

DOI: 10.5846/stxb201212221844

许丽卫, 刘杰云, 汤宏, 耿梅梅, 张丽萍, 袁红朝, 王久荣, 李勇. 稻田温室气体减排措施对稻米氨基酸含量的影响. 生态学报, 2014, 34(16): 4561-4571.
Xu L W, Liu J Y, Tang H, Geng M M, Zhang L P, Yuan H Z, Wang J R, Li Y. The effect of rice field greenhouse gas emission reduction practice on the contents of amino acids in rice grains. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(16): 4561-4571.

稻田温室气体减排措施对稻米氨基酸含量的影响

许丽卫, 刘杰云, 汤宏, 耿梅梅, 张丽萍, 袁红朝, 王久荣*, 李勇

(中国科学院亚热带农业生态研究所, 亚热带农业生态过程重点实验室, 长沙 410125)

摘要:为探索稻田中温室气体减排措施对稻米氨基酸含量的影响,用 10 个不同方法对双季稻田进行处理,并使用高效液相色谱分别测定了各处理稻田中所产稻米中的 16 种氨基酸的含量,其中色谱柱为 Agilent Zorbax AAA 分析柱,柱前衍生使用邻苯二甲醛(OPA)和 9-芴甲基氯甲酸酯(FMOC-CL)为衍生试剂。结果发现:1)10 个处理中的稻米 16 种氨基酸种类齐全,施氮肥+添加生物炭 48 t/hm²+ 间歇灌溉(NPK + HBC + IF)处理中所得氨基酸总量为 6520.7 mg/100g,效果最佳;对照组处理(不施加氮肥 + 无稻草还田 + 间歇灌溉)所得氨基酸含量 4338.0 mg/100g 为最低。以对照组处理所得必需氨基酸百分含量 36.8% 为最高值;无稻草还田 + 长期淹水(NPK + CF)处理方法所得必需氨基酸百分含量 33.1% 为最低值。10 个处理中 16 种氨基酸中含量较高的氨基酸均为天冬氨酸、谷氨酸和精氨酸,含量最低的均为甲硫氨酸;2)施氮肥量相同时,长期淹水与间歇灌溉相比,氨基酸总量增加 185.1 mg/100g,非必需氨基酸百分含量增加 3%,谷氨酸、组氨酸和丝氨酸含量明显升高,但亮氨酸含量显著降低;3)施用氮肥能提高稻米中的氨基酸含量,且随着氮肥使用量的增加,氨基酸含量也随之增加,组氨酸含量增加显著;4)供氮量相同时,添加猪粪使氨基酸总含量升高了 286.0 mg/100g,此结果表明,在供氮量相同的情况下,施用猪粪更有利于稻米氨基酸含量的提高;5)灌溉模式相同时,稻草还田配施氮肥对必需氨基酸和氨基酸总量均有提高,天冬氨酸、谷氨酸和组氨酸的含量增加较多,甲硫氨酸含量略有下降;随着稻草还田量的增加,对非必需氨基酸影响较为明显;当稻草半量还田(还田量为 3 t/hm²)时,稻米中氨基酸总量增加最多;稻草全量还田+长期淹水(NPK + HRS + CF)与稻草半量还田+间歇灌溉(NPK+LRS+IF)处理中的氨基酸含量基本接近,但必需氨基酸含量前者略高于后者,说明稻草还田与水肥管理对氨基酸含量影响可能存在交互作用;6)添加生物炭配施氮肥提高了稻米必需氨基酸与非必需氨基酸含量,且随着生物炭添加量的增加而增加;与稻草还田、添加猪粪处理相比,生物炭的添加对氨基酸总含量提升的效果最为显著,对稻田实际生产具有指导意义且具有一定的环境效益。

关键词: 稻米; 温室气体减排措施; 氨基酸; 高效液相色谱; 柱前衍生

The effect of rice field greenhouse gas emission reduction practice on the contents of amino acids in rice grains

XU Liwei, LIU Jiyeun, TANG Hong, GENG Meimei, ZHANG Liping, YUAN Hongzhao, WANG Jiurong*, LI Yong

Key Laboratory for Agro-ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha, Hunan 410125, China

Abstract: To investigate the effect of greenhouse gas emission mitigation practices on a double-rice paddy field on the contents of amino acids in rice grains, sixteen amino acid derivatives under ten different treatments were analyzed. High-performance liquid-chromatography with an Agilent Zorbax AAA column was used, and an online pre-column derivatization method was adopted by using *o*-phthaldialdehyde (OPA) and 9-Fluorenylmethyl chloroformate (FMOC-CL) as the

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 973 计划(2011CB100506); 国家国际科技合作项目(2011DFA30770)

收稿日期: 2012-12-22; 网络出版日期: 2014-03-04

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: jrwang@isa.ac.cn

derivatization reagent. Results showed that the rice grains of the ten treatments all included sixteen amino acids and species. When a combination of nitrogen fertilizer with addition of biochar at 48 t/hm² and intermittent irrigation (NPK + HBC + IF) was used as a treatment, the total amino acid contents were 6520.7 mg/100g, which was the highest in all treatments. Application of intermittent irrigation with no fertilizer was used as a control and this achieved the lowest total amino acid contents at 4338.0 mg/100g. The fraction of essential amino acids was highest at 36.8% in the control treatment. The nitrogen fertilizer with continuous irrigation (NPK + CF) treatment method achieved the lowest fraction of essential amino acids, at 33.1%. The contents of Aspartic Acid, Glutamic acid and Arginine in sixteen amino acids of rice grains were higher, while Methionine was lower in ten treatments. Second, with a treatment of nitrogen fertilizer with continuous irrigation, the total amino acid contents increased by 185.1 mg/100g and the fraction of non-essential amino acids increased by 3% in rice grains compared with a nitrogen fertilizer (the same amount) and intermittent irrigation treatment. The contents of Glutamic acid, Histidine and Serine were increased, while the content of Leucine was significantly decreased with the latter treatment. Third, the application of nitrogen fertilizer had a remarkable effect on the content of Histidine, and enhanced the amino acid contents in rice grains, which was increased with the increasing of nitrogen fertilizer application rates. Fourth, with the same amount of nitrogen fertilizer, the addition of pig manure resulted in an increase of 286.0 mg/100g in total amino acid contents, which indicated that addition of pig manure was better for the improvement of total amino acids contents in the condition of constant nitrogen fertilizer. Fifth, the rice straw incorporation treatment also increased the content of total amino acids and essential amino acids. The contents of Aspartic Acid, Glutamic acid and Histidine were increased, while the content of Methionine was decreased. The increase of returning crop straw obviously affected non-essential amino acid contents and the total amino acid contents were higher at half crop straw return (3 t/hm²). The total amino acid contents of total crop straw return with continuous irrigation (NPK + HRS + CF) was similar to that of the half crop straw return with intermittent irrigation treatment (NPK + LRS + IF), but the essential amino acid content was higher for the former. This phenomenon indicated that rice straw incorporation along with the management of water and nitrogen fertilizer might have an interaction effect on the content of amino acids. Finally, addition of biochar combined with nitrogen fertilizer greatly improved the essential and non-essential amino acid contents in rice grains, and its performance was positively correlated with its application rates. Based on these collective data, the addition of biochar in paddy fields performed better than other treatments for improving the total amino acid contents in rice grains, and this practice was beneficial for realistic production in rice fields and environment protection.

Key Words: rice; greenhouse gas emission reduction practice; amino acid; high performance liquid chromatography; pre-column derivatization

水稻作为我国最重要的粮食作物之一,其总产量约占粮食总产量的 40%和我国人民口粮的 65%,可提供 20%左右的能量和 40%左右的蛋白质^[1]。稻米中氨基酸的含量是衡量其营养品质的一个重要指标,必需氨基酸含量及其配比的合理性决定了稻米营养价值的高低^[2]。氨基酸是蛋白的生命控制中心,稻米中蛋白极易被消化且赖氨酸、亮氨酸、异亮氨酸和甘氨酸含量较为丰富^[3],缺少必需氨基酸会干扰氮素平衡、生长、营养、生命周期等^[4]。此外,甘氨酸和谷氨酸在神经系统的冲动传递中发挥重要作用^[5],组氨酸的缺少还会造成血红素的下降^[6]。

农业已成为温室气体的第二大重要来源^[7],因此创新低碳农业系统和推广农业减排技术,实现农业减排,是农业生产应对气候变化的重要趋势。优化农田养分管理(主要氮素管理)是发展低碳农业的关键,增产减排或至少是稳产减排是推广农业减排技术的基础^[8-9]。稻田温室气体减排措施主要有:湿润灌溉、间歇灌溉、排水与烤田相结合,筛选低渗透率和氮素高效利用水稻新品种,水旱轮作,稻田免耕(秸秆还田结合少耕、免耕)与轮作相结合、有机质(猪粪、生物质炭等)添加时期等。其中,低渗透率和氮素高效利用水稻新品种是最好的减排方式,是农

业生产最可能的途径。灌溉管理中,较长期灌溉而言,湿润灌溉、间歇灌溉、排水与烤田相结合技术稻田 CH_4 排放确定性高、技术可行性较高、减排潜力较大且会带来产量小幅上升^[9]。秸秆还田处理可使 CH_4 和 CO_2 的排放增加,但对温室气体的总排放量的研究结果并不一致^[10],然而此技术可以提高秸秆的利用率,节能环保,同时提高作物产量^[11]。猪粪施用,对温室气体排放有一定的抑制作用,且可实现废弃物的再利用^[12]。生物质炭具有高度稳定性、巨大的比表面积,因其表面带有大量的负电荷而呈一定的碱性,已被认为是大气 CO_2 的重要储库,可以改善土壤理化性状,增加作物产量,且能够降低 CH_4 、 N_2O 和 CO_2 的排放^[13-16]。

探索并研制出既能提高稻米蛋白质含量与质量、又能改善稻米氨基酸组成,同时还能够实现与气候变化协同的农业生产措施,是水稻生产的目标。本实验拟研究稻田中不同的减排措施对稻米氨基酸含量的影响,从而为生产高产、优质、高效水稻栽培技术提供一定的参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料与试剂

Agilent 1260 系列高效液相色谱仪:四元泵, G1311C;在线真空脱气机,自动进样器, G4226A (40 μL 定量环),样品位置为 P1A1-P2F2,衍生试剂位置为 1—10 号瓶;DAD 检测器, G4212A;分析柱: Agilent Zorbax AAA 4.6 mm \times 150 mm,粒子内直径 (i. d.) 3.5 μm ;保护柱: Agilent Zorbax AAA 4.6 mm \times 20 mm,粒子内直径 (i. d.), 5 μm ; Agilent B. 04. 03 化学工作站;滤膜 (安捷伦公司,孔径 0.22 μm);日立冷冻离心机;OPA 衍生剂、FMO-C-CL 试剂、硼酸缓冲液、25 pmol/ μL , 100 pmol/ μL , 250 pmol/ μL , 1000 pmol/ μL 的 17 种氨基酸混合标样均购于 Agilent 公司。17 种氨基酸混合标样包括:天门冬氨酸 (Aspartic Acid, Asp), 苏氨酸 (Threonine, Thr), 丝氨酸 (Serine, Ser), 谷氨酸 (Glutamic acid, Glu), 甘氨酸 (Glycine, Gly), 脯氨酸 (Proline, Pro), 丙氨酸 (Alanine, Ala), 缬氨酸 (Valine, Val), 半胱氨酸 (Cysteine, Cys), 蛋氨酸 (Methionine, Met), 异亮氨酸 (Isoleucine, Ile), 亮氨酸 (Leucine, Leu), 酪氨酸 (Tyrosine, Tyr), 苯丙氨酸 (Phenylalanine, Phe), 赖氨

酸 (Lysine, Lys), 组氨酸 (Histidine, His), 精氨酸 (Arginine, Arg); 稻米源自湖南长沙金井 2012 年早稻试验田 (4—7 月中旬) 不同处理稻田中成熟后的籽粒。

1.2 试验设计

小区设计:小区尺寸 5 m \times 7 m,田埂宽 0.2 m,深 0.5 m,水沟宽度 0.2 m。田埂缺口为进水和排水口,共设置 10 个处理。处理 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10 设空白区。稻田总尺寸 60.3 m \times 30.2 m,周围设置保护行,左边保护行为 10 m,右边保护行为 1.0 m,上下保护行均为 3.8 m。水流方向由左向右。

化肥、猪粪稻草和生物质炭 (水稻秸秆炭) 养分含量及含水量如下:化肥含尿素 0.46%,过磷酸钙 0.12%,氯化钾 0.6%,硫酸锌 1.00%;猪粪含水分 4.26%,含氮量 3.88%, P_2O_5 4.56%, K_2O 2.55%;稻草含水分 0.22%,总碳 (TC) 405.1 g/kg,总氮 (TN) 10.14 g/kg;生物质炭含水分 0.34%,总碳 418.33 g/kg,总氮 13.4 g/kg, pH (H_2O) 值 9.84, NO_3^- -N 88.15 mg/kg,灰分 20.8%。田间实验土壤中含有可溶性有机碳 (SOC) 25.0 g/kg,总氮 3.2 g/kg,容量 1.20 g/ cm^3 , pH (H_2O) 值 5.1,砂粒 51.9%,粉粒 30.9%,粘粒 17.2%。

10 个处理分别为:处理 1 (对照组),不施氮肥,无稻草还田,间歇灌溉;处理 2,无稻草还田,间歇灌溉 (NPK + IF);处理 3,稻草还田半量 3 t/ hm^2 ,间歇灌溉 (NPK + LRS + IF);处理 4,稻草全量还田 6 t/ hm^2 ,间歇灌溉 (NPK + HRS + IF);处理 5,无稻草还田,长期淹水 (NPK + CF);处理 6,稻草还田量 6 t/ hm^2 ,长期淹水 (NPK + HRS + CF);处理 7,化学氮肥减半,间歇灌溉 (1/2 NPK + IF);处理 8,50% 化学氮肥,配施相当于 50% 供氮量的猪粪 (M),间歇灌溉 (1/2 NPK + M + IF);处理 9,生物质炭 24 t/ hm^2 ,间歇灌溉 (NPK + LBC + IF);处理 10,生物质炭 48 t/ hm^2 ,间歇灌溉 (NPK + HBC + IF)。每个处理,设 3 个重复。其中,设置稻草全量还田和半量还田两个梯度,确定稻草还田量分别为 6 t/ hm^2 和 3 t/ hm^2 。参考已有文献关于生物质炭添加量对土壤有效养分和腐殖质组成影响方面的研究^[17],设置生物质炭添加量为土重的 1% 和 2% 两个梯度,分别为 24 t/ hm^2 和 48 t/ hm^2 。

大田管理:栽培密度 16.7 cm \times 20 cm,水稻品种

为湘早籼 45 号, 每穴 2 苗; 施肥量: 尿素 120 kg N hm^2 , 过磷酸钙 40 kg $\text{P}_2\text{O}_5 \text{hm}^2$, 氯化钾 100 kg $\text{K}_2\text{O} \text{hm}^2$, 硫酸锌 5 kg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \text{hm}^2$ 。施肥次数: 磷钾锌肥做基肥一次性施入, 氮肥基追比为 5:5, 追肥按分蘖中期, 抽穗期分别为 3:2。灌溉方式: 间歇灌溉(中期烤田, 自有效分蘖临界叶龄期开始至叶龄期余数 2.0 期间, 多次轻搁田, 之后至成熟前 1 周保持浅水层)、长期淹水(3—5 cm 水层)。

1.3 分析测试项目与方法

土壤、稻草、生物质炭等养分项目参照《土壤理化分析》测定^[18], 稻米中氨基酸的测定采用反相高效液相色谱, 以邻苯二甲醛(OPA)和 9-芴基甲基氯甲酸酯(FMOC-CL)为衍生试剂进行柱前衍生结合紫外检测器测定稻米中 16 种氨基酸的含量。

1.3.1 供试品溶液的制备

准确称取试样约 0.15 g 于 25 mL 安瓿瓶中, 准确加入 6 mol/L HCl 5 mL。用酒精喷灯将安瓿瓶封口后, 置于 110 °C 恒温干燥箱中消化 24 h 后, 取出安瓿瓶冷却至室温。打开安瓿瓶, 过滤消化液, 最后吸取 500 μL 过滤液于 1.5 mL 离心管中, 在 65 °C 水浴上蒸干以除去 HCl。滤液蒸干后, 用 1 mL 双蒸水溶解样品, 然后继续在 65 °C 水浴上蒸干, 该过程反复 3 次。最后用 1 mL 0.02 mol/L 的盐酸溶液溶解残留物, 在 15000 r/min 离心 15 min, 取上清液过 0.22 μm 孔径的注射器滤膜, 进样分析。

1.3.2 分析条件 HPLC 柱温

40 °C; 流速 1.0 mL/min; 流动相 A: 称取 1.36 g 含有 3 个结晶水的乙酸钠, 加入 500 mL 三蒸水, 使其完全溶解, 然后加入 100 μL 三乙胺, 用 1%—2% 的醋酸调 pH 值 = 7.20 \pm 0.05, 再加入 2.5 mL 四氢呋喃, 混匀, 过 0.45 μm 滤膜。流动相 B 液: 称取 1.36 g 含有 3 个结晶水的乙酸钠, 加 100 mL 的三蒸水, 使其完全溶解, 用 1%—2% 的醋酸调 pH 值 = 7.20 \pm 0.05, 再加入 200 mL 甲醇和 200 mL 乙腈, 混匀, 过 0.45 μm 滤膜。进样量 2 μL ; DAD 检测器信号 A, 检测波长 338 nm, 带宽 4 nm; 参比波长 390 nm, 带宽 16 nm; 信号 B: 检测波长 262 nm, 带宽 10 nm; 参比波长 324 nm, 带宽 20 nm; 梯度洗脱程序: 0—17 min, 0.5 B%—40 B%; 17—18.1 min, 40 B%—100 B%; 18.1—24 min, 100 B%; 24—25 min, 100 A%; 后运行时间为 5 min。进样衍生程序为: 首先从 1 号瓶中抽取 5 μL

硼酸缓冲液; 接着从样品瓶中吸取 2 μL 样品; 在清洗口混合 5 次; 等待 0.2 min; 然后从 2 号瓶中吸取 1 μL OPA 试剂; 在清洗口混合 5 次; 再从 3 号瓶中吸取 1 μL FMOC-CL 溶液; 在清洗口以 200 $\mu\text{L}/\text{min}$ 混合 5 次; 进样。

1.3.3 工作曲线的绘制

将混合标样进行 HPLC 分析。以各氨基酸的色谱峰峰面积为纵坐标, 氨基酸摩尔浓度为横坐标作图, 得各氨基酸的工作曲线, 其线性回归方程见表 1。16 种氨基酸混合标准溶液和稻米样品中氨基酸的液相色谱图见图 1。可见, 在选定的条件下, 氨基酸混合标准品(25—1000 pmol/ μL)和样品中的氨基酸(其中 Pro 在 262 nm 检出)得到了比较理想的分离。

表 1 16 种氨基酸的回归分析结果

Table 1 Regression analysis of 16 kinds of amino acids

氨基酸 Amino acids	线性方程 Linear equation	R^2
天冬氨酸 Asp	$Y=0.4521 \times X+9.9937$	0.997
谷氨酸 Glu	$Y=0.4015 \times X+2.9269$	0.999
丝氨酸 Ser	$Y=0.5438 \times X+5.5465$	0.998
组氨酸 His	$Y=0.0984 \times X+0.0000$	1.000
甘氨酸 Gly	$Y=0.5964 \times X+1.7281$	0.999
苏氨酸 Thr	$Y=0.4001 \times X+9.7113$	0.995
丙氨酸 Ala	$Y=0.5858 \times X+2.7260$	0.999
精氨酸 Arg	$Y=0.5531 \times X+5.7784$	0.998
酪氨酸 Tyr	$Y=0.5050 \times X+3.8466$	0.998
缬氨酸 Val	$Y=0.5516 \times X+3.2996$	0.999
蛋氨酸 Met	$Y=0.5696 \times X-0.6123$	0.999
苯丙氨酸 Phe	$Y=0.5232 \times X+4.8007$	0.998
异亮氨酸 Ile	$Y=0.5198 \times X+5.5334$	0.998
亮氨酸 Leu	$Y=0.6097 \times X-1.1248$	0.998
赖氨酸 Lys	$Y=0.5819 \times X+2.9884$	0.999
脯氨酸 Pro	$Y=0.8345 \times X+4.5163$	0.999

1.3.4 精密度试验

用氨基酸混合标准溶液做 5 次平行试验, 结果 His 和 Pro 的偏差较大, RSD 分别为 4.6%, 6.6%, 这可能与其衍生化反应程度或衍生物的稳定性有关。其他氨基酸 RSD 均 < 1%。

1.3.5 回收率试验

采用单点加入法将各氨基酸标准溶液定量加入样品溶液中, 进行试验。结果各种氨基酸的回收率范围为 95.1%—114.1%。

1.4 数据分析

试验数据利用 Excel 2010 进行整理, SPSS 17.0

软件进行显著性分析,多重比较采用 Duncan 氏法。 $P < 0.05$ 表示差异性显著。

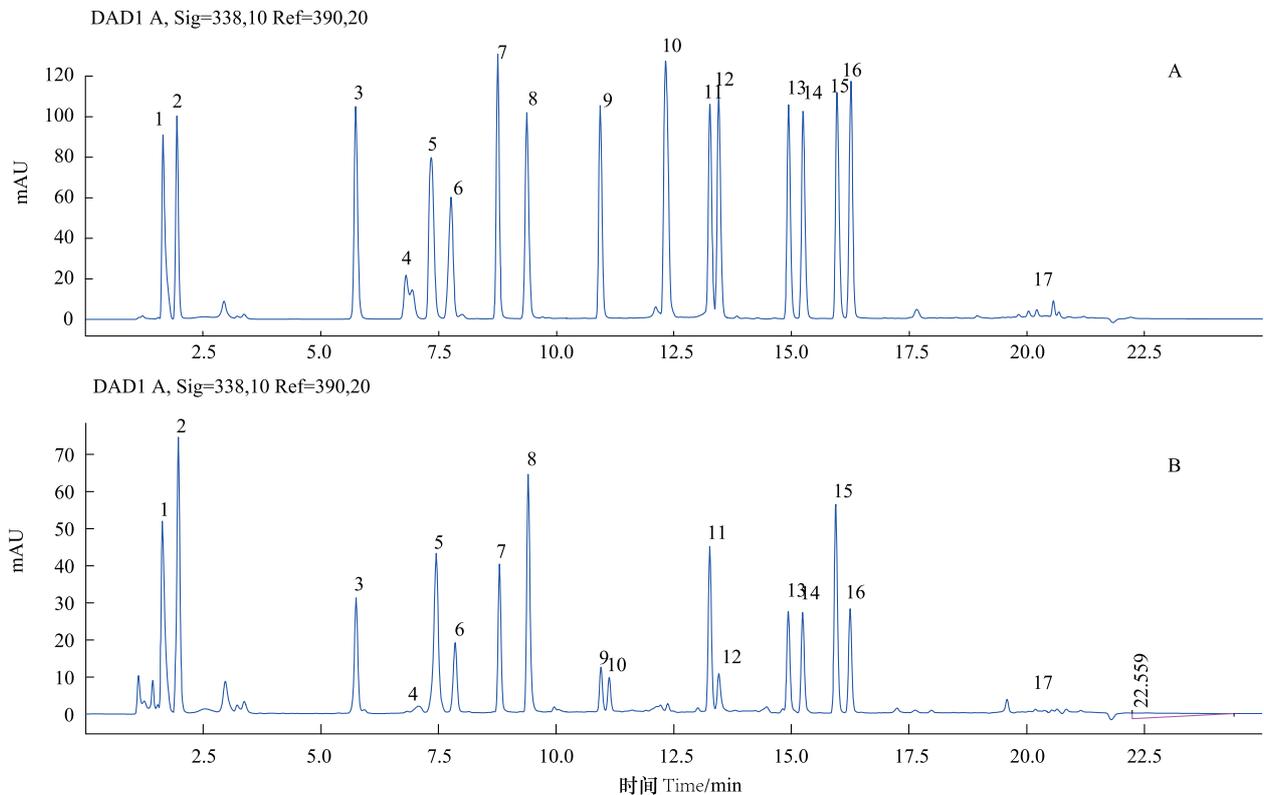


图1 氨基酸混合标准溶液 1000 pmol/μL(A)和稻米样品(B)的 HPLC 图谱

Fig.1 HPLC chromatograms of amino acids mixed standard solution (A) and rice samples (B)

1 天门冬氨酸, 2 谷氨酸, 3 丝氨酸, 4 组氨酸, 5 甘氨酸, 6 苏氨酸, 7 丙氨酸, 8 精氨酸, 9 酪氨酸, 10 半胱氨酸, 11 缬氨酸, 12 蛋氨酸, 13 苯丙氨酸, 14 异亮氨酸, 15 亮氨酸, 16 赖氨酸, 17 脯氨酸

2 结果与分析

10 个处理中 16 种氨基酸的含量见表 2。由表 2 可见,10 个处理中的稻米除半胱氨酸未加保护剂检测之外,必需氨基酸和非必需氨基酸种类齐全,其氨基酸总量 (mg/100g) 分别以 6520.7 和 4338.0 为最高和最低,即处理 10(添加生物质炭 48 t/hm²,间歇灌溉)和处理 1(不施氮肥,无稻草还田,间歇灌溉)。必需氨基酸百分含量以 36.8% 和 33.1%,即处理 1 和处理 5(无稻草还田,长期淹水)为最高和最低。从 10 个处理中稻米的氨基酸组成上来看,含量最高的氨基酸为 Asp、Glu 和 Arg,含量最低的为 Met,这与目前稻米中氨基酸含量分析结果基本一致。

2.1 不同水管理条件对稻米氨基酸含量的影响

无稻草还田时,间歇灌溉(处理 2) Leu 含量显著 ($P < 0.05$) 高于使用氮肥长期淹水(处理 5)处理,而 Glu、His 和 Ser 含量明显较低,但没有达到显著水

平;处理 2 的必需氨基酸总量比处理 5 中高 96.1 mg/100g,但是氨基酸总量比处理 5 低 185.1 mg/100g,必需氨基酸百分含量高 3.0%。稻草还田量相同时,间歇灌溉(处理 4)与长期淹水(处理 6)相比,除 Thr 与 Glu 含量比处理 6 高之外,其它氨基酸含量皆低于处理 6;处理 4 氨基酸总量比处理 6 低 152.7 mg/100g,必需氨基酸总量低 84.0 mg/100g,非必需氨基酸含量低 68.7 mg/100g。从以上数据来看,长期淹水比间歇灌溉更有利于氨基酸总量和非必需氨基酸百分含量的增加。低磷或缺磷条件下,籽粒中的人体必需氨基酸、氨基酸的相对含量以及其他各氨基酸含量会显著下降^[19]。长期淹水培养条件下可能会使土壤中全磷及全钾浓度增加^[10],从而使得稻米籽粒中氨基酸总量和非必需氨基酸总量均有上升。

2.2 氮素含量对稻米氨基酸含量的影响

无稻草还田时,不使用氮肥(处理 1) His 和 Ala

含量显著 ($P < 0.05$) 低于使用氮肥 (处理 2); Leu 含量显著 ($P < 0.05$) 高于使用氮肥长期淹水 (处理 5), 但是 Ser 含量显著 ($P < 0.05$) 低于处理 5。处理 1 中 Thr、Leu、Glu 和 Pro 含量略高于使用氮肥含量减半 (处理 7), 但其余各氨基酸含量均明显较低, 但未达到显著水平。处理 2 His 含量显著 ($P < 0.05$) 高于处理 7, 而且其余各个氨基酸含量均有明显提高, 氨基酸总量提高 684.0 mg/100g, 必需氨基酸总量提高 262.5 mg/100g, 但是这两者必需氨基酸相对含量比较接近。处理 2 与处理 8 (化学氮肥含量减半, 添加相当于供氮量 50% 的猪粪) 相比, 其氨基酸总含量降低了 286.0 mg/100g, 此结果表明在供氮量相同的情况下, 施用猪粪更有利于稻米氨基酸含量的提高。可能是由于猪粪还田使得施肥对土壤速效氮的影响加大的缘故^[20]。比较使用氮肥与不使用氮肥的处理发现, 其氨基酸总量均有不同程度的提高, 说明施用氮肥能提高稻米中的氨基酸含量。随着氮肥使用量的增加, 各个氨基酸含量也随着增加, 但是施加氮肥后必需氨基酸占总氨基酸含量的百分比均低于不使用氮肥的处理, 说明使用氮肥对非必需氨基酸含量影响更为显著, 这一结果与已有文献报道基本一致^[21]。

2.3 稻草还田量对稻米氨基酸含量的影响

比较处理 2 (无稻草还田, 间歇灌溉) 与处理 3 (稻草还田量 3 t/hm², 间歇灌溉)、4 (稻草还田量 6 t/hm², 间歇灌溉) 发现有稻草还田时, Asp、Glu 和 His 的含量增加较多, Met 含量略有下降, 其余氨基酸含量基本接近, 必需氨基酸百分含量下降, 但是必需氨基酸总量和氨基酸总量均有上升。比较 3 (稻草还田量 3 t/hm², 间歇灌溉) 与处理 4 (稻草还田量 6 t/hm², 间歇灌溉) 发现, 处理 3 中 Asp、Glu、Pro、Ser 含量比处理 4 分别增加 35.5 mg/100g、25.1 mg/100g、22.4 mg/100g 和 25.6 mg/100g, 其余氨基酸含量接近, 必需氨基酸含量接近, 但氨基酸总量提高了 155.7 mg/100g, 该结果表明, 有稻草还田时, 除 Met 含量略有下降以外, 必需氨基酸总量和氨基酸总量均比无稻草还田时有提高, 非必需氨基酸含量增加较为明显。随着稻草还田量的增加, 对非必需氨基酸影响较为明显。有研究表明, 稻草秸秆中含有一定量的磷、钾元素, 稻草还田后秸秆中钾释放迅速, 使土壤的容重和坚实度降低, 总孔隙度和非毛管孔

隙度升高, 同时一定程度上提高了土壤全氮和速效钾的含量, 但对 pH 值、速效磷、全磷及全钾的影响作用较小^[10]。土壤全氮与土壤有机质含量密切相关。比较秸秆全量还田与半量还田对促进土壤中有机质的积累, 二者之间差异不明显^[22]。稻草还田配施氮肥能显著提高水稻氮素吸收转化能力和利用效率^[23]。氮磷水平对稻米籽粒中氨基酸含量有一定的影响^[24]。稻草半量还田即为 3 t/hm² 时, 氨基酸总量增加较为明显, 可能是由于除了稻草本身的直接作用外, 稻草半量还田改善土壤微生物群落结构和功能的效果最为显著所致^[25]。比较处理 3 (稻草还田量 3 t/hm², 间歇灌溉) 与处理 6 (稻草还田量 6 t/hm², 长期淹水) 发现, 其氨基酸总量基本接近, 但其必需氨基酸的含量比处理 6 降低 38.2 mg/100g, 可能是由于水稻生长季节、灌溉模式和施肥条件对稻草还田的对氨基酸含量影响存在交互作用所致^[26]。

2.4 生物质炭使用量对稻米氨基酸含量的影响

处理 2 (无稻草还田, 间歇灌溉) His 含量显著 ($P < 0.05$) 低于处理 9 (生物质炭 24 t/hm², 间歇灌溉) 与处理 10 (生物质炭 48 t/hm², 间歇灌溉); Val、Leu、Ile 含量与处理 9 无显著差异 ($P > 0.05$), 但是显著 ($P < 0.05$) 低于处理 10; 其余各种氨基酸与处理 9 和处理 10 之间无显著差异 ($P > 0.05$)。生物质炭本身含有大量植物所需的氮、磷等营养元素, 呈碱性。生物质炭的施用, 能够降低土壤的酸度, 增加土壤的空隙度和保水能力, 促进土壤养分的循环, 提高植物生长所需养分的可利用性, 使植物体内氮磷代谢水平提高, 从而提高稻米籽粒中的氨基酸含量。比较处理 9 和处理 10, 处理 9 氨基酸总量降低了 482.5 mg/100g, 除 Met 含量比较接近, Glu 含量提高了 34.8 mg/100g 之外, 其余各个氨基酸含量均较低, 但是没有达到显著水平。该结果表明, 随着添加生物质炭量增多, 必需氨基酸总量和氨基酸总含量也随之增加, 对非必需氨基酸含量影响较大, 可能是由于施用氮肥下, 高用量生物质炭显著降低稻田 CH₄ 和 N₂O 痕量温室气体排放的综合温室效应和水稻生产的碳强度所致^[27]。

2.5 不同物料的添加对稻米氨基酸含量的影响

比较处理 3、处理 8 和处理 10, 可以看出, 氨基酸总量由低到高顺序为: 处理 8 < 处理 3 < 处理 10, 处理 8、处理 3 和处理 10 必需氨基酸含量分别为

34.4%、35.3%和36.4%;处理3中Leu、His和Arg含量显著($P < 0.05$)低于处理10。以上结果,可能是由于生物质炭具有高度的孔隙结构,结合氮肥施用可以能够显著改善土壤理化性质,增加土壤的空隙度和保水能力,降低土壤容重,有利植物根系生长;另外,生物质炭还可以通过“碳-负”效应,长期将大气中的碳固定在土壤中^[15]。基于以上作用,生物质炭可使氮磷代谢水平提高,从而提高稻米籽粒中的氨基酸含量。从数据中也可以看出,在这3种有机质处理中生物质炭的添加更有利于氨基酸总含量的增加。

2.6 几种温室气体减排技术对温室气体排放及稻米氨基酸含量的影响

无稻草还田时,稻田中长期淹水比间歇灌溉甲烷排放量高约90%,间歇灌溉 N_2O 排放大于长期灌溉,但是间歇灌溉更能有效的抑制温室气体的排放;有稻草还田时,甲烷排放增加,且在长期淹水中稻草还田量高达 $7.7 t/hm^2$,其他灌溉措施稻草还田量高达 $5.1 t/hm^2$ 范围内,甲烷排放量随着稻草还田量的增加而增加。超出这个范围后,甲烷排放量不再增加^[28-29]。施用氮肥处理的 CH_4 排放比不施加氮肥有增加,但差异不显著。稻草还田配施氮肥处理早稻期间甲烷排放通量比仅施用氮肥有增加^[30]。稻草的施入能明显提高 CO_2 浓度,且最高 CO_2 浓度和稻草腐解速率呈正相关^[31]。综合文献调研发现,无稻草还田时,对温室气体排放量由高到低顺序为:处理5 > 处理2 > 处理1,其氨基酸总含量和非必需氨基酸含量:处理5 > 处理2 > 处理1。当有稻草还田时,温室气体排放量由高到低顺序为:处理6 > 处理4 > 处理3 > 处理2,其氨基酸总含量由高到低的顺序为处理6 > 处理3 > 处理4 > 处理2。稻草还田能增加土壤有机碳,土壤有机碳的表观转化率随着稻草还田量的增加而减少。综合土壤固碳和甲烷排放的稻田净碳,稻草还田配施氮肥处理负碳效应显著,基本与其水稻生物固碳接近,比仅施用氮肥处理增加158.3%^[32]。稻草还田能够提高氮素利用效率且水稻生长季节、灌溉模式和施肥条件对稻草还田的增产效应存在交互作用。稻草还田结合水肥管理利用秸秆本身的直接作用和对微生物的作用影响植物生长所需养分主要是氮磷在植物体内的利用效率,从而使各个不同处理中氨基酸含量呈现差异。

施用氮肥条件下,不同用量生物质炭对土壤 CH_4 排放无显著影响,高用量生物质炭显著降低稻田 CH_4 和 N_2O 痕量温室气体排放的综合温室效应和水稻生产的碳强度^[27]。当添加生物质炭后,温室气体排放量由高到低顺序为:处理2 > 处理9 > 处理10,其氨基酸总含量、必需氨基酸的含量及非必需氨基酸含量由高到低的顺序为处理10 > 处理9 > 处理2。施氮肥条件下,生物质炭的施用能土壤有机碳、全氮含量和pH,同时降低土壤容重。生物质炭通过“碳-负”效应长期将大气中的碳固定在土壤中^[15],为植物生长提供更多的碳源供应,这些因素综合作用,使植物体内氮磷代谢水平提高,从而提高稻米籽粒中的氨基酸含量。

彭华^[33]等研究表明,按100a统计稻田 CH_4 和 N_2O 的综合增温潜势(GWP)表明,单位产量的GWP由大到小顺序为稻草(RS) > 黑炭(BC) > 化肥(CF)。添加不同有机质时,其温室气体排放量由高到低顺序为处理3 > 处理2 > 处理8 > 处理10。其氨基酸总含量由高到低顺序为:处理10 > 处理3 > 处理8 > 处理2。综上所述,生物质炭添加减少了温室气体的排放,具有一定的生态环境效益,且能提高稻米中氨基酸总含量、必需氨基酸和非必需氨基酸含量。

从试验结果中发现,温室气体减排措施能增加稻米非必需氨基酸百分含量,但对必需氨基酸百分含量有下降。水稻生育过程中的灌水、施肥、生长调节剂的使用等栽培技术措施和综合技术体系,在极大程度上影响着稻米氨基酸的含量^[34]。有研究表明,不同的施肥方法,特别是氮肥施用量和施用时期能显著影响稻米氨基酸含量;在缺氮条件下,人体非必需氨基酸中的天冬氨酸(Asp)、甘氨酸(Gly)、精氨酸(Arg)、脯氨酸(Pro)和酪氨酸(Tyr)的含量也显著下降;在磷素胁迫条件下,籽粒中的各种必需氨基酸和非必需氨基酸的含量均较对照显著降低^[19]。近年来研究表明:大气 CO_2 浓度增加使供试品种精米必需氨基酸占氨基酸总量百分比显著增加,使非必需氨基酸占氨基酸总量百分比显著下降,但对精米中必需和非必需氨基酸的相对含量无显著影响^[34]。从氨基酸组分看,大气 CO_2 浓度增加使供试品种精米中7种必需氨基酸和8种非必需氨基酸的含量均显著或极显著下降。 CO_2 处理与品种对精米

表 2 10 个处理中 16 种氨基酸的含量
Table 2 The contents of 16 free amino acids in ten treatments

	处理 Treatments									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	必需氨基酸 Essential amino acids/(mg/100g)									
苏氨酸 Thr	177.7±15.8c	219.8±4.3abc	225.9±10.1abc	215.3±7.8abc	211.9±21.9abc	207.2±13.8abc	169.1±17.3c	190.9±31.9bc	237.6±11.8ab	262.3±19.6a
缬氨酸 Val	289.0±11.2c	340.4±3.2bc	348.7±12.5abc	345.9±12.9abc	333.3±31.5bc	368.3±24.7abc	312.6±20.7bc	381.2±56.4abc	387.0±13.7ab	436.4±41.5a
赖氨酸 Lys	395.3±18.5c	474.9±9.0abc	496.9±24.6abc	488.9±15.4abc	473.9±43.9abc	522.1±40.0abc	422.6±31.7bc	506.3±86.0abc	541.5±19.9ab	588.4±50.9a
苯丙氨酸 Phe	249.5±17.1c	302.5±7.7abc	320.2±15.5abc	313.2±12.0abc	303.0±32.1abc	325.7±26.9abc	263.7±22.9bc	322.3±60.1abc	346.9±13.2ab	383.1±36.5a
亮氨酸 Leu	195.9±14.1bc	206.2±2.2b	203.3±5.5b	187.4±8.6bcd	146.8±11.2d	176.8±12.4bcd	151.1±11.6cd	154.4±14.2cd	209.9±24.9b	277.3±18.9a
异亮氨酸 Ile	204.8±9.8b	242.5±3.4b	250.2±9.9ab	247.6±9.5ab	238.6±24.5b	262.0±19.0ab	219.9±15.5b	273.5±43.3ab	275.7±10.4ab	314.4±32.9a
蛋氨酸 Met	84.7±5.4b	110.4±5.1ab	99.7±5.0ab	101.0±6.9ab	93.0±9.7ab	121.1±12.4ab	95.1±10.8ab	128.6±27.4a	110.7±2.0ab	112.6±6.0ab
小计 subtotal	1596.8	1896.6	1945.0	1899.2	1800.5	1983.2	1634.1	1957.2	2109.2	2374.5
占氨基酸总量/%	36.8	36.1	34.4	34.5	33.1	35.1	35.8	35.3	34.9	36.4
	非必需氨基酸 Non-essential amino acids/(mg/100g)									
天冬氨酸 Asp	489.9±37.8b	597.4±12.1ab	638.6±32.1ab	603.1±21.9ab	580.8±39.8ab	632.9±43.0ab	509.1±49.1b	600.2±101.0ab	691.4±17.9a	734.6±61.0a
谷氨酸 Glu	610.4±9.4	616.8±22.2	834.9±72.3	809.8±167.0	884.0±190.8	656.3±54.8	521.5±49.7	702.7±189.1	758.7±53.8	723.9±65.1
组氨酸 His	41.7±20.9e	146.9±1.0cd	179.9±4.6bcd	186.4±8.8bcd	204.4±26.0bcd	218.1±9.1bc	119.0±61.0de	191.7±22.3bcd	252.5±14.7ab	300.0±34.4a
丙氨酸 Ala	121.9±61.1b	212.5±3.3a	222.3±11.9a	217.1±8.1a	213.6±22.2a	238.7±18.7a	190.4±16.1ab	230.3±42.0a	243.5±11.3a	263.7±23.1a
甘氨酸 Gly	242.9±22.1b	301.1±5.8ab	315.9±12.5ab	304.1±11.1ab	301.1±26.6ab	310.9±19.2ab	258.0±26.8ab	300.6±45.0ab	327.0±13.9a	337.2±25.7a
脯氨酸 Pro	233.1±11.9b	272.3±4.1ab	283.5±16.3ab	261.1±6.6ab	239.0±13.5b	283.4±17.0ab	227.9±11.8b	273.0±38.6ab	266.0±30.6ab	310.2±27.6a
酪氨酸 Tyr	104.3±7.2c	139.5±2.1abc	138.8±10.8abc	144.0±13.7abc	135.7±18.3abc	163.3±17.7ab	120.0±15.1bc	149.9±33.8abc	157.6±6.1abc	179.5±12.4a
丝氨酸 Ser	194.1±26.8c	257.2±6.8abc	280.1±16.7abc	254.5±13.5abc	292.9±37.0ab	266.0±17.7abc	209.2±24.5bc	244.4±50.9abc	291.3±11.0ab	302.2±23.2a
精氨酸 Arg	703.0±6.2c	813.6±9.4bc	815.7±35.7bc	819.7±14.5bc	787.2±68.0bc	898.9±58.4ab	780.8±36.0bc	890.0±97.4ab	940.8±23.5ab	994.9±66.4a
小计 Subtotal	2741.2	3357.3	3709.7	3599.8	3638.6	3668.5	2935.9	3582.8	3929.0	4146.2
总计 Total	4338.0	5254.0	5654.7	5499.0	5439.1	5651.7	4570.0	5540.0	6038.2	6520.7

同行字母不同表示差异显著, $P < 0.05$

蛋白质含量、氨基酸总量、必需和非必需氨基酸总量部分氨基酸组分有一定的互作效应。大气 CO₂ 浓度升高影响稻米蛋白质营养品质的过程可能与植株体内的氮磷代谢关系密切^[35]。不同减排措施的固碳效应与其相对应的土壤中的氮磷等营养元素的交互作用,可能是导致稻米籽粒中必需氨基酸总量和非必需氨基酸总量比对照组处理 1 中总量上升,但是必需氨基酸相对百分含量下降的原因。

3 结论

本文利用高效液相色谱柱前在线衍生(衍生试剂:OPA 和 FMOC-CL)结合 DAD 检测技术,主要讨论了稻田中温室气体不同减排措施对稻米氨基酸含量的影响。分别比较了不同的水分管理方式、稻草还田量、使用氮素量、使用猪粪及添加生物质炭对稻米氨基酸含量的影响,并结合文献,对于减排措施对温室气体排放的影响及其与稻米中氨基酸含量的关系和几种温室气体减排措施使必需氨基酸百分含量增加,必需氨基酸百分含量降低的原因进行了探讨。从讨论中可以看出,不同的减排措施相互配合,对于特定氨基酸含量会产生明显差异。长期淹水比间歇灌溉更有利于稻米氨基酸总含量的增加;添加氮素、施用猪粪、稻草还田和添加生物质炭对稻米氨基酸总含量均有不同程度的提升,其中生物质炭的添加处理既能降低温室气体排放的影响,同时对氨基酸总含量提升的效果尤其显著。但是,不同减排措施对各个氨基酸合成的影响仍需要进一步深入研究。本试验结果可以为协调稻米蛋白质含量与氨基酸组成、其它品质性状和与气候之间关系的栽培技术研究提供一定的参考。

References:

- [1] Xiao C L. Study of local varieties of upland rice quality traits. *Agricultural Science and Technology Translations (Hunan)*, 1990, 10(1): 4-8.
- [2] Sun J H. Rice bran application in poultry diet. *Pigs and Poultry*, 1995, (5): 4-8.
- [3] Mohan M, Antony T, Malik S, Mathur M. Rice powder oral rehydration solution as an alternative to glucose electrolyte solution. *Indian Journal of Medical Research*, 1988, 87: 234-239.
- [4] Mauro G, Pietro C. Correlation between amino acid induced changes in energy expenditure and protein metabolism in humans. *Nutrition*, 1997, 13(4): 309-312.
- [5] Juan P A, Salvatore D. Free amino acids in the nervous system of the amphioxus *branchiostoma lanceolatum*. A comparative study. *International Journal of Biological Sciences*, 2006, 2(2): 87-92.
- [6] Cho E S, Anderson H L, Wixom R L, Hanson K C, Krause G F. Long-term effects of low histidine intake on men. *Journal of Nutrition*, 1984, 114(2): 369-384.
- [7] The People's Republic of China Initial National Communication on Climate Change. Beijing: China Planning Press. 2004.
- [8] Zhang W F, He P, Zhang F S. Optimization Nitrogen Fertilizer Management, the Development of Low Carbon Economy. Beijing: The Seminar of Low Carbon Agricultural in China, 2010.
- [9] Mi S H, Huang Z H. Applicability screening of mitigation technologies and management practices of emissions of greenhouse gases from agriculture sector. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(21): 4517-4527.
- [10] Dai Z G. Study on Nutrient Release Characteristics of Crop Residue and Effect of Crop Residue Returning on Crop Yield and Soil Fertility [D]. Wuhan: College of Resource and Environment; Huazhong Agricultural University, 2009.
- [11] Lu F, Wang X K, Han B, Ouyang Z Y, Zheng H. Researches on the greenhouse gas leakage and net mitigation potentials of soil carbon sequestration measures in croplands. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(9): 4993-5006.
- [12] Qin X B, Li Y E, Liu K Y, Wan Y F. Methane and nitrous oxide emission from paddy field under different fertilization treatments. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2010, 22(7): 143-149.
- [13] Yuan J H, Xu R K. Progress of the research on the properties of biochars and their influence on soil environmental functions. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20(4): 779-785.
- [14] Zhang W L, Li G H, Gao W D. Effect of biomass charcoal on soil character and crop yield. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2009, 25(17): 153-157.
- [15] Liu Y X. Effect of Biochar on the Characteristic of Nitrogen Loss and Greenhouse Gas Emission from Soil [D]. Hangzhou: Zhejiang University, School of Environment and Resources, 2011.
- [16] Jha P, Biswas A K, Lakaria B L, Rao A. Biochar in agriculture-prospects and related implications. *Current Science*, 2010, 99(9): 1218-1225.
- [17] Zhou G Y, Dou S, Liu S J. The structural characteristics of biochar and its effects on soil available nutrients and humus composition. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(10): 2075-2080.
- [18] Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences. Analysis of Soil Physico-Chemical Properties. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1978.
- [19] Chang E H, Zhang S F, Wang Z Q, Wang X M, Yang J C. Effect of nitrogen and phosphorus on the amino acids in root exudates and

- grains of rice during grain filling. *Acta Agronomica Sinica*, 2008, 34(4): 612-618.
- [20] Lu P, Yang L Z, Shan Y H, Han Y. Influence of returning green manure and wheat straw to paddy soils on soil available N content and rice yield. *Journal of Soil Science*, 2007, 38(1): 39-42.
- [21] Ning H F, Qiao J F, Liu Z H. Distribution of protein and amino acids in milled and brown rice as affected by nitrogen fertilization and genotype. *Journal of Cereal Science*, 2010, 52(1): 90-95.
- [22] Hong C L, Wei Y Z, Huang J F, Wang R Y, Yang X E. Effects of total crop straw return on soil fertility and field ecological environment. *Journal of Zhejiang University: Agriculture and Life Sciences*, 2003, 29(6): 627-633.
- [23] Xu G W, Wu C F, Liu H, Wang Z Q, Zhang M, Yang J C. Effects of wheat residue incorporation and nitrogen management techniques on formation of the grain yield of rice. *Acta Agronomica Sinica*, 2007, 33(2): 284-291.
- [24] Xie G X, Liu Q, Rong X M, Peng J W. Advances in influencing factors of the amino acid contents of rice. *Hunan Agricultural Sciences*, 2008, (1): 32-34.
- [25] Zhou W X, Chen D L, Bu Y J, Tu N M. Effects of rice-straw returning to the field on the metabolic diversity of soil microbial communities. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2008, 28(2): 326-330.
- [26] Peng Y X, Wang K R, Xie X L, Tang B. Effects of rice straw incorporation on soil nitrogen supply and rice yield under different irrigation and fertilizer regimes. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2007, (4): 40-43, 48-48.
- [27] Zhang B, Liu X Y, Pan G X, Zheng J F, Chi Z Z, Li L Q, Zhang X H, Zheng J W. Changes in soil properties, yield and trace gas emission from a paddy after biochar amendment in two consecutive rice growing cycles. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(23): 4844-4853.
- [28] Zhu S J. Experiment for Water-Saving and Greenhouse Effect of Irrigation Mode in Cold Rice Area [D]. Haerbin: Northeast Agricultural University, 2012.
- [29] Sanchis E, Ferrer M, Torres A G, Cambra-Lopez M, Calvet S. Effect of water and straw management practices on methane emissions from rice fields; a review through a meta-analysis. *Environmental Engineering Science*, 2012, 29(12): 1053-1062.
- [30] Shi S W, Li Y E, Li M D, Wan Y F, Gao Q Z, Peng H, Qin X B. Annual CH₄ and N₂O emissions from double rice cropping systems under various fertilizer regimes in Hunan province, China. *Chinese Journal of Atmospheric Sciences*, 2011, 35(4): 707-720.
- [31] Wu C C, Cao X, Qing M F, Li T L, Wang J F. Effect of straw application on the main environmental factors of soil in greenhouse. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2006, 37(3): 528-530.
- [32] Wu J M, Ji X H, Peng H, Shi L H, Liu Z B, Tian F X, Huo L J, Zhu J. Carbon sequestration effects of rice straw return in double season paddy field in Southern China. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(12): 3196-3202.
- [33] Peng H, Ji X H, Wu J M, Tian F X, Huo L J, Zhu J. Integrated effect of decreasing CH₄ and N₂O emission by biochar incorporated to paddy field on late rice. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20(11): 1620-1625.
- [34] Li C H, Liu K, Lian Y X. The recent progress of research on carbon and nitrogen metabolism in maize. *Journal of He'nan Agricultural University*, 2000, 34(4): 318-323.
- [35] Zhou X D, Lai S K, Zhou J, Wang Y X, Dong J C, Zhu J G, Yang L X, Wang Y L. The impact of free Air CO₂ enrichment (FACE) on protein and amino acids concentration of conventional *Japonica* rice. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(7): 1264-1270.

参考文献:

- [1] 肖层林. 地方陆稻品种品质性状的研究. *农业科技译丛(湖南)*, 1990, 10(1): 4-8.
- [2] 孙建和. 米糠在家禽日粮中的应用. *国外畜牧学(猪与禽)*, 1995, (5): 4-8.
- [7] 中华人民共和国气候变化初始国家信息通报. 北京: 中国计划出版社, 2004.
- [8] 张卫峰, 贺盼, 张福锁. 优化氮肥管理, 发展低碳经济. 北京: 全国低碳农业研讨会, 2010.
- [9] 米松华, 黄祖辉. 农业源温室气体减排技术和管理措施适用性筛选. *中国农业科学*, 2012, 45(21): 4517-4527.
- [10] 戴志刚. 秸秆养分释放规律及秸秆还田对作物产量和土壤肥力的影响 [D]. 武汉: 华中农业大学资源与环境学院, 2009.
- [11] 逯非, 王效科, 韩冰, 欧阳志云, 郑华. 农田土壤固碳措施的温室气体泄漏和净减排潜力. *生态学报*, 2009, 29(9): 4993-5006.
- [12] 秦晓波, 李玉娥, 刘克樱, 万运帆. 不同施肥处理稻田甲烷和氧化亚氮排放特征. *农业工程学报*, 2010, 22(7): 143-149.
- [13] 袁金华, 徐仁扣. 生物质炭的性质及其对土壤环境功能影响的研究进展. *生态环境学报*, 2011, 20(4): 779-785.
- [14] 张文玲, 李桂花, 高卫东. 生物质炭对土壤性状和作物产量的影响. *中国农学通报*, 2009, 25(17): 153-157.
- [15] 刘玉学. 生物质炭输入对土壤氮素流失及温室气体排放特性的影响 [D]. 杭州: 浙江大学环境与资源学院, 2011.
- [17] 周桂玉, 窦森, 刘世杰. 生物质炭结构性状及其对土壤有效养分和腐殖质组成的影响. *农业环境科学学报* 2011, 30(10): 2075-2080.
- [18] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤理化分析. 上海: 上海科学技术出版社, 1978.
- [19] 常二华, 张慎凤, 王志琴, 王学明, 杨建昌. 结实期氮磷营养水平对水稻根系和籽粒氨基酸含量的影响. *作物学报*, 2008, 34(4): 612-618.
- [20] 卢萍, 杨林章, 单玉华, 韩勇. 绿肥和秸秆还田对稻田土壤供

- 氮能力及产量的影响. 土壤通报, 2007, 38(1): 39-42.
- [22] 洪春来, 魏幼璋, 黄锦法, 王润屹, 杨肖娥. 秸秆全量直接还田对土壤肥力及农田生态环境的影响研究. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2003, 29(6): 627-633.
- [23] 徐国伟, 吴长付, 刘辉, 王志琴, 张敏, 杨建昌. 麦秸还田及氮肥管理技术对水稻产量的影响. 作物学报, 2007, 33(2): 284-291.
- [24] 谢桂先, 刘强, 荣湘民, 彭建伟. 稻米氨基酸含量的影响因素及其研究进展. 湖南农业科学, 2008, (1): 32-34.
- [25] 周文新, 陈冬林, 卜毓坚, 屠乃美. 稻草还田对土壤微生物群落功能多样性的影响. 环境科学学报, 28(2): 326-330.
- [26] 彭英湘, 王凯荣, 谢小立, 唐彬. 水肥条件与稻草还田对土壤供氮及水稻产量的影响. 中国土壤与肥料, 2007, (4): 40-43, 48-48.
- [27] 张斌, 刘晓雨, 潘根兴, 郑聚锋, 池忠志, 李恋卿, 张旭辉, 郑金伟. 施用生物炭后稻田土壤性质、水稻产量和痕量温室气体排放的变化. 中国农业科学, 2012, 45(23): 4844-4853.
- [28] 朱士江. 寒地稻作不同灌溉模式的节水及温室气体排放效应试验研究 [D]. 黑龙江: 东北农业大学, 2012.
- [30] 石生伟, 李玉娥, 李明德, 万运帆, 高清竹, 彭华, 秦晓波. 不同施肥处理下双季稻田 CH_4 和 N_2O 排放的全年观测研究. 大气科学, 2011, 35(4): 707-720.
- [31] 武春成, 曹霞, 齐明芳, 李天来, 王建锋. 稻草不同施入方法对温室土壤主要环境因子的影响. 沈阳农业大学学报, 2006, 37(3): 528-530.
- [32] 吴家梅, 纪雄辉, 彭华, 石丽红, 刘昭兵, 田发祥, 霍连杰, 朱坚. 南方双季稻田稻草还田的碳汇效应. 应用生态学报, 2011, 22(12): 3196-3202.
- [33] 彭华, 纪雄辉, 吴家梅, 田发祥, 霍连杰, 朱坚. 生物黑炭还田对晚稻 CH_4 和 N_2O 综合减排影响研究. 生态环境学报, 2011, 20(11): 1620-1625.
- [34] 李潮海, 刘奎, 连艳鲜. 玉米碳氮代谢研究进展. 河南农业大学学报, 2000, 34(4): 318-323.
- [35] 周晓冬, 赖上坤, 周娟, 王云霞, 董桂春, 朱建国, 杨连新, 王余龙. 开放式空气中 CO_2 浓度增高 (FACE) 对常规粳稻蛋白质和氨基酸含量的影响. 农业环境科学学报, 2012, 31(7): 1264-1270.