

光照和施氮量对分蘖期水稻叶际氮氧化物(NO和NO₂)交换的调控机制

徐胜光^{1,2} 陈能场^{1,*} 周建民¹ 吴启堂² 毕德¹ 卢维盛²

(¹广东省生态环境与土壤研究所, 广东 广州 510650; ²华南农业大学 资源环境学院, 广东 广州 510642; * 通讯联系人, E-mail: ncchen@soil.gd.cn)

Effects and Its Mechanism of Light and Nitrogen Level on the Exchanges of NO_x(NO and NO₂) in Rice Phyllosphere at the Tillering Stage

XU Sheng guang^{1,2}, CHEN Neng chang^{1,*}, ZHOU Jian min¹, WU Qi tang², BI De¹, LU Wei sheng²

(¹Guangdong Institute of Eco environment and Soil Sciences, Guangzhou 510650, China; ²College of Natural Resource and Environmental Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; * Corresponding author, E mail: ncchen@soil.gd.cn)

Abstract: The effects of light and nitrogen level on the exchanges of NO_x(NO, NO₂) in rice (*Oryza sativa* L.) phyllosphere at the tillering stage and the mechanism were studied by using chamber method and on line examination system. There were significant effects of NO emission and NO₂ uptake in rice phyllosphere, the mean rates of NO emission and NO₂ uptake were 2.48 and 0.116 μg/(pot·h) under the light density regulated strictly in a growth chamber (L1 treatment), and were 2.84 and 0.175 μg/(pot·h) under without light controlling in laboratory (L2 treatment), respectively. Further more, NO emission was also occurred ever if the NO content of ambient air exceeded 200 μg/m³. Without light controlling in laboratory, NO emission from rice plant significantly increased in 0-5 days after nitrogen application, and then decreased gradually. Followed with the rate of nitrogen increased from 0 to 80 mg/L NH₄NO₃-N, NO emission increased as a whole, but was not decreased significantly under no nitrogen nutrient or low level of N (10 mg/L NH₄NO₃-N) in short term (0-7 days). The rate of NO₂ uptake was also promoted under the increasing nitrogen (0-60 mg/L NH₄NO₃-N). In short term (1-2 days) after nitrogen application, the effects of NO_x emission in rice phyllosphere from the time at low light density (6:00-10:00) to the time at high light density (10:00-14:00) were stimulated by favorable illumination in the growth chamber, but inhibited evidently from illumination incessantly with strong light at 14:00-18:00. However, both NO emission and NO₂ uptake in rice phyllosphere could also be restrained accordingly with the time of darkness prolonged at night. And, there was increasing of NO₂ uptake with the time of light illumination prolonging, but NO₂ uptake was not affected evidently by the change of light density at daytime. Moreover, both NO emission and NO₂ uptake were enhanced when the air of chamber displaced by ambient air continuously in laboratory.

Key words: rice (*Oryza sativa*); light; nitrogen application; nitrogen oxide; nitrogen dioxide; emission; uptake

摘要: 采用密闭箱法结合快速在线检测系统,研究了光-氮对分蘖期水稻叶际 NO_x(NO、NO₂)交换的作用机制。结果表明:1)在叶际 NO_x(NO、NO₂)交换过程中,试验用水稻品种有显著 NO 净挥发和 NO₂ 净吸收效应;在严密控光和室内自然光条件下,水稻 NO 净挥发速率分别为 2.48 和 2.84 μg/(桶·h),NO₂ 净吸收速率分别为 0.116 和 0.175 μg/(桶·h),且在环境空气 NO 浓度为 200 μg/m³ 条件下也能挥发 NO。2)更换营养液后观测期(5 d)水稻 NO 挥发速率呈先升后降趋势,在供 N 0~80 mg/L 范围内提高供氮水平总体上增强了水稻 NO 挥发,但短期内(7 d)脱氮、缺氮(供 N 10 mg/L)无明显抑制水稻 NO 挥发的作用;同期适度提高供氮浓度(供 N 0~60 mg/L)增强了水稻 NO₂ 吸收,但供氮 6 d 后外源氮源对水稻叶际 NO_x(NO、NO₂)交换的调控作用明显下降;3)更换营养液后短期内(1~2 d)控光处理下 6:00-10:00 弱光和 10:00-14:00 强光有刺激水稻 NO_x(NO、NO₂)挥发的作用,但 14:00-18:00 持续强光明显抑制了水稻 NO_x 挥发;在更换营养液 2 d 后,延长光照时间能增强水稻 NO₂ 吸收,但光强变化对水稻 NO₂ 吸收调控作用不明显,晚上暗处理有同步抑制水稻 NO 挥发和 NO₂ 吸收效应;4)与基本不置换培养箱空气处理相比,置换培养箱空气同步增强了水稻 NO 挥发和 NO₂ 吸收。

关键词: 水稻;光照;氮素;一氧化氮;二氧化氮;吸收;挥发

中图分类号:Q945.1;S143.1;S511.01

文献标识码:A

文章编号:1001-7216(2009)03-0297-07

水稻叶片氮化物挥发是氮素损失的重要途径^[1-5],损失量约占氮素损失总量的 7%~21%^[5];试验发现,有无水稻植株处理间¹⁵N 标记氮化物损失差异极显著($P < 0.01$)^[3],约 50%¹⁵N 标记氮化物从水稻地上部挥发损失。水稻叶片挥发氮化物主要有 NH₃^[4-7]和 N₂O^[3,6-8],有关水稻植物 NO_x(NO、NO₂)挥发损失还少见报道。前人在环境空气 NO_x 浓度极低(NO < 1.34 μg/m³、NO₂ < 2.05 μg/m³)情况下观测到部分植物的 NO_x 净挥发^[9-10];在空气 NO_x 浓度相对较高条件下,植物还从空气净吸

收 NO_x^[10]。显然,植物叶际存在 NO_x 交换作用,这种交换结果是净释放还是净吸收 NO_x,应与光-氮因素密切相关^[11-12]。因此,探讨水稻叶际 NO_x 交换对光-氮的响应,可以揭示光-氮对水稻 NO_x 挥发的作用机理,为正确评估水稻 NO_x 挥发损失提供理论依据。

收稿日期:2008-06-23;修改稿收到日期:2009-02-05。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30571117)。

第一作者简介:徐胜光(1973-),男,副研究员,博士研究生。

1 材料与方法

1.1 试验材料和仪器

供试水稻 (*Oryza sativa* L.) 品种为培杂泰丰, 由华南农业大学提供。培养液用木村配方^[13], N、P、K、Ca、Mg 含量分别为: 20、2.2、8.3、6.0 和 7.1 mg/L。试验用透明有机玻璃培养箱 (30 cm × 30 cm × 100 cm) 由底座和罩组成, 罩 0.4 m, 底座 0.6 m, 底座有 0.5 cm 的凹槽供玻璃罩嵌入。培养箱底座一侧 5 cm 高的中间位置有 2 个进气孔, 对应一侧离玻璃罩上顶面 5 cm 处有 1 个出气孔。水培用桶由 PVC 管材料制成, 直径 20 cm, 有效容量 7.0 L, 定植板为同内径的泡沫板。主要仪器包括 MGC-300H 人工智能气候箱(上海一恒科技有限公司), ACG 005(80 W) 电磁式空气压缩机(气泵, 广东博宇实业公司), 42C NO-NO₂-NO_x 分析仪(美国热电子公司)。

1.2 试验用水稻苗培养

于 2006 年 7 月 22 日采用土培法育苗, 同年 8 月 10 日移栽至水培用 PVC 桶中培养, 每桶装 6 L 营养液, 种 3 株苗, 每周更换 1 次营养液。至 9 月 14 日, 试验用苗实际苗龄 55 d, 平均单株鲜质量 41.83 g。

1.3 室内氮调控试验

1.3.1 试验处理

试验设室内空气(CK1)、营养液空白(CK2)、只保留水稻根系处理(R)(供 N 60 mg/L)和保留完整水稻植株的不同供氮浓度(以纯 N 计分别为 0、10、20、40、60 和 80 mg/L)处理。各处理均以 NH₄NO₃ 为氮源, R 处理离定植板 5 cm 以上的茎叶全部去除。9 月 14 日更换营养液后, 各处理 NO_x(NO、NO₂) 重复观测 5 d。试验时间为 2006 年 9 月 16 - 20 日。

1.3.2 试验方法

精选水稻植株, 用去离子水洗净, 吹干, 放入按设计更换营养液的 PVC 桶, 然后装箱。试验中每天测定 6 次, 分别在 8:00 - 11:00、11:00 - 14:00、14:00 - 17:00、17:00 - 20:00、20:00 - 23:00 和 23:00 - 次日 2:00 时段测定。观测时, 用胶布封闭生长箱底座和罩的嵌合部位, 培养箱进气孔保持通气, 出气孔连接 NO_x 分析仪自动抽气检测, 流量 0.638 L/min 5 s 获 1 组抽出气流的 NO、NO₂ 浓度数据并自动传输到电脑保存。大气中 NO 和 NO₂ 之间的化学转换(光氧化)十分频繁, 环境空气

(CK1) NO_x 浓度持续波动, 故初始培养箱空气 NO_x 浓度并不固定, 定量研究有一定技术困难。试验用高灵敏度的氮氧化物分析仪的在线快速检测并同步观测营养液空白, 可以快速获得精准 NO、NO₂ 浓度数据, 较好地解决了研究不稳定氮化物 NO、NO₂ 的关键技术问题。

仪器观测最初的 10 min 内, 只从培养箱进气孔导入 6.38 L 左右的外部空气, 仪器观测数据稳定, 故用观测之初 10 min 数据来表征处理培养箱空气的 NO、NO₂ 浓度。仪器每次观测 12 ~ 15 min, 每次观测时从进气孔导入的外部空气 < 10 L, 故试验在基本不置换培养箱空气条件下实施。

1.3.3 水稻叶际 NO_x(NO、NO₂) 交换速率的计算

根据培养箱空气 NO_x(NO、NO₂) 浓度, 计算有、无(R 处理)水稻地上部 NO_x 浓度差, 再根据测定间隔时间内有无水稻植株处理 NO_x 浓度差的变化率和培养箱容积(扣除 6.0 L 培养液体积), 计算不同间隔时间内培养箱空气 NO_x 增减速率 [$\mu\text{g}/(\text{桶} \cdot \text{h})$], 负数表示吸收, 正数表示释放。

1.4 室内光调控试验

1.4.1 试验处理

试验设室内空气(CK1)、营养液空白(CK2)、只保留水稻根系处理(R)、有完整水稻植株的气候箱控光处理(L1)和室内自然光暗处理(L2)。所用氮源为 NH₄NO₃, 氮浓度 60 mg/L。9 月 14 日更换营养液后, 不同时段各处理 NO_x(NO、NO₂) 每天测定 1 次, 连续观测 6 d。试验时间为 2006 年 9 月 15 - 20 日。

1.4.2 试验方法

试验植株处理方法同 1.3, 并在每天 6:00 - 10:00、10:00 - 14:00、14:00 - 18:00、18:00 - 22:00 和 22:00 - 次日 2:00 时段各测定 1 次, 期间气候箱空气湿度统一设为 60%, 6:00 - 10:00、10:00 - 14:00、14:00 - 18:00 时段 L1 处理光照、温度分别为 6 600 lx、28 °C; 19 800 lx、32 °C; 13 200 lx、28 °C。18:00 - 22:00 和 22:00 - 次日 2:00 时段为 L1 无光时段, 温度设为 25 °C。每次观测前用气泵置换培养箱空气, 然后封闭培养箱 3 h, 观测方法同 1.3。

1.4.3 水稻叶际 NO_x(NO、NO₂) 交换速率的计算方法

试验期间, 由于环境空气(CK) NO_x 浓度的波动, 初始培养箱空气 NO_x 浓度也不固定。试验主要依据封闭 3 h 后同步实施的有、无水稻地上部处理

(R处理)间的培养箱空气NO_x浓度差和培养箱容积(扣除6.0 L营养液体积),计算密封3 h内培养箱空气NO_x(NO、NO₂)的增减速率[μg/(桶·h)]来表征水稻叶际NO_x交换速率,负数表示吸收,正数表示释放。

1.5 培养箱气密性检测方法

封箱前,注水检测箱体密封性。封箱后,培养箱出气孔通过胶管连接至水中,水浴加热(40℃)使箱体空气受热膨胀,观察是否有气泡来判断密封性。

1.6 数据处理方法

将NO_x浓度数据首先导入Excel电子表,统计不同处理NO_x浓度、交换速率的平均值和标准差,然后将NO_x浓度、交换速率数据导入到SPSS工作界面,进行方差统计分析。

2 结果与分析

2.1 水稻植株和培养液氮源对培养箱空气NO_x(NO、NO₂)浓度的影响

2.1.1 水稻植株、氮源对培养箱空气NO浓度的影响

试验结果表明(图1),环境空气(CK1)、营养液空白(CK2)和保留水稻根系处理(R)的培养箱平均空气NO浓度(5 d平均)相对较低,处理间差异不显著($P < 0.05$)。这说明培养液和水稻根系对液气界面的NO交换无显著影响,放有水稻植株的不同供氮浓度处理(0~80 mg/L)培养箱空气NO浓度大

幅上升,不是培养液根系体系大量净排放NO的结果。

在室内自然光暗处理条件下,N浓度为0、10、20、40、60和80 mg/L等有水稻植株处理培养箱空气NO浓度均显著高于CK1、CK2和R处理(N浓度为60 mg/L)($P < 0.01$)相差达20~30倍之多。由于营养液根系体系对液气界面的NO交换无明显作用,故这些处理培养箱空气NO浓度大幅上升,应归结为水稻地上部NO的净排放作用,这证明本试验用水稻植株有显著的NO净排放作用。

从实验结果看,0、10 mg/L供N处理培养箱空气NO浓度并不低,说明短期内(7 d)脱氮或供氮不足未抑制水稻NO挥发。但也可以看出,在供N 60、80 mg/L浓度处理的培养箱空气NO浓度显著高于0 mg/L处理($P < 0.05$),说明高供氮浓度对增强水稻NO挥发有一定作用。

2.1.2 水稻植株、氮源对培养箱空气NO₂浓度的影响

研究发现,保留根系(R)和营养液空白(CK2)处理间培养箱空气NO₂浓度差异不显著($P > 0.05$),表明根际效应对培养箱空气NO_x的作用不明显,故0~60 mg/L不同供N处理的培养箱空气NO₂浓度显著低于CK1、CK2和R处理($P < 0.01$,图1)是水稻冠层净吸收NO₂的结果,说明这一时期水稻有明显净吸收空气NO₂的作用。

在0~60 mg/L供N范围培养箱空气NO₂浓

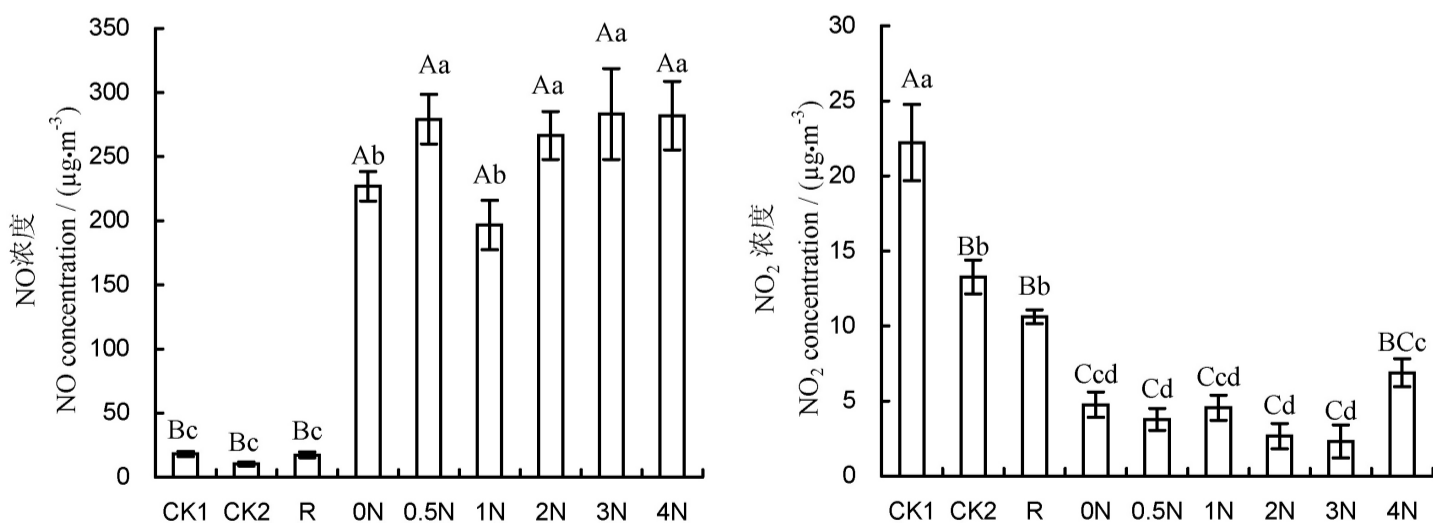


图1 不同供氮浓度处理对培养箱空气NO_x(NO、NO₂)浓度的影响

Fig. 1. Effects of different nitrogen concentrations on air NO_x(NO, NO₂) concentration in chamber.

柱上不同大小写字母分别表示处理间差异达0.01和0.05显著水平。CK1 - 室内空气;CK2 - 营养液空白(N为60 mg/L, NH₄NO₃); R - 营养液中保留水稻根系处理;0N、0.5N、1N、2N、3N、4N - 密闭箱放有完整水稻植株,培养液N浓度分别为0、10、20、40、60和80 mg/L(以NH₄NO₃供氮)。下同。

Different uppercase and lowercase letters above the bars indicate significant difference between the treatments at 0.01 and 0.05 probability levels, respectively. CK1, Ambient air in laboratory; CK2, Nutrient solution (blank); R, Rice roots in nutrient solution(60 mg/L NH₄NO₃-N); 0N, 0.5N, 1N, 2N, 3N and 4N, Rice plants treated with 0, 10, 20, 40, 60 and 80 mg/L NH₄NO₃-N, respectively. The same as in figures below.

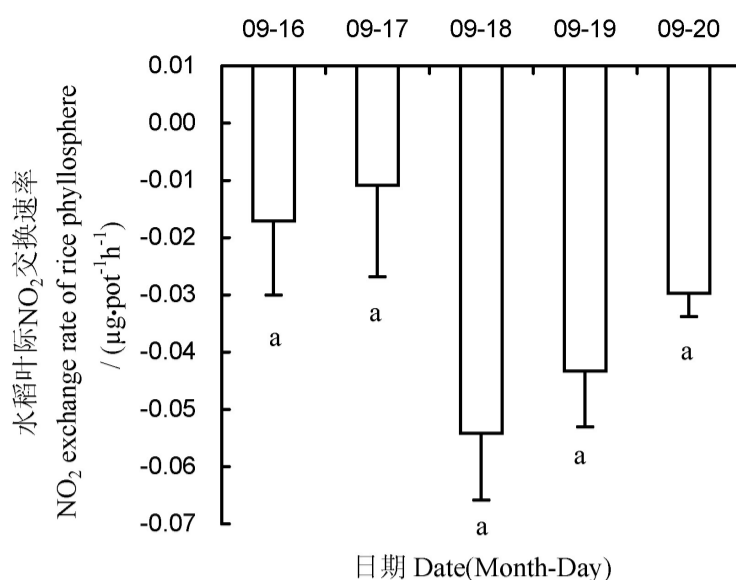
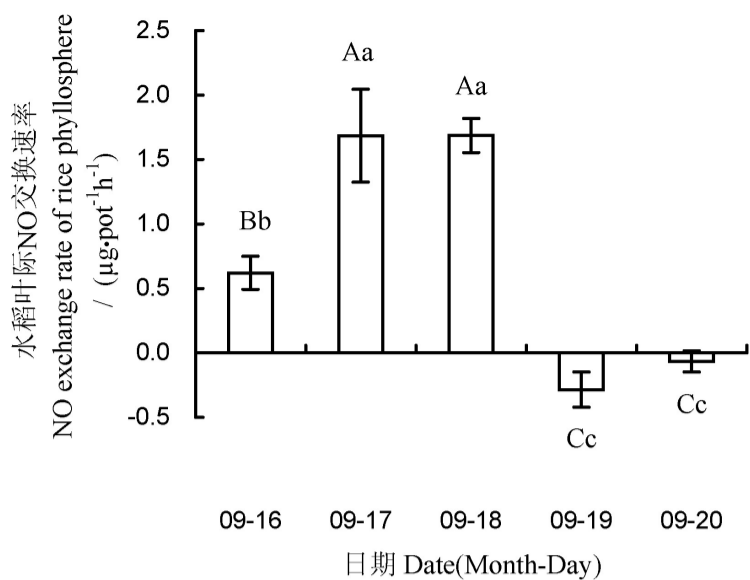


图 2 施肥后水稻叶际 NO_x(NO、NO₂) 交换速率的变化趋势

Fig. 2 . Exchange rate of NO_x(NO , NO₂) in rice phyllosphere and its tendency after N application .

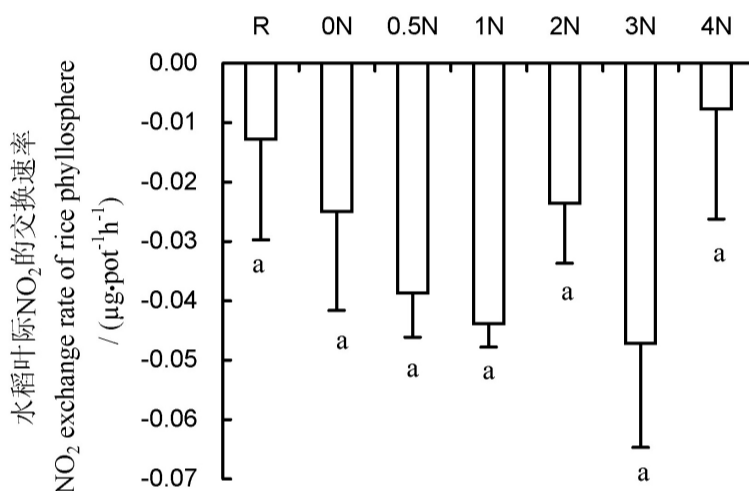
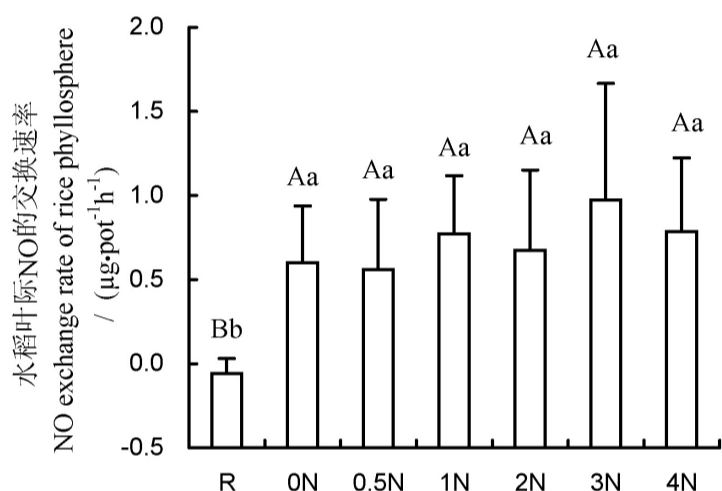


图 3 不同供氮浓度处理对水稻叶际 NO_x(NO、NO₂) 交换速率的影响

Fig. 3 . Effects of different nitrogen concentrations on the rate of NO_x(NO , NO₂) exchange in rice phyllosphere .

度总体呈下降趋势,供氮浓度提高能促进水稻 NO₂ 吸收。但在 80 mg/L 供 N 浓度条件下,培养箱空气 NO₂ 浓度与 R 处理间差异不显著 ($P > 0.05$),说明高氮抑制水稻 NO₂ 吸收。

2.2 水稻叶际 NO_x(NO、NO₂) 的交换特征

2.2.1 水稻叶际 NO 交换特征

更换营养液后,不同日期间水稻(6 个处理平均值)NO 净挥发速率差异显著 ($P < 0.01$),总体上呈先升后降的变化趋势(图 2),并从更换营养液后 6 d 起,观测到水稻有 NO 净吸收作用。这与水培定氮条件下培养液供氮先增后减趋势吻合,显示外源氮源有调节水稻 NO 挥发的作用。但在缺氮(0.5 N)、断氮(0 N)条件下,水稻 NO 净挥发速率也有相似变化规律,对抑制水稻 NO 挥发作用不明显。从试验结果看,高峰期(4 ~ 5 d)水稻平均 NO 净挥发速率达 1.686 μg/(桶·h),5 d 平均(6 个处理平均值)NO 挥发速率为 0.728 μg/(桶·h)。

2.2.2 水稻叶际 NO₂ 的交换特征

水稻叶际 NO₂ 的交换,主要表现为水稻对 NO₂

的净吸收,吸收速率在更换营养液之初(1 ~ 4 d)相对较低(图 2),并呈先升后降的趋势,显示外源氮源对水稻 NO₂ 吸收有先抑(1 ~ 4 d)后促而后逐步消退、趋向平稳的调节作用(图 3)。试验表明不同日期间水稻 NO₂ 的净吸收速率差异不显著 ($P > 0.05$),说明外源氮源对水稻叶际 NO₂ 的交换调节作用相对较弱。

2.3 供氮浓度对水稻叶际 NO_x(NO、NO₂) 交换的影响

2.3.1 供氮浓度对水稻叶际 NO 交换的影响

水稻 NO 净释放速率随供氮浓度增加呈曲线增长趋势,适度提高供氮浓度在一定程度上增强了水稻 NO 挥发。但在缺氮(10 mg/L N)、断氮(0 mg/L N)条件下,水稻 NO 净释放速率未显著下降(图 3),有水稻植株不同供氮浓度处理间水稻 NO 净释放速率差异未达到显著水平 ($P > 0.05$),短期(7 d)脱氮或氮水平下降没有显著抑制水稻 NO 挥发效果。

2.3.2 供氮浓度对水稻叶际 NO₂ 交换的影响

试验结果表明,在 0 ~ 60 mg/L 供 N 范围内,水

稻 NO₂净吸收速率总体上随供氮浓度增加而增加,适度提高供氮水平一定程度上增强了水稻对 NO₂吸收。但 80 mg/L 供 N 浓度处理的水稻 NO₂净吸收速率仅相当于其他供 N 处理(0~60 mg/L)的 18%~33%,对抑制水稻 NO₂吸收有一定作用。

2.4 光暗变化对水稻叶际 NO_x(NO、NO₂)交换的影响

2.4.1 光暗变化对水稻叶际 NO 交换的影响

光控试验中,不断采用气泵置换培养箱内空气。在这种情况下,L1 强光、L2 室内自然光照处理的水稻 NO 平均挥发速率分别达到 2.48、2.84 μg/(桶·h),明显高于相同供 N 浓度(60 mg/L)、基本不置换培养箱空气处理[0.773 μg/(桶·h)]。显然,置换空气具有及时排出聚集在密闭箱空气 NO 的作用,有效提高了水稻 NO 净释放速率。

在严密控光的 L1 处理条件下,6:00-10:00、10:00-14:00 时段光照由弱至强变化,有提高水稻 NO 挥发速率作用;但在 14:00-18:00 光强(13 200 lx)为 6:00-10:00 时段的 2 倍条件下,水稻 NO 挥发速率却明显降低(图 4)。这说明短时间内适度提高白昼光强能有效提高水稻 NO 挥发速率,持续长时间强光照有抑制水稻 NO 挥发作用。在室内自然光暗 L2 处理条件下,6:00-10:00、10:00-14:00、14:00-18:00 时段水稻 NO 净挥发速率依次上升,而暗处理时段(22:00-次日 2:00) L1、L2 处理的水稻 NO 净挥发速率均明显下降。显然,室内长时间持续白昼弱光照增强了水稻 NO 挥发,夜间暗处理有抑制水稻 NO 挥发的作用。

2.4.2 光暗变化对水稻叶际 NO₂交换的影响

L1 处理条件下,更换营养液后的第 2 天,6:00-10:00、10:00-14:00 时段光强有刺激水稻 NO₂挥发效应,同一时段 L2 处理没有类似结果。显然,L1 条件下相对较强的光照是短时期(1~2 d,6:00-14:00)水稻有 NO₂净挥发效应的主要原因。同一天 L1 条件下 14:00-18:00 时段水稻没有 NO₂净挥发效应,暗示强光时间过长也抑制水稻 NO₂挥发。此外,从更换营养液后的第 3 天起,L1、L2 处理均表现水稻 NO₂的净吸收效应,且白昼光照时间延长有增强水稻 NO₂吸收作用。在暗处理时段,L1、L2 处理水稻 NO₂净吸收速率均下降,明显抑制了水稻 NO₂吸收。

在不断置换培养箱空气条件下,L1、L2 处理 5 d 后水稻 NO₂净吸收速率分别为 0.116、0.175 μg/(桶·h),明显高于相同供氮浓度(60 mg/L)、基本不置换培养箱空气处理[0.0472 μg/(桶·h)],说明置换培养箱空气也有增强水稻 NO₂吸收的作用。

3 讨论

3.1 本试验用水稻 NO 挥发特征

植物内源形成 NO 已有可靠实验依据^[14-16],目前已确认植物硝酸还原酶(NR)是催化还原 NO₂⁻形成 NO 的酶^[17]。但 NR 催化亚硝酸盐单电子还原形成 NO 的能力相对较弱^[12],NO 能否从叶面挥发一直存在争议^[18-20]。从目前研究成果看,植物 NO 挥发取决于 NO 补偿点^[9,12,21]。迄今为止,仅在空气 NO 浓度极低(<1.34 μg/m³)的情况下观

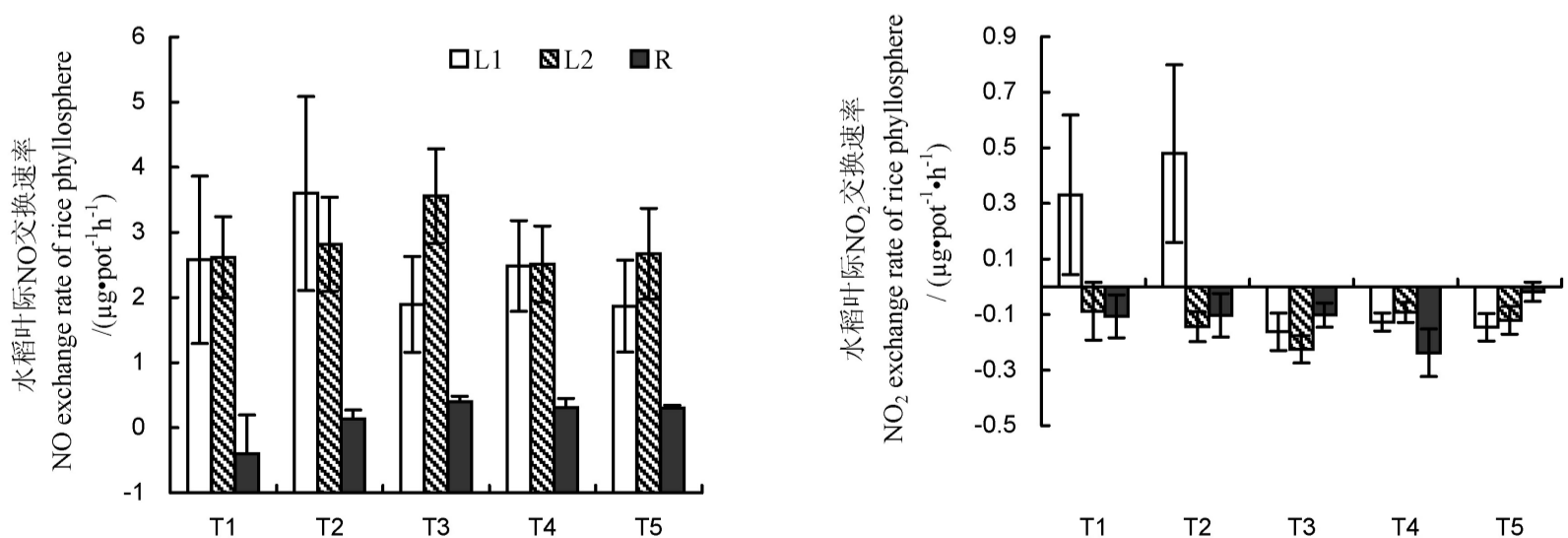


图 4 光暗变化对水稻叶际 NO_x(NO、NO₂)交换速率的影响

Fig. 4. Effects of light density change in different periods at daytime on the rate of NO_x(NO, NO₂) exchange in rice phyllosphere.

L1 - 气候箱严密控光处理; L2 - 室内自然光处理; R - 培养液中只保留水稻根系处理。T1 为 6:00-10:00; T2 为 10:00-14:00; T3 为 14:00-18:00; T4 为 18:00-22:00; T5 为 22:00-2:00。

L1, Light density regulated strictly in a growth chamber; L2, Natural light; R, Rice roots in nutrient solution; T1, 6:00-10:00; T2, 10:00-14:00; T3, 14:00-18:00; T4, 18:00-22:00; T5, 22:00-2:00.

测到部分植物的 NO 净挥发^[10],显示一般植物 NO 补偿点低,挥发困难。本试验在不同光、氮条件下均观测到显著的水稻 NO 净挥发,且在空气 NO 浓度高达 200 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 情况下水稻也能释放 NO,说明试验用水稻品种有超强的 NO 挥发能力。类似结果国内外均鲜见报道,也未能在小麦多个品种及另一水稻品种试验中重复出现(另文发表),暗示本试验用水稻品种有更高的 NO 补偿点,是其有超强 NO 挥发能力的重要原因。

3.2 光、氮和环境空气对水稻 NO 挥发的影响

在水稻根部,根际微生物能将部分氮源转化成 NO_x ^[3],不排除溶在营养液中部分 NO_x 通过蒸腾输送机制从水稻叶面挥发损失。但试验结果表明,即使在脱氮(0N)条件下水稻也有极为显著的 NO 净排放作用($P < 0.01$),且水稻 NO 净排放速率对昼夜光暗反应敏感,而培养液中保留水稻根系处理无相似的结果。这说明绝大部分 NO_x 由水稻植物体内源形成。

NR 是植物体内的 NO 合成酶,也是光诱导酶。本试验表明适度提高光照强度有增强水稻 NO 挥发的作用,夜间长时间暗处理下水稻释放 NO 作用不明显(另文发表)。显然, NR 在 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 的还原以及催化 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 还原形成 NO 过程中起到了关键性作用。NR 酶催化反应除需要氮源底物外,也需要植物光反应提供碳源(酶合成碳架)和能量^[22],故植物 NO 挥发,实际上是植物光氮协同作用的结果。在控光条件下,10:00 - 14:00 的高光强有增强水稻 NO 挥发作用,显示光诱导 NR 活性的增强,有利于水稻内源 NO 形成和挥发。同时,6:00 - 10:00、10:00 - 14:00 时段良好的 NR 酶催化反应消耗相对多的氮源,影响 NR 酶催化反应底物(NO_3^- 、 NO_2^-)积累,反而不利于水稻 NO 挥发(图 4)。在暗处理下,碳源、能量供应不足, NR 催化还原 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 内源形成 NO 作用受阻,水稻 NO 净挥发速率明显下降。本试验表明置换培养箱空气有利于水稻的 NO 挥发,这说明水稻 NO 挥发仍然受补偿点的调节,置换空气具有及时排出聚集在密闭箱空气 NO 的作用,对促进水稻 NO 挥发有显著效果。

提高培养液 NO_3^- 浓度可显著提高 NR 活性^[23],NR 活性提高的直接结果是 NO_2^- 的积累,有利于形成内源 NO^[24]。更换营养液之初,观测期(5 d)不同氮浓度处理的水稻 NO 净挥发速率均先升后降,提高供氮水平总体上增强了水稻 NO 挥发,说明施肥在短时间内氮源供应增加,对促进水稻

NO 挥发有明显效果。但硝酸还原酶中,大约 1% 活性可利用 NADH 作为还原剂进一步将 NO_2^- 还原为 NO^[17]。试验发现短期内(7 d)缺氮、断氮没有显著抑制水稻 NO 挥发效果,说明期间缺氮、断氮对这部分 NR 活性影响有限。此外,缺氮、断氮处理的水稻 NO 净挥发速率也呈先升后降趋势,这可能与植物通过 NR、亚硝酸还原酶协同促进 NO_3^- 还原来补充 NH_4^+ 的作用有关。

3.3 光、氮和环境空气对水稻叶际 NO_2 交换的影响

NR 酶催化反应对植物叶际 NO_2 交换也有明显影响^[25]。L1 处理有良好的光照条件,营养液更换之初的氮源供应相对充足。供氮后 1~2 d 严密控光处理 6:00 - 10:00、10:00 - 14:00 时段强光有刺激水稻 NO_2 净挥发效应,这明显与供肥之初严密控光处理良好光氮条件有关。弱光条件下 NR 酶催化反应受阻,不利于 NO_2 的内源形成,故室内自然光处理条件下白昼弱光时间延长有促进水稻 NO_2 吸收作用。在暗处理条件下, NR 酶催化反应受阻,但由于氮同化同样困难,对抑制水稻 NO_2 吸收也有一定作用。

在 0~60 mg/L 供 N 范围内,提高供氮浓度有同步增强水稻 NO_2 吸收和 NO 挥发作用。显然,弱光下水稻碳源、能量供应不足,而能量可能被较多地分配到 NO 内源形成的 NR 酶催化反应,反馈抑制了水稻 NO_2 的内源形成。试验用水稻有超强的 NO 净挥发能力,说明 NO 内源形成的 NR 酶催化反应更易获取碳源、能量是必然的。但氮源足够高条件下,水稻有抑制 NO_2 吸收的作用(如供 N 80 mg/L 处理),显示超高供氮浓度对内源 NO_2 形成有一定作用。此外,不置换培养箱空气条件下,水稻吸收 NO_2 会降低培养箱空气 NO_2 浓度,因而反馈抑制了水稻 NO_2 吸收。

参考文献:

- [1] Takahashi S, Yagi A. Losses of fertilizer derived N from transplanted rice after heading. *Plant & Soil*, 2002, 242: 245-250.
- [2] 黄见良, 邹应斌, 彭少兵, 等. 水稻对氮素的吸收、分配及其在组织中的挥发损失. *植物营养与肥料学报*, 2004, 10(6): 579-583.
- [3] Ni W Z, Zhu Z L. Evidence of N_2O emission and gaseous nitrogen losses through nitrification denitrification induced by rice plants (*Oryza sativa* L.). *Biol Fert Soils*, 2004, 40: 211-214.

- [4] 吴小庆, 徐阳春, 沈其荣, 等. 不同氮肥利用效率水稻品种开花后地上部分氨挥发研究. *中国水稻科学*, 2006, 20(4): 429-433.
- [5] Ashraf M, Shamsi S R A, Sajjad M I, et al. Nitrogen losses from tops of three rice varieties grown in nutrient culture solution. *Pakistan J Bot*, 1997, 29: 319-322.
- [6] Chen N C, Inanaga S. Nitrogen losses in relation to rice varieties, growth stages, and nitrogen forms determined with the ¹⁵N technique// Hatch D J, Chadwick D R, Jarvis S C, et al. Controlling Nitrogen Flows and Losses. New Haven: Wageningen Academic Publishers, 2004: 496-497.
- [7] Tian G, Cai Z, Cao J, et al. Factors affecting ammonia volatilization from a rice wheat rotation system. *Chemosphere*. 2001, 42(2): 123-129.
- [8] Chen N C, Yoshitome Y, Inanaga S. Release of nitrogenous compounds from wheat leaves// Li C J, Zhang F S, Dobermann A, et al. Plant Nutrition for Food Security, Human Health and Environmental Protection. Beijing: Tsinghua University Press, 2005: 192-193.
- [9] Teklemariam T A, Sparks J P. Leaf fluxes of NO and NO₂ in four herbaceous plant species: The role of ascorbic acid. *Atmos Environ*, 2006, 40(12): 2235-2244.
- [10] Wildt J, Kley D, Rockel A, et al. Emission of NO from several higher plant species. *J Geophys Res*, 1997, 102(D5): 5919-5927.
- [11] Desikan R, Griffiths R, Hancock J, et al. A new role for an old enzyme: Nitrate reductase mediated nitric oxide generation is required for abscisic acid induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(25): 16314-16318.
- [12] Weber P, Rennenberg H. Dependency of nitrogen dioxide (NO₂) fluxes to wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves on NO₂ concentration, light intensity, temperature and relative humidity determined from controlled dynamic chamber experiments. *Atmos Environ*, 1996, 30(17): 3001-3009.
- [13] 上海植物生理学会. 植物生理学实验手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 526-533.
- [14] Dean J V, Harper J E. Nitric oxide and nitrous oxide production by soybean and winged bean during *in vivo* nitrate reductase assay. *Plant Physiol*, 1986, 82(3): 718-723.
- [15] Klepper L A. Nitric oxide emissions from soybean leaves during *in vivo* nitrate reductase assays. *Plant Physiol*, 1987, 85(1): 96-99.
- [16] Harper J E. Evolution of nitrogen oxide(s) during *in vivo* nitrate reductase assay of soybean leaves. *Plant Physiol*, 1981, 68: 1488-1493.
- [17] Yamasaki H, Sakihama Y, Takahashi S. An alternative pathway for nitric oxide production in plants: New features of an old enzyme. *Trends Plant Sci*, 1999, 4(4): 128-129.
- [18] Rockel P, Strube F, Rockel A, et al. Regulation of nitric oxide (NO) production by plant nitrate reductase *in vivo* and *in vitro*. *J Exp Bot*, 2002, 53(366): 103-110.
- [19] Hooker M L, Sander D H, Peterson G A, et al. Gaseous N losses from winter wheat. *Agron J*, 1980, 72: 789-792.
- [20] Planchet E, Gupta K J, Sonoda M, et al. Nitric oxide emission from tobacco leaves and cell suspensions: Rate limiting factors and evidence for the involvement of mitochondrial electron transport. *Plant J*, 2005, 41: 732-743.
- [21] Herold D P, Monson R K. Nitrogen oxide fluxes between corn (*Zea mays* L.) leaves and the atmosphere. *Atmos Environ*, 2001, 35: 975-983.
- [22] Chen G Y, Yong Z H, Liao Y, et al. Photosynthetic acclimation in rice leaves to free air CO₂ enrichment related to both ribulose 1, 5 biphosphate carboxylation limitation and ribulose 1, 5 biphosphate regeneration limitation. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46(7): 1036-1045.
- [23] 张绪成, 上官周平. 施氮量对小麦叶片硝酸还原酶活性、一氧化氮含量和气体交换的影响. *应用生态学报*, 2007, 18(7): 1447-1455.
- [24] Corpas F J, Barroso J B, Carreras A, et al. Cellular and subcellular localization of endogenous nitric oxide in young and senescent pea plants. *Plant Physiol*, 2004, 136(1): 2722-2733.
- [25] Thoene B, Schroder P, Papen H, et al. Absorption of atmospheric NO₂ by spruce (*Picea abies* L. Karst.) trees: . NO₂ influx and its correlation with nitrate reduction. *New Phytol*, 1991, 117(4): 575-585.