

# 铵硝比和磷素营养对菠菜生长、氮素吸收 和相关酶活性的影响\*

汪建飞 董彩霞 谢越 沈其荣<sup>†</sup>

(南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

**摘要** 通过水培试验研究了不同铵硝比的氮素营养和磷素营养对菠菜生长、氮素吸收及硝酸还原酶活性(NRA)和谷氨酰胺合成酶活性(GSA)的影响。结果表明:在供磷水平相同时,菠菜的生物量随着铵硝比的降低而降低,但铵硝比为 25:75 与 0:100 两个处理之间没有显著差异;在铵硝比相同时,随着营养液中磷含量的增加,菠菜的生物量随之增加。菠菜茎叶中硝酸盐的含量随着铵硝比和磷水平的降低而升高。不同铵硝比处理,菠菜含氮量没有明显差异,随着磷水平的提高,菠菜植株含氮量有升高的趋势,但各处理之间差异不显著;受到生物量显著差异的影响,菠菜植株中氮素累积量随着铵硝比的降低和磷素水平的增加而增加。在铵硝混合营养条件下,缺磷会显著抑制菠菜对铵态氮和硝态氮的吸收,且磷素缺乏对菠菜吸收硝态氮的抑制作用要大于对铵态氮吸收的抑制作用。铵硝比相同时,随着营养液中磷素供应量的增加,菠菜茎叶中 NRA 显著增加;但是营养液中铵硝比较高时,会显著抑制菠菜茎叶中 NRA,而铵硝比较低时,则有利于提高菠菜的 NRA。缺磷会严重抑制 GSA;在磷素水平相同时,随着营养液中铵比例的增加,菠菜茎叶中 GSA 显著增加。为此,在一些硝酸盐含量较高的土壤上栽培蔬菜时,可以采取增施适量磷肥的方法,以降低叶菜的硝酸盐含量。

**关键词** 菠菜;磷素营养;铵态氮;硝态氮;酶活性

中图分类号 S501 文献标识码 A

大多数生长于好气土壤条件下的作物,吸收的氮(N)素通常是以硝态氮( $\text{NO}_3^-$ -N)为主<sup>[1]</sup>。可是,单纯供应  $\text{NO}_3^-$ -N 往往会导致蔬菜类作物可食部分硝酸盐含量较高,因而对人体健康构成潜在威胁<sup>[2]</sup>。研究表明,许多叶类蔬菜在生长基质中  $\text{NO}_3^-$ -N 和  $\text{NH}_4^+$ -N(铵态氮)比例适宜时,既可以提高产量,又能使作物组织中的硝酸盐含量下降<sup>[1~4]</sup>。因此,确定适宜的铵硝比是蔬菜等作物获得高产优质的前提。作物对于 N 素的吸收和同化除了受到外源 N 素形态的影响之外,还受到诸多因素例如磷(P)素营养的影响。P 参与植物光合磷酸化作用,为  $\text{NO}_3^-$  还原同化提供能量和电子供体;P 还是硝酸还原酶(NR)和亚硝酸还原酶的重要组成部分,直接参与  $\text{NO}_3^-$  的还原和同化<sup>[5,6]</sup>。有报告指出,在铵硝混合营养时,大麦等作物缺 P 和 P 充足时,吸收的  $\text{NO}_3^-$ -N 占 N 素吸收总量分别为 70% 和 90%<sup>[6]</sup>。显然不同的 P 素水平,影响了作物对不同形态 N 素的吸收。

20 世纪 80 年代以来,我国以蔬菜生产为主的

设施栽培有了迅猛发展。但是,片面追求蔬菜产量、盲目大量施用化肥也造成了许多地区设施土壤中营养元素尤其是速效 P 严重超标,从而影响到设施蔬菜产业的可持续发展<sup>[7]</sup>。要解决此问题,首先必须要明确 N、P 等养分对于蔬菜等作物生长和养分吸收的影响。为此,本试验采用水培方法,研究了不同铵硝比和不同 P 素水平处理对菠菜生长、N 素吸收以及硝酸还原酶活性(NRA)和谷氨酰胺合成酶活性(GSA)的影响,并分析了 P 素水平对于菠菜吸收  $\text{NH}_4^+$ -N 和  $\text{NO}_3^-$ -N 的影响,以期对蔬菜作物的 N 素代谢研究和菠菜的合理施肥提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验方法

试验在安徽科技学院种植科技园的温室中进行。供试的菠菜品种为“银川大圆”。菠菜种子消毒

\* 安徽省自然科学基金项目(050410105)、国家自然科学基金项目(30270790)和土壤与农业可持续发展国家重点实验室开放基金项目资助

<sup>†</sup> 通讯作者, E-mail: shenqirong@njau.edu.cn

作者简介:汪建飞(1969~),男,安徽庐江人,博士研究生,安徽科技学院副教授,主要从事农业资源利用和植物营养学研究

收稿日期:2006-02-28;收到修改稿日期:2006-05-18

后播于铺填蛭石的苗床中,待菠菜长出 4 片真叶后,移至盛有 1 L 营养液、表面包有黑色薄膜的塑料杯中,每个杯中定植 8 株苗。

水培菠菜生长所需的营养液以 Hoagland 营养液为基础,考虑到前期预备试验中发现铵硝比( $\text{NH}_4^+ - \text{N} / \text{NO}_3^- - \text{N}$ ) 大于 50: 50 时,菠菜生长严重受阻的情况,我们设计了 3 个不同水平的铵硝比( $\text{NH}_4^+ - \text{N} / \text{NO}_3^- - \text{N}$ )  $A_0$ (0: 100)、 $A_1$ (25: 75)、 $A_2$ (50: 50)(总 N 浓度为  $12 \text{ mmol L}^{-1}$ ),并参照 Fohse 等<sup>[8]</sup>确定的营养液中 P 的浓度,设计了 3 个不同的 P 水平  $P_0$ 、 $P_1$ 、 $P_2$ ,P 浓度依次为 0、0.5、 $1 \text{ mmol L}^{-1}$ (以单 P 计),分别表示缺 P、中量 P 和足量 P。试验采用完全随机区组设计,共 9 个处理,每个处理 3 次重复。营养液中均加入  $7 \mu\text{mol L}^{-1}$  硝化抑制剂 DCD(双氰胺)。每 5 天更换 1 次营养液。每隔 12 h 用打气橡皮球人工给营养液充气 10 min;用 HCl 或 NaOH 溶液每天调节 1 次营养液的 pH 值至  $6.5 \pm 0.1$ 。

## 1.2 样品采集

菠菜移栽 30 d 后采收。从营养液中将 8 株菠菜全部取出,用蒸馏水清洗干净,再用吸水纸吸干植株上的水分,从基部将茎叶与根系剪断,分别称重。并从每个处理重复中选出 4 株菠菜,用不锈钢剪刀将样品迅速剪碎,称取 2 份 2.0 g 左右的样品,在液氮中快速冷冻后,放入  $-40^\circ\text{C}$  的冰箱中保存,用于测定 NRA 和 GSA。其余 4 株菠菜样品  $105^\circ\text{C}$  杀青后在  $65^\circ\text{C}$  烘干,分别称重后,磨细,保存在自封袋中。烘干样品用于含 N 量的测定。

## 1.3 测定方法

### 1.3.1 样品含 N 量测定

每次换下来的营养液均被定容到 1 L 后,用连续流动分析仪(德国 BRAN + LUEBBE 公司制造,AutoAnalyzer 3)测定其中  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  和  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  的含量。该含量与更换时营养液中  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  和  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  的含量的差值可以近似地被看成是菠菜在此期间吸收的 N 素量。

烘干粉碎的菠菜样品用  $\text{H}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$  消化后用连续

流动分析仪(同上)测定  $\text{NH}_4^+$  含量并计算全 N 含量。

### 1.3.2 菠菜茎叶中硝酸盐含量测定

参照李合生<sup>[9]</sup>的方法提取菠菜中硝酸盐,用连续流动分析仪(同上)测定提取液中硝酸盐含量。

### 1.3.3 菠菜茎叶中 NRA 和 GSA 测定

NRA 测定参照李合生<sup>[9]</sup>的方法并稍加改进。将冷藏样品取出,放于研钵中,加入少量石英砂和 1 ml 预冷磷酸提取液,研磨成匀浆,再分别用 1 ml 磷酸提取液洗 3 次,在  $4^\circ\text{C}$  下  $20\,000 \text{ r min}^{-1}$  离心 20 min,得到的上清液即为酶的粗提液。取 0.4 ml 粗酶提取液,1.2 ml  $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KNO}_3$  磷酸缓冲液,0.4 ml  $\text{NADH}_2$  溶液加入备好的 10 ml 离心管中,混匀,在  $30^\circ\text{C}$  下保温 30 min。对照不加  $\text{NADH}_2$ ,以 0.4 ml 去离子水代替。保温后立即加 1 ml 对氨基苯磺酸溶液终止反应,加 1 ml  $\alpha$ -萘胺溶液,显色 20 min 后,在  $4\,000 \text{ r min}^{-1}$  下离心 10 min,取上清液在 540 nm 下比色测定。

GSA 的测定按照段英华等<sup>[10]</sup>的方法进行。

## 1.4 数据统计分析

试验数据的方差分析采用 DPS 数据处理系统<sup>[11]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 铵硝比和 P 素水平对菠菜生物量和茎叶中硝酸盐含量的影响

不同铵硝比的 N 素营养和 P 素水平对于菠菜的生长产生了显著影响(表 1)。在供 P 水平相同时,随着铵硝比的降低,菠菜的地上部分和根系,无论是鲜重还是干物重(数据未列出),都呈现增加的趋势;铵硝比为 25: 75( $A_1$ )的菠菜生物量的积累显著地高于铵硝比为 50: 50( $A_2$ )的菠菜,铵硝比为 0: 100( $A_0$ )的菠菜较铵硝比为 25: 75( $A_1$ )的菠菜生物量有所增加,但差异不显著( $p = 0.05$ )。可见,适度地增铵不会对菠菜的生物量累积产生显著影响,但是,若营养液中铵的浓度较高(本试验中为  $6 \text{ mmol L}^{-1}$ ),就会显著地降低菠菜的生物量。

表 1 铵硝比和磷素水平对菠菜鲜重和茎叶中硝酸盐含量的影响<sup>1)</sup>Table 1 Effects of  $\text{NH}_4^+ - \text{N} / \text{NO}_3^- - \text{N}$  ratio and P level on the fresh weight of spinach plant and nitrate content in Spinach shoot

处理编号 Treatment No.	鲜重 Fresh weight (g plant <sup>-1</sup> )			茎叶中硝酸盐含量 Nitrate content in shoot
	茎叶 Shoot	根系 Root	全株 Total	( $\text{NO}_3^- \text{ mg kg}^{-1} \text{FW}$ )
A <sub>2</sub> P <sub>0</sub>	1.79 ± 0.24 a	0.43 ± 0.04 a	2.22 ± 0.27 a	1 020 ± 30 bc
A <sub>1</sub> P <sub>0</sub>	2.47 ± 0.21 b	0.68 ± 0.09 bc	3.15 ± 0.30 b	1 227 ± 127 d
A <sub>0</sub> P <sub>0</sub>	2.82 ± 0.14 b	0.76 ± 0.12 c	3.58 ± 0.26 c	1 824 ± 69 f
A <sub>2</sub> P <sub>1</sub>	2.64 ± 0.16 b	0.60 ± 0.07 b	3.24 ± 0.17 bc	903 ± 69 ab
A <sub>1</sub> P <sub>1</sub>	4.90 ± 0.11 d	1.25 ± 0.08 e	6.15 ± 0.18 e	1 115 ± 92 cd
A <sub>0</sub> P <sub>1</sub>	5.03 ± 0.10 d	1.26 ± 0.10 e	6.29 ± 0.19 e	1 537 ± 59 e
A <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	3.81 ± 0.13 c	0.97 ± 0.07 d	4.78 ± 0.19 d	852 ± 61 a
A <sub>1</sub> P <sub>2</sub>	5.85 ± 0.10 e	1.48 ± 0.05 f	7.33 ± 0.14 f	979 ± 46 abc
A <sub>0</sub> P <sub>2</sub>	5.98 ± 0.04 e	1.49 ± 0.07 f	7.47 ± 0.08 f	1 426 ± 132 e

1) 表中数据为平均值±标准差( $n = 3$ )。多重比较采用 Duncan 法, 同列数据中具有相同字母的数据无显著性差异( $p = 0.05$ ) Data in the table are Means ± S. D,  $n = 3$ . The multiple comparison uses the Duncan method. Data in the same column followed by the same letters are not significantly different ( $p = 0.05$ )

在铵硝比相同时, 随着营养液中 P 含量的增加, 菠菜的鲜重和干物重都随之增加。在铵硝比为 50: 50(A<sub>2</sub>) 时, 中量 P(P<sub>1</sub>) 水平下菠菜的鲜重是缺 P(P<sub>0</sub>) 菠菜的 1.5 倍, P 充足时(P<sub>2</sub>) 菠菜的鲜重是缺 P 菠菜的 2.2 倍; 在铵硝比为 25: 75 和 0: 100(A<sub>0</sub>) 时, 对应的数值分别是 2.0 倍、2.3 倍和 1.8 倍、2.1 倍。P 素营养对于菠菜干物重的影响与对鲜重的影响类似。

从表 1 可以看出, 铵硝比和 P 素营养对于菠菜茎叶中硝酸盐的含量影响显著。在相同的 P 素水平, 菠菜茎叶中硝酸盐的含量随着铵硝比的降低而增加, 即随着营养液中  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  含量的增加而增加, 如在 P<sub>2</sub> 条件下, A<sub>0</sub> 和 A<sub>1</sub> 处理分别较 A<sub>2</sub> 处理的菠菜硝酸盐含量高 67.5% 和 15.0%, P<sub>0</sub>、P<sub>1</sub> 条件下情况与之类似。

在铵硝比相同时, 随着营养液中 P 水平的增加, 菠菜茎叶中硝酸盐的含量呈现降低的趋势。在硝态氮作为唯一氮源的情况下, P 素充足(P<sub>2</sub>) 的菠菜地上部分硝酸盐的含量较缺 P(P<sub>0</sub>) 菠菜下降了 21.8%; 而在铵硝比为 25: 75 和 50: 50 的情况下, P 素营养充足(P<sub>2</sub>) 的菠菜, 地上部分硝酸盐的含量较缺 P(P<sub>0</sub>) 菠菜分别下降了 20.2% 和 16.5%。可见, 随着氮素营养中硝态氮比例的增加, P 素对于菠菜茎叶硝酸盐含量的降低作用更为显著。因此, 在蔬菜栽培时, 可以考虑通过适当增加 P 素营养, 以降低

因为土壤中硝酸盐含量高所导致的叶菜中过高的硝酸盐含量。

## 2.2 铵硝比和 P 素水平对菠菜含 N 量和 N 素累积量的影响

从表 2 可以看出, 不同铵硝比的 N 素营养和 P 素水平对菠菜植株含 N 量的影响不太明显。在相同的 P 素水平下, 菠菜茎叶和全株的含 N 量以铵硝比 A<sub>1</sub> 的处理最高, A<sub>0</sub> 次之, A<sub>2</sub> 最低, 且 A<sub>0</sub>、A<sub>1</sub> 处理的含 N 量均较 A<sub>2</sub> 处理高出 10% 以上, A<sub>0</sub> 和 A<sub>1</sub> 处理之间含 N 量差异不大; 而菠菜根系的含 N 量在 9 种不同的试验处理之间均没有显著差异。在铵硝比相同时, 随着 P 水平的增加, 菠菜茎叶和全株的含 N 量也逐渐升高, 但是增量均没有达到显著水平( $p = 0.05$ )。

虽然不同处理之间菠菜的含 N 量没有显著差异, 但是由于受到生物量显著差异的影响, 各处理之间菠菜植株中 N 素累积量却存在着显著差异(表 2)。在相同的 P 素水平下, A<sub>0</sub>、A<sub>1</sub> 处理的菠菜茎叶、根系和全株中 N 素的累积量都显著地高于 A<sub>2</sub> 处理, 但 A<sub>0</sub> 和 A<sub>1</sub> 处理之间差异不显著( $p = 0.05$ )。在铵硝比相同时, 随着 P 水平的增加, 菠菜茎叶和全株中 N 素累积量逐渐增加, 且不同 P 素水平之间差异显著; 根系中 N 素累积量也是逐渐增加, 但 P<sub>1</sub>、P<sub>2</sub> 之间差异不显著( $p = 0.05$ )。

表 2 铵硝比和磷素水平对菠菜含 N 量和 N 素累积量的影响<sup>D)</sup>Table 2 Effects of  $\text{NH}_4^+$ -N/  $\text{NO}_3^-$ -N ratio and P level on N content and N accumulation in spinach

处理编号 Treatment No.	含氮量 N content (%)			氮素累积量 N accumulation ( $\text{mg plant}^{-1}$ )		
	茎叶 Shoot	根 Root	全株 Total	茎叶 Shoot	根 Root	全株 Total
$\text{A}_2\text{P}_0$	4.78 ± 0.66a	4.74 ± 0.41a	4.77 ± 0.58a	14.10 ± 0.39a	2.83 ± 0.41a	16.93 ± 0.79a
$\text{A}_1\text{P}_0$	5.27 ± 0.23abc	5.08 ± 0.33a	5.21 ± 0.14bcd	18.37 ± 1.83b	5.02 ± 1.28b	23.39 ± 2.80b
$\text{A}_0\text{P}_0$	5.29 ± 0.11abc	5.25 ± 0.74a	5.26 ± 0.14bcd	19.05 ± 0.71b	4.10 ± 0.47ab	23.15 ± 0.25b
$\text{A}_2\text{P}_1$	4.96 ± 0.24ab	4.79 ± 0.54a	4.93 ± 0.20ab	18.81 ± 1.29b	3.89 ± 1.21ab	22.70 ± 2.49b
$\text{A}_1\text{P}_1$	5.57 ± 0.32bc	5.39 ± 1.34a	5.50 ± 0.50bcd	35.5 ± 8.235d	7.61 ± 0.63c	43.19 ± 2.98d
$\text{A}_0\text{P}_1$	5.47 ± 0.29abc	5.63 ± 2.13a	5.42 ± 0.33bcd	35.62 ± 3.85d	7.70 ± 0.38c	43.32 ± 3.93d
$\text{A}_2\text{P}_2$	5.15 ± 0.35ab	5.09 ± 0.61a	5.15 ± 0.25abc	30.9 ± 6.381c	5.64 ± 1.12b	36.60 ± 3.54c
$\text{A}_1\text{P}_2$	5.93 ± 0.36c	5.61 ± 1.49a	5.80 ± 0.22d	43.73 ± 0.74e	8.39 ± 0.89c	52.13 ± 1.63e
$\text{A}_0\text{P}_2$	5.68 ± 0.33bc	5.27 ± 0.35a	5.61 ± 0.33cd	42.68 ± 3.96e	8.44 ± 1.51c	51.12 ± 5.17e

1) 表中数据为平均值 ± 标准差 ( $n = 3$ )。多重比较采用 Duncan 法, 同列数据中具有相同字母的数据无显著性差异 ( $p = 0.05$ ) Data in the table are Means ± S. D,  $n = 3$ . The multiple comparison uses the Duncan method. Data in the same column but followed by the same letters are not significantly different ( $p = 0.05$ )

### 2.3 铵硝比和 P 素水平对菠菜吸收 $\text{NH}_4^+$ -N 和 $\text{NO}_3^-$ -N 的影响

通过测定更换下来的营养液中  $\text{NH}_4^+$ -N 和  $\text{NO}_3^-$ -N 的剩余量, 可以近似地推算出菠菜吸收的 N 素量。结果表明, P 素显著地提高了菠菜对 N 素的吸收。在 3 种不同的铵硝比下, 中等 P 素水平 ( $\text{P}_1$ ) 下菠菜吸收总 N 量分别是缺 P ( $\text{P}_0$ ) 菠菜吸收总 N 量的 1.87 倍、1.85 倍和 1.34 倍; P 充足 ( $\text{P}_2$ ) 时菠菜吸收总 N 量分别是缺 P ( $\text{P}_0$ ) 菠菜吸收总 N 量的 2.21 倍、2.23 倍和 2.16 倍。

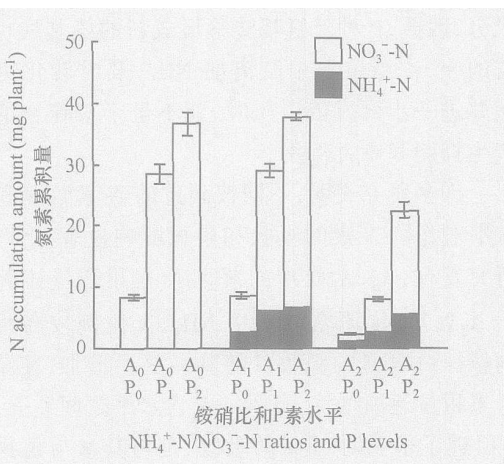


图 1 不同铵硝比和 P 素营养菠菜对  $\text{NH}_4^+$ -N 和  $\text{NO}_3^-$ -N 吸收量

Fig. 1 Effects of  $\text{NH}_4^+$ -N/  $\text{NO}_3^-$ -N ratio and P level on spinach uptake of  $\text{NH}_4^+$ -N and  $\text{NO}_3^-$ -N

缺 P 显著地降低了菠菜对硝态氮的吸收。与充足 P 条件下生长的菠菜相比, 中等 P 水平下和缺 P 时菠菜吸收的硝态氮平均分别下降了 33.2% 和 82.4%。缺 P 同时也降低了菠菜对铵态氮的吸收。与 P 充足条件下生长的菠菜相比, 中等 P 水平下和缺 P 时菠菜吸收的铵态氮平均分别下降了 28.0% 和 71.3%。显然, P 素缺乏对菠菜吸收硝态氮的抑制作用要大于对铵态氮吸收的抑制作用。

在硝态氮作为唯一氮源 ( $\text{A}_0$ ) 时, 缺 P 菠菜与 P 素充足的菠菜相比, 吸收的  $\text{NO}_3^-$ -N 下降了 77.3%; 而在铵硝比为 25:75 ( $\text{A}_1$ ) 时, 下降了 79.9%; 在铵硝比为 50:50 ( $\text{A}_2$ ) 时, 下降了 92.8%。同样, 缺 P 菠菜与中等 P 水平的菠菜相比, 在铵硝比为  $\text{A}_0$  时吸收的  $\text{NO}_3^-$ -N 下降了 70.8%, 而在铵硝比为  $\text{A}_1$  和  $\text{A}_2$  时, 分别下降了 72.6% 和 77.0%。由此可以看出, 在营养液中, 铵态氮的存在使得缺 P 对  $\text{NO}_3^-$ -N 吸收的抑制作用更加显著。

### 2.4 铵硝比和 P 素水平对菠菜茎叶 NRA 和 GSA 的影响

不同铵硝比的 N 素营养和 P 素水平显著地影响了菠菜茎叶的 NRA (图 2)。在 P 素营养状况一致的条件下, 铵硝比为  $\text{A}_1$  的处理菠菜茎叶中 NRA 最高,  $\text{A}_0$  次之,  $\text{A}_2$  最低;  $\text{A}_1$  和  $\text{A}_0$  处理 NRA 都显著地高于  $\text{A}_2$  处理, 但  $\text{A}_1$  和  $\text{A}_0$  之间差异不显著 ( $p = 0.05$ )。铵硝比相同时, 随着营养液中 P 素供应量的增加, 菠菜茎叶中 NRA 显著增加 ( $p = 0.05$ )。在  $\text{A}_0$ ,  $\text{A}_1$ ,  $\text{A}_2$  3 种不同的铵硝比, P 素充足 ( $\text{P}_2$ ) 的处理菠菜茎叶中 NRA 分别是缺 P ( $\text{P}_0$ ) 处理的 1.6 倍、1.7 倍和 2.3

倍。由此可见, P 素对于铵硝配合营养的菠菜茎叶中 NRA 有着更显著的促进作用。

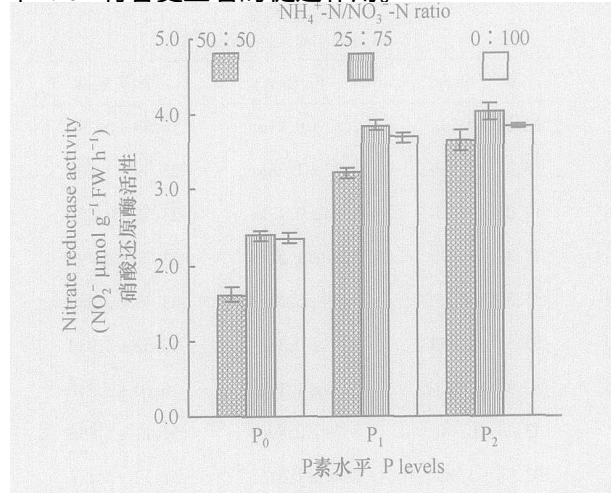


图2 不同铵硝比和磷素营养菠菜茎叶的 NRA

Fig. 2 NRA in spinach shoots in treatments different in  $\text{NH}_4^+ \text{-N}/\text{NO}_3^- \text{-N}$  ratio and P level

图3表明, 铵硝比和 P 素营养对于菠菜茎叶的 GSA 影响显著。在 P 素水平相同时, 随着铵硝比的下降, 菠菜茎叶中 GSA 显著下降 ( $p = 0.05$ )。在 3 个不同的 P 水平  $P_0$ 、 $P_1$ 、 $P_2$ , 铵硝比为  $A_0$  的处理菠菜茎叶中 GSA 分别是  $A_1$  处理的 79.1%、85.5% 和 80.6%; 铵硝比为  $A_0$  的处理分别是  $A_2$  处理的 62.1%、63.4% 和 59.7%。说明营养液中  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  含量越高, 菠菜茎叶中 GSA 就越高。在铵硝比相同时, 中等磷水平下 ( $P_1$ ) 菠菜茎叶中 GSA 最高, 且显著地高于  $P_0$  处理 ( $p = 0.05$ );  $P_2$  处理 GSA 介于  $P_0$  和  $P_1$  之间。说明培养液中 P 素含量较高时, 对菠菜茎叶中 GSA 有一定的抑制作用。

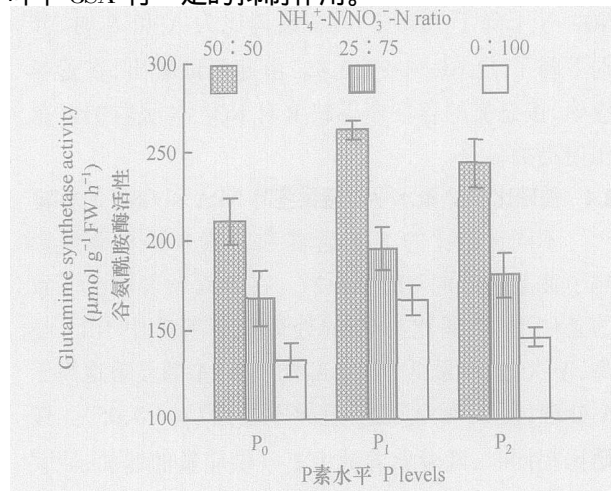


图3 不同铵硝比和磷素营养菠菜茎叶的 GSA

Fig. 3 GSA in spinach shoots in treatments different in  $\text{NH}_4^+ \text{-N}/\text{NO}_3^- \text{-N}$  ratio and P level

### 3 讨论

不同铵硝比的 N 素营养对于作物生长的影响已有不少报道<sup>[12-14]</sup>。不少旱地作物在水培条件下, 培养液中添加适量的  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ , 可以提高产量, 但当营养液中的  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  比例超过 50% 时, 就会显著抑制生长, 降低生物量<sup>[13,14]</sup>。Chen 等<sup>[13]</sup>的试验表明, 小白菜在铵硝比为 25:75 时产量最高; 这也是番茄幼苗获得最大生物量的最佳 N 素形态配比<sup>[14]</sup>。张春兰等<sup>[12]</sup>研究认为, 在铵硝比为 30:70 时, 菠菜鲜重值最大。与该结果不同的是, 本试验结果表明菠菜的生物量在铵硝比为 0:100 时最高, 但和 25:75 的处理之间没有显著差异, 二者均显著高于铵硝比为 50:50 的处理; 但有意义的是, 铵硝比为 25:75 时菠菜茎叶中硝酸盐含量显著低于全硝处理。

试验还发现, 在 N 素营养相同时, 缺 P 会显著降低菠菜的产量, 其干物重平均只有 P 充足条件下菠菜干物重 49.7%, 这与 Wittwer 等<sup>[15]</sup>的研究结果一致。在中等 P 素水平,  $A_2$  和  $A_1$  相比, 菠菜产量下降了 41.8%; 在 P 充足条件下,  $A_2$  和  $A_1$  相比, 菠菜产量下降了 21.1%。说明充足的 P 素营养可以缓解过高的铵对菠菜生长的抑制作用。据报道, 参与植物呼吸作用的酶类其组成中都含有 P, 所以 P 充足时可以促进作物的呼吸作用, 形成更多的有机酸和 ATP, 因而可以容纳更多的  $\text{NH}_4^+$  形成氨基酸; 而且, P 还是氨基转移酶的活性基——磷酸吡哆醛的组成成分, 因此, P 对于氨基转移形成新的氨基酸也是必需的<sup>[1,6]</sup>。当植株中游离的  $\text{NH}_4^+$  及时转化为氨基酸并进一步合成蛋白质时, 就不至于对作物的生长产生抑制和毒害作用。

许多研究表明, 不同铵硝比的 N 素营养和 P 素水平对作物 N 素的吸收和累积影响显著<sup>[5,6,16]</sup>。本研究发现,  $A_0$ 、 $A_1$  处理的菠菜 N 素累积量显著地高于  $A_2$  处理; 说明营养液中  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  比例较高时会抑制植株对 N 素的吸收。随着供 P 量增加, 菠菜中 N 素累积量逐渐增加, 且不同 P 素水平之间差异显著。P 促进了植物对 N 素的吸收, 是与其参与植物光合磷酸化作用, 促进 NAD(P)H 形成, 为  $\text{NO}_3^-$  还原同化提供能量和电子供体等生理功能相一致的<sup>[5,6]</sup>。

P 素营养对于作物吸收不同形态的 N 素影响显著。本试验结果表明, 在铵硝比为  $A_1$  时, 缺 P 菠菜吸收的  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  要占吸收全 N 量的 27.2%, 而 P 充

足的植株吸收的  $\text{NH}_4^+$ -N 大约占全 N 量 16.9%; 在铵硝比为  $A_2$  时, 对应的值分别是 45.4% 和 23.9%。说明缺 P 会提高菠菜对  $\text{NH}_4^+$ -N 的吸收, 换言之, 缺 P 会降低植株对  $\text{NO}_3^-$ -N 的吸收。这与 Schjorring<sup>[16]</sup> 在大麦、荞麦和油菜等作物上的试验结果一致。P 素缺乏对菠菜吸收  $\text{NO}_3^-$ -N 的抑制作用, 要大于对  $\text{NH}_4^+$ -N 吸收的抑制作用, 可能是以下几个方面原因共同作用的结果。一是由于  $\text{NO}_3^-$ -N 的跨膜吸收是受调控的主动运输过程, P 缺乏会引起质膜中磷脂含量下降, ATP 酶活性降低, 硝酸盐的跨膜运输受到影响; 二是缺 P 导致 NRA 活性下降, 根系硝酸盐同化受阻, 进而对  $\text{NO}_3^-$ -N 的吸收产生负反馈调节<sup>[17]</sup>; 三是因为  $\text{NH}_4^+$ -N 的跨膜吸收很可能是依赖电化学势能, 而并不像  $\text{NO}_3^-$ -N 吸收那样依赖于 ATP 的合成, 故而缺 P 造成的 ATP 合成减少对  $\text{NH}_4^+$ -N 吸收的影响较弱<sup>[17, 18]</sup>。

不同的铵硝比和 P 素营养直接影响了菠菜体内 N 代谢关键酶 NR 和 GS 的活性。本试验结果表明, 铵硝比为 25:75 时, 菠菜茎叶中 NRA 最高, 0:100 的处理次之, 50:50 的处理最低。研究资料表明, 小麦叶片 NRA 在增铵营养下最高, 单一硝营养下其次, 单一铵营养下最低<sup>[19]</sup>; 而水培莴笋叶片的 NRA 随  $\text{NH}_4^+$ -N 加入量增加而降低<sup>[4]</sup>。显然, NR 作为一种诱导酶, 其活性通常会随着植株中  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度的升高而增加, 但是, 在营养液中增加适量的  $\text{NH}_4^+$ -N 可以提高 NRA 的原因还不太清楚。本研究还发现, 铵硝比相同时, 随着营养液中 P 素供应量的增加, 菠菜茎叶中 NRA 显著增加。Sanchez 和 Heldt<sup>[20]</sup> 研究表明, 菠菜组织中 Pi (无机 P) 低于  $10 \text{ mmol L}^{-1}$  时, NRA 会随着 Pi 含量的下降而急剧下降。植物缺 P, 根系中 ATP 浓度降低, 抑制根系对  $\text{NO}_3^-$ -N 的吸收和根系  $\text{NO}_3^-$ -N 向地上部转移, 导致 NRA 降低。

本试验结果还表明, 在 P 素水平相同时, 随着营养液中  $\text{NH}_4^+$ -N 比例的增加, 菠菜茎叶中 GSA 显著增加。这与张宏纪等<sup>[21]</sup> 在甜菜上的研究结果一致, 他们发现,  $\text{NH}_4^+$ -N 处理的甜菜 GSA 高于  $\text{NO}_3^-$ -N 处理的甜菜。Lasa 等<sup>[22]</sup> 也报道, 在单一铵营养时, 菠菜根系和地上部 GSA 都要显著地高于单一硝营养。值得注意的是, 在本试验条件下, 铵硝比相同时, 中等磷水平下菠菜茎叶中 GSA 最高, 要显著地高于缺 P 菠菜, P 充足时菠菜 GSA 介于前两者之间。说明营养液中缺 P 时, 会显著抑制 GSA, 而 P 充足时, 对菠菜茎叶中 GSA 也有一定的抑制作用, 其作用机理

还有待于进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] 曹翠玲, 李生秀. 氮素形态对作物生理特性及生长的影响. 华中农业大学学报, 2004, 23(5): 581~586. Cao C L, Li S X. Effect of form on crop physiological characteristics and growth (In Chinese). Journal of Huazhong Agricultural University, 2004, 23(5): 581~586
- [2] 李会合, 王正银, 李宝珍. 蔬菜营养与硝酸盐的关系. 应用生态学报, 2004, 15(9): 1667~1672. Li H H, Wang Z Y, Li B Z. Relationship between vegetable nutrient and nitrate content (In Chinese). Chinese Journal of Applied Ecology, 2004, 15(9): 1667~1672
- [3] 魏小平, 张树清. 蔬菜作物对硝铵态氮吸收能力比较研究. 兰州大学学报(自然科学版), 2002, 38(2): 77~83. Wei X P, Zhang S Q. A comparative study of vegetables absorption of  $\text{NH}_4^+$ -N and  $\text{NO}_3^-$ -N (In Chinese). Journal of Lanzhou University (Natural Sciences Edition), 2002, 38(2): 77~83
- [4] 田霄鸿, 王朝辉, 李生秀. 不同氮素形态及配比对蔬菜生长和品质的影响. 西北农业大学学报, 1999, 27(2): 6~10. Tian X H, Wang Z H, Li S X. Effect of different N forms and  $\text{NH}_4^+$ -N to  $\text{NO}_3^-$ -N ratio on growth and quality of vegetables (In Chinese). Acta Univ. Agric. Borealioccidentalis, 1999, 27(2): 6~10
- [5] Pilbeam D J, Cakmak I, Marschner H, et al. Effect of withdrawal of phosphorus on nitrate assimilation and PEP carboxylase activity in tomato. Plant Soil, 1993, 154: 111~117
- [6] Ruffy Jr T W, MacKown C T, Volk R J, et al. Phosphate regulation of nitrate assimilation in soybean. J. Exp. Bot., 1993, 44: 879~891
- [7] 张学军, 孙权, 陈晓群, 等. 不同类型菜田和农田土壤磷素状况研究. 土壤, 2005, 37(6): 649~654. Zhang X J, Sun Q, Chen X Q, et al. Fractions of phosphorus in vegetable soils and farmland soils (In Chinese). Soils, 2005, 37(6): 649~654
- [8] Folse D, Classen N, Jungk A. Phosphorus efficiency of plants. Plant and Soil, 1988, 111: 101~109
- [9] 李合生主编. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000. 125~127. Li H S. ed. Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment (In Chinese). Beijing: Higher Education Press, 2000. 125~127
- [10] 段英华, 张亚丽, 沈其荣. 增硝营养对不同基因型水稻苗期吸铵和生长的影响. 土壤学报, 2005, 42(2): 260~265. Duan Y H, Zhang Y L, Shen Q R. Effect of nitrogen on the ammonium uptake and growth of different genotypes of rice (*Oryza Sativa*) at the seedling stage (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2005, 42(2): 260~265
- [11] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统. 北京: 科学出版社, 2002. 150~368. Tang Q Y, Feng M G. DPS Data Processing System for Practical Statistics (In Chinese). Beijing: Science Press, 2002. 150~368
- [12] 张春兰, 高祖明, 张耀栋, 等. 氮素形态和  $\text{NH}_4^+$ -N 与  $\text{NO}_3^-$ -N 对比对菠菜生长和品质的影响. 南京农业大学学报, 1990, 13(3): 70~74. Zhang C L, Gao Z M, Zhang Y D, et al. The effects of different nitrogen forms and their concentration combinations

- on the growth and quality of spinach (In Chinese). Journal of Nanjing Agricultural University, 1990, 13(3): 70~ 74
- [13] Chen W, Lou J K, Shen Q R. Effect of ratios on growth and some physiological parameters of Chinese cabbage cultivars. Pedosphere, 2005, 15(3): 310~ 318
- [14] Dong C X, Shen Q R, Wang G. Tomato growth and organic acid changes in response to partial replacemint of  $\text{NO}_3^-$ -N by  $\text{NH}_4^+$ -N. Pedosphere, 2004, 14(2): 159~ 164
- [15] Wittwer S H, Schroeder R A, Albrecht W A. Interrelationships of calcium, nitrogen, and phosphorus in vegetable crops. Plant Physiol., 1947, 22(3): 244~ 256
- [16] Shjorning J K. Nitrate and ammonium absorption by plants growing at a sufficient or insufficient level of phosphorus in nutrient solution. Plant and Soil, 1986, 91(3): 313~ 318
- [17] Gniadzowska A, Rychter A M. Nitrate uptake by bean (*Phaseolus vulgaris* L.) roots under phosphate deficiency. Plant and Soil, 2000, 226(1): 79~ 85
- [18] de Groot C C, Marcelis L E M, van den Boogaard R, *et al.* Interaction of nitrogen and phosphorus nutrition in determining growth. Plant and Soil, 2003, 248: 257~ 268
- [19] 戴廷波, 曹卫星, 孙传范, 等. 增铵营养对小麦光合作用及硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶的影响. 应用生态学报, 2003, 14(9): 1 529~ 1 532 Dai T B, Cao W X, Sun C F, *et al.* Effect of enhanced ammonium nutrient on photosynthesis and nitrate reductase and glutamine synthetase activities of winter wheat (In Chinese). Chinese Journal of Applied Ecology, 2003, 14(9): 1 529~ 1 532
- [20] Sanchez J, Heldt H W. On the regulation of spinach nitrate reductase. Plant Physiol., 1990, 92: 684~ 689
- [21] 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活性的影响. 黑龙江农业科学, 2001(6): 7~ 10. Zhang H J, Ma F M, Li W H, *et al.* Effect of different nitrogen forms on glutamine synthetase activities in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) (In Chinese). Heilongjiang Agricultural Science, 2001(6): 7~ 10
- [22] Lasa B, Frechilla S, Aparicio Tejo P M, *et al.* Role of glutamate dehydrogenase and phosphoenolpyruvate carboxylase activity in ammonium nutrition tolerance in roots. Plant Physiol. Biochem., 2002, 40: 969~ 976

## EFFECTS OF $\text{NH}_4^+$ -N/ $\text{NO}_3^-$ -N RATIO AND PHOSPHORUS LEVELS ON GROWTH, NITROGEN UPTAKE AND RELEVANT ENZYMES ACTIVITY OF SPINACH (*SPINACIA OLERACEA* L.)

Wang Jianfei Dong Caixia Xie Yue Shen Qirong<sup>†</sup>

(College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract** A solution culture experiment was conducted to study effects of  $\text{NH}_4^+$ -N/  $\text{NO}_3^-$ -N ratio and phosphorus level on growth, and nitrogen uptake of spinach and activities of nitrate reductase (NRA), glutamine synthetase (GSA) therein. Results show that spinach plants in nutrient solutions, the same in phosphorus supply level, decreased in biomass with decreasing  $\text{NH}_4^+$ -N/ $\text{NO}_3^-$ -N ratio, but differed slightly between solutions of 25: 75 and 0: 100 in  $\text{NH}_4^+$ -N/ $\text{NO}_3^-$ -N ratio. In treatments the same in  $\text{NH}_4^+$ -N/ $\text{NO}_3^-$ -N ratio, spinach plants increased in biomass with rising phosphorus level in the nutrient solutions. Nitrate levels in spinach shoots increased with decreasing  $\text{NH}_4^+$ -N/ $\text{NO}_3^-$ -N ratio and phosphorus level, but did not vary much between treatments different in  $\text{NH}_4^+$ -N/ $\text{NO}_3^-$ -N ratio. Spinach nitrogen content increased with phosphorus level, but did not show much difference between treatments different in  $\text{NH}_4^+$ -N/ $\text{NO}_3^-$ -N ratio. Nitrogen accumulation in spinach markedly increased with decreasing  $\text{NH}_4^+$ -N/ $\text{NO}_3^-$ -N ratio and increasing phosphorus level, which were concurrent with the increase in spinach biomass. In solutions of mixed  $\text{NH}_4^+$ -N and  $\text{NO}_3^-$ -N, phosphorus deficiency significantly inhibited spinach uptake of  $\text{NH}_4^+$ -N and  $\text{NO}_3^-$ -N. When the  $\text{NH}_4^+$ -N/ $\text{NO}_3^-$ -N ratio was 25: 100, the  $\text{NH}_4^+$ -N amount absorbed by spinach growing in the solution deficient in phosphorus accounted for 27. 2% of the total nitrogen uptake, however, it dropped to 16. 9% in the solution adequate in phosphorus. When the  $\text{NH}_4^+$ -N/ $\text{NO}_3^-$ -N ratio was kept at 50: 50, the value was 45. 4% and 23. 9%, respectively. Apparently, the uptake of  $\text{NH}_4^+$ -N was less depressed by phosphorus deficiency than the uptake of  $\text{NO}_3^-$ -N. With increasing phosphorus level, NRA of spinach markedly increased in treatments the same in  $\text{NH}_4^+$ -N/ $\text{NO}_3^-$ -N ratio, but with higher  $\text{NH}_4^+$ -N/ $\text{NO}_3^-$ -N ratios, NRA of spinach was depressed, and it increased when the ratio was lower. Moreover, phosphorus deficiency depressed GSA seriously. At the same phosphorus level, GSA of spinach shoot increased pronouncedly with increasing  $\text{NH}_4^+$ -N in nutrient solutions. Therefore, it is feasible to decrease nitrate level of some leafy vegetables that are grown on those soils high in nitrate by applying more phosphorus fertilizer.

**Key words** Spinach; Phosphorus nutrient;  $\text{NH}_4^+$ -N;  $\text{NO}_3^-$ -N; Enzyme activity