

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

孙玉明, 张 婷, 徐晓洋, 张永侠, 杨永恒^①, 原海燕

[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]

摘要: 研究了氮素和光照对甜菊 (*Stevia rebaudiana* Bertoni) 品种‘守田 3 号’(‘Shoutian No. 3’)和‘中山 8 号’(‘Zhongshan No. 8’)生长、氮素吸收以及叶片中甜菊糖苷含量和积累量的影响。结果表明: 总体上看, 同一光照处理下, 与不施氮处理相比, 施氮处理下 2 个甜菊品种单株地上部干质量、叶片叶绿素相对含量、叶片和茎中氮素含量、单株叶片和茎中氮素积累量以及单株总甜菊糖苷积累量显著升高, 叶茎比、比叶质量、叶片氮素分配比例以及叶片中总甜菊糖苷和可溶性糖含量显著降低。同一氮素处理下, 与正常光照处理相比, 弱光处理下 2 个甜菊品种单株地上部干质量、叶茎比、比叶质量、叶片叶绿素相对含量及单株叶片和茎中氮素积累量总体上显著降低, 叶片和茎中氮素含量总体上显著升高。不施氮处理下, 与正常光照处理相比, 弱光处理下甜菊品种‘中山 8 号’叶片中总甜菊糖苷和可溶性糖含量显著降低, 甜菊品种‘守田 3 号’叶片中总甜菊糖苷和可溶性糖含量无显著变化; 而施氮处理下, 弱光处理对 2 个甜菊品种叶片中总甜菊糖苷和可溶性糖含量总体上无显著影响。与正常光照处理相比, 弱光处理下 2 个甜菊品种单株总甜菊糖苷积累量显著降低。方差分析结果显示: 氮素与光照的互作对甜菊单株地上部干质量、单株叶面积、单株叶片和茎中氮素积累量、叶片中总甜菊糖苷和可溶性糖含量以及单株总甜菊糖苷积累量有显著或极显著影响。综上所述, 供试 2 个甜菊品种的干质量和氮素含量均受光照和氮素水平的影响, 而叶片甜菊糖苷含量主要受氮素水平的调控。

关键词: 甜菊; 弱光处理; 施氮; 生长; 甜菊糖苷

中图分类号: Q945.3; Q946.83; S566.9 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2021)02-0012-07
DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2021.02.02

Effects of nitrogen and light on growth, nitrogen uptake, and steviol glycosides related indexes of *Stevia rebaudiana* SUN Yuming, ZHANG Ting, XU Xiaoyang, ZHANG Yongxia, YANG Yongheng^①, YUAN Haiyan (Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2021, 30(2): 12-18, 34

Abstract: Effects of nitrogen and light on growth, nitrogen uptake, and leaf steviol glycosides content and accumulation of cultivar ‘Shoutian No. 3’ and ‘Zhongshan No. 8’ of *Stevia rebaudiana* Bertoni were studied. The results show that under the same light treatment, nitrogen application treatment significantly increases dry mass of above-ground part per plant, relative content of chlorophyll in leaves, nitrogen content in leaves and stems, nitrogen accumulation in leaves and stems per plant, and total steviol glycosides accumulation per plant of two *S. rebaudiana* cultivars in general compared with non-nitrogen application treatment, but significantly decreases leaf/stem ratio, specific leaf mass, leaf nitrogen allocation ratio, and contents of total steviol glycosides and soluble sugar in leaves. Under the same nitrogen treatment, weak light treatment significantly decreases dry mass of above-ground part per plant,

收稿日期: 2020-09-01

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(31901597); 江苏省自然科学基金青年基金项目(BK20180312)

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: yyh8576@126.com

引用格式: 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, 34.

leaf/stem ratio, specific leaf mass, relative content of chlorophyll in leaves, and nitrogen accumulation in leaves and stems per plant of two *S. rebaudiana* cultivars in general compared with normal light treatment, but significantly increases nitrogen content in leaves and stems in general. Under non-nitrogen application treatment, weak light treatment significantly decreases contents of total steviol glycosides and soluble sugar in leaves of cultivar ‘Zhongshan No. 8’ of *S. rebaudiana* compared with normal light treatment, but those indexes of cultivar ‘Shoutian No. 3’ of *S. rebaudiana* have no significant change; while under nitrogen application treatment, weak light treatment generally has no significant effect on those indexes of two *S. rebaudiana* cultivars. Compared with normal light treatment, total steviol glycosides accumulation per plant of two *S. rebaudiana* cultivars significantly decreases under weak light treatment. The variance analysis result shows that the interaction between nitrogen and light has significant or extremely significant effects on dry mass of above-ground part per plant, leaf area per plant, nitrogen accumulation in leaves and stems per plant, contents of total steviol glycosides and soluble sugar in leaves, and total steviol glycosides accumulation per plant of *S. rebaudiana*. In conclusion, dry mass and nitrogen content in two test *S. rebaudiana* cultivars are affected by light and nitrogen levels, while steviol glycosides content in leaves is mainly regulated by nitrogen level.

Key words: *Stevia rebaudiana* Bertoni; weak light treatment; nitrogen application; growth; steviol glycosides

甜菊(*Stevia rebaudiana* Bertoni),又名甜叶菊,为菊科(Asteraceae)多年生草本植物,因其叶片中含有的甜菊糖苷具有高甜度、低热量的特性而备受关注^[1]。氮素和光照是影响植物生长发育和生理代谢过程的关键环境因子,在作物产量和品质形成中发挥重要作用。氮素作为植物体内氨基酸、蛋白质以及光合酶的主要组成成分,可以促进甜菊叶片的光合速率及叶片干质量形成^[2-3]。氮素还会影响甜菊叶片中甜菊糖苷含量,如 Tavarini 等^[4]报道,甜菊叶片中不同甜菊糖苷的含量随着施氮量的增加而逐渐升高;杨永恒等^[5]认为,随着施氮量的增加,甜菊叶片总甜菊糖苷含量先升高后降低;而 Sun 等^[2]和包亚英等^[6]的研究则发现氮素会抑制甜菊糖苷的合成。因此,目前关于氮素对甜菊糖苷的影响尚没有明确结论。光照强度也会影响甜菊生长及叶片品质。与正常光照相比,弱光处理会推迟甜菊的生育进程并抑制叶片单株干质量形成^[7]。曾小燕^[8]发现,甜菊叶片中的游离氨基酸和蛋白质含量随着光照强度的降低先升高后降低,但是甜菊糖苷含量对光照强度的响应不敏感。但目前鲜有研究关注光照和氮素的互作对甜菊生长和甜菊糖苷含量影响。

本研究选取2个遗传背景完全不同的甜菊品种‘守田3号’(‘Shoutian No. 3’)和‘中山8号’(‘Zhongshan No. 8’)作为研究对象,比较不同氮素和光照条件下2个甜菊品种生长、氮素吸收以及甜菊糖苷含量和积累量的变化,旨在明确氮素和光照调控甜菊生长及甜菊糖苷含量的生理机制,为高产优质甜

菊的栽培管理提供理论指导。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为甜菊品种‘守田3号’(引自日本)和‘中山8号’(江苏省中国科学院植物研究所自主选育)的1年生扦插苗,栽种于江苏省中国科学院植物研究所甜菊种植资源圃。供试土壤取自林下,土壤有机质含量 $27.22 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、全氮含量 $1.53 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、速效磷含量 $63.97 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、速效钾含量 $347.72 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, pH 6.72。实验在江苏省中国科学院植物研究所温室进行。

1.2 方法

1.2.1 实验设计 采用双因素随机区组设计。设置不施氮(N_0)和施氮(N)2个处理。每盆装土约12.5 kg,参考文献[2],每盆磷肥和钾肥用量分别为4.16 g 过磷酸钙(P_2O_5 含量12%)和0.7 g 氯化钾(K_2O 含量60%),装盆时一次性施入。施氮处理每盆氮肥用量为3.63 g 尿素(总氮含量大于等于46%),分别于装盆时(5月24日)和移栽后约1个月(6月20日)各施入50%。每个氮素处理再设置正常光照(L_N)和弱光(L_W)2个处理。正常光照处理为日光光照,光照强度约为 $1000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$;弱光处理在盆栽上方搭建黑色中性尼龙网遮光,光照强度约为 $250 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。于5月25日移栽甜菊扦插苗,每盆3株,每处理4盆(记为4次重复)。于7月1日开

始弱光处理,连续处理2周后于7月15日(移栽后50 d)从每盆中随机选取1株进行各项指标的测定。

1.2.2 指标测定方法

1.2.2.1 样品采集 距甜菊茎基部2 cm处收割后带回实验室,用蒸馏水清洗样品后将叶片和茎分离。将每株甜菊所有叶片在标尺背景下拍照并使用Image J软件(Image-Pro Plus 6.0)统计叶面积。然后分别于105℃烘箱中杀青30 min,再于70℃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)分别称取干质量,然后计算甜菊的单株地上部干质量(单株叶片干质量和单株茎干质量之和)、叶茎比(单株叶片干质量与单株茎干质量的比值)和比叶质量(单株叶片干质量与单株叶面积的比值)。

1.2.2.2 叶片叶绿素相对含量(SPAD)测定 使用SPAD-502便携式叶绿素测定仪(日本柯尼卡美能达公司)测定完全展开新叶的SPAD值。每枚叶片随机选取6个点(避开叶脉)测定,计算平均值。

1.2.2.3 氮素含量测定 参考文献[9],将干样磨碎后,准确称取0.05 g样品,采用 $H_2SO_4-H_2O_2$ 法高温消解,定容后使用KDY-9820凯氏定氮仪(北京瑞邦兴业科技有限公司)通过凯氏定氮法测定消化液中的氮素浓度。甜菊各部位中氮素的含量、单株积累量以及分配比例分别根据以下公式进行计算:某部位氮素含量=某部位氮素浓度×消化液体积/样品质量;单株某部位氮素积累量=某部位氮素含量×单株该部位干质量;某部位氮素分配比例=(单株某部位氮素积累量/单株各部位氮素积累量之和)×100%。

1.2.2.4 叶片中甜菊糖苷的提取和测定 称取甜菊叶片样品约0.1 g,参考文献[2]提取甜菊糖苷,使用LC-100高效液相色谱仪(包括紫外检测器和色谱工作站)(上海伍丰科学仪器有限公司)测定甜菊糖苷含量。色谱柱为Hypersil-NH₂(4.6 mm×250.0 mm, 5 μm)(大连依利特分析仪器有限公司),工作温度25℃,波长210 nm,进样量10 μL。流动相为乙腈-磷酸缓冲液(体积比32:68),流速1 mL·min⁻¹。

分别称取甜菊苷、莱鲍迪苷A和莱鲍迪苷C标准品(日本和光纯药工业株式会社,纯度均大于99.0%),用甲醇(色谱级)分别配置质量浓度0.1、0.2、0.4、0.6、0.8和1.0 mg·mL⁻¹标准品溶液,采用上述色谱条件分别测定3种标准品溶液中各甜菊糖苷含量。以标准品浓度为纵坐标(y)、峰面积为横坐标(x)绘制标准曲线。甜菊苷、莱鲍迪苷A和莱鲍迪苷

C的标准曲线方程分别为: $y_{甜菊苷} = 0.000 2x - 0.045 0$; $y_{莱鲍迪苷A} = 0.000 3x - 0.057 3$; $y_{莱鲍迪苷C} = 0.000 24x - 0.053 00$ 。通过标准曲线方程换算样品提取液中的甜菊糖苷浓度。各甜菊糖苷含量、总甜菊糖苷含量和单株总甜菊糖苷积累量分别根据下列公式进行计算:某甜菊糖苷含量=[(某甜菊糖苷浓度×样品提取液体积/样品质量)/10]×100%;总甜菊糖苷含量=甜菊苷含量+莱鲍迪苷A含量+莱鲍迪苷C含量;单株总甜菊糖苷积累量=(总甜菊糖苷含量×单株叶片干质量/100)×1 000。

1.2.2.5 叶片可溶性糖含量测定 参考王学奎^[10]的方法测定叶片样品中的可溶性糖含量。

1.3 数据分析

采用EXCEL 2010软件进行数据处理,采用SPSS 16.0软件进行方差分析,采用Duncan's多重范围检验进行多重比较。

2 结果和分析

2.1 氮素和光照对2个甜菊品种生长和叶片叶绿素相对含量(SPAD)的影响

氮素和光照对2个甜菊品种生长指标和叶片SPAD值的影响见表1。由表1可见:正常光照处理下,与不施氮处理相比,施氮处理下2个甜菊品种单株叶片干质量、单株茎干质量、单株地上部干质量、单株叶面积和叶片SPAD值显著升高,叶茎比和比叶质量显著或不显著降低;弱光处理下,与不施氮处理相比,施氮处理下2个甜菊品种单株叶面积和叶片SPAD值显著升高,比叶质量显著降低,其他指标无显著变化。

由表1还可见:同一氮素处理下,与正常光照处理相比,弱光处理下甜菊品种‘守田3号’单株叶片干质量、单株茎干质量、单株地上部干质量、叶茎比、单株叶面积、比叶质量和叶片SPAD值总体上显著降低。施氮处理下,与正常光照处理相比,弱光处理下甜菊品种‘中山8号’上述指标显著降低;而不施氮处理下,与正常光照处理相比,弱光处理下甜菊品种‘中山8号’叶茎比和比叶质量显著降低,其他指标无显著变化。

方差分析结果显示:氮素和光照对甜菊上述生长指标和叶片SPAD值有显著或极显著影响。氮素与光照的互作对甜菊单株叶片干质量、单株茎干质量、

表 1 氮素和光照对 2 个甜菊品种生长指标和叶片叶绿素相对含量 (SPAD) 的影响 ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾Table 1 Effects of nitrogen and light on growth indexes and relative content of chlorophyll (SPAD) in leaves of two *Stevia rebaudiana* Bertoni cultivars ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

处理 Treatment		单株干质量/g Dry mass per plant			叶茎比 Leaf/stem ratio	单株 叶面积/cm ² Leaf area per plant	比叶 质量/(g·m ⁻²) Specific leaf mass	叶片 SPAD 值 SPAD value of leaf
氮素 Nitrogen	光照 Light	叶片 Leaf	茎 Stem	地上部 Above-ground part				
守田 3 号 Shoutian No. 3								
N ₀	L _N	1.76±0.20b	0.84±0.19b	2.60±0.38b	2.14±0.31a	236.71±28.76b	74.47±6.06a	37.25±0.44bc
N	L _N	2.82±0.35a	1.49±0.30a	4.32±0.62a	1.92±0.27ab	410.32±60.83a	69.03±3.89a	42.30±1.72a
N ₀	L _W	0.57±0.26c	0.34±0.17c	0.91±0.43c	1.70±0.19bc	106.72±42.81c	52.70±3.82b	34.83±2.85c
N	L _W	0.92±0.27c	0.63±0.19bc	1.55±0.46c	1.47±0.16c	207.18±70.02b	45.16±2.86c	39.13±0.47b
中山 8 号 Zhongshan No. 8								
N ₀	L _N	1.25±0.06b	0.44±0.03b	1.69±0.04b	2.90±0.33a	183.86±7.58bc	68.12±1.14a	37.58±1.76bc
N	L _N	3.43±0.96a	1.40±0.43a	4.82±1.38a	2.47±0.12b	649.40±152.47a	52.32±2.52b	44.75±1.91a
N ₀	L _W	0.58±0.24b	0.27±0.08b	0.86±0.32b	2.08±0.29c	126.23±53.50c	46.37±1.80c	34.95±2.21c
N	L _W	0.91±0.15b	0.45±0.05b	1.36±0.20b	2.04±0.14c	263.06±38.91b	34.56±1.14d	39.05±2.49b
氮素 Nitrogen		40.24**	44.91**	44.22**	7.53*	49.49**	19.13**	59.60**
光照 Light		103.11**	63.92**	94.22**	40.98**	38.91**	84.26**	27.17**
品种 Cultivar		0.03	5.98*	0.58	44.17**	7.03*	73.66	1.09
氮素×光照 Nitrogen×light		17.09**	13.89**	16.93**	1.33	10.41**	0.041	2.05
氮素×品种 Nitrogen×cultivar		3.19	0.39	2.18	3.69*	44.98**	42.84**	29.23**
光照×品种 Light×cultivar		0.03	0.64	0.03	20.59**	31.65**	167.81**	13.71**
氮素×光照×品种 Nitrogen×light×cultivar		6.88**	1.86	3.26	1.37	11.65**	0.93	1.37

¹⁾ N₀: 不施氮 Non-nitrogen application; N: 施氮 Nitrogen application; L_N: 正常光照 Normal light; L_W: 弱光 Weak light. 同一品种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 of the same cultivar indicate the significant difference at 0.05 level. **: P<0.01; *: P<0.05.

单株地上部干质量和单株叶面积有极显著影响,而对叶茎比、比叶质量和叶片 SPAD 值无显著影响。氮素与品种的互作以及光照与品种的互作对甜菊叶茎比、单株叶面积、比叶质量和叶片 SPAD 值有显著或极显著影响,而对单株叶片干质量、单株茎干质量、单株地上部干质量无显著影响。氮素、光照与品种的互作对甜菊单株叶片干质量和单株叶面积有极显著影响。

2.2 氮素和光照对 2 个甜菊品种氮素含量、积累量及分配比例的影响

氮素和光照对 2 个甜菊品种氮素含量、积累量及分配比例的影响见表 2。由表 2 可见:同一品种和光照处理下,与不施氮处理相比,施氮处理下 2 个甜菊品种叶片和茎中氮素含量分别升高了 5.3%~26.4%和 5.8%~35.6%,总体上差异达显著水平。同一品种和氮素处理下,与正常光照处理相比,弱光处理下 2 个甜菊品种叶片中氮素含量升高了 20.7%~42.5%,差异达显著水平。不施氮处理下,与正常光照处理相比,弱光处理下 2 个甜菊品种茎中氮素含量显著升高;但施氮处理下,与正常光照处理相比,弱光

处理下 2 个甜菊品种茎中氮素含量无显著变化。

由表 2 还可见:同一品种和光照处理下,与不施氮处理相比,施氮处理下 2 个甜菊品种单株叶片和茎中氮素积累量分别升高了 71.4%~243.8%和 72.9%~323.1%。而同一品种和氮素处理下,与正常光照处理相比,弱光处理下甜菊单株叶片和茎中氮素积累量有不同程度的降低。

由表 2 还可见:同一光照处理下,与不施氮处理相比,施氮处理下甜菊品种‘守田 3 号’叶片氮素分配比例显著降低,茎氮素分配比例显著升高;甜菊品种‘中山 8 号’叶片和茎的氮素分配比例无显著变化。同一品种和氮素处理下,与正常光照处理相比,弱光处理下 2 个甜菊品种叶片氮素分配比例有不同程度的降低,茎氮素分配比例则有不同程度的升高。此外,在同一氮素和光照处理下,甜菊品种‘中山 8 号’叶片氮素分配比例高于甜菊品种‘守田 3 号’,而其茎氮素分配比例低于甜菊品种‘守田 3 号’。

方差分析结果显示:氮素和光照对甜菊叶片和茎的氮素含量、单株氮素积累量和氮素分配比例有显著

表2 氮素和光照对2个甜菊品种氮素含量、积累量及分配比例的影响($\bar{X}\pm SD$)¹⁾Table 2 Effects of nitrogen and light on content, accumulation, and allocation ratio of nitrogen in two *Stevia rebaudiana* Bertoni cultivars ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

处理 Treatment		氮素含量/(mg·g ⁻¹) Nitrogen content		单株氮素积累量/mg Nitrogen accumulation per plant		氮素分配比例/% Nitrogen allocation ratio	
氮素 Nitrogen	光照 Light	叶片 Leaf	茎 Stem	叶片 Leaf	茎 Stem	叶片 Leaf	茎 Stem
守田3号 Shoutian No. 3							
N ₀	L _N	16.82±0.36d	7.25±0.99c	29.54±3.37b	5.97±0.91bc	83.19±1.66a	16.81±1.66c
N	L _N	20.03±0.77c	9.83±0.31ab	56.38±5.36a	14.63±2.64a	79.49±2.17bc	20.51±2.17ab
N ₀	L _W	22.97±0.29b	9.41±0.52b	13.04±5.86c	3.22±1.64c	80.45±1.74ab	19.55±1.74bc
N	L _W	24.18±0.51a	10.64±0.76a	22.35±6.95b	6.62±1.61b	76.85±1.66c	23.15±1.66a
中山8号 Zhongshan No. 8							
N ₀	L _N	16.60±1.26d	7.65±0.27b	20.78±1.68b	3.33±0.23b	86.14±1.54a	13.86±1.54b
N	L _N	20.99±0.99c	10.30±1.22a	71.44±17.72a	14.09±3.10a	83.45±0.54ab	16.55±0.54ab
N ₀	L _W	23.66±1.36b	11.31±1.93a	13.61±5.18b	3.06±1.04b	81.10±3.73b	18.90±3.73a
N	L _W	28.38±2.21a	11.97±2.16a	25.64±2.83b	5.29±0.84b	82.84±2.77ab	17.16±2.77ab
氮素 Nitrogen		70.43**	16.99**	82.33**	102.24**	7.23*	7.23*
光照 Light		235.56**	23.10**	90.27**	63.99**	12.99**	12.99**
品种 Cultivar		12.17**	5.68*	0.87	3.56	19.56**	19.56**
氮素×光照 Nitrogen×light		1.08	3.73	26.57**	30.97**	2.19	2.19
氮素×品种 Nitrogen×cultivar		8.45**	0.09	5.93*	0.14	4.31*	4.31*
光照×品种 Light×cultivar		6.64*	1.87	0.05	0.47	0.01	0.01
氮素×光照×品种 Nitrogen×light×cultivar		2.11	0.13	3.76	1.75	2.00	2.00

¹⁾ N₀: 不施氮 Non-nitrogen application; N: 施氮 Nitrogen application; L_N: 正常光照 Normal light; L_W: 弱光 Weak light. 同一品种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 of the same cultivar indicate the significant difference at 0.05 level. **: P<0.01; *: P<0.05.

或极显著影响。氮素与光照的互作对甜菊叶片和茎的单株氮素积累量有极显著影响,但是对叶片和茎的氮素含量和氮素分配比例无显著影响。氮素与品种的互作对甜菊叶片中氮素含量和单株总氮积累量以及叶片和茎的氮素分配比例有显著或极显著影响,光照与品种的互作仅对甜菊叶片中氮素含量有显著影响。氮素、光强与品种的互作对甜菊上述指标均无显著影响。

2.3 氮素和光照对2个甜菊品种叶片中甜菊糖苷含量和积累量以及可溶性糖含量的影响

氮素和光照对2个甜菊品种叶片中甜菊糖苷含量和积累量以及可溶性糖含量的影响见表3。由表3可见:同一品种和光照处理下,与不施氮处理相比,施氮处理下2个甜菊品种叶片中甜菊苷、莱鲍迪苷A、莱鲍迪苷C和总甜菊糖苷的含量分别降低了16.6%~31.8%、8.9%~28.4%、7.1%~17.5%和14.5%~27.0%。同一氮素处理下,与正常光照相比,弱光处理下甜菊品种‘守田3号’叶片中3种甜菊糖苷含量和总甜菊糖苷含量无显著变化。不施氮处理下,与正常光照处理相比,弱光处理下甜菊品种‘中山8号’

叶片中甜菊苷、莱鲍迪苷A和总甜菊糖苷的含量显著降低,莱鲍迪苷C含量无显著变化;施氮处理下,与正常光照处理相比,弱光处理对甜菊品种‘中山8号’叶片中3种甜菊糖苷含量和总甜菊糖苷含量无显著影响。此外,同一光照和氮素处理下,与甜菊品种‘守田3号’相比,甜菊品种‘中山8号’叶片中甜菊苷含量较高而莱鲍迪苷A含量较低,但是2个甜菊品种叶片中莱鲍迪苷C含量接近。

由表3还可见:正常光照处理下,与不施氮处理相比,施氮处理下2个甜菊品种单株总甜菊糖苷积累量显著升高;弱光处理下,与不施氮处理相比,施氮处理对2个甜菊品种单株总甜菊糖苷积累量的影响不显著。同一品种和氮素处理下,与正常光照处理相比,弱光处理下甜菊单株总甜菊糖苷积累量降低了64.5%~73.5%,差异达显著水平。

由表3还可见:同一品种和氮素处理下,与正常光照处理相比,弱光处理显著降低了甜菊品种‘中山8号’叶片中可溶性糖含量,但是对甜菊品种‘守田3号’叶片中可溶性糖含量无显著影响。正常光照处理下,与不施氮处理相比,施氮处理下2个甜菊品种

叶片中可溶性糖含量显著降低;弱光处理下,与不施氮处理相比,施氮处理对 2 个甜菊品种叶片中可溶性糖含量无显著影响。

方差分析结果显示:氮素对甜菊叶片中 3 种甜菊糖苷含量、总甜菊糖苷含量和可溶性糖含量以及单株总甜菊糖苷积累量有显著或极显著影响;光照对甜菊糖苷含量和可溶性糖含量以及单株总甜菊糖苷积累量有极显著影响。氮素与光照的互作对甜菊叶片中甜菊苷、莱鲍迪苷 A、总甜菊糖苷和可溶性糖的含量以

及单株总甜菊糖苷积累量有显著或极显著影响,对莱鲍迪苷 C 含量无显著影响。氮素与品种的互作仅对甜菊叶片中甜菊苷含量有显著影响,光照与品种的互作对甜菊苷、总甜菊糖苷和可溶性糖的含量有极显著影响,氮素与品种以及光照与品种的互作对莱鲍迪苷 A 和莱鲍迪苷 C 的含量以及单株总甜菊糖苷积累量无显著影响。氮素、光照与品种的互作对甜菊叶片中甜菊苷和可溶性糖的含量有显著影响。

表 3 氮素和光照对 2 个甜菊品种叶片中甜菊糖苷含量和积累量以及可溶性糖含量的影响 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 3 Effects of nitrogen and light on content and accumulation of steviol glycosides and soluble sugar content in leaves of two *Stevia rebaudiana* Bertoni cultivars ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

处理 Treatment		甜菊糖苷含量/% Steviol glycosides content				单株总甜菊糖苷 积累量/g	可溶性糖 含量/(mg · g ⁻¹)
氮素 Nitrogen	光照 Light	甜菊苷 Stevioside	莱鲍迪苷 A Rebaudioside A	莱鲍迪苷 C Rebaudioside C	总计 Total	Total steviol glycosides accumulation per plant	Soluble sugar content
守田 3 号 Shoutian No. 3							
N ₀	L _N	4.51±0.38a	6.01±0.50a	2.69±0.21ab	13.21±0.86a	0.23±0.04b	29.96±2.45a
N	L _N	3.50±0.27b	4.92±0.53b	2.50±0.12b	10.91±0.76b	0.31±0.05a	26.44±2.14b
N ₀	L _w	4.46±0.26a	6.09±0.52a	3.31±0.46a	13.86±0.93a	0.08±0.04c	29.42±2.00ab
N	L _w	3.57±0.19b	5.40±0.55ab	2.73±0.58ab	11.70±0.82b	0.11±0.03c	26.37±1.72b
中山 8 号 Zhongshan No. 8							
N ₀	L _N	6.50±0.17a	4.08±0.07a	2.67±0.15a	13.25±0.21a	0.17±0.01b	32.82±3.49a
N	L _N	4.43±0.56bc	2.92±0.33c	2.32±0.45a	9.67±0.83c	0.34±0.12a	24.75±1.23b
N ₀	L _w	4.87±0.40b	3.56±0.26b	2.85±0.43a	11.28±0.85b	0.06±0.03c	21.29±1.01c
N	L _w	4.06±0.15c	3.24±0.14bc	2.35±0.37a	9.65±0.65c	0.09±0.01bc	20.39±1.95c
氮素 Nitrogen		107.60**	33.62**	8.47*	84.72**	16.29**	26.79**
光照 Light		18.30**	0.17	3.33	0.66	92.75**	30.22**
品种 Cultivar		68.55**	248.35**	3.21	29.54**	1.02	18.63**
氮素×光照 Nitrogen×light		8.89**	6.81*	0.61	5.43*	7.25*	6.49*
氮素×品种 Nitrogen×cultivar		4.47*	0.07	0.16	1.04	1.52	0.64
光照×品种 Light×cultivar		19.06**	1.27	1.03	9.48**	0.00	25.91**
氮素×光照×品种 Nitrogen×light×cultivar		5.99*	0.29	0.04	2.22	1.82	4.99*

¹⁾ N₀: 不施氮 Non-nitrogen application; N: 施氮 Nitrogen application; L_N: 正常光照 Normal light; L_w: 弱光 Weak light. 同一品种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 of the same cultivar indicate the significant difference at 0.05 level. **: P<0.01; *: P<0.05.

3 讨论和结论

氮素和光照是影响植物叶片光合速率的关键环境因子,缺氮或弱光条件下,植物叶片光合速率及叶绿素荧光效率显著降低,植物的干质量形成受到抑制^[11-12]。本研究中,与正常光照或施氮处理相比,弱光及不施氮处理下甜菊品种‘中山 8 号’和‘守田 3 号’单株叶片干质量、单株茎干质量和叶片叶绿素相对含量总体上显著降低。比叶质量和叶茎比是衡量

植物响应环境变化的重要指标。Poorter 等^[13]研究认为,低光照水平会导致植物的干质量更多地向茎分配,而营养缺乏则会降低干质量向叶片分配的比例。Yao 等^[14]的研究结果表明:棉花 (*Gossypium hirsutum* Linn.) 可以通过调整比叶质量优化冠层对光照和氮素的利用效率。本研究中,弱光和氮素处理均会影响甜菊的叶茎比和比叶质量,甜菊通过改变自身干质量的分配比例和叶片形态适应外界环境变化^[15]。

氮素是核酸、蛋白质及酶的关键组成成分,参与植物生长发育的各个环节,植物体内的氮素含量及积

累特征是影响干质量的关键因子^[16-17]。本研究中,与正常光照相比,弱光处理下2个甜菊品种叶片和茎中氮素含量总体上显著升高,这可能与弱光条件下植物生长受阻造成的氮素“浓缩效应”^[18]有关。施氮可以缓解弱光对植物生长的抑制作用^[12,19]。本研究中,弱光处理下,施氮处理下甜菊的干质量和氮素含量较不施氮处理升高,说明适当增施氮肥能有效调节植物在弱光条件下的氮素吸收和生长发育。

总体上看,施氮处理下2个甜菊品种叶片中甜菊糖苷含量较不施氮处理显著降低,弱光处理下甜菊糖苷含量与正常光照处理相比无显著变化,与前人的研究结果^[2,6,8]一致。Yoneda等^[20]的研究表明:光质变化会显著影响甜菊糖苷合成,但是光照强度的改变对*KO*、*UGT85C2*、*UGT74G1*和*UGT76G1*等甜菊糖苷合成关键基因的表达并无显著影响。值得注意的是,不施氮处理下,弱光处理下甜菊品种‘中山8号’叶片中总甜菊糖苷含量较正常光照处理显著降低,说明不同甜菊品种的光敏感性存在差异,且施氮可以缓解弱光处理对甜菊糖苷合成的抑制作用。

施氮和弱光处理下,2个甜菊品种叶片中可溶性糖含量的变化趋势与总甜菊糖苷含量基本一致,表明氮素可能通过影响甜菊体内的碳代谢以及糖酵解过程调控甜菊糖苷合成底物的含量^[21]。此外,对海滨木巴戟(*Morinda citrifolia* Linn.)^[22]和丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)^[23]的研究结果也显示:适量喷施蔗糖能有效提高植物体内碳基次级代谢产物的合成,进一步证明糖代谢在甜菊糖苷合成调控中具有重要作用。

在实际生产中,与单一的甜菊产量或叶片品质相比,甜菊叶片中总甜菊糖苷积累量最终决定其经济价值。本研究中,与正常光照和施氮处理相比,弱光或不施氮处理总体上显著降低了甜菊单株总甜菊糖苷积累量。此外,甜菊单株总甜菊糖苷积累量的变化与单株叶片干质量的变化更为接近,而与总甜菊糖苷含量的变化不同,推测造成这种现象的主要原因是植物“生长-分化/防御平衡”的内在调控机制。植物处于不利环境时,由于自身资源的限制,通过一系列的调控机制介导生长和分化之间的平衡^[24-25]。弱光处理下,植物倾向于提高次级代谢而抑制植物生长,从而提高其防御和生存能力;反之,尽管施氮提高了甜菊的叶片干质量,但抑制了甜菊糖苷的合成。

综上所述,供试2个甜菊品种的干质量和氮素含量均受光照和氮素水平的影响,而叶片甜菊糖苷含量主要受氮素水平的调控。此外,甜菊叶片甜菊糖苷含量与可溶性糖含量的变化有关。在甜菊的栽培生产过程中,应根据甜菊品种特性进行氮素和光照管理,从而获取高产优质的甜菊叶片。

参考文献:

- [1] LEMUS-MONDACA R, VEGA-GÁLVEZ A, ZURA-BRAVO L, et al. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: a comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects [J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(3): 1121-1132.
- [2] SUN Y, HOU M, MUR L A J, 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.
- [3] 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.
- [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*, 2016, 150(5): 953-962.
- [5] 杨永恒, 张永侠, 徐晓洋, 等. 氮、磷、钾肥施对甜菊生长、产量及糖苷相关指标的影响 [J]. *植物资源与环境学报*, 2018, 27(1): 17-26.
- [6] 包亚英, 胡秀英, 郝雨杉, 等. 不同施肥处理对甜菊生长及糖苷含量和积累量的影响 [J]. *植物资源与环境学报*, 2016, 25(1): 71-80.
- [7] KUMAR R, SHARMA S, RAMESH K, et al. Effects of shade regimes and planting geometry on growth, yield and quality of the natural sweetener plant *stevia* (*Stevia rebaudiana* Bertoni) in north-western Himalaya [J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2013, 59(7): 963-979.
- [8] 曾小燕. 栽培措施对甜菊品质影响的研究 [D]. 福州: 福建农林大学园艺学院, 2011: 51-58.
- [9] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000: 308-310.
- [10] 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.
- [11] MU H, JIANG D, WOLLENWEBER B, et al. Long-term low radiation decreases leaf photosynthesis, photochemical efficiency and grain yield in winter wheat [J]. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 2010, 196(1): 38-47.
- [12] PAN S, LIU H, MO Z, et al. Effects of nitrogen and shading on root morphologies, nutrient accumulation, and photosynthetic parameters in different rice genotypes [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 32148.

(下转第34页 Continued on page 34)

- 43(4): 650-657.
- [14] 于新, 田淑慧, 徐文兴, 等. 木霉菌生防作用的生化机制研究进展[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2005, 44(2): 86-90.
- [15] 沈德龙, 曹凤明, 李力. 我国生物有机肥的发展现状及展望[J]. 中国土壤与肥料, 2007(6): 1-5.
- [16] 滕安娜. 木霉菌对植物的促生效果及其机理的研究[D]. 济南: 山东师范大学生命科学学院, 2010; 20-25.
- [17] 夏可心, 于亚楠, 张建, 等. 2种木霉生物有机肥对蔬菜产量和品质的影响[J]. 南京农业大学学报, 2020, 43(2): 284-291.
- [18] 商娜, 任爱芝, 赵培宝. 木霉菌在园林园艺植物上的应用及研究进展[J]. 北方园艺, 2021(3): 149-154.
- [19] 赵宝明, 顾燕芬, 赵杰, 等. 生物菌肥对老桃园土壤和再植桃苗生长的影响[J]. 北方园艺, 2017(7): 179-183.
- [20] 章家恩. 生态学常用实验研究方法与技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006; 68-69.
- [21] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [22] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000; 49.
- [23] 冯程龙, 王晓婷, 康文晶, 等. 利用小麦秸秆生产木霉分生孢子及其生物有机肥对黄瓜的促生效果[J]. 植物营养与肥料学报, 2017, 23(5): 1286-1295.
- [24] 陆宁海, 徐瑞富, 房振宏, 等. 哈茨木霉对小麦和玉米幼苗生长的影响[J]. 江苏农业学报, 2005, 21(3): 238-240.
- [25] 刘秋梅, 陈兴, 孟晓慧, 等. 新型木霉氨基酸有机肥研制及其对番茄的促生效果[J]. 应用生态学报, 2017, 28(10): 3314-3322.
- [26] HARMAN G E, TAYLOR A G, STASZ T E. Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and solid matrix priming to improve biological seed treatments[J]. Plant Disease, 1989, 73: 631-637.
- [27] 张风革. 哈茨木霉诱变菌株 T-E5 及其生物有机肥对黄瓜生长的影响及机理研究[D]. 南京: 南京农业大学资源与环境科学学院, 2015; 1-3.
- [28] 李亚东, 赵爽, 张志东, 等. 不同氮素形态配比对越橘生长、产量及叶片元素含量的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2008, 30(4): 477-480.

(责任编辑: 郭严冬)

(上接第18页 Continued from page 18)

- [13] POORTER H, NIKLAS K J, REICH P B, et al. Biomass allocation to leaves, stems and roots; meta-analyses of interspecific variation and environmental control[J]. New Phytologist, 2012, 193(1): 30-50.
- [14] YAO H, ZHANG Y, YI X, et al. Cotton responds to different plant population densities by adjusting specific leaf area to optimize canopy photosynthetic use efficiency of light and nitrogen[J]. Field Crops Research, 2016, 188: 10-16.
- [15] FRESCHET G T, SWART E M, CORNELISSEN J H C. Integrated plant phenotypic responses to contrasting above- and below-ground resources: key roles of specific leaf area and root mass fraction[J]. New Phytologist, 2015, 206(4): 1247-1260.
- [16] 刘曙光, 段佩玲, 张利霞, 等. 氮素形态对‘凤丹’表型性状、光合及产量的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2019, 43(4): 161-168.
- [17] LAWLOR D W, LEMAIRE G, GASTAL F. Nitrogen, plant growth and crop yield[M] // LEA P J, MOROT-GAUDRY J-F. Plant Nitrogen. Berlin: Springer-Verlag, 2001: 343-367.
- [18] JARRELL W M, BEVERLY R B. The dilution effect in plant nutrition studies[J]. Advances in Agronomy, 1981, 34: 197-224.
- [19] 李盛婷, 杨城, 王冉, 等. 草珊瑚植株表型对光照和氮素营养的响应[J]. 植物营养与肥料学报, 2019, 25(8): 1441-1450.
- [20] YONEDA Y, SHIMIZU H, NAKASHIMA H, et al. Effects of light intensity and photoperiod on improving steviol glycosides content in *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni while conserving light energy consumption[J]. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 2017, 7: 64-73.
- [21] WANG J, LI S, XIONG Z, et al. Pathway mining-based integration of critical enzyme parts for *de novo* biosynthesis of steviolglycosides sweetener in *Escherichia coli*[J]. Cell Research, 2016, 26(2): 258-261.
- [22] BAQUE M A, ELGIRBAN A, LEE E J, et al. Sucrose regulated enhanced induction of anthraquinone, phenolics, flavonoids biosynthesis and activities of antioxidant enzymes in adventitious root suspension cultures of *Morinda citrifolia* (L.) [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2011, 34: 405-415.
- [23] WANG C L, LIANG Z S, LI D R, et al. Salvianolic acids production in *Salvia miltiorrhiza* Bunge was regulated by both soluble sugars accumulation and growth substances salicylic acid and methyl jasmonate[J]. Journal of Medicinal Plants Research, 2012, 6(13): 2666-2673.
- [24] LI Y, YANG Y, HU Y, et al. DELLA and EDS1 form a feedback regulatory module to fine-tune plant growth-defense tradeoff in *Arabidopsis*[J]. Molecular Plant, 2019, 12(11): 1485-1498.
- [25] BARTO E K, CIPOLLINI D. Testing the optimal defense theory and the growth-differentiation balance hypothesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. Oecologia, 2005, 146(2): 169-178.

(责任编辑: 张明霞)