

氮素对不同来源大豆氮代谢相关指标的影响

张瑞朋¹, 杨德忠², 傅连舜², 卢铁钢², 孙国伟², 谢甫绀¹

(1. 沈阳农业大学农学院, 沈阳 110161; 2. 铁岭市农业科学院, 铁岭 112616)

摘要 在田间条件下, 以 12 个不同来源大豆品种为试验材料, 采用二因素裂区设计, 研究了不同大豆品种间叶片氮代谢相关指标的差异, 以及氮素对叶片氮代谢相关指标的影响。结果表明: 氮肥处理对不同来源大豆品种叶片氮代谢指标影响不同, 不同生育时期大豆对氮肥的反应也有所差别。施肥处理会降低开花期辽宁当代品种叶片的谷氨酰胺合成酶 (GS) 活性; 中等肥力处理 (100 kg hm^{-2}) 会提高结荚期俄亥俄当代品种叶片的 GS 活性, 而高肥处理则会降低该酶的活性; 辽宁当代品种和辽宁老品种叶片 GS 活性随着施氮量的提高而降低。在鼓粒期, 中等肥力处理会提高俄亥俄当代品种和辽宁当代品种叶片的 GS 活性, 而施肥处理会降低辽宁老品种的 GS 活性。在开花期, 三组不同来源品种叶片的确态氮含量均随着施氮水平的提高而增加。施肥处理能显著提高叶片的氨态氮含量。

关键词 大豆; 氮; 谷氨酰胺合成酶; 硝态氮; 氨态氮

中图分类号 S565.1 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2007)05-0718-05

EFFECT OF NITROGEN ON NITROGEN METABOLISM CORRELATION INDEX OF SOYBEAN CULTIVARS FROM DIFFERENT REGIONS

ZHANG Rui-peng¹, YANG De-zhong², FU Lian-shun², LU Tie-gang², SUN Guo-wei², XIE Fu-ti¹

(1. Agronomy College of Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161; 2. Tieling Academy of Agricultural Sciences, Tieling 112616)

Abstract Nitrogen is the important element for growth and development of soybean. Twelve soybean cultivars from different regions were used to study the effect of nitrogen fertilizer on nitrogen metabolism correlation index in leaves, i. e. activity of glutamine synthetase (GS), content of nitrate-N and ammonia-N. The experiment was carried out by the split plot design in the field condition. The results showed that the effects of nitrogen fertilizer treatments on nitrogen metabolism related index in leaves of soybean cultivars from different regions were different. And the responses to nitrogen fertilizer treatments varied with growth stages. The activity of GS for Liaoning new cultivar (LNC) was decreased by nitrogen fertilizer treatments at flowering stage. The activity of GS for Ohio new cultivar (ONC) was increased by middle level of fertilizer treatment while decreased under high level of fertilizer treatment at podding stage. The activity of GS was decreased with the fertilizer levels improved for LNC and Liaoning old cultivar (LOC) at podding

收稿日期: 2007-05-08

基金项目: 辽宁省科学技术计划项目 (2006201008); 辽宁省教育厅科技项目 (05L378) 资助

作者简介: 张瑞朋 (1979-), 男, 在读博士研究生, 主要从事大豆产量生理研究。

通讯作者: 谢甫绀, 教授, 博士生导师。E-mail: snssoybean@yahoo.com.cn

stage. The activity of GS was increased by the middle level of fertilizer treatment for ONC and LNC at grain filling stage. The activity of GS was decreased by the fertilizer treatment for LOC at grain filling stage. The content of nitrate-N was increased with nitrogen level improved for three group soybean cultivars at blooming stage. The content of ammonia-N in leaf was increased by nitrogen fertilizer treatments.

Key words Soybean; Nitrogen; Glutamine synthetase; Nitrate-N; Ammonia-N

氮是大豆生长发育和产量形成的主要元素之一。它是构成大豆体内蛋白质的主要成分,是细胞质、细胞核、酶的组成成分。核酸、磷脂、辅酶、某些维生素等化合物中均含有氮^[1~3]。氮代谢在植物的生命活动中具有重要作用,大豆植物体内氮代谢的状况和水平对其生长发育、产量和品质都有明显的影响^[4]。

植物中氮以有机氮、硝态氮、亚硝态氮组成。有机氮是构成蛋白质的成分,表明植物正在利用的氮的含量;硝态氮是一种储藏形式的氮,而亚硝态氮很容易被氧化成硝态氮^[5]。硝态氮是旱地作物可利用的重要的氮素形态,植物吸收的 NO_3^- 只有转化为 NH_4^+ 后才能进一步被利用。就植物的生长和发育而言,氮素的同化是一个十分重要的生理过程。其中,无机氮必须同化为谷氨酰胺和谷氨酸等有机氮才能为植物体所吸收和利用^[6]。谷氨酰胺合成酶(Glutamine synthetase, GS)是涉及氨同化的关键酶^[7~9]。Thomas 和 Gonzalez 等^[10~12]证实,GS 活性的提高有利于植物铵同化和氮素转化。GS 是处于氮代谢中心的多功能酶,参与多种氮代谢的调节^[13]。

叶片硝态氮含量直接反映作物体内硝态氮累积与代谢情况,是作物的氮素营养、氮素同化利用与再利用状况的重要指标^[14]。游离氨基酸具有高度的生理活性,除参与蛋白质合成外,一些氨基酸能直接或间接地对代谢活动和生长发育进行调节。近年来氨基酸类物质在渗透调节、结构保护和代谢调控等方面的作用也受到越来越多的重视^[15,16]。

关于氮肥对大豆产量和品质的影响报道较多^[17~21],而有关氮肥对氮代谢生理指标影响的报道不多^[22]。本文研究了不同施氮水平对不同来源大豆品种叶片谷氨酰胺合成酶、硝态氮、氨态氮等生理指标的影响。以期为大豆合理施用氮肥提供必要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与设计

试验于 2006 年在铁岭市农业科学院大豆试验田进行,采用裂区设计方案,3 次重复。小区行长 5 m,行距 60 cm,6 行区,小区面积为 18 m²,种植密度为 15 万株/hm²,株距 11 cm。品种为主因素,氮肥用量为副因素。

选用结荚习性(均为亚有限型)相同,但育成年代和地点不同的有代表性大豆品种 12 个,将 12 个品种分为 3 组,4 个品种为一组。俄亥俄州立大学育成的当代大豆品种 4 个:HS93 - 4118、OhioFG1、Darby、Kottman(来自美国俄亥俄州立大学);辽宁省当代育成大豆品种 4 个:辽豆 11、辽豆 12、沈农 94 - 11、沈豆 4 号;辽宁省 20 年代老品种 4 个:Shingto、Mukden、Harbinsoy、Boone(来自美国大豆种质资源库)。供试肥料为尿素(氮含量为 46%)。尿素采用苗期追肥处理,设置 3 个水平,分别为 0、100、200 kg hm⁻²。

1.2 测定指标及方法

在开花期、结荚期、鼓粒期,剪取各处理的倒三、四叶片装于塑封袋内,带回实验室冷冻于 -40℃ 低温冰柜内,用于测定氮代谢相关指标。参考赵世杰^[23]的方法测定大豆叶片谷氨酰胺合成酶;参照邹琦^[24]的方法测定大豆叶片的硝态氮含量;参考张宪政^[25]的方法测定大豆叶片氨态氮含量。

2 结果与分析

2.1 氮素对不同来源品种叶片谷氨酰胺合成酶的影响

从表 1 可知,在开花期,俄亥俄当代品种叶片 GS 活性最高,其次是辽宁老品种,辽宁当代品种叶片 GS 活性最低,并且与俄亥俄当代品种达到了显著水平。在结荚期与鼓粒期,叶片 GS 活性顺序为:辽宁老品种 > 俄亥俄当代品种 > 辽宁当代品种。三组品种叶片 GS 活性都是开花期最高,结荚期次之,鼓粒期最低。

表 1 不同来源大豆品种叶片谷氨酰胺合成酶

活性的比较(OD mg⁻¹protein h⁻¹)

Table 1 Comparison on glutamine synthetase activity in leaves of soybean cultivars from different regions

生育时期 Growth stage	品种 Cultivar		
	俄亥俄当代 品种 ONC	辽宁当代 品种 LNC	辽宁老 品种 LOC
开花期 BLS	0.956 aA	0.693 bA	0.821 abA
结荚期 POS	0.619 bAB	0.550 bB	0.756 aA
鼓粒期 GFS	0.591 bA	0.535 cB	0.628 aA

ONC: Ohio new cultivar; LNC: Liaoning new cultivar; LOC: Liaoning old cultivar. The same as below.

BLS: Blooming stage; POS: Podding stage; GFS: Grain filling stage. The same as below.

从表 2 可知,在开花期,施肥处理对俄亥俄当代品种和辽宁老品种叶片 GS 活性影响不大,处理间未达到显著水平;而施肥处理会降低辽宁当代品种

表 2 不同氮素水平对大豆叶片谷氨酰胺合成酶活性的影响(OD mg⁻¹protein h⁻¹)

Table 2 Effect of different nitrogen levels on glutamine synthetase activity in soybean leaves

品种 Cultivar	施肥水平 Fertilizer level /kg hm ⁻²	生育时期 Growth stage		
		开花期 BLS	结荚期 POS	鼓粒期 GFS
俄亥俄当代品种	0	0.995 aA	0.688 aA	0.522 bB
ONC	100	0.997 aA	0.770 aA	0.722 aA
	200	0.875 aA	0.398 bB	0.529 bB
辽宁当代品种	0	1.100 aA	0.744 aA	0.555 aA
LNC	100	0.473 bB	0.627 aA	0.610 aA
	200	0.506 bB	0.279 bB	0.440 bB
辽宁老品种	0	0.898 aA	1.022 aA	0.766 aA
LOC	100	0.836 aA	0.689 bB	0.590 bB
	200	0.730 aA	0.557 bB	0.526 bB

不同小写字母和大写字母分别表示显著和极显著差异水平。以下相同。

Values followed by different lowercase or capital letter are significantly different at the 0.05 or 0.01 probability level, respectively. The same as below.

叶片的 GS 活性,并且达到了极显著水平。在结荚期,中等肥力处理(100 kg hm⁻²)会提高俄亥俄当代品种叶片的 GS 活性,而高肥力处理会降低该酶的活性,并且高肥力处理与其它处理差异达到了极显著水平;辽宁当代品种和辽宁老品种叶片 GS 活性

随着施氮量的提高而降低。在鼓粒期,中等肥力处理会提高俄亥俄当代品种和辽宁当代品种叶片的 GS 活性,其中,俄亥俄当代品种中等肥力处理与其它处理达到了极显著水平;随着施氮水平提高,辽宁老品种的 GS 活性逐渐降低,并且施肥处理与对照达到了极显著水平。

2.2 氮素对不同来源大豆品种叶片硝态氮的影响

从表 3 可知,在开花期,辽宁老品种叶片硝态氮含量最高,辽宁当代品种次之,俄亥俄当代品种叶片硝态氮含量最低。在结荚期,俄亥俄当代品种叶片硝态氮含量最高,辽宁老品种次之,辽宁当代品种叶片硝态氮含量最低。在鼓粒期,辽宁老品种叶片硝态氮含量最高,并且与其它两组品种差异达到了极显著水平。除辽宁老品种外,其它两组品种叶片硝态氮含量均为开花期最高,结荚期次之,鼓粒期含量最低。

表 3 不同来源大豆品种叶片硝态氮含量的比较(mg g⁻¹)

Table 3 Comparison on nitrate contents in leaves of soybean cultivars from different regions

生育时期 Growth stage	品种 Cultivar		
	俄亥俄当代品种 ONC	辽宁当代品种 LNC	辽宁老品种 LOC
开花期 BLS	0.207 aA	0.214 aA	0.227 aA
结荚期 POS	0.115 aA	0.097 aA	0.101 aA
鼓粒期 GFS	0.097 bB	0.094 bB	0.119 aA

从表 4 可知,在开花期,三组品种叶片的硝态氮含量均随着施氮水平的提高而增加,其中,施肥处理极显著提高了辽宁老品种叶片硝态氮含量。在结荚期与鼓粒期,三组品种高肥力处理叶片硝态氮含量均高于中等肥力处理。

2.3 氮素对不同来源大豆品种叶片氨态氮的影响

从表 5 可知,在开花期,辽宁老品种氨态氮含量最高,并且与其它两组品种差异达到了极显著水平,俄亥俄当代品种次之,辽宁当代品种氨态氮含量最低。在结荚期,三组品种叶片氨态氮含量差异不显著,辽宁当代品种氨态氮含量较高。在鼓粒期,俄亥俄当代品种叶片氨态氮含量最高,辽宁当代品种次之,辽宁老品种叶片氨态氮含量最低。俄亥俄当代品种叶片氨态氮含量鼓粒期最高,辽宁当代品种氨态氮含量结荚期最高,而辽宁老品种氨态氮含量开花期最高。

表 4 不同氮素水平对大豆叶片硝态氮含量的影响(mg g⁻¹)

Table 4 Effect of different nitrogen levels on nitrate content in soybean leaves

品种 Cultivar	施肥水平	生育时期 Growth stage		
	Fertilizer level	开花期	结荚期	鼓粒期
	/kg hm ⁻²	BLS	POS	GFS
俄亥俄当代品种	0	0.196 aA	0.126 aA	0.116 aA
ONC	100	0.209 aA	0.092 bB	0.084 cB
	200	0.218 aA	0.127 aA	0.092 bB
辽宁当代品种	0	0.206 aA	0.131 aA	0.116 aA
LNC	100	0.217 aA	0.065 cB	0.081 bB
	200	0.219 aA	0.096 bAB	0.086 bB
辽宁老品种	0	0.163 bB	0.128 aA	0.160 aA
LOC	100	0.239 aA	0.077 bB	0.084 cC
	200	0.279 aA	0.099 bAB	0.115 bB

表5 不同来源大豆品种叶片氨态氮含量的比较 (mg g⁻¹)

Table 5 Comparison on ammonium content in leaves of soybean cultivars from different regions

生育时期 Growth stage	品种 Cultivar		
	俄亥俄当代品种	辽宁当代品种	辽宁老品种
	ONC	LNC	LOC
开花期 BLS	0.344 bB	0.326 bB	0.435 aA
结荚期 POS	0.364 aA	0.377 aA	0.370 aA
鼓粒期 GFS	0.375 aA	0.325 bB	0.306 cC

从表6可知,在开花期,俄亥俄当代品种与辽宁当代品种,叶片氨态氮含量随着施氮水平的提高而逐渐增加,其中,俄亥俄当代品种处理间差异达到了极显著水平,辽宁当代品种中等肥力处理和高肥力处理与对照相比,差异达到了极显著水平。施肥处理也会提高辽宁老品种叶片的氨态氮含量,中等肥力处理氨态氮含量最高,与对照相比差异极显著。在结荚期,随着施氮水平的提高,三组品种叶片氨态氮含量逐渐增加,并且三组品种施肥处理与对照相比差异均达到了极显著水平。在鼓粒期,俄亥俄当代品种与辽宁老品种叶片氨态氮含量均为中等肥力处理最高,并且与对照相比差异达到了极显著水平;随着施氮水平提高,辽宁当代品种叶片氨态氮含量逐渐增加。

表6 不同氮素水平对大豆叶片氨态氮含量的影响 (mg g⁻¹)

Table 6 Effect of different nitrogen levels on ammonium content in soybean leaves

品种 Cultivar	施肥水平	生育时期 Growth stage		
	Fertilizer level	开花期	结荚期	鼓粒期
	/kg hm ⁻²	BLS	POS	GFS

俄亥俄当代品种	0	0.059 cC	0.121 bB	0.357 cB
ONC	100	0.439 bB	0.469 aA	0.393 aA
	200	0.533 aA	0.502 aA	0.374 bAB
辽宁当代品种	0	0.054 cB	0.126 cB	0.310 bB
LNC	100	0.440 bA	0.474 bA	0.325 abAB
	200	0.484 aA	0.531 aA	0.340 aA
辽宁老品种	0	0.277 bB	0.130 bB	0.286 bB
LOC	100	0.515 aA	0.459 aA	0.345 aA
	200	0.514 aA	0.522 aA	0.287 bB

3 结论与讨论

不同形态 N 素对植物体内的 GS 活性有不同影响。陈煜等^[22]认为,不同氮源均能提高大豆 GS 活性,而 NH₄⁺-N 处理效果最明显。因为 NH₄⁺-N 是 GS 的底物,可以促进 GS 活性的提高。本研究认为,氮肥处理对不同来源大豆叶片 GS 影响不同,不同生育时期对于氮肥的反应也有所差别。开花期,施肥处理会降低辽宁当代大豆品种叶片的 GS 活性,结荚期,中等肥力处理(100 kg hm⁻²)能提高俄亥俄当代大豆品种叶片的 GS 活性,而高肥力处理则降低了该酶的活性,并且高肥处理与中肥和对照差异达到了极显著水平。辽宁当代品种和辽宁老品种叶片 GS 活性随着施氮量的提高而降低。在鼓粒期,中等肥力处理能提高俄亥俄当代大豆品种和辽宁当代大豆品种叶片的 GS 活性,施肥处理会降低辽宁老品种的 GS 活性。

在开花期,三组品种叶片的硝态氮含量均随着施氮水平的提高而增加。而在结荚期与鼓粒期,三组品种施肥处理叶片硝态氮含量均低于对照,原因还有待进一步探讨。

无论是新同化氮还是再分配氮,氨基酸是植株体内氮化物的主要存在方式和运输形式,它不但把氮素的吸收、同化与器官中蛋白质的合成和降解联系在一起,也是源库间实现氮素分配、转移、再分配的主要方式^[26]。氨基酸是组成蛋白质的基本单位,也是蛋白质的分解产物。植物根系吸收、同化的氮素主要以氨基酸和酰胺的形式进行运输^[27]。尿素施入土壤后,在土壤微生物分泌的尿素分解酶(简称尿酶)的作用下,把尿素中的酰胺态氮分解为氨态氮^[28]。本研究表明,在开花期、结荚期与鼓粒期,三组品种叶片中氨态氮含量都有所提高,原因可能

是尿素施用后,土壤中氨态氮含量提高所致。

参 考 文 献

[1] 董钻. 大豆栽培生理[M]. 北京:中国农业出版社,1997.

[2] Ma B L, Morrison K, Malcom J, et al. Canopy light reflectance and field greenness to assess nitrogen fertilization and yield of maize [J]. *Agronomy Journal*, 1996, 88 (3): 915 - 920.

[3] 张福锁. 环境胁迫与植物营养[M]. 北京:北京农业大学出版社,1993:127 - 141.

[4] 刘鹏,杨玉爱. 钼、硼对大豆氮代谢的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 1999, 5 (4): 347 - 351.

[5] 吕伟仙,葛滢,吴建之,等. 植物中硝态氮、氨态氮、总氮测定方法的比较研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2004, 24 (2): 204 - 206.

[6] 李常健,林清华,张楚富. 高等植物谷氨酰胺合成酶研究进展[J]. *生物学杂志*, 18(4): 1 - 3.

[7] Lam H M, Coschigano K T, Oliveria I C, et al. The molecular - genetics of nitrogen assimilation into aminoacids in higher plants [J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1996, 47: 569 - 593.

[8] 陈惠萍,徐朗莱. Ca^{2+} /CaM 在壳聚糖调控不结球白菜离体叶片氨同化关键酶活性中的作用[J]. *南京农业大学学报*, 2005, 28 (1): 34 - 38.

[9] 门中华,李生秀. CO_2 浓度对冬小麦氮代谢的影响[J]. *中国农业科学*, 2005, 38(2): 320 - 326.

[10] Thomas W Becket, Elisa Carrayol, Bertrand Hirel. Glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase isoforms in maize leaves localization, relative proportion and their role in ammonium assimilation or nitrogen transport [J]. *Panta*, 2000, 211: 800 - 806.

[11] Gonzalez-Moro B, Menu-Petite A, Lacuesta M, et al. Glutamine synthetase from mesophyll and bundle sheath maize cells: isoenzyme complements and different sensitivities to phosphino thricin[J]. *Plant Cell Reports*, 2000, 19(11): 1127 - 1134.

[12] 陈军文,刘强,荣湘民,等. 不同栽培法对饲用稻氮代谢关键酶活性的影响[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2005, 31(3): 238 - 241.

[13] 王月福,于振文,李尚霞,等. 氮素营养水平对冬小麦氮代谢关键酶活性变化和籽粒蛋白质含量的影响[J]. *作物学报*, 2002, 28(6): 743 - 748.

[14] 宋海星,王学立,王开运. 不同节位玉米叶片硝态氮含量及硝酸还原酶活性[J]. *陕西农业科学*, 2005(3): 72 - 74.

[15] Di Tomas J M. Membrane-mediated putrescine transport and its role in stress-induced phytoxicity [J]. *Plant Physiology*, 1989, 86: 338 - 340.

[16] 孙国荣,关肠,阎秀峰. Na_2CO_3 胁迫对星星草幼苗游离氨基酸含量的影响[J]. *植物研究*, 2000, 20(1): 69 - 72.

[17] 戴建军,程岩. 黑龙江省南部黑土不同施氮水平对大豆产量的影响[J]. *东北农业大学学报*, 2000, 31(3): 225 - 228.

[18] 吴魁斌,戴建军,赵久明,等. 不同施氮水平对大豆产量及氮肥利用率的影响[J]. *东北农业大学学报*, 1999, 30(4): 339 - 341.

[19] 金剑,刘晓冰,王光华,等. 氮素积累、分配与大豆产量的关系[J]. *大豆通报*, 1998, 6: 25.

[20] 赵力汉,吴春胜,郭午. 施氮对大豆生长发育的影响[J]. *吉林农业大学学报*, 1993, 15(1): 12 - 16.

[21] 裴宇峰,韩晓增,祖伟,等. 水氮耦合对大豆生长发育的影响 I. 水氮耦合对大豆产量和品质的影响[J]. *大豆科学*, 2005, 24(2): 106 - 111.

[22] 陈煜,朱保葛,张敬,等. 不同氮源对大豆硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶活性及蛋白质含量的影响[J]. *大豆科学*, 2004, 23(2): 143 - 146.

[23] 赵世杰,刘华山,董新纯. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业科技出版社,1998.

[24] 邹琦. 植物生理实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,2000.

[25] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京:农业出版社,1992.

[26] 王月福,于振文,李尚霞,等. 不同施肥水平对不同品种小麦籽粒蛋白质和地上器官游离氨基酸含量的影响[J]. *西北植物学报*, 2003, 23(3): 417 - 421.

[27] 王文平. 植物样品中游离氨基酸总量测定方法的改进[J]. *北京农学院学报*, 1998, 13(3): 9 - 13.

[28] 莫虹,赵秀春,王凤书. 长效尿素对大豆的增产效应[J]. *大豆科学*, 1991, 10(4): 335 - 338.