

施磷水平对不同基因型大豆品种硝酸还原酶活性影响

蔡柏岩^{1,2}, 葛菁萍¹, 祖 伟³

(1. 黑龙江大学生命科学学院, 哈尔滨 150080; 2. 黑龙江东方学院, 哈尔滨 150086; 3. 东北农业大学, 哈尔滨 150030)

摘要 选用东农 42(高蛋白品种)、合丰 25(中间型品种)、东农 46(高油品种)3 个基因型大豆品种作为试验材料, 采用盆栽, 在每 kg 土壤施 N 和 K₂O 各为 0.033 g 基础上, 设 P₀、P₅、P₁₀、P₁₅ 4 个 P 处理(即每 kg 土壤分别施 P₂O₅ 0、0.033、0.067、0.100 g)。采用活体法测定了硝酸还原酶(NR)的活性, 结果表明: 不同品种不同处理功能叶片 NR 活性从苗期至成熟期逐渐下降。同一品种不同处理间高蛋白品种和中间型品种 P₁₀ 处理叶片 NR 活性最高, 高油品种 P₅ 处理叶片 NR 活性最高。同一处理不同品种间功能叶片 NR 活性是高蛋白品种最高, 高油品种最低。三个品种中高蛋白品种 NR 活性最高, 说明其氮代谢能力强, 有利于提高蛋白质的含量。

关键词 大豆; 磷素水平; 硝酸还原酶活性

中图分类号 S565.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2007)03-0359-04

THE AFFECTION OF PHOSPHOURS LEVEL TO DIFFERENT GENOTYPE SOYBEAN NITRATE REDUCTASE(NR) ACTIVITIES

CAI Bai-yan^{1,2}, GE Jing-ping¹, ZU Wei³

(1. College of Life Science, Heilongjiang University, Harbin, 150080; 2. Heilongjiang East College, Harbin, 150086; 3. Northeast Agriculture University, Harbin, 150030)

Abstract Dongnong 42 (high protein cultivar), Hefeng 25 (middle cultivar) and Dongnong 46 (high soil cultivar), were detected to compare their NR activities. The soybeans were planted in pots and fertilized with 0.033 g of N and K₂O per kg soil, at the same time, four levels of phosphorous treatments were designed, which were P₀、P₅、P₁₀、P₁₅ (i. e. , 0、0.033、0.067、0.100 g of P₂O₅ per kg soil). The NR activities was determined with in vitro method. In each cultivar under each treatment, NR activities in functional leaves were gradually decreased from seedling stage to ripening stage; In the same cultivars under each treatment, the highest NR activities in functional leaves were at P₁₀ treatment in high protein variety and middle variety, at P₅ treatment in high oil variety. In the same treatment with each species, the NR activities in functional leaves were the highest in high protein variety and the lowest in high oil variety. The highest NR activities in high protein variety showed the best nitrogen metabolic activity and the increase of protein content.

收稿日期: 2006-08-08

基金项目: 黑龙江省教育厅资助项目(10543074)

作者简介: 蔡柏岩(1968-), 男, 副教授, 博士后, 主要从事作物生理生态及营养方面研究。Tel: 13936139957; E-mail: caibaiyan@126.com

Key words Soybean; Phosphorus level; NR activities

NR 是一种诱导酶和限速酶,影响作物中 NO_3^- 向 NO_2^- 的转化,它是作物氮素同化的第一个酶,也是一个限制酶,它的适应形成使植物可以有效地利用吸收的氮,提高 NR 的活性水平,提高植物利用氮素的效率, NR 活性的大小可作为大豆产量的生理指标^[1]。磷是植物生长发育的必需营养元素之一,是植物体生长代谢过程不可缺少的。磷能促进氮素代谢,是作物体内氮素代谢过程中的组成成份之一,如氨基转移酶,硝酸还原酶^[2]。磷还能提高豆科作物根瘤的固氮活性^[3]。目前关于大豆 NR 酶活性与磷素关系的研究尚少见报道。而国外的研究主要集中在磷素营养对大豆生理、蛋白质合成等方面^[4,5]。本文通过测定不同基因型大豆磷处理间功能叶片 NR 活性,了解磷素如何促进氮素的吸收,氮素如何诱导大豆形成 NR。以寻找不同基因型大豆 NR 活性最高的施磷水平,对丰富大豆高产优质栽培理论内容,有一定的意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验选用近年来黑龙江省推广面积比较大并具有代表性的 3 个品种作为试验材料,分别为东农 42 (高蛋白品种,蛋白质含量平均 46.04%,脂肪含量平均 19.33%)、东农 46 (高油品种,脂肪含量平均 23.32%,蛋白质含量平均 37.17%) 和合丰 25 (中间型品种,蛋白质含量平均 40.07%,脂肪含量平均 19.26%)。

1.2 试验设计

试验于 2004 年在哈尔滨工业大学糖业研究院试验站进行。土壤基础肥力为有机质 25.57 g/kg,全 N 1.73 g/kg、全 P 6.6 g/kg、全 K 23.2 g/kg、碱解 N 140.1 mg/kg、速效 P 15.44 mg/kg、速效 K 201 mg/kg, pH 6.9。

5 月 7 日播种,每盆留苗 3 株,生育期正常浇水除草,9 月 10 日收获。

试验采用盆栽,每盆装风干土 12.5 kg,装盆后与尿素、硫酸钾、磷酸二铵 3 种肥料混匀。施肥设施 N 量为 0.033 g/kg 土壤,施 K_2O 量为 0.033 g/kg 土壤,施 P_2O_5 量为 0、0.033、0.067、0.100 g/kg 土壤 4

个水平(代号分别为 P_0 、 P_5 、 P_{10} 、 P_{15}) , 3 个基因型大豆品种,每个品种 4 个处理,每个处理重复 30 次。盆钵周围设置了两行保护盆钵,取样后盆钵保留在原来位置不动,以减少边际效应。在苗期、分枝期、开花期、结荚期、鼓粒期、成熟期取样测定,功能叶片(具有光合能力的源叶)每次取样部位相同,取下的叶片立即用冰盒带回实验室测定。成熟期叶片取样时间为 9 月初,此时叶片还没有脱落,具有光合能力。

1.3 硝酸还原酶活性测定

采用活体法^[6]。取样在晴天上午 8~9 时,每个处理随机取样 5~10 株功能叶片(具有光合能力的源叶)装入冰盒立即带回实验室,剪下叶片,用水洗净,用吸水纸吸干表面水分。用打孔器打出直径 0.5~1.0 cm 的叶圆片,迅速称取 0.5 g 样品 4 份,分别置于 4 个 50 mL 三角瓶中。加入 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸缓冲液、0.2 mol·L⁻¹ 硝酸钾溶液和蒸馏水。然后把三角瓶放在真空干燥器内,接上真空泵抽气,使叶圆片沉于溶液中(如果没有真空泵,也可用 20 mL 注射器来代替,把反应液与叶圆片一起倒入注射器中,用手指堵住注射器出口的小空,然后用力拉注射器使之成为真空,如此抽气、放气、反复多次,也可抽掉叶圆片中的空气,使之沉于溶液中)。放气后,把三角瓶放入 30℃ 温箱中,使酶在暗中作用 30 min。保温后充分振荡三角瓶 2 min,分别吸取反应液 2 mL 于 4 支试管中,然后各加磺胺试剂 4 毫升及 α -萘胺试剂 4 mL,混匀。在 30℃ 温箱中保温 30 min,冷却后,用分光光度计在 520 nm 波长下比色。记录光密度。用同样方法绘制标准曲线。

2 结果与分析

同一品种不同处理间硝酸还原酶活性表现为:东农 42 在苗期随施磷量增加,叶片的硝酸还原酶活性逐渐提高,分枝期至成熟期 P_{10} 处理活性最高,其次为 P_5 处理(图 1);合丰 25 在苗期随施磷量增加叶片硝酸还原酶活性提高,从分枝期至成熟期 P_{10} 处理活性最高(图 2);东农 46 在苗期随施磷量增加硝酸还原酶活性提高,分枝期至成熟期表现为 P_5 处理活性最高,其次为 P_{10} 、 P_0 或 P_{15} 处理(图 3)。从三个品种 NR 活性比较看,生育期内活性高的,其收获时籽

粒中蛋白质含量高,高蛋白品种和中间型品种以 P_{10} 处理硝酸还原性活性最高,高油品种以 P_5 处理硝酸还原酶活性最高,高蛋白品种氮代谢活跃,叶片硝酸还原酶获得较高活性所需磷量大于高油品种,三个品种都是适量的施用磷肥有利于提高硝酸还原酶活性,不施磷或高施磷都抑制硝酸还原酶活性。

图1 磷素水平对东农42功能叶片NR活性的影响
Fig.1 Effect of different phosphorus level on GS activity in Dongnong 42 function leaves

图2 磷素水平对合丰25功能叶片NR活性的影响
Fig.2 Effect of different phosphorus level on NR activity in Hefeng 25 function leaves

图3 磷素水平对东农46功能叶片NR活性的影响
Fig.3 Effect of different phosphorus level on NR activity in Dongnong 46 function leaves

图4 三个品种 P_{10} 处理功能叶片NR活性变化动态
Fig.4 NR activity change trend in function leaves of three cultivars with P_{10} treatment

同一处理不同品种间硝酸还原酶活性的表现为:从苗期至分枝期三个品种之间差异不明显,从分枝期至成熟期东农42功能叶片硝酸还原酶活性最高,东农46功能叶片硝酸还原酶活性最低,合丰25处于二者之间(图4)。生育中后期始终是高蛋白品种硝酸还原活性最高,高油品种硝酸还原酶活性最低,说明硝酸还原酶活性与蛋白质合成关系密切,NR活性越高越有利于蛋白质合成。

从图1、2、3可以看出,生育期内不同基因型大豆不同处理间功能叶片NR活性的变化动态基本相同,苗期活性最高,随后逐渐下降,分枝期达到较低值,随后又略有升高,花期出现较小峰值,花期后逐渐下降至成熟期。经相关分析表明,苗期三个品种都表现出施磷量与NR活性呈显著正相关,东农42、合丰25、东农46三个品种相关系数分别为0.9826*、0.9551*、0.9914**(*表示0.05水平显著,**表示0.01水平显著),花期活性又略有升高。从品种和处理间的组合看,东农42 P_{10} 、合丰25 P_{10} 、东农46 P_5 三个组合为硝酸还原酶活性最高的组合。

3 讨论

据国内外文献,有关氮素对NR活性的影响报道较多,如增加施氮量能够提高小麦NR活性^[7];硝态氮能增加大豆NR活性,铵态氮能降低NR活性^[8];铵态氮抑制甜菜NR的活性^[9];施氮量增加能提高甜菜NR活性^[10]。另外,李科^[11]在饲料稻方面、李春喜^[12]在小麦方面、唐湘如^[13]在油菜方面有

相似的报道。由于氮素与植物氮代谢主要酶的关系最为密切,所以,国内外学者都集中在这方面的研究,还没有系统的研究磷素与氮代谢主要酶的关系。

研究表明,在生育期内硝酸还原酶活性苗期最高,其次为花期;施磷对硝酸还原酶活性有较大的影响,适宜的施磷有利于提高硝酸还原酶的活性,高蛋白品种和中间型品种以 P₁₀处理 NR 活性最高,高油品种以 P₅处理 NR 活性最高。同一处理不同品种间高蛋白品种 NR 活性最高,高油品种 NR 活性最低。大豆子粒中不含 NR。在植物 NR 活性与磷素关系方面,吴明才(1999)报道,施磷量增加能提高大豆 NR 活性,但其最佳施磷量没有阐明,林春华等(1998)研究表明,缺磷抑制芥蓝叶片的硝酸还原酶活性,与本项研究结果存在相似之处,与其它研究相比,本项研究在于初步明确了黑龙江省推广面积较大的三个主栽大豆品种获得最高 NR 活性的施磷量,对于实际生产有积极的作用。

参 考 文 献

[1] 温尚斌,石连旋,王丹生,等. 大豆叶片光合与呼吸、硝酸还原酶活性及可溶性蛋白含量相互关系的探讨[J]. 东北师大学报(自然科学版),1999,11,67~70.

[2] 林春华,黄亮华,陈永泉,等. 缺氮、磷、钾、钙、镁对芥蓝硝酸盐积累、硝酸还原酶和过氧化物酶活性的影响[J]. 华南农业大学学报,1998,19(4):55~58.

[3] 吴明才,肖昌珍,郑普英. 大豆磷素营养研究[J]. 中国农业

科学,1999,32(3):59~65.

[4] Gan YB, Stulen I, Keulen H, Kuiper PJC. Physiological changes in soybean (*Glycine max*) Wuyin in response to N and P nutrition [J]. Annals of applied biology, 2002, 140 (3) :319~329

[5] Dwivedi AK, Bapat PN. Synthesis of protein in soybean with sulphur - phosphorus nutrition [J]. Journal of the Indian Chemical Society, 1999, 76 (5) :279~280

[6] 张宪政,谭桂茹,黄元极,等. 植物生理学实验技术[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,1989,77~82.

[7] 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.

[8] 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.

[9] 赵越,魏自民,马凤鸣. 不同水平铵态氮对甜菜硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶活力的影响[J]. 中国糖料,2003,(1):22~25.

[10] 李彩凤,马凤鸣,赵越,等. 氮素形态对甜菜氮糖代谢关键酶活性及相关产物的影响[J]. 作物学报, 2003,29(1):128~132.

[11] 李科,卢向阳,彭丽莎. 饲料稻氮代谢特性研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2001,(10):331~334.

[12] 李春喜,张根发,石惠恩,等. 氮肥对小麦硝酸还原酶活性和籽粒蛋白质含量变化动态的影响 [J]. 西北植物学报,1995, 15(4):276~281.

[13] 唐湘如,官春云. 施氮对油菜几种酶活性的影响及其与产量和品质的关系[J]. 中国油料作物学报. 2001,23(4):32~37.

(上接 358 页)

品种类型是有效的。本实验为 18 个大豆品种分类提出了一个量化标准。

3.2 主成份与逐步回归分析

通过主成份分析对品种性状作出综合评价,可根据育种者所制定的目标选择所需的亲本类型,而逐步回归则从多因子中选取预测变量,对影响产量的有关性状给予数学函数表达。由试验结果建立的最优方程反映各主要性状对单株产量的影响有所侧重。用逐步回归方法选出的重要变量与实际较为吻合。

参 考 文 献

[1] 胡立成,姚远,李秀兰,等. 黑龙江省大豆品种聚类分析初探 [J]. 大豆科学,1991,10(1):10~16.

[2] 周述明,谢林,林文君. 四川大豆地方品种资源初步研究. 遗传距离测定及聚类分析[J]. 四川农业大学学报,1994,12(1):37~41.

[3] 毛盛贤,刘来福,黄远樟,等. 冬小麦数量性状遗传差异及其在作物育种中的应用[J]. 遗传,1979,1(5):26~30.

[4] 王金陵. 大豆分类问题[J]. 植物分类学报,1976(14):22~30.

[5] 孙志强译. 西班牙西部大豆栽培品种相关的多元分析[J]. 国外农学——大豆,1986(3):19~24.

[6] 英惠栋,顾世梁. 江浙沪大麦品种农艺性状的聚类分析[J]. 中国农业科学,1987,21(4):26~32.

[7] 祁建民,卢浩然,郑云雨. 黄麻品种数量性状主成份及聚类分析[J]. 福建农学院学报,1989,18(2):168~173.

[8] 何国浩,马育华. 江滩下游地区大豆地方品种的聚类分析[J]. 大豆科学,1983(3):253~264.

[9] 徐克学. 生物数学[M]. 北京:科学出版社,1999,12~102.

[10] 中国农业科学院油料作物研究所. 中国大豆品种志[M]. 北京:农业出版社,1980.