

## 镉污染水稻土中水稻氮素营养的 SPAD 诊断<sup>①</sup>

李昌明<sup>1,2</sup>, 周艳丽<sup>1,2</sup>, 龙光强<sup>3</sup>, 孙波<sup>1\*</sup>

(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 中国科学院大学, 北京 100049;

3 云南农业大学资源环境学院, 昆明 650201)

**摘要:** 治理和安全利用重金属污染水稻土过程中, 氮素营养的快速诊断是制定合理施肥措施的基础。叶绿素测定仪 SPAD 已广泛应用于非污染耕地土壤中玉米、小麦和棉花等作物的氮素营养诊断, 然而针对镉污染条件下的不同类型水稻土, SPAD 在诊断水稻氮素营养的适应性方面仍然缺乏系统研究。本研究采集了我国水稻主产区的 21 种典型水稻土, 以德农 2000 为供试水稻品种, 设置无镉污染、轻度镉污染、重度镉污染处理的水稻盆栽试验, 研究水稻叶片 SPAD 值对镉污染水稻土氮素供应诊断和水稻产量预测的能力。结果表明: 水稻土类型影响了水稻叶片 SPAD 值对不同水平镉污染的响应, 土壤 pH 是主控因子, 其相对影响的平均值为 20%。水稻叶片 SPAD 值与不同生育期水稻籽粒氮素含量显著正相关, 其中拔节期的相关系数最大; 同时水稻叶片 SPAD 值与水稻营养生长期(苗期至拔节期)土壤溶液总氮和铵态氮含量呈显著正相关, 且不受镉污染程度和土壤类型的影响。总体上, 不同生育期(尤其是拔节期)水稻叶片的 SPAD 值可以表征镉污染条件下不同类型水稻土氮素养分供应对水稻氮素营养的影响。

**关键词:** 叶绿素仪(SPAD); 镉污染; 水稻土类型; 土壤氮素供应; 氮素营养诊断

**中图分类号:** S154; Q958 **文献标识码:** A

稻田土壤氮素养分供应影响了水稻的产量和品质<sup>[1-2]</sup>, 以高产为目标的大水大肥管理方式导致稻田氮素负荷增加, 引起水环境污染<sup>[3-4]</sup>。根据土壤供应和作物需求制定精确施氮方案可以有效控制氮肥过量施用问题<sup>[5-6]</sup>, 而氮素的营养诊断是制定精确施肥方案的基础<sup>[7]</sup>。

作物叶片的叶绿素含量是衡量作物氮素营养变化的敏感指标<sup>[8]</sup>, 与叶片的光合作用强度和作物产量密切相关。叶绿素仪(SPAD-502)通过测定作物功能叶对红光段(波长约 650 nm)的透射强度估算叶绿素含量<sup>[9]</sup>。叶绿素仪作为监测田间作物氮素营养状况的快速简便方法, 已广泛应用于指导水稻、玉米、小麦等作物的田间施肥<sup>[10-16]</sup>。在美国和巴基斯坦的稻田系统中, 研究发现控制氮肥过量施用的水稻叶片 SPAD 阈值分别为 40 和 37.5<sup>[17]</sup>。2005—2013 年对全国土壤污染状况的调查表明, 在所有采样点(38 393 个土样)中, 中度镉污染比例占 12.7%, 中度以上到重度镉污染的比例占 4.6%<sup>[18]</sup>。一方面, 稻田土壤镉污染对水稻生

长产生过氧化胁迫, 抑制水稻根系和叶片生长, 降低叶绿素和蛋白质含量, 破坏营养元素离子通道和运输器, 导致光合速率降低, 最终影响了水稻株高、分蘖、颖花数和生物量<sup>[19-20]</sup>。另一方面, 土壤镉污染影响了土壤微生物群落组成和土壤酶活性, 从而影响了土壤氮素的转化<sup>[22-23]</sup>, 并最终影响作物对氮素的吸收<sup>[24]</sup>。研究表明, 水稻叶片 SPAD 值不仅能表征水稻植株氮素营养状况和籽粒产量, 也可反映稻田土壤的氮素供应情况<sup>[25-26]</sup>。然而, 叶片总叶绿素或氮含量与叶色之间的定量关系受到作物种属<sup>[27-28]</sup>、生育期<sup>[29-30]</sup>及其生长环境<sup>[31-32]</sup>的综合影响。我国水稻土类型多样, 目前对镉污染条件下不同水稻土中水稻叶片 SPAD 值表征土壤氮素供应和水稻氮素营养的能力及其影响因素, 仍缺乏系统研究。

本研究在我国东北、长江流域及东南沿海水稻主产区采集 21 种典型水稻土, 通过镉添加盆栽试验, 研究不同水稻生育期中水稻叶片 SPAD 值的动态变化特征, 分析不同镉污染水平下水稻叶片 SPAD 值与

基金项目: 国家绿肥产业技术体系项目(CARS-22-G-14)、国家重点研究计划项目(2016YFD0200300)和中国科学院科技服务网络计划项目(KFJ-SW-STS-142)资助。

\* 通讯作者(bsun@issas.ac.cn)

作者简介: 李昌明(1987—), 男, 甘肃兰州人, 博士研究生, 主要从事土壤环境生态学方面的研究。E-mail: churmi@163.cn

水稻籽粒氮素含量和产量的关系,以及与不同水稻土中氮素供应的关系,为治理和安全利用镉污染水稻土提供水稻氮素营养的快速诊断方法。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试材料

在我国东北、长江流域和东南沿海三大优势水稻主产区,采集 21 种典型水稻土,其基本理化性质见表 1。其中强酸性土(1 个,  $\text{pH} < 5$ )占 5%,中性土(1 个,  $6.5 < \text{pH} < 7.5$ )占 5%,其余均为酸性土壤( $5 < \text{pH} < 6.5$ )。土壤样品经风干后去除杂物,过 5 mm 筛备用。供试水稻品种为杂交稻德农 2000,全生育期 130 d,是前期研究中筛选出来的对镉污染中等敏感的品种<sup>[33]</sup>。

### 1.2 盆栽试验

水稻盆栽试验于 2011 年 6—9 月在中国科学院中山植物园(江苏省南京市)温室内进行,试验期间气温变幅为 14~37°C,日平均气温为 26.2°C。试验采用

PVC 盆(口径 35 cm,底径 12.5 cm,高 30 cm),每盆装土 7 kg。针对 21 种水稻土类型和 3 个镉污染水平设置双因素完全随机试验,每个处理设置 3 次重复,共计 63 盆。镉污染处理包括无镉污染(Cd0)、轻度镉污染(Cd1)和重度镉污染(Cd2)3 个水平。其中,土壤轻度镉污染的镉添加量为我国酸性土壤环境质量二级标准(0.3 mg/kg),重度镉污染的镉添加量为二级标准的 2 倍(0.6 mg/kg)。将  $\text{CdSO}_4 \cdot 8/3\text{H}_2\text{O}$  溶液与土壤充分混匀后,保持 80% 田间持水量,自然状态下老化 3 个月,然后在每盆表层土 3~5 cm 处安置土壤溶液采集器<sup>[34]</sup>。水稻移栽前一周除草并淹水 3~5 cm,按 0.05 g/kg  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 、0.04 g/kg  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ 、0.10 g/kg  $\text{K}_2\text{SO}_4$  施入基肥,并于分蘖期和抽穗期各追施  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  0.05 g/kg,移栽后全生育期保持盆钵土面上 2~3 cm 水层。水稻种子室温浸泡 48 h,用  $\text{H}_2\text{O}_2$  消毒后置于温室进行催芽,发芽的种子旱床肥育后于三叶一心期进行移栽,每盆 3 穴,每穴 3 株。

表 1 供试水稻土的基本理化性质  
Table 1 Basic physical and chemical properties of tested paddy soils

水稻产区	地点	土壤类型	土壤编号	pH	电导率 ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	阳离子交换量 ( $\text{cmol}/\text{kg}$ )	有机质 ( $\text{g}/\text{kg}$ )	全氮 ( $\text{g}/\text{kg}$ )	全磷 ( $\text{g}/\text{kg}$ )	全钾 ( $\text{g}/\text{kg}$ )	全铁 ( $\text{g}/\text{kg}$ )	全铝 ( $\text{g}/\text{kg}$ )	砂粒 ( $\text{mg}/\text{kg}$ )	粉砂粒 ( $\text{mg}/\text{kg}$ )	黏粒 ( $\text{mg}/\text{kg}$ )
东	海口	棕红壤性水稻土-	HK-BRP	5.23	146	22.2	19.7	1.25	0.28	19.0	29.7	62.3	472.8	257.2	270.0
南	广州	红泥田-	GZ-RP	5.18	286	7.07	23.5	1.27	0.55	40.7	11.2	72.7	734.4	156.0	109.6
沿	清远	黄泥田-	QY-YP	5.30	100	6.97	23.9	1.27	0.36	31.1	10.3	70.8	684.4	176.8	138.8
海	南宁	紫泥田-	NN-PP	5.64	195	9.09	43.7	2.24	0.46	8.95	28.6	61.1	556.8	234.8	208.4
	南宁	黄砂泥田-	NN-YSP	5.35	113	11.2	18.4	1.09	0.36	13.5	24.6	69.8	497.2	203.6	299.2
	漳州	青府灰泥田-	ZZ-GP	4.96	111	11.9	44.2	2.04	0.41	30.6	22.8	83.1	580.0	260.0	160.0
长	鹰潭	红黏性水稻土-	YT-RCP	5.07	60	9.39	20.8	1.86	0.53	8.88	13.0	41.1	464.8	346.8	188.4
江	常德	红砂泥田-	CD-RSP	5.49	103	12.4	30.4	1.63	0.37	15.9	18.8	46.1	543.2	260.8	196.0
流	常德	紫泥田-	CD-PP	5.66	32	8.89	21.8	1.56	0.31	12.8	13.8	34.5	611.6	230.8	157.6
域	武汉	石灰泥田-	WH-LP	6.74	94	13.3	21.0	1.31	0.88	18.7	25.5	61.9	504.4	387.6	108.0
	武汉	棕红泥田-	WH-BRP	5.20	85	9.90	34.4	1.92	0.54	14.7	22.9	56.6	216.8	524.4	258.8
	重庆	黄泥田-	CQ-YP	5.32	132	3.33	13.0	0.75	0.43	2.83	7.37	21.1	878.8	56.8	64.4
	嘉兴	黄泥田-	JX-YP	5.29	269	16.1	21.0	1.52	0.63	19.7	31.6	74.0	319.2	391.2	289.6
	宣城	砂泥田-	XC-SP	5.95	60	12.2	18.5	1.2	0.6	21.0	28.3	64.7	393.2	427.6	179.2
	宣城	黄白土田-	XC-YWP	5.41	60	10.4	26.9	1.59	0.68	12.7	18.9	48.6	259.6	517.6	222.8
	常熟	黄泥土田-	CS-YP	6.15	194	18.0	46.1	1.29	0.51	15.8	29.6	67.8	344.4	394.8	260.8
	盐城	红砂壤性水稻土-	YC-RLP	6.12	55	11.0	17.5	1.21	0.62	20.8	27.4	61.2	398.4	422.4	179.2
	扬州	马肝土田-	YZ-HLP	6.47	133	16.8	16.8	1.43	0.92	19.9	26.6	62.8	350.4	426.4	223.2
东	沈阳	棕壤性水稻土-	SY-BP	6.33	114	22.0	33.9	1.74	0.58	19.3	30.0	79.8	322.8	357.6	319.6
北	鸡西	黑黏壤性水稻土-	JX-BCP	5.73	156	20.0	24.0	1.12	0.58	21.6	22.7	69.0	575.6	194.8	229.6
地	海伦	黑砂壤性水稻土-	HL-BSP	6.10	153	14.2	33.0	0.90	0.56	21.8	23.6	67.7	571.6	300.4	128.0

注:土壤类型中、 、 分别表示基于土壤性质分组的第一类、第二类和第三类水稻土。

### 1.3 水稻叶片 SPAD 值测定及土壤溶液样品分析

分别于 5 个水稻生育期(苗期、分蘖期、拔节期、

抽穗期和成熟期)利用叶绿素仪(SPAD-502, Minolta Camera Co., Ltd., Japan)测定水稻植株最上一片全展

叶 SPAD 值，每叶选取叶片中部、距叶鞘和叶尖各 1/3 处 3 个部位测定。每盆选 3 穴，每穴选 3 株水稻，每盆共计测定 27 个 SPAD 值，求取平均值和标准差。同时在 5 个生育期利用土壤溶液采集器收集土壤溶液，分析  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  含量，表征水稻土供氮能力。所采集的土壤溶液样品立即带回实验室，用  $0.45\ \mu\text{m}$  滤膜过滤，滤液装入 15 ml 聚丙烯离心管，保存于 4℃ 冰箱中待测。土壤溶液  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  和全氮含量用连续流动分析仪(BRAN+LUEBBE AA3)测定。土壤理化性质按《土壤农业化学分析方法》<sup>[35]</sup>进行分析，其中土壤 pH 按水土比 2.5 : 1 电位法测定，土壤颗粒组成采用

吸管法测定，土壤阳离子交换量(CEC)用 1 mol/L 乙酸铵(pH 7.0)交换法测定，土壤有机质(SOM)采用重铬酸钾容量法-外加热法测定。

### 1.4 数据处理

为了比较不同水稻土类型中叶片 SPAD 值的变化特征，根据土壤基本理化性质，采用主成分分析将 21 种水稻土分为 3 类(图 1)。第一和第二主成分解释了土壤属性变异的 71.2%，其中第一主成分表征 CEC(相关系数  $r = 0.72$ )、SOM( $r = 0.65$ )及土壤黏粒含量( $r = 0.82$ )，第二主成分表征土壤 pH( $r = 0.73$ )和总氮( $r = -0.67$ )。

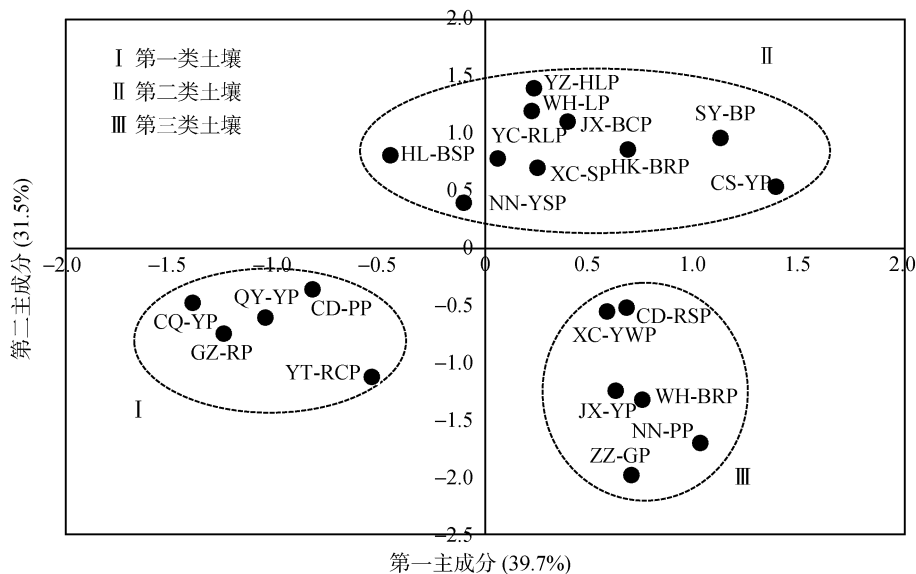


图 1 基于土壤性质的主成分分析对水稻土的分组  
Fig. 1 Grouping of tested paddy soils based on PCA of soil properties

第一类水稻土(I)特征是较低的 CEC 和 pH，包括：重庆黄泥田(CQ-YP)、广州红泥田(GZ-RP)、清远黄泥田(QY-YP)、常德紫泥田(CD-PP)、鹰潭红黏性水稻土(YT-RCP)。第二类水稻土(II)特征是较高的 CEC 和 pH 值，包括：海伦黑砂壤性水稻土(HL-BSP)、南宁黄沙泥田(NN-YSP)、盐城红砂壤性水稻土(YC-RLP)、武汉石灰泥田(WH-LP)、扬州马肝土田(YZ-HLP)、鸡西黑黏壤性水稻土(JX-BCP)、宣城沙泥田(XC-SP)、海口棕红壤性水稻土(HK-BRP)、沈阳棕壤性水稻土(SY-BP)、常熟黄泥土田(CS-YP)。第三类水稻土(III)特征是较高的 SOM 和全氮，包括：常德红砂泥田(CD-RSP)、宣城黄白土田(XC-YWP)、武汉棕红泥田(WH-BRP)、南宁紫泥田(NN-PP)、漳州青府灰泥田(ZZ-GP)、嘉兴黄泥田(JX-YP)。

试验数据采用 SPSS 16.0 及 R 软件进行统计分析。利用聚类推进树分析(aggregated boot tree analysis)计算土壤属性对水稻叶片 SPAD 值变异的解释量<sup>[36]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同水稻土和镉污染条件下水稻叶片 SPAD 值的动态变化特征

图 2 和表 2 说明，成熟期以前，大部分水稻土中水稻叶片 SPAD 值随镉污染水平增加而下降。在轻度和重度镉污染条件下，常德红砂泥田(CD-RSP)、漳州青府灰泥田(ZZ-GP)、武汉石灰泥田(WH-LP)、南宁紫泥田(NN-PP)、宣城黄白土田(XC-YWP)、嘉兴黄泥田(JX-YP)、海伦黑砂壤性水稻土(HL-BSP)、盐城红砂壤性水稻土(YC-RLP)中的水稻叶片 SPAD 值高于无镉污染处理；而沈阳棕壤性水稻土(SY-BP)、广州红泥田(GZ-RP)、重庆黄泥田(CQ-YP)、扬州马肝土田(YZ-HLP)中的 SPAD 值低于无镉污染处理。这些水稻土类型中叶片 SPAD 值的分异与单一土壤性质之间没有显著的线性相关性，说明水稻土的理化性质共同影响了水稻叶片 SPAD 值对镉污染的响应特征。

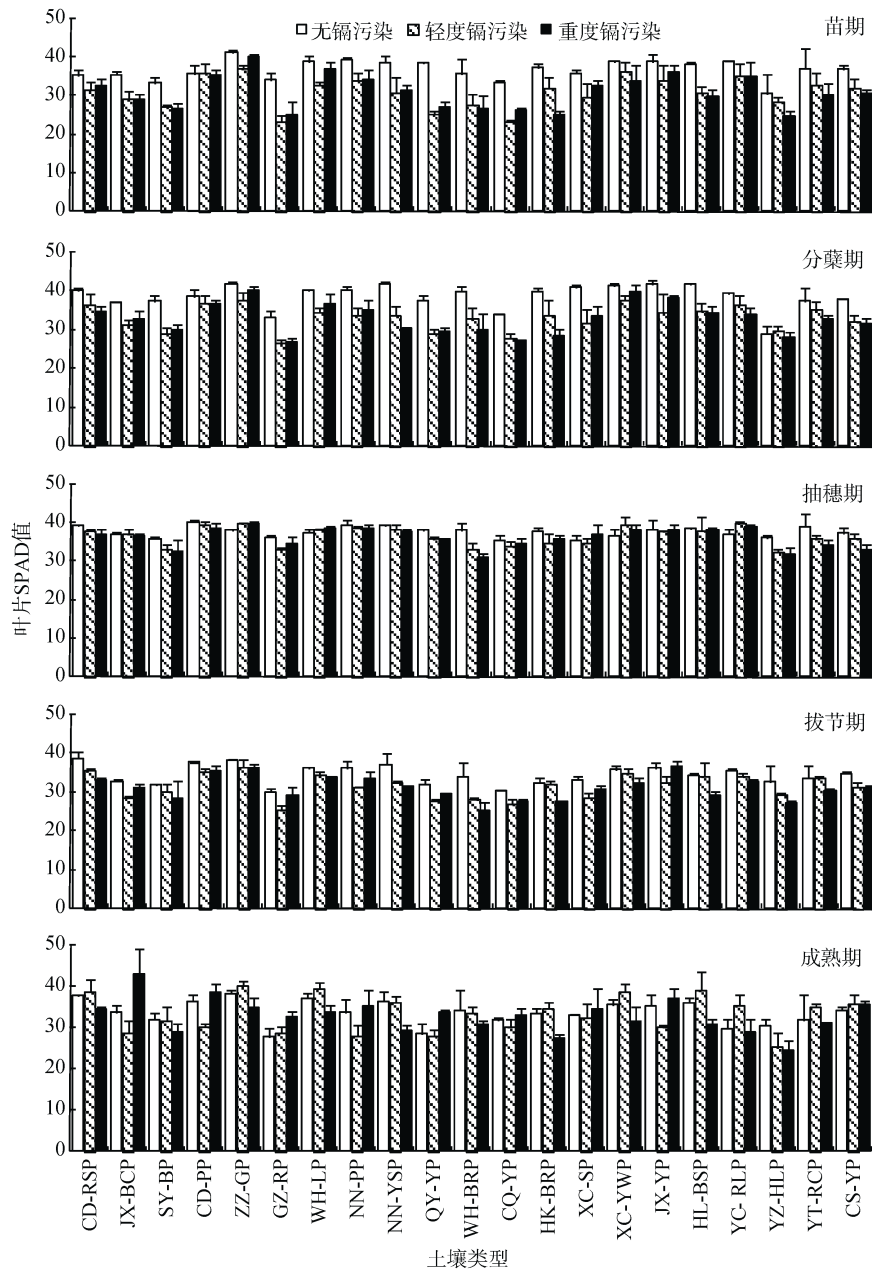


图 2 不同镉污染水平下 21 种水稻土中水稻叶片 SPAD 值随生育期的变化  
 Fig. 2 SPAD values of rice leaves in different rice growing seasons in tested paddy soils under different Cd pollution levels

方差分析表明(表 3), 土壤类型及其与镉污染处理的交互作用显著影响了水稻全生育期的叶片 SPAD 值, 镉污染处理在水稻苗期到抽穗期显著影响了叶片 SPAD 值, 但在水稻成熟期影响不显著。整体而言, 水稻营养生长期(苗期、分蘖期和拔节期)叶片 SPAD 值受土壤类型和镉污染的影响程度大于生殖生长期(抽穗期以后)。

聚类推进树分析表明(表 4), 土壤 pH、SOM 和 CEC 对水稻叶片 SPAD 值相对影响的平均值分别为 20.0%、16.3% 和 13.4%, 较大, 在水稻营养生长期(苗期至拔节期), 土壤 pH 对水稻叶片 SPAD 值的

相对影响最大(平均为 21.5%)。

### 2.2 不同水稻土和镉污染条件下水稻叶片 SPAD 值与水稻籽粒及土壤溶液氮素含量之间的相关性

相关分析发现(表 5), 不同镉污染水平下的不同水稻土中, 水稻叶片 SPAD 值与籽粒氮素浓度之间大多呈显著正相关, 其相关系数在拔节期最高(在 0.57 以上); 而水稻叶片 SPAD 值与籽粒生物量之间的相关性大多不显著。这说明水稻叶片 SPAD 值对镉污染水稻土中水稻籽粒氮素浓度的预测能力强, 但对水稻产量的预测能力较差。

表 2 水稻土类型对不同生育期叶片 SPAD 值响应镉污染特征的影响

Table 2 Effects of paddy soil types on responses of rice leaf SPAD values to different Cd pollution levels during rice growing seasons

水稻 生育期	水稻叶片 SPAD 值响应不同水平镉污染的特征			
	Cd1 < Cd0	Cd1 << Cd0	Cd1 > Cd0	Cd1 > Cd0
	Cd2 < Cd0	Cd2 < Cd0	Cd2 < Cd0	Cd2 > Cd0
苗期	鸡西-黑黏壤性水稻土、沈阳-棕壤性水稻土、武汉-棕红泥田、海口-棕红壤性水稻土、宣城-黄白土田、海伦-黑砂壤性水稻土、盐城-红砂壤性水稻土、扬州-马肝土田、鹰潭-红黏性水稻土、常熟-黄泥土田	常德-红砂泥田、漳州-青府灰泥田、广州-红泥田、武汉-石灰泥田、南宁-紫泥田、南宁-黄砂泥田、清远-黄泥田、重庆-黄泥田、宣城-砂泥田、嘉兴-黄泥田	无	无
分蘖期	常德-红砂泥田、常德-紫泥田、广州-红泥田、南宁-黄砂泥田、清远-黄泥田、武汉-棕红泥田、重庆-黄泥田、海口-棕红壤性水稻土、海伦-黑砂壤性水稻土、盐城-红砂壤性水稻土、鹰潭-红黏性水稻土、常熟-黄泥土田	鸡西-黑黏壤性水稻土、沈阳-棕壤性水稻土、漳州-青府灰泥田、武汉-石灰泥田、南宁-紫泥田、宣城-黄白土田、嘉兴-黄泥田	扬州-马肝土田	无
拔节期	常德-红砂泥田、沈阳-棕壤性水稻土、武汉-石灰泥田、南宁-黄砂泥田、武汉-棕红泥田、宣城-黄白土田、海伦-黑砂壤性水稻土、盐城-红砂壤性水稻土、扬州-马肝土田	鸡西-黑黏壤性水稻土、广州-红泥田、南宁-紫泥田、南宁-黄砂泥田、清远-黄泥田、宣城-砂泥田、嘉兴-黄泥田、常熟-黄泥土田	海伦-黑砂壤性水稻土	无
抽穗期	常德-红砂泥田、沈阳-棕壤性水稻土、常德-紫泥田、南宁-黄砂泥田、清远-黄泥田、武汉-棕红泥田、扬州-马肝土田、鹰潭-红黏性水稻土、常熟-黄泥土田	广州-红泥田、海口-棕红壤性水稻土、宣城-砂泥田	宣城-黄白土田、盐城-红砂壤性水稻土	漳州-青府灰泥田、武汉-石灰泥田、宣城-黄白土田、盐城-红砂壤性水稻土
成熟期	沈阳-棕壤性水稻土、南宁-黄砂泥田、武汉-棕红泥田、扬州-马肝土田	鸡西-黑黏壤性水稻土、常德-紫泥田、南宁-紫泥田、清远-黄泥田、重庆-黄泥田、嘉兴-黄泥田	常德-红砂泥田、漳州-青府灰泥田、武汉-石灰泥田、海口-棕红壤性水稻土、宣城-黄白土田、海伦-黑砂壤性水稻土、盐城-红砂壤性水稻土、鹰潭-红黏性水稻土	常熟-黄泥土田

注：Cd0、Cd1 和 Cd2 分别表示无镉污染、轻度镉污染和重度镉污染处理，<<表示降幅较大。

表 3 水稻土类型和镉污染处理对水稻叶片 SPAD 值影响的方差分析

Table 3 Variance analysis of effects of soil types and Cd pollution treatments on rice leaf SPAD values

影响因子	苗期	分蘖期	拔节期	抽穗期	成熟期
水稻土类型	21.43*	29.25*	28.07*	18.2*	11.7*
镉污染处理	156.48*	212.04*	94.34*	22.57*	1.89ns
土壤类型×镉污染处理	2.91*	3.61*	3.05*	3.15*	6.14*

注：\*表示显著影响(P≤0.05)；ns 表示无显著性影响(P>0.05)。

表 4 聚类推进树分析土壤性质对水稻各生育期 SPAD 值的相对影响

Table 4 Relative influences of soil properties on variations of SPAD values evaluated by aggregated boosted tree

土壤性质	苗期	分蘖期	拔节期	抽穗期	成熟期
pH	21.4%	21.5%	21.6%	16.6%	18.9%
有机质	12.4%	14.4%	13.9%	18.4%	22.4%
阳离子交换量	12.2%	14.0%	13.7%	14.2%	12.9%

水稻苗期至拔节期，叶片 SPAD 值与土壤溶液铵态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)和全氮(TN)含量显著正相关，但在抽穗期和成熟期其相关性不显著(表 6)。在营养生长期，所有处理下水稻叶片 SPAD 值与土壤溶液全氮以及铵态氮含量的相关系数(r)达到 0.31 以上；在轻度和重度镉污染处理下，叶片 SPAD 值与土壤溶液氮含量的平均相关系数也高于无污染处理，其中拔节期的相关系数最大，这说明水稻叶片 SPAD 值能较好地表征水稻营养生长期，特别是拔节期污染水稻土的氮素供应状况。

2.3 不同镉污染水平下水稻拔节期叶片 SPAD 值与水稻籽粒氮素含量及土壤全氮的相关性  
线性回归分析表明，在水稻拔节期，不同镉污染水平下叶片 SPAD 值与籽粒氮素浓度极显著相关(P<0.01)，决定系数(R<sup>2</sup>)为 0.45~0.58(图 3)，而叶片 SPAD

值的对数与土壤溶液全氮含量极显著相关( $P < 0.01$ ),  $R^2$  为 0.20 ~ 0.30(图 4)。

表 5 不同类型水稻土和镉污染水平下水稻叶片 SPAD 值与水稻籽粒氮素含量和籽粒生物量的相关系数

Table 5 Correlation coefficients between SPAD values of rice leaves and rice grain biomass and nitrogen concentrations in different paddy soils and under different Cd pollution levels

水稻 生育期	无镉污染		轻度镉污染		重度镉污染		第一类水稻土		第二类水稻土		第三类水稻土		所有处理	
	GN	GB	GN	GB	GN	GB	GN	GB	GN	GB	GN	GB	GN	GB
苗期	0.45**	-0.11	0.44*	-0.16	0.50**	-0.26*	0.44**	0.04	0.43**	0.07	0.57**	-0.16	0.46**	-0.05
分蘖期	0.54**	-0.08	0.49**	-0.23	0.40**	-0.24	0.42**	0.15	0.49**	0.15	0.57**	-0.33*	0.48**	-0.05
拔节期	0.76**	-0.04	0.68**	-0.07	0.67**	-0.21	0.57**	0.08	0.68**	0.19	0.65**	-0.21	0.62**	-0.02
抽穗期	0.46**	-0.04	0.51**	-0.13	0.49**	-0.19	0.51**	-0.16	0.56**	0.11	0.45**	-0.14	0.50**	-0.06
成熟期	0.39**	0.12	0.59**	-0.16	0.32**	-0.29*	0.36**	-0.06	0.56**	0.06	0.52**	-0.44**	0.50**	-0.11

注: GN 表示水稻籽粒氮素含量, GB 表示水稻籽粒生物量; \*\*表示极显著相关( $P \leq 0.01$ ), \*表示显著相关( $P \leq 0.05$ ), 下同。

表 6 不同类型水稻土和镉污染水平下水稻叶片 SPAD 值与土壤溶液氮素含量的相关系数

Table 6 Correlation coefficients between SPAD values of rice leaves and nitrogen concentrations in soil solutions in different paddy soils and under different Cd pollution levels

水稻 生育期	无镉污染		轻度镉污染		重度镉污染		第一类水稻土		第二类水稻土		第三类水稻土		所有处理	
	TN	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	TN	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	TN	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	TN	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	TN	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	TN	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	TN	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N
苗期	0.38**	0.37**	0.36**	0.46**	0.56**	0.55**	0.66**	0.62**	0.55**	0.51**	0.38*	0.38**	0.49**	0.45**
分蘖期	0.39**	0.38**	0.40**	0.31**	0.35**	0.44**	0.66**	0.65**	0.36**	0.43**	0.49*	0.48**	0.45**	0.48**
拔节期	0.49**	0.49**	0.44**	0.33**	0.55**	0.46**	0.64**	0.63**	0.47**	0.40**	0.51**	0.48*	0.50**	0.46**
抽穗期	0.13	0.03	0.26**	0.25*	0.29**	0.31**	-0.13	-0.12	0.18	0.24*	0.28*	0.21	0.17	0.19
成熟期	0.10	0.08	-0.08	0.20	0.12	0.01	-0.17	-0.03	0.01	0.05	-0.02	0.04	-0.02	0.04

注: TN 表示土壤溶液全氮含量; NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 表示土壤溶液铵态氮含量。

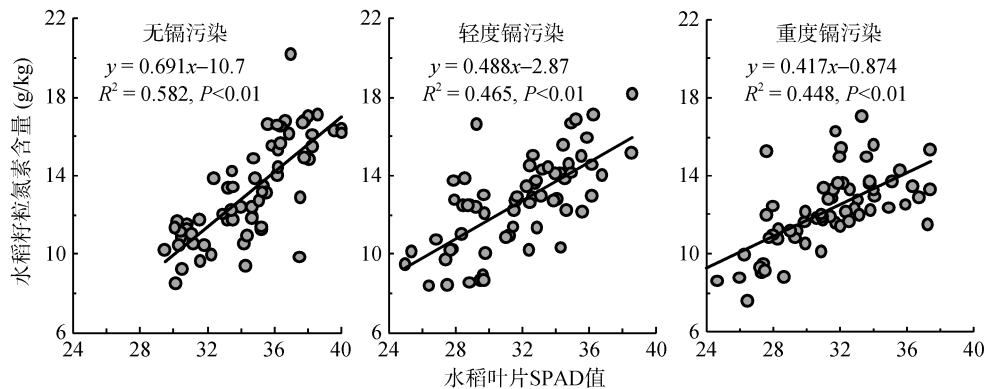


图 3 不同镉污染水平下水稻拔节期叶片 SPAD 值与籽粒氮素含量的相关性

Fig. 3 Relationship between SPAD values of rice leaves and nitrogen concentrations in rice grains at rice joint stage under different Cd pollution levels

### 3 讨论

#### 3.1 镉污染对水稻叶片 SPAD 值的影响

叶绿素测定仪(SPAD)提供了简单、快速和无损估测叶片含氮量的方法,作物氮素营养缺乏导致的叶绿素含量下降可以被 SPAD 值所表征<sup>[37]</sup>。从水稻的苗期到成熟期,镉污染条件导致水稻叶片 SPAD 值下降(图 3)。在轻度和重度镉污染水平下,从苗期到拔节

期(水稻营养生长期),水稻叶片 SPAD 值比无镉污染水平分别下降了 2.84 ~ 5.90 和 3.43 ~ 5.90;从抽穗期到成熟期(水稻生殖生长期),水稻叶片 SPAD 值分别下降了 0.32 ~ 1.05 和 0.83 ~ 1.45,说明镉污染导致的叶片 SPAD 值降幅随着水稻生育期而减少。本研究结果与 Liu 等<sup>[38]</sup>的研究不同,他们发现水稻生殖生长比营养生长对重金属污染的敏感性更强,这可能与本研究采用了镉污染中等敏感的水稻品种有关。土壤镉

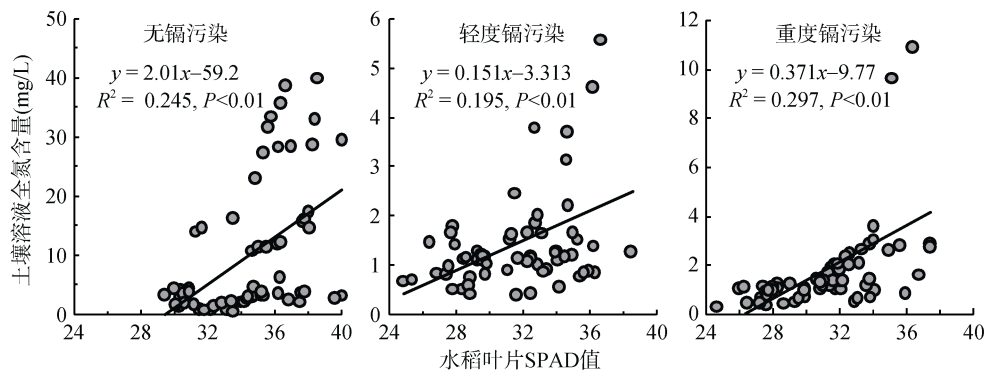


图 4 不同镉污染水平下水稻拔节期叶片 SPAD 值与土壤溶液全氮含量的相关性

Fig. 4 Relationship between SPAD values of rice leaves and total nitrogen concentrations in soil solutions at rice joint stage under different Cd pollution levels

污染能够引起植物膜脂过氧化、酶活性减弱,从而抑制植物的光合作用<sup>[39]</sup>,同时植物吸收的镉能引起植物体内叶绿素的分解而导致叶片黄化<sup>[40]</sup>,因此土壤镉污染降低了水稻叶片的 SPAD 值。在本研究中,虽然大多数水稻土类型在重度镉污染水平下叶片 SPAD 值的降幅大于轻度镉污染水平,但也有部分水稻土类型在镉污染条件下叶片 SPAD 值高于无镉污染条件(图 3)。植物受到镉胁迫时,首先分泌植物螯合素(Phytochelatins)类物质,通过络合镉降低其毒性;然后在根内形成抗压蛋白、抗氧化酶系以及水杨酸,形成固定和排除镉机制<sup>[41]</sup>。本研究中,在轻度镉污染水平下,可能未达到激发水稻启动防御镉胁迫系统的阈值浓度;而在重度镉污染水平下,水稻开启了防御镉胁迫的系统,从而降低了镉对水稻植株生长的危害,从而提高了水稻植株的光合作用。

### 3.2 水稻土性质对水稻叶片 SPAD 值的影响

本研究采集了我国水稻主产区 21 种水稻土进行水稻盆栽试验,方差分析结果显示土壤类型对各生育期水稻叶片的 SPAD 值存在显著影响(表 2)。不同水稻土类型中,叶片 SPAD 值在不同生育期对镉污染的反应方式不同,多数水稻土中水稻叶片 SPAD 值随镉污染的降幅在营养生长期高于生殖生长期,但有部分水稻土在抽穗和成熟期表现出叶片 SPAD 值在镉污染处理下升高(表 3)。由于不同水稻土中有机质含量和 pH 不同,影响了土壤对镉污染的缓冲作用,同时水稻对镉污染的抗性和耐性也随生育期而变化,导致不同土壤在不同生育期水稻叶片 SPAD 值响应镉污染的变化<sup>[42]</sup>。聚类推进树(ABT)分析表明(表 3),土壤 pH、有机质含量和阳离子交换量是影响叶片 SPAD 值的主要因子,其中土壤 pH 的影响最大(平均解释率为  $20\% \pm 0.02\%$ )并主要表现在水稻的营养生长期。一方面,土壤 pH 显著影响了土壤溶液中养分的离子活性变化和植物吸收过程<sup>[43-44]</sup>;另一方面,在镉

污染条件下土壤 pH 显著影响了铵态氮含量和土壤氮素供应状况<sup>[45]</sup>。在水稻营养生长期,作物对氮素养分需求旺盛,因此土壤 pH 对水稻叶片 SPAD 值的影响更为显著,这也说明需要在水稻苗期到拔节期加强对污染水稻土酸度的调控,促进水稻生长。

### 3.3 水稻叶片 SPAD 值与籽粒氮素含量和土壤供氮能力的关系

叶片 SPAD 值可用于监测小麦、玉米、水稻、烟草生长过程中植株体内氮素营养<sup>[46-51]</sup>。本研究发现不同水稻土类型和不同镉污染水平下,不同水稻生育期的叶片 SPAD 值可以预测水稻籽粒氮素浓度(表 4)。不同作物中,利用 SPAD 值进行氮素营养诊断的适宜时期不同,张丽等<sup>[47]</sup>发现玉米叶片 SPAD 差值可预测成熟期玉米籽粒蛋白质含量,而 Carreres 等<sup>[52]</sup>发现只有在水稻分蘖中期可以利用 SPAD 值预测水稻氮素含量并指导氮肥施用量。本研究发现,在水稻拔节期,叶片 SPAD 值与籽粒氮素浓度的相关系数最高(表 4),这是预测水稻籽粒氮素含量的最佳时期(图 4)。

水稻叶色反映了其含氮化合物的含量状况,因此土壤溶液供氮状况通过影响水稻对氮素的吸收和转化最终影响了叶片 SPAD 值的变化<sup>[53]</sup>。本研究发现,在水稻营养生长阶段(苗期、分蘖期、拔节期)水稻叶片 SPAD 值与土壤溶液铵态氮和全氮含量显著正相关,而在生殖生长阶段(抽穗期、成熟期)SPAD 值与土壤氮素供应的相关性下降(表 5)。这是由于水稻在营养生长阶段,根系吸收的氮素主要供应转化为水稻植株上部 3 张叶片的含氮化合物,而在抽穗期以后,根系吸收的氮素主要用于形成籽粒<sup>[53]</sup>。本研究还表明,水稻叶片 SPAD 值对土壤氮素供应状况的预测能力不受水稻土类型和镉污染水平的影响,而且拔节期预测的相关性在 5 个生育期中最高(表 6,图 5)。在水稻拔节期叶片 SPAD 值通常最高<sup>[48]</sup>,此时也是水稻从营养生长向生殖生长的过渡期,因此需要加强对土



壤供氮能力的监测, 及时追肥保障水稻生长。

#### 4 结论

本研究针对我国水稻主产区(东北地区、长江流域及东部南部沿海地区)的 21 种典型水稻土, 开展了不同镉污染水平的水稻盆栽试验, 以对镉胁迫中等敏感的德农 2000 为供试水稻品种, 研究了水稻叶片 SPAD 值对镉污染水稻土氮素供应诊断和水稻产量预测的能力。研究发现与无镉污染水平相比, 21 种水稻土在镉污染条件下水稻叶片 SPAD 平均值下降, 存在镉污染与土壤类型、水稻生育期的交互影响。其中, 水稻营养生长期(苗期、分蘖期、拔节期)叶片 SPAD 值对镉污染的响应较生殖生长期(抽穗期、成熟期)更为敏感, 土壤 pH 是影响水稻叶片 SPAD 值变化的主要土壤因子。在不同的水稻土类型和不同镉污染水平下, 水稻叶片 SPAD 值可以用于预测水稻氮素营养, 特别是在水稻拔节期, 这种预测的相关性最高, 这也是水稻高产种植管理中追肥的关键时期。由于本研究基于温室盆栽试验, 需要进一步开展水稻土类型、水稻品种、镉污染水平以及施肥水平的多因素田间试验, 验证水稻叶片 SPAD 值对重金属污染的响应关系和对土壤氮素供应的预测关系, 为合理施肥、安全利用镉污染水稻土提供快速监测方法。

#### 参考文献:

- [1] Chaturvedi I. Effect of nitrogen fertilizers on growth, yield and quality of hybrid rice (*Oryza sativa*)[J]. Journal of Central European Agriculture, 2006, 6(4): 611–618
- [2] Leesawatwong M, Jamjod S, Kuo J, et al. Nitrogen fertilizer increases seed protein and milling quality of rice[J]. Cereal Chemistry, 2005, 82(5): 588–593
- [3] Zhu Z L, Chen D L. Nitrogen fertilizer use in China—Contributions to food production, impacts on the environment and best management strategies[J]. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 2002, 63(2/3): 117–127
- [4] 巨晓棠 谷保静. 我国农田氮肥施用现状, 问题及趋势[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(4): 783–795
- [5] 王翠玲. 寒地不同类型水稻品种精确施氮技术[J]. 中国稻米, 2013, 19(3): 39–40
- [6] 殷春渊, 张洪程, 张庆, 等. 水稻不同生育期类型品种精确定量施氮参数的初步研究[J]. 作物学报, 2010, (8):1342–1354
- [7] Lemaire G. Diagnosis of the nitrogen status in crops[M]. Berlin: Springer, 1997
- [8] Peng S, Cassman K G, Kropff M J. Relationship between leaf photosynthesis and nitrogen content of field-grown rice in tropics[J]. Crop Science, 1995, 35(6): 1627–1630
- [9] Minolta C. Manual for chlorophyll meter SPAD-502[M]. Osaka: Minolta Radiometric Instruments Divisions, 1989
- [10] Chapman S C, Barreto H J. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth[J]. Agronomy Journal, 1997, 89(4): 557–562
- [11] Chen X, Zhang X, Bai J, et al. Preliminary Study on amount of recommended topdressing nitrogen using chlorophyll SPAD of rice during different growth stage[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 7(26): 147–151
- [12] Uddling J, Gelang-Alfredsson J, Piikki K, et al. Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings[J]. Photosynthesis Research, 2007, 91(1): 37–46
- [13] Turner F, Jund M. Assessing the nitrogen requirements of rice crops with a chlorophyll meter[J]. Animal Production Science, 1994, 34(7): 1001–1005
- [14] Costa C, Dwyer L M, Dutilleul P, et al. Inter-relationships of applied nitrogen, SPAD, and yield of leafy and non-leafy maize genotypes[J]. Journal of Plant Nutrition, 2001, 24(8): 1173–1194
- [15] 姜继萍, 杨京平, 杨正超, 等. 不同氮素水平下水稻叶片及相邻叶位 SPAD 值变化特征[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2012, 38(2): 166–174
- [16] 李俊霞, 杨俐苹, 白由路, 等. 不同品种玉米氮含量与叶片光谱反射率及 SPAD 值的相关性[J]. 中国土壤与肥料, 2015 (3): 34–39
- [17] Hussain F, Zia M, Akhtar M, et al. Nitrogen management and use efficiency with chlorophyll meter and leafcolour chart[J]. Pakistan Journal of Soil Science, 2003, 22(1): 1–10
- [18] Chen H, Teng Y, Lu S, et al. Contamination features and health risk of soil heavy metals in China. Science of the Total Environment, 2015, 512/513: 143–153
- [19] Huang D F, Xi L L, Yang L N, et al. Comparison of agronomic and physiological traits of rice genotypes differing in cadmium-tolerance[J]. Acta Agronomica Sinica, 2008, 34(5): 809–817
- [20] Liu H, Zhang J, Christie P, et al. Influence of iron plaque on uptake and accumulation of Cd by rice (*Oryza sativa* L.) seedlings grown in soil[J]. Science of The Total Environment, 2008, 394(2/3): 361–368
- [21] Maaroufi D H, Debouba M, Ghorbel M H, et al. Tissue-specific cadmium accumulation and its effects on nitrogen metabolism in tobacco (*Nicotiana tabacum*, Bureley v. Fb9)[J]. Comptes Rendus Biologies, 2009, 332(1): 58–68
- [22] Lu M, Xu K, Chen J. Effect of pyrene and cadmium on microbial activity and community structure in soil[J]. Chemosphere, 2013, 91(4): 491–497
- [23] Hassan W, Akmal M, Muhammad I, et al. Response of soil microbial biomass and enzymes activity to cadmium (Cd) toxicity under different soil textures and incubation times[J]. Australian Journal of Crop Science, 2013, 7(5): 674–680



- [24] 朱兆良, 汪祖强, 徐银华. 土壤氮素供应状况的研究 II. 硫酸铵在植稻土壤中的转化及其对土壤氮素供应状况的影响[J]. 土壤学报, 2013, 11(2): 185–195
- [25] Yang H, Yang J, Lv Y, et al. SPAD values and nitrogen nutrition index for the evaluation of rice nitrogen status[J]. Plant Production Science, 2014, 17(1): 81–92
- [26] 陈晓群, 张学军, 白建忠, 等. 基于水稻不同叶绿素值推荐追施氮量的研究初报[J]. 中国农学通报, 2010, 26(7): 147–151
- [27] Coste S, Baraloto C, Leroy C, et al. Assessing foliar chlorophyll contents with the SPAD-502 chlorophyll meter: a calibration test with thirteen tree species of tropical rainforest in French Guiana[J]. Annals of Forest Science, 2010, 67(6): 607–607
- [28] Yamamoto A, Nakamura T, Adu-Gyamfi J J, et al. Relationship between chlorophyll content in leaves of sorghum and pigeonpea determined by extraction method and by chlorophyll meter (SPAD-502)[J]. Journal of Plant Nutrition, 2002, 25(10): 2295–2301
- [29] Chapman S C, Barreto H J. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth [J]. Agronomy Journal, 1997, 89(4): 557–562
- [30] Piekielek W P, Fox R H, Toth J D, et al. Use of a chlorophyll meter at the early dent stage of corn to evaluate nitrogen sufficiency[J]. Agronomy Journal, 1995, 87(3): 403–408
- [31] Nauš J, Prokopová J, Řebíček J, et al. SPAD chlorophyll meter reading can be pronouncedly affected by chloroplast movement[J]. Photosynthesis Research, 2010, 105(3): 265–271
- [32] Simorte V, Bertoni G, Dupraz C, et al. Assessment of nitrogen nutrition of walnut trees using foliar analysis and chlorophyll measurements[J]. Journal of Plant Nutrition, 2001, 24(10): 1645–1660
- [33] 叶新新, 周艳丽, 孙波. 适于轻度 Cd、As 污染土壤种植的水稻品种筛选. 农业工程学报, 2012, 31(6): 1082–1088
- [34] Zhou D M, Chen H F, Cang L, et al. Ryegrass uptake of soil Cu/Zn induced by EDTA/EDDS together with a vertical direct-current electrical field. Chemosphere, 2007, 67:1671–1676
- [35] 中国土壤学会农业化学专业委员会. 土壤农业化学常规分析方法[M]. 北京: 科学出版社, 1983
- [36] De'ath G. Boosted trees for ecological modeling and prediction[J]. Ecology, 2007, 88: 243–251
- [37] Montemurro F, Maiorana M, Ferri D, et al. Nitrogen indicators, uptake and utilization efficiency in a maize and barley rotation cropped at different levels and sources of N fertilization[J]. Field Crops Research, 2006, 99(2/3): 114–124
- [38] Liu J, Li K, Xu J, et al. Interaction of Cd and five mineral nutrients for uptake and accumulation in different rice cultivars and genotypes[J]. Field Crops Research, 2003, 83(3): 271–281
- [39] Lagriffoul A, Mocquot B, Mench M, et al. Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.)[J]. Plant and Soil, 1998, 200(2): 241–250
- [40] Dguimi H M, Debouba M, Ghorbel M H, et al. Tissue-specific cadmium accumulation and its effects on nitrogen metabolism in tobacco (*Nicotiana tabacum*, Bureley v. Fb9)[J]. Comptes Rendus Biologies, 2009, 332(1): 58–68
- [41] Pál M, Horváth E, Janda T, et al. Physiological changes and defense mechanisms induced by cadmium stress in maize[J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2006, 169(2): 239–246
- [42] Li Z, Li L, Pan G, et al. Bioavailability of Cd in a soil–rice system in China: Soil type versus genotype effects[J]. Plant and soil, 2005, 271(1/2): 165–173
- [43] Haynes R, Cameron K C, Goh K M, et al. Mineral nitrogen in the plant-soil system[M]. Orlando, Florida: Academic Press, 1986
- [44] Cheng Y, Wang J, Mary B, et al. Soil pH has contrasting effects on gross and net nitrogen mineralizations in adjacent forest and grassland soils in central Alberta, Canada[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 57: 848–857
- [45] 周艳丽, 吴亮, 龙光强, 等. 镉污染下不同类型水稻土氮素供应特征及其影响因素[J]. 土壤, 2013, 45(5): 821–829
- [46] 赵犇, 姚霞, 田永超, 等. 基于上部叶片 SPAD 值估算小麦氮营养指数[J]. 生态学报, 2013, 33(3): 916–924
- [47] 张丽, 张中东, 陶宏斌, 等. 利用玉米叶片 SPAD 值预测籽粒蛋白质含量分析[J]. 玉米科学, 2014, 22(6): 74–79
- [48] 戈长水, 应武, 杨虎, 等. 叶绿素计 (SPAD-502) 在水稻氮素营养诊断和推荐施肥中的应用、研究及展望[J]. 农业科技通讯, 2014 (2): 8–13
- [49] 周晓冬, 常义军, 吴洪生, 等. 甘蓝型油菜开花期 SPAD 值, 叶绿素含量与氮素含量叶位分布特点及其相互关系[J]. 土壤, 2011, 43(1): 148–151
- [50] 胡娟, 邱慧珍, 张文明, 等. 微生物有机肥配施氮肥对烤烟 SPAD 值、烟叶酶活性及根系活力的影响[J]. 土壤学报, 2012, 49(3): 620–623
- [51] Islam M R, Haque K M S, Akter N, et al. Leaf chlorophyll dynamics in wheat based on SPAD meter reading and its relationship with grain yield[J]. Journal of Scientia Agriculture, 2014, 8(1): 13–18
- [52] Carreres R, Sendra J, Ballesteros R, et al. Effects of pre-flood nitrogen rate and midseason nitrogen timing on flooded rice[J]. The Journal of Agricultural Science, 2000, 134(4): 379–390

[53] 赵全志, 丁艳锋, 王强盛, 等. 水稻叶色变化与氮素吸

收的关系[J]. 中国农业科学, 2006, 39(5): 916-921

## Diagnosis of Nitrogen Nutrition in Rice Plant by SPAD Chlorophyll Meter for Paddy Soils Under Cd Pollution

LI Changming<sup>1,2</sup>, ZHOU Yanli<sup>1,2</sup>, LONG Guangqiang<sup>3</sup>, SUN Bo<sup>1\*</sup>

(1 *State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China*; 2 *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*;

3 *College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China*)

**Abstract:** A rapid diagnosis of nitrogen nutrition status in the soil is fundamental for precise fertilization during the remediation and safe use of heavy metal polluted paddy soils. Determination of leaf chlorophyll content using the SPAD (soil and plant analyzer development) Chlorophyll Meter has been widely used as nitrogen nutrition diagnosis for corn, wheat and cotton. However, its applicability in rice plant is unclear for the different types of paddy soils under cadmium (Cd) pollution. In this study, twenty-one types of paddy soils collected in the main rice-planting regions of China were used for a pot experiment with a rice variety (DN 2000). Three Cd pollution treatments were established: without Cd addition (no Cd pollution), low dose Cd addition (slight Cd pollution), and high dose Cd addition (severe Cd pollution). Rice leaf SPAD values and nitrogen concentrations in soil solutions were measured at seedling, tillering, jointing, heading and mature stages. The results showed that soil type had a significant impact on the response of rice leaf SPAD value to Cd pollution, and soil pH played an important role (with an average relative contribution of 20%) on the variation of SPAD value. SPAD values were significantly correlated to rice grain nitrogen concentrations, with the highest correlation coefficient in the jointing stage. At the same time, SPAD values were significantly correlated with the total nitrogen and ammonium nitrogen concentrations in soil solutions at seedling and tillering stages, which was independent of Cd pollution level and soil type. In general, rice leaf SPAD value during rice growth season, especially at the jointing stage, could characterize the impact of soil nitrogen supply on nitrogen nutrition status of rice plant in different paddy soils under Cd pollution.

**Key words:** SPAD (Soil and plant analyzer development); Cd pollution; Paddy soil type; Soil nitrogen supply; Nitrogen nutrition diagnosis