

大豆铁素营养诊断适用指标的研究*

符建荣

秦遂初

(浙江省农业科学院)

(浙江农业大学)

摘 要

砂培试验研究大豆铁素营养诊断的生理指标。结果指出:在过氧化氢酶等四种生化指标中,叶片过氧化氢酶不仅能明确指示缺铁症,且测定方法简便,是较好的生化诊断指标。叶片硝酸还原酶、根系细胞色素氧化酶对佐证缺铁症也有辅助作用,过氧化物酶则不具诊断价值。在常规诊断指标中,叶片活性铁含量、叶绿素总量及 a/b 值对供铁浓度反映敏感,较之植株全铁量, P/Fe、Mn/Fe 和 Fe/Zn 等更能直接反映铁营养状况。

本文提出以叶片过氧化氢酶活性结合活性铁、叶绿素总量和 a/b 值作早期潜在性缺铁诊断的综合指标。

关键词 大豆;铁;诊断指标

大豆属于缺铁敏感作物之一。在我国北方大豆产区及南方部分石灰性土壤上,大豆缺铁时有发生。国内外近期的一些报道,大多集中在大豆对缺铁胁迫的响应机制问题^[1,4,8],较少涉及铁素营养的丰缺诊断。基于缺铁诊断和矫治在生产中的迫切性。本文用盆栽试验,对大豆铁素营养与几项生理指标的关系进行了研究,探索大豆缺铁诊断的适用性生理指标。

材料和方法

选用大豆品种“浙春”2号,用 Hoagland 营养液砂基培养供试作物。前后进行2次,第一次设0、0.05、0.5、1.5和2.5ppm Fe5个处理,重复3次;第二次设0、0.05、0.25、0.5、1.0和1.5ppm Fe6个处理,重复7次。以 EDTA-Fe 作铁源。于缺铁症出现前后取样测定各

* 本文于1990年8月27日收到。

This paper was received on Aug. 27, 1990.

项生理指标。

过氧化氢酶活性测定参考文献^[2]。

过氧化物酶性测定:样品在冰浴中用0.1M Tris-HCl 缓冲液[pH8.5]研磨,离心后取上清液与反应混合液[由0.2M 磷酸缓冲液(pH6.0)、30% H_2O_2 和愈创木酚组成],在30℃恒温下作用4分钟,波长470nm 处测吸光值的变化率,以 $\Delta 470/\text{分} \cdot \text{克鲜重} \cdot 30^\circ\text{C}$ 为酶活性单位。

硝酸还原酶测定按文献^[3]。

细胞色素氧化酶活性测定:在冰浴中用线粒体提取液[含0.1M 磷酸缓冲液(pH7.4),0.4M 蔗糖,0.05M EDTA]提取根细胞中的线粒体用二甲基对苯二胺比色测定酶活性^[10]。

叶片活性铁测定按 Katyal 法^[6];叶绿素测定用混合法^[11];矿质养分全部用常规法。

结果与分析

当供试大豆品种培养至三叶期时,供 Fe 在0~0.25ppm 之间,新出叶脉间失绿,开始表现不同程度的缺铁症状,0.5ppm 以上生长正常。2次砂培结果相同。

(一)大豆铁素营养丰缺的酶学反应

1. 过氧化氢酶和过氧化物酶

过氧化氢酶和过氧化物酶是两种典型的含铁酶,不同研究者对这两种酶在缺铁生化

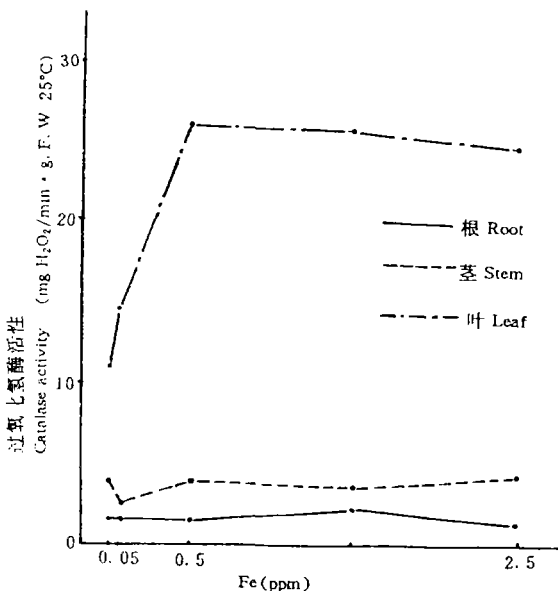


图1 供铁水平对大豆过氧化氢酶活性的影响

Fig. 1 Effect of Fe levels on catalase activity of soybean plant

诊断中的意义持不同观点^[5,7,9]。由本试验结果,大豆植株各部位的过氧化氢酶活性有很大差异。根和茎部酶活性不仅远较叶片低,对供铁浓度变化的反应亦不敏感,因而缺乏诊断价值。叶片过氧化氢酶活性对铁素营养丰缺反应较敏感,供 Fe 浓度<0.5ppm 时,植株缺铁症明显,酶活性极低,0.5ppm 以上,植株生长正常,酶活性高而且各处理间相对恒定,说明当 Fe 营养满足其正常生长需要时,酶活性有一相对恒定值(图1),由图1正常生长的大豆叶片该酶活性约为25单位,明显低于此值时则有可能出现缺铁症。过氧化物酶在大豆植株各部位的分布以根>茎>叶,除根部酶活性随供 Fe 水平的提高而略有变化外,其它部位

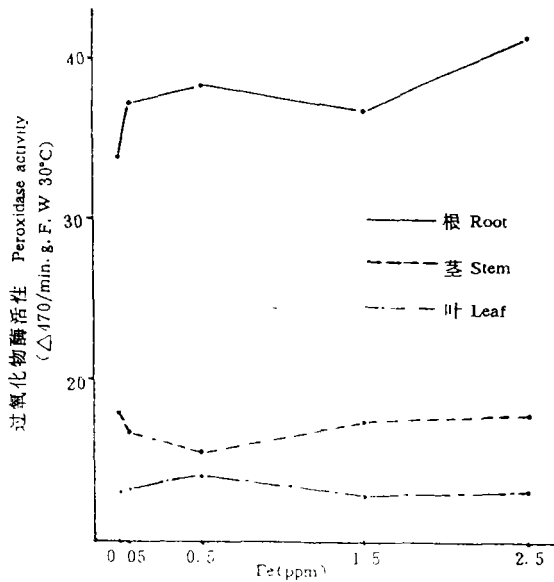


图2 供铁水平对大豆过氧化物酶活性的影响
Fig. 2 Effect of Fe levels on peroxidase activity of soybean plant

的酶活性对供 Fe 反应均不敏感(图 2),因而否定了其作为诊断指标的可能性。

2. 叶片硝酸还原酶和根系细胞色素氧化酶

硝酸还原酶的辅基中含有细胞色素 b,其活性受植株铁营养的影响。测定结果显示(图3),二叶期,大豆叶片硝酸还原酶活性对供铁浓度的反应,类似过氧化物酶。于低 Fe 浓度范围内(0~0.5ppm),其活性随 Fe 浓度提高而急剧上升,0.5ppm 以上时,各处理间差异不明显。

根系细胞色素氧化酶虽不是含铁酶,但其活性亦随供铁浓度的提高而上升(图3),尤其是在缺铁症出现后的三至四叶期,酶活性与营养液供铁浓

度直线相关(相关系数分别为0.966**和0.936**)。表明该酶活性对大豆铁营养状况亦具有指示作用。

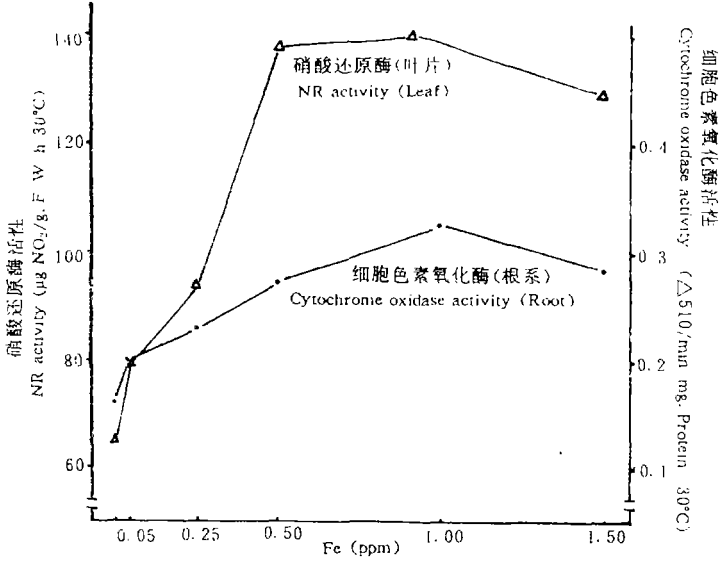


图3 供铁水平与大豆叶片硝酸还原酶和根系细胞色素氧化酶活性的关系
Fig. 3 Effect of Fe levels on NR activity of soybean leaf and cytochrome oxidase activity of soybean root

(二)不同供铁水平下大豆叶片叶绿素总量和 a/b 值的变化

叶绿素的量的变化,对铁素营养的反应是极其敏感的。但与叶绿素形成有关的养分元素较多,单以叶绿素总量不能指示失绿是否由缺铁引起。实验数据表明(表 1),无论是在三叶期或四叶期,正常大豆叶片的叶绿素总量在 1.99~2.94mg/克鲜重之间,a/b 值在 2.6~3.34 范围内,缺铁时,叶绿素大幅度下降,同时 a/b 值上升至 3.58~7.00 左右,特别是在缺铁症进一步深化的四叶期,叶绿素 a/b 值为正常植株 1.6~2.2 倍。因此认为,叶绿素总量结合 a/b 值的变化对缺铁症更具鉴别意义。

表 1 供铁水平与大豆叶片叶绿素总量及 a/b 值的关系
Table 1 Relationship between rates of Fe applied and chlorophyll content and ratio of chl. a/chl. b in soybean leaves

处理 Treatment Fe (ppm)	叶绿素总量(mg/g · F · W) Chlorophyll content							
	三叶期 Trifoliate				四叶期 Four leaves stage			
	chl. a	chl. b	总 量	a/b	chl. a	chl. b	总 量	a/b
0	0.81	0.23	1.04	3.58	0.07	0.01	0.08	7.00
0.05	1.11	0.27	1.38	4.11	0.42	0.08	0.50	5.06
0.50	1.53	0.46	1.99	3.34	1.90	0.60	2.50	3.17
1.50	1.69	0.51	2.20	3.33	1.94	0.63	2.57	3.08
2.50	1.64	0.50	2.14	3.31	2.08	0.86	2.94	2.60

(三)不同供铁水平下,大豆植株矿质元素含量及比值的变化

在常规诊断中,以全 Fe 量及活性 Fe 含量作铁素营养丰缺指标的较为常见。本试验测定结果表明(表 2),用 Katyal 法测定的大豆叶片活性铁含量高低与培养液供 Fe 浓度,植株缺铁症的有无及轻重有较好的一致性。在三叶至四叶期,供铁 0~0.25ppm 的各个处理,叶片活性铁大致都低于 12ppm,植株表现不同程度的缺铁症。大豆植株(地上部分)全 Fe 量也有类似规律,介于缺铁与正常植株之间的全 Fe 含量约为 200ppm。其它矿质元素含量,在二叶期各处理间级差不甚明显,三叶至四叶期,可见以下趋势:缺铁植株 N、P 含量略有下降;K、Ca 含量变化不明显;微量元素 Mn 和 Zn 则明显提高。可见,缺铁引起的不只是含 Fe 量的改变,元素间的平衡发生了相应的变化,因而有报道认为,矿质元素比值如 K/Ca、P/Fe、Mn/Fe 及 Fe/Zn 等更能反映 Fe 素营养的丰缺。

本文按三、四叶期的分析结果,计算各元素间的比值,并对各项比值之间作相关分析,结果指出(表 3):如以叶片活性铁含量作参考指标,则植株 Mn/Fe 和 Fe/Zn 与该项指标的相关性分别达极显著或显著水平,K/Ca 和 P/Fe 与该项指标的相关性较差。以全 Fe 量作参比标准时,P/Fe、Mn/Fe 和 Fe/Zn 均与此极显著相关。说明除 K/Ca 外,上述各元素比值对缺铁诊断均具参考价值。

表2 大豆植株矿质元素及叶片活性铁含量

Table 2 Content of mineral elements in soybean shoots and active Fe in soybean leaves

发育时期 Developmental stage	处理 Treatment Fe (ppm)	植株矿质元素 Mineral elements in soybean shoots							叶片活性铁 Active Fe in leaves (ppm)
		N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Zn (ppm)	
三叶期 Trifoliate stage	0	3.87	0.51	3.87	1.98	172	98	104	8.6
	0.05	3.90	0.58	3.76	1.95	198	87	112	11.9
	0.25	4.01	0.61	3.98	2.01	189	69	97	12.2
	0.50	4.11	0.59	4.01	1.87	217	72	89	16.1
	1.00	4.03	0.59	4.21	2.04	208	71	63	14.9
	1.50	4.19	0.60	4.18	2.08	241	78	70	15.8
四叶期 Four leaves stage	0	3.70	0.47	3.41	2.12	158	113	86	7.2
	0.05	3.52	0.48	3.12	2.07	199	111	55	10.8
	0.25	3.48	0.46	3.17	1.99	190	106	58	12.3
	0.50	3.86	0.52	3.51	2.04	242	98	43	15.9
	1.00	3.85	0.51	3.19	1.89	279	105	61	13.9
	1.50	3.84	0.48	3.20	1.89	251	77	40	14.8

表3 大豆植株全 Fe 量、元素比值及叶片活性铁之间的相关分析

Table 3 Correlation between total Fe ratio of mineral elements in soybean shoots and active Fe in soybean leaves

相关因子 Correlation elements	K/Ca	P/Fe	Fe/Zn	Mn/Fe	全 Fe Total Fe	活性 Fe Active Fe
K/Ca	1					
P/Fe	0.504	1				
Fe/Zn	-0.404	-0.901**	1			
Mn/Fe	-0.565	0.296	-0.432	1		
全 Fe (Total Fe)	-0.01	-0.825**	0.782**	-0.722**	1	
Fe (Active Fe)	0.375	-0.479	0.587*	-0.892**	0.722**	1

讨 论

作物缺铁已成为世界性关注的问题,但迄今尚无有效的方法能从根本上矫正已经发生的缺铁症。也就是说,一旦作物在外部形态上表现症状时,矫治已十分困难。因此尽管缺铁症不难以目视诊断加以判别,而此时矫治效果有限,为提高矫治效果,早期诊断已为大家重视。

酶学方法被认为是实现潜在性养分丰缺诊断的有效手段。就 Fe 素营养而言,目前用于诊断的主要依据为几种含铁酶的活性与铁营养之间的关系。本文对过氧化氢酶等四种酶的测定结果已表明,过氧化氢酶和硝酸还原酶对供 Fe 浓度的反应有类似趋势,缺 Fe 时活性降低,供 Fe 充足时,活性高且不再受 Fe 浓度继续增加的影响,因而都具备诊断指标的基本条件。但硝酸还原酶是一种诱导酶,其活性受作物体内 NO_3^- 的影响也很大,诊断的专一性如何尚难定论,此外分析结果的稳定性也不及过氧化氢酶。根系细胞色素氧化酶活性虽能反映环境供 Fe 状况,但分析过程繁杂,实施费时,生产中应用有一定的局限性。过氧化物酶活性与大豆铁营养之间的关系没有明确的规律性,不宜作诊断指标。

在本文测定的几种常规诊断指标中,用 Katyal 法测得的叶片活性 Fe 含量,较能明确地指示缺铁症。植株全 Fe 量尚属争议的指标之一,这项测定对样品的处理要求高,特别是在田间条件下采集的样品,极少的尘埃或土壤污染均要引起极大的分析误差,以致经常有失绿叶片全 Fe 量甚至高于正常叶的报道。由于元素比值 P/Fe 、 Mn/Fe 和 Fe/Zn 均基于全 Fe 测定,因而也具类似的局限性。此外,除活性铁以外,其它指标的明显变化与外部症状出现基本同步,于潜在性诊断意义不大。

叶绿素含量对铁素营养的反应极为敏感,其不足之处是诊断缺乏专一性。本实验揭示的缺铁时叶绿素总量急剧下降同时伴随 a/b 值明显上升这一现象提示,两项指标的结合对缺铁症更具有鉴定意义。

综上所述,不论是生化指标或常规分析指标,以任一单项指标诊断缺铁特别是潜在性早期诊断似有困难。本文主张以过氧化氢酶为代表的生化指标,结合活性铁,叶绿素总量及 a/b 值等常规分析,实行综合诊断。就本试验大豆品种而言,三叶期叶片过氧化氢酶活性低于 25 酶单位,活性铁含量 12 ppm 以下,叶绿素总量明显下降及 a/b 上升至 3.5 以上时,可初步确定缺铁症的发生,但这一结论有待于田间试验进一步验证。

参 考 文 献

- [1] 吴明才,1989,大豆科学,8(4)
- [2] 章骏德等编,1982,植物生理实验法,江西人民出版社
- [3] 华东师范大学生物系,植物生理教研组编,1980,植物生理学实验指导,人民教育出版社

- [4] Davis, T. D., V. D. Jolley, R. H. Walser, J. C. Bromn and A. D. Blaylock, 1986, *J. Plant Nutr.* 9(3—7): 671—681
- [5] Delrio, L. A., M. Gomez, Yanez, A. Leal and J. L. Gorge, 1978, *Plant Physiol.* 49: 343—353
- [6] Katyal, J. C. and B. D. Sharpe, 1980, *Plant Soil.* 55: 105—119
- [7] Leidi, E. O., M. Gomez and M. D. Dela Guardia, 1986, *J. Plant Nutr.* 9(9): 1239—1249
- [8] Sain, S. L. and Gordon V. Johnson, 1986, *J. Plant Nutr.* 9(3—7): 729—750
- [9] Ulmer, R. L., F. A. Haskins and W. R. Akeson, 1971, *Crop Sci.* 11: 816—818
- [10] 浙江农业大学植物生理教研组编, 1986, 植物生理学实验指导
- [11] 陈福明等, 1984, 浙江林业科学研究所研究报告, (3)

STUDY ON INDICATORS FOR DIAGNOSIS OF Fe—DEFICIENCY OF SOYBEAN PLANT

Fu Jianrong

Qin Suichu

(*Zhejiang Academy of Agricultural Sciences*)

(*Zhejiang Agricultural University*)

Abstract

Sand culture experiment on soybean cultivar "Zhe Chun" No 2 was carried out to study the indicators for diagnosis of Fe—deficiency. Results showed that: Catalase activity in soybean leaves was quite low when the Fe supply in culture solution was unsufficient to plant, and it increased to a high level as the Fe concentration increased and become relatively stable when Fe level was above 0.5 ppm. This indicates that the enzyme activity can be used as a biochemical indicator for diagnosis of Fe—deficiency. The fact that change in RN activity in leaves and the cytochrome oxidase activity in roots was influenced by Fe status in soybean plant showed that these two enzymes can also be used as reference in diagnosis of Fe—deficiency. Under Fe—deficiency the chlorophyll content of soybean leaves decreased while the ratio of chl. a/chl. d increased markedly. When the active Fe content in leaves was below 12 ppm, the symptom of Fe—deficiency appeared. Correlation analysis showed that the total Fe content, Fe/Zn and Mn/Fe in soybean shoots correlated significantly with active Fe in leaves.

It is suggested from the experiment results that the catalase activity combined with active Fe, and the ratio of Chl. a/Chl. b be used as integrated indicators to predict Fe—deficiency of soybean plant in early development stage.

Key words Soybean; Fe.