

铁对玉米体内氮代谢的影响^①

邹春琴^② 张福锁 毛达如
(植物营养系)

摘要 本文用营养液培养方法研究了铁对玉米体内氮代谢的影响。结果表明,铁对玉米体内氮代谢有较大的影响。在尚未对植株生物量产生明显影响的条件下,供铁已显著提高了玉米新叶中全铁和全氮含量,并显著提高了玉米新叶的叶绿素含量。进一步的研究结果表明,缺铁抑制了蛋白质的合成,缺铁条件下,玉米新叶中蛋白质含量下降,而游离氨基酸大量累积,并导致了硝酸还原酶的活性下降。

关键词 铁供应; 氮代谢; 玉米

中图分类号 S143

Effect of Iron Supply on Nitrogen Metabolism of Corn

Zou Chunqin Zhang Fusuo Mao Daru
(Department of Plant Nutrition)

Abstract The effect of iron on nitrogen metabolism was observed with corn plants (Huang 417) growing in nutrient solution under the controlled condition. The results showed that Fe supply had mainly effect on nitrogen metabolism of corn plants, which improved total Fe, total N and chlorophyll content in young leaves other than old leaves, and at this time, even no apparent influence on the biomass of plants. Further study indicated that Fe deficiency inhibited the protein synthesis in young leaves of corn plants, and then, led to the decrease of protein content, NRase activity and more accumulation of amino acid.

Key words iron supply; nitrogen metabolism; corn

氮素进入植物体后,首先合成氨基酸,再进一步合成蛋白质,这一过程受多种因素的影响,其中,氮素本身的形态和供应状况是最重要的因素之一^[1],它直接决定氮素的吸收、同化部位和同化速率;其次是植物的生长状况以及植物本身的特性,不同植物对两种形态氮素的喜好不同;其它营养元素的供应状况也明显影响植物的氮代谢过程,如植物铁的营养状况会显著影响到植物氮代谢产物的形成,目前有关这方面的研究还比较少。

众所周知,铁是叶绿素合成所必需的营养元素之一,参与光合电子的传递,因此铁对植物的光合作用有非常直接的影响^[2]。近年来的研究表明,铁直接参与了蛋白质的合成。缺铁

收稿日期: 1997-03-24

①本研究得到国家攀登计划和自然科学基金的资助。

②邹春琴,北京圆明园西路2号中国农业大学(西校区),100094

时,植物体内蛋白质含量下降,硝酸盐、氨基酸和酰胺明显累积,其中叶绿体蛋白质含量受铁的影响最大。缺铁时叶绿体中的蛋白质和膜蛋白含量均降低^[3~5]。也有资料报道,铁的供应明显影响了体内硝酸盐的还原,这主要是因为对于大多数植物而言,硝态氮主要在地上部还原,含铁的细胞色素 b 参与了这一还原过程。本文比较系统地研究了铁对玉米体内氮代谢的影响,目的在于更进一步探讨铁在体内的移动及其对新生组织铁营养状况的影响。

1 材料与方法

1.1 植物的培养与试验处理

供试植物为玉米(*Zea mays* L. 品种为“黄 417”)。种子经消毒后在饱和 CaSO_4 溶液中浸泡半小时,催芽后在石英砂中发芽,4 d 后,挑选生长一致的幼苗,用蒸馏水洗净,移至 pH6.5 的营养液中,营养液的组分如下(mol/L): K_2SO_4 7.5×10^{-4} ; MgSO_4 6.5×10^{-4} ; KCl 2.0×10^{-3} ; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 2.0×10^{-3} ; KH_2PO_4 1.0×10^{-3} ; H_3BO_3 1.0×10^{-6} ; MnSO_4 1.0×10^{-6} ; CuSO_4 1.0×10^{-7} ; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ 5.0×10^{-9} ; ZnSO_4 1.0×10^{-6} ; FeEDTA 1.0×10^{-4} 。在体积为 1 L 的营养液中培养 5 株苗,每两天换营养液一次,光照时间为 12 h/d,光照强度为 $250 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。玉米生长至两叶一心时进行不供铁(-Fe)和供铁(+Fe)处理。处理后每天换营养液一次,植株生长至四叶一心时收获。

1.2 测定方法

1.2.1 可溶性蛋白质含量的测定^[6,7] 采用考马斯亮兰 G-250 法,鲜样用 pH7.0 缓冲液浸提,以牛血清(BAS)制作标准曲线,求得样品中蛋白质含量。

1.2.2 游离氨基酸含量的测定^[8] 鲜样用 10% 乙酸匀浆、水合茚三酮试剂(0.1% VC)在沸水中浸提,570 nm 比色。用亮氨酸作标准曲线。该法测得的游离氨基酸不包括脯氨酸。

1.2.3 游离脯氨酸含量的测定^[8] 鲜样用 3% 磺基水杨酸在沸水中浸提,加茚三酮试剂(2.5%)后,在沸水中反应 1 h、甲苯萃取、520 nm 比色。用脯氨酸作标准曲线,求得样品中游离脯氨酸的含量。

1.2.4 硝酸还原酶活性的测定^[9,10] 叶片洗净后去掉主脉和叶缘,切成 0.5 cm^2 大小的碎片,称 0.5 g 并加 10 mL 的缓冲液(pH 7.4),反复抽真空后,置于 25℃ 黑暗中反应 30 min。中止反应后取 2 mL 反应液,加 4 mL 对氨基苯磺酸(1%)、4 mL α -萘胺(0.2%),在室温下反应 15 min 后,在 540 nm 下比色。同时作对照。用 NaNO_2 作标准曲线。

1.2.5 全铁含量的测定 植物干样经 550℃ 干灰化,用 6 mol/L HNO_3 溶解后,在 PERKIN-ELMER 2100 原子吸收分光光度计上测定铁的含量。

1.2.6 叶绿素含量 去除叶片中脉取鲜样,丙酮浸提,用分光光度计测定叶绿素含量。

1.2.7 全氮含量的测定 用 H_2SO_4 - H_2O_2 快速消煮、开氏蒸馏法测定氮的含量。

2 试验结果

2.1 铁对玉米生长的影响

在本试验条件下,由于玉米在进行缺铁处理时,体内已累积一定量的铁,因此不同铁处理未对玉米植株的生物量造成影响。但是,试验表明,供铁玉米新叶叶色已有明显差异,缺铁时,玉米新叶出现明显黄化现象,而供铁玉米不出现黄化现象。对新叶叶绿素含量的测定结

果表明,缺铁处理玉米新叶叶绿素含量比供铁处理低28%,新叶叶绿素含量的降低将会对光合产物的合成产生较大的影响(表1)。

2.2 铁对玉米叶片中铁、氮含量的影响

虽然在进行缺铁处理前玉米体内已累积了一定量的铁,但缺铁处理10 d后,玉米叶片中铁的含量有了明显的差异。铁的供应使新叶中全铁的含量增加了39%左右,但老叶中全铁含量却没有明显的变化(表1),这表明新生组织的铁营养状况明显受到外界铁供应的影响。铁的供应不仅对玉米新叶中铁的含量有明显的影响,而且氮的含量也有较大的变化(表1)。这是因为在铁供应充足的条件下,新生组织的光合作用得以正常进行,一方面可给根系吸收氮提供能量。另一方面,旺盛生长的组织也需要大量的氮素供应。试验结果表明,在供铁条件下,玉米新叶中氮的含量较缺铁玉米新叶提高了28%左右,老叶中氮的含量呈同步增加的趋势,这主要是因为氮的移动性很大,在新生组织中氮供应不足情况下,它会迅速从老叶转移到新叶中。而且,有资料表明,许多植物的光合速率与叶片中氮的浓度有很好的相关性^[11]。上述结果表明,铁的供应对玉米的生长有明显的影响,而且显著影响到玉米植株对铁和氮的吸收。植株的铁、氮营养状况受到影响时,必然会进一步影响到植株的氮代谢过程。

2.3 铁对玉米氮代谢的影响

图1是不同供铁状况下玉米新叶和根中硝酸还原酶的活性(单位: $\text{NO}_2^- \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \text{FW}$)。结果表明,在缺铁条件下,玉米新叶和根中硝酸还原酶的活性都明显降低,新叶中硝酸还原酶的活性只有供铁时的19%,根中硝酸还原酶的活性也只有供铁时的64%,这表明铁的供应对植株体内硝酸还原酶的活性有很大的影响。硝态氮被根吸收后,一部分在根中同化形成氨基酸后再向上运输;另一部分运输到地上部分后在叶片中同化,这主要取决于植物本身的特性,玉米属C4植物,绝大部分吸收的硝态氮都被运到地上部还原,只有少部分在根中还原。图2是铁对玉米叶片中游离氨基酸(包括脯氨酸)含量(单位:氨基态氮 $\text{mg}/100\text{gFW}$)的影响。

结果表明,缺铁玉米黄化新叶中游离氨基酸的含量很高,大约是供铁处理的2.7倍,而铁的供应对老叶中游离氨基酸的含量却没有明显的影响。从图1和图2的结果可明显看出,

表1 铁对玉米生物量、铁、氮和叶绿素含量的影响

测试项目	器官	不供铁	供铁
生物量(鲜重)/ $\text{g} \cdot \text{plant}^{-1}$	地上部	1.13a [*]	1.15a
叶绿素含量(FW)/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	新叶	1.21b	1.55a
全铁含量(DW)/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	新叶	52.9b	73.5a
	老叶	101.8a	93.9a
全氮含量/%	新叶	3.32b	4.27a
	老叶	3.45b	4.33a

注:a、b等表示处理间差异的显著性, $p=0.05$,邓肯法(下同)。

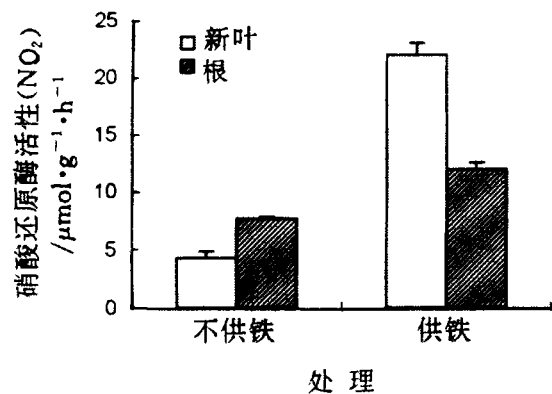


图1 铁对玉米叶片中硝酸还原酶活性的影响

结果表明,缺铁玉米黄化新叶中游离氨基酸的含量很高,大约是供铁处理的2.7倍,而铁的供应对老叶中游离氨基酸的含量却没有明显的影响。从图1和图2的结果可明显看出,

玉米新叶中 NRase 的活性与游离氨基酸的含量间有显著的负相关,回归方程为: $y(\text{游离氨基酸含量}) = 60.05 - 1.89x(\text{NRase 活性})$, 相关系数 $r = 0.941^{**}$ 。也就是说当玉米植株叶片中有大量氨基酸累积时, NRase 的活性受到抑制, 植物体内的氮代谢过程就不能正常进行, 当然进一步会影响到蛋白质的合成。在植物体内, 氨基酸接受三羧酸循环(TCA)的中间产物, 在蛋白合成酶的作用下, 进一步合成蛋白质。图 3 表明铁的供应使玉米新叶中水溶性蛋白质含量(单位: mg/gFW)提高了 24%, 可见, 铁在蛋白质合成中有重要的地位, 它的供应状况显著影响到蛋白质的合成, 且主要是通过影响光合作用产物的形成, 来限制蛋白质合成所需要的碳水化合物和能量的供应。虽然铁的供应对老叶的铁营养状况没有明显的影响, 但却使老叶中水溶性蛋白质的含量增加了 23% 左右, 这可能在缺铁条件下, 老叶中的铁向新生组织中转移的比例明显加大, 而且氮的含量也较低, 所以光合作用的基质缺乏, 不能满足蛋白质合成所需的能量和物质供应。

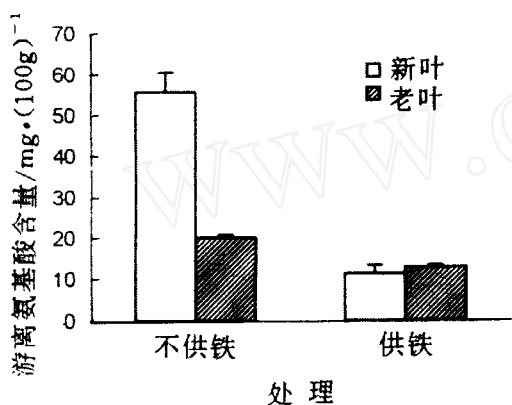


图 2 铁对玉米叶片中游离氨基酸含量的影响

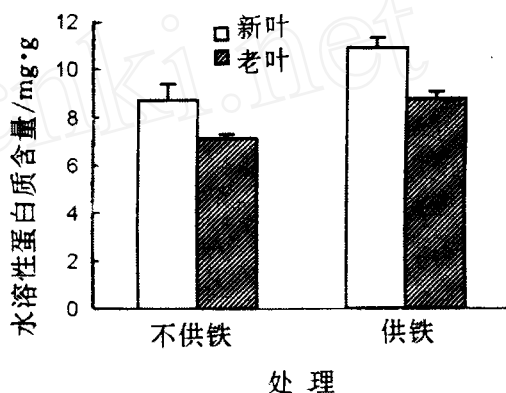


图 3 铁对玉米叶片中水溶性蛋白质含量的影响

从图 2 和图 3 的结果来看, 缺铁玉米新叶游离氨基酸的含量最高, 而水溶性蛋白质含量最低, 这主要是因为蛋白质的合成受到抑制, 其分解速度加快而造成叶片中大量氨基酸的累积。

3 讨论

硝酸还原酶是植物氮代谢的关键酶, 它有较强的 K_m 值, 是氮素同化的一个限速因子, 直接影响到蛋白质的合成。同时, 硝酸还原酶本身也是蛋白质, 其活性主要靠酶蛋白的不断合成来维持^[12], 所以, 叶片中硝酸还原酶活性的强弱在一定程度上反映了蛋白质的合成和氮代谢活性。已有资料表明, 植物叶片中有 63% 的铁与铁蛋白有关, 同时铁也是硝酸还原酶和亚硝酸还原酶的组成成分^[13]。本试验结果表明, 在铁胁迫条件下, 硝酸还原酶的活性显著降低, 水溶性蛋白质的含量也大幅度降低, 而游离氨基酸却大量积累; 当供铁时, 玉米新叶中硝酸还原酶的活性和水溶性蛋白质的含量都明显增加, 而游离氨基酸含量则较大幅度地减少(图 1~3), 这表明, 铁在植物体内积极参与了氮代谢的一系列过程, 在氮代谢中有极其重

要的地位。氨基酸是氮素的最初同化产物,它对硝酸还原酶的合成有明显的负效应^[15,16],并会进一步影响体内蛋白质的正常合成。本试验结果表明,在缺铁条件下,叶绿素合成受阻,叶绿素含量明显减少,叶片光合作用能力下降,光合产物降低,蛋白质合成所需要的碳架缺乏,蛋白质合成受到明显抑制,这就导致了缺铁玉米新叶中游离氨基酸的大量累积和蛋白质含量的明显下降,这与 Possington 的试验结果一致^[17]。同时,大量游离氨基酸的累积又会明显降低体内硝酸还原酶的活性,从而形成一种恶性循环。由此可见,铁在植物的氮代谢过程中具有举足轻重的地位,它不但是硝酸还原酶和亚硝酸还原酶的组成成分,积极参与氮的同化代谢,而且也是蛋白质合成的重要限制因子,它通过改善植物的营养状况,提高叶片的光合强度,保证了蛋白质合成所需物质和能量的供给来进一步控制蛋白质的合成。

参 考 文 献

- 1 Terry N, Roo I M. Nutrients and photosynthesis: iron and phosphorus as case studies. In: Plant Growth: Interactions with Nutrition and Environment, eds. Porter J R, Lawlor D W. Society for Experimental biology, Seminar Series. Cambridge University Press, 1991;43:55~79
- 2 Guikema J A, Sherman L A. Influence of iron deprivation on the membrane composition of anacystis nidulans. Plant Physiol. 1984, 74: 90~95
- 3 Nishio J N, Scott Taylor E, Terry N. Changes in thylakoid galactolipids and proteins during iron nutrition-mediated chloroplast development. Plant Physiol. 1985a,77:705~711
- 4 Nishio J N, Abadia J, Terry N. Chlorophyll—proteins and electron transport during iron nutrition-mediated chloroplast development. Plant Physiol. , 1985b, 78:296~299
- 5 Terry N, Abadia J. Function of iron in chloroplasts. J Plant Nutr, 1986, 9(3-7):609~646
- 6 Read S M, Northcote D H. Minimization of variation in response to different proteins of the Coomassie Blue G dye-binding assay for protein. Anal. Biochem, 1981, 116:53~64
- 7 张志良主编. 植物生理学实验指导. 北京:高等教育出版社(第二版), 1990
- 8 张殿忠, 汪沛洪, 赵会贤. 测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法. 植物生理学通讯, 1990, 4:62~65
- 9 陈薇, 张德颐. 植物组织中硝酸还原酶的提取、测定和纯化. 植物生理学通讯, 1980, 4:45~49
- 10 林振武, 孙惠珍, 陈敬详. 硝酸还原酶活力的体外测定. 植物生理学通讯. 1985, 3:33~35
- 11 Field C, Mooney H A. The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants. In: On the Elouomy of Plant Form and Function. ed. Gionish T J, Cambridge University Press. 1986. 25~55
- 12 Morilla G A, Boyer J S, Hageman R H. Nitrate reductase activity and polyribosomal content of corn (*Zea mays L.*) having low leaf waterpotential. Plant Physiol, 1973, 51: 817~824
- 13 Hewitt E J. Essential and functional metals in plants. In: Metals and Micronutrients Uptake and Utilization by Plants, eds. Robb D A, Pierpoint W S, New York, Academic Press, 1983, 277~323
- 14 Akoyounglou G Agyroudi-Akoyounglou J H, eds. Chloroplast Development. Isevier/North—Holland Biomedical Press Amsterdam, 1978
- 15 Filner P. Regulation of nitrate reductase in cultured tobacco cells. Biochem Biophys Acta, 1966, 118: 299~310
- 16 Guerrero M G, Veg J, Losada M. The assimilatory nitrate-reducing system and its regulation. Annu. Rev. Plant Physiol, 1981, 32:160~204
- 17 Possington J V. The effect of mineral nutrition on the content of free amino acids and amides in tomato plants: I. A comparison of effect of deficiencies of copper, zinc, manganese, iron and molybdenum. Austr. J Biol Sci, 1956, 9: 539~551