

不同氮素水平对彩椒几项生理指标及活性氧清除系统的影响

鲜开梅¹, 刘慧英²

(1. 新疆维吾尔自治区农业技术推广总站, 新疆 乌鲁木齐 830049; 2. 石河子大学, 新疆 石河子 832000)

摘要:对无土栽培温室彩椒进行 2.5、5.0、10.0(CK)、15.0、20.0 $\mu\text{mol/L}$ (以下用 N2.5、N5.0、N10.0、N15.0 和 N20.0 表示)5 个不同水平的氮素处理,测定几项生理指标(电解质渗透率、可溶性糖、脯氨酸、可溶性蛋白质、丙二醛含量)及活性氧清除系统(还原型谷胱甘肽、抗坏血酸含量、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶及过氧化物酶活性)等参数指标,为彩椒的无土栽培管理技术提供较为科学的参考依据。结果表明:氮素 5.0~15.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内,还原型谷胱甘肽、抗坏血酸含量及抗氧化酶活性较高,电解质渗透率、丙二醛含量较低且均以 N15.0 处理的表现最高(即植株抗氧化能力最强);其次是 N10.0 和 N5.0 处理;N2.5 处理的最低,表明该水平处理的植株抗氧化能力最差;而当施氮量为 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 或 20.0 $\mu\text{mol/L}$ 时,植株均生长不良、产量及植物膜的完整性降低、体内抗氧化物质含量低且膜质过氧化程度加剧。

关键词:氮素水平;彩椒;生理指标;活性氧清除系统;影响

中图分类号:S 641.306⁺.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)04-0017-05

植物遭遇逆境时,活性氧在细胞内大量积累,使细胞组分受损。能有效清除活性氧的保护机制分为 2 类,即酶促和非酶促^[1-6]。超氧化物歧化酶、抗坏血酸过氧化物酶、过氧化氢酶及谷胱甘肽过氧化物酶等属于酶促系统。抗坏血酸、谷胱甘肽、甘露醇及类黄酮属于非酶

类抗氧化剂。氮素在植物体内是可移动的。它是蛋白质和核酸的主要组成元素;氮是多种酶的组分,酶不仅参与植物体内物质的水解、氧化还原以及蛋白质、淀粉合成,还控制着矿质营养和水分的吸收、呼吸及其它各种生理代谢过程;氮还是叶绿素的组成元素并参与构成一些维生素和生物碱。氮素影响植株的一系列生理活动。

该试验旨在通过了解氮素对彩椒生长及生理的影响,为彩椒的无土栽培管理技术提供较为科学的参考依据。

第一作者简介:鲜开梅(1981-),女,新疆人,硕士,助理研究员,研究方向为设施园艺。E-mail:condyxkm@126.com.

收稿日期:2014-11-18

Abstract: Taking 14-year-old 'Fuji' apple trees as materials, with big canopy shape, select the tree was similar of 12 main branches in North South line, two treatments that were three main branches 'positioning' open shape and four main branches 'X' open shape, with big canopy shape as control (CK). At the same time, the key technology about 'improve the trunk, reducing tree height, thinning dense branches, narrow skirt branch, reduce the number of branches, decrease in the number of total shoot bud, cultivation of curtain branch group, summer pruning' were studied, in order to study the key technology of increasing efficiency about adjustable crown modification to apple tree. The results showed that put forward the new tree shape of high light efficiency from 'big canopy shape' to three main branches 'positioning' opening shape and four main branches 'X' open shape on apple trees in full fruit period, and using eight key technical efficiency of 'improve the trunk, reducing tree height, thinning dense branches, narrow skirt branch, reduce the number of branches, decrease in the number of total shoot bud, cultivation of curtain branch group, summer pruning', solved many problems about unscientific structure, poor light conditions, low yield, poor quality of the original tree. High fruit quality rate increased by 35.7% after using three main branches 'positioning' open shape and four main branches 'X' open shape, the cumulative experiment and demonstration area reached 25 300 hm², pure increasement value 7.77 billion RMB.

Keywords: apple; trees in full fruit period; adjustable crown modification; relative light intensity; yield and quality; benefit

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试彩椒采用荷兰品种‘Mandy’,红果。

1.2 试验方法

采用基质培(蛭石:珍珠岩=2:1)培养方法,配置日本山岐营养液配方,进行2.5、5.0、10.0(CK)、15.0、20.0 $\mu\text{mol/L}$ 处理,用N2.5、N5.0、N10.0、N15.0和N20.0表示。随机区组设计,3次重复。在花期、结果期进行采样,液氮冷冻、低温保存,备测各项生理指标。

1.3 项目测定

1.3.1 生理指标的测定 电解质渗透率:先后用自来水、蒸馏水冲洗鲜叶,吸水纸吸干;将打孔器($r=12\text{ mm}$)打取15片圆叶放入25 mL试管,加蒸馏水20 mL,抽气15 min(真空干燥器),放气、取出、震荡、再抽,直至叶片浸没水中后取出。在室温下放置4 h,10 min沸水浴,以电导率仪测定其沸水浴前后的电导率 S_1 、 S_2 ;计算相对电导率($\%$)= $S_1/S_2 \times 100\%$ 。可溶性糖含量^[7]:干粉末样品50~70 mg,置于50 mL三角瓶,加蒸馏水25 mL,煮沸20 min(沸水浴),取出冷却,滤入容量瓶(100 mL),冲洗残渣数次(热水),定容,620 nm波长处比色,测定可溶性糖含量。游离脯氨酸含量^[7]:在盛有0.5 g叶片试管中加5 mL 3%磺基水杨酸,提取10 min(沸水浴,频繁摇动),冷却后滤入另一干净试管作提取液。1 mL提取液+2 mL冰醋酸+2 mL酸性茚三酮加热30 min(沸水浴),冷却后加4 mL甲苯,震荡30 s,静置片刻,取上层液入10 mL离心管,离心5 min(3 000 r/min),520 nm波长处比色。丙二醛含量^[8]:0.2 g叶片+pH 7.8 PBS冰浴研磨,离心15 min(15 000 r/min)。取上清液定容至5 mL;1.5 mL上清液+2.5 mL 0.5%TBA溶液沸水浴中反应20 min,冷却后于532、600、450 nm波长处比色。可溶性蛋白质含量^[8]:0.1 mL提取液+0.9 mL蒸馏水+5 mL考马斯亮蓝G-250,595 nm波长处比色。

1.3.2 活性氧清除系统指标参数的测定 还原型谷胱甘肽^[8]:取0.5 g叶片剪碎后加5 mL 5%三氯乙酸进行研磨,15 000 $\times g$ 离心10 min,上清液定容至5 mL。0.25 mL上清液+150 mmol/L NaH_2PO_4 (pH 7.7) 2.6 mL+DTNB试剂0.18 mL,摇匀后在30℃保温反应5 min,412 nm处比色。抗坏血酸含量:0.2 mL上清液+150 mmol/L NaH_2PO_4 (pH 7.4) 0.2 mL+ H_2O 0.2 mL,30 s后依次加入10% TCA 0.4 mL、44% H_3PO_4 0.4 mL、4% 2,2-二联吡啶 0.4 mL、3% FeCl_3 0.2 mL,混合后37℃水浴保温60 min,525 nm处比色^[8]。

1.3.3 酶的提取与活性测定 提取方法同还原型谷胱

甘肽,经适当稀释后用于测定酶活性。0.2 g叶片+pH 7.8 PBS溶液冰浴研磨,15 000 r/min离心15 min;取上清液定容至5 mL,适当稀释后用于酶活测定。CAT活性:2 mL反应体系(0.2% H_2O_2 1 mL+ H_2O 1.9 mL+0.1 mL酶液);240 nm波长处测定OD降低速率。POD活性:3 mL反应体系(0.2% H_2O_2 2 mL+0.2%愈创木酚0.95 mL+pH 7.0 PBS 1 mL+0.05 mL酶液);470 nm处记录OD降低速率。SOD活性:3 mL反应体系(甲硫氨酸13 $\mu\text{mol/L}$ 2.5 mL+NBT 63 $\mu\text{mol/L}$ 0.25 mL+核黄素13 $\mu\text{mol/L}$ 0.15 mL+50 $\mu\text{mol/L}$ pH 7.8 PBS 0.05 mL+0.05 mL酶液);560 nm处测定OD值^[8]。

1.4 数据分析

试验数据采用Excel、SPSS软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同氮素水平生理指标的测定

2.1.1 不同氮素水平对电解质渗透率的影响 电解质渗透率(REC)作为一项重要生理指标^[9-10],可反映植物细胞膜完整性,影响着植物体内的一系列生理反应。REC值与细胞膜的完整性呈负相关。氮肥过量或不足,均会影响膜构成并产生不良反应。由图1可以看出,以N2.5处理的REC值最高,为31.83%,显著高于其它处理,说明该处理的植株膜完整性最差,即该氮素浓度水平已造成细胞膜的伤害且程度最为严重。以N5.0处理(17.08%)的REC值最低,即膜完整性最好。N10.0(24.31%)、N20.0(23.69%)和N15.0(20.28%)处理的REC值较低,三者间差异不显著。

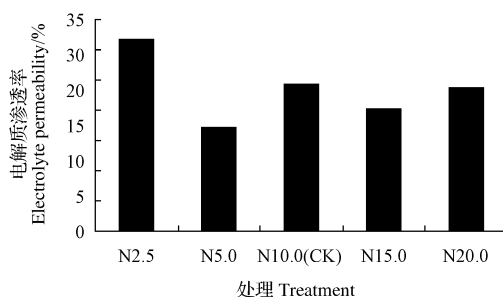


图1 不同氮素水平对电解质渗透率的影响

Fig.1 The effect of different N treatments on electrolyte permeability

2.1.2 不同氮素水平对脯氨酸(Pro)、丙二醛(MDA)含量的影响 植物遭遇逆境胁迫时,Pro含量会明显升高,以此来防止细胞质及组织脱水、缓解对膜系统的伤害。由图2可以看出,Pro含量依次为:N20.0>N15.0>N5.0>N10.0>N2.5。说明对彩椒而言N20.0的处理

浓度过高,为了抵抗过高的氮营养逆境胁迫对膜系统造成的伤害,植株体内的 Pro 含量会显著增加,以此增加植物的适应性反应。植株遭遇逆境时,体内会产生并积累大量活性氧,使膜脂过氧化程度加剧,MDA 含量升高。各氮素处理中 MDA 含量依次为:N20.0>N15.0>N5.0>N10.0>N2.5,变化趋势与 Pro 的相同,表明膜脂过氧化程度与 MDA 含量存在很好的正相关。

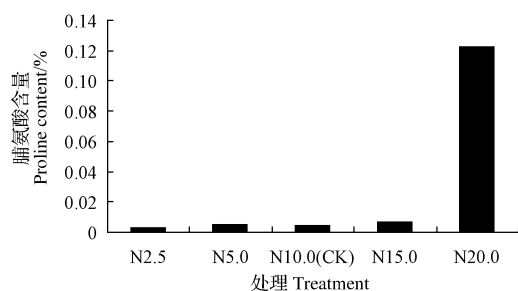


图2 不同氮素水平对脯氨酸含量的影响

Fig. 2 The effect of different N treatments on proline content

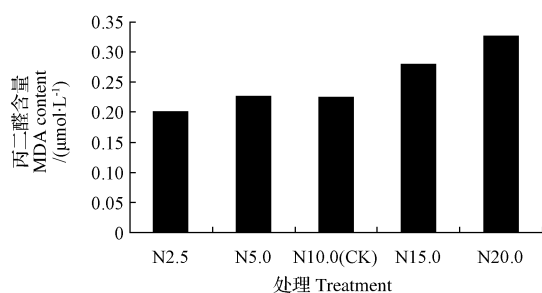


图3 不同氮素水平对丙二醛含量的影响

Fig. 3 The effect of different N treatments on MDA content

2.1.3 不同氮素水平对可溶性糖含量的影响 果实中糖主要以碳水化合物形式存在。可溶性糖属于易移动成分,亦是评价果实品质的重要指标之一。图4表明,彩椒茎内可溶性糖含量以N15.0处理的最高为13.23%,其次是N5.0为13.01%,再次是N10.0(CK)为12.63%和N20.0为9.78%,以N2.5处理的最低。由图5可以看出,在N2.5~N15.0范围内,叶中的氮含量随氮处理水平的升高而增加,从5.03%升至13.37%,N20.0处理含量降为10.39%。图6表明,果实中的可溶性糖含量在N2.5~N20.0范围内,随氮处理水平的升高而增加,从19.92%升至29.77%。

2.1.4 不同氮素水平对可溶性蛋白质含量的影响 可溶性蛋白质在植物体内主要以酶形式存在并参与代谢,其含量的高低常作为衡量植物总代谢的一个重要指标。研究酶作用时,常用比活来表示酶活力大小及酶制剂纯

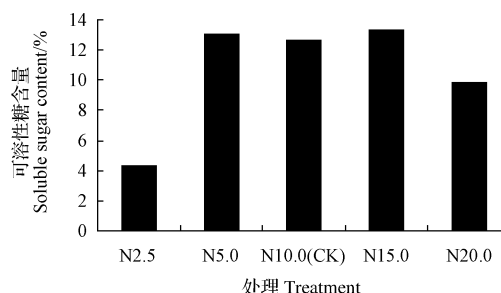


图4 不同氮素水平对茎可溶性糖含量的影响

Fig. 4 The effect of different N treatments on soluble sugar content in stem

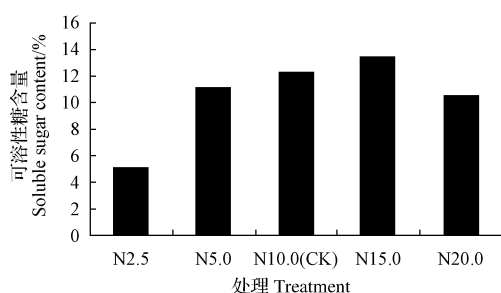


图5 不同氮素水平对叶可溶性糖含量的影响

Fig. 5 The effect of different N treatments on soluble sugar content in leaves

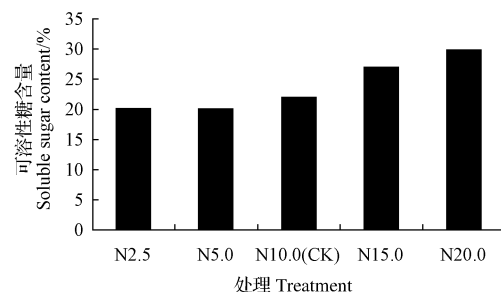


图6 不同氮素水平对果实可溶性糖含量的影响

Fig. 6 The effect of different N treatments on soluble sugar content in fruit

度。因此,植物体内可溶性蛋白质含量可作为一个重要测定指标来研究酶活。由图7可以看出,彩椒植株的可溶性蛋白质含量依次为:N15.0>N5.0>N10.0(CK)>N20.0>N2.5。

2.2 不同氮素水平对活性氧清除系统的影响

2.2.1 还原型谷胱甘肽(GSH)、抗坏血酸(ASA)含量

GSH是植物细胞中重要的抗氧化剂。在整个测定期(图8),N15.0处理的GSH含量始终保持较高的水平且变化幅度较大;其余各处理变化均比较平缓,且它们之间差异不显著。由图9可以看出,除N5.0处理的ASA含量持续降低外,其余各处理均呈先升后降趋势。10月的

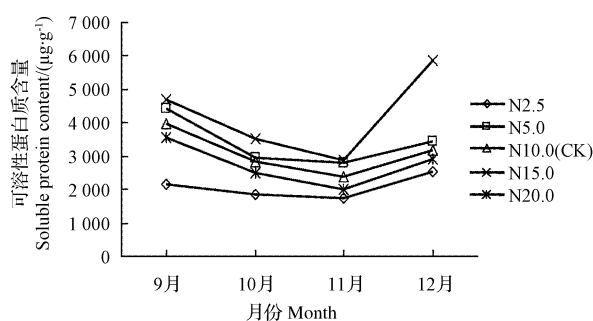


图 7 不同氮素水平对可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 7 The effect of different N treatments on soluble protein content

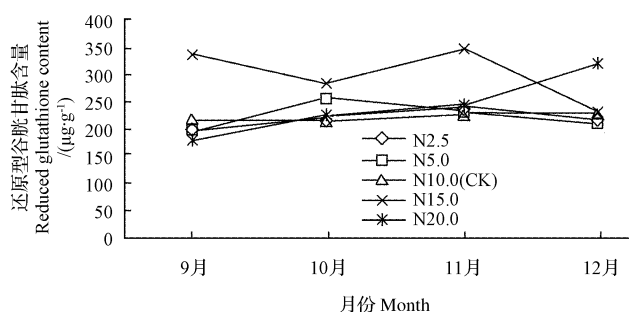


图 8 不同氮素水平对还原型谷胱甘肽含量的影响

Fig. 8 The effect of different N treatments on reduced glutathione content

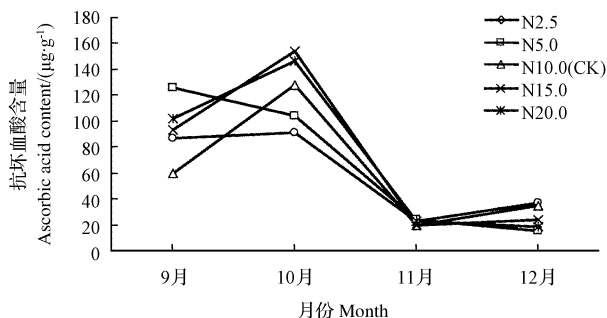


图 9 不同氮素水平对抗坏血酸含量的影响

Fig. 9 The effect of different N treatments on ascorbic acid content

测定含量最高,各氮素水平处理下的 ASA 含量依次为: N15.0>N20.0>N10.0>N5.0>N2.5。

2.2.2 不同氮素水平对 CAT、POD、SOD 活性的影响

CAT 作为一种重要酶类存在于膜保护系统中,它能清除自由基、维持膜系统完整性以减轻不良环境对植物的伤害。如图 10 所示,不同氮素水平处理下,CAT 活性依次为: N15.0>N5.0>N10.0>N20.0>N2.5,表明 N15.0 浓度处理下,植株清除体内过量活性氧的能力最强。如

图 11 所示,各处理下 POD 活性的变化趋势一致(均为先降后升),从 9—10 月,植株叶片的 POD 活性逐渐降至最低后升高,至 12 月升至峰值;在不同处理中,POD 活性依次为: N15.0>N5.0>N10.0>N20.0>N2.5,表明在 N15.0 浓度处理下,植株清除体内过量活性氧的能力最强。SOD 在逆境中维持较高的酶活性,能有效地清除活性氧,以此降低其对膜结构及功能的破坏程度。由图 12 可以看出,SOD 与 POD 活性变化趋势一致(均为先降后升),从 9 月到 10 月 POD 活性逐渐降至最低后升高,至 12 月升至峰值;各处理下的 POD 活性依次为: N15.0>N5.0>N10.0>N20.0>N2.5。

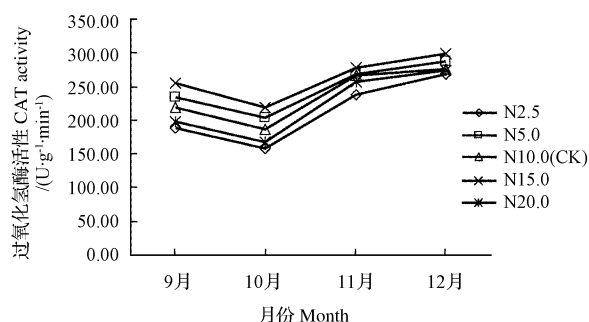


图 10 不同氮素水平对 CAT 活性影响

Fig. 10 The effect of different N treatments on CAT activity

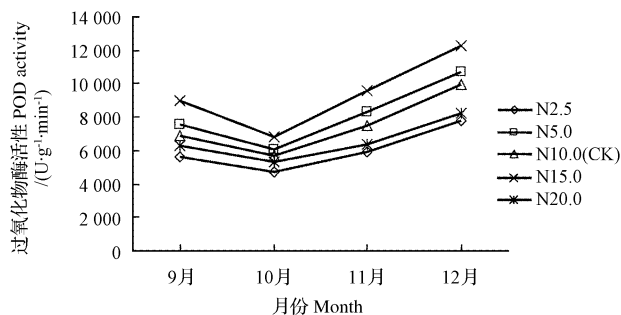


图 11 不同氮素水平对 POD 活性的影响

Fig. 11 The effect of different N treatments on POD activity

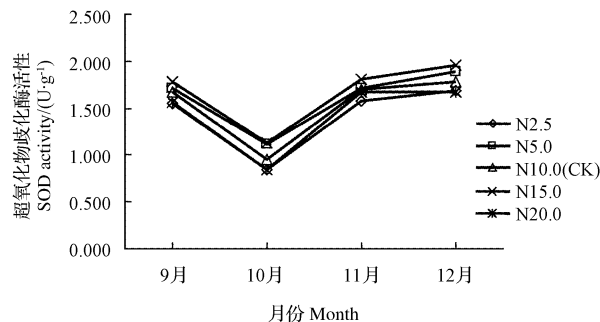


图 12 不同氮素水平对 SOD 活性影响

Fig. 12 The effect of different N treatments on SOD activity

3 结论

该研究认为,在氮素浓度水平 5.0~15.0 $\mu\text{mol/L}$ 范围内,植株生长健壮,植株全氮及产量随着氮素水平的增加而增加,电解质渗透率、丙二醛含量较低。

在遭遇逆境时,活性氧代谢平衡受到破坏,活性氧会在植株体内增加并伤害作物自身。GSH、ASA 及 CAT、POD、SOD 能清除植物体内过量的活性氧,降低植株受伤害的程度。研究结果显示,在 5.0~15.0 $\mu\text{mol/L}$ 氮素范围内,GSH、ASA 含量较高;CAT、POD、SOD 活性依次为:N15.0>N5.0>N10.0>N20.0>N2.5,说明植株的抗氧化能力在 N15.0 水平氮素处理下最强,而在 N2.5 处理下最差。

综上,在 5.0~15.0 $\mu\text{mol/L}$ 氮素施用浓度范围内,适量增施氮肥利于增产。施氮量不足(2.5 $\mu\text{mol/L}$)或过高(20.0 $\mu\text{mol/L}$)时,植株生长不良、产量降低,说明氮素供应不足和过量均对彩椒植株的生长不利。

参考文献

- [1] 何若胤. 植物低温逆境生理[M]. 北京:中国农业出版社,1995.
- [2] Bowler C, Van Montagu M, Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance[J]. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol,1992,43:83-116.
- [3] Wada H, Gombos Z, Murata N. Enhancement of chilling tolerance of a cyanobacterium by genetic manipulation of fatty acid desaturation[J]. Nature, 1990,347:200-203.
- [4] 刘鸿先,王以柔,郭俊彦. 低温对植物细胞伤害机理的研究[C]//中国科学院华南植物研究所集刊. 第5集. 北京:科学出版社,1989:1-8.
- [5] 曾昭西,王以柔,刘鸿先. 低温下黄瓜幼苗子叶硫氢基(SH)含量变化与膜脂过氧化[J]. 植物学报,1991(33):50-54.
- [6] Prasad T K. Role of catalase in inducing chilling tolerance in pre-emergent maize seedlings[J]. Plant Physiol,1997,114:1369-1376.
- [7] 齐军仓,崔辉梅. 植物生理学实验指导[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1987:47-151.
- [8] 陈建勋,王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州:华南理工大学出版社.
- [9] 于贤昌,刑禹贤,马红,等. 不同砧木与接穗对黄瓜嫁接苗抗冷性的影响[J]. 中国农业科学,1998,31(2):41-47.
- [10] 沈征言. 植物抗寒性及抗热性的生理指标及其方法测定[J]. 中国蔬菜,1983(1):48.

Effect of Different Nitrogen Levels on the Several Physiological Indicators and Reactive Oxygen Removal System of Color Pepper

XIAN Kai-mei¹, LIU Hui-ying²

(1. The Agricultural Technique Extension Station of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi, Xinjiang 830049; 2. Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000)

Abstract: For soilless cultivation of greenhouse pepper 2.5, 5.0, 10.0 (CK), 15.0 and 20.0 $\mu\text{mol/L}$ (the following N2.5, N5.0, N10.0, N15.0 and N20.0) five different levels of nitrogen treatment were set, to measure several physiological indexes (electrolyte permeability, soluble sugar, proline, soluble protein and malondialdehyde content) and active oxygen removal system (reduced glutathione, ascorbic acid content, catalase, superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) activity) parameter indicators and so on, in order to provide reference for soilless cultivation management for color pepper. The results showed that in the 5.0—15.0 $\mu\text{mol/L}$ concentration, reduced glutathione, ascorbic acid content and antioxidant enzyme activity were higher, electrolyte permeability and malondialdehyde content were lower and were the highest under N15.0 treatment (performance (plant) the strongest antioxidant capacity), followed by N10.0 and N5.0 processing, the lowest was N2.5 processing, it showed that the level of plant antioxidant capacity in this processing was the worst. When the application rate was 2.5 $\mu\text{mol/L}$ or 20 $\mu\text{mol/L}$, the plant growth, yield and plant membrane integrity, content of antioxidants in the body decreased and membranous peroxide degree increased.

Keywords: nitrogen level; color pepper; physiological indexes; active oxygen removal system; effect