

适度干湿交替促进水稻根表红棕色铁膜形成的根层诱导机制

傅友强^{1,2}, 沈宏^{2,*}, 杨旭健²

¹广东省农业科学院水稻研究所, 广州510640; ²华南农业大学资源环境学院, 广州510642

摘要: 干湿交替(AWD)是水稻(*Oryza sativa*)种植过程中常用的水分管理措施, 该措施有利于提高根系氧化力, 并促进大量根表红棕色铁膜的形成。然而, AWD诱导根表红棕色铁膜形成的根层机制并不清楚。本文利用简易AWD装置, 采用砂-液联合培养, 研究了AWD诱导水稻根表红棕色铁膜形成的机制。AWD强度试验表明, 落干和淹水均为12 h时, 水稻根系活力和根表铁膜形成量最高。在此基础上, 随着AWD次数的增加, 根表铁膜含量逐渐增加。根系灭活试验表明, 水稻活根的根系活力为805.0~958.5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$, 根表铁膜含量为15.1~18.0 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}(\text{DW})$, 而灭活根系没有根系活力, 也无根表红棕色铁膜形成。 H_2O_2 促进剂氨基三唑(AT)和清除剂二甲基硫脲(DMTU)试验表明, 与对照相比, AT处理的水稻根系 H_2O_2 含量、根系活力和根表铁膜含量分别增加了31.8%、20.1%和26.7%, 而DMTU处理的水稻根系 H_2O_2 含量、根系活力和根表铁膜含量分别降低了27.2%、19.8%和18.4%。AWD 3次和5次处理与AWD 0次相比, 水稻根系 H_2O_2 含量分别增加了29.1%和35.6%, 根系活力分别增加了11.8%和16.8%。根层试验表明, 在0~48 h的根表铁膜诱导过程中, AWD 5次处理与AWD 0次相比, 水稻根际氧化还原电位(E_h)最大增加了9.3%, 根际溶液中 Fe^{2+} 浓度最大降低了49.6%; 相应地, 以 Fe^{3+} 形态在根表沉积的铁膜最大增加了110.1%。上述结果表明, AWD通过诱导根系 H_2O_2 的累积, 提高根系活力和根际 E_h , 促进根际 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} , 从而在水稻根表形成红棕色铁膜。

关键词: 干湿交替; 根层; 过氧化氢; 红棕色铁膜; 水稻

干湿交替(alternate wetting and drying, AWD)灌溉在水稻(*Oryza sativa*)生产过程中扮演着重要作用, 如调节水稻根际土壤水分和氧气的平衡(张静等2014), 提高土壤的氧化还原电位(Xiao等2015); 改变营养元素的形态及其生物有效性(Norton等2017; Fageria等2011); 改善微生物的群落结构(包丽君和贾仲君2017); 加速水稻土有机碳的有氧矿化(Wang等2017; 张梦瑶等2017; Harrison-Kirk等2013); 减少稻田温室气体如 CH_4 和 N_2O 的排放, 降低全球变暖潜力值45%~90% (Linguist等2015); 提高水分利用率20%~60% (Carrizo等2017; Xiao等2015)。此外, 大量研究表明, AWD灌溉能提高水稻根系活力、生长速率、有效分蘖数、细胞分裂数、光合速率、关键酶的活性和水稻籽粒的灌浆速率(王婷婷等2017; Xue等2013; 蔡永萍等2000), 增加茎秆壁的厚度, 提高水稻抗倒伏能力(郭相等2013), 从而增加稻谷产量。因此, AWD灌溉已成为水稻生产过程中常见的管理模式(Liang等2016)。

根表红棕色铁膜是水生植物适应逆境胁迫的一道天然屏障(傅友强等2010)。前人研究表明, 根表红棕色铁膜能够通过吸附和共沉淀等作用固定重金属如Cd、Pb和As, 减少其向地上部运输(Liu等2015; Du等2013; Wang等2013)。此外, 根表铁膜具有吸附营养元素如Ca、Cu、Zn、P的功能, 增加其对营养元素的吸收和利用(Jiang等2009)。因此,

根表铁膜形成机制的研究对阻隔重金属毒害及促进营养元素吸收具有重要意义。在稻田AWD灌溉过程中, 水稻根表易形成红棕色铁膜已是普遍存在的现象(于晓莉等2016)。然而, AWD灌溉如何诱导水稻根表红棕色铁膜形成, 其根层诱导的理论机理尚不清楚。

众所周知, 根表铁膜的形成是由较强的氧化力和根际较多的 Fe^{2+} 浓度共同作用的结果。根际环境中的 Fe^{2+} 主要跟稻田氧化还原电位(Liu等2013)或微生物(Guo和Cutright 2015; 张天娇等2014)的活动有关, 而根系氧化力是植物自身生理生化过程强弱的一种体现。AWD既能影响根际 Fe^{2+} 浓度, 又能影响根系氧化力。为了将问题简化并分离其影响因素, 本文利用砂-液联合培养装置(即简易AWD装置)进行AWD处理, 培养出不同根系氧化力的水稻幼苗, 然后将其转移到浓度一致的低磷高铁营养液(能够快速诱导形成红棕色铁膜)中, 探索水稻根系及根际在根表红棕色铁膜形成过程中的生理生化变化情况。该研究从理论上为AWD灌溉处理诱导水稻根表红棕色铁膜形成的机理提供科学依据。

收稿 2017-06-13 修定 2017-10-16

资助 国家自然科学基金(31372125)和广东省科技计划项目(2014J4100240)。

* 通讯作者(E-mail: hshen@scau.edu.cn)。

材料与amp;方法

1 植株培养

供试材料为对AWD响应敏感的水稻(*Oryza sativa* L.)品种‘华航丝苗’。水稻种子通过浮选法去除饱满的稻粒,然后于恒温培养箱中30°C下催芽,3 d后转移到1/2剂量的完全营养液(配方如下段)中。培养4 d后,水稻幼苗用海绵固定基部,移植于1倍剂量完全营养液的10 L塑料箱中,每个塑料箱移植48株。三叶一心时,转移于装有3 kg石英砂的AWD装置中(图1)。每个AWD装置栽种4株水稻苗,用完全营养液进行培养,淹水状态时始终保持水面在石英砂表面以上2~3 cm的位置。7 d换一次营养液。上述所有溶液pH都用盐酸或氢氧化钠调到5.5。

完全营养液配方是在Yoshida等(1976)的基础上稍做修改,具体为: 0.429 mmol·L⁻¹ NH₄NO₃、1 mmol·L⁻¹ Ca(NO₃)₂、1.667 mmol·L⁻¹ MgSO₄、1 mmol·L⁻¹ KH₂PO₄、0.513 mmol·L⁻¹ K₂SO₄、50 μmol·L⁻¹ Fe(III)-EDTA、9.1 μmol·L⁻¹ MnSO₄、0.15 μmol·L⁻¹ ZnSO₄、0.16 μmol·L⁻¹ CuSO₄、0.52 μmol·L⁻¹ (NH₄)₄MoO₄、19 μmol·L⁻¹ H₃BO₃。

AWD装置是由大小两个塑料盆和一个塑料垫组成,石英砂装在小盆中。落干处理时,塑料垫放入大盆内,将小盆垫高,使小盆底部脱离液面,小盆石英砂中的营养液就会从底部圆孔流入大盆,并贮存于大盆中,实现了水稻落干过程。淹水处理时,将塑料垫从大盆中拿出,使小盆浸入装有营养液的大盆中,实现淹水过程。如此往复1次,称为1个AWD周期。该装置的优点是:(1)能够人为实

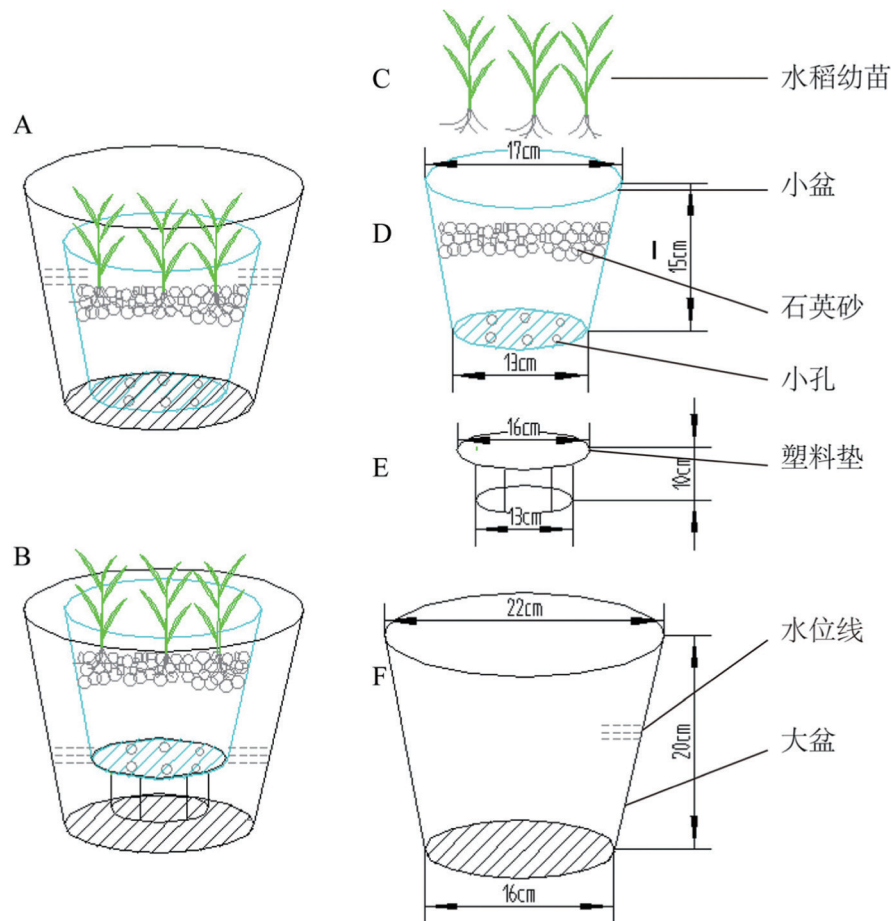


图1 AWD装置

Fig.1 AWD device

A: 淹水状态; B: 落干状态; C: 水稻幼苗; D: 带有6个小孔的小盆,内装有3种不同规格的石英砂,分别为>2 mm、1~2 mm和<1 mm,按质量比1:2:2掺混,移栽前分别用稀盐酸浸泡1周,后用自来水反复清洗到pH 5.5; E: 塑料垫,用于落干处理时挺起小盆D,使得小盆中的水流到大盆F中; F: 无孔的大盆。

现定时定量AWD过程; (2)营养液养分不会损失; (3)方法简单、可操作性强。

2 试验设计

为了更准确地探讨AWD对水稻根表红棕色铁膜形成的根层诱导机制, 本文将AWD处理与红棕色铁膜形成过程分开, 即水稻幼苗在盛有完全营养液的AWD装置中连续淹水培养, 2周后按试验要求进行AWD处理。处理完后, 将水稻幼苗从装置中取出, 用去离子水清洗2次, 随后转入盛有磷铁比为1:6的水稻营养液的定植杯(0.5 L)中; 磷铁比(磷酸根与亚铁离子物质的量浓度比值)为1:6的营养液是在1/2剂量的完全营养液基础上完成的: 将 KH_2PO_4 浓度改成 $0.05 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 K_2SO_4 浓度改为 $0.357 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 补充 $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ FeSO}_4$, 使得磷铁比为1/6, 其他组分不变(傅友强等2014)。培养2 d, 研究AWD处理后的水稻根系及根际生理生化等指标。共设置4个试验。

试验一: 为了明确AWD对水稻根表铁膜的影响, 设置了AWD强度和次数试验。AWD强度试验: 以小时作为AWD的时间单位, 共处理1 d。用 n 和 m 分别表示落干和淹水的时间, 即 $\text{AWD}=n/m$, 表示在24 h时间内, n (h)落干, m (h)淹水。设置5个处理, 0/24: 表示落干0 h, 淹水24 h; 6/18: 落干6 h, 淹水18 h; 12/12: 落干12 h, 淹水12 h; 18/6: 落干18 h, 淹水6 h; 24/0: 落干24 h, 淹水0 h。处理完后测定根系活力并进行磷铁比处理。AWD次数试验: 以上述最适AWD强度即落干12 h和淹水12 h作为一个AWD周期, 设置了3个处理: AWD0: 干湿交替处理0次循环(对照); AWD3: 干湿交替处理3次循环; AWD5: 干湿交替处理5次循环。处理完后进行根系活力、氧化性物质的测定, 同时进行磷铁比处理, 测定根表铁膜含量。

试验二: 为了探讨根际氧化还原电位、pH值、 Fe^{2+} 浓度、根表 Fe^{3+} 是否响应了根表铁膜的形成过程, 水稻幼苗在磷铁比处理后0、6、12、18、24、48 h进行取样分析, 测定上述指标。

试验三: 为了探讨铁膜形成是否为生物介导过程, 设置了离体灭活试验。首先, 将水稻幼苗在AWD装置中进行AWD0和AWD5处理。然后, 将各水稻幼苗地上部去除, 只留下根系, 即为AWD0和AWD5处理。将AWD5处理好的一部分根系放入

沸水中煮5~10 min, 使根系灭活(inactivation, i), 即AWD5(i)处理。最后将AWD0、AWD5和AWD5(i)这三个处理的离体根系进行根系活力的测定和磷铁比处理。

试验四: 抑制剂试验。为了弄清楚 H_2O_2 是否诱导水稻根表铁膜的形成, 设置了2个抑制剂试验。抑制剂试验1: 为了探讨 H_2O_2 是否参与根表铁膜形成过程, 设置了如下3个处理。AWD: 对照处理; AWD+DMTU: 外源添加 $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 二甲基硫脲(dimethylthiourea, DMTU; H_2O_2 清除剂)处理; AWD+AT: 外源添加 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氨基三唑[aminotriazole, AT; 过氧化氢酶(catalase, CAT)抑制剂, 显著增加 H_2O_2 的累积]处理。处理后测定CAT活性、 H_2O_2 含量; 同时进行磷铁比处理, 测定根表铁膜含量。抑制剂试验2: 为了进一步验证 H_2O_2 是否调节根表铁膜的形成, 设置了如下处理。首先将AWD处理后的一部分水稻幼苗进行 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ AT预处理6 h。接着, AT预处理好的水稻幼苗分为3组进行如下处理, 即第一组为对照处理, 第二组为外源添加 $100 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ CAT处理, 第三组为外源添加 $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ DMTU处理。最后, 与未预处理的水稻幼苗同时进行磷铁比处理, 测定根表铁膜含量。

3 试验方法

3.1 根表铁膜的测定

水稻根表铁膜含量采用保险粉-柠檬酸三钠-碳酸氢钠(sodium dithionite-trisodium citrate-sodium bicarbonate, DCB)法稍加修改进行提取(Taylor等1983), 即水稻根系用去离子水冲洗干净, 放入150 mL的三角瓶中, 加入 $0.03 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 40 mL $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ 、 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 5 mL NaHCO_3 及1 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, 25°C 下于 $150 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的摇床上振荡3 h, 随后溶液转移至100 mL容量瓶中定容。DCB浸提液中的铁用原子吸收分光光度计(日立Z-5300, 日本)测定。根表铁膜含量(厚度)采用 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (DW)表示。

3.2 根系活力的测定

定性观察: 处理好的水稻根系用去离子水冲洗3次, 然后浸入到 $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ α -萘胺溶液中, 黑暗静置24 h, 随后拍照观察。根系活力的定量测定根据Ramasamy等(1997)的方法, 利用1 g干根系振荡1 h所得的 α -萘胺氧化量来表示根系活力, 单位为 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW) $\cdot\text{h}^{-1}$ 。

3.3 CAT活性的测定

取约0.2 g的根系进行粗酶液的提取(Amako等1994), 用2 mL 50 mmol·L⁻¹预冷的磷酸缓冲液(pH 7.8), 内含2%聚乙烯吡咯烷酮(polyvinyl pyrrolidone, PVPP)、1 mmol·L⁻¹乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)、1 mmol·L⁻¹抗坏血酸和5 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 于4°C下12 000×g离心20 min。可溶性蛋白的测定采用Bradford (1976)的方法。CAT活性测定为采用紫外分光光度计测定240 nm处H₂O₂的下降速率, 具体参照Kato和Shimizu (1987)的方法。

3.4 根系H₂O₂含量的测定

H₂O₂的定量采用四氯化钛(TiCl₄)法(Tsai等2004), 于412 nm波长下比色测定。

3.5 H₂O₂荧光染色

剪取水稻根系(60~70 mm)转入到含有50 μmol·L⁻¹二氯荧光素二乙酸酯(dichlorodihydrofluorescein diacetate, H₂DCFDA; H₂O₂荧光探针)的2-吗啉乙磺酸[2-(4-morpholino) ethanesulfonic acid, MES]-KCl溶液(10 mmol·L⁻¹ MES、50 mmol·L⁻¹ KCl、100 mmol·L⁻¹ CaCl₂, pH 6.15)中, 25°C避光培养15 min。用荧光显微镜拍照。

3.6 Fe³⁺染色方法

选取有代表性的水稻新生根(约100~130 mm), 将水稻根系浸入现配的等量4% (V/V) HCl和4% (m/V)亚铁氰化钾混合染色液中, 抽真空15 min。根系染液用水冲洗, 直接拍照。根系横切面Fe³⁺染色, 用刀片对上述染色好的根系(切距根基部10~25 mm的根段)进行徒手切片, 在荧光显微镜下观察, 拍照(Yokosho等2009)。

3.7 氧化还原电位、pH值和Fe²⁺的测定

用氧化还原电位仪测定根际氧化还原电位(oxidation reduction potential, E_h), 用pH计测定溶液中的酸碱度。溶液中的Fe²⁺采用乙二胺四乙酸-二磺酸二苯基邻菲罗啉二钠(ethylenediamine tetra-acetic acid disodium-bathophenanthroline disulfonate, EDTA-BPDS)混合络合剂显色法进行测定(傅友强等2011; Montás-Ramírez等2003)。

4 统计分析

本试验所有数据使用SPSS 13.0软件, 采用Tukey ($P<0.05$)法进行单重比较, 根据所得数据平

均值和标准误, 用OriginPro 9.0软件作图, 并用不同字母表示不同处理间差异显著水平。

实验结果

1 不同AWD强度处理的根系活力和根表铁膜含量

AWD强度影响根系活力和根表铁膜含量(图2)。根系 α -萘胺染色越深, 表明根系活力越强。从 α -萘胺染色程度可知(图2-A), 随着AWD强度的增加, 水稻 α -萘胺染色程度呈先增加后降低的趋势。其中, AWD强度为12/12时, 水稻根系 α -萘胺染色最深, 表明根系活力最强。根系活力的定量结果与 α -萘胺染色结果相一致(图2-C)。将不同AWD强度处理的水稻幼苗放入相同的低磷铁比溶液中, 让其快速形成根表红棕色铁膜, 结果发现, 活力强的水稻根系, 其根表红棕色铁膜也多(图2-B)。DCB浸提法测定的根表铁膜含量与根系活力的趋势相一致(图2-D), 表明了根表铁膜的形成与根系活力有关。在本试验条件下, 确定了12/12 (12 h落干和12 h淹水)为水稻根系活力最强和根表铁膜含量最多的AWD处理强度(即适度AWD), 该试验为后续研究奠定了工作基础。

2 不同AWD次数处理的根表铁膜含量

以最适AWD强度(12/12)为基础, 开展了不同AWD次数对根表铁膜含量的研究。从图3-A可知, 随着AWD次数的增加, 根表红棕色铁膜明显增加, 单条水稻根系基部及根尖红棕色铁膜覆盖程度也获得上述研究结果(图3-C~H)。同时, 根表铁膜的定量结果表明, AWD 3次和5次处理与对照处理(AWD 0次处理)相比, 水稻根表铁膜含量分别增加了16.8%和51.0% (图3-B)。

3 AWD条件下正常和灭活根系活力和根表铁膜含量

为了进一步确定根系活力是根表铁膜形成的主要原因, 本研究进行了灭活根系的试验。从图4可知, AWD 5次处理明显增强了根系对 α -萘胺的氧化, 根表红棕色铁膜的颜色加深(图4-A、B、D、E); 将根系灭活后, 观察不到 α -萘胺的染色(图4-C), 也观察不到根表覆盖的红棕色铁膜(图4-F), 表明根表铁膜的形成是生物介导过程。根系活力和根表铁膜的定量结果表明, 活的根系其活力为805.0~958.5 μg·g⁻¹ (DW)·h⁻¹, 根表铁膜浓度为15.1~18.0 g·kg⁻¹

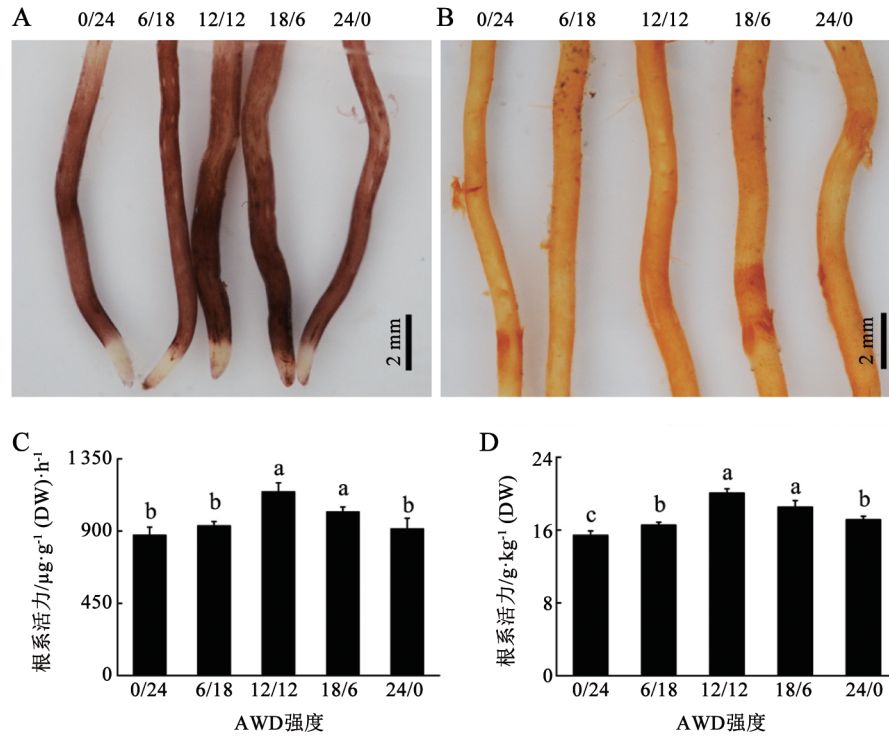


图2 不同AWD强度对根系活力和根表铁膜浓度的影响

Fig.2 Effect of AWD intensity on root activity and iron plaque concentration on root surface of rice seedlings

A: 根系活力定性染色; B: 根系基部铁膜图; C: 根系活力; D: 根表铁膜浓度。图中0/24、6/18、12/12、18/6、24/0分别表示不同的AWD强度(n/m)处理, 其中n为干旱时间(h), m为淹水时间(h)。同一图中各柱形上用不同小写字母标识表示处理间差异显著($P<0.05$), 图3~7同。

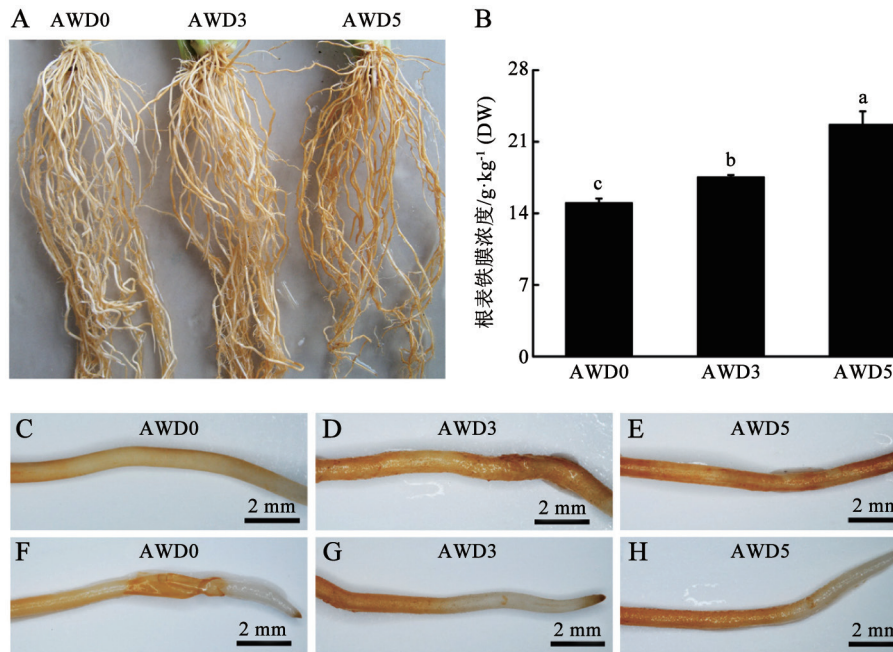


图3 不同AWD次数对根表铁膜浓度的影响

Fig.3 Effects of AWD times on iron plaque concentration on root surface of rice seedlings

A: 根表铁膜; B: 根表铁膜浓度; C~E: 分别为各处理根系基部铁膜; F~H: 分别为各处理根尖铁膜。

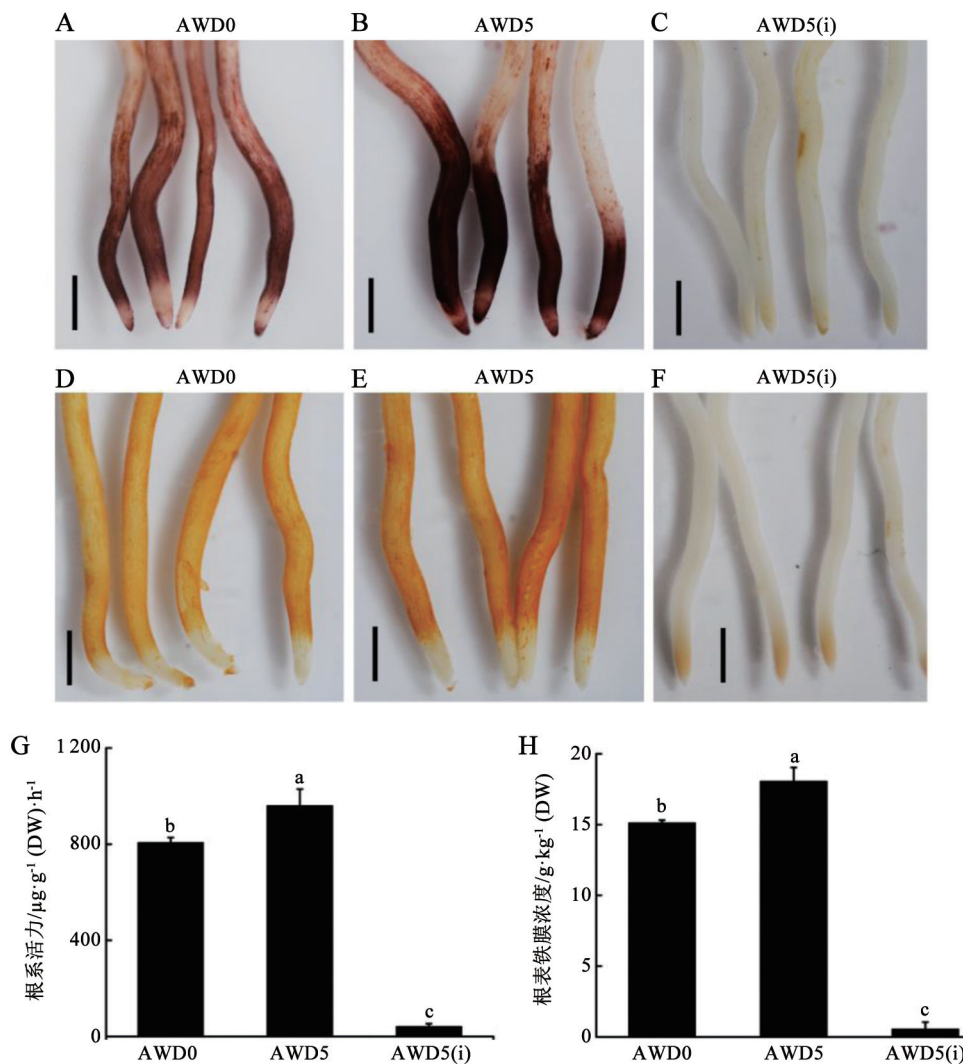


图4 正常根系与灭活根系活力与根表铁膜浓度

Fig.4 Activities of normal and inactivated roots and iron plaque concentrations on root surfaces of rice seedlings

A~C: 根系活力的定性染色; D~F: 根系铁膜; G: 根系活力; H: 根表铁膜浓度。图中标尺都为2 mm。

(DW); 而死根没有根系活力和根表红棕色铁膜浓度(图4-G和H)。

4 抑制剂处理对根系CAT活性、 H_2O_2 含量、根系活力和根表铁膜浓度的影响

为了探讨根系内 H_2O_2 是否影响根表铁膜的形成, 我们开展了 H_2O_2 促进剂AT (CAT抑制剂, 增加 H_2O_2 含量)和 H_2O_2 清除剂DMTU (清除 H_2O_2)试验, 结果发现(图5), AT处理显著降低根系内CAT活性, 提高 H_2O_2 含量。AT处理与对照相比, 根系内CAT活性显著下降了94.8%, 根系内 H_2O_2 含量、根系活力和根表铁膜浓度分别增加了31.8%、22.8%和26.7%。DMTU处理与对照处理相比, 根系内的 H_2O_2 含量、

根系活力和根表铁膜浓度分别降低了27.2%、19.8%和18.4%。同时我们发现, DMTU处理的CAT活性也相应下降, 可能与 H_2O_2 含量减少有关。

5 不同 H_2O_2 清除剂对根表铁膜的影响

为了进一步验证根系内源 H_2O_2 是否影响根表铁膜的形成, 首先, 对水稻进行AT预处理6 h, 以提高根系内的 H_2O_2 含量。然后, 进行CAT (H_2O_2 分解酶)和DMTU (H_2O_2 清除剂)两种 H_2O_2 清除剂处理, 观察和测定根表铁膜浓度。从图5可知, AT处理能增加 H_2O_2 积累, DMTU处理能清除 H_2O_2 , CAT是 H_2O_2 的分解酶。本试验结果表明, 单独AT预处理确实提高根表铁膜含量, 而AT预处理后, 加入CAT

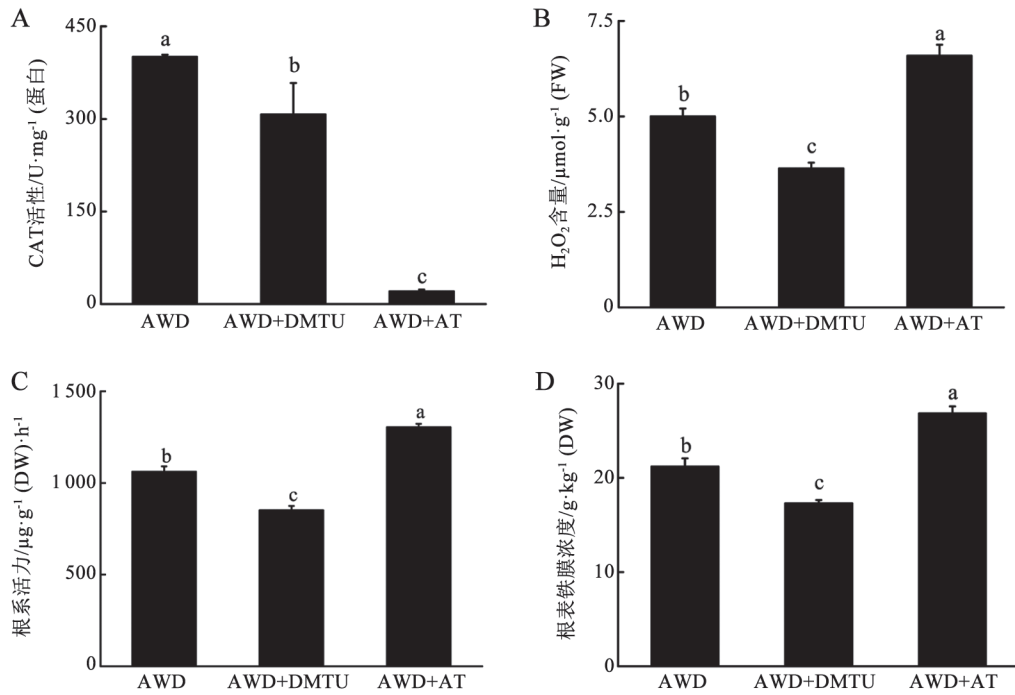


图5 DMTU与AT处理对水稻根系CAT活性、H₂O₂含量、根系活力和根表铁膜浓度的影响

Fig.5 Effects of DMTU and AT treatments on CAT activity, H₂O₂ content, root activity and iron plaque concentration on root surface of rice seedlings

A: 根系内源CAT活性; B: 根系H₂O₂含量; C: 根系活力; D: 根表铁膜浓度。图中AWD为干湿交替处理, AWD+DMTU为AWD处理后的水稻幼苗进行5 mmol·L⁻¹ DMTU处理, AWD+AT为AWD处理后的水稻幼苗进行1 mmol·L⁻¹ AT处理。

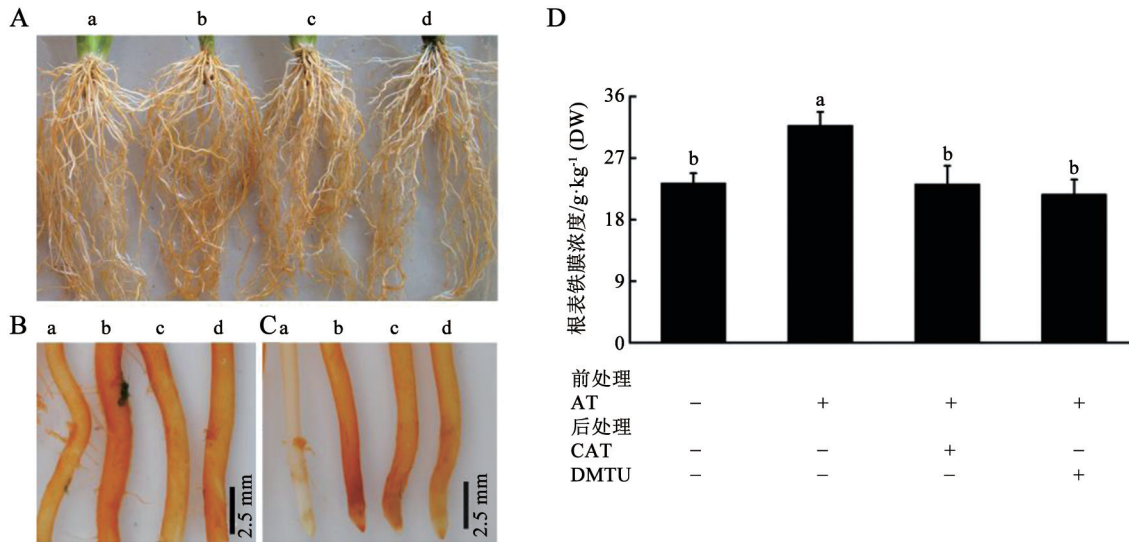


图6 不同H₂O₂清除剂对根表铁膜形成的影响

Fig.6 Effect of different scavengers of H₂O₂ on formation of iron plaque on root surface

A: 不同处理下根表铁膜; B: 不同处理下根基部铁膜; C: 不同处理下根尖铁膜; D: 根表铁膜浓度。图中a表示对照, b表示只进行1 mmol·L⁻¹ AT预处理6 h, c表示进行1 mmol·L⁻¹ AT预处理6 h后再进行外源100 U·mL⁻¹ CAT处理, d表示进行1 mmol·L⁻¹ AT预处理6 h后再进行外源5 mmol·L⁻¹ DMTU处理。D下方的+表示添加抑制剂处理, -表示不添加抑制剂处理。

和DMTU处理都能明显降低根表铁膜含量(图6)。这些研究结果进一步证明根系 H_2O_2 是影响根表红棕色铁膜形成的重要因子。

6 不同AWD次数对水稻根系活力和 H_2O_2 累积的影响

在前期的研究工作中,笔者发现根系内 H_2O_2 累积是根系氧化力提升的重要原因(傅友强等2013)。Siddiqui等(2015)研究发现,干旱胁迫能够诱导大量的 H_2O_2 在根系累积,推测最适宜的AWD强度(12/12)处理可能会产生 H_2O_2 。H2DCFDA是 H_2O_2 的一种荧光染料,能够指示 H_2O_2 在组织中的分布。因此,我们进行了组织化学染色定位试验,结果发现,AWD0和AWD5处理下水稻根系表面都能够检测到点状或条状的 H_2O_2 荧光,AWD5处理水稻根系具有较多的 H_2O_2 荧光(图7-A和B)。该现象可能与 H_2O_2 是小分子物质,能够通过水孔蛋白向外分泌,或参与细胞壁合成等有关。其次,我们也对根系内 H_2O_2 含量和根系活力进行了研究。从图7-C和D可知,随着AWD次数的增加,根系内 H_2O_2 含量和根系活力逐渐增加(图7)。AWD处理3次和5次

与对照处理相比,水稻根系内 H_2O_2 含量分别增加29.1%和35.6%(图7-C),根系活力分别增加11.8%和16.8%(图7-D)。

7 铁膜形成过程中 E_h 、pH、 Fe^{2+} 浓度、根表 Fe^{3+} 沉淀和铁膜的变化

为了探讨水稻根系是如何将 Fe^{2+} 氧化形成根表红棕色铁膜,我们开展了根层 E_h 、pH、 Fe^{2+} 浓度、根表 Fe^{3+} 和根表铁膜的动态变化研究,结果发现(图8),随着处理时间的延长,AWD0和AWD5处理都能降低溶液中的pH(从5.53下降到3.43)、提升溶液中 E_h (从314.2 mV上升到529.5 mV),降低溶液中 Fe^{2+} 浓度(从 $310.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 下降到 $31.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),促进根表 Fe^{3+} 的沉淀,从而促进根表红棕色铁膜的形成。在处理0~48 h内,AWD5处理与AWD0相比,根层pH最大下降了13.5%, E_h 最大增加了9.3%, Fe^{2+} 浓度最大降低了49.6%,相应增加了根表 Fe^{3+} 的沉淀,根表铁膜含量最大增加了110.1%。

8 H_2O_2 、根系活力、 Fe^{3+} 及根表铁膜的组织细胞定位

为进一步明确 H_2O_2 、根系活力、 Fe^{3+} 及根表

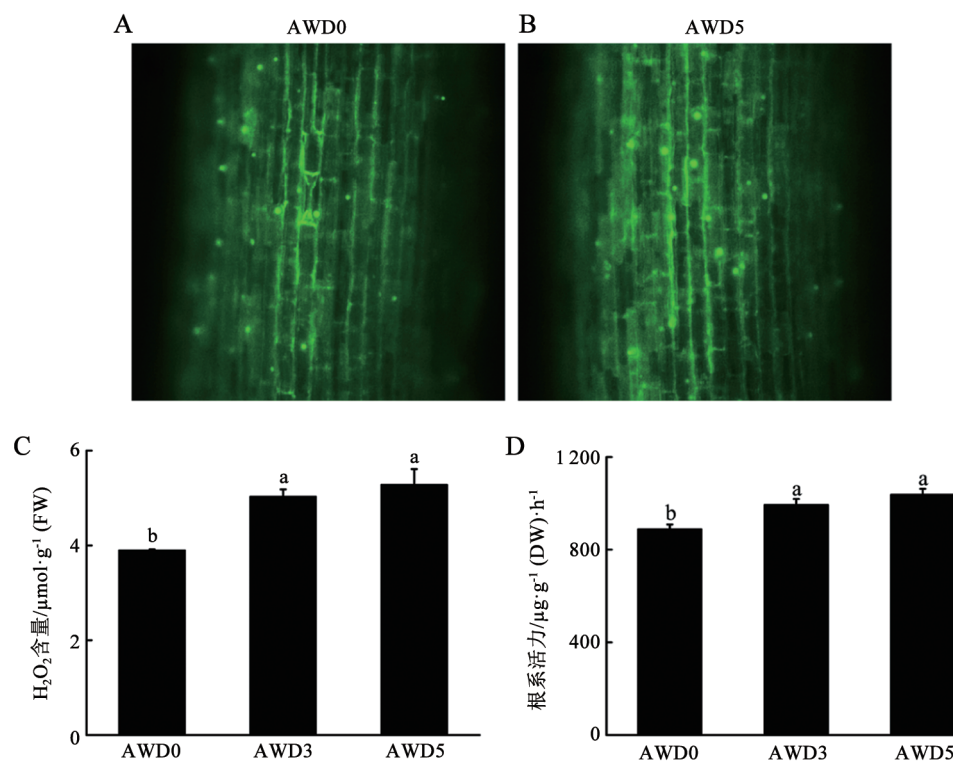
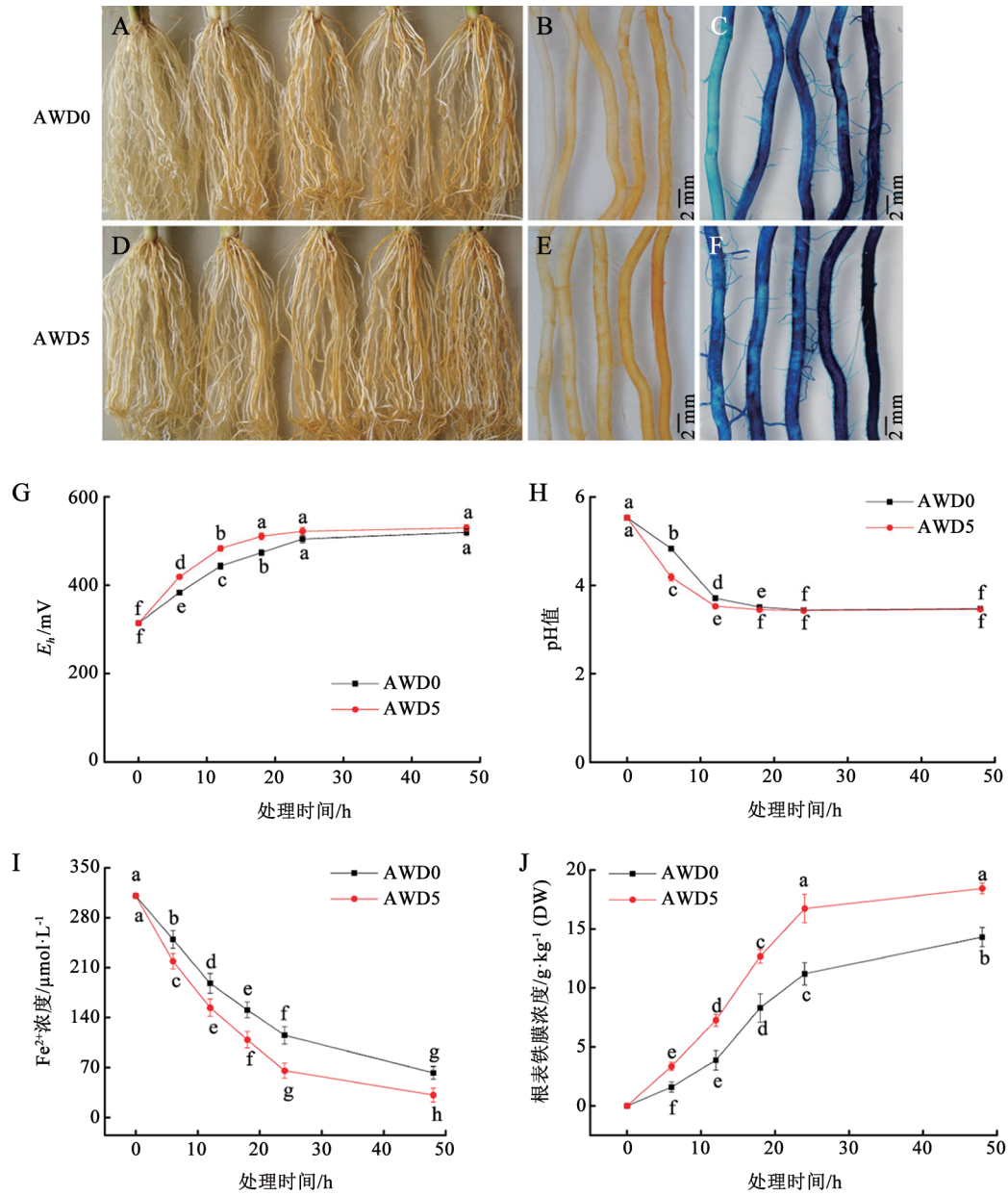


图7 不同AWD次数对水稻根系活力和 H_2O_2 含量的影响

Fig.7 Effects of AWD times on root activity and hydrogen peroxide content of rice roots

A和B: H_2O_2 的组织化学染色定位; C: H_2O_2 含量; D: 根系活力。

图8 溶液中 E_h 、pH、 Fe^{2+} 浓度以及根表 Fe^{3+} 沉淀和根表铁膜浓度的变化情况Fig.8 Changes in E_h , pH, Fe^{2+} concentration of medium solution and Fe^{3+} precipitate and iron plaque concentration on root surface of rice seedlings

A和D: AWD0和AWD5处理过程中的根表铁膜变化; B和E: AWD0和AWD5处理过程中的根基部铁膜变化; C和F: AWD0和AWD5处理过程中的根表 Fe^{3+} 沉淀变化; G: 溶液中 E_h 随时间的变化; H: 溶液中pH随时间的变化; I: 溶液中 Fe^{2+} 浓度随时间的变化; J: 根表铁膜浓度随时间的变化。同一图中各数据点用不同小写字母标识表示数据间差异显著($P < 0.05$)。

铁膜是否在细胞空间结构水平上一致, 我们开展了化学组织定位研究。如图9所示, 与AWD0相比, AWD5处理明显增加了 H_2O_2 在水稻根系厚壁细胞、表皮和外表皮细胞的累积, 其中厚壁细胞中 H_2O_2 累积最多(图9-A和E)。而根系活力(α -萘胺氧化)染

色主要累积在外表皮和表皮细胞间隙(图9-B和F)。上述结果表现出 α -萘胺氧化染色位置与 H_2O_2 染色位置存在明显差异, 可能原因是 α -萘胺处理浓度较小($50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 很难扩散并通过致密的表皮细胞; 其次, 较强的 H_2O_2 分泌也会促使 α -萘胺在外表皮和

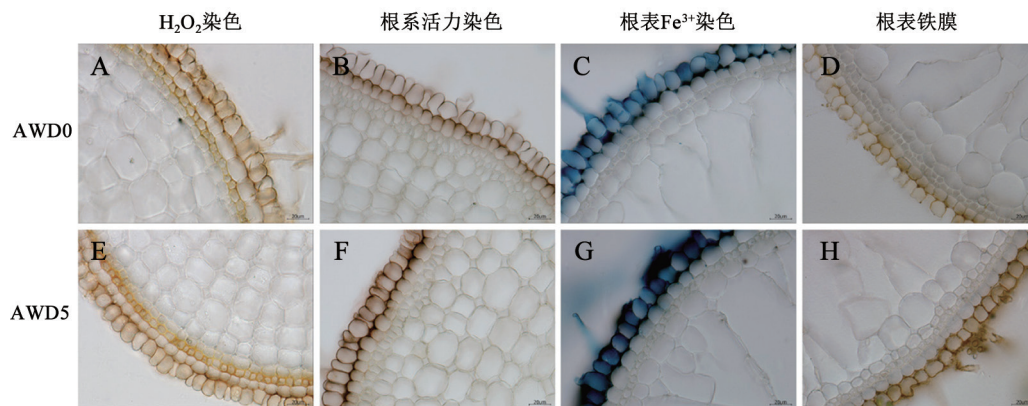


图9 H_2O_2 、根系活力、 Fe^{3+} 沉淀和根表铁膜的组织细胞定位

Fig.9 Histochemical localization of H_2O_2 , root activity, Fe^{3+} precipitate and formation of iron plaque on rice root surface

A和E: H_2O_2 染色; B和F: 根系活力染色; C和G: Fe^{3+} 染色; D和H: 根表红棕色铁膜。其中, A、B、C和D为AWD0处理; E、F、G和H为AWD5处理。

表皮细胞间隙氧化。有趣的是, α -萘胺的氧化(图9-B和F)、 Fe^{3+} 的沉淀(图9-C和G)和红棕色根表铁膜(图9-D和H)的染色位置完全吻合, 这些组织染色定位结果从细胞空间结构上说明了 H_2O_2 提升根系氧化力, 促进 Fe^{3+} 氧化, 在根系表皮细胞(最外1、2层细胞)形成红棕色铁膜的合理性。

讨 论

大量研究表明, AWD处理能够改善根系形态及生理指标, 如增加根系总根数、根半径、根表面积、根长密度, 增加根系总吸收面积和活性吸收面积, 提高根系活力和相关酶活性, 提高植株对养分的吸收利用等(Chu等2014; 秦华东等2013; Zhang等2009)。有研究表明, AWD有适度和重度AWD之分, 当土壤落干到水势-15 kPa时复水为适度AWD灌溉, 该灌溉处理能提高叶面光合速率、氧化酶活性和根系氧化力, 增加根系吸收表面积、根系活跃吸收表面积和根系中玉米素加玉米素核苷及吲哚-3-乙酸含量。而土壤落干到水势-30 kPa时复水为重度AWD灌溉, 该灌溉处理对水稻的生长造成严重的干旱胁迫, 影响水稻根系氧化力及籽粒产量(付景等2014)。徐国伟等(2017)研究发现, 土壤水势达-20 kPa时复水能够增加土壤酶的活性, 提高土壤中微生物数量和根系分泌的有机酸总量, 此时灌溉处理确定为轻度干湿交替; 而当土壤水势达-40 kPa时复水, 土壤酶活性、微生物数量和

有机酸含量与轻度干湿交替的结果相反, 该灌溉处理定义为重度干湿交替。Zain等(2014)研究发现, 随着AWD强度(间隔10、15、20、25、30 d灌溉)的增加, 水稻分蘖数、总生物量和千粒重显著降低, 导致水稻减产。间隔5 d的干湿交替处理(最佳AWD)能够改善根系或非根际土壤理化性质和微生物群落结构, 提高植物根系自身的形态结构和生理水平, 促进水稻根系的生长和产量的提高。因此, AWD的强度对水稻根系生长与产量扮演着重要作用。我们的研究表明, 在本试验条件下, 轻度AWD强度(从0/24到12/12处理)明显提高水稻根系活力, 重度AWD强度(从18/6到24/0处理)降低水稻根系活力(图2), AWD强度为12 h落干和12 h淹水(即12/12处理)时, 根系活力和根表铁膜形成量最大。在此基础上, 我们进行了不同AWD次数试验, 结果发现, 根系活力随着AWD次数的增加而增加(图7)。因此, 在我们的试验条件下, 通过不同AWD强度和AWD次数试验确定并筛选出一种适度的AWD处理。该适度AWD能够增加水稻根系活力, 并不会对水稻造成过重的干旱胁迫。

H_2O_2 是逆境胁迫条件下最常见的氧化性物质和信号物质(Talbi等2015; Qian等2015), 只有当 H_2O_2 达到一定水平后, 才会启动其他酶系统如CAT、抗坏血酸过氧化物酶和谷胱甘肽还原酶等将过量的 H_2O_2 清除(Li等2015; Apel和Hirt2004), 从

而维持根系一定的 H_2O_2 水平。有研究表明, 盐胁迫条件下, 耐性植物品种根系会累积大量的 H_2O_2 (Zhang等2014)。Passaia等(2013)研究也发现, 适度干旱胁迫能诱导某些基因(如 $OsGPX$ 基因)下调表达, 增加根系 H_2O_2 的累积。AWD是适度干旱胁迫和复水循环交替进行的一种常规的稻田管理模式, 有利于提高根系氧化性物质和抗氧化酶活性, 抵抗生物或非生物胁迫(Yang等2012)。本研究猜测, 适度AWD处理增加水稻根系活力可能与根系 H_2O_2 含量增加有关。因此, 我们对AWD次数处理条件下水稻根系活力与 H_2O_2 含量进行测定, 结果发现, 随着AWD次数的增加, 根系 H_2O_2 水平呈现递增的趋势, 并与根系活力的变化趋势表现一致(图7)。为了证明AWD能够分泌 H_2O_2 , 我们利用 H_2O_2 的荧光染料H2DCFDA对水稻根系进行组织化学染色。结果发现, 根系表面能够检测到大量点状或条状的 H_2O_2 荧光(图7)。为了证明 H_2O_2 是提升根系氧化力促进根表铁膜形成的重要物质, 我们进行了不同抑制剂试验。结果发现, AT (CAT抑制剂, 增加 H_2O_2 含量)处理显著降低了根系CAT活性, 增加根系 H_2O_2 含量和根系活力, 诱导更多根表红棕色铁膜的形成; DMTU (H_2O_2 清除剂)处理减少了根系 H_2O_2 含量和根系活力, 形成较少的根表红棕色铁膜(图5)。通过AT预处理后再进行不同方式 H_2O_2 清除剂(CAT、DMTU)处理也获得相同的结果(图6), 进一步证明了 H_2O_2 是根系活力的重要组成部分, 对根表红棕色铁膜的形成扮演着重要作用。

Liu等(2013)研究发现, Fe^{2+} 的添加伴随着 E_h 的上升和根际pH值的下降, 可能与根系释放的氧化性物质将根际周围的 Fe^{2+} 氧化, 同时产生 H^+ 有关(Xiao等2015)。Yang等(2012)研究发现, 介质溶液中pH的下降、 E_h 的上升易发生氧化还原反应, 具有较高根系氧化力的水稻品种易形成更多的根表铁膜(Wu等2015; Cheng等2014)。本试验也发现, 在根表铁膜形成过程中, E_h 明显上升和根际pH值明显下降(图8), 在根系表面累积了大量 Fe^{3+} , 形成更多的根表红棕色铁膜(图8)。AWD处理促进了根系 H_2O_2 的累积(图7), 能够诱导更多的根表铁膜的形成(图5和6)。因此, 根系铁膜的形成是根系 H_2O_2 产生的结果。根据前面的试验结果, 我们分析了根表铁膜形成的可能化学方程式: $2Fe^{2+}+H_2O_2+$

$4H_2O=2Fe(OH)_3+4H^+$, 该方程式说明了 H_2O_2 在根表铁膜形成过程中的氧化作用。为了验证上述试验结果, 我们还进行了体外低浓度 H_2O_2 滴定 Fe^{2+} 的试验, 结果立即出现红棕色铁的氧化物沉淀, 并伴随 H^+ 的释放(傅友强等2013), 这进一步证明了该方程式的可信度。最后, 我们对 H_2O_2 、根系活力、 Fe^{3+} 累积和根表红棕色铁膜进行了组织细胞定位(图9), 结果也发现, AWD诱导了根系 H_2O_2 在厚壁细胞的累积和向表皮细胞和外表皮细胞分散, 增强了根系活力, 促进根表 Fe^{2+} 的氧化形成更多的 Fe^{3+} , 从而增加根表红棕色铁膜含量。

参考文献

- Amako K, Chen GX, Asada K (1994). Separate assays specific for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants. *Plant Cell Physiol*, 35 (3): 497–504
- Apel K, Hirt H (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol*, 55: 373–399
- Bao L, Jia Z (2017). Changes of archaeal communities in a paddy soil under drying and re-wetting cycles. *Acta Pedol Sin*, 54 (1): 191–203 (in Chinese with English abstract) [包丽君, 贾仲君 (2017). 模拟干湿交替对水稻土古菌群落结构的影响. *土壤学报*, 54 (1): 191–203]
- Bradford M (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72: 248–254
- Cai YP, Yang QG, Huang YD (2000). Effect of rice cultivated under paddy and upland condition on photosynthesis and senescence of flag leaf and activity of root system after heading. *Chin J Rice Sci*, 14 (4): 219–224 (in Chinese with English abstract) [蔡永萍, 杨其光, 黄义德(2000). 水稻水作与旱作对抽穗后剑叶光合特性、衰老及根系活性的影响. *中国水稻科学*, 14 (4): 219–224]
- Carrijo DR, Lundy ME, Linquist BA (2017). Rice yields and water use under alternate wetting and drying irrigation: a meta-analysis. *Field Crop Res*, 203: 173–180
- Cheng H, Wang M, Wong MH, Ye Z (2014). Does radial oxygen loss and iron plaque formation on roots alter Cd and Pb uptake and distribution in rice plant tissues? *Plant Soil*, 375 (1–2): 137–148
- Chu G, Chen T, Wang Z, Yang J, Zhang J (2014). Morphological and physiological traits of roots and their relationships with water productivity in water-saving and drought-resistant rice. *Field Crop Res*, 162: 108–119
- Du J, Yan C, Li Z (2013). Formation of iron plaque on mangrove *Kandalar. Obovata (S.L.)* root surfaces and its role in cadmium uptake and translocation. *Mar Pollut Bull*, 74 (1): 105–109
- Fageria NK, Carvalho GD, Santos AB, Ferreira EPB, Knupp AM (2011). Chemistry of lowland rice soils and nutrient availability. *Commun Soil Sci Plant Anal*, 42 (16): 1913–1933

- Fu J, Liu J, Cai ZQ, Wang ZQ, Zhang H, Yang JC (2014). Effects of alternate wetting and drying irrigation during grain filling on the seed-setting rate and grain weight of two super rice cultivars. *Acta Agron Sin*, 40 (6): 1056–1065 (in Chinese with English abstract) [付景, 刘洁, 曹转勤, 王志琴, 张耗, 杨建昌(2014). 结实期干湿交替灌溉对2个超级稻品种结实率和粒重的影响. *作物学报*, 40 (6): 1056–1065]
- Fu YQ, Liang JP, Yu ZW, Wu DM, Cai KJ, Shen H (2011). Effect of different iron forms on iron plaque on root surface and iron uptake in rice seedlings. *Plant Nutr Fert Sci*, 17 (5): 1050–1057 (in Chinese with English abstract) [傅友强, 梁建平, 于智卫, 吴道铭, 蔡昆争, 沈宏(2011). 不同铁形态对水稻根表铁膜及铁吸收的影响. *植物营养与肥料学报*, 17 (5): 1050–1057]
- Fu YQ, Wu DM, Shen SY, Li Y, Shen H (2013). A novel method for quantifying oxidizing capacity of rice (*Oryza sativa* L.) roots. *Soils*, 45 (6): 1133–1136 (in Chinese with English abstract) [傅友强, 吴道铭, 申守营, 李玥, 沈宏(2013). 一种定量测定水稻根系氧化力的新方法. *土壤*, 45 (6): 1133–1136]
- Fu YQ, Yang XJ, Wu DM, Shen H (2014). Effect of phosphorus on reddish brown iron plaque on root surface of rice seedlings and their nutritional effects. *Sci Agr Sin*, 47 (6): 1072–1085 (in Chinese with English abstract) [傅友强, 杨旭健, 吴道铭, 沈宏(2014). 磷素对水稻根表红棕色铁膜的影响及营养效应. *中国农业科学*, 47 (6): 1072–1085]
- Fu YQ, Yu ZW, Cai KZ, Shen H (2010). Mechanisms of iron plaque formation on root surface of rice plants and their ecological and environmental effects: a review. *Plant Nutr Fert Sci*, 16 (6): 1527–1534 (in Chinese with English abstract) [傅友强, 于智卫, 蔡昆争, 沈宏(2010). 水稻根表铁膜形成机制及其生态环境效应. *植物营养与肥料学报*, 16 (6): 1527–1534]
- Guo L, Cutright TJ (2015). Effect of citric acid and bacteria on metal uptake in reeds grown in a synthetic acid mine drainage solution. *J Environ Manage*, 150: 235–242
- Guo X, Zhen B, Wang Z (2013). Increasing lodging resistance performance of rice by alternating drought and flooding stress. *T Chin Soc Agr Eng*, 29 (12): 130–135 (in Chinese with English abstract) [郭相平, 甄博, 王振昌(2013). 旱涝交替胁迫增强水稻抗倒伏性能. *农业工程学报*, 29 (12): 130–135]
- Harrison-Kirk T, Beare MH, Meenken ED, Condon LM (2013). Soil organic matter and texture affect responses to dry/wet cycles: effects on carbon dioxide and nitrous oxide emissions. *Soil Biol Biochem*, 57: 43–55
- Jiang FY, Chen X, Luo AC (2009). Iron plaque formation on wetland plants and its influence on phosphorus, calcium and metal uptake. *Aquat Ecol*, 43 (4): 879–890
- Kato M, Shimizu S (1987). Chlorophyll metabolism in higher plants. VII. Chlorophyll degradation in senescing tobacco leaves; phenolic-dependent peroxidative degradation. *Can J Bot*, 65 (4): 729–735
- Li C, Tan DX, Liang D, Chang C, Jia DF, Ma F (2015). Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behaviour in two *Malus* species under drought stress. *J Exp Bot*, 66 (3): 669–680
- Liang K, Zhong X, Huang N, Lampayan RM, Pan J, Tian K, Liu Y (2016). Grain yield, water productivity and CH₄ emission of irrigated rice in response to water management in south China. *Agr Water Manage*, 163: 319–331
- Linguist BA, Anders MM, Adviento-Borbe MAA, Chaney RL, Nalley LL, da Rosa EFF, van Kessel C (2015). Reducing greenhouse gas emissions, water use, and grain arsenic levels in rice systems. *Global Change Biol*, 21: 407–417
- Liu CY, Gong XF, Tang YP, Chen CL (2015). Lead sequestration in iron plaques developed on *Phalaris arundinacea* Linn. and *Carex cinerascens* Kükenth. from Poyang Lake (China). *Aquat Bot*, 122: 54–59
- Liu D, Zhang C, Chen X, Yang Y, Wang S, Li Y, Hu H, Ge Y, Cheng W (2013). Effects of pH, Fe, and Cd on the uptake of Fe²⁺ and Cd²⁺ by rice. *Environ Sci Pollut R*, 20 (12): 8947–8954
- Montás-Ramírez L, Claassen N, Moawad AM (2003). Determination of Fe²⁺ in rice leaves (*Oryza sativa* L.) by using the chelator BPDS alone or combined with the chelator EDTA. *J Plant Nutr*, 26 (10–11): 2023–2030
- Norton GJ, Shafaei M, Travis AJ, Deacon CM, Danku J, Pond D, Cochrane N, Lockhart K, Salt D, Zhang H, et al (2017). Impact of alternate wetting and drying on rice physiology, grain production, and grain quality. *Field Crop Res*, 205: 1–13
- Passaia G, Fonini LS, Caverzan A, Jardim-Messeder D, Christoff AP, Gaeta ML, de Araujo Mariath JE, Margis R, Margis-Pinheiro M (2013). The mitochondrial glutathione peroxidase GPX3 is essential for H₂O₂ homeostasis and root and shoot development in rice. *Plant Sci*, 208: 93–101
- Qian B, Li X, Liu X, Wang M (2015). Improved oxidative tolerance in suspension-cultured cells of C₄-pepttransgenic rice by H₂O₂ and Ca²⁺ under PEG-6000. *J Integr Plant Biol*, 57 (6): 534–549
- Qin HD, Jiang LG, Xiao QZ, Xu SH (2013). Effect of moisture management on rice root growth and rice grain yield at different growth stages under no tillage. *Chin J Rice Sci*, 27 (2): 209–212 (in Chinese with English abstract) [秦华东, 江立庚, 肖巧珍, 徐世宏(2013). 水分管理对免耕抛秧水稻根系生长及产量的影响. *中国水稻科学*, 27 (2): 209–212]
- Ramasamy S, ten Berge HFM, Purushothaman S (1997). Yield formation in rice in response to drainage and nitrogen application. *Field Crop Res*, 51: 65–82
- Siddiqui MH, Al-Khaishany MY, Al-Qutami MA, Al-Whaibi MH, Grover A, Ali HM, Al-Wahibi MS, Bukhari NA (2015). Response of different genotypes of faba bean plant to drought stress. *Int J Mol Sci*, 16 (5): 10214–10227
- Talbi S, Romero-Puertas MC, Hernández A, Terrón L, Ferchichi A, Sandalio LM (2015). Drought tolerance in a Saharian plant *Oudneya africana*: role of antioxidant defences. *Environ Exp Bot*, 111: 114–126
- Taylor GJ, Crowder AA (1983). Use of the DCB technique for extraction of hydrous iron oxides from roots of wetland plants. *Am J Bot*, 70 (8): 1254–1257
- Tsai YC, Hong CY, Liu LF, Kao CH (2004). Relative importance of Na⁺ and Cl⁻ in NaCl-induced antioxidant systems in roots of rice seedlings. *Physiol Plantarum*, 122 (1): 86–94
- Wang TT, Zhu ZK, Zhu HH, Tang JZ, Pang J, Li BJ, Su YY, Ge TD,

- Wu JS (2017). Input and distribution of photosynthesized carbon in soil-rice system affected by water management and nitrogen fertilization. *Environ Sci*, 38 (3): 1227–1234 (in Chinese with English abstract) [王婷婷, 祝贞科, 朱捍华, 汤珍珠, 庞静, 李宝珍, 苏以荣, 葛体达, 吴金水(2017). 施氮和水分管理对光合碳在土壤-水稻系统间分配的量化研究. *环境科学*, 38 (3): 1227–1234]
- Wang X, Yao H, Wong MH, Ye Z (2013). Dynamic changes in radial oxygen loss and iron plaque formation and their effects on Cd and As accumulation in rice (*Oryza sativa* L.). *Environ Geochem Health*, 35: 779–788
- Wang Y, Jensen CR, Liu F (2017). Nutritional responses to soil drying and rewetting cycles under partial root-zone drying irrigation. *Agr Water Manage*, 179: 254–259
- Wu C, Pan WS, Xue SG, Mo JY (2015). Effects of root oxidation ability and P on As mobility and bioavailability in rice. *J Cent South Univ*, 22 (1): 74–81
- Xiao W, Ye X, Yang X, Li T, Zhao S, Zhang Q (2015). Effects of alternate wetting and drying versus continuous flooding on chromium fate in paddy soils. *Ecotox Environ Safe*, 113: 439–445
- Xu G, Lu D, Sun H, Wang H, Li Y (2017). Effect of alternative wetting and drying irrigation and nitrogen coupling on rhizosphere environment of rice. *T Chin Soc Agr Eng*, 33 (4): 186–194 (in Chinese with English abstract) [徐国伟, 陆大克, 孙会忠, 王贺正, 李友军(2017). 干湿交替灌溉与施氮耦合对水稻根际环境的影响. *农业工程学报*, 33 (4): 186–194]
- Xue Y, Duan H, Liu L, Wang Z, Yang J, Zhang J (2013). An improved crop management increases grain yield and nitrogen and water use efficiency in rice. *Crop Sci*, 53: 271–284
- Yang JX, Liu Y, Ye ZH (2012). Root-induced changes of pH, Eh, Fe(II) and fractions of Pb and Zn in rhizosphere soils of four wetland plants with different radial oxygen losses. *Pedosphere*, 22 (4): 518–527
- Yokosho K, Yamaji N, Ueno D, Mitani N, Ma JF (2009). OsFRDL1 is a citrate transporter required for efficient translocation of iron in rice. *Plant Physiol*, 149: 297–305
- Yoshida S, Forno DA, Cock JH, Gomez KA (1976). *Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice*. 3rd ed. Los Baños, Philippines: the International Rice Research Institute, 57–65
- Yu X, Fu Y, Gan H, Shen H (2016). Impacts of drying-wetting cycles on changes of rhizosphere characteristic and the formation of iron plaque: a review. *Soils*, 48 (2): 225–234 (in Chinese with English abstract) [于晓莉, 傅友强, 甘海华, 沈宏(2016). 干湿交替对作物根际特征及铁膜形成的影响研究进展. *土壤*, 48 (2): 225–234]
- Zain NAM, Ismail MR, Puteh A, Mahmood M, Islam MR (2014). Impact of cyclic water stress on growth, physiological responses and yield of rice (*Oryza sativa* L.) grown in tropical environment. *Ciência Rural*, 44 (12): 2136–2141
- Zhang H, Xue Y, Wang Z, Yang J, Zhang J (2009). An alternate wetting and moderate soil drying regime improves root and shoot growth in rice. *Crop Sci*, 49 (6): 2246–2260
- Zhang J, Duan X, Ding F, Ma HZ, Zhang T, Yang Y (2014). Salinity induced the changes of root growth and antioxidative responses in two wheat cultivars. *Protoplasma*, 251 (4): 771–780
- Zhang J, Liu J, Chen H, Du Y, Li J, Sun H, Zhao Q (2014). Change in soil oxygen and water contents under alternate wetting and drying in paddy fields. *Chin J Eco-Agr*, 22 (4): 408–413 (in Chinese with English abstract) [张静, 刘娟, 陈浩, 杜彦修, 李俊周, 孙红正, 赵全志(2014). 干湿交替条件下稻田土壤氧气和水分变化规律研究. *中国生态农业学报*, 22 (4): 408–413]
- Zhang M, Gao Y, Xie Q (2017). Effects of alternate drying and wetting on soil organic carbon mineralization: a review. *World Sci-Tech R&D*, 39 (1): 17–23 (in Chinese with English abstract) [张梦瑶, 高永恒, 谢青琰(2017). 干湿交替对土壤有机碳矿化影响的研究进展. *世界科技研究与发展*. 39 (1): 17–23]
- Zhang TJ, Tang J, Zhuang L, Xiong GS, Liu Z, Zhou SG (2014). Effects of different iron oxides on methane emission in paddy soil as related to drying/wetting cycles. *Environ Sci*, 35 (3): 901–907 (in Chinese with English abstract) [张天娇, 汤佳, 庄莉, 熊格生, 刘志, 周顺桂(2014). 干湿交替条件下不同晶型铁氧化物对水稻土甲烷排放的影响. *环境科学*, 35 (3): 901–907]

Root-based mechanism of stimulated formation of reddish-brown iron plaque on rice root surface by moderate alternate wetting and drying

FU You-Qiang^{1,2}, SHEN Hong^{2,*}, YANG Xu-Jian²

¹Rice Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China; ²College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

Abstract: Alternate wetting and drying (AWD) is a common water management in rice (*Oryza sativa*) plantation, which contributes the elevation of root oxidation capacity, and induces the formation of reddish-brown iron plaque on root surface. However, the mechanism remains unclear in root layers. In this study, we investigated how AWD induced the formation of reddish-brown iron plaque by using quartz-sand combining nutrient solution culture and a simplified AWD device. Results from different AWD intensities indicate the most iron plaque and highest root activity were occurred when cycles of 12-h alternate wetting and 12-h drying were performed. On this basis, iron plaque on root surface was increased gradually with the increase of AWD times. The root inactivation experiment showed that normal roots had the activity of 805–958.5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$ and iron plaque of 15.1–18.0 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}(\text{DW})$ on root surface, while dead roots had no activity and reddish-brown iron plaque. 3-amino-1,2,4-triazole (AT), a H_2O_2 promoter, increased H_2O_2 content, root activity, and iron plaque by 31.8%, 20.1% and 26.7%, while H_2O_2 content, root activity, and iron plaque were reduced by 27.2%, 19.8% and 18.4% in response to dimethylthiourea (DMTU, a H_2O_2 scavenger) treatment. The contents of endogenous H_2O_2 in roots with 3 and 5 times AWD were 29.1% and 35.6% higher, respectively, than that with 0 time AWD. The corresponding values were 11.8% and 16.8%, respectively, for root activity. During the induction of iron plaque for 0–48 h in the rhizosphere of rice seedlings, oxidation reduction potential (E_h) was increased maximally by 9.3% with 5 times AWD in comparison to 0 time AWD treatment, the concentration of Fe^{2+} was decreased maximally by 49.6%, and iron plaque on root surface was increased maximally by 110.1%. Based on the above, our results suggest that AWD treatment induces the formation of reddish-brown iron plaque on root surface by enhancing accumulation of endogenous H_2O_2 and root activity, as well as elevating rhizosphere E_h value and oxidation of Fe^{2+} into Fe^{3+} .

Key words: alternate wetting and drying; root layer; hydrogen peroxide; reddish-brown iron plaque; rice

Received 2017-06-13 Accepted 2017-10-16

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31372125), and Guangzhou Science and Technology Plan Program (Grant No. 2014J4100240).

*Corresponding author (E-mail: hshen@scau.edu.cn).