

施氮量对青钱柳幼苗生长和总酚积累的影响

凌岩^a, 秦健^a, 尚旭岚^{a,b}, 杨万霞^{a,b}, 方升佐^{a,b,①}

(南京林业大学: a. 林学院, b. 南方现代林业协同创新中心, 江苏 南京 210037)

摘要:以生长在人工气候室内的青钱柳(*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk.) 1年生平茬实生苗为试验材料,研究了不同施氮量[每盆施氮量分别为0(CK,对照)、3(N1)和6(N2)g]对青钱柳幼苗生长、全碳和全氮含量、碳氮比、总酚含量和积累量及叶中多酚合成途径关键酶活性的影响。结果表明:施氮量对青钱柳幼苗的株高、地径、不同器官的干质量、全氮含量、碳氮比及总酚含量和积累量,根和茎中全碳含量以及叶中苯丙氨酸解氨酶(PAL)、肉桂酸-4-羟化酶(C4H)和4-香豆酸辅酶A连接酶(4CL)活性均有显著($P<0.05$)影响。株高、地径和单株总干质量均在N1处理下最大,分别较对照增加41.9%、14.8%和43.3%。根、茎和叶中全碳和全氮含量在N2处理下最高,在对照下最低;碳氮比则在对照下最高,在N2处理下最低。根、茎和叶中总酚含量在对照下最高,分别为31.04、20.63和24.45 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,在N1处理下最低。单株根、茎和叶的总酚积累量以及总积累量也在对照下最高,分别为211.49、69.26、66.10和346.85 mg ,在N2处理下最低。叶中PAL、C4H和4CL活性的变化趋势与总酚含量一致,也在对照下最高,在N1处理下最低。Pearson相关性分析结果显示:根、茎和叶的碳氮比与单株对应器官的总酚积累量呈显著或极显著正相关。本研究结果可为青钱柳叶用林培育的氮肥合理施用提供参考。

关键词:青钱柳; 施氮量; 幼苗生长; 碳氮比; 总酚; 多酚合成途径关键酶

中图分类号: Q946.8; S723.7 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2020)04-0045-07

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2020.04.06

Effect of applying amount of nitrogen on growth and total phenolic accumulation in *Cyclocarya paliurus* seedling LING Yan^a, QIN Jian^a, SHANG Xulan^{a,b}, YANG Wanxia^{a,b}, FANG Shengzuo^{a,b,①}
(Nanjing Forestry University: a. College of Forestry, b. Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing 210037, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2020, 29(4): 45-51

Abstract: Taking one-year-old coppicing seedling of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk. growing in phytotron as experimental material, the effect of different applying amounts of nitrogen [applying amount of nitrogen per pot of 0 (CK, the control), 3 (N1), and 6 (N2) g, respectively] on growth, contents of total carbon and total nitrogen, ratio of carbon to nitrogen, content and accumulation of total phenolics, and key enzyme activity in polyphenol synthesis pathway of leaf of *C. paliurus* seedling was studied. The results show that applying amount of nitrogen has significant ($P<0.05$) effects on height, ground diameter, dry mass, total nitrogen content, ratio of carbon to nitrogen, and content and accumulation of total phenolics in different organs, total carbon content in root and stem, and activities of phenylalanine ammonia lyase (PAL), cinnamate-4-hydroxylase (C4H), and 4-coumarate CoA ligase (4CL) in leaf of *C. paliurus* seedling. Height, ground diameter, and total dry mass per plant are the largest under N1 treatment, with an increase by 41.9%, 14.8%, and 43.3% compared with the control, respectively. The contents of total carbon and total nitrogen in root, stem, and leaf are the highest under N2 treatment and the lowest under the control, and ratio of carbon to nitrogen is the largest under the control and the smallest under N2 treatment. Total phenolic content in root, stem, and leaf is the highest under the control, with a value of 31.04, 20.63, and 24.45 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively, and the lowest under

收稿日期: 2019-12-19

基金项目: 江苏省重点研发计划(现代农业)重点项目(BE2019388)

作者简介: 凌岩(1995—),女,安徽滁州人,硕士研究生,主要从事森林培育方面的研究。

①通信作者 E-mail: fangsz@njfu.edu.cn

N1 treatment. Total phenolic accumulation in root, stem and leaf and their total accumulation per plant are also the highest under the control, with a value of 211.49, 69.26, 66.10, and 346.85 mg, respectively, and the lowest under N2 treatment. The change trend of activities of PAL, C4H, and 4CL in leaf is consistent with total phenolic content, which is also the highest under the control and the lowest under N1 treatment. The result of Pearson correlation analysis shows that ratio of carbon to nitrogen of root, stem, and leaf is significantly or obviously significantly correlated with total phenolic accumulation in corresponding organ per plant. The result of this study can provide a reference for rational application of nitrogen fertilizer in leaf forest cultivation of *C. paliurus*.

Key words: *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk.; applying amount of nitrogen; seedling growth; ratio of carbon to nitrogen; total phenolics; key enzyme in polyphenol synthesis pathway

青钱柳 [*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk.] 隶属于胡桃科 (Juglandaceae) 青钱柳属 (*Cyclocarya* Iljinsk.), 又名青钱李、摇钱树等, 广泛分布于中国广西、四川和贵州等亚热带地区, 是中国特有多功能树种^[1]。已有研究表明: 青钱柳提取物具有多种生理活性, 对人体健康有促进作用, 如抗氧化和防治“三高”等^[2-3]。目前, 关于青钱柳益于人体健康的机制尚未明确, 但有研究发现青钱柳叶中多酚类化合物对 α -葡萄糖苷酶有显著的抑制作用^[4], 且与总还原力、DPPH 和 ABTS 自由基清除力呈显著正相关关系^[5]。酚类化合物作为天然的抗氧化剂, 对人体内因氧化伤害引起的疾病具有延缓和抑制作用^[6]。随着产业化的逐步推进, 青钱柳受到越来越多的关注, 但青钱柳的自然资源稀少, 无法满足市场需求, 因此, 目前主要以发展青钱柳人工林为主, 提高目标产物的积累量。

氮是植物生长发育必需的大量元素之一, 是蛋白质、核酸和酶等结构和功能大分子的重要组分^[7]。研究发现, 氮素的供应水平不仅影响植物生长, 还对其体内次生代谢物质合成产生影响^[8-9]。目前, 有关施氮量对植物生长和酚类化合物含量的影响已有较多报道。Bénard 等^[10]对番茄 (*Solanum lycopersicum* Linn.) 分别施入 12、6 和 4 mmol · L⁻¹ 硝态氮时, 其中 4 mmol · L⁻¹ 硝态氮处理的果实产量下降了 7.5%, 但酚类物质含量达到最高。Larbat 等^[11]认为, 低氮处理显著提高番茄中 3 种酚类单体的含量, 但抑制茎的生长。此外, 不少研究还发现, 氮素水平影响植物次生代谢物质合成途径关键酶的活性, 并对其体内次生代谢物质的合成起调控作用^[12-13]。作者所在课题组探讨了氮素水平对浙江九亩村家系青钱柳苗期生长及叶总酚含量的影响^[14], 但施氮量对青钱柳不同器官总酚含量及积累量的影响尚不明确, 尤其是施氮量

对多酚合成途径关键酶活性的影响以及酶活性与总酚含量的关系。鉴于此, 本研究以广西金钟山 6 号家系青钱柳为研究对象, 研究不同施氮量对青钱柳幼苗生长和不同器官总酚含量及多酚合成途径关键酶活性的影响, 探讨青钱柳生长与总酚积累量的关系, 旨在为青钱柳人工林定向培育中合理施用氮肥提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

于 2014 年 10 月采集广西金钟山 6 号家系青钱柳种子, 参照 Fang 等^[15]的方法进行发芽处理, 使用质量体积分数 0.2% 赤霉素浸种 1 周后, 在江苏溧水白马教学科研基地进行层积催芽处理。2016 年, 待种子萌发后移至无纺布容器袋中培育, 培育基质配方为 V(黄心土) : V(珍珠岩) : V(腐熟鸡粪) : V(草炭) = 2 : 2 : 2 : 4, 基质中有机碳、全氮、全磷和全钾含量分别为 43.65、7.35、2.98 和 9.89 g · kg⁻¹, pH 6.7。于 2017 年 5 月选取生长健壮且长势基本一致的幼苗移至塑料盆(内径 16 cm、高 14 cm)中, 每盆 1 株, 在苗干基部进行平茬处理, 每盆装入基质 1.13 kg, 基质配方为 V(黄心土) : V(珍珠岩) : V(腐熟鸡粪) : V(草炭) = 1 : 1 : 1 : 7, 基质中有机碳、全氮、全磷和全钾含量分别为 82.18、3.77、2.60 和 9.43 g · kg⁻¹, pH 6.44。在江苏溧水白马教学科研基地室外培育, 自然光照, 每日浇水, 保持土壤湿润。平茬处理 4 周后, 待株高 15 cm 时移至南京林业大学人工气候室进行室内控制实验。

1.2 方法

1.2.1 实验设计 挑选生长良好且长势基本一致的青钱柳幼苗进行施氮量处理。采用完全随机区组设

计,设置每盆施氮量分别为0(CK,对照)、3(N1)和6(N2) g共3个处理,每处理3个重复,每个重复25株幼苗,共225株幼苗。施氮量以尿素[阳煤丰喜肥业(集团)有限责任公司,氮含量46%]为准,分别于处理0、30和60 d平均分3次施入。培养条件为光子通量密度(PPFD) $800 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 、温度 $(25 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$ 和空气相对湿度70%。

1.2.2 生长指标的测定 处理90 d时,分别使用钢卷尺(精度0.1 cm)和游标卡尺(精度0.01 mm)测量所有青钱柳幼苗的株高和地径;处理90 d时,每个处理根据株高和地径平均值选取3株标准株,经 $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 杀青30 min后,在 $80 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下烘干至恒质量,用万分之一天平称量单株根、茎和叶的干质量,并计算单株总干质量(单株根、茎和叶的干质量之和)。将各处理的青钱柳根、茎和叶干样研磨后过筛(孔径100目),用于全碳、全氮及总酚的含量测定。

1.2.3 全碳和全氮含量的测定 各处理分别称取100 mg青钱柳根、茎和叶干样粉末,用锡箔纸包裹后,采用Elementar vario MACRO cube元素分析仪(德国Elementar公司)测定全碳和全氮的含量。不同器官的碳氮比为某器官中全碳含量与全氮含量的比值。

1.2.4 总酚含量的测定 各处理分别称取约2 g青钱柳根、茎、叶干样粉末,参考岳喜良等^[14]的方法去除样品中杂质,然后加入体积分数70%乙醇20 mL,采用超声波辅助提取法^[16]于温度 $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 超声(44 kHz,500 W)提取45 min,重复提取2次,合并2次提取液。待提取液挥干后,用甲醇反复清洗残渣并定容至10 mL用于测定总酚含量。参照Allothman等^[17]的方法测定总酚含量。单株不同器官总酚积累量根据公式“单株某器官总酚积累量=单株某器官干质量×该器官总酚含量”进行计算。

1.2.5 多酚合成途径关键酶活性的测定 处理90 d

时,称取0.2 g新鲜成熟功能叶(植株从上往下第3或第4枚叶),用液氮充分研磨。苯丙氨酸解氨酶(PAL)、肉桂酸-4-羟化酶(C4H)和4-香豆酸辅酶A连接酶(4CL)的提取和活性测定参照Wang等^[18]的方法。

1.3 数据处理

采用EXCEL 2016软件进行数据统计;采用SPSS 20.0软件进行方差分析、多重比较(Duncan's新复极差法)和Pearson相关性分析。

2 结果和分析

2.1 施氮量对青钱柳幼苗生长的影响

施氮量对青钱柳幼苗株高、地径和干质量的影响见表1。由表1可见:不同施氮量处理下,青钱柳幼苗的株高和地径均在N1(每盆施氮量3 g)处理下最大,在N2(每盆施氮量6 g)处理下最小。与CK(每盆施氮量0 g,对照)处理相比,株高和地径在N1处理下分别显著增加了41.9%和14.8%;在N2处理下分别显著减少了34.4%和16.9%。青钱柳幼苗单株的根、茎和叶干质量以及总干质量的变化趋势与株高和地径一致,均在N1处理下最大,在N2处理下最小。与对照相比,单株的根、茎和叶干质量以及总干质量在N1处理下分别显著增加了46.1%、37.6%、42.8%和43.3%,在N2处理下分别显著减少了48.3%、30.1%、63.8%和46.9%。方差分析结果表明:施氮量对青钱柳幼苗株高、地径以及不同器官干质量均有显著($P < 0.05$)影响。

2.2 施氮量对青钱柳幼苗不同器官中全碳和全氮含量以及碳氮比的影响

施氮量对青钱柳幼苗根、茎和叶中全碳和全氮含量以及碳氮比的影响见表2。由表2可见:随着施氮

表1 施氮量对青钱柳幼苗株高、地径和干质量的影响($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 1 Effect of applying amount of nitrogen on height, ground diameter, and dry mass of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk. seedling ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

处理 Treatment	株高/cm Height	地径/mm Ground diameter	单株各器官干质量/g Dry mass of each organ per plant			
			根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	总计 Total
CK	36.3±4.0b	7.22±0.33b	6.81±0.67b	3.35±0.08b	2.71±0.16b	12.87±0.40b
N1	51.5±4.9a	8.29±0.52a	9.95±0.79a	4.61±0.32a	3.87±0.23a	18.44±1.02a
N2	23.8±3.0c	6.00±0.45c	3.52±0.35c	2.34±0.10c	0.98±0.05c	6.84±0.40c

¹⁾ CK, N1 和 N2 分别表示每盆施氮量为0、3和6 g CK, N1, and N2 mean applying amount of nitrogen per pot of 0, 3, and 6 g, respectively. 同列中不同小写字母表示在不同处理间差异显著($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant ($P < 0.05$) difference among different treatments.

表2 施氮量对青钱柳幼苗不同器官中全碳和全氮含量以及碳氮比的影响($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

Table 2 Effect of applying amount of nitrogen on contents of total carbon and total nitrogen and ratio of carbon to nitrogen in different organs of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk. seedling ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

处理 Treatment	全碳含量/% Total carbon content	全氮含量/% Total nitrogen content	碳氮比 Ratio of carbon to nitrogen
根 Root			
CK	43.01±0.97b	0.30±0.00c	143.37±3.26a
N1	45.01±2.17ab	0.54±0.04b	83.35±4.23b
N2	47.05±1.06a	1.04±0.09a	45.24±1.23c
茎 Stem			
CK	36.95±0.97b	0.38±0.00c	97.24±2.63a
N1	41.87±0.09a	0.49±0.05b	85.45±0.25b
N2	42.91±0.18a	0.63±0.01a	68.11±0.35c
叶 Leaf			
CK	42.39±1.38a	0.72±0.03c	58.88±2.56a
N1	43.66±2.26a	1.03±0.02b	42.39±2.06b
N2	44.18±1.61a	1.28±0.03a	34.52±1.28c

¹⁾ CK、N1 和 N2 分别表示每盆施氮量为 0、3 和 6 g CK, N1, and N2 mean applying amount of nitrogen per pot of 0, 3, and 6 g, respectively. 同列中不同小写字母表示在不同处理间差异显著($P<0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant ($P<0.05$) difference among different treatments.

表3 施氮量对青钱柳幼苗不同器官中总酚含量和积累量的影响($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

Table 3 Effect of applying amount of nitrogen on content and accumulation of total phenolics in different organs per plant of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk. seedling ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

处理 Treatment	各器官中总酚含量/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) Total phenolic content in each organ			单株各器官总酚积累量/ mg Total phenolic accumulation in each organ per plant			
	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	总计 Total
CK	31.04±1.61a	20.63±2.01a	24.45±0.74a	211.49±25.86a	69.26±7.70a	66.10±1.95a	346.85±29.86a
N1	17.13±0.85c	8.91±0.14c	11.34±1.05b	170.19±12.25b	41.10±2.30b	44.05±6.49b	255.35±17.57b
N2	24.77±1.19b	17.70±1.52b	22.11±3.06a	87.05±5.44c	41.40±2.14b	21.66±3.82c	150.11±0.77c

¹⁾ CK、N1 和 N2 分别表示每盆施氮量为 0、3 和 6 g CK, N1, and N2 mean applying amount of nitrogen per pot of 0, 3, and 6 g, respectively. 同列中不同小写字母表示在不同处理间差异显著($P<0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant ($P<0.05$) difference among different treatments.

施氮量 3 g) 处理下最低。与对照相比, N1 和 N2(每盆施氮量 6 g) 处理下根中总酚含量分别显著降低了 44.8% 和 20.2%, 茎中总酚含量分别显著降低了 56.8% 和 14.2%; 叶中总酚含量在 N1 处理下显著降低了 53.6%, 在 N2 处理下降低了 9.6%, 但差异不显著。不同施氮量处理下各器官中总酚含量均为根中最高、叶中次之、茎中最低。方差分析结果表明: 施氮量对青钱柳幼苗不同器官中总酚含量有显著($P<0.05$) 影响。

由表 3 还可见: 与总酚含量相似, 不同施氮量处理下, 青钱柳幼苗单株根、茎和叶的总酚积累量以及总积累量总体上在对照下最高, 在 N2 处理下最低。

量提高, 根、茎和叶中全碳和全氮含量逐渐升高, 碳氮比逐渐降低。与 CK(每盆施氮量 0 g, 对照) 处理相比, N1(每盆施氮量 3 g) 和 N2(每盆施氮量 6 g) 处理下根和茎中全碳含量分别提高了 4.7% 和 9.4% 以及 13.3% 和 16.1%, 叶中全碳含量与对照无显著差异; 根、茎和叶中全氮含量分别显著提高了 80.0% 和 246.7%、28.9% 和 65.8% 以及 43.1% 和 77.8%; 根、茎和叶中碳氮比分别显著降低了 41.9% 和 68.4%、12.1% 和 30.0% 以及 28.0% 和 41.4%。方差分析结果表明: 施氮量对青钱柳幼苗根和茎中全碳含量有显著影响, 对叶中全碳含量无显著影响; 对根、茎和叶中全氮含量和碳氮比有显著($P<0.05$) 影响。

2.3 施氮量对青钱柳幼苗总酚积累的影响

2.3.1 对不同器官中总酚含量和积累量的影响 施氮量对青钱柳幼苗不同器官中总酚含量和单株不同器官总酚积累量的影响见表 3。由表 3 可见: 不同施氮量处理下, 青钱柳幼苗根、茎和叶中总酚含量均在 CK(每盆施氮量 0 g, 对照) 处理下最高, 在 N1(每盆

与对照相比, N1 和 N2 处理下单株根、茎和叶的总酚积累量以及总积累量分别显著降低了 19.5% 和 58.8%、40.7% 和 40.2%、33.4% 和 67.2% 以及 26.4% 和 56.7%。不同施氮量处理下单株各器官总酚积累量均为根中最高、叶和茎中较低。方差分析结果表明: 施氮量对青钱柳幼苗单株不同器官的总酚积累量和总积累量均有显著影响。

2.3.2 对叶中多酚合成途径关键酶活性的影响 施氮量对青钱柳幼苗叶中多酚合成途径关键酶活性的影响见表 4。由表 4 可见: 不同施氮量处理下, 青钱柳幼苗叶中苯丙氨酸解氨酶(PAL)、肉桂酸-4-羟化酶(C4H)和 4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4CL)活性均在

表4 施氮量对青钱柳幼苗叶中多酚合成途径关键酶活性的影响 ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

Table 4 Effect of applying amount of nitrogen on key enzyme activity in polyphenol synthesis pathway of leaf of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk. seedling ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

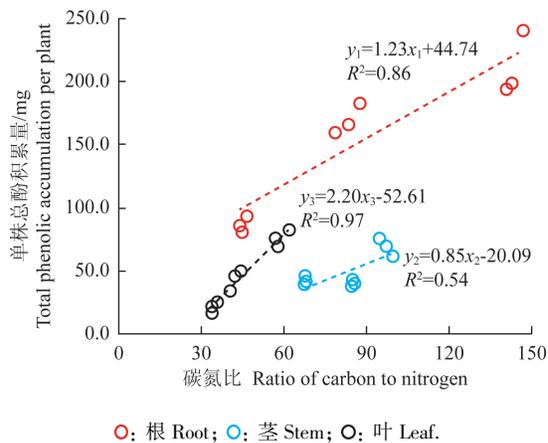
处理 Treatment	酶活性/($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) Enzyme activity		
	PAL	C4H	4CL
CK	48.3 \pm 3.1a	375.2 \pm 13.7a	161.5 \pm 11.3a
N1	30.8 \pm 2.1c	239.0 \pm 29.2c	81.4 \pm 18.5b
N2	37.7 \pm 2.3b	295.3 \pm 8.7b	142.2 \pm 20.0a

¹⁾ CK、N1 和 N2 分别表示每盆施氮量为 0、3 和 6 g CK, N1, and N2 mean applying amount of nitrogen per pot of 0, 3, and 6 g, respectively. PAL: 苯丙氨酸解氨酶 Phenylalanine ammonia lyase; C4H: 肉桂酸-4-羟化酶 Cinnamate-4-hydroxylase; 4CL: 4-香豆酸辅酶 A 连接酶 4-coumarate CoA ligase. 同列中不同小写字母表示在不同处理间差异显著 ($P<0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant ($P<0.05$) difference among different treatments.

对照下最高,在 N1 处理下最低。总体上看,与对照相比,N1 和 N2 处理下叶中 PAL、C4H 和 4CL 活性分别显著降低了 36.2%和 21.9%、36.3%和 21.3%以及 49.6%和 12.0%。方差分析结果表明:施氮量对青钱柳幼苗叶中 PAL、C4H 和 4CL 活性有显著影响。

2.4 青钱柳幼苗不同器官碳氮比与单株各器官总酚积累量的关系

青钱柳幼苗不同器官碳氮比与单株各器官总酚积累量的关系见图 1。结果(图 1)表明:青钱柳幼苗根和叶的碳氮比与其单株总酚积累量呈极显著($P<$



y_1, y_2, y_3 : 分别为单株根、茎和叶的总酚积累量 Total phenolic accumulation in root, stem, and leaf per plant, respectively; x_1, x_2, x_3 : 分别为根、茎和叶的碳氮比 Ratio of carbon to nitrogen of root, stem, and leaf per plant, respectively.

图1 青钱柳幼苗不同器官碳氮比与单株各器官总酚积累量的关系
Fig. 1 Relationship of ratio of carbon to nitrogen in different organs of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk. seedling with total phenolic accumulation in each organ per plant

0.01)线性正相关,相关系数分别达 0.93 和 0.99;茎的碳氮比与其单株总酚积累量呈显著($P<0.05$)线性正相关,相关系数为 0.74。

3 讨论和结论

氮素营养条件是影响植物初生代谢和次生代谢的重要因子^[19]。氮素的供应水平不仅与植物的生长速度及其各项生长反应特征密切相关,而且影响植物体内次生代谢产物的积累^[12,20]。闫娟^[21]研究不同氮素供给水平对欧美 107 杨 (*Populus × euramericana* '74/76') 和中林 46 杨 (*Populus × euramericana* 'Zhonglin-46') 生长的影响发现,施氮促进二者整株叶面积显著增加,并促进了整株干质量的积累。关佳莉等^[22]研究发现,随着氮素浓度的增加,菘蓝 (*Isatis indigotica* Fortune) 的叶和根干质量逐渐增加。本研究中,施氮量对青钱柳幼苗的株高、地径和干质量均有显著($P<0.05$)影响,但随着施氮量的提高,青钱柳的株高、地径和干质量呈先增加再减少的趋势,可能由于青钱柳幼苗栽培基质中所含氮素已达到其正常生长所需量,随着施氮量的提高,N2(每盆施氮量 6 g)处理已超过其正常生长所需氮素的临界值,对苗木吸收其他营养成分及光合作用产生影响,不利于苗木生长。Li 等^[23]对墨西哥柏木 (*Cupressus lusitanica* Mill.) 的研究发现,施氮量过高会显著降低其叶中 P、Ca 和 Mg 含量,并显著降低其光合能力,阻碍植物生长。王力朋等^[24]认为,适量施用氮素能促进楸树 (*Catalpa bungei* C. A. Mey) 无性系的苗高、地径和生物量,但过量施用氮素抑制楸树无性系的生长。段娜等^[25]采用 0~60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氮素对白刺 (*Nitraria tangutorum* Bobr.) 进行处理,发现施用一定浓度范围的氮素可促进白刺株高、基径和干质量等的增加,但是氮素浓度过高不利于白刺苗木生长。本研究中,CK(每盆施氮量 0 g,对照)和 N2 处理下青钱柳幼苗不同器官中总酚含量均显著高于 N1(每盆施氮量 3 g)处理,这可能是因为在栽培基质中氮素含量过高或过低均会对青钱柳产生胁迫,青钱柳通过合成次生代谢物质来缓解氮素胁迫。Ibrahim 等^[26]对卡琪花蒂玛 (*Labisia pumila* Benth.) 的研究结果也表明:低施氮量可以促进卡琪花蒂玛根、茎和叶中多酚的合成。Luo 等^[27]的研究结果也显示:黑杨 (*Populus nigra* Linn.) 叶中次生代谢物质含量在施氮量过高的处理

下显著增加。

苯丙氨酸解氨酶(PAL)、肉桂酸-4-羟化酶(C4H)和4-香豆酸辅酶A连接酶(4CL)等多酚合成途径关键酶在多酚合成过程中起至关重要的作用。Jenkins等^[28]和Buer等^[29]研究认为,植物体内次生代谢物质的合成部位是叶片。杨银菊等^[30]的研究结果显示:烟草(*Nicotiana tabacum* Linn.)叶片的PAL和4CL活性均与多酚类物质含量变化趋势一致。刘冉等^[31]也发现,通过诱导红松(*Pinus koraiensis* Sieb. et Zucc.)幼苗的PAL和C4H活性增加,多酚类化合物积累量也会相应增加。本研究中,青钱柳幼苗叶中PAL、C4H和4CL活性均与总酚含量呈相同的变化趋势。

碳和氮代谢是植物体内主要的2大基本代谢,与植物体内的初生代谢和次生代谢途径紧密相连^[8,32]。一些假设提出,植物的生长与次生代谢物质合成之间存在不断的竞争^[33-34]。本研究结果表明:N1处理下,青钱柳幼苗单株不同器官的干质量均达到最大,但总酚含量均最低。这主要是因为植物的初生和次生代谢均是利用相同的营养元素合成,主要以碳和氮为主^[35]。植物通过体内的碳氮平衡来调控初生代谢和次生代谢,而植物的碳氮比受其碳和氮吸收情况的影响^[36]。本研究中,随着施氮量的提高,青钱柳幼苗不同器官的全氮含量均显著增加,碳氮比显著降低。对葡萄(*Vitis vinifera* Linn.)^[37]和卡琪花蒂玛^[38]的研究结果也显示:施氮水平与植株根系、茎和叶片中全氮含量呈显著正相关,与碳氮比呈显著负相关。本研究中,青钱柳幼苗的生长和总酚含量变化趋势不一致,因此,需要在青钱柳生长和次生代谢中寻找平衡,以期获得目标产物的最大积累量。青钱柳幼苗单株根、茎和叶的总酚积累量以及总积累量均在对照下达到最高,且不同器官中碳氮比与总酚积累量呈现相同的变化趋势。对*Brassica oleracea* var. *sabellica* Linn.^[39]的研究也发现,植物体内碳氮比与以碳为基础的次生代谢物质含量呈正相关。本研究结果也发现,青钱柳幼苗根、茎和叶的碳氮比与单株各对应器官的总酚积累量呈显著或极显著线性正相关。由此可知,通过青钱柳体内的碳氮比确定适宜施氮量,对获得总酚的最大积累量具有重要意义。由于人工控制条件与野外环境条件存在较大的差异,如光照、土壤、温度和水分等,因此,需要在野外环境对青钱柳进行进一步的研究。

参考文献:

- [1] 方升佐, 洪香香. 青钱柳资源培育与开发利用的研究进展[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2007, 31(1): 95-100.
- [2] 李磊, 谢明勇, 易醒, 等. 青钱柳多糖组分及其降血糖活性研究[J]. 江西农业大学学报, 2001, 23(4): 484-486.
- [3] 黄明圈, 上官新晨, 徐明生, 等. 青钱柳多糖降血脂作用的研究[J]. 江西农业大学学报, 2011, 33(1): 157-161.
- [4] 林珠灿, 郭素华. 中药多酚提取物对 α -葡萄糖苷酶抑制作用的研究[J]. 中国现代医药杂志, 2011, 13(2): 8-9.
- [5] ZHOU M M, LIN Y, FANG S Z, et al. Phytochemical content and antioxidant activity in aqueous extracts of *Cyclocarya paliurus* leaves collected from different populations[J]. PeerJ, 2019, 7: e6492.
- [6] ARGOLLO A C C, SANT'ATA A E G, PLETSCHE M, et al. Antioxidant activity of leaf extracts from *Bauhinia monandra* [J]. Bioresource Technology, 2004, 95: 229-233.
- [7] KOVÁČIK J, BAČKOR M. Changes of phenolic metabolism and oxidative status in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* plants [J]. Plant and Soil, 2007, 297(1/2): 255-265.
- [8] HAKULINEN J, JULKUNEN-TIITTO R, TAHVANAINEN J. Does nitrogen fertilization have an impact on the trade-off between willow growth and defensive secondary metabolism? [J] Trees: Structure and Function, 1995, 9: 235-240.
- [9] 徐丹丹. 施氮对青钱柳生长和黄酮类化合物积累的影响[D]. 合肥: 安徽农业大学林学与园林学院, 2018: 37-38.
- [10] BÉNARD C, GAUTIER H, BOURGAUD F, et al. Effects of low nitrogen supply on tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit yield and quality with special emphasis on sugars, acids, ascorbate, carotenoids, and phenolic compounds[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(10): 4112-4123.
- [11] LARBAT R, LE BOT J, BOURGAUD F, et al. Organ-specific responses of tomato growth and phenolic metabolism to nitrate limitation[J]. Plant Biology, 2012, 14(5): 760-769.
- [12] DENG B, LI Y, LEI G, et al. Effects of nitrogen availability on mineral nutrient balance and flavonoid accumulation in *Cyclocarya paliurus* [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2019, 135: 111-118.
- [13] LIU Y, FANG S, YANG W, et al. Light quality affects flavonoid production and related gene expression in *Cyclocarya paliurus* [J]. Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology, 2018, 179: 66-73.
- [14] 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.
- [15] FANG S, WANG J, WEI Z, et al. Methods to break seed dormancy in *Cyclocarya paliurus* (Batal) Iljinskaja [J]. Scientia Horticulturae, 2006, 110: 305-309.
- [16] HUANG W, XUE A, NIU H, et al. Optimised ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Folium eucommiae* and evaluation of antioxidant activity in multi-test systems *in vitro* [J]. Food Chemistry, 2009, 114(3): 1147-1154.

- [17] ALOTHMAN M, BHAT R, KARIM A A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents [J]. *Food Chemistry*, 2009, 115(3): 785-788.
- [18] WANG G, CAO F, CHANG L, et al. Temperature has more effects than soil moisture on biosynthesis of flavonoids in Ginkgo (*Ginkgo biloba* L.) leaves [J]. *New Forests*, 2014, 45(6): 797-812.
- [19] 苏文华, 张光飞, 李秀华, 等. 植物药材次生代谢产物的积累与环境的关系 [J]. *中草药*, 2005, 36(9): 1415-1418.
- [20] 张小燕, 李雨菲, 刘桂华, 等. 施氮对1年生青钱柳生长和三萜类化合物积累的影响 [J]. *北京林业大学学报*, 2020, 42(4): 60-68.
- [21] 闫娟. 氮素对欧美杨苗木光合及养分利用的影响 [D]. 北京: 北京林业大学林学院, 2013: 89.
- [22] 关佳莉, 王刚, 张梦蕊, 等. 不同氮素供应水平对菘蓝生长及药材质量的影响 [J]. *核农学报*, 2019, 33(10): 2077-2085.
- [23] LI R, LU Y, WAN F, et al. Impacts of a high nitrogen load on foliar nutrient status, N metabolism, and photosynthetic capacity in a *Cupressus lusitanica* Mill. plantation [J]. *Forests*, 2018, 9(8): 483.
- [24] 王力朋, 李吉跃, 王军辉, 等. 指数施肥对楸树无性系幼苗生长和氮素吸收利用效率的影响 [J]. *北京林业大学学报*, 2012, 34(6): 55-62.
- [25] 段娜, 汪季, 李清河, 等. 施氮对白刺灌木幼苗生长的影响 [J]. *西北林学院学报*, 2019, 34(5): 57-61.
- [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] LUO Z B, CALFAPIETRA C, SCARASCIA-MUGNOZZA G, et al. Carbon-based secondary metabolites and internal nitrogen pools in *Populus nigra* under free air CO₂ enrichment (FACE) and nitrogen fertilization [J]. *Plant and Soil*, 2008, 304(1/2): 45-57.
- [28] JENKINS G I, LONG J C, WADE H K, et al. UV and blue light signaling: pathways regulating chalcone synthase gene expression in *Arabidopsis* [J]. *New Phytologist*, 2001, 151(1): 121-131.
- [29] BUER C S, MUDAY G K, DJORDJEVIC M A. Flavonoids are differentially taken up and transported long distances in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2007, 145(2): 478-490.
- [30] 杨银菊, 张彦, 王树声, 等. 打顶对烟草叶片多酚代谢及其关键酶的影响 [J]. *中国烟草学报*, 2018, 24(1): 60-67.
- [31] 刘冉, 李燕, 王雷, 等. 外源物质对红松多酚合成和防御酶活性的影响 [J]. *西北林学院学报*, 2019, 34(2): 42-47.
- [32] STITT M, KRAPP A. The interaction between elevated carbon dioxide and nitrogen nutrition: the physiological and molecular background [J]. *Plant, Cell and Environment*, 1999, 22(6): 583-621.
- [33] CORUZZI G, BUSH D R. Nitrogen and carbon nutrient and metabolite signaling in plants [J]. *Plant Physiology*, 2001, 125(1): 61-64.
- [34] STAMP N. Out of the quagmire of plant defense hypotheses [J]. *The Quarterly Review of Biology*, 2003, 78(1): 23-55.
- [35] HERMS D A, Mattson W J. The dilemma of plants: to grow or defend [J]. *The Quarterly Review of Biology*, 1992, 67(3): 283-335.
- [36] AINSWORTH E A, LONG S P. What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO₂ [J]. *New Phytologist*, 2005, 165(2): 351-372.
- [37] GRECHI I, VIVIN P, HILBERT G, et al. Effect of light and nitrogen supply on internal C:N balance and control of root-to-shoot biomass allocation in grapevine [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, 59(2): 139-149.
- [38] IBRAHIM M H, JAAFAR H Z E. The relationship of nitrogen and C/N ratio with secondary metabolites levels and antioxidant activities in three varieties of Malaysian Kacip Fatimah (*Labisia pumila* Blume) [J]. *Molecules*, 2011, 16: 5514-5526.
- [39] GROENBAEK M, JENSEN S, NEUGART S, et al. Nitrogen split dose fertilization, plant age and frost effects on phytochemical content and sensory properties of curly kale (*Brassica oleracea* L. var. *sabellica*) [J]. *Food Chemistry*, 2016, 197 (Part A): 530-538.

(责任编辑: 张明霞)