

施氮对现蕾期和开花期甜菊生长及甜菊糖苷的影响

孙玉明¹, 张 婷¹, 徐晓洋¹, 杨永恒¹, 张永侠¹, 徐敏月², 原海燕^{1,①}

[1. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014;

2. 江苏省骆运水利工程管理处, 江苏 宿迁 223800]

摘要: 研究了施氮对现蕾期和开花期甜菊 (*Stevia rebaudiana* Bertoni) 品种‘中山8号’(‘Zhongshan No. 8’)不同器官干质量、全氮含量、氮素累积量和分配比例、全碳含量、碳氮比和可溶性糖含量以及叶片中甜菊糖苷含量和累积量的影响,并对叶片中部分指标进行 Pearson 相关性分析。结果表明:总体上看,与不施氮处理相比,施氮处理显著增加了现蕾期和开花期甜菊茎和叶片的干质量、全氮含量和氮素累积量,但是显著降低了茎和叶片中碳氮比以及叶片中可溶性糖和3种甜菊糖苷组分含量。同一施氮水平下,与现蕾期相比,开花期甜菊茎中全氮含量有所提高,但是叶片中全氮含量无显著变化;叶片中氮素分配比例显著降低;茎和叶片中全碳含量以及碳氮比无显著变化;茎中可溶性糖含量有所提高,但叶片中可溶性糖含量以及3种甜菊糖苷组分含量总体上显著降低。施氮水平和生育期对甜菊单株总甜菊糖苷累积量均无显著影响。甜菊叶片中部分指标的 Pearson 相关性分析结果显示:甜菊叶片中总甜菊糖苷含量与全氮含量和干质量分别呈显著和极显著负相关关系,但与可溶性糖含量呈极显著正相关关系。综上所述,开花或施氮均会降低甜菊叶片中甜菊糖苷含量,建议在甜菊现蕾期及时采收叶片,并降低甜菊促花肥的投入量。

关键词: 甜菊; 施氮; 生育期; 甜菊糖苷; 可溶性糖

中图分类号: Q945.3; Q946.83; S566.9 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2022)03-0085-08

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2022.03.10

Effects of nitrogen application on growth and steviol glycoside of *Stevia rebaudiana* at flowering bud stage and flowering stage SUN Yuming¹, ZHANG Ting¹, XU Xiaoyang¹, YANG Yongheng¹, ZHANG Yongxia¹, XU Minyue², YUAN Haiyan^{1,①} (1. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Management Division of Luoyun Hydraulic Engineering of Jiangsu Province, Suqian 223800, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2022, 31(3): 85-92

Abstract: Effects of nitrogen application on dry mass, total nitrogen content, accumulation and allocation ratio of nitrogen, total carbon content, carbon/nitrogen ratio and soluble sugar content in different organs and content and accumulation of steviol glycoside in leaf of cultivar ‘Zhongshan No. 8’ of *Stevia rebaudiana* Bertoni at flowering bud stage and flowering stage were studied, and Pearson correlation analysis was conducted for some indexes of leaf. The results show that compared with no nitrogen application treatment, nitrogen application treatment significantly increases dry mass, total nitrogen content, and nitrogen accumulation of stem and leaf of *S. rebaudiana* at flowering bud stage and flowering stage, but significantly decreases carbon/nitrogen ratio in stem and leaf and contents of soluble sugar and three steviol glycoside components in leaf in general. Under the same nitrogen application level, total nitrogen content in stem of *S. rebaudiana* at flowering stage increases compared with that at flowering bud stage, but there is no significant variation in total nitrogen content in leaf; allocation ratio of nitrogen in

收稿日期: 2021-12-06

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(32101842; 31901597)

作者简介: 孙玉明(1989—),男,山东聊城人,博士,助理研究员,主要从事甜菊营养栽培方面的研究。

①通信作者 E-mail: yuanhaiyan416@163.com

引用格式: 孙玉明, 张 婷, 徐晓洋, 等. 施氮对现蕾期和开花期甜菊生长及甜菊糖苷的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2022, 31(3): 85-92.

leaf significantly decreases; there are no significant variations in total carbon content and carbon/nitrogen ratio in stem and leaf; soluble sugar content in stem increases, but contents of soluble sugar and three steviol glycoside components in leaf significantly decrease in general. The nitrogen application level and growth stage both have no significant effects on total steviol glycoside accumulation per plant of *S. rebaudiana*. The Pearson correlation analysis result of some indexes of leaf of *S. rebaudiana* shows that total steviol glycoside content shows significant and extremely significant negative correlations with total nitrogen content and dry mass of leaf of *S. rebaudiana* respectively, but shows extremely significant positive correlation with soluble sugar content. Taken together, flowering or nitrogen application both will decrease steviol glycoside content in leaf of *S. rebaudiana*, and timely harvesting leaf at flowering bud stage of *S. rebaudiana* and reduction of flower-promoting fertilization of *S. rebaudiana* are recommended.

Key words: *Stevia rebaudiana* Bertoni; nitrogen application; growth stage; steviol glycoside; soluble sugar

甜菊(*Stevia rebaudiana* Bertoni),又名甜叶菊,为菊科(Asteraceae)甜菊属(*Stevia* Cav.)多年生草本植物,由于其叶片中富含的甜菊糖苷具有潜在药用价值而备受关注。甜菊糖苷是包括甜菊苷、莱鲍迪苷A和莱鲍迪苷C等在内的、由多种四环二萜类化合物组成的一类化合物。甜菊糖苷具有高甜度、低热量的特征,并在降血糖、降血脂、预防龋齿以及提高人体免疫力等方面具有重要功能^[1-3]。上述特点极力推动了甜菊糖苷在医疗和食品领域的应用以及甜菊商业化栽培的进程。

氮素是影响植物生长发育和生理过程的关键营养元素,增施氮肥可以显著提高甜菊叶片光合碳同化速率以及干质量形成^[4,5]。氮素还会直接影响植物初级代谢与次级代谢平衡,并在甜菊糖苷合成中发挥调节作用。目前,大多数研究认为增施氮肥会降低甜菊叶片中甜菊糖苷总含量^[5-7],但是也有部分研究发现氮肥投入与叶片甜菊糖苷含量之间存在正相关关系^[4,8]或无显著相关关系^[9,10]。甜菊糖苷含量对氮素的差异响应可能与土壤肥力、氮肥投入水平以及甜菊基因型等因子有关,并且最新研究发现,氮素对甜菊糖苷合成的影响可能与“生长-分化权衡”及叶片碳代谢重编程有关^[11]。

生育期也是影响植物生长和代谢的关键因子,并且植物生育期进程和生理过程也会受到氮素的影响^[12]。舒世珍^[13]认为,甜菊叶片中的甜菊糖苷含量在现蕾期达到最高,进入开花期后,甜菊生长缓慢、枯叶掉落并且叶片中甜菊糖苷含量下降。因此,在甜菊实际生产中,通常将现蕾期定义为农艺收获的最佳时期。然而,目前鲜有研究关注甜菊现蕾期与开花期甜菊叶片甜菊糖苷含量的变化规律,并且关于氮素对现蕾期和开花期甜菊生长和叶片甜菊糖苷合成的影响

尚不清楚。

本研究选取甜菊品种‘中山8号’(‘Zhongshan No. 8’)作为研究对象,通过比较不同施氮处理下不同生育期(现蕾期和开花期)甜菊不同器官干质量、氮素吸收累积、全碳和可溶性糖含量以及叶片甜菊糖苷含量和累积量的变化,旨在明确施氮影响不同生育期甜菊叶片中甜菊糖苷含量变化的生理机制,并为确定高产优质甜菊的收获时间及相应施氮管理提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为江苏省中国科学院植物研究所自主选育的甜菊品种‘中山8号’1年生扦插苗,实验地位于江苏省中国科学院植物研究所试验基地。实验地耕作层土壤有机质含量 $34.24 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、全氮含量 $3.28 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、速效磷含量 $57.84 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 及速效钾含量 $261.72 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,pH 7.21。

1.2 实验设计

设置不施氮(N_0)和施氮(N_1)2个处理,每个处理设置3个小区作为重复,每个小区面积 $1.25 \text{ m} \times 2.00 \text{ m}$ 。于2020年5月30日移栽长势基本一致的甜菊扦插苗,每个小区移栽12株。基于前期研究^[14],施氮处理每小区施尿素 163.0 g (折合氮 $300 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$),按照质量比5:3:2依次作为基肥、分枝肥和促花肥分次施用。每个小区均施磷酸钙 156.0 g 和氯化钾 37.5 g (分别折合五氧化二磷 $75 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 和氧化钾 $90 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$),作为基肥一次性施入。分别在现蕾期(8月30日)和开花期(9月15日)采样,每个小区每次取1株甜菊幼苗,将样品带回实验室处理

后用于各项指标的测定。

1.3 方法

1.3.1 甜菊干质量测定 用蒸馏水将甜菊植株冲洗干净,然后将叶片、茎和花分离,分别放置在 105 ℃ 烘箱中杀青 30 min 后再置于 70 ℃ 烘箱中烘干至恒质量。使用 JJ1000 型百分之一电子天平(常熟市双杰测试仪器厂)称量并记录,然后用研钵将样品均匀研磨,置于自封袋中,于干燥处储存,待测。

1.3.2 全氮、全碳和可溶性糖含量的测定 参照鲍士旦^[15]的方法,采用 H₂SO₄-H₂O₂ 高温消解并使用凯氏定氮法测定全氮含量;根据公式“氮素累积量=各器官干质量×相应器官全氮含量”和“氮素分配比例=(各器官氮素累积量/所有器官氮素累积量之和)×100%”分别计算甜菊各器官的氮素累积量和氮素分配比例;参照 Shaw^[16]的方法,采用重铬酸钾-浓硫酸外加热并通过滴定法测定全碳含量;根据公式“碳氮比=各器官全碳含量/相应器官全氮含量”计算甜菊各器官的碳氮比;采用蒽酮比色法^[17]测定可溶性糖含量。

1.3.3 叶片甜菊糖苷的提取及测定 参照文献^[18]的方法,提取和测定甜菊叶片中甜菊糖苷含量,计算总甜菊糖苷含量和单株总甜菊糖苷累积量。

1.4 数据分析

利用 EXCEL 2010 软件处理实验数据,利用 SPSS 16.0 软件进行方差分析,并采用 Duncan's 多重比较法进行显著性分析,利用 SPSS 16.0 软件进行 Pearson 相关性分析。

2 结果和分析

2.1 施氮对现蕾期和开花期甜菊干质量的影响

施氮对现蕾期和开花期甜菊不同器官干质量的影响见表 1。由表 1 可以看出:与不施氮处理相比,施氮处理中,现蕾期甜菊茎、叶片和地上部干质量显著增加,分别增加了 149.23%、126.24% 和 141.15%;开花期甜菊茎、叶片、花和地上部干质量总体上显著增加,分别增加了 39.44%、64.18%、57.27% 和 48.65%。同一施氮水平下,开花期甜菊茎、叶片和地上部干质量明显高于现蕾期。方差分析结果显示:施氮水平和生育期对甜菊不同器官干质量有显著或极显著影响,但二者的交互作用对甜菊不同器官干质量均无显著影响。

表 1 施氮对现蕾期和开花期甜菊不同器官干质量的影响($\bar{X}\pm SD$)¹⁾
Table 1 Effect of nitrogen application on dry mass of different organs of *Stevia rebaudiana* Bertoni at flowering bud stage and flowering stage ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

处理 Treatment	不同器官的干质量/g Dry mass of different organs			
	茎 Stem	叶片 Leaf	花 Flower	地上部 Above-ground part
现蕾期 Flowering bud stage				
N ₀	5.20±0.55d	2.82±0.82c	—	8.02±1.26c
N ₁	12.96±0.71ab	6.38±0.85ab	—	19.34±1.20b
开花期 Flowering stage				
N ₀	10.04±3.30c	4.69±0.67bc	2.27±0.61a	17.00±4.49b
N ₁	14.00±1.48a	7.70±1.46a	3.57±0.18a	25.27±0.30a
F _N	29.74 **	32.55 **	3.94 *	49.56 **
F _{GS}	7.49 *	7.67 *	—	28.69 **
F _N ×F _{GS}	3.10	0.22	—	1.18

¹⁾ N₀: 不施氮 No nitrogen application; N₁: 施氮 Nitrogen application. F_N: 施氮水平的 F 值 F value of nitrogen application level; F_{GS}: 生育期的 F 值 F value of growth stage. 同列中不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著 Different lowercases in the same column indicate the significant difference at 0.05 level. —: 无数据 No datum. ** : P<0.01; * : P<0.05.

2.2 施氮对现蕾期和开花期甜菊全氮含量以及氮素累积量和分配比例的影响

2.2.1 对全氮含量的影响 施氮对现蕾期和开花期甜菊不同器官全氮含量的影响见表 2。由表 2 可以看出:开花期甜菊花中全氮含量最高,现蕾期和开花期甜菊叶片中全氮含量均明显高于茎。与不施氮处

表 2 施氮对现蕾期和开花期甜菊不同器官中全氮含量的影响($\bar{X}\pm SD$)¹⁾
Table 2 Effect of nitrogen application on total nitrogen content in different organs of *Stevia rebaudiana* Bertoni at flowering bud stage and flowering stage ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

处理 Treatment	不同器官中全氮含量/(mg·g ⁻¹) Total nitrogen content in different organs		
	茎 Stem	叶片 Leaf	花 Flower
现蕾期 Flowering bud stage			
N ₀	6.22±0.90b	17.13±1.68b	—
N ₁	7.95±0.90ab	21.97±1.26a	—
开花期 Flowering stage			
N ₀	7.85±0.78ab	17.43±2.52b	18.27±3.95a
N ₁	10.03±1.87a	20.79±2.35a	21.67±1.63a
F _N	8.01 *	53.40 **	3.74
F _{GS}	7.19 *	0.04	—
F _N ×F _{GS}	0.11	0.07	—

¹⁾ N₀: 不施氮 No nitrogen application; N₁: 施氮 Nitrogen application. F_N: 施氮水平的 F 值 F value of nitrogen application level; F_{GS}: 生育期的 F 值 F value of growth stage. 同列中不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著 Different lowercases in the same column indicate the significant difference at 0.05 level. —: 无数据 No datum. ** : P<0.01; * : P<0.05.

理相比,施氮处理中,现蕾期甜菊茎和叶片中全氮含量分别升高了 27.81% 和 28.25%,开花期甜菊茎、叶片和花中全氮含量分别升高了 27.77%、19.28% 和 18.61%,其中,现蕾期和开花期施氮处理甜菊叶片中全氮含量显著高于不施氮处理。同一施氮水平下,甜菊茎和叶片中全氮含量在不同生育期间无显著差异。方差分析结果显示:施氮水平对甜菊茎和叶片中全氮含量有显著或极显著影响,对花中全氮含量无显著影响;生育期对甜菊茎中全氮含量有显著影响,但是对叶片中全氮含量无显著影响;施氮水平与生育期的交互作用对甜菊茎和叶片中全氮含量均无显著影响。

2.2.2 对氮素积累量和分配比例的影响 施氮对现蕾期和开花期甜菊不同器官中氮素积累量和分配比例的影响见表 3。由表 3 可以看出:与不施氮处理相比,现蕾期和开花期施氮处理甜菊同一器官中氮素积累量均显著升高,其中,现蕾期甜菊茎、叶片和地上部中氮素积累量分别升高了 216.41%、186.69% 和 198.61%,开花期甜菊茎、叶片、花和地上部中氮素累

积量分别升高了 82.04%、107.33%、92.96% 和 94.61%。不施氮处理中,与现蕾期相比,开花期甜菊茎和地上部中氮素积累量显著升高,而叶片中氮素积累量无显著变化;施氮处理中,与现蕾期相比,开花期甜菊茎和叶片中氮素积累量无显著变化,而地上部中氮素积累量显著升高。方差分析结果显示:施氮水平和生育期对甜菊不同器官中氮素积累量有显著或极显著影响,但二者的交互作用对甜菊不同器官中氮素积累量均无显著影响。

由表 3 还可以看出:现蕾期甜菊氮素主要分配在叶片中;开花期甜菊叶片中氮素分配比例最大,茎中氮素分配比例次之,花中氮素分配比例最小。同一施氮水平下,与现蕾期相比,开花期甜菊叶片中氮素分配比例显著降低,茎中氮素分配比例也有所降低,但无显著变化。方差分析结果显示:仅生育期对甜菊叶片中氮素分配比例有极显著影响,施氮水平以及施氮水平与生育期的交互作用对甜菊茎和叶片中氮素分配比例均无显著影响。

表 3 施氮对现蕾期和开花期甜菊不同器官中氮素积累量和分配比例的影响 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 3 Effect of nitrogen application on accumulation and allocation ratio of nitrogen in different organs of *Stevia rebaudiana* Bertoni at flowering bud stage and flowering stage ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

处理 Treatment	不同器官中氮素积累量/(mg·g ⁻¹) Nitrogen accumulation in different organs				不同器官中氮素分配比例/% Nitrogen allocation ratio in different organs		
	茎 Stem	叶片 Leaf	花 Flower	地上部 Above-ground part	茎 Stem	叶片 Leaf	花 Flower
现蕾期 Flowering bud stage							
N ₀	32.67±7.65d	48.76±16.42b	—	81.43±19.78c	40.73±9.58a	59.27±9.58a	—
N ₁	103.37±16.37ab	139.79±16.42a	—	243.16±31.41b	42.41±2.28a	57.59±2.28a	—
开花期 Flowering stage							
N ₀	77.23±20.39c	81.47±9.57b	40.05±7.31b	198.75±37.15b	38.46±3.49a	41.35±2.98b	20.18±0.86a
N ₁	140.59±30.47a	168.91±32.62a	77.28±6.52a	386.78±28.46a	38.26±6.57a	43.70±7.98b	20.02±1.79a
F _N	29.74 **	56.26 **	43.33 **	102.85 **	0.01	0.01	0.02
F _{CS}	7.49 *	6.75 *	—	57.25 **	1.39	17.88 **	—
F _N ×F _{CS}	3.10	0.02	—	0.58	0.29	0.29	—

¹⁾ N₀: 不施氮 No nitrogen application; N₁: 施氮 Nitrogen application. F_N: 施氮水平的 F 值 F value of nitrogen application level; F_{CS}: 生育期的 F 值 F value of growth stage. 同列中不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著 Different lowercases in the same column indicate the significant difference at 0.05 level. —: 无数据 No datum. **: P<0.01; *: P<0.05.

2.3 施氮对现蕾期和开花期甜菊全碳含量、碳氮比及可溶性糖含量的影响

施氮对现蕾期和开花期甜菊不同器官中全碳含量、碳氮比及可溶性糖含量的影响见表 4。由表 4 可以看出:同一生育期施氮与不施氮处理间及同一施氮水平现蕾期与开花期间甜菊各器官中的全碳含量均无显著变化。方差分析结果表明:施氮水平和生育期

及二者的交互作用对甜菊不同器官中全碳含量均无显著影响。

由表 4 还可以看出:与不施氮处理相比,施氮处理中,现蕾期甜菊茎和叶片中碳氮比分别降低了 20.07% 和 23.11%,开花期甜菊茎、叶片和花中碳氮比分别降低了 22.91%、18.61% 和 16.00%,其中,现蕾期和开花期施氮处理甜菊叶片中碳氮比显著低于不施

氮处理。方差分析结果显示:施氮水平对甜菊茎和叶片中碳氮比有显著或极显著影响,但对花中碳氮比无显著影响;生育期对甜菊茎中碳氮比有显著影响,但对叶片中碳氮比无显著影响;施氮水平与生育期的交互作用对甜菊茎和叶片中碳氮比均无显著影响。

由表 4 还可以看出:与不施氮处理相比,施氮处理中,现蕾期甜菊茎中可溶性糖含量显著升高,开花期甜菊茎和花中可溶性糖含量有所升高,但无显著变化;现蕾期和开花期甜菊叶片中可溶性糖含量分别降低了 8.15% 和 16.40%。不施氮处理中,与现蕾期相比,开花期甜菊茎中可溶性糖含量显著升高,而叶片中可溶性糖含量显著降低;施氮处理中,与现蕾期相

比,开花期甜菊茎中可溶性糖含量无显著变化,叶片中可溶性糖含量显著降低。方差分析结果表明:施氮水平和生育期对甜菊茎和叶片中可溶糖含量均有显著或极显著影响,但是施氮水平与生育期的交互作用对甜菊茎和叶片中可溶性糖含量无显著影响。

2.4 施氮对现蕾期和开花期甜菊叶片甜菊糖苷含量及累积量的影响

施氮对现蕾期和开花期甜菊叶片甜菊糖苷含量及累积量的影响见表 5。由表 5 可以看出:与不施氮处理相比,施氮处理中,现蕾期甜菊叶片中甜菊苷、莱鲍迪苷 A、莱鲍迪苷 C 和总甜菊糖苷含量显著降低,分别降低了 15.82%、59.56%、51.32% 和 46.56%;开花

表 4 施氮对现蕾期和开花期甜菊不同器官中全碳含量、碳氮比及可溶性糖含量的影响 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 4 Effect of nitrogen application on total carbon content, carbon/nitrogen ratio, and soluble sugar content in different organs of *Stevia rebaudiana* Bertoni at flowering bud stage and flowering stage ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

处理 Treatment	不同器官中全碳含量/(mg·kg ⁻¹) Total carbon content in different organs			不同器官中碳氮比 Carbon/nitrogen ratio in different organs			不同器官中可溶性糖含量/(mg·kg ⁻¹) Soluble sugar content in different organs		
	茎 Stem	叶片 Leaf	花 Flower	茎 Stem	叶片 Leaf	花 Flower	茎 Stem	叶片 Leaf	花 Flower
现蕾期 Flowering bud stage									
N ₀	450.51±15.03a	410.51±63.36a	—	73.76±13.93a	24.06±3.76a	—	57.02±7.02b	125.02±9.85a	—
N ₁	463.84±25.24a	406.07±17.10a	—	58.96±8.83ab	18.50±0.52b	—	76.83±6.16a	114.83±5.41ab	—
开花期 Flowering stage									
N ₀	447.18±58.53a	419.40±33.39a	456.07±20.36a	56.95±4.62ab	24.07±1.96a	26.06±7.57a	80.60±9.60a	102.29±3.81bc	84.86±7.42a
N ₁	429.40±15.75a	429.40±5.09a	472.73±11.71a	43.90±8.89b	19.59±0.19b	21.89±1.66a	91.90±13.43a	85.51±16.01d	86.73±5.09a
F _N	0.01	0.02	1.08	6.25 *	16.53 **	7.94	8.08 *	5.50 *	0.78
F _{GS}	0.94	0.57	—	8.18 *	0.20	—	12.46 **	20.48 **	—
F _N ×F _{GS}	0.64	0.12	—	0.03	0.19	—	0.60	0.33	—

¹⁾ N₀: 不施氮 No nitrogen application; N₁: 施氮 Nitrogen application. F_N: 施氮水平的 F 值 F value of nitrogen application level; F_{GS}: 生育期的 F 值 F value of growth stage. 同列中不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著 Different lowercases in the same column indicate the significant difference at 0.05 level. —: 无数据 No datum. **: P<0.01; *: P<0.05.

表 5 施氮对现蕾期和开花期甜菊叶片中甜菊糖苷含量及累积量的影响 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 5 Effect of nitrogen application on content and accumulation of steviol glycoside in leaf of *Stevia rebaudiana* Bertoni at flowering bud stage and flowering stage ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

处理 Treatment	甜菊糖苷含量/% Steviol glycoside content				单株总甜菊糖苷累积量/g Total steviol glycoside accumulation per plant
	甜菊苷 Stevioside	莱鲍迪苷 A Rebaudioside A	莱鲍迪苷 C Rebaudioside C	总计 Total	
现蕾期 Flowering bud stage					
不施氮 No nitrogen application	3.54±0.31a	8.21±1.00a	0.76±0.11a	12.50±1.41a	0.35±0.07a
施氮 Nitrogen application	2.98±0.11b	3.32±0.18b	0.37±0.03b	6.68±0.25bc	0.43±0.07a
开花期 Flowering stage					
不施氮 No nitrogen application	3.29±0.21ab	3.35±0.03b	0.34±0.03b	6.98±0.25b	0.33±0.06a
施氮 Nitrogen application	2.26±0.17c	2.73±0.49b	0.19±0.08c	5.19±0.73c	0.41±0.13a
F _N	42.21 **	71.25 **	39.82 **	66.17 **	2.28
F _{GS}	15.56 **	69.77 **	50.36 **	55.91 **	0.15
F _N ×F _{GS}	3.72	42.78 **	8.05 *	18.49 **	0.00

¹⁾ F_N: 施氮水平的 F 值 F value of nitrogen application level; F_{GS}: 生育期的 F 值 F value of growth stage. 同列中不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著 Different lowercases in the same column indicate the significant difference at 0.05 level. **: P<0.01; *: P<0.05.

期甜菊叶片中甜菊苷、莱鲍迪苷 C 和总甜菊糖苷含量显著降低,分别降低了 31.31%、44.12% 和 25.64%, 莱鲍迪苷 A 含量无显著变化。与现蕾期相比,不施氮处理中开花期甜菊叶片中莱鲍迪苷 A、莱鲍迪苷 C 和总甜菊糖苷含量显著降低,甜菊苷含量无显著变化;施氮处理中开花期甜菊叶片中甜菊苷和莱鲍迪苷 C 含量显著降低,莱鲍迪苷 A 和总甜菊糖苷含量无显著变化。方差分析结果表明:施氮水平和生育期对甜菊叶片中各甜菊糖苷含量均有极显著影响,施氮水平与生育期的交互作用对莱鲍迪苷 A、莱鲍迪苷 C 和总甜菊糖苷含量有显著或极显著影响,对甜菊苷含量的影响不显著。

由表 5 还可以看出:在同一生育期,与不施氮处理相比,施氮处理甜菊单株总甜菊糖苷累积量有所升高,但差异未达到显著水平。方差分析结果表明:施氮水平和生育期及二者的交互作用对甜菊单株总甜菊糖苷累积量无显著影响。

2.5 甜菊叶片中总甜菊糖苷含量及其他因子间的相关性分析

甜菊叶片中总甜菊糖苷含量及其他因子间的 Pearson 相关系数见表 6。由表 6 可以看出:甜菊叶片中总甜菊糖苷含量与全氮含量和干质量间分别呈显著和极显著负相关关系,与碳氮比和可溶性糖含量间分别呈显著和极显著正相关关系,与全碳含量无显著相关关系。此外,甜菊叶片干质量与全氮含量间呈极显著正相关关系,但是与碳氮比和可溶性糖含量分别呈极显著和显著负相关关系。

表 6 甜菊叶片中总甜菊糖苷含量及其他因子间的 Pearson 相关系数¹⁾

Table 6 Pearson correlation coefficient among total steviol glycoside content and other factors of leaf of *Stevia rebaudiana* Bertoni¹⁾

因子 Factor	叶片中部分指标间的 Pearson 相关系数 Pearson correlation coefficient among some indexes of leaf					
	C _{TSG}	C _{TN}	C _{TC}	C/N	m	C _{SS}
C _{TSG}	1.000					
C _{TN}	-0.631 *	1.000				
C _{TC}	0.004	0.162	1.000			
C/N	0.585 *	-0.830 **	0.409	1.000		
m	-0.800 **	0.771 **	-0.052	-0.742 **	1.000	
C _{SS}	0.791 **	-0.337	-0.045	0.309	-0.568 *	1.000

¹⁾ C_{TSG}: 叶片中总甜菊糖苷含量 Total steviol glycoside content in leaf; C_{TN}: 叶片中全氮含量 Total nitrogen content in leaf; C_{TC}: 叶片中全碳含量 Total carbon content in leaf; C/N: 叶片中碳氮比 Carbon/nitrogen ratio of leaf; m: 叶片干质量 Dry mass of leaf; C_{SS}: 叶片中可溶性糖含量 Soluble sugar content in leaf. **: P<0.01; *: P<0.05.

3 讨论和结论

作为氨基酸、酶以及核酸等物质的重要组成部分,氮素是植物生长和代谢过程中必需的大量营养元素,并在农业生产中发挥着不可或缺的作用。研究表明:氮素缺失会导致植物氮代谢过程受到抑制、叶片光合速率下降、叶绿素降解以及发育迟缓等问题,进而限制作物产量^[19,20]。本研究中,与不施氮相比,增施氮肥总体上显著提高甜菊的氮素吸收累积并促进干质量形成。此外,与现蕾期相比,施氮对开花期甜菊叶片全氮含量无显著影响但是导致叶片中氮素分配比例显著降低,这主要是由于花器官发育导致植物源库关系发生变化。

植物代谢进程及作物品质形成受到氮素的调控。研究表明:增加氮素供应通常会促进植物体内氨基酸、蛋白质以及含氮生物碱的生物合成,但是对植物体内碳基次级代谢产物如酚类和萜类化合物合成产生负面影响^[21-24]。甜菊糖苷是决定甜菊品质和经济价值的一类萜类化合物。本研究结果显示:与不施氮相比,施氮会抑制现蕾期和开花期甜菊叶片中不同甜菊糖苷组分的含量。矿质营养对碳基次级代谢产物合成的调控与植物“生长-分化权衡”以及生物量引起的“稀释效应”有关^[21,25]。这 2 种机制在氮营养背景下并不冲突,即在氮充足条件下,植物优先促进生长和生物量形成,因而导致了碳基次级代谢过程的抑制或相对“稀释”。本研究中,施氮对甜菊叶片全氮含量和碳氮比的影响显著高于茎,表明叶片碳氮代谢对土壤氮素水平变化的敏感性^[21],同时也强调了氮肥管理在以叶片为主要收获器官的甜菊生产中的重要性。本研究发现,甜菊叶片可溶性糖含量和总甜菊糖苷含量均受到施氮处理的负调控且叶片可溶性糖含量与总甜菊糖苷含量之间存在极显著正相关关系。高氮供应对植物可溶性糖含量及碳基次级代谢产物的协同负调控作用也在卡琪花蒂玛 (*Labisia pumila* Benth.)^[26] 和杭白菊 (*Chrysanthemum × morifolium* Ramat.)^[27] 的相关研究中得到印证。上述结果表明:可溶性糖作为碳基次级代谢产物合成底物,在甜菊糖苷对氮素响应中发挥决定性作用^[28,29]。

生育期是影响植物生长发育和生理代谢的关键因子。已有研究表明:从苗期到现蕾期,甜菊叶片中甜菊糖苷含量随营养生长进程逐渐增加,但是在

甜菊开花后出现不同程度的下降^[30,31]。Yang等^[32]通过室内试验发现,与现蕾期相比,开花后甜菊叶片中甜菊糖苷含量及甜菊糖苷合成相关基因的表达水平显著降低。本研究中,在施氮和不施氮处理中,开花期甜菊叶片不同甜菊糖苷组分含量均较现蕾期出现不同程度的降低,再次表明现蕾期是甜菊叶片收获的最佳时期。生育期还极显著影响甜菊叶片氮素分配比例和可溶性糖含量,这表明甜菊开花后源库关系发生变化,甜菊向花器官转移营养物质以促进花器官发育^[33],这会导致叶片可溶性糖含量的降低并抑制甜菊糖苷合成。此外,氮素也可以通过调控源库关系影响开花期甜菊碳代谢。研究表明:增施氮肥会通过增加生殖器官(如花和果实)的大小促进库容,并促进光合碳同化产物(可溶性糖)从营养器官向生殖器官转运^[34]。因此,甜菊开花期较高的叶片氮素水平会促进碳氮物质向花器官转运,并对叶片可溶性糖及甜菊糖苷含量产生进一步的负面影响。

环境条件导致的生物量变化会“权衡”作物品质,并对作物产量及品质综合调控有重要影响。例如:在大气CO₂浓度升高或土壤水分含量降低等环境条件下,小麦(*Triticum aestivum* Linn.)和牧草的产量和品质之间也存在“权衡”关系^[35,36]。甜菊叶片中总甜菊糖苷累积量并未受到施氮水平和生育期的显著影响,这是叶片干质量增加及甜菊糖苷含量降低的“权衡”结果。

综上所述,施氮水平和生育期均会影响甜菊生长和叶片甜菊糖苷含量。与现蕾期相比,开花期甜菊叶片中可溶性糖和甜菊糖苷含量均显著降低,增施氮肥会促进可溶性糖向花器官转运并进一步加剧花后甜菊叶片中甜菊糖苷含量的降低。因此,在甜菊实际生产过程中,应在甜菊现蕾期及时采收叶片,同时减少甜菊生育后期的氮肥投入以减少叶片可溶性糖向花器官转运。

参考文献:

- [1] PHILIPPAERT K, PIRONET A, MESUERE M, et al. Steviol glycosides enhance pancreatic beta-cell function and taste sensation by potentiation of TRPM5 channel activity [J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 14733.
- [2] WINTER H, HUBER S C. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes [J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2010, 19(1): 31–67.
- [3] 杨永恒, 侯孟兰, 张 婷, 等. 甜菊β-葡萄糖苷酶活性与甜菊糖苷含量变化的研究[J]. *江苏农业科学*, 2020, 48(11): 187–191.
- [4] TAVARINI S, PAGANO I, GUIDI L, et al. Impact of nitrogen supply on growth, steviol glycosides and photosynthesis in *Stevia rebaudiana* Bertoni [J]. *Plant Biosystems*, 2015, 150(5): 953–962.
- [5] SUN Y, HOU M, MUR L A, et al. Nitrogen drives plant growth to the detriment of leaf sugar and steviol glycosides metabolisms in stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 141: 240–249.
- [6] BARBET-MASSIN C, GIULIANO S, ALLETTI L, et al. Nitrogen limitation alters biomass production but enhances steviol glycoside concentration in *Stevia rebaudiana* Bertoni [J]. *PLOS ONE*, 2015, 10(7): e0133067.
- [7] KARIMI M, MORADI K. The response of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) to nitrogen supply under greenhouse condition [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2018, 41(13): 1695–1704.
- [8] PAL P K, KUMAR R, GULERIA V, et al. Crop-ecology and nutritional variability influence growth and secondary metabolites of *Stevia rebaudiana* Bertoni [J]. *BMC Plant Biology*, 2015, 15(1): 1–6.
- [9] UÇAR E, TURGUT K, ÖZYİĞİT Y, et al. The effect of different nitrogen levels on yield and quality of stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2018, 41(9): 1130–1137.
- [10] MAHAJAN M, ANURADHA, PAL P K. Attaining higher biomass and steviol glycosides yields of *Stevia rebaudiana* through adjustment of plant population and nitrogen rate [J]. *Industrial Crops and Products*, 2021, 65: 113426.
- [11] SUN Y, XU X, ZHANG T, et al. Comparative transcriptome analysis provides insights into steviol glycoside synthesis in stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) leaves under nitrogen deficiency [J]. *Plant Cell Reports*, 2021, 40: 1709–1722.
- [12] KROUK G, RUFFEL S, GUTIÉRREZ R A, et al. A framework integrating plant growth with hormones and nutrients [J]. *Trends in Plant Science*, 2011, 16(4): 178–182.
- [13] 舒世珍. 中国甜菊栽培及应用技术 [M]. 北京: 农业出版社, 1994: 108–109.
- [14] SUN Y, YANG Y, HOU M, et al. Optimized nitrogen topdressing strategies enhance steviol glycoside productivity in stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) plants [J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2020, 20(3): 1133–1143.
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2018: 264–268.
- [16] SHAW K. Determination of organic carbon in soil and plant material [J]. *Journal of Soil Science*, 1959, 10(2): 316–326.
- [17] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2006: 202–204.
- [18] 孙玉明, 张 婷, 徐晓洋, 等. 氮素和光照对甜菊生长、氮素吸收和甜菊糖苷相关指标的影响 [J]. *植物资源与环境学报*, 2021, 30(2): 12–18.
- [19] SINCLAIR T R, RUFTY T W. Nitrogen and water resources

- commonly limit crop yield increases, not necessarily plant genetics [J]. *Global Food Security*, 2012, 1(2): 94–98.
- [20] 张迎颖, 宋雪飞, 徐佳兵, 等. 不同氮质量浓度对凤眼蓝生长和生理指标尤其是氮代谢关键酶活性的影响[J]. *植物资源与环境学报*, 2021, 30(6): 39–46.
- [21] SUN Y, GUO J, LI Y, et al. Negative effects of the simulated nitrogen deposition on plant phenolic metabolism: a meta-analysis [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 719: 137442.
- [22] QU R, CAO Y, ZHANG H, et al. Transcriptome analysis of nitrogen metabolism, transcription factors, and indigoid biosynthesis in *Isatis indigotica* Fort. response to nitrogen availability [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2021, 40(3): 1181–1197.
- [23] 凌岩, 秦健, 尚旭岚, 等. 施氮量对青钱柳幼苗生长和总酚积累的影响[J]. *植物资源与环境学报*, 2020, 29(4): 45–51.
- [24] 岳喜良, 秦健, 洪香香, 等. 氮素水平对青钱柳叶片主要次生代谢物含量和抗氧化能力的影响[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2020, 44(2): 35–42.
- [25] MASSAD T J, DYER L A, VEGA C G. Costs of defense and a test of the carbon-nutrient balance and growth-differentiation balance hypotheses for two co-occurring classes of plant defense [J]. *PLOS ONE*, 2012, 7(10): e47554.
- [26] IBRAHIM M H, JAAFAR H Z E, RAHMAT A, et al. The relationship between phenolics and flavonoids production with total non structural carbohydrate and photosynthetic rate in *Labisia pumila* Benth. under high CO₂ and nitrogen fertilization [J]. *Molecules*, 2011, 16: 162–174.
- [27] LIU W, ZHU D W, LIU D H, et al. Influence of nitrogen on the primary and secondary metabolism and synthesis of flavonoids in *Chrysanthemum morifolium* Ramat [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2010, 33(2): 240–254.
- [28] ARNOLD T, APPEL H, PATEL V, et al. Carbohydrate translocation determines the phenolic content of *Populus foliage*: a test of the sink-source model of plant defense [J]. *New Phytologist*, 2004, 164(1): 157–164.
- [29] SUN Y, HUANG X, ZHANG T, et al. Potassium deficiency inhibits steviol glycosides synthesis by limiting leaf sugar metabolism in stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) plants [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2021, 20(11): 2932–2943.
- [30] 朱娟, 肖辉, 刘繁桂. 甜菊全生育期含糖量变化调查[J]. *中国糖料*, 2012(2): 55–56.
- [31] CEUNEN S, GEUNS J M C. Influence of photoperiodism on the spatio-temporal accumulation of steviol glycosides in *Stevia rebaudiana* (Bertoni) [J]. *Plant Science*, 2013, 198: 72–82.
- [32] YANG Y, HUANG S, HAN Y, et al. Environmental cues induce changes of steviol glycosides contents and transcription of corresponding biosynthetic genes in *Stevia rebaudiana* [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2015, 86: 174–180.
- [33] FAN K, ZHANG Q, LIU M, et al. Metabolomic and transcriptional analyses reveal the mechanism of C, N allocation from source leaf to flower in tea plant (*Camellia sinensis* L.) [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2019, 232: 200–208.
- [34] YAN B, WU B, GAO Y, et al. Effects of nitrogen and phosphorus on the regulation of nonstructural carbohydrate accumulation, translocation and the yield formation of oilseed flax [J]. *Field Crops Research*, 2018, 219: 229–241.
- [35] PLEIJEL H, UDDLING J. Yield vs. quality trade-offs for wheat in response to carbon dioxide and ozone [J]. *Global Change Biology*, 2012, 18(2): 596–605.
- [36] GRANT K, KREYLING J, DIENSTBACH L F H, et al. Water stress due to increased intra-annual precipitation variability reduced forage yield but raised forage quality of a temperate grassland [J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2014, 186: 11–22.

(责任编辑: 张明霞)

《植物资源与环境学报》启事

为了扩大科技期刊的信息交流、充分实现信息资源共享,《植物资源与环境学报》已先后加入“中国学术期刊(光盘版)”、“万方数据——数字化期刊群”和“中文科技期刊数据库”等网络文献资源数据库,凡在本刊发表的论文将编入数据库供上网交流、查阅及检索,作者的著作权使用费与本刊稿酬一次性给付,不再另付。如作者不同意将文章收编入数据库,请在来稿时声明,本刊将做适当处理。

《植物资源与环境学报》的投稿网址为 <http://zwzy.cnbg.net>; 联系电话: 025-84347014; E-mail: zwzybjb@163.com; QQ: 2219161478。

《植物资源与环境学报》编辑部
2022-05