

外源钙离子对小麦幼苗氮素代谢的影响

王志强, 王春丽, 林同保*

(河南农业大学农学院/河南省作物生长发育调控重点实验室, 郑州 450002)

摘要:以普通小麦豫麦 34 为材料,研究了不同浓度的外源 Ca^{2+} 对小麦幼苗氮素代谢的影响。在小麦第一片叶完全展开后,开始外源 Ca^{2+} 处理,设 0 (对照)、2、4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 8 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 4 个 Ca^{2+} 浓度梯度。处理 5d 后,测定氮同化酶活性、氮同化量及其它相关代谢物含量。结果表明,小麦幼苗叶片中硝酸还原酶(NR)和谷氨酰胺合成酶(GS)在 2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ca^{2+} 处理下活性比对照有显著增加,4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ca^{2+} 处理的 NR 活性增加明显,但 GS 活性增加不显著;8 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ca^{2+} 处理下 NR 和 GS 活性比对照均明显降低。谷氨酸脱氢酶(NADH-GDH)活性在 2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ca^{2+} 处理下活性增加不明显,而在 4、8 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ca^{2+} 处理下活性显著增加。小麦幼苗氮同化量以 4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理最大,2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理与 4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间差异不显著; Ca^{2+} 浓度为 8 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,氮素同化量明显降低。结果揭示了小麦幼苗不同氮同化途径对 Ca^{2+} 的响应不同,GS 途径比 GDH 途径对小麦氮素同化量的增加作用更大;4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 对小麦幼苗的氮素利用可能是最有效的 Ca^{2+} 浓度。

关键词:小麦;钙离子;氮素代谢

文章编号:1000-0933(2008)08-3662-06 中图分类号:Q945.79 文献标识码:A

Effects of exogenous Ca^{2+} on nitrogen metabolism in wheat seedlings

WANG Zhi-Qiang, WANG Chun-Li, LIN Tong-Bao*

Agronomy College of Henan Agricultural University, Henan Key Laboratory for Regulating and Controlling Crop Growth and Development, Zhengzhou 450002, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(8): 3662 ~ 3667.

Abstract: The exogenous calcium-induced effects on nitrogen assimilation enzymes and nitrogen use efficiency in wheat seedlings were investigated hydroponically using an ordinary wheat cultivar (*Triticum aestivum* L. cv. Yumai 34) as the material. Ca^{2+} treatments with solutions containing 0, 2, 4, and 8 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ca^{2+} were initiated immediately after the complete expansion of the first leaf. Wheat seedlings were sampled five days later to determine the activities of nitrate reductase(NR), glutamine synthetase(GS) and NADH-dependent glutamate dehydrogenase (NADH-GDH) in leaves, as well as the amount of nitrogen assimilation.

The results showed that Ca^{2+} had obvious effects on the ability of nitrogen assimilation in wheat seedlings, and ammonium assimilation enzymes responded variously to different Ca^{2+} concentrations. Significant increases in NR activity were found in plant leaves exposed to 2 and 4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ca^{2+} concentrations, among which the former induced the highest activity, whereas 8 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ca^{2+} concentration significantly reduced NR activity. GS activity was markedly increased by 2

基金项目:国家粮食丰产科技工程资助项目(No. 2006BAD02A07-2);河南省高校杰出科研人才创新工程资助项目(No. 2007KYCX003);河南省重点农业攻关资助项目(No. 072102170002)

收稿日期:2007-08-10; **修订日期:**2008-03-25

作者简介:王志强(1978~),男,河南新乡人,博士,主要从事作物氮素营养及水分生理学研究. E-mail: wzq78@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: linlab@163.com

Foundation item: The project was financially supported by National Food Production Projects of China (No. 2006BAD02A07-2); Henan Innovation Project for University Prominent Research Talents (No. 2007KYCX003); Key agricultural research projects of Henan Province (No. 072102170002)

Received date:2007-08-10; **Accepted date:**2008-03-25

Biography: WANG Zhi-Qiang, Ph. D. mainly engaged in crop nitrogen assimilation and water physiology, E-mail: wzq78@163.com

mmol·L⁻¹ Ca²⁺ application, but further increase in the concentration reversed the above effect, even 8 mmol·L⁻¹ Ca²⁺ induced striking decrease in GS activity. Unlike NR and GS, NADH-GDH activity in leaves manifested pronounced increases with all Ca²⁺ concentrations in nutrient solution. High nitrogen content in leaves was found always together with Ca²⁺ concentration of 4 mmol·L⁻¹. All the above results suggested that GS activity was important for nitrogen assimilation, and 4 mmol·L⁻¹ Ca²⁺ was the most effective concentration to make wheat plants own high ability to assimilate nitrogen.

Key Words: wheat; calcium; nitrogen metabolism

在高等植物中,氮素的吸收、同化、利用是一个占关键地位的代谢生理过程。在大田条件下,硝态氮是植物最主要的氮素吸收形式。硝态氮还原为铵的过程是在硝酸还原酶(nitrate reductase, NR; EC 1.7.1.1)和亚硝酸还原酶的依次催化作用下完成的^[1],其中 NR 催化的反应是限速步骤^[2]。硝酸盐还原产生的氨必须被尽快同化为有机氮,满足植物氮素营养需求,并解除过量的氨对植物组织的毒害^[3]。高等植物中 95% 以上的 NH₄⁺ 是通过谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS; EC 6.3.1.2)催化的途径来同化的。另外,由还原性辅酶 I 依赖型的谷氨酸脱氢酶(NADH-dependent glutamate dehydrogenase, NADH-GDH; EC 1.4.1.2)所催化的反应也是高等植物体内氨同化的一条途径,它催化 α-酮戊二酸的还原氨基化生成谷氨酸。这条氨同化途径在一定的生理条件下对 GS 途径起补偿作用^[4]。不论是 GS 还是 NADH-GDH 催化的氨同化,都必须有碳骨架即 α-酮戊二酸的供应,其主要是由胞液型异柠檬酸脱氢酶(NADP-dependent isocitrate dehydrogenase, NADP-ICDH; EC 1.1.1.42)催化的反应负责提供^[1]。

钙不仅是植物生长发育过程中所必须的大量元素之一,而且还是调节多种细胞功能的第二信使^[5,6]。已经知道 Ca²⁺ 对植物细胞的运动、伸长、分裂以及促进光敏反应和生理代谢等都起着重要的作用^[7]。另外,钙还广泛地参与植物抗逆反应^[8]。关于 Ca²⁺ 对小麦幼苗氮素代谢的调控,以前有过一些研究,比如段远霖等^[9]、鲁翠涛等^[10]分别研究了 Ca²⁺ 对小麦幼苗谷氨酰胺合成酶、氮同化关键酶的影响。但是,以前研究均没有考虑不同的氨同化途径。小麦作为我国重要的粮食作物,研究其不同氮同化途径的调节及二者的协同关系具有重要的理论和现实意义。以普通小麦为材料,研究了不同 Ca²⁺ 浓度对小麦幼苗叶片中不同氮同化关键酶活性以及氮同化能力的影响,期望为小麦氮素高效利用提供理论依据,并探索可能的调控途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料及生长条件

供试材料为普通小麦品种豫麦 34 号(*Triticum aestivum* L. cv. Yumai 34)。种子先用 0.1% 的 HgCl₂ 溶液消毒 10 min,用蒸馏水洗净,平铺于几层浸湿的滤纸上,置于 25 ℃ 的恒温培养箱中 3 d,在暗条件下使种子萌发,其间每天喷水以保持滤纸有一定的湿度。3 d 后,转入人工气候箱中,每天光照 14 h,光照强度为 110 μmol m⁻² s⁻¹,昼夜温度分别为 25 ℃ 和 20 ℃,相对湿度为 60% 左右。在转入人工气候箱的第 2 天,把小麦幼苗移栽到网格盘上。每个网格盘栽入 60 棵苗,使其浮于盛有营养液的塑料桶中,每桶装 2 L 营养液,营养液(pH 6.8)的成分及浓度如下:4 mmol·L⁻¹ KNO₃, 0.25 mmol·L⁻¹ KH₂PO₄, 0.75 mmol·L⁻¹ K₂SO₄, 0.65 mmol·L⁻¹ MgSO₄, 30 μmol·L⁻¹ FeCl₃, 2 μmol·L⁻¹ MnCl₂, 25 μmol·L⁻¹ H₃BO₃, 0.5 μmol·L⁻¹ CuSO₄, 2 μmol·L⁻¹ ZnSO₄ 和 0.1 μmol·L⁻¹ (NH₄)₆Mo₇O₂₄。营养液中每天通氧气 30 min。

1.2 试验处理及取样

待小麦幼苗第 1 片叶完全展开后进行 Ca²⁺ 浓度处理,处理方法是 CaCl₂ 直接加入营养液,设 0 (对照)、2、4 mmol·L⁻¹ 和 8 mmol·L⁻¹ 4 个 Ca²⁺ 浓度梯度。处理 5 d 后,选择生长较为一致和健壮的小麦幼苗用于相关指标的分析测定。重复 3 次。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 生物量

取长势一致的小麦幼苗 20 棵,用纸吸干表面水分后,用千分之一电子天平直接测量幼苗鲜重。最后把生

物量换算成每棵小麦幼苗的重量。

1.3.2 叶绿素和可溶性蛋白

叶绿素和可溶性蛋白含量分别参照 Arnon 和 Bradford 的方法进行^[11,12]。

1.3.3 硝酸还原酶

NR 活性测定参考 Aslam 等的方法^[13]。以 NO_2^- 的生成量来衡量 NR 活性,单位为 $\mu\text{g NO}_2^- \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FW}$ 。

1.3.4 谷氨酰胺合成酶、谷氨酸脱氢酶和异柠檬酸脱氢酶

GS、NADH-GDH 和 NADP-ICDH 的活性参照 Lu 等的方法进行测定^[14]。一个 GS 活性单位定义为每分钟于 37 °C 产生 1 μmol 的 γ -谷氨酰异羟肟酸所需的酶量,NADH-GDH 以每分钟在 30 °C 下氧化 1 μmol 的 NADH 所需的酶量为一个酶活性单位,一个 NADP-ICDH 酶活性单位定义为每分钟催化 1 μmol NADP 还原所需的酶量。

1.3.5 氮离子

按照 Lu 等的方法进行测定^[14]。

1.3.6 谷氨酰胺、天冬酰胺、谷氨酸和天冬氨酸含量

取新鲜植物叶片 0.2 g 用预冷的 80% 乙醇于冰浴上研磨,匀浆后在 4 °C 条件下于 10,000 r/min 离心 15 min,上清液用于游离氨基酸含量的测定。参照 Dimartino 等的方法^[15],采用高效液相(HPLC)系统进行测定。

1.3.7 氮同化量

用半微量凯氏定氮法^[16]测定各器官中全氮含量。

1.4 数据处理与分析

文中数据均由 3 次重复的平均值和标准误组成,采用 LSD 法对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 生物量、叶绿素和可溶性蛋白含量的变化

从表 1 可以看出,不同浓度的 Ca^{2+} 均促进了小麦幼苗生物量的积累,在 Ca^{2+} 处理浓度为 4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,小麦幼苗积累的生物量最高,为 37.8 mg plant^{-1} ,比对照增加了 9.88%; Ca^{2+} 浓度为 2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 8 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,小麦幼苗的生物量比对照亦有明显的增加,但二者之间差异不显著。叶绿素和可溶蛋白含量在不同 Ca^{2+} 浓度处理下的变化趋势与生物量基本一致,也是在 4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ca^{2+} 处理时增加幅度最大。叶绿素含量在 4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ca^{2+} 浓度处理时,比对照增加了 16.63%,而可溶性蛋白含量在 4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ca^{2+} 处理时,其数值比对照增加了 70.56%。数据表明,4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ca^{2+} 对小麦幼苗生长的促进是较合适的浓度。

表 1 不同浓度 Ca^{2+} 对小麦幼苗生物量、叶绿素和可溶性蛋白含量的影响

Table 1 Effects of Ca^{2+} on fresh weight, chlorophyll and soluble protein contents in wheat seedlings (mg plant^{-1})

Ca^{2+} 浓度($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) Ca^{2+} concentration	生物量(干重) Biomass (dry weight)	叶绿素含量 Chlorophyll	可溶性蛋白含量 Soluble protein
0 (CK)	34.4 $\pm$ 1.2 c	0.523 $\pm$ 0.015 d	1.420 $\pm$ 0.025 c
2	36.6 $\pm$ 0.9 b	0.548 $\pm$ 0.017 c	1.877 $\pm$ 0.044 b
4	37.8 $\pm$ 0.7 a	0.610 $\pm$ 0.026 a	2.422 $\pm$ 0.032 a
8	36.9 $\pm$ 1.1 b	0.564 $\pm$ 0.029 b	2.370 $\pm$ 0.033 a

表中数据由平均数和标准误差组成,后面的不同字母表示统计学上的显著差异性($P < 0.05$) Data are the means and standard error ($n = 3$), Letters indicate statistical differences ($P < 0.05$); 下同 the same below

2.2 硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶和谷氨酸脱氢酶活性变化

在不同浓度 Ca^{2+} 处理下,叶片中 NR 和 GS 活性变化趋势基本一致,都是在 2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理时活性最高;但随着 Ca^{2+} 处理浓度的增加,其活性有所下降。NR 活性在 2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ca^{2+} 浓度处理下,其活性比无 Ca^{2+} 对照增加了 12.89%;GS 活性比对照增加了 13.03 个活性单位。NADH-GDH 对不同 Ca^{2+} 浓度的响应与 NR 和

GS 不同,其活性随着 Ca^{2+} 处理浓度的增加而增加,在 Ca^{2+} 浓度为 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,其活性最高,与对照相比增加了 11.55%。

表 2 Ca^{2+} 对小麦幼苗叶片硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶和谷氨酸脱氢酶活性的影响

Table 2 Effects of Ca^{2+} concentration on activities of NR, GS and NADH-GDH in wheat seedling leaves

Ca^{2+} 浓度 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) Ca^{2+} concentration	硝酸还原酶 NR ($\mu\text{g h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{FW}$)	谷氨酰胺合成酶 GS ($\mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{FW}$)	谷氨酸脱氢酶 NADH-GDH ($\mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{FW}$)
0 (CK)	92.75 $\pm$ 2.64 c	244.07 $\pm$ 4.96 b	9.18 $\pm$ 0.17 b
2	104.71 $\pm$ 3.01 a	257.10 $\pm$ 5.78 a	9.25 $\pm$ 0.23 b
4	97.86 $\pm$ 2.56 b	251.48 $\pm$ 6.21 ab	9.98 $\pm$ 0.16 a
8	86.45 $\pm$ 2.35 d	224.96 $\pm$ 5.26 c	10.24 $\pm$ 0.21 a

2.3 异柠檬酸脱氢酶活性和铵离子含量的变化

氨同化所需的 α -酮戊二酸由 NADP-ICDH 催化的反应来提供。表 3 所示, NADP-ICDH 活性和铵离子含量均随着 Ca^{2+} 浓度的增加而升高,当 Ca^{2+} 浓度为 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,达最大值,比对照增加了 22.46 个活性单位,铵离子浓度则增加了 40.68%。

表 3 Ca^{2+} 对小麦幼苗异柠檬酸脱氢酶活性和铵离子含量变化的影响

Table 3 Effects of Ca^{2+} on activities of NADP-ICDH and ammonium content in wheat seedling leaves

Ca^{2+} 浓度 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) Ca^{2+} concentration	异柠檬酸脱氢酶 NADP-ICDH ($\mu\text{mol NADPH h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{FW}$)	铵离子含量 Ammonium ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{FW}$)
0 (CK)	50.51 $\pm$ 0.29 d	0.59 $\pm$ 0.06 b
2	58.03 $\pm$ 0.33 c	0.64 $\pm$ 0.03 b
4	64.59 $\pm$ 0.46 b	0.75 $\pm$ 0.05 a
8	72.97 $\pm$ 0.55 a	0.83 $\pm$ 0.05 a

2.4 谷氨酰胺、天冬酰胺、谷氨酸和天冬氨酸含量的变化

不同 Ca^{2+} 浓度处理均增加了小麦幼苗叶片中谷氨酰胺、天冬酰胺、谷氨酸和天冬氨酸含量(表 4),且随着 Ca^{2+} 浓度的增加而增加。当营养液中 Ca^{2+} 浓度为 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时谷氨酰胺和天冬酰胺含量分别为对照的 2.41 倍和 4.19 倍;谷氨酸含量比对照增加了 10.69%,天冬氨酸含量比对照增加了 13.16%。

表 4 Ca^{2+} 对小麦幼苗谷氨酰胺、天冬酰胺、谷氨酸和天冬氨酸含量变化的影响

Table 4 Effects of Ca^{2+} on contents of Gln, Asn, Glu and Asp in wheat seedling leaves ($\mu\text{g g}^{-1} \text{FW}$)

Ca^{2+} 浓度 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) Ca^{2+} concentration	谷氨酰胺 Glutamine	天冬酰胺 Asparagine	谷氨酸 Glutamate	天冬氨酸 Aspartate
0 (CK)	30.1 $\pm$ 0.02 d	10.1 $\pm$ 1.1 c	125.4 $\pm$ 1.4 b	41.8 $\pm$ 1.0 b
2	46.8 $\pm$ 0.06 c	26.2 $\pm$ 2.3 b	129.8 $\pm$ 1.1 ab	42.1 $\pm$ 0.8 b
4	54.9 $\pm$ 0.02 b	30.4 $\pm$ 2.0 b	132.4 $\pm$ 0.9 ab	45.2 $\pm$ 0.8 ab
8	72.4 $\pm$ 0.07 a	42.3 $\pm$ 3.5 a	138.8 $\pm$ 1.0 a	47.3 $\pm$ 1.1 a

2.5 氮素积累量的变化

从图 1 可以看出,在较低的 Ca^{2+} 浓度下,小麦幼苗氮素积累量随着 Ca^{2+} 处理浓度相应增加。当 Ca^{2+} 浓度为 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,氮积累量最高,比对照增加了 20.47%。而当 Ca^{2+} 浓度继续增加时,氮素积累量比对照明显降低。

3 讨论

钙作为植物必需元素和代谢调控的重要因子,在植物的生长发育过程中起着非常重要的作用。从本试验可以看出,增加营养液中的 Ca^{2+} 浓度可以明显改善小麦幼苗的生长状况,增强对营养物质的利用,促进生物

量的积累。一定浓度的 Ca^{2+} 明显增加了小麦叶片中叶绿素含量;促进了蛋白质的合成,使小麦整体代谢活性增强,促进了小麦幼苗生物量的增加。但是, Ca^{2+} 并非越多越好,而是在一个合适的浓度范围内才能有效地发挥作用。当营养液中 Ca^{2+} 浓度为 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,小麦幼苗的生长状况最好。而当 Ca^{2+} 浓度增加到 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,小麦幼苗叶片中叶绿素含量、蛋白质积累和生物量表现出下降的趋势。

氮素的同化是植物体内的一个十分重要的生理过程,其涉及到许多酶促反应。小麦在大田生长的条件下,可以利用的氮源主要是硝态氮。土壤中的硝态氮经过根系的吸收,大部分被转运到叶片中,因为叶片是植物体内硝态氮同化的主要器官^[17]。硝态氮素被运转到叶片中后,在叶片中硝酸还原酶和亚硝酸还原酶的依次催化作用下被还原为氨^[1],而氨则主要通过 GS/GOGAT 循环来实现同化^[4]。在 GS/GOGAT 循环受限时, NADH-GDH 催化的反应也可以实现铵离子的同化生成谷氨酸^[18, 19]。实验中,叶片中 NR 和 GS 活性在 $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ca^{2+} 浓度处理下活性最高,而当 Ca^{2+} 浓度继续增加时,其活性明显下降。当营养液中的 Ca^{2+} 浓度增加到 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,它们的活性比对照显著下降。与 GS 和 NR 不同, NADH-GDH 活性随着 Ca^{2+} 处理浓度的加大而增加,在 Ca^{2+} 浓度为 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时活性最大。NADP-ICDH 催化的反应为氨同化提供碳骨架(α -酮戊二酸),进一步合成谷氨酸。NADP-ICDH 活性随着 Ca^{2+} 处理浓度的加大显著增加,暗示了 Ca^{2+} 处理增加了幼苗对 α -酮戊二酸的需求。

Ca^{2+} 对小麦幼苗氮素代谢的影响在中间代谢物含量上也有明显的反映(表 3、表 4)。铵离子含量的变化是多种酶促反应共同作用的结果。在本试验中,铵离子含量随着 Ca^{2+} 浓度的加大而增加。从 NR 和 GS 的角度来讲,在 $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Ca^{2+} 处理下, NR 活性显著升高,说明通过硝酸盐的还原生成的铵离子量有明显增加,但是由于 GS 活性也有明显升高,所以反映在铵离子含量上增加不显著;在 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Ca^{2+} 处理下, NR 活性比对照有明显增加,但是 GS 活性与对照相比增加不明显,铵离子含量表现出显著的增加;在 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Ca^{2+} 处理下,虽然 NR 活性有明显降低,但是 GS 活性比对照也有明显的下降,表现在铵离子水平上也有显著的增加。铵离子可能是一种信号,诱导了 NADH-GDH 活性的增加^[20]。铵离子含量与 NADH-GDH 活性的变化一致,都随着 Ca^{2+} 浓度的加大而升高,在 $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Ca^{2+} 处理下增加不显著,而在 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Ca^{2+} 处理下比对照明显增加。谷氨酸和谷氨酰胺含量随着 Ca^{2+} 浓度的加大而增加,但是谷氨酸含量在 $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ca^{2+} 处理下增加不明显,只在 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Ca^{2+} 处理下比对照才有显著增加,原因可能在于 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Ca^{2+} 处理下降低的 GS 活性对底物谷氨酸的需求减少;谷氨酰胺含量与谷氨酸相比增加幅度较大,可能的原因是谷氨酰胺对铵离子的蓄积能力比较强,在解除游离氨毒害方面起一定作用。天冬氨酸和天冬酰胺与谷氨酸和谷氨酰胺的变化趋势类似,它们与氮素同化的关系还需要结合天冬酰胺合成酶等相关酶做深入研究。

测定了氮素同化量,并以此来衡量小麦幼苗氮素同化能力的强弱。从试验结果看,不同 Ca^{2+} 浓度对小麦幼苗氮素同化量有明显的影响。当营养液中 Ca^{2+} 浓度增加时,小麦幼苗氮素同化量随之增加。当 Ca^{2+} 浓度为 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,氮同化量达最大值, $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ca^{2+} 浓度处理间差异不显著。但 Ca^{2+} 浓度增加到 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,氮素同化量反而下降。表明,单纯依靠某一个同化途径来实现植物对氮素的最高同化效率难度较大,各个氮同化过程需要协同工作,以实现植物对氮素的高效利用。另外,从氮同化量和相关酶活性的变化可以看出, GS 途径的增强对于提高小麦幼苗对氮素的同化作用更大。试验中,不同 Ca^{2+} 浓度对小

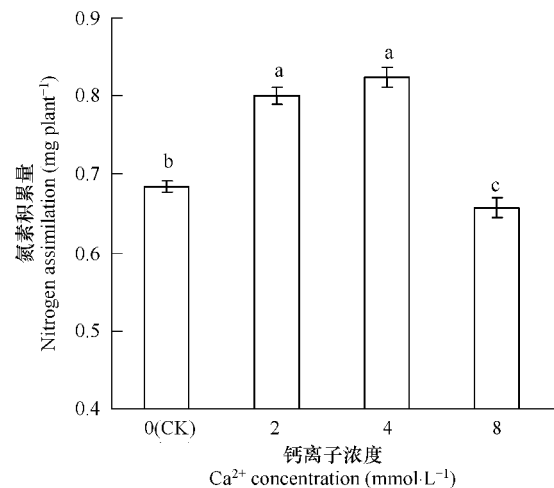


图1 Ca^{2+} 对小麦幼苗氮素同化总量的影响

Fig. 1 Effect of Ca^{2+} on nitrogen content in wheat seedlings

麦幼苗不同氮同化途径的调节效应是不同的, $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 也许是最适的 Ca^{2+} 浓度, 在该浓度下, 小麦幼苗同化氮素的能力最强, 叶绿素和可溶性蛋白含量最高, 生长发育较好, 生物量明显增加。其深层次的调节机理还需要进一步研究。

References:

- [1] Gálvez S, Lancien M, Hodges M. Are isocitrate dehydrogenases and 2-oxoglutarate involved in the regulation of glutamate synthesis? Trends in Plant Science, 1999, 4: 484—490.
- [2] Campbell W H. Nitrate reductase structure, function and regulation: bridging the gap between biochemistry and physiology. Annual Review of Plant Physiology & Plant Molecular Biology, 1999, 50: 277—303.
- [3] Kronzucker H J, Britto D T, Davenport R J, *et al.* Ammonium toxicity and the real cost of transport. Trends in Plant Science, 2001, 6: 335—337.
- [4] Ireland R J, Lea P J. The enzymes of glutamine, glutamate, asparagine and aspartate metabolism. In: Singh B K, ed. Plant Amino Acids, Biochemistry and Biotechnology. New York: Dekker, 1999, 49—109.
- [5] McAinsh P R, Brownlee A M, Hetherington A M. Calcium ions as second messengers in guard cell signal transduction. Physiologia Plantarum, 1997, 100: 16—29.
- [6] Xu X M, Ye H C, Li G F. Progress in research of plant tolerance to saline stress. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2000, 6(4): 379—387.
- [7] He L F, Shen Z G, Liu Y L. Effects of calcium on the function and lipid composition of tonoplast from two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar roots under aluminum stress. Journal of Nanjing Agricultural University, 2000, 23(1): 10—13.
- [8] Jiang T H, Zhan X H, Xu Y C, *et al.* Roles of calcium in stress-tolerance of plants and its ecological significance. Chinese Journal of Applied Ecology, 2005, 16(5): 971—976.
- [9] Duan Y L, Li H S, Wu S H, *et al.* Effects of blue-light and calcium on the activities of glutamate synthetase and enzymes belonging to calcium signal systems in seedlings of wheat. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University(Natural Science), 2003, 23(2): 209—212.
- [10] Lu C T, Li H S, Wang X K. Effect of calcium on key enzymes of nitrogen assimilation and related to protein phosphorylation in wheat. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2002, 8(1): 110—114.
- [11] Arnon D. Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 1949, 24: 1—8.
- [12] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 1976, 72: 248—254.
- [13] Aslam M, Hukfakker R C, Rains D W. Early effects of salinity on nitrate assimilation in barley seedlings. Plant Physiology, 1984, 76: 321—325.
- [14] Lu B B, Yuan Y Z, Zhang C F, *et al.* Modulation of key enzymes involved in ammonium assimilation and carbon metabolism by low temperature in rice (*Oryza sativa* L.) roots. Plant Science, 2005, 169: 295—302.
- [15] Dimartino C, Delfine S, Alvino A, *et al.* Photorespiration rate in spinach leaves under moderate NaCl stress. Photosynthetica, 1999, 36: 233—242.
- [16] Wang Z F, Chen X L, Yu M Y, *et al.* Comparison on changes of root absorption activity, canopy apparent photosynthesis rate and nutrient distribution of two winterwheat varieties with different spike type. Acta Agronomica Sinica, 1997, 23(5): 607—614.
- [17] Foyer C H, Noctor G. Photosynthetic nitrogen assimilation: inter-pathway control and signaling. In: Foyer C H, Noctor G, eds. Photosynthetic Nitrogen Assimilation and Associated Carbon and Respiratory Metabolism. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2002. 1—22.
- [18] Maurin C, Gal Y L. Glutamine synthetase in the marine coccolithophorid *Emiliania huxleyi*: regulation of activity in relation to light and nitrogen availability. Plant Science, 1997, 122: 61—69.
- [19] Moyano E, Cárdenas J, Muñoz-Blanco J. Involvement of NAD(P)^+ -glutamate dehydrogenase isoenzymes in carbon and nitrogen metabolism in *Chlamydomonas reinhardtii*. Physiologia Plantarum, 1995, 94: 553—559.
- [20] Ferrario-Mery S, Hodges M, Hirel B, Foyer C H. Photorespiration-dependent increases in phosphoenol pyruvate carboxylase, isocitrate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase in transformed tobacco plants deficient in ferredoxin-dependent glutamine- α -ketoglutarate aminotransferase. Planta, 2002, 214: 877—886.

参考文献:

- [6] 许祥明, 叶和春, 李国凤. 植物抗盐机理的研究进展. 应用与环境生物学报, 2000, 6(4): 379—387.
- [7] 何龙飞, 沈振国, 刘友良. 铝胁迫下钙对小麦根液泡膜功能和膜脂组成的影响. 南京农业大学学报, 2000, 23(1): 10—13.
- [8] 蒋廷惠, 占新华, 徐阳春, 等. 钙对植物抗逆能力的影响及其生态学意义. 应用生态学报, 2005, 16(5): 971—976.
- [9] 段远霖, 李合生, 伍素辉, 等. 蓝光和 Ca 对小麦幼苗谷氨酸合成酶及钙调系统酶活性的影响. 福建农林大学学报(自然科学版), 2003, 23(2): 209—212.
- [10] 鲁翠涛, 李合生, 王学奎. 钙对小麦氮同化关键酶活性的影响及其与蛋白质磷酸化的关系. 植物营养与肥料学报, 2002, 8(1): 110—114.
- [16] 王志芬, 陈学留, 余美炎, 等. 不同穗型的两个冬小麦品种根系活力、光合特性及物质分配变化的比较研究. 作物学报, 1997, 23(5): 607—614.