

不同甘氨酸浓度对无菌水培番茄幼苗生长 和氮代谢的影响

葛体达^{1,2}, 宋世威¹, 姜 武¹, 唐东梅¹, 黄丹枫^{1,*}

(1. 上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240; 2. 中国科学院亚热带农业生态研究所, 亚热带农业生态重点实验室, 长沙 410125)

摘要:植物不但能吸收矿质氮 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$), 而且也能直接吸收有机态氮, 如氨基酸、小分子蛋白质等。为探讨有机态氮浓度对番茄幼苗生长和氮代谢的影响, 无菌水培条件下采用 2 个番茄品种 (申粉 918、沪樱 932) 设置 4 种不同浓度 (0、1.5、3.0、6.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的甘氨酸态氮 (Gly-N), 研究了番茄幼苗干物质重、吸氮量、氮代谢相关产物和氮代谢关键酶活性。结果表明, 无菌水培条件下, 随营养液中 Gly 浓度的增加, 番茄植株干物质重、总氮量、地上部和根系游离氨基酸、可溶性蛋白、地上部可溶性糖含量增加。与无氮对照相比, 各处理均显著降低了番茄地上部淀粉含量 ($P < 0.05$), 而 Gly 浓度对根系淀粉含量无显著影响。随营养液中 Gly 浓度的增加, 番茄地上部和根系的硝酸还原酶 (NR)、谷氨酸脱氢酶 (NADH-GDH)、丙转氨酶 (GPT) 和谷草转氨酶 (GOT) 活性均提高。无氮对照的 NR 活性与 1.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Gly 处理之间差异不显著, 而与 3.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 6.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Gly 两处理之间差异显著 ($P < 0.05$); 1.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Gly 和 3.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Gly 两个处理之间的地上部 NADH-GDH、GPT 和 GOT 活性差异不显著。Gly 浓度与番茄植株干物质重、总氮量呈显著正相关 ($R^2 > 0.905^{**}$), 这表明两个番茄品种均能直接吸收利用甘氨酸。沪樱 932 吸收 Gly 的能力显著大于申粉 918 ($P < 0.05$)。因此, Gly-N 可以成为番茄生长的良好氮源, 其生理效应受 Gly 浓度的影响; 不同品种番茄对 Gly 的吸收利用能力不同。

关键词:番茄; 甘氨酸浓度; 生长; 氮代谢; 无菌培养

文章编号: 1000-0933 (2009) 04-1994-09 中图分类号: Q143 文献标识码: A

Influence of glycine-N concentration on the growth and nitrogen metabolism of tomato seedlings under sterile hydroponics cultivation

GE Ti-Da^{1,2}, SONG Shi-Wei¹, JIANG Wu¹, TANG Dong-Mei¹, HUANG Dan-Feng^{1,*}

¹ School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201101, China

² Key Laboratory of Subtropical Agro-ecology, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(4): 1994 ~ 2002.

Abstract: Recent evidence suggests that agricultural and horticultural crops may be able to take up significant quantities of dissolved organic nitrogen (DON). Our aims were to determine the effects of organic nitrogen concentration on the growth and nitrogen metabolism of tomato seedlings under aseptic hydroponic cultivation. We grew two genotypes of tomato in sterile, hydroponic solution with the addition of organic-N in the form of glycine (Gly-N) at 0, 1.5, 3.0, and 6.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (CK, 1.5Gly, 3.0Gly, and 6.0Gly treatments). Both for two cultivars, biomass production, N content, free amino acid and soluble protein content in the shoot and root and soluble sugar content in the shoot were increased significantly with the increment of Gly-N concentration in the nutrient solution. In addition, plant biomass production and N content were positively correlated with the rate of Gly-N supply ($R^2 > 0.905^{**}$), although the magnitude of the response was genotype dependent. The addition of Gly-N to the solution unaffected root starch content while it decreased shoot starch content compared to the CK treatment. No significant difference in root soluble sugar content was observed among the CK, 1.5Gly

基金项目:国家“863”重点资助项目 (2006AA10A311); 中国博士后基金资助项目 (2005038436); 上海市“蔬菜学”重点学科建设资助项目 (B209)

收稿日期: 2007-11-19; 修订日期: 2008-07-23

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: hdf@sjtu.edu.cn

and 3.0Gly treatments. The Gly-N supply also significantly affected the activities of N assimilatory enzymes, such as glycine addition increased the activity of nitrate reductase, NADH-glutamate dehydrogenase, glutamate oxaloacetate transaminase and glutamate pyruvate transaminase in the roots and shoots compared with the CK treatment. Our results clearly demonstrated the intrinsic capacity for tomato plants to directly use DON as a sole source of N. Further studies should be carried out to clarify the functional significance of DON in horticultural systems under non-sterile conditions.

Key Words: tomato (*Solanum lycopersicum*); glycine-N; growth; nitrogen assimilation; aseptic hydroponics

传统观点认为,土壤微生物降解有机氮为 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N,植物吸收利用之并且重新形成有机氮。然而,大量研究表明,植物不但能吸收矿质氮(NH_4^+ -N、 NO_3^- -N),而且也能直接吸收有机态 N,如氨基酸、简单蛋白质等有机氮化合物^[1~5]。近来,植物有机氮营养现象通过根系短期吸收试验、无菌培养试验、实验室有机氮源纯培养试验、野外植物对同位素标记有机氮源物质(氨基酸)的吸收及植物组织的¹⁵N 自然丰度值等不同途径被深刻地揭示出来,从多角度揭示出植物在氮素获取方面的多样性^[6]。因此生态系统中有机氮(尤其氨基酸类)对植物氮营养的重要性日益受到关注。传统的矿质营养观念的改变导致了对有关 N 循环理论的再认识。

Chapin 等发现嗜氨基酸的植物,其还发现小麦也能吸收有机氮^[7]。吴良欢等报道,在完全无菌水培条件下,水稻能吸收甘氨酸和谷氨酸^[5]。也有研究指出,绿豆、青梗菜、胡萝卜、大白菜等能吸收土壤中的可溶性有机氮和甘氨酸^[8,9]。在植物有机氮营养生理生化机制方面亦有相关报道。吴良欢等认为,水稻吸收的氨基酸可能有很大一部分在根内即发生转氨基作用而被同化,还可能有一部分上升到叶片脱氨基后同化^[5]。另外,以氨基酸及酰氨态 N 形式进入植物的容易被植物代谢转化^[10]。

从前人的研究来看,目前多是研究不同氮素形态对植物生长或者对氮代谢的影响^[3~5,11],而有关不同有机氮浓度对植物生长及生理特性的影响研究却鲜见报道。因此,本文研究了在完全无菌水培条件下,不同浓度有机氮(甘氨酸态 N)对番茄生长、氮代谢等生理生化特性的影响,以期全面阐述植物有机氮的吸收与同化规律提供理论依据;为有机肥在农业生产上的应用提供理论依据和丰富有机营养理论。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本试验在上海交通大学农业与生物学院无菌组织培养室内进行。以申粉 918 和沪樱 932 为供试材料,前者为普通大番茄,适合于露地及保护地的常规栽培,后者为樱桃小番茄,适合于有机生态型栽培。

1.2 材料的培养(无菌苗的培养)

为防止氨基酸被微生物分解,保证氨基酸以分子态被植物吸收,整个培养过程为无菌培养。

种子灭菌方法如下:70% 的酒精浸泡 1min → 无菌水洗 3 次 → 10% 次氯酸钠溶液浸 30min → 无菌水洗 10 次 → 无菌水浸泡 2h 后播种。

将灭过菌的种子播在 250ml 广口组培瓶里,每瓶放种子 30~40 粒,培养基为不添加任何养分的琼脂培养基,封口膜封口。组培瓶、培养基、封口膜均经过 121℃ 高压灭菌。种子在无菌的环境中发芽 4d 后,定植到不同处理的广口组培瓶里。组培瓶容积为 250ml,每瓶装 60ml 营养液,培养 21d(从转移无菌幼苗之日起计)后取样测定。组培瓶、封口膜、无氮营养液经 121℃ 高压灭菌;其他的采用超滤膜灭菌(通过孔径为 0.22μm 的微孔滤膜)。组培瓶用透明双层透气防菌组培专用封口膜封口,用消毒灭菌的海绵固定植株。无菌培养环境温度 25~28℃,光照不低于 4000lx。每 3d 换 1 次培养液,营养液 pH (6.5 ± 0.2)。以上操作均在无菌超净台上进行,以消除微生物的影响。在培养过程中,进行菌检,弃去污染苗。

1.3 试验设计

甘氨酸(Gly)是土壤中含量相对较高的游离氨基酸,也是分子量最小,结构最简单的氨基酸,成为植物有

机营养氨基酸态氮研究的理想氮源。因此本研究选择甘氨酸(Gly)作供试氨基酸态氮源。

本试验设 3 个不同水平的甘氨酸浓度,分别为 1.5、3.0、6.0 mmol·L⁻¹,以无氮处理为对照,分别记为 1.5 Gly、3.0 Gly、6.0 Gly 和 CK。无氮的 1/2 Hoagland-Arnon 营养液(对照处理的营养液)采用 121℃ 高压灭菌,各个浓度的甘氨酸(Gly)溶液采用超滤膜灭菌(通过孔径为 0.22 μm 的微孔滤膜),然后添加到经 121℃ 高压灭菌的 1/2 Hoagland-Arnon 营养液中即成为不同甘氨酸浓度处理的营养液。在所有处理的营养液中,除氮外,其他所有矿质元素含量和形态都相同。各处理重复 4 次,每个重复 5 瓶,每个组培瓶定植 4 株幼苗,随机排列。

1.4 测定项目和方法

番茄植株在不同处理组培瓶里生长 21d 后取出,先用自来水洗,再用去离子水冲,于 70℃ 条件下烘干至恒重。称重后植株粉碎,然后用浓 H₂SO₄-H₂O₂ 法进行消解,采用半微量凯氏定氮法测定样品的含氮量,用植株全氮含量与植株干量的乘积计算植株吸氮量^[12]。

氨基酸总量测定采用水合茚三酮比色法,可溶性蛋白用考马斯亮蓝染色法测定,并用牛血清白蛋白作标准曲线^[13]。可溶性糖、淀粉含量用蒽酮比色法测定^[13]。

硝酸还原酶(NR)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)等氮代谢相关酶的测定。

NR 活性参考 Hageman 和 Hucklesby 的方法测定^[14]。先将新鲜材料洗净用滤纸吸干,用 1cm 打孔器取叶圆片,然后称取 0.5g 放入三角瓶中加入 5ml 磷酸缓冲液(0.1mol·L⁻¹ pH7.5)和 5ml 0.2 mol·L⁻¹ KNO₃ 溶液(对照中加去离子水),真空干燥器内真空渗入 5min,30℃ 黑暗中培养 30 分钟,加 1ml 三氯乙酸(30%)终止反应,吸 5ml 于试管中加入 1ml 磺胺(1% 在 3mol·L⁻¹ HCl)和 1ml 0.05% NED 溶液,然后用分光光度计在 540nm 测定光吸收,以不加 KNO₃ 溶液的样品的光吸收减去空白的光吸收等于光吸收量,根据标准曲线上计算反应产生的 NO₂⁻ 的量,NR 活性用每克鲜重叶片在 30 min 内还原 KNO₃ 所形成的 NO₂⁻ μmol 数表示。

GDH、GPT、GOT 酶液的提取:0.5g 根、叶片加 5ml 100mmol·L⁻¹ 的 Tris-盐酸缓冲液(pH7.5,含 10 mmol·L⁻¹ 巯基乙醇),冰浴中匀浆后,在 15000g 离心 20min。上清液用于酶活性的测定。整个提取过程要将材料保持在低温条件下,且尽量快速的进行,以防止酶的失活。所有操作均在 4℃ 下进行。

GDH 活性按照 Masclaux 的方法测定^[15]。以每分钟反应液于 30℃ 减少 1μmol 的 NADH 所需的酶量定义为 1 个酶活性单位。GDH 活性计算以每小时每克鲜重材料催化 NADH 减少的 mol 数表示。

GPT、GOT 活性按照吴良欢的方法测定^[16]。其活性大小以每克植物鲜样在 30min 内反应生成的丙酮酸微摩尔(μmol)表示。

1.5 数据分析

所有数据采用 SPSS12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 软件统计,方差分析采用 Duncan's 多重比较法。文中小写字母 a、b、c 表示不同处理在 0.05 水平上的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 对干物质重和总氮量的影响

无菌水培条件下,随营养液中甘氨酸浓度的增加,两个番茄品种的植株干物质重和吸氮量都显著增加,在 6.0 mmol·L⁻¹ 时达到最大,各处理植株干物质重、总氮量均表现为 6.0 Gly > 3.0 Gly > 1.5 Gly > CK(表 1)。以申粉 918 为例,与无氮对照处理相比,1.5、3.0mmol·L⁻¹ 和 6.0 mmol·L⁻¹ Gly 处理的植株干物质重分别增加了 19.2%、109.3% 和 178.6%;而植株总氮量则分别增加了 32.6%、118.6% 和 172.1%。沪樱 932 与之基本相同,只是增加的比例不同而已。这说明,在无菌条件下,营养液中甘氨酸态 N 浓度的增加,促进了植物干物质的积累和吸氮量的增加。通过差异显著性检验可知,沪樱 932 较申粉 918 吸收营养液中 Gly-N 的能力大,且两者达显著水平($p < 0.05$)。

2.2 对游离氨基酸和可溶性蛋白含量的影响

无菌水培条件下,随营养液中甘氨酸浓度的增加,两个番茄品种的地上部游离氨基酸含量显著增加,与无

氮对照处理相比,申粉 918 的 1.5、3.0 mmol·L⁻¹和 6.0 mmol·L⁻¹ Gly 各处理依次增加了 100%、170.6% 和 411.8%;而沪樱 932 则依次增加了 105.0%、180.0% 和 420.0%。根系游离氨基酸含量,亦随甘氨酸浓度的增加而增加,但 1.5Gly 和 3.0Gly 这两个处理差异不显著,各处理与对照处理相比,申粉 918 各处理依次增加了 12.5%、20.8% 和 179.2%;而沪樱 932 则依次增加了 13.8%、20.7% 和 213.8% (表 1)。

表 1 无菌培养下,不同甘氨酸态氮浓度对番茄干物质重、总氮量、可溶性蛋白、游离氨基酸含量的影响

Table 1 Dry weight, total N, total free amino acid (TFAA) and soluble protein content of tomato seedlings in different glycine-N (0, 1.5, 3.0, 6.0 mmol·L⁻¹) concentrations under sterile culture

品种 Cultivars	处理 Treatments	干物质重 Dry weight (mg·plant ⁻¹)	总氮量 Total N (mg·plant ⁻¹ DW)	游离氨基酸 TFAA (mg·g ⁻¹ FW)		可溶性蛋白 Soluble protein (mg·g ⁻¹ FW)	
				地上部 Shoot	根系 Root	地上部 Shoot	根系 Root
申粉 918	CK	18.2 ± 1.4d	0.43 ± 0.13d	0.17 ± 0.01d	0.24 ± 0.03c	5.3 ± 0.26d	5.7 ± 0.16d
Shenfen918	1.5 Gly	21.7 ± 2.4c	0.57 ± 0.16c	0.34 ± 0.02c	0.27 ± 0.01b	7.8 ± 1.04c	7.2 ± 0.43c
	3.0 Gly	38.1 ± 3.1b	0.94 ± 0.10b	0.46 ± 0.03b	0.29 ± 0.01b	13.6 ± 0.81b	9.5 ± 1.04b
	6.0 Gly	50.7 ± 6.2a	1.17 ± 0.21a	0.87 ± 0.10a	0.67 ± 0.03a	16.4 ± 2.41a	15.2 ± 0.81a
沪樱 932	CK	19.2 ± 1.8d	0.67 ± 0.21d	0.20 ± 0.01d	0.29 ± 0.04c	6.8 ± 0.51d	7.4 ± 0.38d
Huying932	1.5 Gly	24.8 ± 1.9c	0.87 ± 0.12c	0.41 ± 0.03c	0.33 ± 0.01b	12.4 ± 0.87c	10.6 ± 0.21c
	3.0 Gly	51.3 ± 4.2b	1.29 ± 0.21b	0.56 ± 0.07b	0.35 ± 0.04b	17.6 ± 0.84b	12.2 ± 0.57b
	6.0 Gly	62.7 ± 5.7a	1.87 ± 0.37a	1.04 ± 0.43a	0.91 ± 0.10a	25.1 ± 1.24a	20.6 ± 1.83a

由表 1 还可知,无菌水培条件下,随营养液中甘氨酸浓度的增加,两个番茄品种地上部、根系可溶性蛋白含量均显著提高。各处理与无氮对照处理相比,申粉 918 的 1.5、3.0 mmol·L⁻¹和 6.0 mmol·L⁻¹ Gly 各处理的地上部可溶性蛋白含量依次增加了 47.2%、156.6% 和 209.4%;根系则依次增加了 26.3%、66.7% 和 166.7%;而沪樱 932 地上部可溶性蛋白含量则依次增加了 82.4%、158.8% 和 269.1%;根系则依次增加了 43.2%、64.9% 和 178.4%。

2.3 对可溶性糖和淀粉含量的影响

无菌水培条件下,随营养液中甘氨酸浓度的增加,两个番茄品种的地上部可溶性糖含量增加,1.5Gly 和 3.0Gly 处理的申粉 918 地上部可溶性糖含量差异不显著,而沪樱 932 的则差异显著。与无氮对照处理相比,申粉 918 的 1.5、3.0 mmol·L⁻¹和 6.0 mmol·L⁻¹ Gly 各处理的地上部可溶性糖含量依次增加了 42.5%、52.2% 和 119.0%;而沪樱 932 则依次增加了 37.8%、96.2% 和 119.1% (表 2)。两个番茄品种的根系可溶性糖含量在无氮对照、1.5Gly 和 3.0Gly 3 个处理之间的差异不显著,而与 6.0Gly 处理差异显著(表 2)与无氮对照处理相比,1.5、3.0 mmol·L⁻¹和 6.0 mmol·L⁻¹ Gly 的各处理都显著降低了地上部淀粉含量,申粉 918 依次降低了 31.7%、29.8% 和 24.5%;沪樱 932 则依次降低了 38.2%、32.2% 和 11.7%。甘氨酸浓度对两个番茄品种根系中的淀粉含量均无显著差异(表 2)。

表 2 无菌培养下,不同甘氨酸态氮浓度对番茄根系、地上部可溶性糖、淀粉含量的影响

Table 2 Soluble sugar and starch content in shoot and root of tomato seedlings in different glycine-N (0, 1.5, 3.0, 6.0 mmol·L⁻¹) concentrations under sterile culture

品种 Cultivars	处理 Treatments	可溶性糖 Soluble sugar (mg·g ⁻¹ FW)		淀粉 Starch (mg·g ⁻¹ FW)	
		地上部 Shoot	根系 Root	地上部 Shoot	根系 Root
申粉 918	CK	170.3 ± 7.4c	55.9 ± 6.1b	135.7 ± 10.0a	35.8 ± 4.1a
Shenfen918	1.5 Gly	242.7 ± 27.4b	56.2 ± 4.7b	92.7 ± 6.3b	40.2 ± 6.6a
	3.0 Gly	259.2 ± 18.4b	62.1 ± 9.2b	95.3 ± 10.2b	36.7 ± 5.8a
	6.0 Gly	372.9 ± 24.1a	93.7 ± 6.1a	102.4 ± 6.2b	41.7 ± 1.3a
沪樱 932	CK	162.5 ± 8.1d	53.4 ± 2.5b	121.8 ± 9.2a	46.7 ± 4.8a
Huying932	1.5 Gly	224.0 ± 10.3c	50.7 ± 1.9b	75.3 ± 2.6c	41.5 ± 3.6a
	3.0 Gly	318.8 ± 17.9b	52.4 ± 4.1b	82.6 ± 9.1c	44.1 ± 1.2a
	6.0 Gly	356.1 ± 25.3a	81.5 ± 6.3a	107.5 ± 6.1b	50.2 ± 0.4a

2.4 对氮代谢酶活性的影响

2.4.1 对 NR 活性的影响

硝酸还原酶(NR)是植物体内氮同化的关键酶之一,同时也是限速酶。图1表明,不同甘氨酸浓度下,两个番茄品种的根系NR活性小于地上部,这说明地上部(叶片)是 NO_3^- 还原的主要场所。随营养液中甘氨酸浓度的增加,两个番茄品种的地上部、根系NR活性提高,但是无论是地上部,还是根系,其无氮对照和1.5Gly两个处理之间的差异不显著,而与3.0Gly、6.0Gly处理差异显著(图1)。与无氮对照处理相比,申粉918的1.5、3.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和6.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Gly各处理地上部NR活性依次提高了5.8%、29.0%和135.1%;沪樱932则依次提高了8.7%、21.3%和117.5%;申粉918根系则依次提高了3.0%、30.8%和156.4%;沪樱932分别提高了9.2%、31.4%和120.0%(图1)。

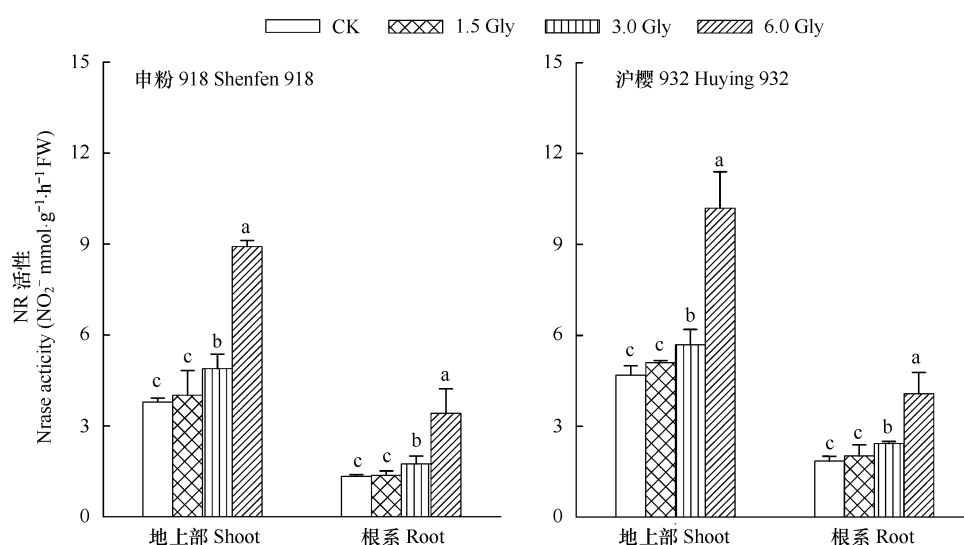


图1 无菌培养下,不同甘氨酸态氮浓度对番茄地上部、根系硝酸还原酶(NR)活性的影响

Fig. 1 Changes in shoots and roots NR activity in tomato seedlings in different glycine-N (0, 1.5, 3.0, 6.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) concentrations under sterile culture

2.4.2 对 GDH 活性的影响

图2表明,不同处理的番茄地上部、根系NADH-GDH活性变化不同。随着甘氨酸浓度的增加,两个番茄品种地上部的NADH-GDH活性升高,但是1.5Gly和3.0Gly两个处理之间差异不显著,其余处理间差异显著($p < 0.05$)。而根系则表现为随着营养液中甘氨酸浓度的升高,两个番茄品种的NADH-GDH活性显著增加(图2)。

2.4.3 对 GPT 活性的影响

与无氮对照相比,不同甘氨酸浓度均提高了地上部GPT活性,但申粉918的1.5、3.0、6.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Gly 3个处理之间无显著差异,而沪樱932则表现为1.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和3.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Gly的两个处理之间的差异不显著,而与6.0Gly处理差异显著($p < 0.05$)。与无氮对照相比,1.5、3.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和6.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Gly各处理的申粉918地上部GPT活性分别提高32.5%、27.4%和40.7%;而沪樱932则依次提高65.8%、76.4%和194.8%。根系GPT活性随营养液中甘氨酸态N浓度的增加而显著增加,与无氮对照相比,申粉918各处理根系GPT活性依次增加了85.2%、135.1%和210.4%;沪樱932则分别增加了93.5%、140.7%和275.4%(图3)。

2.4.4 对 GOT 活性的影响

与GPT活性变化规律类似,与无氮对照相比,不同甘氨酸浓度均提高了地上部GOT活性。1.5、3.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Gly处理的两个番茄品种地上部GOT活性差异不显著,而6.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Gly处理的与其他处理差

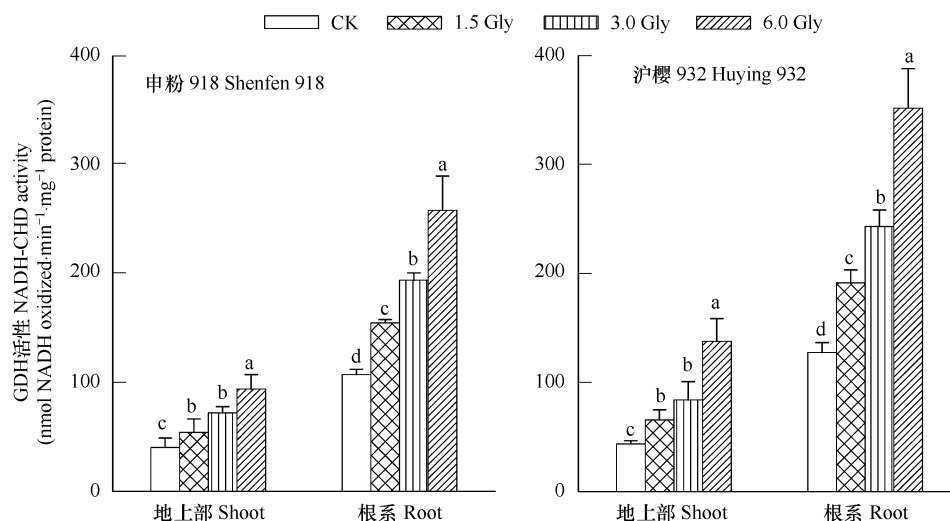


图2 无菌培养下,不同甘氨酸态氮浓度对番茄地上部、根系 GDH 酶活性的影响

Fig. 2 Changes in shoots and roots NADH-dependent glutamate dehydrogenase (NADH-GDH) activity in tomato seedlings in different glycine-N (0, 1.5, 3.0, 6.0 mmol·L⁻¹) concentrations under sterile culture

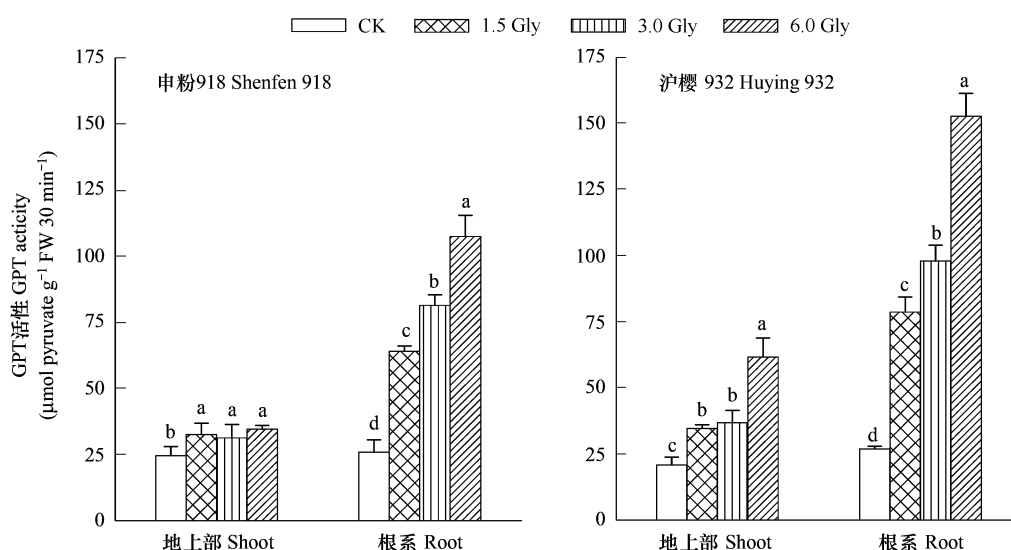


图3 无菌培养下,不同甘氨酸态氮浓度对番茄地上部、根系 GPT 酶活性的影响

Fig. 3 Changes in shoots and roots glutamate pyruvate transaminase (GPT) activity in tomato seedlings in different glycine-N (0, 1.5, 3.0, 6.0 mmol·L⁻¹) concentrations under sterile culture

异显著(图4)。与无氮对照相比,1.5、3.0 mmol·L⁻¹和6.0 mmol·L⁻¹ Gly 处理的申粉918 地上部 GOT 活性分别提高41.3%、55.5%和174.7%;沪樱932 则分别增加了29.0%、45.9%和176.0%。类似地,根中 GOT 活性随甘氨酸浓度的增加而增加,但申粉918 的1.5、3.0 Gly 处理之间差异不显著。各处理与对照相比,申粉918 根系 GOT 活性依次增加了94.8%、119.5%和349.7%,而沪樱932 则分别提高170.4%、192.5%和471.8%(图4)。

2.5 甘氨酸浓度与植株干物质重、总氮量的关系

图5可知,在无菌水培条件下,营养液中添加不同浓度的甘氨酸与两个番茄品种植株干物质重、总氮量呈显著正相关。通过直线回归分析可知,申粉918、沪樱932 甘氨酸浓度与总氮量的回归方程和相关系数分别为 $y(\text{总氮量}) = 0.1286x(\text{甘氨酸浓度}) + 0.44 (R^2 = 0.945^{**})$; $y(\text{总氮量}) = 0.2061x(\text{甘氨酸浓度}) + 0.634$

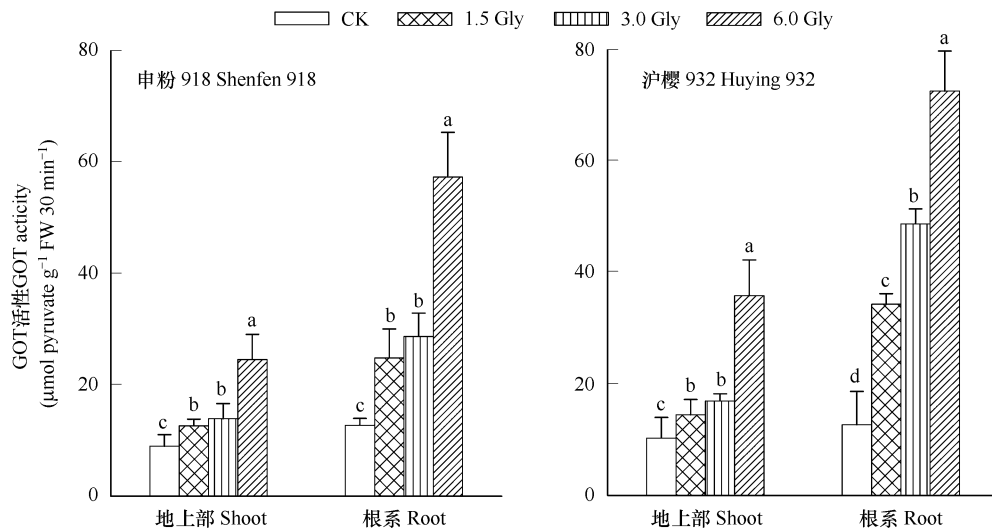


图4 无菌培养下,不同甘氨酸态氮浓度对番茄地上部、根系 GOT 酶活性的影响

Fig. 4 Changes in shoots and roots glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) activity in tomato seedlings in different glycine-N (0, 1.5, 3.0, 6.0 mmol·L⁻¹) concentrations under sterile culture

($R^2 = 0.990^{**}$);而申粉 918、沪樱 932 甘氨酸浓度与干物质重的回归方程和相关系数分别则分别为 $Y(\text{干物质重}) = 7.7486X(\text{甘氨酸浓度}) + 19.16$ ($R^2 = 0.905^*$); $Y(\text{干物质重}) = 5.7505X(\text{甘氨酸浓度}) + 17.08$ ($R^2 = 0.953^{**}$)。这表明两个番茄品种均能直接吸收利用甘氨酸态 N,且沪樱 932 的吸收利用能力强于申粉 918。

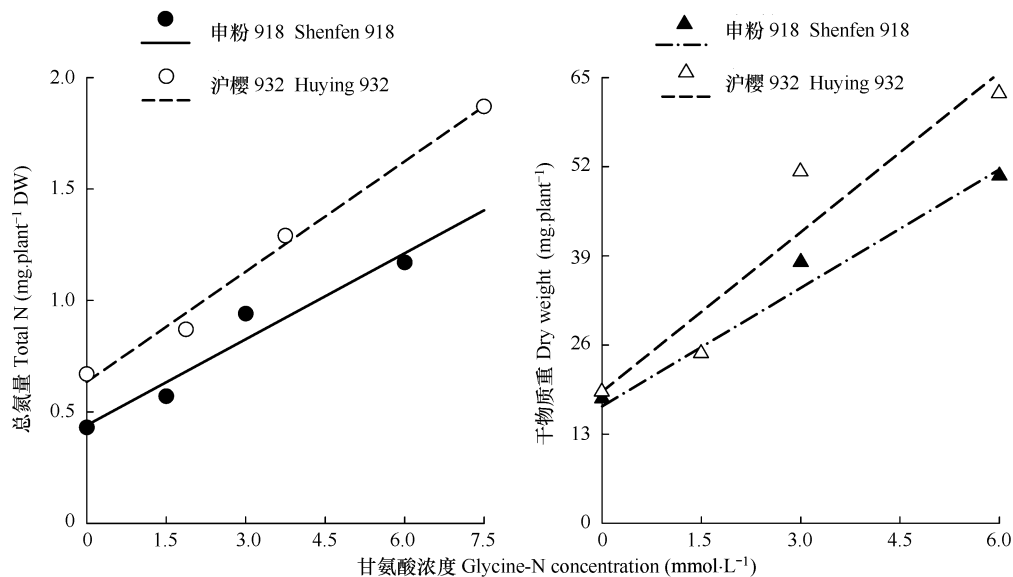


图5 甘氨酸浓度与番茄植株干物质重、吸氮量的相关关系

Fig. 5 The relationship of glycine concentration against dry matter weight and total N amount in tomato seedlings under sterilized cultivation

3 讨论

关于氮有效性和植物氮素营养的传统认识几乎是完全建立在矿质氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$)基础上的。尽管早就发现有的高等植物能够直接吸收利用氨基酸等有机态氮^[7,17,18],但李比希的矿质营养理论在长达一个半世纪的时间里并未遇到实质性挑战。然而近年来,越来越多的植物有机氮营养现象被深刻揭示出来,不少研究发现,水稻、小白菜、绿豆、菠菜、青梗菜、番茄等作物都能直接吸收利用氨基酸态氮等有机氮^[4,5,8,9,19,20]。本

研究表明,在无菌水培条件下,随营养液中 Gly-N 浓度的增加,两个番茄品种的植株干物质重和吸氮量显著增加,生长并没有受到高浓度甘氨酸的抑制,这可能是本试验中的甘氨酸浓度(最高为 $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)还不够高,没有达到抑制植物生长的程度(表 1)。这与 Liu 等的研究结果一致^[21]。而王华静发现,在无菌条件下,随营养液中谷氨酰胺态氮浓度的增加,小白菜地上部鲜重和干重以及根鲜重和根干重都是先升高后降低,过高浓度的有机氮($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)会抑制植株的生长^[注,22]。造成这种差异的原因可能是与所用的氨基酸种类、作物类型不同有关,她所用的有机氮源是谷氨酰胺,作物是小白菜,而在本试验中,所用的是 Gly-N,作物是番茄。由于本试验是在严格的完全无菌条件下进行的,氨基酸不会被微生物降解,因此可以认为番茄幼苗在本试验无菌培养条件下只能直接吸收分子态氨基酸,而不是被转化为矿质态氮后才被吸收。另外植株干物质重、含氮量与营养液中 Gly-N 浓度由极显著的相关性, $R^2 = 0.905 \sim 0.990$ (图 5),也证明了 Gly-N 作为氮源被吸收的可能性。根据“养分报酬递减规律”,所有营养元素对作物生长都有一个适宜的范围。因此,番茄生长的有机氮适宜浓度范围还有待于进一步研究。

无菌水培条件下,与无氮对照处理相比,随营养液中 Gly-N 浓度的增加,两个番茄品种的地上部和根系游离氨基酸、可溶性蛋白、地上部可溶性糖含量增加(表 1,2)。这说明番茄能够利用各种浓度的 Gly-N 作为营养元素,促进植物生长。因此,植物获取有机氮的同时,也获取了有机氮化合物中的碳和能量,从而大大节省了“碳氮同化成本”,因此在氮摄入量相等的情况下,植物的有机氮营养效应会比矿质氮营养效应更大,生长也更好^[4,5]。至于添加各种浓度的 Gly-N 降低了地上部淀粉含量(表 2),其机理有待于进一步研究。

硝酸还原酶(NR)是植物体内氮代谢的关键酶,其活性通常随着外源供应氮素的增加而增加^[22]。在本试验条件下,营养液中甘氨酸浓度的增加,可以提高番茄地上部、根系 NR 活性增加(图 1),从而促进植物体内的氮素同化,有利于有机氮在体内积累。进一步的分析发现,番茄地上部、根系 NR 活性与植株总氮量呈显著的正相关($R^2 > 0.859^{**}$),而与淀粉含量呈显著的负相关($R^2 = -0.846^{**}$)。可见,植物体内的 NR 除了对甘氨酸浓度信号有应答外,还受到光合作用、碳代谢过程以及下游代谢物等多种因素的调控^[11]。另外,就番茄植株体内分布而言,不同甘氨酸浓度下,两个番茄品种的根系 NR 活性小于地上部,这说明地上部(叶片)是 NO_3^- 还原的主要场所(图 1)。本研究所发现的甘氨酸不同浓度对无菌水培番茄 NR 变化特征影响的差异,鲜见报道。

谷氨酸脱氢酶(GDH)、丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)也是高等植物氮同化的关键酶,在植物氮代谢中起着重要作用^[22]。与无氮对照处理相比,随营养液中 Gly-N 浓度的增加,两个番茄品种的地上部、根系 NADH-GDH、GPT 和 GOT 活性均提高(图 2~图 4),这可能是由于在无菌水培条件下,外源添加各种浓度的 Gly-N 后,促进根系氨基酸的合成,增加组织中的氨基酸含量,而某些氨基酸(如谷氨酸)是 GPT、GOT 等转氨酶的底物,从而使其活性增加。根系中的 NADH-GDH、GPT 和 GOT 活性显著高于地上部(图 2~图 4),说明番茄吸收的 Gly-N 大部分首先在根中进行转氨基作用,转化为其他的氨基酸。尤其需要指出的是,无氮对照处理下,地上部和根中的 GOT 和 GPT 活性相差不大,但是在营养液中无论添加何种浓度的 Gly-N,都使根中的 GOT 和 GPT 活性远远大于地上部的,各处理平均使根中 GPT、GOT 活性是地上部的 2~5 倍(图 3、图 4)。这些结果进一步说明了番茄吸收的 Gly-N 首先在根中进行转氨基代谢。

本研究还表明,不同番茄品种对 Gly-N 的吸收利用能力的不同。外源添加不同浓度 Gly-N,沪樱 932 的干物质积累和吸氮量明显大于申粉 918(表 1),说明沪樱 932 品种对 Gly-N 更为敏感。这可能是由于沪樱 932 属于小樱桃品种,亲缘关系离野生种较近,而申粉 918 为普通番茄品种,经杂交育成,离野生种的亲缘关系较远,这与在生产实践中,沪樱 932 适合于有机生态型栽培,申粉 918 适合于露地及保护地的常规栽培的品种特性相一致。因此,在有机生态型专用番茄种质资源创新开发中,植物对有机氮吸收利用能力的(有机氮效率基因型)强弱能否作为一种筛选的指标,还需作进一步研究。

总之,深刻认识和揭示植物吸收有机氮营养的重要性及其机理意味着传统的矿质营养观念的更新,这将在很大程度上改变人们对某些重要生态学过程的理解;而且,有机氮对植物的直接有效性及有机氮源的营养

贡献率具有现实意义,由此必然导致对若干生态学中心问题的再认识。

References:

- [1] Gonod L V, Jones D L, Chenu C. Sorption regulates the fate of the amino acids lysine and leucine in soil aggregates. *European Journal of Soil Science*, 2006, 57: 320–329.
- [2] Jones D L, Shannon D, Murphy D V, *et al.* Role of dissolved organic nitrogen (DON) in soil N cycling in grassland soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004, 36: 749–756.
- [3] Cao C L, Li S X. Effect of N form on the accumulation of carbohydrate and nutrients of corn seedlings. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2003, 22 (5): 457–461.
- [4] Mo L Y, Wu L H, Tao Q N. Effects of amino acid-N and ammonium-N on wheat seedlings under sterile culture. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14 (2): 184–186.
- [5] Wu L H, Tao Q N. Effects of amino acid-N on rice nitrogen nutrition and its mechanism. *Acta Pedologica Sinica*, 2000, 37 (4): 464–473.
- [6] Cui X Y. Organic nitrogen use by plants and its significance in some natural ecosystems. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27 (8): 3501–3513.
- [7] Chapin F S III, Moilanen L, Kielland K. Preferential use of organic nitrogen for growth by a non-mycorrhizal arctic sedge. *Nature*, 1993, 361: 150–153.
- [8] Wu L H, Mo L Y, Fan Z L, *et al.* Absorption of Glycine by Three Agricultural Species Under Sterile Sand Culture Conditions. *Pedosphere*, 2005, 15: 286–292.
- [9] Shingo Matsumoto, Noriharu Ae, Makoto Yamagata. Possible direct uptake of organic nitrogen from soil by chingensai (*Brassica campestris* L.) and carrot (*Daucus carota* L.). *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32: 1301–1310.
- [10] Yamagata M, Matsumoto S, Ae. Direct acquisition of organic nitrogen by crops. *Japanese Agricultural Resource Quality*, 1999, 33: 15–21.
- [11] Song N, Guo S R, Shen Q R. Effects of different nitrogen forms and water stress on water absorption, photosynthesis and growth of *oryza sativa* seedlings. *Chinese Bulletin of Botany*, 2007, 24 (4): 477–483.
- [12] Bao S D. *Soil and Agricultural Chemistry Analysis*. Beijing: China Agricultural Press, 2000.
- [13] Li H S. *Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment*. Beijing: Higher Education Press, 2000. 134–137.
- [14] Hageman R H, Hucklesby D P. Nitrate reduction from higher plants. *Methods Enzymol*, 1971, 23: 491–503.
- [15] Masclaux C, Valadier M H, Brugiére N, *et al.* Characterization of the sink/source transition in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) shoots in relation to nitrogen management and leaf senescence. *Planta*, 2000, 211: 510–518.
- [16] Wu L H, Jiang S H, Tao Q N. Method and its application of activity determination of GOT and GPT in plant. *Chinese Journal of Soil Science*, 29 (3): 136–138.
- [17] Vogelmann T C, Bickson R E, Larson P R. Comparative distribution and metabolism of xylem borne amino compounds and sucrose in shoots of *Populus deltoides*. *Plant Physiology*, 1985, 77: 418–428.
- [18] Virtanen A I, Linkola H. Organic nitrogen compounds as nitrogen nutrition for higher plants. *Nature*, 1946, 158: 515.
- [19] Owen A G, Jones D L. Competition for amino acids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33: 651–657.
- [20] Anuschka Heeb, Bengt Lundegårdh, Tom Ericsson, *et al.* Effect of nitrate-, ammonium-, organic-nitrogen-based fertilizers on growth and yield of tomatoes. *Japanese Plant Nutrition and Soil Science*, 2005, 168: 123–129.
- [21] Liu W, Li S J, Chen D K. Use of amino acid nitrogen for growth by pakchoi. *Acta Horticulturae*, 2003, 627: 131–134.
- [22] Wang H J. Growth and quality of pakchoi (*Brassica chinensis* L.) as affected by inorganic and organic nitrogen nutrition and its mechanisms (ph. D thesis), Zhejiang, Hang Zhou, Zhejiang University, 2006.
- [23] Miflin B J, Lea P J. Ammonia assimilation. *The Biochemistry of Plants*. Vol. 5. Amino Acids and Their Derivatives. New York: Academic Press, 1980. 169–202.

参考文献:

- [3] 曹翠玲, 李生秀. 氮素形态对玉米幼苗碳水化合物及养分累积的影响. *华中农业大学学报*, 2003, 22(5): 457–461.
- [4] 莫良玉, 吴良欢, 陶勤南. 无菌条件下小麦氨基酸态氮及铵态氮营养效应研究. *应用生态学报*, 2003, 14(2): 184–186.
- [5] 吴良欢, 陶勤南. 水稻氨基酸态氮营养效应及其机理研究. *土壤学报*, 2000, 37(4): 464–473.
- [6] 崔晓阳. 植物对有机氮源的利用及其在自然生态系统中的意义. *生态学报*, 2007, 27(8): 3501–3513.
- [11] 宋娜, 郭世伟, 沈其荣. 不同氮素形态及水分胁迫对水稻苗期水分吸收、光合作用及生长的影响. *植物学通报*, 2007, 24(4): 477–483.
- [12] 鲍士旦. *土壤农化分析*. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [13] 李合生. *植物生理生化实验原理和技术*. 北京: 高等教育出版社, 2000. 134–137.
- [16] 吴良欢, 蒋式洪, 陶勤南. 植物转氨酶(GOT和GPT)活性比色测定方法及其应用. *土壤通报*, 1998, 29(3): 136–138.
- [22] 王华静. 矿质氮、有机氮营养对小白菜生长和品质的影响及机理研究(博士学位论文). 杭州: 浙江大学, 2006.