

氮饥饿水稻利用不同形态氮素的差异及其生理机制*

李宝珍 辛伟杰 徐国华[†]

(南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

摘要 通过水培试验,研究了氮饥饿 7d 后,恢复供应不同形态氮源对水稻氮吸收和积累及氮同化中关键酶活性和光合色素的影响。结果表明,缺氮促进根系生长,增加根冠比。恢复供氮 4d 显著增加地上部生物量。铵硝混合营养促进了水稻对氮的吸收和转运,叶片和根系中全氮及叶片中铵态氮的含量以硝酸铵处理最高。与单一铵或硝营养相比,铵硝混合营养增强了根系的谷氨酰胺合成酶和叶片中硝酸还原酶的活性,提高了水稻同化和利用氮的能力。另外,与纯硝营养相比,供应铵态氮显著增加了叶片中总叶绿素,尤其是叶绿素 a 的含量。因此,改善水肥管理、平衡对水稻供氮的铵硝配比将提高水稻氮素的吸收和利用效率。

关键词 水稻; 铵态氮; 硝态氮; 硝酸还原酶; 谷氨酰胺合成酶; 叶绿素

中图分类号 S157.4 **文献标识码** A

氮素是植物生长必需的大量元素之一, NH_4^+ 和 NO_3^- 是植物生长过程中主要的二种矿质氮源。大部分的铵盐在植物的根里就已结合成有机化合物,而硝酸盐则可在木质部内运输,或储存在根、茎和其他储存器官细胞的液泡里。硝酸盐不仅可以作为一种代谢物质,而且作为一种有效的信号物质通过调控基因的表达影响植物的碳氮代谢以及生长和发育^[1,2],并在液泡里对调节阳离子和阴离子的平衡和渗透势起重要作用^[3]。因此作物铵、硝营养的研究一直是人们关注的焦点。

人们已渐渐认识到,水稻根系泌氧作用使 NH_4^+ 氧化成的 NO_3^- 能够被水稻有效利用^[4-6]。Kirk 等研究表明^[7],即使水稻在淹水的土壤条件下种植,实际上有高达 15%~40% 的总氮是以硝态氮的形式加以吸收利用的。据研究表明,铵和硝混合形态 N 营养下植物生长更具优势^[8],可提高 N 积累和细胞分裂素含量^[9-11]。封克等^[12]研究认为,当 NO_3^- -N 与 NH_4^+ -N 同时存在时, NH_4^+ 会抑制 NO_3^- 的跨膜吸收,或者影响叶片硝酸还原酶(NR)活性而造成体内 NO_3^- 积累,产生反馈抑制作用。王娜等^[13]研究表明,混合形态氮,尤其是 NH_4^+ / NO_3^- 为 2/3 时,水稻最宜发挥其光合特性;氮的同位素试验表明^[14],水稻幼苗供应 NO_3^- 可提高移栽的成活率。张亚丽

等^[15]对不同品种水稻硝态氮响应的生理指标筛选表明,40 个水稻品种(系)在 NH_4^+ / NO_3^- 比为 50:50 的营养液中生长最佳,植株总干重最高,但各个基因型的表现差异较大。

可见目前对水稻铵硝营养的研究多侧重于铵、硝不同配比以及单一铵或硝营养对生理和生化效应的响应等方面,而在氮充分饥饿后恢复供氮,水稻在短期内对不同氮形态的营养生理和生化反应研究还未见报道。本试验旨在研究水稻氮饥饿后恢复供应不同形态的氮素,短期内对水稻氮的吸收以及氮代谢中关键酶活性的影响,探讨增铵或加硝(铵硝配比)提高水稻氮素吸收和利用的生理机制,进一步深化铵、硝和铵硝混合营养对水稻生长和发育的生理和分子研究,为提高水稻的氮肥利用率和高产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

水稻品种为武运粳 7 号,水稻种子经 15% H_2O_2 消毒 30 min 后育苗。营养液: pH5.8, 所含成分除表 1 中的营养元素外,还加入微量元素营养液: EDTA-Fe 20.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, H_3BO_4 36.7 $\mu\text{mol L}^{-1}$, MnCl_2 9.1 μmol

* 国家自然科学基金项目(30471037)和国家 973 计划课题项目(2005cb120903)

[†] 通讯作者, Tel: 025 84396246; E-mail: ghxu@njau.edu.cn

作者简介: 李宝珍(1977~),女,山西人,博士研究生,从事植物营养与分子生物学研究

收稿日期: 2006-12-20; 收到修改稿日期: 2006-03-28

L^{-1} , $ZrSO_4$ $0.77 \mu mol L^{-1}$, $CuSO_4$ $0.32 \mu mol L^{-1}$, H_2MoO_4 $0.39 \mu mol L^{-1}$, Na_2SiO_4 $2 mmol L^{-1}$, 相当于 SiO_2 浓度 $120 mg kg^{-1}$ 。

1.2 试验设计

水培试验于 2005 年 3 月至 4 月在南京农业大学温室实施。试验设 3 个氮形态处理 (NH_4^+ 、 NO_3^- 和 NH_4NO_3) 和 1 个缺氮处理 (表 1)。取苗龄 10 d 生长

表 1 试验处理方案

Table 1 Designing of the experiment (mmol L^{-1})

处理 Treatment	NH_4NO_3	KH_2PO_4	K_2SO_4	$MgSO_4$ $\cdot 7H_2O$	$CaCl_2$ $\cdot 2H_2O$	NH_4Cl	$(NH_4)_2SO_4$	$Ca(NO_3)_2$ $\cdot 4H_2O$	$Mg(NO_3)_2$
NH_4^+ -N	0	0.3	0.35	1.25	1	0.5	1	0	0
NO_3^- -N	0	0.3	0.35	0.75	0.25	0	0	0.75	0.5
NH_4NO_3	1.25	0.3	0.35	1.25	1	0	0	0	0
缺氮 N-free	0	0.3	0.35	1.25	1	0	0	0	0

1.3 测定方法

水稻根、茎、叶洗净, 吸干表面水分后称其鲜重; 然后将其置于 $105^\circ C$ 杀酶 15min、 $70^\circ C$ 烘干磨细待测。

1.3.1 氮的测定 全 N 量测定是干样经粉碎后用 H_2SO_4/H_2O_2 消煮预处理^[16]。 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 预处理参考文献^[17], 称取 0.2~0.3 g 鲜样, 研磨匀浆, 在沸水浴煮 30min 后过滤, 滤液待测。全 N、 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 含量均用流动分析仪 (型号为 AA3) 测定^[18]。

1.3.2 酶的测定 硝酸还原酶采用对氨基苯磺酸 α 萘胺比色法^[19]。谷氨酰胺合成酶参考文献^[20]。称取 0.3 g 左右鲜样置于研钵, 加 pH7.2 磷酸缓冲液 2 ml 冰浴研磨, 3 ml 相同的磷酸缓冲液冲洗。磨成均匀的粘糊状后, 静置 30 min (以充分提取), 然后于低温冷冻高速离心机上 $20,000 r min^{-1}$ 离心 20min, 取上清液作为粗酶液。取粗酶液 2 ml 到 10 ml 离心管中, 依次加入 $0.25 mol L^{-1}$ 咪唑-盐酸缓冲液 0.6 ml, $0.3 mol L^{-1}$ Glu Na₂ 0.4 ml, $0.03 mol L^{-1}$ ATP-Na 0.4 ml, $0.5 mol L^{-1}$ $MgSO_4$ 0.2 ml, $20^\circ C$ 反应 5min, 加入 $0.2 ml$ $0.5 mol L^{-1}$ 盐酸羟胺后 $20^\circ C$ 反应 20 min, 然后立即取出, 加入 0.8 ml 终止显色液 (10% $FeCl_3$ (W/V)、24% 三氯乙酸 (W/V) 和 50% HCl (V/V) 等体积混合) 终止反应, 在 $1,500 r min^{-1}$ 下离心 10 min, 取上清液测 540 nm 处的消光值。

1.3.3 叶绿素和光合色素的测定 叶绿素含量测定采用分光光度法^[21]。取新鲜的水稻叶片, 每个样

均匀的健壮苗移栽于事先装有营养液的 5L 周转箱中, 每箱 12 穴, 每穴 4 株。首先供氮 $1.25 mmol L^{-1}$ NH_4NO_3 处理 10 d, 接着缺氮处理 7 d, 期间每 3 d 换一次营养液, 然后恢复供应相同总氮浓度 ($2.5 mmol L^{-1}$) 但不同形态的 3 个施氮处理和 1 个继续缺氮处理, 每天早上换营养液, 4 d 后取样。随机区组设计, 4 次重复。生长期间的温度控制 $18\sim 28^\circ C$ 和光照周期 15 h/9 h (昼/夜)。

品做 3 个平行, 用脱脂棉擦拭干净, 剪碎混匀, 称取 0.2 g 左右, 用 95% 乙醇研磨成糊状, 然后洗涤过滤直至叶片完全变白, 定容于 30 ml 的刻度试管, 浸提液立即在 665、649 nm 处比色, 记录吸光度 (OD) 值。计算公式: $C_A = 13.95OD_{665} - 6.88OD_{645}$, $C_B = 24.96OD_{649} - 7.32OD_{665}$, 式中, C_A 、 C_B 分别为叶绿素 a 和 b 的浓度, 单位为 $mg L^{-1}$, 叶绿素含量 ($mg g^{-1}$) = $(C \times V) / (W \times 1000)$, 式中, C 即 ($C_A + C_B$) 为叶绿素总浓度 ($mg L^{-1}$), V 为提取液总体积 (ml), W 为叶片鲜重 (g)。

1.4 数据分析方法

数据统计利用 SAS 软件, 进行方差分析和 Fisher's 显著性检验 (LSD), 比较不同处理间在 $p < 0.05$ 的显著性水平。

2 结果与分析

2.1 恢复供氮后对水稻生物量的影响

与缺氮处理相比, 恢复供氮 4 d 后, 水稻地上部生物量有所增加, 增加量为 $0.03\sim 0.08 g plant^{-1}$ (FW), 以处理 $NH_4NO_3 > NH_4^+ > NO_3^-$ 。与 NO_3^- 作为单一氮源比较, 在含有铵的营养液中, 水稻地上部鲜重增加达到显著性水平 (图 1A)。根系的鲜重以缺氮最高, 单一铵作为氮源时最低。4 个处理的根冠比在 $0.60\sim 0.89$ 之间, 以缺氮处理最高 (图 1B)。

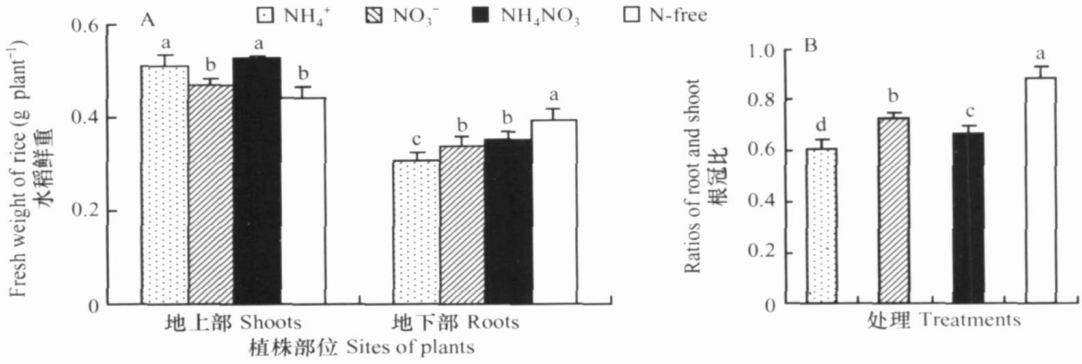


图1 氮饥饿水稻恢复供氮4d地上部和根系生物量以及根冠比

Fig. 1 Fresh weight of roots and shoots and their ratios of N starved rice plants 4 days after N supply was resumed

2.2 恢复供氮后对水稻氮含量的影响

2.2.1 全氮 恢复供氮4 d后, 水稻植株氮含量已显著高于缺氮处理(图2A)。与缺N处理比较, 供氮处理地上部和地下部氮含量分别增加了54.9%~90.9%和64.0%~96.2%, 均达到显著性水平。地上部氮含量以NH₄NO₃处理的最高, NH₄⁺处理次之, 而根系以NO₃⁻处理氮含量最高。可见, 铵硝混合营养液有利于氮的吸收、运输和转化, 纯硝营养下氮素向地上部转运速度较慢。

2.2.2 游离铵和硝含量 水稻作物中游离铵和硝的分配部位不一样, 铵主要分布在地上部, 硝主要在根系(图2B, 图2C)。恢复供氮4 d, 水稻叶片和根系的游离铵含量显著高于缺氮处理, 且铵和硝铵混合处理的水稻游离铵含量高, 叶片分别为N 292和301 μg g⁻¹, 根系分别为N 72和55 μg g⁻¹, 比缺氮处理高3倍左右; 硝态氮处理的水稻叶片和根系游离铵含量比缺氮处理高2倍左右。由于供铵的缘故, 铵和硝铵混合处理的水稻游离铵含量显著高于单一硝处理(图2B)。缺氮7 d后, 水稻植株中硝酸盐已经完全同化, 持续缺氮和恢复供单一铵作为氮源4 d在根系和叶片中没有游离的硝(图2C)。水稻生长在有硝的营养介质中, 根系和叶片中检测到游离硝, 且根系显著高于叶片, 而且NO₃⁻处理的水稻, 根系游离硝的含量是叶片的2.4倍, 而NH₄NO₃处理的为1.7倍。

2.3 恢复供氮后对水稻关键酶活性的影响

恢复供应不同形态氮素与缺氮处理相比, 叶片谷氨酰胺合成酶(GS)活性无显著差异(图3A), 在81.2~84.1(GHA mmol g⁻¹h⁻¹)之间。在铵营养的介质中根系GS活性显著增加, 且以NH₄NO₃处理的最高。可见在铵的基础上增加硝营养, 可以提高GS

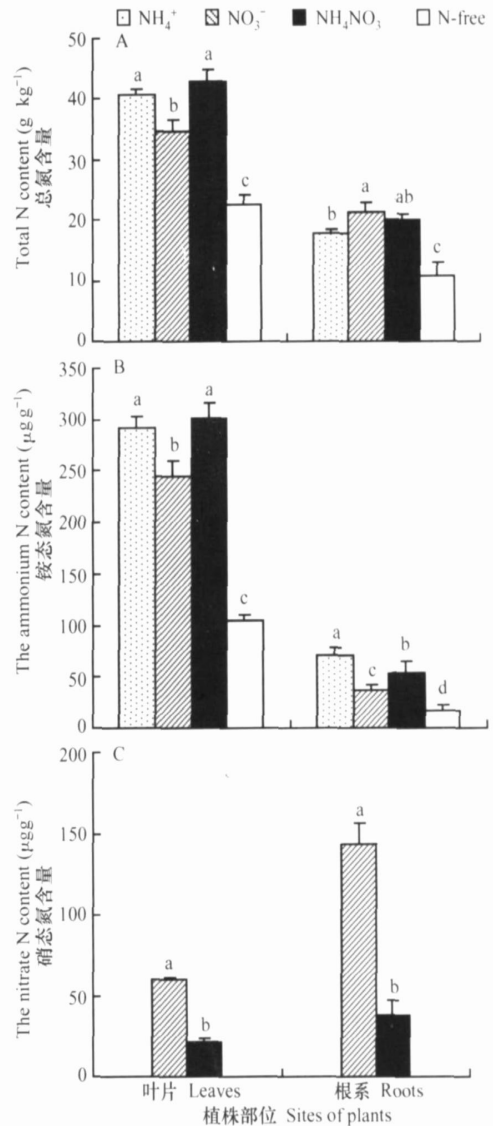


图2 氮饥饿水稻恢复供氮4d叶片和根系和总氮、铵态氮和硝态氮含量

Fig. 2 Contents of total N, ammonium N and nitrate N of N starved rice plants 4 days after N supply was resumed

活性,提高氮的同化能力,从而使得混合营养液处理的水稻总氮含量显著高于硝处理的水稻。

硝酸还原酶(NR)是植物N代谢关键步骤硝酸盐同化中的限速酶,它是一种诱导酶,所以缺氮处理无法测定出NR,而且硝酸盐主要在地上部同化,叶

片NR显著高于根系(图3B)。叶片以 NH_4NO_3 处理的NR活性最高,为 $41.1(\text{NO}_2^- \mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1})$,分别比硝和铵处理NR的高3.3倍和6.5倍;根系NR活性很低,为 $0.61\sim 2.65(\text{NO}_2^- \mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1})$,以 NO_3^- 处理的NR最高。

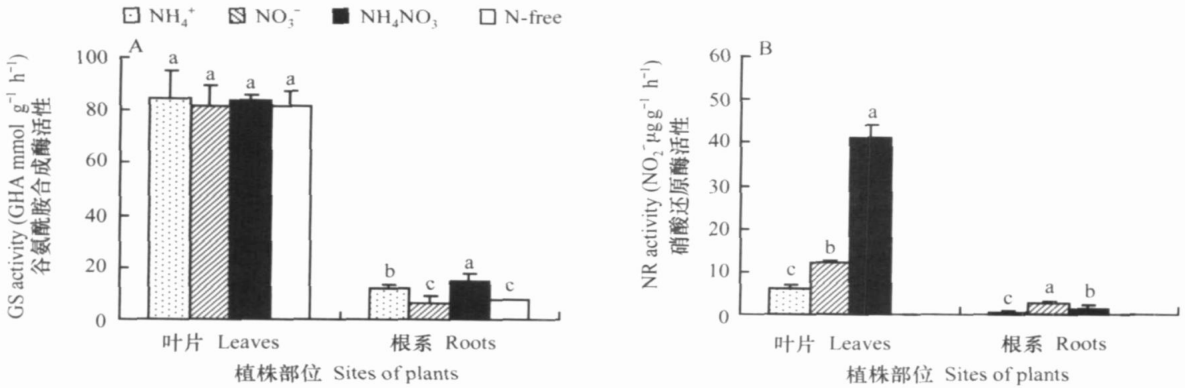


图3 氮饥饿水稻恢复供氮4d叶片和根系的谷氨酰胺合成酶和硝酸还原酶活性

Fig. 3 Activities of glutamine synthetase (GS) and nitrate reductase (NR) in leaves and roots of N starved rice plants 4 days after N supply was resumed

2.4 恢复供氮后对水稻叶片叶绿素和光合色素的影响

众所周知,缺氮导致叶绿素含量下降,叶片发黄。本实验的结果亦表明停止供氮7d后,水稻叶片已表现出明显的缺氮症状。恢复供氮4d后,水稻叶片变绿,而且在含有铵的营养介质中水稻叶片的叶色明显比单一硝营养的叶色绿且深,与其叶绿素总量表现一致,以 NH_4^+ 处理的最高,供应 NH_4NO_3 次之, NO_3^- 营养的最低。但恢复不同形态氮,光合色素的变化与总叶绿素的变化不尽一致。与缺氮处理比较,恢复供氮叶绿素a、b含量均增加。在含有 NH_4^+ 的营养液中,叶绿素a增加较多,但 NH_4^+ 作为单一氮源时,叶绿素a却低于 NH_4NO_3 处理的水稻;而叶绿素b含量在 NH_4^+ 处理下增加最多,次之为 NO_3^- 处理,增加最少的为 NH_4NO_3 处理,且与缺氮处理间没有显著性差异(图4)。叶绿素a/b值以 NH_4NO_3 处理最大,次之为单一 NO_3^- 处理,单一 NH_4^+ 处理最小。这主要是由于单一的 NH_4^+ 处理下叶绿素b增加较多,而在铵硝混合营养下叶绿素a增加最多,而叶绿素b增加最少所致。

2.5 叶片氮素与光合色素的关系

由表2可知,叶片中总氮含量与铵态氮的含量呈极显著的正相关关系,相关系数为 0.976^{**} ;叶绿

素a和b又决定了总叶绿素的含量,与叶绿素总量均达到极显著正相关,相关系数分别为 0.902^{**} 和 0.861^{**} ,同时叶绿素a和b间也存在显著正相关关系,说明它们有一致的变化趋势。已有研究表明,氮素与叶绿素含量有密切的关系^[22,23]。本实验结果表明,叶绿素总量、叶绿素a与总氮量以及叶片中铵态氮含量均显著相关,相关系数在 $0.520^* \sim 0.557^*$ 之间。由此看来,叶绿素a含量的高低对植物氮代谢的关系更为紧密。

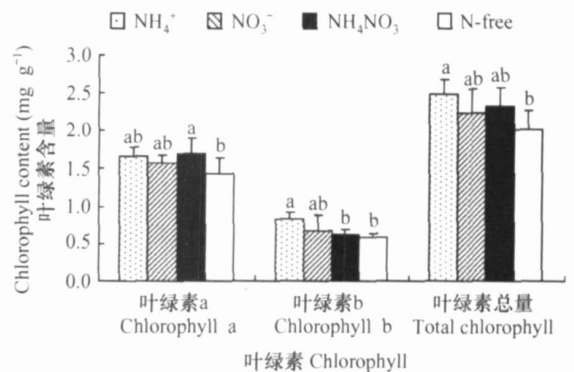


图4 氮饥饿水稻恢复供氮4d叶片的叶绿素a、b和总叶绿素的含量

Fig. 4 Contents of chlorophyll a and b, and total chlorophyll of N starved rice leaves 4 days after N supply was resumed

表 2 水稻叶片氮含量和叶绿素间的相关系数 $r^{1)}$

Table 2 Correlation coefficients between nitrate content and chlorophyll content in rice leaves

项目 Items	总氮 Total N	硝态氮 Nitrate N	铵态氮 Ammonium N	叶绿素 a Chlorophyll a	叶绿素 b Chlorophyll b	叶绿素总量 Total chlorophyll
总氮 Total N	1					
硝态氮 Nitrate N	0.122	1				
铵态氮 Ammonium N	0.976* [*]	0.257	1			
叶绿素 a Chlorophyll a	0.545* [*]	0.016	0.529 [*]	1		
叶绿素 b Chlorophyll b	0.357	-0.011	0.394	0.557* [*]	1	
叶绿素总量 Total chlorophyll	0.520* [*]	0.002	0.528* [*]	0.903* ^{**}	0.861* ^{**}	1

1) $n = 16, r_{0.05} = 0.482, r_{0.01} = 0.606$

3 讨 论

氮素是叶绿体、蛋白质的主要构成成份, 与水稻的生长和发育密切相关, 限制着水稻的产量和品质。已有研究表明, 铵硝混合营养可增加不同基因型水稻叶片中叶绿素含量和促进光合系统活力, 提高叶片光合速率, 促进水稻生物量的增加^[24,25]。本研究表明, 水稻缺氮促进根系生长, 增加根冠比, 恢复供不同无机氮 4 d, 地上部鲜重以硝酸铵处理增加的最多, 供铵抑制根系生长, 降低根冠比。

氮的吸收和积累表明植物利用氮的能力和有效性。本研究结果表明, 铵硝混合营养, 铵和硝同时进入水稻根系, 铵盐的存在促进了硝的同化, 根系中游离铵和全氮含量均较高, 同时有硝的存在, 也促进了铵和硝向地上部的转运, 所以铵硝同时供应增加了植物总氮积累; 而单一的 NO_3^- 营养下叶片中硝的含量显著高于混合营养。正如 Kronzucker 等^[26] 研究的认为, 铵的存在抑制了根系对硝的吸收, 也直接会影响地上部硝的含量。相对于单一的铵而言, 增硝营养又促进了铵的吸收转运, 所以根系铵态氮的含量显著低于纯铵处理, 叶片游离铵含量略高于纯铵营养, 而根系和叶片总氮含量之和却显著比纯铵处理高。

叶绿素含量高低是影响光合作用强度的主要因素之一。缺氮导致叶绿素含量下降, 恢复供铵态氮于氮饥饿的水稻, 叶片总叶绿素含量显著增加, 但光合色素中叶绿素 b 则以硝酸铵处理的最低, 导致叶绿素 a/b 是铵硝混合营养的最高, 铵处理的最低。原因是叶绿素 a、b 与叶绿素总量均存在极显著的正相关关系, 共同决定了总叶绿素含量的水平, 而叶绿素 b 的含量主导叶绿素 a/b 比值的变化^[27]。虽然

单一的铵营养下叶绿素含量最高, 但其会引起单位叶绿素的光合效率下降, 而使植株生长下降^[10]。

硝酸还原酶(NR)是硝酸盐同化步骤中的第一个酶,也是氮同化过程中的限速酶^[28],而且NR是一种诱导酶,硝酸盐的存在强烈诱导了NR基因的表达^[29]。但 Leleu 等^[17]在研究不同氮源对油菜苗期NR影响发现,根部NR活性依赖于体内硝酸盐浓度,而地上部NR活性与体内硝酸盐的浓度无关,在铵培养的条件下,地上部NR活性比单一的硝营养高的多。戴廷波研究认为^[30],在 NO_3^- 进入细胞质后,不仅可以诱导NR的合成,而且对其有稳定作用;此外,在增铵的作用下,可以更大地提高NR的活性。本研究结果表明,供应不同的无机氮源均检测到NR的活性,只是根系的远远低于地上部。而且在根系NR的活性与体内 NO_3^- 的浓度密切相关,叶片NR活性则是硝酸铵处理的最高,比单一硝处理的高3倍以上,铵处理的叶片NR活性最低。这与戴廷波等在小麦上的研究结果^[30]一致,而与在油菜叶片NR活性反应不尽一致^[17],可能是物种不同所致。正如根系和叶片的NR总活性差异所示(图3B),水稻体内硝态氮的还原主要是在地上部进行,本研究的结果反映铵态氮供应的确提高了硝酸盐的还原能力(加铵与无氮相比;硝酸铵与纯硝相比),这可能在很大程度上反映了增铵提高氮素利用效率的生理机制。

谷氨酰胺合成酶(GS)是处于氮代谢中心的多功能酶,既可以参与氮的同化,合成氨基酸及蛋白质,而且对过量的铵有解毒的作用^[31]。GS有二种同功酶,GS1和GS2。相比较GS2而言,GS1的生理角色和调控特征是更复杂的,它在根部和地上部均有表达,具有组织特异性,受光、无机氮、氨基酸和可溶性碳水化合物调控^[32,33]。氮饥饿的水稻恢复

供氮 4d, 叶片谷氨酰胺合成酶活性处理间差异较小(图 3)。与单一 NO_3^- 营养相比, 水稻根系 GS 活性在含有铵的营养介质显著增加, 而且在铵硝混合营养下增加最多。已有研究表明, 水稻 GS1 基因 *OsGLN1;1* 和 *OsGLN1;2* 类似于拟南芥的 *GLN1;1* 和 *GLN1;4*, 是高亲和基因, 铵浓度高时, 抑制它们的表达^[33]。所以在有硝存在的营养介质中, 水稻根系游离铵态氮比纯铵营养下低, 从而增加了根系 GS 活性, 提高了水稻对氮的同化和利用能力。植株地上部对 NH_4^+ 耐性较高, GS 在不同形态氮营养下保持稳定的状态, 另外, NH_4^+ 的同化也存在其他同化酶如谷氨酸脱氢酶(GDH)参与^[30]。

综上所述, 铵硝混合营养提高了氮的吸收、同化和运转, 但引起这些生理变化的分子机制还不清楚。水稻作为单子叶模型植物, 全基因序列已经被测序完成^[34], 所以利用分子生物学的知识研究不同氮源和状态对基因表达的整体调控, 寻找影响氮素营养的关键的调控元件, 通过转基因技术和反向遗传学途径鉴定其可能的功能和对其他基因的调控作用, 将是今后研究的主要目标。

参考文献

- [1] Wang R C, Tischner R, Gutiérrez R A, *et al.* Analysis of the nitrate response using a nitrate reductase null mutant of arabidopsis. *Plant Physiol.*, 2004, 136: 2 512~ 2 522
- [2] Takei K, Takahashi T, Sugiyama T, *et al.* Carbon and nitrogen relationships and signalling multiple routes communicating nitrogen availability from roots to shoots: A signal transduction pathway mediated by cytokinin. *J. Exp. Bot.*, 2002, 53: 971~ 977
- [3] 赵平, 孙谷畴, 彭少麟. 植物氮素营养的生理生态学研究. *生态科学*, 1998, 17(2): 37~ 42. Zhao P, Sun G C, Peng S L. Ecophysiological research on nitrogen nutrition of plant (In Chinese). *Ecologic Science*, 1998, 17(2): 37~ 42
- [4] 段英华, 张亚丽, 沈其荣. 水稻根际的硝化作用与水稻的硝态氮营养. *土壤学报*, 2004, 41(5): 803~ 809. Duan Y H, Zhang Y L, Shen Q R. Nitrification in rice rhizosphere and the nitrate nutrition of rice (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(5): 803~ 809
- [5] Yuan F, Ran W, Shen Q R. Nitrification potential of soils under liquid incubation conditions. *Pedosphere*, 2005, 15(3): 379~ 385
- [6] 李振高, 俞慎, 吴胜春, 等. 不同氮肥对水稻根圈微生物量及硝化-反硝化细菌的影响. *土壤*, 2003, 35(6): 490~ 494. Li Z G, Yu S, Wu S C, *et al.* Effects of different nitrogen fertilizers on the microbial biomass and the population of nitrifying denitrifying bacteria in the rice rhizosphere (In Chinese). *Soils*, 2003, 35(6): 490~ 494
- [7] Kirk G J D, Kronzucker H J. The potential for nitrification and nitrate uptake in the rhizosphere of wetland plants: A modeling study. *Ann. Bot.*, 2005, 96: 639~ 646
- [8] Chen W, Luo J K, Shen Q R. Effect of NH_4^+ -N/ NO_3^- -N ratios on growth and some physiological parameter of Chinese cabbage cultivars. *Pedosphere*, 2005, 15(3): 310~ 318
- [9] 张亚丽, 董园园, 沈其荣. 不同水稻品种对铵态氮和硝态氮吸收特性的研究. *土壤学报*, 2004, 41(6): 918~ 923. Zhang Y L, Dong Y Y, Shen Q R. Characteristics of NH_4^+ and NO_3^- uptake by rice of different genotypes (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(6): 918~ 923
- [10] 戴廷波, 曹卫星, 荆奇. 氮形态对不同小麦基因型氮素吸收和光合作用的影响. *应用生态学报*, 2001, 12(6): 849~ 852. Dai T B, Cao W X, Jing Q. Effect of nitrogen form on nitrogen absorption and photosynthesis of different wheat genotypes (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(6): 849~ 852
- [11] Dong C X, Shen Q R, Wang G. Tomato growth and organic acid changes in response to partial replacement of NO_3^- -N by NH_4^+ -N. *Pedosphere*, 2004, 14(2): 159~ 164
- [12] 封克, 汪小丽, 陈平, 等. 水稻苗期不同时段 NO_3^- 吸收特点及其受 NH_4^+ 的影响. *中国农业科学*, 2003, 36(3): 307~ 312. Feng K, Wang X L, Chen P, *et al.* Nitrate uptake of rice and effects of ammonium on nitrate uptake at different growth stage (In Chinese). *Science Agriculture Sinica*, 2003, 36(3): 307~ 312
- [13] 王娜, 陈国祥, 邵志广, 等. 不同形态氮素配比对水稻光合特性的影响. *江苏农业学报*, 2002, 18(1): 18~ 22. Wang N, Chen G X, Shao Z G, *et al.* Effects of nitrogen nutrition forms and ratios on the photosynthetic characteristics of rice (In Chinese). *Jiangsu J. of Agr. Sci.*, 2002, 18(1): 18~ 22
- [14] Raman D R, Spanswick R M, Walker L P. The kinetics of nitrate uptake from flowing nutrient solutions by rice: Influence of pretreatment and light. *Bioresource Technology*, 1995, 53: 125~ 132
- [15] 张亚丽, 段英华, 沈其荣. 水稻对硝态氮响应的生理指标筛选. *土壤学报*, 2004, 41(4): 571~ 576. Zhang Y L, Duan Y H, Shen Q R. Responses of different rice varieties at the early stage to different nitrogen forms (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(4): 571~ 576
- [16] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 1999. 263~ 268. Bao S D. *Soil and Agrochemistry Analysis*(In Chinese) 3rd Ed. Beijing: China Agriculture Press, 1999. 263~ 268
- [17] Leleu O, Vuylstecker C. Unusual regulatory nitrate reductase activity in cotyledons of *Brassica napus* seedlings: Enhancement of nitrate reductase activity by ammonium supply. *J. Exp. Bot.*, 2004, 55: 815~ 823
- [18] 邹瑜. 植物生理生化实验指导. 北京: 中国农业出版社, 1995. 27. Zhou Y. *Experimental Guidance of Plant Physiology and Biochemistry* (In Chinese). Beijing: China Agriculture Press, 1995. 27
- [19] 陈薇, 张德颐. 植物组织中硝酸还原酶的提取、测定和纯化. *植物生理学通讯*, 1980, (4): 45~ 49. Chen W, Zhang D X. The extraction, mensuration and purification of nitrate reductase in plant tissue(In Chinese). *Plant Physiology Communication*, 1980, (4): 45~ 49

- [20] Zhang C F, Peng S B, Peng X X, *et al.* Response of glutamine synthetase isoforms to nitrogen sources in rice (*Oryza sativa* L.) roots. *Plant Sci.*, 1997, 125: 163~170
- [21] 王磊, 自由路. 不同氮处理春玉米叶片光谱反射率与叶片全氮和叶绿素含量的相关研究. *中国农业科学*, 2005, 38(11): 2268~2276. Wang L, Bai Y L. Correlation between corn leaf spectral reflectance and leaf total nitrogen and chlorophyll content under different nitrogen level (In Chinese). *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(11): 2268~2276
- [22] Yang W H, Peng S B, Huang J L, *et al.* Using leaf color charts to estimate leaf nitrogen status of rice. *Agron. J.*, 2003, 95: 212~217
- [23] Blachmer T M, Schepers J S. Techniques for monitoring crop nitrogen status in corn. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 1994, 25: 1791~1800
- [24] 段英华, 张亚丽, 沈其荣, 等. 增硝营养对不同基因型水稻苗期氮素吸收同化的影响. *植物营养与肥料学报*, 2005, 11(2): 160~165. Duan Y H, Zhang Y L, Shen Q R, *et al.* Effect of partial replacement of NH_4^+ by NO_3^- on nitrogen uptake and utilization by different genotypes of rice at the seedling stage (In Chinese). *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2005, 11(2): 160~165
- [25] 谈健康, 张亚丽, 沈其荣, 等. 不同形态氮对水稻苗期水分利用效率及其生物效应的影响. *南京农业大学学报*, 2002, 25(3): 49~52. Tan J K, Zhang Y L, Shen Q R, *et al.* Effect of different $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ N ratios on water use efficiency and its biological characteristics of rice at early stage (In Chinese). *J. of Nanjing Agric. Univ.*, 2002, 25(3): 49~52
- [26] Kronzucker H J, Glass A D M, Yaesh S M. Inhibition of nitrate uptake by ammonium in barley: Analysis of component fluxes. *Plant Physiol.*, 1999, 120: 283~291
- [27] 孟军, 陈温福, 徐正进, 等. 水稻剑叶净光合速率与叶绿素含量的研究初报. *沈阳农业大学学报*, 2001, 32(4): 247~249. Meng J, Chen W F, Xu Z J, *et al.* Study on photosynthetic rate and chlorophyll content (In Chinese). *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2001, 32(4): 247~249
- [28] Campble W H. Nitrate reductase structure, function and regulation: Bridging the gap between biochemistry and physiology. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1999, 50: 277~303
- [29] Flores P, Botella M A, Cerda A, *et al.* Influence of nitrate level on nitrate assimilation in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants under saline stress. *Can. J. Bot.*, 2004, 82: 207~213
- [30] 戴廷波, 曹卫星, 孙传范, 等. 增铵营养对小麦光合作用及硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶的影响. *应用生态学报*, 2003, 14(9): 1529~1532. Dai T B, Cao W X, Sun C F, *et al.* Effect of enhanced ammonium nutrition on photosynthesis and nitrate reductase and glutamine synthetase activities of winter wheat (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(9): 1529~1532
- [31] Ishiyama K, Inoue E, Watanabe Takahashi A, *et al.* Biochemical background and compartmentalized functions of cytosolic glutamine synthetase for active ammonium assimilation in rice roots. *Plant Cell Physiol.*, 2004, 45(11): 1640~1647
- [32] Oliveira I C, Conuzzi G M. Carbon and amino acids reciprocally modulate the expression of glutamine synthetase in Arabidopsis. *Plant Physiol.*, 1999, 121: 301~309
- [33] Ishiyama K, Inoue E, Watanabe Takahashi A, *et al.* Kinetic properties and ammonium dependent regulation of cytosolic isoenzymes of glutamine synthetase in Arabidopsis. *J. Biol. Chem.*, 2004, 279: 16589~16605
- [34] Goff S A, Ricke D, Lan T H, *et al.* A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). *Science*, 2002, 296: 92~100

PHYSIOLOGICAL MECHANISMS IN UPTAKE AND USE OF DIFFERENT FORMS OF NITROGEN BY NITROGEN STARVED RICE CROP

Li Baozhen Xin Weijie Xu Guohua[†]

(College of Resources and Environmental Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract This hydroponics experiment studied the differences in use of different forms of nitrogen (N) by starved rice crop (*Oryza sativa* L. ssp. *Japonica* cv. *Wuyujing 7#*). Resupply of N stimulated growth of shoot but decreased biomass accumulation of roots, particularly by the single form of ammonium. In comparison to either ammonium or nitrate alone, mixture supply of the two forms of N increased total N uptake and translocation of N to shoot as well as activation of glutamine synthetase in the roots and nitrate reductase in the leaves. Concentration of total chlorophyll, particularly chlorophyll a in the ammonium supplied leaves was significantly higher than that nitrate supplied leaves. It suggests that balanced supply of both ammonium and nitrate through rational management of water and fertilization could improve both uptake and use efficiency of N by rice crop.

Key words Rice; Ammonium; Nitrate; Nitrate reductase (NR); Glutamine synthetase (GS); Chlorophyll