

施 N 对不同水稻品种 N 肥利用率及根际硝化作用和硝化微生物的影响

李奕林 张亚丽 张耀鸿 沈其荣*
(南京农业大学资源与环境科学学院,江苏 南京 210095)

摘要 发生在水稻根际的硝化作用对水稻的氮素(N)营养受到人们越来越大的关注。在田间条件下研究了不同 N 效率粳稻品种(4007、武运粳 7 号和 Elio)在无肥(0 kg N/hm²)、中肥(180 kg N/hm²)和高肥(300 kg N/hm²)水平下籽粒产量、吸 N 量、N 肥利用率、根际土壤铵态氮(NH₄⁺-N)和硝态氮(NO₃⁻-N)含量、硝化强度和氨氧化细菌(AOB)数量。结果表明不同水稻品种的籽粒产量在 3 个 N 处理中差异极显著,4007 在中肥处理中获得最高产量 11117 kg/hm²,而 Elio 在所有处理中籽粒产量均最低。各品种地上部吸 N 量随施 N 量增加而增加,但各品种之间差异不显著。不同水稻品种 N 肥利用率差异显著,4007 显著高于武运粳 7 号和 Elio。本试验根据不同品种水稻在不施 N 肥水平下的籽粒产量与 N 肥利用率的大小,将 3 个品种分为 N 肥高效敏感型(4007)、N 肥高效不敏感型(武运粳 7 号)和 N 肥低效不敏感型(Elio)。在水稻中后期干湿交替的水分管理条件下,无肥和中肥区的水稻根际土壤以 NO₃⁻-N 为主,而在高肥区则以 NH₄⁺-N 为主。随着施 N 量增加,水稻根际土壤铵、硝态 N 含量也随之增加。NH₄⁺-N 含量在无肥、中肥和高肥水平下分别为 0.88、0.94 mg/kg 和 13.5 mg/kg,而 NO₃⁻-N 含量分别为 1.61、1.73 mg/kg 和 2.33 mg/kg。不同水稻品种根际土壤硝化强度之间差异极显著,在 3 个施 N 水平下均表现为 4007 > 武运粳 7 号 > Elio。其平均值分别为 6.94、5.46 μg/(kg·h)和 2.42 μg/(kg·h)。在 3 个施 N 水平下,Elio 根际土壤 AOB 数量均显著低于 4007 和武运粳 7 号。4007 根际土壤 AOB 数量在高肥水平下达最大值 2.02 × 10⁶ 个/g 土,而最小值为中肥水平下 Elio 的根际土壤(1.89 × 10⁵ 个/g 土)。相关性分析表明,水稻根际土壤硝化强度在无肥、中肥和高肥条件下与产量呈极显著正相关关系($r = 0.799^{**}$, 0.877^{**} , 0.934^{**}),而且在中肥条件下与水稻 N 肥利用率显著相关($r = 0.735^{*}$)。水稻根际土壤 AOB 数量分别和硝化强度以及水稻籽粒产量呈极显著正相关关系。试验结果表明,水稻根际的硝化作用较大程度上决定着水稻籽粒产量或水稻 N 肥利用率。

关键词 水稻 氮肥利用率 根际 硝化作用 氨氧化细菌
文章编号 1000-0933(2007)06-2507-09 中图分类号 Q935 S314 S511 S154 文献标识码 A

Effect of N application on fertilizer-N use efficiencies , nitrification and nitrifying microorganisms in rhizosphere soil growing with different lowland rice cultivars
LI Yi-Lin , ZHANG Ya-Li , ZHANG Yao-Hong , SHEN Qi-Rong*

College of Resources and Environmental Sciences , Nanjing Agricultural University , Nanjing 210095 , China
Acta Ecologica Sinica 2007 27 (6) 2507 ~ 2515.

Abstract : More and more evidence shows that nitrification happened in rhizosphere soil of rice is of significance to nitrogen (N) nutrition of rice plants. Three japonica rice cultivars (4007 , Wuyunjing7 and Elio) with different N use efficiencies

基金项目 国家自然科学基金资助项目(40471074,30671234);江苏省重大攻关项目(BE2005369)

收稿日期 2006-05-15;修订日期 2007-02-01

作者简介 李奕林(1979~),女,河南郑州人,博士,主要从事根际土壤硝化特征研究. E-mail : njndlyl@tom.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail : shenqirong@njau.edu.cn

Foundation item The project was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 40471074,30671234); Key Project of Jiangsu Province (No. BE2005369)

Received date 2006-05-15 ; **Accepted date** 2007-02-01

Biography LI Yi-Lin , Ph. D. , mainly engaged in nitrification characteristics in rhizosphere soil. E-mail : njndlyl@tom.com

were used to study rice grain yields ,total N accumulation and the nitrification characteristics under three N treatments , such as zero N level (0 kg N/hm²) , moderate N level (180 kg N/hm²) and high N level (300 kg N/hm²) in field conditions. The results obtained were described as follows. There were significant differences of rice grain yields among the three rice cultivars under different N application rates. The maximal and minimal grain yields were obtained in 4007 in the moderate N level and in Elio in the zero N level , achieved 11117 kg/hm² and 5322 kg/hm² , respectively. There were significant differences of the total N accumulation among the three N treatments , and the total N accumulation increased with the increase of the N fertilizer application rates. Significant differences were found in the fertilizer-N use efficiency and rice grain yields among the three rice cultivars under different N application rates. For example , the fertilizer-N use efficiency of 4007 was always significantly higher than those of the Wuyunjing 7 and Elio in both moderate and high N level treatments ,and the average fertilizer-N use efficiency in the high N level treatment was 42. 2% lower than that of the moderate N level treatment. Based on the fertilizer-N use efficiency and grain yield at zero N fertilization level , the three rice cultivars could be defined as efficient and responsive (4007) , efficient and nonresponsive (Wuyunjing7) and nonefficient and nonresponsive (Elio).

Under the water management of alternation of wetting and drying during the middle-late rice growing stages , the main N form in the rice growing rhizosphere soil was nitrate (NO₃⁻-N) in the zero and moderate N level treatments , while ammonium (NH₄⁺-N) was the main N form in the high N level treatment. The contents of NH₄⁺-N and NO₃⁻-N in the rhizosphere soil increased with the increase of the N fertilizer applications. For example , the average contents of NH₄⁺-N at the zero , moderate and high N level conditions were 0. 88 , 0. 94 mg/kg and 13. 5 mg/kg , respectively , while those of NO₃⁻-N were 1. 61 , 1. 73 mg/kg and 2. 33 mg/kg , respectively. The nitrification potential in the rice growing rhizosphere soil represented significant differences among the three rice cultivars ,and the average values were 6. 94 , 5. 46 g/ (kg·h) and 2. 42 g/ (kg·h) for 4007 , Wuyunjing 7 and Elio , respectively , under all the N application levels. The abundance of ammonia - oxidizing bacterial (AOB) in the rhizosphere soil of Elio was significantly lower than those of 4007 and Wuyunjing 7 under the different N application rates. The maximal abundance of AOB was 2. 02 × 10⁶/g soil in the rhizosphere soil of 4007 at high N level , while the minimal one was 1. 89 × 10⁵/g soil in the rhizosphere soil of Elio at moderate N level. The nitrification potentials in rhizosphere soil were significantly correlated with the rice grain yield at zero , moderate and high N levels (*r* = 0. 799 ** , 0. 877 ** and 0. 934 ** , respectively) , and also they were significantly correlated with the N physiological efficiency at moderate N level (*r* = 0. 735 *). Furthermore , the abundances of AOB in the rhizosphere soil were correlated with the nitrification potentials and the grain yields. These results inferred that there should be a relationship among rice yields , fertilizer-N use efficiency and nitrification potential in rhizosphere of rice plants.

Key Words : rice ; fertilizer-N use efficiency ; rhizosphere ; nitrification ; ammonia-oxidizing bacteria

中国 N 肥消费量占世界 N 肥总量的 30% ,水稻生产所消耗的 N 肥占世界水稻 N 肥总消耗量的 37% ,与其它的主要产稻国相比 ,中国水稻施用量较高而 N 肥利用率 (fertilizer-N use efficiency , FNUE)较低^[1]。当土壤可利用 N 成为限制因子时 ,作物 N 肥利用率在对经济产量基因型差异的贡献中起着重要的作用^[2]。因此 ,在以减少土壤 N 资源耗竭为前提下 ,更需要大力发展高产高效优质水稻品种的种植。

硝化作用是好氧条件下 NH₄⁺-N 被氧化成为 NO₃⁻-N 的过程 ,是 N 素生物地球化学循环中非常重要的一个环节 ,包括 NH₄⁺-N 被氧化为亚硝态氮 (NO₂⁻-N)和 NO₃⁻-N 等两个步骤。在这些步骤中 ,NH₄⁺-N 氧化为羟铵、后者又与水分子反应生成 NO₂⁻-N ,此过程被认为是限制性过程 ,分别受氨氧化细菌 (AOB)分泌的细胞膜结合态氨单加氧酶 (AMO)和外周胞质关联的羟基胺氧化还原酶 (HAO)所催化^[3] ,决定着整个硝化过程进行的速度^[4]。由于亚硝酸氧化细菌 (NOB)的数量和活性在硝化过程中不是限制因子 ,所以这里所讨论的硝化微生物指的就是 AOB。

以往的研究表明不同的水稻品种对 NO_3^- -N 的响应存在着显著的差异^[5]。水培试验结果表明,增硝营养可以增加水稻对 N 的吸收,提高 N 利用率,进而促进水稻生长^[6,7],进一步的研究表明 NO_3^- 的存在主要是促进了水稻对 NH_4^+ 的吸收,增加水稻吸收 NH_4^+ 的 V_{\max} 值,而对其 K_m 值影响不大^[6],增硝营养还可以显著增加叶片谷氨酰胺合成酶 (GS) 的活性,提高水稻同化 NH_4^+ 的能力。在田间条件下,即便是完全淹水,由于水稻根系的泌氧作用,水稻根表和根际存在着较强的硝化作用,其产生的 NO_3^- -N 对水稻的 N 营养起着重要作用^[8]。淹水稻田土壤中 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 常常处于动态变化之中,水稻吸收 NO_3^- 的多少一方面决定于水稻自身的需要,另一方面也取决于根际土壤中由 NH_4^+ 通过硝化作用产生 NO_3^- 的多少。那么是否 N 高效水稻根际硝化作用高于 N 低效品种?本研究以已经筛选出的 N 高效和 N 低效的水稻品种为材料,在田间条件下研究其根际硝化作用和 N 肥利用率之间的关系,试图揭示水稻根际的硝化作用与水稻 N 肥利用率之间的关系。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

试验于 2004 年在南京江宁区秣陵镇进行,供试土壤化学性质为:有机质 13.3 g/kg、全 N 0.97 g/kg、速效磷 8.0 mg/kg、速效钾 116 mg/kg、pH (水土比 1:1) 6.5。

1.2 供试水稻品种

在去年田间筛选 187 个粳稻品种的基础上选出了 1 个 N 高效 (4007)和 1 个 N 低效 (Elio)粳稻品种,同时添加了太湖流域推广面积较大具有代表性的粳稻品种武运粳 7 号^①。

1.3 试验设计

实验为裂区设计,主处理为 3 个 N 水平处理,即无肥 (0 kg N/hm²)、中肥 (180 kg N/hm²)和高肥 (300 kg N/hm²)处理 (具体用量见表 1)。N 肥形态为尿素,根据施 N 量不同划分为 3 个大区,重复 3 次,各田埂之间用塑料布隔开。N 肥的施用按基肥:蘖肥:穗肥为 3:3:4 的比例分配,其中穗肥平均分为两次施用。所有处理的 P、K 肥用量一致,且均作为基肥施用。其中 P 肥 (过磷酸钙)用量为 35 kg P/hm²,K 肥 (氯化钾)用量为 130 kg K/hm²。实验副处理为 3 个不同 N 效率的粳稻品种,各处理行距×株距为 25cm×15cm,每穴 3 株苗,各小区面积为 10m²。

表 1 田间实验 N 肥用量表 (kg N/hm²)
Table 1 N fertilizer application rates in the field experiments (kg N/hm²)

施肥期 Application time	无肥 Zero N level	中肥 Moderate N level	高肥 High N level
基肥 Basal fertilizer	0	54	90
分蘖肥 (5~6 张叶片) Tilling fertilizer (5-6 leaves)	0	54	90
穗肥 1 (13~14 叶) Spike fertilizer 1 (13-14 leaves)	0	36	60
穗肥 2 (15~16 叶) Spike fertilizer 2 (15-16 leaves)	0	36	60
总计 Total	0	180	300

1.4 植株及土壤样品的采集

本次试验于水稻收获期分别采集水稻植株及水稻根际土壤样品用于后续分析。在水稻成熟时,收取各小区内 4m²的水稻脱粒晒干计产。每小区随机取 3 穴水稻植株,烘干后测定茎、叶和穗干重,粉碎后测定 N 含量。土壤根际样品采集于水稻收获时,用土钻在各小区水稻植株根部周围 (0~20cm 深)随机取 7 钻,混合后置于土袋中用于土壤 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N、硝化强度及 AOB 数量的测定。

① 张亚丽. 水稻氮效率基因型差异评价与氮高效机理研究. 南京农业大学博士论文, 2006. 28~36
Zhang Y L. Genotypic differences in grain yields and nitrogen use efficiency in rice cultivars. Nanjing Agricultural University Doctoral Thesis, 2006. 28~36

1.5 测定方法及数据分析

1.5.1 测定方法

植株含 N 量的测定。水稻植株地上部鲜样 (茎、叶和穗)于 105℃ 杀青 30min 后在 70℃ 烘干 72h 称重、粉碎后 ,用 H₂SO₄-H₂O₂ 消煮 ,用连续流动分析仪 (AA3 ,Bran Luebbe 公司)测定其含 N 量。

土壤 NH₄⁺ -N、NO₃⁻ -N 含量的测定。土壤样品用 2 mol/L KCl 溶液 (水土比 10:1)振荡浸提 30 min 后 ,用连续流动分析仪 (AA3 ,Bran Luebbe 公司)测定 NH₄⁺ -N 及 NO₃⁻ -N 含量。

土壤硝化强度的测定。短期硝化强度通常用于表征土壤硝化特征 ,本文参考 Berg 和 Rosswall^[9]的方法 ,其简要步骤为 :称取 5 g 鲜土样 3 份 ,分别置于 100 ml 三角瓶中 ,加 2.5 ml NaClO₃ (75 mmol/L) ,其中两份在 25℃ 下培养 24 h ,另一份置于 -20℃ 冰箱中 24 h 作对照。培养结束后每份加 5 ml 去离子水、10 ml KCl (2 mol/L) ,完全摇匀后立即过滤 ,吸取 5 ml 滤液放入试管中 ,加 3 ml NH₄Cl 缓冲溶液 (0.19 mol/L ,pH 8.5)、2 ml 磺胺试剂 ,摇匀后室温下放置 15 min ,520 nm 波长下比色。硝化强度按下列公式计算 :

$$\text{NO}_2^- \text{-N} \text{ [(g/ (kg \cdot h))]} = \frac{(\text{滤液 NO}_2^- \text{-N 浓度} - \text{对照滤液 NO}_2^- \text{-N 浓度}) \text{ (mg/L) } \times 12.5 \times 1000}{5 \times \text{dwt} \times 24}$$

式中 ,12.5 为所加入试剂的体积 ,5 为所称取土样的重量 ,dwt 表示每克湿土的干重 ,24 为土样培养时间。硝化强度用单位时间内产生的 NO₂⁻ -N 的量表示。

土壤氢氧化细菌计数采用 MPN 法 ,其中液体培养基包含 : (NH₄)₂SO₄0.5 g/L、NaCl 0.3 g/L、FeSO₄·7H₂O 0.03 g/L、K₂HPO₄1 g/L、MgSO₄·7H₂O 0.3 g/L和 CaCO₃ 7.5 g/L、pH 7.8。25℃ 恒温培养 14 d。具体方法见《农业微生物学实验技术》^[10]。

1.5.2 数据分析

文中 N 肥利用率均为 N 肥生理利用率。所有数据均采用 SPSS 统计软件进行分析。

$$\text{N 肥利用率 (FNUE) } = \frac{\text{施 N 区籽粒产量} - \text{未施 N 区籽粒产量}}{\text{施 N 区植株总吸 N 量} - \text{未施 N 区植株总吸 N 量}}$$

2 结果与分析

2.1 不同品种水稻产量、地上部吸 N 量差异比较

在不同施 N 处理中 ,水稻籽粒产量之间差异极显著 (表 5) 表现为中肥和高肥水平下籽粒产量最高 ,但二者差异不显著 ,无肥处理籽粒产量显著低于施肥处理。其中不同品种水稻产量在无肥、中肥和高肥水平下 ,平均籽粒产量分别为 6522、9683 kg/hm²和 9558 kg/hm² (表 2)。不同水稻品种在 3 个 N 处理中均有极显著差异 (表 5) ,4007 在中肥处理中获得最高产量 (11117 kg/hm²) ,而 Elio 在无肥处理中获最低产量 (5322 kg/hm²) (表 2)。其中 4007、武运粳 7 号在不同施 N 水平下籽粒产量均显著高于 Elio ,除了在高肥处理中 4007 与武运粳 7 号产量差异显著外 ,二者在无肥与中肥处理中均无显著差异。

地上部吸 N 量在不同施 N 处理中均有极显著差异 (表 5) ,表现为随施 N 量增加而增加。但在同一施 N 水平下 ,不同品种之间地上部吸 N 量无显著差异 (表 2) ,由此可以看出施用 N 肥能够显著改善水稻整个地上部吸 N 量。

2.2 不同品种水稻 N 肥利用率分类与差异

Fageria 和 Barbosa^[11]根据 N 肥利用率及不施 N 肥条件下作物的籽粒产量将作物分为四种类型 : (1)N 肥高效敏感型 (efficient and responsive , ER) ,在低 N 水平下产量高于平均水平而且 N 肥利用率高于平均水平的品种。 (2)N 肥高效不敏感型 (efficient and nonresponsive , ENR) ,在低 N 水平下产量高于平均水平但 N 肥利用率低于平均水平的品种。 (3)N 肥低效敏感型 (nonefficient and responsive , NER) ,在低 N 水平下产量低于平均水平但 N 肥利用率高于平均水平的品种。 (4)N 肥低效不敏感型 (nonefficient and nonresponsive , NENR) ,在低 N 水平下产量低于平均水平且 N 肥利用率低于平均水平的品种。根据上面的分类方法 ,4007 属于高效敏感型、武运粳 7 号属于高效不敏感型 ,而 Elio 则属于低效不敏感型 (表 3)。

表 2 不同 N 效率水稻产量、吸 N 量

Table 2 Grain yield and total N accumulation of different rice cultivars with different N use efficiencies

品种 Variety	籽粒产量 Grain yield (kg/hm ²)			地上部吸 N 量 Total N accumulation (kg/hm ²)		
	无肥 Zero N level	中肥 Moderate N level	高肥 High N level	无肥 Zero N level	中肥 Moderate N level	高肥 High N level
4007	6837 a	11117 a	10754 a	109 a	202 a	251 a
武运粳 7 号 Wuyunjing 7	7407 a	9898 a	9756 b	138 a	204 a	258 a
Elio	5322 b	8033 b	8165 c	113 a	204 a	252 a
平均 Average	6522	9683	9558	120	203	254

同列中不同字母表示 LSD 检验 5% 水平差异显著 $n = 3$ Means followed by different letters on the same column indicate significant difference at 5% level by LSD test

由表 3 可知 3 个水稻品种的 N 肥利用率在两个施 N 水平下均有显著性差异 (表 3), 其中 4007 在中肥和高肥水平下, N 肥利用率分别为 55.5 kg/kg 和 31.0 kg/kg, 均显著高于武运粳 7 号和 Elio。其中无论哪一品种水稻, 均表现为 N 肥利用率在高肥水平下均显著低于中肥水平。4007、武运粳 7 号和 Elio 在高肥水平下的平均 N 肥利用率比中肥水平下降 42.2% (表 3), 由此可知造成目前水稻普遍 N 肥利用率偏低的主要原因是由于过量施 N 造成的。N 肥吸收率在中肥与高肥水平下与产量均无显著相关性 ($r = -0.305, -0.248$), 而 N 肥利用率则与产量在中肥条件下呈极显著正相关 ($r = 0.944^{**}$), 而在高肥条件下与产量呈显著正相关关系 ($r = 0.763^{*}$, 表 6)。

2.3 不同 N 效率水稻根际土壤矿质态 N 含量差异

不同 N 效率水稻根际土壤 $\text{NH}_4^{+}\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^{-}\text{-N}$ 含量在不同施 N 水平下差异极显著, 而且不同品种间 $\text{NH}_4^{+}\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^{-}\text{-N}$ 含量也存在极显著差异 (表 5)。 $\text{NH}_4^{+}\text{-N}$ 含量在无肥、中肥和高肥水平下分别为 0.88、0.94mg/kg 和 13.5 mg/kg, 而 $\text{NO}_3^{-}\text{-N}$ 含量分别为 1.61、1.73mg/kg 和 2.33 mg/kg (表 4)。由此可见, 随着施 N 量增加, 水稻根际土壤矿质态 N 含量也随之增加, 但在高肥条件下 $\text{NH}_4^{+}\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^{-}\text{-N}$ 含量之和达到 15.8 mg/kg (表 4), 如此高的含量造成大量 N 在土壤中的残留, 同时也对地下水污染造成隐患。将根际土壤 $\text{NH}_4^{+}\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^{-}\text{-N}$ 含量进行方差分析可知, 在无肥和中肥水平下, 水稻根际土壤以 $\text{NO}_3^{-}\text{-N}$ 为主 ($p < 0.01$), 而在高肥条件下, 水稻根际土壤则以 $\text{NH}_4^{+}\text{-N}$ 为主 ($p < 0.01$)。在同一施 N 水平下, 不同 N 效率水稻根际土壤 $\text{NH}_4^{+}\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^{-}\text{-N}$ 含量差异极显著, 且 $\text{NH}_4^{+}\text{-N}$ 在无肥、中肥和高肥水平下与产量呈显著正相关关系 ($r = 0.711^{**}, 0.675^{*}, 0.816^{**}$), 而 $\text{NO}_3^{-}\text{-N}$ 在无肥和高肥水平下与产量呈极显著正相关关系 ($r = 0.808^{**}, 0.788^{**}$, 表 6)。

2.4 不同 N 效率水稻根际土壤硝化强度差异

硝化强度在不同施 N 水平下差异显著 (表 5), 除 Elio 外, 4007 和武运粳 7 号根际土壤硝化强度均随施 N 量增加而增加, 4007 根际土壤硝化强度在中肥和高肥水平下分别比无肥水平下增加了 4.01% 和 21.1%, 武运粳 7 号则增加了 0.89% 和 12.4%, Elio 根际土壤硝化强度在中肥水平下最低, 而在无肥和高肥水平下无差异 (图 1)。不同品种水稻根际土壤硝化强度之间差异极显著 (表 5), 无论在哪一施 N 水平下均表现为 4007 > 武运粳 7 号 > Elio。硝化强度在 2.18 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{h})$ 到 7.76 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{h})$ 之间变化, 其中 4007、武运粳 7 号和 Elio 根际土壤硝化强度在不同施 N 水平下平均值分别为 6.94、5.46 和 2.42 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{h})$ (图 1)。根据相关性分析可知, 硝化强度在无肥、中肥和高肥条件下与产量呈极显著正相关关系 ($r = 0.799^{**}, 0.877^{**}, 0.934^{**}$), 而且硝化强度在中肥条件下与水稻 N 肥利用率显著相关 ($r = 0.735^{*}$)。硝化强度在无肥水平下与水稻根际土

表 3 不同品种水稻不同施 N 水平下 N 肥利用率比较

Table 3 Comparison of fertilizer-N use efficiency for different rice cultivars at different N application levels

品种 Variety	N 肥利用率 FNUE (kg/kg)	
	中肥 Moderate N level	高肥 High N level
4007	55.5 a	31.0 a
武运粳 7 号 Wuyunjing 7	37.6 b	19.6 b
Elio	29.9 b	20.5
平均 Average	41.0	23.7

同列中不同字母表示 LSD 检验 5% 水平差异显著 $n = 3$
Means followed by different letters on the same column indicate significant difference at 5% level by LSD test

壤 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 含量不相关 ($r = 0.298$) ,而在中肥和高肥水平下则呈极显著正相关关系 ($r = 0.898^{**}$, 0.834^{**} ,表 6) ,说明根际土壤 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 含量过低是造成根际土壤硝化强度低的主要原因。

表 4 不同 N 效率水稻根际土壤 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量差异

Table 4 Comparison of $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ and $\text{NO}_3^- \text{-N}$ in rice growing rhizosphere soil for different rice cultivars at different N application levels					
品种 Variety	$\text{NH}_4^+ \text{-N}$ (mg/kg)	$\text{NO}_3^- \text{-N}$ (mg/kg)	$\text{NH}_4^+ \text{-N} + \text{NO}_3^- \text{-N}$ (mg/kg)	$\text{NH}_4^+ \text{-N}/\text{NO}_3^- \text{-N}$ (mg/kg)	
无肥 Zero N level	4007	0.64 b	1.94 a	2.59 b	0.33 c
	武运粳 7 号 Wuyunjing 7	1.42 a	1.76 a	3.19 a	0.81 a
	Elio	0.56 b	1.12 b	1.68 c	0.50 b
	平均 Average	0.88	1.61	2.48	0.55
中肥 Moderate N level	4007	1.09 a	1.77 a	2.86 a	0.62 a
	武运粳 7 号 Wuyunjing 7	0.97 ab	1.90 a	2.87 a	0.51 a
	Elio	0.75 b	1.52 b	2.27 b	0.50 a
	平均 Average	0.94	1.73	2.67	0.54
高肥 High N level	4007	15.3 a	2.70 a	18.0 a	5.69 a
	武运粳 7 号 Wuyunjing 7	12.9 b	2.34 ab	15.3 b	5.54 a
	Elio	12.3 b	1.96 b	14.2 b	6.29 a
	平均 Average	13.5	2.33	15.8	5.84

同列中不同字母表示 LSD 检验 5% 水平差异显著 $n = 3$ Means followed by different letters on the same column indicate significant difference at 5% level by LSD test

表 5 不同施 N 水平条件下不同水稻品种产量、吸 N 量、N 肥利用率和根际土壤硝化强度及其相关指标差异显著性 F 检验

Table 5 F-ratios and their significance levels with repeated measures for grain yield , total N accumulation , fertilizer-N use efficiency , $\text{NH}_4^+ \text{-N}$, $\text{NO}_3^- \text{-N}$, nitrification potential and AOB abundance for three rice cultivars (4007 , Wuyunjing 7 and Elio) and three N fertilizer application levels (0 , 180 and 300 kg N/hm²)

项目 Item	品种 Variety	施 N 水平 N application level	品种 × 施 N 水平 Variety × N application level
籽粒产量 Grain yield	61.776 **	125.604 **	3.067 *
地上部吸 N 量 Total N accumulation	0.58 ^{NS}	58.968 **	0.278 ^{NS}
N 肥利用率 FNUE	16.181 **	39.226 **	2.512 ^{NS}
$\text{NH}_4^+ \text{-N}$	29.431 **	4693.887 **	26.593 **
$\text{NO}_3^- \text{-N}$	41.729 **	62.563 **	4.134 *
硝化强度 Nitrification potential	149.439 **	4.34 *	1.071 ^{NS}
AOB 数量 AOB abundance	3592.979 **	13.877 **	24.617 **

NS :差异不显著 , * 和 * * 分别表示 5% 和 1% 条件下差异显著 ;表中数值为 F 值 NS :not significant , * and * * :significant at $P < 0.05$ and 0.01 , respectively ;Data are F-ratios

2.5 不同 N 效率水稻根际土壤氨氧化细菌数量差异

水稻根际土壤 AOB 数量在不同施 N 水平下差异极显著 (表 5) ,且不同品种在不同施 N 水平下变化趋势存在差异。其中 4007 表现为在不同施 N 水平下无显著差异 ,武运粳 7 号表现为中肥 > 高肥 > 无肥 ,而 Elio 则表现为高肥水平显著高于无肥和中肥水平 ,而无肥和中肥水平无差异 (图 2)。不同品种水稻根际土壤 AOB 数量差异极显著 (表 5) ,除了中肥水平下武运粳 7 号和 4007 差异不显著 ,但二者均显著大于 Elio 外 ,在无肥和高肥水平下均表现为 4007 > 武运粳 7 号 > Elio。4007 根际土壤 AOB 数量在高肥水平下达最大值 2.02×10^6 个/g 土 ,而最小值为中肥水平下 Elio 根际土壤 AOB 数量 1.89×10^5 个/g 土 (图 2)。在所有施 N 水平下 ,Elio 根际土壤 AOB 数量均显著低于 4007 和武运粳 7 号。从相关性分析可知 ,水稻根际土壤 AOB 数量和硝化强度以及水稻籽粒产量呈极显著正相关关系。水稻根际土壤 AOB 数量在无肥水平下和根际土壤 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 含量不相关 ,而在中肥和高肥水平下则呈显著正相关关系 (表 6) ,因此可推断在水稻根际 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 成为限制性因子时 ,水稻会和 AOB 竞争共同底物 ,其结果是水稻优先吸收 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 。

表 6 不同施 N 水平条件下不同水稻品种 N 肥利用率、产量及硝化特征相关性分析

Table 6 Correlation matrix among fertilizer-N use efficiency , grain yield , $\text{NH}_4^+ \text{-N}$, $\text{NO}_3^- \text{-N}$, nitrification potential and AOB abundance for three rice cultivars (4007 , Wuyunjing 7 and Elio) and three N fertilizer application levels (0 , 180 and 300 kg N/hm²)

项目 Item		籽粒产量 Grain yield	硝化强 Nitrification potential	AOB 数量 AOB abundance	$\text{NH}_4^+ \text{-N}$	$\text{NO}_3^- \text{-N}$
无肥 Zero N level	籽粒产量 Grain yield		1	0.799 **	0.820 **	0.711 *
	硝化强度 Nitrification potential				0.974 **	0.298 ^{NS}
	AOB 数量 AOB abundance					0.380 ^{NS}
中肥 ModerateN level	N 肥利用率 F NUE		0.944 **	0.735 *	0.621 ^{NS}	0.545 ^{NS}
	籽粒产量 Grain yield			0.877 **	0.839 **	0.675 *
	硝化强度 Nitrification potential				0.929 **	0.898 **
高肥 High N level	AOB 数量 AOB abundance					0.792 **
	N 肥利用率 F NUE		0.763 *	0.649 ^{NS}	0.586 ^{NS}	0.829 **
	籽粒产量 Grain yield			0.934 **	0.962 **	0.816 **
	硝化强度 Nitrification potential				0.962 **	0.834 **
	AOB 数量 AOB abundance					0.764 *

NS表示差异不显著 , * 和 * * 分别表示 5% 和 1% 条件下差异显著 ,表中数值为相关系数 (r 值) NS : not significant , * and * * : significant at *P* < 0.05 and 0.01 , respectively. Data are correlation coefficients (*r*-values)

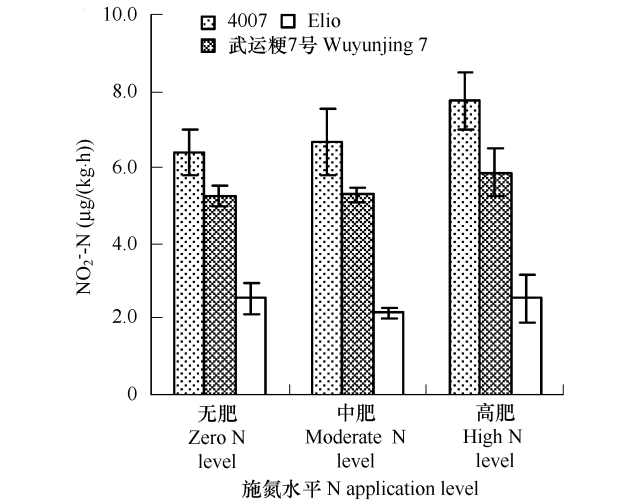


图 1 不同 N 效率水稻在不同施 N 水平下根际土壤硝化强度
Fig. 1 Nitrification potential in rice growing rhizosphere soil for different rice cultivars at different N application levels

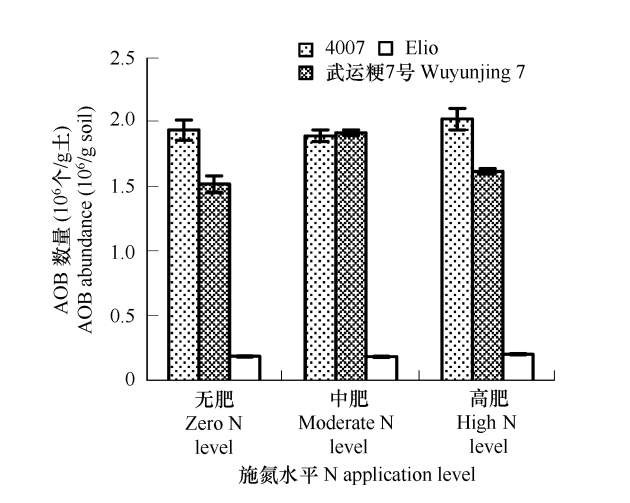


图 2 不同 N 效率水稻在不同施 N 水平下根际土壤 AOB 数量
Fig. 2 AOB abundance in rice growing rhizosphere soil for different rice cultivars at different N application levels

3 讨论

从营养学意义上讲 , $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 是植物生长过程中主要的两种矿质 N 源 ,但由于淹水稻田土壤中 N 主要存在形态为 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ [4,15] ,所以人们一直认为水稻是喜 NH_4^+ 作物。但越来越多的研究 [16,17] 表明 ,水稻能有效的吸收利用 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 。Kronzucker 等 [17~19] 通过实验从 3 个方面证明水稻对 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的有效利用 :首先 ,在同等供 N 水平下 , $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 内流量的 V_{max} 值比 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 高 40% ,而且 K_m 比 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 低 50% ;其次 ,由于 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的吸收是诱导型的 ,当水稻 N 饥饿 24 h 后 ,对 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的诱导吸收异常迅速 ,并在 2 h 内达到最大吸收峰值 ;而一直以来被人们认为是 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的高效利用作物的大麦 ,在 N 饥饿 24 h 后 , $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的诱导吸收则需要 24 h 达最大峰值 ,而对于公认为对 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 不敏感的白云杉 , $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的诱导吸收则需要数天达最大峰值。最后 ,他们通过 ¹⁵N 标记的方法研究水稻在纯铵和纯硝营养下 ,水稻所吸收 N 在细胞内的分布 ,结果表明 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 向水稻地上部的运输量高于总量的 50% ,而外流量则低于总流出量的 50%。当在与供应纯 NH_4^+ 或纯 NO_3^- 的同一

供 N 水平下 ,同时供应 NH_4^+ 、 NO_3^- ,则水稻对 NO_3^- -N 的吸收和同化都被抑制 ,但 NH_4^+ -N 的吸收和同化比单独供 NH_4^+ 时有较大提高 ,其中 NH_4^+ -N 的内流量比单独供 NH_4^+ 时增加一倍。因为几乎没有游离态的 NH_4^+ -N 向水稻地上部运输 [20] ,这表明 NO_3^- -N 以某种方式促进了 NH_4^+ -N 的同化 ,可能是通过某种 NO_3^- -N 专一性的诱导方式作用于水稻 NH_4^+ -N 的同化过程 [6, 21]。

NO_3^- 营养能促进水稻对 NH_4^+ -N 吸收的另一原因是 NO_3^- -N 的存在促进了水稻根系的生长。张亚丽等 [5] 研究了 40 个水稻品种对 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 的响应 ,结果发现所有试验水稻品种在铵、硝混合营养中生长和 N 累积最好 ,其次是在纯铵营养液中 ,增硝使水稻各项生理指标增加 ,尤其是对根系生长促进作用更显著 ,且主要表现为有更多侧根的发生。对于水稻来说 ,谷粒中 70% 以上的 N 以及新建光合作用叶片中 50% 以上的 N 都来源于原植株地上部组织中的 N 的再利用 [6] ,增硝营养能够很大程度上扩大植株 N 累积的容量 ,这是作物增产的潜能之一。

杨肖娥和孙羲 [22] 利用盆栽试验研究了不同 N 源对杂交稻和常规稻的生理效应。结果表明 ,生育后期追施 NO_3^- -N (虽然生产上不提倡)比 NH_4^+ -N 更能提高稻叶的叶绿素、可溶性蛋白质和核糖核酸的含量 ;增加光合磷酸化活力和 $^{14}\text{CO}_2$ 同化速率 ;提高内源细胞分裂素含量 ,降低脱落酸的水平。试验结果还表明 ,追施 NO_3^- -N 比 NH_4^+ -N 更能提高灌浆谷粒中 ATP 水平 ,推迟谷粒中脱落酸出现的高峰期 ,促进 ^{14}C 同化物向穗部运输 ,从而提高结实率。

本试验结果表明施 N 能显著增加水稻产量及吸 N 量 (表 2) ,但不同水稻品种间吸 N 量无显著性差异 ,而籽粒产量和 N 肥利用率存在显著性差异 (表 2, 表 3)。然而过量施 N 一方面显著降低水稻 N 肥利用率 (表 3) ;另一方面 ,造成大量 N 在土壤中的残留 (表 4) ,同时也对地下水污染造成隐患。本试验根据不同品种水稻在不施 N 肥水平下的籽粒产量与 N 肥利用率的大小 ,将 3 种水稻品种分为 :N 肥高效敏感型 (4007)、N 肥高效不敏感型 (武运粳 7 号)和 N 肥低效不敏感型 (Elio)。从生产实践观点而言 ,高效敏感型作物应当是首选 ,因为这种类型能够在低 N 水平下获得高产 ,而且对所施 N 肥高度响应。第二种适宜推广的类型是高效不敏感型 ,这种类型作物虽然对所施 N 肥不敏感 ,但能够在土壤供 N 水平很低的情况下获得高产。而最后这种低效不敏感型的作物是农业生产中应避免种植的类型 [11]。许多研究表明水稻 N 肥利用率存在显著的基因型差异 [11, 12]。这种差异可能和一些生理过程有关 ,诸如对 N 的吸收、硝酸盐还原、N 再利用、转运、同化和贮存过程 [13, 14]。

水稻根际土壤硝化强度在不同施 N 水平下差异显著 ,AOB 数量在不同施 N 水平下差异极显著 ,但不同品种之间变化趋势不同 (表 5, 图 1, 图 2)。这些表明施用 N 肥对水稻根际土壤硝化强度、AOB 数量的影响因水稻品种不同而不同。本试验表明 ,不同 N 效率品种水稻产量和水稻根际土壤硝化强度呈极显著正相关关系 ,且在施 $\text{N}180\text{ kg/hm}^2$ 的中肥水平下 ,水稻 N 肥利用率和水稻根际土壤硝化强度呈显著正相关关系 (表 6)。即水稻根际土壤硝化强度大小为 :N 肥高效敏感型 > N 肥高效不敏感型 > N 肥低效不敏感型。而且与硝化作用密切相关的 AOB 数量也与水稻产量相关性极显著 (表 6) ,即水稻根际土壤 AOB 数量为 :N 肥高效敏感型 > N 肥高效不敏感型 > N 肥低效不敏感型。水稻产量及 N 肥利用率之所以和与水稻根际土壤硝化作用极显著相关 ,主要是和其对不同形态 N (NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N) 的吸收利用多少以及比例有关系。由于本试验中同一施 N 水平下 ,不同品种水稻地上部吸 N 量相同 ,而水稻吸收 NO_3^- -N 为 :4007 > 武运粳 7 号 > Elio ,因此 ,水稻根系所吸收的 NO_3^- -N 对增加水稻 N 肥利用率起重要作用。由于淹水稻田土壤中 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 常常处于动态变化之中 ,水稻吸收 NO_3^- 的多少一方面决定于水稻自身的需要 ,另一方面也取决于根际土壤中由 NH_4^+ 通过硝化作用产生 NO_3^- 的多少 ,因此水稻根际土壤硝化强度的高低可以作为今后水稻高产高效育种工作的选择指标之一。

References :

[1] Peng S B , Huang J L , Zhong X H , *et al.* Research strategy in improving fertilizer-nitrogen use efficiency of irrigated rice in China. Scientia

Agricultura Sinica ,2002 ,35 (9) :1095 — 1103.

[2] Moll R H ,Kamprath ,E J ,Jackson W A. Analysis and Interpretation of Factors which Contribute to Efficiency of Nitrogen Utilization. Agron. J. , 1982 ,74 :562 — 564.

[3] George A K ,John R S. Ammonia-oxidizing bacteria : a model for molecular microbial ecology. Annu. Rev. Microbiol ,2001 ,55 :485 — 529.

[4] Aurelio M B J ,Satoshi O ,Yoshiaki U ,et al. Ammonia-oxidizing bacteria on root biofilms and their possible contribution to N use efficiency of different rice cultivars. Plant and Soil ,2003 ,250 :335 — 348.

[5] Zhang Y L ,Duan Y H ,Shen Q R. Screening of physiological indices for response of rice to nitrate. Acta Pedologica Sinica ,2004 ,41 (4) :571 — 576.

[6] Duan Y H ,Zhang Y L ,Shen Q R. Effect of nitrate on the ammonium uptake and growth of different genotypes of rice (*Oryza sativa*) at the seedling stage. Acta Pedologica Sinica ,2005 ,42 (2) :260 — 265.

[7] Fan X R ,Shen Q R ,Ma Z Q ,et al. A comparison of nitrate transport in four different rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. Science in China ,2005.

[8] Duan Y H ,Zhang Y L ,Shen Q R. Nitrification in rice rhizosphere and the nitrate nutrition of rice. Acta Pedologica Sinica ,2004 ,41 (5) :803 — 809.

[9] Berg P ,Rosswall T. Ammonium oxidizer numbers ,potential and actual oxidation rates in two Swedish arable soils. Biol Fert Soils ,1985 ,1 :131 — 140.

[10] Li F L ,Yu Z N ,He S J. Agricultural microbiological experimental technique. Beijing : Chinese Agriculture Press ,1996 ,34 — 36.

[11] Fageria N K ,Barbosa F M P. Nitrogen use efficiency in lowland rice genotypes. Commun. Soil. Sci. Plant Anal. ,2001 ,32 (13&14) :2079 — 2089.

[12] Jiang L G ,Dai T B ,Wei S Q ,et al. Genotypic Differences and valuation in nitrogen uptake and utilization efficiency in rice. Acta Phytocologica Sinica ,2003 ,127 (4) :466 — 471.

[13] Isfan D. Genotypic Variability for Physiological Efficiency Index of Nitrogen in Oats. Plant Soil ,1993 ,154 :53 — 59.

[14] Jiang L G ,Cao W X. Physiological mechanism and approaches for efficient nitrogen utilization in rice. Chinese J Rice Sci ,2002 ,16 (3) :261 — 264.

[15] Rubinigg M ,Stulen I ,Elzenga J T M ,et al. Spatial patterns of radial oxygen loss and nitrate net flux along adventitious roots of rice raised in aerated or stagnant solution. Functional Plant Biology ,2002 ,29 :1475 — 1481.

[16] Kronzucker H J ,Siddiqi M Y ,Glass A D M ,et al. Nitrate-ammonium synergism in rice : a subcellular flux analysis. Plant Physiol ,1999 ,119 :1041 — 1045.

[17] Kronzucker H J ,Glass A D M ,Siddiqi M Y ,et al. Comparative kinetic analysis of ammonium and nitrate acquisition by tropical lowland rice : implications for rice cultivation and yield potential. New Phytol ,2000 ,145 :471 — 476.

[18] Kronzucker H J ,Glass A D M ,Siddiqi M Y. Nitrate induction in spruce : an approach using compartmental analysis. Planta ,1995 ,196 :683 — 690.

[19] Kronzucker H J ,Siddiqi M Y ,Glass A D M. Conifer root discrimination against soil nitrate and the ecology of forest succession. Nature ,1997 ,385 :59 — 61.

[20] Kronzucker H J ,Schjoerring J K ,Erner Y ,et al. Dynamic interactions between root NH_4^+ influx and long-distance N translocation in rice : insights into feedback processes. Plant and Cell Physiology ,1998 ,39 :1287 — 1293.

[21] Britto D T ,Kronzucker H J. Bioengineering nitrogen acquisition in rice : can novel initiatives in rice genomics and physiology contribute to global food security. BioEssays ,2004 ,26 :683 — 692.

[22] Yang X E ,Sun X. Physiological effects of application of NO_3^- -N and NH_4^+ -N on rice at the late growth stages. Chinese Journal of Soil Science ,1990 ,3 :110 — 114.

参考文献：

[1] 彭少兵 ,黄见良 ,钟旭华 ,等. 提高中国稻田氮肥利用率的研究策略. 中国农业科学 ,2002 ,35 (9) :1095 ~ 1103.

[5] 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.

[6] 段英华 ,张亚丽 ,沈其荣. 增硝营养对不同基因型水稻苗期吸铵和生长的影响. 土壤学报 ,2005 ,42 (2) :260 ~ 265.

[8] 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.

[10] 李阜棣 ,喻子牛 ,何绍江. 农业微生物学实验技术. 北京 :中国农业出版社 ,1996. 34 ~ 36.

[12] 江立庚 ,戴廷波 ,韦善清 ,等. 南方水稻氮素吸收与利用效率的基因型差异及评价. 植物生态学报 ,2003 ,127 (4) :466 ~ 471.

[14] 江立庚 ,曹卫星. 水稻高效利用氮素的生理机制及有效途径. 中国水稻科学 ,2002 ,16 (3) :261 ~ 264.

[22] 杨肖娥 ,孙羲. 生育后期追施 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 对水稻的生理效应. 土壤通报 ,1990 ,3 :110 ~ 114.