

杉木硝酸还原酶活力、氮素 贮藏与其生长的关系*

周国璋 苏梦云

摘要 以生长速率不同的两类杉木无性系为试材, 研究其氮素同化的关键酶——硝酸还原酶(NR)活力、氮素贮藏量与生长的关系。结果表明: ①速生无性系1~2年生苗以及3~5年生幼树的NR活力均高于慢生无性系。NR活力随生长过程变化, 每年的生长初期NR活力较低, 生长盛期活力最高, 接近生长停止(封顶)期NR活力明显下降。②在生长期, 速生无性系叶片的总氮含量高于慢生无性系。追施氮肥可明显提高杉木NR活力, 增加其总氮含量, 并促进幼苗的生长。在杉木生长停止后, 速生无性系1年生苗韧皮部的总氮含量、主干和侧枝的硝酸盐含量以及叶片和韧皮部的氨基酸含量都分别比慢生无性系苗高14%、25%和70%以上。③通过对采穗圃18个无性系测定, 得知1年生苗叶片的NR活力与定植后5年生幼树的树高呈显著正相关。从而认为, NR活力是决定杉木速生性的重要因素之一。生长速率不同的无性系, 对氮素的吸收同化和贮藏积累能力的差异, 是NR活力与杉木速生性相关的生理基础。用NR活力作为杉木生长早期预测指标是可行的。

关键词 杉木、硝酸还原酶活力、氮素贮藏、生长速率

氮是树木生长必需的营养元素, 除水分逆境外, 缺氮是常见的生长限制因素^[1]。植物吸收氮素后必须经过同化才能用于生长。硝酸还原酶(NR)就是氮素同化中的关键酶, 其活力反映树木的氮素同化水平^[2]。

对于多年生木本植物, 在生长期吸收同化的氮素, 在一定时期用于生长, 而另一时期却被贮藏, 以供次年春季发芽和生长需要^[1,3]。尤其是落叶树种, 在落叶前叶片中的含氮化合物要运到其它组织贮藏。所以, 对落叶树种的氮素贮藏和利用一般都比较重视, 而对常绿树种则研究较少。

杉木(*Cunninghamia lanceolata* Hook.)是我国重要的常绿速生用材树种。在我们以前的研究中已经得到, 速生类家系^[4]和无性系^[5]的NR活力高于慢生家系和无性系; NR活力随追施氮肥的浓度增加而增加^[2]以及光对NR活力的诱导作用^[6]等, 表明NR活力与杉木生长有密切联系。但是对杉木NR活力与其氮素的积累、贮藏及生长的年相关尚未见报道。本文以不同生长速率的两类杉木无性系为试材, 对其氮素同化水平(NR活力)、氮素贮藏和年生长的相关进行了比较研究, 以期从氮素同化和贮藏方面阐明杉木速生性的生理基础, 进一

1992—02—28收稿。

周国璋副研究员, 苏梦云(中国林业科学研究院亚热带林业研究所 浙江省富阳县 311400)。

*本文为国家自然科学基金课题部分内容, 吴晓丽、吴祖洪参加部分工作, 姚小华协助计算机计算, 费学谦帮助高压液相色谱仪分析, 陈益泰、李恭学提供无性系材料, 一并致谢。

步为以 NR 活力作为杉木生长早期预测指标提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

1.1.1 两类无性系比较 以采穗圃收集的已经过鉴定为生长较快(速生)和生长较慢(慢生)的两类无性系(1年生)苗为主要试材。前者3个,后者2,每个无性系5株。同时在两类无性系中各选一个为代表,每个无性系15株,定植于苗圃试验地,用作1~5年生树龄的NR活力和树高观测。在每年生长期 间,取主干上当年生未分枝的侧枝或侧枝分枝上的成龄叶片。一部分以鲜样测定NR活力和硝酸盐、氨基酸含量,另一部分烘至恒重、粉碎、过60目筛,制成干样,用作总氮含量的测定。在年生长停止后,取顶部最上一轮具有成龄叶的侧枝和该轮以上的主梢及其以下主干的上、中、下三段中部各10 cm切段为试材,分别以鲜样或制成干样测定其叶片、韧皮部和木质部的含氮化合物含量。在两类无性系比较时,均取相对应的部位,每个无性系测定3株,其中:NR活力以单株为单位测定,每株测2个样品;其它项目,每类无性系混合制样,一般测5个样品。

1.1.2 各无性系NR活力与其树高生长的相关性 在生长期 间,取采穗圃定植的18个无性系当年抽生萌条的成龄叶。以鲜样测定NR活力和叶绿素含量,以干样测定其总氮含量和可溶性糖含量。每个无性系取3株,混合制样,每个项目测5个样品。同时每年生长停止后,测定各无性系造林后的树高生长量,并作相关分析。

1.2 测定方法

1.2.1 NR活力测定 按前法^[7]。

1.2.2 硝酸盐含量测定 按叶叙丰等方法^[8]。

1.2.3 氨基酸含量测定 用80%乙醇于65℃水浴提取,用茚三酮比色法测定。

1.2.4 蛋白质含量测定 上述提取氨基酸后的残留物,加1 N NaOH溶液于90℃水浴提取,按Lorwy方法^[9]测定蛋白质含量。

1.2.5 总氮含量测定 用浓硫酸消化后,按Nessler试剂比色法测定。

1.2.6 叶绿素含量测定 按Arnon方法^[10]。

1.2.7 可溶性糖含量测定 采用蒽酮法^[11]。

1.2.8 氨基酸组分测定 用磺基水杨酸提取,高压液相色谱仪测定。

2 试验结果

2.1 NR活力与杉木生长的相关性

2.1.1 杉木年生长过程中NR活力的变化 杉木年生长过程中,叶片的NR活力变化与生长变化一致,生长初期(5~6月)NR活力较低,生长盛期(8~9月)NR活力最高,生长停止时期(10月以后)NR活力明显下降(图1)。从图1看出,生长较快的1年生杉木无性系苗(超₂₂)的NR活力高于生长较慢的无性系(开₄)。在生长后期(10月以后),慢生无性系的NR活力降低较快,是由于该无性系生长停止较早之故。

2.1.2 两种不同生长速率无性系 NR 活力的逐年比较 通过连续 5 a 的比较测定,速生无性系各年的 NR 活力均高于相同树龄的慢生无性系(图 2)。表明幼苗期(1年生)NR 活力较高的

的无性系,经 5 年生长后仍然保持较高的 NR 活力水平,且它们之间 NR 活力的差异是稳定的。

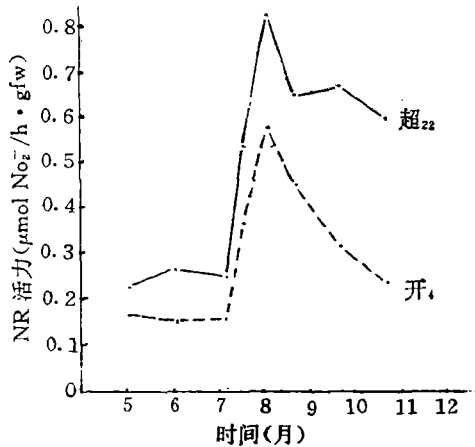


图 1 杉木两类无性系生长期间 NR 活力的变化
——速生无性系 - - - -慢生无性系

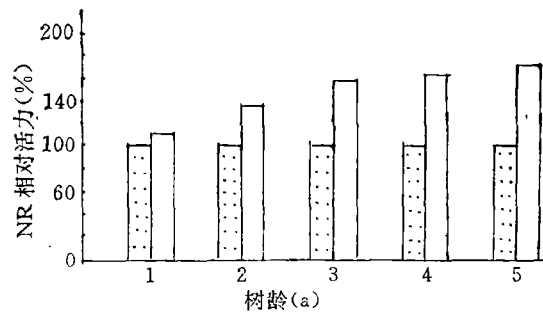


图 2 两类杉木无性系 NR 相对活力逐年比较
□·····慢生无性系 □速生无性系

2.1.3 1 年生苗的 NR 活力及内含物含量与造林后 5 年生幼树树高的相关 用测得的 18 个无性系当年抽生萌条叶片的 NR 活力、总氮含量、叶绿素含量和可溶性糖含量与各自 5 年生树高作相关分析,结果表明,叶片中 NR 活力与其总氮含量呈极显著正相关,与其 5 年生的树高也呈显著正相关(表 1),说明 NR 活力与树木的生长潜势有相关性。

表 1 杉木性状相关系数

	NR 活力	总氮含量	叶绿素含量	可溶性糖含量	树高(5年生)
NR 活力	—	0.714 4***	-0.006 0 ^{NS}	0.042 3 ^{NS}	0.528 5*
总氮含量		—	0.101 2 ^{NS}	-0.188 4 ^{NS}	0.480 8 ^{NS}
叶绿素含量			—	-3.891 5 ^{NS}	-0.041 9 ^{NS}
可溶性糖含量				—	0.068 1 ^{NS}
树高(5年生)					—

2.2 生长期的 NR 活力与含氮量关系

2.2.1 生长过程中 NR 活力与含氮量的变化 在 2 年生杉木苗生长期间,其叶片 NR 活力从生长初期到高峰期(8~9 月)迅速增强,叶片内的总氮含量也相应地呈直线增加。但生长高峰期过后, NR 活力开始下降,而总氮含量仍继续增加(图 3),表明氮素在叶片中开始积累贮藏。

2.2.2 不同生长速率无性系 NR 活力和总氮含量的比较 对两类(2年生)无性系苗的 NR 活力和总氮含量测定的结果表明,速生无性系的 NR 活力一般要高于慢生的无性系。叶片的氮化合物含量也表现同样的趋势(表 2),说明速生无性系比慢生无性系生长快,不仅前者 NR 活力高于后者,而且氮化合物含量也高于后者。

2.2.3 追施氮肥对 1 年生杉木苗叶片中 NR 活力、蛋白质含量及其生长的影响 给 1 年生幼苗追施氮肥(NH₄NO₃),每周一次,连续 3 次,取其成龄叶片测定 NR 活力和有关含氮化合

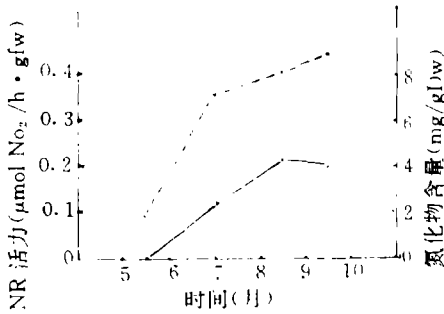


图3 2年生杉木无性系叶片中NR活力和氮化合物含量的年变化
——NR活力 ----氮化合物含量

表2 两类2年生杉木无性系苗叶片中NR活力和总氮含量比较

无性系类型	无性系数	NR活力 (μmol NO ₂ ⁻ /h·gFW)	总氮含量 (mg/gDW)
速生	3	0.35 ± 0.04	1.36 ± 0.16
慢生	2	0.22 ± 0.02	1.02 ± 1.0

物含量,同时观测新梢生长量,结果表明,施氮肥明显提高了其NR活力,同时也提高了叶片中硝酸盐和蛋白质的含量(表3)。说明在生长期吸收的氮素除部分以NO₃⁻-N形式贮藏外,大部分通过NR等同化成蛋白质,用于生长。

表3 氮肥对1年生杉木苗叶片中NR活力和含氮化合物含量的影响

氮肥浓度 (mg/L)	NR活力 (μmol NO ₂ ⁻ /h·gFW)	硝酸盐含量 (μg/gFW)	氨基酸含量 (μg/gFW)	蛋白质含量 (μg/gFW)	新梢增长量 (cm)	测定株数 (株)
0	18.9 ± 0.62	50.9 ± 4.8	1.40 ± 0.07	257.5 ± 13	11.0 ± 1.2	5
350	20.7 ± 0.30	89.0 ± 1.6	1.74 ± 0.09	338.2 ± 14	14.6 ± 0.8	9

2.3 杉木氮素的积累贮藏与其生长类型的关系

2.3.1 氮素在1年生杉木苗地上部分的分布 在当地杉木一般于11月底停止生长,氮素在树体内主要进行贮藏。对采穗圃3株的萌条测定表明,氮素主要贮藏在叶片内和顶梢,其韧皮部的总氮含量明显高于木质部的含量(表4)。

2.3.2 两类杉木无性系幼苗氮素贮藏含量的比较

(1) 总含氮量比较 在生长停止后,速生无性系当年萌条的主干和顶梢(主干最上一轮侧枝以上的主梢)的韧皮部含氮量要高于慢生无性系(表5)。从表5可以看出,以单位干重计的含氮量除主干韧皮部外,没有显著差异。但就整个植株而言,由于速生无性系生长较快,树木较大,分枝较多,其单株积累贮藏的总氮量一般要大大高于慢生无性系。

表4 杉木各部位组织中总氮含量比较

部位	部位	总氮含量(mg/gDW)	
		生长期 (9月5日)	生长停止期 (11月29日)
叶	片	31.07 ± 1.14	39.23 ± 0.30
顶梢	韧皮部	—	26.36 ± 2.43
	木质部	—	19.95 ± 0.88
主干	韧皮部	13.11 ± 0.64	18.20 ± 1.68
	木质部	3.66 ± 0.23	5.48 ± 1.76
侧枝	韧皮部	—	25.94 ± 2.91
	木质部	—	9.09 ± 1.10

表5 两类1年生杉木无性系苗生长停止后总氮含量比较

无性系类型	苗高 (cm)	总氮含量 (mg/gDW)				
		顶梢		主干		叶片
		韧皮部	木质部	韧皮部	木质部	
速生	118	28.08 ± 0.11	20.57 ± 0.23	19.38 ± 0.71	4.23 ± 0.17	39.68 ± 0.95
慢生	104	24.63 ± 0.18	19.33 ± 0.14	17.01 ± 0.42	6.72 ± 0.22	39.44 ± 0.90

(2) 硝酸盐含量比较 速生无性系的硝酸盐含量一般也高于慢生无性系。木质部中的平均含量要高于韧皮部中的平均含量(表6)。在主干木质部中,硝酸盐含量自上而下逐渐降低,两类无性系木质部硝酸盐含量的差异主要表现在主干上部木质部,而在韧皮部中则以中部含量较高。

表6 两类1年生杉木无性系苗生长停止后硝酸盐含量比较

无性系类型	硝 酸 盐 含 量 ($\mu\text{g/gFW}$)							
	主 干 木 质 部			主 干 韧 皮 部			上 部 枝 条	
	上 部	中 部	下 部	上 部	中 部	下 部	木 质 部	韧 皮 部
速 生	55.10	24.84	10.65	17.47	23.65	19.92	34.85	11.45
慢 生	30.41	27.32	10.37	11.37	14.84	12.50	28.28	7.21

(3) 氨基酸含量及其组分比较 氨基酸也是重要的氮素贮藏形式。速生无性系的氨基酸含量比慢生无性系高70%以上。在氨基酸组分中,谷氨酸、天门冬氨酸和组氨酸含量较多,约占氨基酸总量的70%左右(表7),同时在速生无性系的叶片和枝条韧皮部中存在一个处于谷氨酸之后的未知峰(见后页图4、5)。此未知组分在不同生长速率类型间有无生理意义,有待进一步研究。

表7 两类杉木无性系氨基酸含量比较

氨基酸种类	氨基酸含量($\mu\text{g/gFW}$)			
	速生无性系		慢生无性系	
	叶 片	韧皮部	叶 片	韧皮部
天冬氨酸(ASP)	92.93	47.63	77.31	25.95
苏氨酸(THR)	37.69	12.58	19.81	6.48
丝氨酸(SER)	28.18	16.72	13.98	13.59
谷氨酸(GLU)	232.87	66.89	153.36	32.71
甘氨酸(GLY)	12.60	3.06	3.88	微量
丙氨酸(ALA)	67.23	11.91	38.17	10.05
缬氨酸(VAL)	8.65	—	3.94	—
异亮氨酸(ILE)	10.46	—	4.90	—
亮氨酸(LEU)	6.87	—	2.17	—
酪氨酸(TYR)	5.03	—	7.91	—
苯丙氨酸(PHE)	13.53	—	微量	—
组氨酸(HIS)	115.03	36.38	33.45	微量
色氨酸(TRP)	7.16	—	15.41	—
赖氨酸(LYS)	5.89	微量	微量	3.77
精氨酸(ARG)	微量	—	—	—
总 量	637.12	195.17	374.12	92.55

3 讨论

NR是植物氮素代谢中的关键酶,它对其它代谢如光合作用、碳素代谢和能量代谢都有重要影响^[11],所以NR活力一般反映树木对硝态氮的吸收同化水平^[2],与树木的生长有密切关系^[13,14]。本试验进一步证实,在两类生长速率不同的杉木无性系间,其NR活力的差异与生长的差异相一致,而且随着树龄(1~5年生)的增长仍保持着这种差异趋势。尤其是用材树种,要求其进行营养生长,氮素的同化和利用能力对生长的调节作用更为明显。所以NR活力在某种程度上可以反映用材树种的速生性状。根据杉木生长早晚相关的研究结果,子代林可以根据3~4年生的树高生长进行初评和选择^[15],而1年生幼苗的NR活力与5年生的幼树树高呈正相关,这样就可以利用NR活力在幼苗期预测生长潜势。

对多年生树木来说,吸收和同化氮素一部分用于当年生长;另一部分用于贮藏,以供次年春季最初的突发性生长的需要^[1,3]。速生无性系苗单株积累贮藏的氮素总量要高于慢生无性系,尤其是木质部中的硝酸盐和韧皮部及叶片中的氨基酸含量。这表明NR活力较高的速

生无性系不仅氮素的同化能力高于慢生无性系,而且在生长停止后积累贮藏的氮素,尤其是硝酸盐和氨基酸也比慢生无性系多。这就是NR活力与杉木生长相关的生理基础。

本试验得到NR活力与总氮含量呈正相关,但1年生杉木苗叶片的总氮含量与其5年生树高不呈现显著相关。这是由于总氮含量变化受环境条件的影响很大,尤其是土壤肥力对含量有直接影响。所以杉木苗叶片中的含氮量只能反映其生长势的水平,而不能作为生长潜势早期预测的指标。NR活力虽然也受体内、外许多因素的调节,林地的小环境也可能使一部分无性系NR活力不能充分表达,但在室内通过诱导处理可使NR活力得到充分表达,并消除环境差异的影响^[6],所以利用NR活力作为杉木生长潜势的早期预测的生化指标是可靠的。

本文只从NR活力和氮素贮藏积累的角度讨论了杉木速生性的问题。要进一步阐明树木速生性的实质还需与碳素代谢和能量代谢结合起来进行探讨。

参 考 文 献

- 1 克累默尔,考兹洛夫斯基(汪振儒等译).木本植物生理学.北京:林业出版社,1985.363~376.
- 2 苏梦云,周国璋,阙国宁,等.氮素水平对两类不同生长速率类型的杉木硝酸还原酶活力的影响.林业科学研究,1989,2(1):88~91.
- 3 铃木健夫,河野清.木本植物的生长与氮素的贮藏和利用.日本蚕丝学杂志,1985,54(3):175~179.
- 4 周国璋,苏梦云,费学谦.不同生长速率的杉木硝酸还原酶活力比较.林业科技通讯,1985,(2):6~8.
- 5 周国璋,苏梦云.杉木硝酸还原酶的初步研究.林业科学,1988,24(2):156~161.
- 6 周国璋,苏梦云,林振武.林木硝酸还原酶体外测定方法的研究.亚热带林业科技,1987,15(2):99~105.
- 7 苏梦云,周国璋.树木组织中硝酸还原酶测定方法.林业科技通讯,1986,(7):25~27.
- 8 叶叙丰,蔡德福,周庆祺.硝态氮的比色测定.植物生理学通讯,1979,(3):31~33.
- 9 张龙翔,张庭芳,李令媛,编著.生化实验方法和技术.北京:高等教育出版社,1985.165.
- 10 Arnon D J. Copper enzymes in isolated chloroplast polyphenoloxidase in *Bata Vulgaris*. *Plant Physiol.*, 1949, 24, 1~5.
- 11 北京大学生化教研组.生物化学实验指导.北京:人民教育出版社,1980.
- 12 汤玉玮,林振武,陈敬祥.硝酸还原酶活力与作物耐肥性的相关及其在生化育种的应用探讨.中国农业科学,1985,(6):39~45.
- 13 周国璋,苏梦云,陈益泰,等.硝酸还原酶活力与杉木生长潜势的相关研究.主要针叶树种应用遗传改良论文集,北京:林业出版社,1990.166~172.

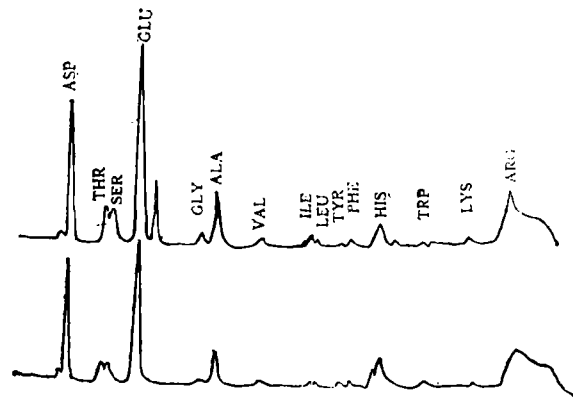


图4 杉木生长停止期叶中游离氨基酸图谱
上:速生无性系;下:慢生无性系

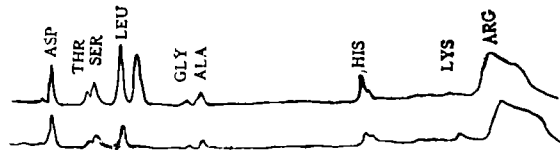


图5 杉木切皮部游离氨基酸图谱
上:速生无性系;下:慢生无性系

- 14 张颂云, 李培芝, 王力华, 等. 日本落叶松针叶硝酸还原酶活力的测定及其与生长量的关系研究. 主要针叶树种应用遗传改良论文集, 北京: 林业出版社, 1990. 173~179.
- 15 陈岳武, 陈益泰, 施季森, 等. 杉木的遗传变异及育种程序. 亚热带林业科技, 1987, 15(4):245~250.

Study on the Relationship between Nitrate Reductase Activity, Nitrogen Storage Contents and the Growth of Chinese Fir

Zhou Guozhang Su Mengyun

Abstract This paper deals with nitrate reductase (NR) activity and nitrogen storage contents (nitrate, amino acid and total nitrogen) in seedlings of Chinese Fir (*Cunninghamia lanceolata* Hook.) with different growing rates. The results showed that ① the level of NR activity varied with the growing period. Generally, during the initial growing stage NR activity was low, and the maximum activity was observed at the peak of the growing season. The NR activity in seedlings of the fast growing clone was higher than that in the slow growing clone. NR activity in young seedlings of different age (1, 2, 3, 4, 5 years old) was higher in the fast growing clone than that in the slow growing clone. Positive relationship between NR activity in seedling (1-year old) and tree height (5-year-old) was observed. ② the fast growing clone had higher ability of uptake and assimilation of nitrogen than that of the slow growing clone. Thus, during and after growing stage, the former contained higher contents of nitrate, amino acid and total nitrogen than the later did. Glutamic acid, aspartic acid and histidine contents in leaves and phloem are about 70% of the total amino acid contents.

Key words Chinese Fir, nitrate reductase, nitrogen compound, growing rate

Zhou Guozhang, Associate professor, Su Mengyun (The Research Institute of Subtropical Forestry, CAF Fuyang, Zhejiang 311400).