

杉木雄性不育株与可育株叶绿素含量 和硝酸还原酶活力的比较*

吕洪飞 余象煜 李 平 何福基

关键词 杉木、雄性不育株、叶绿素含量、硝酸还原酶活力、发育时期

硝酸还原酶(NR)活力被认为是判断杉木(*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook.)生长速率的生化指标^[1,2],在氮素代谢中处于关键地位^[3,4]。有研究表明,NR活力与作物耐氮肥能力呈负相关^[4,5],而与杉木生长速率呈正相关^[1,3]。但NR活力在植物雄性不育系中的研究尚未见报道。在同一物种中,叶绿素含量的高低可作为判断植物生长快慢的生化指标。本文对杉木雄性不育系与可育系的叶绿素含量及其不同发育时期NR活力的变化进行了比较研究,旨在进一步了解杉木雄性不育机理,为利用杉木雄性不育株育种及营林提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料采自浙江省临安县横畈林场,16年生实生株(仅一株不育株)生于路边,9年生和4年生嫁接株分别生于第一代和第二代种子园。每个株龄各取3株南向同一高度的侧枝各3条(即重复3次)。其中山麓的肥力最好,路边和斜坡的较好,山脊的最差。

1.2 方法

1.2.1 硝酸还原酶活力的测定 按体内法^[6]进行,测定时间为:3月3日,为不育株的小孢子母细胞时期,可育株的四分体时期(由于不同月份的NR活力的变化幅度较不同小孢子发生发育时期的变化幅度大,所以用同一天采集的枝条进行比较);4月10日,为不育株的小孢子囊败育期,可育株已散粉;6月10日,为营养生长期。取发育良好的当年生带雄球花序的15cm长侧枝,经暗诱导和光诱导等一系列处理后,称1g成龄叶剪成0.5cm长小段,加入10mL磷酸缓冲液,再经处理后,将处理液分别以岛津UV-265型紫外分光光度计测520nm处光密度,经对照修正后,从标准曲线上查得 NO_2^- 含量^[6],NR活力以 $\mu\text{mol NO}_2^-/\text{h}\cdot\text{gFw}$ 表示。

1.2.2 叶绿素含量的测定^[7] 采用水研磨——丙酮浸提法。于1991年4月10日,分别称成龄叶0.5g,经一系列处理后,处理液分别于波长663nm及645nm处测定光密度,并用经验公式计算其叶绿素含量。

2 结果与讨论

2.1 叶绿素含量

从表1、2可见,在肥力条件较好的山麓,无论是叶绿素a,叶绿素b还是总量,不育株的含

1995—05—22 收稿。

吕洪飞讲师(浙江师范大学 浙江金华 321004);余象煜,李平(杭州大学);何福基(浙江林学院)。

* 本文为浙江省1990~1993年自然科学基金资助项目“杉木种子败育及杉木雄性不育机理研究”的部分内容。

量都显著高于可育株的,这与笔者观察到的不育株叶色较可育株深绿正好吻合^[8],这一结论与黄寿松等^[9]在小麦中观察到的一致;而肥力条件差的山脊,不育株的叶绿素 a、b 和总量均较低,与 Banga S S 等^[10]在芥菜(*Brassica juncea* (L.) Coss.) 中观察到的相同。

表 1 不同立地条件杉木雄性不育株与可育株的叶绿素含量比较 (单位: mg/gFw)

叶绿素组分	山麓				山脊				路边			
	4年生嫁接株		4年生嫁接株		9年生嫁接株		9年生嫁接株		9年生嫁接株		16年生实生株	
	S	F ₂	S	F ₃	S	F ₁	S	F _s	S	F ₃	S	F ₁
a	1.321	0.722	0.937	0.525	1.424	0.779	1.252	1.039	0.618	1.016	1.003	1.132
b	0.440	0.214	0.312	0.157	0.507	0.234	0.459	0.309	0.210	0.326	0.325	0.404
a/b	3.00	3.37	3.00	3.34	2.81	3.33	2.73	3.36	2.94	3.12	3.09	2.80
总量	1.760	0.936	1.249	0.682	1.931	1.013	1.711	1.348	0.828	1.342	1.328	1.536
a 占总量的%	75.01	77.14	75.02	76.98	73.74	76.90	73.17	77.08	74.64	75.71	75.52	73.70

注: S 为不育株, F_s 为不育株砧木可育的萌发芽, F₁、F₂、F₃ 均为可育株。

表 2 山麓可育株与不育株叶绿素含量方差分析

项目	叶绿素 a 平均值	叶绿素 b 平均值	总量
不育株	1.227 3	0.419 7	1.647 0
可育株	0.675 3	0.201 7	0.877 0
F 值	10.91	12.49	11.43
	0.05 > P > 0.01	0.05 > P > 0.01	0.05 > P > 0.01

注: 统计时表 1 的 F_s 组除外。

在肥力较高的立地条件下,不育株的叶绿素含量较高,说明其光合作用能力较强,合成光合产物较多,生长较快,被认为是不育株营养生长期延长和雄球花推迟发育的原因之一^[8]。不育株的叶绿素 a 占总量的百分比较可育株低,说明育性与叶绿素组分相关。叶绿素 a 与叶绿素 b 的比值和总量的变化受土壤肥力条件和光照条件的影响。不育株叶绿素含量的减少顺序依次为山麓、路边、斜坡(山麓第二组)和山脊。叶绿素 a/b 值较小被认为是较耐阴的标志^[11],在山麓和山脊立地上,不育株的 a/b 值较小,说明不育株较可育株耐阴,而路边的光照较林中充足,不育株耐阴性有微弱下降。所以不育株较适宜于土壤肥沃的立地,且较耐阴,可适当增加造林密度。

光照条件对可育株的叶绿素含量较土壤肥力影响大,路边及山脊光照充足,能较大幅度地增加可育株的叶绿素含量。

2.2 不同发育时期的硝酸还原酶活力

从表 3 可知,小孢子母细胞时期的不育株 NR 活力与可育株 NR 活力的比值较小孢子囊败育期的小。笔者推测不育株小孢子囊败育会引起氨基酸在其小孢子囊和枝叶中的积累增多,导致其 NR 活力的减弱,并受不育株的输导组织异常^[8]的影响。在营养生长期,合成的氨基酸可能多为枝叶和正常发育的雌球果所利用,抑制 NR 活力的因子消除, NR 活力则恢复本应有的水平,所以不育株与可育株的 NR 活力的比率增大为 138.1%。方差分析结果表明:在不育株的小孢子母细胞时期和小孢子囊败育期,不育株 NR 活力显著低于可育株的;在营养生长期,不育株的 NR 活力则极显著高于可育株,这说明杉木雄性不育株能较快地利用硝酸盐,与其生长较快相一致,在单位时间内能合成较多的氨基酸和蛋白质,并可能与营养生长期延长和

表 3 杉木雄性不育株与可育株不同发育时期的 NR 活力比较和方差分析

[单位: $\mu\text{mol NO}_2^- / (\text{h} \cdot \text{g Fw})$]

测定日期 (年—月—日)	山 麓				山 脊		路 边			
	4 年生嫁接株		9 年生嫁接株		9 年生嫁接株		16 年生实生株			
	S	F ₃	S	F ₁	S	F ₃	S	F ₁		
1991- 03- 03	0.024	0.030	0.021	0.025	0.024	0.026	0.022	0.028	0.020	0.022
1991- 04- 10	0.065	0.088	0.038 ^②	0.067	0.051	0.089	0.077 ^①	0.074	0.052	0.062
1991- 06- 10	0.265	0.189	0.205	0.152	0.231	0.168	0.254	0.196	0.216	0.143
测定日期 (年—月—日)	$\overline{\text{NR}}_s$		$\overline{\text{NR}}_F$		$\overline{\text{NR}}_s / \overline{\text{NR}}_F$		F 值	P		
1991- 03- 03	0.022 2		0.026 2		84. 7%		6. 57	0.05 > P > 0.01		
1991- 04- 10	0.051 5		0.076 5		67. 3%		7. 86	0.05 > P > 0.01		
1991- 06- 10	0.234 2		0.169 6		138. 1%		18. 02	P < 0.01		

注: ①山脊不育株的小孢子囊已完全败育, 其 NR 活力已趋正常, 故在方差分析中删除; ②0.038 偏低的原因是所测不育株枝条为曲枝, 其输导能力较直枝差, 使进入叶片的 NO_3^- 量减少, 引起 NR 活力下降; 不育株有 1/4 ~ 1/5 的小枝为曲枝, 所以方差分析也列入。

叶绿素含量较高有关。笔者认为不育株 NR 活力的这些变化是受核不育基因调控的结果。有关杉木不育株各种氨基酸含量的变化和氮素代谢的详细过程及与光合作用的关系有待于进一步的深入研究。

据对水稻、小麦、玉米、小黑麦、油菜、烟草和杉木等的研究: NR 活力与植物耐氮肥性呈负相关^[4]。在四月中旬前, 杉木不育株 NR 活力较弱, 植株对氮肥较不敏感, 施肥可适当增加; 而此后, 其 NR 活力较强, 则较不耐氮肥。

参 考 文 献

- 1 周国璋, 费学谦, 苏梦云. 不同生长速率的杉木硝酸还原酶活力比较. 林业科技通讯, 1985, (2): 6 ~ 8.
- 2 周国璋, 苏梦云. 杉木硝酸还原酶的初步研究. 林业科学, 1988, 24(2): 156 ~ 161.
- 3 周国璋, 林振武, 苏梦云. 林木硝酸还原酶体外测定方法的研究. 亚热带林业科技, 1987, 15(2): 99 ~ 105.
- 4 汤玉玮, 林振武, 陈敬祥. 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, 1985, (6): 39 ~ 45.
- 5 李豪吉, 林振武, 汤玉玮. 不同类型水稻幼苗的硝酸还原酶活力. 实验生物学报, 1983, 14(4): 407 ~ 409.
- 6 苏梦云, 周国璋. 树木组织中硝酸还原酶测定方法. 林业科技通讯, 1986, (7): 25 ~ 27.
- 7 张志良主编. 植物生理学实验指导(第二版). 上海: 上海植物生理研究所, 88 ~ 91.
- 8 吕洪飞, 李平, 余象煜, 等. 杉木雄性不育的形态学研究. 见: 毛树坚. 生命科学论文集(第一版). 杭州: 杭州大学出版社, 1992, 189 ~ 191.
- 9 黄寿松, 李万隆. 蓝标型小麦核雄性不育、保持系的选育研究. 作物学报, 1991, 17(2): 81 ~ 87.
- 10 Banga S S, Labana K S, Banga Shashi K. Male sterility in Indian mustard (*Brassica juncea* (L.) Coss.) — a biochemical characterization. Theor. Appl. Genet., 1984, 67: 515 ~ 519.
- 11 曲仲湘主编. 植物生态学(第一版). 北京: 人民教育出版社, 1980: 26 ~ 27.

Comparative Study on Chlorophyll Content and Nitrate Reductase Activity between Male Sterile and Fertile Plants in *Cunninghamia lanceolata*

Lu Hongfei Yu Xiangyu Li Ping He Fuji

Abstract This paper deals with the study on the chlorophyll content(Ch-C) and nitrate reductase (NR) activity in different developmental stages by comparing male sterile plant (MSP) with male fertile plant (MFP) of *Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook. The Ch-C of MSP is significantly higher than that of MFP on fertile soil; otherwise, it is lower than that of MFP. The Ch-C of MSP declined with the decrease of soil fertility. Within the forest, the ratio of chlorophyll a and b of MSP is smaller than that of MFP. It shows that MSP is more tolerant than MFP. MSP is suitable to grow on more fertile soil. Before the second ten days of April, the NR activity of MSP is obviously weaker than that of MFP, showing that it has higher level of nitrogen fertilizer-resistance. More fertilization may increase its Ch-C, and promote its growth. In nutritive growth stage, the NR activity of MSP is significantly higher than that of MFP, showing that MSP has higher ability of nitrate assimilation and grows fast.

Key words *Cunninghamia lanceolata*, male sterile plant, chlorophyll content, nitrate reductase activity, developmental stages

Lu Hongfei, Lecturer (Department of Biology, Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004); Yu Xiangyu, Li Ping (Department of Biology, Hangzhou University); He Fuji (Zhejiang Forest College).