

玉米、小麦细胞磷、锌营养及交互作用的研究^①

郑绍建 杨志敏 胡霏堂

(南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

摘要 采用溶液培养研究玉米、小麦在不同磷、锌浓度下细胞磷、锌营养及交互作用。结果表明,随着外界磷浓度(0, 0.12, 0.6, 3.0 mmol/L)的提高,玉米、小麦根系和叶片细胞壁、细胞质和液泡中磷含量也随之增高,但细胞壁和液泡中磷的含量高于细胞质中的含量。介质中磷浓度的提高使根细胞壁中锌的含量增加,但高磷(3.0 mmol/L)处理使细胞质、液泡中锌的含量下降。高磷处理抑制了两种作物的锌由根系向地上部的转运,同时叶片中大部分锌被结合在细胞壁中,因而叶细胞中的细胞质和液泡处于相对的低锌状态。与足量锌(2.0 $\mu\text{mol/L}$)供应比较,低锌(0.1 $\mu\text{mol/L}$)处理使玉米、小麦根系和叶细胞壁、细胞质和液泡中磷的浓度增高。低锌和过量磷的供给抑制了植株的生长,最终使干物质的积累下降。

关键词 磷 锌 交互作用 细胞

植株吸收过量的磷会表现出缺锌的症状。这种现象在玉米、马铃薯、番茄、大豆等多种作物上已有报道^[1]。研究结果表明,磷诱发缺锌首先是磷抑制锌在植株地上部的积累,造成叶片中锌的绝对量减少^[2];另一方面,当植物吸收过量磷后,即使体内锌的含量不少,但仍表现出缺锌的症状^[3]。植物缺锌会吸收过量的磷,以致引起“磷中毒”。磷-锌在植株体内的不平衡表现为较高的 P/Zn 比值, P/Zn 比一度被众多的学者用来衡量磷、锌营养状态的诊断指标,但因试验植物的种类、品种及试验条件等因素不同,所得的结果无法作为一种统一的诊断指标。迄今,有关磷-锌相互作用关系已有大量的研究报道^[6],并提出过一些假说,但磷-锌交互作用的机理尚未搞清^[3]。其原因除磷-锌关系复杂外,另一因素是以前试验结果通常是经过植株器官全量分析得到的,因此,还无法揭示植物体内磷-锌交互作用的机制。本试验在前人的工作基础上,试图从细胞、亚细胞水平上深入研究和分析磷-锌交互作用特性,为阐明其细胞学,生理生化和分子作用机理提供新的证据。

1 材料与方法

1.1 植物培养与处理

玉米(*Zea mays* L. 掖单 13 号)、小麦(*Triticum aestivum* L. 扬麦 871587)种子经消毒洗净后,浸催种芽,当芽长至 3~4 cm 长时,移至温室进行水培。玉米去胚后移至培养液。温室昼夜温度为 26/18℃,光照强度为 15000 lx。处理培养液除磷、锌浓度变化外其余元素和浓度均采用 Hoagland 及 Arnon 配方。设 0, 0.12(低), 0.6(正常), 3.0(高) mmol/L 4 个磷水平和 0.1(低), 2.0(正常) $\mu\text{mol/L}$ 2 个锌(用 EDTA 配制)水平,共组成 8 种处理。植株培养至 3 至 4 叶期供分析。

^①国家自然科学基金资助项目(39500089)。

收稿日期:1998-04-17

1.2 植株分析

叶片和根系细胞壁和原生质体分离和纯化采用酶解法。参照 Douglas^[5]和 Gronwald^[6]的方法进行。酶解结束后立即进行计数。同时进行离心分离,得到纯化的原生质体后,余下的溶液部分归细胞壁组分。叶片和根系液泡的分离和纯化依 Thom^[7]法进行。对纯化后得到的液泡进行计数。将提纯的细胞各组分用 1:8:1 硫酸:硝酸:高氯酸消化定容,用钼锑抗比色法测定磷的含量^[8]。锌的测定采用原子吸收分光光度法。植株伤流液的收集采用药棉浸吸,离植株根茎部 3cm 高度处切下茎端,立即将塞有药棉的塑料套管套上茎基部,使棉花和切口充分接触,用差重法计算伤流液重量。将浸湿的药棉充分洗脱,洗脱液供磷、锌的测定分析。上述每组处理和测定至少重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 不同磷锌水平下的生长反应

无论是玉米还是小麦,增加供磷量则显著促进植株干物质的积累(图 1,2),但过高浓度的磷(3.0 mmol/L)反而抑制玉米和小麦的生长。与低锌处理比较,足量锌的供应对生长也有一定的促进作用。对于玉米和小麦,0.6mmol/L 磷 + 2.0μmol/L 锌处理的植株生长最好。其余各种处理都因磷或锌供应量不适而使植株的生长受到不同程度的抑制。

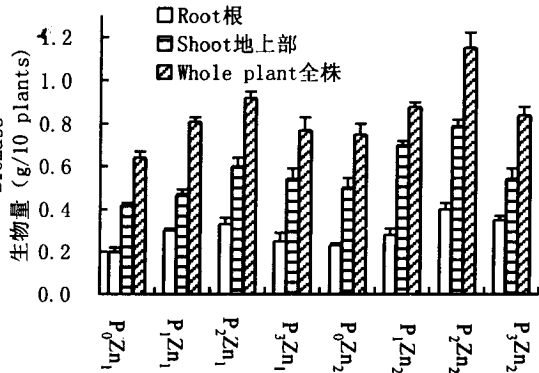


图 1 磷、锌交互作用对玉米生长的影响
Fig.1 Interaction of P and Zn on the growth of corn

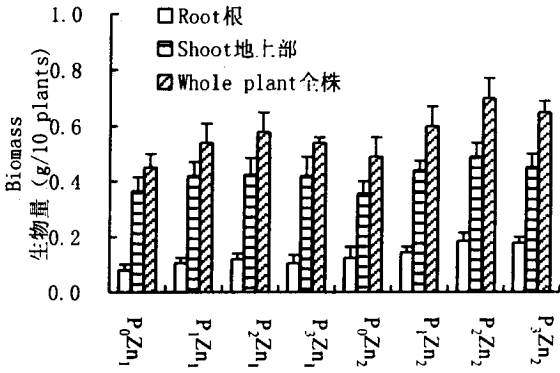


图 2 磷、锌交互作用对小麦生长的影响
Fig.2 Interaction of P and Zn on the growth of wheat

2.2 磷、锌向地上部运输

从木质部溶液分析可知,无论是在低锌还是正常供锌下,玉米根部磷锌向地上部的运输量远大于小麦(表 1),表明玉米对磷和锌均有较大的需求。两种作物的磷、锌运输量均随外界磷、锌供应的提高而提高。但在同一供锌水平下,玉米随施磷量的提高,锌向地上部的运输量有所降低,小麦也有同样的趋势。在 2.0μmol/L Zn 下,锌的运输先上升,然后下降。在同一磷水平下,增加供锌水平均抑制玉米、小麦的磷从根部向地上部转运,而且磷水平越高,锌抑制效应越大。表明磷、锌之间在根部存在着明显的颉颃作用。

2.3 细胞壁、细胞质和液泡磷、锌的积累

增加介质中磷的供应,玉米、小麦根系和叶片细胞壁、细胞质及液泡中的含磷量有相应提高(表 2,3)。小麦细胞各组分的含磷量大多都高于玉米。在 0~0.6mmol/L 磷浓度范围

表 1 不同磷、锌水平下玉米和小麦磷、锌向地上部运输的变化

Table 1 Translocation of P, Zn to the shoot of corn and wheat with different P and Zn levels

处理 Treatment		玉米 Corn($\mu\text{g/g}$ stem sap)		小麦 Wheat($\mu\text{g/g}$ stem sap)	
P(mmol)	Zn($\mu\text{mol/L}$)	P	Zn	P	Zn
0.12	0.10	5.5 ± 0.5	140 ± 8	1.4 ± 1.2	45.5 ± 1.2
0.60	0.10	9.5 ± 1.2	121 ± 11	2.7 ± 0.1	44.5 ± 1.4
3.00	0.10	11.8 ± 1.0	108 ± 9	4.0 ± 0.3	37.5 ± 3.0
0.12	2.00	5.4 ± 0.4	840 ± 46	1.3 ± 0.1	50.4 ± 2.3
0.60	2.00	8.7 ± 0.1	920 ± 26	2.3 ± 0.3	57.7 ± 1.5
3.00	2.00	9.3 ± 0.2	730 ± 27	3.0 ± 0.3	48.7 ± 4.7

表 2 不同磷、锌水平下玉米和小麦叶片细胞壁、细胞质和液泡内磷的含量

Table 2 Phosphorus concentration in the cell wall, cytoplasm and vacuoles of the corn and wheat leaves with different phosphorus and zinc levels

处理 Treatment		玉米 Corn			小麦 Wheat		
P(mmol)	Zn($\mu\text{mol/L}$)	CW	C	V	CW	C	V
0	0.10	1.6 ± 0.1	0.31 ± 0.01	0.92 ± 0.04	3.5 ± 0.2	0.42 ± 0.06	2.6 ± 0.3
0.12	0.10	2.3 ± 0.3	0.45 ± 0.02	1.50 ± 0.13	5.9 ± 0.6	0.78 ± 0.08	4.4 ± 0.4
0.60	0.10	3.5 ± 0.5	0.69 ± 0.04	2.31 ± 0.13	13.4 ± 1.1	1.75 ± 0.14	7.6 ± 2.1
3.0	0.10	6.0 ± 0.5	1.01 ± 0.03	3.25 ± 0.24	22.6 ± 4.0	3.09 ± 0.27	15.1 ± 1.2
0	2.00	1.5 ± 0.1	0.28 ± 0.20	0.82 ± 0.01	2.5 ± 0.5	0.37 ± 0.05	2.0 ± 0.2
0.12	2.00	1.9 ± 0.1	0.35 ± 0.03	1.29 ± 0.13	5.2 ± 0.6	0.70 ± 0.03	3.4 ± 0.1
0.60	2.00	2.7 ± 0.2	0.50 ± 0.04	2.02 ± 0.12	11.9 ± 1.0	1.48 ± 0.11	7.1 ± 1.1
3.0	2.00	4.3 ± 0.7	0.72 ± 0.06	2.40 ± 0.25	19.5 ± 2.0	2.70 ± 0.35	12.3 ± 2.0

注: CW-细胞壁($\text{P } \mu\text{g} \times 10^{-6}$ 原生质体);C-细胞质($\text{P } \mu\text{g} \times 10^{-6}$);V-液泡($\text{P } \mu\text{g} \times 10^{-6}$ 液泡)。CW-Cell wall($\text{P } \mu\text{g} \times 10^{-6}$ protoplasts);C-Cytoplasm($\text{P } \mu\text{g} \times 10^{-6}$ protoplasts);V-Vacuole($\text{P } \mu\text{g} \times 10^{-6}$ vacuoles)

表 3 不同磷、锌水平下玉米和小麦根系细胞壁、细胞质和液泡内磷的含量

Table 3 Phosphorus concentration in the cell wall, cytoplasm and vacuoles of the corn and wheat roots with different phosphorus and zinc levels

处理 Treatment		玉米 Corn			小麦 Wheat		
P(mmol)	Zn($\mu\text{mol/L}$)	CW	C	V	CW	C	V
0	0.10	7.1 ± 1.9	1.3 ± 0.2	2.5 ± 0.2	11.2 ± 0.3	5.4 ± 1.2	17.8 ± 4.9
0.12	0.10	21.7 ± 3.3	2.9 ± 0.3	4.3 ± 0.1	21.8 ± 1.1	10.9 ± 3.4	42.6 ± 6.8
0.60	0.10	28.1 ± 3.8	3.4 ± 0.1	11.8 ± 1.8	59.5 ± 5.1	20.5 ± 2.0	87.3 ± 1.6
3.0	0.10	38.9 ± 3.6	5.6 ± 0.2	19.2 ± 0.8	91.6 ± 2.3	35.6 ± 1.0	131.6 ± 17.1
0	2.00	8.9 ± 2.1	1.2 ± 0.4	2.4 ± 0.2	8.2 ± 0.8	4.9 ± 1.7	23.4 ± 6.9
0.12	2.00	20.8 ± 1.4	2.8 ± 0.3	3.8 ± 0.7	17.4 ± 2.3	7.4 ± 1.6	32.1 ± 1.7
0.60	2.00	27.0 ± 2.3	3.1 ± 0.3	9.4 ± 1.4	46.9 ± 2.0	17.7 ± 1.5	79.2 ± 3.3
3.0	2.00	33.6 ± 5.0	4.6 ± 0.5	15.9 ± 1.3	63.7 ± 6.2	24.5 ± 1.4	116.5 ± 5.4

注: CW-细胞壁($\text{P } \mu\text{g} \times 10^{-5}$ 原生质体);C-细胞质($\text{P } \mu\text{g} \times 10^{-5}$);V-液泡($\text{P } \mu\text{g} \times 10^{-5}$ 液泡)。CW-Cell wall($\text{P } \mu\text{g} \times 10^{-5}$ protoplasts);C-Cytoplasm($\text{P } \mu\text{g} \times 10^{-5}$ protoplasts);V-Vacuole($\text{P } \mu\text{g} \times 10^{-5}$ vacuoles)

内,增磷能促进锌在细胞内的积累(表 4,5)。但当外界磷浓度达到 3.0mmol/L 时,玉米和小麦根、叶细胞内锌的含量反而降低,表明高磷对锌的积累有颞颞作用。提高介质中锌的浓度则降低两种作物在细胞壁、细胞质、液泡中磷的含量,介质中磷浓度越高,锌的作用越大。玉米细胞在积累磷的过程中受锌的影响较大。与 0.1 μ mol/L 锌 + 3.0mmol/L 磷比较,2.0 μ mol/L 锌 + 3.0mmol/L 磷处理下的玉米叶片细胞壁、细胞质、液泡中磷的含量分别下降了 28.3%,28.7%,26%;而小麦含磷量分别下降了 14%,11%,19%。表明锌浓度的提高对磷的积累也有一定的抑制作用。上述结果表明磷与锌之间存在着相互的颞颞作用。观察玉米、小麦细胞壁,细胞质和液泡 3 个组分中的磷、锌含量得知,叶片细胞壁和液泡积累了较高浓度的锌,而根系细胞壁积累的比例要小一些。

表 4 不同磷、锌水平下玉米和小麦叶片细胞壁、细胞质和液泡内锌的含量

Table 4 Zinc concentration in the cell wall, cytoplasm and vacuoles of the corn and wheat leaves with different phosphorus and zinc levels

处理 Treatment		玉米 Corn			小麦 Wheat		
P(mmol)	Zn(μ mol/L)	CW	C	V	CW	C	V
0	0.10	2.5 $\pm$ 0.1	0.52 $\pm$ 0.02	2.5 $\pm$ 0.3	4.5 $\pm$ 0.6	0.74 $\pm$ 0.06	1.9 $\pm$ 0.3
0.12	0.10	3.6 $\pm$ 0.3	0.62 $\pm$ 0.06	2.4 $\pm$ 0.4	5.4 $\pm$ 0.6	0.84 $\pm$ 0.06	2.2 $\pm$ 0.3
0.60	0.10	3.8 $\pm$ 0.2	0.62 $\pm$ 0.04	2.0 $\pm$ 0.2	6.9 $\pm$ 0.3	0.87 $\pm$ 0.10	3.1 $\pm$ 0.4
3.0	0.10	3.2 $\pm$ 0.3	0.50 $\pm$ 0.03	1.7 $\pm$ 0.2	6.3 $\pm$ 0.9	0.76 $\pm$ 0.02	2.3 $\pm$ 0.4
0	2.00	4.0 $\pm$ 0.01	0.62 $\pm$ 0.05	2.8 $\pm$ 0.5	7.7 $\pm$ 1.1	1.25 $\pm$ 0.35	3.8 $\pm$ 0.2
0.12	2.00	4.9 $\pm$ 0.5	0.68 $\pm$ 0.03	2.7 $\pm$ 0.4	10.6 $\pm$ 1.7	1.45 $\pm$ 0.30	4.1 $\pm$ 0.2
0.60	2.00	5.4 $\pm$ 0.6	0.76 $\pm$ 0.08	3.1 $\pm$ 0.1	10.7 $\pm$ 1.3	1.57 $\pm$ 0.20	4.7 $\pm$ 0.4
3.0	2.00	5.5 $\pm$ 0.2	0.55 $\pm$ 0.05	2.1 $\pm$ 0.3	9.9 $\pm$ 0.3	1.12 $\pm$ 0.10	3.2 $\pm$ 0.1

注: CW - 细胞壁(Zn μ g $\times$ 10⁻⁷原生质体); C - 细胞质(Zn μ g $\times$ 10⁻⁷); V - 液泡(Zn μ g $\times$ 10⁻⁷液泡)。CW - Cell wall(Zn μ g $\times$ 10⁻⁷protoplasts); C - Cytoplasm(Zn μ g $\times$ 10⁻⁷protoplasts); V - Vacuole(Zn μ g $\times$ 10⁻⁷vacuoles)

表 5 不同磷、锌水平下玉米和小麦根系细胞壁、细胞质和液泡内锌的含量

Table 5 Zinc concentration in the cell wall, cytoplasm and vacuoles of the corn and wheat roots with different phosphorus and zice levels

处理 Treatment		玉米 Corn			小麦 Wheat		
P(mmol)	Zn(μ mol/L)	CW	C	V	CW	C	V
0	0.10	2.0 $\pm$ 0.3	0.99 $\pm$ 0.99	2.7 $\pm$ 0.5	0.9 $\pm$ 0.3	0.38 $\pm$ 0.01	1.6 $\pm$ 0.2
0.12	0.10	2.9 $\pm$ 0.2	0.96 $\pm$ 0.08	3.4 $\pm$ 0.6	1.5 $\pm$ 0.3	0.34 $\pm$ 0.02	1.2 $\pm$ 0.2
0.60	0.10	4.3 $\pm$ 0.5	1.62 $\pm$ 0.06	3.3 $\pm$ 0.2	1.7 $\pm$ 0.2	0.41 $\pm$ 0.07	1.3 $\pm$ 0.1
3.0	0.10	4.5 $\pm$ 0.5	1.55 $\pm$ 0.18	2.9 $\pm$ 0.3	2.0 $\pm$ 0.1	0.39 $\pm$ 0.02	1.1 $\pm$ 0.2
0	2.00	4.5 $\pm$ 0.6	2.18 $\pm$ 0.02	5.9 $\pm$ 0.6	2.0 $\pm$ 0.5	0.95 $\pm$ 0.04	2.3 $\pm$ 0.3
0.12	2.00	5.7 $\pm$ 0.2	2.17 $\pm$ 0.27	5.8 $\pm$ 1.0	2.5 $\pm$ 0.8	0.90 $\pm$ 0.05	2.1 $\pm$ 0.3
0.60	2.00	8.3 $\pm$ 0.6	2.90 $\pm$ 0.22	6.0 $\pm$ 1.0	3.0 $\pm$ 0.6	1.09 $\pm$ 0.05	2.9 $\pm$ 0.4
3.0	2.00	8.5 $\pm$ 0.3	2.60 $\pm$ 0.30	5.5 $\pm$ 0.5	3.5 $\pm$ 0.3	0.84 $\pm$ 0.01	2.1 $\pm$ 0.5

注: CW - 细胞壁(Zn μ g $\times$ 10⁻⁶原生质体); C - 细胞质(Zn μ g $\times$ 10⁻⁶); V - 液泡(Zn μ g $\times$ 10⁻⁶液泡)。CW - Cell wall(Zn μ g $\times$ 10⁻⁶protoplasts); C - Cytoplasm(Zn μ g $\times$ 10⁻⁶protoplasts); V - Vacuole(Zn μ g $\times$ 10⁻⁶vacuoles)

3 讨 论

有关植物磷-锌交互作用的研究已有大量的报道^[2]。有试验证明施磷量的增加,植株根系的锌量有所提高,而地上部茎叶中锌的含量却有所下降^[3]。因此,磷、锌颀颀作用可能发生在根中^[2]。但磷-锌相互作用的化学、生理、生化及细胞学机理尚不清楚。虽然提出过一些假说^[3],但缺乏试验证据。本试验结果表明,锌被根系吸收后主要固定于细胞壁和液泡内。玉米、小麦根系细胞壁中积累锌的浓度高出其细胞质中锌浓度的2~3倍。提高介质中磷浓度则增加细胞壁锌的含量,然而,当磷浓度达到3.0mmol/L时,细胞质和液泡中锌的含量反而下降。这一结果表明,玉米、小麦根部细胞壁可能是磷-锌颀颀作用的主要部位。同时,由于磷限制锌进入细胞内部,与锌有关的生理代谢活动可能会受到一定的影响。

与0.12和0.6mmol/L磷处理组比较,高磷(3mmol/L)处理均使玉米和小麦向地上部锌运输的速率下降,其结果可能使地上部处于相对缺锌状态。引起叶片缺锌原因,一种观点认为“磷诱导缺锌”导致了叶片中锌的绝对含量下降^[2];也有试验指出,植株在接受高磷处理后,地上部锌的含量并不低,但仍出现缺锌症^[3]。Parker等^[3]认为这是过量的磷引起锌的“生理钝化作用”。但“钝化作用”的机制尚不清楚^[9,10]。从本试验结果看,3mmol/L磷+2 μ mol/L锌处理的玉米、小麦叶中,细胞质内锌的含量较少,分别为细胞壁含量的1/10和1/9左右,而其它几种处理组的比值约为1/7~1/6。可见,锌被过量的磷束缚于细胞壁无法进入细胞质内参与生理代谢作用可能是植株缺锌的主要原因。液泡被认为是贮存养分的库,起着养分调节的缓冲作用。植株体内过量的磷使液泡中锌的含量也明显下降,因而加剧了细胞的缺锌状态。

锌对磷也存在一定的颀颀作用。一般特征是处理磷浓度越大,颀颀效应越明显。玉米叶片的颀颀效应大于小麦,而小麦根系的颀颀作用大于玉米。缺锌会引起植物积累过量的磷,其结果可能会导致“磷中毒”现象。从试验结果看,因介质中锌的供给不足,玉米、小麦对磷的吸收均有增加,同时植株的生长量也随之下降,但没有观察到有“磷中毒”症状。这种结果可能与锌功能发挥不足有关。众所周知,锌是细胞膜的组成部分,也是促进生长的必需元素,细胞缺锌或供锌不足会使细胞膜失去完整性,引起大量的磷向细胞内渗透,最终导致体内磷-锌比率失调。

参 考 文 献

- 1 Singh JP, Karamanos RE and Stewart WB. The mechanism of phosphorus - induced zinc deficiency in bean. *Canada J. Soil Science*, 1988, 68:345~358.
- 2 Alina KP and Henryk P. Trace elements in soil and plants. CRP Press, London, 1996, 110~124.
- 3 Parker DR, Aguilera JJ and Thomason DN. Zinc - phosphorus in two cultivars of tomato grown in chelator - buffered nutrient solutions. *Plant and Soil*, 1992, 143:163~177.
- 4 Adriano DC. Trace elements in the terrestrial environment. Spring - Verlag, New York, 1986, 106~108.
- 5 Douglas AS and Peggy C. Phosphorus accumulation in leaves of wheat seedlings measured in leaf cell protoplasts isolated after root or foliar treatment with orthophosphate. *Physiol. Plant*, 1984, 61:135~140.
- 6 Gronwald JW and Leonard RT. Isolation and transport porperties of protoplast from cortical cells of corn roots. *Plant Physiology*, 1982, 70:1391~1395.
- 7 Thom M, Maretzki A and Komor E. Vacuoles from sugarcane suspension cultures. *Plant Physiology*, 1982, 1315~1319.

- 8 史瑞和主编. 农业化学分析. 农业出版社, 1978, 156~164.
- 9 Cakmak I and Marschner H. Mechanism of phosphorus - induced zinc deficiency in cotton. *Physiol. Plant*, 1986, 68:484~490.
- 10 Christensen NW and Jackson TL. Potential for phosphorus toxicity in zinc - stressed corn and potato. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1981, 45:904~909.

STUDY ON THE CELL NUTRITION OF PHOSPHORUS AND ZINC INTERACTION IN CORN AND WHEAT

Zheng Shaojian Yang Zhimin Hu Aitang

(College of Natural Resor. And Enviro. Scinces, Nanjing Agri. Uni., Nanjing 210095)

Abstract The cellular nutrition of phosphorus and zinc and their interaction in corn and wheat under the varied phosphorus and zinc were investigated in solution culture. The results showed that the increased phosphorus content of cell walls, cytoplasm and vacuoles in both leaved and roots of corn and wheat were observed with the increasing phosphorus supply (0, 0.12, 0.6, 3.0 mmol/L) in the medium. However, the content of phosphorus in the cell wall was higher than that in the cytoplasm. The enhanced phosphorus in the culture solution increased the content of zinc in the root cell wall, but the treatment of 3 mmol/L P made the zinc content in cytoplasm and vacuoles decreased. High treatment with phosphorus inhibited the zinc translocation from roots to shoots in both crops. In addition, as most of zinc in leaves was bound to in the cell wall, a relative low zinc contents in the leaf cytoplasm and vacuoles were expected compared to the treatment of rich zinc supply (2.0 $\mu\text{mol/L}$) and decreased application of zinc (0.1 $\mu\text{mol/L}$) increased the content of phosphorus in the leaf and root cell in corn and wheat. As a result, the stunted growth of both crops was attributed to the imbalance of low zinc and high phosphorus concentrations in the plants.

Key words Phosphorus Zinc Interaction Cell