

花生品种间硝酸还原酶活性 与其耐肥性的研究

罗文熹* 于国华* 苘辉民 张玮丽

(莱阳农学院, 莱阳 265200)

摘 要

花生主茎叶定型后的功能期, 硝酸还原酶活性(NRA)很高, 并可随其功能期保持一段时间后而下降。在整个生育期内NRA在苗期出现一次明显的高峰。苗期NRA与品种耐肥性呈负相关。经对大田栽培的两种粒型6个品种的系统测定, NRA的平均值亦与其耐肥性呈负相关, 与花生叶片 NO_3^- -N含量和籽粒蛋白质含量呈正相关, 所以, 花生NRA的高低可作为生化育种的指标。在不同氮肥量做种肥的条件下, 种肥用量越高, 苗期 NO_3^- -N含量越高, NRA越低, 氮肥抑制了苗期NRA。

关键词 花生 硝酸还原酶 耐肥性

硝酸还原酶(NADH:NR E. C. 1.6.6.1)是植物氮代谢中的一个重要的酶^[13], 在同化利用土壤中硝酸盐的代谢中起关键作用。近几年国外在很多作物上都有较多的研究^[14, 15, 16, 17]。国内在全国硝酸还原酶与生化育种协作研究的基础上, 也有大量的基础理论研究^[1, 2, 3, 4]和在很多高等植物上应用的论文发表^[5, 6, 7, 8]。本文是对花生两个粒型中的6个品种以及施用不同氮肥量做种肥的条件下, 系统地测定了主茎叶NRA、硝态氮及种子蛋白质含量, 以便观察品种间NRA的差异, 及其与 NO_3^- -N和蛋白质含量的相关性, 种肥用量对以上诸因素的影响。

材料和方法

一、供试品种

大粒型品种: 徐州86-4、海花1号、莱农11号。

小粒型品种: 白沙1016、莱农10号、莱农12号。

二、试验处理

试验于1987和1988年重复进行,采用盆栽和大田种植两种方式。1.品种比较:6个品种大田种植时,小区面积 10m^2 ,5行区,重复二次;2.种肥处理:品种为莱农10号和海花1号,设5公斤尿素/亩,10公斤尿素/亩和对照(不施种肥)三个处理,以下称 N_5 、 N_{10} 、 N_{CK} 处理。小区面积 10m^2 ,5行区,重复二次。

三、取样方法

于花生主茎上每片复叶定长后的功能期取样,每次随机取10株上生长正常的10个同位复叶,每次在上午8时取样,并记录天气情况。样叶用湿布包回,经蒸馏水冲净后,用吸水纸吸干,每一张叶片均取中脉两侧的半叶作为重复。将其剪碎称取0.3克备测定用。

四、测定项目和方法

1. NRA测定 按陈薇活体测定法^[9]进行。

2. 硝态氮测定 采用混合酚剂法参照叶叙丰方法进行^[10]。

3. 籽粒粗蛋白含量用微量凯氏定氮法测定,按西北农业大学编《植物生理学实验指导》^[11]的方法进行。

试验结果

一、花生主茎叶NRA的变化

花生主茎各片复叶的NRA最高活性均出现在定长后的功能期,随其功能期维持一段较高的活性后,而逐步降低。在盆栽莱农10号主茎1~15片复叶的系统测定中,主茎第五复叶期各叶片均出现一个活性高峰,并以主茎第五片复叶活性最高(见表1)。但在大田测定中各

表1 花生主茎叶不同叶位不同时期NRA的变化 ($\mu\text{mNO}_2^-/30\text{分克鲜重}$,品种:莱农10号)

复叶期	主 茎 复 叶 次														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	9.99														
2	9.25	9.44													
3	9.25	9.25	10.27												
4	9.25	9.25	10.17	26.19											
5	15.55	17.12	25.72	26.37	48.76										
6	2.54	7.22	9.81	10.64	12.49	11.66									
7	2.04	6.01	7.50	8.79	9.72	11.10	5.55								
8	1.85	4.63	6.01	6.48	5.94	10.18	11.10	8.79							
9		1.85	4.16	4.63	5.09	7.59	9.25	6.94	5.55						
10				0.19	0.28	5.55	7.40	6.01	4.63	4.63					
11					0.46	0.93	2.78	4.16	4.16	5.09	5.55				
12						1.20	1.85	1.99	1.85	1.94	2.50	2.96	2.73		
13							1.02	0.74	1.11	2.04	1.11	1.67	1.43	1.21	
14								0.56	0.74	0.65	0.74	1.30	1.85	2.22	0.74

1987年盆栽。

品种均以第四叶NRA最高(见图1)。

二、花生一生中NRA的变化与生育进程

据两年6个花生品种的主茎各片复叶NRA系统测定的结果,在品种间和不同年份间花生一生中NRA均有一个近似的变化规律。在苗期NRA的高峰出现在主茎第3~5片复叶间,此期的NRA可高出以后各生育期的3~5倍。这可能与子叶营养供应逐步减少,根系吸收增强的转折时期有关。至主茎第6~8片复叶间NRA出现低谷,这与根瘤开始形成,新生根瘤菌固氮活性较高有关。嗣后由于大田土壤条件的影响,即无明显的规律可循(见图2)。两种花生粒型间NRA的变化趋势也极相似(图3)。

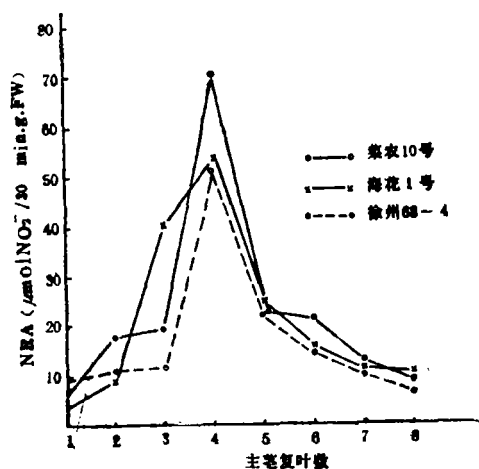


图1 花生不同品种不同叶位间NRA的变化(1987)

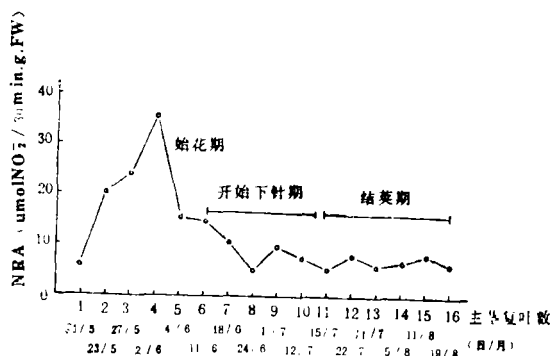


图2 莱农10号主茎复叶NRA的变化动态曲线(1987)

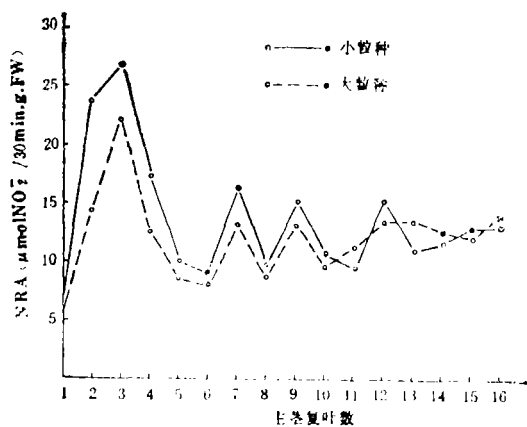


图3 两种花生粒型主茎复叶NRA变化动态曲线(1988)

三、花生品种间NRA与耐肥性的相关性

1. 花生品种不同苗龄NRA的变化与耐肥性 用砂培法室内测定花生苗期整株叶片的NRA,虽然在相当长的一段苗期内均能反映出品种间NRA的差别,但以早期的NRA为高,从表2可看出花生品种间NRA的差别与品种间的耐肥性呈负相关。

表2 花生品种间不同苗龄NRA与耐肥性($\mu\text{mol NO}_2^-/30$ 分克鲜重,1987年)

品 种	苗 龄 (天)			品 种 特 性
	10	15	20	
海花1号	2.75	2.13	1.90	大花生、中熟种、耐肥
莱农10号	4.37	3.75	3.63	小花生、早熟种、夏播、不耐肥

2. 花生品种间主茎复叶NRA与耐肥性 根据花生栽培中的需肥量, 大花生>小花生, 晚熟种>中熟种>早熟种, 需肥量与生育期的长短呈正相关, 经单一自由度比较分析, 两种花生粒型间NRA差异达到显著水平 ($F = 12.7647 * F_{0.05} = 6.61$)。品种间有显著差异 ($F = 5.90 * F_{0.05} = 5.05$)。二者NRA均与耐肥性呈负相关(表3)。与水稻、玉米、小麦、大豆等作物的研究结果是一致的^[5,7]。

表3 大田花生品种间NRA与耐肥性($\mu\text{molNO}_2^-/30\text{分克鲜重}$)

项 目		大 粒 种			小 粒 种		
		徐州68—4	海花1号	莱农11号	白沙1016	莱农10号	莱农12号
年 份	1987	9.76	12.06	11.94	11.98	13.89	11.41
	1988	7.55	8.64	7.55	9.92	9.99	8.38
差异显著性	0.05	C	ab	cb	ab	a	bc
	0.01	B	AB	AB	AB	A	AB
品种特性		中熟种生育期142天			早熟种生育期100天		中早熟种生育期135天

注：表中品种NRA为主茎16片复叶平均值。

四、不同种肥水平对NRA变化的影响

经尿素作种肥处理, 不同水平间NRA出现明显的差别。其特征是苗期种肥抑制NRA, 种肥越高, NRA越低; 中期后种肥促进NRA, 即种肥越高, NRA越高。以上变化在两种粒型品种间亦有差别, 首先表现在耐肥品种苗期NRA受种肥的抑制程度较小, 抑制时间也短, 其在主茎第四复叶后即开始转向促进, 而不耐肥品种在主茎第六片复叶后才开始转向促进(见图4、5)。

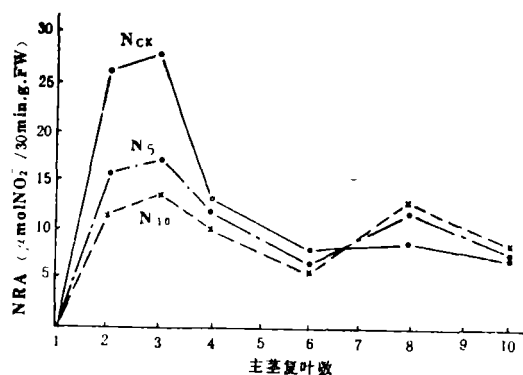


图4 莱农10号在不同种肥水平下NRA的变化(1988)

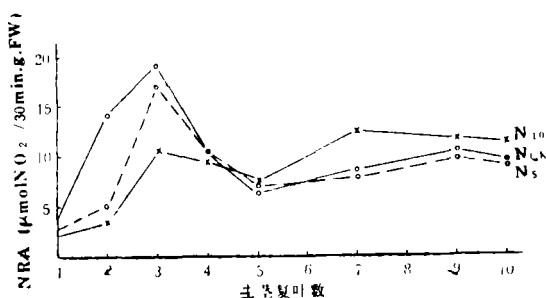


图5 海花1号在不同种肥水平下NRA的变化(1988)

五、硝态氮含量与NRA的相关性

1. 两种花生粒型 NO_3^- -N含量的变化与NRA 两种花生粒型间 NO_3^- -N含量, 小粒种高于大粒种, 故与NRA呈正相关^[8,12], 但 NO_3^- -N含量与NRA高峰出现的时间不一致, NO_3^- -N晚于NRA(见图6)。其二者不一致的原因, 可能是由于复杂的大田因子影响所致。

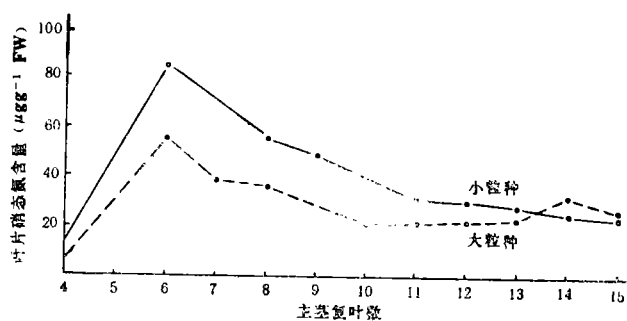


图6 两种花生粒型 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的变化(1988)

2. 不同种肥水平 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量的变化与NRA 不同种肥水平对两种花生粒型 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量的影响是一致的,均表现正相关,即随种肥的氮素用量而增加。以海花1号品种为例(见图7)。在种肥的作用下,由于 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量的增高,苗期与NRA呈负相关,主茎5叶期后呈正相关。

六、品种间NRA与籽粒蛋白质含量的关系

经对6个品种籽粒粗蛋白的测定,其含量的差别基本与其NRA总活性^[7](16片复叶NRA的平均值)相一致,与各品种第三复叶期的NRA显著相关(见表4)。种肥处理对籽粒粗蛋白的含量无一致关系。

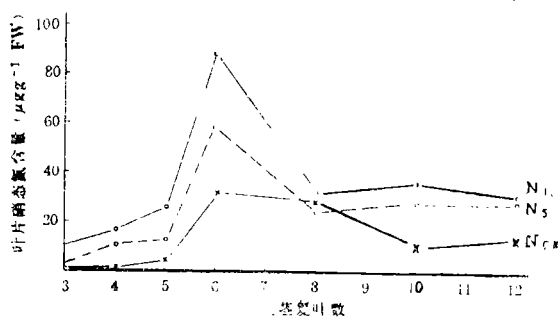


图7 海花1号在不同种肥水平下 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量的变化(1988)

表4 花生品种间NRA与籽粒粗蛋白含量

品 种	主茎第三片复叶NRA ($\mu\text{mNo}_2^-/30\text{分克鲜重}$)	籽粒粗蛋白 (%)
莱农10号	27.14	27.12
白沙1016	25.29	27.61
海花1号	18.81	25.41
莱农11号	18.04	26.57
莱农12号	16.05	24.62
徐州68-4	15.11	24.37
平 均	20.0733	25.95
标 准 差	4.9740	1.35

注: $r=0.8822^*$

$r_{0.05}(4)=0.8114$

讨 论

1. NRA受很多因素的影响, 特别在田间条件下土壤差异影响更大。所以田间测定值只能基本反映品种间的差别及其与耐肥性的相关性。NRA在花生一生中的变化作为氮素营养诊断尚无规律可循。

2. 在花生的 NO_3^- -N和NRA的系统测定中, 自8月19日以后, 植株开始衰退, NO_3^- -N骤然下降, 几乎接近于零, 而NRA则下降较慢, 仍保持一定水平。这种现象的出现尚待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 林振武等: 水稻硝酸还原酶的纯化和特性, 《植物生理学报》, 10(4) 1984: 323—330
- [2] 林振武等: 籼、粳稻对硝态氮的吸收和同化, 《作物学报》, 12(1) 1986: 9—14
- [3] 何文竹等: 小麦叶片硝酸还原酶—钝化蛋白的分离和特性, 《植物生理学报》, 8(1) 1982: 60—66
- [4] 汤玉玮等: 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》, 1895(6): 39—44
- [5] 林振武等: 不同耐肥性的水稻、玉米、小麦硝酸还原酶活力, 《中国农业科学》, 1983(3): 37—43
- [6] 林振武: 硝酸还原酶的研究在农业上的应用, 《作物杂志》, 1985(4): 12—13
- [7] 李豪吉: 大豆叶片硝酸还原酶活力的研究, 《植物生理学通讯》, 1986(4): 30—32
- [8] 李文才等: 棉花硝酸还原酶活力与硝态氮含量的关系, 《作物学报》, 1(9) 1983: 93—97
- [9] 陈 薇等: 植物组织硝酸还原酶的提取测定和纯化, 《植物生理学通讯》, 1980(4): 45—49
- [10] 叶叙丰: 硝态氮比色测定, 《植物生理通讯》, 1979(3): 31
- [11] 西北农业大学生理生化教研室编: 《植物生理学实验指导》, 陕西科学技术出版社, 1987: 99—103
- [12] 田廷亮等: 油菜硝酸还原酶与硝态氮含量关系的初探, 《中国油料》, 1985(2): 53—54
- [13] Schrader, L. E., Ritenour, G. L. and Hageman, R. H.: Some characteristics of nitrate reductase from higher plants, *Plant Physiol.*, 1968(43): 930—940
- [14] Ramarao, C. S., Srinivasan, Naik, M. S.: Inactivation of nitrate reductase from wheat and rice leaves, *Phytochem.*, 1981(20): 1487—1491
- [15] Hageman, R. H.: Integration of nitrogen assimilation in relation to yield. In: *Nitrogen assimilation of plants* ed. Hewitt E. J. and Cutting C. V., Acad. press, London, New York, San Francisco, 1979: 591—612
- [16] Johnson, C. B., Whittington, W. J., Blackwood, G. C.: Nitrate reductase as a possible predictive test of crop yield, *Nature*, 1977(262): 133—134
- [17] Deckard, E. L., Lambert, R. J., Hageman, R. H.: Nitrate reductase activity in corn leaves related to yields of grain protein, *Crop Sci.*, 1973(13): 343—350

A Study on Nitrate Reductase Activity and Nitrogen Response in Groundnut

Luo Wenxi Yu Guohua Man Huimin Zhang Weili

(*Laiyang Agricultural College, Laiyang 265200*)

Abstract

The work showed that the highest nitrate reductase activity (NRA) appeared in the functional period of each leaf on main stem of groundnut, which could last for a period(6days) and then dropped. In the whole growing period of groundnut, an obvious peak of NRA came out in seedling stage. In seedling stage NRA was inversely correlative with nitrogen response of varieties. Through measuring and assaying 6 varieties grown in field successively, the results showed that the mean value of NRA was inversely correlative with the nitrogen response of varieties, but directly correlative with the amount of NO_3^- -N in leaves and protein in seeds. So it was considered that NRA of groundnut could be used as an index in its biochemical breeding. In the treatment of N fertilizer as seed manure, the more N fertilizer was applied, the higher the amount of NO_3^- -N in seedling stage, the lower the NRA. So it was concluded that N fertilizer could inhibit the NRA of seedling stage.

Key words: Groundnut; Nitrate reductase; Nitrogen response