

供铁水平对不同氮源条件下水稻生长和元素吸收积累的影响及种间差异^①

张琳^{1,2}, 李光杰^{1*}, 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 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 采用控制条件下的水培试验方法, 研究了不同氮源条件下, 外源供铁水平对粳稻品种中花 11 和籼稻品种扬稻 6 号的苗期生长特征、铵含量和铁、钾离子含量的影响。结果表明: 外源铁浓度水平升高会显著缓解铵抑制的粳稻中花 11 的根系长度, 但不缓解铵抑制的籼稻品种扬稻 6 号根长。外源铁浓度升高处理会显著增加两水稻品种根部铁离子含量, 而显著降低两水稻品种铵态氮条件下水稻根部铵离子含量, 且两品种间变化趋势相似。高量铵/铁共胁迫条件下, 两水稻品种根部钾离子含量均显著降低, 且两品种间变化趋势相似。粳稻中花 11 根系生长明显更耐铁毒害胁迫; 硝态氮条件下, 籼稻品种扬稻 6 号根部钾离子变化对铁毒害胁迫更敏感。上述结果显示外源铁浓度水平对根系铵毒害的缓解效果在不同水稻生态型之间存在差异, 且这种差异可能与铁胁迫抗性之间存在关联。

关键词: 水稻, 氮素形态, 铁浓度, 根系, 生理变化

中图分类号: Q945.12 文献标识码: A

水稻是我国最主要的粮食作物之一, 在农业生产中占有重要地位, 其总产量占全国粮食总产量的 1/2。氮素是水稻生产的重要限制性大量元素, 也是人类提高产量的巨大动力。生产中为了保证水稻产量的持续增加, 不得不过多地依赖于化学肥料尤其是氮素化肥的高量投入, 我国近年来水稻种植面积占世界 20%, 而氮肥用量却占世界水稻氮肥用量的 37%。稻田是以铵态氮为氮素主要形态的农业生态系统, 在氮素高量施用及“集中施肥”模式下, 极易造成施肥后铵态氮高量积累现象, 造成铵毒害^[1-3]。

与此同时, 铁是植物的必需微量元素, 也是许多重要的氧化还原酶的不可或缺的成分。但在热带低洼地区或酸性土壤中, 尤其是水稻生长环境中, Fe^{2+} 往往过量累积, 使植物特别是水稻受到铁毒害胁迫^[4-6]。据统计全世界大约有 7.5×10^5 hm^2 高铁潜育性土壤^[5,7], 特别是亚洲如: 菲律宾、越南等以及远东地区。据估计我国南方约有 660 万 hm^2 的高铁潜育性水稻土壤^[4]。当水稻吸收过量铁时, 其根长、株高的伸展会明显受到抑制, 产量大大降低, 并会减少其他养分元素的吸收和转运, 减弱稻米的营养价值, 为世界带来粮食危

机^[8-9]。因此, 稻田的特殊生长环境, 及相关的人为生产活动, 极易使水稻同时面临高量铁和高量铵的双重胁迫, 严重影响了水稻的生长发育, 给粮食生产带来风险。人们对植物的高铵和高量铁胁迫已有相关研究; 然而, 目前的研究工作更多地只关注了“单一高铵”或“单一高铁”的应答途径, 较少地关注两者的共同通路和互相作用关系, 也忽略了植物对高铵/高铁环境可能的共适应机制。

本文以两种水稻品种为材料, 采用水培的试验方法研究不同氮素形态下, 外源铁浓度水平的变化对水稻的生理效应, 挖掘水稻对外源高量铁及高量铵的适应潜力, 为进一步提高现有水稻品种在高铵/高铁环境下的适应能力及养分的利用效率提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验在中国科学院南京土壤研究所水稻生长室中进行, 温度为 $(30 \pm 1)^\circ C/14$ h 和 $(25 \pm 1)^\circ C/10$ h 昼夜循环, 相对湿度为 $65\% \pm 1\%$ 。水稻品种为中花 11 和扬稻 6 号(为江苏里下河地区农业科学研究所培育)。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31430095)、国家重点研发计划项目(2017YFD0200103)和中国科学院南京土壤研究所知识创新工程领域前沿项目(ISSASIP1604)资助。

* 通讯作者(gjli@issas.ac.cn)

作者简介: 张琳(1982—), 女, 山东曹县人, 博士研究生, 主要从事植物营养学研究。E-mail: lzh@issas.ac.cn

1.2 试验培养

选择饱满一致的水稻种子用 10% H_2O_2 表面消毒 20 min 后,用去离子水冲洗至少 3 次,待冲洗干净后,用去离子水浸种过夜,然后置于湿润的滤纸上 30 °C 避光催芽,露白后,移入盛有 0.5 mmol/L $CaCl_2$ (pH 4.5) 聚乙烯塑料盒的漂浮纱网上,避光培养,待根长 1 cm 左右时,选择长势一致的苗分别移入不同的铁浓度梯度水培液中。水培液采用 Kimura B 改良营养液^[10],其主要成分如下:0.5 mmol/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、0.36 mmol/L $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 、0.25 mmol/L KCl 、0.2 mmol/L $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 、50 $\mu mol/L$ H_3BO_3 、0.5 $\mu mol/L$ $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 、0.7 $\mu mol/L$ $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 、0.3 $\mu mol/L$ $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 、9 $\mu mol/L$ $MnCl_2 \cdot 4H_2O$; 铵处理液为 3.5 mmol/L NH_4Cl ; $Na_2EDTA-Fe()$ 的浓度为 0.01、0.1、0.5、1.0 mmol/L 的 4 个铁浓度梯度处理,以 3.5 mmol/L $NaNO_3$ 及相应的铁浓度为对照, pH 4.5。每个处理 3 次重复,培养一定时间后取样测定。

1.3 分析测定

1.3.1 根长测定 用直尺测定根茎基部至最长根尖的距离。

1.3.2 鲜重测定 用蒸馏水冲洗干净后,在茎基部剪断,取地上部用 1/1000 电子天平称重。

1.3.3 铵含量测定 参考 Balkos 等^[2]试验方法:水稻用 10 mmol/L 的 $CaSO_4$ 不间断清洗 3 min,擦干后,剪下根部称重后,放入预冷后的研钵中(冰上操作),以 1:10(m:v)加上 0.01 mol/L 的甲酸研磨,将研磨液置于离心管中,2 °C,2 500 r/min 离心 10 min,取上清液置于 0.45 μm 的过滤离心管中,2 °C、5 000 r/min 离心 5 min。取上清 500 μl ,加入含有 3.75 mmol/L OPA 的显色液中(含有 200 mmol/L K_2HPO_4 和 KH_2PO_4 体积比为 1:1 的缓冲液,加入 OPA 后,超声溶解,用 NaOH 调 pH 为 7.0 后过滤膜,使用前一天加入 2 mmol/L β -巯基乙醇)至 2 ml,以加入 500 μl 甲酸为空白对照,25 °C 显色 30 min 后,在 410 nm 下比色测 OD 值。并以 $(NH_4)_2SO_4$ 配置测定 OD 值绘制标准曲线,计算铵含量。

1.3.4 铁及钾离子含量测定 水稻用 10 mmol/L 的 $CaSO_4$ 不间断清洗 3 min,擦干后,将地上和地下部分别装入干燥袋中,105 °C 杀青 20 min,80 °C 烘干至恒重,然后磨碎,称重后置于消煮管中,加入 $HNO_3:HClO_4 = 4:1$ (体积比)5 ml 消煮澄清后,定容至 50 ml,用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-AES)测定。

1.4 数据分析

数据采用 Excel 2003、SPSS 16.0 软件进行统计

分析。

2 结果与分析

2.1 铵态氮处理对水稻根长的影响

如图 1 所示,在铁浓度为 0.1 mmol/L 条件时,3.5 mmol/L 铵态氮条件下,处理 6 d 和 14 d 时,中花 11 和扬稻 6 号根长均明显短于硝态氮处理,且扬稻 6 号对铵更加敏感。用铵处理根长与硝处理根长的百分比分析(图 1B、1D),处理 6 d 时,中花 11 的根长达 73.28%,而扬稻 6 号为 58.69%;处理 14 d 时,中花 11 的根长达 60.89%,而扬稻 6 号为 47.56%。

2.2 不同铁浓度水平处理对硝态氮条件下水稻根长的影响

如图 2 所示,在硝态氮条件下,处理 6 d 和 14 d 时,扬稻 6 号的根长随着 Fe 浓度的升高呈现明显降低的趋势,而中花 11 的根长受外源铁浓度处理影响不明显。

2.3 不同铁浓度水平处理对铵态氮条件下水稻根长的影响

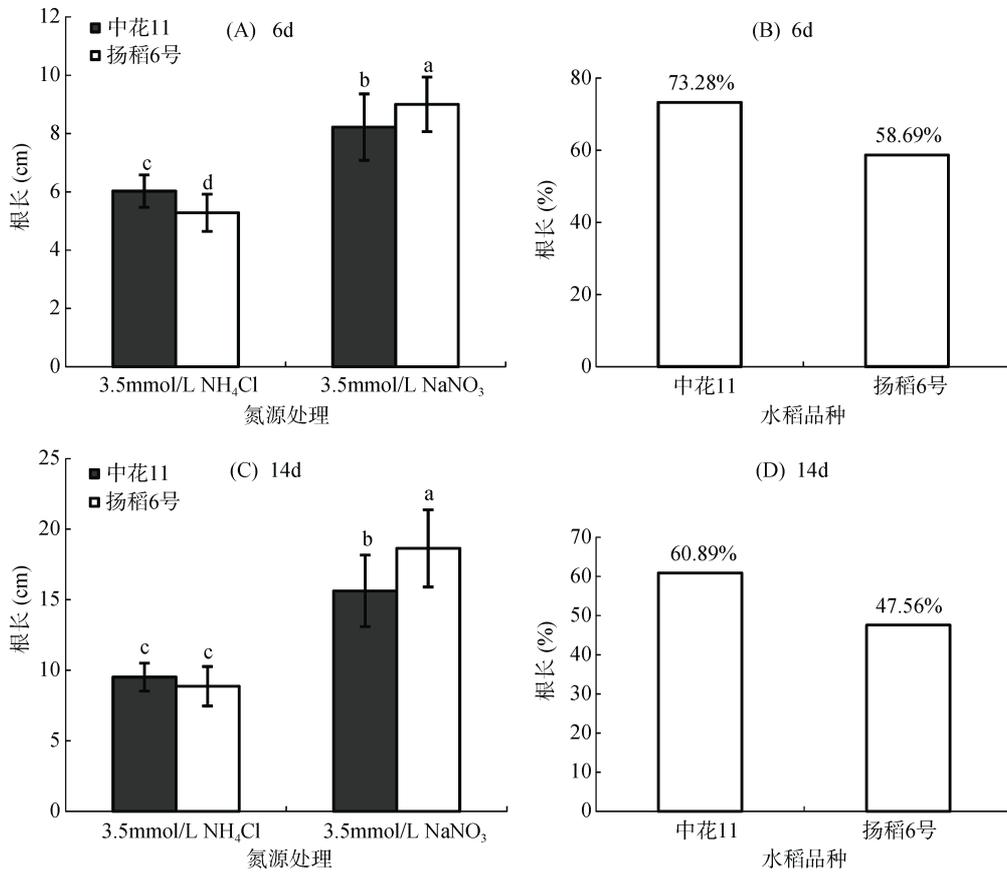
如图 3 所示,处理 6 d 和 14 d 时,在铵态氮条件下,中花 11 和扬稻 6 号根长明显短于硝态氮处理(图 2)。外源铁浓度升高处理会显著缓解铵抑制的中花 11 根长,在 0.5 mmol/L 时,缓解效果最好。处理 6 d 时,较之于 0.01 mmol/L 的铁浓度,0.5~1.0 mmol/L 的铁浓度对铵抑制的中花 11 根长缓解效果分别达到 31% 和 24%;而处理 14 d 时,0.5 mmol/L 的铁浓度对铵抑制的中花 11 根长缓解效果达到 52.6%。外源铁浓度处理并不缓解铵抑制的扬稻 6 号根系长度。

2.4 不同铁浓度水平处理对不同氮形态下水稻地上部生物量的影响

在硝态氮条件下,低浓度铁和高量铁都会显著抑制中花 11(图 4A)和扬稻 6 号(图 4B)地上部生物量,且两品种间的抑制趋势相似。在铵态氮条件下,低铁和过量铁同样都会显著抑制中花 11(图 4A)和扬稻 6 号(图 4B)品种的地上部生物量,且影响趋势相似。

2.5 不同铁浓度水平处理对不同氮形态下水稻根部铵含量的影响

硝态氮条件下,两个水稻品种中花 11 和扬稻 6 号的根部铵含量并不随外源铁浓度发生显著变化。铵态氮条件下,两个水稻品种根部铵含量均随外源铁浓度的升高呈现逐渐降低的趋势(图 3)。在铁浓度为 0.5 mmol/L 时,与 0.01、0.1 mmol/L 的 Fe 浓度处理相比,中花 11 根部铵含量分别降低了 68.8% 和



(图 B 和 D 的纵坐标根长百分比为两水稻品种按处理根长与硝处理根长的百分比, 数值柱上的数字为具体百分数值。图中小写字母不同表示处理间差异达到 $P < 0.05$ 显著水平, 下同)

图 1 铵态氮处理对水稻根长的影响

Fig. 1 Effects of ammonium-nitrogen on root lengths of rice

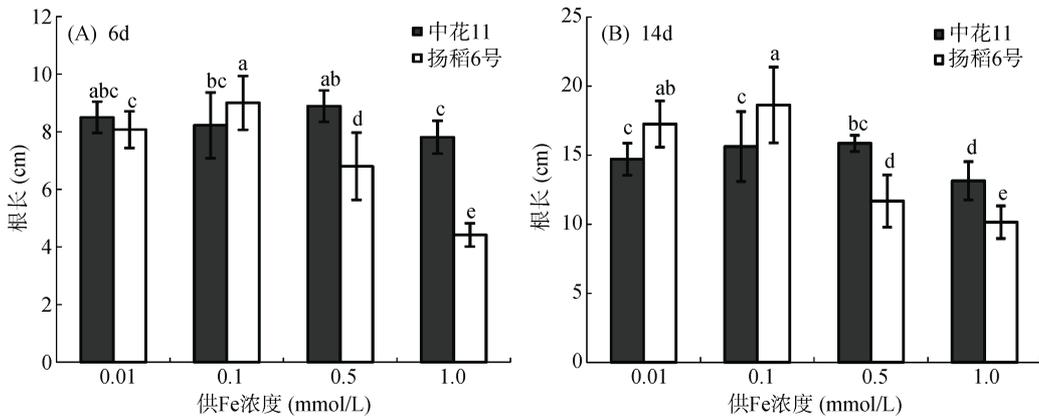


图 2 不同铁浓度处理对硝态氮条件下水稻根长的影响

Fig. 2 Effects of different iron concentrations on root lengths of rice under nitrate-nitrogen

43.4%，扬稻 6 号分别降低了 72.7% 和 56.6%，铁处理之间下降幅度差异显著。

2.6 不同铁浓度水平处理对不同氮形态下水稻根部铁离子和钾离子含量的影响

不论在硝态氮或铵态氮条件下,随着外源铁浓度升高,两个水稻品种中花 11 和扬稻 6 号的根部铁离子含量均呈现逐渐升高的趋势(图 6A、B),但铵态氮

条件下,两水稻品种根部铁离子含量上升幅度均低于硝态氮条件。与等浓度的硝处理相比,铵态氮条件下,铁处理浓度由低到高过程中,中花 11 根部铁含量分别降低了 89.8%、78.5%、50.6%,扬稻 6 号分别降低了 35.4%、87.2%、49.7%。硝态氮处理条件时,随着外源铁浓度升高,扬稻 6 号根部钾离子含量降低,而且根部铁含量越低,钾含量越高,相反铁含量越高,

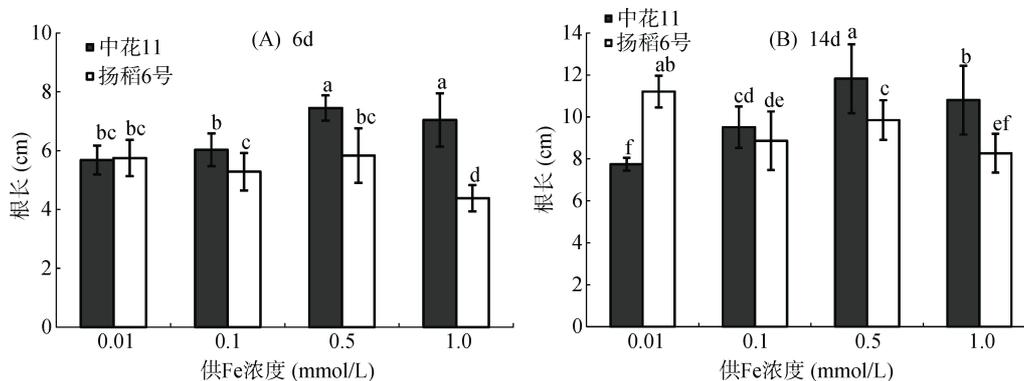


图 3 不同铁浓度水平处理对铵态氮条件下水稻根长的影响

Fig. 3 Effects of different iron concentrations on root lengths of rice under ammonium-nitrogen

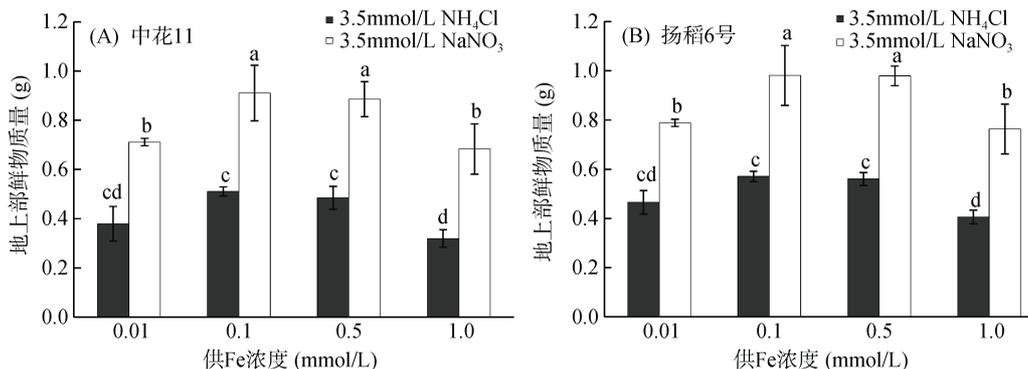


图 4 不同铁浓度水平处理对不同氮形态下水稻地上部生物量的影响(14 d)

Fig. 4 Effects of different iron concentrations on above-ground biomass of rice under different nitrogen forms

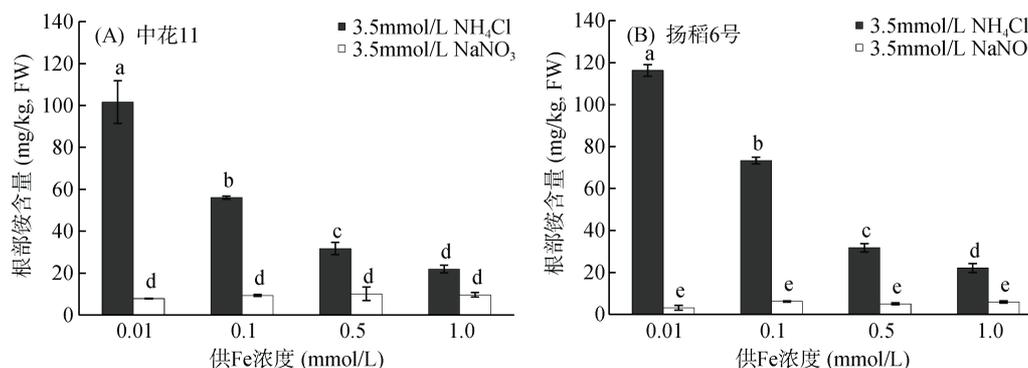


图 5 不同铁浓度水平处理对不同氮形态下水稻根部铵含量的影响(14 d)

Fig. 5 Effects of different iron concentrations on ammonium contents in roots of rice under different nitrogen forms

钾含量越低(图 6B、D)。但中花 11 未表现根部钾离子含量下降趋势;铵态氮条件下,两水稻品种根部钾离子含量均随铁浓度升高呈现下降趋势(图 6C、D)。

3 讨论

水稻的特殊生长环境和人为活动,使水稻的生长过程中会存在铵态氮和硝态氮共存的境况,而且不同生育期,稻田铵硝比会存在较大差异^[2-3,11]。同时稻田生长环境中,活性 Fe 往往过量累积,使水稻易受到铁毒害胁迫^[5-6]。因此,研究不同氮源下,外源铁

水平对水稻生长发育的影响具有现实意义。研究显示不同水稻品种,尤其是粳稻和籼稻之间,由于进化过程和基因组的差异,会对外源养分环境及胁迫环境的响应存在较大差异^[12]。本研究选取粳稻品种中花 11 和籼稻品种扬稻 6 号,分析在不同氮源及外源铁水平差异条件下的生长及离子含量发现,铵处理条件下水稻根部会积累过量铵离子,造成发育受阻;而外源铁浓度升高同样会积累过量铁离子,抑制水稻生长;更重要的是粳稻中花 11 和籼稻扬稻 6 号根长发育对铵和铁胁迫的耐性水平存在明显差异,不同处理时期的

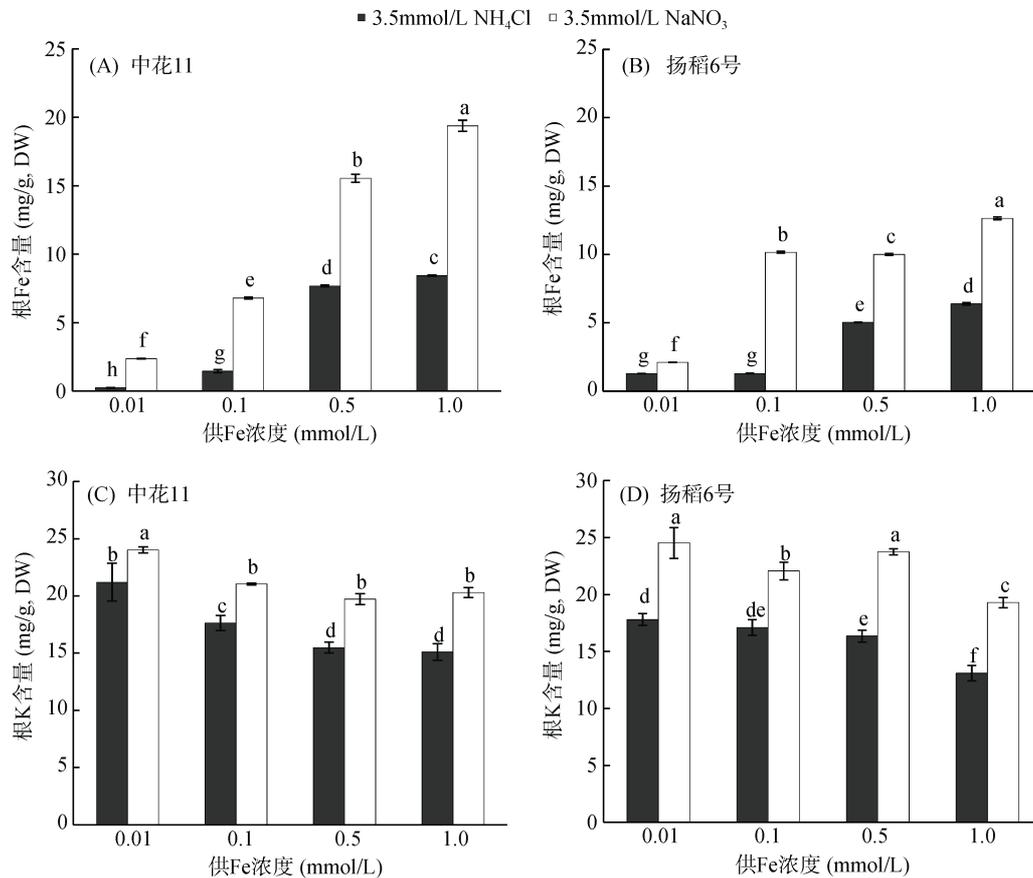


图 6 不同铁浓度水平处理对不同氮形态下水稻根部铁离子和钾离子含量的影响 (14 d)

Fig. 6 Effects of different iron concentrations on contents of iron and potassium ions in roots of rice under different nitrogen forms

数据显示：粳稻中花 11 明显更耐较高的外源铁浓度。外源铁水平升高会显著缓解铵抑制的粳稻中花 11 的根系长度，但却不缓解铵抑制的籼稻品种扬稻 6 号根长，这很可能与两品种对较高浓度铁的耐性存在差异有关，较高的耐高量铁的能力，可能是铁缓解粳稻中花 11 抵御铵胁迫的原因之一。进一步研究发现，外源铁水平升高会显著降低铵态氮条件下水稻根部铵离子含量，而且两种水稻品种都存在该特性。外源铁升高处理同时会显著增加两水稻品种根部铁离子含量，且增加趋势相似，是否增加的铁水平与降低的铵含量之间存在关联，尚需进一步研究。组织钾离子水平高低是植物耐受铵毒害的重要机制之一^[1,13]。铵态氮处理会显著降低根部钾离子含量，这与前人研究一致；而且这种抑制作用会随外源铁浓度的升高而加剧。外源铁浓度升高铁同样会抑制根部钾离子含量，而且硝态氮条件下，籼稻品种扬稻 6 号钾离子水平对高量铁浓度更敏感。但是铵铁共胁迫条件下，两水稻品种根部钾离子变化趋势相似，因此根部钾离子水平可能不是外源较高浓度铁缓解粳稻中花 11 根长抵御铵胁迫，而不缓解扬稻 6 号根长的原因。

已有文献报道水稻根表铁膜在影响养分吸收方面发挥重要作用^[6]。粳稻中花 11 在较高铁浓度下是否会比籼稻扬稻 6 号形成更多的铁膜，从而限制过量的铵离子和铁离子进入体内，从而增强根系铵和铁抗性？然而通过目前数据分析，在铵/铁胁迫下粳稻中花 11 和籼稻扬稻 6 号根部的铵离子及铁离子的变化趋势相似(图 3 和图 4A、4B)。此外，细胞壁是植物调节养分吸收和胁迫抗性的重要屏障，Wang 等^[14]报道细胞壁在铵调控水稻铝毒害过程中发挥重要作用，粳稻中花 11 在较高铁浓度下是否与籼稻扬稻 6 号在细胞壁组分中存在差异尚需进一步研究。Zhao 等^[12]报道粳稻比籼稻更耐受铝毒害，是因为粳稻比籼稻更喜铵态氮，水稻喜铵和耐铝之间存在关联。酸性土壤中，植物铝和铁毒害普遍共存，是否粳稻比籼稻更喜铵态氮的特性在耐受铁毒害中同样存在关联还需要进一步研究。

综上所述，高铵和高量铁浓度都会抑制水稻根长，外源铁对根系铵胁迫的缓解作用在不同水稻生态型之间存在差异，且这种缓解作用可能与根部钾离子水平无关。

参考文献：

- [1] Britto D T, Kronzucker H J. NH_4^+ toxicity in higher plants: A critical review[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2002, 159: 567-584
- [2] Balkos K D, Britto D T, Kronzucker H J. Optimization of ammonium acquisition and metabolism by potassium in rice (*Oryza sativa* L. cv. IR-72) [J]. *Plant Cell and Environment*, 2012, 33: 23-34
- [3] Chen G, Guo S W, Kronzucker H J, et al. Nitrogen use efficiency (NUE) in rice links to NH_4^+ toxicity and futile NH_4^+ cycling in roots[J]. *Plant and Soil*, 2013, 369: 351-363
- [4] 蔡妙珍, 罗安程. 过量 Fe^{2+} 胁迫下水稻的养分吸收和分配[J]. *浙江大学学报*, 2003, 29(3): 305-310
- [5] Becker M, Asch F. Iron toxicity in rice-conditions and management concepts[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2005, 168: 558-573
- [6] Li G J, Kronzucker H J, Shi W M. The response of the root apex in plant adaptation to iron heterogeneity in soil[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7, Number 00344
- [7] Onaga G, Drame K N, Ismail A M. Understanding the regulation of iron nutrition: Can it contribute to improving iron toxicity tolerance in rice?[J]. *Functional Plant Biology*, 2016, 43: 709-726
- [8] Tsuda A, Takeda S, Saito H, et al. A mesoscale iron enrichment in the Western Subarctic Pacific induces a large centric diatom bloom[J]. *Science*, 2003, 300 (5621): 958-961
- [9] Li G J, Song H, Li B, et al. Auxin resistant1 and PIN-FORMED2 protect lateral root formation in Arabidopsis under iron stress[J]. *Plant Physiology*, 2015, 169: 1-16
- [10] Ma J F, Shen R F, Zhao Z Q, et al. Response of rice to Al stress and identification of quantitative trait loci for Al tolerance[J]. *Plant Cell Physiol.*, 2002, 43(6): 652-659
- [11] 段英华, 张亚丽, 王松伟, 等. 铵硝比 ($\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$) 对不同氮素利用效率水稻的生理效应[J]. *南京农业大学学报*, 2007, 30(3): 73-77
- [12] Zhao X Q, Guo S W, Shinmachi F, et al. Aluminium tolerance in rice is antagonistic with nitrate preference and synergistic with ammonium preference[J]. *Annals of Botany*, 2013, 111: 69-77
- [13] Li G J, Dong G Q, Li B H, et al. Isolation and characterization of a novel ammonium overly sensitive mutant, amos2, in Arabidopsis thaliana[J]. *Planta*, 2012, 235: 239-252
- [14] Wang W, Zhao X Q, Chen R F, et al. Altered cell wall properties are responsible for ammonium-reduced aluminium accumulation in rice roots[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2015, 38, 1382-1390

Effects of Iron Supply on Biological Characteristics of Different Rice Varieties Under Different Nitrogen Sources

ZHANG Lin^{1,2}, LI Guangjie^{1*}, SHI Weiming¹

(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)

Abstract: Solution culture experiment was carried out to study the effects of different exogenous iron concentrations on seedling growth, contents of ammonium, iron and potassium ions of two rice genotypes – Japonica (Zhonghua 11) and Indica (Yangdao 6th) under different nitrogen sources. Results showed that the increase of exogenous iron level significantly alleviated ammonium inhibition on root growth of Japonica, but no effect on that of Indica. The increase of exogenous iron concentration significantly increased iron contents in roots of two rice varieties, and significantly reduced the contents of ammonium ion in roots of two rice varieties under the condition of ammonium nitrogen, and change trends were similar between the two genotypes. Under the co-stress of ammonium and iron, potassium contents in roots of two genotypes significantly reduced, and the change trends were similar between the two genotypes. Japonica was more resistant to iron toxicity, and the reduction of potassium content in roots of Indica was more sensitive to iron toxicity under nitrate-nitrogen. These results proved that the alleviating effects of increasing exogenous iron concentration on ammonium toxicity of roots in different rice ecotypes were different, possibly associated with the resistance of iron toxicity.

Key words: Rice, Nitrogenous forms, Iron concentration, Root system, Physiological changes