

水分胁迫对烤烟氨同化和生物量的影响

梁太波, 王建伟, 尹启生, 张艳玲, 蔡宪杰, 过伟民, 刘阳

中国烟草总公司郑州烟草研究院, 郑州高新技术产业开发区枫杨街 2 号 450001

摘要: 为明确不同水分条件下烤烟氨同化和氮素代谢差异, 在盆栽条件下, 研究了干旱和渍水胁迫对烤烟氨同化关键酶活性和生长发育的影响。结果表明, 干旱胁迫下烤烟叶片 GS 和 GOGAT 活性下降, GS/GOGAT 循环受阻, 而 NADH-GDH 活性明显上升, 在氨同化中的作用加强; 干旱胁迫严重影响烤烟植株正常生长发育, 降低生物量, 这可能是导致叶片氮素含量相对增加的重要原因。干旱胁迫后复水烤烟 GS 活性迅速回升, 脯氨酸含量恢复到正常水平, 体现了复水对烟株的补偿效应。严重的渍水胁迫导致烤烟植株生理功能紊乱, 氨同化关键酶活性和氮素含量均显著下降, 植株生物量降低, 是烤烟生产不可忽视的逆境条件。

关键词: 烤烟; 水分; 氨同化; 酶活性

doi: 10.3969/j.issn.1004-5708.2012.03.009

中图分类号: S572.07

文献标识码: A

文章编号: 1004-5708(2012)03-0050-05

Effects of water stress on ammonium assimilation and biomass of flue-cured tobacco

LIANG Tai-bo, WANG Jian-wei, YIN Qi-sheng, ZHANG Yan-ling, CAI Xian-jie, GUO Wei-min, LIU Yang

Zhengzhou Tobacco Research Institute of CNTC, Zhengzhou 450001, China

Abstract: Difference of ammonium assimilation and nitrogen metabolism under different water conditions and hence effects of drought and water logging on key enzyme activities and plant growth were studied with pot experiment using cultivar Zhongyan100. Results showed that GS and GOGAT activities in leaves decreased and the GS/GOGAT cycle was inhibited under drought at vigorous growing period, while NADH-GDH activities increased indicating it played a more important role in ammonium assimilation. Tobacco plant growth was restrained and plant biomass decreased under drought, which was the reason for nitrogen content increase. GS activities rose rapidly and proline content recovered after re-watering, which was a compensation effect to some extent. Water logging caused leaf metabolic disturbance and hence key enzyme activities, nitrogen content and plant biomass all significantly decreased, an adverse condition that cannot be ignored.

Keywords: flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.); water; ammonium assimilation; enzyme activity

氮素是影响作物生长发育和产量品质的重要营养元素之一。作物从土壤中吸收的无机氮素必须经氨同化成为有机氮才能被作物所利用, 氨同化作用是作物吸收利用氮素一个重要过程^[1]。植物体内氨的同化是在一系列关键酶的作用下完成的。其中, 谷氨酰胺合成酶(GS)、谷氨酸合成酶(GOGAT)和谷氨酸脱氢酶(GDH)等都是氮素代谢过程中的关键酶^[2]。研究

表明, GS 对 NH_4^+ 有很高的亲和力, 能利用光合作用提供的能量及碳架迅速将植株体内的 NH_4^+ 同化为谷氨酰胺(Gln); GOGAT 催化谷氨酰胺和 α -酮戊二酸合成谷氨酸(Glu), Glu 不仅为 GS 提供底物, 还为其他氨基酸的合成提供氨^[3]。因此, GS 和 GOGAT 偶联形成的循环是高等植物体内氨同化的主要途径, 植物体内 95% 以上的 NH_4^+ 通过 GS/GOGAT 循环进行同化^[4]。此外, 由依赖还原型辅酶 I 的谷氨酸脱氢酶(NADH-GDH)催化的反应也是高等植物氨同化的一条途径, 它催化 α -酮戊二酸还原氨基化生成谷氨酸, 这条氨同化途径在一定条件下对 GS 循环起补偿作用^[5-6]。

烟草氮素代谢在产量和品质形成方面发挥重要作用, 而氮代谢关键酶活性受到光照、水分、氮素形态等各种环境因素的调节和控制^[7-9]。目前, 我国许多烟区

基金项目: 中国烟草总公司郑州烟草研究院院长基金 (112009CA0220); 山东省烟草公司科技重大专项 (200902)

作者简介: 梁太波(1981—), 博士, 工程师, 主要从事烟草栽培生理与质量评价方面的研究, E-mail: taibol@163.com

通讯作者: 尹启生(1961—), 学士, 研究员, 主要从事烟叶生产技术与质量评价等研究工作, E-mail: yinqs@ztri.com.cn

收稿日期: 2011-10-22

由于缺乏必要的排灌条件,烟叶在生长过程中极易受到干旱或渍水胁迫,影响其正常生长发育和产量品质形成。水分胁迫下,植物会启动包括抗氧化酶系等在内的多种防御机制来适应环境变化,然而目前关于水分胁迫下烟草氮同化酶系的变化规律尚缺乏研究。研究表明,干旱引起的氮营养缺乏往往成为解除干旱胁迫即复水后植物生长的主要限制因子之一^[10],而这一过程与氮的同化密切相关,关于干旱后复水对烤烟氮同化酶系的调控鲜见报道。本研究将通过探讨不同水分胁迫下烤烟生长和氮同化关键酶活性的差异,明确烤烟氮同化酶系对水分胁迫的响应机制,以期对烤烟水分调控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地点与材料

试验于2010年4月至8月在郑州烟草研究院温室内进行,供试土壤质地为壤土,有机质、速效氮、速效磷、速效钾含量分别为 $15.10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $87.16\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $44.27\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $96.37\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。土壤过筛后装盆,每盆装土 15 kg (盆直径 30 cm ,深度 25 cm),供试烤烟品种为中烟100。

1.2 试验设计

试验设4个处理,分别为A:对照(土壤含水量为最大田间持水量的75%-80%);B:轻度干旱(土壤含水量为最大田间持水量的60%-65%);C:严重干旱(土壤含水量为最大田间持水量的45%-50%);D:渍水(保持土壤为渍水状态)。

供试土壤田间最大持水量 23.10% ,凋萎系数约 13.80% 。于4月28日移栽,移栽前每盆施 $\text{N } 2.0\text{ g}$ 、 $\text{P}_2\text{O}_5 2.0\text{ g}$ 、 $\text{K}_2\text{O } 6.0\text{ g}$ 。试验采用称重法和水分测定仪相结合的方法控水,水分胁迫前各处理按土壤含水量为最大田间持水量的75%-80%供水培养烟株,待自然干旱使土壤含水量达到试验要求后开始水分处理,水分处理设置在烟叶生长的旺长期。水分处理15 d后,开始复水,将B和C处理补水到对照水平(土壤含水量为最大田间持水量的75%-80%)正常培养烟株。

1.3 测定项目及方法

试验开始后,分别于0、5、10、15、20 d(复水后5 d)采集倒数5~7叶位新鲜功能叶片样品进行生理指标测定,其中D处理发生严重萎蔫,无20 d样品。部分样品于 70°C 烘箱中烘至恒重,粉碎后进行氮素含量等检测分析。并于处理后15 d采集烟株样品,每处理取代表性植株3株。操作时先用水小心冲出根系,然后将烟株按根、茎、叶各器官分开并称其鲜重,统计生

物量。

谷氨酰胺合成酶和谷氨酸脱氢酶活性测定:取叶片适量,置于预冷的研钵中,加少许无菌石英砂研磨至细粉状。然后按比例加入一定量 $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{pH } 7.6$ 的Tris-HCl缓冲液(含 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ MgCl}_2$ 、 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ EDTA}$ 和 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\beta$ -巯基乙醇)继续研磨匀浆,匀浆液于 $13000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min 。取上清液用于GS、NADH-GDH和 NAD^+ -GDH(依赖氧化型辅酶I的谷氨酸脱氢酶)活性的测定。GS、NADH-GDH和 NAD^+ -GDH活性的测定按照王云华等^[11]的方法。1个GS活性单位定义为在 37°C 下每分钟产生 $1\text{ }\mu\text{mol}$ 的 γ -谷氨酰异羟肟酸所需的酶量。1个NADH-GDH(NAD^+ -GDH)活性单位定义为在 30°C 下每分钟催化 $1\text{ }\mu\text{mol}$ 的NADH还原(氧化)所需的酶量。GOGAT活性按林清华等^[12]的方法,1个GOGAT活性单位定义为在 30°C 下每分钟催化 $1\text{ }\mu\text{mol}$ 的NADH所需的酶量。

1.4 数据分析

采用Microsoft Excel2010和DPS(Data Processing System)统计分析系统进行数据处理和统计分析。

2 结果与分析

2.1 水分胁迫对叶片全氮含量的影响

图1表明,烤烟进入旺长期后,叶片氮素含量相对保持稳定。可以看出,干旱胁迫明显增加了烤烟叶片氮素含量,且增加幅度随干旱胁迫程度地增强而增加。渍水条件下烤烟叶片氮素含量呈下降趋势,且明显低于对照。处理后15 d 3个水分处理B、C和D叶片氮素含量与对照A相比分别提高 9.80% 、 15.38% 和 -35.01% 。干旱胁迫处理复水后,轻度干旱处理叶片氮素含量接近对照,而严重干旱处理氮素含量仍明显高于对照。

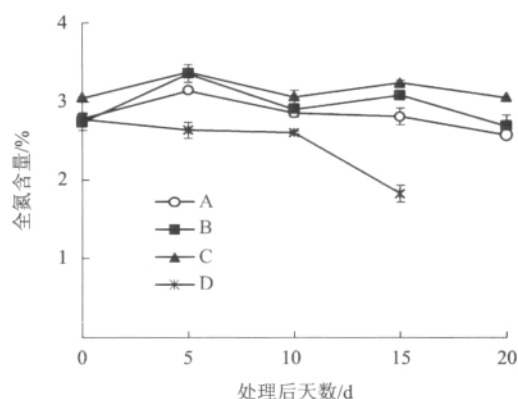


图1 不同处理叶片全氮含量变化

2.2 水分胁迫对叶片 GS 活性和 GOGAT 活性的影响

GS 是植物体内氮同化的关键酶,其活性受环境条件的影响和调控^[13]。随生育进程推进,烤烟叶片 GS 活性呈缓慢下降趋势,且对水分条件反应敏感(图 2)。与对照相比,干旱胁迫明显降低了烤烟叶片 GS 活性,且降低幅度随干旱胁迫程度地增强而增加。渍水条件下叶片 GS 活性亦明显降低,且降低幅度要大于干旱胁迫处理。处理后 15 d,与处理 A 相比,处理 B、C 和 D 叶片 GS 活性分别下降 37.50%、53.87% 和 61.15%。干旱胁迫处理复水后,烤烟 GS 活性有较大幅度回升,2 个干旱胁迫处理分别恢复到对照的 93.35% 和 79.44%,说明干旱胁迫后复水对烤烟 GS 活性有较大的补偿效应。

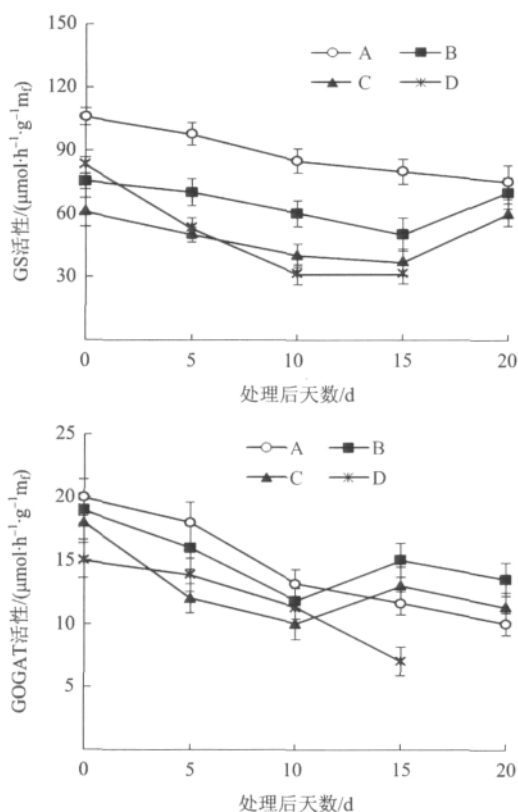


图 2 不同处理叶片 GS 活性和 GOGAT 活性的变化

图 2 表明,正常供水处理烤烟叶片 GOGAT 活性在旺长后期呈逐渐下降趋势。水分条件明显影响烤烟叶片 GOGAT 活性,与对照相比,干旱胁迫后烤烟叶片 GOGAT 活性明显下降,而处理 10 d 后又有所回升,严重干旱处理 GOGAT 活性明显低于轻度干旱处理。渍水亦严重影响了叶片 GOGAT 活性,这可能与渍水造成叶片可溶性蛋白质大量降解有密切关系。干旱胁迫

处理复水后,叶片 GOGAT 活性有所下降,严重干旱处理接近对照,轻度干旱处理仍明显较高。

2.3 水分胁迫对叶片 NAD⁺-GDH 活性和 NADH-GDH 活性的影响

从图 3 看出,正常供水处理烤烟叶片 NAD⁺-GDH 活性呈缓慢上升趋势,而干旱胁迫处理烤烟 NAD⁺-GDH 活性呈先上升后下降的趋势。与对照相比,干旱胁迫后烤烟叶片 NAD⁺-GDH 活性明显增加,且以严重干旱胁迫处理增加幅度较大。渍水处理烤烟叶片 NAD⁺-GDH 活性亦呈先上升后下降的趋势,渍水处理前期 NAD⁺-GDH 活性明显高于对照,之后则迅速下降。干旱胁迫处理复水后,叶片 NAD⁺-GDH 活性有所增加。

随生育进程推进,烤烟叶片 NADH-GDH 活性正常供水处理呈下降趋势,而干旱胁迫处理呈先下降后上升的趋势(图 3)。与对照相比,干旱胁迫前期烤烟叶片 NADH-GDH 活性有所下降,之后则迅速上升,明显高于对照。渍水胁迫处理烤烟叶片 NADH-GDH 活性前期明显高于对照,但随胁迫时间延长迅速下降,处理 15 d 后已明显低于对照,这可能与渍水处理后期叶片功能发生紊乱有密切关系。干旱胁迫处理复水后,烤烟叶片 NADH-GDH 仍保持较高的活性。

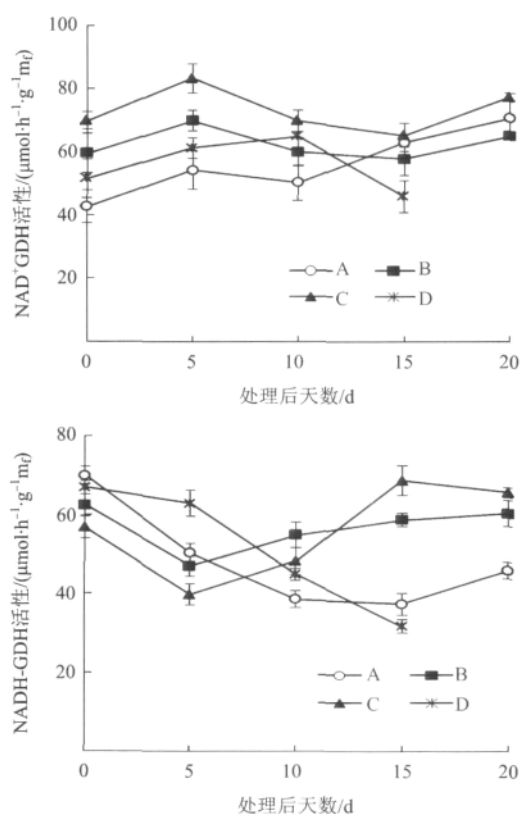


图 3 不同处理烤烟叶片 NAD⁺-GDH 活性和 NADH-GDH 活性的变化

2.4 水分胁迫对叶片脯氨酸含量的影响

脯氨酸是植物体内重要的渗透调节物质,逆境条件下植物体内脯氨酸大量积累,在植物组织中起着渗透调节和稳定细胞机构等作用^[14]。图4表明,正常供水条件下,烤烟叶片脯氨酸含量相对较低且保持稳定。干旱胁迫下,烤烟叶片脯氨酸迅速积累,其含量随干旱时间的延长和干旱胁迫程度的加重均呈增加趋势。处理后15 d与对照相比,处理B和C脯氨酸含量分别增加95.87%和114.26%。渍水胁迫处理烤烟叶片脯氨酸含量前期明显增加,后期迅速下降,处理后15 d已明显低于对照。干旱胁迫处理复水后,叶片脯氨酸含量迅速下降,轻度干旱处理已接近对照水平,脯氨酸含量的变化反映出复水对干旱胁迫烤烟植株的补偿效应。

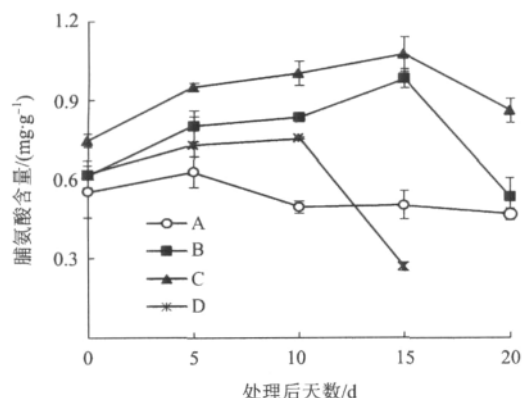


图4 不同处理烤烟叶片脯氨酸含量的变化

2.5 水分胁迫对植株不同器官生物量的影响

图5表明,旺长期干旱和渍水胁迫均严重影响了烤烟植株生长发育,导致植株生物量降低。与对照相比,水分胁迫处理B、C和D植株生物量分别减少10.52%、31.27%和39.90%。还可以看出,渍水胁迫下,烤烟根系占植株总生物量比例明显减少,这可能与渍水胁迫导致根系的大量衰亡有密切关系。

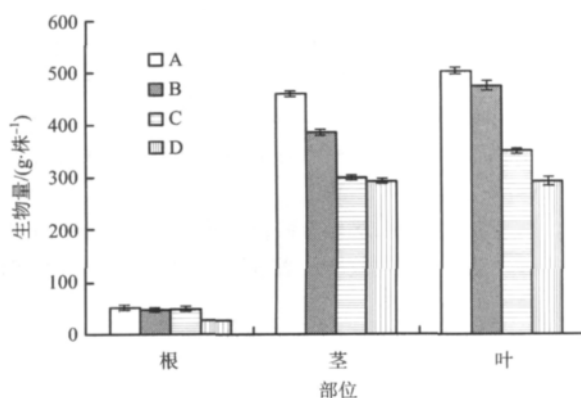


图5 不同处理烤烟植株各器官生物量

3 讨论

水分是影响烤烟生长发育和氮素代谢的重要环境因素。烤烟对水分反应敏感,生长发育过程中极易受到干旱或渍水胁迫等不良影响。本研究表明,旺长期干旱胁迫明显增加了烤烟叶片氮素含量,这与汪耀富等^[15]研究较为一致。干旱胁迫严重影响了烤烟植株生长发育,导致植株生物量降低,可能是导致叶片氮素含量相对增加的重要原因。

在高等植物中,GS/GOGAT循环是植物体内氮同化的重要途径。植物GS活性受到水分、氮素供应等环境条件的影响^[16-17]。研究结果表明,干旱胁迫明显抑制了烤烟叶片GS活性,且随胁迫程度的增加抑制程度增加;干旱胁迫后烤烟叶片GOGAT活性亦有明显降低。可见,干旱胁迫下烤烟GS/GOGAT循环明显受阻,对植株体内氮同化造成不利影响。NAD(H)-谷氨酸脱氢酶催化一对可逆反应: α -酮戊二酸加氨生成谷氨酸和谷氨酸脱氨生成 α -酮戊二酸。有研究表明,衰老、盐胁迫等不利环境下都会导致GDH活性的升高,而在这些情况下,GS活性都是降低的^[18]。因此,GDH可能作为不利环境下GS活性降低的一种补偿,而依赖于NADH的还原氨基化反应就成为GS/GOGAT循环途径的补充。本试验条件下,干旱胁迫提高了后期烤烟叶片NADH-GDH活性,GS活性降低导致 NH_4^+ 的积累,而NADH-GDH活性受到刺激,参与氨的同化。可见,干旱胁迫下,烤烟GS/GOGAT循环在 NH_4^+ 同化中的作用明显削弱,而NADH-GDH在烤烟氮同化中的作用得到明显加强,这一点可从GS/GDH比值变化看出。尽管GDH在氮同化中的作用仍存在争议,但其催化脱氨反应为三羧酸循环提供碳骨架的重要性越来越受到人们的重视。GDH很可能在植物C/N比较低的时候,催化脱氨方向的反应产生碳骨架^[19]。干旱胁迫下,烤烟光合能力下降,氮素在组织中积累,致使C/N下降,而烟叶片 NAD^+ -GDH活性明显上升,反映出GDH可能在烤烟碳素受限制的情况下发挥重要作用,这有待于进一步研究证实。

作物在遭受干旱胁迫后生长发育受到抑制,但复水能够产生一定的补偿效应^[20]。本研究表明,干旱胁迫处理复水后,烤烟GS活性迅速恢复,而GDH活性变化较小。脯氨酸是植物体内重要的渗透调节物质,能在一定程度上反映植物受胁迫程度。干旱胁迫下烤烟叶片脯氨酸大量积累,但复水后迅速减少,轻度干旱处理叶片脯氨酸含量已接近对照水平。叶片GS活性和脯氨酸含量的变化体现了复水对烤

烟植株的补偿效应。

渍水是烤烟旺长期极易遇到的逆境条件,渍水易导致植株加速衰亡。本试验表明,渍水导致烤烟叶片 GS 和 GOGAT 活性迅速降低,且降低幅度大于干旱胁迫,同时,叶片 NADH-GDH 活性在渍水前期有明显增加,成为烤烟氮同化的重要补充。然而随渍水时间延长,烤烟叶片生理功能发生紊乱,氮同化关键酶活性均迅速降低,导致叶片含氮量显著下降。试验结果表明,严重渍水引起烤烟根系大量衰亡,根系生物量占烟株比重大幅下降,渍水后 15 d 植株已经接近萎蔫死亡,严重影响了烤烟氮素代谢能力。可见,与干旱胁迫相比,渍水胁迫可能会对烤烟造成更为严重的生理伤害,因此生产上应重视烟田渍水带来的不利影响。

4 结语

土壤水分条件对烤烟生长发育和氮素代谢产生重要影响。干旱胁迫导致烤烟 GS/GOGAT 循环受阻,严重影响植株正常生长发育,而复水对其产生较好的补偿效应。严重的渍水胁迫导致烤烟植株生理功能紊乱,植株生物量降低,是烤烟生产不可忽视的逆境条件。

参考文献

- [1] 张慧娜,王志强,崔国金,等. 渗透胁迫下不同抗旱性小麦幼苗氮同化差异[J]. 应用生态学报, 2009, 20(10): 2406-2410.
- [2] 许振柱,周广胜. 植物氮代谢及其环境调节研究进展[J]. 应用生态学报, 2004, 15(3): 511-516.
- [3] 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, 2001, 18(4): 1-3.
- [4] 莫良玉,吴良欢,陶勤南. 高等植物 GS/GOGAT 循环研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2001, 7(1): 223-231.
- [5] Ferrario-Mery S, Hodges M, Hirel B, et al. Photorespiration-dependent increases in phosphoenol pyruvate carboxylase, isocitrate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase in transformed tobacco plants deficient in ferredoxin-dependent glutamine- α -ketoglutarate aminotransferase[J]. Planta, 2002, 214: 877-886.
- [6] Therese T L, Gisela M, Bertrand H. New insights towards the function of glutamate dehydrogenase revealed during source-sink transition of tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants grown under different nitrogen regimes[J]. Physiologia Plantarum, 2004, 120: 220-228.
- [7] 常思敏,马新明. 砷对烤烟氮代谢的影响[J]. 作物学报, 2007, 33(1): 132-136.
- [8] 张新要,刘卫群,易建华. 红壤、水稻土上不同氮素形态对比对烤烟碳氮代谢关键酶活性的影响[J]. 云南农业大学学报, 2005, 20(2): 225-230.
- [9] 郭红祥,刘卫群,岳俊勤,等. 烤烟根系激素水平、GS、PMT 对氮素形态的响应[J]. 华北农学报, 2006, 21(1): 72-75.
- [10] Foyer CH, Valadier MH, Migge A, et al. Drought-induced effects on nitrate reductase activity and mRNA and on the coordination of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves[J]. Plant Physiology, 1998, 117: 283-292.
- [11] 王云华,王志强,张楚富,等. 硝态氮对黄瓜子叶谷氨酰胺合成酶和谷氨酸脱氢酶活性的影响[J]. 武汉植物学研究, 2004, 22(56): 534-538.
- [12] 林清华,李常健,彭进,等. NaCl 对水稻谷氨酰胺合成酶和谷氨酸脱氢酶的胁迫作用[J]. 武汉植物学研究, 2000, 18(3): 206-210.
- [13] 王小纯,熊淑萍,马新明. 不同形态氮素对专用型小麦花后氮代谢关键酶活性及籽粒蛋白质含量的影响[J]. 生态学报, 2005, 25(25): 802-807.
- [14] 董绪兵,毕焕改,刘业霞,等. 黄瓜幼苗干旱-低温交叉适应与渗透调节的关系[J]. 中国农业科学, 2011, 44(2): 335-340.
- [15] 汪耀富,孙德梅,徐传快,等. 干旱胁迫对烤烟养分吸收分配及产量品质的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2006, 24(1): 65-69.
- [16] 戴廷波,曹卫星,孙传范,等. 增铵营养对小麦光合作用及硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶的影响[J]. 应用生态学报, 2003, 14(9): 1529-1532.
- [17] 范雪梅,姜东,戴廷波,等. 花后干旱和渍水下氮素供应对小麦籽粒蛋白质和淀粉积累关键调控酶活性的影响[J]. 中国农业科学, 2005, 38(6): 1132-1141.
- [18] Gulati A, Jaiwal P K. Effect of NaCl on nitrate reductase, glutamate dehydrogenase and glutamate in Vignaradiata Calli[J]. Bio Plant, 1996, 38: 177-183.
- [19] Miflin B J, Habash D Z. The role of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in nitrogen assimilation and possibilities for improvement in the nitrogen utilization of crops[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53: 979-987.
- [20] 刘吉利,赵长星,吴娜,等. 苗期干旱及复水对花生光合特性及水分利用效率的影响[J]. 中国农业科学, 2011, 44(3): 469-476.