

## 磷铁营养对大豆种子铁和植酸积累的影响

王 贤<sup>1,2</sup>, 刘晓萌<sup>1</sup>, 杨青春<sup>3</sup>, 陈 龙<sup>1</sup>

(1. 周口师范学院 生命科学系, 河南 周口 466000; 2. 南京农业大学 生命科学学院, 江苏 南京 210095; 3. 周口市农业科学院, 河南 周口 466001)

**摘 要:**以铁含量低的周 97(Z97)和铁含量高的科丰 36(K36)为材料,研究了不同磷铁营养对大豆种子中铁与植酸积累的影响以及植酸与蛋白质的关系。结果表明:不同磷处理极显著地影响种子中植酸与铁的积累,品种间存在一定差异;不同铁处理对种子中铁含量的影响趋势相似,K36 受影响的程度明显大于 Z97;种子中植酸与铁、植酸与蛋白质均无显著相关性;限制种子中铁积累的主要环节是铁从根向豆荚的运输以及豆荚向种子的转运,并且品种间的遗传差异可以影响铁从豆荚向种子的转运。

**关键词:**大豆种子;铁含量;植酸含量;蛋白质含量;磷素营养;铁素营养

**中图分类号:**S330.2

**文献标识码:**A

**文章编号:**1000-9841(2010)04-0651-04

## Effects of Iron and Phosphorus Nutrition on the Contents of Iron and Phytic Acid in Soybean Seeds

WANG Xian<sup>1,2</sup>, LIU Xiao-meng<sup>1</sup>, YANG Qing-chun<sup>3</sup>, CHEN Long<sup>1</sup>

(1. Department of Life Science, Zhoukou Normal University, Zhoukou 466000, Henan; 2. Botany Department, College of Life Science, Nanjing Agriculture University, Nanjing 210095, Jiangsu; 3. Zhoukou Institute for Agricultural Research, Zhoukou 466001, Henan, China)

**Abstract:**Two soybean cultivars, Z97 (low iron content) and K36 (high iron content), were selected as materials to study the effect of different phosphorus and iron nutrition on the contents of iron and phytic acid as well as the relationships between phytic acid and protein in seeds. The results showed that different phosphorus nutrition had a quite significant affection on the accumulation of phytic acid and iron contents in soybean seeds and the affection extent was different between the two cultivars, and the response trend of the two cultivars to the different iron nutrition level was similar, however, the affection content of K36 was greater than that of Z97. Besides, it was observed that phytic acid content was not correlated with protein and iron accumulation in soybean seeds. In conclusion, it was proved that the main limit factor of iron accumulation were the transport of iron from roots to soybean pods and the translocation from pods to seeds, and the genetic variation of soybean germplasm had a significant affection on the translocation of iron from pods to seeds.

**Key words:**Soybean seed; Iron; Phytic acid; Protein; Phosphate nutrition; Iron nutrition

铁的主要功能是作为血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素酶及某些呼吸酶的成分参与体内氧与二氧化碳的转运、交换和组织呼吸过程,同时还参与一些生物转化作用。铁在机体的生物有效性不仅取决于其数量和结构性质,而且还受其它因子(如抑制因子植酸、丹宁、多酚等)的影响<sup>[1]</sup>。缺铁现象在人群中较为常见,严重者会造成缺铁性贫血病。我国缺铁性贫血占贫血病患者的比例很高,城市为 50%,农村则高达 70%<sup>[2]</sup>。作物种子中铁的含量及生物有效性已逐渐成为人们关注的问题<sup>[3]</sup>。植物体内的植酸(phytic acid, PA)可以与铁螯合而阻碍人体对铁的吸收<sup>[4-5]</sup>,许多作物种子及其加工食品中植酸含量很高,且性质稳定不易分解,是影响人

体对植物性食物中铁吸收的主要因素。另外,由于单胃动物不能消化植酸,作物中的高植酸在阻碍人体对铁的吸收的同时,还造成了有机磷的环境污染<sup>[6]</sup>。因此,降低农作物种子中植酸含量、提高铁含量与改善铁生物有效性的研究具有十分重要的现实意义。

近些年来,人们为了降低作物种子中植酸的含量从作物栽培和作物诱变育种方面进行了许多探索<sup>[7-8]</sup>。此外,为了提高铁在种子中的积累,在作物栽培方面也做了一些尝试性的研究<sup>[9-12]</sup>。但在高铁、低植酸、高产与优质等综合指标的杂交育种研究上还未取得实质性的进展。

大豆是我国的主要粮食作物之一,食物及动物

收稿日期:2010-02-06

基金项目:河南省教育厅自然科学基金资助项目(2008A180038)。

第一作者简介:王贤(1968-),男,副教授,在读博士,研究方向为农作物微量元素营养品质。

通讯作者:陈龙,教授。E-mail: chenlongzg@126.com。

饲料的重要蛋白质来源<sup>[13-14]</sup>。然而,大豆种子中随着铁含量的升高植酸含量也很高<sup>[3]</sup>,植酸主要在种子发育及成熟阶段积累<sup>[15]</sup>。因此在种子发育、成熟乃至后熟阶段进行生理调节以降低植酸含量并提高铁含量可能是一个切实有效的途径。此外,蛋白质是作物中重要的营养物质,关于植酸与蛋白之间关系的报道不尽一致<sup>[16-17]</sup>。因此,选择大豆作为材料,通过研究不同磷素与铁素营养对种子中铁和植酸积累影响,探讨磷铁素营养与种子中铁、植酸及蛋白之间的关系,旨在为提高大豆的铁营养奠定一定的理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

以植酸含量低的大豆品种周 97(Z97)和植酸含量高的科丰 36(K36)为材料,进行石英砂盆栽培养,开花前用 Hoagland 营养液培养,开花后分为 5 个处理。各处理营养液分别为(表 1):正常 Hoagland 营养液,不含  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  营养液(nP),3 mmol · L<sup>-1</sup>  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  营养液(3P),含 5 mmol · L<sup>-1</sup> Fe EDTA (5Fe)营养液,不含 Fe EDTA(nFe)营养液。每升营养液均加入 1 000 × Hoagland 微量元素营养母液混合液 1 mL。选择  $\varphi 25\text{ cm} \times 30\text{ cm}$  的花盆用于大豆培养;选用  $\varphi 35\text{ cm} \times 10\text{ cm}$  的水盆作底座,石英砂深度 20 cm。大豆植株收获后,对大豆种子、豆荚以及豆根进行铁和植酸的含量等有关指标的测定。

表 1 5 种处理营养溶液的化学组成

Table 1 Components of the five treatment solutions/mol · L<sup>-1</sup>

盐类 Salts	Hoagland	nP	3P	nFe	5Fe
$\text{KNO}_3$	5	6	3	5	5
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	5	4.5	5	5	5
$\text{MgSO}_4$	2	2	2	2	2
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1	0	3	1	1
$\text{CaCl}_2$	0	0	1	0	0
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	0	0.5	0	0	0
FeEDTA	0.1	0.1	0.1	0	0.5

### 1.2 测定项目与方法

植酸含量的测定参考 Huang 和 Lantzsch 的 2, 2'-联吡啶快速测定法<sup>[18]</sup>。

铁含量的测量:称取 0.5 g 样品,加入高氯酸与硝酸混合液(13:87),在消煮炉消煮,切忌升温过快,140℃前每小时升高 20℃,140℃后每小时升高 10℃,至 190~200℃时停止升温,继续加热至溶液透明或微黄,溶液体积约 1~2 mL;用蒸馏水定容至 25 mL,若有沉淀可适当加入 1~2 mL 浓盐酸;用原子吸收分光光度计测定 Fe 含量。

蛋白质含量的测定:用远红外蛋白质分析仪测定,仪器型号为 Infratech 1255 Food & Feed Analyzer。

数据采用 3 次重复的平均值,结果用 SPSS13.0 和 Excel 统计软件分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理对种子中植酸含量的影响

由图 1 可以看出,磷铁素营养水平对 2 个品种大豆种子中植酸的积累有显著影响。在正常磷铁素营养水平(Hoagland 营养液培养)下,Z97 植酸积累量最高,K36 种子也较高,品种间虽有一定差异但不显著。磷素营养水平显著影响植酸的积累。高磷处理(3P)降低了 Z97 种子的植酸含量,而使 K36 植酸含量升高;无磷处理(nP)极显著降低了 2 个品种种子中植酸的含量,与 Hoagland 营养液培养相比差异达到极显著水平( $P < 0.01$ ),在 K36 品种中表现得更加明显。铁素营养水平也影响植酸的积累。高铁处理(5Fe)降低了 2 品种的植酸含量,Z97 的植酸含量下降明显;无铁处理(nFe)显著降低了 Z97 种子的植酸含量,而使 K36 植酸的含量有一定升高。2 种营养素相比,磷素营养较铁素营养对植酸积累影响大,低水平的磷素营养和高水平的铁素营养有利于降低植酸的积累。2 个品种相比,在 Z97 中植酸的积累受磷铁营养均衡影响显著大于 K36。在磷铁营养不均衡时,由于磷铁拮抗的影响使有效磷素含量的降低,从而限制了种子中植酸的积累<sup>[19]</sup>。

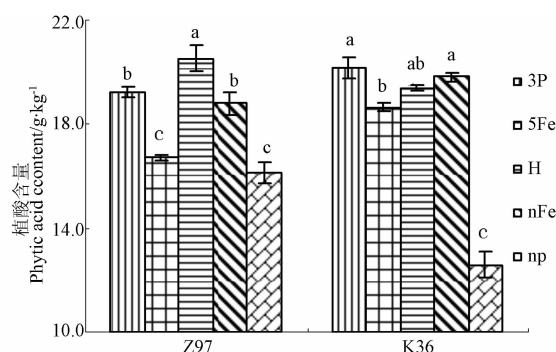


图 1 2 个品种不同处理种子中植酸含量

Fig. 1 Phytic acid content in seeds of two soybean cultivars under different treatments

### 2.2 不同处理对种子中 Fe 含量的影响

铁磷素营养水平对 2 个品种大豆种子中铁的含量有显著影响,且品种间差异明显(图 2)。在正常营养水平下,K36 种子的铁含量是 Z97 的 1.42 倍。不同铁处理对 Z97 与 K36 种子中铁积累的影响程度不同。高铁处理(5Fe)降低了 2 个品种的铁积累,K36 铁含量下降幅度较 Z97 明显;无铁处理(nFe)降低了

种子中铁的含量, K36 中铁含量的下降极为显著。磷素营养水平也显著影响了铁的积累。高磷处理 (3P) 极显著地降低了 Z97 种子的铁含量, 却使 K36 铁含量明显升高; 无磷处理 (nP) 降低了 2 个品种种子中铁的含量, 在 K36 中下降幅度较大。铁素营养对 K36 铁积累的影响程度大于 Z97, 而磷素营养对 Z97 铁积累的影响程度大于 K36。

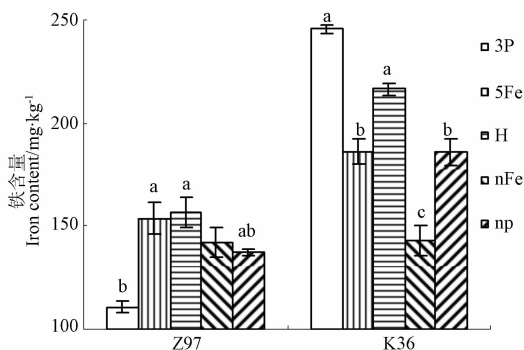


图 2 2 个品种不同处理种子中铁含量

Fig. 2 Iron content in seeds of two soybean cultivars under different treatments

### 2.3 不同处理对种子蛋白质含量的影响

不同磷铁处理对大豆种子蛋白质含量的影响较小。Z97 品种在 Hoagland 营养液培养下蛋白质含量较低, 在高磷和无磷处理下较高; K36 品种在不同的磷铁处理下, 种子中蛋白质含量变化不明显, 其中, 高磷处理时蛋白质含量较低 (图 3)。

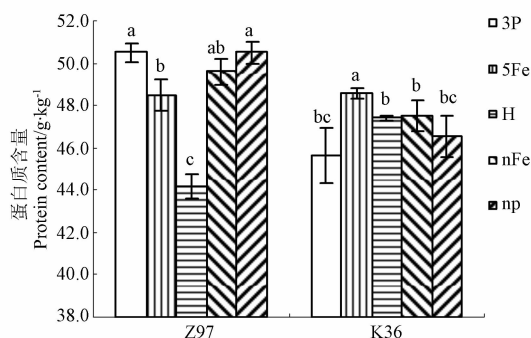


图 3 2 个品种不同处理种子中蛋白质的含量

Fig. 3 The protein content in seeds of two soybean cultivars under different treatments

### 2.4 植酸含量与种子中铁和蛋白质含量的关系

大豆种子中铁与植酸的比值, Z97 在 0.0058 与 0.0092 之间, K36 在 0.0072 与 0.0140 之间。另外, 2 个品种对不同水平的磷铁处理的表现不同, K36 的 Fe/PA 在 nFe 处理时低于 Z97, 其它均高于 Z97。大豆种子中植酸含量与铁含量和蛋白质含量之间线性相关性分析 (表 2) 显示, 种子中铁含量与植酸含量之间无显著相关性, Z97 表现为负相关, K36 表现为正相关。种子中植酸含量与蛋白质含量之间有一定的相关性, Z97 表现为负相关, 且相关度较

高; K36 表现为正相关, 但相关度较低。

表 2 2 个品种不同处理种子中植酸与蛋白质和铁之间线性相关性分析

Table 2 Correlation between the content of phytic acid, protein and iron in seeds of two soybean cultivars under different treatments

品种 Cultivars	相关系数 Correlation coefficient	
	PA and Fe	PA and Pr
Z97	-0.03928	-0.59477
K36	0.18264	0.14632

### 2.5 豆荚、种子和豆根中 Fe 含量的比较

从图 5 可以看出, 豆根、豆荚与种子之间铁的含量因品种不同而表现出很大差异。Fe 含量的总体水平表现为豆根极显著地高于豆荚与种子。2 个品种根中铁含量总体水平较为接近, 差异不显著; 2 个品种豆荚中铁含量的总体水平差别较大, Z97 显著高于 K36; 种子中总的铁含量 K36 明显高于 Z97。Z97 品种豆荚中总的铁含量大于种子, 而 K36 品种豆荚总的铁含量小于种子。

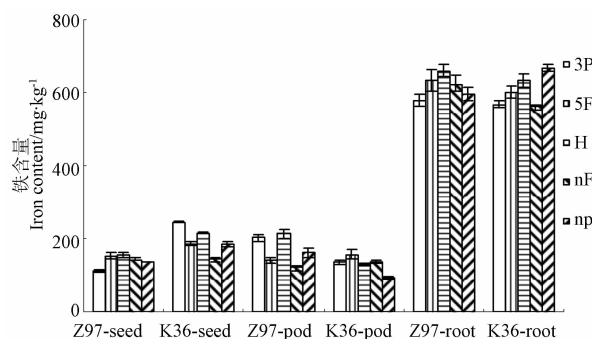


图 4 2 个品种不同处理不同部位的铁含量

Fig. 4 Iron content in different parts of two soybean cultivars under different treatments

K36 根中铁含量在 nP 处理时最高, Hoagland、5Fe、3P 和 nFe 处理下依次降低; 豆荚中铁含量在 5Fe 处理时最高, 5Fe、3P、Hoagland 都较低, nP 则极显著降低; 种子中, 3P 最高, Hoagland、nP、5Fe 和 nFe 处理下依次降低。Z97 品种根中铁的含量以 Hoagland 处理最高, 其它处理均下降; 豆荚中铁含量以 Hoagland 处理最高, 3P 处理次之, 其余处理则显著降低; 种子中铁含量以 3P 处理下降幅度最大, 其它处理差异不显著。试验结果表明: 铁在种子中积累受根际铁素与磷素营养的状况、铁在植株体内运输与分配以及不同品种的遗传特性造成的吸收与运输调节的不同等因素的影响, 在高铁品种 (K36) 中受磷素影响差异明显。

## 3 结论与讨论

大豆种子中植酸的积累既受遗传的控制, 又受

磷素铁素营养水平的影响<sup>[16]</sup>。结果表明,磷素营养对于植酸积累的影响大于铁素营养,不同磷素营养水平极显著地影响种子中植酸的积累;铁素营养水平对种子中植酸的积累也有明显的影响。低磷素营养水平能有效地降低植酸在种子中的积累,高铁素营养水平也能降低植酸在种子中的积累,这可能是大量的铁与磷结合减少营养液中有效磷的含量所致<sup>[19]</sup>。结果还表明,不同品种大豆种子中铁的积累存在明显差异,磷素铁素营养水平直接影响其积累,这与 Shen 等在小麦中的研究结果相一致<sup>[20]</sup>。同时,铁素营养对高铁品种(K36)铁积累影响程度大,而磷素营养对高铁品种(Z97)铁积累影响程度大。研究表明,在正常铁素营养水平下降低磷素营养水平,能在提高种子铁含量的同时降低植酸的含量,从而提高铁/植酸的比值。

种子中植酸的积累与蛋白质含量之间没有显著的相关关系。因为植酸主要积累在液胞的蛋白体中<sup>[21]</sup>,所以推测植酸含量与种子中总蛋白质含量无关,仅与某些蛋白质相关。

从豆根、豆荚和种子中铁含量变化关系中,可以看出影响铁在种子中的积累限制因素不仅在于从根到豆荚的运输过程中,更主要地还在于豆荚向籽粒的运输过程,同时2个品种的铁由豆荚向种子转运过程中存在明显的遗传差异,这与 Le 等在转基因水稻铁的积累研究结论基本一致<sup>[22]</sup>。由于磷素营养水平对豆根、豆荚和种子中铁含量影响较大,表明铁从豆根向豆荚及种子运输过程中可能还存在磷素营养调节上的差异。

总之,随着对种子中植酸、铁与蛋白质之间关系以及它们积累规律的进一步明确,结合低植酸诱变育种技术,能够培育出高铁、低植酸、高蛋白含量的作物新品种。

## 参考文献

- [1] 王夔. 生命科学中的微量元素(下卷)[M]. 北京:中国计量出版社,1992:415-479. (Wang K. Trace elements in life science [M]. Beijing: China Metrology Publishing House, 1992:415-479.)
- [2] 邓腾兰,方虹,赵雨城,等. 少儿铁营养状况的流行病学调查[J]. 北京医学,2001,23(6):377. (Deng T L, Fang H, Zhao Y C, et al. The investigation of epidemics from iron nutrition condition on teenagers[J]. Beijing Medicine, 2001, 23(6):377.)
- [3] Frossard E, Bucher M, Mächer F, et al. Potential for increasing the content and bioavailability of Fe, Zn and Ca in plants for human nutrition[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000,80(7):861-879.
- [4] Duhan A, Khetarpaul N, Bishnoi S. Content of phytic acid and HCl-extractability of calcium, phosphorus and iron as affected by various domestic processing and cooking methods[J]. Food Chemistry, 2002,78(1):9-14.
- [5] Ekholm P, Virkki L, Ylinen M, et al. The effect of phytic acid and some natural chelating agents on the solubility of mineral elements in oat bran[J]. Food Chemistry, 2003,80(2):165-170.
- [6] Brinch P H, Sorensen L D, Holm P B. Engineering crop plants: getting a handle on phosphate[J]. Trends in Plant Science, 2002,7(3):118-125.
- [7] 李春喜,马守臣,田继锋,等. 不同品种小麦籽粒中植酸及其相关性状的相关和通径分析[J]. 河南农业科学,2004(7):20-23. (Li C X, Ma S C, Tian J F, et al. Correlation and path analysis on phytic acid contents and its relative characters in grain of different wheat varieties[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2004(7):20-23.)
- [8] Guttieri M, Bowen D, Dorsch J A, et al. Identification and characterization of a low phytic acid wheat[J]. Crop Science, 2004,44(2):418-424.
- [9] Lucca P, Hurrell R, Potrykus I. Genetic engineering approaches to improve the bioavailability and the level of iron in rice grains[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001,102(3):392-397.
- [10] Bo Lönnerdal. Genetically modified plants for improved trace element nutrition[J]. The Journal of Nutrition, 2003:1490S-1493S.
- [11] Mizuno D, Higuchi K, Nakanishi H, et al. Three Nicotianamine synthase genes isolated from maize are differentially regulated by iron nutritional status[J]. Plant Physiology, 2003, 132(4):1989-1997.
- [12] Zimmermann M B, Hurrell R F. Improving iron, zinc and vitamin A nutrition through plant biotechnology[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2002,13(2):142-145.
- [13] 孙永刚,亢娟娟,王志祥,等. 发酵豆粕在畜牧生产中的应用研究进展[J]. 饲料研究,2009(11):7-9. (Sun Y G, Hang J J, Wang Z X, et al. Research and development progress of fermented soybean meal[J]. Feed Research, 2009(11):7-9.)
- [14] 蒋建平. 中国大豆食品工业现状与展望[J]. 中国食品工业, 2000(4):6-8. (Jiang J P. The situation and outlook of soybean food industry in China [J]. Chinese Industry of Food, 2000(4):6-8.)
- [15] Raboy V, Dickinson D B. The timing and rate of phytic acid accumulation in developing seeds[J]. Plant Physiology, 1987, 85(3):841-844.
- [16] Israel D W, Kwanyuen P, Burton J W. Genetic variability for phytic acid phosphorus and inorganic phosphorus in seeds of soybeans in maturity groups V, VI, and VII[J]. Crop Science, 2005, 46(1):67-71.
- [17] Liu Z, Cheng F, Zhang G. Grain phytic acid content in japonica rice as affected by cultivar and environment and its relation to protein content[J]. Food Chemistry, 2005, 89(1):49-52.
- [18] Haug W, Lantzsch H J. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1983, 34(12):1423-1426.
- [19] Zheng L Q, Huang F L, Narsai R, et al. Physiological and transcriptome analysis of iron and phosphorus interaction in rice seedlings[J]. Plant Physiology, 2009, 151:262-274.
- [20] Shen J, Zhang F, Chen Q, et al. Genotypic differences in seed iron content and early responses to iron deficiency in wheat[J]. Journal of Plant Nutrition, 2002,25(8):1631-1643.
- [21] Otegui M S, Capp R, Staehelin L A. Developing seeds of *Arabidopsis* store different minerals in two types of vacuoles and in the endoplasmic reticulum[J]. Plant Cell, 2002, 14(6):1311-1327.
- [22] Le Q Q, Yoshihiro T, Ooyama A, et al. Iron accumulation does not parallel the high expression level of ferritin in transgenic rice seeds[J]. Planta, 2005, 222(2):225-233.