

氮素形态对小麦幼苗叶绿体色素蛋白复合体含量及希尔反应活性的影响

李 翎, 曹翠玲, 赵 贝

(西北农林科技大学生命科学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: 采用水培方法研究了不同氮素形态对小麦幼苗叶绿体色素、色素蛋白复合体及希尔反应活性的影响。结果表明, 50% 硝态氮 + 50% 铵态氮处理时, 电泳条带中 31~43kD 范围内的多肽组分及高分子量区属于 PS I 的多肽组分含量最高, 两种氮素形态单独施用最低; 叶片的光吸收能力、叶绿素含量及叶绿体蛋白含量均在氮素形态配比相等时达到最大, 两种氮素形态单独施用最低; 希尔反应活性则随着铵态氮比例降低而降低。

关键词: 小麦; 氮素形态; 色素蛋白复合体; 希尔反应活性

中图分类号: S512.1; S143.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2007)04-0163-05

叶绿体是植物进行光合作用的细胞器。光合作用中光能的吸收、传递、转化和水裂解等功能均是在具有一定分子排列和空间构象并镶嵌于类囊体膜上的色素蛋白复合体中进行的^[1]。前人就水分胁迫对色素蛋白复合体的影响作了较多研究^[2~3]。但是, 关于不同形态氮素营养对叶绿体色素蛋白复合体含量及光合性能的影响却较少涉及。

氮素是影响植物生长发育及产量和品质的重要因素, 关于植物对不同氮素形态的吸收、贮存、运输和同化过程的研究已有很多报道^[4~5]。对于氮素形态对作物生长的影响, 至今有不同的看法, 总的来看, 主要有以下 5 种结论^[6]: (1) 硝态氮优于铵态氮; (2) 混合施用效果最好; (3) 不同氮素的增产效果与用量有关; (4) 铵态氮优于硝态氮; (5) 铵、硝态氮有同等效果。

本试验采用水培的方法, 从小麦幼苗生长开始就供给了不同形态配比的氮素营养, 以期真实反应氮素形态对小麦叶片叶绿体色素蛋白含量及光合性能的影响。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

以小麦 (*Triticum aestivum* L) 品种小堰 22 为材料, 采用水培方法。精选小麦种子, 萌发后将其置于恒温培养箱中培养 (22℃), 4 天后取出置于室温下 (日 15℃, 夜 6℃) 培养。待幼苗长至一叶一心, 用

普良尼氏尼科夫营养液培养 (大量、微量元素均是原浓度的 1/4), 其中设置 5 个不同氮素形态的处理:

处理 1: $\text{NH}_4^+ - \text{N} : \text{NO}_3^- - \text{N} = 100 : 0$

处理 2: $\text{NH}_4^+ - \text{N} : \text{NO}_3^- - \text{N} = 75 : 25$

处理 3: $\text{NH}_4^+ - \text{N} : \text{NO}_3^- - \text{N} = 50 : 50$

处理 4: $\text{NH}_4^+ - \text{N} : \text{NO}_3^- - \text{N} = 25 : 75$

处理 5: $\text{NH}_4^+ - \text{N} : \text{NO}_3^- - \text{N} = 0 : 100$

其中氮素化合物为: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KNO_3 。培养时每 3 天更换一次营养液, 以消除溶液中因 pH 产生影响使得某些养分有效性发生变化。培养至小麦幼苗为三叶期 (15 d), 取叶进行相关指标的测定。

1.2 测定项目及方法

1.2.1 小麦幼苗生物量测定 随机取每种氮素形态处理下的 3 组小麦幼苗, 每组 5 株。分别测定其地上部和地下部的鲜重、干重、根长、叶位、叶面积等生物量。

1.2.2 叶绿体及类囊体膜制备 参照 Kuwabara、Murata^[7]的方法稍作改进。三叶期幼苗叶片在预冷的提取缓冲液 K_1 (100 mmol/L 蔗糖, 200 mmol/L NaCl, 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.4) 中用组织捣碎机捣碎, 匀浆液用两层棉布过滤, 滤液在 $3\,000 \times g$ 离心 10 min, 沉淀用 K_1 液悬浮并匀浆后, 在 $500 \times g$ 下离心 1 min, 弃去沉淀, 上清液于 $3\,000 \times g$ 离心 10 min, 得类囊体膜并悬浮于 K_2 液 (300 mmol/L 蔗糖, 500 mmol/L NaCl, 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.9) 中备用。

收稿日期: 2006-11-01

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (30230230) “西北旱地优质高效高产栽培技术的生理生态研究”

作者简介: 李 翎 (1982—), 女, 陕西宝鸡市人, 在读硕士研究生, 研究方向为植物水分与抗旱生理。E-mail: lingl530@126.com。

通讯作者: 曹翠玲 (1960—), 女, 陕西眉县人, 教授 (博士), 主要从事植物营养生理和水分生理的研究。

- 1.2.3 叶绿体色素蛋白复合体的 SDS-PAGE 分析 参照陈毓荃^[8]的方法。
- 1.2.4 紫外吸收光谱分析 参照赵丽哲等^[9]的方法,称取一定量的叶片,加入适量磷酸-甘露醇提取液(含 0.1 mol/L 磷酸盐、0.33 mol/L 甘露醇、50 mmol/L NaCl,pH 7.6),在控温组织捣碎机中捣碎,4 层纱布过滤,300×g 离心 2 min,上清液经 1 000×g 离心 10 min,沉淀悬浮后漂洗 3 次,收集叶绿体,悬浮后在 UV-810 型紫外可见分光光度计上测定,波长范围 200~740 nm。
- 1.2.5 希尔反应活性测定 参照张志良^[10]的方法。
- 1.2.6 叶绿素含量测定 采用浸提法^[11],分光光度计测定。
- 1.2.7 叶绿体蛋白含量测定 采用考马斯亮蓝 G-250 法^[11]。

2 结果及分析

2.1 叶绿体蛋白含量

氮素是叶绿体中蛋白质的重要组成元素,不同形态的氮素营养对小麦体内蛋白质的含量有重要影响^[12]。本试验测定结果表明(图 1),从处理 1 到处理 5,幼苗叶片叶绿体蛋白的含量呈先升后降的趋势,其中处理 3(50%硝态氮+50%铵态氮)蛋白含量最高,而 100%硝态氮处理时含量最低。说明铵态氮较硝态氮更有利于小麦叶片可溶性蛋白的形成和积累,而铵态氮和硝态氮 1:1 混合效果最好。

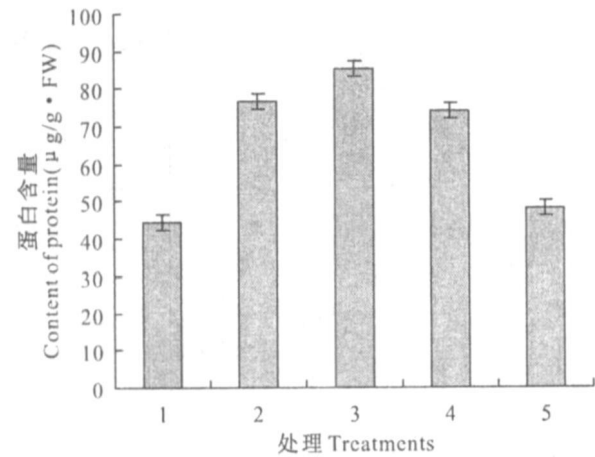


图 1 不同氮素形态处理对叶片叶绿体蛋白含量的影响
Fig.1 The effects of different deals on content of chlorophyll

2.2 叶绿体色素蛋白复合体的 SDS-PAGE 分析

为了探究不同氮素形态对小麦幼苗叶绿体色素蛋白复合体含量的影响,我们对小麦叶绿体类囊体膜蛋白作了 SDS-PAGE 分析(图 2)。电泳分离出

的条带中,位于低分子量区域 31~43 kD 范围内属于 PS II 反应中心蛋白复合体(LHC II)的多肽组分^[2]以及高分子量区域属于 PS I 的多肽组分在两种氮形态配比相等时含量最高,75%铵态氮或 75%硝态氮时有所降低,2 种氮素单独施用则最低,其余蛋白组分含量则较稳定。这与王娜等^[13]研究氮素形态对水稻光合作用的试验结果相似。说明不同形态的氮素供给对 LHC II 的脱辅基蛋白及 PS I 的多肽组分含量均有影响。

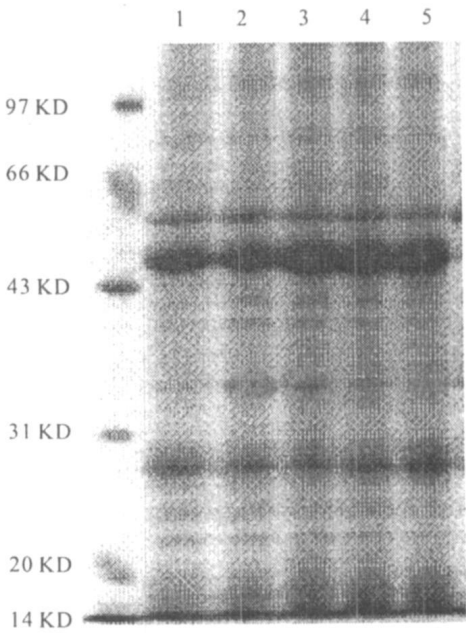


图 2 小麦叶绿体类囊体膜色素蛋白的 SDS-PAGE 分析
Fig.2 SDS-PAGE of thylakoid proteins

2.3 叶绿体色素蛋白复合体的室温吸收光谱

叶绿体的室温吸收光谱能够表明植物体光能吸收的能力^[13]。本试验结果(图 3)表明,不同氮素形态配比下小麦幼苗叶绿体室温吸收光谱总体变化趋势一致。各形态配比下光谱条带均在 679 nm 和 440 nm 附近出现峰值,在 646 nm 和 466 nm 附近出现肩峰。由于各形态下叶绿素各成分的含量不同,吸收峰值高低不同^[14],2 种氮形态配比相等时的光谱带主峰最高,75%铵态氮时略低,75%硝态氮时次之,两种氮素单独施用则最低,说明不同的氮素形态可能影响了类囊体膜的结构,使得结合态的色素含量及比例有所改变。

2.4 叶绿素含量

氮素是叶绿素的主要组成元素,因而叶片叶绿素含量明显受到氮素含量的影响^[15]。曹翠玲等^[16]的研究表明,铵态氮和硝态氮的施用比例不同,可以导致叶片中叶绿素含量的差异。从图 4 中可见,当

铵、硝态氮比例为 50:50 时叶绿素 a (Ch1a)、叶绿素 b(Ch1b)及总叶绿素(Ch1)含量均为最高,两者的比例为 75:25 时次之,其余配比含量则较低。表明叶绿体色素对氮素的需求不同。铵、硝态氮混合比例相等时能显著提高叶绿素含量,有利于提高植物光合能力,有利于植物体内产物的积累。

2.5 希尔反应活性

希尔反应活性表示叶绿体在进行光合作用时的放氧能力,是反映叶片光合强度高低的一个重要指标^[17]。本试验结果(图 5)显示,不同氮素形态配比下希尔反应活性均有差异。与叶绿素及蛋白含量变化不同的是,随着铵态氮比例的降低,小麦叶片中的希尔反应活性逐渐降低。其原因可能是增加铵态氮比例提高了水的光解和电子传递的速率,说明铵态氮的减少不利于提高叶片光合强度。

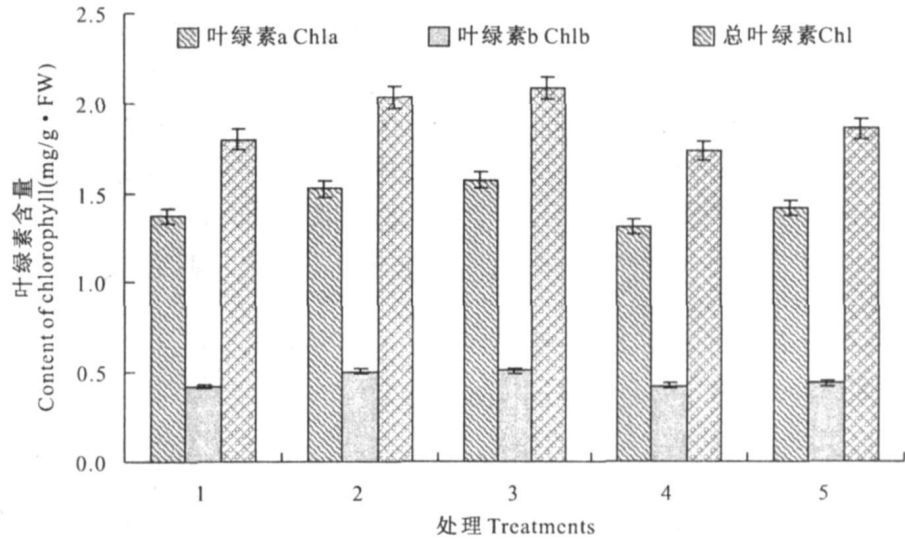


图 4 不同氮素形态处理对叶片叶绿素含量的影响

Fig. 4 The effects of different deals on chlorophyll content

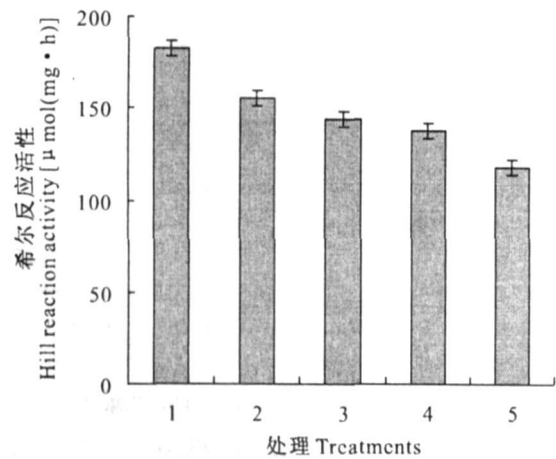


图 5 不同氮素形态处理对叶片希尔反应活性的影响

Fig. 5 The effects of different deals on Hill reaction activity

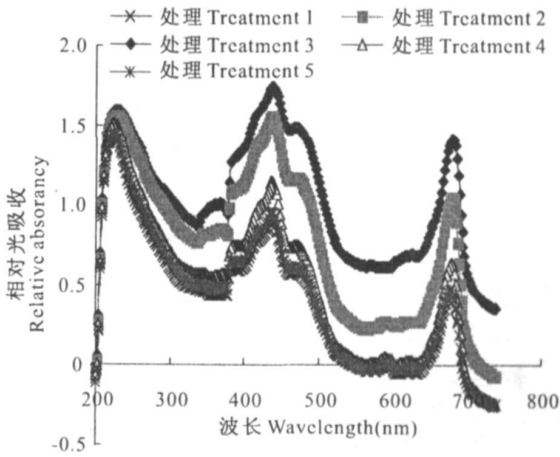


图 3 小麦叶绿体类囊体膜色素蛋白复合物的室温吸收光谱

Fig. 3 Absorb spectrum of thylakoid proteins from different treatments at room temperature

2.6 生物量

生物量是植物内部生理生化变化的外部表现,该指标能够直观反映植物生长和物质积累的情况。施用不同形态的氮素营养,可对叶片叶绿素、蛋白质含量等产生影响,进而影响作物的光合能力,最终导致叶面积、叶片质量等的变化^[18]。测定结果(表 1)表明,地上部鲜重、干重、叶面积在处理 3(50%硝态氮+50%铵态氮)达到最大,且有明显优势,其余各处理间差异不大。地下部鲜重、干重及根长的总体变化趋势为:随着硝态氮的比例增加而增大。说明硝态氮更有利于小麦幼苗期地下部分的物质积累,促进其根的生长发育。原因是因为硝态氮条件下植物吸收了大量的 K^{+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} 等阳离子,这些阳离子增加了细胞的渗透势,从而有利于细胞的伸长

和植株的生长。而施用铵态氮,植物含有更多的 Ca^{2+} 的吸收,并带来铵害^[19]。
 Cl^- , SO_4^{2-} 和 H_2PO_4^- 等阴离子,往往会抑制 K^+ ,

表 1 不同氮形态培养下小麦幼苗的生物量
Table 1 Effect of different nitrogen forms on biomass of wheat seedling

处理 Treatments	鲜叶重(g/株) Fresh weight of leaf (g/plant)	根鲜重(g/株) Fresh weight of root (g/plant)	叶干重(g/株) Dry weight of leaf (g/plant)	根干重(g/株) Dry weight of root (g/plant)	叶面积(cm^2 /株) Acreage of leaf (cm^2 /plant)	根长(cm/株) Length of root (cm/plant)
1	1.12±0.02	0.27±0.02	0.11±0.02	0.022±0.02	15.30±0.7	9.9±0.96
2	1.15±0.01	0.30±0.06	0.11±0.04	0.023±0.02	16.06±2.0	10.9±0.94
3	1.47±0.05	0.36±0.02	0.16±0.05	0.031±0.07	20.86±1.9	16.5±1.86
4	1.10±0.08	0.38±0.04	0.11±0.04	0.032±0.13	15.83±1.1	17.8±1.62
5	0.97±0.04	0.42±0.04	0.10±0.03	0.034±0.09	15.29±0.7	21.5±3.11

3 讨 论

氮素是作物生长中一种极为重要的营养元素。 NH_4^+-N 和 NO_3^--N 虽然同是植物可吸收利用的氮素形态,但植物对二者的吸收、运输、储藏和同化等方面存在很大差异,这必然会影响到植物的其它生理过程和生长发育^[20]。有研究表明,这两种氮素对植物生长的有效程度取决于植物种类、二者的浓度及其比例^[21]、土壤 pH 值^[22]以及生长介质的缓冲能力等^[23]。

王娜等^[13]的研究结果表明,水稻在 $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$ 为 2/3~3/2 时,光合特性、光系统活性及光吸收等方面都处于一个较佳的状态,多肽组分中与光合放氧有关的小分子多肽在数量上也占有优势,水稻苗期体内的生理机能平衡状态处于最佳,外观表现出较高的光合性能。本试验的结果是,电泳条带中位于低分子量区域 31~43 kD 范围内 PS II 的多肽组分以及高分子量区域属于 PS I 的多肽组分在两种氮形态配比相等时含量最高,75%铵态氮或 75%硝态氮时有所降低,两种氮素单独施用时则最低。说明不同形态的氮素供给对 LHC II 的脱辅基蛋白含量及 PS I 的多肽组分有明显影响。

类囊体膜色素蛋白复合体的室温吸收谱中,不同氮素形态下样品吸收峰位置基本一致,混合施用且比例为 50:50 时光谱带主峰最高,75%铵态氮时略低,75%硝态氮时次之,2 种氮素单独施用时则最低,这可能是由于等量氮素形态配比下其样品类囊体膜中 Chla 和 Chlb 含量均多于其它处理,造成其光的吸收能力较强。说明铵、硝态氮等量混合施用有利于叶片在自然状态下更加充分地吸收光能,为反应中心提供更充分的能量,以便把更多的光能转化为生物化学能,为提高产量奠定物质基础。

光合作用的物质积累是植物生长发育和产量形成的保证,光合作用的强弱除取决于外界环境,如光照、温度、 CO_2 浓度等因素外,还取决于植物自身的因素,即叶面积大小、蛋白含量和光合色素含量等^[15]。本试验结果表明,铵态氮较硝态氮略有利于小麦幼苗叶面积增大、叶绿素含量及叶绿体蛋白含量提高,而当两种形态氮素混合施用且比例为 50:50 时,上述生理指标值均达到最大。因此,此种处理有利于小麦幼苗光合作用的进行,加快幼苗的生长发育,为以后的高产打下基础。

希尔反应活性可反应叶片光合强度的高低。郭培国等^[24]研究表明,随着铵态氮施用比例从 0%提高到 75%,烤烟的希尔反应活性有不同程度提高。本试验结果表明随着铵态氮比例的增加,小麦叶片中的希尔反应活性逐渐升高。说明铵态氮的增加有利于提高叶片光合强度,其原因是提高了水的光解和电子传递的速率^[25]。表明氮素形态对希尔反应活性和叶绿素含量及蛋白含量有不同的影响。

综上所述,等量混合施用铵、硝态氮能够在一定程度上增加叶片色素蛋白复合体的含量,提高其光合作用性能,为小麦的后期生长提供有利因素。

参 考 文 献:

[1] 林宏辉,杜林方,贾勇炯,等.野生和黄化大麦类囊体膜色素蛋白的分离和比较[J].西北植物学报,1997,17(1):34-38.
[2] 韦振泉,林宏辉,何军贤,等.水分胁迫对小麦捕光色素蛋白复合物的影响[J].西北植物学报,2000,20(4):555-560.
[3] 赵丽哲,苏小静.小麦返白系返白阶段叶绿体膜光谱特性及色素蛋白质复合体的变化[J].华北农学报,1996,11(2):62-66.
[4] Beusichem ML-VAN, Kirkby- EA, Baas- R. Influence of nitrate and ammonium nutrition on the uptake, assimilation, and distribution of nutrients in ricinus communis[J]. Plant Physiology, 1988, 86(3): 914-921.

[5] Alloush GA, Bot J—Le, Sanders—FE, et al. Mineral nutrition of chickpea plants supplied with NO_3^- or NH_4^+-N I. Ionic balance in relation to iron stress[J]. Journal of Plant Nutrition, 1990, 13(12):1575—1590.

[6] 陈锦强,李明启. 不同氮素营养对黄麻叶片的光合作用、光呼吸的影响及光呼吸与硝酸还原的关系[J]. 植物生理学报, 1983, (3):251—259.

[7] Kuwabara T, Muratan. Inactivation of photosynthetic oxygen evolution and concomitant release of three polypeptides in the photosystem II particles of spinach chloroplasts[J]. Plant Cell Physiol, 1982, 23, 533—539.

[8] Chen Y Q. The experiment technique of biochemistry[M]. Beijing:The science publishing company, 2002. 147—150.

[9] Zhao L Z, Su X J. The Changes of Spectral Character of Chloroplast Thylakoid-Membrane and Pigment—protein Complex During the Albescence Stage of Albinism Line of Winter Wheat[J]. Acta Agriculture Boreali-Sinica, 1996, 11(2):62—66.

[10] 张志良,瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2003. 86—88.

[11] Gao J F. The experiment technique of plant physiology[M]. Xi'an:The world books publishing company, 2000. 101—135.

[12] 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—532.

[13] 王 娜,陈国祥,邵志广,等. 不同形态氮素配比对水稻光合特性的影响[J]. 江苏农业学报, 2002, 18(1):18—22.

[14] Wei H M, Chen Y W, Zhang N H. et al. Study on the Spectra Properties of Cotyledon Thylakoid Membranes in Chlorophyll-reduced Rapeseed Mutant Cr3529 and its Wild Typ[J]. Acta Bot. Boreal. Occident. Sin, 2005, 25(2):250—255.

[15] 肖 凯,张树华,邹定辉,等. 不同形态氮素营养对小麦光合特性的影响[J]. 作物学报, 2000, 26(1):53—59.

[16] 曹翠玲,李生秀. 氮素形态对小麦中后期的生理效应[J]. 作物学报, 2003, 29(2):258—262.

[17] 郭兴启,温孚江,朱汉城. 烟草感染马铃薯 Y 病毒(PVY)后光合作用的变化规律[J]. 浙江大学学报, 2000, 26(1):75—78.

[18] 戴廷波,曹卫星. 增铵营养对小麦早期生长的促进效应[J]. 麦类作物学报, 2000, 20(4):42—46.

[19] 赵 越,马凤鸣,王丽艳,等. 不同氮源对甜菜蔗糖合成酶的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2001, (2):1—12.

[20] 曹翠玲,李生秀,苗 芳. 氮素对植物某些生理生化过程影响的研究进展[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(4):96—102.

[21] Errebhi M, Wilcox G E. Tomato growth and nutrient uptake pattern as influenced by nitrogen form ratio[J]. Journal of Plant Nutrition, 1990, 13(8):1031—1043.

[22] Rosen C J, Allan D L, Luby J J. Nitrogen form and solution pH influence growth and nutrition of two Vaxxinum clones[J]. Journal of American Society for Horticultural Science, 1990, 115(1):83—89.

[23] 陈元镇. 花卉无土栽培的基质与营养液[J]. 福建农业大学学报, 2002, 17(2):128—131.

[24] 郭培国,陈建军,郑燕玲. 氮素形态对烤烟光合特性影响的研究[J]. 植物学通报, 1999, 16(3):262—267.

Effects of nitrogen forms on the content of wheat chlorophyll-protein complexes and Hill reaction activity

LI Ling, CAO Cui-ling, ZHAO Bei

(College of Life Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Different forms of nitrogen were applied on water-cultivated wheat seedling. The results showed that the amounts of 31~43 kD polypeptides of LHC II and the contents of chlorophyll-protein complexes of PS I were increased to a top rate at 50% NH_4^+-N + 50% NO_3^--N , while they reached to the lowest point when used any form of nitrogen separate. The absorption spectra of chloroplast thylakoid-membrane (normal temperature) and the contents of chlorophyll and chlorophyll protein reached to the tiptop at 50% NH_4^+-N + 50% NO_3^--N and they reached to the lowest point when used any form of nitrogen separate. The Hill reaction activity decreased as the rate of NH_4^+-N decreased.

Key words: wheat; nitrogen rate; chlorophyll-protein complex; Hill reaction activity