

水稻氨基酸态氮营养效应及其机理研究*

吴良欢 陶勤南

(浙江大学环境与资源学院, 杭州 310029)

摘要 在 ^{15}N 无菌水培试验条件下对水稻氨基酸态氮和铵态氮的营养效应及其氮营养贡献, 氨基酸态氮的同化机理等问题作了比较研究。结果表明, 等氮量(10mg/L)无菌水培51天后, 甘氨酸态氮(Gly-N)单施或与硫酸铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)配施处理的干物重、吸氮量均大于硫酸铵态氮单施处理; Gly-N对水稻干物重及吸氮量的促进作用大于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$; Gly-N与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 配施条件下, 以吸氮总量为基础计算的 Gly-N氮营养贡献率可达55.66%。采用 Gly-N 培养的籼、粳稻整株谷草转氨酶 GOT、谷丙转氨酶 GPT 及谷氨酸脱氢酶 GDH 活性均大于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$, 且根中 GOT 和 GPT 活性、叶中 GDH 活性明显高于相同部位 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 培养的水稻。水稻 GOT、GPT 及 GDH 活性受对应底物谷氨酸(Glu)营养的促进。

关键词 氨基酸, 铵态氮, ^{15}N -标记, 无菌培养, 水稻

中图分类号 S158.3

植物氮素营养可按植物养分吸收瞬间的化学形态分为矿质氮营养和有机氮营养两大类。许多研究表明, 自然界植物赖以生存的生长环境如土壤中含有许多有机氮养分, 植物不仅能吸收、利用氨基酸^[1~6]、核苷酸、嘧啶、嘌呤^[7]等小分子有机氮化合物, 而且还能吸收、同化如核酸^[7]、血红蛋白、溶菌酶、核糖核酸酶^[8]等高分子有机氮化物。植物长期生长在矿质、有机氮共存的根际环境中, 能同时吸收这二种氮源, 有些植物甚至嗜好有机氮源^[3]。迄今为止植物有机氮营养研究受实验和测试条件等的限制, 大多停留在若干种单一有机氮源短期培养试验阶段^[1, 2, 5~9], 对矿质、有机氮养分单独及共存条件下的植物营养效果及对植物氮营养的贡献很少作过比较, 对有机氮养分的同化机理更是不太清楚。本试验采用先进的植物无菌水培试验技术及 ^{15}N 示踪技术, 对氨基酸态氮、铵态氮的水稻营养效应及其氮营养贡献, 氨基酸态氮的同化机理等问题作了比较研究。

1 材料与方 法

1.1 水稻氨基酸态氮与铵态氮营养效应试验

试验采用文献[2]所述的植物有机营养无菌培养试验方法, 在浙江大学华家池校区植物有机营养实验室内进行。供试水稻品种为籼稻“中早5号”, 营养液基质采用国际水稻研究所水稻营养液配方^[10], 以甘氨酸(AR)作供试氨基酸态氮源, ^{15}N 标记的硫酸铵(丰度10.42%, 由化工部上海化工研究院提供)作供

* 国家重点基础研究专项经费(编号G1999011707)及国家自然科学基金资助项目(批准号: 39430090, 39970432)资助

收稿日期: 2000-03-30; 收到修改稿日期: 2000-06-20

试铵态氮源。共设 7 个处理,重复三次,随机区组排列。各处理甘氨酸态氮 (Gly-N)、硫酸铵态氮 (NH_4^+-N) 配比及浓度详见表 1。

表 1 各处理甘氨酸态氮 (Gly-N) 与硫酸铵态氮 (NH_4^+-N) 的配比与浓度

Table 1 Proportions and concentrations of glycine-N (Gly-N) and ammonium sulfate-N (NH_4^+-N) applied in treatments

处理号 Treatment No.	编码值 Code		氮浓度 Nitrogen concentration (mg/L)	
	Gly-N	NH_4^+-N	Gly-N	NH_4^+-N
1	0	0	0	0
2	0	1	0	10
3	0.25	0.75	2.5	7.5
4	0.50	0.50	5.0	5.0
5	0.75	0.25	7.5	2.5
6	1	0	10	0
7	1	1	10	10

试验盆钵采用 2000ml 量筒,内盛石英砂 300g,用玻璃纸扎口,这样既可透光,又可保持瓶内湿度。为便于无菌操作,也便于种子扎根,采用无菌种子直播,每盆二颗。盆内营养液三叶期前为 40ml,三叶至四叶期为 60ml,四叶期后为 100ml,隔三天换一次营养液,并作菌检。每天 10h 光照,14h 黑暗,光强 3 万 lux,温度 30℃。培养 51 天后收获,测定干物重,同时制备干样,用常规法^[11]测定稻株 N 含量,再用 MAT-271 型质谱仪测定¹⁵N 丰度。

本试验各处理仅硫酸铵态氮 (NH_4^+-N) 用¹⁵N 标记,故 NH_4^+-N 占稻株全氮的百分率 $\text{NDF}_{\text{NH}_4^+-\text{N}}$ 值可通过测定水稻植株¹⁵N 丰度,再计算原子百分超后按公式求得^[12]。种子氮占稻株全氮的百分率 $\text{NDF}_{\text{Seed-N}}$ 可由种子氮实测值占水稻植株总氮的百分数算得。Gly-N 占稻株全氮的百分率 $\text{NDF}_{\text{Gly-N}}$ 则可由差减法求得,计算公式为

$$\text{NDF}_{\text{NH}_4^+-\text{N}} = (\text{稻株}^{15}\text{N 原子百分超} / \text{硫酸铵}^{15}\text{N 原子百分超}) \times 100$$

$$\text{NDF}_{\text{Seed-N}} = (\text{种子氮量实测值} / \text{稻株总氮}) \times 100$$

$$\text{NDF}_{\text{Gly-N}} = 100 - \text{NDF}_{\text{NH}_4^+-\text{N}} - \text{NDF}_{\text{Seed-N}}$$

1.2 水稻氨基酸态氮同化机理试验

1.2.1 水稻氨基酸态氮同化有关酶活性 为了明确水稻在氨基酸态氮营养条件下的氨基酸同化状况,在无菌培养条件下对不同基因型水稻在氨基酸态氮和硫酸铵态氮营养条件下的稻株不同部位谷草转氨酶 (简称 GOT)、谷丙转氨酶 (简称 GPT) 及谷氨酸脱氢酶 (简称 GDH) 活性作了检测。试验设 4 个等氮量 (10mg/L) 处理: (1) 籼稻, Gly-N 营养液。 (2) 籼稻, NH_4^+-N 营养液。 (3) 粳稻, Gly-N 营养液。 (4) 粳稻, NH_4^+-N 营养液。重复三次,随机区组排列。每盆一株,苗龄二叶期。营养液基质采用国际水稻研究所水稻营养液配方。供试水稻品种为籼稻“中早 5 号”,粳稻“秀水 11”。试验盆钵采用 1000ml 三角瓶,内盛石英砂 200g,上覆 20 × 200mm 试管一只,以保持瓶内湿度,并允许稻苗往上生长。瓶内营养液三叶期前为 40ml,三叶期后为 60ml。隔三天换一次营养液,并作菌检,其它培养条件同上。36 天后收获,各处理水稻分叶、茎、根三个部位称鲜重,测定 GOT、GPT 及 GDH 活性^[13,14],并按部位计算 Gly-N、 NH_4^+-N 二种氮源处理间叶 (茎或根) GOT (或 GPT、GDH) 活性差异百分数 D(%),计算公式为 $D(\%) = [(A - B) / B] \times$

100, 其中 A 表示 Gly-N 处理的叶(茎或根) GOT(或 GPT, GDH) 活性; B 表示 NH_4^+ -N 处理的叶(茎或根) GOT(或 GPT, GDH) 活性。

1.2.2 氨基酸形态与氨基酸态氮同化有关酶活性的关系 为验证上述试验结果, 并进一步明确氨基酸形态对水稻氨基酸态氮同化有关酶活性的影响, 作二种氨基酸态氮与硫酸铵态氮等氮量(10mg/L) 无菌培养试验, 设以下 3 个处理: (1) Gly-N 营养液无菌培养。(2) 谷氨酸态氮 Glu-N 营养液无菌培养。(3) NH_4^+ -N 营养液无菌培养。重复 3 次, 随机区组排列。供试水稻品种为籼稻“中早 5 号”, 每盆一株, 苗龄二叶期, 试验方法同上。培养 21 天后收获, 测定整株 GOT、GPT 和 GDH 活性。

2 结果与分析

2.1 氨基酸态氮与铵态氮对水稻氮吸收及生长的影响

在 Gly-N 与 NH_4^+ -N 不同配比与浓度无菌培养条件下, 籼稻“中早 5 号”稻株干物重与吸氮量如表 2。

表 2 Gly-N 与 NH_4^+ -N 不同配比与浓度无菌水培 51 天后水稻干物重与吸氮量¹⁾

Table 2 Dry weights and N uptakes of rice plants after 51 days of sterilized aquiculture with Gly-N and NH_4^+ -N

处理号 Treatment No.	干物重(mg/株) Dry weight (mg/plant)	吸氮量(mg/株) N uptake (mg/plant)
1	42.68 d D	0.000 e D
2	47.73 c CD	1.353 c B
3	66.68 a A	1.572 b B
4	57.13 b B	1.602 b B
5	56.07 bc BC	1.628 b B
6	56.23 b B	1.471 bc B
7	53.50 bc BC	1.899 a A

1) 平均数后小、大写字母分别表示 $P=0.05$ 及 0.01 的差异显著性水平(SSR法)。下同。

表 2 表明, 等氮量(10mg/L) 下 Gly-N 单施(处理 6) 或与 NH_4^+ -N 配施(处理 3、4、5) 处理的干物重均显著大于 NH_4^+ -N 单施处理(处理 2), 这说明 Gly-N 对水稻生长有较好的促进作用。对表 2 中 1 至 6 号处理, 也即无氮处理及等氮量的 5 个处理作施氮量(以编码值表示) 与干物重回归分析, 建立干物重(Y) 与 Gly-N(X_1) 和 NH_4^+ -N(X_2) 的线性回归方程如下:

$$Y = 42.68 + 15.36X_1 + 12.81X_2, \quad F = 5.70^*, \quad n = 18$$

F 检验表明, 上式达 0.025 显著性水平。 t 检验进一步指出 X_1 与 X_2 的偏回归系数分别达到了 0.01 及 0.05 显著性水平。这说明 Gly-N 与 NH_4^+ -N 二者皆可促进水稻生长。由于通径系数能反映各个自变量(X) 对因变量(Y) 的影响大小^[15], 上式中 Gly-N 与 NH_4^+ -N 的通径系数分别为 0.7074、0.5899, 前者显著大于后者, 由此推断 Gly-N 对水稻干物重的促进作用大于 NH_4^+ -N。

Gly-N 与 NH_4^+ -N 配合施用产生的水稻干物重增加量 ΔDW 可以由等氮量(10mg/L) 下

Gly-N与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 等量配施处理 4、单施 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理 2 及单施 Gly-N处理 6 的干物重 $DW(0.5, 0.5)$ 、 $DW(0, 1)$ 、 $DW(1, 0)$ 按下式计算:

$\Delta DW = 2 \times DW(0.5, 0.5) - DW(0, 1) - DW(1, 0) = 2 \times 57.13 - 47.73 - 56.23 = 10.3(\text{mg/plant})$
经计算^[16], ΔDW 的 F 值为 6.72, 达 0.025 的显著性水平。由于 ΔDW 值为正, 这说明在总氮量相等的条件下, 有机、无机氮配施比分别单施的营养效果好。

再由表 2 可见, 等氮量(10mg/L)下 Gly-N单施(处理 6)或与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 配施(处理 3、4、5)处理的吸氮量均显著高于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 单施处理(处理 2)。这同样反映出 Gly-N对水稻氮素吸收也有促进作用。若以无氮处理及等氮量的 5 个处理作施氮量(以编码值表示)与吸氮量回归分析, 建立吸氮量(Y)与 Gly-N(X_1)和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (X_2)的线性回归方程如下:

$$Y = 3.58 \times 10^{-7} + 1.58X_1 + 1.47X_2, \quad F = 120.95^{**}, \quad n = 18$$

F 检验表明, 上式达 0.01 显著性水平。 t 检验进一步指出 X_1 与 X_2 的偏回归系数都达到了 0.01 的极显著水平。这说明 Gly-N与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 二者皆可提高吸氮量。由 Gly-N与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的通路系数分别为 1.0030、0.9331, 前者显著大于后者, 可以推断 Gly-N对水稻吸氮量的促进作用也大于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$, 施用 Gly-N可增加水稻对氮养分的吸收。

Gly-N与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 配合施用产生的水稻吸氮增量 ΔN 也可以用处理 4、2、6 的吸氮量 $N(0.5, 0.5)$ 、 $N(0, 1)$ 、 $N(1, 0)$ 按下式计算:

$\Delta N = 2 \times N(0.5, 0.5) - N(1, 0) - N(0, 1) = 2 \times 1.602 - 1.353 - 1.471 = 0.38(\text{mg/plant})$
经计算, ΔN 的 F 值为 7.17, 也达 0.025 的显著性水平。由于 ΔN 值为正, 这说明在总氮量相等的条件下, Gly-N与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 配施与分别单施相比可促进水稻对氮养分的吸收。

2.2 氨基酸态氮与铵态氮对水稻氮营养的贡献

在 Gly-N与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 不同配比与浓度无菌培养条件下, 籼稻“中早 5 号”稻株体内来自 Gly-N、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 及种子的氮占全氮的百分率也即 $\text{NDF}_{\text{Gly-N}}$ 、 $\text{NDF}_{\text{NH}_4^+\text{-N}}$ 、 $\text{NDF}_{\text{Seed-N}}$ 如表 3 所示。

表 3 Gly-N与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 不同配比与浓度无菌水培 51 天后水稻体内来自 Gly-N、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 及种子的氮占全氮的百分率 $\text{NDF}_{\text{Gly-N}}$ 、 $\text{NDF}_{\text{NH}_4^+\text{-N}}$ 、 $\text{NDF}_{\text{Seed-N}}$

Table 3 N contribution of Gly-N, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and seed-N to rice plants after 51 days of sterilized aquaculture with Gly-N and $\text{NH}_4^+\text{-N}$

处理号 Treatment No.	NDF%值 NDF% value		
	$\text{NDF}_{\text{Gly-N}}$	$\text{NDF}_{\text{NH}_4^+\text{-N}}$	$\text{NDF}_{\text{Seed-N}}$
1	0 f F	0 f F	100
2	0 f F	71.15 a A	29.25
3	18.73 e E	58.29 b B	22.97
4	35.93 c C	38.51 d D	25.90
5	41.47 b B	33.00 e E	25.33
6	72.53 a A	0 f F	27.47
7	30.85 d D	46.36 c C	22.79

表 3 中单施 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理(处理 2)的 $\text{NDF}_{\text{NH}_4^+\text{-N}}$ 与 $\text{NDF}_{\text{Seed-N}}$ 之和三次重复值分别为 100%、100.89%、100.33%, 平均值 100.40%, 几乎等于理论值 100%。因此可见, 由 N^{15} 示踪

法求得的 $\text{NDF}_{\text{NH}_4^+-\text{N}}$ 及化学分析法求得的 $\text{NDF}_{\text{Seed-N}}$ 有较好的可靠性, 以此说明各处理由差减法计算得出的 $\text{NDF}_{\text{Gly-N}}$ 也有较好的可靠性。若以 NDF 值来表示各种氮源对水稻氮营养的贡献^[17], 可以看出营养液中 Gly-N 与 NH_4^+-N 对水稻氮营养的贡献大小与这二种氮源的用量、比例有关。等氮量 (10mg/L) 下随着处理 2、3、4、5、6 中 NH_4^+-N 量的逐渐减少, Gly-N 量的相应增加, $\text{NDF}_{\text{NH}_4^+-\text{N}}$ 由 71.15% 急剧下降至 0%, 而 $\text{NDF}_{\text{Gly-N}}$ 值则由 0% 急剧上升至 72.53%。由此可以看出 Gly-N 可以达到与 NH_4^+-N 相同的氮贡献率。等氮量施用条

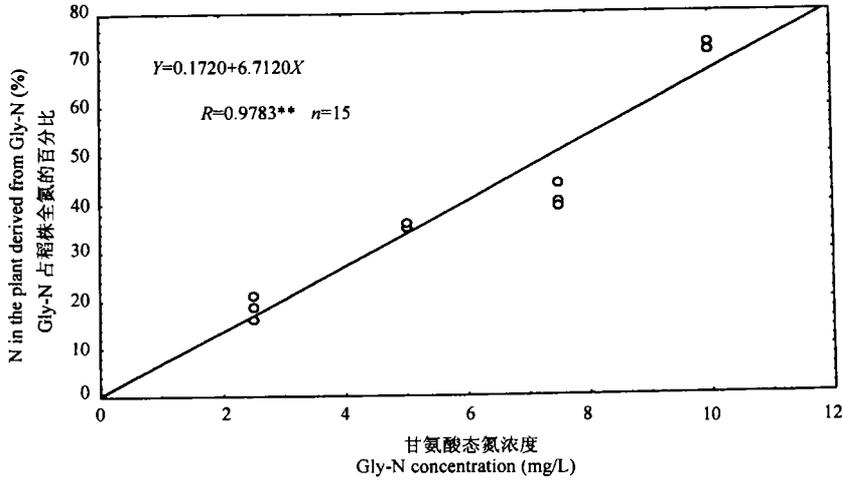


图 1 水稻等氮量 (10mg/L) 无菌水培条件下 Gly-N 浓度与 $\text{NDF}_{\text{Gly-N}}$ 的回归直线

Fig.1 The linear regression of $\text{NDF}_{\text{Gly-N}}$ against Gly-N concentration in rice plants under sterilized aquaculture with Gly-N and NH_4^+-N equal nitrogen treatments (10mg / L)

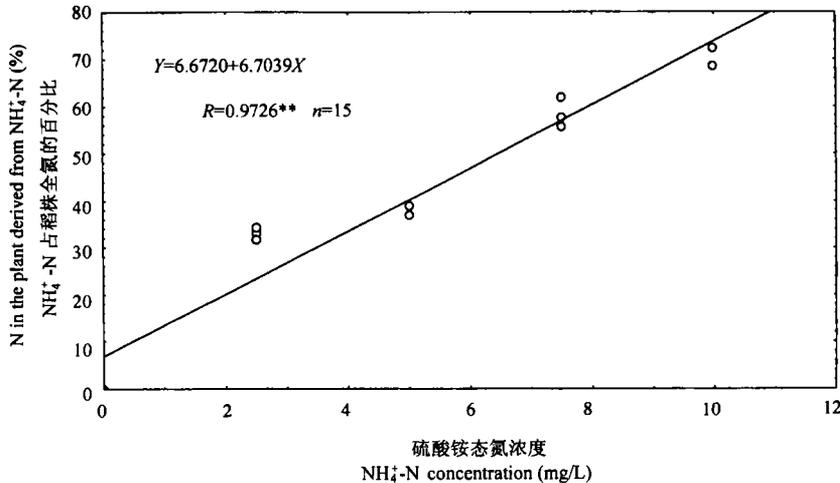


图 2 水稻等氮量 (10mg / L) 无菌水培条件下 NH_4^+-N 浓度与 $\text{NDF}_{\text{NH}_4^+-\text{N}}$ 的回归直线

Fig.2 The linear regression of $\text{NDF}_{\text{NH}_4^+-\text{N}}$ against NH_4^+-N concentration in rice plants under sterilized aquaculture with Gly-N and NH_4^+-N equal nitrogen treatments (10mg / L)

件下不同 Gly-N 与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 配比处理的 $\text{NDF}_{\text{Gly-N}}$ 变幅为 18.73%~41.47%, 以吸氮总量为基础计算的 Gly-N 贡献率更高, 可达 25.40%~55.66%。显然从 Gly-N 中吸收的 N 与环境中 Gly-N 的供应量有密切关系。只要 Gly-N 源源不断供应, 则可达到相当大的氮素贡献率。

水稻营养液等氮量 (10mg/L) 处理, 即处理 2、3、4、5、6 的 $\text{NDF}_{\text{Gly-N}}$ 随 Gly-N 浓度或 $\text{NDF}_{\text{NH}_4^+\text{-N}}$ 随 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度变化回归直线如图 1、2。

图 1 和图 2 中二条直线回归方程的斜率分别为 6.7120、6.7039, 二者几乎相等, 这说明 Gly-N 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 对水稻氮素营养的贡献是大致相同的。

2.3 水稻氨基酸态氮的同化机理

2.3.1 氨基酸营养对氨基酸态氮同化有关酶活性的影响 谷草转氨酶 (GOT) 和谷丙转氨酶 (GPT) 是植物体内最普遍的转氨酶^[14], 其分别催化下列反应:



而谷氨酸脱氢酶 (GDH) 在植物氮素代谢中起重要作用^[9], 其催化谷氨酸脱氨基反应:

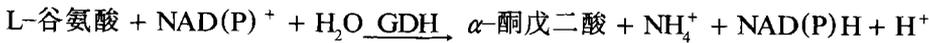


表 4 Gly-N 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 无菌水培 36 天后籼、粳稻 GOT、GPT 及 GDH 活性

Table 4 GOT, GPT and GDH activities of rice plants of indica and japonica cultivars after 36 days of sterilized aquiculture with Gly-N and $\text{NH}_4^+\text{-N}$

品种 Varieties	部位 Position	氮源 N sources	酶活性 ¹⁾ Enzyme activity		
			GOT ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	GPT ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	GDH ($\text{U g}^{-1} \text{min}^{-1}$)
籼稻“中早5号”	叶	Gly-N	45.6±10.2	163.8±18.0	499±33
		$\text{NH}_4^+\text{-N}$	46.2±3.6	160.2±29.4	272±62
	茎	Gly-N	15.4±2.2	52.6±3.4	73±8
		$\text{NH}_4^+\text{-N}$	11.8±0.4	40.6±5.0	60±15
	根	Gly-N	23.0±2.4	116.8±13.2	82±15
		$\text{NH}_4^+\text{-N}$	17.4±1.8	59.6±3.4	103±14
	整株	Gly-N	22.4±3.4	86.2±6.0	149±16
		$\text{NH}_4^+\text{-N}$	20.4±3.6	68.2±11.8	122±27
粳稻“秀水11”	叶	Gly-N	24.4±9.0	98.0±22.6	401±84
		$\text{NH}_4^+\text{-N}$	23.0±6.6	84.0±21.4	276±58
	茎	Gly-N	15.0±2.8	58.6±15.0	70±18
		$\text{NH}_4^+\text{-N}$	12.6±2.2	35.4±5.0	60±9
	根	Gly-N	23.0±9.0	108.4±5.6	96±8
		$\text{NH}_4^+\text{-N}$	8.0±1.8	59.6±3.4	158±12
	整株	Gly-N	19.4±5.6	75.4±19.4	168±53
		$\text{NH}_4^+\text{-N}$	14.2±0.2	52.4±4.2	120±21

1) GOT和GPT活性以每克植物鲜样每小时反应生成的丙酮酸微摩尔表示。GDH活性以反应系统中每克植物鲜样每分钟引起的光密度变化值表示, 以光密度每变化0.001为一个单位(U)计算^[13,14]。下同。

粳、籼稻采用 Gly-N 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 无菌水培 36 天后, 植株 GOT、GPT 及 GDH 活性及其器官间分布如表 4。

表 4 中粳、籼稻整株 GOT、GPT 及 GDH 活性均为 Gly-N 大于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$, 用这二种氮源培养的水稻各部位 GOT、GPT 及 GDH 活性一般为叶 > 根 > 茎, 但同一器官二种氮源处理间酶活性差异有很大区别。叶、茎、根 GOT 酶活性差异百分数 D(%) 粳稻分别为 -1.3%、30.5%、32.2%, 籼稻分别为 -6.1%、19.0%、187.5%, 以根中最大, 其活性仅次于叶, 达 $23.0\mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$; 叶、茎、根 GPT 酶活性差异百分数 D(%) 粳稻分别为 2.2%、29.6%、96.0%, 籼稻为 16.7%、65.5%、81.9%, 根中也最大。籼稻根部 GPT 活性甚至超过叶片, 达 $108.4\mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$ 。这说明水稻吸收的氨基酸可能有很大一部分在根内即发生转氨基作用而被同化。粳、籼稻 GDH 活性 Gly-N 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理间叶、茎、根差异百分数 D(%) 均以叶片较大, 分别为 83.5%、45.3%。叶片 GDH 活性加强的部分原因可能与根吸收的氨基酸有一部分上升到叶片中脱氨基同化有关。同样理由, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理的根系 GDH 活性高于 Gly-N 处理, 这可能与由 GDH 催化的谷氨酸脱氨基反应是一个可逆反应, 该反应促使根吸收的部分 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 在根内同化为谷氨酸, 然后向各器官转运, 以调节代谢过程, 促进水稻生长有关, 其确切原因有待进一步研究。

2.3.2 氨基酸形态对氨基酸态氮同化有关酶活性的影响 Gly-N、Glu-N 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 无菌水培 21 天后, 水稻植株 GOT、GPT 及 GDH 活性如表 5。

表 5 Gly-N、Glu-N 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 无菌水培 21 天后水稻植株 GOT、GPT 及 GDH 活性
Table 5 GOT, GPT and GDH activities of rice plants after 21 days of sterilized aquiculture with Gly-N, Glu-N and $\text{NH}_4^+\text{-N}$, respectively

氮源 N sources	酶活性 Enzyme activity		
	GOT ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$)	GPT ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$)	GDH ($\text{U g}^{-1}\text{min}^{-1}$)
Gly-N	14.2±1.0	40.8±3.2	62±6
Glu-N	17.4±2.2	48.4±3.6	67±8
$\text{NH}_4^+\text{-N}$	12.8±1.4	37.0±5.0	55±9

表 5 表明, 水稻植株 GOT、GPT 和 GDH 活性与环境中氮源种类有很大关系。采用三种氮源培养的水稻 GOT、GPT、GDH 活性以 Glu-N 最大, Gly-N 次之, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 最小。这一方面验证了上述氨基酸态氮可以促进水稻体内氨基酸转氨酶与脱氢酶活性这一实验结果; 另一方面, 从 Glu-N 处理的稻株 GOT、GPT 和 GDH 活性较大可以看出, 作为 GOT、GPT 和 GDH 底物的 Glu 可促进这些酶活性, 营养环境中氨基酸种类对水稻体内对应氨基酸转氨酶与脱氢酶活性有一定影响。

3 讨论

土壤有机氮占表土总氮的 90% 以上, 其水解产物中氨基酸态氮占总氮量的 13.3%~52.0%^[18]。因此, 氨基酸态氮是土壤氮素中已知的数量最多的一类化合物^[19]。甘氨酸是土

壤及有机肥中主导氨基酸之一^[19],其分子量小,结构简单,是植物氨基酸态氮营养研究的理想氮源^[14]。本研究水稻¹⁵N无菌培养近二个月(51天)时间试验结果表明,等氮量(10mg/L)下 Gly-N单施或与 NH₄⁺-N配施处理的干物重、吸氮量均大于 NH₄⁺-N单施处理。通径分析表明,Gly-N对水稻干物重及吸氮量的促进作用大于 NH₄⁺-N。Gly-N与 NH₄⁺-N配施条件下,以吸氮总量为基础计算的 Gly-N贡献率可达 55.66%。已有研究表明,无菌水培条件下水稻根际检测不出氨基酸分解酶活性^[20]、脱氨基酶活性^[2]及转氨酶活性^[1]。因此,可以认为氨基酸在进入水稻根前不会发生酶解作用。氨基酸可以完整分子形态被植物直接吸收^[3,4]。本试验结果进一步证明了氨基酸态氮可被水稻吸收利用,而且其对水稻氮营养的贡献相当大。

已有资料指出,氨基酸进入植物体内后,可通过转氨基作用、脱氨基作用及其它过程加以同化^[21]。若从氨基酸转氨基作用及脱氨基作用二个方面来阐述氨基酸态氮的同化机理,表 4 中采用 Gly-N培养的粳、粳稻整株 GOT、GPT 和 GDH 活性均大于 NH₄⁺-N植株,由此可知水稻对氨基酸营养环境存在着一种适应机制。可以推断水稻吸收氨基酸态氮后,一方面可通过转氨基作用形成其他氨基酸而合成蛋白质,另一方面还可以通过脱氨基作用形成 NAD(P)H,为体内代谢提供能源。此外,氨基酸经转氨基或脱氨基作用后还形成有机酸,如由上述 GOT、GPT 参与的转氨基反应和由 GDH 参与的脱氨基反应结果都产生 α -酮戊二酸,而 α -酮戊二酸等有机酸可为多种碳氮代谢提供碳架结构,也可经三羧酸循环氧化分解^[22]。因此,某些氨基酸良好的营养效果可能因其能为体内代谢活动供氮、供碳及供能所致。

水稻根部可能是氨基酸通过转氨基作用同化的重要场所,叶部是氨基酸通过脱氨基作用同化的重要场所。对 Gly-N和 NH₄⁺-N营养条件下水稻叶、茎、根 GOT、GPT 和 GDH 活性差异分析表明,Gly-N水培条件下的稻根 GOT、GPT 活性明显高于用 NH₄⁺-N水培的水稻,这说明水稻吸收的氨基酸可能有很大一部分在根内即发生转氨基作用而被同化;另一方面,Gly-N水培水稻叶片 GDH 活性明显高于用 NH₄⁺-N水培水稻,同样说明水稻根部吸收的氨基酸可能也有部分上升到叶片中脱氨同化。再由表 5 中水稻体内 GOT、GPT 和 GDH 活性受 Glu-N促进这一实验现象作进一步推论,氨基酸营养可提高水稻体内对应氨基酸转氨酶及脱氨酶的活性,以利该氨基酸的快速同化。这在某种意义上也反映出植物对氨基酸态氮营养环境的适应性。

致谢 本文水稻无菌培养试验工作得到中国水稻研究所农业部水稻生物学重点实验室孙宗修研究员帮助,中国水稻研究所育种系提供了试验用种子,谨此一并致谢。

参 考 文 献

1. 张夫道,孙羲. 氨基酸对水稻营养作用的研究. 中国农业科学, 1984, (5): 61~66
2. 吴良欢,陶勤南. 植物有机营养无菌培养试验方法的研究与应用. 土壤学报, 1999, 36(4): 551~558
3. Chapin F S, Moilanen L, Kielland K. Preferential use of organic nitrogen for growth by a non-mycorrhizal arctic sedge. Nature, 1993, 361(6408): 150~153
4. Näsholm T, Ekblad A, Nordin A et al. Boreal forest plants take up organic nitrogen. Nature, 1998, 392(6679): 914~916

5. Virtanen A I, Linkola H. Organic nitrogen compounds as nitrogen nutrition for higher plants. *Nature*, 1946, 158(4015):515
6. 慎齋吉, 山口益朗, 奥田東. 无菌液耕培养下いの水稻幼植物の生育に及ばすアミノ酸影響—高等植物の生育に及ばす有機物質の影響(第2報). *日本土壤肥科学雑誌*, 1966, 37(5): 311~314
7. 金子漁, 沈守江, 曹功杰等. 核酸降解物在水稻生产上的应用及其作用机理的研究Ⅲ. 水稻对¹⁴碳—核酸降解产物的吸收和运转. *生物化学和生物物理学报*, 1976, 8(1): 35~47
8. McLaren A D, Jencen W A, Jacobson L. Absorption of enzymes and other proteins by barley roots. *Plant Physiology*, 1960, 35(5): 549~556
9. 森敏. リボ核酸の稗麦の生育に対する顯著な肥効. *日本土壤肥科学雑誌*, 1986, 57(2): 171~178
10. 吉田昌一, 福尔诺 D A, 科克 J H 等编. 北京市农业科学院作物研究所情报组译. 水稻生理学实验手册. 北京: 科学出版社, 1975. 57~63
11. 李酉开主编. 土壤农业化学常规分析方法. 北京: 科学出版社, 1983. 274~276
12. 谢学民, 王寿祥, 张勤争等编著. 核技术农学应用. 上海: 上海科学技术出版社, 1989. 123~128
13. 吴良欢, 蒋式洪, 陶勤南. 植物转氨酶(GOT 和 GPT) 活性比色测定方法及其应用. *土壤通报*, 1998, 29(3): 136~138
14. 上海植物生理学会编. 植物生理实验手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1985. 219~222
15. 陶勤南编著. 回归分析与回归设计——在肥料与栽培试验中的应用. *北京农业科学*, 1984, 专辑: 74~76
16. Little T M, Hills F J. *Agricultural experimentation design and analysis*. New York: John Wiley & Sons, 1978. 65~74
17. 吴毅文, 蔡大同, 史瑞和. 兔粪尿—硫酸铵和土壤氮在水稻植株体上的分布. *土壤学报*, 1991, 28(2): 161~167
18. 史蒂文森 F J. 土壤的有机态氮. 见: 史蒂文森 F.J. 等著, 闵九康等译. 农业土壤中的氮. 北京: 科学出版社, 1989. 45~81
19. 朱兆良, 文启孝主编. 中国土壤氮素. 南京: 江苏科学技术出版社, 1992. 12~26
20. 奥田東, 山口益朗, 慎齋吉. 水稻幼植物の無菌培養法の検討と, モの利用にする水稻根のフオスファ—ゼ活性・アミノ酸分解酵素活性の吟味—高等植物の生育に及ばす有機物質の影響(第1報). *日本土壤肥科学雑誌*, 1964, 35(9): 311~314
21. 黄维南, 杨乃博, 孙惠珍. 高等植物的氮素代谢Ⅷ. 无菌培养下植物离体根对不同氮源的利用. *植物生理学报*, 1965, 2(1): 19~32
22. 沈同, 王镜岩, 赵邦悌主编. 生物化学. 北京: 人民教育出版社, 1980. 544

EFFECTS OF AMINO ACID-N ON RICE NITROGEN NUTRITION AND ITS MECHANISM

Wu Liang-huan Tao Qin-nan

(College of Environmental and Resource Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029)

Summary

Effects of amino acid-N and ammonium-N on rice growth, N nutritional status and its mechanism were studied under sterilized aquiculture with ^{15}N tracer technique in this paper. The results showed that the dry weights and N uptakes of the rice plants in the treatments of glycine-N (Gly-N) or mixture of glycine-N and ammonium sulfate-N (Gly-N + NH_4^+ -N) were significantly higher than that in the treatment of ammonium sulfate-N (NH_4^+ -N) after 51 days of sterilized aquiculture. The positive effect of Gly-N on the dry weight and N uptakes of rice plants was larger than that of NH_4^+ -N. The percentage of N in the rice plants derived from Gly-N in the mixture of Gly-N and NH_4^+ -N could reach a level as high as 55.66%. The activities of glutamateoxaloacetate transaminase (GOT), glutamate-pyruvate transaminase (GPT) and glutamate dehydrogenase (GDH) of the rice plants of indica and japonica cultivars in the treatment in Gly-N were all higher than in the treatment of NH_4^+ -N, respectively. Moreover, the activities of GOT and GPT in the roots and GDH in the leaves in the treatments of Gly-N were obviously higher than those in the treatments of NH_4^+ -N. The activities of GOT, GPT and GDH of the rice plants were positively promoted by its substrate glutamic acid (Glu).

Key words Amino acid, Ammonium-N, ^{15}N -labelling, Sterile culture, *Oryza sativa* L.