

增强 UV-B 辐射和不同氮供应对谷子叶片氮代谢的影响*

方 兴

(重庆师范大学 编辑出版中心, 重庆 400047)

摘要:研究了谷子(*Setaria italica* (L.) Beauv.)在从拔节期开始进行不同氮供应水平处理(1.88、15 mmol·L⁻¹)和从抽穗期到灌浆期进行增强 UV-B 辐射处理(24.7 μW·cm⁻²)条件下叶片主要氮代谢指标的变化。结果表明:1)在抽穗初期,氮供应水平对游离氨基酸含量和谷氨酰胺合成酶(GS)活性无显著影响,高氮供应水平下谷子叶硝态氮含量、谷氨酸脱氢酶(GDH)和硝酸还原酶(NR)活性均显著上升($p < 0.05$);2)在灌浆末期,氮供应水平和增强 UV-B 辐射对硝态氮含量和 NR 活性均无显著影响,高氮供应水平显著提高了增强 UV-B 辐射处理条件下 GS 和 GDH 活性($p < 0.05$)。研究认为,较高氮供应水平更有利于提高增强 UV-B 辐射处理下谷子叶片在主要繁殖阶段的氮代谢水平。

关键词:增强 UV-B 辐射;氮;谷子(*Setaria italica* (L.) Beauv.);谷氨酰胺合成酶;谷氨酸脱氢酶;硝酸还原酶

中图分类号:Q945.79

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2015)02-0150-04

虽然已有报道显示大气臭氧层正在缓慢恢复,但人们仍然必须长期面对地表太阳 UV-B 辐射增加这一全球重大环境问题^[1]。已有研究表明,UV-B 辐射能影响植物的氮代谢过程^[2-3],且植物在生育期对 UV-B 辐射存在较强敏感性^[4]。在中国,不少作物的繁殖期处于地表太阳 UV-B 辐射最高的夏秋季^[5],且作物在进入繁殖期前或繁殖期间人们往往会进行追肥处理;而不少研究证明,生境中氮供应状况的变化也能改变 UV-B 辐射对植物氮代谢影响的效果^[2,6]。此外,早期研究认为 C₄ 植物对 UV-B 辐射不敏感,但后期研究结果说明在其他环境因子改变时 UV-B 辐射仍能对 C₄ 植物造成影响^[7]。鉴于当前有关 UV-B 辐射和氮对处于繁殖期的 C₄ 植物影响研究较少,本研究通过在繁殖期前改变氮供应水平并进行增强 UV-B 辐射处理,研究了 C₄ 作物谷子(*Setaria italica* (L.) Beauv.)叶片重要氮代谢指标在繁殖期主要阶段的变化,旨在探讨氮供应水平如何改变繁殖期间 UV-B 辐射对 C₄ 植物氮代谢影响,为 C₄ 植物的紫外辐射生态学研究提供新资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料与实验设计

以“金谷 80”作为供试谷子品种(河北省农林科学院提供)。谷种经 5%NaClO、30 min 消毒后用去离子水冲洗,并用 30℃温水浸泡 24 h,于 2007 年 7 月初播种于盛有 3 L 珍珠岩栽培基质的塑料花盆中。待幼苗进入“三叶一心”期后,将之转移到西南大学生命科学学院生态学实验基地(29°49'N,106°25'E,海拔 249 m)进行户外培养。

在材料进入拔节期前,以每隔 2 d 浇 1 次的频率给每个花盆浇灌 1/4 Hoagland 营养液,每盆 0.5 L;此外,每天所有花盆浇水 1 次,以不渗漏为限。根据植株生长情况在此期间逐步匀苗,最终每个花盆内只保留生长状况接近一致的两株材料。当材料进入拔节期,以预备实验为前提,将所有材料用完全随机分组方法分为 2 组即低氮组和高氮组,分别浇灌含氮量为 1.88 和 15 mmol·L⁻¹的以 Hoagland 营养液为基础配制的营养液。此时营养液浇灌频次改为每隔 1 d 浇 1 次,每盆 0.5 L;根据天气情况每天浇水 1~2 次,仍以不渗漏为限,直至实验结束。

当材料开始抽穗时,将两种氮供应水平处理的植株再次按完全随机分组方法各分为 2 组,此时所有材料被分为 4 个处理组即低氮组、高氮组、低氮+UV 组和高氮+UV 组,每组均为 30 盆。低氮组和高氮组不进行增强 UV-B 辐射处理,低氮+UV 组和高氮+UV 组均进行强度为 24.7 μW·cm⁻²的增强 UV-B 辐射处理。该辐射强度值相当于实验地 2007 年夏至日前后晴天 25%臭氧层衰减时 UV-B 辐射的生物有效辐射强度(UV-B_{BE})的

* 收稿日期:2015-02-11 网络出版时间:2015-03-04 09:13

资助项目:国家自然科学基金(No. 30670334);重庆师范大学博士科研启动基金项目(No. 09XWB011);重庆师范大学青年基金项目(No. 13XWQ23)

作者简介:方兴,男,助理研究员,博士,研究方向为植物种群生理生态学,E-mail:68856412@qq.com

网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20150304.0913.001.html

增加值,辐射放大因子 RAF 值取 2.0,以文献[5]提出的公式计算。增强 UV-B 辐射处理的具体操作和相关仪器参照文献[8]。增强 UV-B 辐射处理(9:00~17:00)从抽穗初期时开始,到灌浆末期时结束。实验期间共进行两次取样。第一次取样在材料抽穗初期准备第二次分组时进行,分别于低氮组和高氮组中随机选取一定数量植株,采集旗叶及其下方 2 片叶片用于指标测定;第二次取样在实验结束时进行,各处理组采样方式同第一次采样。两次取样的每个处理组中各项指标测定均设 3 个重复,每重复测定 3 次取平均值作为该重复的测定值。

1.2 氮代谢指标测定方法

游离氨基酸提取与含量测定、谷氨酰胺合成酶(GS)和谷氨酸脱氢酶(GDH)提取与活性测定参照文献[9]的方法,谷子叶片硝态氮提取与含量测定、硝酸还原酶(NR)的提取与活性测定参照张志良和瞿伟菁^[10]的方法;所测指标的含量/活性均以材料的鲜质量进行计算。

1.3 数据处理

所有实验数据结果均以“平均值±标准误”(Mean±SE)形式表示。运用 Microsoft Excel 2007 和 SPSS 14.0 软件进行统计分析和作图,显著性检验标准为 $p < 0.05$ 。

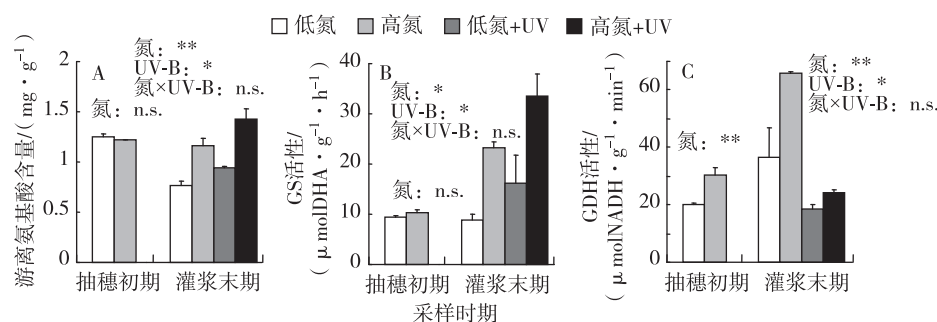
2 结果

2.1 对游离氨基酸含量的影响

图 1A 显示,随着处理时间增加,两种氮供应水平下的谷子叶游离氨基酸含量均呈下降趋势(高氮供应水平下增强 UV-B 辐射处理的谷子叶游离氨基酸含量略有增加)。方差分析结果显示,抽穗初期氮供应水平对谷子叶游离氨基酸含量影响并不显著;但在灌浆末期则有着显著的影响($p < 0.05$),且高氮供应水平显著提高了谷子叶游离氨基酸的含量($p < 0.05$)。图 1A 还显示,灌浆末期低氮+UV 组与低氮组、高氮+UV 组与高氮组相比,游离氨基酸含量均有所提升,在低氮+UV 组与低氮组之间还达到显著水平($p < 0.05$);方差分析结果也显示,增强 UV-B 辐射对灌浆末期的谷子叶游离氨基酸含量有显著影响($p < 0.05$)。

2.2 对 GS 活性的影响

由图 1B 可知,两种氮供应水平下的谷子叶 GS 活性在处理期间均呈上升趋势(低氮供应水平下谷子叶 GS 活性略有下降)。在抽穗初期时,氮供应水平对谷子叶 GS 活性无显著影响;但在灌浆末期这种影响达到显著水平($p < 0.05$),且高氮供应水平下谷子叶 GS 活性显著上升($p < 0.05$)。增强 UV-B 辐射在灌浆末期对谷子叶 GS 活性影响也达到显著水平($p < 0.05$),且低氮+UV 组、高氮+UV 组谷子叶 GS 活性均分别高于低氮组、高氮组,在高氮+UV 组和高氮组间还达到显著水平($p < 0.05$)。



注:氮×UV-B 表示两因素的交互作用。n. s. 表示不显著; * 表示显著性概率 $p < 0.05$; ** 表示显著性概率 $p < 0.01$ 。下同。

图 1 对游离氨基酸含量(A)、GS(B)和 GDH(C)活性的影响

2.3 对 GDH 活性的影响

图 1C 显示,随着处理时间增加,进行增强 UV-B 辐射的谷子叶 GDH 活性呈下降趋势,而未进行增强 UV-B 辐射的谷子则刚好相反。方差分析结果显示,增强 UV-B 辐射在灌浆末期、氮供应水平在抽穗初期和灌浆末期对谷子叶 GDH 活性有显著影响($p < 0.05$);其中,高氮供应水平下谷子叶 GDH 活性均显著高于较低氮

供应水平下谷子($p < 0.05$),而灌浆期时增强 UV-B 辐射下谷子叶 GDH 活性均显著降低($p < 0.05$)。

2.4 对硝态氮含量的影响

与抽穗初期的低氮组相比,灌浆末期的低氮和低氮+UV 组谷子叶硝态氮含量有所上升;而高氮组、高氮+UV 组谷子叶硝态氮含量的变化情况正好相反(图 2A)。方差分析结果显示,氮供应水平对抽穗初期谷子叶硝态氮含量有显著影响($p < 0.05$),且高氮组显著高于低氮组($p < 0.05$);但在灌浆末期对谷子叶硝态氮含量影响不显著。对于增强 UV-B 处理,方差分析结果同样显示在灌浆末期对谷子叶硝态氮含量无显著影响。

2.5 对 NR 活性的影响

两种氮供应水平下的谷子叶 NR 活性随着处理时间增加均呈上升趋势(图 2B)。方差分析结果显示在抽穗

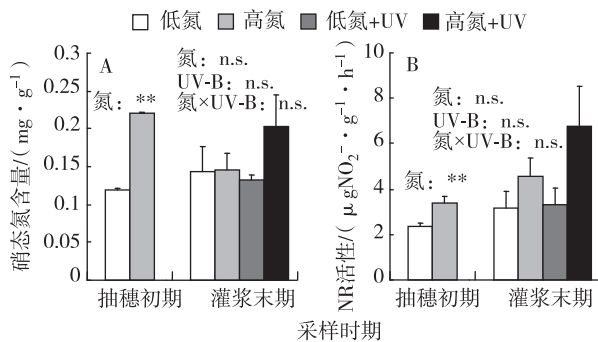


图 2 对硝态氮含量(A)、NR(B)活性的影响

初期时氮供应水平对 NR 活性有显著影响 ($p < 0.05$), 且高氮组显著高于低氮组 ($p < 0.05$); 但在灌浆末期, 氮供应水平对 NR 活性影响不再显著。方差分析结果同样显示增强 UV-B 辐射处理对灌浆末期谷子叶 NR 活性无显著影响, 虽然低氮 + UV 组、高氮 + UV 组的谷子叶 NR 活性分别相对于两次取样时的低氮组和高氮组谷子均有所上升。

3 讨论

由于植物只能通过利用氨态氮合成蛋白质, 故游离氨基酸含量从一定程度可反映氮同化作用获得氨态氮的能力。本研究中, 在抽穗初期氮供应水平对谷子叶游离氨基酸含量影响并不显著, 作为氮同化最主要途径谷氨酰胺合成酶/谷氨酸合成酶 (GS/GOGAT) 循环^[11] 的关键酶 GS 活性在此时对氮供应水平变化的响应也不显著 (图 1A、B)。

这可能与氮供应水平改变时间不长有关, 因为本研究中谷子从拔节期到抽穗期仅有数天间隔。而且随着处理时间的延长, 到了灌浆末期, 两者对氮供应水平响应均达到显著水平 ($p < 0.05$), 且均因氮供应水平的上升而上升 (图 1A、B), 这一结果与以往研究一致^[12]。李元等人^[2] 认为, 增强 UV-B 辐射处理可导致植物体内蛋白质分解加强, 游离氨基酸积累, 刺激了植物的保护酶合成, 由此导致 GS 等氮代谢重要酶类活性增强。本研究结果也支持上述观点 (图 1A、B)。

GDH 参与的催化反应除作为 GS/GOGAT 循环的辅助外, 更多的作用是解除氨毒^[11]。同以往研究结果类似^[13], 本研究中该酶活性在抽穗初期和灌浆末期均受到氮供应水平的显著影响 ($p < 0.05$), 且高氮供应水平显著提高了它的活性 ($p < 0.05$) (图 1C)。

然而和增强 UV-B 辐射对 GS 活性影响不同, 灌浆末期不同氮供应水平下的谷子叶 GDH 活性均因增强 UV-B 辐射处理而显著下降 ($p < 0.05$) (图 1C)。有研究认为, 该酶活性与 UV-B 辐射强度高有关: 由于 UV-B 辐射增强可导致分解代谢加强, 由此导致的氨含量增加会提高 GDH 活性以解除氨毒; 但较高强度的增强 UV-B 辐射所产生的氨含量超过了该酶所能调节的能力^[14]。

一般来说, 外界硝态氮供应水平的提升往往导致植物体内硝态氮积累的增加^[15]。本研究中, 氮供应水平的提升显著提高了抽穗初期谷子叶硝态氮含量 ($p < 0.05$), 这与上述研究一致; 但在灌浆末期, 这一效果则不再显著, 且与抽穗初期相比, 高氮供应水平下谷子硝态氮含量还有所下降 (图 2A)。有研究认为, 植物在生长后期会以各种形式损失地上部分的氮素^[20], 本研究结果或与此有关, 但还需进一步加以研究。植物体内的硝态氮必须经过 NR 还原成 NO_2^- 后并进一步被还原成 NH_4^+ 才可被植物利用^[12]。NR 在上述过程中扮演关键角色, 且因外界硝酸盐增加而被诱导表达。本研究中氮供应水平对谷子叶 NR 活性影响与对硝态氮的影响情况基本一致 (图 2B), 和李东方等人研究类似^[17]。同样, 本研究显示增强 UV-B 辐射处理对灌浆末期谷子叶硝态氮含量和 NR 活性的影响也较一致, 增强 UV-B 辐射对两者均未能产生显著影响, 这和牛传坡等人的研究结果类似^[3]。

总之, 在本研究中, 氮供应水平的提升虽然未对灌浆末期的 NR 活性和硝态氮含量有显著影响, 但却有利于提升同期增强 UV-B 辐射处理下谷子叶片的 GS、GDH 活性, 提高了谷子在主要繁殖阶段的氮代谢水平。

参考文献:

- [1] UNEP. Ozone Secretariat [EB/OL]. (2014-09-16). [2015-02-11]. http://ozone.unep.org/en/index_sg_msg.php.
- [2] 李元, 姬静, 祖艳群. 氮对 UV-B 辐射影响灯盏花氮代谢的作用 [C] // 中国农业生态环境保护协会. 第四届全国农业环境科学学术研讨会论文集, 2011: 726-730.
Li Y, Ji J, Zu Y Q. The effect of nitrogen on action of UV-B radiation to nitrogen metabolism of *Erigeron breviscapus* [C] // Chinese Society of Agro-Ecological Environment Protection. Proceedings of 4th Chinese Agricultural Environmental Science Seminar, 2011: 726-730.
- [3] 牛传坡, 蒋静艳, 黄耀. UV-B 辐射强度变化对冬小麦碳氮代谢的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(4): 1327-1332.
Niu C P, Jiang J Y, Huang Y. Influence of increased UV-B radiation on C and N metabolism of winter wheat [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2007, 26(4): 1327-1332.
- [4] 王传海, 郑有飞, 陈敏东, 等. 小麦不同生育期对 UV-B 敏感差异性比较 [J]. 生态环境, 2004, 13(4): 483-486.
Wang C H, Zheng Y F, Cheng M D, et al. Differences in sensitivity to enhanced UV-B radiation of wheat at different growth stages [J]. Ecology and Environment, 2004, 13(4): 483-486.
- [5] Madronich S, McKenzie R L, Caldwell M M, et al. Changes in ultraviolet radiation reaching the earth's surface [J]. Ambio, 1995, 24(2): 143-152.
- [6] 姬静, 祖艳群, 李元. 增强 UV-B 辐射和氮素互作对植物生

- 长代谢影响的研究进展[J]. 西北植物学报, 2010, 30(2): 422-428.
- Ji J, Zu Y Q, Li Y. Research progress of interaction effects of enhanced UV-B radiation and nitrogen on growth and metabolism of plants[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2010, 30(2): 422-428.
- [7] Correia C M, Coutinho J F, Björn L O, et al. Ultraviolet-B radiation and nitrogen effects on growth and yield of maize under Mediterranean field conditions[J]. European Journal of Agronomy, 2000, 12(2): 117-125.
- [8] 刘芸, 钟章成, Werger M J A, 等. α -NAA 和 UV-B 辐射对栉楼幼苗光合色素及保护酶活性的影响[J]. 生态学报, 2003, 23(1): 8-13.
- Liu Y, Zhong Z C, Werger M J A, et al. Effects of α -NAA and UV-B radiation on photosynthetic pigments and activities of protective enzymes in *Trichosanthes Kirilowii* Maxim leaves[J]. Acta Ecologica Sinica, 2003, 23(1): 8-13.
- [9] 汤章城. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 138-139.
- Tang Z C. Guide of modern plant physiological experiments [M]. Beijing: Science Press, 1999: 138-139.
- [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: 41-52.
- Zhang Z L, Qu W J. Direction of plant physiological experiments[M]. Beijing: Higher Education Press, 2003: 41-52.
- [11] 莫良玉, 吴良欢, 陶勤南. 高等植物 GS/GOGAT 循环研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2001, 7(2): 223-231.
- Mo L Y, Wu L H, Tao Q N. Research advances on GS/GOGAT cycle in higher plants[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2001, 7(2): 223-231.
- [12] 赵艺欣, 阚宏江, 刘玉莲, 等. 不同硝态氮肥用量对春小麦叶片氮代谢的影响[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(3): 55-57.
- Zhao Y X, Kan H J, Liu Y L, et al. Effects of different nitrate supply on nitrogen metabolism in leaves of spring wheat[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2012, 40(3): 55-57.
- [13] 刘淑云, 董树亭, 赵秉强, 等. 长期施肥对夏玉米叶片氮代谢关键酶活性的影响[J]. 作物学报, 2007, 33(2): 278-283.
- Liu S Y, Dong S T, Zhao P Q, et al. Effects of long-term fertilization on activities of key enzymes related to nitrogen metabolism (ENM) of maize leaf[J]. Acta Agronomica Sinica, 2007, 33(2): 278-283.
- [14] Cao R, Huang X H, Zhou Q, et al. Effects of lanthanum (III) on nitrogen metabolism of soybean seedlings under elevated UV-B radiation[J]. Journal of Environmental Sciences, 2007, 19: 1361-1366.
- [15] Chen B M, Wang Z H, Li S X, et al. Effects of nitrate supply on plant growth, nitrate accumulation, metabolic nitrate concentration and nitrate reductase activity in three leafy vegetables[J]. Plant Science, 2004, 167(3): 635-643.
- [16] 李生秀, 李宗让, 田霄鸿, 等. 植物地上部分氮素的挥发损失[J]. 植物营养与肥料学报, 1995, 1(2): 18-25.
- Li S X, Li Z R, Tian X H, et al. Nitrogen loss from above-ground plants by volatilization [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Sciences, 1995, 1(2): 18-25.
- [17] 李东方, 李紫燕, 李世青, 等. 施氮对不同品种冬小麦植株硝态氮和硝酸还原酶活性的影响[J]. 西北植物学报, 2006, 26(1): 104-109.
- Li D F, Li Z Y, Li S Q, et al. Effect of nitrogen fertilization on nitrate nitrogen contents and nitrate reductase activities in the plants of different winterwheat varieties[J]. Botanical Boreali-Occidentalia Sinica, 2006, 26(1): 104-109.

Effects of Enhanced UV-B Radiation and Different Nitrogen Supply on Nitrogen Metabolism in Leaves of Foxtail Millet (*Setaria italica* (L.) Beauv.)

FANG Xing

(Editing and Publishing Center, Chongqing Normal University, Chongqing 400047, China)

Abstract: In this study, the responses of main nitrogen metabolism indices in leaves of foxtail millet (*Setaria italica* (L.) Beauv.) were investigated by fertilizing the plants at two different nitrogen supply levels (1, 88, 15 mmol · L⁻¹) from the beginning of jointing stage and stressing them at an enhanced UV-B radiation treatment (24.7 μ W · cm⁻²) from heading stage to grouting stage. The results showed that: 1) at the beginning of heading stage, free amino acid content and glutamine synthase (GS) activity were no significantly affected by nitrogen supply level, while nitrate content, glutamate dehydrogenase (GDH) activity and nitrate reductase (NR) activity were significantly increased under the higher nitrogen supply level ($p < 0.05$); 2) at the end of grouting stage, nitrate content and NR activity were no significantly affected by nitrogen supply level and enhanced UV-B radiation, whereas GS activity and GDH activity were significantly increased under the higher nitrogen supply level and enhanced UV-B radiation treatment ($p < 0.05$). The study indicated that the higher nitrogen supply level could improve nitrogen metabolism level in leaves of foxtail millet under enhanced UV-B radiation treatment in the main breed stage.

Key words: enhanced UV-B radiation; nitrogen; *Setaria italica* (L.) Beauv.; glutamine synthase; glutamate dehydrogenase; nitrate reductase

(责任编辑 黄 颖)