

不同铵硝配比下不同硅效应水稻的硅吸收动力学特征

张合心, 黄承和, 常春荣*

(海南大学农学院, 海南 海口 570228)

摘 要: 将水稻移植到 0.2 mmol/L CaSO_4 溶液中饥饿 2 d, 采用改进耗竭法研究了 3 种铵硝配比条件下 3 个不同硅效应水稻 (耐低硅的硅高效水稻特优 998 和不耐低硅的硅高效水稻特优 248 以及硅不敏感水稻博 II 优 15) 硅吸收动力学特征。结果表明: 作图法和双倒数法动力学方程准确性高, 达到极显著水平; 不同铵硝配比条件水稻硅吸收动力学曲线均符合 Michaelis - Menten 酶动力学模型的描述; 铵硝比对不同的硅效应水稻的硅载体数量影响不显著, 显著影响水稻对硅的亲合力。本实验条件下铵硝配比 50/50 有利于水稻特优 248 对硅的吸收, 铵硝比 75/25 时吸收速率最低; 特优 998 对硅有较高的亲合力, 可能是其耐低硅高效的遗传性差别。

关键词: 硅高效水稻; 铵硝配比; 硅吸收动力学

中图分类号: S143.7⁺9; S511

文献标识码: A

文章编号: 1673 - 6257 (2017) 06 - 0122 - 05

硅是水稻必需营养元素, 关于水稻硅的营养机理已由研究硅的增产抗病机理转到硅对水稻其它养分的吸收影响以及硅在水稻体内的转运积累的分子机制^[1-2]。研究证明水稻施用硅能影响水稻对其它养分的吸收与分配^[1-3], 不同水稻品种、不同施肥水平对硅的响应特征有显著差异^[3-5], 因此人们试图通过不同品种对硅营养差异特性来揭示硅的营养机理^[5-7], 硅因影响氮的吸收进而提高氮肥利用率, 减少氮对环境的污染而引起广泛关注^[8]。

养分离子吸收动力学特征是研究植物养分吸收的重要手段^[9-10]。早在 20 世纪 50 年代初, Epstein 和 Hagen 就开始了作物根对养分离子的吸收动力学研究^[11]。20 世纪 70 年代后, Classen 和 Barber^[12]建立了养分吸收动力学方程。根据离子吸收的动力学方程计算表观米氏常数 K_m 和养分的最大吸收速率 V_{max} , 来表征根系吸收离子的效率^[13]。另外, 也常用 α 表示根系吸收养分能力^[14], $\alpha = V_{max}/K_m$, 反映养分流入根系的速率。近年来国内外养分吸收动力学已经广泛应用于多种作物矿质营养特征以及

基因的基本特征研究等方面^[15-17]。因此, 本研究采用 3 个对硅有不同效应的水稻品种硅高效品种特优 998 (耐低硅型)、特优 248 (不耐低硅型) 和硅不敏感水稻博 II 优 15 为材料^[6], 研究外界环境中不同铵硝配比条件下, 水稻硅的吸收动力学特征, 以期揭示硅与氮的营养机理, 并为水稻硅营养机理提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

水稻特优 998 (硅高效耐低硅型)、特优 248 (硅高效不耐低硅型) 和博 II 优 15 (硅不敏感型) 3 个水稻品种^[6]。

采用国际水稻研究所常规营养液配方, 所用试剂纯度均为分析纯, 营养液用自来水配制, 硅由硅酸钠 (分析纯) 提供。

采用 5 L (20 cm 直径) 塑料桶作为培养容器, 用大小同容器上口的加强塑料板作为承载的介质, 打 6 个直径 2 cm 的孔 (中间 1 个, 周围 5 个距离边缘 1 cm 均匀分布), 水稻苗用海棉固定, 每孔 2 株, 每桶 12 株, 根系位置保证水稻根部完全没入营养液。

1.2 方法

1.2.1 试验设计

试验在海南大学儋州校区农学院实验室中进行。水稻种子用 10% H_2O_2 浸泡 30 min 后用清水清洗干净, 在清水中浸泡 24 h 后放到育苗盘中进行育

收稿日期: 2017 - 01 - 23; 最后修订日期: 2017 - 03 - 16

基金项目: 海南省自然科学基金项目 (水稻硅与氮、磷、钾营养相关关键基因分子调控机制, 310028); 海南大学博士启动基金 (kyqd1069)。

作者简介: 张合心 (1987 -), 女, 彝族, 云南省宣威市人, 硕士研究生, 主要从事植物营养生理与分子研究。E-mail: zhang_hexin123@163.com。

通讯作者: 常春荣, E-mail: hhnccr@126.com。

苗,待水稻长到2叶一心时移栽,清水培养3 d后进行营养液处理,营养液采用国际水稻营养配方方法,pH值5.6,营养液每天调节一次pH值,使其保持在5.5~5.8之间,每3 d更换一次营养液。

采用国际水稻所营养液配方,所用试剂均为分析纯度。等氮条件下,铵硝比分别为75/25、50/50、25/75,每个铵硝比设硅的浓度为0.085、0.17、0.34、0.51、0.68、0.85、1.36、1.70、2.04、2.38 mmol/L,硅由硅酸钠提供。营养液中均含5.89 mg/L二氰胺做硝化抑制剂,其它营养成分不变。取生长一致5叶1心水稻,漂洗后吸干根系水分后置于0.2 mmol/L CaSO₄溶液中2 d,根系沥干移入装有500 mL pH 5.6营养液瓶中吸收8 h,每株一瓶,重复5次。

1.2.2 收获与测定

生物量:试验结束后,去离子水漂洗根表的营养液,吸干根表水分,剪下根系,立即称量鲜重。然后放入烘箱中105℃杀青30 min后,70℃烘至恒重,称量干重。

营养液中硅浓度:用去离子水定容到500 mL,摇匀后取出约10~15 mL,采用硅钼蓝比色法测定。

根据吸收液前后硅浓度变化量,计算出水稻苗8 h的吸收总量,并计算根在单位时间硅的吸收速率。

1.3 数据处理

吸收动力学数据按照 Michaelis – Menten 方程的双倒数法(LB法)、作图法和 Hofstee 法(H法)^[13,18]以根系干重为量纲进行处理,分别用3种方法计算得到的回归方程及相关性系数显著性,根据回归方程相关系数选择其中一种方法作为动力学参数计算方法,进一步进行计算 V_{max}、K_m 和 α 值,分析不同铵硝配比条件下硅吸收动力学特征。

所有图表用 Excel 2003 进行处理,数据用 SAS 9.0 进行平均数方差分析, Duncan 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 三种参数处理方法比较

由表1可知,以根系干重为量纲3种数据处理方式得到的动力学方程不同,比较动力学方程相关系数发现,作图法和 LB 法得到的相关系数在3种铵硝配比的条件下均达到极显著水平,平均值分别为0.943 3和0.931 0;H法得到的动力学方程仅在铵硝比为75/25时相关系数达到显著水平,因此从动力学方程的相关水平上判断作图法和 LB 法均有较高的准确性。为便于比较,本文采用作图法计算动力学参数。

表1 三种数据处理方式的硅吸收动力学方程

铵硝比	水稻品种	作图法		LB 法		H 法	
		动力学方程	R ²	动力学方程	R ²	动力学方程	R ²
75/25	博Ⅱ优15	$y = -22.146x^2 + 72.439x + 6.364$	0.945 7 **	$y = 0.008x + 0.011$	0.992 8 **	$y = -0.584 5x + 81.668$	0.768 1 **
	特优248	$y = -14.996x^2 + 48.136x + 4.554$	0.933 5 **	$y = 0.019x + 0.005$	0.926 5 **	$y = -0.462 8x + 48.311$	0.468 2 *
	特优998	$y = -26.654x^2 + 84.889x + 7.011$	0.916 9 **	$y = 0.006x + 0.012$	0.946 5 **	$y = -0.472 5x + 85.007$	0.594 9 **
50/50	博Ⅱ优15	$y = -28.864x^2 + 89.446x + 3.054$	0.941 4 **	$y = 0.014x + 0.001$	0.964 0 **	$y = -0.493 1x + 79.971$	0.295 3
	特优248	$y = -39.586x^2 + 126.011x - 3.132$	0.960 5 **	$y = 0.023x + 0.014$	0.921 7 **	$y = -0.151 1x + 74.232$	0.017 2
	特优998	$y = -32.589x^2 + 101.389x + 0.986$	0.937 5 **	$y = 0.020x - 0.007$	0.953 3 **	$y = -0.212 0x + 66.904$	0.048 9
25/75	博Ⅱ优15	$y = -39.346x^2 + 126.346x - 6.218$	0.963 2 **	$y = 0.019x - 0.008$	0.957 2 **	$y = -0.190 8x + 71.536$	0.017 5
	特优248	$y = -35.032x^2 + 108.550x - 3.918$	0.940 0 **	$y = 0.079x - 0.092$	0.798 5 **	$y = 0.139 3x + 41.539$	0.021 6
	特优998	$y = -109.857x^2 + 361.143x - 44.454$	0.951 3 **	$y = 0.026x - 0.026$	0.918 6 **	$y = 0.748 7x + 37.475$	0.293 0

注:* 和 ** 分别表示方程达到5%和1%显著水平。量纲:[μmol/(g·h), DW]

2.2 水稻硅吸收速率及动力学参数

水稻硅的吸收曲线特征均符合 Michaelis – Menten 酶动力学模型描述。

2.2.1 铵硝比为75/25时硅吸收速率及动力学参数

图1表明,铵硝比为75/25时,水稻硅吸收速率都随硅浓度的升高而提高,硅浓度在0.51~1.36 mmol/L范围内,耐低硅型硅高效水稻特优998硅吸收速率最高,明显高于不耐低硅型硅高效特优248,博Ⅱ优15吸收速率居中。

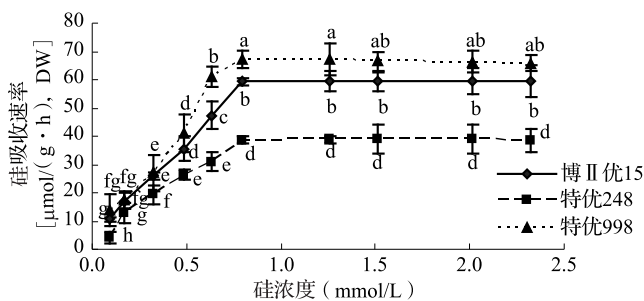


图1 铵硝比 75/25 水稻硅的吸收速率

注：图中不同小写字母表示差异达到 5% 显著水平 (n=5)，下同。

分析铵硝比 75/25 水稻硅吸收动力学参数 (表 2) 发现, K_m 和净吸收速率 α 均表现为 3 个品种间差异显著, 特优 248 的 K_m 值最高, 特优 998 最低, 前者是后者的 2.2 倍, 博Ⅱ优 15 居中; 净吸收速率 α 在 3 个品种间的表现规律与 K_m 相反; 3 个品种水稻最大吸收速率 V_{max} 并没有显著差异。表明在铵硝比 75/25 时 3 个不同硅效率水稻对硅的亲合力高低引起吸收速率的变化。

表 2 铵硝比 75/25 水稻硅吸收动力学参数

水稻品种	V_{max} [$\mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h}), \text{DW}$]	K_m ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	α
博Ⅱ优 15	58.41 a	12.63 b	4.626 4 b
特优 248	57.32 a	22.17 a	2.584 9 c
特优 998	56.87 a	9.87 c	5.075 8 a

注：同列字母不同表示差异达到 5% 显著水平 (n=5)，下同。

2.2.2 铵硝比为 50/50 时硅吸收速率及动力学参数

由图 2 可知, 铵硝比为 50/50 时, 3 个品种水稻硅吸收速率均随硅浓度的升高而提高, 在供硅 0.51 ~ 2.38 mmol/L 范围内, 硅吸收速率大小顺序为: 特优 248 > 特优 998 > 博Ⅱ优 15。

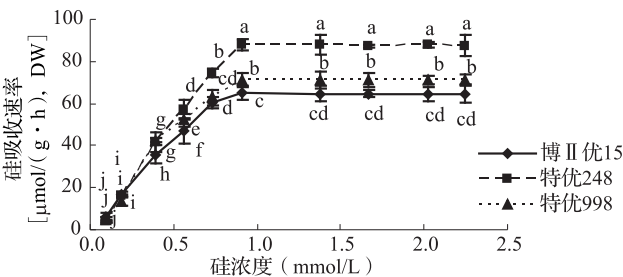


图2 铵硝比 50/50 水稻硅吸收速率

由表 3 可知, 铵硝比为 50/50 时, 3 个品种水稻硅的吸收动力学参数 K_m 、 α 值变化规律与铵硝比为 75/25 的相反, 在本试验条件下, 特优 248 和特优 998 的动力学参数没有显著差异。

对比分析铵硝比 75/25、50/50 时硅吸收速率与动力学参数发现, 总氮量相同的条件下, 25% 的硝代替铵使得特优 248 的硅吸收速率、 K_m 发生显著变化, V_{max} 值变化不显著; 特优 998 和博Ⅱ优 15 吸收动力学参数变化不显著。

表 3 铵硝比 50/50 水稻硅吸收动力学参数

水稻品种	V_{max} [$\mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h}), \text{DW}$]	K_m ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	α
博Ⅱ优 15	55.34 a	10.90 a	5.075 8 b
特优 248	56.84 a	9.79 b	5.809 0 a
特优 998	55.56 a	10.41 ab	5.335 0 ab

2.2.3 铵硝比为 25/75 时硅吸收速率及动力学参数

图 3 表明, 铵硝比为 25/75 时, 3 个品种水稻硅吸收速率随硅浓度的变化表现出与铵硝比为 75/25 时一致的规律。在供硅 0.51 ~ 2.38 mmol/L 范围内特优 998 硅吸收速率最高, 显著高于博Ⅱ优 15 和特优 248, 特优 248 硅吸收速率最低。

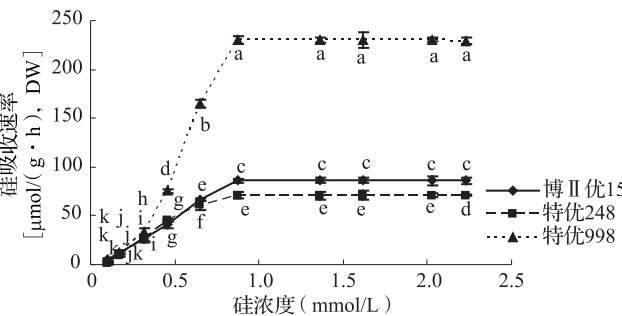


图3 铵硝比 25/75 水稻硅吸收速率

由表 4 可以看出, 铵硝比为 25/75 时, 3 个品种水稻对硅的吸收动力学参数大小变化规律与铵硝比为 75/25 时相同。

对比分析 3 个品种水稻各自在不同铵硝配比之间的吸收动力学参数的变化发现, 3 个硅效应不同水稻的 V_{max} 对铵硝配比响应变化不显著, 吸收速率的变化主要来源于 K_m 的变化; 特优 248 的 K_m 在铵硝配比 75/25 时最高, 在 50/50 和 25/75 时差异不显著; 特优 998 的 K_m 在铵硝比 75/25 与 50/50 时没有显著差异, 25/75 时 K_m 最低。对比 3 个品种水稻 K_m 的平均值发现, 在本试验范围内特优 998 的 K_m 最小, 特优 248 的 K_m 最高。

对比分析 3 个品种水稻硅吸收速率与吸收动力学方程系数发现, 3 个品种的硅吸收速率与动力学方程的一次项系数变化规律相同。

表4 铵硝比 25/75 水稻硅吸收动力学参数

水稻品种	$V_{\max}$ [$\mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})$, DW]	K_m ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	α
博Ⅱ优 15	57.34 a	10.90 b	5.261 9 b
特优 248	55.33 a	11.61 a	4.766 1 c
特优 998	58.70 a	7.82 c	7.507 2 a

3 讨论与结论

养分离子吸收动力学参数是根系吸收特性、筛选营养高效基因型作物、探讨营养机理以及预测根系吸收土壤养分特性的重要参考指标,外界养分条件影响植物根系对养分吸收^[5,9]。本试验结果证明,铵硝配比显著影响水稻对硅的吸收,硅吸收曲线特征符合 Michaelis - Menten 酶动力学模型的描述,不同硅效应水稻在 3 个铵硝配比条件下动力学参数变化规律不同。本试验对比分析了用根系鲜重、根系干重以及整株干重作为量纲,分别采用双倒数法、作图法和 Hofstee 法进行模拟动力学方程,发现用根系鲜重和单株得到的相关系数低,误差大,这一结果与华海霞等^[18]、王岚等^[19]的研究结果一致。用根系干重作为量纲,双倒数法、作图法得到的方程相关系数均达到极显著水平。

铵硝配比影响水稻对硝的吸收的主要原因是加铵影响了水稻硝载体的数量、膜内外的电位以及膜的结构^[17,20-21]。本试验表明,铵硝比对不同的硅效应水稻硅载体的数量($V_{\max}$)影响不显著,这与铵对硝的影响不同。不过铵硝配比不同显著影响水稻 K_m 证明了铵硝配比影响水稻对硅的亲合力。铵硝配比 75/25、25/75 时 3 个硅效应水稻动力学参数表现出一致的变化规律,这与铵硝比对硝的影响又不相同,铵硝对硅吸收的影响是否是铵对膜结构的影响需要进一步验证。

不耐低硅的硅高效水稻特优 248 在铵硝配比 75/25 时 K_m 最高,在另外两个铵硝配比条件下表现出较低的 K_m 系数,特优 998 则在 3 种铵硝配比条件下 K_m 均表现出较低;本试验条件下铵硝配比 50/50 有利于特优 248 对硅的吸收,铵硝比 75/25 时吸收速率最低;在 3 种铵硝配比条件下特优 998 表现出对硅有较高的吸收速率;对比华海霞等^[18]、刘辉^[22]得到的水稻 $V_{\max}$ 与 K_m 的大小发现,特优 998 的 K_m 与华海霞等的试验结果大小一致,而其

它两个品种的 K_m 与刘辉的试验结果一致,对比分析发现可能与水稻品种^[5,7]、水稻长期适应的环境条件^[23]以及营养液条件有关^[9,24]。目前关于不同硅效应水稻的研究报道不多,这种差别是否就是水稻硅遗传性差别需要进一步研究。

参考文献:

- [1] 魏海燕,张洪程,戴其根,等. 水稻硅素营养研究进展 [J]. 江苏农业科学, 2010, (1): 121-124.
- [2] 张国良,戴其根,张洪程,等. 水稻硅素营养研究进展 [J]. 江苏农业科学, 2003, (3): 8-12.
- [3] 唐晓东,侯捷,屈明,等. 我国水稻土的硅素营养研究 [J]. 中国土壤与肥料, 2008, (1): 1-6.
- [4] 吴季荣 龚俊义. 水稻硅营养的研究进展 [J]. 中国稻米, 2010, 16 (3): 5-8.
- [5] 吴青松. 水稻幼苗硅素吸收能力的遗传性分析 [D]. 南京: 南京农业大学, 2006. 34-36.
- [6] 王伟,张合心,黄承和,等. 海南硅高效水稻的筛选及硅吸收特征 [J]. 中国农学通报, 2014, 30 (3): 61-65.
- [7] 刘辉,张静,杜彦修,等. 不同硅吸收效率水稻品种根系对硅素水平的响应 [J]. 应用生态学报, 2009, 20 (2): 320-324.
- [8] 张丽娜,宗良纲,任偲,等. 硅对低镉污染水平下水稻幼苗生长及吸收镉的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2007, 26 (2): 494-499.
- [9] 余勤,邝炎华. 根系养分吸收动力学研究及应用 [J]. 华南农业大学学报, 1996, 18 (2): 105-110.
- [10] 王瑛,张建锋,陈光才. 柳树对水体氮素的去除率及其吸收动力学 [J]. 生态学杂志, 2012, 31 (9): 2305-2311.
- [11] 彭克勤,胡笃敬. 空心莲子草 K^+ 吸收动力学研究 [J]. 植物生理学报, 1986, 12 (2): 187-193.
- [12] Claassen N, Barber S A. A method for characterizing the relation between nutrient concentration and flux into roots of intact plants [J]. Plant Physiol, 1974, 54: 564-568.
- [13] 田霄鸿,李生秀,王清君,等. 几种作物 NO_3^- 吸收动力学参数测定方法初探 [J]. 土壤通报, 2001, 32 (1): 16-18.
- [14] 魏红旭,徐程杨,马履一,等. 长白落叶松幼苗对铵态氮和硝态氮吸收的动力学特征 [J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16 (2): 407-412.
- [15] 胡绵好. 不同基因型水生植物对铵态氮和硝态氮吸收动力学特性研究 [J]. 生物学杂志, 2011, 28 (6): 10-13.
- [16] 王岚,王伟,黄承和,等. 不同铵硝比对香蕉幼苗硝态氮吸收动力学特征影响 [J]. 热带作物学报, 2012, 33 (6): 988-992.
- [17] 王龙,高子平,李文华,等. 水稻幼苗镉吸收动力学特性的遗传多样性分析 [J]. 植物生理学报, 2016, 52 (1): 125-133.
- [18] 华海霞,梁永超,娄运,等. 水稻硅吸收动力学参数固定方法的研究 [J]. 植物营养与肥料学报, 2006, 12 (3):

- 358 – 362.
- [19] 王岚, 张合心, 黄承和, 等. 香蕉硝态氮吸收动力学参数确定方法研究 [J]. 中国农学通报, 2012, 28 (31): 277 – 281.
- [20] 张亚丽, 董园园, 沈其荣, 等. 不同水稻品种对铵态氮和硝态氮吸收特性的研究 [J]. 土壤学报, 2004, 41 (6): 918 – 923.
- [21] 尹晓明, 范晓荣, 贾莉君, 等. NH_4^+ 的吸收对水稻根系细胞膜电位的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11 (6): 769 – 773.
- [22] 刘辉. 水稻根系高效吸收硅素的生理机制研究 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2008. 16.
- [23] 蒋廷惠, 郑绍建, 石锦芹, 等. 植物吸收养分动力学研究中的几个问题 [J]. 植物营养与肥料学报, 1995, 1 (2): 12 – 17.
- [24] 汪晓丽, 封克, 盛海君, 等. 不同水稻基因型苗期 NO_3^- 吸收动力学特征及其受吸收液中 NH_4^+ 的影响 [J]. 中国农业科学, 2003, 36 (11): 1306 – 1311.

Characteristic of silicon uptake kinetic with different ratio of ammonium and nitrate in different silicon-efficiency rice

ZHANG He-xin, HUANG Cheng-he, CHANG Chun-rong* (College of Agriculture, Hainan University, Haikou Hainan 570228)

Abstract: Characteristics of silicon uptake kinetic in solution of three ratios of ammonium and nitrate were studied by modified depleting way with three different silicon-efficiency rice (Teyou 998: enduring variety to silicon deficiency, Teyou 248: non-enduring variety to silicon deficiency, and Bo II you 15: nonsensitivity variety to silicon deficiency) treated in 0.2 mmol/L CaSO_4 solution two days before being determined. The results showed that Mapping and Lineweaver-Burke (LB) had high veracity with 1% significant level. Silicon uptake kinetic characteristics of all treatments with three ratio of ammonium and nitrate followed the enzyme kinetic model of Michaelis-Menten. Effect of carrier quantity had no distinct difference through three ratio of ammonium and nitrate, but K_m or silicon affinity reached significant difference at 5% significant level. In this experimental condition, Teyou 248 had higher silicon uptake rate only at 50/50 ammonium to nitrate, and had the lowest uptake rate at 75/25 ratio, Teyou 998 had higher silicon affinity at the same condition and that may be caused by genetic essential.

Key words: high silicon-efficiency rice; ratio of ammonium and nitrate; silicon uptake kinetic