

小麦灌浆过程中硝酸还原酶活性 与籽粒蛋白质的积累^①

孙宝启^② 李玉京
(种子科学系)

Nitrate Reductase Activity and Grain Protein Accumulation in Wheat

Sun Baoqi Li Yujing
(Dept. of Seed Science)

植物氮素(N)营养的生理生化及遗传调控研究是培育高产、优质作物品种的理论基础之一。 NO_3^- 是植物吸收N的主要形式;硝酸还原酶(NR)是 NO_3^- 同化过程中的第一个关键酶。因此自50年代被发现以来,许多学者对硝酸还原酶活性(NRA)与N吸收、同化、分配、积累、转移和再分配间的关系作过研究,并试图以NRA作为育种工作中改良N吸收、利用和转移效率的选择指标(孙宝启和李玉京,1993)。NRA与作物产量和品质性状的关系倍受有关学者的重视,但研究结果却相互矛盾。Deckard和Busch(1978)的研究表明,无论通过何种分析与选择方法,以NRA作为选择指标不可能从低产家系中分离出高产家系;离体和活体NRA与籽粒产量和籽粒蛋白质含量的相关均不显著;田间试验条件下,NRA与小麦籽粒蛋白质含量及还原N的积累能力相关不密切。然而,Duffield等(1972)的报道却与此相反,小麦NRA与籽粒蛋白质含量的表型相关显著,NRA的遗传力估计随取样时间而异,最高达71.7%,高于籽粒蛋白质含量和茎叶含N量的遗传力,因此可以将NRA作为小麦育种中蛋白质含量高和N利用效率高的基因型的间接选择指标。朱德群等(1991)认为,开花后旗叶NRA及叶N量维持较高水平且衰退慢的基因型,其N分配到籽粒的效率较高。

本实验旨在研究小麦灌浆过程中NRA与籽粒蛋白质积累的关系,以期NRA能否作为小麦育种中的间接选择指标提供参考。

实验材料为普通小麦品种京117、北京837、北京437、中麦86品6、农大85021。材料种植于中国农业大学科学园。随机区组设计,6行区,行长2m,点播,3次重复。选取花期一致、形态相近的主茎挂牌,标明开花日期。

1) 灌浆过程中旗叶组织中NRA的变化:从花后第5天开始取样,每5d取一次,至花
(下转第30页)

收稿日期: 1997-04-14

①霍英东教育基金会资助项目。

②孙宝启,北京海淀区圆明园西路2号中国农业大学(西校区),100094

(上接第20页)

后30 d止。取旗叶置于冰盒中,立即转入4℃冰箱。叶片先用自来水冲洗,再用去离子水冲洗。用刀片将叶片中段切成0.5 cm左右的小段,混匀。称取0.5 g叶段于三角瓶中,加入 KNO_3^- 10 ml 0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH7.5),以无 KNO_3^- 的磷酸缓冲液(pH7.5)为对照,摇匀,用真空泵抽气10 min,其间放气两次。再置于30℃恒温箱,保温30 min,摇匀,取出1 mL溶液加入试管,并分别加2 mL 1%(W/V)磺胺,2 mL 0.2%(W/V) α -萘胺,摇匀,30℃保温30 min。然后将试管置于冰水中,迅速以722型分光光度计测540 nm下的光吸收。NRA的单位为 $\text{NO}_2^- \mu\text{mol} \cdot (30 \text{ min})^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ (鲜重)。

在灌浆过程中NRA逐渐下降。花后5 d时,不同品种的NRA在 NO_2^- 620~830 $\mu\text{mol} \cdot (30 \text{ min})^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ (鲜重)之间,到花后30 d时降至200~450 $\mu\text{mol} \cdot (30 \text{ min})^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ 鲜重之间,但不同品种下降幅度有差别,其中以农大85021下降幅度最大,北京437下降幅度最小。

2)籽粒蛋白质积累量:从花后第5天开始取样,每5 d取一次,至成熟期止,测定籽粒干重(在90℃烘箱中烘24 h)。用半微量凯氏法测定籽粒含N量。籽粒蛋白质含量(%)=N% \times 5.7,籽粒蛋白质积累量=籽粒干重 \times 蛋白质含量(%)。籽粒蛋白质积累量的变化以Logistic方程 $Y=K/(1+ae^{-bx})$ 拟合,其中Y为籽粒蛋白质积累量,x为开花后天数,e为自然对数的底数。当用Logistic方程拟合籽粒蛋白质积累曲线时,拟合度 $R^2>0.99$ 。表明拟合状况良好。籽粒蛋白质积累曲线呈“S”形的“慢-快-慢”规律性变化。

京117、北京837、北京437和中麦86品6的籽粒蛋白质积累平均速率($\mu\text{g} \cdot \text{粒}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)依次为2.24,1.76,2.08和2.25;籽粒最终蛋白质积累量($\text{mg} \cdot \text{粒}^{-1}$)依次为5.20,4.44,4.38和4.45。在本实验中,灌浆过程中籽粒蛋白质含量随粒重增加而降低,直到灌浆后期才趋于稳定。Johnson(1967)报道籽粒蛋白质含量在籽粒发育中呈上升趋势,整个灌浆过程中籽粒N积累速率总是相对高于碳水化合物积累速率。另有报道说小麦灌浆过程中籽粒蛋白质含量呈“U”形变化,即初期含量高,灌浆高峰期则含量下降,后期含量又升高,这是因为初期与后期蛋白质积累速率相对较高,而灌浆高峰期则碳水化合物积累速率相对较高。实验结果的不同,可能是由于实验材料、环境条件等的影响,尚有待于进一步研究。

3)灌浆过程中NRA与籽粒蛋白质积累参数的表型相关:灌浆过程中的各个时期旗叶组织中NRA与籽粒蛋白质积累的最大速率、平均速率以及与籽粒最终蛋白质积累量的相关系数介于-0.5592~0.5829之间,且在统计上均达不到显著水平,这表明 NO_3^- 还原与还原后的N向籽粒中转移这两个过程相关不很密切。因此,很难用籽粒灌浆过程中旗叶NRA来预测籽粒中蛋白质的积累及N由茎叶向籽粒中的转移状况。