

四种杨树扦插苗的硝酸还原酶 活力体内衰减的初步研究

周国璋 苏梦云 王世绩 刘雅荣

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所) (中国林业科学研究院林业研究所)

关键词 杨树; 硝酸还原酶; 衰减速率

硝酸还原酶(NADH: NR E. C. 1. 6. 6. 1)是植物体内同化硝酸盐的关键酶, 可作为作物育种和营养诊断的生化指标^[1]。在木本植物方面, 硝酸还原酶的研究正在不断向广度和深度发展^[2-6, 7, 8]。

硝酸还原酶是诱导酶, 其活力水平受体内外许多因素的影响。NR 又是一个极不稳定的酶, 它受许多内外因子的调节。汤玉玮等^[1]对 NR 活力明显差异的籼、粳稻的酶活力体外衰减速率进行了对比研究, 发现籼、粳稻内 NR 活力的钝化调节存在差异。这表明 NR 活力除受酶蛋白诱导合成的调节外, 也受体内酶的钝化系统的调节。而木本植物体内 NR 的衰减速率尚未有研究报道。本文对生长速率不同的四种杨树苗的 NR 活力体内衰减速率进行了比较研究, 试图为评价 NR 活力与生长速生性之间的关系, 提供另一方面的参考数据。

一、材料和方法

(一) 试验材料

取小叶杨(*populus simonii* Carr.)、群众杨(*populus × popularis* Hsü.)、I-214杨(*populus × euramericana* (Dode) Guinier cv. I-214)和I-69杨[*populus deltoides* Bartr. cv. "Lux" (ex, I-69/55)]一年生插条, 于室内先进行催根, 待发根后移入容器内进行培养。容器分上下两层, 上层装蛭石作为插条的介质, 下层盛培养液。培养液为道格拉斯第四配方[Ca(NO₃)₂ 0.16 g/L、(NH₄)₂SO₄ 0.06 g/L、KH₂PO₄ 0.56 g/L和MgSO₄ 0.25 g/L]加入NH₄NO₃ 500 mg/L, 每5 d更换培养液一次, 以保持培养液的pH值和各成份比例。培养室温度为25℃, 光照强度为2000 lx。待苗木具有9个叶片以上时, 取第5片叶进行测定。重复三次。

(二) 诱导处理

采用全苗诱导, 即在正式试验前一天将一组要诱导的试验苗的培养液改为含20 mmol/L KNO₃的培养液, 进行诱导处理24 h, 诱导温度为25℃, 光强度为2000 lx。诱导完毕取第5片叶(从苗顶展开的第一片数起)测定NR活力。

(三) 衰减速率测定

将未经诱导处理的无性系单株的同一叶位的叶片同时取下，为减少无性系叶柄长短不同的影响，均剪去叶柄，将叶片用两层湿纱布覆盖保湿，置于23℃和5℃条件下，并保持黑暗，每隔1h，取部分叶片测定NR活力一次，每次测定不少于6个样品。以刚离体时的叶片NR活力为100，以后测得的NR活力换算成相对的百分率。

(四) NR活力测定

按体内测定法^[6]将叶片除去较粗的叶脉，称取叶肉部分约0.3g，剪成0.5×0.5cm的小块，装入特制的小尼龙网袋内，加入8ml 200mmol/L KNO₃的磷酸缓冲液(100mmol/L, pH7.5, 内含3%的正丙醇)。抽成真空后，再通入空气，再抽真空，如此反复三次，最后一次抽真空后于25℃黑暗条件下放置1h，然后取出反应液1ml加入1%的氨基苯磺酰胺和0.02%的萘基乙酰二胺各0.5ml，测定520nm处的光吸收值。NR活力以 $\mu\text{mol NO}_2^-/(\text{h}\cdot\text{g}$ 鲜重)表示。

二、试验结果

(一) 四种杨树扦插苗NR活力比较

从表1可以看出，生长较快的I-214杨和I-69杨的NR活力要高于生长较慢的小叶杨和群众杨。经KNO₃诱导后，NR活力虽然都明显提高，但是，生长较快的两种杨树的NR活力，仍然高于生长较慢的杨树。

表1 诱导处理对四种杨树扦插苗NR活力的影响

无性系	NR活力 ($\mu\text{mol NO}_2^-/(\text{h}\cdot\text{g}$ 鲜重))		生长类型
	未诱导	诱导	
群众杨	0.24	0.94	慢生
小叶杨	0.29	0.50	慢生
I-69杨	1.29	1.50	速生
I-214杨	1.54	2.05	速生

从表1还可以看出，在同是生长较快的类型中，两种杨树之间的NR活力的高低并不与其生长速率表现为对应的比例关系。I-214杨的NR活力虽高于I-69杨，但其生长速率并不高于I-69杨。这说明杨树不同无性系间有其特异性。群众杨在诱导后，NR活力明显高于小叶杨，表明群众杨在这种生长条件下NR活力未能充分表达。

(二) 四种杨树扦插苗NR活力衰减速率比较

杨树叶片离体后，随着离体时间的延长，其NR活力的衰减速率加快(图1)。在四种杨树之间，NR活力的衰减速率不同。小叶杨NR活力衰减速率较快，但以小叶杨为母本的杂种杨——群众杨的NR活力衰减速率明显变慢。在叶片离体后2h，它们的NR活力分别衰减到原活力的59%和82%。I-69杨(美洲黑杨)和I-214杨(欧美杨)是黑杨派的两个无性系，它们的NR活力衰减速率也表现明显差异，前者缓慢，后者较快。但整个衰减趋势基本相同。而群众杨在叶片离体2h后的NR活力衰减速率要明显地快于亲本——小叶杨。

从四种杨树扦插苗的NR诱导速率和衰减速率来看，小叶杨生长较慢，NR诱导活力较低，NR衰减速率较快；群众杨生长快于小叶杨，NR诱导活力高于小叶杨，叶片离体后2h内的NR衰减速率较小叶杨缓慢；I-69杨和I-214杨均为速生型无性系，一般前者要比

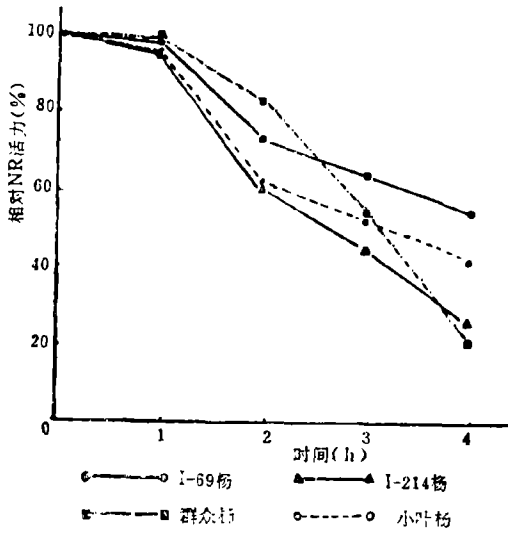


图1 四种杨树扦插苗在23℃下NR活力的体内衰减速率比较

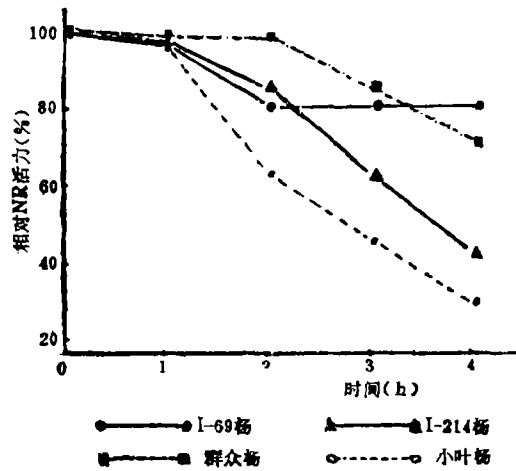


图2 在低温下(5℃)四种杨树苗NR活力的体内衰减速率

后者生长快，虽两者的NR活力都很高，但I-69杨的NR活力却低于I-214杨，而I-69杨的NR活力衰减速率反而要比I-214杨的缓慢得多。这表明，生长速率与NR活力的衰减速率也有一定的关系。

温度对杨树NR活力的体内衰减速率有明显影响，叶片离体后置于5℃下，其NR活力的衰减速率要比在23℃条件下慢一些，如图2所示。I-214杨其叶片在23℃离体2h后，NR活力为原来活力的59%，但在5℃条件下，离体2h后的NR活力都仍保持在原来活力的86%。I-69杨叶片，离体后置于5℃下和置于23℃下的NR活力体内衰减速率差异并不大，为原活力的73%—75%，但继续延长离体时间，产生了明显的差异，在23℃下离体4h的叶片的NR活力下降到原来活力的54%，而在5℃下，离体4h的叶片NR活力基本仍保持在离体2h的水平上，NR活力没有表现继续衰减。温度对群众杨NR活力的影响比较明显，低温可降低NR的体内衰减速率，但对小叶杨影响不大。

经过体内NR作用后的反应液(主要含底物NO₃⁻和产物NO₂⁻)在室温下，存放8h后并未发现NO₂⁻再氧化的现象，小叶杨和I-69杨在8h后测得的NO₂⁻量与8h前测定的数值基本相同，而对群众杨和I-214杨在8h后所测得的数值反而略有增加(图3)，这说明NR活力衰减与产物的再氧化没有关系。

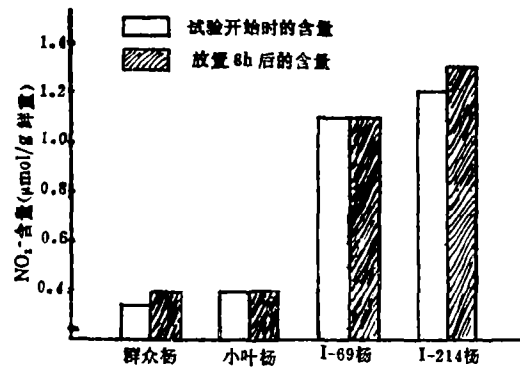


图3 NR反应液在室温(23℃)放置8h后NO₂⁻含量变化

NR活力衰减的原因比较复杂。引起杨树NR活力衰减的原因尚未作进一步研究，

但它给我们启示，要揭示 NR 与树木速生性的关系，除了研究 NR 的诱导合成外，也应当注意不同树种和不同无性系间 NR 活力的钝化调节系统的研究。对于树木 NR 活力的衰减现象的生理意义和应用价值乃值得深入研究。

参 考 文 献

- [1] 汤玉玮等, 1985, 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, (6):39—45。
- [2] 阙文靖等, 1986, 油茶硝酸还原酶的初步研究, 经济林研究, 4(2):63—65。
- [3] 何若天等, 1987, 硝酸盐对不同树种硝酸还原酶活力的诱导及其施肥与光照条件对马尾松幼苗硝酸还原酶活力的影响, 科技资料(广西农学院林学分院), (1):10—13。
- [4] 周国璋等, 1988, 杉木硝酸还原酶的初步研究, 林业科学, 24(2):156—161。
- [5] 刘雅荣等, 1988, 杨树苗木硝酸还原酶活力的初步研究, 林业科学研究, 1(3):340—344。
- [6] 苏梦云等, 1986, 树木组织中硝酸还原酶测定方法, 林业科技通讯, (7):25—27。
- [7] Pokhriyal, T. C. & Raturi, A. S., 1984, Nitrate assimilation in leaf blades of eucalyptus, Indian Forester, 110(2): 202—207。
- [8] Wingsle, G., 1987, Induction of nitrate reductase in needles of scots pine seedlings by NO_2^- and NO_3^- , Physiol. Plantarum, 70(3): 393—403。

A PRELIMINARY STUDY ON NITRATE REDUCTASE ACTIVITY IN VIVO ATTENUATION OF FOUR SPECIES OF POPLAR SEEDLINGS

Zhou Guozhang Su Mengyun

(The Research Institute of Subtropical Forestry CAF)

Wang Shiji Liu Yarong

(The Research Institute of Forestry CAF)

Abstract Nitrate reductase (NR) activity and its in vivo attenuating rate of four species of poplar seedlings with different growth rate were studied. Generally high NR activity was found in the fast growing seedling. Higher NR activity in leaves were obtained, when seedlings were treated with KNO_3 solution (20mmol/l). But the NR activity in leaves of fast growing seedling e. g. *Populus deltoides* Bartr. cv. "Lux" (ex, I-69/55) and *Populus euramericana* (Dode) Guinier cv. I-214 were higher than in those of slow growing seedling e. g. *Populus × popularis* Hsü and *Populus simonii* Carr. The NR activity in detached leaves declined with time.

The NR activity attenuation rate in detached leaves of poplar seedlings with different growth rate were different. Such as NR attenuation rate of *Populus deltoides* Bartr. cv. "Lux" (ex, I-69/55) was lower than that of *Populus simonii* Carr., they were 31% and 65% after four hours respectively. But the NR attenuation rate of *Populus × popularis* Hsü. was low after two hours and then it became higher. The use of NR attenuation rate in different species of poplar seedlings with different growing rates are discussed,

Key words poplar; nitrate reductase; attenuation rate