持盆表湿度，发芽后最初几天喷洒稀释一倍的完全营养液，然后用含S 0.5mmol/L的完全营养液(Hewitt配方[18])培养。三叶期定苗，5株／盆，所有盆钵隔日重新排列一次，以避免可能产生的位置效应影响。

从第5叶出现时开始(Do)，将其中一半盆钵改变为低S处理(0.05mmol/L)，分别在0、4、7、10、13、16及20天分组收获采样。对最后一次采样组(D_{20}组)从第4叶片开始用记号笔标记测量位置，并在每次采样时测量叶片长度，各次收获后用叶面积仪测量记录各叶片叶面积，对第1～3叶以每盆为单位合并后测量总叶面积。

样品(分作叶片，茎加叶柄)经75℃烘干后依次称重、磨碎、压片，并用X－射线荧光光谱法[19,20]测定全硫含量。试验结果用Minitab进行统计分析及最小显著性差异(L.S.D)检验。为比较处理的生长效应，根据Williams、Watson与Bouma[21]等的方法计算相对生长率(R_W，$mg.mg^{-1}.d^{-1}$)、净同化率(EA，$mg.cm^{-2}.d^{-1}$)、叶面积相对扩展率(R_A，$cm^2.cm^{-2}.d^{-1}$)和叶片长度相对伸长率(R_E，$mm.leaf^{-1}.d^{-1}$)。计算公式如下：

$$R_W=\frac{\ln w_2-\ln w_1}{t_2-t_1}$$

$$E_A=\frac{W_2-W_1}{L_{A2}-L_{A1}}\cdot\frac{\ln L_{A2}-\ln L_{A1}}{t_2-t_1}$$

$$R_A=\frac{\ln L_{A2}-\ln L_{A1}}{t_2-t_1}$$

$$R_E=\frac{L_{t2}-L_{t1}}{t_2-t_1}$$

式中W_1、W_2为生长一定时间前、后的叶重(mg)；

t_1、t_2为相应的生长天数(d)；

L_{A1}、L_{A2}为一定时间前、后的叶面积(cm^2)；

L_{t1}、L_{t2}为一定时间前、后的叶长(mm)。

二、结果与分析

(一)降低供硫后对干物重(DM)、叶面积(L_A)的影响

图1看出，降低供硫后，油菜植株干物重与总叶面积随生长天数的变化而变化。植株总叶面积在降低供硫15天前后表现出差异显著，较正常供硫处理减少了20%以上，但植株的干物重在降低供硫后增长速率几乎未受到影响，一直到20天时仍未表现出明显差异(相对增长量仍大于对照的90%)；而植株含硫量在减少供硫后急剧下降，20天时已低于0.1%。由单叶叶面积的增长速率还可看出，新生叶片(L_6、H_6)对缺硫的反应更敏感。

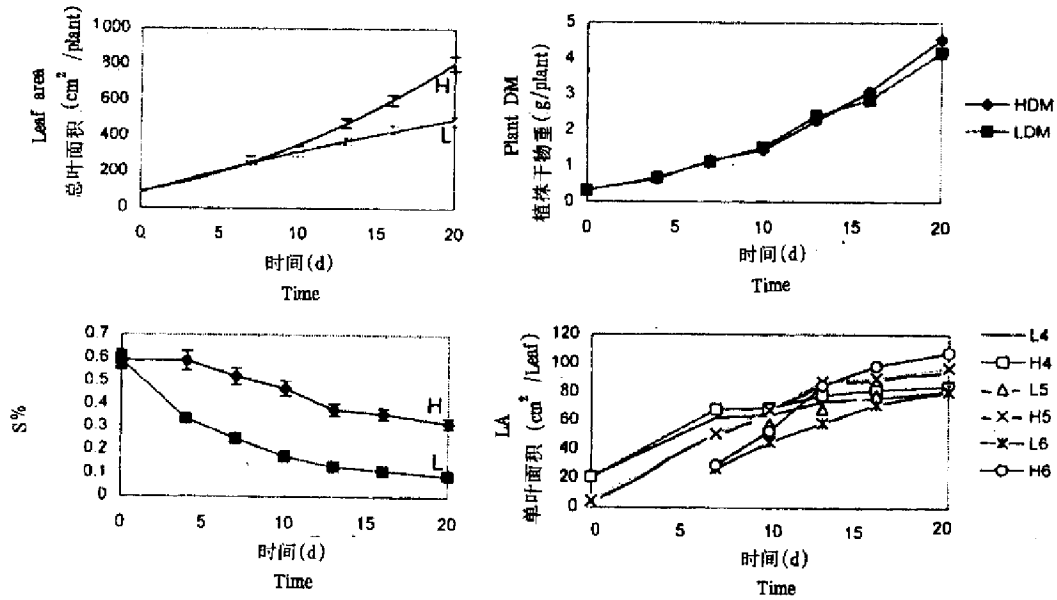

图1 减少供硫后植株叶面积、干物重、硫浓度与不同叶片叶面积随时间的变化

Fig.1 Plant leaf area, dry matter, S% and individual leaf area changes with time after reduced sulphur supply

H: 0.5mmol/L, L: 0.05mmol/L

表 1 减少供硫后对不同部位叶片重量的影响(mg/leaf)

Table 1 Effect of sulphur stress on leaf blade weight

叶片 Leaf blade	时间(天) Time(days)						
	0	4	7	10	13	16	20
L4	47	120	178	234	323	339	507
H4	47	99	180	181	232	218	243
L5	11	67	138	202	340	400	557
H5	11	62	130	177	244	257	310
L6	-	17	77	144	232	318	570
H6	-	15	82	132	228	282	352
L7	-	-	22.6	79.7	171	234	401
H7	-	-	26.2	71.4	185	284	373
L8	-	-	-	-	63.9	129	226
H8	-	-	-	-	96.8	214	345
L9	-	-	-	-	11.2	43	112
H9	-	-	-	-	31.5	127	277

* L:0.05mmol/L; H:0.5mmol/L(下同).

比较第4～9叶片的干物重(表1)看出,幼叶干物重显著受供硫缺乏的影响,但基部叶(成熟叶)与中下部叶(接近成熟叶)的干物重在一定时间内反而有所增加,反映了植株或叶片干物重变化对缺硫的反应不够敏感。这一结果与Kirk和Loneragan[14]在缺B大豆以及Bouma[24]在缺B地中

海三叶草的试验结果相一致。这可能因硫在植株内的再转运能力弱，已经吸收或积累的硫只能继续在"原位"参与代谢而不能或极少向新生组织再转运有关。

由此可见，植株的干物重对油菜硫营养状况的反应远比叶面积迟钝，降低供硫后10天，叶面积就下降到对照的92%，20天时仅为60%(图1)。说明利用全株或某一部位(如叶片)的干物重变化来诊断或确定在植物体内再转运能力弱的元素，如硫的营养状况及临界指标，往往存在很大的局限性，而且所得结果数值偏低，可靠性差。

(二)降低供硫后对不同叶片扩展及伸长速率的影响

对不同叶片叶面积的扩展速率测定结果表明，降低供硫后10天，叶面积的增加与对照的差异达到显著水平，而且新生叶片(如L_6)与对照的差异更大。降低供硫后10天，L_6叶面积下降为对照(H_4)的85%，13天时叶面积已小于对照的70%(图1)。这可能与供硫不足会严重阻碍叶缘细胞的正常分裂与伸展有关。叶片伸长率(表2)的变化与叶面积及叶片相对扩展率(R_A)的变化相一致，即幼叶表现更敏感。

表 2　减少供硫后对叶片伸长率的影响($mm.leaf^{-1}\cdot d^{-1}$)

Table 2　Effect of sulphur stress on elongation rate of leaf blade

叶片 Leaf blade	时间(天) Time(days)					
	0～4	4～7	7～10	10～13	13～16	16～20
L4	9.75	4.13	1.80	1.43	0.93	0.15
H4	10.35	5.23	2.43	1.37	1.00	0.55
L5	11.75	9.97	4.80	2.97	1.33	0.60
H5	12.13	9.53	5.97	4.30	1.63	1.55
L6	-	12.60	9.93	5.53	3.47	1.73
H6	-	13.33	10.10	7.17	3.83	1.40
L7	-	-	11.83	9.53	5.70	2.23
H7	-	-	13.63	12.93	6.27	3.28
L8	-	-	8.00	9.67	8.77	6.70
H8	-	-	10.87	15.17	11.10	5.90

(三)降低供硫后油菜单位重量叶面积的变化动态及功能性需硫量

试验表明，采用单位重量叶面积(面积／重量比值—A／W)的变化，能确切反映油菜硫素的营养状况。因不同叶片的A／W值多呈二次回归(图2c.d)或指数(图2a.b)拟合曲线，达到相关性显著或极显著水平($R^2=0.64^{**}\sim0.99^{**}$)。对叶片A／W值的影响，约在供硫降低后10天内即可在第4～7叶表现出与对照的明显差异。说明以叶片的A／W值作为研究油菜硫素缺乏程度的敏感指示参数是可行的。同时，当植株供硫水平或含硫量下降到某种程度时，植株代谢功能的受阻可通过单位重量叶面积的变化确切反映出来。为此，对油菜叶片扩展的功能性需硫量应该定义为：当叶片相对扩展率(或单位重量叶面积的相对增长率)减少10%时，相应叶片内的硫含量即为油菜叶片扩展的功能性需硫量。低于该含量，油菜叶片的代谢功能将会受到明显抑制。

根据单位重量叶面积的相对增长率与相应叶片硫含量间的关系不难看出，当含硫量下降到一定水平时，叶面积的相对增长率急剧下降(图3)，而且第4(L_4)与第5(L_5)叶片表现出很强的吻合性。因此，利用单位重量叶面积的相对增长率与相应叶片含硫量(S%)的关系，即可求得生长

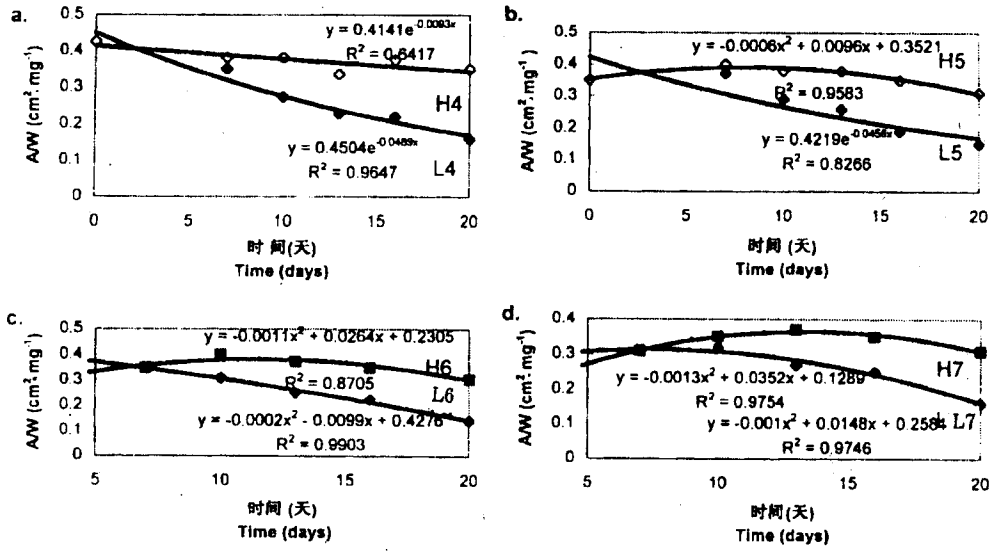

图2 供硫降低后对油菜叶片单位重量叶面积(A／W)变化的影响

Fig.2 Effect of S stress on leaf area: weight ratio of oilseed rape

率下降10%的含硫量为0.32%，即叶片扩展的功能性需硫量。如用植株的干物重变化(W_w)，增长率下降10%的含硫量则<0.1%(图3)。其原因主要是供硫不足导致叶片的正常代谢受阻，干物质相对累积量较高，叶片变小而增厚，使单位重量的叶面积(A／W)显著减少。

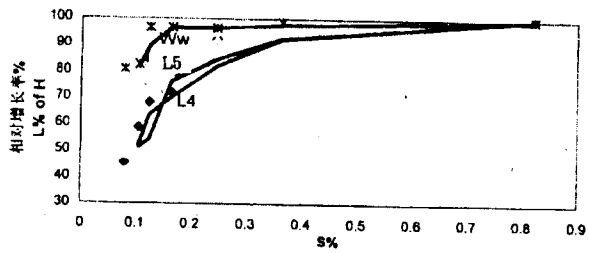

图3 对油菜叶片扩展的功能性需硫量与临界值

Fig.3 The functional S requirements for leaf blade expansion and critical value of oilseed rape

三、讨 论

养分的功能性需求量自Loneragan(1968)定义[13]以来已有较大改进。如Nable等(1984)[15]用光合氧释放率(POE)求得了地中海三叶草的功能性需Mn量；Kirk等(1988)[14]以叶片相对伸长率(LBER)求得了大豆的功能性需硼量。对于不同元素及作物类型，选择能确切反映植株营养状况与代谢功能的指示参数至关重要。Kirk等(1988)[14]曾指出："如果对植物某一组织(器官)

所选参数的反应与植物生长密切相关，其功能性养分需求量即可作为缺素诊断的临界值”。为此，应用单位重量叶面积(A／W)相对增长率所求得的油菜叶片扩展的功能性需硫量可作为硫的临界值用于油菜的缺硫诊断。

减少供硫后对幼叶叶面积、重量及净同化率(E_A)的影响高于成熟叶，主要原因可能是供硫降低后，幼叶的光合速率迅速降低，光合同化源下降所致。据报道，地中海三叶草缺硫失绿幼叶表现出CO_2吸收率下降，对成熟的绿叶却无影响[21]。同时，缺硫会降低植物的暗呼吸速率[21,23]，因而对净同化率的影响主要是反映了新生幼叶与成熟叶光合容量的差异[21]。只有幼叶才对新叶生长具有重要的同化源作用，因成熟叶片对顶端生长的影响效应，对矿质营养的供应大于对光合产物的供应[21]。

总之，应用油菜叶片扩展的功能性需硫量比用传统方法，即利用全株或某一部位的干物重变化对作物硫素营养状况的生理评价，具有及时、灵敏、精确度较高的特点，所得结果不仅可以作为缺硫的临界指标在油菜生产中参考应用，而且这一方法对于象S这类再利用能力弱的其他元素，如Ca、Zn、Mn、Fe、B等植物营养诊断的研究，也具有重要的参考价值及广阔的应用前景。

参 考 文 献

1 Bole JB and Pittman UJ. Availability of subsoil sulphates to barley and rapeseed. Can. J. Soil Sci., 1984, 64:301～312.

2 Hamm JW. Sulphur on rapeseed and cereals. In: 10th Annu. Manitoba Soil Sci. Meeting. Univ. of Manitoba, Winnipeg. 1967, 91～108. Sci. Meeting. Univ. of Manitoba, Winnipeg. 1967, 91～108.

3 Holmes MRJ. Nutriton of the oilseed rape crop. Applied Science Publishers, 1980, 1:121.

4 Nyborg M, Bentley CF and Hoyt PB. Effect of sulphur deficiency on seed yield of turnip rape. Sulphur Inst. J., 1974, 10:14～15.

5 Grant CA. Sulphur requirements of canola. Sulphur in Agric., 1991, 15:3～6.

6 Pinkerton A, Hocking P and Wang Q. Critical periods of sulfur nutrition of canola. Rapeseed Today and Tomorrow, Proceedings of the Ninth International Rapeseed Congress, Cambridge, 4～7, July, 1995, 1:302～304.

7 Schnug E. Sulfur nutritional status of European crops and consequences for agric. Sulfur in Agric., 1991, 15:7～12.

8 Zhao FJ. Sulfur and oilseed rape production in the United Kingdom. Sulfur in Agric., 1991, 15:13～16.

9 Bemett(1953)，毛达如主编．植物营养研究方法，北京农业大学出版社，1994，131.

10 Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London, 1986, 80～350.

11 Moraghan JR. Plant tissue testing for micronutrient deficiencies and toxicities. Fert. Res., 1985, 7:201～209.

12 Smith FW. Interpretation of plant analysis : concepts and principles. In Reuter DJ and Robinson JB. (ed.), Plant analysis: An interpretation manual. Inkata Press, Melbourne, Australia, 1986, 1～12.

13 Loneragan JF. Nutrient requirement of plants. Nature (London), 1968, 220:1307～1308.

14 Kirk GJ and Loneragan JF. Functional boron requirement for leaf expansion and its use as a critical value for diagnosis of boron deficiency in soybean, Agron. J., 1988, 80:758～762.

15 Nable RO, Bar-Akiva A and Loneragan JF. Functional manganese requirement and its use as a critical value for diagnoses of managanese deficiency in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* (L.) cv. Seaton Park). Ann. Bot. (London), 1984, 54,39～49.

16 Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London., 1986, 80～350.

17 Clarkson DT, Smith FW and Berg PJV. Regulation of sulphate transport in a tropical legume, *Macroptilium atropurpureum*, cv. Siratro. Journal of Experimental Botany, 1983, 34:(148)1463～1483.

18 Hewitt EJ. Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. Commonwealth Bureau of Horticultural crops, Technical Communication, The UK, 1966, 3:445.

19 Norrish K and Hutton JT. Plant analysis by X-ray spectrometry. 1. Low atomic numberelements, sodium to calcium. X-ray Spectrometry, 1977, 6:6～11.

20 Schnug E and Haneklaus S. The sulphur concentration as a standard for the total glucosinolate content of rapeseed and meal and its determination by X-ray fluorescence spectroscopy (X-RF method). J. Sci. Food Agric., 1988, 243～254.

21 Bouma D, Greenwood EAN and Dowling EJ. The contribution by leaves of different age to new growth of subterranean clover plants following the removal of a sulphur stress I. Origin and distribution of dry matter, Aust. J. Biol. Sci., 1972, 25:1147~1156.

22 Bouma D. Effect of changes in boron nutrition on growth and development of subterranean clover, Aust. J. Biol. Sci., 1969, 22:523~533.

23 Bouma D. Nutrient uptake and distribution in subterranean clover during recovery from nutritional stresses II. Experiments with sulfur. Australian Journal of Biological Sciences, 1967, 20:613~621.

STUDY ON FUNCTIONAL SULPHUR REQUIREMENTS FOR LEAF EXPANSION AND AS A CRITICAL VALUE FOR SULPHUR DEFICIENCY IN OILSEED RAPE

Wang Qingren

(Res Centre for Eco-Environmental Sci. CAS, Beijing 100085)

P. Randall

(CSIRO Division of Plant Industry, Canberra, Australia)

Summary

Sulphur(S) supply control to canola--double low oilseed rape (*Brassica napus* cv. Hyola) experiment was carried out in growth cabinets of phytotron to investigate effect of S stress on growth of the seedlings. The results indicated that leaf area and weight ratio (A/W) was one of the most sensitive parameters to S deficiency in oilseed rape. Therefore, the functional sulphur requirements for leaf expansion was obtained from A/W changes with S concentration.

Functional sulphur requirements determined in this way was more sensitive and accurate than did the critical values determined in conventional one by correlation with plant or tissue dry matter (DM). For nutrients with low mobility, such as S, the young tissue must be affected first when there was a nutrient shortage, the young leaf blade was a good indicator to reflect nutrition status in plants but plant (or leaf blade) DM responded slowly and insensitively because the nutrient deficiency usually depressed leaf blade expansion but increased plant (leaf) DM. Therefore, shoot DM for response to S stress development usually gave it unsatisfied results for setting critical values, these results were correlated with relatively increasing in net assimilation rate (E_A) and relative growth rate (R_w) for S deficiency. The functional sulphur requirements determined by relative leaf expansion rate was 0.32% while that determined by shoot DM was below 0.1%. Furthermore, the response of leaf area or length could be seen approximately 10 days earlier than that of DM after reduced S supply.

Functional sulphur requiremants can be used as a crilical value for diagnosis of S deficiency in oilseed rape.

Key Words Functional sulphur requirements Critical value Leaf expansion Oilseed rape