

# 大豆不同品种的酰脲和酰脲 相对丰度比较\*

朱长甫 苗以农 梁秀英

(东北师范大学生物系)

## 提 要

大豆幼茎段酰脲和酰脲相对丰度(URA)之间呈显著正相关,品种间幼茎段酰脲与荚皮酰脲之间呈显著正相关。大豆品种间酰脲含量和酰脲相对丰度存在着明显差异,多数新品种或高产品种明显高于老品种。幼茎段酰脲相对丰度与种子蛋白质含量呈显著正相关,而幼茎段硝酸盐含量与种子蛋白质含量呈极显著负相关。

关键词 大豆;酰脲;酰脲相对丰度

酰脲在一些豆科植物中是根瘤固氮的主要输出产物,为含氮化合物贮存和转运的一种形式(Woo等1981, Jolivet和Mosse, 1982)。大豆木质部汁液中,酰脲占汁液氮素的86%(Israel等1980)。Matsumoto等(1975, 1977)首先报导了大豆根瘤重量的季节性变化与茎秆酰脲浓度的变化相一致。Yoneyama等(1985)施用尿素和 $\text{KNO}_3$  (20mM)于水培大豆,根瘤固氮活性明显受到抑制,木质部汁液中酰脲浓度显著降低,但尿素氮对植株固氮活性的抑制作用比硝态氮小。Patterson和LaRue(1983)指出幼茎和叶柄的酰脲浓度能够表明固氮基因型的相对排列顺序,是评价固氮基因型相对差异的有用指标。Gostick等(1985)利用大豆荚皮酰脲浓度做为快速选育高固氮植株筛选技术。Herridge(1982)利用茎秆和叶柄的酰脲相对丰度值 $[\text{酰脲氮}/(\text{酰脲氮} + \text{硝态氮}) \times 100]$ 估算大田大豆的固氮量。Patterson和LaRue(1983)认为酰脲相对丰度能矫正土壤硝酸盐对酰脲浓度的影响,比单独用酰脲浓度估测植株固氮能力更精确。

\* 国家自然科学基金资助项目之一。

本文于1990年5月26日收到。 This paper was received on May 26, 1990.

本文通过对大豆不同品种的酰胺、酰胺相对丰度和硝酸盐( $\text{NO}_3^-$ )的分析和比较,试图为育种提供选择指标。

## 材料和方法

大豆 [*Glycine max* (L.) Merr.] 有老品种金元 1 号、满仓金、小金黄 1 号和大白眉, 新品系吉林 20 号、长农 4 号、辽豆 3 号和 Amsoy (美国高产品种) 及 Harosoy 结瘤非结瘤同位基因系, 于 1987 年 4 月 24 日播于东北师大校园试验田, 行距 50cm, 株距 10cm, 每个品种小区面积为 3—10m<sup>2</sup>, 田间管理同一般农圃。试验田土壤中含有机质为 2.64%, 全氮为 0.122%。于大豆不同生育期 (按 Fair 等描述 1971), 晴天下午 2 时采样, 每一品种掘取 8 株, 取幼茎段 (植株最上部一张完全展开叶节以上的主茎和叶柄), 在生殖生长期还采取中上部节 (第 10—15 节) 上的荚皮和籽粒。将样品在 60°C 恒温下烘干 48 小时, 磨成粉状, 用于分析酰胺, 硝酸盐和全氮含量。

**酰胺测定** 植物组织中酰胺 (原氨酸 + 原氨酸) 用 50% (V/V) 乙醇的 0.1mol/l 磷酸缓冲液 (pH7.0) 于 80°C 水浴锅中萃取 10min, 3000r/min 离心 15min, 取上清液, 按照徐志伟和刘承宪 (1986) 的方法测定。

**硝酸盐测定** 植物组织中硝酸盐用去离子水, 于 50°C 水浴锅中萃取 1 小时, 3000r/min 离心 15min, 取上清液, 按照 Canfield 等 (1975) 方法测定。

酰胺相对丰度的计算按 Hemming (1982) 法。

用 Tecator(ab) 型半自动凯氏定氮仪测种子蛋白质含量。

## 结果与分析

### 1. 大豆植株各器官酰胺含量的季节性变化

幼茎段酰胺含量在营养 (V<sub>1</sub>) 较高, 以后下降, 营养生长时期 (V<sub>2-3</sub>) 降至较低水平, 开花期 (R<sub>1</sub>) 以后迅速增加, 鼓粒初期 (R<sub>2</sub>) 达最大值, 以后逐渐降低 (图 1)。此期酰胺含量的降低, 可能是酰胺从茎运出, 荚果是主要库, 或降解和同化为其它含氮化合物所致 (Thomas 等 1981)。

荚皮酰胺含量在结荚末期 (R<sub>1</sub>) 达最大值, 鼓粒期迅速下降 (图 2)。

### 2. 大豆植株幼茎段硝酸盐和酰胺相对丰度的季节性变化

幼茎段硝酸盐含量在苗期 (V<sub>1</sub>) 较高, 随生育进程逐渐下降 (图 1), 与 Patterson 等 (1983) 研究结果一致。

幼茎段酰胺相对丰度在营养生长时期较低, 开花期 (R<sub>1</sub>) 以后迅速增加, R<sub>2</sub> 期达最大值, 以后又逐渐下降 (图 1)。硝酸盐含量逐渐降低和酰胺相对丰度的不断增加, 表明这段时期大豆氮素营养从主要依赖于化合态氮素向主要依赖于共生固氮的转化过程。

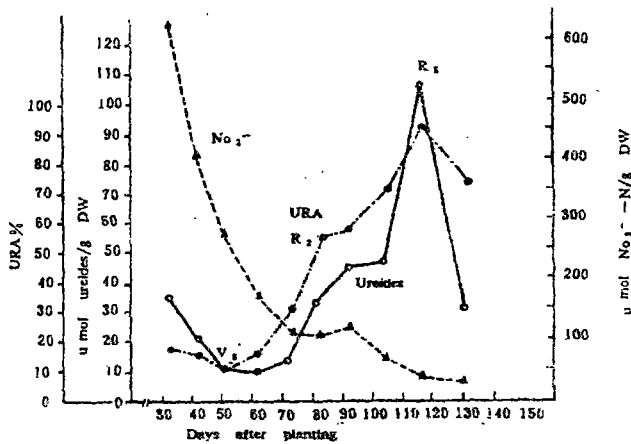


图1 大豆幼茎段酰胺、 $\text{NO}_3^-$ 和酰胺相对丰度的季节性变化(8个品种均值)

Fig. 1 Seasonal changes of ureides, nitrate and the relative abundance of ureides (URA) in young stems (mean of 8 cultivars)

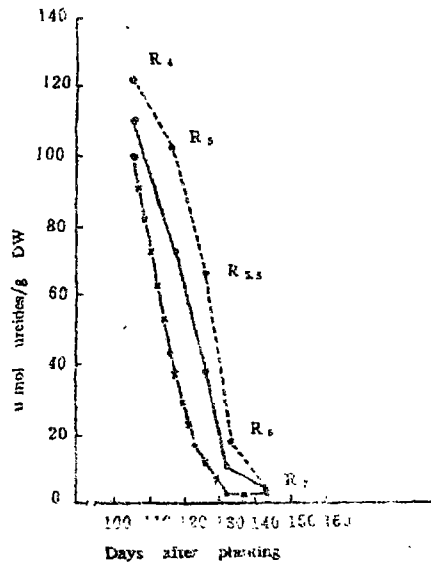


图2 大豆荚皮酰胺含量的季节性变化

Fig. 2 Seasonal changes of ureide content in pod shells

—— 8个品种均值 Total mean of 8 cultivars —×— 4个老品种均值 Mean of 4 old cultivars  
 - - - - 4个新品种均值 Mean of 4 new cultivars

籽粒酰胺含量较茎和荚皮等器官低。籽粒酰胺含量在不同生育期也不同,结荚末期( $R_4$ )较高,以后下降,生理成熟始期( $R_7$ )又有回升(图3)。

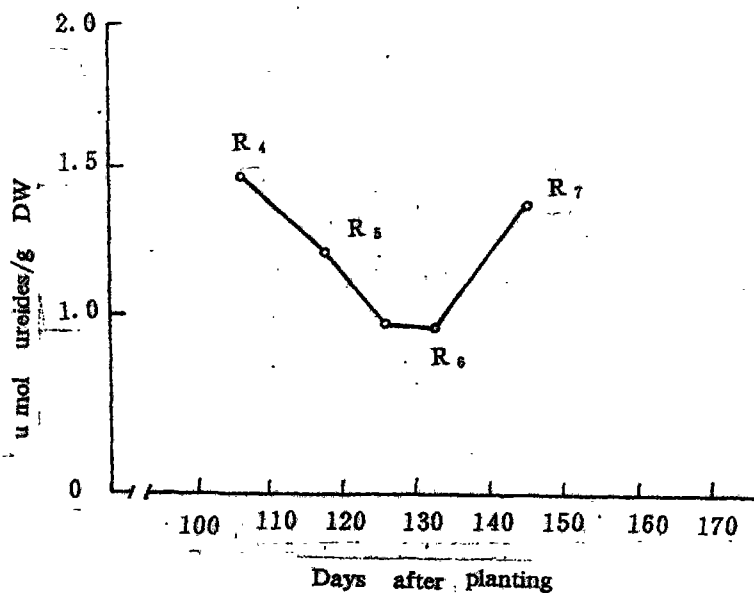


图3 大豆籽粒酰脲含量的季节性变化  
(8个品种平均值)

Fig. 3 Seasonal changes of seed uricide content (mean of 8 cultivars)

### 3. 大豆不同品种酰脲含量的差异

供试 8 个大豆品种幼茎段酰脲含量总平均值为  $35.15 \mu\text{mol/gDW}$ , 品种间变异系数为 18.27%, 幼茎段酰脲含量品种间有明显差异。多数新品种或高产品种幼茎段酰脲含量高于老品种, 如新品种辽豆 3 号幼茎段酰脲含量较高, 其值为  $46.10 \mu\text{mol/gDW}$ , 而老品种小金黄 1 号则较低, 为  $27.79 \mu\text{mol/gDW}$  (表 1)。

8 个大豆品种荚皮酰脲含量总平均值为  $46.81 \mu\text{mol/gDW}$ , 品种间变异系数为 35.15%, 有明显差异。新品种或高产品种荚皮酰脲含量明显高于老品种 (表 1)。

### 4. 大豆不同品种幼茎段硝酸盐和酰脲相对丰度

供试 8 个大豆品种幼茎段硝酸盐含量总平均值为  $207.67 \mu\text{mol/gDW}$ , 品种间变异系数为 18.06%, 有明显差异。其中新品种吉林 20 号硝酸盐含量较高, 而老品种大白眉则较低 (表 1)。

8 个大豆品种幼茎段酰脲相对丰度总平均值为 44.15%, 品种间变异系数为 11.46%。除吉林 20 号外, 新品种辽豆 3 号、长农 4 号和高产品种 Amsoy 幼茎段酰脲相对丰度高于老品种金元 1 号和满仓金 (表 1)。大豆幼茎段酰脲相对丰度与硝酸盐含量呈负相关趋势, 新品种吉林 20 号幼茎段酰脲相对丰度较低, 但其幼茎段硝酸盐含量较高。

### 5. 酰脲、硝酸盐和酰脲相对丰度与种子蛋白质含量间的相关性

幼茎段酰脲含量与硝酸盐含量呈负相关 (表 2); 这与 Patterson 等 (1983) 的幼茎段酰脲与硝酸盐含量呈显著负相关的结果相似。幼茎段酰脲与幼茎段酰脲相对丰度呈显著正相关; 幼茎段硝酸盐含量与酰脲相对丰度呈显著负相关 (表 2), 这与 Patterson 等 (1983) 研

究结果一致。供试大豆品种种子蛋白质含量是不同的(表 1)。幼茎段硝酸盐含量与种子蛋白质含量呈极显著负相关( $r = -0.9020^{**}$ )。幼茎段酰脲与种子蛋白质含量呈正相关趋势,而幼茎段酰脲相对丰度与蛋白质含量呈显著正相关(表 2)。Harosoy 结瘤品系幼茎中所含的酰脲比 Harosoy 非结瘤品系多,结瘤品系和非结瘤品系在酰脲含量方面的差异,是随着生育时期的进程而增加的。Harosoy 结瘤品系种子蛋白质含量比非结瘤品系高 16% 以上(表 3)。由此可见,固氮对大豆荚和种子的发育有较大贡献,酰脲可能在种子蛋白质

表 1 大豆不同品种酰脲、硝酸盐、URA 和种子蛋白质含量

Table 1 Ureides, nitrate, the relative abundance of ureides(URA) and seed protein content of different soybean cultivars

品 种 Cultivars	幼 茎 Young stem ++			荚皮酰脲 Ureides in pod shells +	种子蛋白质 Seed protein
	酰 脲 Ureides	硝 酸 盐 Nitrate	酰脲丰度 URA		
	umol/gDW	umol/gDW	%		%
金 元 1 号 Jinyuan 1	32.72	214.48	39.98	28.15	40.94
满 仓 金 Manchangjin	31.14	213.80	40.66	34.18	41.44
小金黄 1 号 Xiaojinhuang 1	27.79	207.43	40.26	28.43	40.63
大 白 眉 Dabaimai	31.65	164.66	48.00	36.49	42.63
阿 姆 索 Amsoy	40.27	177.15	48.74	63.04	41.25
吉 林 20 号 Jilin 20	30.61	289.25	37.26	58.05	38.75
长 农 4 号 Changnong 4	40.95	189.86	49.77	59.62	41.94
辽 豆 3 号 Liaodou 3	46.10	204.74	48.56	66.53	42.00
平 均 Mean	35.15	207.67	44.15	46.81	41.20
变异系数 C.V. %	18.27	18.06	11.46	35.15	2.86

+ 5个生殖生长时期平均 + Means of five reproductive stages (R4,R5,R5.5,R6,R7)

++ 10个不同生育时期平均

+--+ Means of ten different developmental stages (V3,V4,V5-6,V8-9,V10,R2,R3,R4,R5,R6).

合成中起重要作用 (Ishizuka 1972, Fujihara 等 1977, 石塚潤爾 1982)。

表 2 酰脲、硝酸盐、URA 与种子蛋白质含量之间的相关性

Table 2 Correlation between ureide, nitrate, the relative abundance of ureides (URA) and seed protein content

		幼 茎 Young stem			种子蛋白质 Seed protein
		酰 脲 Ureides	硝 酸 盐 Nitrate	酰脲丰度 URA	
幼	酰 脲 Ureides		-0.3267	0.7693 *	0.4403
	硝 酸 盐 Nitrate			-0.7754 *	-0.9020 **
茎	酰脲丰度 URA				0.7866 *
荚皮酰脲 Pod shells Ureides		0.7978 *	0.0878	0.5316	-0.0290

\*, \*\* 分别为 5% 和 1% 显著水平 Significant at 5 and 1% levels, respectively.

表 3 Harrosoy 结瘤、非结瘤同位基因系幼茎段酰脲和种子蛋白质含量

Table 3 Young stem ureide and seed protein content in nodulating and nonnodulating Harrosoy isolines

阿罗素同位基因系 Harrosoy isolines	幼茎酰脲 Young stem ureides ( $\mu\text{mol/gDW}$ )					种子蛋白质 Seed protein (%)
	V <sub>6</sub>	V <sub>6-8</sub>	V <sub>10-11</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>5</sub>	
结瘤 Nod	15.16	27.05	43.98	83.91	113.34	45.69
非结瘤 Nonnod	11.85	15.73	7.17	8.67	14.25	39.29

## 讨 论

大豆植株幼茎段的酰脲与酰脲相对丰度呈显著正相关,幼茎段的酰脲含量与荚皮酰脲含量呈显著正相关。这将利用幼茎段的酰脲含量(Patterson 和 LaRue 1983)和荚皮酰脲(Gostick 等 1985)含量做为估算大田大豆固氮作用能力的一个指标统一起来。酰脲、酰脲相对丰度与根瘤固氮酶活性(乙炔还原)呈显著正相关(Patterson 和 LaRue 1983)。大豆新品种根瘤固氮酶活性高于老品种,且根瘤固氮酶活性与荚皮和幼茎段酰脲及酰脲相对丰度均呈显著正相关。供试多数新品种和高产品种幼茎段的酰脲和酰脲相对丰度及荚皮酰脲含量明显高于老品种。这表明新品种与老品种相比具有较高的固氮能力,这是人们在长期品种选育过程中有意无意地选择的结果。木质部汁液中的酰脲含量(导管汁液中酰脲测定 Herridge 1984)较茎组织的酰脲含量做为固氮能力指标更好一些。但是由于木质部汁液中酰脲在田间很难收集。而幼茎段和荚皮中尿囊素和尿囊酸的测定方法经济易行,且又不

破坏整个植株,有可能成为大豆育种上鉴定固氮作用指标之一。

大豆荚皮酰胺浓度在结荚末期较高,鼓粒期逐渐下降,与老品种相比,新品种或高产品种荚皮酰胺含量下降的速度较慢,即新品种或高产品种荚皮酰胺含量高峰值持续时间较长,这可能对于蛋白质含量占40%左右大豆籽粒的形成是有益的。大豆氮素同化作用有硝酸盐还原和共生固氮作用两个系统。新品种吉林20号幼茎段硝酸盐含量较高,与硝酸盐同化能力之间关系如何?有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] 徐志伟,刘承亮,1986,豆科植物中酰胺含量的测定。植物生理通讯(4):60—62
- [2] 石塚清嗣,1982,固定窒素と肥料窒素の生理的機能。田中明编,作物比较栄養生理,学会出版ヤンク,167—171
- [3] Cataldo DA, Haroon M, Schrader LE, Youngs VL. 1975, Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissues. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 6:71—80.
- [4] Fehr WR, Caviness CE, Buymood DT, Pennington JS. 1971, Stage of development description for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. Crop Sci. 11:929—939.
- [5] Fujihara S, Yamamoto K, Yamaguchi M. 1977, A possible role of allantoin and influence of nodulation on the production in soybean plants. Plant Soil 48:233—242.
- [6] Gostick AM, Hume DJ. 1985, Selection for high-nitrogen-fixing soybean genotype. Can. J. Plant Sci. 65:1110.
- [7] Herridge DF. 1982, Relative abundance of ureides and nitrate in plant tissues of soybean as a quantitative assay of nitrogen fixation. Plant Physiol. 70:1—6.
- [8] Herridge DF. 1984, Effects of nitrate and plant development on the abundance of nitrogenous solutes in root-bleeding and vacuum-extracted exudates of soybean. Crop Sci. 24:173—179.
- [9] Ishizuka J. 1972, Physiological role of soluble nitrogenous on vegetative growth and seed protein formation of soybean plants. Res. Bull. Hokk. Nat. Agric. Exp. Sta. 101:51—121(in Japanese); English summary PP. 119—121.
- [10] Israel DW, McClure PR. 1980, Nitrogen translocation in the xylem of soybeans. PP. 111—127. In FD T. Corbin(ed.) World soybean research conference II; Proceedings. Westview Press, Boulder, Colorado.
- [11] Jolivet E, Mosse J. 1982, Ureides in Legumes. In Arora SK (ed.) Chemistry and Biochemistry of Legumes. PP. 198—212
- [12] Matsumoto T, Yamamoto Y, Yatazawa M. 1975, Role of root nodules in the nitrogenous nutrition of soybean. I. Function of allantoin and some other plant constituents in the growing period. J. Sci. Soil Manure Jpn. 46:471—477.
- [13] Matsumoto T, Yamamoto Y, Yatazawa M. 1977, Effects of exogenous nitrogen compounds on the concentration of allantoin and various constituents in several organs of soybean plants. Plant Cell Physiol. 18:615—624.
- [14] Patterson TG, LaRue TA. 1983,  $N_2$  fixation ( $C_2H_2$ ) and ureide content of soybeans; Ureides as an indicator of fixation. Crop Sci. 23:825—831.
- [15] Thomas RJ, Schrader LE. 1981, Ureide metabolism in higher plants. Phytochemistry 20:361—371.
- [16] Yoneyama T, Karasuyama M, Kouchi H, Ishizuka J. 1985, Occurrence of ureide accumulation in soybean plants: Effect of nitrogen fertilization and  $N_2$  fixation. Soil Sci. Plant Nutr. 31:133—140.
- [17] Woo KC, Atkins CA, Pate JS. 1981, Ureide synthesis in a cell-free system from cowpea (*Vigna unguiculata*

L. Walp. ) nodules. Plant Physiol. 67:1156—1160.

## COMPARATIVE STUDIES ON UREIDES AND RELATIVE ABUNDANCE OF UREIDES IN DIFFERENT SOYBEAN CULTIVARS

Zhu Changfu

Miao Yinong

Liang Xuying

(Biology Department, Northeast Normal University, Changchun)

The analysis of ureides in young stems (including petioles) and pod shell provides a method to estimate  $N_2$  fixation for eight soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivars (four new cultivars and four old ones) grown in the field. Young stem ureide content was significantly positively correlated with the relative abundance of ureides (URA) in young stems. A significant positive correlation between ureides in young stems and pod shell ureide content was observed. There were obvious cultivar—specific differences on ureide content and URA. Ureide content and URA were significantly higher in the new or higher yielding soybean cultivars than in old ones (Table 1). This is the result of long—term selection in cultivation and breeding. Ureide content in young stems and pod shells can be used as an index of nitrogen fixation in soybean breedings. The relative abundance of ureides in young stems was significantly positively correlated with seed protein content. Ureide content in young stems was positively correlated with seed protein content. The correlation between young stem nitrate and seed protein content was significantly negative (Table 2). Ureides is likely to play an important role in the seed protein biosynthesis.

Key words Soybean; Ureides; Relative abundance of ureides (URA)