

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.02055

水氮互作下水稻氮代谢关键酶活性与氮素利用的关系

孙永健 孙园园 李旭毅 郭翔 马均*

四川农业大学水稻研究所, 四川温江 611130

摘要: 以杂交稻冈优 527 为材料, 设“淹水灌溉”(W₁)、“前期湿润灌溉+孕穗期浅水灌溉+抽穗至成熟期干湿交替灌溉”(W₂)和“旱种”(W₃) 3 种灌水及不同的施氮量处理, 研究对水稻氮代谢酶活性及氮素吸收利用的影响, 并探讨各生育期水稻氮代谢酶活性与氮素吸收利用及产量间的关系。结果表明, 水与氮对水稻各生育期氮代谢酶活性及氮素吸收利用有显著互作作用, W₂ 相对于其他灌水处理有助于拔节至抽穗期水稻吸氮量的增加, 提高氮素干物质生产效率及稻谷生产效率, 而且与施氮量为 180 kg hm⁻² 耦合能达到提高氮代谢酶活性、增产、提高氮肥利用效率的目的, 为本试验最佳的水氮耦合运筹模式; 施氮量达 270 kg hm⁻² 时水氮互作优势减弱, 不利于 3 种灌水方式下硝酸还原酶(NR)、谷氨酰胺合成酶(GS)、谷氨酸合酶(GOGAT)活性的提高, 还会导致产量及氮效率的下降。相关分析表明, 水氮互作下各氮代谢酶活性与氮素利用特征及产量间存在显著或极显著的相关性, 据此可将各生育期功能叶 GS 活性作为准确判断水稻各生育期氮素积累量的指标; 并可将抽穗期剑叶中 NR、GS、GOGAT 及内肽酶(EP)活性作为综合评价水稻产量及氮效率的指标。

关键词: 水稻; 水氮互作; 氮代谢; 酶活性; 氮素利用

Relationship of Activities of Key Enzymes Involved in Nitrogen Metabolism with Nitrogen Utilization in Rice under Water-Nitrogen Interaction

SUN Yong-Jian, SUN Yuan-Yuan, LI Xu-Yi, GUO Xiang, and MA Jun *

Rice Research Institute, Sichuan Agricultural University, Wenjiang 611130, China

Abstract: Hybrid rice Gangyou 527 was used to investigate the effects of three irrigation regimes (submerged irrigation, W₁; dry cultivation, W₃; and damp irrigation before booting stage plus shallow irrigation at booting stage plus wetting-drying alternation irrigation from heading stage to mature stage, W₂) and different amounts of N application on activities of N metabolism enzymes and N absorption and utilization in rice, and the correlation of the N metabolism enzymes activities in functional leaves with N absorption and utilization and yield at different growth stages. The results showed that there was an obvious interaction between irrigation regime and amounts of N application. Compared with other irrigation treatments, the treatment W₂ promoted the N uptake from tillering to heading, N dry matter production efficiency (NMPE) and N production efficiency (NPE). W₂ and suitable N application amount (180 kg ha⁻¹) enhanced activities of N metabolism enzymes, yield, and nitrogen use efficiency, being the best model in this paper referred as the water-nitrogen coupling management model. Applying nitrogen 270 kg ha⁻¹ resulted in negative effect of water-nitrogen interaction, slowing down the increase of activities of nitrate reductase (NR), glutamine synthetase (GS), and glutamate synthase (GOGAT), decreasing N agronomy efficiency (NAE), N recovery efficiency (NRE), and yield. Correlation analysis indicated that there existed significantly or highly significantly positive correlations of activities of N metabolism enzymes with indices of N uptake and utilization and yield, with different correlation coefficients of different growth stages. According to the conditions above, GS activity in function leaves might be a candidate indicator for N uptake and accumulation at different growth stages, and activities of NR, GS, GOGAT, and endopeptidase (EP) in flag leaves at heading stage for rice yield and NMPE, NPE, NAE, NRE.

Keywords: Rice; Water-nitrogen interaction; Nitrogen metabolism; Enzyme Activities; Nitrogen utilization

本研究由国家粮食丰产科技工程项目(2006BAD02A05)和四川省育种攻关专项(2006yzgg-28)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 马均, E-mail: majunp2002@163.com

第一作者联系方式: E-mail: ljt_79513@sohu.com

Received(收稿日期): 2009-06-15; Accepted(接受日期): 2009-06-27.

水、肥在水稻生长发育过程中是相互影响和制约的两个因子。随着农业水资源的日益紧缺和不合理施肥造成面源污染范围扩大,以减少水稻灌溉用水、高效利用肥料来实现水稻稳产高产的理论和技术研究受到广泛重视,为此前人已进行了大量研究^[1-6]。杨建昌等^[1]和张荣萍等^[2]研究表明,节水灌溉的水稻产量及对氮素的吸收利用与淹灌大体持平甚至更高;丁艳锋等^[3]和曾勇军等^[4]研究表明,合理施用氮肥才能提高水稻产量及氮素吸收利用率;王绍华等^[5]和陈新红等^[6]研究认为,水氮对水稻氮吸收利用及产量的影响有显著的互作效应,并结合产量表现,提出采用适度的水分胁迫,提高水稻氮素利用率,减少稻田氮损失。上述研究表明适宜的灌溉管理、施肥方式、水肥互作调控措施对提高水稻氮素吸收效率、促进增产均具显著作用。硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)、谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)、谷氨酸合酶(glutamate synthase, GOGAT)和内肽酶(endopeptidase, EP)是涉及高等植物氮代谢的主要酶^[7-8],关于水氮互作对水稻各生育期的氮代谢酶活性影响,以及对氮素吸收利用与氮代谢酶活性关系的研究均鲜见报道。本研究以期明确水氮互作对氮代谢酶活性和氮素利用的影响,并从氮代谢酶活性调控的角度,探讨水氮互作下氮代谢酶活性与氮素吸收利用的关系,为深入研究叶片的分配和调节机制以及植株对氮的吸收利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于2007年和2008年在成都温江四川农业大学水稻研究所试验农场进行,供试品种为冈优527(中粳迟熟型杂交稻,生育期145~152 d)。试验田耕层土壤质地为沙壤土,含有效氮116.6 mg kg⁻¹、速效磷30.7 mg kg⁻¹、速效钾91.2 mg kg⁻¹、有机质2.01%、pH 6.45。4月12日播种,地膜育秧,5月12日移栽,叶龄为五叶一心,行株距为33.3 cm×16.7 cm,单株,采用灌水方式×氮肥水平2因素试验。设3种灌水处理。

1.1.1 淹灌(W₁) 水稻移栽后田面一直保持1~3 cm水层,收获前1周自然落干。

1.1.2 “湿、晒、浅、间”灌溉(W₂) 湿润灌溉(移栽至孕穗前)+浅水灌溉(孕穗期)+干湿交替灌溉(抽穗至成熟期)。浅水(1 cm左右)栽秧,移栽后5~7 d田间保持2 cm水层确保秧苗返青成活,之后至孕穗

前田面不保持水层,土壤含水量为饱和含水量的70%~80% (处理前期用烘干法多次测定各处理小区土壤含水量来校准美国生产的TDR300土壤水分速测仪,便于灌水控制期用TDR300及时测定土壤含水量),无效分蘖期“够苗”晒田,晒至田中开小裂口(2~3 mm);孕穗期土表保持1~3 cm水层;抽穗至成熟期采用灌透水、自然落干至土壤水势为-25 kPa时灌水的干湿交替灌溉。用中国科学院南京土壤研究所生产的真空表式土壤负压计测定土壤水势。

1.1.3 旱种(W₃) 移栽前浇透底墒水,移栽后5~7 d浇水确保秧苗返青成活,以后全生育期旱管理,仅在分蘖盛期、孕穗期、开花期和灌浆盛期各灌一次透水,灌水量分别为340.0 m³ hm⁻²、327.0 m³ hm⁻²、351.0 m³ hm⁻²和342.0 m³ hm⁻²,以田间不积水为准。

用水表准确记载每次灌水量,确保相同灌溉方式的小区每次灌水量一致,除去泡田用水,W₁、W₂和W₃各处理灌溉用水量分别为8 450.0 m³ hm⁻²、4 480.0 m³ hm⁻²和1 360.0 m³ hm⁻²。

4种施氮(尿素)水平,即施纯氮0、90、180、270 kg hm⁻²,分别记为N₀、N₉₀、N₁₈₀、N₂₇₀。按基肥 分蘖肥 孕穗肥=5 3 2施用;分蘖肥在移栽后7 d施用,孕穗肥在穗分化期(枝梗分化期)施用,P₂O₅ 90 kg hm⁻²,K₂O 180 kg hm⁻²,全部作基肥施用。试验采用裂区设计,灌水方式为主区,施氮量为副区,3次重复,小区面积15.0 m²,小区间筑埂(宽40 cm)并用塑料薄膜包裹,以防串水串肥,其他田间管理按大面积生产田进行。水稻生长期(4~9月上旬)降水量及降雨分布数据由四川省温江气象站提供(图1),2007年和2008年分别为489.2 mm和514.9 mm;因两年气候因素相差较小,且试验结果趋势基本一致,在无特殊说明情况下,本文着重分析2008年试验结果。

1.2 测定项目及方法

1.2.1 氮代谢酶活性 分别于水稻分蘖盛期、拔节期、抽穗及成熟期,于上午9:00每处理取15株生长基本一致的主茎完全展开的顶叶,去叶脉,剪碎混匀,按李合生^[9]的离体法测定硝酸还原酶(NR)活性,酶活力以每小时每克鲜样中产生的NaNO₂微克数(μg h⁻¹ g⁻¹ FW)表示;参照Lea等^[10]的方法,用Sigma公司生产的γ-谷氨酰基异羟肟酸作标准曲线,测定谷氨酰胺合成酶(GS),酶活力以每小时每克鲜样生成的γ-谷氨酰基异羟肟酸微摩尔数(μmol h⁻¹ g⁻¹ FW)表示;参照Singh等^[11]的方法测定谷氨酸合酶(GOGAT),酶活力用每小时每克鲜样催化氧化的

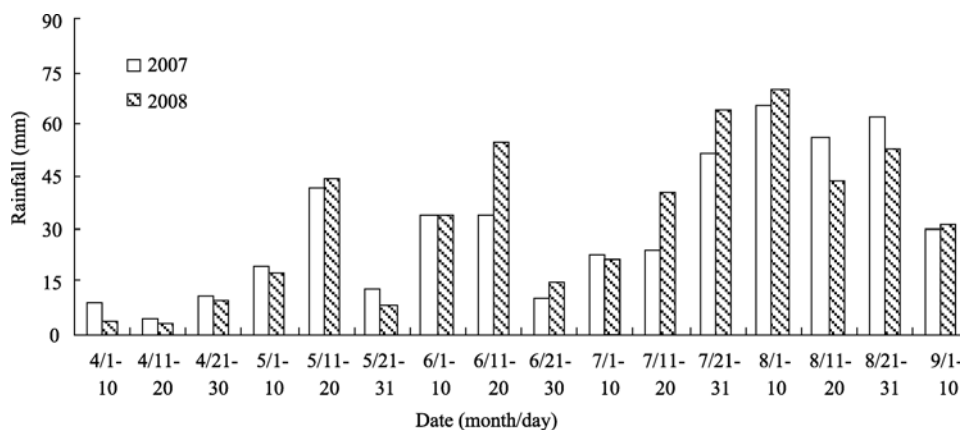


图 1 水稻生育期间降水量

Fig. 1 Rainfall during rice growth stage

NADH 微摩尔数($\mu\text{mol h}^{-1}\text{g}^{-1}\text{FW}$)表示; 参照高玲等^[12]的方法测定内肽酶(EP), 酶活力以 $\Delta A_{570} \text{ h}^{-1}\text{g}^{-1}\text{FW}$ 表示, 同时用凯氏定氮法测定顶叶氮含量。

1.2.2 植株氮含量及计产 分别于水稻分蘖盛期、拔节期、抽穗及成熟期, 按各小区的平均茎蘖数各取代表性稻株 5 株, 测定地上部叶、茎鞘和穗等器官的干重, 用 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 消煮, 并用 Büchi 全自动凯氏定氮仪测定含氮量; 成熟期各小区单收, 按实收株数计产。

氮素积累总量(Total N accumulation, TNA)=成熟期单位面积植株氮积累量

氮素干物质生产效率(N dry matter production efficiency, NMPE) = 单位面积植株干物质积累量/单位面积植株氮积累量

氮素生产效率(N production efficiency, NPE)=单位面积籽粒产量/单位面积植株氮积累量

氮肥农艺效率(N agronomy efficiency, NAE)=(施氮肥区产量-不施氮肥区产量)/施氮水平

氮肥回收效率(N recovery efficiency, NRE) = (施氮肥区产量-不施氮肥区植株 N 积累量)/施氮量 $\times 100\%$

1.3 数据分析

用 Microsoft Excel 和 SPSS 10.0 处理系统分析数据。

2 结果与分析

2.1 水氮互作对各生育期功能叶氮代谢酶活性及氮含量的影响

随生育进程, NR、GS 和 GOGAT 活性总体均呈低-高-低的趋势变化(图 2-A, B, C), 但不同生育期 3 种酶的活跃程度不同; NR 在水稻拔节期活性较高, GS、GOGAT 活性在抽穗期最大。除拔节期 W_2 处理

下 EP 活性相对于分蘖盛期显著下降 36.6%~43.2%外, 其余处理 EP 活性均随生育进程呈增大趋势(图 2-D), 这可能是 W_2 前期处理相对于 W_1 灌水量少, 随后又增灌所致。各水氮处理下不同生育期功能叶的含氮量依次递减(图 2-E), 但 W_2 处理下功能叶氮含量在拔节至抽穗期降幅较小, 为 7.1%~9.7%, 而抽穗至成熟期降幅为 48.4%~60.7%, 达到极显著水平。

从施氮水平来看, 随施氮量的提高, 功能叶各生育期 NR、GS、GOGAT 活性及氮含量有提高的趋势, 但施氮量达 270 kg hm^{-2} 会导致 3 种灌水方式下 NR、GS、GOGAT 活性的增幅变缓; EP 活性随氮肥水平的提高呈下降趋势, EP 最大增幅出现在抽穗至成熟期, 且均以不施肥、低氮和 W_3 处理增幅最大, 这可能是不施肥、低氮和 W_3 处理引起功能叶过早衰老所致。从水氮处理间的交互作用来看, 灌水方式与施氮量除对分蘖盛期功能叶含氮量及成熟期功能叶 NR 活性无显著交互效应外, 对其他各生育期的氮代谢酶活性及功能叶含氮量均存在显著或极显著的交互效应(表 1)。

2.2 水氮互作对氮素利用的影响

2.2.1 水氮互作对各生育期氮积累量及产量的影响

各水氮处理对不同生育期水稻氮积累量和产量的影响均达极显著水平, 且存在显著或极显著的水氮互作效应(表 1)。由表 2 可见, 随生育进程, 稻株氮积累量呈逐渐增加趋势, 且随施氮量的提高而增加。各氮肥水平下, 不同灌溉方式各生育期氮积累量趋势不太一致, 分蘖盛期 W_1 、 W_2 、 W_3 处理间水稻氮积累量均值差异较小, 拔节期氮积累量为 $W_1 > W_2 > W_3$, 抽穗及成熟期氮积累量为 $W_2 > W_1 > W_3$ 。从氮积累的增幅来看, 分蘖盛期至拔节期、抽穗至成熟期吸氮量及吸氮比例增幅均为 $W_1 >$

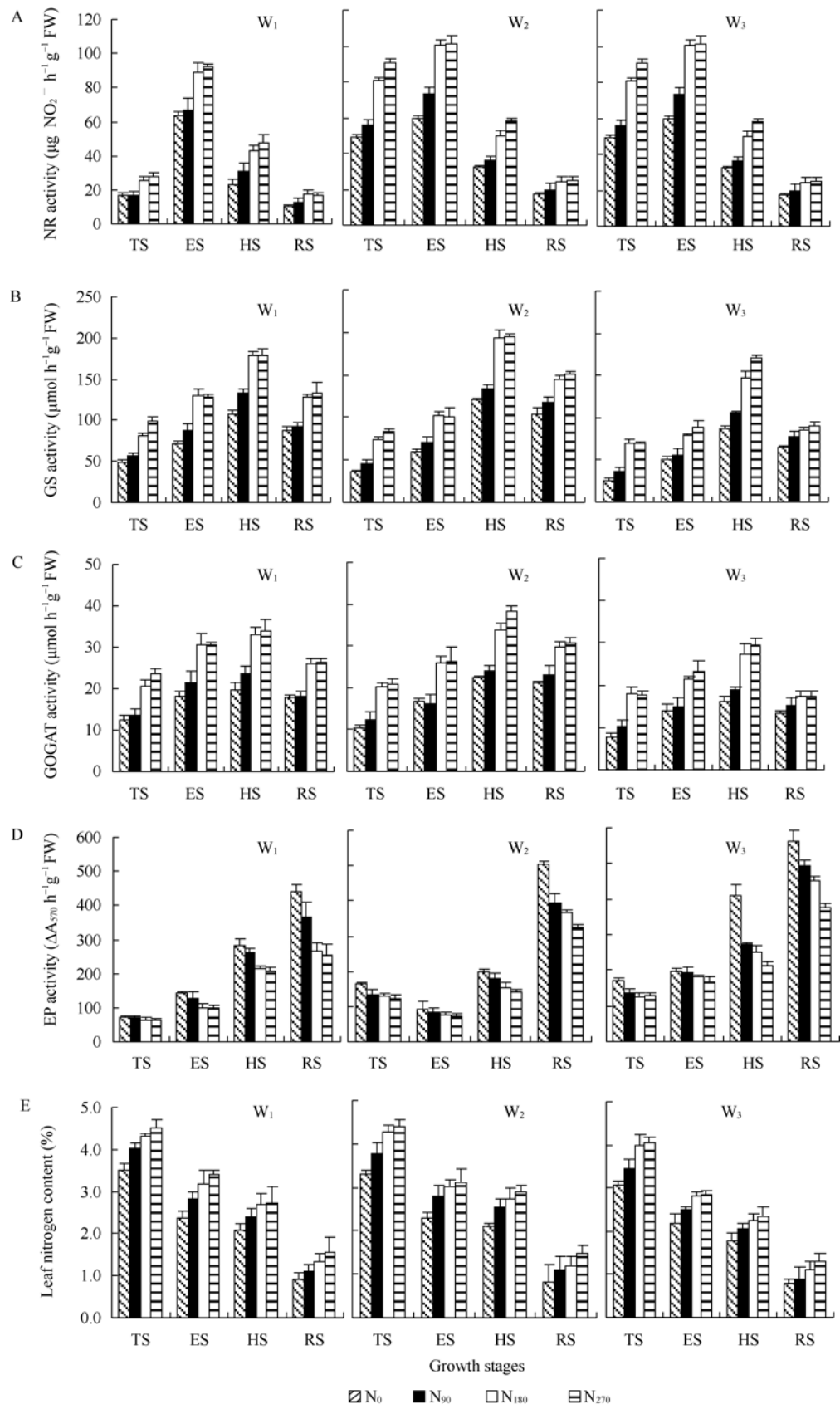


图2 水氮互作对各生育期功能叶NR (A)、GS (B)、GOGAT (C)、EP (D)及氮含量(E)的影响
Fig. 2 Effects of water-nitrogen interaction on NR (A), GS (B), GOGAT (C), EP (D), and N content (E) of leaves at different growth stages
TS: 分蘖盛期; ES: 拔节期; HS: 抽穗期; RS: 成熟期。
TS: tillering stage; ES: elongation stage; HS: heading stage; RS: ripening stage.

表1 水氮互作下各生育期功能叶生理指标、稻株氮积累量及产量的方差分析(*F*值)Table 1 Variance analysis of physiological index in function leaves, N accumulation and yield under water-nitrogen interaction at different growth stages (*F*-value)

处理 Treatment	生育期 Growth stages	指标 Index				2007			2008	
		NR	GS	GOGAT	EP	N 含量 N content	N 积累量 N accumulation	产量 Yield	N 积累量 N accumulation	产量 Yield
灌水方式 Irrigation method	TS	412.15**	39.14**	23.98**	161.42**	5.21*	5.63**		7.81**	
	ES	70.03**	171.64**	113.52**	397.81**	20.30**	17.91**	103.12**	7.86**	139.53**
	HS	251.70**	173.49**	174.78**	243.17**	50.87**	29.73**		54.72**	
	RS	147.63**	76.40**	82.05**	131.49**	41.78**	24.87**		28.40**	
施氮量 Nitrogen rate	TS	85.99**	133.44**	111.37**	15.70**	15.73**	120.46**		112.85**	
	ES	179.49**	257.28**	218.58**	43.93**	65.08**	267.24**	31.86**	399.70**	50.07**
	HS	279.32**	256.26**	234.21**	106.04**	71.01**	211.93**		336.75**	
	RS	33.26**	31.85**	42.79**	62.48**	66.26**	277.69**		351.58**	
水氮互作 Water and nitrogen couple	TS	11.60**	9.38**	3.23*	4.09*	1.01	3.98*		3.18*	
	ES	5.13**	4.77**	3.57*	3.94*	5.22**	4.12*	3.64*	6.71**	4.11*
	HS	6.89**	5.51**	4.73**	12.87**	5.63**	7.71**		10.27**	
	RS	2.22	3.35*	4.25*	5.63**	4.67*	4.86*		5.14**	

TS: 分蘖盛期; ES: 拔节期; HS: 抽穗期; RS: 成熟期。*, **分别表示在0.05和0.01水平上差异显著。

TS: tillering stage; ES: elongation stage; HS: heading stage; RS: ripening stage. *, ** Significantly different at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

表2 水氮互作对各生育期稻株氮积累量及产量的影响

Table 2 N accumulation and yield under water-nitrogen interaction at different growth stages (kg hm⁻²)

处理 Treatment		生育期 Growth stage				产量 Grain yield
灌水方式 Irrigation method	施氮量 Nitrogen rate	分蘖盛期 Tillering	拔节期 Elongation	抽穗期 Heading	成熟期 Ripening	
2007						
W ₁	N ₀	16.66 ef	35.03 f	75.35 fg	88.78 fg	6015.9 e
	N ₉₀	19.78 d	50.98 de	111.35 d	128.59 de	7414.8 cd
	N ₁₈₀	23.62 ab	72.61 b	144.30 b	174.61 ab	9012.5 ab
	N ₂₇₀	24.46 a	79.07 a	154.46 ab	189.10 a	8464.3 bc
	平均 Average	21.13	59.42	121.36	145.27	7726.9
W ₂	N ₀	17.72 e	33.67 f	82.15 ef	94.74 f	6790.1 de
	N ₉₀	20.46 d	53.61 d	118.59 d	137.17 cd	8082.5 c
	N ₁₈₀	23.52 ab	71.91 b	162.17 a	189.03 a	9622.9 a
	N ₂₇₀	23.86 ab	79.06 a	167.11 a	196.22 a	9369.3 ab
	平均 Average	21.39	59.56	132.51	154.29	8466.2
W ₃	N ₀	15.14 f	31.74 f	62.04 g	70.13 g	4699.7 f
	N ₉₀	20.91 cd	46.40 e	92.50 e	105.91 ef	5761.5 ef
	N ₁₈₀	22.22 bc	63.32 c	123.84 cd	141.10 cd	6836.6 de
	N ₂₇₀	22.80 b	72.57 b	140.56 bc	160.66 bc	6023.5 e
	平均 Average	20.27	53.51	104.74	119.45	5830.3
2008						
W ₁	N ₀	16.89 df	35.52 f	76.40 fg	90.01 ef	6278.1 de
	N ₉₀	19.35 cd	52.52 e	110.61 de	127.49 cd	7229.2 c
	N ₁₈₀	23.88 ab	73.42 bc	145.90 bc	176.55 b	9143.2 ab
	N ₂₇₀	25.36 ab	83.99 a	160.17 a	196.10 a	8681.7 b
	平均 Average	21.37	61.36	123.27	147.54	7833.1
W ₂	N ₀	17.62 df	33.47 f	81.66 fg	94.18 e	6803.9 cd
	N ₉₀	19.22 cd	50.36 e	111.41 d	133.86 c	7811.5 c
	N ₁₈₀	22.94 b	70.12 cd	158.13 ab	184.32 ab	9757.1 a
	N ₂₇₀	24.41 ab	80.88 a	170.95 a	200.72 a	9268.0 ab
	平均 Average	21.05	58.71	130.54	153.27	8410.1
W ₃	N ₀	16.18 f	33.94 f	66.34 g	74.98 f	4852.3 f
	N ₉₀	22.22 bc	47.05 e	93.81 ef	107.41 de	5572.5 ef
	N ₁₈₀	26.10 a	65.53 d	128.17 cd	146.03 c	6749.4 cd
	N ₂₇₀	26.38 a	77.18 ab	149.49 b	170.86 b	6285.5 de
	平均 Average	22.72	55.93	109.45	124.82	5864.9

同栏标以不同字母的数据在 5%水平上差异显著。

Values in a column followed by different letters are significantly different at *P* < 0.05.

$W_2>W_3$, 拔节至抽穗期为 $W_2>W_1>W_3$, 且各施氮水平下, 随施氮量的增加, 植株氮累积量的增幅呈先大后小的变化趋势。从水氮处理对水稻产量的影响来看, 产量以 W_2N_{180} 处理最高, 施氮过多(N_{270})和 W_3 处理均会导致产量的下降。两年的数据差异不显著, 趋势一致(表 2)。

2.2.2 水氮互作对氮素吸收及利用效率的影响

由表 3 可知, 各水氮处理对水稻总吸氮量、氮素干物质生产效率、稻谷生产效率、氮肥回收率及农艺效率的影响均达极显著水平, 且存在显著或极显著的水氮互作效应。成熟期总吸氮量、稻谷生产效率平均值均表现为 $W_2>W_1>W_3$, 氮素干物质生产效率表现为 $W_3>W_2>W_1$, 说明合理地减少灌水量并不会减少水稻的吸氮量, 甚至对氮素吸收及利用有一定的促进作用。各氮肥水平下, 水稻总吸氮量的增幅除 W_1 和 W_2 在 $N_{180}\sim N_{270}$ 差异不显著外, 其余各处理均随施氮量的提高而显著增加, 但干物质生产效率、稻谷生产效率在各灌水方式下均随施氮量的增加而下降; 氮肥回收率和农艺效率则随施氮量的增加表现出先增加后降低的趋势, 施氮量为 N_{180} 时达

到最大值, 在此基础上再增加施氮量会导致氮肥回收率和农艺效率的下降, 表明施氮有利于提高氮素积累总量, 但使干物质生产效率、稻谷生产效率下降; 增施氮肥并不一定导致回收效率和农艺效率的下降, 只有当增施的氮肥不能显著地增加氮素积累量时才导致利用效率的显著下降。

2.3 水氮互作下氮素利用及产量与氮代谢酶活性间的关系

2.3.1 功能叶含氮量与氮代谢酶活性的相关性

表 4 表明, 除分蘖盛期功能叶 NR 活性与氮含量相关不显著外, 其余各氮代谢酶活性与同叶氮含量的相关性均达显著或极显著水平, 但不同生育时期的相关系数不同; 功能叶 NR、GS 和 GOGAT 活性与同叶氮含量正相关, 其最大相关系数均在抽穗期, 而功能叶 EP 活性与氮含量负相关, 最大负相关系数出现在水稻成熟期。

2.3.2 氮素吸收利用及产量与氮代谢酶活性的相关性 表 4 表明, 各生育期水稻氮积累量与产量的相关性, 除分蘖盛期末达显著水平外, 其余各时期均显著或极显著正相关, 且随生育进程相关性增强,

表 3 水氮互作对氮素吸收与利用效率的影响
Table 3 N uptake and utilization efficiency under water-nitrogen interaction

灌水方式 Irrigation method	施氮量 Nitrogen rate	氮素积累总量 TNA (kg hm ⁻²)	氮素干物质生产效率 NMPE (kg kg ⁻¹)	氮素稻谷生产效率 NPE (kg kg ⁻¹)	氮肥农艺效率 NAE (kg kg ⁻¹)	氮肥回收效率 NRE (%)
W ₁	N ₀	90.01 ef	127.38 b	69.75 ab	—	—
	N ₉₀	127.49 cd	108.09 de	56.70 d	10.57 b	41.65 bc
	N ₁₈₀	176.55 b	104.58 def	51.79 def	15.92 a	48.08 a
	N ₂₇₀	196.10 a	96.07 f	44.27 fg	8.90 bc	39.29 cd
	平均 Average	147.54	109.03	55.63	11.08	43.01
W ₂	N ₀	94.18 e	130.50 b	72.24 a	—	—
	N ₉₀	133.86 c	113.91 cd	58.36 cd	11.20 b	44.09 b
	N ₁₈₀	184.32 ab	105.45 de	52.94 de	16.41 a	50.08 a
	N ₂₇₀	200.72 a	98.62 ef	46.17 ef	9.13 bc	39.46 c
	平均 Average	153.27	112.12	57.43	12.24	44.54
W ₃	N ₀	74.98 f	142.62 a	64.71 bc	—	—
	N ₉₀	107.41 de	123.56 bc	51.88 def	8.00 c	36.04 cd
	N ₁₈₀	146.03 c	112.40 cd	46.22 ef	10.54 b	39.47 c
	N ₂₇₀	170.86 b	99.02 ef	36.79 g	5.31 d	35.51 d
	平均 Average	124.82	119.40	49.90	7.95	37.01
F 值	W	28.40**	11.73**	23.81**	65.62**	33.82**
F-value	N	351.58**	62.75**	146.50**	180.19**	39.63**
	W×N	5.14**	3.23*	4.79*	10.15**	7.49**

W: 灌水方式; N: 施氮量; W×N: 水氮互作。

TNA: total N accumulation; NMPE: N dry matter production efficiency; NPE: N production efficiency; NAE: N agronomy efficiency; NRE: N recovery efficiency; W: irrigation method; N: nitrogen rate; W×N: water-nitrogen interaction.

表 4 各生育期功能叶含氮量及稻株氮积累量与氮代谢酶活性的相关性

Table 4 Correlations of N content and N accumulation with N metabolism enzyme activities in functional leaves at different growth stages

指标 Index	生育期 Growth stages			
	分蘖盛期 TS	拔节期 ES	抽穗期 HS	成熟期 RS
NL-NR	0.391	0.884**	0.947**	0.585*
NL-GS	0.959**	0.910**	0.972**	0.757**
NL-GOGAT	0.957**	0.906**	0.966**	0.729**
NL-EP	-0.607*	-0.546*	-0.804**	-0.846**
N-产量 N-Yield	0.462	0.701*	0.807**	0.829**
N-NR	0.339	0.864**	0.897**	0.675*
N-GS	0.797**	0.895**	0.923**	0.798**
N-GOGAT	0.812**	0.872**	0.925**	0.775**
N-EP	-0.248	-0.617*	-0.708*	-0.729**

NL-NR、NL-GS、NL-GOGAT 和 NL-EP 表示功能叶含氮量分别与同生育期下 NR、GS、GOGAT 和 EP 活性的相关；N-产量、N-NR、N-GS、N-GOGAT 和 N-EP 表示各生育期氮素积累量分别与产量及同生育期下 NR、GS、GOGAT 和 EP 活性的相关性。

TS: tillering stage; ES: elongation stage; HS: heading stage; RS: ripening stage. NL-NR, NL-GS, NL-GOGAT, and NL-EP denote correlations between N content of leaves and NR, GS, GOGAT, and EP enzyme activities at the same growth stage; N-Yield, N-NR, N-GS, N-GOGAT, and N-EP denote correlations of N accumulation of rice with yield and NR, GS, GOGAT, and EP enzyme activities at the same growth stages, respectively.

说明水稻各生育期氮积累量与产量关系密切；而在拔节至成熟期，水稻氮积累量与功能叶同化酶及分解酶活性也存在显著或极显著的相关性，相关系数最大的时期分别在抽穗期、成熟期。

表 5 表明，除分蘖盛期功能叶 NR 活性与水稻产量及氮素积累总量不显著相关外，其余各时期 NR、GS 及 GOGAT 与水稻产量及氮素积累总量均存在显著或极显著正相关，但 3 种氮同化酶与氮素积累总量的相关性要明显高于对产量的影响，使产量与氮素积累总量比值降低，是导致稻谷生产效率、干物

质生产效率与 3 种氮同化酶负相关的主导原因。EP 对水稻产量、氮素积累总量、稻谷生产效率及干物质生产效率的相关性与同化酶规律相反，表明 EP 活性的提高能促进有机氮的分解和转运，提高氮素稻谷生产效率及干物质生产效率。不同生育期功能叶氮代谢酶活性与氮肥回收效率、氮肥农艺效率的相关性不同，在抽穗期和成熟期，功能叶 NR、GS 及 GOGAT 活性与氮肥回收效率、氮肥农艺效率的相关性均达显著或极显著水平，而 EP 活性只在抽穗期与氮肥回收效率、氮肥农艺效率显著负相关。

表 5 水稻产量及氮效率与各生育期功能叶氮代谢酶活性的相关性

Table 5 Correlations of N use efficiency and yield with N metabolism enzyme activities in functional leaves at different growth stages

指标 Index	分蘖盛期 TS	拔节期 ES	抽穗期 HS	成熟期 RS	分蘖盛期 TS	拔节期 ES	抽穗期 HS	成熟期 RS
NR					GS			
产量 Yield	0.557	0.903**	0.910**	0.867**	0.819**	0.801**	0.888**	0.764**
TNA	0.537	0.958**	0.906**	0.675*	0.956**	0.897**	0.974**	0.798**
NMPE	-0.405	-0.844**	-0.814**	-0.556	-0.827**	-0.803**	-0.883**	-0.692*
NPE	-0.271	-0.509	-0.622*	-0.200	-0.709**	-0.685**	-0.616*	-0.588*
NRE	0.089	0.453	0.599*	0.654*	0.328	0.499	0.676*	0.726**
NAE	0.165	0.568*	0.678*	0.708*	0.368	0.534	0.654*	0.777**
GOGAT					EP			
产量 Yield	0.784**	0.779**	0.856**	0.726**	-0.438	-0.857**	-0.826**	-0.739**
TNA	0.940**	0.886**	0.970**	0.775**	-0.413	-0.536	-0.707*	-0.729**
NMPE	-0.874**	-0.812**	-0.864**	-0.649*	0.536	0.501	0.718**	0.792**
NPE	-0.704*	-0.650*	-0.605*	-0.575*	0.238	0.679*	0.580*	0.590*
NRE	0.375	0.494	0.643*	0.655*	-0.456	-0.371	-0.598*	-0.450
NAE	0.450	0.573*	0.659*	0.721**	-0.313	-0.389	-0.561*	-0.438

TNA: 氮素积累总量; NMPE: 氮素干物质生产效率; NPE: 氮素稻谷生产效率; NRE: 氮肥回收效率; NAE: 氮肥农艺效率。

TS: tillering stage; ES: elongation stage; HS: heading stage; RS: ripening stage; TNA: total N accumulation; NMPE: N dry matter production efficiency; NPE: N production efficiency; NRE: N recovery efficiency; NAE: N agronomy efficiency.

3 讨论

各种植物对氮素的吸收与利用必须经过一系列的氮代谢酶(NR、GS、GOGAT及EP)参与的反应和转化来完成^[7-8]。NR是植物器官中硝态氮还原同化过程中第一个酶和限速酶^[7]，GS-GOGAT循环是植物体内 NH_4^+ 同化的主要途径，是整个氮代谢的中心^[7,13]，蛋白质降解由内肽酶(EP)和外肽酶共同完成，EP活力的变化与蛋白质的降解密切相关^[14]。本研究结果表明，在生育前中期，与 W_1 和 W_3 相比， W_2 处理显著提高了NR活性；并且分蘖盛期 W_3 也明显高于 W_1 ，这可能与土壤通气状况有关^[7]，拔节期由于 W_3 相对于其他灌水处理处于严重的水分亏缺状态导致NR活性显著下降；表明适度的水分胁迫、良好的土壤通气状况能够改善NR活性，而严重水分亏缺会导致其活性的降低^[15]。拔节期前GS活性为 $W_1 > W_2 > W_3$ ，这有利于 W_1 处理拔节期前功能叶氮积累(图2-E)、植株氮积累(表2)，但由于长期淹灌不利于根系活力的提高，造成根系过早衰老，使根系对养分的吸收能力降低^[16]，导致水稻体内EP活性增高，功能叶氮含量、植株氮累积量增幅降低；抽穗期 W_2 处理下GS活性最高，能充分同化由NR催化所产生的 NH_4^+ ，并及时转入蛋白质，促使 W_2 处理在抽穗期前后对氮素的吸收比例较大，提高氮素干物质生产效率及稻谷生产效率(表3)。本研究结果还表明，随施氮量的提高，各生育期水稻叶片NR、GS、GOGAT活性及氮含量有提高的趋势，但施氮量过高会导致NR、GS、GOGAT活性增幅变缓；EP活性随氮肥水平的提高呈下降趋势，过高的氮肥不利于结实期水稻叶片和植株中蛋白质的降解及运转。但水稻不同生育期各氮代谢酶活性对不同水氮处理的响应是否存在一定的协同关系还有待进一步研究。

何园球等^[17]研究观察到，不同的水磷处理下，水稻在61~120 d对磷素的吸收及地上部物质的积累存在极显著的交互作用。本试验的不同水氮处理对水稻各生育期氮素积累、最终产量及氮利用效率也存在显著或极显著的互作效应(表2和表3)，进一步证实了王绍华等^[5]和陈新红等^[6]的研究结果。此外，水氮对水稻各生育期功能叶氮代谢酶活性(成熟期NR酶除外)、功能叶氮含量(分蘖盛期除外)也存在显著或极显著的互作效应(表1)，且水氮互作下各氮代谢酶活性与氮素利用特征及产量显著或极显著

的相关(表4和表5)，存在最佳的水氮运筹模式； W_2 处理不仅有助于拔节至抽穗期水稻吸氮，而且与施氮量为 N_{180} 耦合能充分发挥水氮耦合的优势，达到提高氮代谢酶活性、促进产量的增加、提高氮利用效率的目的，表明在一定的氮肥水平上，轻度的水分胁迫下维持氮代谢关键酶活性、促进稻株氮代谢水平、保证稻株的产量以及减少稻田氮素的损失在生产上是可行的；另外，良好的水层灌溉以及旱种条件下，水稻都不宜过多施用氮肥，否则不仅会对水稻的产量、氮代谢反应及转化造成不利的影响，而且会增加生产成本，造成氮肥的浪费和环境污染。因此，在满足水稻对氮肥需求的前提下，施氮量对淹灌条件以 180 kg hm^{-2} 为宜，旱种条件下以 $90\sim 180 \text{ kg hm}^{-2}$ 为宜。

选择能直接评价氮肥利用率及产量的指标对作物氮利用效率的评价和氮高效、高产品种的筛选具有重要意义^[18]，在作物栽培中，林振武等^[19]研究表明功能叶中NR活性即可代表水稻体内NR的水平，洪剑明等^[20]把NR活性作为诊断小麦的营养指标和一项施肥指标，胡健等^[21]认为结实期水稻叶片EP活性可以作为水稻灌浆特征以及产量构成及品质的指标。从本研究来看，水氮互作下各生育期功能叶氮同化酶(NR、GS、GOGAT)活性(分蘖盛期NR除外)与同叶氮含量、同时期植株氮素累积量均呈显著或极显著正相关性；EP与同叶氮含量、同时期植株氮素累积量(分蘖盛期除外)均呈显著或极显著负相关性，4种氮代谢酶中，以功能叶GS活性与各生育期植株氮累积量具有极显著的相关性，表明可以通过各生育期叶片内GS活性作为判断水稻各生育期氮素积累的差异指标；而为了能进一步简洁明确地反映水稻产量和氮效率的情况，根据相关分析结果(表5)，可将抽穗期作为重要时期，测定其剑叶各氮代谢酶活性来综合评判产量及氮效率，这较通过测定特定生育期的某一种氮代谢酶活性来判断水稻产量及氮效率更为准确。

4 结论

水氮对水稻各生育期氮代谢酶活性、氮素吸收利用及产量有显著的互作效应，且水氮互作下各氮代谢酶活性与氮素利用特征及产量存在显著或极显著的相关性，据此可选取各生育期功能叶GS活性作为判断水稻各生育期氮素累积量的指标；选取抽穗期剑叶各氮代谢酶活性来综合评判产量及氮效

率。此外, W_2 处理不仅有助于提高拔节至抽穗期水稻吸氮量, 而且与施氮量为 N_{180} 耦合能达到增产、提高氮利用效率的目的, 为本试验最佳的水氮耦合运筹方式; 而淹灌条件下, 施氮量以 180 kg hm^{-2} 为宜, 旱种条件下, 施氮量可适当降至 $90\sim 180 \text{ kg hm}^{-2}$ 为宜。

References

- [1] Yang J-C(杨建昌), Yuan L-M(袁莉民), Chang E-H(常二华), Wang Z-Q(王志琴), Liu L-J(刘立军), Zhu Q-S(朱庆森). Effect of dry-wet alternate irrigation on rice quality and activities of some enzymes in grains during the filling. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2005, 31(8): 1052–1057 (in Chinese with English abstract)
- [2] Zhang R-P(张荣萍), Ma J(马均), Wang H-Z(王贺正), Li Y(李艳), Li X-Y(李旭毅), Wang R-Q(汪仁全). Effects of different irrigation regimes on some physiology characteristics and grain yield in paddy rice during grain filling. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2008, 34(3): 486–495 (in Chinese with English abstract)
- [3] Ding Y-F(丁艳锋), Liu S-H(刘胜环), Wang S-H(王绍华), Wang Q-S(王强盛), Huang P-S(黄丕生), Ling Q-H(凌启鸿). Effects of the amount of basic and tillering nitrogen applied on absorption and utilization of nitrogen in rice. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2004, 30(8): 762–767 (in Chinese with English abstract)
- [4] Zeng Y-J(曾勇军), Shi Q-H(石庆华), Pan X-H(潘晓华), Han T(韩涛). Effects of nitrogen application amount on characteristics of nitrogen utilization and yield formation in high yielding early hybrid rice. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2008, 34(8): 1409–1416 (in Chinese with English abstract)
- [5] Wang S-H(王绍华), Cao W-X(曹卫星), Ding Y-F(丁艳锋), Tian Y-C(田永超), Jiang D(姜东). Interactions of water management and nitrogen fertilizer on nitrogen absorption and utilization in rice. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2004, 37(4): 497–501 (in Chinese with English abstract)
- [6] Chen X-H(陈新红), Liu K(刘凯), Xu G-W(徐国伟), Wang Z-Q(王志琴), Yang J-C(杨建昌). Effects of nitrogen and soil moisture on photosynthetic characters of flag leaf, yield and quality during grain filling in rice. *J Shanghai Jiaotong Univ* (Agric Sci) (上海交通大学学报-农业科学版), 2004, 22(1): 48–53 (in Chinese with English abstract)
- [7] Lu J-L(陆景陵). Plant Nutrition (植物营养学). Beijing: China Agricultural University Press, 2003. pp 23–35 (in Chinese)
- [8] Lam H M, Coschigano K T, Oliveira I C. The molecular-genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1996, 47: 569–593
- [9] Li H-S(李合生). Experimental Principle and Technique for Plant Physiology and Biochemistry (植物生理生化实验原理和技术). Beijing: Higher Education Press, 2000. pp 125–127 (in Chinese)
- [10] Lea P J, Blackwell R D, Chen F L. Enzymes of primary metabolism. In: Harborne J B ed. *Methods in Plant Biochemistry*. Vol. 3. New York: Academic Press, 1990. pp 260–273
- [11] Singh R D, Srivastava H S. Increase in glutamate synthase (NADH) activity in maize seedlings in response to nitrate and ammonium nitrogen. *Physical Plant*, 1986, 66: 413–416
- [12] Gao L(高玲), Ye M-B(叶茂炳), Zhang R-X(张荣铤), Xu L-L(徐朗莱). Endopeptidases in wheat leaves during aging. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学), 1998, 24(2): 183–188 (in Chinese with English abstract)
- [13] Mo L-Y(莫良玉), Wu L-H(吴良欢), Tao Q-N(陶勤南). Research advances on GS/GOGAT cycle in higher plants. *Plant Nutr Fert Sci* (植物营养与肥料学报), 2001, 7(2): 223–231 (in Chinese with English abstract)
- [14] Chen S H, Kao C H. The role of proteolytic enzymes in protein degradation during senescence of rice leaves. *Physiol Plant*, 1984, 62: 231–237
- [15] Munjal N, Sawhney S K, Sawhney V. Activation of nitrate reductase in extracts of water stressed wheat. *Phytochemistry*, 1997, 45: 659–665
- [16] Yue S-S(岳寿松), Yu Z-W(于振文), Yu S-L(余松烈). Senescence of flag leaf and root in wheat. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1996, 22(1): 55–58 (in Chinese with English abstract)
- [17] He Y-Q(何园球), Li C-L(李成亮), Wang X-X(王兴祥), Xiong Y-S(熊又升), Shen Q-R(沈其荣). Effect of soil moisture content and phosphorus application on phosphorus uptake by cultivated in aerobic soil. *Acta Pedol Sin* (土壤学报), 2005, 42(4): 628–633 (in Chinese with English abstract)
- [18] Peng S B, Huang J H, Zhong X H, Yang J C, Wang G H, Zou Y B, Zhang F S, Zhu Q S, Buresh R, Witt C. Challenge and opportunity in improving fertilizer-nitrogen use efficiency of irrigated rice in China. *Agric Sci China*, 2002, 1(7): 776–785
- [19] Lin Z-W(林振武), Tang Y-W(汤玉玮). Regulation of nitrate reductase activity in rice. *Chem Sci China*, 1989, 19(4): 379–385
- [20] Hong J-M(洪剑明), Chai X-Q(柴小清), Zeng X-G(曾晓光), Zhang C-Q(张承谦), Li D(李丹), Yin L-P(印莉萍), Huang Q-N(黄勤妮), Chu W-R(储望瑞), Zhao W-P(赵微平). Studies on nitrate reductase activity between nutrition diagnosis and variety breeding of wheat. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1996, 22(5): 633–637 (in Chinese with English abstract)
- [21] Hu J(胡健), Yang L-X(杨连新), Zhou J(周娟), Wang Y-L(王余龙), Zhu J-G(朱建国). Effect of free air CO_2 enrichment (FACE) and nitrogen level on endopeptidase activities in rice leaves during grain filling stage. *Chin J Rice Sci* (中国水稻科学), 2008, 22(2): 155–160 (in Chinese with English abstract)