

## 缺氮和复氮处理对菘蓝幼苗生长及部分生理生化指标的影响

叶冰竹, 施晟璐, 张润枝, 聂鹏卿, 唐晓清<sup>①</sup>, 王康才

(南京农业大学园艺学院, 江苏 南京, 210095)

**摘要:** 为确定菘蓝 (*Isatis indigotica* Fort.) 种植过程中氮肥的合理施用方式, 对正常供氮 (对照, Hoagland 基本营养液培养 15 d)、缺氮 (缺氮营养液培养 15 d) 和复氮 (先用 Hoagland 基本营养液培养 6 d, 然后用缺氮营养液培养 4 d, 最后用 Hoagland 基本营养液培养 5 d) 条件下菘蓝幼苗的生长、光合和气体交换参数及相关酶活性指标进行分析。结果表明: 经缺氮和复氮处理后菘蓝幼苗的单株根和叶片的鲜质量和干质量均高于对照组; 其中, 经复氮处理后单株根鲜质量及单株叶片鲜质量和干质量均最高, 经缺氮处理后单株根干质量最高, 且均与对照组有显著差异。经缺氮和复氮处理后叶片的净光合速率 (Pn)、气孔导度 (Gs) 和蒸腾速率 (Tr) 均显著低于对照组; 其中, 复氮组的 Pn 值最低, 缺氮组的 Gs 和 Tr 值均最低; 而 3 个处理组间的胞间 CO<sub>2</sub> 浓度 (Ci) 无显著差异。经缺氮和复氮处理后叶片的谷氨酸脱氢酶 (GDH)、谷氨酸合成酶 (GOGAT)、过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POD) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 活性均低于对照组, 丙二醛 (MDA) 含量显著高于对照组; 其中, 复氮组叶片的 GDH、GOGAT 和 CAT 活性均最低, 而缺氮组叶片的 POD 和 SOD 活性均最低, 且均与对照组有显著差异。研究结果显示: 缺氮处理有利于菘蓝幼苗的干物质积累, 但不利于其光合作用和气体交换, 对 GDH 等相关酶活性也均有一定的抑制作用; 而经复氮处理后叶片的气体交换参数及部分酶活性均有所提高, 因此, 在菘蓝栽植过程中建议采用短期缺氮的施肥方式以提高其产量。

**关键词:** 菘蓝; 缺氮处理; 复氮处理; 干物质积累; 光合和气体交换参数; 酶活性

中图分类号: Q945.79; S567.2; R282.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2015)04-0083-06

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2015.04.11

**Effects of nitrogen deficiency and nitrogen recovery treatments on growth and some physiological and biochemical indexes of *Isatis indigotica* seedlings** YE Bingzhu, SHI Shenglu, ZHANG Runzhi, NIE Pengqing, TANG Xiaoqing<sup>①</sup>, WANG Kangcai (College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2015, 24(4): 83-88

**Abstract:** In order to confirm reasonable application mode of nitrogen fertilizer during planting process of *Isatis indigotica* Fort., indexes of growth, photosynthetic and gas exchange parameters and related enzyme activities of *I. indigotica* seedlings were analyzed under conditions of normal nitrogen supplying (the control, cultured for 15 d by Hoagland basic nutrient solution), nitrogen deficiency (cultured for 15 d by nitrogen deficiency nutrient solution) and nitrogen recovery (firstly, cultured for 6 d by Hoagland basic nutrient solution, then, cultured for 4 d by nitrogen deficiency nutrient solution, finally, cultured for 5 d by Hoagland basic nutrient solution). The results show that after nitrogen deficiency and nitrogen recovery treatments, fresh and dry weights of root and leaf per plant of *I. indigotica* seedlings all are higher than those of the control group. In which, fresh weight of root per plant, fresh and dry weights of leaf per plant after nitrogen recovery treatment all are the highest, dry weight of root per plant after nitrogen deficiency treatment is the highest, and all of them have significant differences to those of the control group. After nitrogen deficiency and nitrogen recovery treatments, net photosynthetic rate (Pn),

收稿日期: 2015-04-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31171486); 国家级大学生创新创业训练计划项目(201410307026)

作者简介: 叶冰竹(1994—), 女, 浙江湖州人, 本科在读, 主要从事药用植物栽培与中药质量。

<sup>①</sup>通信作者 E-mail: xqtang@njau.edu.cn

stomatal conductance (Gs) and transpiration rate (Tr) of leaf all are significantly lower than those of the control group. In which, Pn value of nitrogen recovery group is the lowest, both Gs and Tr values of nitrogen deficiency group are the lowest, while there is no significant difference in intercellular CO<sub>2</sub> concentration (Ci) among three treatment groups. After nitrogen deficiency and nitrogen recovery treatments, activities of glutamic dehydrogenase (GDH), glutamate synthase (GOGAT), catalase (CAT), peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) in leaf all are lower than those of the control group, and malondialdehyde (MDA) content is significantly higher than that of the control group. In which, activities of GDH, GOGAT and CAT in leaf of nitrogen recovery group all are the lowest, while both activities of POD and SOD in leaf of nitrogen deficiency group are the lowest with significant difference to those of the control group. It is suggested that nitrogen deficiency treatment is beneficial for *I. indigotica* seedlings to accumulate dry matter, but is not beneficial to its photosynthesis and gas exchange, and has a certain inhibition effect on related enzyme activities such as GDH, etc. While after nitrogen recovery treatment, gas exchange parameters and some enzyme activities of leaf have a little increase. Therefore, it is suggested that taking short-term nitrogen deficiency mode during planting process of *I. indigotica* is feasible to increase its yield.

**Key words:** *Isatis indigotica* Fort.; nitrogen deficiency treatment; nitrogen recovery treatment; dry matter accumulation; photosynthetic and gas exchange parameters; enzyme activity

氮素为植物生长过程中最重要的营养元素,它不但是植物的重要结构物质,而且是各种酶类的主要组成元素,对植物的生理代谢和生长均具有重要作用。氮素可通过影响植物叶绿素含量、光合速率、暗反应主要酶活性以及光呼吸速率等直接或间接影响植物的光合作用<sup>[1]</sup>。施肥量对于植物的产量和品质都具有一定的影响:施肥量过少,不能满足植物生长的基本需求,造成植株发育较差、矮小,叶片黄化,根部细长,产量偏低等问题<sup>[2]</sup>。施肥量过多,不但造成肥料浪费、增加生产成本以及污染环境等问题,且有可能影响植物的产量和品质,导致幼苗成活率下降<sup>[3]</sup>;对于药用植物来说,还很可能导致硝酸盐含量超标<sup>[4]</sup>,降低药材的品质。

菘蓝 (*Isatis indigotica* Fort.) 为十字花科 (Brassicaceae) 菘蓝属 (*Isatis* Linn.) 二年生草本植物,其干燥叶为常用中药材大青叶,具有清热解毒、凉血消斑的功效;其干燥根为中药材板蓝根,具有清热解毒、凉血消肿和利咽的功效<sup>[5]</sup>。在菘蓝栽培生产中不仅需要关注其根与叶的生物量积累,还需要关注其体内活性成分的积累,因而,在生产实践中为获得高产优质的板蓝根与大青叶药材,必须采取适当的栽培调控措施<sup>[6]</sup>,其中,对菘蓝栽培生产中氮营养影响效应的研究也逐渐受到人们的关注<sup>[7-8]</sup>。肖云华等<sup>[9]</sup>的研究结果表明:氮肥追施有利于提高菘蓝植株的净光合速率、蒸腾速率、气孔导度和胞间 CO<sub>2</sub> 浓度,但施氮肥量超过一定范围时其光合速率反而下降。造成菘蓝光合速率下降的原因可能是叶片氮含量增加导致

其氮同化和碳同化过程对能量的竞争增强,最终影响 CO<sub>2</sub> 的同化速率<sup>[10]</sup>。菘蓝体内靛蓝与靛玉红等活性成分积累与其氮素营养也无正相关性<sup>[7]</sup>,持续缺氮条件下菘蓝体内的靛蓝与靛玉红含量提高,可见适度的缺氮处理有可能刺激其体内的次生代谢。但氮素又是植物生长发育所必需的营养元素,因此在菘蓝的栽培生产中合理有效地利用氮素,对菘蓝药材产量提高及药用有效成分的积累具有重要意义。

鉴于此,作者采用水培法对缺氮和复氮条件下菘蓝幼苗的生长、光合和气体交换参数及叶片相关酶活性的变化进行分析,以期对菘蓝栽培生产过程中氮肥的高效利用研究提供参考依据,并为高质量和高品质大青叶药材的生产提供施肥策略。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试菘蓝种子产自山西运城。2014年7月7日,选择籽粒饱满且大小均匀的种子,用体积分数10% NaClO 溶液浸泡10 min,再用蒸馏水冲洗5 min后置于培养皿中,在昼温25℃、夜温15℃、光照时间18 h·d<sup>-1</sup>、光照度20 000 lx的人工气候培养箱中催芽72 h;待幼苗萌出后移入装有等体积蛭石和有机质的32孔穴盘中,每穴栽植1株,置于上述条件的人工气候培养箱中继续培养。待幼苗长至6或7片真叶时,将幼苗移入装有相同混合基质的塑料花盆(上口径23.5 cm、高度27.0 cm)中,每盆栽植3株,置于室内

自然光照下培养1个月,每2天浇1次水。在周转箱中加入6 L Hoagland 基本营养液,并在周转箱上加盖具40孔的泡沫板,将幼苗分别插在孔中,每孔1株,置于上述条件的人工气候培养箱中预培养7 d。

## 1.2 方法

1.2.1 处理方法 将经过预培养的幼苗分成3组,分别为对照组、缺氮组和复氮组,每组3个周转箱,视为3个重复。其中,对照组(正常供氮)用Hoagland基本营养液培养15 d;缺氮组用缺氮营养液培养15 d;复氮组先用Hoagland基本营养液培养6 d,然后用缺氮营养液培养4 d,再用Hoagland基本营养液培养5 d,总计培养时间15 d。各组每2天更换1次营养液。Hoagland基本营养液和缺氮营养液均为pH 6.0,均含 $616.18 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $272.18 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $1.14 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、 $0.08 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.22 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $2.86 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_3\text{BO}_3$ 、 $0.09 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_2\text{MoO}_4$ 和 $8.42 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{EDTA} \cdot \text{FeNa}$ ; Hoagland基本营养液中另含 $1180.75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 以及 $505.55 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{KNO}_3$ ;缺氮营养液中另含 $372.80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{KCl}$ 和 $555.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2$ 。

1.2.2 单株根和叶片质量的测定 处理结束当天在每个周转箱中随机选取10株幼苗,将根和叶片分开,用精度0.0001 g的分析天平分别称量单株根和叶片的鲜质量;然后置于105℃烘箱内杀青15 min,再于60℃烘干至恒质量,分别称量单株根和叶片的干质量。结果取平均值。

1.2.3 光合和气体交换参数的测定 处理结束当天的9:00至11:00,在室外用LI-6400便携式光合仪(美国LI-COR公司)测定植株由内至外完全展开的第2轮功能叶片中部的净光合速率(Pn)、气孔导度(Gs)、胞间CO<sub>2</sub>浓度(Ci)和蒸腾速率(Tr);测定时光

照强度设为 $1000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。每个周转箱均随机选取5株幼苗进行测定,每株重复测定5次,结果取平均值。

1.2.4 酶活性及丙二醛(MDA)含量的测定 采集每个周转箱中剩余25株幼苗的叶片,混匀,分别称取0.5 g新鲜叶片用于酶活性和MDA含量的测定。按照Zhang等<sup>[11]</sup>的方法制备酶粗提液,并参照Lin等<sup>[12]</sup>的方法测定谷氨酸脱氢酶(GDH)活性,参照Singh等<sup>[13]</sup>的方法测定谷氨酸合成酶(GOGAT)活性,均以1 min内A<sub>340</sub>下降0.001为1个酶活性单位。按照A084-3试剂盒(南京建成生物工程研究所)说明书的操作流程测定过氧化物酶(POD)活性。用50 mmol·L<sup>-1</sup>磷酸缓冲液(pH 7.8)制备酶粗提液,采用氮蓝四唑(NBT)还原法<sup>[14]</sup>测定超氧化物歧化酶(SOD)活性(以抑制50% NBT光氧化还原为1个酶活性单位),采用紫外吸收法<sup>[15]169-170</sup>测定过氧化氢酶(CAT)活性(以1 min内A<sub>240</sub>降低0.1为1个酶活性单位),采用硫代巴比妥酸(TBA)显色法<sup>[15]280-281</sup>测定MDA含量。各指标测定均3次重复,结果取平均值。

## 1.3 数据统计及分析

采用EXCEL 2003和SPSS 17.0统计分析软件对数据进行统计分析,并采用LSD法检验各组间的差异显著性。

## 2 结果和分析

### 2.1 缺氮和复氮处理对菘蓝幼苗单株根和叶片质量的影响

缺氮和复氮处理15 d对菘蓝幼苗单株根和单株叶片鲜质量和干质量的影响见表1。由表1可知,经缺氮和复氮处理后菘蓝幼苗单株根和单株叶片的鲜质量和干质量均高于对照组(正常供氮)。经缺氮处

表1 缺氮和复氮处理15 d对菘蓝幼苗单株根和叶片鲜质量和干质量的影响( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

Table 1 Effects of nitrogen deficiency and nitrogen recovery treatments for 15 d on fresh and dry weights of root and leaf per plant of *Isatis indigotica* Fort. seedlings ( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

处理组 Treatment group	根鲜质量/g Fresh weight of root	根干质量/g Dry weight of root	叶片鲜质量/g Fresh weight of leaf	叶片干质量/g Dry weight of leaf
对照组 The control group	0.283 0±0.018 9b	0.029 1±0.011 2b	3.346 7±1.028 8b	0.240 0±0.089 1b
缺氮组 Nitrogen deficiency group	0.469 0±0.239 7b	0.065 6±0.027 4a	3.965 6±1.455 0ab	0.281 0±0.098 4b
复氮组 <sup>2)</sup> Nitrogen recovery group <sup>2)</sup>	0.726 0±0.315 8a	0.040 2±0.016 6b	4.960 0±1.238 7a	0.493 0±0.139 2a

<sup>1)</sup> 同列中不同的小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ) Different small letters in the same column indicate the significant difference ( $P < 0.05$ ).

<sup>2)</sup> 先用Hoagland基本营养液培养6 d,然后用缺氮营养液培养4 d,最后用Hoagland基本营养液培养5 d Firstly, cultured for 6 d by Hoagland basic nutrient solution, then, cultured for 4 d by nitrogen deficiency nutrient solution, finally, cultured for 5 d by Hoagland basic nutrient solution.

理后,单株根干质量最高,较对照组提高 125.43%,差异显著( $P < 0.05$ );但单株根和单株叶片鲜质量以及单株叶片干质量均略高于对照组,且差异不显著( $P > 0.05$ )。经复氮处理后,单株根鲜质量和单株叶片干质量均最高,分别较对照组高 156.54% 和 105.42%,且与缺氮组和对照组间存在显著差异;单株根干质量略高于对照组但显著低于缺氮组;单株叶片鲜质量均高于缺氮组和对照组,与对照组有显著差异(较对照组升高 48.21%),但与缺氮组无显著差异。

## 2.2 缺氮和复氮处理对菘蓝幼苗叶片光合和气体交换参数的影响

缺氮和复氮处理 15 d 对菘蓝幼苗叶片光合和气体交换参数的影响见表 2。由表 2 可见,经缺氮和复氮处理后菘蓝幼苗叶片的净光合速率(Pn)差异不显著( $P > 0.05$ ),但均显著低于对照组( $P < 0.05$ )。其中,经缺氮处理后菘蓝幼苗叶片的 Pn 值较对照组下降 13.69%,而经复氮处理后叶片的 Pn 值分别较对照组和缺氮组下降 18.05% 和 5.06%。

由表 2 还可见:经缺氮和复氮处理后菘蓝幼苗叶片的气孔导度(Gs)和蒸腾速率(Tr)均显著低于对照

组,但这 2 个处理组间的 Gs 和 Tr 值均无显著差异。其中,经缺氮处理后叶片的 Gs 和 Tr 值分别较对照组下降 36.36% 和 33.04%;而经复氮处理后叶片的 Gs 和 Tr 值分别较对照组下降 27.27% 和 22.02%,但较缺氮组提高 14.29% 和 16.44%。

3 个处理组间菘蓝幼苗叶片的胞间 CO<sub>2</sub> 浓度(Ci)无显著差异,其中,对照组叶片的 Ci 值最高、缺氮组叶片的 Ci 最低;经缺氮处理后叶片的 Ci 值较对照组下降 9.97%;而经复氮处理后叶片的 Ci 较对照组下降 4.06%,但较缺氮组提高 6.57%。

## 2.3 缺氮和复氮处理对菘蓝幼苗叶片部分酶活性和丙二醛含量的影响

缺氮和复氮处理 15 d 对菘蓝幼苗叶片谷氨酸脱氢酶(GDH)、谷氨酸合成酶(GOGAT)、过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性以及丙二醛(MDA)含量的影响见表 3。

由表 3 可见:对照组(正常供氮)菘蓝幼苗叶片的 GDH、GOGAT、POD、SOD 和 CAT 活性均最高,而经复氮处理后叶片的 GDH、GOGAT 和 CAT 活性均最低,经缺氮处理后叶片的 POD 和 SOD 活性均最低。3 个

表 2 缺氮和复氮处理 15 d 对菘蓝幼苗叶片光合和气体交换参数的影响( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

Table 2 Effects of nitrogen deficiency and nitrogen recovery treatments for 15 d on photosynthetic and gas exchange parameters of leaf of *Isatis indigotica* Fort. seedlings ( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

处理组 Treatment group	Pn/ $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	Gs/ $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	Ci/ $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$	Tr/ $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
对照组 The control group	12.13±0.10a	0.22±0.00a	287.33±18.01a	3.36±0.10a
缺氮组 Nitrogen deficiency group	10.47±0.55b	0.14±0.02b	258.67±17.21a	2.25±0.30b
复氮组 <sup>2)</sup> Nitrogen recovery group <sup>2)</sup>	9.94±0.61b	0.16±0.02b	275.67±1.16a	2.62±0.31b

<sup>1)</sup> Pn: 净光合速率 Net photosynthetic rate; Gs: 气孔导度 Stomatal conductance; Ci: 胞间 CO<sub>2</sub> 浓度 Intercellular CO<sub>2</sub> concentration; Tr: 蒸腾速率 Transpiration rate. 同列中不同的小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ) Different small letters in the same column indicate the significant difference ( $P < 0.05$ ).

<sup>2)</sup> 先用 Hoagland 基本营养液培养 6 d, 然后用缺氮营养液培养 4 d, 最后用 Hoagland 基本营养液培养 5 d Firstly, cultured for 6 d by Hoagland basic nutrient solution, then, cultured for 4 d by nitrogen deficiency nutrient solution, finally, cultured for 5 d by Hoagland basic nutrient solution.

表 3 缺氮和复氮处理 15 d 对菘蓝幼苗叶片部分酶活性和丙二醛含量的影响( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

Table 3 Effects of nitrogen deficiency and nitrogen recovery treatments for 15 d on some enzyme activities and malondialdehyde content in leaf of *Isatis indigotica* Fort. seedlings ( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

处理组 Treatment group	不同酶的活性 Activity of different enzymes					MDA 含量 MDA content
	GDH	GOGAT	POD	SOD	CAT	
对照组 The control group	1.413±0.046a	0.280±0.020a	38.533±0.266a	39.793±1.516a	89.000±3.000a	51.183±1.586b
缺氮组 Nitrogen deficiency group	1.096±0.026b	0.200±0.038b	26.966±0.206c	16.298±1.928c	86.000±3.000a	58.860±3.420a
复氮组 <sup>2)</sup> Nitrogen recovery group <sup>2)</sup>	0.844±0.038c	0.124±0.000c	29.302±0.311b	22.503±1.033b	66.000±3.464b	63.226±1.195a

<sup>1)</sup> GDH: 谷氨酸脱氢酶 Glutamic dehydrogenase ( $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ); GOGAT: 谷氨酸合成酶 Glutamate synthase ( $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ); POD: 过氧化物酶 Peroxidase ( $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ ); SOD: 超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase ( $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ ); CAT: 过氧化氢酶 Catalase ( $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ); MDA: 丙二醛 Malondialdehyde ( $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ ). 同列中不同的小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ) Different small letters in the same column indicate the significant difference ( $P < 0.05$ ).

<sup>2)</sup> 先用 Hoagland 基本营养液培养 6 d, 然后用缺氮营养液培养 4 d, 最后用 Hoagland 基本营养液培养 5 d Firstly, cultured for 6 d by Hoagland basic nutrient solution, then, cultured for 4 d by nitrogen deficiency nutrient solution, finally, cultured for 5 d by Hoagland basic nutrient solution.

处理组间叶片的 GDH、GOGAT、POD 和 SOD 活性均存在显著差异 ( $P < 0.05$ ); 而对对照组和缺氮组叶片的 CAT 活性无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 但它们与复氮组叶片的 CAT 活性均存在显著差异。其中, 经缺氮处理后叶片的 GDH、GOGAT 和 CAT 活性分别较对照组下降 22.43%、28.57% 和 3.37%; 而经复氮处理后叶片的 GDH、GOGAT 和 CAT 活性分别较对照组下降 40.27%、55.71% 和 25.84%, 分别较缺氮组下降 22.99%、38.00% 和 23.26%。经缺氮处理后叶片的 POD 和 SOD 活性分别较对照组下降 30.02% 和 59.04%; 而经复氮处理后叶片的 POD 和 SOD 活性分别较对照组下降 23.96% 和 43.45%, 但分别较缺氮组提高 8.66% 和 38.07%。

由表 3 还可见: 对照组 (正常供氮) 菘蓝幼苗叶片的 MDA 含量最低, 而经复氮处理后叶片的 MDA 含量最高; 并且, 缺氮组和复氮组间叶片的 MDA 含量无显著差异, 但二者与对照组叶片的 MDA 含量均有显著差异。其中, 缺氮组叶片的 MDA 含量较对照组提高 15.00%, 而复氮组叶片的 MDA 含量较对照组和缺氮组分别提高 23.53% 和 7.42%。

### 3 讨论和结论

上述研究结果显示, 经缺氮处理后菘蓝幼苗单株根和叶片的鲜质量和干质量均高于对照组 (正常供氮), 这可能是因为氮素是植物生长的必需营养元素, 在缺氮条件下菘蓝幼苗为了获取更多的营养以适应氮素亏缺的状态而加快了自身的生长。而复氮组菘蓝幼苗的单株根鲜质量以及单株叶片鲜质量和干质量不但高于对照组而且还高于缺氮组, 说明在正常供氮过程中采取短时间缺氮处理能够促进菘蓝幼苗生长, 因此在生产过程中可考虑采用适当短期缺氮的处理方式以达到提高菘蓝产量的目的。值得注意的是, 虽然复氮组菘蓝幼苗的单株根鲜质量最高, 但其单株根干质量却并非最高, 说明其幼苗根的含水量较高, 具体原因有待进一步研究。

光合作用强度是衡量植物体内新陈代谢水平的重要指标之一; 氮不但是叶绿素的组成成分, 而且还是光合作用关键酶的基本构成元素, 因此, 植物光合作用的顺利完成需要充足的氮素。一般认为, 缺少氮素营养将导致植物体内光合作用关键酶无法正常合成, 从而降低植物的光合速率, 但在不同缺氮条件下

植物的光合参数变化较大。刘啸然<sup>[16]</sup>的研究结果表明: 适当降低氮供应量可增加水培黄瓜 (*Cucumis sativus* Linn.) 幼苗叶片的气孔导度, 有利于其光合速率的提高, 并且其胞间  $\text{CO}_2$  浓度和蒸腾速率的变化均与气孔导度的变化一致; 但是氮供应量过低将显著降低黄瓜幼苗的气孔导度和胞间  $\text{CO}_2$  浓度, 并使蒸腾速率降低, 从而导致其净光合速率明显降低。张艳玲等<sup>[17]</sup>的研究结果也表明: 黄瓜的叶绿素含量、净光合速率和气孔导度等指标均随施氮量的增加而逐渐升高。本研究中, 经缺氮处理后菘蓝幼苗叶片的净光合速率和气孔导度均显著下降, 胞间  $\text{CO}_2$  浓度降低、蒸腾速率明显减弱; 而经复氮处理后叶片的气孔导度、胞间  $\text{CO}_2$  浓度和蒸腾速率均一定程度高于缺氮组, 但其净光合速率却低于缺氮组。这可能是由于短时间缺氮处理可使菘蓝幼苗的呼吸作用增强, 而复氮处理对其呼吸作用有更明显的增强效应, 从而导致缺氮和复氮条件下菘蓝叶片的净光合速率均下降, 且经复氮处理后其光合速率降幅更大。虽然对照组 (正常供氮) 菘蓝幼苗叶片的净光合速率最高, 但其单株根和叶片的鲜质量和干质量均低于缺氮组和复氮组, 其原因有待进一步探讨。

在进行光合作用的同时, 植物体内也同步进行氮素同化过程, 通过体内谷氨酸脱氢酶 (GDH) 和谷氨酸合成酶 (GOGAT) 等多种酶的参与吸收环境中的  $\text{NO}_3^-$  或  $\text{NH}_4^+$  并合成氨基酸和蛋白质等含氮有机化合物<sup>[18]</sup>; 张智猛等<sup>[19]</sup>认为, 适当提高氮素水平有利于增强花生 (*Arachis hypogaea* Linn.) 体内 GDH 和 GOGAT 等氮素同化酶的活性, 但氮素水平过高却可导致谷氨酰胺合成酶 (GS) 和 GDH 活性的下降。本研究中, 在缺氮条件下由于缺少  $\text{NO}_3^-$  或  $\text{NH}_4^+$  使菘蓝幼苗无法进行正常的氮素同化过程, 从而导致 GDH 和 GOGAT 活性显著下降; 而在复氮条件下虽然环境中的氮素得到补充, 但由于菘蓝幼苗可能已经逐渐适应了前期的缺氮环境, 因而当氮素供应恢复正常水平时其氮素同化能力不能同步恢复 (恢复供氮培养仅 5 d), 具体机制有待进一步研究。

曹洋<sup>[20]</sup>的研究结果表明: 逆境条件下玉米 (*Zea mays* Linn.) 体内抗氧化酶活性的升高有利于及时清除产生的活性氧 (ROS); 但李向东等<sup>[21]</sup>认为, 花生叶片的衰老源于活性氧代谢失调, 与活性氧产生速率升高和以 SOD 为主导的保护酶系统遭到破坏密切相关。本研究中, 缺氮和复氮处理可导致菘蓝幼苗叶片

的 POD、SOD 和 CAT 活性明显下降,推测这可能是由于缺氮条件下菘蓝幼苗的自我调节能力遭到破坏,致使 POD、SOD 和 CAT 等保护酶的活性受到抑制;也可能是由于对照组(正常供氮)氮素浓度较高导致保护酶活性升高。然而,复氮组菘蓝幼苗叶片的 POD 和 SOD 活性显著高于缺氮组,而 CAT 活性则低于缺氮组,这可能是由于短期缺氮处理后恢复正常供氮可使菘蓝幼苗体内 POD 和 SOD 活性受到的抑制作用减弱,但幼苗在短时间内无法适应复氮环境,体内活性氧产生速率有所降低或 MDA 等破坏酶活性的物质大量产生致使体内的 CAT 活性仍受到抑制,具体原因有待进一步研究。经缺氮和复氮处理后菘蓝幼苗叶片的 MDA 含量显著高于对照组,说明在缺氮胁迫条件下菘蓝幼苗细胞内的自由基代谢平衡被破坏,致使自由基大量产生,加剧膜脂过氧化反应;而在复氮条件下,虽然经过短期缺氮处理后恢复正常供氮,但由于细胞膜已经遭到破坏,因而短期内 MDA 含量无法恢复至正常水平。

综上所述,经缺氮和复氮处理后菘蓝幼苗的干物质积累优于对照组(正常供氮),但缺氮和复氮处理均不利于其幼苗的光合作用,对 GDH 等相关酶活性也均有一定的抑制作用;并且经复氮处理后菘蓝叶片的气孔导度、胞间 CO<sub>2</sub> 浓度、蒸腾速率以及 POD 和 SOD 活性均高于缺氮组,因此,建议在菘蓝生产过程中采取短期缺氮的施肥方式,这不但有利于其产量的提高,同时还可以节省氮肥用量。

#### 参考文献:

- [1] 谷 岩, 胡文河, 徐百军, 等. 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[J]. 生态学报, 2013, 33(23): 7399-7407.
- [2] 陈 震, 赵杨景, 马小军, 等. 西洋参营养特点的研究: II. 氮、磷、钾营养元素对西洋参生长的影响[J]. 中草药, 1990, 21(5): 29-32, 36.
- [3] 薛永峰. 不同氮、磷水平对丹参产量和有效成分的影响[D]. 泰安: 山东农业大学农学院, 2008.
- [4] 李树殿. 栽培技术对药用植物有效成分含量的影响[J]. 中药材科技, 1980(1): 43-47.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010 年版(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 20-21.
- [6] 汪牧耘, 李雨晴, 朱毅斌, 等. 外源 5-氨基乙酰丙酸(ALA)对菘蓝苗期生长及有效成分含量的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2013, 22(2): 47-51.
- [7] 肖云华, 赵雪玲, 王康才, 等. 不同氮素形态和浓度对大青叶生物量与生物碱类成分的影响[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(17): 2755-2760.
- [8] 武新红. 矿质元素对菘蓝生长及有效成分积累的影响[D]. 湖南: 湖南农业大学生物科学技术学院, 2008: 36.
- [9] 肖云华, 吕婷婷, 唐晓清, 等. 追施氮肥量对菘蓝根的外形品质、干物质积累及活性成分含量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(2): 437-444.
- [10] 曹翠玲, 李生秀, 苗 芳. 氮素对植物某些生理生化过程影响的研究进展[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(4): 96-101.
- [11] ZHANG C F, PENG S B, PENG X X, et al. Response of glutamine synthetase isoforms to nitrogen sources in rice (*Oryza sativa* L.) roots[J]. Plant Science, 1997, 125: 163-170.
- [12] LIN C C, KAO C H. Disturbed ammonium assimilation is associated with growth inhibition of roots in rice seedlings caused by NaCl[J]. Plant Growth Regulation, 1996, 18: 233-238.
- [13] SINGH R P, SRIVASTAVA H M. Increase in glutamate synthase (NADH) activity in maize seedling in response to nitrate and ammonium nitrogen[J]. Physiologia Plantarum, 1986, 66: 413-416.
- [14] 张蜀秋, 李 云, 武维华. 植物生理学实验技术教程[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 191-193.
- [15] 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.
- [16] 刘啸然. 苗期低氮处理对水培黄瓜生长及 ASA 代谢相关酶活性的影响[D]. 北京: 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 2011.
- [17] 张艳玲, 宋述尧, 王 艳, 等. 氮素营养对黄瓜生长发育及产量的影响[J]. 吉林农业科学, 2008, 33(1): 43-46.
- [18] 张华珍, 徐恒玉. 植物氮素同化过程中相关酶的研究进展[J]. 北方园艺, 2011(20): 180-183.
- [19] 张智猛, 万书波, 宁堂原, 等. 氮素水平对花生氮素代谢及相关酶活性的影响[J]. 植物生态学报, 2008, 32(6): 1407-1416.
- [20] 曹 洋. 超高产玉米与普通玉米光合作用酶和保护酶活性比较研究[D]. 长春: 吉林农业大学农学院, 2008.
- [21] 李向东, 王晓云, 张高英, 等. 花生叶片衰老与活性氧代谢[J]. 中国油料作物学报, 2001, 23(2): 31-34.

(责任编辑: 佟金凤)