

水稻品种对石灰性土壤缺 Zn 耐性机理的研究*

徐晓燕 杨肖娥 杨玉爱

(浙江大学环境与资源学院, 杭州 310029)

摘 要 选用缺 Zn 敏感水稻品种 IR26 和耐缺 Zn 水稻品种 IR8192-31-2, 采用营养液培养的方法, 研究了水稻品种耐石灰性土壤缺 Zn 与 HCO_3^- 关系的生理生化机制。在低锌浓度下, HCO_3^- 严重抑制敏感品种根系生长, 而对耐性品种影响很小; HCO_3^- 增加了两种水稻品种根中的苹果酸和柠檬酸浓度, 但敏感品种增加的幅度大。以上结果表明 HCO_3^- 对敏感品种根生长的抑制, 并诱发缺 Zn 是由于根中有机酸过度积累导致的, HCO_3^- 显著提高敏感品种根中 PEP 羧化酶活性可能是 HCO_3^- 增加其有机酸积累, 从而影响根生长及 Zn 有效性机理的重要过程。

关键词 缺 Zn 敏感水稻品种, 耐缺 Zn 水稻品种, 重碳酸氢根, 有机酸, PEP 羧化酶

中图分类号 S311

HCO_3^- 是石灰性土壤上导致水稻缺 Zn 的主要因素^[1,2], 但不同的水稻品种对缺 Zn 的敏感性不同。水稻品种对石灰性土壤缺 Zn 耐性的强弱与其对 HCO_3^- 的耐性大小有关^[1], 而 HCO_3^- 诱发敏感品种缺 Zn 的机理还不很清楚。本试验采用营养液培养的方法研究探讨水稻对缺锌耐性与 HCO_3^- 及其有机酸积累之间的关系。

1 材料与方 法

试验在浙江农大土化系温室进行, 供试水稻品种为 IR26(缺 Zn 敏感水稻品种)和 IR8192-31-2(耐缺 Zn 水稻品种)。水稻种子由国际水稻研究所(菲律宾)的 Dr. Khush 提供。这两个品种是由国际水稻研究所 Dr. Heue 从 1400 个品种中进行大田筛选而得到的, 后又在德国 Hohenheim 大学植物营养研究所进行土培和水培试验得到验证。试验采用营养液培养法^[3], 配方为 NH_4NO_3 1.43mmol / L, CaCl_2 1.00mmol / L, MgSO_4 1.64mmol / L, NaH_2PO_4 0.32mmol / L, K_2SO_4 1.32mmol / L, MnCl_2 9.5 μmol / L, EDDHAFe 30 μmol / L(高 pH 下不会沉淀), CuSO_4 0.15 μmol / L, $(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24}$ 0.075 μmol / L, H_3BO_3 1.9 μmol / L。由于本试验中 Zn 作为处理因素, 所以在 Yoshida 提供的营养液配方中去掉 ZnSO_4 作为本试验的基本营养液配方。

* 国家自然科学基金资助(批准号39570416)项目

收稿日期: 1999-08-25; 收到修改稿日期: 1999-11-30

1.1 根生长及根中有机酸积累试验

经精选的种子通过浸种催芽后播种于塑料槽中的尼龙网上,先用 0.02mmol/L CaSO_4 溶液培养 5 天,然后选择大小一致的秧苗,移栽到 3 升的塑料盆中。每一盆的盖子上有 7 个孔,每孔用海绵固定 6 株幼苗,共 42 株/盆。幼苗先在 $1/4$ 浓度的营养液中培养 2 天,后在 $1/2$ 浓度的营养液中培养 5 天,然后进行全营养液培养,并进行 Zn 和 HCO_3^- 处理。 NaHCO_3 作为 HCO_3^- 供源, HCO_3^- 处理浓度为 0mmol/L 和 20mmol/L ; Zn 处理为四个浓度,即溶液中加入 ZnSO_4 $0\mu\text{mol/L}$, $0.05\mu\text{mol/L}$, $0.25\mu\text{mol/L}$ 和 $1.25\mu\text{mol/L}$ 。试验采用随机排列,重复 4 次。未处理之前,营养液的 pH 控制在 6 ± 0.1 ,处理后 pH 控制在 8 ± 0.1 (用 HCl 和 NaOH 调 pH)。所用试剂均为优级纯或分析纯。母液经双硫脲四氯化碳萃取除 Zn。试验过程所用的水均系石英器双重蒸馏水。

主根的伸长速率:处理前每一盆中选 10 株主根长相近的根做标记,并量根长,在处理 8 天时,测定根长。 $8\text{天内主根伸长速率} = (8\text{天时的根长} - \text{未处理前的根长})\text{cm} / 8\text{天}$ 。在 Zn 和 HCO_3^- 处理 2 天,4 天和 8 天时,对各处理分别随机取样 5 株进行生长测定。同时取样采用高压液相色谱法测定根中的有机酸含量。

1.2 根中 PEP 羧化酶活性试验

水稻苗龄 12 天以前的培养方法同上试验,营养液的 pH 控制为 6 ± 0.1 。在水稻苗龄 12 天,换全营养液培养 5 天,然后进行 Zn, pH 及 HCO_3^- 处理。Zn 设两个水平: $0\mu\text{mol/L}$, $1.25\mu\text{mol/L}$; pH 设二水平: 6.0, 8.5; HCO_3^- 设两个水平: 0mmol/L , 20mmol/L 。因为 pH 为 6.0 时, HCO_3^- 几乎不存在,所以处理为: pH(6.0) Zn(0) HCO_3^- (0); pH(8.5) Zn(0) HCO_3^- (0); pH(8.5) Zn(0) HCO_3^- (20); pH(6.0) Zn(1.25) HCO_3^- (0); pH(8.5) Zn(1.25) HCO_3^- (0); pH(8.5) Zn(1.25) HCO_3^- (20), 试验采用随机排列,重复 4 次,在试验处理 1 天、2 天、3 天时对各处理随机取样,进行 PEP 羧化酶活性的测定。

2 结果与分析

2.1 HCO_3^- 对缺锌敏感和耐性水稻品种根生长的影响

2.1.1 根的生长 从表 1 看出 20mmol/L HCO_3^- 显著降低缺 Zn 敏感品种 IR26 的根干重,且 Zn 水平不同和处理天数不同时,IR26 根干重降低幅度也不同。在 $0.05\mu\text{mol/L}$ Zn 水平下, HCO_3^- 处理 2 天和 8 天时,根干重分别降低 18% 和 40%,而在 $1.25\mu\text{mol/L}$ Zn 水平下, HCO_3^- 处理 2 天和 8 天时根干重分别降低 9% 和 25%,从以上结果可表明,低 Zn 浓度下 HCO_3^- 对敏感品种根生长的抑制严重,且随着 HCO_3^- 处理天数的增加,对根生长的抑制作用加重,而耐缺 Zn 品种 IR8192-31-2 对 HCO_3^- 的反应却不同,在低 Zn 浓度下, HCO_3^- 对 IR8192-31-2 根干重有轻微的促进作用。

2.1.2 主根的伸长速率 从图 1 看出, HCO_3^- 对 IR26 主根伸长有明显的抑制作用,与对照相比(不加 HCO_3^-)主根的伸长速率降低约 78%,而 HCO_3^- 对 IR8192-31-2 主根的伸长影响很小,在低 Zn 浓度和缺 Zn 时 HCO_3^- 对主根伸长甚至有轻微的促进作用, Zn 浓度对其主根伸长影响不显著。

2.2 HCO_3^- 对缺 Zn 敏感和耐性水稻品种根中有机酸积累的影响

2.2.1 苹果酸在根部的积累 HCO_3^- 处理后两种水稻品种根中的苹果酸含量增加,且随处理天数的增加而增加(见表 2),在 HCO_3^- 处理 2 天和 8 天时与对照(不加 HCO_3^-)相

表1 不同Zn水平下HCO₃⁻对不同水稻品种根干重的影响

Table 1 Effect of bicarbonate on root dry weight of different cultivars under different Zn levels

品 种 Cultivar	处理 Treatment		根干重 (mg/5株) Root D. W. (mg/5plants)		
	HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	Zn (μmol/L)	2天 (d)	4天 (d)	8天 (d)
IR26	0	0	54.67 d	62.80 e	81.93 e
	0	0.05	60.60 c	73.60 cd	103.60 d
	0	0.25	68.67 b	83.37 b	145.90 b
	0	1.25	74.00 a	95.37 a	162.23 a
	20	0	40.30 f	40.67 g	47.80 g
	20	0.05	49.70 e	54.23 f	62.33 f
	20	0.25	57.23 cd	65.70 de	95.20 d
	20	1.25	67.47 b	76.73 bc	121.37 c
IR8192-31-2	0	0	55.60 de	60.70 e	83.20 d
	0	0.05	61.17 d	74.33 d	104.57 c
	0	0.25	80.63 ab	92.10 ab	149.20 a
	0	1.25	86.57 a	97.10 a	152.70 a
	20	0	51.50 e	58.97 e	80.67 d
	20	0.05	70.93 c	79.77 cd	114.23 b
	20	0.25	87.10 a	101.30 a	156.43 a
	20	1.25	74.97 bc	86.77 bc	151.80 a

注: Duncan's 新复极差测验的多重比较结果, 字母相同者为差异不显著 (只能在同一品种, 同一天内相互比较)

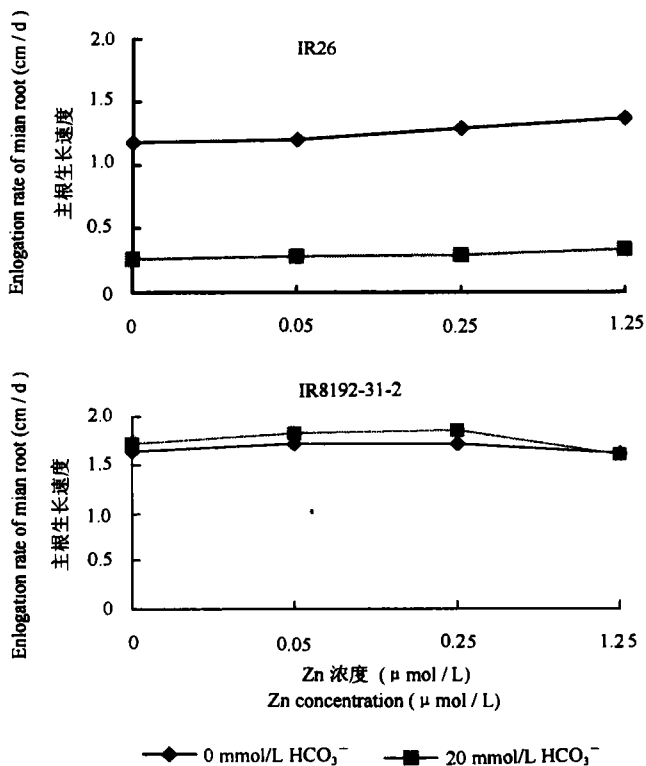


图1 HCO₃⁻ 对不同水稻品种主根伸长速率的影响
Fig.1 Effects of bicarbonate on elongation rate of main root for the different rice cultivars

比, IR26 根中的苹果酸分别大约增加 2 倍和 5 倍, 而 IR8192-31-2 根部苹果酸增加较少, 分别约增加 1 倍和 3 倍。Zn 浓度对两种品种根中苹果酸的积累影响不显著。

2.2.2 柠檬酸在根部的积累

从表 2 知, HCO₃⁻ 处理 4 天和 8 天时, IR26 根中的柠檬酸的浓度分别是对照的 10~12 倍和 7~8 倍, 处理 4 天时 IR26 根中柠檬酸浓度达高峰, 而 IR8192-31-2 根中的柠檬酸浓度在 HCO₃⁻ 处理 2 天时是对照的 3~4 倍, 而处理 8 天时与对照的柠檬酸浓度接近。以上结果表明 HCO₃⁻ 显著增加敏感品种根中柠檬酸的积累, 而对耐性品种影响较小。Zn 水平对两种品种根部柠檬酸的浓度影响不显著。综合分析以上

表2 HCO_3^- 和Zn浓度对缺Zn敏感和耐性水稻品种根部苹果酸和柠檬酸含量的影响

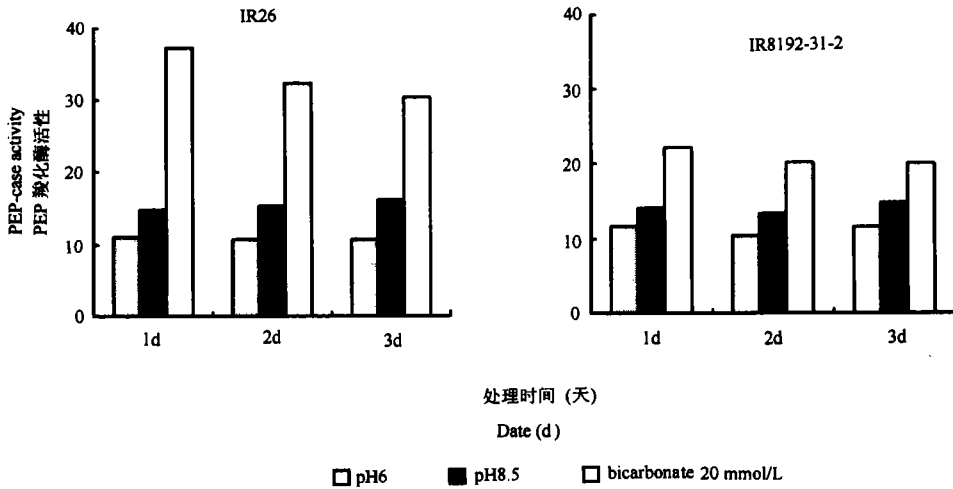
Table 2 Effects of bicarbonate and zinc concentration on malate and citrate contents in the roots of the Zn-inefficient and Zn-efficient rice cultivars

品 种 Cultivar	处理 Treatment		苹果酸含量($\mu\text{mol}/10\text{g}$ 鲜重) Malate content ($\mu\text{mol}/10\text{g}$ fresh weight)			柠檬酸含量($\mu\text{mol}/10\text{g}$ 鲜重) Citrate content ($\mu\text{mol}/10\text{g}$ fresh weight)		
	HCO_3^- (mmol/L)	Zn ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	2天(d)	4天(d)	8天(d)	2天(d)	4天(d)	8天(d)
IR26	0	0	9.85 B	10.45 B	10.52 B	2.08 B	3.85 B	4.00 B
	0	0.05	10.23 B	11.45 B	11.24 B	3.10 B	4.03 B	4.93 B
	0	0.25	10.42 B	13.43 B	12.00 B	2.91 B	4.35 B	5.18 B
	0	1.25	11.80 B	14.35 B	12.05 B	3.05 B	5.01 B	4.35 B
	20	0	35.12 A	54.80 A	79.02 A	20.21 A	45.00 A	33.12 A
	20	0.05	34.52 A	52.90 A	77.28 A	25.05 A	47.00 A	38.34 A
	20	0.25	30.09 A	49.45 A	66.30 A	29.98 A	45.98 A	36.98 A
	20	1.25	32.34 A	51.31 A	65.40 A	27.12 A	50.03 A	32.97 A
IR8192-31-2	0	0	9.47 B	10.35 B	11.42 B	3.75 B	4.51 B	6.05 C
	0	0.05	10.83 B	11.95 B	12.24 B	4.94 B	5.45 B	6.93 BC
	0	0.25	9.97 B	14.75 B	13.01 B	5.94 B	7.01 B	7.93 ABC
	0	1.25	10.73 B	13.01 B	15.45 B	6.03 B	6.85 B	7.31 BC
	20	0	24.50 A	34.90 A	49.04 A	13.21 A	10.51 A	8.45 ABC
	20	0.05	23.10 A	30.10 A	51.35 A	16.50 A	13.21 A	9.12 AB
	20	0.25	25.00 A	35.80 A	54.25 A	17.78 A	13.05 A	10.01 A
	20	1.25	23.80 A	37.51 A	58.00 A	15.45 A	10.93 A	7.72 ABC

注: Duncan's新复极差测验的多重比较结果,相同字母为统计上差异不显著(只能在同一品种同一天内相互比较)。

结果 HCO_3^- 抑制敏感品种根生长与根中有机酸过度积累有关。

2.2.3 HCO_3^- 及 pH 对不同水稻品种根中 PEP 羧化酶活性的影响 从图 2 中可以看出,高 pH 和 HCO_3^- 提高了两种水稻品种根中 PEP 羧化酶的活性(以 pH 为 6 时 PEP 羧化酶活性作对照),且敏感品种增幅大于耐性品种。高 pH(8.5)处理 1 天、2 天和 3 天时,IR26 根中的 PEP 羧化酶活性与对照相比分别增加 33%、41% 和 50%; 20mmol/L HCO_3^- 处理 1 天、2 天和 3 天时,IR26 根中的 PEP 羧化酶活性与对照相比增加 235%、201% 和 184%。从 PEP 羧化酶活性增加的百分比可以看出, HCO_3^- 对 IR26 PEP 羧化酶活性影响大于高 pH 对 PEP 羧化酶活性的影响。相比较,高 pH 和 HCO_3^- 对 IR8192-31-2 品种根中 PEP 羧化酶活性影响较小,IR8192-31-2 高 pH 处理 1 天、2 天和 3 天时,其 PEP 羧化酶活性与对照相比分别增加 26%、28% 和 31%; HCO_3^- 处理 1 天、2 天和 3 天时,酶活性分别增加 98%、93% 和 73%。综合分析以上结果可知,无论是哪一种品种 HCO_3^- 对 PEP 羧化酶活性的影响均大于高 pH 对酶活性的影响,且 HCO_3^- 处理后,IR26 根中的 PEP 羧化酶活性高于 IR8192-31-2。PEP 羧化酶是合成有机酸的关键酶,由此可以推测 HCO_3^- 处理后敏感品种根中有机酸积累高于耐性品种与敏感品种根中 PEP 羧化酶活性高有关。Zn 水平的高低对两种水稻品种



PEP羧化酶活性的单位以每克鲜重每分钟吸光值下降0.01作为一个酶活性单位

图2 HCO_3^- 及pH对不同水稻品种根中PEP羧化酶活性的影响

Fig.2 Effect of pH and bicarbonate on PEP-carboxylase activities in roots

根中 PEP 羧化酶活性影响不显著。

3 讨论

本研究表明 HCO_3^- 严重抑制敏感品种根系生长,而对耐性品种影响很小,在低 Zn 浓度下,对其根系生长甚至有轻微的促进作用。 HCO_3^- 处理后两种水稻品种根部苹果酸和柠檬酸的积累增加,但敏感品种的增加量高于耐性品种。可以推测 HCO_3^- 对敏感水稻品种根生长的抑制是由根中有机酸过度积累导致, HCO_3^- 抑制敏感品种根生长可能是其诱发缺锌的最初作用。柠檬酸在根细胞中是否也和苹果酸一样,抑制根的生长,还不清楚,但另一方面,高浓度的柠檬酸可能和必需阳离子结合,降低养分从根部向上运输。据 Ernst^[4] 提出的 Zn-苹果酸穿梭模型,当苹果酸积累达到一定临界值时,苹果酸分子向液胞运输,苹果酸分子进入液胞的同时,也把 Zn 运输到液胞中,在液胞中 Zn 与更强的螯合剂如柠檬酸结合束缚限制 Zn 向地上部运输,使 Zn 暂时无效化。由于敏感品种在 HCO_3^- 处理后,苹果酸和柠檬酸含量显著提高,因此敏感品种易缺 Zn。

PEP 羧化酶是根中固定 CO_2 合成苹果酸的关键酶,根对 HCO_3^- 的吸收为有机酸的合成提供了 C 源^[5,6],因此,可以初步推断, HCO_3^- 提高了 PEP 羧化酶活性是 HCO_3^- 增加苹果酸和柠檬酸积累的重要机理之一。由于 HCO_3^- 对缺 Zn 敏感品种 PEP 羧化酶活性的影响大于对耐性品种的影响,因此,敏感品种有机酸的积累高于耐性品种。 HCO_3^- 处理后,增加了两种水稻品种根中的有机酸含量,但在根细胞中有机酸如何分布以及与水稻品种耐缺 Zn 的关系还需进一步研究。

参 考 文 献

1. Yang X, Romheld V, Marschner H. Effect of bicarbonate and root zone temperature on the uptake of Zn,

- Fe, Mn and Cu by different rice cultivars (*Oryza sativa* L.) growth in calcareous soil. *Plant and Soil*, 1993, 155 / 156:441~445
2. Forno D A, Yoshida S, Asher C J. Zinc deficiency in rice. II. Studies on two varieties differing in susceptibility to zinc deficiency. *Plant and Soil*, 1975, 42:551~563
 3. Yoshida S, Forno D A, Cock J H. Routine methods of solution culture for rice. *In Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice*. 2nd Ed. The International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines, 1972. 53~57
 4. Ernst W H O. Physiology of heavy metal resistance in plants. *International Conference on Heavy Metals in the Environment*. Toronto. 1975. 121~136
 5. Bialczyk J, Lechowski Z. Absorption of HCO_3^- by roots and its effect on carbon metabolism of tomato. *J. Plant Nutr.*, 1992, 15:293~312
 6. Miller S S, Boylan K L M, Vance C P. Alfalfa root nodule carbon dioxide fixation: 3. Immunological studies of nodule PEP carboxylase. *Plant Physiol.*, 1987, 84:501~508

STUDY ON MECHANISMS OF RICE CULTIVARS ADAPTATION TO ZINC DEFICIENCY IN CALCAREOUS SOIL

Xu Xiao-yan Yang Xiao-e Yang Yu-ai

(College of Environment and Resource, Zhejiang University, Hangzhou 310029)

Summary

Solution culture experiments were conducted using the Zn-inefficient cultivar IR26 and the Zn-efficient cultivar IR8192-31-2 to study on physiological and biochemical mechanisms of rice plant adaptation to Zn deficiency with relation to bicarbonate tolerance. The results showed Bicarbonate strongly inhibited root growth of Zn-inefficient cultivar especially at low Zn concentration. In contrast, it had little effect on the root growth of Zn-efficient cultivar. Bicarbonate increased the concentrations of malate and citrate in the roots of both cultivars, but to greater extent for the Zn-inefficient than for the Zn-efficient cultivars. The results implied that the inhibitory effect of bicarbonate on root growth of the Zn-inefficient cultivar might result from high accumulation of organic acids in the root cells. PEP-case is a key enzyme for the synthesis of organic acid, so it was concluded that increase of organic acid by bicarbonate resulted from increase of PEP-case activity.

Key words Zn-inefficient rice cultivar, Zn-efficient rice cultivar, Bicarbonate, Organic acid, PEP-case activity