

开花后小黑麦旗叶氮代谢与籽粒蛋白质形成的品种间差异

王丽华, 曹鑫波, 左师宇, 魏湜, 李晶*

东北农业大学农学院, 哈尔滨150030

摘要: 为了解不同类型小黑麦(*×Triticosecale*)氮代谢及籽粒蛋白质形成的差异, 本文以加工型品种‘东农8809’、饲用型品种‘东农5305’和粮饲兼用型品种‘东农96026’为材料, 采用随机区组设计, 探究3个类型小黑麦品种氮同化、氮素积累及转运、蛋白质积累特性的变化。结果表明, 加工型品种‘东农8809’花后氮素同化量高而氮素转运量低, 籽粒蛋白质主要来源于花后植株的同化吸收; 饲用型品种‘东农5305’硝酸还原酶(NR)和谷氨酰胺合成酶(GS)活性高, 旗叶可溶性蛋白含量和游离氨基酸含量较高, 对氮的贮存能力高, 利于生育后期向籽粒转运; 粮饲兼用型品种‘东农96026’的NR和GS活性较低, 且生育后期GS降幅大, 氮同化能力较低, 氮素转运量和氮转运效率小, 氮素转运能力弱。

关键词: 小黑麦; 氮同化; 氮转运; 籽粒蛋白质

小黑麦(*×Triticosecale*)是小麦(*Triticum*)和黑麦(*Secale*)经属间有性杂交和杂种染色体加倍而人工形成的新物种, 具有耐旱、耐盐、耐贫瘠、抗逆性强、适应性广等特性。不同类型小黑麦表现出不同特性, 其中加工型小黑麦主要用于酿酒; 饲用型小黑麦表现出产草量大、营养均衡丰富、饲喂牲畜效果好的特性, 已在某些地区成为越冬主要饲料作物; 粮饲兼用型介于粮用型和饲用型之间, 通常籽粒可以食用, 秸秆作为饲料。

作物籽粒蛋白质的形成依赖于对氮素的吸收、同化、转运和再利用。韩胜芳等(2007)针对小麦研究表明, 品种间氮素吸收及利用差异显著, 半冬性品种小麦氮素同化、转运及供应能力和产量显著高于弱春性品种(王晓航等2016); 氮高效型小麦品种根系对氮吸收和同化能力显著高于氮低效型品种(熊淑萍等2016)。较高的氮素同化关键酶活性可以促进氮代谢, 提高小麦的氮素利用效率。有关小麦氮代谢酶活性与氮效率的关系, 前人已有研究。李春喜等(1995)指出, 小麦抽穗期旗叶硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)活性与籽粒蛋白质含量呈正相关; 小麦叶片NR活性因基因型而异(李春喜等1997); 李晶(2009)研究指出, 谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)活性与齐穗后的植株总氮含量、可溶性蛋白含量、氮转运量等呈显著正相关。GS是处于氮代谢中心的多功能酶, 调节多种氮代谢, 其活性的提高可增强氮代谢运转, 促进氨基酸的合成和转化。熊淑萍等(2013)对冬小麦的研究表明, 不同品种冬小麦GS活性大小

及达到最大值的时期不一样。

籽粒中积累的氮素来源于开花前植株贮藏氮素的再运转和开花后直接吸收同化的氮素, 其中前期营养器官贮存氮素的再分配对籽粒氮素的贡献较大, 有研究表明, 再分配氮占籽粒氮的53.0%~80.5%(张庆江等1997)。籽粒中氮的分配比例在不同品种之间存在差异, 低蛋白品种对前期营养器官储存氮素再分配的依赖性更强, 中蛋白品种次之, 高蛋白品种除依赖于前者外, 还依赖于生育后期植株对氮素的继续同化和吸收(张庆江等1997)。也有研究提出, 品种间蛋白质含量的差异最终来源于开花后吸氮量的差别, 高蛋白品种开花后的吸氮量显著高于低蛋白品种(田纪春等1994)。前人对小麦氮代谢的研究集中在密度处理(姜丽娜等2016)、灌溉处理(戴忠民等2015)、耕作方式(陈梦楠等2015)等方面。小黑麦作为一种新型农作物, 对其栽培调控研究起步较晚, 关于不同特性小黑麦氮代谢及蛋白质形成的机制探讨与小麦相比尚显不足。本研究以3种类型小黑麦品种为试材, 对氮同化、积累及转运特性进行了比较研究, 以便明确不同类型小黑麦籽粒蛋白质形成的特性差异, 为小黑麦育种和栽培提供理论依据。

收稿 2017-11-28 修定 2018-02-13

资助 “十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAD14B06)、国家公益性行业(农业)科研专项(200903010-05)和“十三五”国家重点研发计划课题(2017YFD0300405)。

* 通讯作者(jingli1027@163.com)。

1 材料与方法

1.1 试验材料与试验设计

试验于2016年在东北农业大学向阳实习基地进行。供试小黑麦(*×Triticosecale* Wittm. ex A. Camus.)品种为加工型‘东农8809’、饲用型‘东农5305’和粮饲兼用型‘东农96026’，由东北农业大学小麦栽培生理研究室提供。‘东农8809’植株最高，为100~130 cm；‘东农5305’植株较高，为95~120 cm；‘东农96026’植株较矮，高度为75~90 cm。‘东农96026’叶片小而挺，植株紧凑；‘东农8809’叶片较披散，株型较松散；‘东农5305’株型更松散。试验土为黑钙土，前茬作物为马铃薯(*Solanum tuberosum*)，耕层20 cm，试验地pH值为6.85，土壤基础肥力见表1。试验采用随机区组设计，小区面积9 m²，行长5 m，行距0.2 m，每小区10行，条播，3次重复。基本苗均为450万株·hm⁻²，各品种施肥量相同，95 kg·hm⁻²尿素、150 kg·hm⁻²磷酸氢二铵、75 kg·hm⁻²硫酸钾作种肥施于土壤。3月30日播种，苗期镇压一次，其他管理措施同一般大田，7月21日收获。

1.2 田间取样方法

开花期选择同一天开花的单茎挂牌标记，开花后每7 d在标记的单茎中取整株，按旗叶、其他叶、茎鞘、穗轴+颖壳和籽粒分样，80℃烘至恒干，用于全氮含量、籽粒蛋白质等测定，3次重复；从开花期开始，每7 d取一次标记单茎的旗叶和穗子，于冰盒中取回实验室后放入-80℃冰箱保存，用于可溶性蛋白、游离氨基酸、氮代谢相关酶活性测定，3次重复。

1.3 测定项目与方法

NR活性按王学奎(2006)的离体法进行测定。GS活性参照郝再彬(2004)的方法进行测定。可溶性蛋白质含量参照郝再彬(2004)的考马斯亮蓝方法进行测定。游离氨基酸参照王学奎(2006)的茚三酮试剂显示法进行测定。

称取1 g烘干样，420℃浓硫酸消煮2 h，用

FOSS 8400型全自动凯式定氮仪测定含氮量，含氮量乘系数5.7为蛋白质含量。

1.4 计算方法与公式

开花期氮积累量(g·m⁻²)为开花期叶、茎鞘、穗氮积累量的总和，成熟期氮积累量(g·m⁻²)为成熟期叶、茎鞘、穗、籽粒氮积累量的总和，花后氮同化量(g·m⁻²)=成熟期氮积累量-开花期氮积累量。

贮存氮素转运量(g·m⁻²)=开花期氮积累量-成熟期氮积累量(不包括籽粒)。

氮素转运率(%)=贮存氮素转运量/开花期氮积累×100。

转运氮素贡献率(%)=贮存氮素转运量/籽粒氮积累量×100。

花后同化氮贡献率(%)=花后氮同化量/籽粒氮积累量×100。

1.5 数据处理

试验数据采用DPS 7.05与Excel 2007软件进行统计分析与作图，通过最小显著差异法(least-significant difference, LSD)进行差异显著性检验。

2 实验结果

2.1 不同类型小黑麦品种氮素同化特性的差异

2.1.1 旗叶氮素同化关键酶

NR是植物氮代谢过程中的关键酶，其活性高低与植物体内氮同化能力密切相关，对植物生长发育、产量形成和蛋白质产量的形成具有重要影响。由表2可以看出，旗叶NR活性在开花后逐渐降低。3个类型小黑麦品种花后的NR活性综合表现为‘东农5305’>‘东农8809’>‘东农96026’，且差异明显，说明饲用型‘东农5305’氮同化能力最强。开花0~14 d NR活性缓慢降低；开花中后期NR活性快速降低，其中加工型‘东农8809’下降最快，降幅为75.53%。

旗叶GS活性在开花后呈逐渐降低的趋势，不同时间测定的GS活性差异显著。开花0~14 d GS活性缓慢降低；花后14~21 d快速降低，其中‘东农

表1 土壤基础肥力

Table 1 Basic fertility of soil

全氮含量/g·kg ⁻¹	速效钾含量/mg·kg ⁻¹	速效磷含量/mg·kg ⁻¹	有机质含量/g·kg ⁻¹	碱解氮含量/mg·kg ⁻¹
1.72±0.07	179.35±4.05	65.34±1.69	25.25±0.08	118.21±35.69

表2 旗叶NR和GS活性差异
Table 2 Differences between NR and GS activities in flag leaf

指标	品种	开花后时间/d				
		0	7	14	21	28
NR活性/ $\mu\text{g}(\text{NO}_2)\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$	‘东农8809’	293.34±25.40 ^a	216.38±23.89 ^c	189.39±2.95 ^{de}	94.62±8.79 ^{fg}	23.53±7.09 ^h
	‘东农5305’	308.34±18.39 ^a	245.28±5.32 ^b	203.50±6.23 ^{cd}	103.54±12.33 ^f	37.43±5.34 ^h
	‘东农96026’	286.45±25.21 ^a	196.46±12.12 ^{cde}	178.68±10.31 ^e	76.43±8.15 ^{fg}	22.40±5.16 ^h
GS活性/ $A_{540}\cdot\text{mg}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$	‘东农8809’	20.21±1.41 ^c	17.74±1.28 ^{de}	11.02±1.81 ^g	3.78±0.89 ^{ij}	1.69±0.65 ^k
	‘东农5305’	24.87±0.72 ^a	22.37±1.54 ^b	17.57±0.74 ^e	7.04±1.06 ^h	2.86±0.72 ^{ijk}
	‘东农96026’	22.43±1.37 ^b	19.51±0.77 ^{cd}	13.68±1.33 ^f	4.69±0.71 ⁱ	2.47±0.44 ^{jk}

同一指标数据用不同小写字母标识表示差异显著($P<0.05$), 下同。

96026’下降最快, 降幅为65.71%, 比‘东农8809’和‘东农5305’降幅分别大0.02%和5.78%; 花后21~28 d又缓慢降低。3个类型小黑麦品种花后的GS活性综合表现为饲用型‘东农5305’>粮饲兼用型‘东农96026’>加工型‘东农8809’。

2.1.2 氮同化产物

开花后旗叶可溶性蛋白质含量呈持续下降的趋势(表3), 开花14~28 d下降迅速。在花后各时段内, 3个类型小黑麦品种的旗叶可溶性蛋白质含量综合表现为饲用型‘东农5305’>粮饲兼用型‘东农96026’>加工型‘东农8809’, 差异明显。在开花期‘东农5305’分别比‘东农8809’和‘东农96026’高9.28%和4.03%, 在花后28 d‘东农5305’分别是‘东农8809’和‘东农96026’的3.77倍和1.68倍。

小黑麦旗叶游离氨基酸含量呈先升后降的趋势, 在0~14 d呈上升趋势, 在14 d达到最大值, 花后14 d后迅速下降。‘东农96026’在花后14~21 d下降较‘东农8809’和‘东农5305’缓慢; 花后21 d后下降较‘东农8809’和‘东农5305’快速, 这可能是与‘东农8809’和‘东农5305’后期氨基酸向外转移能力加快

有关。在生育期间‘东农5305’开花后各时期旗叶游离氨基酸含量较‘东农8809’和‘东农96026’高, 旗叶充足的游离氨基酸供应成为‘东农5305’蛋白质含量高的一个基础, 有利于游离氨基酸后期向籽粒的运转。

2.2 植株氮素积累、分配和转运差异

2.2.1 开花后营养器官中氮素含量变化动态差异

(1)旗叶全氮含量: 旗叶氮含量在籽粒形成过程中呈下降趋势(图1), 在花后14 d之前旗叶氮含量下降缓慢, 花后14 d后下降幅度加大, 成熟期氮含量最低。在花后21 d之前, 3个类型小黑麦品种旗叶氮含量综合表现为饲用型‘东农5305’>加工型‘东农8809’>粮饲兼用型‘东农96026’, ‘东农5305’旗叶氮含量较高, 为较高的籽粒氮含量奠定了基础。花后21 d后表现为‘东农96026’>‘东农8809’>‘东农5305’, 且差异明显, 表明‘东农5305’旗叶氮含量可能大部分转移到籽粒中, 而‘东农96026’衰老慢, 在生育后期旗叶仍维持一定的活性。

(2)其他叶全氮含量: 其他叶氮含量变化趋势同旗叶一样, 在籽粒形成过程中呈现逐渐下降趋

表3 旗叶可溶性蛋白和游离氨基酸含量变化

Table 3 Changes in soluble protein and free amino acid contents in flag leaf

指标	品种	开花后时间/d				
		0	7	14	21	28
可溶性蛋白含量/ $\text{mg}(\text{FW})\cdot\text{g}^{-1}$	‘东农8809’	36.39±2.48 ^{bcd}	34.55±0.95 ^{de}	25.07±1.38 ^f	14.05±0.46 ⁱ	3.15±0.38 ^k
	‘东农5305’	39.77±1.99 ^a	38.05±1.02 ^{abc}	32.03±2.84 ^e	21.26±1.49 ^g	11.89±1.02 ^j
	‘东农96026’	38.23±1.97 ^{ab}	35.38±2.47 ^{cd}	26.26±0.83 ^f	17.68±2.14 ^h	7.05±0.98 ^j
游离氨基酸含量/ $\text{mg}(\text{DW})\cdot\text{g}^{-1}$	‘东农8809’	2.31±0.17 ^d	2.97±0.26 ^{ab}	3.20±0.19 ^{ab}	2.44±0.18 ^d	1.41±0.30 ^f
	‘东农5305’	2.45±0.24 ^d	2.91±0.21 ^{bc}	3.28±0.13 ^a	2.58±0.13 ^{cd}	1.56±0.16 ^f
	‘东农96026’	1.93±0.14 ^e	2.51±0.16 ^d	3.12±0.32 ^{ab}	2.59±0.16 ^{cd}	1.26±0.12 ^f

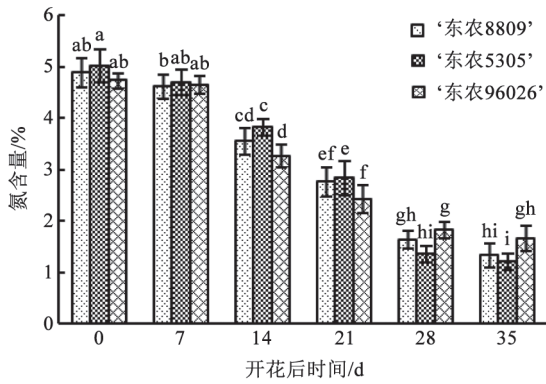


图1 旗叶氮含量变化

Fig.1 Changes in nitrogen content in flag leaf

势(图2)。在开花期3个类型小黑麦品种叶片氮含量表现为饲用型‘东农5305’>加工型‘东农8809’>粮饲兼用型‘东农96026’, ‘东农5305’比‘东农8809’和‘东农96026’分别高15.01%和25.66%。开花后7~21 d, 叶片氮含量下降较为缓慢, 3个类型品种差异不显著, 花后21 d后快速下降, 成熟期氮含量降到最低。‘东农5305’其他叶氮含量在开花后各个时期均比其他两类型品种高。

(3)茎鞘全氮含量: 小黑麦茎鞘全氮含量明显低于叶片全氮含量。由图3可以看出, 茎鞘含量随灌浆进程的推进不断降低, 成熟期最低。开花期‘东农5305’茎鞘氮含量显著高于‘东农8809’和‘东农96026’, ‘东农5305’比‘东农8809’和‘东农96026’分别高47.62%和61.03%。开花后7~14 d叶片氮含量下降缓慢, 花后21 d后快速下降, 成熟期茎鞘氮含量最小。成熟期茎鞘氮含量表现为‘东农5305’明显高于其他两类型品种。综合来看, ‘东农5305’茎鞘具有较高的开花期氮含量和低的成熟期氮含量, 即输出

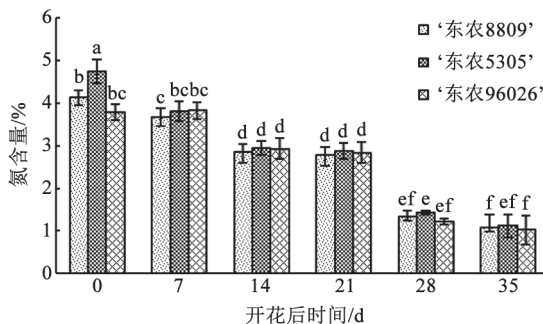


图2 其他叶全氮含量

Fig.2 Changes in nitrogen content in other leaves

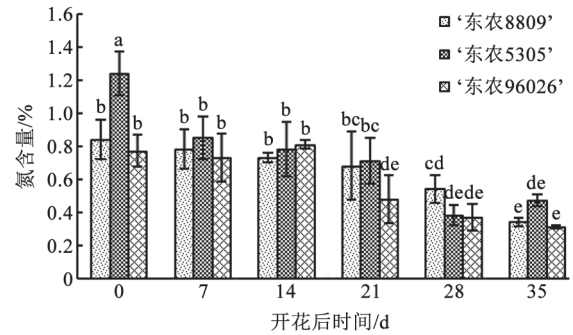


图3 茎鞘氮含量变化

Fig.3 Changes in nitrogen content in stem sheath

的氮量最多, 更有利于籽粒氮含量的积累。

(4)穗轴+颖壳全氮含量: 小黑麦穗轴+颖壳开花后全氮含量随生育进程推进呈持续下降趋势(图4)。开花后0~14 d小黑麦穗轴+颖壳全氮含量快速下降, 开花后21 d以后降幅逐渐变小。成熟期前, 3个类型小黑麦品种穗轴+颖壳全氮含量差异不显著。从开花期到花后21 d饲用型‘东农5305’穗轴+颖壳全氮含量均表现为最高, 并表现出最高的开花期氮积累量和开花后氮转移量。

2.2.2 氮素转运的差异

小黑麦生育期间氮素的分配中心是随着生长中心转移而变化的。开花期氮素主要分布在旗叶和其他叶, 且在旗叶中分配量最多, 茎鞘中分配量最少。穗轴+颖壳的氮素也有一定的积累量, 为后期籽粒中氮素的积累做准备。随着生育进程的推进, 氮素逐渐向籽粒转运, 饲用型‘东农5305’各器官氮素积累量都高于其他两品种, 也为籽粒中高的氮素含量奠定了基础。成熟期氮素主要分配到籽粒中, 各营养器官由于花后氮素的转移, 成熟期氮素积累量很少。粮饲兼用型‘东农96026’成熟期

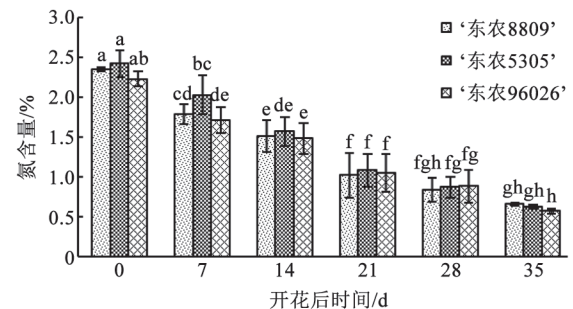


图4 穗轴+颖壳氮含量变化

Fig.4 Changes in nitrogen content in spike axis plus glume

旗叶氮素含量高于其他两品种。‘东农5305’的其他叶和茎鞘氮素含量高于其他两品种。加工型‘东农8809’籽粒氮素含量略高于其他两品种。

3个类型小黑麦品种开花后氮素的同化和转运差异显著(表4)。花后氮素同化量综合表现为‘东农8809’>‘东农96026’>‘东农5305’, 氮素转运量综合表现为‘东农5305’>‘东农8809’>‘东农96026’。‘东农8809’和‘东农5305’的氮运转效率均高于‘东农96026’, 说明粮饲兼用型‘东农96026’花前贮存的氮素转移能力较弱。‘东农5305’的转运氮贡献率和氮收获指数均高于‘东农96026’, 说明饲用型‘东农5305’开花后具有相对较高的氮同化能力, 能将花前贮存于营养体中的氮更完全地转化利用。

2.3 不同类型小黑麦籽粒蛋白质积累特性的差异

2.3.1 籽粒GS活性

由表5可以看出, 开花后籽粒GS活性总体呈先

上升后下降的趋势, 不同测定时期差异明显。而3个类型小黑麦品种GS活性在不同时期变化有所不同, ‘东农8809’的GS在花后7~14 d缓慢上升, 花后14 d达到最大值, 之后缓慢下降; ‘东农5305’在花后7~21 d有个缓慢的上升, 而后逐渐下降, 在花后28 d后下降幅度较大; ‘东农96026’在花后7~14 d变化不显著, 之后缓慢下降。3个小黑麦品种成熟期籽粒GS表现为加工型‘东农8809’>饲用型‘东农5305’>粮饲兼用型‘东农96026’。

2.3.2 籽粒游离氨基酸含量变化

由表6可以看出, 开花后籽粒游离氨基酸含量逐渐下降, ‘东农8809’在花后0~14 d缓慢下降, 花后14~28 d快速下降; ‘东农5305’在花后0~7 d快速下降, 7~14 d变化平稳, 14~28 d又快速下降; ‘东农96026’呈持续下降趋势。开花后各时期籽粒游离氨基酸含量综合表现为饲用型‘东农5305’>加工型

表4 开花后氮素同化和转运

Table 4 Transfer and assimilation of nitrogen after anthesis

	‘东农8809’	‘东农5305’	‘东农96026’
花后同化量/g·m ⁻²	6.130±0.582 ^a	4.600±0.045 ^b	5.310±0.494 ^{ab}
氮素转运量/g·m ⁻²	8.800±0.490 ^b	10.010±0.225 ^a	7.940±0.181 ^c
转运效率/%	72.188±3.889 ^a	74.682±3.293 ^a	69.150±4.744 ^a
转运氮贡献率/%	58.958±3.496 ^b	68.511±0.386 ^a	59.968±2.719 ^b
氮收获指数/%	81.522±2.232 ^a	81.125±2.753 ^a	78.901±3.020 ^a

表5 籽粒GS活性[A₅₄₀·mg⁻¹(FW)·h⁻¹]变化

Table 5 Changes in GS activity [A₅₄₀·mg⁻¹(FW)·h⁻¹] in grain

	开花后时间/d				
	7	14	21	28	35
‘东农8809’	1.55±0.04 ^a	1.61±0.06 ^a	1.41±0.16 ^{abc}	1.28±0.19 ^{bc}	1.22±0.06 ^{cd}
‘东农5305’	1.49±0.03 ^{ab}	1.53±0.07 ^a	1.56±0.18 ^a	1.42±0.09 ^{abc}	1.03±0.05 ^{de}
‘东农96026’	1.28±0.06 ^{bc}	1.27±0.14 ^c	0.94±0.23 ^{ef}	0.78±0.18 ^{fg}	0.71±0.06 ^g

表6 籽粒游离氨基酸含量[mg(DW)·g⁻¹]变化

Table 6 Changes in free amino acid content [mg(DW)·g⁻¹] in grain

	开花后时间/d				
	0	7	14	21	28
‘东农8809’	2.530±0.090 ^{ab}	2.070±0.156 ^b	2.410±0.056 ^d	1.346±0.065 ^f	0.726±0.086 ⁱ
‘东农5305’	2.603±0.116 ^a	2.056±0.087 ^c	2.020±0.184 ^e	1.456±0.065 ^{ef}	0.903±0.032 ^h
‘东农96026’	2.420±0.044 ^b	2.066±0.038 ^c	2.045±0.120 ^d	1.083±0.049 ^g	0.466±0.032 ^j

‘东农8809’>粮饲兼用型‘东农96026’,说明‘东农5305’籽粒蛋白质合成底物多,利于蛋白质的合成,为籽粒较高的蛋白质含量提供基础。

2.3.3 籽粒蛋白质积累量变化

小黑麦籽粒蛋白质的积累是一个连续过程,随着籽粒的充实增重,蛋白质也逐渐积累,至成熟期达到最大值(表7)。籽粒形成初期,3个类型小黑麦品种籽粒蛋白质含量较为接近。花后28 d以前籽粒蛋白质含量增加较快;花后28 d至成熟增加缓慢。成熟期三个品种小黑麦籽粒蛋白质含量表现为饲用型‘东农5305’>粮饲兼用型‘东农96026’>加工型‘东农8809’。

2.4 氮代谢相关指标与成熟期籽粒蛋白质含量的关系

3个类型小黑麦品种成熟期籽粒蛋白质含量与旗叶游离氨基酸含量呈显著或极显著正相关(表8),在灌浆初期与旗叶游离氨基酸相关性显著。‘东农8809’近成熟期籽粒蛋白质含量与旗叶NR、GS和籽粒GS相关性不显著,‘东农96026’近成熟期籽粒蛋白质含量与旗叶可溶性蛋白含量、籽粒GS和籽粒游离氨基酸相关性不显著,这可能与叶片的衰老有关,同时也表明充足的氨基酸供应是籽粒蛋白质含量的保证,氮代谢相关酶活性的提高促进氨基酸的转化,有利于蛋白质的积累。饲用

表7 籽粒蛋白含量(g·m⁻²)变化
Table 7 Changes in protein content (g·m⁻²) in grain

	开花后时间/d				
	7	14	21	28	35
‘东农8809’	10.23±1.16 ⁱ	31.56±2.33 ^g	56.17±2.12 ^e	76.38±2.24 ^c	81.34±2.66 ^b
‘东农5305’	8.93±0.62 ^{ij}	29.14±2.67 ^{gh}	53.67±3.82 ^e	71.16±2.54 ^d	88.64±1.95 ^a
‘东农96026’	5.45±1.14 ^j	27.68±1.55 ^h	50.01±1.48 ^f	68.26±2.52 ^d	87.48±2.27 ^a

表8 可溶性蛋白、氨基酸含量及相关酶活性与成熟期籽粒蛋白质含量的相关分析

Table 8 Relationship between protein content in grain of maturity and contents of soluble protein and amino acids and activities of related enzymes

品种	指标	成熟期籽粒蛋白质含量				
		0 d	花后7 d	花后14 d	花后21 d	花后28 d
‘东农8809’	可溶性蛋白含量	1.00 ^{**}	0.91	0.91	0.98 [*]	0.98 [*]
	旗叶游离氨基酸含量	0.98 [*]	0.86	0.95 [*]	0.96 [*]	0.96 [*]
	旗叶NR活性	0.91	0.74	1.00 ^{**}	0.87	0.88
	旗叶GS活性	0.72	0.46	0.97 [*]	0.66	0.66
	籽粒GS活性	0.73	0.48	0.97 [*]	0.67	0.67
	籽粒游离氨基酸含量	0.98 [*]	0.88	0.94	0.97 [*]	0.97 [*]
‘东农5305’	可溶性蛋白含量	0.91	0.08	-0.31	0.51	0.33
	旗叶游离氨基酸含量	0.65	0.98 [*]	0.82	0.97 [*]	1.00 ^{**}
	旗叶NR活性	0.93	0.78	0.48	0.98 [*]	0.91
	旗叶GS活性	0.89	0.83	0.56	0.99 ^{**}	0.95
	籽粒GS活性	1.00 ^{**}	0.50	0.13	0.83	0.70
	籽粒游离氨基酸含量	-0.20	0.76	0.95 [*]	0.40	0.57
‘东农96026’	可溶性蛋白含量	0.81	0.77	0.28	0.43	0.82
	旗叶游离氨基酸含量	0.97 [*]	0.98 [*]	0.91	0.97 [*]	0.97 [*]
	旗叶NR活性	0.94	0.92	0.54	0.67	0.95 [*]
	旗叶GS活性	0.90	0.92	0.98 [*]	1.00 ^{**}	0.89
	籽粒GS活性	0.28	0.33	0.81	0.70	0.25
	籽粒游离氨基酸含量	0.65	0.61	0.05	0.21	0.67

*和**分别表示显著差异($P<0.05$)和极显著差异($P<0.01$)。

型‘东农5305’成熟期籽粒蛋白质含量与籽粒谷氨酰胺合成酶活性相关性高于加工型‘东农8809’和粮饲兼用型‘东农96026’,这与‘东农5305’籽粒GS活性高、氮代谢能力旺盛有关,为籽粒的高蛋白质含量提供了基础。

3 讨论

植株体氮代谢过程中,有多种酶参与,许多研究表明NR和GS是氮素同化的关键酶。其活性强弱与植物对氮的利用能力密切相关,对植物生长发育、产量和品质形成都有重要影响。小麦根部吸收的 NO_3^- 在旗叶中被NR还原成 NH_4^+ , NH_4^+ 在旗叶中GS的作用下与谷氨酸结合生成谷氨酰胺,因此NR和GS活性高,有利于植株维持较高的氮素同化力,为旗叶及籽粒蛋白质合成提供充足的底物,有利于蛋白质的积累(李建敏等2009),且花后7 d时的GS活性可作为小麦营养诊断的参考指标(周晓明等2016)。本研究中,开花后旗叶NR和GS活性都呈下降趋势,这与赵春等(2006)的研究结果一致。不同类型小黑麦氮代谢酶的表现有差异,‘东农5305’开花后旗叶的NR和GS均较高,说明饲用型小黑麦氮同化能力比较强,更有利于氮素的积累和分配(谷岩等2013)。王小纯等(2015)研究指出,小麦较高的GS活性使其能获得更高的产量及氮素利用效率。对3个类型小黑麦品种籽粒GS的分析得出,粮饲兼用型‘东农96026’的籽粒GS活性比加工型‘东农8809’和饲用型‘东农5305’均小,说明粮饲兼用型小黑麦氮的代谢速度较慢,不利于氮素的积累和分配,影响籽粒蛋白质的形成。通过对氮代谢相关酶和籽粒蛋白质含量相关分析表明,NR与籽粒蛋白质含量呈正相关,与李晶(2009)的研究结果一致,但也有人认为NR与籽粒蛋白质含量相关不显著(Dalling等1976),认为高蛋白品种一般具有较高的NR活性,但NR活性高的品种蛋白质含量不一定高。研究表明GS活性的高低可以直接作用于氮代谢物的合成和转运(周晓明等2016),GS酶活性显著影响小麦可溶性蛋白含量(Li等2015)。本研究中,GS活性高的小黑麦品种可溶性蛋白含量也高。旗叶可溶性蛋白含量的动态变化,是旗叶中蛋白质同化与降解方向的酶活力变化的反应,可以将不同生育时期旗叶可溶性蛋白含量

作为衡量蛋白质代谢的生理指标(王小燕和于振文2005)。本研究结果表明,饲用型小黑麦‘东农5305’的叶片可溶性蛋白、叶片游离氨基酸及籽粒游离氨基酸含量均显著高于加工型小黑麦‘东农8809’和粮饲兼用型小黑麦‘东农96026’,说明饲用型小黑麦对氮素的贮存能力高,有利于后期向籽粒的运转,为饲用型小黑麦籽粒蛋白质含量高奠定了基础。

小麦生长发育过程中营养体内氮素的积累、贮存及运转动态,直接影响籽粒中蛋白质的积累,是小麦产量和品质形成生理过程的重要内容。不同类型小麦氮素积累与转运特征有差异,董召娣等(2016)研究两类型小麦品种指出,半冬性小麦平均总氮素转运量、花后积累量显著高于春性小麦,并且同一类型内不同品种间植株氮积累和转运指标存在差异。本研究中,开花后叶片、茎鞘及穗轴和颖壳的含氮量呈下降趋势,氮素逐渐向籽粒转运,‘东农5305’旗叶氮含量迅速下降,可能是因为向籽粒转移,而‘东农96026’可能是由于衰老慢,旗叶在生育后期仍有较高的氮含量。茎秆作为氮的储存库,是籽粒发育过程中氮的重要来源(Cliquet等1990),茎秆中氮素的转运对籽粒氮的贡献可以高达45%。本研究中,饲用型‘东农5305’茎鞘具有较高的开花期氮含量和低的成熟期氮含量,说明饲用型小黑麦茎鞘输出的氮量最多,更有利于籽粒氮的积累。营养体各器官中氮的转运对籽粒氮积累十分重要,王旭红等(2015)认为较高的花后营养器官氮素向籽粒转运量有利于高产。本研究中,3个类型小黑麦品种开花期营养器官氮含量越高,籽粒蛋白质含量越高,说明营养器官充足的氮含量是籽粒高蛋白质含量的基础,这与王旭红研究结果一致,因此可以通过提高开花期植株营养器官氮含量来提高籽粒蛋白。有研究表明,开花后吸收同化的氮素和开花前营养器官中积累并在开花后向籽粒转移的氮素,在籽粒中所占的比例因基因型而异(Lloveras等2001)。本研究中,小黑麦品种花后氮同化量与氮素转运量不一致,饲用型‘东农5305’的花后氮同化量较低,而氮素转运量较高,表明氮素吸收能力和氮素转运能力存在差异,这与李淑文等(2006)的研究一致,并且指出氮高效品种有较高的氮素吸收能力和氮素转运及

再分配能力,氮低效品种氮素吸收能力不足,不能满足地上部生长的需要,限制了氮效率的提高。因此较高的氮素转运、氮素籽粒分配能力促进了其对氮素的高效利用,是籽粒高蛋白含量的关键。

综上所述,3个类型小黑麦品种氮代谢差异很大,加工型品种‘东农8809’花后氮同化量最大,而贮存氮素转运量不多,说明加工型小黑麦籽粒蛋白质的积累大部分来源于花后植株的同化吸收;粮饲兼用型品种‘东农96026’贮存氮素转运量小,说明粮饲兼用型小黑麦籽粒蛋白质大部分来源于花前营养器官贮存的氮素在花后的转运和再分配;饲用型品种‘东农5305’的叶片可溶性蛋白、叶片游离氨基酸及籽粒游离氨基酸含量均显著高于其他两品种,说明饲用型小黑麦对氮素的贮存能力高,有利于后期向籽粒的运转,是饲用型小黑麦籽粒蛋白质含量高的一个基础。因此应该合理利用品种差异,实施配套的栽培措施,才能最大地实现品种高蛋白产量。

参考文献(References)

- Chen M, Gao Z, Sun M, et al (2015). Effect of phosphorus application under tillage in fallow period on nitrogen absorption and translocation in dryland wheat. *J Trit Crops*, 35 (11): 1569–1575 (in Chinese with English abstract) [陈梦楠, 高志强, 孙敏等(2015). 休闲期耕作配施磷肥对旱地小麦氮素吸收与转运的影响. *麦类作物学报*, 35 (11): 1569–1575]
- Dai Z, Li Y, Zhang H, et al (2015). Effects of different irrigation treatments on nitrogen accumulation and translocation after anthesis in wheat. *J Trit Crops*, 35 (12): 1712–1718 (in Chinese with English abstract) [戴忠民, 李妍, 张红等(2015). 不同灌溉处理对小麦花后氮素积累和转运的影响. *麦类作物学报*, 35 (12): 1712–1718]
- Dalling M, Boland G, Willson J (1976). Relation between acid proteinase activity and redistribution of nitrogen during grain development in wheat. *Aust J Plant Physiol*, 3: 721–730
- Dong ZD, Guo MM, Yi Y, et al (2016). Difference in nitrogen accumulation and translocation between semi-winter wheat and spring wheat. *Chin J Appl Ecol*, 27 (6): 1910–1916 (in Chinese with English abstract) [董召娣, 郭明明, 易媛等(2016). 春性和半冬性小麦植株氮素积累与转运特征差异. *应用生态学报*, 27 (6): 1910–1916]
- Gu Y, Hu W, Xu B, et al (2013). Effects of nitrogen on photosynthetic characteristics and enzyme activity of nitrogen metabolism in maize under-mulch-drip irrigation. *Acta Ecol Sin*, 33 (23): 7399–7407 (in Chinese with English abstract) [谷岩, 胡文河, 徐百军等(2013). 氮素营养水平对膜下滴灌玉米穗位叶光合及氮代谢酶活性的影响. *生态学报*, 33 (23): 7399–7407]
- Han SF, Li SW, Wu LQ, et al (2007). Responses and corresponding physiological mechanism of different wheat varieties in their nitrogen efficiency and nitrogen uptake to nitrogen supply. *Chin J Appl Ecol*, 18 (4): 807–812 (in Chinese with English abstract) [韩胜芳, 李淑文, 吴立强等(2007). 不同小麦品种氮效率与氮吸收对氮素供应的响应及生理机制. *应用生态学报*, 18 (4): 807–812]
- Hao Z (2004). *Plant Physiology Experiments*. Harbin: Harbin Institute of Technology Press, 71–73 (in Chinese) [郝再彬(2004). *植物生理实验*. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 71–73]
- Jiang L, Liu P, Qi B, et al (2016). Effects of different nitrogen application amounts and seedlings densities on nitrogen accumulation and transport in wheat at anthesis stage. *Chin J Eco-Agr*, 24 (2): 131–141 (in Chinese with English abstract) [姜丽娜, 刘佩, 齐冰玉等(2016). 不同施氮量及种植密度对小麦开花期氮素积累转运的影响. *中国生态农业学报*, 24 (2): 131–141]
- Li C, Zhang G, Shi H, et al (1995). Effects of nitrogen on the dynamic change of nitrate reductase activity and grain protein of wheat. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 15 (4): 276–281 (in Chinese with English abstract) [李春喜, 张根发, 石惠恩等(1995). 氮肥对小麦硝酸还原酶活性和籽粒蛋白质含量变化动态的影响. *西北植物学报*, 15 (4): 276–281]
- Li CX, Li YJ, Gu DB (1997). Comparison of nitrate reductase activities in different genotypes of wheat at growth period. *Trit Crops*, 17 (4): 60–62 (in Chinese with English abstract) [李春喜, 李友君, 谷登斌(1997). 不同基因型小麦生育期硝酸还原酶活性的比较. *麦类作物学报*, 17 (4): 60–62]
- Li HM, Liang H, Li Z (2015). Dynamic QTL analysis of protein content and glutamine synthetase activity in recombinant inbred wheat lines. *Genet Mol Res*, 14 (3): 8706–8715
- Li J (2009). Effects of density and nitrogen levels on nitrogen metabolism and yield, quality of triticale (dissertation). Harbin: Northeast Agricultural University [李晶(2009). 密度和氮素水平对小黑麦氮代谢及产量、品质的影响(学位论文). 哈尔滨: 东北农业大学]
- Li JM, Wang ZL, Yin YP, et al (2009). Comparison of nitrogen metabolism and activities of the related enzymes during grain filling stage among wheat cultivars different in protein content. *Sci Agr Sin*, 42 (9): 3078–3086 (in Chinese with English abstract) [李建敏, 王振林, 尹燕桦等(2009). 不同蛋白质含量小麦品种籽粒形成期氮代谢及相关酶活性的比较. *中国农业科学*, 42 (9): 3078–3086]
- Li SW, Wen HD, Zhou YZ, et al (2006). Characterization of nitrogen uptake and dry matter production in wheat va-

- rieties with different N efficiency. *Sci Agr Sin*, 39 (10): 1992–2000 (in Chinese with English abstract) [李淑文, 文宏达, 周彦珍等(2006). 不同氮效率小麦品种氮素吸收和物质生产特性. *中国农业科学*, 39 (10): 1992–2000]
- Lloveras J, Lopez A, Ferran J, et al (2001). Bread-making wheat and soil nitrate as affected by nitrogen fertilization in irrigated Mediterranean conditions. *Agron J*, 93: 1183–1190
- Tian JC, Zhang ZY, Liang ZQ (1994). Studies on the difference of nitrogen absorption, transportation and distribution in high and low protein wheat cultivars. *Acta Agron Sin*, 20 (1): 76–83 (in Chinese with English abstract) [田纪春, 张忠义, 梁作勤(1994). 高蛋白和低蛋白小麦品种的氮素吸收和运转分配差异的研究. *作物学报*, 20 (1): 76–83]
- Wang X (2006). *Principle and Technology of Plant Physiological and Biochemical Experiments*. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press (in Chinese) [王学奎(2006). *植物生理生化实验原理和技术*. 第2版. 北京: 高等教育出版社]
- Wang X, Xiong S, Han Y, et al (2016). Difference analysis on nitrogen metabolism physiology of two wheat varieties with different development characteristics. *Acta Agr Boreal-Occident Sin*, 25 (5): 659–666 (in Chinese with English abstract) [王晓航, 熊淑萍, 韩玉林等(2016). 两类发育特性小麦品种氮代谢生理差异分析. *西北农业学报*, 25 (5): 659–666]
- Wang XC, Wang XH, Xiong SP, et al (2015). Differences in nitrogen efficiency and nitrogen metabolism of wheat varieties under different nitrogen levels. *Sci Agr Sin*, 48 (13): 2569–2579 (in Chinese with English abstract) [王小纯, 王晓航, 熊淑萍等(2015). 不同供氮水平下小麦品种的氮效率差异及其氮代谢特征. *中国农业科学*, 48 (13): 2569–2579]
- Wang XH, Sun M, Gao ZQ, et al (2015). Differences of different types of wheat nitrogen uptake and accumulation. *J Shanxi Agr Sci*, 43 (5): 561–565 (in Chinese with English abstract) [王旭红, 孙敏, 高志强等(2015). 不同类型小麦植株氮素吸收积累的差异. *山西农业科学*, 43 (5): 561–565]
- Wang XY, Yu ZW (2005). Differences in characteristics of quality and related enzymes activity of different wheat cultivars. *Sci Agr Sin*, 38 (10): 1980–1988 (in Chinese with English abstract) [王小燕, 于振文(2005). 不同小麦品种主要品质性状及相关酶活性研究. *中国农业科学*, 38 (10): 1980–1988]
- Xiong S, Wu KY, Wang XC, et al (2016). Analysis of nitrogen metabolism in roots and uptake characteristic of wheat cultivars with different nitrogen efficiency at seedling stage. *J Trit Crops*, 36 (3): 325–331 (in Chinese with English abstract) [熊淑萍, 吴克远, 王小纯等(2016). 不同氮效率小麦品种苗期根系氮代谢及其吸收能力差异分析. *麦类作物学报*, 36 (3): 325–331]
- Xiong SP, Zhang JJ, Yang Y, et al (2013). Research on nitrogen metabolism characteristics and use efficiency in different winter wheat cultivars grown on three soil textures. *Chin J Plant Ecol*, 37 (7): 601–610 (in Chinese with English abstract) [熊淑萍, 张娟娟, 杨阳等(2013). 不同冬小麦品种在3种质地土壤中氮代谢特征及利用效率分析. *植物生态学报*, 37 (7): 601–610]
- Zhang Q, Zhang L, Bi H (1997). Absorption, accumulation and translocation of nitrogen and their correlations with grain protein in spring wheat varieties. *Acta Agron Sin*, 27 (6): 45–49 (in Chinese with English abstract) [张庆江, 张立言, 毕桓武(1997). 春小麦品种氮的吸收积累和运转特征及与籽粒蛋白质的关系. *作物学报*, 27 (6): 45–49]
- Zhao C, Jiao N, Ning T, et al (2006). Enzyme activities in nitrogen metabolism of winter wheat and its grain quality under different environmental conditions. *Chin J Appl Ecol*, 17 (10): 1866–1870 (in Chinese with English abstract) [赵春, 焦念元, 宁堂原等(2006). 不同环境条件下小麦氮代谢关键酶活性及籽粒品质. *应用生态学报*, 17 (10): 1866–1870]
- Zhou X, Zhang Z, Wang X, et al (2016). Studies on nitrogen metabolism characteristics of varieties with different nitrogen use efficiency and correlation between GS activity and nitrogen metabolism markers. *J Henan Agr Sci*, 45 (9): 15–20, 32 (in Chinese with English abstract) [周晓明, 张志勇, 王小纯等(2016). 不同氮效率小麦的氮代谢特征及GS酶活性与氮代谢指标的相关性研究. *河南农业科学*, 45 (9): 15–20, 32]

Differences in flag leaf nitrogen metabolism and grain protein formation among triticale varieties after anthesis

WANG Li-Hua, CAO Xin-Bo, ZUO Shi-Yu, WEI Shi, LI Jing*

Agricultural College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China

Abstract: In order to study the differences of nitrogen metabolism and grain protein formation among different varieties of triticale (\times *Triticosecale*), ‘Dongnong 8809’ (processing triticale), ‘Dongnong 5305’ (forage triticale) and ‘Dongnong 96026’ (grain feed triticale) were used as experimental materials. Experiments were carried out in randomized complete block design with 3 replications. Nitrogen assimilation, nitrogen accumulation and translocation, and protein accumulation characteristics of different varieties of triticale were studied. The results show that, ‘Dongnong 8809’ had a higher nitrogen assimilation amount after anthesis and a lower nitrogen translocation amount, and grain protein mainly depended on assimilation of plants after anthesis. ‘Dongnong 5305’ had higher activities of NR and GS, and higher soluble protein and free amino acid contents of flag leaf. A higher nitrogen storage capacity was beneficial for nitrogen transports to grain. ‘Dongnong 96026’ had lower NR and GS activities, and a big drop in GS activity at late growth stage, causing a low nitrogen assimilation capacity. A lower nitrogen translocation amount and transport efficiency resulted in a weak nitrogen transport capacity in ‘Dongnong 96026’.

Key words: triticale; nitrogen assimilation; nitrogen transport; grain protein

Received 2017-11-28 Accepted 2018-02-13

This work was supported by “the 12th Five-Year Plan” National Sci-tech Support Program (2012BAD14B06), National Public Welfare Industry (Agriculture) Research Special Program (200903010-05), and National Key Research and Development Plan of “the 13th Five-Year Plan” (2017YFD0300405).

*Corresponding author (jingli1027@163.com).