第29卷 第1期
1992年2月

土 壤 学 报
ACTA PEDOLOGICA SINICA

Vol. 29, No. 1
Feb., 1992

不同水稻品种对低氮反应的差异及其机制的研究

杨肖娥　　孙羲
(浙江农业大学植物营养研究室,310029)

摘　　要

在低氮(中度缺乏)和高N(丰足)条件下，地上部干物质生长量和稻谷产量在供试品种间的差异顺序为：汕优64>汕优6号>浙丽1号>秀水48，其中杂交稻与常规稻的差异最大，低N条件下的差异又比高N条件下的明显。结果还表明在低N条件下产量较高的品种吸收利用土壤中N素能力较强，其相关的生物学和生理学特征为：1.根系发达，根系生长量、分布密度以及根对 NH_4^+ 的亲和力均较大；2.地上部干物质生产量和功能叶氮、碳同化代谢关键酶，即硝酸还原酶，各氨酸合酶，RuBP 羧化酶的活力均较高。此外 RuBP 羧化酶活力以及其水平受氮素的提高效应也 N-高效品种较明显。这些特性均可以作为筛选和鉴别 N-高效作物基因型的生理生化指标。

关键词　氮素营养，米氏常数，根形态谷氨酸合酶，RuBP 羧化酶，水稻品种

水稻是我国的主要粮食作物，随着品种的不断更新，使不同品种对氮肥的反应差异很大。一般而言，高秆水稻品种对氮肥的反应较矮秆品种敏感，籼稻又较粳稻敏感。前人的研究证明杂交水稻对氮肥反应比常规稻品种敏感[1,2]。在低中氮条件下杂交水稻的产量明显高于常规稻，生产千斤稻谷杂交水稻比常规水稻品种需要较少的N和 P[4,21]。但是，关于对氮素反应尤其是低氮反应品种间差异的机制的研究，至今报道尚少。本研究选用对氮肥反应不同的四种水稻品种，在不同供氮条件下研究其产量，吸氮量以及有关的形态，生理方面的差异，探讨氮-高效水稻品种的营养生理基础。

一、材料与方法

(一) 大田试验　选用水稻品种为：汕优6号，汕优64，浙丽1号，秀水48。设二个N水平：不施N肥 (N_0)，每 m^2 施N 15 g (N_1)。土壤为华家池的小粉土，其农化性质见表1。肥料处理为主区(83.35 m^2)，品种为付区 (16.67 m^2)，裂区排列，重复四次。为了使各品种中后期的生育期基本一致，杂交稻比常规稻提前10天播种，其它的栽培管理均同大田生产。根系形态研究采用了聚乙烯薄膜根箱技术[4]，以免根系的损伤。

(二) 水培和砂培试验　选用的水稻品种与大田试验的相同。种子经402消毒，在湿滤纸上发芽，在尼龙网上育秧至8天龄，移栽到盆钵中，每盆4株，加营养液3 kg，每周更换一次，营养液的配方见吉田昌[5]。砂培试验设二个N水平：N_1 为10 mg kg^{-1}N，N_2 为40 mg kg^{-1}N，分蘖期加倍，每盆加营养液2.5kg，其它的条件及管理均与水培试验相同。

(三) 测定方法　NH_4^+ 吸收动力学参数：采用改进的常规耗竭法[6]。吸收的稻苗首先在纯蒸馏

水中处理二天。吸收溶液用分析纯 $(NH_4)_2SO_4$ 和 0.2 mmol L^{-1} $CaSO_4$ 溶液配制。浓度系列为 0.04，0.1，0.2，0.6，1.0 和 2.0 mmol L^{-1}，pH6.0，试验重复三次。4 株 22 天龄的秧苗于 250 ml，1 株 63 天龄的稻苗于 500ml 系列溶液中吸收 2 小时。吸收试验光强为 18000 lx，温度为 25℃。溶液中 NH_4^+ 浓度用比色法测定[7]，双倒数法计算 V_{max} 和 K_m 值[19]。硝酸还原酶和谷氨酸合酶活力：各生育期的整株稻苗在 50mmol L^{-1} KNO_3 溶液，18000 lx，25℃ 下诱导 24 小时(其中黑暗12小时)，体外法测定功能叶中硝酸还原酶活力[8]。谷氨酸合酶活力的测定参照郑朝峰[9]和 Suzuki 等人[29]的方法，重复三次。RuBP 羧化酶活力及酶蛋白含量：RuBP 羧化酶活力测定按李立人等(1986)[10]^{14}C同位素法。RuPB 羧化酶定量采用火箭免疫电泳法 (Laurell, 1981)[26]，琼脂糖浓度1%，抗血清浓度 0.5%，凝胶缓冲液 pH 8.6，稳压 60V，电泳 10 小时。在 40℃ 左右干燥后用 Reinser (1984)[27] 方法染色，测量沉淀峰高度，以纯化的水稻 RuBP 羧化酶为标准。植物组织中含氮量用凯氏法测定，根系体积用容量法，根系的总长度是根数与平均根长的积。

表 1 供试土壤的农业化学性质

Table 1 Agrochemical properties of the soil tested

土壤深度 Soil depth (cm)	前作 Preceeding crop	pH	有机质 O.M (g/kg)	水解氮 Hydrolyzable N (mg N/kg)	交换态 NH_4^+ Exchangable NH_4^+ (c me/kg)	有效磷 Avail. P (mg/kg)	有效钾 Avail. K (mg/kg)
0—20	wheat	6.1	20.1	94.5	2.116	59.4	52.4
20—5—	小麦	7.0	10.2	52.7	0.824	39.4	35.6

* 水解氮-碱解扩散法；有效磷- olsen 法。

二、试 验 结 果

(一) 干物质生长量和稻谷产量在品种之间的差异

在中度缺N (低N) 和供N丰足(高N)条件下，本田各生育期地上部干物质生长量在供试品种之间的变化为：汕优 64>汕优 6 号>浙丽 1 号>秀水 48，其中杂交稻与常规稻间的差异较明显，在生育前中期，杂交稻平均比二个常规稻高达 40—60% (图 1)。从图 1 中还可见，干物质生长量在品种间的差异幅度，尤其是杂交稻与常规稻间的差异幅度，生育前中期比中后期明显，低N处理又比高N处理明显。

稻谷产量在品种之间的差异顺序与干物质生长量相同，其中杂交稻与常规稻品种的平均差异低N处理前者为后者的 1.30 倍，高N处理为 1.21 倍 (表 2)，表明在低N条件下

表 2 不同水稻品种在低 N和高N条件下的稻谷产量

Table 2 Grain yields of different rice varieties at low and high N levels

品 种 Variety	稻谷产量 Grian yield (Ton/ha)	
	N_0	N_1
汕优 64	8.08	8.71
汕优 6 号	7.83	8.82
浙丽 1 号	6.34	7.45
秀水 48	5.87	6.94

品种之间的差异更为明显。

（二）不同水稻品种根系特性的差异

1. 根系的生长和形态特性　表 3 指出，在低N和高N条件下根系生长量，体积以及在土壤中的分布密度在品种之间的变化均为：汕优 64＞汕优 6 号＞浙丽 1 号＞秀水 48。杂交稻和常规稻根系生长量的差异 N_0 为 28%，N_1 则为 14%，根系分布密度的差异N_0 为 50%，N_1则为 31%，同样根系体积品种间差异也是N_0处理大于N_1 处理。吸N量在杂交稻和常规稻间的差异 N_0 为 31%，N_1为 20%左右。若将吸N量与根系生长量体积及分布密度分别相关分析，证明均达显著的正相关。

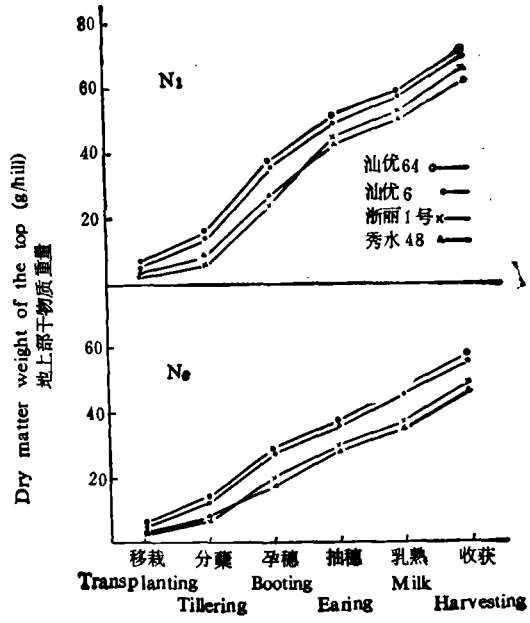


图 1 不同水稻品种地上部干物质生产在不同生育期中的变化

Fig. 1 Dry matter production of the top at different growth stages among rice varieties

2. 根吸收 NH_4^+ 的动力学特征　供试四个品种在不同 NH_4^+ 浓度下的吸收速率符合酶动力学模型-Michalis-Mentern 方程。在22和63天龄中，NH_4^+ 吸收的最大速率（V_{max}）除汕优 6 号与秀水 48 之间差异显著以外，其它品种间的差异均不明显。然而，NH_4^+ 吸收的米氏常数（K_m）在品种间的差异顺序为：秀水 48＞浙丽 1 号＞汕优 6 号＞汕优 64，其中杂交稻与常规稻间的差异达极显著水平。可见，杂交稻根对 NH_4^+ 的亲和力明显大于常规稻品种，这很可能是杂交稻在低N条件下吸N能力较强的重要生理基础之一。

表 3　不同水稻品种在 t_1-t_2 期间吸 N量和某些根形态参数的变化

Table 3 N uptake and several root morphological parameters of different rice varieties from t_1 to t_2

品种 Variety	N水平 N level	吸N量 N uptake (mgN/hill)	根鲜重 Root fresh weight (g/hill)	根体积 Root volume (cm^3/hill)	根密度 Root density (cm/cm^3 soil)
Shanyou 64	N_0	195.01	147.31	35.58	0.485
Shanyou 6		185.74	143.17	34.65	0.455
Zheli 1		145.99	116.92	27.31	0.340
Xiushui 48		125.32	109.92	24.20	0.257
Shanyou 64	N_1	375.04	158.77	36.48	0.501
Shanyou 6		365.53	157.90	36.31	0.499
Zheli 1		320.45	148.59	30.60	0.414
Xiushui 48		300.48	129.45	27.11	0.332

* t_1,t_2——15 and 75 days after transplanting respectively

表 4 不同水稻品种 NH_4^+ 吸收动力学的参数

Table 4 Kinetic parameters of NH_4^+ uptake among rice varieties

品种 Variety	最大速率 V_{max} (μmol/g fresh weight/h)		米氏常数 K_m(μM)	
	22 days	63 days	22 days	63 days
Shanyou 64	16.66 a	5.15 a	63.2 A	166·4 A
Shanyou 6	16.42 ab	5.37 ab	60.6 A	152.7 A
Zheli 1	15.40 ab	5.01 ab	73.1 B	244.2 B
Xiushui 48	13.95 b	4.74 b	79.6 B	262.2 B

(三) 不同水稻品种功能叶中氮、碳同化代谢活力的差异

1. 氮素同化酶的活力　硝酸还原酶是 NO_3^- 同化为 NH_3 过程中的限速酶[3,22]，谷氨酸合酶(GS)是氨同化过程中的限速酶[9,23,29]。在低氮和高氮条件下，分蘖，孕穗和抽穗期功能叶中硝酸还原酶和谷氨酸合酶活力在品种间的变化顺序为：汕优 64>汕优 6 号>浙丽 1 号>秀水 48，其中杂交稻与常规稻之间的差异较大，硝酸还原酶活力的差异平均为40—60%；谷氨酸合酶活力为 40—70%(图 2，图 3)。不同N水平比较，低N处理品种间差异程度略大于高N处理。表明杂交稻功能叶中硝酸盐和氨同化作用强度，无论在低N还是在高N条件下，均比常规水稻品种占绝对优势。这是其在中低N条件下吸收利用氮素能力较强的重要生理基础之一。

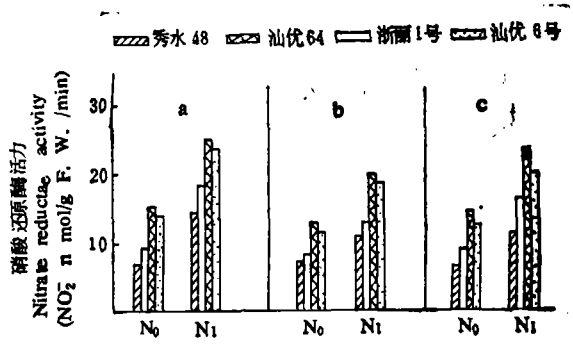
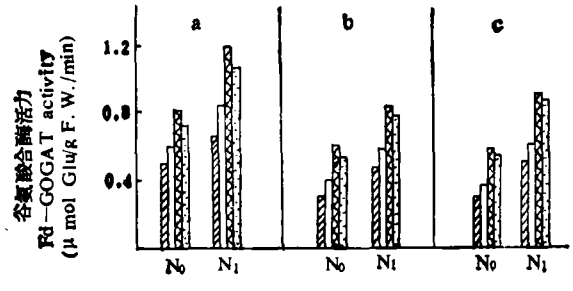


图 2 各生育期功能叶中硝酸还原酶活力在品种之间的差异

Fig. 2 Nitrate reductase activity of the younges texpanded leaves at various growth stages among rice varieties

2. 碳素同化酶活力　RuBP 羧化酶既是光合作用的限速因子[20]，又是氮素代谢的关键酶。在缺 N(10 mgkg^{-1})和高 N(40 mg kg^{-1}) 条件下，孕穗期功能叶片中 RuBP 羧化酶活力在品种间的变化为：汕优 64>汕优 6 号>秀水 48>浙丽 1 号，其中杂交稻与常规稻间的差异，缺N条件 (N_1) 下为 40% 左右，高N条件下达 1 倍之多 (表 5)。表 5 还指出，



a、b、c -分别为分蘖期、孕穗期、抽穗期
其它图例同图 2

图 3 各生育期功能叶中谷氨酸合酶活力在水稻品种之间的差异

Fig. 3 Glutamate synthase (Fd-GOGAT) activity of the youngest expanded leaves at different growth stages amond rice varieties

RuBP 羧化酶蛋白含量在品种之间的差异顺序与其酶活力相同，杂交稻与常规稻间的差异 N_1 为 25%，N_2 达 1 倍。显然，对N素反应较敏感的品种不仅在缺N和高N条件下具有较高的 RuBP 羧化酶活力，而且此酶活力受N素提高效应也较大。

表 5　孕穗期功能叶 RuBP 羧化酶活力及其含量在水稻品种之间的差异

Table 5　Changes in the activities and the contents of RuBP carboxylase of the youngest expanded leavesat booting stage among

品种 Variety	RuBP 羧化酶水平 RuBPcase content (mg N/g fresh weight)		RuBP 羧化酶活力 RuBPcase activity (mg CO_2/g fresh weight/h)	
	N_1(10mg kg^{-1})	N_2(40mg kg^{-1})	N_1(10mg kg^{-1})	N_2(40mg kg^{-1})
汕优 6 号	7.96	15.48	13.65	39.48
汕优64	8.12	16.60	14.68	41.53
浙丽 1 号	6.16	7.88	9.29	12.90
秀水48	6.60	8.28	10.97	17.21

三、讨　论

在低N或中N条件下产量（包括生物产量和籽粒产量）较高的作物基因型或品种称N-高效品种，而在低N条件下产量较低的品种称 N-低效品种。一般而言 N-高效品种的营养作用可能与下列两种机制有关：(1)吸收及利用土壤中N素能力较强，即在较低有效养分条件下，能吸收较多养分。(2) 利用氮素效率较高，即生产单位干物质需较少的N素。就本试验供试几个品种而言，地上部及功能叶中含N量(%干重)，杂交稻大于常规稻，干物质生产过程中N素利用效率品种之间无明显差异，然而地上部吸N量的差异达 30—60%[18]。众多的研究结果指出杂交稻地上部，功能叶中N浓度比常规稻占有明显的优势[11-13,18]。这表明杂交稻在低中氮条件下产量较高主要与其吸N效率和吸收利用N素能力较强密切相关，其可能的生理机制如图 4 所示。

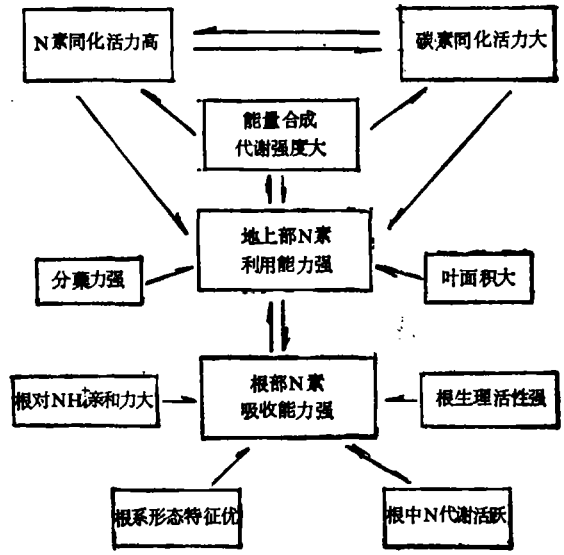


图 4　杂交水稻吸收和利用氮素优势可能的生理机制

Fig. 4 Physiological mechanism of the heterosis of the hybrid rice in N uptake and utilization

杂交稻根系对氮素的吸收能力较强主要与其根系的形态和生理特性有关。本试验以及其它的研究已表明，杂交稻不仅具有优越的根形态特征，其根系长度[2,14]、体积、分布密度[2,4,11]和有效吸收面积[14]均较大，而且具有占优势的根系生理代谢活性，其根细胞中有氧呼吸

和能量代谢活力较大[4]，伤流液中氨基酸总量较高，种类也较多[2,14]。这些均有利于杂交稻根系与耕层及底层土壤接触，提高其对土壤中N的吸收能力。吸收动力学参数即米氏常数（K_m）和最大吸收速率（V_{max}）常用来表示根系吸收离子的效率[25]和基因型适应土壤营养条件的能力[24]。V_{max} 较大，K_m 值较小及根重较大的水稻品种吸氮能力也较强[15]。可见，杂交稻具有较大根系生长量，较小 K_m 值是其在低中N土壤中吸N效率较高的重要生理基础之一。

杂交稻地上部对氮素利用能力较强主要与其分蘖力、叶面积[16]以及功能中碳、氮同化代谢活力较大密切相关。业已证明杂交稻单株吸氮优势主要与其干物质生长量优势密切相关[28]。本研究已表明杂交稻地上部干物质生长量在各生育期均大于常规品种，功能叶片中碳、氮同化代谢关键酶活力也是杂交稻占明显优势。据林振武(1986)[17]研究，水稻不同品种硝酸还原酶活力的差异主要由于其酶蛋白含量不同所致，本研究结果也证明杂交稻与常规稻间 RuBP 羧化酶活力的差异主要归因于其酶蛋白水平不同。可见，杂交稻地上部生长旺盛，功能叶碳氮代谢强度较大，使其生理需N量也较高，另一方面，氮水平对杂交稻碳同化代谢（RuBPC）促进效应也明显大于常规品种，碳氮代谢的相互促进的结果，更提高了地上部对氮素的利用能力，从而又促进根对土壤中N素的吸收。这也是在高氮条件下，杂交稻比常规稻更容易吸氮过量，导致倒伏减产的主要原因。

参 考 文 献

[1] 李泽炳等，1981：杂交稻的研究与实践。212—238 页，上海科技出版社。

[2] 陆定志 1984：杂交稻及其优势利用的生理基础。植物生理生化进展，第 3 期，1—21 页。

[3] 林振武、郑朝峰等，1986：硝酸还原酶活力与作物耐肥性的研究。II. 籼、粳稻对硝态氮的吸收和同化。作物学报，第 12 卷 1 期，9—14 页。

[4] 杨肖娥、孙毅，1988：连晚杂交水稻根系生理特性的研究 杂交水稻国际学术讨论会论文集，159—164 页，学术期刊出版社。

[5] 吉田昌-福尔诺 D.A, 1975：水稻生理手册。科学出版社。

[6] 倪晋山、安林昇，1984：三系杂交稻幼苗NH_4^+、K^+吸收的动力学分析。植物生理学报，第 4 卷第 4 期，381—390页。

[7] 中科院南土所，1978：土壤理化分析。402—403 页，上海科技出版社。

[8] 林振武、孙惠珍、陈敬祥，1985：硝酸还原酶活力的体外测定。植物生理学通讯，第 3 期，15—33 页。

[9] 郑朝峰、林振武，1985：谷氨酸合酶活力的快速测定。植物生理学通讯，第 4 期，43—46 页。

[10] 李立人等，1986：苜蓿二磷酸核酮糖(RuBP)羧化酶体内活化作用的调节。植物生理学报，第12卷 1 期，33—39页。

[11] 王永锐，1984：杂交水稻及其生理优势的研究。植物生理生化进展，第 4 期，22—39 页。

[12] 肖翊华等，1979：早籼杂交水稻及三系的生长发育和生理特性。武汉大学学报（自然科学版），第 2 期，65—68 页。

[13] 湖南农学院化学教研组，1977：杂交水稻"南优 2 号"生理生化特点的初步分析。植物学报，第 19 卷 3 期，226—235 页。

[14] 陆定志，1988：杂交水稻根系生理优势及其与地上部性状的关联研究。杂交水稻国际学术讨论会论文集，164—170 页，学术期刊出版社。

[15] 沈康、蔡大广、朱培仁，1988：粳型杂交稻无性系与常规粳稻品种单株吸氮能力的比较研究。杂交水稻国际学术讨论会论文集，171—177 页，学术期刊出版社。

[16] 陈彩虹、刘承柳，1989：杂交中稻汕优 63 氮素营养特性的研究。华中农业大学学报，第 8 卷 1 期，1—9 页。

[17] 林振武，1986：硝酸还原酶的研究、纯化、特性、调节及其应用。博士论文。中科院上海植物生理研究所。

[18] 杨肖娥，1987：籼型杂交水稻氮素营养生理特性的研究。博士论文。浙江农业大学。

[19] Eisenthal, P. and A. Cornish-bowden, 1974: The direct linear plot, a new graphical procedure for estimating enzyme kinetic parameters. Biochem. J., 139: 715—720.

[20] Mkino, A., T. Mae and Ohira T., 1983: Photosynthesis and ribalose 1,5-bisphosphate carboxylase in rice leaves. Plant Physiol 73, 1002—1007.

[21] Lin Shin-Cheng and Yuan Long-Ping, 1980: Hybrid rice breeding in China. IRRI Innovative Appoaches

to Rice Breeding. p 35—37.

[22] Beevers L. and R. H. Hageman, 1980: Nitrate and nitrite reduction in Biochemistry of Plant eds. Milflin, B. J. V. 5 p115—159, Acad. Press. NY.

[23] Miflin B. J., P. J. Lea, 1980: Ammonia assimilation. Ibid. p 169—202.

[24] Crowiy, D. H., 1975: Selection natucal and the Michaelis constants. J. Theor. Biol. 50, 471—475.

[25] Lee, R. B., 1982: Selectivity and kinetics of ion uptake by barley plants following nutrient deficiency. Ann Bot. 50, 429—449.

[26] Laurell, C. B. and E. J. Mckey, 1981: Electroimmunoassay In: Methods in Enzymology V. 73 (Pt B), 339—369.

[27] Reinser, A. H., 1984: Gel protein stains: a rapid procedure memethods in enzymology V. 104 (Pt C), 439—441.

[28] Sukuki, T., H. Yoshida and M. Morocka, 1988: Heterosis for rate of nicrogen uptake in F_1 rice hybrids. Soil Sci. Plant Nutr. 34(1), 87—95.

[29] Suzuki, A., P. Gadal, 1982: Glutamate synthase from rice leaves. Plant Physiol., 69: 848—852.

VARIETAL DIFFERENCE OF RICE PLANTS IN RESPONSE TO N AND ITS MECHANISMS

Yang Xiaoe　and　Sun Xi

(Plant Nutri. Lab., Zhejiang Agricultural University, 310029)

Summary

Field and sand culture experiments were conducted to study varietal difference of rice plants in response to N levels and its physiological mechanisms. The results obtained show that at low N (mediately deficiency) and high N (sufficient) levels the biomass of the top and grain yield of the varieties tested at main growth stages decreased in the order: Shanyou 64 > Shanyou 6 > Zheli 1 > Xiushui 48. The greatest difference was found between the hybrids and the conventional varieties, especially at a low N level. The results also show that the rice variety which could obtain higher yield at a low N rate had a greater potential of absorbing and utilizing N from the soil with following characteristics: 1) a well developed and vital root system with a greater root volume and distribution density, and a higher affinity to NH_4^+, i.e. with a smaller K_m value; 2) greater activities of the key enzymes involved in the assimilation of NO_3^- and NH_3 and photosynthesis in the leaves. All these physiological characteristics may be used as the indices for identifying and selecting N-efficient variety or genotype.

Key words　N nutrition, Michalis- Mentern constant, Root mophology, Glutamate synthase, RuBP cerboxylase, Rice varity