

不同光强下氮素形态对番茄谷氨酰胺合成酶和光呼吸的影响

刘永华* 朱祝军** 魏国强

浙江大学农业与生物技术学院园艺系, 杭州 310029

摘要 强光(800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)下供应铵态氮的番茄植株与供应硝态氮的相比, 其生长受到显著抑制, 谷氨酰胺合成酶(GS)活性和光呼吸速率显著下降, 同时净光合速率(P_n)和叶绿素荧光参数(F_v/F_m 、 F_v/F_o)值下降; 而弱光(200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)下供应铵态氮与硝态氮植株之间的这些参数差异不显著。

关键词 铵态与硝态氮; 谷氨酰胺合成酶; 光呼吸; 光强; 番茄

Effects of Nitrogen Form on the Activity of Glutamine Synthetase and Photorespiratory rate in Tomato Under Different Light Intensities

LIU Yong-Hua*, ZHU Zhu-Jun**, WEI Guo-Qiang

Department of Horticulture, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029

Abstract Effects of nitrogen form on the activity of glutamine synthetase (GS) and photorespiration in tomato plants under different light intensities were studied. The results showed that the plant growth was reduced by ammonium nutrition under high light intensity (800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). GS activity, photorespiratory rate, net photosynthetic rate (P_n), F_v/F_m and F_v/F_o in ammonium-supplied plants were significantly decreased compared to nitrate-supplied plants. However, under low light intensity (200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), these parameters were not affected by nitrogen form.

Key words ammonium and nitrate; glutamine synthetase; photorespiration; light intensity; tomato

高等植物生长中利用的氮源有多种, 最主要的是无机氮源硝态氮(NO_3^-)和铵态氮(NH_4^+)。与 NO_3^- 不同, NH_4^+ 施入土壤后, 会很快被土壤吸附固定, 不会造成地下水污染。农业生产中以 NH_4^+ 代替 NO_3^- 可以有效降低农产品中硝酸盐含量, 降低对人体健康的危害。加之铵态氮肥的价格比硝态氮肥低, 因此无论从环保和食品安全的角度, 还是从生产的角度来看, 都宜提倡使用 NH_4^+ 肥。但是实际上只有少数植物可以利用 NH_4^+ 作为主要的或是唯一的氮源, 多数植物常表现出不同程度的铵毒害症状^[1]。所以, 从理论和生产应用来说, 铵毒害的生理机制问题都值得探讨。

谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)不仅是高等植物铵同化途径中一种重要的酶, 也是光呼吸过程中的关键酶, GS活性的高低直接影响到大麦、烟草等植物的光呼吸速率^[2-4]。而当植物受到胁迫时, GS活性会受到抑制^[5-7]。本文以番茄为材料, 以供应硝态氮的植株为对照, 主要研究不同光强下铵态氮对番茄GS活性、光呼吸速率

的影响。

材料与amp;方法

实验于2003年4~5月在本校蔬菜研究所玻璃温室内进行。番茄(*Lycopersicon esculentum*)品种为早丰, 播种于蛭石中, 长至2~3片真叶后, 移栽到含1/2浓度Hoagland营养液的塑料桶中(每桶3株, 含5 L营养液)预培养, 生长5 d后, 植株分别供应铵态氮和硝态氮的营养液, 并分别作两种光强处理: 800和200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。硝态氮营养液的组成成分($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)如下: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 3、 MgSO_4 2、 KH_2PO_4 1、 K_2SO_4 2、 H_3BO_3 0.05、 MnSO_4 0.01、 ZnSO_4 0.001、 CuSO_4 0.0005、 Na_2MoO_4 0.00014、 FeNa-EDTA (乙二胺四乙酸铁钠盐) 0.09。铵态氮营养液中以 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和 CaCl_2

收稿 2004-01-06 修定 2004-06-16

资助 国家自然科学基金(39770440)、霍英东青年教师基金。

* 现工作单位: 浙江农业科学院蔬菜研究所。

** 通讯作者(E-mail: zhjzhu@zju.edu.cn, Tel/Fax: 0571-86971354)。

代替 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 其他组分与硝态氮营养液相同。在铵态氮营养液中加入适量 CaCO_3 粉末以缓冲溶液的 pH 值。两种营养液配方中, 氮元素的浓度均为 $6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 生长期间营养液的 pH 维持在 6.1~6.4 之间。营养液用蒸馏水配制, 1 周更换 1 次。每个处理重复 4 次。处理 15 d 后, 强光下供应铵态氮的植株和供应硝态氮的相比, 其植株矮小, 叶色变淡、发黄, 叶缘上卷, 根系变暗。取植株顶部最大展开叶测定各项生理指标。

参照文献 5 的方法测定叶片 GS 活性。参照文献 8 的方法测定植株叶片的净光合速率 (net photosynthetic rate, P_n) 与光呼吸速率。叶绿素荧光参数测定参照文献 9 的方法。

各组测定结果均为 4 次重复, 用统计分析软件 SAS 进行方差分析。

实验结果

1 植株干重

从图 1 可看到, 强光下供应铵态氮的植株与供应硝态氮的相比, 生长量明显下降 (降低 45%); 而在弱光下两者生长量差异不显著。这和前人在辣椒中观察到的结果^[10]一致。

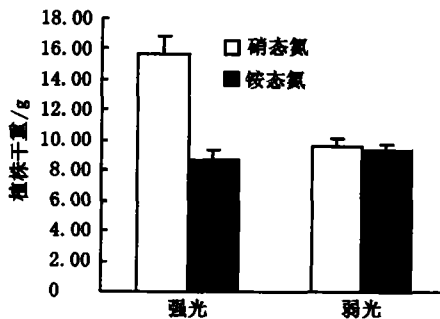


图 1 不同光强下氮素形态对植株干重的影响
Fig.1 Effect of nitrogen form on dry weight of plant under different light intensities

2 叶片中谷氨酰胺合成酶活性

从图 2 可看到, 强光下供应铵态氮植株的 GS 活性比供应硝态氮的明显下降 (降低 40%)。这与前人在玉米中观察到的结果^[5]是一致的。弱光下两者 GS 活性差异不显著。

3 光呼吸速率

从图 3 可看到, 强光下供应铵态氮植株的光

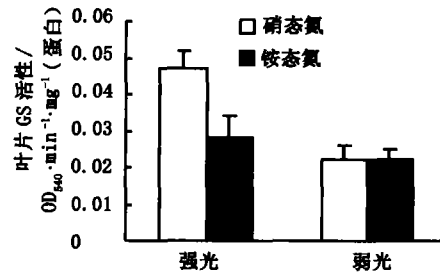


图 2 不同光强下氮素形态对叶片中 GS 活性的影响
Fig.2 Effect of nitrogen form on the activity of GS in leaves under different light intensities

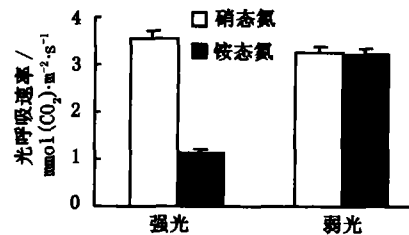


图 3 不同光强下氮素形态对光呼吸速率的影响
Fig.3 Effect of nitrogen form on the photorespiratory rate under different light intensities

呼吸速率比供应硝态氮的显著下降 (降低 68%); 弱光条件下, 两者的光呼吸速率差异不显著。

4 净光合速率和叶绿素荧光参数

从图 4 和表 1 可看出, 强光下供应铵态氮植株的 P_n 、 F_v/F_m 和 F_v/F_o 比供应硝态氮的均显著下降; 弱光下两者差异不显著。

讨论

逆境下, 植物 GS 活性受抑制^[6,7]。本文结果表明, 强光 ($800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 下与供应硝态氮植株

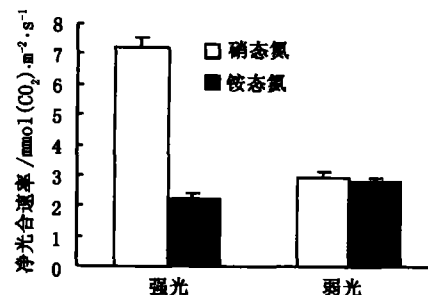


图 4 不同光强下氮素形态对叶片光合速率的影响
Fig.4 Effect of nitrogen form on the P_n under different light intensities

表1 不同光强下氮素形态对 F_v/F_m 和 F_v/F_o 的影响Table 1 Effect of nitrogen form on the F_v/F_m and F_v/F_o under different light intensities

处理	F_v/F_m	F_v/F_o
强光 NO_3^-	0.8373±0.0167 a	4.84±0.25 a
NH_4^+	0.7965±0.0186 b	3.95±0.32 b
弱光 NO_3^-	0.8440±0.0047 ac	5.44±0.20 c
NH_4^+	0.8528±0.0031 c	5.81±0.15 c

新复极差法($P < 0.05$)。

相比, 供应铵态氮植株的生长量和GS活性显著下降, 这与前人在玉米中的结果^[5]一致。强光下, 供应铵态氮植株的光呼吸速率比供应硝态氮植株的也显著下降, 这很可能是由于GS活性下降所致。Becker等^[11]报道, 番茄叶片中的GS同工酶绝大部分是GS2, GS1活性几乎测不到。因此认为番茄中GS2的活性可用以代表GS总活性。而GS2是光呼吸中一个极重要的酶, 它催化同化光呼吸中产生的铵的反应, 使光呼吸得以顺利进行, 所以其活性高低直接影响到光呼吸的速率^[2-4]。据此我们认为, 强光下供应铵态氮植株的光呼吸速率下降是同一光强条件下GS活性下降所致。

郭连旺等^[12]和Kozaki等^[3]认为, 强光下光呼吸可通过耗散过剩的光能保护 C_3 植物不受光抑制, 如果光呼吸受抑制, 植物即很容易受光抑制。本文结果表明, 强光下光呼吸速率明显下降, P_n 、 F_v/F_m 、 F_v/F_o 亦显著下降。这些说明供应铵态氮植株确实受到了光抑制。我们以前的工作曾表明, 强光下供应 NH_4^+ 态氮的番茄植株叶片中氧自由基含量上升, 导致植株受氧胁迫^[13]。这可能是光呼吸下降时过剩光能引起的另一后果。而在弱光下供应铵态氮植株的GS活性、光呼吸速率、 P_n 、 F_v/F_m 、 F_v/F_o 与供应硝态氮植株相比无显著差异。

总之, 强光下供应铵态氮的植株生长之所以受抑, 很可能是GS活性和光呼吸速率下降引起植株受光抑制所致。

参考文献

- 1 Britto DT, Siddiqi MY, Glass ADM et al. Futile Transmembrane NH_4^+ cycling: a cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98: 4255-4258
- 2 Wallsgrave RM, Turner JC, Hall NP et al. Barley mutants lacking chloroplast glutamine synthetase — biochemical and genetic analysis. Plant Physiol, 1987, 83: 155-158
- 3 Kozaki A, Takeba G. Photorespiration protects C_3 plants from photooxidation. Nature, 1996, 384: 557-560
- 4 McNally SF, Hirel B, Gadal P et al. Glutamine synthetases of higher plants: evidence for a specific isoform content related to their possible physiological role and their compartmentation within the leaf. Plant Physiol, 1983, 72: 22-25
- 5 Magalhaes JR, Huber DM. Response of ammonium assimilation enzymes to nitrogen form treatments in different plant species. J Plant Nutr, 1991, 14(2): 175-185
- 6 李常健, 林清华, 张楚富等. NaCl对水稻谷氨酰胺合成酶活性及同工酶的影响. 武汉大学学报(自然科学版), 1999, 45: 497-500
- 7 Gouia H, Ghorbal MH, Meyer C. Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. Plant Physiol Biochem, 2000, 38: 629-638
- 8 郭连旺, 许大全, 沈允钢. 田间棉花叶片光合效率中午降低的原因. 植物生理学报, 1994, 20(4): 360-366
- 9 胡文海, 喻景权. 低温弱光对番茄叶片光合作用和叶绿素荧光参数的影响. 园艺学报, 2001, 28(1): 41-46
- 10 Zornoza P, Caselles J, Carpena O. Effects of NO_3^- : NH_4^+ ratio and light intensity on nitrogen partitioning in pepper plants. J Plant Nutr, 1989, 12: 307-316
- 11 Becker TW, Caboche M, Carrayol E et al. Nucleotide sequence of a tobacco cDNA encoding plastidic glutamine synthetase and light inducibility, organ specificity and diurnal rhythmicity in the expression of the corresponding genes of tobacco and tomato. Plant Mol Biol, 1992, 19: 367-379
- 12 郭连旺, 许大全, 沈允钢. 田间棉花叶片光合作用的光抑制与光呼吸的关系. 科学通报, 1995, 40(20): 1885-1888
- 13 寿森炎, 杨信廷, 朱祝军等. 氮素形态和光照强度对番茄生长及抗氧化酶活性的影响. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2000, 26(5): 500-504