

两种豌豆基因型对不同铁源利用的研究^①

155-160

崔骁勇

(中国科学院植物研究所 北京 100093)

吴 静

(北京市农林科学院营养所)

曹一平 张福锁

(中国农业大学植物营养系)

5643.306.1

摘 要 采用水培和土培方法研究了两种豌豆基因型 E107 和 Sparkle 在供应 4 种铁源时的生物量, 叶绿素含量, 地上地下部铁含量, 根系质外体铁量以及根系铁还原力状况。结果表明, Fe(III)EDTA 对豌豆的有效性最高, FeCl₃ 次之; 豌豆对难溶性的 Fe(OH)₃ 的利用程度取决于根系质子分泌能力和铁还原力, E107 比 Sparkle 的利用能力更强。螯合态铁和难溶性铁不会形成大量的根系质外体铁。

关键词 豌豆; 基因型; 铁源; 质外体铁; 铁还原力 土壤

生态系统物质循环的一个重要环节是元素从土壤进入植物体的过程, 不同土壤中元素的含量和存在的形态不同, 加之其它土壤、气候等环境因子的影响, 因此对植物的有效性也不一样。植物之间在吸收利用土壤养分的能力上的差异, 就形成了植物的元素化学特征, 这是长期适应环境的结果, 这也是遗传育种的基础。研究这些差异的生理基础, 有助于理解物种的分布和演化, 以及元素的生物地球化学循环。

石灰性土壤上植物缺铁黄化现象十分普遍^[1,2], 虽然土壤中全铁的含量很高, 平均达 3.2%, 但是其中大部分是难以被植物利用的矿物态铁。在生理 pH 范围内土壤溶液中可溶性铁离子含量极少, 只有约 $10^{-15} \sim 10^{-17} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[3,4] 甚至更低^[5]。其中大部分是易被沉淀的 Fe³⁺ 形式^[6]。此外土壤中还有少量以螯合态形式存在的铁素, 虽然浓度仍然很低, 但比离子态高许多。在根际, 由于植物系分泌物与微生物的作用, 铁的存在形态可能与土体有所不同^[7]。本文以吸铁能力强的豌豆基因型 E107 和栽培品种 Sparkle 为材料^[8], 在水培条件下比较了它们对不同铁源的利用情况。

1 材料与方 法

1.1 试验设计

1.1.1 水培试验 豌豆基因型 E107 和 Sparkle 幼苗生长在营养液中, 培养方法见[9]。移苗后不供铁, 第 10 天分别供应 4 种铁源, (1)Fe(OH)₃, (2)FePS, (3)FeCl₃, (4)Fe(III)EDTA, 其中 Fe(OH)₃ 为粉状固体, 每盆(2L)加入 0.107g, 搅动溶液, 使其悬浮并吸附到根上, FePS 的供应是在加入 Fe(OH)₃ 的基础上每盆每日添加小麦根分泌物 100mol, 因此本文中将这两种铁源作为难溶性铁, FeCl₃ 和 Fe(III)EDTA 是易溶性铁, 浓度为 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。Fe(III)EDTA 是将一定浓度的 FeCl₃ 和 Na₂EDTA 溶液混合得到的。供铁 10 天后收获。

1.1.2 土培试验 采用北京大兴县砂土, 土壤 DTPA 浸提铁含量为 $9.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, pH 为

① 国家自然科学基金资助项目(39790700)。

8.21. 试验采用黑色塑料盆, 每盆装土 2.4kg, 在盆中部放置一个装有 0.65kg 细石英砂的尼龙网袋, 网孔为 $30\mu\text{m}$ 。豌豆种植在石英砂中, 土壤作如下处理:

(1)CK。只施 N, P, K 肥。施肥量分别为每公斤土壤施用 0.05gN, 0.10g P_2O_5 , 0.10g K_2O ; (2) $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 。除施用与(1)等量的 N, P, K 外, 每公斤土壤中再加入 0.5g $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 粉末; (3)FePS。同处理(2), 只是每两天浇一次小麦根分泌物, 每盆每次浇 200ml, 其它处理同时浇等量蒸馏水; (4) $\text{Fe}(\text{III})\text{EDTA}$ 。在 CK 的基础上按每公斤土壤 FeCl_3 0.5g, EDTA0.6 称量, 两者混合溶于水后与土壤拌匀。

1.2 小麦根分泌物的收集

小麦发芽后移至装有无铁营养液的 2L 塑料盆中, 每盆种植约 120 株, 营养液组成同 [10]。幼苗生长 1 周后开始收集。方法是每天上午 10:00 将小麦取出, 根系用去离子水冲洗后放入盛有 400ml 去离子水的塑料盆中, 通气收集 4 小时。

1.3 测定方法

叶绿素含量的测定采用丙酮提取, 分光光度法测定并计算叶绿素 a, 叶绿素 b 及总叶绿素的含量^[11]。根系质外体铁的测量同 [12]。铁还原力的测定参见 [9]。

2 结果与分析

2.1 不同铁源供应对豌豆生物量的影响

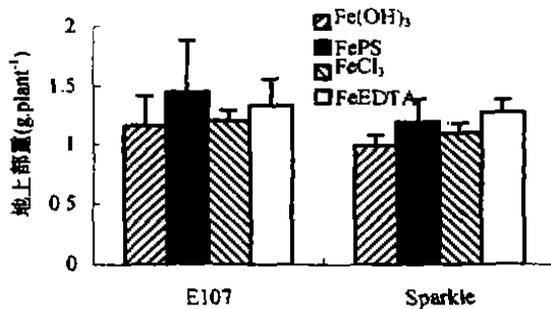


图1 不同铁源处理对豌豆地上部鲜重的影响

如图 1 和 2 所示, 无论是 Sparkle 还是 E107, 用 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 处理时植株地上部和根系生物量都较低。加入小麦根系分泌物后植株生长有所改善。 FeCl_3 对两基因型豌豆地上部生物量的作用与供应 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 时的效果相当。统计分析表明各处理差异不显著, 说明在较短时间内(10 天)不同铁源没有对植物生长产生明显的影响。

2.2 不同铁源对豌豆新叶叶绿素含量的影响

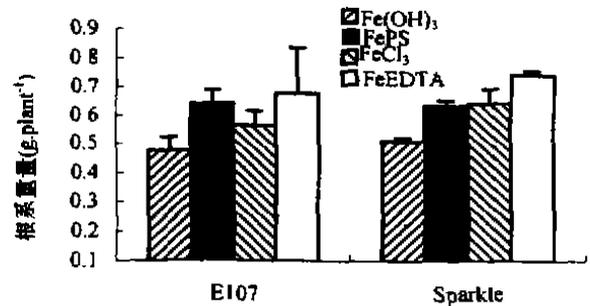


图2 不同铁源处理对豌豆根系鲜重的影响

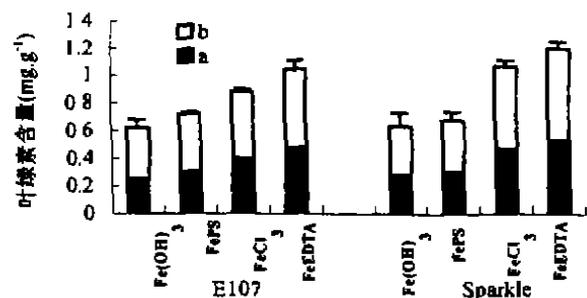


图3 不同铁源处理对豌豆新叶叶绿素含量的影响

从图3中可以看到,无论是 Sparkle 还是 E107,各处理新叶绿素 a, b 及总叶绿素含量依次是 $\text{Fe}(\text{OOH})_3 < \text{FePS} < \text{FeCl}_3 < \text{Fe}(\text{III})\text{EDTA}$, $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 与 FePS 处理相差不大。Sparkle 中可溶性铁处理叶绿素含量明显较高。E107 中 $\text{Fe}(\text{III})\text{EDTA}$ 与不溶性铁处理间差异显著, FeCl_3 与 FePS 效果相当, FeCl_3 处理明显高于 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 处理。

2.3 不同铁源处理对豌豆铁含量的影响

供应 $\text{Fe}(\text{III})\text{EDTA}$ 时,两基因型豌豆根部铁含量都很高, E107 和 Sparkle 分别为 1828.5 和 1096.5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$ (表1), E107 地上部铁含量也明显高于其余各处理,表明有较多的铁转移到了地上部。供应不溶性铁的植株根系和地上部铁含量都很低。E107 利用 FeCl_3 的能力强于 Sparkle, 根部铁含量达到了 1222.7 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$, 地上部铁含量也较 Sparkle 高。

表1 不同铁源处理对豌豆地上地下部铁含量的影响($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$)

部位	E107				Sparkle			
	$\text{Fe}(\text{OH})_3$	FePS	FeCl_3	FeEDTA	$\text{Fe}(\text{OH})_3$	FePS	FeCl_3	FeEDTA
地上部	178.2	168.4	250.2	554.3	150.4	169.9	195.7	192.1
根系	350.1	483.2	1222.7	1828.5	408.5	329.8	437.0	1096.5

2.4 不同铁源豌豆根际 pH 变化的影响

水培试验(1.1.1节)中,加入 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 可溶性铁后, 缺铁豌豆根际 pH 降低的速度有所减慢, 尤其是 Sparkle。由于缺铁时间较长, 所以即使加铁 5 天后 Sparkle 培养液 pH 值还是呈下降趋势。E107 自身的质子分泌特性也受到可溶性铁的一定影响。与 $\text{Fe}(\text{III})\text{EDTA}$ 相比, 加 FeCl_3 的 pH 降幅更大, 说明它对植物的有效性不如 $\text{Fe}(\text{III})\text{EDTA}$ 。 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 处理营养液 pH 降低速度最快, 加入 PS 后没有显著改变这种趋势(表2)。

表2 不同铁源处理时豌豆培养液 pH 值的变化

时间 (天数)	E107				Sparkle			
	$\text{Fe}(\text{OH})_3$	FePS	FeCl_3	FeEDTA	$\text{Fe}(\text{OH})_3$	FePS	FeCl_3	FeEDTA
1	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50
2	3.90	4.08	3.91	4.25	5.46	5.63	5.90	5.62
3	3.46	3.48	3.66	3.84	4.02	4.12	4.83	5.22
4	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50
5	3.80	3.83	4.12	4.81	4.37	4.42	5.90	6.00

注:第4天更换营养液。

2.5 不同铁源供应时根系质外体铁含量

外界的铁先要进入根系的质外体空间才能被吸收, 剩余的铁形成了根系质外体铁, 这是植物的临时铁库^[14]。两基因型根系质外体铁含量都是供应 FeCl_3 时显著较高, 供应 $\text{Fe}(\text{III})\text{EDTA}$ 时显著较低, 供 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 时居中, 加入 PS 后 Sparkle 质外体铁含量略有下降, E107 植株的降幅达一半以上, 但与 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 相比差异不显著。同处理的 Sparkle 根系质外体铁高于 E107(图4)。

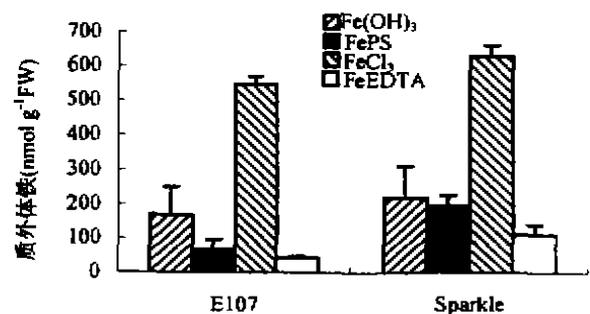


图4 不同铁源处理豌豆根系质外体铁含量

2.6 不同铁源供应时豌豆根系铁还原力的变化

供铁 13 天后两基因型豌豆都是供应不溶性铁时根系铁还原力显著较高, Sparkle 更为明显(图 5)。Fe(OH)₃ 与 FePS 的差异不明显, FeCl₃ 与 Fe(III)FDTA 处理间差异显著。测定时难溶性铁处理的 Sparkle 根系铁还原力较同处理的 E107 高, 这可能是 E107 利用能力强, 缺铁现象得到缓解, 而 Sparkle 仍然表现供铁不足造成的, 也可能是根系铁还原力周期性变化的结果。

2.7 土培条件下豌豆植株铁含量

土培条件下生长的植株地上地下部铁含量都较水培时低(表 3)。由于试验所用的土壤可溶性铁含量较高, 因而加入 Fe(OH)₃ 后植株铁含量并没有明显的变化。同时由于本试验中植株生长在石英砂里, 根与土壤没有直接的接触, 铁到根系主要靠扩散作用, 这与土壤水分状况关系密切。加入难溶性 Fe(OH)₃ 后因为根系不能直接与其接触, 它向根表的扩散有限, 故而没有增加植株对铁的吸收。加入 Fe(III)FDTA 后土壤可溶性铁含量增加, 植株吸铁量也相应提高了。加入 PS 后 E107 植株铁含量与对照相比没有明显差异。

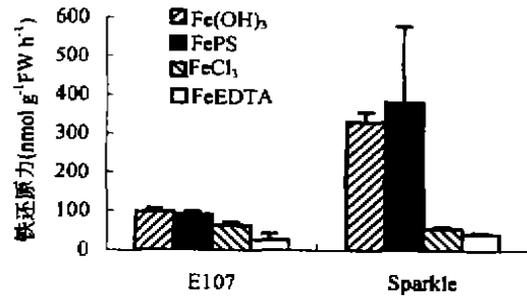


图 5 不同铁源处理豌豆的根系铁还原力

表 3 不同铁源供应的土培豌豆铁含量 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW}$)

部位	E107				Sparkle			
	CK	Fe(OH) ₃	FePS	FeEDTA	CK	Fe(OH) ₃	FePS	FeEDTA
地上部	67.2	83.4	73.25	102.2	40.8	25.9	33.4	122.4
根系	79.22	86.4	77.7	154.8	61.4	43.0	51.9	133.2

2.8 土培条件下豌豆根系铁还原力和质外体铁含量

在本实验条件下, 土培各处理豌豆的根系质外体铁含量都检测不出。

表 4 田间条件下豌豆植株的生物量、根系铁还原力及根系质外体铁含量

基因型	生物量 ($\text{g} \cdot \text{plant}^{-1}$)		根系铁还原力 ($\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$)	根系质外体铁 ($\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)
	地上部	根系		
Sparkle	9.50 ± 2.12	3.51 ± 0.89	123.6 ± 17.6	59.8 ± 10.9
E107	2.80 ± 0.69	0.65 ± 0.15	1087.8 ± 378.9	261.2 ± 90.6

表 4 是田间生长的豌豆的测定结果。此时豌豆已经生长了 50 天, 处于初花期。土壤是 pH 约为 8.05 的石灰性潮土, DTPA 浸提铁含量为 $12.8 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。在此条件下, E107 出现了严重的铁中毒现象, 它的初生第 1~3 叶都已经死亡, 成熟叶片陆续出现坏死斑, 植株矮小瘦弱。从表中可以看出, E107 植株地上地下部生物量明显低于 Sparkle 植株, 根系铁还原力大大高于 Sparkle, 单位根鲜重质外体铁含量也明显高于 Sparkle 植株。

3 讨论

很多研究认为螯合态铁容易为植物利用, 其中植物铁载体-铁螯合物的有效性最高⁽¹³⁾。

人工螯合剂中 FeEDDHA 最好^[2], FeEDTA 好于 Fe Cit^[14]。FeCl₃ 可以被叶肉细胞高效利用^[15], 但在根中不是主要的电子受体^[16], 本试验也看到螯合态的 Fe(III)EDTA 能被豌豆很好地吸收利用, 土壤条件下的有效性也最好。

FeCl₃ 虽然是可溶性铁, 但由于溶液 pH 为 6.50, 而在 pH 高于 5 时, 氢氧化铁胶体的形成会将溶液中 Fe³⁺ 浓度降低到几乎检测不出的水平^[5]。即使根系酸化使溶液 pH 值降至 3.5, 溶液中磷的作用使得 Fe³⁺ 浓度也仅为 1.6 μmol·L⁻¹。试验发现 FeCl₃ 处理在盆底有 Fe(OH)₃ 沉淀。溶液中形成的氢氧化铁胶体颗粒较小, 沉降速度也比较慢, 易被根系吸附, 因而有效性也较高, 植株表现良好。氢氧化铁胶体的大量吸附也是测定的 FeCl₃ 处理质外体铁含量高的原因。这和 Zhang 等人^[17]的结果一致。E107 根际酸化和还原吸收铁的能力很强, 它可以高效利用吸附在根表的氢氧化铁胶体, 供 FeCl₃ 时铁吸收量很高和铁含量高。而 Sparkle 相对吸铁能力弱, 因而 FeCl₃ 处理时铁含量较低。以上结果说明新鲜的无定型 Fe(OH)₃ 不仅能被机理 II 植物高效利用^[4]。而且也能为机理 I 植物提供有效铁源。土壤中微生物的作用会在根表形成大量的新鲜无定型 Fe(OH)₃^[7]。因而具有重要的生态意义。

难溶性的 Fe(OH)₃ 粉末只有吸附在根表的那部分易于被活化吸收, 所以豌豆仍表现出还原力上升等缺铁反应。虽然此时植株根际酸化能力增强。如 E107 和 Sparkle 培养液 pH 值分别达到 3.46 和 4.02, 但固体 Fe(OH)₃ 的溶解量仍然很低, 溶液中铁离子浓度最多只有 8.7 × 10⁻¹⁰ ~ 4.2 × 10⁻⁸ mol·L⁻¹, 难以满足植物的需要^[5]。土壤条件下由于与根接触的土壤溶液很少, 因而根际 pH 的降低会远大于溶液培养, 而 pH 每降低一个单位 Fe(OH)₃ 的溶解性会提高 1000 倍, 所以与根系紧密接触的 Fe(OH)₃ 容易被根系利用。本试验观察到: 移苗时将 Fe(OH)₃ 粉末大量粘附在根表时, 豌豆新叶黄化症状出现较完全不供铁的晚 3 天左右。

本试验中使用小麦根分泌物收集液无论水培还是土培都没有表现出明显的效果, 其原因可能有: (1) 收集液中 PS 含量低。小麦生长时间较长。分泌高峰可能已经过去^①; 种植过密, 小麦根系生长不良, 影响了分泌物的数量。(2) 微生物分解了小麦分泌的 PS^[4]。由于收集液量多(400ml), 即使在分泌高峰, PS 的浓度最多也只能溶出 2.5 μmol·L⁻¹ Fe³⁺, 且随微生物的分解迅速降低。但在土壤中单子叶与双子叶植物根系分布区重叠时, 可能会有单子叶植物根系分泌物溶出的铁被双子叶植物利用的情况发生。因为土壤局部 PS 浓度远比收集液中高, 溶出的铁也必然更多。

水培中 10 μmol·L⁻¹ Fe(III)EDTA 处理的豌豆根系质外体铁含量并不高, 说明到达根表的螯合态铁容易穿过细胞壁并被根系迅速吸收。从铁含量结果分析可知, Fe(III)EDTA 处理的 E107 吸收了所加入铁量的一半, Sparkle 也吸收了约 1/3。土壤条件下 Fe(III)EDTA 处理也没有测出根系质外体铁。这是由于在 pH 值较高(7.55 左右)的旱地土壤中铁在螯合-解离平衡, 沉淀-溶解平衡及氧化-还原平衡的作用下降低有效性, 尤其是浇水量不高时, 铁的扩散作用较慢, 且根被限制在较小的空间内, 不与土壤互相接触, 尼龙网壁与土壤的接触面积小, 网内石英砂持水力弱, 这些都限制了根系获得铁的能力。所以即使在土壤有效铁含量较高, 施铁量也较多, 植株体内铁含量依然较低, 并且没有形成根系质外体铁。当根系直接生长在土壤里时, 虽然土壤 pH 值更高, 达 8.05 左右, 但是由于根系与土壤广泛接触, 根系活化铁的机制可

① 陈清, 植物高铁载体的释放及其活化土壤微量元素机制。北京农业大学硕士论文, 1993。

以充分发挥作用,在这样高的土壤有效铁条件下就可以形成较多的根系质外体铁(表4)。

4 结论

豌豆对难溶性铁有一定的利用能力,基中 E107 高于 Sparkle。这与根系和难溶性铁的接触程度,根系缺铁适应性反应强弱,难溶性铁的结晶程度等有关。螯合态小分子可溶性铁对植物的有效性高,在高 pH 值时也能满足植物的需求。难以进入根系的 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 粉末和易被吸收的螯合态铁都不能形成大量的根系质外体铁,新鲜的无定形 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 既能满足植物当时的铁需求,又能通过大量积累根系质外体铁,在终止供铁后维持植物的正常生长。

参 考 文 献

- 1 邹邦基,何雪晖编著.植物的营养.北京:农业出版社,1985
- 2 Mortvedt JJ. *Plant Soil*, 1991 130:273~279
- 3 Guernet ML, Yi, Y. *Plant Physiol*, 1994, 104:815~820
- 4 Marscher H, Romheld V. Strategies of plants for acquisition of iron. In: *Iron Nutrition in Soils and plants* (ed. Abadia J). pp. 375~388. Kluwer academic publishers, the Netherlands, 1995
- 5 Lindsay WL, Schwab AP. *J. of Plant Nutr*, 1982, 5:821~840
- 6 O'connor GA, Lindsay WL, Olsen SR. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 1971, 35:407~410
- 7 Marschner H, Romheld V. Strategies of plants for acquisition of iron. In: *Iron Nutrition in Soils and Plants* (ed. Abadia J). pp. 375~388. Kluwer academic publishers, the Netherlands, 1995
- 8 Grusak MA, Kochian L V, Welch R M A transport mutant of pea for the study of iron absorption in higher plant roots. In *Proceedings of XIth International Plant Nutrition Colloquium* (ed., IML van Beusichem), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 1990
- 9 崔骁勇.豌豆根系质外体铁的积累和消耗.植物营养与肥料学报(已接收),1998
- 10 Zhang F, Romheld V, Marschner, H. *Z. Pflanzenernahr. Bodenk* 1989. 152:205~210
- 11 内蒙古大学生物系.植物生态学试验.北京:高等教育出版社,1984, 55~57
- 12 Bienfait HF, van der Briel W, Mesland-Mul NT. *Plant Physiol*.1985, 78:596~600
- 13 Romheld V. Marschner H. *Plant Physiol* 1990. 80:175~185
- 14 Romheld V, Marschner H. *Plant Phys.* 1983, 71:949~954
- 15 Bruggemann W, Mass-Kantel K, Moog PR, *Planta*, 1993, 190:151~155
- 16 Schmidt W, Fariesch P. *J. Plant Physiol*, 1991. 138:450~453
- 17 Zhang, FS et al., Role of the root apoplasm for iron acquisition by wheat plants. *Plant Physiol* 1991, 97:1302~1305