

不同施氮水平下黄瓜叶片 SPAD 值与硝态氮含量及硝酸还原酶活性的关系

张延丽¹, 田吉林², 翟丙年¹, 诸海涛²

(1 西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100; 2 上海市农业科学院 生态环境保护研究所, 上海 201106)

【摘 要】 【目的】确定黄瓜氮素营养缺乏诊断的最佳时期、最佳部位和临界浓度。【方法】采用溶液培养法, 研究不同氮素水平(0, 70, 140, 210 和 280 mg/kg)下, 黄瓜不同生育期(幼苗期, 开花期和结果期)、不同叶位叶片的 SPAD 值、硝酸还原酶活性(NRA)和叶柄硝态氮含量的变化特征。【结果】黄瓜不同叶位叶片的 SPAD 值对施氮水平反应的敏感程度存在显著差异。随施氮量的增加, 黄瓜各叶位叶片 SPAD 值均有所增加, 但不同叶位叶片 SPAD 值增长的幅度明显不同; 黄瓜叶片的 SPAD 值、NRA 和叶柄硝态氮含量 3 个参数的变化, 因黄瓜生育时期的不同而有明显差异, 幼苗期和开花期三者显著相关, 开花期叶片 SPAD 值和叶柄硝态氮含量极显著相关。【结论】黄瓜幼苗期和开花期的第 3 叶、结果期的第 7 叶对施氮水平的反应最敏感, 可以作为黄瓜氮素缺乏诊断的最佳部位; 氮素缺乏的临界浓度为 210 mg/kg; 诊断的最佳时期为开花期。

【关键词】 黄瓜; 氮素浓度; SPAD 值; 叶柄硝态氮含量; 硝酸还原酶活性; 氮素营养诊断
【中图分类号】 S642.2 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-9387(2009)01-0189-05

Relationship between leaf SPAD values and the nitrate content and nitrate reductase activity in cucumber at different nitrogen rates

ZHANG Yan-li¹, TIAN Ji-lin², ZHAI Bing-nian¹, ZHU Hai-tao²

(1 College of Resources and Environmental Science, Northwest A&F University, Yangling, Shanxi 712100, China;
2 Eco-Environment and Plant Protection Institute of Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106, China)

Abstract: 【Objective】The study was to confirm the best period, best location and critical nitrogen concentration of plant diagnosis in cucumber. 【Method】A hydroponic experiment was conducted to investigate the changing characters of the leaf SPAD values, nitrate reductase activity and the leafstalks nitrate nitrogen content at different growth stages of cucumber under the conditions of different nitrogen supplying rates respectively. 【Result】The results showed that the leaf SPAD values increased significantly with the increase of N rate, and they all could be used as indices for plant nitrogen nutrition diagnosis. The leaf SPAD values at different positions of leaf responded differently to the increase of N rate. The leaf SPAD values, the nitrate reductase activity and the leafstalks nitrate nitrogen content have changed significantly at the different growth stages and there was a significant relationship in seedling stage and florescence. 【Conclusion】Therefore, the 3L's SPAD values at seedling stage and in florescence and the 7L's in fruiting were more sensitive, which were suggested to be the best leaf position to diagnose the nitrogen nutrition status of the cucumber plants; The best period and critical nitrogen concentration of cucumber plant diagnosis were florescence and 210 mg/kg.

* 【收稿日期】 2008-03-07
【基金项目】 西北农林科技大学青年学术骨干支持计划项目(2006); 上海市农委资助项目(沪农科攻字 2003 第 9-3 号)
【作者简介】 张延丽(1980—), 女, 青海互助人, 在读硕士, 主要从事植物营养调控研究。E-mail: gali0000@sohu.com
【通信作者】 翟丙年(1967—), 男, 陕西宝鸡人, 教授, 博士, 主要从事植物营养调控研究。E-mail: bingnianz@sohu.com

Key words: cucumber; nitrogen content; SPAD value; leafstalk nitrate nitrogen content; NRA; plant nitrogen diagnosis

氮素运筹是调控作物生长发育、改善光合特性、提高产量的一项重要措施。有研究表明,作物生长及其产量的形成与其氮素吸收和氮浓度关系密切^[1-2]。作物氮素营养调控及氮肥效率的提高,最终取决于对作物氮素营养水平的精确判定^[3]。当植株缺氮时,由于蛋白质合成受阻,叶片中酶和叶绿素合成减少,细胞分裂减缓,叶色变黄。因此,通过叶片光谱分析能快速、精确地判断作物氮素营养水平,为追肥提供所需的即时信息。

近年来,叶绿素仪在作物叶片养分的间接速测上应用广泛,取得了较好的效果,利用叶绿素仪测定的 SPAD 值可以间接反映作物叶片的叶绿素含量及含氮量^[4-9]。已有学者利用 SPAD-502 叶绿素仪,研究了黄瓜和番茄叶片的 SPAD 值与叶片含氮量、产量的关系,结果发现,SPAD 值和叶片含氮量显著相关^[10-11]。Kim 等^[12]用 SPAD-502 叶绿素仪研究了 SPAD 值与黄瓜叶片的叶面积及鲜、干质量的关系,结果显示,三者之间有很显著的相关性。利用 SPAD 叶绿素仪和叶柄硝酸盐浓度对番茄进行氮素诊断时发现,在植株整个生长阶段,叶柄硝态氮浓度的变化均比 SPAD 值的变化大,在生长旺盛时期尤为明显。目前,对黄瓜不同叶片在不同生育期和不同氮素水平下的变化特征及氮素缺乏诊断的最佳时期和临界浓度的研究不多,探讨氮素缺乏反应敏感的叶位和诊断的最佳时期,可以使黄瓜的氮素营养缺乏诊断更准确,更方便。为此,本试验采用水培法,研究了不同施氮水平下,黄瓜不同生育期、不同叶位 SPAD 值的变化规律及其与叶柄硝态氮含量和叶片硝酸还原酶活性(NRA)之间的关系,以期为利用 SPAD 值进行黄瓜氮素营养诊断提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

1.1.1 水培试验 试验于 2007-04-06 在上海市农科院温室大棚中进行。以黄瓜为供试材料,采用营养液培养法进行试验,用 5 L 的小塑料桶盛 3 L 营养液,每桶培养 1 株黄瓜。营养液大量元素配方参照《现代植物生理学实验指导》^[13]配制,每升培养液中加入 20 mg Fe-EDTA,其他微量元素用量按 Arnon 配方加入。本试验采用随机区组设计,设

N0,N70,N140,N210 和 N280 共 5 个处理,对应纯 N 的用量分别为:0,70,140,210 和 280 mg/kg,以不供 N(0 mg/kg)为对照,每处理重复 3 次。

1.1.2 黄瓜催芽 选用健壮黄瓜种子,将其用 5 mg/L 的次氯酸钠溶液消毒 15~20 min,无菌水冲洗 4~5 次,在铺有滤纸的干净培养皿中催芽。将发芽的种子移入石英砂和珍珠岩组成的混合基质中,待黄瓜幼苗第 1 片真叶长出后,选取大小一致的植株,用海绵包裹茎部,插入培养桶盖的孔中,每孔 1 株。每隔 7 d 更换 1 次培养液,每天早晚用打气泵通气。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 样品采集及预处理 从植株 4 叶 1 心时开始,早上 8:00~10:00 用 SPAD 叶绿素仪测定植株不同叶位完全展开叶(植株最下面的叶为第 1 叶,依次往上为第 2 叶、第 3 叶,……)的 SPAD 值。采取植株第 3 叶(3L)、第 5 叶(5L)和第 7 叶(7L),将样品立即挂好标签,装入塑料袋,密封袋口,以防水分散失,带回实验室。将叶片和叶柄分开,以防止硝态氮在两器官之间转移。用蒸馏水清洗,并立即用吸水纸擦干,然后放入 0~4 ℃冰箱中保存,用于测定叶片 NRA 及叶柄硝态氮含量。每 2 d 测 1 次,求取平均值,得到幼苗期(2007-04-20~04-27)、开花期(2007-05-01~05-08)和结果期(2007-05-10~05-18)的 SPAD 值、硝酸还原酶活性(NRA)和叶柄硝态氮含量。

1.2.2 叶 色 以 SPAD 叶绿素仪的读数表示。用日本产的 SPAD-502 型叶绿素计,测定植株不同叶位完全展开叶片上,间隔约 2 cm 的点上的 SPAD 值,求其平均值作为该叶片的 SPAD 值。每 2 d 测 1 次,求得不同生育期不同叶位的 SPAD 值。

1.2.3 NRA 的测定 称取 0.5 g 左右剪碎叶片样品于 50 mL 三角瓶中,加入 0.2 mol/L KNO₃ 溶液和 0.1 mol/L pH7.5 的磷酸缓冲溶液各 5 mL,对照加等量的蒸馏水和 0.1 mol/L pH7.5 的磷酸缓冲溶液。混匀后立即放入真空干燥器中,抽气 1 min 再通入空气,再抽真空,反复几次,至叶片完全软化沉入试管底为止。25 ℃黑暗中反应 0.5 h,取 1 mL 反应液,加入 2 mL 磺胺和 2 mL 甲萘胺,混匀后置于 25~30 ℃下反应 1 h,显色后在 540 nm 波长下比色^[13]。硝酸还原酶活性以每 h 每 g 鲜样形成的亚硝酸钠的微克数表示,单位为“μg/(g·h)”。

1.2.4 叶柄硝态氮含量的测定 用硝酸试粉法快速测定,为了提高测定结果的准确性,在 420 nm 波长下进行比色测定^[14-15]。

1.3 数据处理

采用 SAS 分析软件和 Excel 对试验数据进行方差分析,用 SSR 法进行平均数间多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同生育期各处理黄瓜不同叶位 SPAD 值的变化

2.1.1 黄瓜叶片叶位对 SPAD 值的影响 表 1 表明,不同生育期黄瓜不同叶位叶片的 SPAD 值有一定差异,但相对固定,且受氮浓度的影响较小。在同

一氮素水平条件下,幼苗期黄瓜各叶位叶片的 SPAD 值差异不大,这可能是因为幼苗期植株生长缓慢,消耗养分不大,营养液中的氮素基本能满足植株的生长需要,植株体内氮素转移不多;开花期黄瓜叶片 SPAD 值从老叶到新叶(从下到上)有升高的趋势,这种趋势在 N0、N210、N280 处理上表现较明显;结果期 1~5 叶黄瓜叶片 SPAD 值逐渐升高,从 6 叶开始迅速升高,于 9 叶达到最高值后下降,这可能是在结果期营养中心转移到果实中,植株叶片中的氮迅速从老叶转移到上部叶片,在转移过程中一部分氮素要积累到中部的果实中,所以 10,11 叶的 SPAD 值又有所下降;各处理 7,8,9 和 10 叶的 SPAD 值相对较高。

表 1 不同生育期不同施氮水平下黄瓜叶片的 SPAD 值

Table 1 SPAD value of cucumber leaves under different nitrogen levels at different stages							
生育期 Growth period	叶位 Leaf position	N0	N70	N140	N210	N280	平均 Average
幼苗期 Seedling stage	1	25.43 cB	45.02 bA	46.37 aAB	47.66 aA	48.23 aA	42.54
	2	28.00 cA	43.46 bB	45.62 abB	45.49 abB	49.45 aA	42.40
	3	26.61 cAB	46.18 bA	49.27 aA	49.72 aA	50.10 aA	44.38
	4	27.89 bA	44.37 aB	45.45 aB	44.28 aB	46.76 aB	41.75
	平均 Average	26.90	44.75	46.78	46.84	48.56	
开花期 Florescence	1	16.48 bC	36.14 abA	38.59 aA	39.00 aC	36.23 abB	33.29
	2	19.55 cB	37.31 bAB	38.90 bA	44.79 abB	49.41 aA	37.99
	3	21.51 cA	38.92 bA	39.93 bA	47.26 aAB	52.48 aA	40.02
	4	23.15 cA	35.87 bC	33.53 bC	49.16 aA	51.26 aA	38.59
	5	—	34.91 bC	37.10 bAB	45.69 aB	49.86 aA	41.89
	6	—	34.34 cC	36.55 cB	46.56 bAB	50.96 aA	42.10
	7	—	40.11 bA	41.33 bA	50.26 aA	51.38 aA	45.77
	平均 Average	20.17	36.80	37.99	46.10	48.79	37.97
结果期 Fruiting	1	—	13.38 cB	21.62 bD	29.48 aC	31.32 aC	23.97
	2	—	20.98 cC	25.27 cC	33.88 bC	40.18 aBC	30.08
	3	—	24.25 bC	26.63 bC	37.20 aB	41.17 aB	32.31
	4	—	25.53 cC	30.38 bC	38.03 aB	43.67 aB	34.40
	5	—	23.18 cC	33.53 bC	38.67 bB	46.28 aB	35.41
	6	—	34.30 cB	37.93 bB	46.27 aAB	47.50 aB	41.50
	7	—	38.67 bB	40.03 bB	52.42 aA	52.08 aA	45.80
	8	—	46.48 bA	50.52 aA	53.17 aA	55.08 aA	51.30
	9	—	49.03 bA	49.10 bA	53.12 bA	57.00 aA	53.07
	10	—	45.40 bA	45.70 bB	50.90 aA	53.53 aA	48.88
	11	—	35.42 cB	43.90 bB	48.60 aA	52.60 aA	45.13
	平均 Average		32.41	36.78	43.79	47.31	

注:同行数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$);同一生育期同列数据后标不同大写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note:Data followed by letters mean a significant difference at 0.05 level. Small letters corresponding to the comparison are the same leaf positions under different nitrogen levels, while big letters are different leaf positions under the same nitrogen levels at the same growth stage.

2.1.2 氮素水平对黄瓜叶片 SPAD 值的影响 由表 1 可知,随施氮水平的提高,黄瓜各叶位叶片 SPAD 值均有所增加,但不同叶位叶片 SPAD 值增加的幅度存在明显差异。在幼苗期,较 N0 处理,N280 处理黄瓜 1,2,3 和 4 叶的 SPAD 值均显著提

高,分别提高了 22.8,21.45,23.48 和 18.87,其中 3 叶的 SPAD 值提高幅度最大;N0、N70 处理叶片的 SPAD 值与其他处理间差异显著(N70 处理 4 叶除外),其他 3 个处理间叶片的 SPAD 值差异不显著,这可能是因为幼苗期植物生长量比较小,对氮的需

求量不大,当氮素水平达到一定程度时,随着氮水平的进一步提高,叶片颜色的变化已经不明显了。开花期,N70 与 N140、N210 与 N280 处理(除 6 叶外)间叶片的 SPAD 值差异不显著;N280 处理与 N0 比较,1,2,3 和 4 叶的 SPAD 值分别提高了 19.75, 29.86,30.97 和 28.11;当氮素水平超过 210 mg/kg 时,除 1 叶外,其余叶位叶片的 SPAD 值明显增加,其中 3 叶的增长幅度最大。结果期,总体来看 N210 和 N280 处理与其他处理间叶片的 SPAD 值差异显著;随着氮素水平的提高,2,3,5,7 和 11 叶的 SPAD 值增加幅度较大,其中 5 叶的增加幅度最大。

从表 1 还可以看出,随着生育期的延长,不同水平氮素处理黄瓜叶片的 SPAD 平均值均呈下降趋势;从幼苗期到开花期,N0、N70、N140 和 N210 处理黄瓜叶片的 SPAD 平均值分别下降了 25%,17%,18%和 1.5%,N280 处理增加了 0.47%;从开花期到结果期,

N70、N140、N210 和 N280 分别下降了 11.9%, 3.1%,5.0%和 3.0%。在整个生育期中 N0、N70 处理植株叶片的 SPAD 值下降最大,N280 处理最小,可见氮素水平对叶片 SPAD 值的变化影响很大。

2.2 氮素水平对黄瓜植株叶柄硝态氮含量的影响

由于植株 3L、5L、7L 对施氮的反应较敏感,故本研究以黄瓜植株第 3、5 和 7 叶叶柄(分别记为 3LS、5LS 和 7LS)硝态氮的含量来说明确态氮含量的变化。从图 1 可以看出,黄瓜叶柄的硝态氮含量基本随着施氮水平的升高而提高;同一氮素水平下,叶柄的硝态氮含量随植株生育期的延长而降低;在开花期,不同叶片叶柄的硝态氮含量在不同施氮水平下均为 3LS>5LS>7LS,可见在开花期黄瓜叶柄硝态氮含量有相对固定的分布特征,且受氮浓度的影响相对较小;结果期,N280 处理中,不同叶片叶柄硝态氮含量明显高于其他处理。

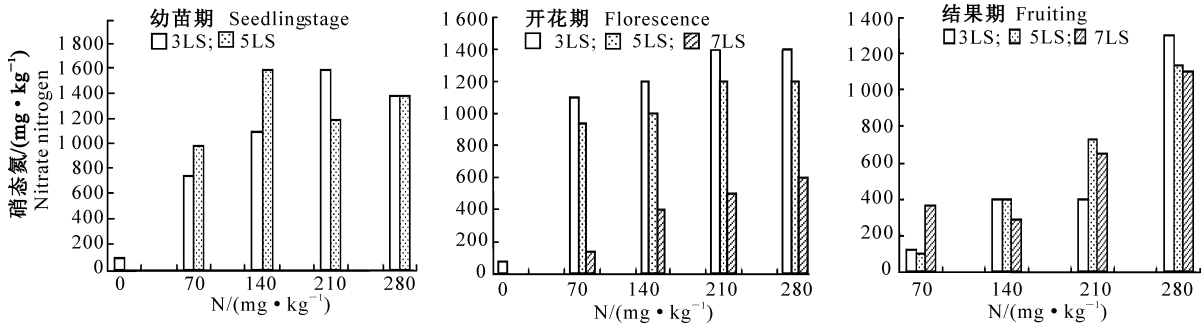


图 1 不同生育期不同施氮水平下黄瓜叶柄硝态氮含量的变化

Fig. 1 Leafstalks nitrate nitrogen content at different growth stages of cucumber under the conditions of different nitrogen supplying rates

2.3 氮素水平对黄瓜叶片 NRA 活性的影响

从图 2 可以看出,在整个生育期中,不同叶片 NRA 变化特征不同,各叶片 NRA 随氮素水平的提高而变化的规律不同,这可能是因为植株不同部位不同生育期吸收氮素的特性不同。3L 的 NRA 活

性在幼苗期变化比较平稳,和氮水平的相关性较好,在开花和结果期氮素水平为 210 mg/kg 时均达到最高;5L 仅在开花期与氮水平的相关性较好,7L 仅在结果期随氮水平的变化趋势明显。

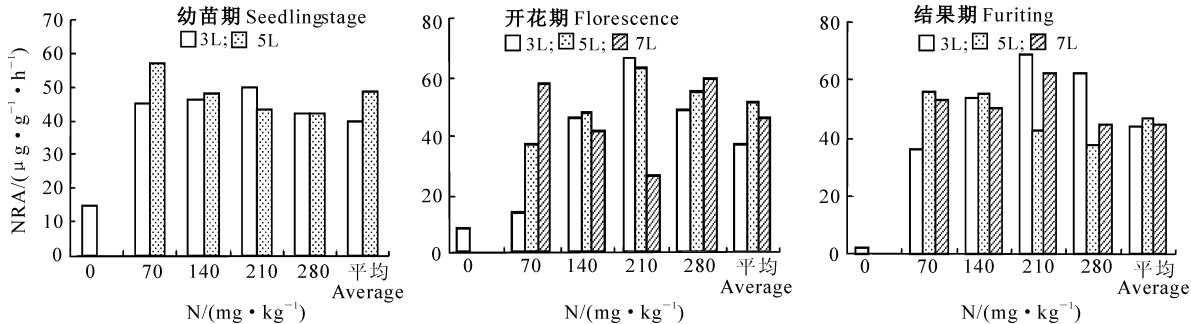


图 2 不同生育期不同施氮水平下黄瓜叶片 NRA 活性的变化

Fig. 2 NRA in leaves at different growth stages of cucumber under the conditions of different nitrogen supplying rates

2.4 黄瓜敏感叶片 SPAD、NRA 和叶柄硝态氮含量间的相关分析

由表 2 可看出,幼苗期、开花期和结果期,黄瓜叶片 SPAD 值与叶柄硝态氮含量和叶片中 NRA 间的相关系数分别为 0.88,0.96 和 0.96,0.79 及 0.82,0.83。经 LSD 检验,幼苗期叶片 SPAD 值与叶柄硝态氮含量和叶片中 NRA 的相关性达显著水

平($P<0.05$);开花期叶片 SPAD 值与叶柄硝态氮含量相关性达极显著水平($P<0.01$)。可见在黄瓜幼苗期和开花期,可以利用 SPAD 仪对黄瓜的氮素营养状况及时进行治疗。结果期,叶片 SPAD 值、叶柄硝态氮含量、叶片 NRA 间的相关性不显著,说明黄瓜生长后期 SPAD 值不能准确反映植株的氮素营养状况,必须配合其他参数来进行营养诊断。

表 2 不同生育期黄瓜叶片 SPAD 值、叶柄 NO₃⁻-N 含量和 NRA 活性间的相关系数
Table 2 Correlation coefficients(r) between leaf SPAD value and leafstalks NO₃⁻-N and NRA in Cucumber at different growth stages

项目 Item	幼苗期 Seedling stage		开花期 Florescence		结果期 Fruiting stage	
	叶柄 NO ₃ ⁻ -N 浓度 Leafstalk nitrogen content	NRA 活性 The leaves nitrate reductase activity	叶柄 NO ₃ ⁻ -N 浓度 Leafstalk nitrogen content	NRA 活性 The leaves nitrate reductase activity	叶柄 NO ₃ ⁻ -N 浓度 Leafstalk nitrogen content	NRA 活性 The leaves nitrate reductase activity
叶片 SPAD 值 The leaf SPAD values	0.88 *	0.96 *	0.96 * *	0.79	0.82	0.83
叶柄 NO ₃ ⁻ -N 浓度 Leafstalk nitrogen content	—	0.06	—	0.81	—	0.66

注: * 相关性显著($P<0.05$); * * 相关性极显著($P<0.01$)
Note: * Correlation is significant at 0.05 level; * * Correlation is very significant at 0.01 leve.

3 讨论与结论

本研究结果表明,不同生育期和测定指标,黄瓜不同叶位叶片对施氮水平的反应不同。幼苗期,同一氮素水平下 3L 的 SPAD 值最高。开花期,7L 的 SPAD 值较高,幼苗期和开花期不同氮水平间,黄瓜 3L 的 SPAD 值提高幅度均最大,且硝态氮和 NRA 活性变化较平稳,与氮水平的相关性较好。结果期,7L SPAD 值相对较高,NRA 随氮素水平的变化趋势也较明显。说明幼苗期和开花期的 3L、结果期的 7L 对施氮的反应最敏感,可以作为氮素诊断最佳部位。黄瓜植株在氮水平为 210 mg/kg 时,叶片 SPAD 值、叶柄硝态氮含量、叶片 NRA 3 指标均有明显变化,可以初步确定,在本试验中氮素缺乏的临界浓度为 210 mg/kg。利用不同生育期的敏感叶片对黄瓜不同时期的测定数据进行相关性分析,结果表明,幼苗期和开花期黄瓜叶片 SPAD 值、叶柄硝态氮含量和叶片中 NRA 活性 3 者的相关性显著,开花期叶片 SPAD 值和叶柄硝态氮含量达到极显著水平,可见幼苗期和开花期均可用叶片 SPAD 值来进行黄瓜氮素营养诊断,但开花期是诊断的最佳时期。

由于本研究是采用水培试验进行的,同时氮肥处理仅设了 5 个水平,因而仍有局限性。试验时每盆 1 株苗,营养液中的养分可能有些过多,对缺素表现效果不太好。另外在测定叶片 SPAD 时,光照强

度随着时间也有一定的变化,这可能影响到 SPAD 值的准确性。本研究所确定的氮素缺乏临界浓度只限本试验条件下,实际生产中的浓度范围尚需进一步研究。

[参考文献]

[1] Cui R Y, Lee B W. Spikelet number estimation model using nitrogen nutrition status and biomass at panicle initiation and heading stage of rice [J]. Korean J Crop Sci, 2002, 47: 390-394.
[2] Natanos D A, Koutroubas S D. Dry matter and nitrogen accumulation and translation for indica and japonice rice under Mediterranean conditions [J]. Field Crops Res, 2002, 74: 93-101.
[3] Balasubramanian V, Morales A C, Cruz R T. On-farm adaptation of knowledge-intensive nitrogen management technologies for rice systems [J]. Nutr Cycling Agroecosyst, 1999, 53(1): 59-69.
[4] 李志宏, 刘宏斌, 张福锁. 应用叶绿素仪诊断冬小麦氮营养状况的研究 [J]. 植物营养与肥料学报. 2003, 9(4): 401-405.
Li Z H, Liu H B, Zhang F S. Research of nitrogen nutrition status for winter wheat based on chlorophyll meter [J]. Plant Nutrition and Fertilizing Science, 2003, 9(4): 401-405. (in Chinese)
[5] 吴良欢, 陶勤南. 水稻叶绿素计诊断追氮法研究 [J]. 浙江农业大学学报: 农业与生命科学版, 1999, 25(2): 135-138.
Wu L H, Tao Q N. Nitrogen fertilizer application based on the diagnosis of nitrogen nutrition of rice plants (Oryza sativa L) using chlorophyll meter [J]. Journal of Zhejiang agricultural University: Agric&Life Sci, 1999, 25(2): 135-138. (in Chinese)