

棉花子叶衰老过程中氮素的再利用

刘娟, 邬云海, 刘玉栋, 刘怀华, 沈法富*

(作物生物学国家重点实验室, 山东农业大学农学院, 山东 泰安 271018)

摘要:以陆地棉早熟品种中棉所 58 和中熟品种邯鄯 109 为材料, 研究子叶衰老过程中氮素的再利用率(NRE)及氮代谢相关指标的变化。结果表明:子叶衰老过程中, 单位面积总 N 含量(NPA)逐渐降低, 中棉所 58 NRE 为 69.26%, 邯鄯 109 为 54.45%; 叶绿素、可溶性蛋白质含量和硝酸还原酶(NR)活性先上升后降低, NR 最先降低, 中棉所 58 和邯鄯 109 分别在 9 d、14 d 开始下降; 中棉所 58 各指标比邯鄯 109 早下降 4~8 d。谷氨酸脱氢酶(GDH)活性先下降后上升, 表明 GDH 可能是氮素再利用的关键酶。

关键词:棉花; 子叶衰老; 氮素再利用

中图分类号:S562.01 **文献标识码:**A

文章编号:1002-7807(2008)-04-0318-03

Nitrogen Resorption during Cotton Cotyledon Senescence

LIU Juan, WU Yun-hai, LIU Yu-dong, LIU Huai-hua, SHEN Fa-fu*

(State Key Laboratory of Crop Biology; College of Agronomy, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China)

Abstract: Nitrogen (N) resorption efficiency (NRE) and changes in nitrogen metabolism indices in cotton cotyledons during leaf senescence were studied in two cotton cultivars; CCRI 58 (short season) and Handan 109 (medium season). The main results were as follows: during the process of leaf growth and senescence, total nitrogen content in unit area (NPA) decreased gradually, NRE in CCRI 58 and Handan 109 is separately 69.26% and 54.45%, N metabolism indices such as chlorophyll and soluble protein content and nitrate reductase (NR) activity, are all increased first, then declined. The first to show a decline was NR activity, 9 d and 14 d in CCRI 58 and Handan 109. The declined times in CCRI 58 are 4~8 days prior to Han 109. Glutamate dehydrogenase (GDH) activity first declined, then increased, indicating that GDH may be the key enzyme involved in N resorption.

Key words: cotton; cotyledon senescence; nitrogen resorption

植物叶片衰老是一个复杂、但高度有序并伴随着大分子物质降解的过程, 是植物在进化过程中适应环境的重要表现。叶片衰老时, 大量养分将转移到其他组织进行再利用。氮素是植物需求量最大的矿质营养元素, 是植物个体和生态系统中最常见的生长限制因子。衰老叶片中氮的再利用一度成为国内外专家研究的热点, 通常用衰老叶片中回收氮占总氮含量的比(NRE, 氮再利用

率)来定量氮的再利用^[1]。

棉花是重要的经济作物, 对氮素特别敏感。近些年棉花叶片衰老及氮代谢的研究很多^[2-4], 但未见氮素再利用的研究报道。本研究以两个不同熟性的陆地棉品种为材料, 测定其子叶衰老过程的 NRE 及氮代谢相关酶的活性变化, 以期阐明棉花衰老子叶中氮再利用的特点, 为阐明棉花衰老叶片中氮素的再利用机理和提高氮再利用率提供参考。

收稿日期: 2007-10-12 作者简介: 刘娟(1984-), 女, 在读硕士, liujy@163.com; * 通讯作者, ffshen@sdau.edu.cn

基金项目: 国家“973”计划(2004CB117300)、“973”前期专项(2007CB116208)和国家农业公益性行业研究专项资助(nyhyzx07-005)

1 材料和方法

供试棉花品种为中棉所 58(生育期 103 d)和邯鄹 109(全生育期 133 d)。试验于 2007 年 2—4 月在山东农业大学作物生物学国家重点实验室进行。选取饱满种子,浓硫酸脱绒后用培养土种植在 8 dm³ 塑料培养钵内,在光照培养箱内育苗。子叶完全出土后间苗,每钵留两棵。每隔 4~5 d 播种一次,当第一批苗的子叶用手轻轻一碰就脱落时,记下各批棉花的子叶叶龄,于同一时间对各批苗取样,以一次性获取全部叶龄的子叶。取样选取完整健康的子叶,连同叶柄一起摘下。除用于测定叶绿素含量和 NR 活性的样品应光照处理(在室外太阳光较强的地方照射 4~6 h)后即取测外,其余样品可随取随测也可液氮冷冻后存于 -80 ℃ 冰箱待用。光照培养箱设置:白天/晚上温度为 30/25 ℃,光照周期为 14:10 h,光照强度为 350~450 μmol·m⁻²·s⁻¹。

分析测定:总氮测定采用微量凯氏定氮法,叶面积计算利用划纸称重法,NRE 计算参考 Pugnnaire 等方法^[5]。叶绿素测定用 95% 乙醇提取;可溶性蛋白的测定采用考马斯亮兰法;NR 测定采用活体法^[6];GDH 测定参照文献^[7]。本实验用不同钵内棉苗的子叶设置 3 次重复,图表绘制用 Excel 进行,作图时选取数据较接近的两次重复的平均值,计算正负误差并在图中标出。

2 结果与分析

2.1 叶绿素含量

叶绿素降解是叶片衰老的第一个可见特征,通常把叶绿素含量变化作为植物衰老的重要指标。由图 1 可知,两品种子叶发育过程中,叶绿素含量呈现先缓慢增加后迅速下降的变化趋势。在叶龄 14 d 前,叶绿素含量无显著差别;中棉所 58 14 d 开始下降,18 d 迅速下降为最高值的 83.33%;而邯鄹 109 14 d 时仍上升,18 d 达到最高值,22 d 下降为最高值的 90.26%,表明中棉所 58 和邯鄹 109 子叶分别在 14 d 和 18 d 进入衰老。以子叶完全展开时叶龄为 1 d,中棉所 58 子叶 32 d 时脱落,邯鄹 109 子叶 38 d 脱落,说明生育期短的品种其子叶衰老的时间也相对短。子叶脱落时,中棉所 58 和邯鄹 109 叶绿素含量分别为其最高值的 21.93% 和 31.36%,说明前者叶绿体结构破坏比后者早,且更彻底。

2.2 可溶性蛋白质含量

可溶性蛋白是叶片衰老过程中最主要的可再利用氮源。由图 2 可知,子叶发育过程中可溶性

蛋白含量呈抛物线型变化,子叶展开 5~14 d 内,两品种无显著差异。14 d 时中棉所 58 可溶性蛋白开始大幅下降,32 d 含量仅占成熟绿叶的 27.81%;邯鄹 109 可溶性蛋白含量于 22 d 大幅下降,38 d 可溶性蛋白含量占成熟绿叶的 33.89%(图 3)。中棉所 58 衰老子叶中可溶性蛋白含量明显低于邯鄹 109,且前者占成熟子叶的比例较小,说明前者可溶性蛋白的降解及氮的再动员更早、快和彻底。

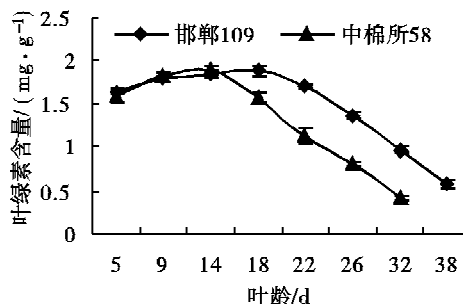


图 1 不同叶龄的子叶叶绿素含量

Fig. 1 The chlorophyll content of different-aged cotyledons

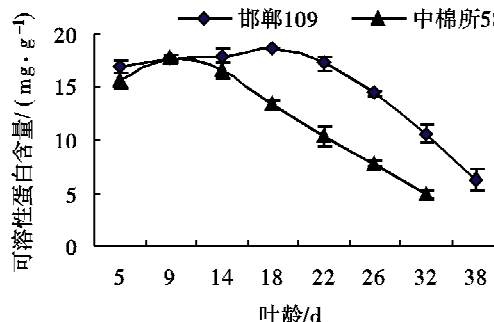


图 2 不同叶龄的子叶可溶性蛋白含量

Fig. 2 The soluble protein content of different-aged cotyledons

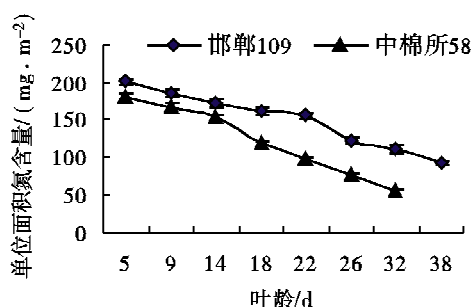


图 3 不同叶龄的子叶氮含量

Fig. 3 The nitrogen content of different-aged cotyledons

2.3 氮含量及氮素再利用率(NRE)

由图 3 可知,两个棉花品种子叶衰老过程中单位叶面积氮含量(NPA)呈下降趋势。中棉所 58 NPA 低于邯鄹 109,其降幅大于邯鄹 109,说明前者氮的转移快于后者。中棉所 58 NRE 为 69.26%,邯鄹 109 为 54.45%。

2.4 硝酸还原酶(NR)活性

一般认为植物初级同化N的主要途径是 $\text{NO}_3^- \xrightarrow{\text{NR}} \text{NO}_2^- \xrightarrow{\text{NiR}} \text{NH}_4^+$ (NR: NO_3^- 还原酶, NiR: NO_2^- 还原酶)。NR是植物N代谢关键步骤硝酸盐同化中的限速酶。子叶衰老过程中NR呈抛物线型变化(图4)。中棉所58和邯鄯109的NR活性峰值分别在9d和14d, NR活性降低早于可溶性蛋白和叶绿素含量。发育初期, 两品种NR活性无明显差异; 衰老过程中, 中棉所58比邯鄯109低。说明子叶衰老之前, 两品种氮同化能力相当; 子叶衰老过程中, 中棉所58的氮同化能力比邯鄯109低。

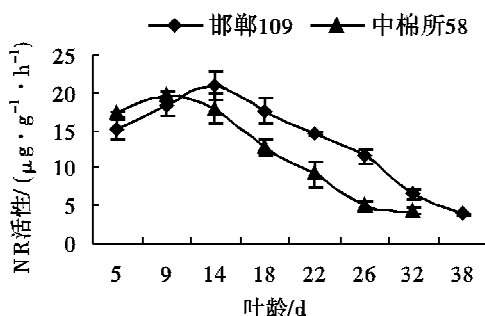


图4 不同叶龄的子叶硝酸还原酶(NR)活性
Fig. 4 The nitrate reductase (NR) activity of different-aged cotyledons

2.5 谷氨酸脱氢酶(GDH)活性

GDH在植物氮代谢中起着重要作用, 催化铵与 α -酮戊二酸合成谷氨酸, 并催化谷氨酸的氧化同时释放出铵。两品种子叶发育初期GDH较低表达, 呈轻微下降的趋势; 衰老过程中GDH活性增加; 衰老后期GDH活性上升幅度剧烈增加, 中棉所58上升幅度大于邯鄯109(图5), 说明GDH是一个衰老后期高效表达的酶, 有可能是氮再利用的关键酶。

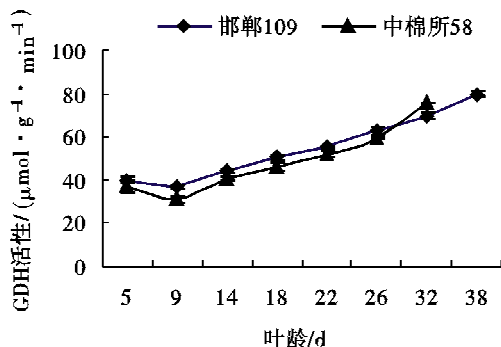


图5 不同叶龄的子叶谷氨酸脱氢酶(GDH)活性
Fig. 5 The glutamate dehydrogenase (GDH) activity of different-aged cotyledons

3 结论与讨论

子叶是棉花幼苗期真叶出现之前进行光合作用的主要器官。棉花、花生、豆类等双子叶植物子

叶叶面积较大, 在植株发育苗期承担着重要的营养功能, 但它又是一个短暂存在的过渡器官, 待其衰老死亡后, 要将其中贮存的营养物质降解运出, 用于新生组织的生长发育。棉花子叶营养的外运为功能叶的发育提供良好的营养基础, 因此子叶的营养代谢状况是反映棉株发育状况的重要指标。棉花子叶具有生长期长, 子叶出土后细胞数量不再增加等优点。以光照培养箱内生长在同种均匀的培养土中的棉花子叶作为材料, 易于控制棉花生长的环境条件, 减少了大田中因天气、地力、病虫害的影响而带来的试验误差。正因如此, 本试验测得的数据重复之间相差较小, 相对准确。

棉花子叶衰老过程中早熟品种中棉所58 NPA 低于中熟品种邯鄯109, NRE 高于邯鄯109。由于本研究只选择了两个不同熟性的陆地棉品种为材料, 尚不能说明熟性与NRE的必然关系。本试验中两个品种的生长条件完全相同, 所以认为两品种的NRE差异并不是由环境因素引起的。子叶衰老过程中GDH活性的大幅增加, 说明GDH可能是棉花子叶衰老过程中氮再利用的关键酶。

本试验研究了相同环境条件下培养的不同熟性的棉花子叶衰老过程中的NRE, 结果表明, 早熟品种中棉所58 NRE 高于中熟品种。氮代谢指标的测定表明, GDH可能是棉花衰老子叶中氮素再利用的关键酶, 为进一步阐明棉花叶片衰老过程中氮素的再利用机理提供了依据。

参考文献:

- [1] KILLINGBECK K T. Nutrient in senesced leaves: keys to the search for potential resorption and resorption proficiency [J]. Ecology, 1996, 77(6): 1716-1727.
- [2] 李伶俐, 房世平, 谢德意, 等. 不同熟性棉花品种叶片衰老特性研究 [J]. 棉花学报, 2007, 19(4): 279-285.
- [3] 宋志伟, 刘松涛, 曹雯梅, 等. 杂交棉氮磷钾吸收分配特点的研究 [J]. 棉花学报, 2006, 18(2): 89-93.
- [4] 张祥, 陈德华, 王进友, 等. 移栽 Bt 棉的生长发育及其碳氮代谢研究 [J]. 棉花学报, 2006, 18(1): 37-42.
- [5] PUGNAIRE F I, Chapin III F S. Environmental and physiological factors governing nutrient resorption efficiency in barley [J]. Oecologia, 1992, 90: 120-126.
- [6] 陈薇, 张德顺. 植物组织中硝酸还原酶的提取、测定和纯化 [J]. 植物生理学通讯, 1980(4): 45-49.
- [7] LIN C C, Kao C H. Distributed ammonium assimilation is associated with growth inhibition of roots in rice seedlings caused by NaCl [J]. Plant Growth Regulation, 1996, 18: 233-238.