

氮素水平对两类不同生长速率类型的 杉木硝酸还原酶活力的影响*

苏梦云 周国璋 阙国宁 诸葛强

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所)

关键词 杉木无性系; 氮肥; 硝酸还原酶

硝酸还原酶(NADH: NR E. C. 1.6.6.1, 以下简称 NR) 是植物体内硝酸盐同化过程中的关键酶。在植物氮素代谢中起着重要作用, 它对植物的生长发育有重要的影响。NR 的酶量及活力控制着硝态氮转化的速率, 不同生长速率类型的树木, NR 活力表现不同, 速生类型的NR活力要大于生长慢的类型^[3,4]。NR 可望成为早期鉴定的指标^[1]。林木一般多栽培于山地, 立地条件难以做到均一, 必然使得各个个体植株的NR活力产生差异。为了正确评价NR活力在不同生长速率类型间的差异(即: 在大田条件下, 不同生长速率类型无性系植株所表现出的NR活力差异, 是本身的特性还是由外界环境, 特别是土壤肥力条件所造成。), 除了在测定技术上增加诱导处理措施可以克服环境差异外^[6], 本文主要研究氮素水平对不同生长速率类型的杉木NR活力的影响, 为大田鉴定指标化提供依据。

材料与方 法

试验材料 材料为本所育种研究室提供的一年生杉木(*Cunninghamia lanceolata*)组培苗, 其中: 三个为生长较快的无性系(快生型), 代号: T₄、T₅、T₇; 一个自选的生长较慢的杉木无性系(慢生型), 代号: C₅。培育在本所温室容器中, (温度28 ± 1 °C, 光照为自然光), 以蛭石作基质, 在正式试验前浇洒道格拉斯第四培养液(Ca(NO₃)₂ 0.16 g/L, (NH₄)₂SO₄ 0.06 g/L, KH₂PO₄ 0.56 g/L及MgSO₄ 0.25 g/L), 以维持正常生长。试验苗按常规管理。正式试验时, 追施不同浓度的NH₄NO₃, 浓度分别为175 mgN/L、350 mgN/L和700 mgN/L, 以浇水作对照。每隔7 d追施一次, 连续三次。每个处理取3株, 进行单株取样分析测定, 重复两次。

生长测定 在不同氮浓度的培养液中, 生长2个月后测定新梢生长量。

叶绿素含量测定 依Arnon方法^[10]测定。

硝酸还原酶活力测定 基本按前法^[6], 测定前不进行诱导处理。

硝酸盐含量测定 基本按叶叙丰等方法^[9]。取测定NR活力的杉木小枝, 去叶后取其小枝韧皮部称其鲜重, 提取, 测定。

本文于1988年2月22日收到。

• 本文是国家自然科学基金委员会资助项目的内容之一。

氨基酸含量测定 取定量的新鲜叶片,用80%乙醇于65℃水浴提取1h,离心收集上清液,重复提取三次,提取液浓缩、定容。用茚三酮试剂显色,于570nm波长下测定光密度值。

蛋白质含量测定 上述提取氨基酸后的残留物,加入1N NaOH于90℃水浴提取1h,离心收集上清液,重复提取两次,提取液调pH至中性,定容。按Lorwy方法^[11]测定蛋白质含量。

实验结果

(一) 氮素水平对不同杉木无性系新梢生长的影响

杉木生长对氮素非常敏感。追施氮素明显地促进新梢生长(图1)。从图1可以看出,在一定的氮素浓度范围内(350 mgN/L),新梢生长量随追施的氮素含量的增加而增加。但追施氮素浓度达到700 mgN/L时,有些叶片表现受害症状,有个别叶片开始变为焦黄,生长也极为缓慢,无性系 T_4 生长速率下降。但是在生长速率不同的两类无性系之间,生长较快的无性系 T_6 、 T_7 和 T_4 的新梢生长量仍然高于生长较慢的无性系 C_6 。它们在不追施氮素的条件下,新梢生长量(cm)分别为9.7、12.0、11.3和4.3;在追施氮素350 mgN/L以后的新梢生长量(cm)分别增加到15.3、14.7、13.7和8.0。

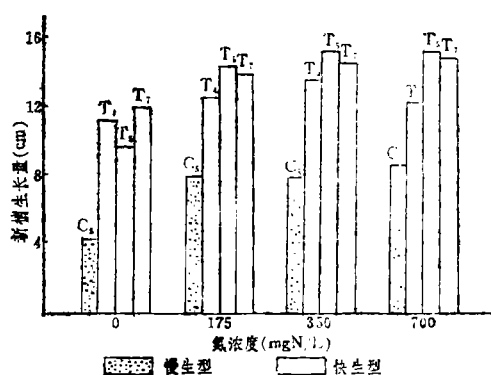


图1 氮素水平与杉木新梢生长

(二) 氮素水平与杉木不同生长速率无性系叶绿素含量的关系

追施氮素一般能提高植株叶片的叶绿素含量(图2)。从图2可以看出,生长速率较快的无性系,在追施氮素前,叶绿素含量要高于生长较慢的无性系,分别为1.10、0.99、0.87和0.63 mg/g干重;在追施氮素后,叶绿素含量都开始增加,但是当氮浓度大于175 mgN/L时,生长较慢的无性系的叶绿素含量开始下降,而生长较快的无性系仍保持较高的水平。当氮浓度达到700 mgN/L时,植株叶片表现受害症状,生长较快的无性系叶片的叶绿素含量亦明显降低,但 T_4 例外。

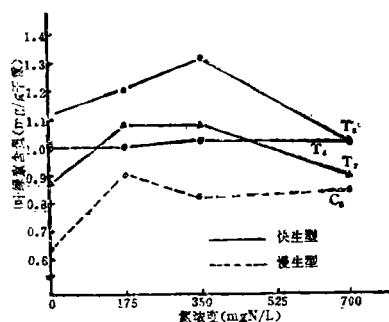


图2 氮素水平与杉木叶绿素含量变化

(三) 氮素水平对不同生长速率的杉木无性系硝酸还原酶活力的效应

杉木叶片的NR活力,在施用一定氮素浓度范围内,随着追施氮素浓度的增加而增加。当氮素浓度达到700 mgN/L时,叶片表现受害症状, NR活力明显受抑制(图3)。图3还表明,生长速率较快的无性系叶片的NR活力高于生长较慢的无性系,分别为10、8.0、9.2和6.2 $\mu\text{mol NO}_2^-/30 \text{ min/g}$ 鲜重,在追施350 mgN/L时, NR活力分别提高到12、11、10和7.1 $\mu\text{mol NO}_2^-/30 \text{ min/g}$ 鲜重。

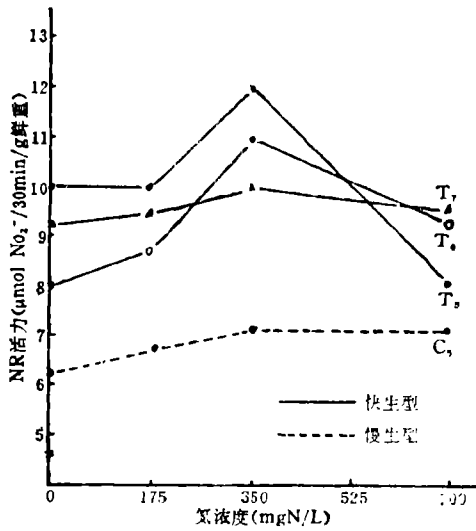


图3 氮素水平对杉木NR活力的影响

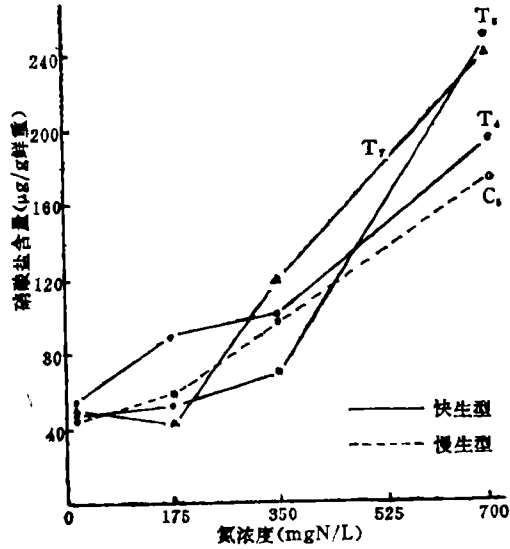


图4 氮浓度对杉木硝酸盐含量的影响

(四) 不同氮素水平与不同生长速率杉木无性系枝条韧皮部中硝酸盐积累的关系

在追施一定浓度的氮素时，枝条韧皮部中硝酸盐含量随外源氮浓度的增加而积累。在低浓度下，不同无性系间硝酸盐含量不表现规律性的差异，但当外源氮素浓度大于 350 mgN/L 时，韧皮部中硝酸盐含量急剧增加，而生长较快的无性系的硝酸盐积累速率超过生长较慢的无性系(图 4)。在氮浓度 700 mgN/L 时，生长较快的无性系和生长较慢的无性系枝条韧皮部硝酸盐的含量分别为 252.27、195.91、247.49 和 170.59 μg/g 鲜重。

(五) 不同氮素水平与生长速率不同的杉木无性系叶片蛋白质含量的关系

在追施一定浓度氮素的范围内，杉木苗叶片内蛋白质含量随施氮水平的提高也相应增加(图 5)。图 5 表明，施用氮素的浓度大于 350mgN/L 以后，生长较快的无性系苗叶片中蛋白质含量的增加较缓慢，生长较慢的无性系苗叶片中蛋白质含量开始下降。

(六) 氮素水平与不同生长速率杉木无性系叶片中游离氨基酸含量的关系

杉木叶片中的游离氨基酸含量一般随外源追施的氮素浓度的增加而增加(图 6)，但各无性系

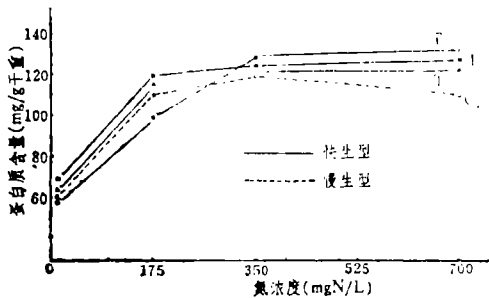


图5 氮浓度对杉木叶片蛋白质含量的影响

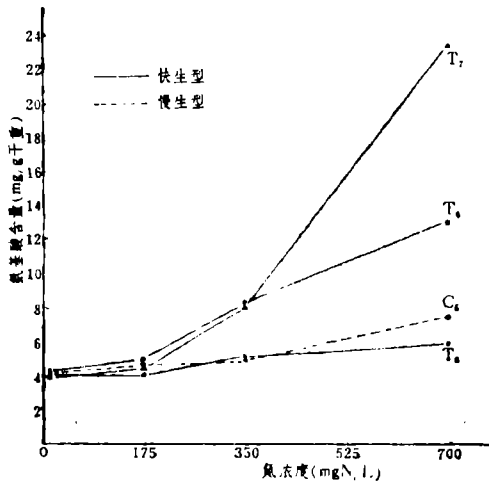


图6 氮浓度对杉木叶片游离氨基酸含量的影响

之间表现不一, 生长较快的无性系与生长较慢的无性系之间不表现明显差异。

讨 论

植物对氮素的反应比较敏感, 追施氮肥能明显提高其叶片中氮化合物的含量。作物的耐肥性与它的硝酸还原酶活力呈负相关^[2], 所谓作物耐肥性就是指作物对氮素的反应特性。我们曾得到, 杉木硝酸还原酶活力与其生长呈正相关^[3]。NR 是诱导酶, 氮能提高酶活力^[6]。本文结果表明, 追施适量氮素能提高杉木叶片的 NR 活力和增加其蛋白质及叶绿素含量, 而且在一定施用浓度范围内, 随着氮素浓度的增加而增加。这与棉花^[7]和小麦^[8]的结果相一致。这表明氮素诱导提高了植株 NR 活力, 从而使植株提高了对氮素的同化和利用速率。在不同生长速率的杉木无性系间, 生长较快的无性系其 NR 活力高于生长慢的。在追施适量氮素后, 杉木 NR 活力虽都有明显的提高, 但生长较快的无性系的 NR 活力始终高于生长较慢的无性系。这说明, 不同生长速率类型的杉木无性系间 NR 活力的差异并不因追施外源氮素而改变, 类型间的 NR 活力差异是比较稳定的。但在生长较快的类型中的三个无性系间, NR 活力并不与其生长速率完全吻合, 这说明生长是受多种因素综合影响。

NR 是植物在同化 NO_3^- 过程中的关键酶, 植株体内硝酸盐含量的水平对其 NR 活力有直接影响, 但其 NR 活力对体内硝酸盐的积累又起着调节作用。试验结果表明, 生长较快的杉木无性系苗, 由于其 NR 活力较高, 在追施适量氮素后, 其硝酸盐积累并不表现高于生长较慢的无性系, 但在追施的氮素浓度达到 700 mgN/L 时, 生长较快的无性系苗叶片表现受害症状, 其 NR 活力受到抑制, 使其韧皮部中的硝酸盐含量明显高于生长较慢的无性系。这表明: 生长较快的杉木无性系苗吸收硝酸盐的能力要比生长较慢的无性系苗高得多, 在正常条件下, 所吸收的硝酸盐能被其高活力的 NR 所同化, 因此, 其体内的积累量并不表现很高。在过高的氮素浓度条件下, 其叶片出现了受害症状, 其 NR 活力和叶片中蛋白质含量的积累同时都受到抑制, 而游离氨基酸含量却仍有不同程度的增加, 且不同生长速率的无性系间不表现规律性。在高氮浓度下, 杉木叶片内游离氨基酸的积累与叶片 NR 活力没有直接关系, 也不是叶蛋白降解所致, 它很可能与其它器官的转运有关。总之, 难以根据叶片游离氨基酸总量来评价无性系的速生特性。

在生长较快的和生长较慢的这两大杉木类型之间, NR 活力的差异是明显的, 说明 NR 活力与杉木的生长是密切相关的。由于育种试材着重选用优良无性系, 所以生长较差的无性系材料极为难得, 因此本试验中只选了一个生长较差的无性系作试材。而在三个生长较快的杉木类型无性系间, 其生长速率彼此差异不太显著, 所以对于同一类型内的无性系的评定, 应该根据其 NR 活力为主的氮素指标, 作为综合评定标准, 这仍有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 汤玉玮等, 1985, 硝酸还原酶活力与作物耐肥性的相关性及其在生化育种上应用的探讨, 中国农业科学, (6): 39—45。
- [2] 林振武等, 1983, 硝酸还原酶活力与作物耐肥性的研究 I. 不同耐肥性的水稻、小麦、玉米的硝酸还原酶活力, 中国农业科学, (3): 37—43。
- [3] 周国璋等, 1985, 不同生长速率的杉木硝酸还原酶活力比较, 林业科技通讯, (2): 6—8。
- [4] 周国璋等, 1988, 杉木硝酸还原酶的初步研究, 林业科学, 24(2): 156—161。
- [5] 苏梦云等, 1986, 树木组织中硝酸还原酶测定方法, 林业科技通讯, (7): 25—27。
- [6] 周国璋等, 1987, 林木硝酸还原酶体外测定方法的研究, 亚热带林业科技, (2): 99—105。

- [7] 李文才等, 1983, 硝酸还原酶研究 V. 棉花硝酸还原酶活力与硝态氮含量的关系, 作物学报, 9(2):93—97.
- [8] 李季泰等, 1984, 硝酸还原酶活性与小麦氮素代谢关系研究初报, 西北师范学院学报, 12—18.
- [9] 叶叙丰等, 1979, 硝态氮的比色测定, 植物生理学通讯, (3):31—33.
- [10] Arnon, D. J., 1949, Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta Vulgaris*, *Plant Physiol.*, (24):1—15.
- [11] Lorwy, O. H. et al., 1951, protein measurement with Folin phenol reagent, *Jour. Biol. Chem.*, (193):265—278.

EFFECT OF DIFFERENT LEVELS OF NITROGEN FERTILIZER ON NITRATE REDUCTASE ACTIVITY IN LEAVES OF *CUNNINGHAMIA LANCEOLATA* WITH DIFFERENT GROWTH RATES

Su Mengyun Zhou Guozhang Que Guoning Zhuge Qiang
(The Research Institute, of Subtropical Forestry CAF)

Abstract Nitrate reductase activity (NRA), chlorophyll, protein, free amino acid and nitrate contents of different clones of *Cunninghamia lanceolata* were determined in relation to nitrogen fertilizer. Nitrogen was supplied as NH_4NO_3 .

There were differences of (NRA) between the fast growing and slow growing clone seedlings. The former exhibited higher NRA. They were 8—10 $\mu\text{mol NO}_2^-/30 \text{ min/g}$ fresh weight but the latter was 6.2 $\mu\text{mol NO}_2^-/30 \text{ min/g}$ fresh weight. NRA in seedling leaves increased with the increase of nitrogen fertilizer. While the concentration of nitrogen fertilizer was higher than 350 mg N/L, NRA decreased. But NRA in fast growing clone seedlings were higher than those in slow growing clone seedlings. They had NRA values of 10—12 and about 7.1 $\mu\text{mol NO}_2^-/30 \text{ min/g}$ fresh weight, respectively.

In certain concentration range of nitrogen fertilizer, chlorophyll, protein and free amino acid contents increased with the increase of nitrogen fertilizer concentration, but while nitrogen concentration was higher than 350 mg N/L, chlorophyll content decreased, protein content did not increase in the fast growing clone but decreased in the slow growing clone, and free amino acid contents increased.

Nitrate content in branch phloem was relative to NR activity in its leaves. When NR activity was higher, nitrate content was not high, but while NR activity decreased under high nitrogen level, i.e 700 mg N/L, nitrate content obviously increased. These results showed that nitrogen fertilizer could induce NR activity but it could not change the difference in NR activity in leaves between fast growing clone and slow growing clone. The difference in NR activity is stable. NR activity may be a useful index of growth potential when nitrogen fertilizer is not a limiting factor of NR activity.

Key words *Cunninghamia lanceolata* clone; Nitrogen fertilizer; Nitrate reductase