

不同氮高效玉米品种对氮素的吸收转运和代谢研究

王健¹ 韩金玲¹ 杨敏¹ 姚丹丹¹ 周印富¹ 王文颇¹
吴振兴^{2,*} 杨晴^{1,*}

(¹河北科技师范学院农学与生物科技学院,河北 秦皇岛 066600; ²浙江省农业科学院玉米与特色旱粮研究所,浙江 金华 322100)

摘要:为研究不同氮高效型品种的氮素代谢调控机制,本试验以高氮高效型玉米品种先玉 335 和低氮高效型玉米品种京农科 728 为试材,设置 5 个施氮水平 120、180、240、300、360 kg·hm⁻²,以本地大田生产施氮量 360 kg·hm⁻²为对照(NCK),探讨不同基因型玉米植株氮素转运、氮代谢关键酶活性和关键酶基因表达对减施氮肥的响应特征。结果表明,当施氮量为 240~300 kg·hm⁻²时,先玉 335 各生育时期氮含量较高,平均产量达到较高水平;当施氮量为 180~240 kg·hm⁻²时,京农科 728 各生育时期氮含量较高,平均产量达到较高水平。在低氮条件下,相较于先玉 335,京农科 728 的硝酸还原酶(NR)、亚硝酸盐还原酶(NiR)、谷氨酰胺合成酶(GS)、谷氨酸合成酶(GOGAT)、天冬酰胺合成酶(AS)均可保持较高的活性。相较于拔节期,京农科 728 在大喇叭口期的 NR 基因相对表达量显著上调;大喇叭口至灌浆期,两品种的 GOGAT1 和 GOGAT2 基因均显著上调;抽雄吐丝和灌浆期,京农科 728 中的 GS1-3 基因相对表达量显著上调;灌浆期,先玉 335 的 GS1-3 基因表达量显著上调。相较于拔节期,在其他生育期,两品种的 GS1-4 基因相对表达量均显著下调。相较于拔节期,京农科 728 在灌浆期的 AS1 和 AS3 基因相对表达量显著上调。相较于其他各生育时期,先玉 335 在拔节期的 AS1 基因显著上调。本研究结果证明了氮代谢关键酶基因对不同氮高效型品种的氮素吸收调控存在显著差异。本研究为了解不同氮高效型品种的氮素吸收调控特征提供了理论依据。

关键词:玉米;氮代谢酶;基因表达量;氮素积累

DOI:10.11869/j.issn.100-8551.2020.12.2800

氮是植物生长发育所必需的营养元素^[1]。氮肥作为农业生产中重要的外源投入品为作物增产增收做出了巨大贡献。然而,由于土壤淋溶、微生物消耗和反硝化作用等原因导致氮肥利用率显著下降^[2-3]。据报道,中国的氮肥利用率平均约为 30%,西方发达国家平均约为 50%~60%^[4]。流失的氮肥会对周围的生态系统造成严重破坏,最终影响人类健康^[5]。玉米的籽粒产量形成以及籽粒蛋白质含量与氮肥的合理施用及氮代谢调控过程紧密相关^[6-7]。因此,合理利用氮肥是实现玉米绿色高效丰产的重要举措。

玉米籽粒氮素大部分来自营养器官中氮素的花后再转运^[8]。研究表明,玉米吐丝后氮素向籽粒的转运

量显著增加,同时,生育后期的氮素转运量直接决定着玉米的氮素利用效率和收获指数^[9]。不同玉米品种吐丝前后的氮素同化能力存在较大差异,这种差异表现在不同品种对氮素的吸收、利用、转运和再分配上^[10-11]。晁晓乐等^[12]研究表明,随着施氮量的增加,低氮高效型玉米品种潞玉 19 的氮肥利用效率呈降低趋势。Yan 等^[13]研究表明,相较于掖单 13,先玉 335 在吐丝后的干物质生产能力更强,秸秆氮素转移效率更高,因此籽粒拥有更高的氮含量。屈佳伟等^[14]研究表明,在低氮或适量施氮条件下,相较于氮低效品种内单 314,氮高效品种郑单 958 表现出较高的氮素吸收效率。可见,不同基因型品种的氮素利用效率存在较

收稿日期:2020-02-06 接受日期:2020-05-08

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFD0300506)

作者简介:王健,男,讲师,主要从事作物栽培生理研究。E-mail:wangjian1989@live.cn

* 通讯作者:吴振兴,男,助理研究员,主要从事作物栽培生理研究。E-mail:wuzhenxing.1991@163.com;

杨晴,女,教授,主要从事作物栽培生理研究。E-mail:yangqingxy@163.com。同为通讯作者。

大差异。针对不同玉米品种的氮素积累、转运及氮素利用率,前人已从品种、基因型、遗传特性等方面进行了大量报道^[15-16]。但有关不同氮高效型品种的氮素吸收及转运机制鲜有报道。本研究拟以低氮高效型玉米品种京农科 728 和高氮高效型玉米品种先玉 335 为试材,采取大田试验和温室盆栽试验,设置不同的施氮水平,并以冀东地区生产施肥量为对照,探讨减氮条件下玉米植株的氮素吸收转运效率、氮素同化途径关键酶活性和基因表达量在不同生育时期的演变特征,解析不同氮素需求品种氮肥高效利用的生理调控机制及遗传特征,为全力推进化肥减量增效及高效氮利用玉米品种的栽培与选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与试验地概况

试验于 2018—2019 年在河北科技师范学院昌黎试验站(40°40'N,118°95'E)进行。该区位于河北省东部,属于暖温带、半湿润大陆性气候,年均降水量为 638.33 mm,年平均气温 11℃,无霜期为 186 d。试验地土壤类型为中壤土。2018 年土壤理化性质为 pH 值 7.78,含有机质 21.54 g·kg⁻¹、全氮 1.51 g·kg⁻¹、碱解氮 134.67 mg·kg⁻¹、速效磷 10.58 mg·kg⁻¹、速效钾 85.02 mg·kg⁻¹;2019 年土壤理化性质为 pH 值 7.73,含有机质 19.08 g·kg⁻¹、全氮 1.68 g·kg⁻¹、碱解氮 102.35 mg·kg⁻¹、速效磷 23.59 mg·kg⁻¹、速效钾 74.10 mg·kg⁻¹。试验材料选取低氮高效型玉米品种京农科 728 和高氮高效型玉米品种先玉 335,购自唐山集强农业科技有限公司,不同氮高效型玉米品种的选取参考周培禄等^[17]和王荣焕等^[18]的研究结果。

1.2 试验设计

1.2.1 田间试验 于 2018—2019 年在河北科技师范学院昌黎试验站进行氮肥试验。设置 5 个处理,NCK(360 kg·hm⁻²,本地生产施氮量)、N1(120 kg·hm⁻²,较 NCK 减氮 66.66%)、N2(180 kg·hm⁻²,较 NCK 减氮 50.00%)、N3(240 kg·hm⁻²,较 NCK 减氮 33.33%)、N4(300 kg·hm⁻²,较 NCK 减氮 16.66%)。氮肥以尿素控制,同时配施过磷酸钙(120 kg·hm⁻²)和氯化钾(45 kg·hm⁻²),肥料均以基肥方式施入。试验采用完全随机区组设计,3 次重复。均采用井水灌溉以防止灌溉水中养分可能带来的干扰,其他同高产栽培管理,严格防治病虫害。玉米成熟采收后,分小区单收、单晒、单称,计算各小区产量。利用大田试验进行氮素含量和氮素代谢相关酶活性的测定。

1.2.2 温室盆栽试验 于 2019 年在河北科技师范学院昌黎试验场玻璃温室进行盆栽试验。试验处理设置与田间试验相同,每个施氮量处理种植 10 盆,其中装盆土壤取自昌黎试验站,为田间试验经过施肥处理的 0~25 cm 土层土壤装盆,土壤类型为中壤土,每盆土壤 15 kg,分别于拔节期取第 6 片叶,大喇叭口期取第 8 片叶,抽雄吐丝期和灌浆期均取第 12 片叶,用液氮速冻,置于-80℃冰箱,用于基因表达量的测定。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 氮素含量测定 于玉米主要生育期进行群体动态调查和取样,每小区连续选取 3 株具有代表性的植株,拔节期、大喇叭口期按茎秆、叶片和叶鞘 3 部分取样,抽雄吐丝期按茎秆、叶片、叶鞘、雄穗和雌穗 5 部分取样,灌浆期和成熟期按茎秆、叶片、叶鞘、雄穗、苞叶、穗轴和籽粒 7 部分取样。然后于 105℃杀青 30 min,80℃烘干至恒重。采用凯氏定氮法^[19]测定玉米植株全氮含量。根据公式计算茎秆、叶片氮转运效率和茎秆、叶片氮转运对籽粒氮的贡献率:

$$\text{茎秆氮转运效率} = (\text{吐丝期茎秆氮含量} - \text{成熟期茎秆氮含量}) / \text{吐丝期茎秆氮含量} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{叶片氮转运效率} = (\text{吐丝期叶片氮含量} - \text{成熟期叶片氮含量}) / \text{吐丝期叶片氮含量} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{茎秆氮转运对籽粒氮的贡献率} = (\text{吐丝期茎秆氮含量} - \text{成熟期茎秆氮含量}) / \text{成熟期籽粒氮含量} \times 100\% \quad (3)$$

$$\text{叶片氮转运对籽粒氮的贡献率} = (\text{吐丝期叶片氮含量} - \text{成熟期叶片氮含量}) / \text{成熟期籽粒氮含量} \times 100\% \quad (4)$$

1.3.2 酶活性测定 分别于玉米拔节期、大喇叭口期、抽雄吐丝期、灌浆期和成熟期取玉米叶片鲜样测定氮代谢相关酶活性。根据杨新泉等^[20]的方法测定谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase,GS)活性;根据赵世杰等^[21]的方法测定硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)活性;根据 Ozawa 等^[23]的方法测定亚硝酸盐还原酶(nitrite reductase, NiR)活性;根据 Górný 等^[23]的方法测定谷氨酸合成酶(glutamate synthase, GOGAT)活性;根据王佳^[24]的方法测定天冬酰胺合成酶(asparagine synthetase, AS)活性。

1.3.3 基因表达量测定 氮代谢相关酶基因序列通过 GeneBank、www.maizegdb.org 和 www.ncbi.nlm.nih.gov/获得。根据数据库中的基因序列利用 Primer Premier 5 设计基因引物,在 NCBI 上进行引物序列比对,保证其专一性,内参基因为 *GADPH*(详见表 1)。采用 *Taq* SYBR[®] Green qPCR 试剂盒(TaKaRa,日本)

进行实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR)。反应体系为:10 μ L SYBR、0.8 μ L 上游引物、0.8 μ L 下游引物、0.4 μ L ROX Reference Dye、6 μ L 灭菌水,将反应体系混匀后加入 2 μ L 稀释 10 倍的

cDNA 模板。反应程序为 95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s;95 $^{\circ}$ C 变性 5 s,60 $^{\circ}$ C 扩增 30 s,循环 40 次。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目标基因相对表达量。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

基因名称 Gene names	序列登录号 Serial number	引物 Primer	产物片段大小 Product fragment size/bp
NR	GRMZM5G878558	TGGGAGACAGCGAGACCATT AAGATTCAAGGCACCACAGA	191
GS2	GRMZM2G098290	CCCAAAGGTCGCTGAACAAG GTCGGCTCCTACGGCACAGT	145
GS1-3	GRMZM5G872068	CTGCCCAAGTGGAACTACGA CTCCTGCTCAATACCATAACC	246
GS1-4	GRMZM2G036464	CCAATTCCCACCAACAAGAG GCCGATTCCACAGTAGTAAG	186
GOGAT1	GRMZM2G085078	AGTTTCACTCAAGTTTCTCC CGTGCTGTCATCCTGTGATA	262
GOGAT2	GRMZM2G375064	TGCCCCACGATGATGACCGA CGCTGCTTTGCCCAAGTCCG	228
AS1	GRMZM2G074589	AATCAGAGCAAGTACCCCAATG CCTCAACACCCCGAGCAGAA	230
AS2	GRMZM2G093175	GGAAGGATTGAGAAGTGGGTG TTGGTGGTCGGAGTGTGTG	215
AS3	GRMZM2G053669	ACGGATGAGATGATGAACAACG CCGAGTCTGAGGGAAGAGC	113
GADPH	GRMZM2G046804	TGGGCCTACTGGTCTTACTACTGA ACATACCCACGCTTCAGATCCT	135

1.4 数据处理与分析

采用 Microsoft Excel 2007 进行数据整理,采用 (SPSS) 12.0 软件进行 SP 的 Duncan's 新复极差法进行差异显著性分析,采用 SigmaPlot 12.5 进行作图。

2 结果与分析

2.1 施氮量对玉米氮素利用的影响

2.1.1 施氮量对玉米氮素积累的影响 由表 2 可知,两品种氮素积累量均随着生育期的推进呈增加趋势。高氮高效型品种先玉 335 氮素积累量在拔节至抽雄吐丝期呈快速上升趋势,随后缓慢增长,灌浆至成熟期又快速增长;低氮高效型品种京农科 728 的氮素积累量在拔节至大喇叭口期快速增长,随后缓慢增长,灌浆至成熟期又快速增长。

高氮高效型品种先玉 335 在各生育时期氮素积累量对施氮量的响应规律存在差异(表 2)。拔节期、大喇叭口期和抽雄吐丝期,随着施氮量的增加,先玉 335 的氮素积累量呈先增加后下降的趋势,其中,在拔节

期,N3 的氮素积累量最高;在大喇叭口期,N4 的氮素积累量最高;在抽雄吐丝期,N2 的氮素积累量最高,较 NCK 提高 37.81%,且差异达到显著水平。灌浆期和成熟期,随着施氮量的增加,先玉 335 的氮素积累量呈双峰曲线,其中,在灌浆期,N4 的氮素积累量最高,但各处理间差异未达到显著水平;在成熟期,N4 的氮素积累量最高,较 NCK 显著提高 54.87%。随着施氮量的增加,除灌浆期以外,各生育期的氮素积累量大致呈先升高后降低的趋势,其中,在成熟期,N2 的氮素积累量最高,且显著高于 NCK;在抽雄吐丝期和灌浆期,N3 氮素积累量最高,但均与 N2 差异不显著。

2.1.2 成熟期玉米不同器官氮素分配 由图 1 可知,成熟期,不同施氮量下,两品种各器官氮素积累量分配规律大致表现为籽粒>叶片>茎秆>穗轴>叶鞘>苞叶>雄穗,其中籽粒为氮素积累的主要器官,高氮高效型品种先玉 335 中籽粒氮素积累占全株氮素积累量的 64.31%~71.09%,低氮高效型品种京农科 728 中籽粒氮素积累占全株氮素积累量的 67.47%~73.17%。

表 2 施氮量对玉米不同生育时期氮素积累的影响

Table 2		Effects of nitrogen application on nitrogen accumulation in different growth stages of maize					/($\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$)
品种 Variety	处理 Treatment	拔节期 Elongation stage	大喇叭口期 Flare opening stage	抽雄吐丝期 Tasseling stage	灌浆期 Filling stage	成熟期 Maturity stage	
先玉 335 Xianyu 335	N1 ($120 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$)	16.09±4.66b	51.89±4.81ab	99.74±6.68bc	143.56±25.91a	228.43±34a	
	N2 ($180 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$)	23.4±5.15ab	52.48±3.04ab	132.72±0.45a	151.41±17.67a	228.53±33.72a	
	N3 ($240 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$)	26.86±2.07a	53.03±9.99ab	118.36±3.95abc	145.31±21.10a	222.59±4.68a	
	N4 ($300 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$)	19.53±2.30ab	59.27±15.97a	120.03±15.66ab	156.80±12.56a	259.62±22.09a	
	NCK ($360 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$)	15.15±6.04b	39.09±4.27b	96.30±15.73c	134.48±23.78a	167.63±25.38b	
京农科 728 Jingnongke 728	N1	19.75±3.46b	87.85±2.88a	106.49±4.62b	108.62±10.76b	161.43±8.41b	
	N2	29.22±3.13a	92.53±18a	124.05±20.74ab	115.99±1.71ab	246.62±30.71a	
	N3	25.38±1.77a	95.21±6.89a	136.51±19.08a	138.82±21.41a	222.48±45.67a	
	N4	27.20±1.31a	101.39±8.36a	101.52±9.75b	113.32±15.58b	194.44±8.69ab	
	NCK	25.63±2.79a	85.25±6.83a	103.04±7.64b	131.14±1.06ab	159.10±12.32b	

注:同列不同小写字母表示同一品种处理间差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level among treatments of the same variety. The same as following.

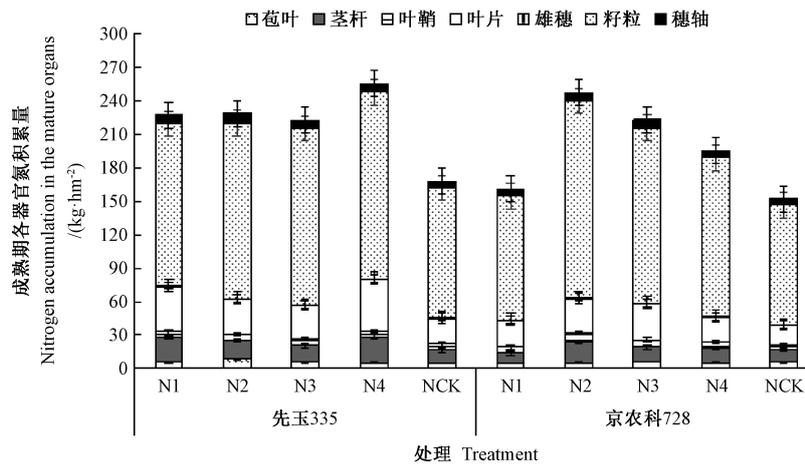


图 1 施氮量对玉米成熟期各器官氮素积累的影响

Fig.1 Effects of nitrogen application rate on nitrogen accumulation in maize organs at maturity stage

在高氮高效型品种先玉 335 中,与 NCK 相比,N4 显著增加茎秆、叶片和籽粒的氮素积累量($P<0.05$); N3 显著增加叶鞘和雄穗的氮素积累量($P<0.05$)。在低氮高效型品种京农科 728 中,与 NCK 相比,N2 显著增加茎秆、叶鞘、雄穗和籽粒的氮素积累量($P<0.05$); 叶片、苞叶和穗轴的氮素积累量在 N3 达到最大值,且与 NCK 差异显著($P<0.05$)。综上可知,高氮高效型品种先玉 335 各器官氮素积累量在 $240\sim 300 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ ($N_3\sim N_4$) 施氮量之间达到较高水平,低氮高效型品种京农科 728 各器官氮素积累量在 $180\sim 240 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ ($N_2\sim N_3$) 施氮量之间达到较高水平。

2.1.3 施氮量对玉米氮转运效率以及氮转运对籽粒贡献率的影响 养分的转运量和转运效率是表征营养

体养分向籽粒转移量的重要指标。由表 3 可知,随着施氮量的增加,先玉 335 茎秆的氮转运效率呈先升高后降低的趋势,在 N4 达到最大值,且显著高于其他各处理;叶片的氮转运效率总体呈上升的趋势,在 NCK 达到最大值,但与 N3、N4 差异未达到显著水平。随着施氮量的增加,京农科 728 茎秆的氮转运效率呈先降低后升高的趋势,在 N3 达到最小值,且与 N1 差异达到显著水平;叶片的氮转运效率呈先降低后升高的趋势,在 N2 达到最小值,与 NCK 差异达到显著水平。结果表明,低氮高效型品种京农科 728 茎秆、叶片的氮转运效率明显高于高氮高效型品种先玉 335。

随着施氮量的增加,先玉 335 茎秆氮转运对籽粒的贡献率呈先升高后降低的趋势,N4 茎秆氮转运对籽

粒的贡献率显著高于 NCK;叶片氮转运对籽粒的贡献率总体呈升高的趋势,在 NCK 达到最大值,但与 N3、N4 差异未达到显著水平。随着施氮量的增加,京农科 728 茎秆、叶片氮转运对籽粒的贡献率均呈先降低后

升高的趋势。结果表明,低氮高效型品种京农科 728 叶片氮转运对籽粒的贡献率明显高于高氮高效型品种先玉 335。

表 3 施氮量对玉米氮转运效率和氮转运对籽粒贡献率的影响

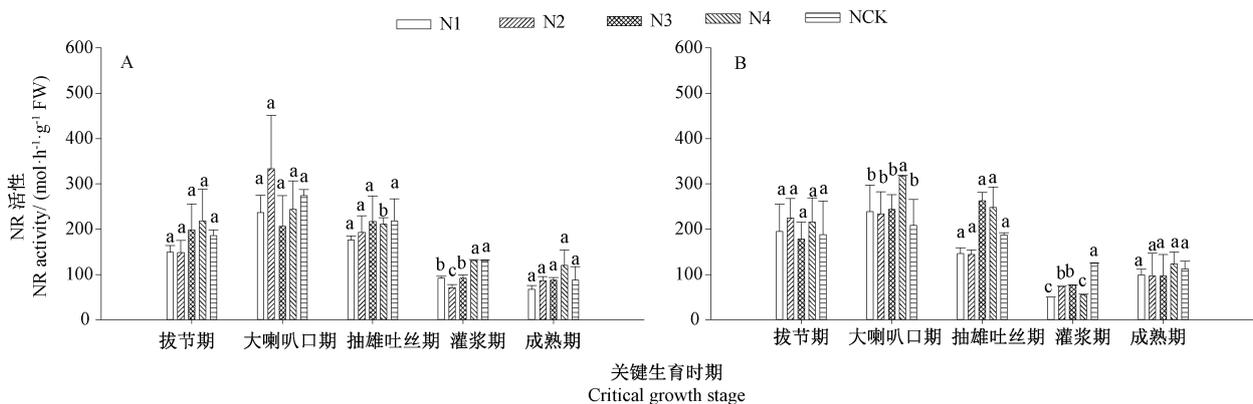
Table 3 Effects of nitrogen application rate on nitrogen transport efficiency and nitrogen transport rate on maize grain /%

品种 Variety	处理 Treatment	氮转运效率 Nitrogen transport efficiency		氮转运对籽粒的贡献率 Nitrogen transport contribution rate to grain	
		茎秆 Stem	叶片 Leaf	茎秆 Stem	叶片 Leaf
		先玉 335 Xianyu 335	N1	24.94±8.47c	40.34±7.79bc
	N2	23.64±4.95c	38.64±7.74c	21.61±1.43c	28.53±1.51bc
	N3	37.14±6.71bc	47.62±7.86ab	25.48±1.48b	37.51±4.39ab
	N4	54.97±5.31a	46.47±5.78ab	31.60±2.26a	37.45±5.78ab
	NCK	41.32±5.98b	51.56±8.49a	26.86±0.33b	40.96±4.67a
京农科 728 Jingnongke 728	N1	56.85±5.82a	50.36±5.77ab	33.22±2.51a	40.89±7.29ab
	N2	47.36±12.90ab	47.70±2.62b	26.84±4.95b	38.10±0.01b
	N3	42.57±4.49b	49.67±5.49b	21.85±1.55b	38.14±1.96b
	N4	45.41±4.90ab	54.40±2.96ab	22.49±2.25b	45.94±7.27ab
	NCK	45.92±6.89ab	57.05±2.16a	23.02±2.49b	50.49±1.04a

2.2 氮代谢相关酶活性的测定

2.2.1 硝酸还原酶(NR) 由图 2 可知,同一施氮水平下,随着生育期的推移,高氮高效型品种先玉 335 和低氮高效型品种京农科 728 的 NR 活性均呈单峰曲线变化,并在大喇叭口期达到最大值,随后开始下降。对同一时期不同施氮量的 NR 活性进行比较,京农科 728 在生育前期不同氮处理间的 NR 活性无显著差异;至灌浆期, N4、NCK 的 NR 活性分别较 N2 显著提高

85.55%和 84.87%。而先玉 335 在拔节期不同氮处理间的 NR 活性差异不显著,随着生育期的推移,差异逐渐增大;大喇叭口期, N4 的 NR 活性显著高于其他施氮处理;抽雄吐丝期, N3 和 N4 的 NR 活性显著高于 NCK。对不同氮高效型品种间叶片的 NR 活性进行比较,总体而言,在中低氮水平(N1、N2)下,低氮高效型品种京农科 728 的 NR 活性明显高于高氮高效型品种先玉 335,在高氮水平(N3、N4)下,先玉 335 的 NR 活



注: A: 京农科 728; B: 先玉 335, 不同小写字母表示同一时期不同处理间差异显著 (P < 0.05)。下同。

Note: A: Jingnongke 728. B: Xianyu 335. Different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments at the same. The same as following.

图 2 施氮量对玉米硝酸还原酶的影响

Fig.2 Effects of nitrogen application on nitrate reductase in maize

性明显高于京农科 728。

2.2.2 亚硝酸盐还原酶(NiR) 由图 3 可知,同一施氮水平下,随着生育期的推移,高氮高效型品种先玉 335 和低氮高效型品种京农科 728 的 NiR 活性均呈先双峰曲线的趋势,两品种 NiR 活性均在大喇叭口期达到最大值。对同一时期不同氮处理的 NiR 活性进行比较,京农科 728 的 NiR 活性在生育后期表现出较大差异,抽雄吐丝期、灌浆期和成熟期,N2 的 NiR 活性显

著高于 NCK。先玉 335 在生育前期不同氮处理间的 NiR 活性无显著差异;至抽雄吐丝期,N4 的 NiR 较 NCK 显著提高 46.32%。对两品种间叶片的 NiR 活性进行比较,中低氮水平(N1、N2)下,低氮高效型品种京农科 728 的平均 NiR 活性明显高于高氮高效型品种先玉 335;高氮水平(N3、N4)下,先玉 335 的 NiR 平均活性明显高于京农科 728。

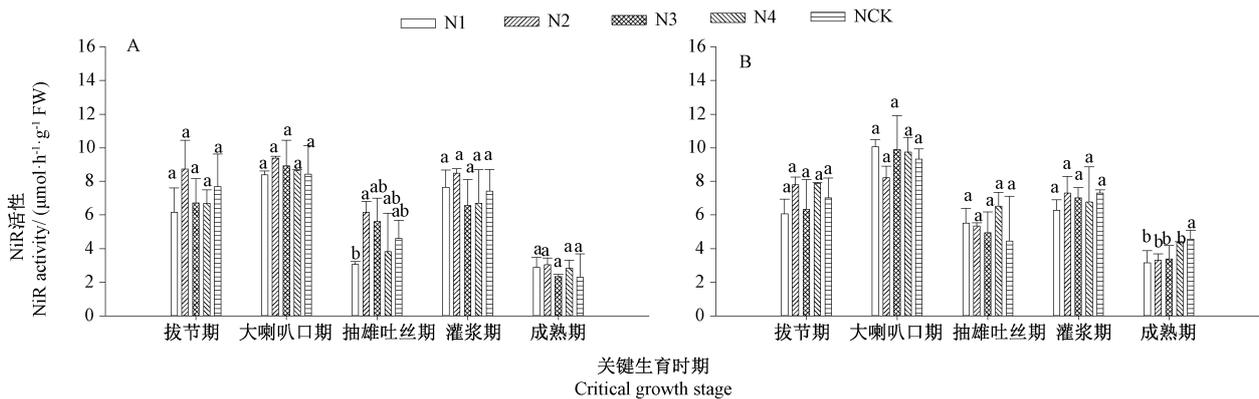


图 3 施氮量对玉米亚硝酸还原酶的影响

Fig.3 Effects of nitrogen application on nitrite reductase in maize

2.2.3 谷氨酰胺合成酶(GS) 由图 4 可知,同一施氮水平下,不同氮高效型玉米品种的 GS 活性表现各异。随着生育期的推移,低氮高效型品种京农科 728 的 GS 活性呈下降趋势;高氮高效型品种先玉 335 的 GS 活性呈先升高后降低的趋势。施氮量对京农科 728 不同生育时期 GS 活性的调控存在较大差异,在拔节期,N2 的 GS 活性显著高于 NCK;在大喇叭口期,N3 的 GS 活性显著高于其他施氮处理;在抽雄吐丝期,NCK 的 GS 活性最高,且显著高于其他施氮处理;在灌浆期和成熟期,N4 的 GS 活性显著高于 NCK。随着施

氮量的增加,先玉 335 的 GS 活性在各生育时期总体呈先升高后降低的趋势;在拔节期,N2 的 GS 活性显著高于其他施氮处理;在大喇叭口期、灌浆期和成熟期,N3 的 GS 活性显著高于其他施氮处理;在抽雄吐丝期,NCK 的 GS 活性最高,但与 N3 差异未达显著水平。

2.2.4 谷氨酸合成酶(GOGAT) 由图 5 可知,施氮量对京农科 728 不同生育时期 GOGAT 活性的调控存在较大差异,在拔节期,N2 的 GOGAT 活性显著高于其他施氮处理;在大喇叭口期,N4 的 GOGAT 活性显

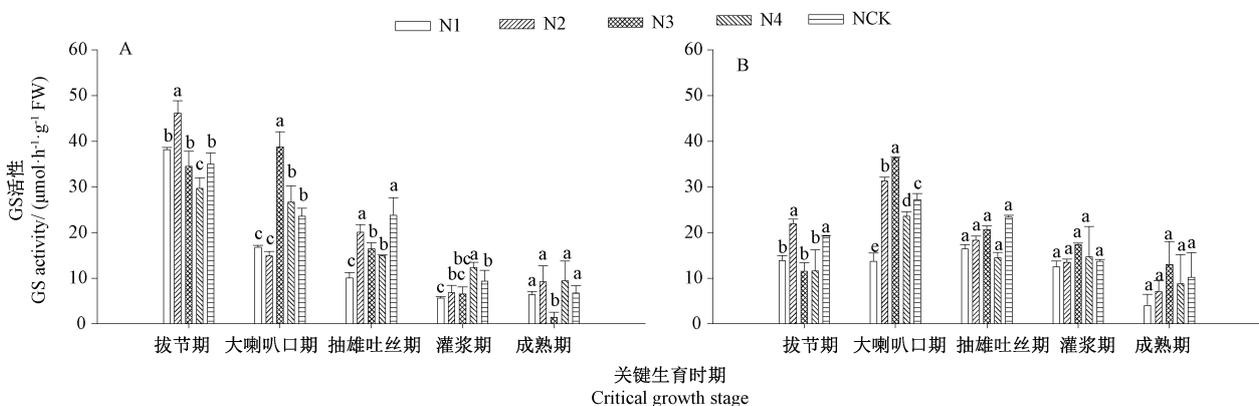


图 4 施氮量对玉米谷氨酰胺合成酶的影响

Fig.4 Effects of nitrogen application on glutamine synthetase in maize

著高于 N1; 在抽雄吐丝期, N1 的 GOGAT 活性显著高于其他施氮处理; 在灌浆期, N4 的 GOGAT 活性显著高于其他施氮处理; 在成熟期, N2 的 GOGAT 活性显著高于其他施氮处理。随着施氮量的增加, 高氮高效

型品种先玉 335 的 GOGAT 活性在各生育时期大致呈先升高后降低的趋势。在拔节期、抽雄吐丝期和灌浆期, N3 的 GOGAT 活性均最高, 分别较 NCK 显著提高 31.39%、82.63% 和 87.53%。

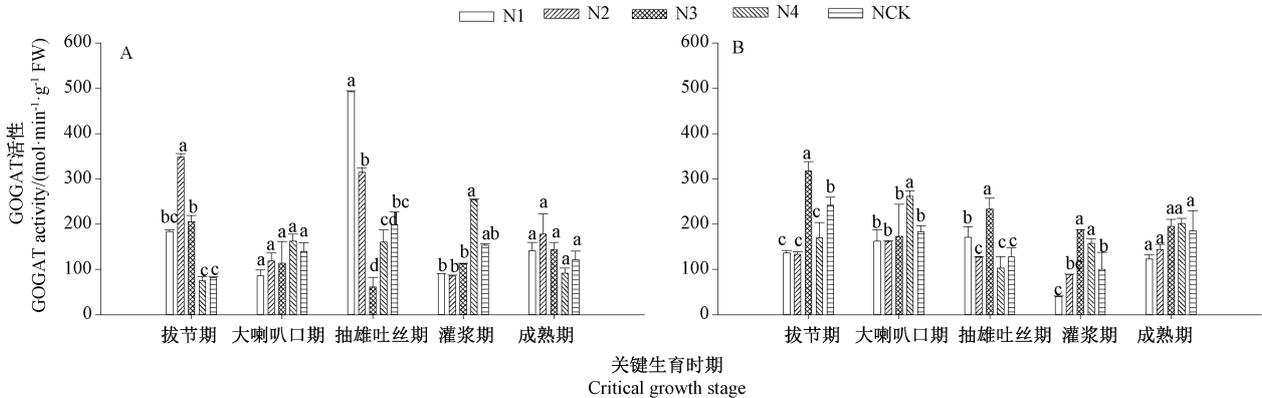


图 5 施氮量对玉米谷氨酸合成酶的影响

Fig.5 Effects of nitrogen application on glutamate synthase in maize

2.2.5 天冬酰胺合成酶(AS) 如图 6 所示, 同一施氮水平下, 随着生育期的推移, 两品种的 AS 活性均呈先降低后升高的趋势。随着施氮量的增加, 低氮高效型品种京农科 728 各生育时期的 AS 活性总体呈先升高后降低的趋势。在拔节期, N4 的 AS 活性显著高于 NCK; 在大喇叭口期和成熟期, N2 的 AS 活性显著高于

其他施氮处理; 在抽雄吐丝期和灌浆期, N3 的 AS 活性显著高于其他施氮处理。施氮量对高氮高效型品种先玉 335 不同生育时期的 AS 活性影响存在较大差异, 在大喇叭口期、抽雄吐丝期和灌浆期, N2 的 AS 酶活性分别较 NCK 显著提高 62.36%、6.14% 和 12.17%。

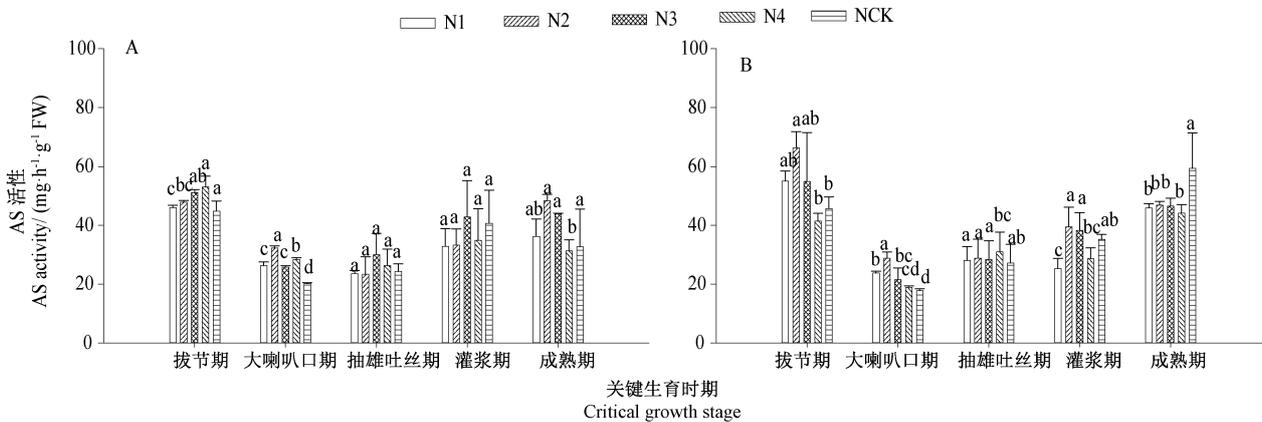


图 6 施氮量对玉米天冬酰胺合成酶的影响

Fig.6 Effects of nitrogen application on asparagine synthetase in maize

2.3 氮代谢关键酶基因表达量

对氮代谢关键酶基因表达量的测定结果如图 7、8 所示。相较于拔节期, 在大喇叭口期, 京农科 728 和先玉 335 的 NR、GOGAT1、GOGAT2 基因相对表达量均显著上调, 但京农科 728 的 NR 基因相对表达量显著高于先玉 335 ($P < 0.05$) (图 7)。相较于拔节期, 在抽雄吐丝期和灌浆期, 京农科 728 中的 GS1-3 基因相对表

达量显著上调 ($P < 0.05$); 在灌浆期, 先玉 335 的 GS1-3 基因相对表达量显著上调 ($P < 0.05$) (图 7)。相较于拔节期, 在其他生育期, 两品种的 GS1-4 基因相对表达量均显著下调 ($P < 0.05$), 但各生育时期下调程度存在差异。随着生育的推进, 京农科 728 的 GS1-4 基因相对表达量持续下调, 灌浆期达到最小值 (图 8)。相较于拔节期, 京农科 728 在灌浆期的 AS1 和 AS3 基

因相对表达量显著上调($P < 0.05$)。相较于拔节期,先玉 335 在其他生育期的 AS1 基因相对表达量显著下调($P < 0.05$),AS2 和 AS3 基因相对数量均未发生显著变化(图 8)。

2.4 产量

由表 3 可知,2018 年,各处理低氮高效型品种京农科 728 的产量在 8 158.22~9 725.32 $\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 之间,高氮高效型品种先玉 335 的产量在 9 862.14 ~ 11 053.22 $\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 之间。京农科 728 在 N2、N3 的产

量高于其他施氮处理;先玉 335 在 N4、NCK 的产量高于其他施氮处理。2019 年,各处理京农科 728 的产量在 9 537.99~11 180.04 $\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 之间,先玉 335 的产量在 9 598.81~12 309.14 $\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 之间。京农科 728 的产量在 N2 达到最大值,显著高于 N4,但与其他施氮处理间差异未达到显著水平;先玉 335 的产量在 N4 达到最大值,较 NCK 显著提高 28.23%,与 N2 差异未达到显著水平。综上年际间两品种的产量随施氮量变化差异较大。

表 3 施肥量对玉米产量的影响

Table 3 Effect of nitrogen application on corn yield

/($\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$)

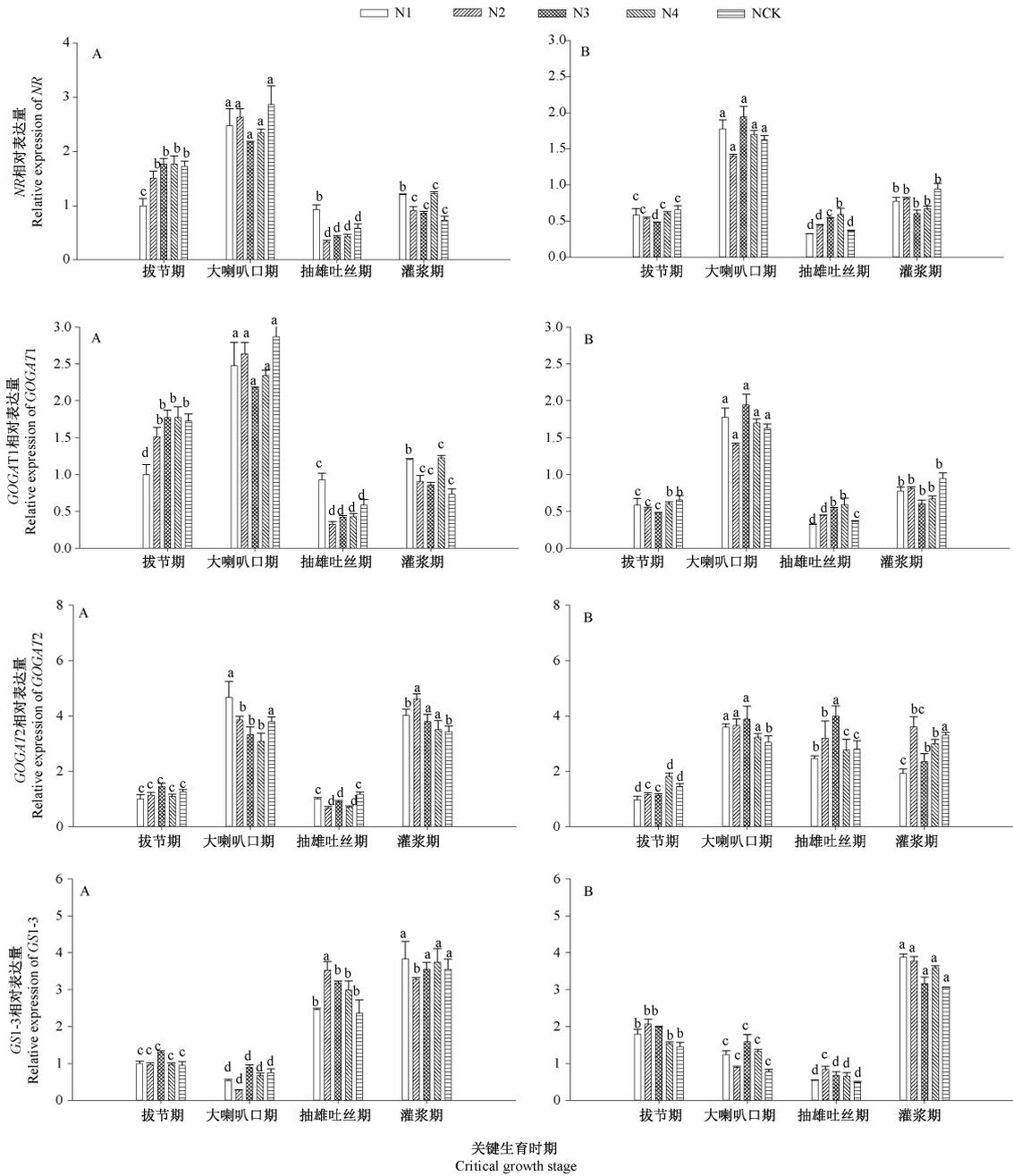
处理 Treatment	2018 年 2018 year		2019 年 2019 year	
	京农科 728 Jingnongke 728	先玉 335 Xianyu 335	京农科 728 Jingnongke 728	先玉 335 Xianyu 335
N1	8 645.68cd	10 315.99bc	10 319.18ab	10 568.81bc
N2	9 725.32a	9 862.14c	11 180.04a	11 712.85ab
N3	9 548.85ab	10 178.95c	9 980.91ab	10 909.71b
N4	8 884.98bc	11 053.22a	9 537.99b	12 309.14a
NCK	8 158.22d	10 946.88ab	9 899.97ab	9 598.81c

3 讨论

氮素是植物细胞的重要组成部分,也是种子成熟和干物质积累的重要限制因子。大量研究表明,植物体内氮素积累量随施氮量的增加呈单峰曲线变化,并最终影响干物质的形成^[25-26]。本研究表明,高氮高效型品种先玉 335 在 N3、N4 水平下,各生育时期植株的氮素积累高,平均产量达到最大值。N3 水平下,玉米成熟期的叶鞘和雄穗中氮素积累量达到最大值;N4 水平下,玉米成熟期的茎秆、叶片和籽粒氮素积累量均达到最大值,继续增加施氮量至 NCK 水平,植株各器官的氮素积累量下降,产量也随之降低。低氮高效型品种京农科 728 在 N2、N3 水平下,平均产量达到最大值,各生育期植株的氮素积累量较高。相较于 NCK, N2 显著增加了玉米成熟期茎秆、叶鞘、雄穗和籽粒的氮素积累量;N3 显著增加了玉米成熟期叶片、苞叶和穗轴的氮素积累量。说明,在减氮条件下,京农科 728 表现出了更好的低氮适应能力。有研究表明,施氮量显著影响玉米产量,产量随着施氮量的增加呈先升高后降低的趋势^[27-28]。在 N1、N2 水平下,京农科 728 的茎秆表现出了较高的氮素转运效率;而先玉 335 在 N4、NCK 水平下叶片和茎秆的氮素转运效率较高。说

明,高氮高效型和低氮高效型品种在氮素的需求上存在明显差异,高氮高效型品种在整个生育期氮肥供应不足将限制其生产潜力。本研究结果表明不同氮高效品种对氮素的需求、吸收及转运能力是最终产量形成的重要因素。

植物的氮素吸收受氮代谢途径的调控。在 NR 的催化作用下,根系将吸收的 NO_3^- 转化为 NO_2^- ^[29]。本研究表明,两品种的 NR 活性均在大喇叭口期达到最大值,并且低氮型品种京农科 728 的 NR 活性在 N2 水平最高,高氮型品种先玉 335 在 N4 水平最高。说明不同氮利用型玉米品种的氮素代谢酶活性与施氮量存在密切关系。在 NiR 的催化下, NO_2^- 转化为 NH_4^+ , NH_4^+ 在 GS 和 GOGAT 的催化下最终合成氨基酸^[30]。本研究表明,京农科 728 的 NiR、GS 和 GOGAT 均在低施氮水平下表现出较高的酶活性。京农科 728 的 GS 和 AS 活性在拔节期达到最大值,并在生育后期能够保持较高水平,说明氮肥的高效利用时期与酶活性时期保持一致。在生育后期,尤其是灌浆至成熟期,先玉 335 在高施氮量下才能保持高的 NiR、GS 和 GOGAT 活性。说明先玉 335 在生育后期需要大量的氮素供应来完成籽粒形成与灌浆过程。Subedi 等^[31] 也研究表明,从吐丝至成熟期的吸氮量占玉米整个生育期的 60% 以上。综上可知,对高氮高效型品种先玉 335 后



注:不同小写字母表示同一处理不同生育期之间差异显著($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters indicate significant difference at different growth stage of the same treatment.

图 7 施肥量对氮代谢关键酶基因相对表达量的影响

Fig.7 Effect of nitrogen application on relative expression of key enzyme genes in nitrogen metabolism

期氮肥的管控是其增产的关键。

外源氮肥的施用使植株体内多个代谢途径中的多个相关基因发生响应,且不同基因型的玉米品种对施氮水平的响应亦存在差异^[29,32-33]。本研究表明,相较于拔节期,在大喇叭口期,京农科 782 和先玉 335 的 NR 基因相对表达量显著上调,同时期 NR 活性显著升高,大大提升了从拔节至大喇叭口期植株对氮素的吸收同化能力,这与李文龙等^[29]的研究结果相似。大量

研究已经证实提高 NR 基因的表达能够显著提高 NR 活性,进而提升作物对氮素的吸收同化效率^[33-34]。本研究表明不同氮高效品种在不同施氮量下 NR 基因的表达量和酶活性存在差异。NR 作为一种底物诱导酶存在一定的阈值,当硝酸盐浓度升高到一定水平之后, NR 就不会再被诱导^[35]。推测氮高效品种对氮素的吸收调控能力存在差异可能与诱导 NR 的阈值不同有关。

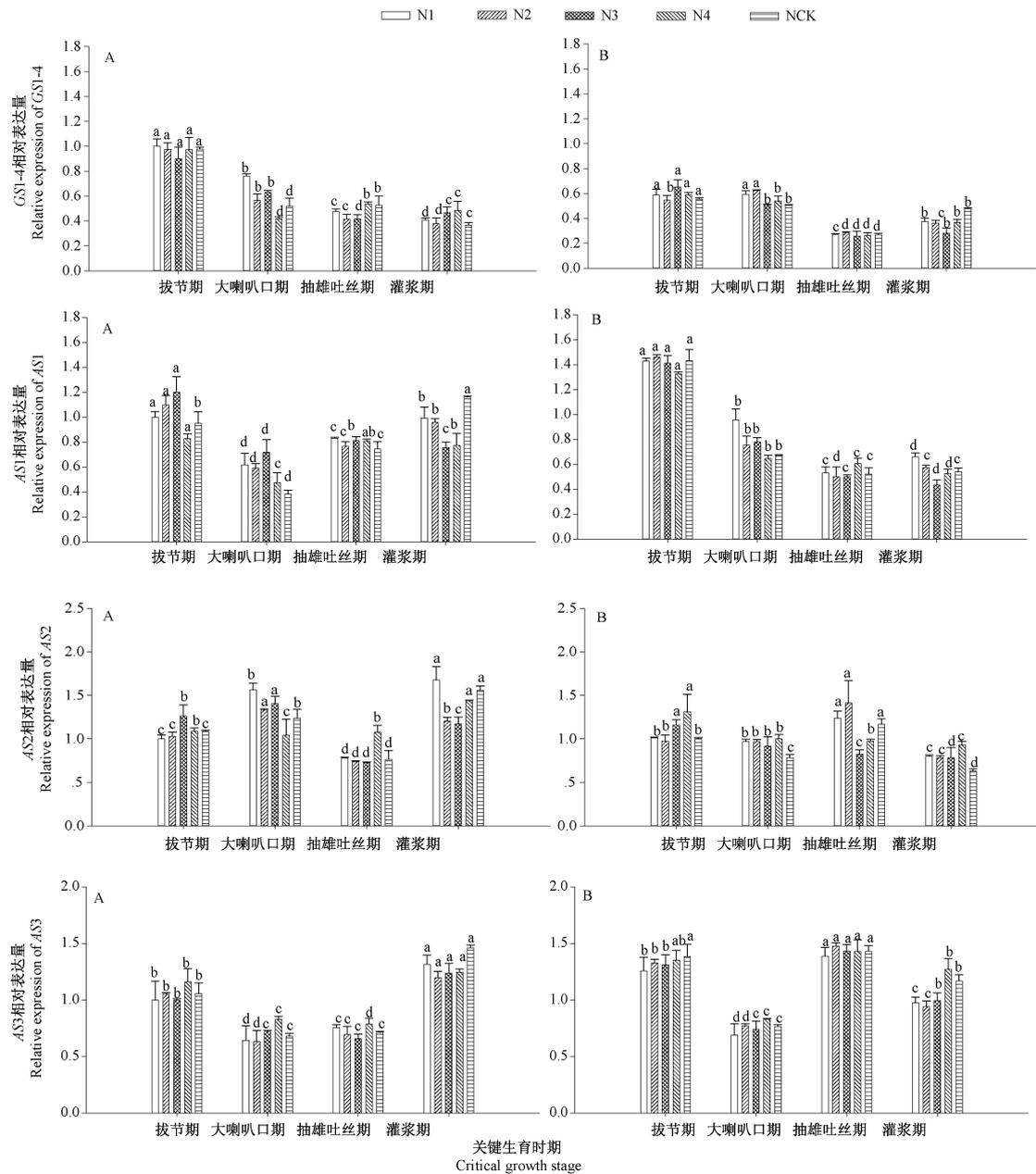


图8 施肥量对氮代谢关键酶基因相对表达量的影响

Fig.8 Effect of nitrogen application on relative expression of key enzyme genes in nitrogen metabolism

GS 是氮代谢的核心酶之一。He 等^[36]研究表明, GS1-3 和 GS1-4 在玉米叶片中高度积累, 是玉米叶片 GS1 基因最主要的 2 个亚型, 对氮的供应和分配起着枢纽作用。本研究表明, 相较于拔节期, 在抽雄吐丝期和灌浆期, 京农科 728 的 GS1-3 基因相对表达量显著上调; 在灌浆期, 先玉 335 的 GS1-3 基因显著上调; 相较于拔节期, 两品种在其他生育期的 GS1-4 基因均显著下调。两品种不同生育时期 GS1-3 基因相对表达量上调说明相较于 GS1-4, GS1-3 可能在增加叶片氮转运方面发挥着更加积极的作用。本试验也观察到相较于拔节期, GS1-3 在灌浆期叶片的基因表达显著上

调, 且在玉米生育后期显著上调, 有效的维持了玉米生育后期 GS 的活性水平, 从而使玉米在生育后期也能维持较高的氮素吸收和利用能力。

AS 与 GS 在运输含氮分子方面具有联合作用, 在氮素迁移阶段, AS 会在 ATP 依赖性反应中催化谷氨酰胺和天冬氨酸合成天冬酰胺^[37-39]。玉米 AS 基因的环境调控机制尚鲜见报道。本研究表明, 相较于拔节期, 京农科 728 灌浆期的 AS1 和 AS3 基因相对表达量显著上调。相较于其他各生育时期先玉 335 在拔节期的 AS1 基因显著上调。说明参与氮代谢的 ASs 基因担负着特殊功能, 不同基因型品种的 ASs 基因对外源氮

素的响应存在显著差异。Wan 等^[40]研究表明大豆叶片的 AS1 基因表达量与 AS 活性及大豆种子中蛋白质含量呈显著相关性。Li 等^[41]研究表明,在干旱胁迫下,AS 与 GS 共同在叶片氮素转运过程中发挥着重要的作用。不同氮高效品种的 AS 基因表达结果证明了 AS 活性的响应机制在两品种间存在差异。在不同时期调控 AS 活性可以提高玉米叶片的氮素转运效率。

4 结论

不同基因型品种对氮素的吸收利用存在差异。高氮高效型品种先玉 335 在施氮量为 240~300 kg·hm⁻² 时,平均产量达到最大值,其各生育时期氮素积累量也较高;低氮高效型品种京农科 728 在施氮量为 180~240 kg·hm⁻² 时,平均产量达到最大值,其各生育时期氮素积累量也较高。氮代谢关键酶相关基因对不同氮高效型品种的氮素吸收调控存在显著差异。相较于高氮高效型品种先玉 335,低氮高效型品种京农科 728 对氮更为敏感。本研究为冀东地区不同品种的合理氮肥管控提供了理论依据。

参考文献:

- [1] Huang S J, Chen S, Liang Z H, Zhang C M, Yan M, Chen J G, Xu G H, Fan X R, Zhang Y L. Knockdown of the partner protein OsNAR2.1 for high-affinity nitrate transport represses lateral root formation in a nitrate-dependent manner [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 1-12
- [2] Ghassemi-Golezani K, Raei N, Raei Y. Effects of water deficit and nitrogen levels on grain yield and oil and protein contents of maize [J]. *Azarian Journal of Agriculture*, 2015, 2(2): 46-50
- [3] Ju X T, Xing G X, Chen X P, Zhang X L, Zhang L J, Liu X J, Cui Z L, Christie P, Zhu Z L, Zhang F S, Tilman G D. Reducing environmental risk by improving N management in intensive Chinese agricultural systems [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(9): 3041-3046
- [4] 巨晓棠. 氮肥有效率的观念及意义—兼论对传统氮肥利用率的理解误区 [J]. *土壤学报*, 2014, 51(5): 921-933
- [5] Williamson J M. The role of information and prices in the nitrogen fertilizer management decision: New evidence from the agricultural resource management survey [J]. *Journal of Agricultural and Resource Economics*, 2011, 36(3): 552-572
- [6] 王云奇,陶洪斌,黄收兵,徐丽娜,杨利华,祁利潘,王璞. 施氮模式对夏玉米氮肥利用和产量效益的影响 [J]. *核农学报*, 2013, 27(2): 219-224
- [7] 马忠明,孙景玲. 施氮量对间作玉米土壤硝态氮累积量及氮肥利用率的影响 [J]. *核农学报*, 2012, 26(9): 1305-1310
- [8] 刘弋菊,孔管铤,苏胜宝. 玉米氮素代谢机制的研究进展 [J]. *玉米科学*, 2009, 17(1): 135-138
- [9] 温立玉,薛艳芳,张慧,张秀清,高英波,刘开昌,李宗新. 不同氮效率玉米品种亲本自交系花粒期氮素转运特性 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2019, 25(4): 568-578
- [10] 刘建安,米国华,陈范骏,张福锁. 玉米杂交种氮效率基因型差异 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2002, 8(3): 276-281
- [11] 刘建安,米国华,张福锁. 不同基因型玉米氮效率差异的比较研究 [J]. *农业生物技术学报*, 1999, 7(3): 248-254
- [12] 晁晓乐,申丽霞,吕静瑶. 施氮对不同基因型玉米籽粒发育和氮效率的影响 [J]. *华北农学报*, 2016(1): 198-202
- [13] Yan P, Yue S C, Qiu M L, Chen X P, Cui Z L, Chen F J. Using maize hybrids and in-season nitrogen management to improve grain yield and grain nitrogen concentrations [J]. *Field Crops Research*, 2014, 166: 38-45
- [14] 屈佳伟,高聚林,王志刚,于晓芳,胡数平,孙继颖. 不同氮效率玉米根系时空分布与氮素吸收对氮肥的响应 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2016, 22(5): 1212-1221
- [15] 薛艳芳,韩小伟,张慧,高英波,钱欣,蒋丽萍,崔振岭,李宗新,刘开昌. 不同氮效率玉米品种灌浆期氮素转运特性和产量对氮素形态的响应 [J]. *玉米科学*, 2020, 28(3): 163-172
- [16] 李锦辉,李潮海. 不同基因型玉米氮素利用的机理研究 [J]. *核农学报*, 2007, 2(12): 173-176
- [17] 周培禄,任红齐,华赵明,李从锋. 氮肥用量对两种不同类型玉米杂交种物质生产及氮素利用的影响 [J]. *作物学报*, 2017, 43(2): 263-276
- [18] 王荣焕,陈传永,徐田军,赵久然,吕天放,刘月娥,刘秀芝,刘春阁. 不同基因型玉米品种产量和氮素利用效率对减施氮肥的响应 [J]. *中国农业科技导报*, 2018, 20(4): 101-107
- [19] 田培,马飞,姜俊,甘冬生,李培武. 杜马斯燃烧法测定油料粗蛋白含量 [J]. *中国油料作物学报*, 2016, 34(6): 650-654
- [20] 杨新泉,冯峰,宋长青,冷疏影. 主要农田生态系统氮素行为与氮肥高效利用研究 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2003, 9(3): 373-376
- [21] 赵世杰,史国安,董新纯. 植物生理学实验指导 [M]. 北京:中国农业科学技术出版社, 2002
- [22] Ozawa K, Kawahigashi H. Positional cloning of the nitrite reductase gene associated with good growth and regeneration ability of calli and establishment of a new selection system for Agrobacterium-mediated transformation in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Plant Science*, 2006, 170(2): 384-393
- [23] Górný A G, Banaszak Z, Ługowska B, Ratajczak D. Inheritance of the efficiency of nitrogen uptake and utilization in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) under diverse nutrition levels [J]. *Euphytica*, 2011, 177(2): 191-206
- [24] 王佳. 施锌对冬小麦氮素吸收代谢关键化合物和酶的影响 [D]. 郑州:河南农业大学, 2018
- [25] 王玲敏,叶优良,陈范骏,尚云峰. 施氮对不同品种玉米产量、氮效率的影响 [J]. *中国生态农业学报*, 2012, 20(5): 529-535
- [26] 吕鹏,张吉旺,刘伟,杨今胜,苏凯,刘鹏,董树亭,李登海. 施氮量对超高产夏玉米产量及氮素吸收利用的影响 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2011, 17(4): 852-860
- [27] 于宁宁,任佰朝,赵斌,刘鹏,张吉旺. 施氮量对夏玉米籽粒灌

- 浆特性和营养品质的影响[J]. 应用生态学报, 2019, 30(11): 3771-3776
- [28] 刘志恒, 徐开未, 王科, 解晋, 王佳锐, 赵亚妮, 陈远学. 不同施氮量对玉米产量及各器官养分积累的影响[J]. 浙江大学学报, 2018, 45(5): 573-579
- [29] 李文龙, 吕英杰, 刘笑鸣, 佟桐, 曹鑫波, 顾万荣, 魏湜. 氮肥对不同氮效率玉米氮代谢酶和氮素利用及产量的影响[J]. 西南农业学报, 2018, 31(9): 1829-1835
- [30] Masclaux-Daubresse C, Daniel-Vedele F, Dechorgnat J, Fabien C, Laure G, Akria S. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants; Challenges for sustainable and productive agriculture[J]. Annals of Botany, 2010, 105(7): 1141-1157
- [31] Subedi K D, Ma B L. Nitrogen uptake and partitioning in staygreen and leafy maize hybrids[J]. Crop Science, 2005, 45(2): 740-747
- [32] Hu H C, Wang Y Y, Tsay Y F. AtCIPK8, a CBL-interacting protein kinase, regulates the low-affinity phase of the primary nitrate response[J]. The Plant Journal, 2009, 57: 264-278
- [33] Djennane S, Quilleré I, Leydecker M T, Meyer C, Chupeau Y. Expression of a deregulated tobacco nitrate reductase gene in potato increases biomass production and decreases nitrate content in all organs[J]. Planta, 2004, 219(5): 884-893
- [34] Zhu J T, Ding P C, Li Q Q, Gao Y K, Chen F G, Xia G M. Molecular characterization and expression profile of methionine sulfoxide reductase gene family in maize (*Zea mays*) under abiotic stresses[J]. Gene, 2015, 562(2): 159-168
- [35] Matt P, Geiger M, Walch L P, Engels C, Krapp A, Stitt M. The immediate cause of the diurnal changes of nitrogen metabolism in leaves of nitrate-replete tobacco; A major imbalance between the rate of nitrate reduction and the rates of nitrate uptake and ammonium metabolism during the first part of the light period[J]. Plant Cell and Environment, 2001, 24(2): 177-190
- [36] He C M, Liu C X, Liu Q, Gao X X, Li N, Zhang J R, Wang L M, Liu T S. Over-expression of glutamine synthetase genes *Gln1-3/Gln1-4* improved nitrogen assimilation and maize yields[J]. Maydica, 2014, 59(3): 250-256
- [37] Martin A, Lee J, Kichey T, Gerentes D, Zivy M, Tatout C, Dubois F, Balliau T, Valot B, Davanture M, Tercé-Laforgue T, Quilleré I, Coque M, Gallais A, Gonzalez-Moro M B, Bethencourt L, Habash D Z, Lea P J, Charcosset A, Perez P, Murigneux A, Sakakibara H, Edwards K J, Hirel B. Two cytosolic glutamine synthetase isoforms of maize are specifically involved in the control of grain production[J]. Plant Cell, 2006, 18(11): 3252-3274
- [38] Wang H B, Liu D C, Sun J Z, Zhang A M. Asparagine synthetase gene *TaASN1* from wheat is up-regulated by salt stress, osmotic stress and ABA[J]. Journal of Plant Physiology, 2005, 162(1): 81-89
- [39] Gaufichon L, Reisdorf-Cren M, Rothstein S J. Biological functions of asparagine synthetase in plants[J]. Plant Science, 2010, 179: 141-153
- [40] Wan T F, Shao G H, Shan X C, Zeng N Y, Lam H M. Correlation between ASI gene expression and seed protein contents in different soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) cultivars[J]. Plant Biology, 2006, 8(2): 271-276
- [41] Li Y J, Wang M L, Zhang F X, Xu Y D, Chen X H, Qin X L, Wen X X. Effect of post-silking drought on nitrogen partitioning and gene expression patterns of glutamine synthetase and asparagine synthetase in two maize (*Zea mays* L.) varieties [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2016, 102: 62-69

Study on the Nitrogen Uptake and Metabolism in Different Nitrogen Efficient Maize Varieties

WANG Jian¹ HAN Jinling¹ YANG Min¹ YAO Dandan¹ ZHOU Yinfu¹

WANG Wenpo¹ WU Zhenxing^{2,*} YANG Qing^{1,*}

(¹College of Agronomy and Biotechnology, Hebei Normal University of Science & Technology, Qinhuangdao, Hebei 066600;

²Institute of Maize and Featured Upland Crops, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Jinhua, Zhejiang 322100)

Abstract: In order to study the regulation mechanism of nitrogen metabolism in different nitrogen-efficient varieties, the high-nitrogen high-efficiency corn variety Xianyu 335 and the low-nitrogen high-efficiency corn variety Jingnongke 728 were used as test materials. Five nitrogen fertilizer applications were tested: 120 kg·hm⁻², 180 kg·hm⁻², 240 kg·hm⁻², 300 kg·hm⁻², and 360 kg·hm⁻² (NCK). Using the local field nitrogen fertilizer application (NCK) as control, we explored the responses characteristics of different genotypes of maize on nitrogen transport, key enzyme activities, and key enzyme genes of nitrogen metabolism to reduced nitrogen fertilizer application. Our results showed that when the nitrogen fertilizer application was 240–300 kg·hm⁻², the nitrogen content of Xianyu 335 reached its maximum value at each growth stage, and yield reached a high level. When the nitrogen fertilizer application was 180–240 kg·hm⁻², the nitrogen content of Jingnongke 728 reached its maximum value at each growth stage, and yield reached a high level. Under low nitrogen conditions, compared with Xianyu 335, nitrate reductase (NR), nitrite reductase (NiR), glutamine synthetase (GS), glutamic acid synthetase (GOGAT), and asparagine synthetase (AS) of Jingnongke 728 maintained high enzymatic activity throughout the entire maize growth period. Compared to the elongation stage, the expression of the NR gene of Jingnongke 728 was significantly increased in the flare opening stage. The expression of GOGAT1 and GOGAT2 genes of both varieties were significantly up-regulated from the flare opening stage to the filling stage. During the silking stage and the filling stage, the expression of the GS1–3 genes in Jingnongke 728 was significantly up-regulated. During the filling stage, the expression of the GS1–3 gene of Xianyu 335 was significantly up-regulated. Compared to the elongation stage, the expression of GS1–4 genes of both varieties was significantly down-regulated in other growth stages. The expression of AS1 and AS3 genes of Jingnongke 728 were significantly up-regulated in the filling stage compared to the elongation stage. Compared to other growth stages, the expression of the AS1 gene of Xianyu 335 was significantly up-regulated in elongation stage. There were differences in the response of different genes to nitrogen fertilizer at different growth stages in maize. The results of this study demonstrate that significant differences were observed in the regulation of nitrogen uptake by key nitrogen metabolism enzyme genes in different nitrogen-efficient varieties of maize. This study provided the basis for understanding the regulate characteristics of nitrogen uptake of different nitrogen efficient varieties.

Keywords: maize, nitrogen metabolism enzymes, gene expression, nitrogen accumulation