

不同氮形态对两种基因型水稻根系形态及氮吸收效率的影响

李素梅^{1,2}, 施卫明^{1*}

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室 (中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008;

2 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 为了探索不同铵硝比对水稻根系形态和地上部 N 累积量的影响及其与根系吸 N 量的关系, 以苗期 N 高效品种桂单 4 号和 N 低效品种南光为材料, 设置 1.0 mmol/L NO_3^- -N、0.5 mmol/L NH_4NO_3 、1.0 mmol/L NH_4^+ -N 3 个 N 处理开展了研究。结果表明: 含有 NO_3^- -N 的处理总根长、总根数和总根表面积均明显高于 NH_4^+ -N 的处理, 且桂单 4 号和南光两种基因型水稻之间存在差异。两品种均在 0.5 mmol/L NH_4NO_3 处理中根系吸 N 量最高, 其次是 1.0 mmol/L NH_4^+ -N 处理, 1.0 mmol/L NO_3^- -N 的处理根系吸 N 量最少。

关键词: 水稻; 氮; 基因型; 根系形态; 吸氮效率

中图分类号: Q945.12

根系是植物吸收水分和养分最主要的器官, 其形态及构型在很大程度上决定着根吸收并获得营养的能力。研究表明, 在低 P 条件下, 根系形态构型特征的适应性变化可能是植物有效吸收和利用土壤 P 的特异性机理^[1]。有效营养的获得不仅依靠植物根的数量, 而且与根的三维构型, 即根系的形态结构也有着很大关系。大量研究表明, 根系形态结构在很大程度上决定了养分的可利用性、植物体本身的养分特性^[1-2]和营养供给的不均匀性^[2-3]。

高等植物根系利用 N 的形态主要有 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N。一些高等植物包括水稻是喜铵植物, 可能与其体内铵代谢能量低有关。但是, 体内铵浓度过高会导致植物的铵中毒, 影响正常的生长。因此, NO_3^- -N 的存在也是植物优势生长所必需的。有研究表明, 两种形态的 N 同时供应时作物的长势和产量都会比单独供应一种 N 源有明显的提高^[4-5], 即使是喜硝植物也有这种效应, 例如番茄^[6], 这种效应在水稻上表现也很显著^[7]。

根系的发生发育是植物内部遗传系统和外部生物及非生物刺激共同作用的结果^[8], 具有很高的可塑性^[9]。许多研究者已对一些矿质营养 (如 P, NO_3^-) 影响根系发生发育的生理和分子机制进行了深入研究, 但对于同一水平不同形态 N 供应下植物根系形态变化及与根系吸 N 量的关系尚未见明确的报道。本研究以两种基因型水稻为材料, 试图探明不同铵硝比对水稻

根系发生发育与根系吸 N 量的关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料的培养

供试品种是桂单 4 号和南光, 两品种在大田均表现为高产, 但在实验室水培条件下桂单 4 号苗期表现为 N 高效, 南光为 N 低效品种。水稻种子经 30 g/L 的次氯酸钠消毒 20 min 后, 用蒸馏水清洗 3 ~ 5 次, 37 °C 催芽, 待种子根长至 2 cm 时移至有网孔的尼龙膜上, 加入 1/2 强度的木村营养液^[10]预培养。4 天后, 拔去胚乳, 转入水培箱中, 每孔一株苗, 每箱为两个品种的同一种处理。两品种均设置 3 个不同 N 源的处理, 分别为 1.0 mmol/L KNO_3 、0.5 mmol/L NH_4NO_3 及 0.5 mmol/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1.0 mmol/L KCl 用于后两个处理以平衡溶液中的 K^+ 。各处理 11 次重复, 其他养分同木村营养液。每 3 天更换营养液 1 次, 营养液 pH 值每天用稀 HCl 或者 NaOH 调至 5.3 ± 0.2 。水培箱放置在人工温室, 培养条件为 16 h 光照 / 8 h 黑暗, 湿度 67%, 26 °C, 光强度 $350 \mu\text{mol} \cdot \text{E} / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。

1.2 测定方法

营养液培养 4 周后收获根系, 洗净后通过数字化扫描 (STD1600 Epson, USA), 将完整的根系图像存入计算机。用与扫描仪配套的根系分析系统软件 WinRhizo (Version 4.10B) (Regent Instrument Inc., Canada) 对根系总表面积、总根长、总根数、根体积

基金项目: 国家自然科学基金重大项目 (30390083) 资助。

* 通讯作者 (wmshi@issas.ac.cn)

作者简介: 李素梅 (1978—), 女, 安徽长丰人, 博士研究生, 主要从事水稻氮高效的分子遗传基础研究。E-mail: smli@issas.ac.cn

将根系及地上部吸干水分后称取鲜重, 105 °C 杀青 30 min, 70 °C 烘干至恒重称其干重。地上部及根的全 N 用 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 消煮, BUCHI 定氮仪测定。

2 结果与分析

2.1 不同铵硝比对水稻根系发生发育的影响

不同铵硝配比下水稻生长 4 周后, 两种基因型水稻

的根系形态结构都发生了较大的变化 (表 1)。当溶液中有 NO_3^- -N 存在的条件下, 总根长、总根表面积、总根体积和总根数都明显高于不加 NO_3^- -N 的处理, 分别是后者的 1.5~2.0 倍、1.3~1.6 倍和 1.2~1.8 倍 (表 1), 表明 NO_3^- -N 诱导了水稻根系的伸长和发生。根平均直径的变化趋势相反, 添加 NO_3^- -N 以后平均直径显著变小。

表 1 不同铵硝比对两品种水稻根系形态的影响

Table 1 Effect of nitrogen form on root morphology of two rice cultivars

根系指标	桂单 4 号			南光		
	NO_3^- -N	NH_4NO_3	NH_4^+ -N	NO_3^- -N	NH_4NO_3	NH_4^+ -N
总根长 (cm)	1477.9 ± 135.0 a	1114.9 ± 170.0 b	739.9 ± 153.7 c	768.4 ± 102.8 c	822.3 ± 88.1 c	498.3 ± 112.6 d
	199.7*	150.7	100	154.2	165	100
总根表面积 (cm^2)	130.9 ± 12 a	124.1 ± 16.1 a	89.5 ± 18.4 b	73.4 ± 12.5 c	86.6 ± 7.8 b	55.4 ± 13.6 d
	146.3	138.7	100	132.5	156.3	100
根平均直径 (cm)	0.28 ± 0.01 e	0.36 ± 0.02 b	0.39 ± 0.01 a	0.30 ± 0.02 d	0.34 ± 0.02 c	0.35 ± 0.03 b
	71.8	92.3	100	85.6	97.1	100
总根体积 (cm^3)	0.93 ± 0.10 b	1.10 ± 0.14 a	0.86 ± 0.18 b	0.56 ± 0.13 d	0.73 ± 0.07 c	0.49 ± 0.14 d
	108.1	127.9	100	114.3	149.0	100
总根数	7255 ± 624 a	6214 ± 156 b	4007 ± 899 c	4528 ± 1048 c	6079 ± 1254 b	3723 ± 907
	181	155	100	122	163	100

注: $n=11$; 同一行中不同的字母表示差异 $P<0.05$ 显著水平 (Duncan); * 以 NH_4^+ -N 处理下的值为 100 换算的相对值。

两种基因型水稻根系的发生发育对不同铵硝配比的响应程度存在差异。由表 1 可以看出, 当溶液中有 NO_3^- -N 存在的条件下两水稻品种的平均根直径均下降, 但以桂单 4 号更为敏感。总根长、总根表面积以及总根数都是桂单 4 号对 NO_3^- -N 的反应更强, 均在无 NH_4^+ -N 体系时达到最高值, 分别是 NH_4^+ -N 条件下的 2.0、1.5、1.8 倍。虽然南光的总根长、总根表面积和总根数也随体系中 NO_3^- -N 的出现而增加, 但最高值出现在 0.5 mmol/L NH_4NO_3 处理下, 分别是 NH_4^+ -N 条件下的 1.6、1.5、1.6 倍, 其后随着 NO_3^- -N 比例的增加出现下降的趋势。

2.2 不同铵硝比对水稻根系和地上部干物质质量的影响

不同铵硝配比对两水稻品种的根系和地上部干物质质量均有较大的影响 (图 1)。N 总量不变, 增加溶液中 NO_3^- -N 的比例, 与单一 NH_4^+ -N 处理相比, 0.5 mmol/L NH_4NO_3 处理促进了南光根系和地上部的生长, 分别是前者的 1.3 倍和 1.4 倍; 对桂单 4 号的影响较小, 根系和地上部分别是前者的 1.0 倍和 1.1 倍。当溶液中 NH_4^+ -N 被 NO_3^- -N 完全替代时, 两品种的根系和地上部的生长均受到一定程度的抑制, 根系分别都是前者

□ 1.0 mmol/L NO_3^- ■ 0.5 mmol/L $\text{NO}_3^- + 0.5$ mol/L NH_4^+ ■ 1.0 mmol/L NH_4^+

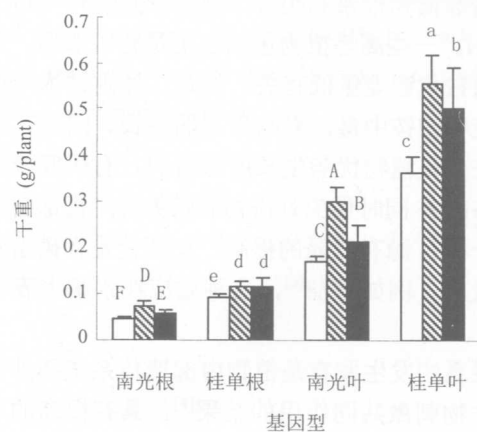


图 1 不同铵硝比对水稻根系、地上部生物量的影响 ($P<0.05$)

Fig. 1 Effect of nitrogen form on root and shoot dry weight

的 80%, 地上部分别都是前者的 80% 和 70%。混合形态 N 处理对南光根系和地上部的影响远大于对桂单 4 号的影响, NO_3^- -N 比例增加到 100% 时对两品种根系的影响相近, 但对桂单 4 号地上部的抑制效应较南光强。其中桂单 4 号根系生长受不同铵硝配比的影响比地上部小, 因而不同铵硝比对桂单 4 号的根冠比

的影响较大(图2)。就两品种看,南光的根冠比要比桂单4号高,这可能是品种的遗传特性决定的。

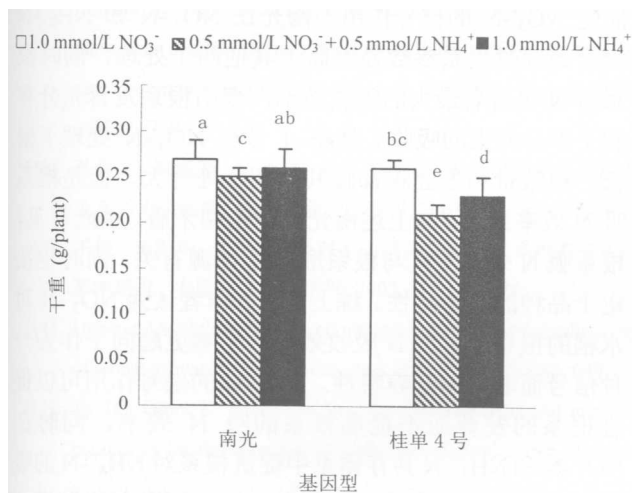


图2 不同铵硝比对水稻根冠比的影响 ($P < 0.05$)

Fig. 2 Effect of nitrogen forms on root/shoot

2.3 不同铵硝比对水稻根系吸N量和含N量的影响

N效率是植物对N的吸收效率和利用效率的综合反映,根系吸N量可以作为根系吸N效率的指示。图3A表示两水稻品种根系均在0.5 mmol/L NH_4NO_3 处理时有最大的吸N量,且显著高于单供 NO_3^- -N或 NH_4^+ -N的处理,分别是单供 NH_4^+ -N处理时南光的1.5倍,桂单4号的1.1倍;且单供 NO_3^- -N处理时两水稻品种根系吸N量最低,说明不论是苗期N高效品种还是N低效品种, NH_4^+ -N和 NO_3^- -N的混合供应可以显著地提高根系的吸N量,进而提高根系的吸收效率。然而,不同铵硝配比下水稻单位根重的含N量没有明显差异(图3B),说明根系吸N量差异主要是由根系生长发育的效应所致。两基因型水稻品种的单位根重含N量之间存在差异,同样处理下桂单4号要比南光的高,与桂单4号是N高效品种一致。

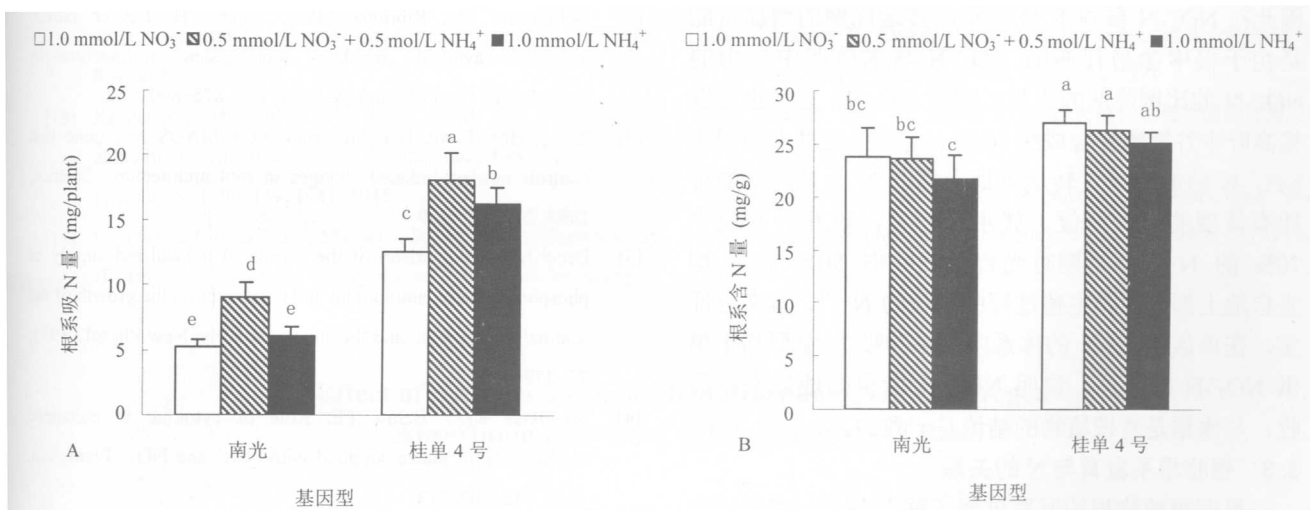


图3 不同铵硝比对水稻根系吸N量(A)和含N量(B)的影响 ($P < 0.05$)

Fig. 3 Effect of nitrogen form on root nitrogen absorption (A) and accumulation (B)

3 讨论

3.1 不同铵硝比对水稻根系发生发育的基因型差异

植物N素营养效率的差异现象不仅存在于不同植物种类之间,同时也存在于同一植物种类的不同品种之间。目前,有关植物对N素营养效率的基因型差异主要侧重于不同N水平的研究^[11-13],而对于同一N水平下不同形态N对水稻根系的形态特征报道较少。本研究表明,水稻根系的发生发育对同一水平下不同N

形态的适应性反应具有明显的基因型差异,供试品种南光在0.5 mmol/L NH_4NO_3 处理下其总根长,总根数,根表面积最大,而桂单4号则是在供纯 NO_3^- -N环境下上述参数达到最大。本研究所用的水稻基因型分别来自不同的基因库,因而其起源和进化环境不同,由此可推测由于起源和进化背景的差异造成了两种类型水稻根系的发生发育对同一水平下不同N形态的适应性反应不同。

3.2 不同铵硝比对根系吸N量的影响

N效率是植物对N的吸收效率和利用效率的综

合反映,对 N 素营养来说,N 的吸收过程是 N 效率的基础。本研究表明,不论是苗期 N 高效品种桂单 4 号还是 N 低效品种南光均是在混合形态 N 处理时根系有最大的吸 N 量,即 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 两种 N 源同时存在时水稻苗期根系的吸 N 效率高。这种铵硝协同效应与对谷类^[14-15]和其他作物^[16-17]的报道相一致。针对铵硝协同效应提高作物生长和产量的几种假设已经提出,但对其机理还有待进一步的研究。

Kronzucker 等人^[18]在亚细胞水平上用¹³N 标记的分室实验证明加入 NO_3^- -N 后细胞质 $[\text{NH}_4^+]$ 浓度没有明显变化,然而 NH_4^+ -N 流入量增加了 25%, NH_4^+ -N 流出量也减少了将近两倍,结果 NH_4^+ -N 的净获得量较单供 NH_4^+ -N 处理下提高了 50% 左右;植株 N 饥饿处理后重新供 N 时也出现了 NO_3^- -N 促进了 NH_4^+ -N 吸收的现象^[19-20],因此不论是稳态还是变动的外界条件均出现 NO_3^- -N 促进 NH_4^+ -N 吸收的现象,类似的结论也曾经被报道^[18,21-22]。一般认为,根中 NO_3^- -N 吸收的受阻可能与硝酸还原酶的活性受到抑制有关^[23-24],因此在 NO_3^- -N 参与下 N 长距离转运比例的增加可能是由于根中参与代谢的 NO_3^- -N 与木质部中自由的 NO_3^- -N 的比例降低的缘故;增加 NO_3^- -N 营养也可以提高叶中谷氨酰胺合成酶(GS)的活性,促进水稻同化 NH_4^+ -N 的能力^[22]。转运到地上部的 N 含量的增加可能有重要的农学地位。就水稻而言,收获时谷粒中 70% 的 N 和灌浆期时光合活性叶中 50% 的 N 均来自地上部在营养生殖过程中累积的 N^[25]。本文也证实,在单供 NH_4^+ -N 的体系中根系的吸 N 量要高于单供 NO_3^- -N 的体系,说明 NH_4^+ -N 能更好地被水稻吸收,与水稻是喜铵植物的结论是一致的。

3.3 植物根系发育与 N 的关系

目前对植物根的发育过程了解不多,一方面因为其过程中每一组织对外界响应不同,例如低浓度的生长素促进了过渡区细胞的伸展,但同时抑制了伸长区细胞的伸展^[26];另一方面根发育还依靠大量的外界条件,包括无机 N 形态、pH、氧化还原电势以及土壤微生物^[27]。根际 N 对根发育的重要性已经引起了足够的重视,根系对 N 肥供应有着明显的适应性反应^[28]。本实验观察到南光和桂单 4 号生长在单供 NH_4^+ -N 时发育出短粗型根系系统,而当体系中 NH_4^+ -N 部分或完全被 NO_3^- -N 取代时,根系则长而细,且多分枝,推测与 NH_4^+ -N 是水稻喜好的 N 源能更好地适合水稻生长有关。用基因工程手段获得的硝化还原酶缺陷的拟南芥突变体 *nialnia2* 株系,其对 NO_3^- -N 吸收同化能力很低,只有野生型植株的 5% 水平;对 *nialnia2* 突变体侧根分化的研究表明, NO_3^- -N 对侧根分化的刺激效应来源

于 NO_3^- -N 离子本身的信号作用而不是它的营养特性^[2]。因此,水稻根系对不同 N 形态的适应性不同也可能是 NO_3^- -N 的信号作用。南光在 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 混合处理时根系参数显著高于其他两个处理,同时根系对 N 也有着最大的吸收效率,表明根系发育充分有利于养分元素的吸收。桂单 4 号在 NO_3^- -N 处理下根长、根数量和表面积都较其他两个处理大,但是根系吸 N 效率最低,与上述南光的结论相矛盾。由此可见,根系吸 N 效率不仅与根系形态及 N 源有关,同时也决定于品种的遗传特性。综上所述,作者认为 NO_3^- -N 对水稻的根系发育和 N 吸收效率的影响更趋向于作为一种信号而非它的营养特性。 NO_3^- -N 的信号作用可以促进根系的发育而不提高根系的吸 N 效率,同时在 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 共存体系中促进根系对 NH_4^+ -N 的吸收。以上设想还有待于在分子水平上用突变体做进一步的验证。

参考文献:

- [1] Williamson LC, Ribrioux SPCP, Fitter AH, Leyser HMO. Phosphate available regulates root system architecture in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 2001, 126: 875-890
- [2] Zhang HM, Forde BG. An *Arabidopsis* MADS box gene that controls nutrient-induced changes in root architecture. *Science*, 1998, 279: 407-409
- [3] Drew MC. Comparison of the effects of a localized supply of phosphate, nitrate, ammonium and potassium on the growth of the seminal root system, and the shoots, in barley. *New Phytol.*, 1975, 75: 479-490
- [4] Smiciklas KD, Below FE. Role of cytokine in enhanced productivity of maize supplied with NH_4^+ and NO_3^- . *Plant Soil*, 1992, 142: 307-313
- [5] Chen JG, Cheng SH, Cao WX, Zhou X. Involvement of endogenous plant hormones in the effect of mixed nitrogen source on growth and tillering in wheat. *J. Plant Nutr.*, 1998, 21: 87-97
- [6] Dong CX, Shen QR, Wang G. Tomato growth and organic acid changes in response to partial replacement of NO_3^- -N by NH_4^+ -N. *Pedosphere*, 2004, 14 (2): 159-164
- [7] Kronzucker HJ, Glass AD, Siddiqi MY. Inhibition of nitrate uptake by ammonium in barley: Analysis of component fluxes. *Plant Physiology*, 1999, 120: 283-292
- [8] Schiefelbein JW, Benfy PN. The development of plant root: New approaches to underground problem. *Plant Cell*, 1991, 3: 1147-1154
- [9] Robinson D. The response of plants to non-uniform supplies of nutrients. *New Phytol.*, 1994, 127: 635-674

- [10] 毛达如主编. 植物营养研究方法. 北京: 北京农业大学出版社, 1994: 14-18
- [11] Linkohr BI, Williamson LC, Fitter AH, Leyser HMO. Nitrate and phosphate availability and distribution have different effects on root system architecture of Arabidopsis. *The Plant Journal*, 2002, 29: 751-760
- [12] 孙静文, 陈温福, 曾雅琴, 马英杰. 氮素水平对粳稻根系形态及其活力的影响. *沈阳农业大学学报*, 2003, 34 (5): 344-346
- [13] 王艳, 米国华, 张福锁. 氮对不同基因型玉米根系形态变化的影响研究. *中国生态农业学报*, 2003, 11(3): 69-71
- [14] Heberer JA, Below FE. Mixed nitrogen nutrition and productivity of wheat grown in hydroponics. *Ann. Bot.*, 1989, 63: 643-649
- [15] Ta TC, Ohira K. Effects of various environmental and medium conditions on the response of Indica and Japonica rice plants to ammonium and nitrate nitrogen. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 1981, 27: 347-355
- [16] Cao W, Tibbits TW. Study of various $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ mixtures for enhanced growth of potatoes. *J. Plant Nutr.*, 1993, 16: 1691-1704
- [17] Gill MA, Reisenauer HM. Nature and characterization of ammonium effects on wheat and tomato. *Agron. J.*, 1993, 85: 874-879
- [18] Kronzucker HJ, Siddiqi MY, Glass ADM, Kirk GJD. Nitrate-ammonium synergism in rice. A subcellular flux analysis. *Plant Physiology*, 1999, 119: 1041-1045
- [19] Saravitz CH, Chaillou S, Musset J, Raper CD Jr, Morot-Gaudry JF. Influence of nitrate on uptake of ammonium by nitrogen-depleted soybean: Is the effect located in roots or shoots? *J. Exp. Bot.*, 1994, 45: 1575-1584
- [20] Rideout JW, Chaillou S, Rape CD Jr, Morot-Gaudry JF. Ammonium and nitrate uptake by soybean during discovery from nitrogen deprivation. *J. Exp. Bot.*, 1994, 45: 23-33
- [21] 段英华, 张亚丽, 沈其荣, 陈红云, 张勇. 增硝营养对不同基因型水稻苗期氮素吸收同化的影响. *植物营养与肥料学报*, 2005, 11(2): 160-165
- [22] 段英华, 张亚丽, 沈其荣. 增硝营养对不同基因型水稻苗期吸收铵和生长的影响. *土壤学报*, 2005, 42(2): 260-265
- [23] Radin JW. Differential regulation of nitrate reductase induction in roots and shoots of cotton plants. *Plant Physiology*, 1975, 55: 178-182
- [24] MacKown CT, Jackson WA, Volk RJ. Restricted nitrate influx and reduction in corn seedlings exposed to nitrate and ammonium nutrition. *Ann. Bot.*, 1982, 49: 39-49
- [25] Mae T, Hoshino T, Ohira K. Proteinase activities and loss of nitrogen in the senescing leaves of field-grown rice (*Oryza sativa* L.). *Soil Sci. Plant Nutri.*, 1985, 31: 589-600
- [26] Ishikawa H, Evans ML. Specialized zones of development in roots. *Plant Physiology*, 1995, 109: 0725-727
- [27] 吴建峰, 林先贵. 土壤微生物在促进植物生长方面的作用. *土壤*, 2003, 35(1): 18-21
- [28] Zhang HM, Forde BG. Regulation of Arabidopsis root development by nitrate availability. *J. Exp. Bot.*, 2000, 51: 51-59

Effect of Nitrogen form on Root Morphology and Nitrogen Absorption Efficiency of two Cultivars of Rice

LI Su-mei^{1,2} SHI Wei-ming¹

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China ;

2 Graduate School of the Chinese Academy of Sciences , Beijing 100049, China)

Abstract: In order to investigate effects of nitrogen form on root morphology, nitrogen accumulation in shoots of rice, and nitrogen absorption by roots, two rice cultivars, Guidan-4, high in nitrogen efficiency at the seedling stage, and Nanguang, low in nitrogen efficiency, were used in the experiment, which had three N treatments, 1.0 mmol/L NO_3^- -N, 0.5 mmol/L NH_4NO_3 , and 1.0 mmol/L NH_4^+ -N. Results showed that Treatment NO_3^- -N was obviously higher than Treatment NH_4^+ -N in root tips, root surface area and root length though difference did exist between the two cultivars. Both of the two cultivars took up the highest amount of nitrogen in Treatment 0.5 mmol/L NH_4NO_3 , and then in Treatment 1.0 mmol/L NH_4^+ -N and Treatment 1.0 mmol/L NO_3^- -N.

Key words: Rice, Nitrogen, Genotype, Root morphology, Nitrogen absorption efficiency