

铵态氮/硝态氮对水稻铝吸收的影响及其机制研究^①

张启明^{1,2,3}, 赵学强¹, 陈荣府¹, 董晓英¹, 沈仁芳^{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;

3 江西省烟叶科学研究所, 南昌 330029)

摘要: 选用两个水稻品种武运粳 7 号 (耐铝品种) 和扬稻 6 号 (铝敏感品种) 作为实验材料, 利用水培试验, 通过长期和短期处理相结合的方式研究了 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 对水稻 Al 吸收的影响及其作用机制。结果表明, 与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 相比, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 促进了水稻对 Al 的吸收。而且随着 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度的提高, 水稻根中 Al 含量显著增加, 随着 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度的提高, 水稻根中 Al 含量显著降低。这些结果表明 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 对水稻 Al 吸收的影响具有浓度效应。当向 Al 溶液添加 pH 缓冲剂后, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 对根尖 Al 累积的影响变小, 表明 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理下溶液 pH 的变化可能是 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 对水稻 Al 吸收影响不同的一个原因。

关键词: 水稻; 铝毒害; pH; 浓度效应

中图分类号: S511; Q945

水稻是主要的粮食作物, 全球约 13% 的水稻产量来自酸性土壤^[1]。Al 毒害被认为是酸性旱地和酸性硫酸盐水田水稻产量的主要限制因子^[2-3]。近年来, 虽然水稻的耐 Al 机制研究有了很大的进展^[4-7], 但水稻耐 Al 的生理机制还不是很清楚, 还需要用不同的品种和方法进行验证。

由于低 pH 限制了硝化微生物的生长而导致酸性土壤中硝化反应受到抑制^[8-10], $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 成为酸性土壤中无机 N 存在的最主要的形式。故酸性土壤中存在 Al^{3+} 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 共存的现象。然而, 这种情况往往会被忽视, 因为在以往的 Al 毒害研究中, 营养液中包含的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的浓度要经常高于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的浓度 (如 Hoagland 营养液中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度为 2 497 mg/L, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度为 115 mg/L)。采用这样的营养液能否客观地评价植物的耐 Al 能力仍值得商榷。因此, 有必要研究不同 N 素形态 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$) 下水稻 Al 毒害的表现, 这不仅有助于揭示水稻的耐 Al 机制, 而且对于酸性土壤施肥也有重要的指导意义。关于不同形态 N 对水稻 Al 毒害影响的研究已有报道^[11], 但是机理还不够清楚, 需要进一步的深入研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料及生长条件

本研究选用武运粳 7 号和扬稻 6 号两个水稻品种为实验材料。选择饱满一致的水稻种子, 用 10% 的双氧水消毒 30 min, 然后用蒸馏水清洗干净后, 用蒸馏水浸泡, 在 25℃ 下浸泡 24 h, 然后置于湿润的滤纸上 25℃ 避光催芽, 2 天以后, 移于漂浮在 0.5 mmol/L CaCl_2 (pH 4.5) 溶液中的浮板上培养, 先避光培养 1 天, 然后见光培养 2 天, 培养过程中每天更换 CaCl_2 培养液。在 CaCl_2 培养液中预培养 3 天后, 选择生长一致的幼苗, 转移到修改过的全量木村营养液中, 该营养液含大量元素 (mmol/L): NH_4NO_3 (0.5), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.55), KCl (0.18), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.36) 和 KH_2PO_4 (0.18); 微量元素 ($\mu\text{mol/L}$): $\text{Na}_2\text{EDTA-Fe(II)}$ (20), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (9), H_3BO_3 (46), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (9), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.7) 和 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.3)。所有试验都在光照培养室中进行, 温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 相对湿度为 $65\% \pm 5\%$, 光强为 $300 \mu\text{mol photon}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 昼夜循环为光 14 h/黑暗 10 h。

1.2 试验处理

1.2.1 长期 N-Al 交替实验 在全量木村营养液中预培养 4 天 (期间每两天换一次营养液) 后进行 N-Al 交替处理。试验共设 8 个处理, 其中 N 形态有两个: $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$, 其中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 以 NH_4Cl 形式加入, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 以 NaNO_3 形式加入。N 浓度有两个: 0.2、2

①基金项目: 国家自然科学基金项目 (40621001和40871144) 和中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KSCX2-YW-N-002) 资助。

* 通讯作者 (rfshen@issas.ac.cn)

作者简介: 张启明 (1979—), 男, 河南西平人, 博士研究生, 主要从事植物营养研究。E-mail: qmzhang@issas.ac.cn

mmol/L。Al处理两个: 0、100 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 。每个处理重复 3 次, 每盆 (8 株苗) 为一个重复。为了避免营养液中的P与Al形成沉淀而降低Al的活性, 故实验采用N-Al交替处理的方法, 具体如下: 先分别用含有不同浓度 NH_4^+ -N和 NO_3^- -N的木村营养液处理 1 天, 然后进行Al处理 (0.5 mmol/L CaCl_2 + 100 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3) 和无Al处理 (0.5 mmol/L CaCl_2) 1 天, 依次循环, 培养过程中各处理液的初始pH值均调为 4.5。交替培养 14 天后收获。

1.2.2 短期实验 (1) 不同浓度 NH_4^+ -N和 NO_3^- -N对水稻根尖Al含量的影响。3 天龄的水稻幼苗用含有 0、0.2、2 mmol/L 的不同形态N (NH_4Cl 和 NaNO_3) 的 0.5 mmol/L CaCl_2 和 100 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 的溶液 (pH 4.5) 中处理 1 天后收获。收获后测定根尖 (0 ~ 1 cm) Al 含量。

(2) 不同N源和pH缓冲剂对水稻根尖Al吸收影响。3 天龄的水稻幼苗分别放入含有 0.4、2 mmol/L NH_4Cl (或 NaNO_3) 的 100 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 溶液以及 0.4、2 mmol/L NH_4Cl (或 NaNO_3) + pH缓冲剂 (10 mmol Homo-PIPES) 的 100 $\mu\text{mol/L}$ AlCl_3 溶液中处理 1 天后收获, 收获后测定根尖 (0 ~ 1、1 ~ 2 cm) Al 含量, 并测定各处理溶液pH值。

1.3 测定项目和方法

1.3.1 植株干重 收获后, 植株分为根系和地上部两部分, 用蒸馏水洗干净后, 于 105 $^{\circ}\text{C}$ 杀青 30 min, 然后保持 75 $^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒重后称重。

1.3.2 植株体内元素分析 植物体内 Al 及养分元素测定方法参考文献[12]。植物样品经浓硝酸 (优级纯) 消煮后, 用超纯水定容, 再用定量滤纸过滤后待测。Al 含量用 ICP-AES (IRIS-Advantage, Thermo Elemental, MA, USA) 检测。

1.3.3 根尖Al含量测定 Al处理 24 h后随机切取根尖 (0 ~ 1.0 cm) 10 条, 用 0.5 mmol/L CaCl_2 溶液冲洗 3 次后, 放入装有 1.0 ml 2 mol/L HCl 溶液的 1.5 ml 离心管中, 中间间断地摇动。放置至少 24 h后用 ICP-AES 测定, 每个处理重复 3 次, 每个重复 10 条根尖。

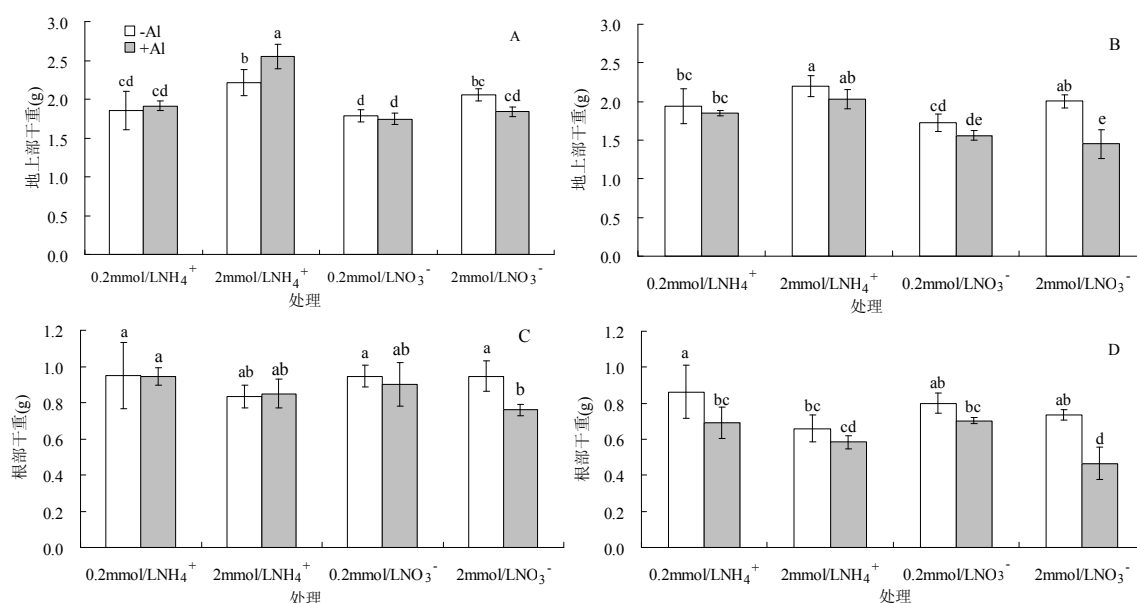
1.4 数据处理与统计分析

所有数据均经过 SPSS 15.0 统计分析, 方差分析采用 Duncan-test。

2 结果与分析

2.1 不同氮水平对生物重的影响

由图 1 可知, 随着 NH_4^+ -N浓度的提高, Al对扬稻 6 号地上部生物量没有显著影响 (图 1B), 但对于武运粳 7 号来说, 随着 NH_4^+ -N浓度的提高, Al胁迫下地上部生物量反而显著增加 (图 1A)。随着 NO_3^- -N浓度的提高, Al对两个水稻品种地上部生物量都有降低作用, 但是扬稻 6 号降低得更加明显 (图 1A、B)。随着 NH_4^+ -N浓度的提高, Al对武运粳 7 号和扬稻 6 号根部生物量没有显著影响 (图 1C、D)。 NO_3^- -N浓度的提高加重了Al对两个水稻品种根部的毒害作用, 其中扬稻 6 号根部生长受Al的抑制更大 (图 1C、D)。



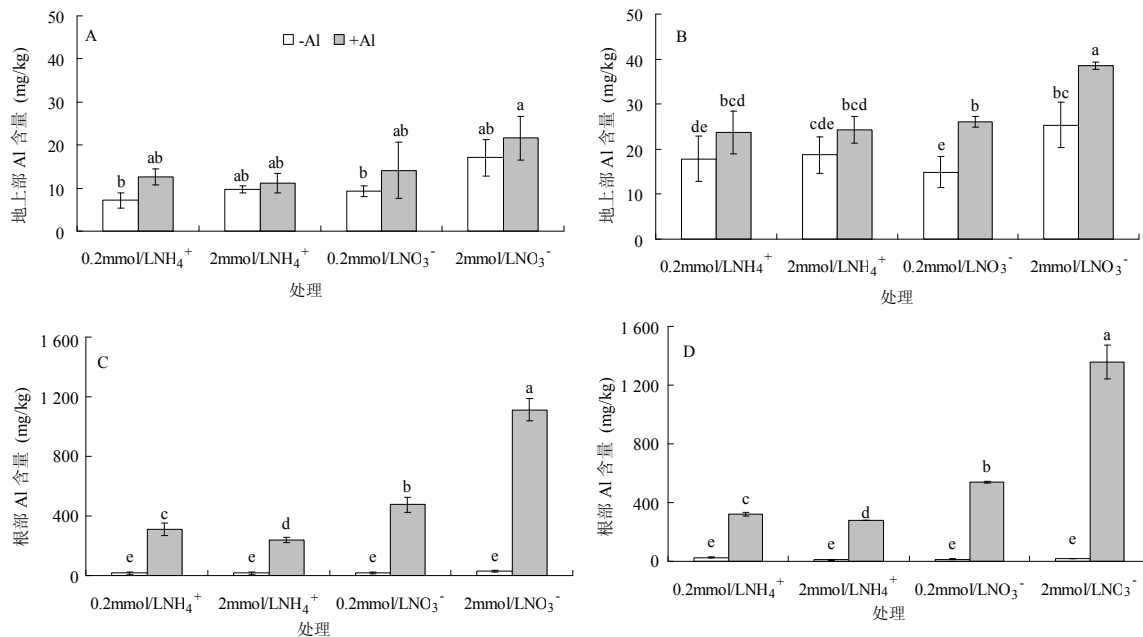
(图中 A、C 代表武运粳 7 号生物量; B、D 代表扬稻 6 号生物量)

图 1 不同 N 水平对两个水稻品种生物量的影响

Fig. 1 Effects of different N levels on dry weight of two rice cultivars

2.2 不同氮水平对植株体内铝浓度的影响

由图 2 可知,随着 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度的提高,两个水稻品种地上部Al浓度没有显著变化,根部Al浓度却显著降低。随着 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度的提高,武运梗 7 号地上部Al浓度没有显著变化,扬稻 6 号地上部Al浓度显著增加;两个水稻品种根系Al浓度都显著增加,且扬稻 6 号根系Al增加幅度更大。



(图中 A、C 代表武运梗 7 号 Al 浓度; B、D 代表扬稻 6 号 Al 浓度)

图 2 不同 N 水平对两个水稻品种 Al 浓度的影响

Fig. 2 Effects of different N levels on concentrations of Al of two rice cultivars

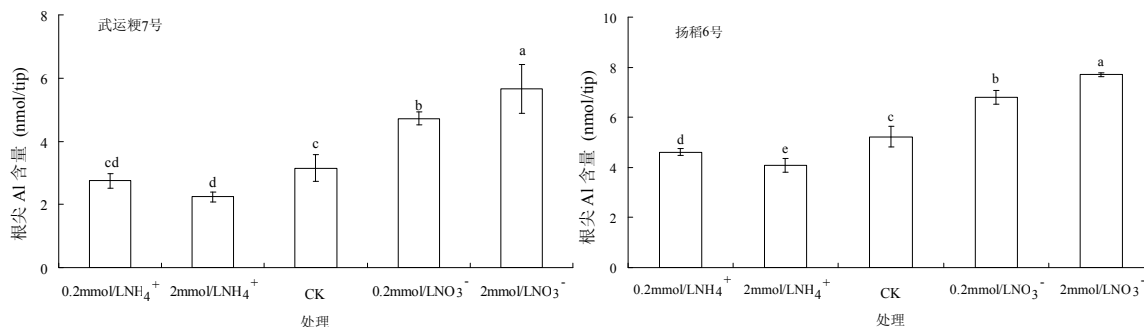


图 3 不同 N 水平对两个水稻品种根尖 Al 含量的影响

Fig. 3 Effects of different N levels on Al contents in root tips of two rice cultivars

2.4 不同氮源和 pH 缓冲剂对水稻根尖铝吸收的影响

由图 4 所示可见,对于 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理,添加pH缓冲剂显著降低了两个水稻品种 0~1 cm根尖Al含量;而对于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理,添加pH缓冲剂后增加了两个水稻品

2.3 不同浓度铵态氮和硝态氮对水稻根尖铝含量

图 3 显示的是不同浓度N源对根尖Al含量的影响。从图中可以看出,与对照相比,随着 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度的提高,两个水稻品种根尖Al含量降低,随着 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度的提高,两个水稻品种根尖Al含量显著升高。同时从图中可看出无论N浓度如何变化,扬稻 6 号根尖Al含量都要高于武运梗 7 号。

种 0~1 cm根尖 Al 含量。因此, pH缓冲剂的加入使两种N源处理的水稻根尖Al含量差距缩小,尤其是耐Al的武运梗 7 号根尖Al含量在两种N源处理下无显著差异。由此可以推测,两种N源引起的溶液pH的变化

可能是导致两种N源之间水稻根系Al积累差异的主要原因。并且 2 mmol/L 的效果比 0.4 mmol/L 更加明显,这可能是因为 2 mmol/L 处理的溶液pH变化比 0.4 mmol/L 的更加剧烈。

图5结果表明, pH缓冲剂对水稻 $1\sim 2\text{ cm}$ 根段也有类似的效果,只是效果没有 $0\sim 1\text{ cm}$ 根尖Al含量明显,这可能是因为 $1\sim 2\text{ cm}$ 根段Al含量比 $0\sim 1\text{ cm}$ 低的缘故。

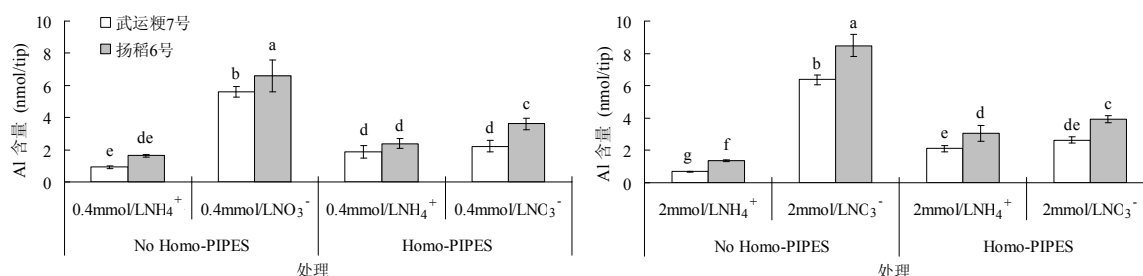


图4 不同形态N和pH缓冲剂对两个水稻品种 $0\sim 1\text{ cm}$ 根尖Al含量的影响

Fig. 4 Effects of N forms and pH buffers (Homo-PIPES) on Al contents in rice root tips under Al stress

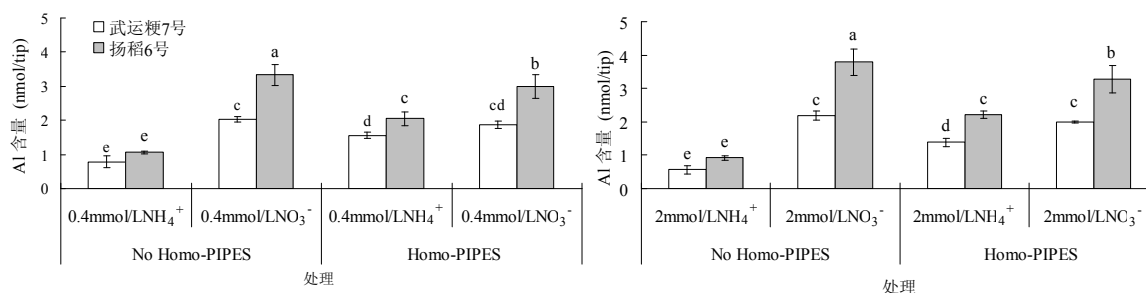


图5 不同形态 N 和 pH 缓冲剂对两个水稻品种 $1\sim 2\text{ cm}$ 根尖 Al 含量的影响

Fig. 5 Effects of N forms and pH buffers (Homo-PIPES) on Al contents in 1-2 cm root segments

2.5 不同氮源和 pH 缓冲剂对溶液 pH 的影响

图6结果表明, 无pH缓冲剂的处理 NH_4^+ -N降低了溶液的pH, 而 NO_3^- -N增加了溶液的pH(原培养溶液pH

为4.5), pH缓冲剂很好地稳定了溶液的pH。以上的结果说明, NH_4^+ 和 NO_3^- 引起的溶液pH的变化可能是导致水稻根系Al积累不同的主要原因之一。

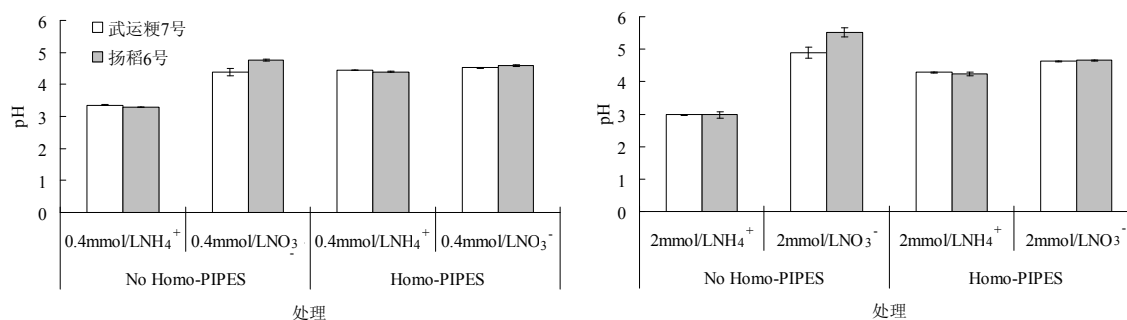


图6 不同形态 N 和 pH 缓冲剂对溶液 pH 的影响

Fig. 6 Effects of N forms and pH buffers (Homo-PIPES) on solution pH

4 讨论

不同 NH_4^+ 、 NO_3^- 浓度对水稻Al毒害试验的结果表明, 与 NH_4^+ 相比, NO_3^- 处理下Al对水稻生长的抑制程

度增加,主要表现在根部生物量的降低,而且随着 NO_3^- 浓度的提高,这种抑制作用更加明显(图1)。同时,与 NH_4^+ -N相比, NO_3^- -N显著提高了水稻根系中Al的含量,而且随着 NO_3^- 浓度的提高,根中Al含量也随之增

加(图2),这说明 NO_3^- -N对水稻Al吸收的影响具有浓度效应。以上研究结果表明, NH_4^+ -N和 NO_3^- -N下水稻Al毒表现不同的原因在于两者对水稻根系Al吸收的影响不同。

短期处理条件下不同浓度 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 对水稻Al毒害实验结果也表明,随着 NO_3^- -N浓度的提高,水稻根尖Al含量增加,随着 NH_4^+ -N浓度的增加,根尖Al含量降低(图3),说明 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 对水稻根尖Al含量的影响具有浓度效应,这与长期实验的结果一致。

很多研究表明, NO_3^- -N的吸收会增加溶液pH而 NH_4^+ -N的吸收会降低溶液pH^[13-15]。对于 NO_3^- -N处理,添加pH缓冲剂显著降低两个水稻品种根尖Al含量;而对于 NH_4^+ -N处理,添加pH缓冲剂后增加了两个水稻品种根尖Al含量(图4,图5),因此pH缓冲剂的加入使两种N源处理之间的水稻根尖Al含量差距缩小,尤其是耐Al的武运粳7号根尖Al含量在两种N源处理下已无显著差异。由此可以推测,两种N源引起的溶液pH的变化可能是导致 NH_4^+ -N与 NO_3^- -N下水稻根系Al积累不同的主要原因。

细胞壁由于带酸性基团(主要是游离羧基)而带负电荷。当 NO_3^- -N被吸收,提高了质外体pH,细胞壁组分中的羧基基团发生解离,将会提供更多的负电荷位点。因此,会有更多的带正电荷的Al离子结合到带负电荷细胞壁上。另外,细胞壁上的果胶甲酯化酶最适宜的pH在8.0左右^[16]。当 NO_3^- -N被吸收,提高了质外体pH,细胞壁果胶甲酯化酶就会促进细胞壁产生更多的带负电荷的位点。这两个因素可能就是植物在高pH的Al溶液中会有更多的Al结合在细胞壁上进而导致根尖Al含量提高的原因。

土壤条件下,pH值的降低一般会提高土壤溶液中可溶性Al的含量,但是在水培特定的pH条件下,溶液中Al的总浓度不会发生变化,pH主要影响溶液中Al的种类。Buchanan等^[17]研究表明,pH在4~5.5范围内,随着pH的升高, Al^{3+} 所占比例减小,而 $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ 和 $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ 所占比例增加。而 $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ 和 $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ 的平均正电荷密度要比 Al^{3+} 要低,而假设细胞壁负电荷密度是一定的。因此,与低pH相比,植物生长在高pH的Al溶液中,就会有更多的 $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ 和 $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ 结合到细胞壁上,从而导致根尖Al含量增加。

综上所述,与 NH_4^+ -N相比, NO_3^- -N促进了水稻Al

吸收。两种N源引起的溶液pH的变化可能是导致水稻根系Al积累不同的主要原因,可能是pH改变了细胞壁上的负电荷位点数量或细胞壁果胶甲酯化酶活性,也可能是pH改变溶液中Al离子的种类。

参考文献:

- [1] Kochian LV, Hoekenga OA, Piñeros MA. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2004, 55: 459-493
- [2] Fageria NK, Carvalho JRP. Influence of aluminum in nutrient solutions on chemical composition in upland rice cultivars. *Plant Soil*, 1982, 69: 31-44
- [3] Vasconcelos SS, Jacob-Neto J, Rossiello ROP. Differential root responses to aluminum stress among Brazilian rice genotypes. *J. Plant Nutr.*, 2002, 25: 655-669
- [4] Ganesan K, Sankaranarayanan C, Balakumar T. Physiological basis of differential aluminum tolerance in rice genotypes. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 1993, 24: 2179-2191
- [5] Ma JF, Shen RF, Zhao ZQ, Wissuwa M, Takeuchi Y, Ebitani T, Yano M. Response of rice to Al stress and identification of quantitative trait loci for Al tolerance. *Plant Cell Physiol.*, 2002, 43: 652-659
- [6] Chen RF, Shen RF. Root phosphate exudation and pH shift in the rhizosphere are not responsible for aluminum resistance in rice. *Acta Physiol Plant.*, 2008, 30: 817-824
- [7] Yang JL, Li YY, Zhang YJ, Zhang SS, Wu YR, Wu P, Zheng SJ. Cell wall polysaccharides are specifically involved in the exclusion of aluminum from the rice root apex. *Plant Physiol.*, 2008, 146: 602-611
- [8] Sahawat KL. Nitrification in some tropical soils. *Plant Soil*, 1982, 65: 281-286
- [9] 潘映华, 李良谟, 伍期途, 李振高. 不同利用方式下红壤的硝化和反硝化活性研究. *土壤*, 1988, 20(4): 184-187
- [10] 李辉信, 胡锋, 刘满强, 蔡贵信, 范晓晖. 红壤氮素的矿化和硝化作用特征. *土壤*, 2000, 32(4): 194-214
- [11] Zhao XQ, Shen RF, Sun QB. Ammonium under solution culture alleviates aluminum toxicity in rice and reduces aluminum accumulation in roots compared with nitrate. *Plant Soil*, 2009, 315: 107-121
- [12] Ma JF, Shen RF, Nagao S, Tanimoto E. Aluminum targets elongating cells by reducing cell wall extensibility in wheat roots. *Plant Cell Physiol.*, 2004, 45: 583-589
- [13] Smiley RW. Rhizosphere pH as influenced by plants, soils and

- nitrogen fertilizers. Soil Sci. Soc. Am. J., 1974, 38: 795–799
- [14] Nye PH. Changes of pH across the rhizosphere induced by roots. Plant Soil, 1981, 61: 7–26
- [15] Watanabe T, Osaki M, Tadano T. Effects of nitrogen source and aluminum on growth of tropical tree seedlings adapted to low pH soils. Soil Sci Plant Nutr., 1998, 44: 655–666
- [16] Goldberg R. Changes in the properties of cell wall pectin methylesterase along the *Vigna radiata* hypocotyl. Physiol Plant., 1984, 61: 58–63
- [17] Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL. Biochemistry & Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists, 2000

Effects and Mechanisms of NH_4^+ / NO_3^- on Al Uptake by Rice

ZHANG Qi-ming^{1,2,3}, ZHAO Xue-qiang¹, CHEN Rong-fu¹, DONG Xiao-ying¹, SHEN Ren-fang¹

(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;

³ Tobacco Science Research Institute of Jiangxi Province, Nanchang 330029, China)

Abstract: In this study, two rice cultivars, Wuyunjing7 (Al-tolerant) and Yangdao6 (Al-sensitive), as experimental materials in rice hydroponic experiments were selected to investigate the effects of different N forms on Al toxicity through long-term and short-term treatment. Results showed that compared with NH_4^+ , NO_3^- increased Al uptake by rice, Al content in root increased significantly with the increase of NO_3^- concentration but decreased significantly with the increase of NH_4^+ concentration. These results showed that the effects of NH_4^+ and NO_3^- on Al uptake by rice had a concentration-effect. When pH buffer was used, the difference in Al accumulation in root decreased between NH_4^+ and NO_3^- supply, which demonstrated that the difference in pH values of the NH_4^+ and NO_3^- solution may be the reason for the different Al contents of roots under NH_4^+ and NO_3^- supply.

Key words: Rice (*Oryza sativa* L.), Al toxicity, pH, Concentration-effect