

高铵胁迫对拟南芥幼苗侧根生长的影响及机制探索^①

李青^{1,2}, 李保海^{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: 本研究探讨了高铵对拟南芥幼苗侧根的影响特征及相关机制。结果表明, 根部高铵明显地抑制拟南芥侧根生长, 主要是降低侧根长度而非减少侧根数量。外源铵代谢抑制剂 MSO 不能缓解这种抑制效应, 说明该效应可能并非 N 代谢产生的整体效应。对主根或侧根的不同区段进行局部供铵处理, 发现根部高铵抑制侧根长是通过侧根根尖特异性介导的一种局部的直接抑制效应。同时, 局部高铵对异侧非高铵区的二级侧根长度有显著的促进作用。突变体分析表明, 生长素运输突变体 *aux1-7* 和 *eir1-1* 以及乙烯不敏感突变体 *ein2-1* 和 *etr1-3* 的侧根生长对高铵抑制效应均没有抗性, 说明根部高铵抑制侧根生长的效应可能不是通过影响生长素运输和乙烯调控途径起作用的。

关键词: 根部高铵; 拟南芥; 侧根长度; 根系; 环境胁迫

中图分类号: Q945.12

铵, 不仅是植物吸收利用的主要 N 素形式之一, 而且也是植物代谢过程中不可或缺的中间代谢产物^[1-2]。在农田生态系统中, 由于大量 N 素特别是铵态氮肥的投入以及一些特殊的施肥方式比如条施、穴施等常常导致农田表层局部累积大量的铵态氮。有些农田土壤中铵浓度可高达 20 mmol/L^[2]。在许多自然生态系统中, 铵态氮也随着生态系统的不断演替逐渐成为主要的 N 源之一^[2]。但是, 大部分植物对铵较为敏感, 暴露于过量的铵环境时, 会出现铵中毒症状。主要表现为: 根系生长受阻、叶片萎黄、根冠比降低、生物量下降甚至死亡^[2-5]。近年来, 人类对 N 循环的干预, 高强度的农业活动使得更多的还原态 N 归入生物圈, 导致农田中铵含量增高, 大气铵沉降增多^[6-7]。额外的 N 输入导致许多自然生态系统中出现 N 饱和状态并且影响物种组成。铵沉降的增加被证明可以导致土著物种的灭绝^[5]。另外, 森林大规模锐减也与人类活动导致的铵输入增多和与之相关的土壤酸化相关^[8]。可见, 铵毒害是日益严重的生态环境问题。

根系, 是植物吸收运输铵以及其他养分和水分最主要的器官^[9]。由于其置身于土壤之中, 也是各种土壤环境胁迫最为直接的毒害和响应器官。植物根系对土壤环境信号的响应具有很强的可塑性。养分的有效性和分布以及重力、障碍、水分、微生物和重金属等都可以作为信号对植物根系产生很大的影响^[9]。由于

侧根发育不像主根那样由胚前和胚后发育阶段共同决定, 完全由胚后发育决定, 因而具有更强的环境可塑性。N 素作为植物必需的大量元素之一, 其对植物根系形态构型的调控已有不少研究, 但以往的研究更多是针对贫养分环境, 有关富养分环境下植物根系响应调控研究较少。随着我国化肥投入增加, 土壤养分特别是 N 素积累增高, 需要剖析植物根系对富养分环境的响应机制。迄今为止国内外已有研究结果表明: ①高浓度硝从整体上抑制侧根原基继续发育, 抑制的是刚突破根体但分生能力未被激活阶段的特定发育阶段, 从而导致侧根数量减少, 但并不影响主根生长; 该过程可能独立于生长素信号途径而与 ABA 信号有关^[10-12]; ②高碳氮比抑制侧根原基的发生, 该过程可能通过影响生长素由叶部向根部的运输而作用^[13]; ③外源 L-谷氨酸通过根尖抑制主根生长, 但对侧根的抑制相对滞后很多^[14]; ④高铵处理使植物根系粗短, 主根和侧根长度降低^[15-17]。

以往认为植物铵毒害过程可能与酸化、碳氮失衡、离子平衡紊乱、生长素和多胺等分布改变等有关^[2-3]。近来研究还表明, 高铵环境下, 过量铵吸收的同时也会伴随铵的外排, 损耗植物体内能量引起生长受阻^[18]。高铵对拟南芥主根长度的抑制与根部蛋白糖基化的降低有关^[19]。总结发现, 以往的研究多集中在以铵为单一 N 源、pH 未缓冲的水培条件下探讨高铵对植物根系

①基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2007CB109303)、国家自然科学基金项目(30771285)资助。

* 通讯作者 (wmsi@issas.ac.cn)

作者简介: 李青(1985—), 女, 安徽淮北人, 硕士研究生, 主要从事植物对环境胁迫的响应和分子机理的研究。E-mail: qli@issas.ac.cn

生长及植物整体响应特征和生理生化过程的影响，而对根系发育的具体作用特征及其机理研究不多；事实上，硝作为信号以及生长介质具有 pH 缓冲性对植物正常生长都非常重要^[2,12]。也有一些研究是在培养基条件下探讨高铵对主根生长的整体影响及内部遗传机制。但对构成植物根系网络的大部分且处于水肥丰富的土壤表层的侧根开展的研究比较薄弱。虽然我们先前已观察到，在以硝铵为共同 N 源、pH 得到缓冲的培养基生长的条件下，高铵也能明显抑制侧根生长但其具体作用特征和相关的机制并不清楚^[15]。因此，本文采用局部供铵的方式，进一步研究高铵对侧根生长的具体影响特征并进行相关的机理探索。

1 材料与方 法

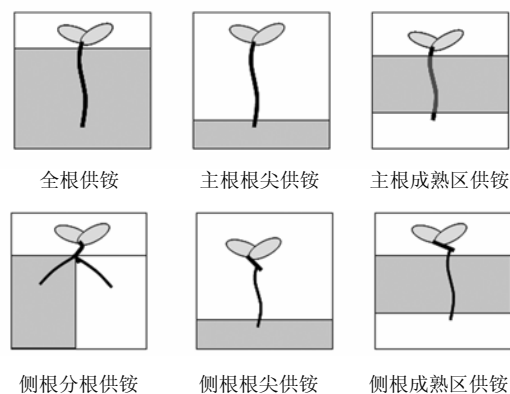
1.1 植物材料和培养条件

本文涉及的研究材料包括 5 种拟南芥：野生 Col-0 生态型、生长素抗性突变体 *aux1-7* 和 *eir1-1* 以及乙烯抗性突变体 *ein2-1* 和 *etr1-3*。以上材料均来自 The Arabidopsis Seed Stock Center (www.arabidopsis.org/)。光照培养室的温度为 $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$ ，光周期为 16 h 光照、8 h 黑暗，光照强度为 $50 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。培养基成分参见文献^[15]。种子先用 10% (v/v) 的次氯酸钠和 0.1% (w/v) SDS 消毒 5 min，以灭菌水清洗 5 次，置 4°C 低温避光保存 2 天后播种于培养基 ($12 \text{ cm} \times 12 \text{ cm}$) 上，密封后垂直置于光照培养室中，让根沿琼脂表面垂直向下生长，5~6 天后（根长约 2 cm），挑选长势一致的苗移植于处理培养基上生长，处理 5 天后统计结果。

1.2 供铵方式

本研究设计了 6 种供铵方式，分别是全根供铵、主根根尖供铵、侧根根尖供铵、主根成熟区供铵、侧根成熟区供铵和侧根的分根供铵。各种供铵方式如图 1 所示，具体操作如下：①全根供铵，即根部高铵，是指对拟南芥苗根部整体供铵。待拟南芥正常生长 5 天后，挑选长势一致的苗移植于有分隔的培养基上。培养基以一条宽 3 mm 的空气沟分割为上下两部，上部为不加铵的正常培养基，下部在正常培养基的基础上添加了不同浓度的铵。移苗时，将拟南芥地上部贴于上部培养基，整个根部全部置于下部处理培养基。②主根根尖供铵，是指仅将拟南芥主根根尖前端约 2 mm 段与高铵培养基接触。将长势一致拟南芥移于已被分割为上下两部分的培养基上，仅将主根根尖约 2 mm 段贴于下部高铵培养基，其余段和地上部都贴于上部正常培养基上。③主根成熟区供铵，是指仅对主

根上部的成熟区供铵。采用两条空气沟将培养基分为上中下 3 部分。仅在宽约 2 cm 的中部添加 0 或 60 mmol/L 的高铵处理，上下两部均为正常培养基。将待移的拟南芥苗移至两分隔的培养基上，根尖约 2 mm 段置于下部，地上部置于上部，其余部分贴于中部高铵培养基。④侧根分根，是指对长度相当的第一、第二条侧根进行一侧高铵处理。将正常生长 6 天的拟南芥苗自第二条可见侧根以下的主根段全部减去，移至新鲜正常培养基上恢复生长 3 天，选取留下的两条侧根长度相当的幼苗，移至左右两侧被空气沟分隔的培养基上，使一条侧根置于右侧正常培养基上，另一条置于左侧高铵培养基上，地上部不与左侧高铵培养基接触。⑤侧根根尖供铵，将正常生长 8 天的幼苗减来自第一根冒出的侧根以下的全部主根段，并在新鲜正常培养基上恢复生长 2 天后，选取长势一致的拟南芥苗移苗。仅将侧根根尖 2 mm 段贴于下部高铵培养基。⑥侧根成熟区供铵，仿照⑤对拟南芥苗进行预处理，之后按照③的要求移苗至两分隔培养基上。以上每种处理均不少于 8 株苗。



(灰色部分代表高铵培养基，白色部分代表正常培养基)

图 1 各种供铵方式示意图

Fig. 1 Sketch of different ammonium-supply patterns

1.3 侧根长度和数量的测量

取琼脂板表面上生长的根系，用直尺直接测量主根长，用根系扫描分析仪 (RHIZO 2004b) 测定根总长，肉眼观察计数每棵苗的侧根绝对数量。侧根长度为根总长减去主根长的值，侧根相对长度是每棵苗侧根绝对长度与 0 mmol/L 铵处理即对照条件下侧根长度平均值的百分比。侧根数量是指每厘米主根上平均分布的侧根数。

1.4 数据处理

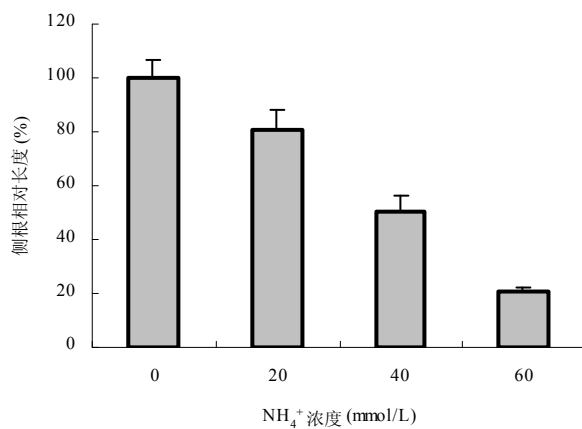
数据的处理分析采用 SPSS13.0，显著性差异要求

p 值 < 0.05, 方差分析采用 One-way ANOVA 分析; 图表应用 Excel 2003 制作。

2 结果与分析

2.1 根部高铵对拟南芥侧根生长的影响

在培养基条件下, 采用有分隔的培养皿仅对拟南芥根部进行高铵处理, 发现根部高铵显著抑制拟南芥幼苗侧根的长度, 并且抑制程度随铵浓度增加而增大(图 2)。与对照植株 (0 mmol/L NH_4^+) 相比, 20 mmol/L 的根部高铵已经能够显著地抑制拟南芥幼苗侧根的伸



长, 其长度下降 19.2%。当根部高铵浓度达到 40 mmol/L 和 60 mmol/L 时, 相对侧根长度分别下降至 50.5% 和 20.4%。但是, 根部高铵对拟南芥幼苗的侧根数量并没有抑制作用。在铵浓度为 20 mmol/L 和 40 mmol/L 时, 根部高铵对侧根数量有一定的促进作用, 相对于对照均上升了 31.6%, 但 20 mmol/L 和 40 mmol/L 铵处理之间没有差异。即使是铵浓度高达 60 mmol/L, 侧根数量相对于对照也没有显著的降低(图 2)。因此, 根部高铵对侧根的抑制作用主要是抑制其长度而非数量。

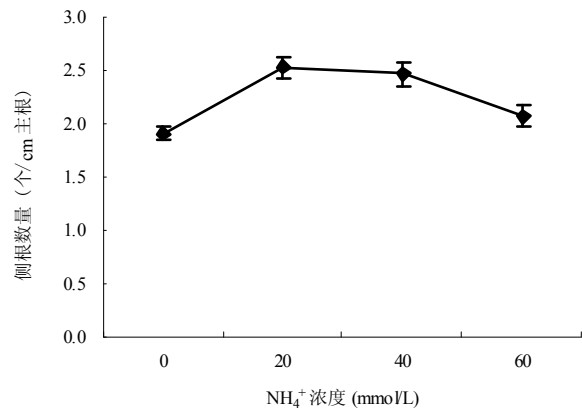


图 2 根部高铵对拟南芥幼苗侧根相对长度和侧根数量的影响

Fig.2 Effects of root-supplied ammonium on length and number of lateral root in Arabidopsis seedlings

植物根系吸收的铵可通过 GS-GOGAT 循环同化为谷氨酸和谷氨酰胺, 过量的铵会促进该循环产生大量的铵代谢产物。为此, 我们在对拟南芥幼苗根部供应高铵的同时, 观测了铵代谢抑制剂蛋氨酸亚氨基代砜 (methionine sulfoximine, MSO) 对侧根长度的影响。倘若, 根部高铵对拟南芥侧根长度的抑制是通过铵的代谢产物而非铵本身, 那么高铵和铵代谢抑制剂共培养可以恢复或者缓解根部高铵的这种抑制作用。反之, 铵代谢抑制剂的添加会切断或减弱铵的代谢从而使植物体内累积更多的铵, 进而使高铵的抑制效应将更加明显。从表 1 可以看出, MSO 的加入非但没有缓解根部高铵对拟南芥侧根长度的抑制, 反而加深了这种抑制效果。在 60 mmol/L 高铵处理下, 同未添加 MSO 的对照植株相比, 添加 1 $\mu\text{mol/L}$ 和 5 $\mu\text{mol/L}$ 的 MSO 后, 拟南芥侧根相对长度分别下降了 31.6% 和 49.3%。这一结果并不支持根部高铵对侧根长度的抑制作用是通过谷氨酸等铵的代谢产物而不是铵离子本身起作用的。

表 1 添加铵代谢抑制剂 MSO 对高铵下拟南芥侧根长度的影响

Table 1 MSO aggravated inhibitory effect of root-supplied ammonium on lateral root length

MSO 浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	铵浓度 (mmol/L)	侧根绝对长度 (cm)	侧根相对长度 (%)
0	60	2.93 \pm 0.13 a	100.0
1	60	2.00 \pm 0.21 a	68.4
5	60	1.48 \pm 0.12 b	50.6

注: 表中数值为平均值 \pm SE; 同一列数据后面不同字母表示差异达到 $p < 0.05$ 显著水平 (Duncan)。

2.2 不同区段根部高铵对拟南芥侧根伸长的影响

2.2.1 不同区段主根供铵对其侧根生长的影响 分别对主根的根尖和成熟区供铵发现, 当采用有分隔的培养皿仅对主根根尖约 2 mm 段供高铵时, 与高铵培养基直接接触的下部主根上侧根长度受到显著抑制, 侧根相对长度较对照下降了 69.8%, 而未接触高铵培养基的上区段主根上的侧根长度并未受到影响。当采用有两分隔的培养皿仅在拟南芥主根上部成熟区进行高铵处理时, 与对照相比, 与高铵直接接触的那部分

主根上的侧根相对长度下降至 18.7%，而下部未接触高铵培养基的主根上的侧根相对长度增加了 39.0%(图 3)。可见，根部高铵抑制侧根生长需要侧根直接接触高铵，对于非高铵区域的侧根长度并无抑制作用（根尖供铵）甚至还有一定的促进作用（成熟区供铵）。该结果说明了，根部高铵对侧根长度的影响可能不是一种整体的代谢效应，需要侧根或者侧根特殊部位直接接触高铵。

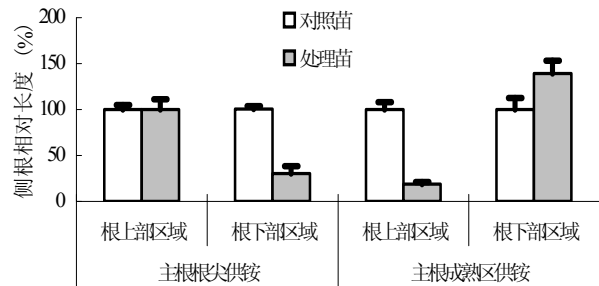
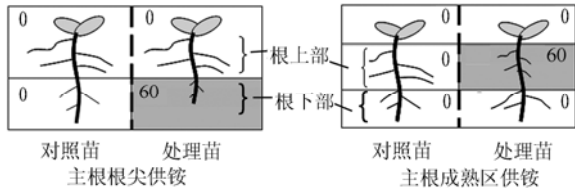


图 3 主根根尖供铵和成熟区供铵对侧根相对长度的影响（示意图中数字为铵浓度，下同）

Fig. 3 Responses of lateral root relative length to ammonium supplied to root tip and mature zone of primary root

2.2.2 不同区段侧根供铵对其伸长的影响 为了证实侧根伸长对根部高铵的响应是否具有部位特异性，并且进一步找出侧根伸长感应根部高铵胁迫的主要位点，对侧根的不同区域进行局部供铵处理分析其生长情况。其侧根长度的响应结果如图 4 所示：侧根根尖供铵显著抑制侧根的长度，侧根相对长度下降至 38.1%，但仅对侧根成熟区供铵并不影响侧根的长度。这一结果不仅再次证明了根部高铵对拟南芥幼苗侧根长度的抑制不是整体效应，并且进一步探明了，该抑制过程具有部位特异性，侧根根尖是其抑制侧根生长所必须的感应位点。

2.2.3 侧根分根供铵对同侧和异侧侧根生长的影响 在上述同一条侧根上的分区供铵实验基础上，我们进一步分析了同一株苗的不同侧根分开供铵效应。结果表明，与高铵接触的侧根长度依然受到明显抑制，与对照相比，其相对长度下降了 62.0%。而不接触高铵的异侧部分，其侧根长度与对照并没有差异（图 5）。

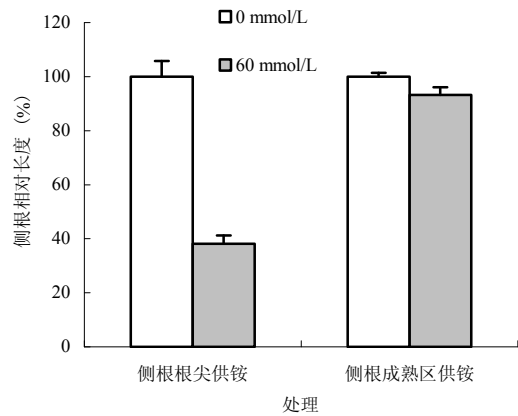


图 4 侧根根尖和成熟区供铵对侧根相对长度的影响

Fig. 4 Effects of lateral root-tip and mature-zone supplied ammonium on lateral root relative length

该结果也再次证明了根部高铵对侧根长度的抑制需要侧根特别是侧根根尖与高铵直接接触。侧根分根对二级侧根相对长度的影响（文中侧根所指均为一级侧根），结果如图 5 所示，直接接触高铵培养基的右侧区域二级侧根长度受到极显著抑制，相对长度仅为对照的 3.6%。同时未接触高铵培养基的左侧区域二级侧根长度显著增加，其相对长度约为对照的 173.0%，促进作用明显。

2.3 相关突变体分析

2.3.1 生长素运输突变体分析 生长素是一种重要的植物激素，广泛参与和调控植物体的各种发育和环境响应过程，但是过量的生长素对根系的生长也有明显的抑制作用^[20]。另外，以往研究还表明在低钾条件下，高铵对拟南芥的生长具有非常明显的抑制作用，而生长素突变体 *aux1*、*axr1* 和 *axr2* 对高铵的这种抑制作用具有一定的抗性^[16]。本研究是在正常钾浓度条件下观察到高铵对拟南芥侧根伸长的抑制，这种抑制效应是否也与生长素信号有关呢？

以生长素输入载体 AUX1 缺失突变体 *aux1-7* 和输出载体 EIR1 缺失突变体 *eir1-1* 为材料，分析其侧根生长对高铵的响应。结果如图 6 所示，与野生型 (Col-0) 相比，在铵浓度较低时，*aux1-7* 和 *eir1-1* 两个突变体的相对侧根长度都更为敏感，特别是 *aux1-7*。例如，在 20 mmol/L 铵处理时，野生型的侧根相对长度为对照 (0 mmol/L NH₄⁺) 的 80.8%，而 *aux1-7* 和 *eir1-1* 的侧根相对长度则分别下降至对照的 44.7% 和 59.6%。当铵浓度为 40 mmol/L 和 60 mmol/L 时，两者的侧根相对长度与野生型的差异较小。总体上是在我们这种正常钾浓度培养基条件下，生长素运输突变体 *aux1-7*

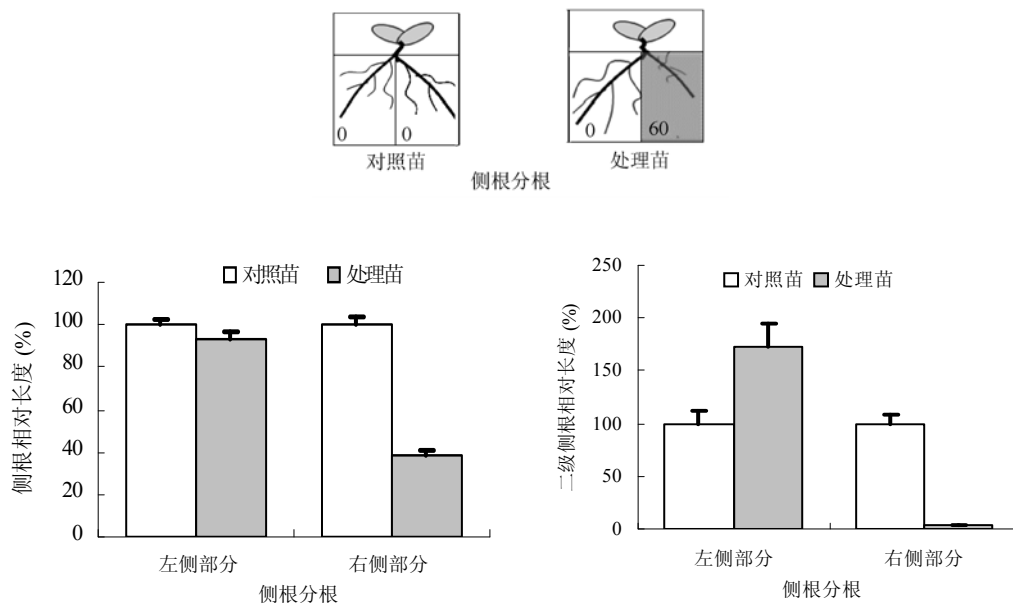


图 5 侧根分根供铵对两侧一级侧根及二级侧根相对长度的影响

Fig. 5 Effects of split-root-supplied ammonium on length of the primary and secondary lateral roots

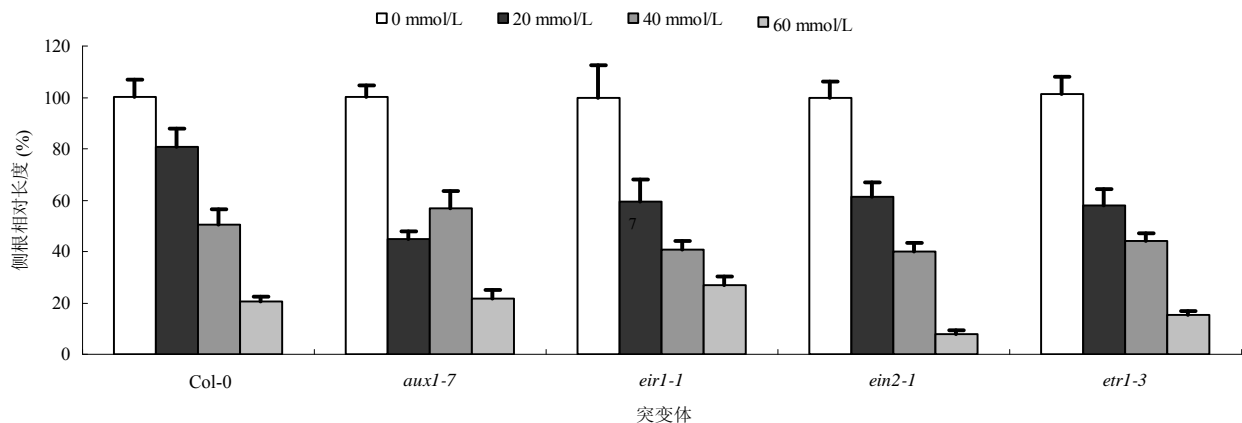


图 6 不同供铵水平下拟南芥野生型与相关突变体侧根相对长度的比较

Fig. 6 Comparisons of lateral root relative length between Col-0 and relative mutants under a series concentration of ammonium

和 *eir1-1* 的侧根生长对根部高铵的抑制效应没有抗性。

2.3.2 乙烯不敏感突变体分析 乙烯是另一种与根系发育具有密切关系的植物激素，过量的乙烯能明显抑制拟南芥根系的伸长。近年来研究发现乙烯抑制拟南芥根系生长除了是通过促进生长素在伸长区的累积外^[21-22]，还有其独立于生长素信号的调控途径^[23]。而以往研究表明植物体内铵含量的增加往往伴随着体内乙烯含量的升高^[24]。为此，我们用乙烯不敏感突变体 *ein2-1* 和 *etr1-3* 验证根部高铵是否是通过乙烯途径

抑制侧根的伸长。结果发现：与野生型相比，在铵浓度为 20 mmol/L 时，*ein2-1* 和 *etr1-3* 侧根相对长度都有显著下降，分别比野生型多下降了 19.5% 和 22.9%。当铵浓度为 60 mmol/L 时，两者的侧根相对长度仅为各自对照的 7.8% 和 15.2%，其中，*ein2-1* 的侧根相对长度值显著低于野生型的 20.4% ($p < 0.05$ ，图 6)。由此可见，两种乙烯不敏感突变体的侧根相对长度对根部高铵处理也没有抗性。这说明根部高铵抑制拟南芥侧根的伸长很可能也不是通过乙烯途径调控的。

3 讨论

根系是陆生植物最重要的营养吸收器官，对土壤中的养分有效性及环境有害物质的分布有极强的响应性。侧根因其仅具有胚后发育阶段，具有更好的环境可塑性。其长度和数量可以更好地体现植物根系对环境的响应特征。本研究采用局部高铵处理方法，选取侧根相对长度为主要指标，详细探讨了拟南芥幼苗对高铵胁迫的响应特征、主要作用位点，并简单探索了相关作用机理。

本试验中，地下部整体高铵显著抑制侧根长度，并具有浓度依赖性，这与之前的研究报道是一致的^[15]。但地下部供铵并不抑制侧根的数量。当地下部铵浓度不太高时，对侧根数量还有一定的促进作用。可见，根部高铵对侧根的抑制作用主要在其长度而非数量。通过对主侧根的局部供铵试验结果可以肯定，根部高铵对侧根长度的抑制作用是一种局部效应，具有部位特异性，侧根根尖是主要的感受位点。

已有大量研究表明，同作为 N 源的硝酸盐、谷氨酸等养分因子均能作为一种外界环境信号调控植物根系的发育和分布。但 3 种 N 源对根系抑制特性和机理略有不同。表型上看，高硝对侧根的抑制虽然也是主要抑制侧根长度而非数量，但它是一种可能由代谢产生的整体抑制效应^[12-13]，并不需要侧根根尖与高硝的直接接触。并且，高硝并不抑制主根长，而高铵对主根长也有明显的抑制^[10, 15, 19]。而有机 N 源 L-谷氨酸对拟南芥根系的抑制主要是对主根长的抑制显著，对侧根长度的抑制相对滞后^[14]。而根部高铵对主根和侧根都有迅速、显著的抑制效应^[15]。不过，L-谷氨酸对主根的抑制作用也需要主根根尖直接接触的，是一种具有部位特异性的局部效应^[14]，这一点与高铵对侧根长度的作用相似。但铵代谢抑制剂 MSO 的添加不能缓解高铵对侧根长度的抑制，这一结果说明了铵和 L-谷氨酸对侧根长度的影响应该是两种不同的作用途径。在机制上，高硝对侧根的抑制受体体内氮碳水平和 ABA 介导途径的调控^[10, 12]。L-谷氨酸被认为是一种可以调控根系的外源信号，但在植物体内还没有发现确凿的受体^[14, 25]。生长素抗性突变体 *aux1-7* 能够在一定程度上抵抗谷氨酸对其主根的抑制效应^[14]。另外，硝可以通过主根根尖的硝酸盐转运蛋白 NRT1.1 的专性结构功能缓解谷氨酸对主根的抑制^[26]。Cao 等^[16]也报道过低 K^+ 时拟南芥生长素抗性突变体 *aux1*、*axr1* 和 *axr2* 能部分解除铵对拟南芥幼苗主根的抑制。这与我们对侧根影响的研究结果有所不同，这可能是由于高铵对主

根和侧根的调控机制不尽相同。同时，比较二者的试验体系也有以下不同：①本培养条件下补充了适量的 K^+ ，消除低 K^+ 的影响，从而与 Cao 等^[16]的低 K^+ 培养条件不同。方婧等^[27]在适量 K^+ 的培养条件下，也没有发现生长素抗性突变体对高铵的抑制效果具有抗性，本研究的结果与此是一致的。②本试验采用了移苗处理，使得拟南芥种子萌发过程完全在无铵胁迫条件下进行，并仅对根部施加高铵处理，排除其他部位铵及代谢产物的影响。这与 Cao 等^[16]直接播种于高铵培养基上的整体处理方式有所不同。乙烯不敏感突变体同样不能恢复高铵对侧根长度的抑制，反而较野生型更敏感。这说明，根部高铵对侧根长度的抑制作用可能不是主要通过生长素运输和乙烯介导的途径起作用的，但可能有一定的交叉。硝也可以缓解植物铵中毒症状^[2]，本研究在培养体系中添加了中量硝酸盐，植物铵中毒的阈值被提高^[2]，但随着铵浓度的增加其抑制效应依然显著。可见，不同 N 源对根系生长发育的调控既有一定的相互关系又有各自特有的特征和途径。

根尖作为根的生长点，可以感受到多种信号并通过细胞分裂分化的影响改变根系形态作为对外界环境的响应。除铵和 L-谷氨酸外，低磷和铝毒等环境胁迫对根系的调控也是由植物根尖感应的^[28-29]。植物感知水分以及重力等环境因子也需要通过根尖实现^[30-31]。一些信号受体，如 NRT1.1 以及 ANR1 也都在根尖大量表达^[32]。故，根尖可能是一个重要的环境因子感应场所。

从主根成熟区供铵和侧根分根供铵试验中，可以看到，局部高铵虽抑制与之直接接触的那部分的侧根长度，但对异侧非高铵区的侧根长度有显著的促进作用。根系通过这种侧根分布的改变响应来达到趋利避害的效果。作者推测，这种促进作用可能是植株整体应对局部高铵胁迫，主动发起的一种适应环境的生长机制，可能是通过主动调节体内的 N 水平和 N 素分配而引起的。

总之，在培养基条件下，根部高铵对拟南芥侧根的抑制作用主要是抑制其伸长。这种抑制作用是铵通过根尖部位直接产生的局部抑制效应而不是整体抑制效应。同时，植物体可能通过调控体内的氮碳分配，促进其他非毒害区根系的生长，保证其他养分的充分吸收和地上部的正常生长。这种植物趋利避害的生长方式可能是植物主动适应胁迫环境长期进化形成的结果，其内在机制非常值得深入研究。另外，生长素运

输突变体和乙烯抗性突变体对这种抑制均没有抗性,但是否与生长素和乙烯在体内的分布和合成有关以及与其他激素的关系还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] von Wiren N, Gazzarini S, Gojon A, Frommer WB. The molecular physiology of ammonium uptake and retrieval. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2000, 3: 254-261
- [2] Britto DT, Kronzucker HJ. NH_4^+ toxicity in higher plants: A critical review. *J. Plant Physiol.*, 2002, 159: 567-584
- [3] Gerendas J, Zhu Z, Bendixen R, Ratcliffé RG, Sattelmacher B. Physiological and biochemical processes related to ammonium toxicity in higher plants. *Z Pflanzenernaehr Bodenkd.* 1997, 160: 239-251
- [4] Chaillou S, Morot-Gaudry JF, Salsac L, Lesaint C, Jolivet E. Compared effects of NO_3^- or NH_4^+ on growth and metabolism of French bean. *Physiol. Veg.*, 1986, 24: 679-687
- [5] de Graaf MCC, Bobbink R, Verbeek PJM, Roelofs JGM. Differential effects of ammonium and nitrate on three heathland species. *Plant Ecol.*, 1998, 135: 185-196
- [6] 王小治, 朱建国, 高人, 宝川靖和. 太湖地区氮素湿沉降动态及生态学意义: 以常熟生态站为例. *应用生态学报*, 2004, 15(9): 1616-1620
- [7] Bobbink R. Impacts of tropospheric ozone and airborne nitrogenous pollutants on natural and semi-natural ecosystems: A commentary. *New Phytol.*, 1998, 139: 161-168
- [8] Krupa SV. Effects of atmospheric ammonia (NH_3) on terrestrial vegetation: A review. *Environ. Pollut.*, 2003, 124: 179-221
- [9] Fisher RF, Long SR. Rhizobium-plant signal exchange. *Nature*, 1992, 357: 655-660
- [10] Zhang H, Jennings A, Barlow PW, Forde BG. Dual pathways for regulation of root branching by nitrate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96: 6529-6534
- [11] Zhang H, Rong H, Pilbeam D. Signalling mechanisms underlying the morphological responses of the root system to nitrogen in *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.*, 2007, 58: 2329-2338
- [12] Signora L, De Smet I, Foyer CH, Zhang H. ABA plays a central role in mediating the regulatory effects of nitrate on root branching in *Arabidopsis*. *Plant J.*, 2001, 28: 655-662
- [13] Malamy J, Ryan K. Environmental regulation of lateral root initiation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 2001, 127: 899-909
- [14] Walch-Liu P, Liu LH, Remans T, Tester M, Forde BG. Evidence that L-glutamate can act as an exogenous signal to modulate root growth and branching in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.*, 2006, 47: 1045-1057
- [15] 李保海, 施卫明. 拟南芥幼苗对高 NH_4^+ 响应的特征及不同生态型间的差异. *土壤学报*, 2007, 44(3): 508-515
- [16] Cao Y, Class DM, Crawford NM. Ammonium inhibition of *Arabidopsis* root growth can be reversed by potassium and by auxin resistance mutations *aux1*, *axr1*, and *axr2*. *Plant Physiol.*, 1993, 102: 983-989
- [17] 赵学强, 施卫明. 水稻根系生长对不同氮形态响应的动态变化. *土壤*, 2007, 39(5): 766-771
- [18] Britto DT, Siddiqi MY, Glass AD, Kronzucker HJ. Futile transmembrane NH_4^+ cycling: A cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 98: 4255-4258
- [19] Qin C, Qian W, Wang W, Wu Y, Yu C, Jiang X, Wang D, Wu P. GDP-mannose pyrophosphorylase is a genetic determinant of ammonium sensitivity in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008, 105: 18308-18313
- [20] List AJr. Transient growth responses of the primary roots of *Zea mays*. *Planta*, 1969, 87: 1-19
- [21] Ruzicka K, Ljung K, Vanneste S, Podhorská R, Beeckman T, Friml J, Benkova E. Ethylene regulates root growth through effects on auxin biosynthesis and transport-dependent auxin distribution. *Plant Cell*, 2007, 19: 2197-2212
- [22] Swarup R, Perry P, Hagenbeek D, Van Der Straeten D, Beemster GTS, Sandberg G, Bhalerao R, Ljung K, Bennett MJ. Ethylene upregulates auxin biosynthesis in *Arabidopsis* seedlings to enhance inhibition of root cell elongation. *Plant Cell*, 2007, 19: 2186-2196
- [23] Thomann A, Lechner E, Hansen M, Dumbliuskas E, Parmentier Y, Kieber J, Scheres B, Genschik P. *Arabidopsis CULLIN3* genes regulate primary root growth and patterning by ethylene-dependent and -independent mechanisms. *PLoS Genetics*, 2009, 5: e1000328
- [24] You W, Barker AV. Ethylene evolution and ammonium accumulation by tomato plants after root-applied glufosinate-ammonium treatment in the presence of ethylene inhibitors. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 2004, 35: 1957-1965
- [25] Forde BG, Walch-Liu P. Nitrate and glutamate as environmental cues for behavioural responses in plant roots. *Plant Cell Environ.*, 2009, 32: 682-693
- [26] Walch-Liu P, Forde BG. Nitrate signaling mediated by the NRT1.1 nitrate transporter antagonizes L-glutamate-induced changes in root architecture. *Plant J.*, 2008, 54: 820-828
- [27] 方婧. 铵态氮对拟南芥根尖结构的影响 (硕士学位论文). 北

- 京: 中国农业大学, 2007: 25
- [28] Svistoonoff S, Creff A, Reymond M, Sigoillot-Claude C, Ricaud L, Blanchet A, Nussaume L, Desnos T. Root tip contact with low-phosphate media reprograms plant root architecture. *Nature Genetics*, 2007, 39: 792–796
- [29] Ryan PR, DiTomaso JM, Kochian LV. Aluminum toxicity in roots: An investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. *J. Exp. Bot.*, 1993, 44: 437–446
- [30] Hawes MC, Bengough G, Cassab G, Ponce G. Root caps and rhizosphere. *J. Plant Growth Regul.*, 2003, 21: 352–367
- [31] Eapen D, Barroso ML, Ponce G, Campos ME, Cassab GI. Hydrotropism: Root growth responses to water. *Trends Plant Sci.*, 2004, 10: 1360–1385
- [32] Remans T, Pervent M, Filleur S, Diatloff E, Mounier E, Tillard P, Forde BG, Gojon A. The Arabidopsis NRT1.1 transporter participates in the signaling pathway triggering root colonization of nitrate-rich patches. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, 103: 19206–19211

Response and Mechanism of Arabidopsis Lateral Root to Excessive Ammonium Stress

LI Qing^{1,2}, LI Bao-hai^{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 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: In this study, we investigated the responses and the mechanisms of the lateral root to root-supplied ammonium in Arabidopsis thaliana seedlings. The results indicated that high concentration of ammonium suppressed the lateral root development through the length of the lateral root rather than the number. Adding MSO showed no rescue of the lateral root length, suggesting that this inhibitory effect was not a systemic effect by the metabolism of excessive ammonium from root but a localized effect. The root tip of the lateral root was the crucial perceived site, which was confirmed by the experiments of supplying ammonium to the different zones of primary or lateral root in Col-0. On the other hand, when ammonium was localized supplied to part of the root, the length of the lateral root on the other agar surface which did not contain ammonium was significantly promoted. According to the analyses of the relative mutants, the lateral root length of mutants both in auxin transport (*aux1-7*, *eir1-1*) and insensitive to ethylene (*ein2-1*, *etr1-3*) had no tolerance to this repressive effect of root-supplied ammonium on the relative length of the lateral root in Arabidopsis seedlings, which indicated that this effect may be mainly regulated by independent auxin-transport and ethylene pathways.

Key words: Root-supplied ammonium, Arabidopsis thaliana, Lateral root length, Root system, Environment stress