



请通过网上投稿系统投稿 网址:http://www.aes.org.cn

外源Ca²⁺对模拟酸雨胁迫下不同抗性水稻根系氮吸收的影响

张元棋,梁婵娟

引用本文:

张元棋,梁婵娟. 外源Ca²⁺对模拟酸雨胁迫下不同抗性水稻根系氮吸收的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(11): 2468-2477.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0245

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

外源钙对模拟酸雨胁迫下水稻质膜组分和钙形态的调节

马永佳,梁婵娟 农业环境科学学报. 2021, 40(6): 1159-1166 https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1453

不同生育期臭氧熏蒸对水稻光合作用及生长的影响差异

付烧,尚博,张国友,冯兆忠 农业环境科学学报.2021,40(10):2066-2075 https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0139

微塑料与铅复合污染对水稻幼苗根系生长和氧化应激的影响

刘玲,洪婷婷,胡倩男,谢瑞丽,周颖,王玲,汪承润 农业环境科学学报. 2021, 40(12): 2623-2633 https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0523

高铁酸钾/高锰酸钾改性生物炭对Cd²⁺的吸附研究

蒋子旸,徐敏,伍钧 农业环境科学学报.2021,40(4):876-883 https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1123

红树林人工湿地的脱氮除磷效果研究

刘永,张诗涵,肖雅元,吴鹏,王腾,李纯厚 农业环境科学学报. 2022, 41(8): 1788-1799 https://doi.org/10.11654/jaes.2021-1478



关注微信公众号,获得更多资讯信息

张元棋,梁婵娟.外源 Ca²⁺对模拟酸雨胁迫下不同抗性水稻根系氮吸收的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(11): 2468-2477. ZHANG Y Q, LIANG C J. Exogenous Ca²⁺ application regulates nitrogen uptake in roots of different resistant rice varieties under simulated acid rain stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(11): 2468-2477.



外源 Ca²⁺对模拟酸雨胁迫下不同抗性 水稻根系氮吸收的影响

张元棋1,梁婵娟1,2*

(1.江苏省厌氧生物技术重点实验室,江南大学环境与土木工程学院,江苏 无锡 214122;2.江苏水处理技术与材料协同创新中心,苏州科技大学,江苏 苏州 215009)

摘 要:为减轻酸雨对植物生长的不利影响,探究 Ca²⁺对植物耐酸性的调控机制,本文以五优 308(抗性种)和南粳9108(敏感种) 两个品种水稻为研究对象,研究外源 Ca²⁺对低强度酸雨(pH 4.5, SAR1)和高强度酸雨(pH 3.0, SAR2)胁迫下水稻幼苗根系生长、氮 (NO₃和NH₄)含量及吸收速率、ATP含量、质膜H⁺-ATPase活性及其磷酸化水平的影响。结果表明:SAR1处理下两个品种水稻的 H⁺-ATPase磷酸化水平和活性增加(P<0.05),促进 ATP分解,增加供能,使NH₄吸收增加(P<0.05),但NH₄仅在南粳9108根中过量 积累(P<0.05),引起铵毒,造成根系生长抑制,五优 308 中 NO₃和 NH₄含量及其生长均未受影响(P>0.05)。SAR2处理下,两个品种 水稻质膜 H⁺-ATPase活性和 NO₅、NH₄吸收速率及含量均降低,根系生长受到抑制(P<0.05),其中南粳9108降幅大于五优 308。 Ca²⁺+SAR1处理组两个品种水稻根系质膜 H⁺-ATPase磷酸化水平和活性、NO₃和 NH₄吸收和积累以及根系生长均与对照(叶喷去 离子水处理)差异不显著(P>0.05)。Ca²⁺+SAR2处理下H⁺-ATPase活性、NO₃和 NH₄吸收和积累以及根系生长低于对照(P<0.05), 但显著高于单一SAR2处理(P<0.05)。研究表明,外源 Ca²⁺可有效保障模拟酸雨(pH 4.5、3.0)下质膜 H⁺-ATPase磷酸化水平,促进 H⁺-ATPase活性升高,缓解酸雨对 NO₃和 NH₄吸收的抑制,维持根系生长。其中,外源 Ca²⁺对相同强度模拟酸雨胁迫下五优 308的 调控效果优于南粳9108,说明外源 Ca²⁺对酸雨胁迫下植物氮吸收的影响不仅受酸雨强度限制,而且也会受品种影响。本实验中, 外源 Ca²⁺对不同强度酸雨胁迫下不同抗性水稻氮吸收均有调控效果,合理利用外源 Ca²⁺将有助于调节酸雨区农作物的营养吸收, 缓解酸雨对农业生产的危害。

关键词:外源Ca²⁺;模拟酸雨;水稻;耐酸性差异;氮吸收;质膜H⁺−ATPase磷酸化水平
 中图分类号:S511;X517 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2022)11-2468-10 doi:10.11654/jaes.2022-0245

Exogenous Ca²⁺ application regulates nitrogen uptake in roots of different resistant rice varieties under simulated acid rain stress

ZHANG Yuanqi¹, LIANG Chanjuan^{1,2*}

(1. Jiangsu Province Key Laboratory of Anaerobic Biological Technology, School of Environmental and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Jiangsu Water Treatment Technology and Materials Collaborative Innovation Center, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China)

Abstract: To alleviate the adverse effect of acid rain on plant growth, the regulation mechanism of Ca²⁺ on tolerance of plants to acid was explored. In this study, two rice cultivars, Wuyou 308 (resistant cultivar) and Nanjing 9108 (sensitive cultivar), were selected as research

Project supported: The National Natural Science Foundation of China (31971407, 31370517); The Natural Science Foundation of Jiangsu Province, China (BK20161131); Postgraduate Research & Practice Innovation Program of Jiangsu Province(KYCX20_1952)

收稿日期:2022-03-15 录用日期:2022-05-13

作者简介:张元棋(1997—),女,安徽六安人,硕士研究生,主要研究方向为环境生态。E-mail:6191403010@stu.jiangnan.edu.en

^{*}通信作者:梁婵娟 E-mail:liangchanjuan@jiangnan.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金项目(31971407,31370517);江苏省自然科学基金项目(BK20161131);江苏省研究生研究与实践创新项目(KYCX20_1952)

2022年11月 张元棋,等:外源Ca²⁺对模拟酸雨胁迫下不同抗性水稻根系氮吸收的影响

objects. The effect of exogenous Ca²⁺ on root growth, nitrogen (NO₃⁻ and NH⁺₄) content and uptake rates, ATP content, and plasma membrane H*-ATPase activity and phosphorylation levels in rice seedlings under low-intensity (pH 4.5, SAR1) and high-intensity (pH 3.0, SAR2) simulated acid rain were studied. The results showed that under SAR1 treatment, H*-ATPase phosphorylation levels and activity increased in the two rice cultivars, which promoted the decomposition of ATP and increased energy supply, thereby inducing an increase in NH 4 uptake. However, the accumulation of NH⁴ was excessive only in Nanjing 9108, causing ammonium toxicity and inhibiting root growth. Under the same treatment, NO₃⁻ and NH₄⁺ levels and growth did not change in Wuyou 308. Under SAR2 treatment, H⁺-ATPase activity and $NO_{\frac{1}{2}}$ and $NH_{\frac{1}{4}}$ uptake rates and levels as well as root growth decreased in the two rice cultivars. Among them, the degree of decrease in Nanjing 9108 was greater than that in Wuyou 308. Under Ca²⁺+SAR1 treatment, H⁺-ATPase phosphorylation levels and activity in the root plasma membrane, uptake and accumulation of NO₃⁻ and NH⁺₄, as well as root growth of the two rice cultivars were not significantly different from those in the control (the treatment which leaves sprayed deionized water). The H*-ATPase activity, uptake and accumulation of NO3 and NH⁴, and root growth of the two rice cultivars under Ca²⁺+SAR2 treatment were lower than those in the control, but significantly higher than those under SAR2 treatment alone. The results showed that exogenous Ca²⁺ effectively guaranteed the phosphorylation levels of H⁺-ATPase and promoted H^+ -ATPase activity, and then relieved the inhibition of NO_3^- and NH_4^+ uptake and maintained root growth under simulated acid rain (pH 4.5 and 3.0). Among treatments, at the same simulated acid rain intensity, regulation of exogenous Ca2+ in Wuyou 308 was better than that in Nanjing 9108, indicating that the effect of exogenous Ca²⁺ on nitrogen uptake under simulated acid rain was not only limited by acid rain intensity, but also exhibited differences in cultivars. In this experiment, exogenous Ca²⁺ has a regulatory effect on the nitrogen uptake process of different resistant rice under acid rain stress of different intensities, and the rational application of exogenous Ca²⁺ can help regulate the nutrient uptake of crops in areas with acid rain to alleviate the damage caused by acid rain to agricultural production.

Keywords: exogenous Ca²⁺; simulated acid rain; rice; differences in acid tolerance; nitrogen uptake; plasma membrane H⁺- ATPase phosphorylation level

尽管近年来全球酸雨态势有所减缓,但我国仍 有4.66×10⁷ hm²的国土面积为酸雨区^[1]。酸雨会抑制 植物根系生长^[2],破坏其吸收养分的能力^[3];引起活 性氧过量积累,造成氧化损伤^[4-5];破坏叶绿体微观 结构,减少叶绿素含量,降低光合作用能力^[6-7]。酸 雨还会通过淋溶土壤中的Ca²⁺、Mg²⁺、K⁺、SO²⁻、NO³、 CO³⁻,使土壤贫瘠^[8]、农作物生长缓慢,引起农业减 产,提高作物耐受性可能是缓解酸雨区农业减产的 一种可行方法。

已有研究发现外源 Ca²⁺能提高植物对盐、干旱及 低温等非生物胁迫的耐受能力^[9-12]。酸雨胁迫下,外 源 Ca²⁺能通过提高抗氧化酶活性、同工酶浓度及基因 表达缓解酸雨造成的氧化胁迫^[4-5],通过调节细胞质 膜组分及胞内 Ca²⁺形态促进质膜稳定性^[13],提高植物 对酸雨的耐受性。同时有研究发现外源 Ca²⁺缓解酸 雨胁迫下大豆品质与调控其营养吸收有关^[14]。然而 外源 Ca²⁺和酸雨胁迫下植物营养吸收与植物耐酸性 的关系仍不明确,明确这一点将有助于提高植物耐酸 性,从而为缓解酸雨对作物产量及品质的影响提供良 好的生长基础。氮是限制植物生长最重要的因素之 一^[15]。水稻主要以 NO₃和 NH₄的形式吸收无机氮,这 一过程需要 H⁺-ATPase 水解 ATP 提供能量,同时向胞 外泵出H⁺维持胞内pH稳定,保障氮吸收的稳定和平衡是维持水稻生长和发育的基础。明晰外源Ca²⁺如何通过H⁺-ATPase调节酸雨胁迫下植物氮吸收,将为丰富植物耐酸性机制提供新的理论支撑,同时也为缓解酸雨造成的土壤肥力下降提供思考方向。

为了提高植物耐酸性,同时进一步探明外源Ca²⁺ 调控机理和调控效果的品种间差异,本研究选取了两 个广泛种植的水稻品种——五优308(抗性种)和南粳 9108(敏感种)。首先,探究外源Ca²⁺对酸雨胁迫与恢 复后水稻根系生长与氮(NO3和NH4)含量的影响,明 晰外源Ca²⁺调控酸雨胁迫下植物氮吸收与耐受性的 关系;其次,测定根系NO3、NHt吸收速率,ATP含量和 质膜H⁺-ATPase活性,探究外源Ca²⁺调控酸雨胁迫下 植物根系质膜H⁺-ATPase活性对氮吸收的影响;最 后,从质膜H⁺-ATPase磷酸化水平角度探析外源Ca²⁺ 调控酸雨胁迫下植物根系质膜H⁺-ATPase活性的内 在机制。通过对比外源 Ca2+与酸雨处理下两个水稻 品种生长、氮(NO₃、NH₄)吸收及质膜H⁺-ATPase活性 与磷酸化的差异,客观评价外源Ca²⁺调控植物耐酸 性的效果,为采取有效措施减轻酸雨对农业生产的 影响提供理论依据,为缓解酸雨引起的粮食安全问 题提供新的选择。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验试材为水稻(Oryza sativa L.),品种为五优 308(抗性种)和南粳9108(敏感种)。品种筛选是根 据郭莉莉等16的研究结果,考虑长江中下游地区种植 的常见水稻品种,并在模拟酸雨(pH 4.5 或 3.0)下通 过相对生长速率、根系质膜透性以及叶片叶绿素含量 指标筛选比较得出的抗性差异。将种子浸泡于0.1% 的HgCl₂中10min后取出,使用去离子水冲洗干净后, 置于去离子水中浸泡24 h。种子转移至蛭石中,于 25℃恒温萌发,长至两叶时转移至24孔泡沫板并置 于6.88L周转箱培养,培养条件参考马永佳等^[13]的方 法。营养液配制按照国际水稻研究所常规水稻营养 液配方,营养液每3d更换一次。

1.2 试验方法

 $U SO_4^{-1}: NO_5 \to 3:1$ 的比例配制酸雨母液,当水稻 长至四叶时进行处理。单一模拟酸雨(SAR)处理组 使用酸雨母液将去离子水调至 pH 4.5(SAR1)和 pH 3.0(SAR2)作为叶喷酸雨,同时将营养液调节至相应 pH作为根施酸雨。单一Ca²⁺处理组在营养液中添加 5 mmol·L⁻¹ CaCl₂, Ca²⁺浓度根据对酸雨胁迫下植物的 调控效果筛选确定[17]。Ca2++SAR(pH 4.5 或 3.0)处理 进行叶喷模拟酸雨(pH 4.5 或 3.0)、根施模拟酸雨 (pH 4.5 或 3.0)和根施 5 mmol·L⁻¹ CaCl₂。去离子水喷 洒处理作为对照(CK)。每日上午10:00和下午5:00 喷洒,喷洒于叶片至水滴滑落,处理5d,5d后水稻于 CK条件下恢复至幼苗期结束。

1.3 指标测定方法

试验材料使用去离子水冲洗,105℃烘30min后 80℃烘至质量恒定,测定根系干质量。采用水杨酸-硫酸法和靛酚蓝比色法分别测定根(以鲜质量计)中 NO3和NH4含量^[18-19]。

采用GAO等[20]的方法测定并计算NO3和NH4的 吸收速率,计算公式分别为:

NO₅吸收速率=(初始营养液中NO₅浓度-处理5d 后营养液中NO₃浓度)×营养液体积/(根鲜质量×5)

NHt吸收速率=(初始营养液中NHt浓度-处理5d 后营养液中NH₄浓度)×营养液体积/(根鲜质量×5)

质膜H⁺-ATPase活性使用质膜蛋白提取试剂 盒(贝博生物科技有限公司,上海)提取测定。参考 LIANG 等四的方法使用定磷试剂测定反应体系中生 成的无机磷含量,并根据以下公式进行计算:

 $C \times n$

```
E = \frac{G}{W_p \times t \times 31}
```

式中:E为酶活, µmol·mg⁻¹·min⁻¹; C为标准曲线上查 得的无机磷含量,µg·mL⁻¹;t为反应时间,min;W_a为膜 制剂中的蛋白含量,mg·mL⁻¹;n为稀释倍数。

H⁺-ATPase磷酸化水平使用Western-Blot方法测 定,使用8%浓缩胶和6%分离胶在120V、30min和 80 V、55 min条件下电泳以分离目标蛋白。使用半干 法转膜后用5% BSA 溶液封闭 PVDF 膜2h,以1:2000 比例4℃静置过夜孵育一抗(14-3-3蛋白),用PBST 溶液清洗3次,再以1:1000比例加入二抗(HRP-驴 抗兔IgG抗体)室温孵育2h,最后用PBST清洗3次, 显影后进行拍摄。

根系ATP含量(以鲜质量计)测定参考文献[22], 使用高效液相色谱法测定。具体条件为C18柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 柱温 25 ℃, 流速 1.2 mL·min⁻¹, UV 254 nm, 进样量 20 µL, 流动相 A 为 0.06 mol·L⁻¹ Na₂HPO₄、0.04 mol·L⁻¹ KH₂PO₄, pH 7.0, 流动相 B 为纯 乙腈。洗脱程序:0 min 100% A;2 min 95% A 和 5% B;4 min 80% A 和 20% B;5.3 min 75% A 和 25% B;6 min 100% $A_{\,\circ}$

1.4 数据处理

采用SPSS 18.0 对数据进行显著性分析,不同字 母表示处理间差异显著(P<0.05)。数据分析后使用 Origin 2021 绘图, 绘图数据均为3次独立试验数据的 平均值±标准误差(Mean±SD)。

2 结果与分析

2.1 外源Ca²⁺对模拟酸雨下不同抗性水稻幼苗根系生 长和根中NO3、NH4含量的影响

如图1所示,胁迫期,与CK相比,SAR1处理下, 五优308幼苗根系干质量以及NO5和NHt含量无显著 变化(P>0.05);南粳9108幼苗根系干质量显著降低 (P<0.05),NO3含量无显著变化(P>0.05),NH4含量显 著增加(P<0.05)。SAR2处理下,两个品种水稻根系 干质量、NO3和NH4含量均低于CK(P<0.05),五优308 的降幅分别为15%、24%、19%,南粳9108的降幅分别 为31%、42%、20%。单一外源Ca²⁺处理对两个品种水 稻根系生长以及根中NO3(除五优308)和NH4含量均 无显著影响(P>0.05)。Ca²⁺+SAR1处理下,两个品种 水稻幼苗根系干质量、根中NO3和NH4含量与CK均 无显著差异(P>0.05),但两个品种水稻的根干质量均 显著高于 SAR1 处理(P<0.05)。Ca²⁺+SAR2 处理下,

两个品种水稻幼苗根干质量、根中NO₃和NH₄含量均低于CK(P<0.05),但显著高于SAR2处理(P<0.05), 五优 308上述3个指标分别达到CK的93%、88%、 92%,南粳9108分别达到CK的77%、80%、88%。恢 复期,五优 308各处理组中根系生长、NO₃(除Ca²⁺+ SAR2处理)和NH₄含量均恢复至CK水平(P>0.05)。 在南粳9108中,SAR2处理和Ca²⁺+SAR2处理下根系 生长和NH₄含量仍低于CK(P<0.05),但Ca²⁺+SAR2处 理高于SAR2处理(P<0.05)。SAR2处理下南粳9108 根中NO₃含量低于CK(P<0.05),但在Ca²⁺+SAR2处理



下恢复至CK水平(P>0.05)。

2.2 外源 Ca²⁺对模拟酸雨下不同抗性水稻根系 NO₃和 NH₄吸收速率的影响

如图 2 所示, 胁迫期, SAR1 处理下, 五优 308 的 NO₃和 NH⁴吸收速率高于 CK(*P*<0.05), 南梗 9108 的 NO₃吸收速率无显著变化(*P*>0.05), NH⁴吸收速率高 于 CK(*P*<0.05)。SAR2 处理下, 两个品种水稻根系 NO₃和 NH⁴吸收速率均低于 CK(*P*<0.05), 五优 308 降 幅分别为 42%、27%, 南梗 9108 降幅分别为 45%、 33%。单一外源 Ca²⁺处理下五优 308 的 NO₃吸收速率



不同小写字母代表五优 308 各处理间差异显著(P<0.05),不同大写字母代表南梗 9108 各处理间差异显著(P<0.05)。下同 Different lowercase letters represent significant differences in Wuyou 308(P<0.05), and different capital letters represent significant differences in Nanjing 9108(P<0.05). The same below

图1 外源Ca²⁺对模拟酸雨下不同抗性水稻根干质量和根中NO3、NH1含量的影响

Figure 1 Effects of exogenous Ca²⁺ on root dry mass, NO₃ and NH⁴ contents of roots in different resistant rices to simulated acid rain stress

www.aer.org.cn





高于CK(P<0.05),NH1吸收速率无显著变化(P> 0.05):南粳9108的NO3和NHI吸收速率均无显著变化 (P>0.05)。Ca²⁺+SAR1处理下,两个品种水稻根中NO₃ 和NH4吸收速率与CK无显著差异(P>0.05),NO3吸收 速率与SAR1处理无差异(P>0.05),NHt吸收速率低 于SAR1处理(P<0.05)。Ca²⁺+SAR2处理下,两个品 种水稻的 NO₃和 NH₄吸收速率均低于 CK 水平(P< 0.05),但高于SAR2处理(P<0.05),五优308中分别为 CK的83%、87%, 南粳9108中分别为CK的82%、 80%。恢复期,五优308除在SAR2处理下NO3吸收速 率仍低于CK外(P<0.05),其余处理均恢复至CK水平 (P>0.05),NH:吸收速率在所有处理下均恢复至CK水 平(P>0.05)。南梗9108在SAR2处理下NO3和NH3吸收 速率仍低于CK水平(P<0.05),Ca²⁺+SAR2处理下NO3 吸收速率低于CK但高于SAR2处理(P<0.05),其他处理 下NO3和NHI吸收速率均恢复至CK水平(P>0.05)。

2.3 外源 Ca²⁺对模拟酸雨下不同抗性水稻根系质膜 H⁺-ATPase活性和根中ATP含量的影响

如图3所示,胁迫期,SAR1处理下两个品种水稻 根系质膜H⁺-ATPase活性高于CK(P<0.05),ATP含 量均降低(P<0.05), 五优 308 和南梗 9108 中 H⁺-

ATPase活性增幅分别为16%、20%,ATP含量降幅分 别为25%、31%。SAR2处理下,两个品种水稻H+-ATPase 活性以及 ATP 含量均低于 CK(P<0.05), 五优 308 降幅分别为 32%、31%, 南 粳 9108 降幅分别为 43%、50%。单一外源 Ca2+处理下两个品种水稻根系 H⁺-ATPase活性与CK无差异(P>0.05),根中ATP含 量低于CK(P<0.05)。Ca²⁺+SAR1处理下,两个品种水 稻H⁺-ATPase活性与CK无显著差异(P>0.05),其中在 五优308中与SAR1处理无差异(P>0.05),在南粳9108 中低于SAR1处理(P<0.05);两个品种水稻根中ATP含 量均显著低于CK(P<0.05),在五优308中高于SAR1处 理(P<0.05)。Ca²⁺+SAR2处理下,两个品种水稻H⁺-ATPase活性和ATP含量均低于CK水平(P<0.05),五优 308中分别达CK水平的82%、78%, 南粳9108中分别达 到 CK 水平的 80%、69%, 但均高于 SAR2 处理 (P< 0.05)。恢复期,五优 308 H⁺-ATPase 活性和 ATP 含量 在所有处理下均恢复至CK水平(P>0.05)。南粳9108 在SAR2处理下H⁺-ATPase活性和ATP含量仍低于CK 水平(P<0.05), Ca²⁺+SAR2处理下ATP含量仍低于CK 但高于SAR2处理(P<0.05),H⁺-ATPase活性恢复至CK 水平(P>0.05)。南梗9108在其他处理下H⁺-ATPase活



图3 外源 Ca²⁺对模拟酸雨下不同抗性水稻根系质膜 H⁺-ATPase 活性和 ATP 含量的影响



性和ATP含量均恢复至CK水平(*P*>0.05)。 2.4 外源 Ca²⁺对模拟酸雨下不同抗性水稻根系质膜 H⁺-ATPase磷酸化水平的影响

如图4所示,胁迫期,SAR1处理下,五优308根系 质膜H⁺-ATPase磷酸化水平高于CK(P<0.05),南粳 9108 H⁺-ATPase 磷酸化水平与CK 无差异(P>0.05); SAR2处理下,五优308根系质膜H+-ATPase磷酸化水 平与CK无差异(P>0.05),在南粳9108中显著低于CK (P<0.05)。单一外源 Ca²⁺处理下,五优 308的 H⁺-ATPase磷酸化水平与CK无差异(P>0.05),在南粔9108 中则显著增加(P<0.05)。Ca2++SAR1处理下,五优308 的H⁺-ATPase磷酸化水平与CK无差异,但低于SAR1 处理(P<0.05), 南梗9108 H⁺-ATPase磷酸化水平与CK 和SAR1处理均无差异(P>0.05)。Ca²⁺+SAR2处理下, 五优308中H⁺-ATPase磷酸化水平与CK和SAR2处理 均无显著差异(P>0.05), 南粳9108中H+-ATPase磷酸 化水平与CK无差异(P>0.05),但高于SAR2处理(P< 0.05)。恢复期,五优 308的H⁺-ATPase磷酸化水平在 所有处理下均恢复至CK水平(P>0.05),而南粳9108的 H⁺-ATPase磷酸化水平在SAR2处理下仍低于CK(P< 0.05).但其余处理均恢复至CK水平(P>0.05)。

3 讨论

3.1 外源 Ca²⁺对模拟酸雨下不同抗性水稻幼苗生长和 氮吸收及供能的影响

根系是植物从环境中获取养分的重要器官,其对 植株整体的生长状况有重要影响。NO3和NH提是植物 必需的无机氮, NO3的吸收需要H⁺-ATPase水解ATP 提供质子驱动力,NHt的吸收伴随着胞内pH增加,也 需要H⁺-ATPase 泵出多余的H⁺以维持细胞pH稳 定^[23].然而NHt讨量积累会引起铵毒效应^[24-25]。本研 究发现SAR1处理均刺激了两个品种水稻根系H*-ATPase活性,促进了ATP水解,增加了供能,促进了 两个品种水稻NH4的吸收和五优308的NO3吸收。该 处理下五优 308 中 NO3和 NH 含量没有显著变化,根 系生长没有受到影响,南粳9108中NH;含量显著增 加,根系生长受到抑制。NH;在南粳9108幼苗根系中 积累,需要向胞外排出H⁺以维持胞内pH稳定,导致 根系环境pH降低^[26],从而加剧了对根系生长的抑制。 此外,NH4的增加破坏了水稻根系环境中阴阳离子平 衡[23],这也不利于南粳9108根系生长。SAR1处理尽 管增加了NO₃的吸收,但并未引起根中NO₃含量的显

193²⁴⁷⁴

农业环境科学学报 第41卷第11期



H⁺–ATPase in roots plasma membranes of rice under simulated acid rain stress

著增加,这可能是NO₃向上转运,分配到叶中的量增加所致。本研究还发现SAR2处理抑制了两个品种水稻根系质膜H⁺-ATPase活性,减少了ATP含量,供能减少导致NO₃和NH₄吸收和积累减少,根系生长受到抑制,其中对南粳9108的抑制程度更大。与本研究结果一致,有研究发现在盐胁迫下,低强度盐胁迫会刺激H⁺-ATPase活性增加,促进营养元素的吸收,而高强度盐胁迫则抑制H⁺-ATPase活性,减少对氮的吸收,从而使植物生物量减少^[22]。因此推测低强度(pH 4.5)酸雨胁迫下水稻根系质膜H⁺-ATPase活性的增加可能是一种适应性反应,以此提高植物对胁迫

中文核心期刊

的耐受能力,高强度(pH 3.0)酸雨则超出了水稻的耐 受范围,引起H⁺-ATPase活性的下降。此外,铝胁迫 下,耐受性品种玉米中氮素吸收受抑制程度小于敏感 性玉米^[27],这与本研究结果发现的酸雨胁迫下品种变 化的差异类似。

研究表明外源Ca²⁺能缓解重金属、低氧以及盐胁 迫对植物NO₃吸收的抑制,从而缓解对植物生长的抑 制^[20,28-29]。本研究结果显示, Ca²⁺+SAR1处理可使两 个品种水稻根系质膜H⁺-ATPase活性稳定在CK水 平,有利于分解ATP.稳定NO3和NHL吸收,从而缓解 了根系生长受到的抑制。这与我们先前的研究结果 一致,低浓度(pH 4.5)酸雨下,外源Ca²⁺降低大豆H⁺-ATPase活性至对照水平,调节其营养吸收平衡,有效 缓解了酸雨对生长的抑制[14]。本研究结果还显示, Ca²⁺+SAR2处理对两个品种水稻根中H⁺-ATPase活性 降低和ATP含量减少有缓解作用,但缓解效果有限, 其中对五优 308 的缓解效果更好。这可能是因为 Ca²⁺+SAR2处理对NO₃和NH[‡]的吸收高于SAR2但仍 低于CK,根系生长仍受到抑制,但五优308根系生长 更接近CK水平。研究表明胞外Ca²⁺的存在能增加膜 厚度,降低细胞膜的流动性,提高H⁺-ATPase活性^[30]。 低强度(pH 4.5)酸雨不改变植物根系质膜稳定性,而 高强度(pH 3.0)酸雨降低了根系质膜稳定性[13]。外 源Ca2+可能通过调节模拟酸雨下膜稳定性调节H*-ATPase活性, 目对 SAR1和 SAR2 处理下膜稳定性的 调节和对H⁺-ATPase活性的调节效果一致。Ca²⁺与模 拟酸雨处理下,外源Ca²⁺的调控使水稻根中NH[‡]和 NO3含量更接近CK水平。这与低温胁迫下外源Ca²⁺ 缓解小麦生长和氮水平下降的结果一致[31],表明外源 Ca²⁺有利于缓解非生物胁迫对植物根系生长的抑制。 本研究还发现外源Ca²⁺对SAR1处理下两个品种水稻 的调控效果优于SAR2处理,对五优308的调控效果优 于南梗9108。ZHANG等[32]也发现外源Ca2+对盐胁迫 下耐受性苦荞的调控效果更好。对比分析外源Ca²⁺调 控作用的共性及差异性,扩大外源Ca²⁺调控作用的共 性,合理利用品种差异性筛选耐受基因并结合外源 Ca²⁺调控作用,将有利于缓解酸雨对农作物生长的抑 制,减轻酸雨造成的危害。

恢复期结果显示 SAR2 对两个品种水稻 NO₃的吸 收均造成了不可恢复性伤害,但外源 Ca²⁺减小了 SAR2 造成的不可恢复性伤害的程度,更有利于五优 308 幼苗根系 NO₃吸收和根中 NO₃含量的恢复。SAR2 处理下,由于 H⁺-ATPase 活性和 ATP含量受到了不可 逆性伤害,导致南粳9108 NO3和NH4吸收也受到不可逆的伤害。

3.2 外源 Ca²⁺对模拟酸雨下不同抗性水稻根系质膜 H⁺-ATPase磷酸化水平的影响

H⁺-ATPase活性受多种方式调控,包括转录水平 调控、翻译后修饰调控和信号分子调控。磷酸化是一 种翻译后修饰的调控方法,通过14-3-3蛋白与H*-ATPase C端自抑制结构结合从而激活 H⁺-ATPase^[33]。 研究表明胞外 H*浓度增加会引发根系质膜 H*-ATPase的磷酸化水平增加^[34],促进H⁺-ATPase活性增 加。这与本研究结果中SAR1导致水稻根系环境酸 化,两个品种水稻根系H⁺-ATPase磷酸化水平增加引 起活性增加相同。SAR2处理下两个品种水稻H⁺-ATPase活性均降低,其中南粳9108降幅更大,同时五 优308的H⁺-ATPase磷酸化水平没有显著变化,南粳 9108磷酸化水平显著降低。这表明SAR2处理下,五 优 308 中的 H⁺-ATPase 磷酸化水平可能不是 H⁺-ATPase 活性降低的主要原因。南梗 9108 中 H⁺-ATPase磷酸化水平的降低是导致其H⁺-ATPase活性 降低的原因之一。高强度酸雨会降低水稻质膜H*-ATPase 10个编码基因的转录水平,造成H⁺-ATPase 活性降低[35]。此外,质膜H+-ATPase作为一种膜结合 蛋白,需要磷脂才能发挥活性¹³⁶。笔者先前的研究发 现,高强度酸雨会导致水稻根系质膜中总磷脂含量的 降低[13],这可能也是导致H⁺-ATPase活性降低的原因 之一。南梗9108中H⁺-ATPase磷酸化水平的降低可 能是其活性降低的原因之一,同时其转录水平、细胞 膜磷脂含量可能均降低,共同引起了南梗9108中H+-ATPase 活性更大程度的降低。研究表明铝胁迫下耐 受性强的蚕豆H⁺-ATPase磷酸化水平高于敏感性蚕 豆^[37],这与本研究中高强度酸雨胁迫下耐受性水稻五 优308中H⁺-ATPase磷酸化水平高于敏感性水稻南 **粳9108的结果一致**。

本研究结果显示,Ca²⁺+SAR处理下外源Ca²⁺有利 于维持水稻根系质膜H⁺-ATPase磷酸化水平的稳定, 从而保障其活性的稳定。研究表明,Ca²⁺通过磷酸化 影响H⁺-ATPase的活性,且这种调节作用并不依赖于 钙调蛋白^[38]。腺苷5′-单磷酸抑制根系H⁺-ATPase磷 酸化后会降低植物对铝的耐受能力^[39]。而在本研究 结果中,外源Ca²⁺可维持酸雨胁迫下水稻根系H⁺-ATPase磷酸化水平稳定,这可能是外源Ca²⁺保障酸雨 胁迫下水稻H⁺-ATPase活性稳定,提高水稻耐受性的 原因之一。此外,本研究也发现酸雨胁迫下,外源 Ca²⁺能缓解酸雨引起的H⁺-ATPase 编码基因转录水平 的下降[40],同时外源Ca²⁺还能缓解酸雨引起的质膜磷 脂含量下降[13],这可能也是外源Ca2+调控H+-ATPase 活性的原因。在研究两个耐盐性差异的水稻品种时 也发现,Ca²⁺增强了耐盐性水稻根系H⁺-ATPase磷酸 化,而盐敏感性水稻磷酸化水平没有变化[41]。这与本 研究中发现外源Ca²⁺对酸雨胁迫下抗性水稻质膜H⁺-ATPase磷酸化水平调控效果更好的结果相似,这可 能是外源Ca²⁺对酸雨胁迫下抗性水稻五优308的H⁺-ATPase 活性调控效果更好的原因之一。恢复期, SAR2处理下五优 308 根系质膜 H⁺-ATPase 磷酸化水 平恢复至CK水平,但南粳9108并未恢复,这与SAR2 处理下两个品种水稻根系质膜H⁺-ATPase活性的恢 复情况一致,因此五优308根系质膜H⁺-ATPase磷酸 化水平没有遭受不可逆伤害是其活性可恢复的原因 之一。外源 Ca²⁺减小了 SAR2 处理对南 梗 9108 根系 质膜H⁺-ATPase磷酸化水平的不可逆伤害程度,从而 减少了对H⁺-ATPase活性不可逆伤害程度。

4 结论

(1) pH 4.5 模拟酸雨处理下,五优 308 和南粳 9108两个品种水稻H⁺-ATPase磷酸化水平增加,提高 了H⁺-ATPase活性,促进了ATP分解,同时也均促进 了对NHt的吸收,然而NHt仅在南粳9108的根中过量 积累从而抑制了根系生长,五优 308 根中NO₃和NHt 含量没有显著变化,根系生长正常。pH 3.0模拟酸雨 处理下,南粳9108的磷酸化水平下降导致H⁺-ATPase 活性大幅降低,ATP水解供能减少,NO₃和NHt吸收及 积累减少,根系生长减慢;而五优 308 保持了H⁺-ATPase磷酸化水平从而避免了H⁺-ATPase活性大幅 降低,且NO₃、NHt吸收和积累及生长降幅较小。

(2)外源 Ca²⁺能在模拟酸雨(pH 4.5 和 3.0)处理下 保障两个品种水稻根系质膜 H⁺-ATPase 磷酸化水平, 有利于维持 H⁺-ATPase 活性稳定,增加 ATP含量,保 障 H⁺-ATPase 功能稳定,调节 NO₃和 NH[‡]吸收和积累, 缓解根系生长抑制,降低模拟酸雨(pH 3.0)处理造成 的不可逆伤害程度。相比于南粳9108,外源 Ca²⁺对五 优 308 的各项指标调控效果更好。

参考文献:

[1] 2020年中国生态环境状况公报(摘录)[J]. 环境保护, 2021, 49(11):
47-68. China ecological environment status bulletin 2020(excerpt)
[J]. Environmental Protection, 2021, 49(11):47-68.

<u>2476</u>

农业环境科学学报 第41卷第11期

- [2] ZHANG B, BU J, LIANG C. Regulation of nitrogen and phosphorus absorption by plasma membrane H⁺-ATPase in rice roots under simulated acid rain[J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2017, 14(1):101-112.
- [3] ZHANG B J, BU J J, LIANG C J. Root morphology and growth regulated by mineral nutrient absorption in rice roots exposed to simulated acid rain[J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2016, 227:457.
- [4] LIANG C, ZHANG Y, REN X. Calcium regulates antioxidative isozyme activity for enhancing rice adaption to acid rain stress[J]. *Plant Science*, 2021, 306:110876.
- [5] MA Y, REN X, LIANG C. Exogenous Ca²⁺ enhances antioxidant defense in rice to simulated acid rain by regulating ascorbate peroxidase and glutathione reductase[J]. *Planta*, 2021, 254(2):16.
- [6] SUN J, HU H, LI Y, et al. Effects and mechanism of acid rain on plant chloroplast ATP synthase[J]. *Environmental Science and Pollution Re*search, 2016, 23(18):18296–18306.
- [7] SUN J, WANG L, ZHOU Q. Effect of acid rain on chloroplast ATP enzyme in rice at different growth stages[J]. *Journal of Safety and Environment*, 2017, 17(5):1895–1899.
- [8] BAKHSHIPOUR Z, ASADI A, HUAT B B K, et al. Effect of acid rain on geotechnical properties of residual soils[J]. Soils and Foundations, 2016, 56(6):1008-1020.
- [9] YAN B, SUN J, SHU S, et al. Effects of exogenous calcium on photosynthetic characteristics and carbohydrate metabolism in leaves of cucumber(*Cucumis sativus* L.) seedlings under NaCl stress[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2014, 37(1):31-36.
- [10] HU W, TIAN S B, DI Q, et al. Effects of exogenous calcium on mesophyll cell ultrastructure, gas exchange, and photosystem II in tobacco (*Nicotiana tabacum* Linn.) under drought stress[J]. *Photosynthetica*, 2018, 56(4):1204-1211.
- [11] LIU Y, ZHANG G, QI M, et al. Effects of calcium on photosynthesis, antioxidant system, and chloroplast ultrastructure in tomato leaves under low night temperature stress[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2015, 34(2):263–273.
- [12] 张俊文,魏建华,王宏芝,等. CBL-CIPK 信号系统在植物应答逆境 胁迫中的作用与机制[J]. 自然科学进展, 2008, 18(8):847-856. ZHANG J W, WEI J H, WANG H Z, et al. The role and mechanism of CBL-CIPK signaling system in plant response to adversity stress[J]. *Progress in Natural Science*, 2008, 18(8):847-856.
- [13] 马永佳,梁婵娟. 外源钙对模拟酸雨胁迫下水稻质膜组分和钙形态的调节[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(6):1159-1166. MA Y J, LIANG C J. Regulation of exogenous calcium on plasma membrane compositions and calcium forms of rice roots under simulated acid rain stress[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2021, 40 (6):1159-1166.
- [14] LI Y, LIANG C. Exogenous application of Ca²⁺ mitigates simulated acid rain stress on soybean productivity and quality by maintaining nutrient absorption[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26(5):4975-4986.
- [15] 王新磊, 吕新芳. 氮代谢参与植物逆境抵抗的作用机理研究进展 [J]. 广西植物, 2020, 40(4):583-591. WANG X L, LÜ X F. Re-

search progress on mechanism of nitrogen metabolism involved in plant stress resistance[J]. *Guihaia*, 2020, 40(4):583-591.

- [16] 郭莉莉, 陈平平, 唐琨, 等. 晚稻品种种子萌发期耐酸性比较研究 [J]. 中国农学通报, 2015, 31(6):15-20. GUO L L, CHEN P P, TANG K, et al. Comparison on acid-tolerance of late rice varieties at seed germination stage[J]. *Chinese Agriculture Science Bulletin*, 2015, 31(6):15-20.
- [17] 张冰洁. 钙对酸雨胁迫下不同生育期大豆质膜质子泵活性与功能的调节机制[D]. 无锡:江南大学, 2017. ZHANG B J. Regulation of calcium on activity and function of plasma membrane pump of soybean at different growth stages under acid rain[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017.
- [18] ZHONG C, CAO X, HU J, et al. Nitrogen metabolism in adaptation of photosynthesis to water stress in rice grown under different nitrogen levels[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8:1079.
- [19] SANTONI S, BONIFACIO E, ZANINI E. Indophenol blue colorimetric method for measuring cation exchange capacity in sandy soils[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2001, 32(15/16): 2519–2530.
- [20] GAO H, JIA Y, GUO S, et al. Exogenous calcium affects nitrogen metabolism in root-zone hypoxia-stressed muskmelon roots and enhances short-term hypoxia tolerance[J]. Journal of Plant Physiology, 2011, 168(11):1217-1225.
- [21] LIANG C, MA Y, LI L. Comparison of plasma membrane H⁺-ATPase response to acid rain stress between rice and soybean[J]. *Environmen*tal Science and Pollution Research, 2020, 27(6):6389-6400.
- [22] GHASSEMI-GOLEZANI K, ABDOLI S. Improving ATPase and PPase activities, nutrient uptake and growth of salt stressed ajowan plants by salicylic acid and iron-oxide nanoparticles[J]. *Plant Cell Reports*, 2021, 40(3):559-573.
- [23] FENG H, FAN X, MILLER A J, et al. Plant nitrogen uptake and assimilation: Regulation of cellular pH homeostasis[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020, 71(15):4380–4392.
- [24] GUO J S, ZHOU Q, LI X J, et al. Enhancing NO₃ supply confers NaCl tolerance by adjusting Cl⁻ uptake and transport in *G. max & G. soja*[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2017, 17(1):194–204.
- [25] JIAN S, LUO J, LIAO Q, et al. NRT1.1 regulates nitrate allocation and cadmium tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10:384.
- [26] IMLER C S, ARZOLA C I, NUNEZ G H. Ammonium uptake is the main driver of rhizosphere pH in southern highbush blueberry[J]. *Hortscience*, 2019, 54(5):955-959.
- [27] PAN X Y, DONG G, HE X, et al. Effects of Al stress on the growth and nitrogen uptake of maize varieties with different Al tolerance as related with Al chemical forms on root surfaces[J]. *Journal of Soils* and Sediments, 2020, 20(11):3963–3973.
- [28] VERMA N, PANDEY A, TIWARI S, et al. Calcium mediated nitric oxide responses: Acquisition of nickel stress tolerance in cyanobacterium Nostoc muscorum ATCC 27893[J]. Biochemistry and Biophysics Reports, 2021, 26:100953.
- [29] HAWKINS H J, LEWIS O A M. Effect of NaCl salinity, nitrogen form,

calcium and potassium concentration on nitrogen uptake and kinetics in *Triticum aestivum* L. cv. Gamtoos[J]. *New Phytologist*, 1993, 124 (1):171-177.

- [30] QIU Q S, SU X F. The influence of extracellular-side Ca²⁺ on the activity of the plasma membrane H⁺-ATPase from wheat roots[J]. Australian Journal of Plant Physiology, 1998, 25(8):923-928.
- [31] WANG Z, MA Z, WANG C, et al. Exogenous Ca²⁺ alleviates nitrogen and water deficit, and improves growth of wheat (*Triticum aestivum*) seedlings exposed to high temperature[J]. *Plant Growth Regulation*, 2010, 61(3):223-229.
- [32] ZHANG T, YANG H. Physiological and biochemical mechanisms of exogenous calcium chloride on alleviating salt stress in two tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) varieties differing in salinity tolerance[J]. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 2022, 91(8):1643-1658.
- [33] JAHN T, FUGLSANG A T, OLSSON A, et al. The 14-3-3 protein interacts directly with the C-terminal region of the plant plasma membrane H⁺-ATPase[J]. *Plant Cell*, 1997, 9(10):1805-1814.
- [34] AFZAL M R, ZHANG M, JIN H, et al. Post-translational regulation of plasma membrane H*-ATPase is involved in the release of biological nitrification inhibitors from sorghum roots[J]. *Plant and Soil*, 2020, 450(1/2):357-372.
- [35] LIANG C J, GE Y Q, SU L, et al. Response of plasma membrane H⁺-ATPase in rice(Oryza sativa) seedlings to simulated acid rain[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, 22(1):535–545.

- [36] KASAMO K. Regulation of plasma membrane H⁺-ATPase activity by the membrane environment[J]. *Journal of Plant Research*, 2003, 116 (6):517-523.
- [37] CHEN Q, GUO C L, WANG P, et al. Up-regulation and interaction of the plasma membrane H*- ATPase and the 14-3-3 protein are involved in the regulation of citrate exudation from the broad bean (*Vicia faba* L.) under Al stress[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, 70:504-511.
- [38] HUCHENG Z, TING Z, JIA W, et al. Effect of Ca²⁺ on H⁺-ATPase activity of plasma membrane in wheat root[J]. Colloids and Surfaces B-Biointerfaces, 2003, 28(2/3):147-152.
- [39] MIN Y, GUO C L, ZHAO X L, et al. Adenosine 5' monophosphate decreases citrate exudation and aluminium resistance in Tamba black soybean by inhibiting the interaction between 14-3-3 proteins and plasma membrane H*-ATPase[J]. Plant Growth Regulation, 2018, 84 (2):285-292.
- [40] LIANG C, ZHANG B. Effect of exogenous calcium on growth, nutrients uptake and plasma membrane H⁺-ATPase and Ca²⁺-ATPase activities in soybean (*Glycine max*) seedlings under simulated acid rain stress[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 165: 261-269.
- [41] GUPTA A, SHAW B P. Augmenting salt tolerance in rice by regulating uptake and tissue specific accumulation of Na*- through Ca²⁺-induced alteration of biochemical events[J]. *Plant Biology*, 2021, 23: 122-130.

(责任编辑:李丹)