

氮、磷、钾对菘蓝生长和氮代谢相关酶的影响研究

郭庆海¹, 王康才^{2*}, 刘倩倩², 晏枫霞², 李淑艳³

(1. 滨海县农委植保植检站, 江苏滨海 224500; 2. 南京农业大学园艺学院, 江苏南京 210095; 3. 滨海县农业科学研究所, 江苏滨海 224500)

摘要 [目的]研究氮、磷、钾对菘蓝生长和氮代谢相关酶的影响。[方法]采用砂培方法栽培菘蓝,测定不同氮磷钾配比处理下,菘蓝生物量、硝酸还原酶(NR)和谷氨酰胺合成酶(GS)的活性。[结果]菘蓝营养生长各阶段对氮磷钾需求不同,营养生长后期氮磷钾的共同作用对菘蓝生物量积累有重要影响,根冠比以低氮水平下较高;一定氮素水平下,增加钾水平促进了菘蓝叶片硝酸盐的积累,叶片NR活性受到氮和钾的共同作用的影响,GS活性与氮钾水平及二者比例有关。[结论]氮、磷、钾等营养成分对菘蓝生长和氮代谢相关酶均有影响。

关键词 菘蓝(*Isatis indigotica* Fort.); 氮磷钾; 氮代谢

中图分类号 S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)07-02900-03

Effects of N, P, K on Growth and Nitrogen Metabolism of *Isatis indigotica*

GUO Qing-hai et al (Plant Protection & Sanitation Station, Binhai Agricultural Committee, Binhai, Jiangsu 224500)

Abstract [Objective] To study effects of N, P, K on growth and nitrogen metabolism of *I. indigotica*. [Method] The sand culture experiment was conducted. The biomass, NR and GS activities of *I. indigotica* under different N, P, K treatments were determined. [Result] The results were showed as following: The requirement of *I. indigotica* for N, P, K was different in various vegetative growth phase. The interaction of N, P, K was important to the biomass accumulation in later stage of *I. indigotica* vegetative growth phase and the root-shoot ratio of lower N treatments were higher. Improving the K levels under certain N can promote the nitrate nitrogen accumulation in *I. indigotica* Fort. leaf and the NR and GS activities were effected by both N and K. [Conclusion] N, P, K all have effects on growth and nitrogen metabolism of *I. indigotica*.

Key words *Isatis indigotica* Fort.; N, P, K; Nitrogen metabolism

氮磷钾作为植物生长所必需的3大矿质元素,对植物的生长发育、生理、产量及品质有重要的影响。硝酸还原酶(NR)和谷氨酰胺合成酶(GS)是氮代谢过程中的两个关键酶,是植物利用氮素不可或缺的催化剂,而氮素含量及氮素形态的比例对其活性有一定影响。研究表明,增加施氮量能够提高氮素同化关键酶硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶的活性^[1]。汪建飞等研究表明,提高营养液中硝态氮的比例,可以明显提高菠菜茎叶中硝酸还原酶(NR)的活性;而在同一施氮水平下,铵态氮营养条件下GS活性高^[2-3]。

菘蓝(*Isatis indigotica* Fort.)的叶和根均可入药,分别称为大青叶和板蓝根。大青叶主要含靛蓝和靛玉红等吲哚类成分,其生理活性成分靛玉红具有抗菌抗炎、抗肿瘤、增强免疫功能等作用。板蓝根多糖具有免疫调节作用,也是评价板蓝根质量的一个指标之一。目前,关于菘蓝的研究多集中在化学成分、药理作用、组织培养、生物学特性等方面,关于菘蓝生理和营养的研究也仅围绕着对其产量和主要成分的影响展开,而对于无土栽培中氮磷钾营养对菘蓝相关酶活性的影响的研究鲜有报道。因此,笔者采用砂培法研究了氮磷钾营养对菘蓝生长、硝酸还原酶(NR)和谷氨酰胺合成酶(GS)活性的影响,以期对菘蓝的进一步开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象。安徽太和菘蓝种子,采收于2007年6月,经鉴定为菘蓝(*Isatis indigotica* Fort.)的成熟种子。

基金项目 国家公益性行业(农业)科研专项(200903008-02-06)。

作者简介 郭庆海(1981-),男,山东肥城人,硕士研究生,研究方向:药用植物栽培与生理,E-mail:mamadudu@163.com。*通讯作者,教授,硕士生导师,E-mail:wangkc@njau.edu.cn。

收稿日期 2013-02-16

1.1.2 主要试剂。试剂盒(A047),购自南京建成生物工程研究所;栽培基质为石英砂-蛭石(w/w,1:2),砂培基本营养液配方中大量元素采用霍格兰营养液配方,微量元素采用阿农营养液配方,基本营养液pH 6.0,均为实验室自制。

1.2 方法

1.2.1 试验设计。试验在南京农业大学试验基地的日光温室内进行,材料于2008年7月播种,出苗后,每隔10 d灌溉1次基本营养液,每次500 ml;播种30 d后,株高达8 cm、真叶3~5片时,选取长势一致的菘蓝幼苗,每盆定苗10株,在基本营养液的基础上,采用氮磷钾3因素3水平的正交设计处理(见表1),其中N、P、K分别由硝酸铵、磷酸二氢钠和硫酸钾提供。各处理重复10次。每10 d处理1次,每30 d采1次样。

表1 试验各处理的设计

水平	因素		
	N//mmol/L	P//mmol/L	K//mmol/L
1	0	0	0
2	15	2	6
3	30	4	12

1.2.2 生物量的测定。于9月中旬开始采样,每30 d采样1次,共取5次。将采回的样洗净,称量植株地上部和地下的鲜重,于105℃杀青15 min后,再于60℃烘干至恒重,称量其干重。

1.2.3 NR和GS活性测定。NR活性测定参照李合生的方法^[4],GSA采用试剂盒(A047)进行测定。

1.2.4 数据处理。数据用Excel 2003进行统计,SPSS 18.0进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 氮磷钾营养处理对菘蓝干物质积累的影响

2.1.1 菘蓝营养生长期地上部和地下部生物量及含水量的动态变化。菘蓝营养生长期茎叶和根的干物质积累呈增长趋势。图 1 表明,前期地上部和地下部干物质的积累较后期缓慢,且地下部干物质积累的增长速率较地上部快。图 2 表明,地上部和地下部含水量的变化趋势相反。地上部含水量总体呈下降趋势,由 9 月份的 86.04% 降至 1 月份的 80.26%,下降了 6.71%。原因可能是菘蓝营养生长后期叶片对水分需求量的增加小于其叶片干物质的增长量。地下部的含水量则总体呈上升趋势,由 57.04% 增长到 72.18%,增长了 26.54%。可能与后期菘蓝地下部根的生长需要一定

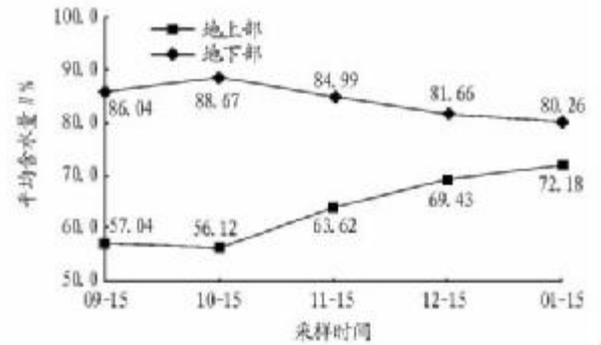


图 2 菘蓝地上部和地下部平均含水量变化

量的水分参与有关。

2.1.2 不同处理对菘蓝地上部干物质积累的影响。由表 2 可知,不同氮磷钾配比处理菘蓝干物质重的积累规律:营养生长期,菘蓝地上部干物质重随生育进程逐渐增加,且后期的增加趋势较高。总体来看,无氮素营养(N₀)或氮素水平较低(N₁)的处理地上部干物质积累较低,各阶段干物质积累的最大值均出现在氮素水平较高(N₂)的处理中,并且差异明显。而在氮素水平(N₂)一致的情况下,生长前期以 N₂P₀K₂ 处理下干物质积累较大,在生长后期以施用一定磷素的处理干物质积累较大。菘蓝地上部干物质积累月平均增长量随处理基本呈上升趋势,以 N₂P₂K₁ 增长较快,且干物质积累量最大,说明氮磷钾配合使用最有利于菘蓝生长。

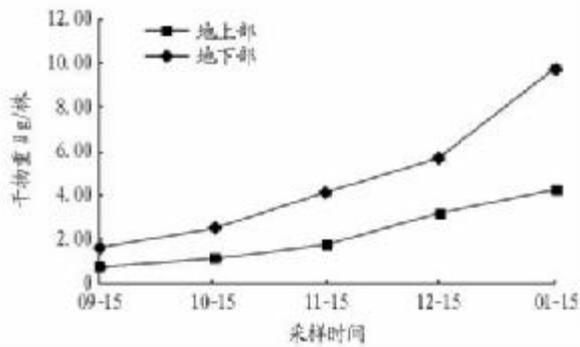


图 1 菘蓝地上部和地下部生物量变化

表 2 氮磷钾处理对菘蓝地上部干物质积累的影响

处理	采样时间					月平均增量
	09-15	10-15	11-15	12-15	01-15	
N ₀ P ₀ K ₀	0.73 ± 0.01eE	1.10 ± 0.05dE	1.73 ± 0.11cF	3.15 ± 0.11bE	4.22 ± 0.13aG	0.698
N ₀ P ₁ K ₁	0.64 ± 0.02dF	0.78 ± 0.07dG	2.53 ± 0.12bB	1.98 ± 0.20cG	3.24 ± 0.16aH	0.520
N ₀ P ₂ K ₂	0.62 ± 0.04eF	0.92 ± 0.12dF	1.26 ± 0.10cG	2.64 ± 0.12bF	4.58 ± 0.07aF	0.792
N ₁ P ₀ K ₁	1.23 ± 0.02dD	1.21 ± 0.05dE	2.40 ± 0.09cBC	3.66 ± 0.13bD	5.34 ± 0.13aE	0.822
N ₁ P ₁ K ₂	1.24 ± 0.03dD	1.23 ± 0.04dE	2.27 ± 0.07cCD	3.79 ± 0.15bD	5.41 ± 0.07aE	0.834
N ₁ P ₂ K ₀	1.32 ± 0.03cD	1.51 ± 0.13dD	1.96 ± 0.04cE	4.21 ± 0.12bC	7.13 ± 0.09aD	1.162
N ₂ P ₀ K ₂	1.82 ± 0.06dA	2.52 ± 0.11cA	2.42 ± 0.08cB	4.36 ± 0.12bC	8.33 ± 0.08aC	1.302
N ₂ P ₁ K ₀	1.52 ± 0.02eB	2.05 ± 0.11dC	2.69 ± 0.06cA	4.62 ± 0.11bB	9.05 ± 0.08aB	1.506
N ₂ P ₂ K ₁	1.54 ± 0.05dB	2.24 ± 0.13cB	2.23 ± 0.12cD	7.13 ± 0.09bA	12.69 ± 0.16aA	2.230

g

注:不同字母表示差异达 5% 显著水平。其中小写字母表示同一处理不同时期的横向比较,大写字母表示不同处理间的纵向比较,下同。

2.1.3 不同处理对菘蓝地下部干物质积累的影响。氮磷钾处理对菘蓝地下部生物量的影响与地上部不同。由表 3 可知,在营养生长前期根部干物质的积累以 N₀ 或 N₁ 水平下处理较高,而 N₂ 水平下较低,而在生长后期, N₂ 水平下的两个

处理(N₂P₁K₀ 和 N₂P₂K₁)生物量积累最大,且与其他处理差异明显;在 1 月份 N₂P₂K₁ 处理的干物质积累达最大值。而且,根部干物质的积累在不同阶段逐渐增加,并表现出明显差异。

表 3 氮磷钾处理对菘蓝地下部干物质积累的影响

处理	采样时间					月平均增量
	09-15	10-15	11-15	12-15	01-15	
N ₀ P ₀ K ₀	1.61 ± 0.05eA	2.52 ± 0.12dD	4.12 ± 0.13cC	5.74 ± 0.12bD	9.79 ± 0.11aE	1.636
N ₀ P ₁ K ₁	1.72 ± 0.02dA	3.25 ± 0.10cB	4.83 ± 0.08bA	4.75 ± 0.13bF	9.21 ± 0.12aF	1.498
N ₀ P ₂ K ₂	1.33 ± 0.11eB	3.90 ± 0.13cA	3.42 ± 0.12dE	5.72 ± 0.09bD	8.27 ± 0.13aH	1.388
N ₁ P ₀ K ₁	1.15 ± 0.09cC	2.02 ± 0.08dF	4.55 ± 0.12cB	5.22 ± 0.13bE	10.46 ± 0.15aD	1.862
N ₁ P ₁ K ₂	1.75 ± 0.07dA	2.07 ± 0.07dF	4.88 ± 0.07cA	8.27 ± 0.18bB	8.78 ± 0.33aG	1.406
N ₁ P ₂ K ₀	1.44 ± 0.09eB	2.23 ± 0.13dE	3.52 ± 0.10cE	7.94 ± 0.35bC	13.43 ± 0.11aB	2.398
N ₂ P ₀ K ₂	1.37 ± 0.08dB	2.81 ± 0.10cC	2.92 ± 0.11cF	5.81 ± 0.10bD	13.38 ± 0.19aB	2.402
N ₂ P ₁ K ₀	1.05 ± 0.06cC	2.59 ± 0.12dD	3.83 ± 0.11cD	10.12 ± 0.08bA	11.52 ± 0.16aC	2.094
N ₂ P ₂ K ₁	1.34 ± 0.12eB	2.86 ± 0.11dC	3.82 ± 0.08cD	10.23 ± 0.15bA	16.56 ± 0.24aA	3.044

g

2.2 氮磷钾营养处理对菘蓝根冠比的影响 由表4可知,氮磷钾处理对菘蓝根冠比有不同影响,相同处理下不同阶段根冠比也不相同。高水平氮素(N_2)处理下的根冠比较其他处理低。而且,各个处理下根冠比均随时间逐渐增加的,但是增加的幅度却有所不同,表现为未另外施加氮素的处理增长幅度为6.9%、4.4%和-14.2%,而施加氮素的处理中最小增长幅度为15.7% ($N_1P_1K_2$),最大值为114% ($N_2P_0K_2$)。说明虽然未另外施加氮素营养的处理根冠比较高,但此处理下菘蓝的生物量较低,不利于菘蓝生长,因此生产上在考虑最大收获量时要兼顾根冠比和总生物量的积累。

表4 氮磷钾处理对菘蓝根冠比的影响

处理	采样时间				
	09-15	10-15	11-15	12-15	01-15
$N_0P_0K_0$	2.17	2.29	2.38	1.82	2.32
$N_0P_1K_1$	2.72	4.17	1.91	2.40	2.84
$N_0P_2K_2$	2.11	4.22	2.71	2.17	1.81
$N_1P_0K_1$	0.93	1.67	1.90	1.43	1.97
$N_1P_1K_2$	1.40	1.69	2.15	2.18	1.62
$N_1P_2K_0$	1.10	1.47	1.80	1.88	1.88
$N_2P_0K_2$	0.75	1.12	1.20	1.33	1.61
$N_2P_1K_0$	0.69	1.26	1.43	1.42	1.27
$N_2P_2K_1$	0.87	1.27	1.71	2.22	1.31

2.3 氮磷钾营养处理对菘蓝叶片中NR和GS活性的影响 由表5可知,NR活性较大的2个处理为 $N_2P_0K_2$ (33.95 $\mu\text{g/g}\cdot\text{h}$)和 $N_2P_2K_1$ (34.08 $\mu\text{g/g}\cdot\text{h}$), $N_1P_1K_2$ 次之(23.27 $\mu\text{g/g}\cdot\text{h}$),而 $N_2P_1K_0$ 处理的较低(11.91 $\mu\text{g/g}\cdot\text{h}$), $N_0P_0K_0$ 的最低(8.62 $\mu\text{g/g}\cdot\text{h}$),而在同一磷水平下,各处理NR活性差异明显,且处理 $N_2P_0K_2$ 活性较高,为33.95 $\mu\text{g/g}\cdot\text{h}$ 。

GS作为联系氮素同化代谢与无机代谢的关键酶,承担着氮代谢即无机氮转化为有机氮的中心作用。由表5可知,各个处理下GS酶活性存在明显差异。处理 $N_2P_0K_2$ 下活性最高,为2085.6 U/g·FW,是最低的4.5倍($N_0P_0K_0$,460.7 U/g·FW),处理 $N_1P_0K_1$ 下活性次之(1854.9 U/g·FW)。同一钾素水平的GS活性都有明显差异。在 K_2 水平下, $N_2P_0K_2$ 的GS活性较高, K_1 水平下 $N_1P_0K_1$ 活性较高,而 K_0 水平处理的GS活性均较低。说明K对GS的影响不仅与其水平有关,还与K和N的比例有关。

表5 氮磷钾处理对菘蓝叶片中NR和GS活性的影响

处理号	NR活性// $\mu\text{g/g}\cdot\text{h}$	GS活性//U/g·FW
$N_0P_0K_0$	8.62 ± 0.42F	460.7 ± 42.41F
$N_0P_1K_1$	17.75 ± 1.36C	1606.4 ± 81.73C
$N_0P_2K_2$	14.06 ± 1.17D	808.1 ± 96.49E
$N_1P_0K_1$	13.70 ± 0.64DE	1854.9 ± 114.9B
$N_1P_1K_2$	23.27 ± 0.99B	690.78 ± 26.6E
$N_1P_2K_0$	18.05 ± 0.85C	1346.1 ± 75.25D
$N_2P_0K_2$	33.95 ± 1.00A	2085.6 ± 60.1A
$N_2P_1K_0$	11.91 ± 0.99E	1493.9 ± 79.6C
$N_2P_2K_1$	34.08 ± 1.12A	1626.82 ± 64.4C

3 结论与讨论

植物根系与地上部一方面在对营养物质需求上相互依赖、相互制约;另一方面,由于具有不同的生长环境和生理功能,因而对环境因子反应有着不同的表现^[5]。试验结果表

明,氮素可明显促进菘蓝地上部分干物质的积累。这与武新红等研究结果是一致的^[6]。菘蓝地上部在不同生长阶段对营养的需求也是不同的,试验中主要表现在每个阶段菘蓝地上部干物质积累并不是在同一个处理下产生的,而最终以 $N_2P_2K_1$ 处理下的干物质积累最大,而前期以 $N_2P_0K_2$ 处理下干物质积累较大,说明在菘蓝营养生长期供应一定的钾有利于其地上部生长,而后期对磷的需求较大。说明植物对营养的需求有其自身的调节作用。但是氮素对菘蓝地下部生长的影响与地上部不同,同时地下部的生长不仅受氮素影响,而是与磷和钾素共同作用的结果。这可能与磷和钾都参与植物组织内各种代谢的原因有关。虽然高氮水平促进了菘蓝根冠干物质的积累,但却降低了根冠比。因此,如何利用植物自身的生理功能,通过对外界环境(尤其是营养元素)调控,协调植物地上地下部分的生长,使其向有利的方向发展,对于提高作物的产量和质量具有重要的意义,对于以根类、叶类或根、叶同时入药的药用植物来说更是如此。

硝酸还原酶(NR)和谷氨酰胺合成酶(GS)是联系氮同化代谢与无机代谢的关键酶,在氮素同化代谢中起中心调节作用。氮磷钾营养均对氮代谢关键酶的活性产生明显影响。氮素是氮代谢过程的基础,过去大多数研究都是通过提高氮素水平来提高氮代谢关键酶的活性,以达到促进氮代谢的目的^[7],此外,也可通过改变氮素形态的比例提高NR和GS酶的活性^[8-9]。钾是多种酶的激活剂,增加钾的供应可以明显提高硝酸还原酶和氨基酰-tRNA合成酶的活性,加快硝酸盐的还原同化,减少硝酸盐的累积,促进核酸和蛋白质的合成,从而提高了植物体内氮代谢速率。试验结果表明,菘蓝叶片NR活性受到氮和钾的共同作用的影响,即在 N_0 水平下,NR活性普遍较低,与钾水平无关;同样地在 K_0 水平处理下,即使在氮素水平较高,NR活性也较低。试验结果还表明,GS活性与氮钾水平及二者比例有关。虽然许多研究表明,植物的光合作用、C代谢与磷营养密切相关,但试验结果发现磷对氮代谢没有明显影响。因此,关于磷对菘蓝叶片中氮代谢的影响还需要进一步的研究。

参考文献

- [1] 王月福,于振文,李尚霞,等. 氮素营养水平对冬小麦氮代谢关键酶活性变化和籽粒蛋白质含量的影响[J]. 作物学报,2002,28(6):743-748.
- [2] 汪建飞,董彩霞,沈其荣. 氮素不同形态配比对菠菜体内游离氨基酸含量和相关酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2007,13(4):664-670.
- [3] 张宏纪,马凤鸣,李文华,等. 不同形态氮素对甜菜谷氨酰胺合成酶的影响[J]. 黑龙江农业科学,2001(6):7-10.
- [4] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000:127.
- [5] 沈玉芳,李世清,邵明安. 水肥空间组合对冬小麦生物学性状及生物量的影响[J]. 中国农业科学,2007,40(8):1822-1829.
- [6] 武新红,彭克勤,梁宗锁,等. 氮磷对菘蓝营养生长期根、冠生长的影响[J]. 西北农业学报,2008,17(4):274-278.
- [7] 唐湘如,官春云. 施氮对油菜几种酶活性的影响及其与产量和品质的关系[J]. 中国油料作物学报,2001,23(4):32-37.
- [8] 李彩凤,马凤鸣,赵越,等. 氮素形态对甜菜氮糖代谢关键酶活性及相关产物的影响[J]. 作物学报,2003,29(1):128-132.
- [9] 赵越,魏自民,马凤鸣. 同一氮素水平不同 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 对NR和GSA的影响[J]. 东北农业大学学报,2002,33(4):373-376.