

玉米、小麦与花生间作改善花生
铁营养机制的探讨*
687-695 S565.22/ S 34-4.2左元梅 李晓林[√] 王秋杰 曹一平 张福锁

(中国农业大学植物营养系 北京 100094)

摘要 采用土培盆栽方法模拟研究了玉米/花生、小麦/花生间作对花生铁营养状况的影响及其作用机制。结果表明,禾本科作物与花生间作对花生的铁营养状况有显著影响;当花生与玉米或小麦分别间作时,花生新叶叶色正常,而花生单作则表现出严重的缺铁黄化现象,间作花生新叶活性铁、叶绿素含量明显高于单作,两种间作花生各部位铁含量和吸收量明显高于单作,间作明显地促进了铁向花生地上部的转移;在单作花生表现缺铁症状14d的时间范围内,其根系质外体铁含量仅是间作花生的52%~80%;而根系还原力则是单作花生在表现缺铁症状后迅速提高,至缺铁第6d时还原力达到最大值,随后花生根系还原力迅速下降,而间作花生在0~14d内还原力增加速度缓慢,在10~14d中其根系还原力明显地高于单作花生根系还原力。其主要原因可能是禾本科作物玉米、小麦根系分泌物(如,麦根酸类植物铁载体)螯合土壤中难溶性铁并被花生吸收利用。

关键词: 单作,间作,花生铁营养,玉米,小麦,根系分泌物。

STUDY ON MECHANISMS OF IMPROVEMENT OF
IRON NUTRITION OF PEANUT BY INTERCROPPING
WITH MAIZE OR WHEAT

Zuo Yuanmei Li Xiaolin Wang Qiujie Cao Yiping Zhang Fusuo

(Department of Plant Nutrition, China Agricultural University, Beijing, 100094, China)

Abstract A soil culture experiment was carried out to test the effects of peanut-maize or peanut-wheat intercropping on iron nutrition of peanut. The results showed that intercropping improved iron nutrition of peanut significantly. If peanut was intercropped with maize or wheat, the young leaves of peanut had no iron deficiency symptom, but peanut plants in monocropping showed severe iron deficiency chlorosis on young leaves. For intercropping peanut, the active Fe content and chlorophyll content of young leaves were about two times of that of monocropping plants. The two kinds of intercropping not only increased iron concentration of different organs of peanut and iron uptake of peanut, but also promoted iron translocation from the root to the shoot. The Fe accumulation in root apoplast of

* 国家自然科学基金项目 39525019 和国家教委博士点基金项目资助。

收稿日期:1997-02-05,修改稿收到日期:1997-08-23,

monocropping peanut plants was only 52%~80% of that in peanut plants intercropped with maize or wheat. At the beginning of iron deficiency, the root Fe(III) reducing capacity of monocropping peanut increased dramatically and reached its maximum in 6 days, after then, it decreased quickly. But root Fe(III) reducing capacity of peanut intercropped with maize or wheat maintained high for a long time. The possible mechanism of it is that root exudation(phytosiderophores) from wheat or maize could maintain the Fe pools in the root apoplast and higher root Fe(III) reducing capacity of peanut in intercropping systems.

Key words: monocropping, intercropping, iron nutrition of peanut, maize, wheat, root exudate(photosiderophores).

在世界各地大面积的石灰性土壤上,双子叶植物缺铁是生产上普遍的营养失调问题,但至今尚未找到矫正该类作物缺铁现象的理想措施。在我国北方石灰性土壤上,这类问题也十分突出,特别是该地区主要的经济作物花生是对缺铁相当敏感的作物,花生缺铁黄化现象相当严重而普遍并严重抑制了花生的产量^[1]。间套作在我国农业生产中占有及其重要地位^[2],花生与玉米间作是黄淮海平原河南省一种重要的种植方式,多年的生产实践证明花生与玉米间作后,玉米能明显地改善花生的铁营养,但对其作用机制目前并不清楚。据研究报道,在水培条件下,铁高效的禾本科作物燕麦、小麦、玉米等作物根系分泌物(如:麦根酸类植物铁载体(PS))的作用能充分活化介质中的难溶性铁并为铁低效的双子叶作物吸收和利用,从而改善缺铁敏感作物的铁营养状况^[3,4]。但在土培条件下这种作用是否存在,其作用机制如何未见报道。因此,作者在土培条件下,选用分泌麦根酸能力不同的两种禾本科作物玉米和小麦分别与花生间作,通过花生/玉米,花生/小麦间作比较,探讨禾本科作物玉米对花生铁营养状况的影响及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 试验地点和供试土壤

试验在中国农业大学植物营养系网室中进行,供试土壤为北京大兴县砂土,其基本理化性状见表1。

表1 供试土壤的理化性状

Table 1 The properties of the used soil

有机质 OM (%)	全氮 Total N (%)	速效磷 OLsen-P (mg/kg)	速效钾 NH ₄ Ac-K (mg/kg)	pH CaCl ₂	土壤有效铁 DTPA-Fe (mg/kg)	土壤有效锰 DTPA-Mn (mg/kg)	土壤有效铜 DTPA-Cu (mg/kg)	土壤有效锌 DTPA-Zn (mg/kg)
0.39	0.027	3.9	60.4	7.8	7.63	3.57	0.79	0.63

1.2 供试作物

选用河南省沙区普遍种植的作物品种:玉米为丹玉13,花生为8130,小麦为我国北方大面积种植品种农大95,该品种分泌麦根酸的能力显著高于玉米。

1.3 试验设计与方法

试验设5个种植方式,分别为花生单作、玉米单作、小麦单作、玉米/花生间作、小麦/花生间作,每个种植方式3个重复,分5次取样,共75盆。每个种植方式的施肥处理相同,施用量以mg/kg计,分别为N150(Ca(NO₃)₂),P150(KH₂PO₄),K100(KCl),Mg50(MgSO₄),Fe5(柠檬酸铁),Zn5(ZnSO₄·7H₂O),Cu5(CuSO₄·5H₂O)。将风干土壤过2.5mm筛,将肥料与土壤充分混匀后按容重1.3g/cm³装入瓷盆。每盆装土5kg。单作花生每盆10株,间作花生每盆5株,使间作花生与单作花生的比例为1:2,单作、间作玉米每盆5株,间作玉米与单作玉米的比例为1:1,单作、间作小麦每盆20株,间作、单作小麦比例为1:1,间作系统中花生、玉米的比例为1:1,花生、小麦的比例为1:4。

1.4 样品采集

植物生长 2 个月后,花生分别按新叶、老叶、茎、根收获,小麦、玉米按地上部、地下部收获,同时采集根际土壤样品。

1.5 样品测定及计算

1.5.1 活性铁含量的测定 分别称取花生不同部位的新鲜叶片,剪碎混匀,称取 2.00g 鲜样,按照 1:2 的比例加入 1mol/L 的盐酸,振荡 5h,过滤后,用原子吸收分光光度计(PE-2100B)测定其活性铁含量。

1.5.2 植物全铁含量和铜、锌含量的测定 称取一定量磨碎混匀的烘干植物样品,在 550℃ 马福炉中进行干灰化处理 7~8h,灰分用 1:30 HNO₃ 溶解后用原子吸收分光光度计测定。

1.5.3 叶绿素含量的测定 称取 0.2g 新鲜的新叶和老叶,剪碎后放入 20ml 1:1 的乙醇和丙酮的混合液中,黑暗中放置 24 h 后的 663、645、654nm 的波长下比色。

1.5.4 根系质外体铁含量的测定^[5] 植物从土壤中取出后,用水充分洗干净后置于 0.1mmol/L 的 CaSO₄ 溶液中浸泡 0.5h,除去根表淀积的铁,然后将植株分别移入含量 CaSO₄ 1mmol/L、Fe(Ⅰ)螯合剂 2,2'-二联吡啶 1.5mmol/L 的混合液中,通入 N₂ 5min 后,加入连二亚硫酸钠(Na₂S₂O₃)溶液,使其在混合液中最终浓度为 7.5mmol/L,再继续通入 N₂ 5min 后将植株移走,测定液在 520nm 下比色测定,2,2'-二联吡啶的摩尔吸光值为 8.65 Lm/mol·cm。收获植株,分别称地上部和根部鲜重,烘干后称干物重。

1.5.5 根系铁还原力的测定 植物从土壤中取出后,用水充分洗干净后置于饱和 CaSO₄ 溶液中浸泡 0.5h 后,用去离子水洗干净花生根系,随后剪碎根系至 1cm 的长度,每个处理测定的样品首先在缺铁的反应液中放置 15min 后,取出植物根系,加入 2,2'-二联吡啶和 EDTA-Fe 反应液,使 2,2'-二联吡啶和 EDTA-Fe 的浓度分别为 0.4mmol/L 和 0.1mmol/L,反应 0.5h 后在 520nm 下比色测定作为还原物质产生的还原力;同时把另一部分剪碎根系放入包括 0.4mmol/L 和 0.1mmol/L EDTA-Fe 的反应液中,黑暗中放置 1h 在 520nm 下比色,两次比色测定值之差即为根系还原力,2,2'-二联吡啶的摩尔吸光值为 8.65Lm/mol·cm。

2 结果与分析

2.1 花生/玉米、花生/小麦间作对花生生长的影响

研究发现,当花生生长至开花阶段(生殖生长阶段)时,单作花生新叶表现严重的缺铁黄化现象,而分别与小麦、玉米间作的花生新叶叶色正常,单作花生缺铁现象一直持续到作物生长后期,单作花生与间作花生相比其地上部生物量没有明显的差异,而间作对花生根系生长影响较大,间作不仅促进了花生根系的生长而且增加了花生侧根数目和侧根长度和根毛数量,与玉米、小麦间作花生根系干物重分别是单作的 1.83 倍和 2.1 倍(表 2)。

表 2 不同种植系统中花生的干物重的比较(g/5plants)

Table 2 The dry weight of peanut in different cropping systems

花生部位 Parts of peanut	单作 Monocropping	间作 Intercropping	
	花生 Peanut	花生/玉米 Peanut/Maize	花生/小麦 Peanut/Wheat
地上部 Shoot	18.02±2.15	21.76±4.28	20.32±2.32
地下部 Root	2.65±1.07	4.85±0.47	5.46±0.42
整株 Plant	20.67±3.22	26.61±4.75	25.78±2.74

2.2 玉米/花生、小麦/花生间作对花生铁含量和铁吸收的影响

图 1 表明单作花生老叶活性铁含量是新叶的 2 倍左右,而与小麦、玉米间作的花生其新叶、老叶的活性铁含量却没有明显的差异;叶绿素含量也具有相同的趋势(图 2),这就说明花生单作已表现明显而严重的缺铁现象。表 3 说明与两种禾本科作物间作的花生其各部位的铁含量明显地高于单作,而与玉米间作的花生和与小麦间作的花生相比,二者新叶、茎、根部铁含量没有明显的差异,与小麦间作花生老叶铁含量高于与玉米间作的花生。间作不仅促进了花生对铁的吸收同时促进了铁向花生地上部的转移;与小麦(分泌

麦根酸量高)间作花生其铁的吸收总量明显高于与玉米(分泌麦根酸量低)间作的花生(表 4)。

表 3 间作对花生不同器官铁含量的影响(mg/kg DW)

Table 3 The effects of intercropping on iron content in different organs of peanut

花生不同器官 Organs of peanut	单作 Monocropping	间作 Intercropping	
	花生 Peanut	花生/玉米 Peanut/Maize	花生/小麦 Peanut/Wheat
新叶 Young leaves	102.9±11.2	143.8±6.98	130.5±9.02
老叶 Primary leaves	158.4±6.55	168.2±8.89	222.5±26.3
茎 Stem	218.7±17.3	349.3±40.1	335.8±37.1
根 Root	878.0±33.0	1023.8±43.5	1108.5±29.5

表 4 花生与玉米、小麦间作铁的吸收量与单作花生的比较(mg/5Plants)

Table 4 The iron uptake of peanut in different cropping systems

花生不同部位 Parts of peanut	单作 Monocropping	间作 Intercropping	
	花生 Peanut	花生/玉米 Peanut/Maize	花生/小麦 Peanut/Wheat
地上部 Shoot	3.27±0.40	5.81±0.12	8.65±0.12
地下部 Root	2.33±0.18	4.97±0.20	6.05±0.12
整株 Plant	5.60±0.58	10.78±0.32	14.70±0.24

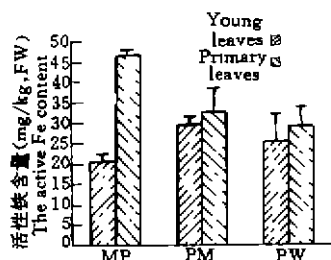


图 1 不同种植方式下花生叶片活性铁含量

Fig. 1 The active Fe content of peanut leaves in different cropping systems

MP, Monocropping Peanut PM, Peanut/Maize
PW, Peanut/Wheat

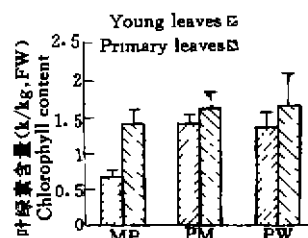


图 2 不同种植方式下花生叶片叶绿素含量

Fig. 2 The chlorophyll content of peanut leaves in different cropping systems

MP, Monocropping Peanut PM, Peanut/Maize
PW, Peanut/Wheat

2.3 间作对花生根系质外体铁含量的影响

植物在根系自由空间形成的铁库,不只是为了防止植物对铁的过量吸收而贮存铁,更重要的是它可以作为一种随时被植物运用的铁的贮藏形式。当植物处于缺铁胁迫状态条件时,就可动用此铁库,使铁从根部运输到地上部,从而缓解了植物的缺铁胁迫程度^[6,7]。本试验中,与小麦、玉米间作的花生根系质外体铁含量与单作的花生相比发生了明显变化,图 3 说明,单作花生随着缺铁天数的增加,根系质外体铁含量迅速减少,在缺铁 0~6d 时其质外体铁含量迅速下降,而且在单作花生表现缺铁症状 0~14d 的时间范围内,单作花生根系的质外体铁含量明显低于与玉米、小麦间作的花生根系质外体铁含量,根系质外体铁含量仅是间作的 52%~80%,说明玉米、小麦根系分泌物使花生根系形成的根系质外体铁库非常大,即间作作物玉米、小麦根系分泌物增加了花生对介质中铁的吸收量,并以质外体铁形式累积在间作花生的根系。

2.4 玉米、小麦与花生间作对花生根系还原力的影响

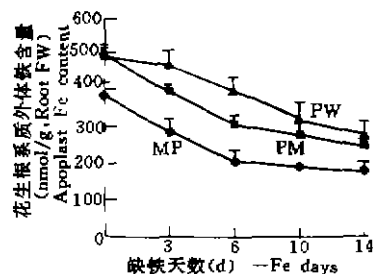


图3 不同种植方式下花生根系质外体铁含量

Fig. 3 Apoplast Fe content of peanut root in different cropping systems

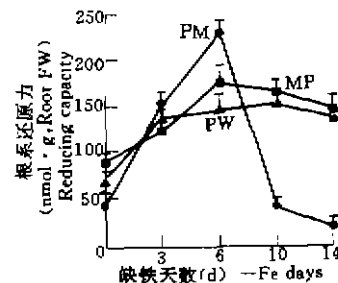
MP, Monocropping Peanut PM, Peanut/Maize
PW, Peanut/Wheat

图4 不同种植方式下花生根系还原力

Fig. 4 The reducing capacity of peanut root in different cropping systems

MP: Monocropping Peanut PM: Peanut/
Maize PW: Peanut/Wheat

图4说明,单作花生根系的还原力在表现缺铁症状后迅速提高,至表现缺铁症状第6天时还原力达到最大值,随后至花生缺铁第10天时根系还原力迅速下降,至表现缺铁症状第14天时,其根系还原力低于缺铁初始的还原力;而与玉米、小麦间作的花生根系还原力在单作花生表现缺铁症状前二者没有差异,在单作花生表现缺铁症状0~14d内间作花生根系还原力增加速度缓慢,但在单作花生表现缺铁症状0~6d时,间作花生根系还原力低于单作花生,在单作花生表现缺铁症状10~14d中间作花生根系还原力明显地高于单作花生根系还原力,而与玉米、小麦间作的花生其根系还原力二者之间没有明显的差异。

3 讨论

玉米、小麦与花生间作明显地改善了花生的铁营养状况,禾本科作物玉米、小麦与花生间作不仅促进了花生对铁的吸收,而且促进了铁向地上部的转移,间作使花生各部位铁含量和铁吸收量也明显高于单作(表3,4),这一差异导致了间作花生新叶叶绿素含量明显高于单作花生(图2);单作、间作花生地上部干物重没有明显的差异(表2),该结果说明了单作花生缺铁并非是由于与间作花生的生物量的差异而产生的稀释效应,而是由于其它作用机制所致。

花生属于机理I植物,在缺铁胁迫条件下通过根系向根际土壤分泌质子以降低介质pH值;分泌具有还原性的酚类物质以增加根际土壤中还原铁的数量;诱导根系原生质膜还原酶的形成及其活力的提高以增强对铁的还原,但由于石灰性土壤中的pH值、 CaCO_3 、 HCO_3^- 含量均较高,对酸碱缓冲能力较强,从而使质膜还原酶活性受到严重抑制,土壤中的难溶性铁不易被花生还原吸收进入植物体内并导致花生新叶容易出现缺铁黄化。而供试作物玉米、小麦属于抗缺铁胁迫能力较强的机理II类植物,当植物体内铁营养供应不足时其根系细胞合成和分泌对铁具有强烈螯合能力麦根酸类植物铁载体,它与根际土壤中丰富的 Fe^{3+} 螯合后被根表细胞质膜上的特定专一性系统所吸收,而石灰性土壤大量存在的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 竞争与高pH值对植物铁载体的分泌及与 Fe^{3+} 的结合影响不大^[5,9],因此pH值高的石灰性土壤上玉米、小麦仍能从土壤中获得足够的铁而不易表现缺铁黄化现象。

本研究发现在石灰性土壤上当玉米/花生、小麦/花生间作时,小麦、玉米不仅能够从土壤中获得足够的铁满足其自身生长的需要,更为重要的是它明显地改善了花生的铁营养状况。这主要是由于玉米、小麦根系分泌物(特别是麦根酸类铁载体(PS))在改善花生铁营养中起了重要的作用。

尽管在水培条件下,小麦铁载体的分泌量是玉米的几十倍至几百倍(因品种而异),但这并不反映在土壤中玉米分泌铁载体的真实情况,因为在水培条件下,玉米根际大量的固氮细菌(*azospirillum strains*)利用玉米铁载体作为铁源^[10],并且微生物对玉米分泌麦根酸(MA)和脱氧麦根酸(DMA)降解能力远远超过对小麦分泌羟基麦根酸(OMA)的降解^[11,12],因此,在营养液中,在不灭菌的条件下玉米分泌铁载体被微生物迅速降解是重要的限制因子^[13]。但在土壤条件下,在植物根表、根际、土体梯度范围内,植物根系分泌物、微生物种群却存在明显的梯度错位,即植物根系分泌铁载体旺盛部位恰是微生物分布和代谢较弱的区

域^[14~17],并且植物铁载体分泌在光照开始一段时间内迅速达到高峰^[18,19],因而,根际土壤局部的铁载体的释放速率和螯合铁的能力远远高于营养液并为植物提供足够的 PS-Fe³⁺从而满足植物对铁的需求^[14],在土壤中玉米分泌的麦根酸在根际中螯合和活化铁的效果已得到证实^[20],因此在间作系统中,禾本科作物玉米、小麦为间作花生根际提供了大量的容易被还原的 PS-Fe³⁺。

研究已证明,水培条件下小麦、玉米、燕麦分泌的铁载体螯合的铁能被许多铁低效的禾本科单子叶作物和双子叶植物吸收利用^[3,20,21],有人也证明花生能吸收燕麦铁载体螯合的铁从而满足其自身对铁的需求^[22]。但在土壤条件下,铁高效禾本科作物与铁低效双子叶植物间作并改善双子叶植物铁营养的报道极少。本研究证明禾本科作物玉米、小麦能显著地改善花生的铁营养,其主要机制可能是:玉米、小麦根系分泌物(主要 PS 的作用)对间作花生根系的还原力(图 4)和根系质外体铁的累积(图 3)产生了重要的影响,玉米、小麦分泌的麦根酸类植物铁载体与根际土壤中 Fe³⁺螯合后,被间作花生根系吸收并以质外体铁的形式大量累积在花生根部,而 PS-Fe(Ⅲ)存在无疑提供了更有效的、更易被还原的 Fe²⁺,有利于间作花生对铁的吸收;同时间作使花生在较长的时间内维持较高的还原力,这样,间作不仅为花生源源不断提供 PS-Fe(Ⅲ),而且间作使花生维持较高的还原力将这些易被还原的 PS-Fe(Ⅲ)还原吸收利用,因而间作提高了花生对铁的吸收和利用而不易表现缺铁。

总之,关于间作体系中玉米、小麦提高花生对铁的吸收和利用的机制知之甚少,本研究只阐明了玉米与花生间作改善花生铁营养的部分机制,仍需对其它的作用机制进行深入研究,并在田间条件下进一步验证,以充分揭示间作系统中不同作物间的生理生态学意义,对于充分发挥作物间在生理生化方面的补偿作用,利用作物自身的潜力提高作物对土壤中中铁等养分资源的吸收和利用效率提供理论依据,同时为选择适宜的玉米/花生间作方式,实现间套作制度下粮油同步增产,进一步科学合理改进间作制度具有重要的理论和实践意义。

参 考 文 献

- 1 朱其清. 土壤中微量元素的供给及其与植物生长的关系. 傅积平等编. 见: 黄淮海平原区域治理技术体系研究. 北京: 科学出版社, 1987. 118~121
- 2 卢良恕. 挖掘资源潜力, 发展立体农业. 耕作与栽培, 1990, 61(5): 1~53
- 3 Bryan G, Hopkins, Plant Utilization of iron solubilized by oat phytosiderophore. *Journal of Plant Nutrition*, 1992, 15(10): 1599~1612
- 4 Treeby M, Marschner and Romheld V. Mobilization of iron and other micronutrient cations from a calcareous soil by plant-bore, microbial, and synthetic metal chelators. *Plant Soil*, 1989, 114: 217~226
- 5 Bienfait H F, Van der Briel W, Nesland-Mul N T. Free space iron pools in roots: generation and mobilization. *Plant Physiol*, 1985, 78: 596
- 6 Longnecker N O, Welch R M. Accumulation of apoplastic iron in plant roots. *Plant Physiol*, 1990, 92: 17~22
- 7 Welch R M and Larue T A. Physiological characteristics of Fe accumulations the 'bronze' mutant of *Pisum sativum* L. cv 'sparkle' E107 (brz brz). *Plant Physiol*, 1990, 93: 723~729
- 8 Zhang F, Treeby M, Romheld V, et al. Mobilization of iron by phytosiderophores as affected by other micronutrients. *Plant and Soil*, 1990, 130: 173~178
- 9 Francis N Onyezi, et al. Iron deficiency stress responses of five graminaceous monocots. *Journal of Plant Nutrition*, 1993, 16(5): 953~974
- 10 Hartmann A. Ecophysiological aspects of growth and nitrogen fixation in *Azospirillum* sp. *Plant and Soil*, 1988, 110: 225~238
- 11 Watanabe S, Matsumoto S and Wada H. Microbial decomposition of mugmeic acids—a new aspects of relation between plant and microorganisms. In: *Transactions 14th Intern. Congr. Soil Science*, Kyoto, 1990, Ⅲ: 272~273
- 12 Romheld V and Marschner H. Genotypical differences among graminaceous species in release of phytosiderophores and uptake of iron phytosiderophores. *Plant and Soil*, 1990, 123: 147~153

- 13 Takagi S, Kamei S and Ming-Ho Yu, Efficiency of iron extraction from soil by mugineic acid family phytosiderophores. *Journal of Plant Nutrition*, 1988, **11** : 643~651
- 14 Romheld V. The role of phytosiderophores in acquisition of iron and other micronutrients in graminaceous species, An ecological approach. *Plant and Soil*, 1991, **130** : 127~134
- 15 Wiren N Von, Romheld V, Morel J L, *et al.* Influence of microorganisms on iron acquisition in maize. *Soil Biol Biochem*, 1993, **25** : 371~376
- 16 Schonwitz R and Ziegler H. Interaction of maize roots and rhizosphere microorganisms. *z. Pflanzenernahr Bodenkd.*, 1989, **152** : 217~222
- 17 Uren N c and Reisenauer H M. The role of root exudation in nutrient acquisition. *Adv. Plant Nutrition*, 1988, **3** : 79~114
- 18 Marschner H, Romheld V and Kissel M. Different strategies in higher plants in mobilization and uptake of iron. *Journal of Plant Nutrition*. 1986, **9** : 695~713
- 19 Takagi S, Nomoto K and Takemoto T. Physiological aspect of mugineic acid, a possible phytosiderophore of graminaceous plants. *Journal of Plant Nutrition*, 1984, **7** : 469~477
- 20 Brown J c, Jolley V D and Lytle C M. Comparative evaluation of iron solubilizing substances (phytosiderophores) released by oats and corn: Iron-efficient and iron-inefficient plants. *Plant and Soil*, 1991, **130** : 157~163
- 21 张福锁, 陈 清, 曹一平. 根系分泌物及其对根际微生态系统中养分有效性的直接有效. 张福锁主编. 土壤与植物营养研究新动态(第1卷). 北京: 北京农业大学出版社, 1992. 64~72
- 22 Bar-Ness E, Chen Y, Hadar Y, *et al.* Siderophores of *Pseudomonas putida* as an iron source for dicot and monocot plant. *Plant and Soil*, 1991, **130** : 231~241