植物营养与肥料学报 2001,7(2):218～222
Plant Nutrition and Fertilizer Science

缺镁胁迫对龙眼苗期氮代谢的影响

李　延[1]，刘星辉[2]，庄卫民[1]
(1 福建农业大学土地与环境学系，福建福州 350002；2 福建农业大学园艺系，福建福州 350002)

摘要：采用溶液培养方法研究了缺镁胁迫对龙眼苗期氮代谢的影响。结果表明，缺镁胁迫下，龙眼叶片硝酸还原酶(NR)活性下降，游离氨基酸总量增加，水解氨基酸总量减少，蛋白质合成受阻而分解加剧；核酸酶(RNase)活性提高，核糖核酸(RNA)、脱氧核糖核酸(DNA)含量降低，缺镁对 RNA 的影响比 DNA 大；活性氧 ($O_2^{\cdot-}$)净产生速率增加。统计分析表明，缺镁胁迫下，龙眼核酸和蛋白质含量下降是其合成受阻、分解加剧以及活性氧毒害综合作用的结果。

关键词：龙眼；缺镁；氮代谢
中图分类号：S667.2；Q591　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1008-505X(2001)02-0218-05

镁是植物生长的必需元素，与其他元素相比较，有关镁对植物氮代谢影响的研究较少。缺镁胁迫下植物蛋白质和核酸含量降低的机制尚不完全清楚[1]。龙眼是我国著名的亚热带名优特产果树，缺镁是龙眼生产中普遍存在的问题[2,3]。缺镁导致龙眼叶片黄化，严重时叶片大量脱落，树势衰竭。迄今为止，有关缺镁胁迫对龙眼氮代谢影响的研究未见报道，开展这方面的研究可为龙眼合理施用镁肥提供依据。

1　材料与方法

1.1　试验设计

溶液培养试验于 1996～1997 年在福建农业大学进行。供试龙眼(*Dimocarpus Longana* Lour.)品种为乌龙岭。种子经洗净后播种于干净的河沙中，以去离子水培养 180d 后选择生长一致的幼苗供培养用。试验在以往研究的基础上[3]，设正常供镁(4mmol/L Mg^{2+}，CK)，低镁(0.4mmol/L Mg^{2+}，Mg_1)和缺镁(Mg_2)3 个处理。营养液镁源为 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$，Mg_1 和 Mg_2 处理通过添加 Na_2SO_4，使处理间 SO_4^{2-} 浓度保持一致。营养液体积 6L，每塑料桶种植 2 株，10 次重复，营养液 pH 6.0±0.1，培养期间每天定时用小型气泵打气，每 2d 调节 1 次 pH，每 7d 更换 1 次营养液。于幼苗移栽后 120～150d 取不同处理相同叶位的叶片(去除叶脉)进行测定，5 次重复。

1.2　分析测定方法

硝酸还原酶(NR)活性：按朱广廉等的方法测定[4]；蛋白质氮和非蛋白质氮含量测定：参照山东农学院等的方法[5]。

游离氨基酸和氨基酸总量测定：游离氨基酸用 70% 乙醇 100℃ 回流浸提 4 次，浸提液在沸水浴中蒸干除去乙醇，乙醚脱色，沸水浴蒸干，残渣用 0.1mol/L 的柠檬酸缓冲液(pH2.2)溶解，过滤后用日立 835-50 型氨基酸自动分析仪测定。氨基酸总量用 6mol/L HCl 水解过滤后真空干燥，残渣用 0.1mol/L 的柠檬酸

收稿日期：2001-01-11
基金项目：国家自然科学基金(49771053)；福建省自然科学基金(F99020)；福建省高校测试基金(JC990062)资助。
作者简介：李延(1964—)，男，福建南安市人，博士，副教授，主要从事果树高产、优质的理论研究。

缓冲液(pH 2.2)溶解，日立 835-50 型氨基酸自动分析仪测定。

核酸含量的测定：参照朱广廉等的方法[4]。用紫外吸收光度法测核酸总量；二苯胺法测脱氧核糖核酸(DNA)含量，二者之差即为核糖核酸(RNA)含量。

蛋白酶活性测定：根据 Kar 等的方法略加修改[6]。用 1mL 酶提取液加 2mL 反应液(含 1.5mL 50mmol/L pH 6.0 柠檬酸缓冲液，0.5mL 新配制的 2% 的牛血清蛋白)在 40℃ 下混合培养 2h，加入 2mL10% TCA 终止反应，4℃ 过夜，12000g 离心 10min。吸取 0.2mL 上清液加 1mL 无氨蒸馏水，0.1mL 0.1%抗坏血酸及 3mL 水合茚三酮试剂[7]，加塞，在沸水浴中反应 15min，冰水冷却，在 570nm 处测 OD_{570} 值。

核酸酶(RNase) 活性：按颜秋生等的方法测定[8]，以 0.1mol/L 醋酸缓冲液代替 RNA 作空白校正。

活性氧($O_2^{\cdot-}$)净产生速率的测定：3g 新鲜叶片用 10mL 65mmol/L 的磷酸缓冲液(含 1% PVP，pH 7.8)研磨，4 层纱布过滤，滤液经 4000g 离心 20min。取 1mL 上清液按王爱国等[9]的方法测定 $O_2^{\cdot-}$ 净产生速率。以 NO_2^- 作标准曲线，根据 NO_2^- 浓度换算成 $O_2^{\cdot-}$ 净生产速率。

2　结果与分析

2.1　NR 活性

NR 是氮素代谢的限速酶。缺镁胁迫下，龙眼叶片的 NR 活性下降，CK、Mg_1、Mg_2 分别

表 1　缺镁胁迫对龙眼叶片各种游离氨基酸和水解氨基酸含量的影响(mg/100g，FW)

Table 1 Effect of Mg deficiency on the contents of free amino acids and hydrolytic amino acids in longan leaves

氨基酸 Amino acids	游离氨基酸 Free amino acids		水解氨基酸 Hydrolytic amino acids	
	CK	Mg_2	CK	Mg_2
天门冬氨酸 Asp	59.93	66.43	727.40	562.61
苏氨酸 Thr	21.67	31.39	322.09	210.54
丝氨酸 Ser	34.90	41.66	357.65	287.66
谷氨酸 Glu	76.05	95.42	1208.57	852.25
脯氨酸 Pro	5.77	4.84	168.23	131.03
甘氨酸 Gly	0.93	1.98	372.25	270.49
丙氨酸 Ala	16.42	13.56	419.00	286.81
胱氨酸 Cys	2.64	2.84	33.73	372.31
缬氨酸 Val	3.32	3.49	342.31	259.52
蛋氨酸 Met	7.12	9.41	29.08	26.65
异亮氨酸 Ile	2.79	2.34	293.57	209.58
亮氨酸 Leu	2.86	3.39	616.51	406.90
酪氨酸 Tyr	1.12	2.09	226.97	147.34
苯丙氨酸 Phe	2.86	3.16	354.63	242.15
赖氨酸 Lys	2.21	2.43	519.92	384.79
组氨酸 His	7.45	5.09	172.25	128.50
精氨酸 Arg	46.45	66.84	442.55	669.02
总量 Total	294.49	356.36	6606.71	5113.07

数据为 2 次测定结果的平均值。Data is average value of 2 replications.

为2.1、1.93、1.44 NO_2^- $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$,DW。$Mg_2$ 和 Mg_1 比 CK 分别下降了 46.7% 和 28.5% ,差异分别达极显著和显著水平。

2.2 氨基酸含量

表1表明,缺镁胁迫条件下,龙眼叶片游离氨基酸总量明显提高,Mg_2 处理较 CK 处理提高 21.0%,其中明显增加的游离氨基酸种类有甘氨酸、酪氨酸、蛋氨酸、精氨酸、谷氨酸和苏氨酸。与游离氨基酸不同,缺镁龙眼叶片水解氨基酸总量降低(表1),Mg_2 处理较 CK 处理下降了 22.61%。缺镁叶片增加的水解氨基酸为精氨酸和胱氨酸,蛋氨酸差异不大,其余种类的水解氨基酸均明显降低。

2.3 蛋白质含量

缺镁导致游离氨基酸积累、水解氨基酸含量下降与蛋白质合成受阻有关。表2可见,缺镁时,龙眼叶片的蛋白态氮含量下降,非蛋白态氮含量提高,蛋白态氮占总氮的比例降低,并且这种影响在缺镁后期表现更为明显。

表2 缺镁对龙眼叶片蛋白氮和非蛋白氮含量的影响

Table 2 Effect of Mg deficiency on contents of protein N and non-protein N in loggan leaves

处理	120 DAT			150 DAT		
Treat.	PN(%)	NPN	PN/NPN	PN(%)	NPN	PN/NPN
Mg_2	1.67±0.161b	0.833±0.103a	0.667	1.39±0.096cB	0.987±0.086aA	0.583
Mg_1	2.08±0.135a	0.771±0.035a	0.730	1.61±0.141bAB	0.754±0.014bAB	0.681
CK	2.24±0.208a	0.672±0.065b	0.769	2.07±0.107aA	0.583±0.059cB	0.741

注:PN 为蛋白氮(protein N);NPN 为非蛋白氮(non-protein N);DAT:移栽后天数(Days after transplant)。

试验结果还看出,缺镁条件下,龙眼叶片蛋白酶活性明显提高(图1)。统计分析表明,蛋白态氮含量与蛋白酶活性之间呈极显著负相关($r=-0.91^{**}$;$y=1.613-0.478x$)。

表3 缺镁对龙眼叶片核酸含量的影响

Table 3 Effect of Mg deficiency on nucleic acid content of longan leaves

项目	120DAT		150DAT	
Item	RNA	DNA	RNA	DNA
CK	5.133±0.210	0.571±0.114	3.625±0.160	0.481±0.086
Mg_1	4.276±0.190	0.542±0.095	3.004±0.120	0.443±0.087
Mg_2	3.341±0.240	0.407±0.120	2.284±0.320	0.378±0.090

DAT:移栽后天数(Days after transplant)。

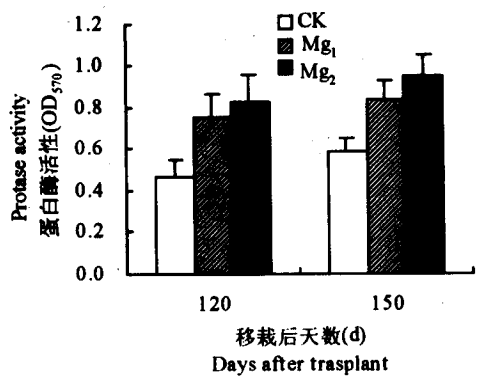

图1 缺镁对龙眼叶片蛋白酶活性的影响

Fig. 1 Effect of Mg deficiency on protease activity of longan leaves

2.4 核酸含量

缺镁时,龙眼叶片 RNA 和 DNA 的含量降低(表3),移栽后5个月,Mg_2、Mg_1 处理的 RNA 和 DNA 含量分别较 CK 处理下降了 36.9%,21.4% 和 17.1%,7.9%,即缺镁对 RNA

的影响比 DNA 大。

核酸酸酶(RNase)是 RNA 分解代谢中起重要作用的水解酶。图 2 表明，缺镁龙眼叶片 RNase 活性提高。统计分析表明，RNA 含量与 RNase 活性之间呈显著负相关($r=-0.85^*$；$y=6.149-0.670x$)，而与蛋白质含量之间呈极显著正相关($r=0.93^{**}$，$y=0.698+0.316x$)。

2.5　$O_2^{\cdot-}$ 净产生速率

图 3 表明，缺镁胁迫下叶片 $O_2^{\cdot-}$ 净产生速率显著增加，与 CK 处理相比较，移栽后 5 个月时，Mg_2 和 Mg_1 的 $O_2^{\cdot-}$ 净产生速率分别提高了 258.58% 和 153.15% 。

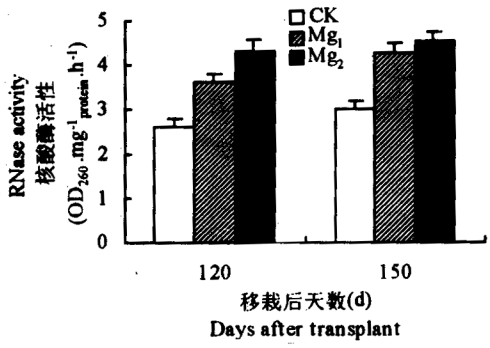

图 2　缺镁胁迫对龙眼叶片 RNase 活性的影响

Fig. 2 Effect of Mg deficiency on RNase activity in longan leaves

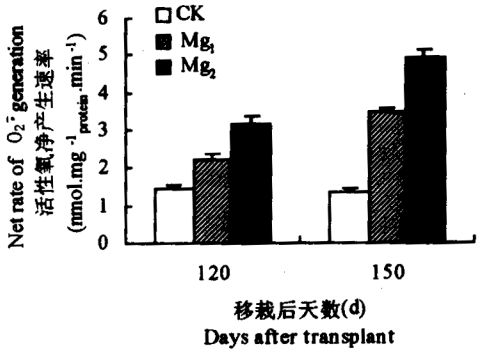

图 3　缺镁对龙眼叶片 $O_2^{\cdot-}$ 净产生速率的影响

Fig. 4 Effect of Mg deficiency on the net rate of $O_2^{\cdot-}$ generation of longan leaves

3　讨论

缺镁胁迫下，龙眼氮代谢紊乱，主要表现为 NR 活性下降，游离氨基酸总量增加，水解氨基酸总量减少(表 1)，蛋白质合成受阻(表 2)而分解加剧(图 1)。缺镁对龙眼核酸代谢也有明显的影响(表 3)，缺镁龙眼叶片 RNA 含量的降幅大于 DNA，表明 RNA 比 DNA 更容易受缺镁胁迫的抑制，缺镁导致 RNase 活性提高(图 2)。统计分析表明，龙眼叶片蛋白质含量与蛋白酶活性之间、RNA 含量与 RNase 活性之间分别呈极显著和显著负相关($r=-0.91^{**}$ 和 -0.85^*)，而蛋白质含量与 RNA 含量之间呈极显著正相关($r=0.93^{**}$)。有研究表明，逆境胁迫不仅抑制 RNA 的产生，也抑制 RNA 的翻译活性[10]，蛋白质和核酸含量下降与活性氧伤害有关[11,12]。本研究结果表明，缺镁胁迫下，龙眼叶片蛋白质含量和 RNA 含量与 $O_2^{\cdot-}$ 净产生速率呈极显著和显著负相关：y (蛋白质含量) $=2.496-0.237x$($O_2^{\cdot-}$ 净产生速率)，$r=-0.96^{**}$；y(RNA 含量) $=5.337-0.620x$($O_2^{\cdot-}$ 净产生速率)，$r=-0.85^*$。$O_2^{\cdot-}$ 是缺镁胁迫植物体内最主要的活性氧[13]，由此可以认为，缺镁胁迫引起核酸和蛋白质含量下降是其合成受阻、分解加剧以及活性氧毒害综合作用的结果。

参考文献:

[1] 李延,刘星辉,庄卫民．植物 Mg 素生理的研究进展[J]. 福建农业大学学报,2000,29(1):74-80.

[2] 张发宝,陈建生,刘国坚．广东龙眼立地土壤基本养分状况分析[J]. 热带亚热带土壤科学, 1998,7(1):31-35.

[3] 李延,张建丽,陈秋玲等．缺镁对龙眼碳、氮代谢若干生理指标的影响[J]. 福建农业学报,1998,13(增刊):49-53.

[4] 朱广廉,钟诲文,张爱琴．植物生理学实验[M]. 北京:北京大学出版社, 1990.245-248.

[5] 山东农学院,西北农学院．植物生理学实验指导[M]. 济南:山东科学技术出版社,1982.206-211.

[6] Kar M, Mishra D. Protease activity during rice leaf senescence[J]. Biologia Plantarum, 1977,19(5):365-369.

[7] 西北农业大学植物生理教研组．植物生理学实验指导[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1986.35-36.

[8] 颜秋生,李向辉．大麦叶肉原生质体培养中核酸酶活性的研究[J]. 植物生理学通讯, 1981,(5):11-12.

[9] 王爱国,罗广华．植物的超氧自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯, 1990,26:55-57.

[10] 张慧, 汪沛洪．渗透胁迫下小麦叶片蛋白质合成与降解的示踪研究[J]. 植物生理学报, 1997,17(4):259-266.

[11] 罗广华, 王爱国, 邵从本,等．高浓度氧对水稻幼苗的伤害与活性氧的防御酶[A]. 中国科学院华南植物研究所集刊(第四集)[C]. 北京:科学出版社,1989.169-176.

[12] 王爱国,叶发辉,罗广华．活性氧对花生叶片大分子量 DNA 的损伤[J]. 植物生理学通讯,1992. (4):260-262.

[13] Cakmak I, Marschner H. Magnesium deficiency enhanced resistance to paraquat toxicity in bean leaves[J]. Plant Cell and Envir., 1992.15:955-960.

Effect of magnesium deficiency on nitrogen metabolism of longan (*Dimocarpus longana* Lour) seedlings

LI Yan[1], LIU Xing-hui[2], ZHUANG Wei-min[1]

(*1 Dept. of Land and Envir. Sci., Fujian Agric. Univ., Fuzhou 350002, China; 2 Dept. of Hort., Fujian Agric. Univ., Fuzhou 350002, China*)

Abstract: The effect of magnesium deficiency on nitrogen metabolism of longan (*Dimocarpus Longana* . Lour) seedlings was studied using solution culture. In leaves with Mg-deficient , the activity of nitrate reductase, the total amount of hydrolytic amino acids decreased, whereas the total amount of free amino acids increased. With the increase in severity of Mg-deficiency, the activities of RNase and protease in leaves increased markedly. As a result, the degradation of RNA and protein were promoted and their contents reduced; the content of DNA, to a less extent than RNA, also declined. Furthermore, the net rate of $O_2^{\cdot-}$ generation increased in Mg-deficiency leaves. Statistics analysis showed that the decrease of nucleic acid and protein in Mg-deficient longan leaves were the comprehensive results of synthesis retardation, degradation aggravation and active oxygen stress.

Key words: longan (*Dimocarpus Longana* Lour); magnesium deficiency; nitrogen metabolism.