

水稻氮素供需差与不同叶位叶片氮转运和衰老的关系

王绍华,吉志军,刘胜环,丁艳锋,曹卫星

(南京农业大学/农业部作物生长调控重点开放实验室,南京 210095)

摘要: 采用去穗和疏花方法调节稻穗氮需求量,研究了水稻氮素供需差(NSDB)对不同叶位叶片氮转运和衰老的影响。结果表明,在 NSDB < 0 的条件下(对照),植株上部 4 张叶输出氮素,叶片正常衰老;随 NSDB 提高,顶部叶片尤其是顶 4 叶的氮素输出显著减少,叶片 MDA 含量下降,SOD 和 CAT 酶活力提高,上位叶与下位叶之间的叶色差缩小;当 NSDB > 0 以后(去穗),上部 4 叶的氮积累量不仅未减少,相反还有显著的增加,叶片的衰老进程被延缓。研究证实顶 4 叶叶色受氮素供需差的影响最大,当土壤供氮不能满足库需氮时,顶 4 叶叶色浅于顶 3 叶。

关键词: 水稻; 叶位; 氮素诊断; 叶片衰老; 库调节

S5.1 A

Relationships Between Balance of Nitrogen Supply-demand and Nitrogen Translocation and Senescence of Leaves at Different Positions of Rice

WANG Shao-hua,JI Zhi-jun,LIU Sheng-huang,DING Yan-feng,CAO Wei-xing

(Key Laboratory of Crop Growth Regulation, Ministry of Agriculture / Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract: By removing panicles and spikelets, the effects of nitrogen supply-demand balance (NSDB) on nitrogen translocation and senescence of leaves at different positions of rice plant were studied. The results showed that under NSDB < 0 (CK), nitrogen translocation and senescence of the top 4 leaves was normal. With the increase of NSDB, exported nitrogen from the top leaves especially the fourth leaf from the top (LFT) decreased remarkably. Thus, their MDA contents and differences in color (SPAD value) decreased, while the activities of SOD and CAT increased. Under NSDB > 0 (panicle removal), N accumulation of the top 4 leaves increased significantly, and the leaf senescence process was delay. The results also indicated that the color of the fourth LFT was mainly affected by NSDB among the top 4 leaves and was lighter than the third LFT when nitrogen supply was insufficient for the need.

Key words: Rice; Leaf position; Nitrogen diagnosis; Leaf senescence; Sink regulation

水稻生长库(生长中的器官是氮素输入器官,简称库)需要的氮素,来自植株从土壤中的即时吸收(即土壤供氮)和源组织氮素的转运两个部分。已完成发育的叶片都是库的后备氮源,当土壤供氮量不能满足库的氮需要时,源叶片向库输出氮素的强度增大,叶片衰老加速,叶色变浅^[1]。因此,源叶片的氮素转运和衰老与土壤供氮和库需氮两者均有关。作者等研究发现,水稻相邻叶位之间的叶色差异可以较好地指示植株氮素营养状况^[2,3]。然而,水稻

叶片氮素转运的叶位差异能否反映土壤供氮与库需氮的平衡状况,尚需进一步探究。本研究通过去穗和疏花减少稻穗需氮量,调节土壤供氮量与稻穗需氮量之间的供需差在不同水平,研究水稻氮素供需差与植株不同叶位叶片氮转运和衰老的关系,为水稻叶色差诊断施氮提供理论依据和技术指标。

1 材料与方法

1.1 试验设计

收稿日期:2003-02-25

基金项目:国家科技部重大专项资助项目(2002BA516A1)和江苏省科技攻关资助项目(BE2001331)

作者简介:王绍华(1960-),男,湖北武汉人,副教授,主要从事水稻栽培生理生态和作物信息技术研究。Tel:025-4395313; Fax:025-4395845; E-mail:wangsh@njau.edu.cn

试验于 2001 ~ 2002 年在南京农业大学进行。水稻品种武香粳 9 号, 为重穗型迟熟中粳稻, 全生育期 160 d 左右, 主茎总叶数为 17 ~ 18 片。采取稀植 (栽插密度 35 cm × 20 cm) 和重施穗肥 (穗肥施氮占总施氮量 55%) 等技术, 促进水稻大穗, 增加库容, 以保证水稻抽穗后稻穗有较大的氮需求。水稻始穗时选取长势整齐一致区域, 划出面积为 2 m² (2 m × 1 m) 的小区, 每小区施纯氮 13 g, 保持处理期内土壤氮素适度供应。

设 3 个处理: 去穗 (PR, panicle removal), 即从穗颈节处剪去稻穗; 疏花 (SR, spikelet removal), 即每隔 1 个一次枝梗剪 1 个一次枝梗; 对照 (CK), 不去穗不疏花。水稻齐穗期开始处理, 3 次重复, 随机区组排列。

1.2 测定分析

处理期内共取样 3 次, 分别为处理第 0 天 (当天)、第 7 天和第 14 d。因水稻再生性强, 14 d 后分蘖等器官再生, 无法保证稻穗是植株唯一的生长库, 所以试验仅进行 14 d 观测。每次每小区取 5 穴, 烘干备测植株各器官干重和全氮含量; 另取剑叶、顶二叶、顶三叶和顶四叶各 10 片, 液氮速冻备测酶活力。

叶色由 SPAD-502 型叶绿素计在田间直接测定, 以叶片上部 1/3 处叶绿素计的读数表示。每次每小区选取 30 个健壮单茎, 测定剑叶、顶二叶、顶三叶和顶四叶的叶色, 按叶位求平均。

全氮用 H₂SO₄ 混合催化剂消化, 凯氏定氮法测定。丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 按赵世杰等^[4]方法, 单位为 nmol · g⁻¹ FW。超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和过氧化氢酶 (catalase, CAT) 活力按李伯林等^[5]方法, SOD 以氯化硝基四氮唑蓝 (NBT) 光化还原 50% 为一酶活单位 (Units · g⁻¹ FW), CAT 以消失 1 μmol H₂O₂ · min⁻¹ 为一酶活单位 (Units · g⁻¹ FW)。

表 1 不同处理的穗粒数、植株各器官干重和吸氮量¹⁾

Table 1 Grain number per panicle, dry weight and N uptake of different plant organs under different treatments

处理 Treatment	每穗粒数 Grain number per panicle	干重 ²⁾ (g · m ⁻²) Dry weight			处理 14 d 内吸氮量 (g · m ⁻²) N uptake during the fourteen days of treatments		NSDB (g · m ⁻²)
		叶 Leaf	茎鞘 Stem & sheath	穗 Panicle	植株 Plant	穗 Panicle	
对照 CK	147	340(312)	508(453)	145(427)	3.35 a	6.72 A	-3.37
疏花 SR	76	347(339)	514(496)	74(143)	3.21 a	3.46 B	0.25
去穗 PR	0	336(362)	502(587)	0	2.99 a	0 C	2.99

¹⁾ 显著性测验: 字母小写表示 5% 显著水平, 字母大写表示 1% 显著水平; ²⁾ 括号外数据为处理当天的干重, 括号内数据为处理后第 14 天的干重

¹⁾ Remark: Duncan's test (SSR). The small or capital letters indicate significance at $P < 0.05$ or $P < 0.01$ level; ²⁾ The number outside the parenthesis is the dry weight on the treatment day, and the number inside the parenthesis is dry weight on the 14 day after treatment

以处理期内 (14 d) 单位土地面积上稻穗吸氮量为库需氮指标, 简称库需氮量; 同期相应的植株总吸氮量 (实为处理期内植株从土壤吸收的氮) 为土壤供氮指标, 简称土壤供氮量。定义土壤供氮量与库需氮量的差值为水稻氮素供需差 (nitrogen supply and demand balance, NSDB), 以此衡量土壤氮供应与水稻氮需要的平衡状况。

以叶片氮转运率 (percentage of nitrogen translocation, PNT) 表示处理期内叶片表观上的氮输入或输出程度。

$$PNT(\%) = (\text{处理当天叶片氮积累量} - \text{处理第 14 天叶片氮积累量}) \div \text{处理当天叶片氮积累量} \times 100\%$$

PNT > 0, 表示叶片向外输出氮; PNT < 0, 表示外界向叶片输入氮。

2 结果与分析

2.1 不同处理稻穗吸氮量、植株吸氮量和氮素供需差

本试验条件下, 处理期内植株吸氮量各处理十分接近, 稻穗吸氮量处理间差异极显著 (表 1)。表明各处理的土壤供氮能力没有差异, 而库的氮需求却有很大的差异, 符合设计要求。水稻氮素供需平衡方面, 对照的 NSDB 值为 -3.37, 其绝对值与同期植株吸氮量 3.35 g · m⁻² 接近, 表明处理期内库的需氮量是同期土壤供氮量的 2 倍, 或者说土壤供氮仅满足了同期稻穗需氮量的一半。SR 的 NSDB 值为 0.25, 接近于 0, 表示处理期内土壤供氮表观上满足了同期稻穗的氮需求。PR 的 NSDB 值为 2.99, 与同期植株吸氮量相等, 表明处理期内稻穗虽无氮需求, 但植株仍然从土壤吸收了 2.99 g · m⁻² 氮, 这部分氮无疑分配给了叶、茎和鞘。这暗示在去穗条件下, 叶、茎和鞘等营养器官已从源器官转变为库器官, 发挥接受氮的作用。

2.2 不同处理不同叶位叶片氮转运率的差异

图 1 可见,处理期内剑叶、顶二叶、顶三叶和顶四叶氮转运不同处理有明显的差异。对照上部 4 片叶片的氮转运率(PNT)均为正值,在处理期内叶片有大量的氮向外输出。SR 上部 4 片叶片的 PNT 都在 0 附近,处理期内叶片没有明显的氮输入和氮输出。PR 上部 4 片叶片的 PNT 均为负值,在处理期内叶片不仅没有向外输出氮素,相反还接受了较多氮素。这表明,NSDB > 0 时,已完成生长发育的源叶片也能转化为库叶片,接受氮素。

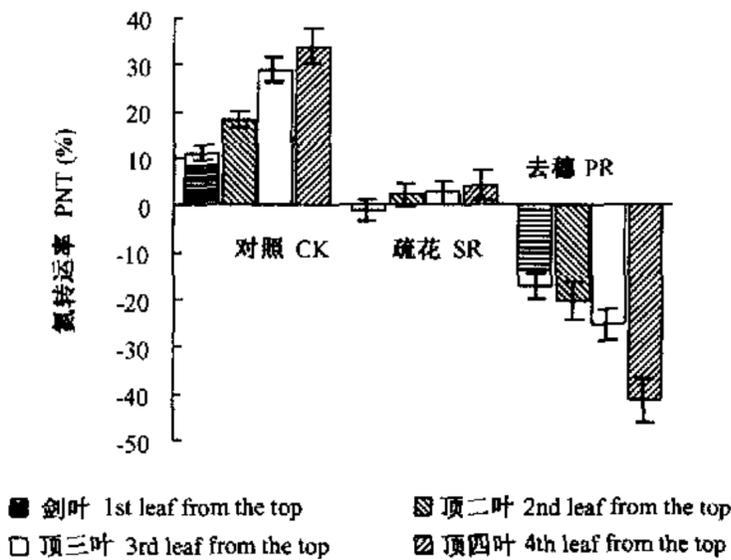


图 1 处理 14d 内植株不同叶位叶片的氮转运率(PNT)
Fig.1 The percentage of nitrogen translocation (PNT) at different position leaves of plant during the fourteen days of treatment

不同叶位叶片 PNT 的差异是笔者关注的一个焦点。图 1 显示,当 NSDB > 0 时,如 PR 处理,顶四叶的 PNT 值最小,为 -40% 左右;随后依次为顶三叶、顶二叶和剑叶,分别为 -25%、-20% 和 -17% 左右,以顶四叶接受的氮素最多。当 NSDB < 0 时,如对照处理,顶四叶的 PNT 值最大,为 34% 左右;随后也依次为顶三叶、顶二叶和剑叶,分别为 29%、18% 和 11% 左右,其氮素的输出仍以顶四叶最多。这表明顶四叶的氮转运对氮素供需差的反应较其上各叶敏感。当 NSDB 接近于 0 时,如 SR 处理,在处理期内剑叶接受了极少量的氮素,顶二叶至顶四叶仅向外输出了极少量的氮,上部 4 片叶片的 PNT 没有显著差异。

2.3 不同处理叶片丙二醛含量和活性氧防御酶活力及其与叶色的关系

库充实需要一部分源叶的氮素,源叶过度地向外出氮素,必然引起叶片衰老加快及其相关生理生化进程的加速。图 2 显示,对照由于土壤供氮远远不能满足库的需求,上部 4 张叶片 MDA 含量明显提高,其中顶三叶和顶四叶提高最明显,处理后第 7 天该两叶 MDA 含量较 0 d 提高了 60% 以上。NSDB 提高(即土壤供氮量对库需氮量的满足程度提高)库叶片的 MDA 含量显著下降。如 PR 处理,上部 4 张叶片的 MDA 含量在第 7 天已显著降低,较 0 d 下降 45% 左右,到第 14 d 仅为 0 d 的 1/4 ~ 1/3。SR 处

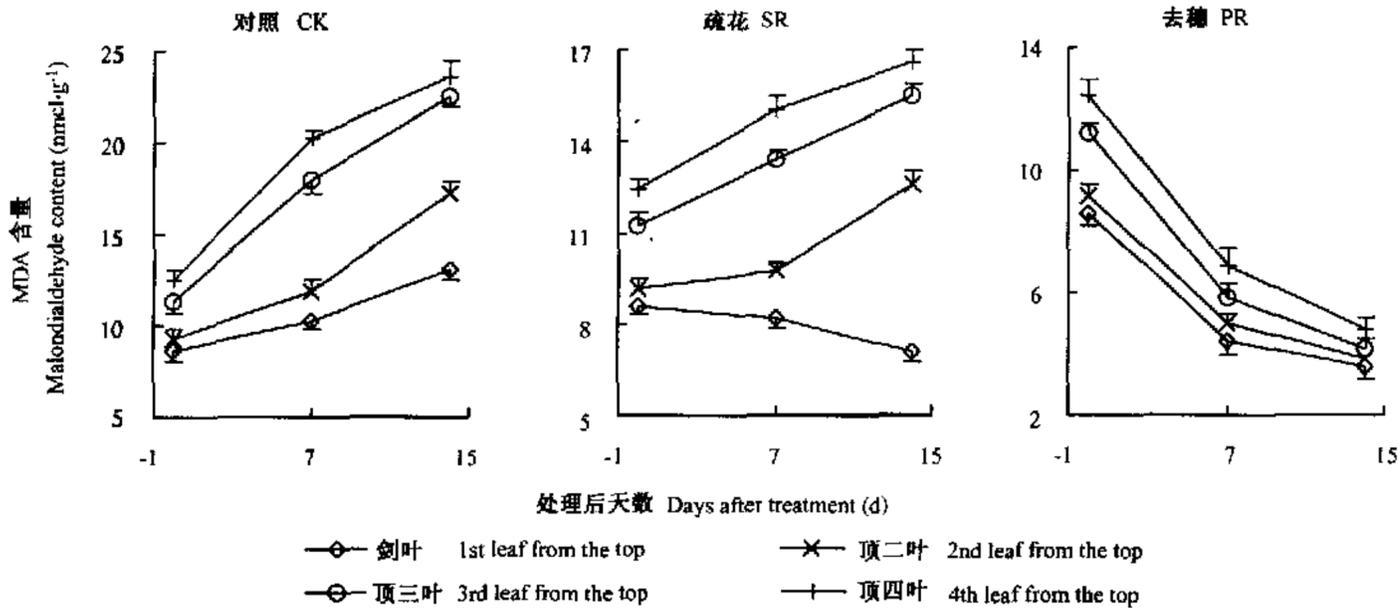


图 2 不同处理植株不同叶位叶片 MDA 含量的变化
Fig.2 Changes of malondialdehyde content in leaves at different position of plant

理不同叶位的表现明显不一致。剑叶 MDA 含量在处理期内稍有下降,顶二叶至顶四叶 MDA 含量上升。但上升幅度明显小于 CK,疏花后第 14 天顶三

叶和顶四叶 MDA 含量仅相当于同期 CK 的 2/3。

MDA 是膜脂过氧化后的产物,MDA 含量高,生理上意味着膜脂受氧自由基氧化严重。叶片内 SOD

和 CAT 等酶能清除氧自由基,避免氧自由基伤害膜脂^[6]。处理后第 7 天和第 14 天,SR 处理各叶的 SOD 和 CAT 活力与对照差异不大,PR 处理则明显高于对照,总体表现与 MDA 相反(表 2)。表明 NS-

DB 值提高,有利于提高叶片内活性氧防御酶清除氧自由基的能力,降低叶片 MDA 含量,延缓叶片衰老,尤其是下位叶片的衰老。

表 2 不同处理植株不同叶位叶片 SOD 和 CAT 活力的变化¹⁾

Table 2 Changes of activities of SOD and CAT in leaves at different position of plant

项目 Item	处理 Treatment	处理后天数 ²⁾ Days after treatment	叶位 Leaf position			
			1st	2nd	3rd	4th
超氧化物歧化酶 SOD (U·g ⁻¹)	对照 CK	0	530 ± 22	477 ± 36	386 ± 12	230 ± 14
		7	482 ± 29	364 ± 19	202 ± 4	108 ± 4
		14	384 ± 16	272 ± 8	106 ± 5	46 ± 2
	疏花 SR	7	499 ± 17	414 ± 19	280 ± 18	123 ± 4
		14	426 ± 26	352 ± 17	187 ± 5	87 ± 4
	去穗 PR	7	1 200 ± 39	1 104 ± 39	946 ± 24	781 ± 15
14		1 336 ± 39	1 247 ± 79	1 172 ± 35	1 034 ± 43	
过氧化氢酶 CAT(U·g ⁻¹)	对照 CK	0	229 ± 11	204 ± 13	167 ± 7	94 ± 4
		7	206 ± 15	176 ± 10	108 ± 3	65 ± 2
		14	166 ± 11	105 ± 4	75 ± 2	41 ± 2
	疏花 SR	7	236 ± 18	177 ± 14	105 ± 4	70 ± 3
		14	234 ± 14	137 ± 6	74 ± 2	49 ± 2
	去穗 PR	7	377 ± 16	353 ± 15	322 ± 20	292 ± 19
14		388 ± 20	379 ± 16	365 ± 11	343 ± 14	

¹⁾ 1st, 2nd, 3rd 和 4th 分别代表剑叶、顶二叶、顶三叶、顶四叶;²⁾ 0 指处理当天;在处理当天疏花、去穗和对照值相同

¹⁾ 1st, 2nd, 3rd and 4th represent the first, second, third and fourth leaf from the top; ²⁾ 0 means the treatment day, the values of SR and PR are same as CK

随叶片衰老,叶色(SPAD 值)相应褪淡。处理期内,各处理叶色的变化与 SOD 和 CAT 活力相似,详细数据省略。总体上,叶色与 SOD 和 CAT 活力正相关,相关系数分别为 0.8615** 和 0.8745**,与 MDA 含量负相关,相关系数为 -0.8919**。表明叶色是叶片生理衰老的外部综合表现。

2.4 叶位间叶色比与 NSDB 的关系

本研究分析了 6 对叶位间的叶色比,即顶四叶/顶三叶、顶四叶/顶二叶、顶四叶/剑叶、顶三叶/顶二叶、顶三叶/剑叶和顶二叶/剑叶。经分析,前 3 对叶色比处理之间虽有明显的差异,但与 NSDB 无明确规律。顶四叶/剑叶和顶四叶/顶二叶的叶色比均随 NSDB 提高而降低(图 3)。顶四叶/顶三叶的叶色比在 3 个处理中的表现值得关注,在 NSDB > 0 时(PR),顶四叶/顶三叶、顶四叶/顶二叶、顶四叶/剑叶的叶色比都接近于 1,三者之间无显著差异;在 NSDB 接近于 0 时(SR),顶四叶/顶三叶的叶色比也接近于 1,而顶四叶/顶二叶、顶四叶/剑叶的叶色比则明显小于 1;在 NSDB < 0 时(CK),顶四叶/顶三叶、顶四叶/顶二叶、顶四叶/剑叶的叶色比都明显小于 1。由此可以看出,顶四叶可用作指示叶,用它与其上位叶的叶色作比较,判断水稻氮素供需平衡状

况。本试验中,在氮素供需平衡时(NSDB = 0)或氮素供应远大于需求时(NSDB > 0),顶四叶/顶三叶的叶色比都接近 1,即顶四叶、顶三叶的叶色相等;而氮素供应不足时,则小于 1,即顶四叶的叶色浅于顶三叶。

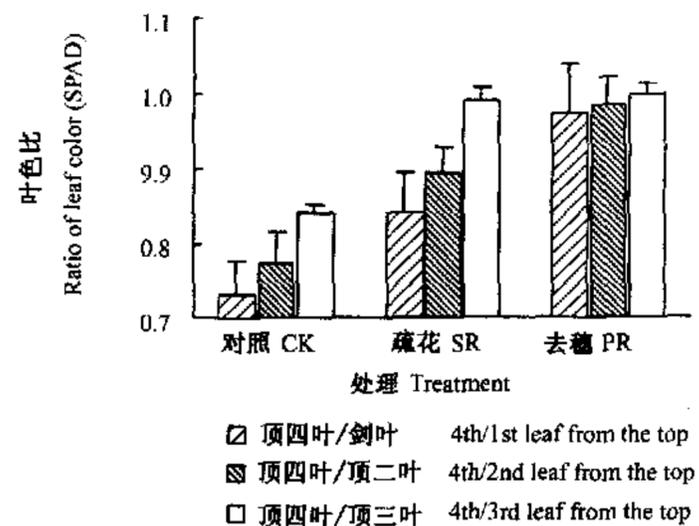


图 3 处理 14d 植株顶四叶与剑叶、顶二叶、顶三叶的叶色比

Fig. 3 Ratios of color between 4th and 1st or 2nd or 3rd leaf from the top on the 14th day of treatments

3 讨论

关于叶片衰老与库的关系,营养胁迫学认为,库小有利于叶片积累同化物,延缓叶片衰老进程^[1];也有研究认为,库小叶片中糖积累增多,促进活性氧产生,加速叶片衰老^[7]。本研究表明,库较小时,叶片中氮输出减少,活性氧防御酶活力提高,MDA 含量降低,叶片衰老被延缓;库较大时,库向叶片强行征调氮素,叶片自身缺氮,活性氧防御酶活力下降,MDA 含量提高,叶片衰老加快。结果支持了营养胁迫作用机理。

根据源库理论,尚未完成生长发育的叶片接受氮为库,已完成生长发育的叶片输出氮为源。水稻齐穗后上部 4 片叶片为源叶片,有报道^[8]对稻穗疏花之后,这些源叶出现了糖和淀粉的重新积累。本研究也发现,在去穗后 14 d,这些源叶片重新积累了大量氮素,表明水稻源叶片在衰老之前仍然保留着库属性,是否表达则取决于水稻的氮素供需平衡状况。当植株吸收的氮多于库的需要时,源叶转变为库叶接受多余氮素,植株生长过旺;当植株吸收的氮素刚好满足库的需要时,库不向源叶片征调氮素,此时下位叶的衰老进程被延缓,与上位叶的叶色差缩小。这为水稻氮素营养的叶色差诊断^[2,9]提供了理论依据。

本研究最初目标旨在阐明水稻不同叶位叶色差形成的部分机制。由于水稻为收籽粒作物,抽穗后叶片参与供氮和适度衰老是必需的,进一步明确结实期氮素供需差适宜指标及群体大小、抽穗前和抽穗后施氮水平的影响,对指导生产具有重要意义,有待深入研究。

References

- [1] 魏道智,戴新宾,许晓明,张荣铨. 植物叶片衰老机理的几种假说. 广西植物, 1998, 18(1): 89 - 96.
Wei D Z, Dai X B, Xu X M, Zhang R X. Several hypotheses on the mechanism of the plant leaf senescence. *Guihaia Plant*, 1998, 18(1): 89 - 96. (in Chinese)
- [2] Wang S H, Cao W X, Wang Q S, Ding Y F, Huang P S, Ling Q H. Distribution of leaf color and nitrogen nutrition diagnosis in rice plant. *Agricultural Sciences in China*, 2002, 1(12): 1 321 - 1 328.
- [3] 王绍华,刘胜环,王强盛,丁艳锋,黄丕生,凌启鸿. 水稻产量形成与叶片含氮量及叶色的关系. 南京农业大学学报, 2002, 25(4): 1 - 5.
Wang S H, Liu S H, Wang Q S, Ding Y F, Huang P S, Ling Q H. Relationship between yield formation and leaf color nitrogen content in rice plant. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2002, 25(4): 1 - 5. (in Chinese)
- [4] 赵世杰,许长成,邹琦. 植物组织中丙二醛测定方法的改进. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 207 - 210.
Zhao S J, Xu C C, Zou Q. Improvements of method for measurement of malondialdehyde in plant tissues. *Plant Physiology Communications*, 1994, 30(3): 207 - 210. (in Chinese)
- [5] 李伯林,梅慧生. 燕麦叶片衰老与活性氧代谢的关系. 植物生理学报, 1989, 15(1): 6 - 12.
Li B L, Mei H S. Relationship between oat leaf senescence and activated oxygen metabolism. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1989, 15(1): 6 - 12. (in Chinese)
- [6] 林植芳,林桂珠,李双顺,郭俊彦. 衰老叶片和叶绿体中 H₂O₂ 积累与膜脂与过氧化的关系. 植物生理学报, 1988, 14(1): 16 - 22.
Lin Z F, Lin G Z, Li S S, Guo J Y. The accumulation of hydrogen peroxide in senescing leaves and chloroplasts in relation to lipid peroxidation. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1988, 14(1): 16 - 22. (in Chinese)
- [7] 潘晓华,王永锐. 水稻库/源比对叶片光合作用、同化物运输和分配及叶片衰老的影响. 作物学报, 1998, 24(6): 821 - 827.
Pan X H, Wang Y R. Influences of sink-source ratio alteration on photosynthesis, assimilate translocation and partitioning and leaf senescence of rice. *Acta Agronomica Sinica*, 1998, 24(6): 821 - 827. (in Chinese)
- [8] 梁建生,曹显祖,张海燕,宋平,朱庆森. 水稻籽粒灌浆期间茎鞘储存物质含量变化及其影响因素研究. 中国水稻科学, 1994, 8(3): 151 - 156.
Liang J S, Cao X Z, Zhang H Y, Song P, Zhu Q S. The changes and affecting factors of stem-sheath reserve contents of rice during grain filling. *Chinese Journal Rice Science*, 1994, 8(3): 151 - 156. (in Chinese)
- [9] 沈肇泉,王珂,朱君艳. 叶绿素计诊断不同水稻品种氮素营养水平的研究初报. 科技通报, 2002, 18(3): 173 - 176.
Shen Z Q, Wang K, Zhu J Y. Preliminary study on diagnosis of the nitrogen status of two rice varieties using the chlorophy meter. *Bulletin of Science and Technology*, 2002, 18(3): 173 - 176. (in Chinese)

(责任编辑 卞海军)