

氮肥不同施用量对葡萄叶片生长及根、叶细胞结构的影响

宋 阳,崔世茂,杜金伟,金丽萍

(内蒙古农业大学,内蒙古 呼和浩特 010031)

摘要:旨在为葡萄生产栽培提供理论依据,通过氮肥不同施用量处理,研究探讨了氮肥对盆栽葡萄叶片生长及根、叶细胞结构的影响。结果表明,随着氮肥施用量的增加,葡萄叶片的长和宽及其叶面积都呈现增大趋势,叶绿素含量也显著增加,其中,叶绿素 a 增加显著,而叶绿素 b 增加不显著,同时,叶绿素荧光量子吸收率显著增加,且与叶绿素 a/b 值显现出一致的趋势,说明叶绿素俘获光量子与叶绿素 a 有很大关系。通过切片观察,随着氮肥施用量的增加,DAPI 染色后,对叶片细胞核影响不显著,但在根尖部,细胞核数量和染色程度显著增加;经 I_2 -KI 染色显示,随着氮肥施用量的增加,葡萄叶片、根尖中淀粉粒积累也呈现增加的趋势。

关键词:葡萄;氮肥;叶片;根

中图分类号:S663.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2008)03-0204-05

The Grape Leaves Growth and the Anatomical Changes Both of the Grape Leaves and Roots through Different Levels of Nitrogen Fertilizer Applications

SONG Yang, CUI Shi-mao, DU Jin-wei, JIN Li-ping

(Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010019, China)

Abstract: Nitrogen fertilizer effects on the grape leaves growth and the anatomical changes both of the leaves and roots through different levels of nitrogen fertilizer applications. The results express that the leaves length, width and leaf area are increased with the amount of nitrogen fertilizer applications increasing, which is also same to the content of chlorophyll. Especially, chlorophyll a increased sharply, while the chlorophyll b didn't increase in evidence. Then the chlorophyll fluorescence quantum absorptivity is increased strongly, which is same with the chlorophyll a/b's trend of change. That indicates quantum absorptivity is in relation with the chlorophyll a. Samples are observed by the cross sections, after the staining by DAPI, as the amount of nitrogen fertilizer applications increasing, nucleolus amount of the leaves is not changed in evidence, while the nucleolus amount in the root apex meristem is increased sharply. After the staining by the I_2 -KI, also the starch content of both the leaves and roots is increased in evidence as the amount of nitrogen fertilizer applications increasing.

Key words: Grape; Nitrogen fertilizer; Leaf; Root

氮是植物的重要成分,对植物生长有着重要的作用。特别是叶片氮素含量与光合作用之间有着高度的正相关关系^[1,2]。有关氮肥施用量对植物生长及产量的影响已有许多报道^[3-5]。Nii 和 Ali 等以 RuBisCO 和淀粉含量为中心,结合叶肉细胞和叶绿体显微结构观察,研究了不同氮肥施用量处理对果树叶片形质的影响^[6-8]。随着氮肥施用量的增加,

桃和苹果叶片中氮素和叶绿素含量增加,叶面积增大,新梢生长旺盛;氮素缺乏,叶片内淀粉含量显著增加,叶绿体内充满淀粉粒,聚集在基粒片层的膜上,使得叶绿体片层结构减少,叶绿体机能降低^[9,10]。虽然 Neales 和 Incoll、Geiger 报道叶内淀粉积累与光合活性之间没有发现存在直接因果关系^[11,12],但在果树叶片中,由于淀粉的积累会导致

收稿日期:2008-01-30

基金项目:国家自然科学基金项目(3066148)

作者简介:宋 阳(1982-),男,内蒙古包头人,硕士,主要从事设施园艺及抗逆生理研究。

通讯作者:崔世茂(1961-),男,山西代县人,教授,博士,博士生导师,主要从事设施园艺及抗逆生理研究。

构成叶绿体基粒片层的膜系统的减少,而且与光合作用密切相关的 RuBisCO 酶含量也会显著降低。

有关根的研究,Nii 曾就坐果量的多少对根系储藏养分—淀粉动态变化的影响进行了研究,但对根组织细胞结构的研究甚少^[6]。本试验是在以前桃和苹果等果树研究的基础上,针对葡萄进行不同氮肥施用量处理,研究其叶、根的细胞结构和淀粉积累的变化,旨在为葡萄丰产栽培提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料及处理

供试材料为日本名城大学弘法山实验农场 5 年生盆(直径 50 cm,深 50 cm 塑料盆)栽“巨丰”葡萄。试验处理所施氮肥为 NH_4NO_3 ,根据氮肥施用量共设 3 个处理,即 0,6,12 g,分别记为 N-0 区、N-6 区和 N-12 区。每个处理分别选 5 株于 3 月上旬进行氮肥处理,5~6 月份各处理分别取样进行相关指标的测定。

1.2 叶面积测定

在各处理区,分别从 5 株葡萄的新梢中部相同位置各采集 4 片成熟叶片(共计 20 片),用感光纸拓取叶片形状,重量法求出平均叶面积。

1.3 叶绿素含量测定

各处理区在每株相同叶位的葡萄叶片上用打孔器(直径 8 mm)取样,经丙酮提取后,根据 Winternans 和 De Mots 的方法^[13],用分光光度计分别在 649 nm 和 665 nm 的波长下测定吸光度,再用下面的公式计算出叶绿素含量。

$$\text{Chl a } (\mu\text{g/L}) = 13.70(A_{665}) - 5.76(A_{649})$$

$$\text{Chl b } (\mu\text{g/L}) = 25.80(A_{649}) - 7.60(A_{665})$$

$$\text{Chl (a + b)} (\mu\text{g/L}) = 6.10(A_{665}) + 20.04(A_{649})$$

1.4 叶绿素荧光测定

叶绿素荧光代表 PS 电子传导活性的量子吸收率(F_v/F_m),其值用 MINI PAM 荧光表(Walz, Effel-trich, Germany)测定^[14]。

1.5 叶片细胞结构观察

各处理于上午 10:00 - 11:00,分别取 5 枚葡萄叶片中部 5 mm ×3 mm 组织用于细胞观察。切取的叶片组织用 3 %戊二醛(0.1 mol/L 二甲砷酸钠缓冲液,pH 值 7.4),在 4 ℃下固定 24 h,为使固定液充分浸透试验材料,一般在抽气减压下进行固定。制作切片时,用 35 %,50 %,60 %,70 %,80 %,90 %,95 %,100 %酒精梯度系列脱水,置换,Technovit7100 树脂包埋。利用 Ultramicroome 玻璃刀切片机切成 1.5 ~ 2.0 μm 厚的切片。通过 DAPI (4'-diamidino-2-

phenylindole)及 I_2 -KI 染色后,利用奥林巴士万能显微镜进行镜检观察。

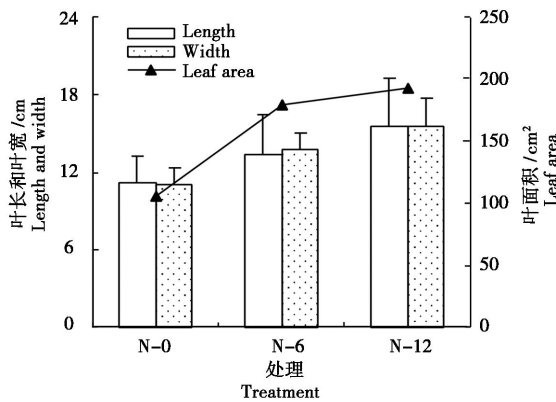
1.6 根尖组织细胞结构观察

各处理选取 5 株葡萄,在其新根的根尖部切取长 5 mm 的组织,制成切片,并进行 DAPI 和 I_2 -KI 染色,利用奥林巴士万能显微镜进行镜检观察。切片制作方法同叶片组织。

2 结果与分析

2.1 不同施氮量对葡萄叶片生长的影响

从图 1 可以看出,葡萄叶片叶面积 N-12 区明显大于 N-6 区,N-6 区又明显大于 N-0 区,不同施氮量影响葡萄叶片生长,随着施氮量的增加,叶长和叶宽及叶面积有增长的趋势。



垂直线代表每个氮施用水平上的标准差,图 2,3 同
Vertical bars indicate SD at each nitrogen application level, the same as Fig. 2,3.

图 1 不同施氮量对葡萄叶片生长的影响

Fig. 1 Effects of different amounts of nitrogen fertilizer on leaf length, width and leaf area in several deciduous Grape trees

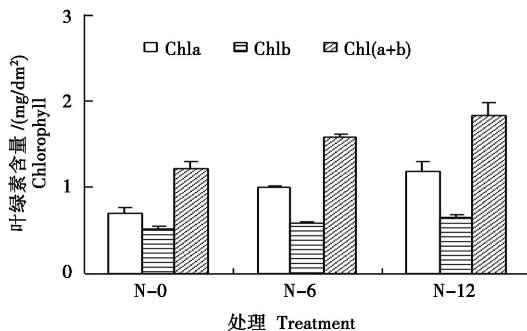


图 2 不同施氮量对葡萄叶片叶绿素含量的影响

Fig. 2 Chlorophyll content of leaves in several deciduous Grape trees influenced by different nitrogen fertilizer

2.2 不同施氮量对葡萄叶绿素含量及叶绿素荧光量子吸收率的影响

随着氮肥施用量的增加葡萄叶绿素含量显著提高(图 2),但从叶绿素组成来看,叶绿素 b 增加不显

著,增加部分主要是叶绿素 a。

如图 3 所示,随着氮肥施用量的增加叶绿素荧光量子吸收率也在增加,而且 Chla/b 值也显现出与之相同的趋势,说明叶绿素俘获光量子与叶绿素 a 有很大关系。

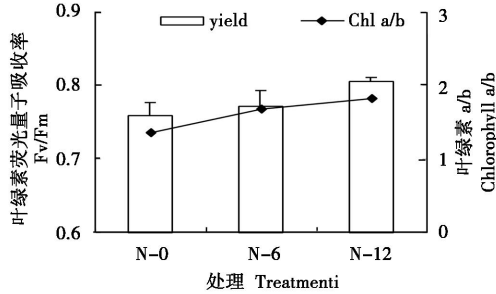
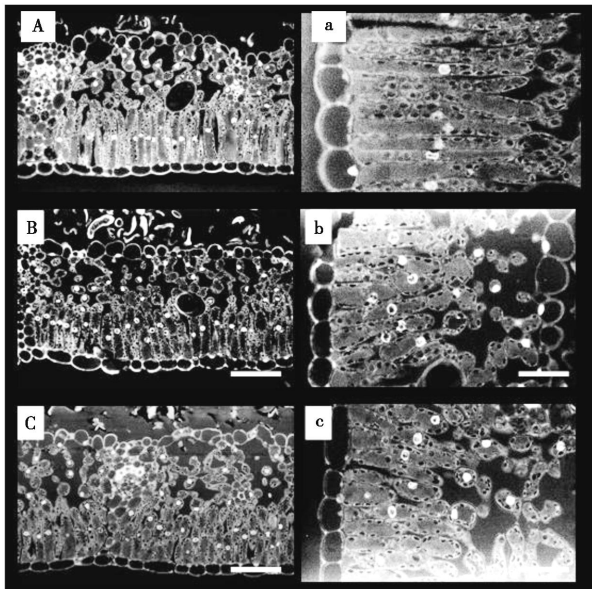


图 3 不同施氮量对葡萄叶片叶绿素荧光量子吸收率和叶绿素 a/b 的影响

Fig. 3 Effects of application of nitrogen on the chlorophyll fluorescence (Fv/ Fm) in several deciduous Grape trees

2.3 不同施氮量对葡萄叶片细胞组织结构的影响

不同施氮量对葡萄叶片细胞组织结构的影响见图 4、5。经 DAPI 染色后(图 4)可以看出,氮肥施用量不同对葡萄叶片组织细胞核没有太大的影响,只是在细胞核的染色程度上,N-6 区和 N-12 区亮度高于 N-0 区。但是在 N-12 区葡萄叶片栅栏组织细胞则表现变短。



叶片样品分别采于 N-0 区(A ,a) ,N-6 区(B ,b) ,N-12 区(C ,c) . 左栏中线段代表 50 μm,右栏线段 25 μm,图 5、7 同

Samples were collected from N-0 plots(A ,a) ,N-6 plots(B ,b) ,and N-12 plots(C ,c) . The bars are 50 μm(left column) and 25 μm(right column) long

图 4 DAPI 染色下不同施氮量葡萄叶片的解剖结构

Fig. 4 Photomicrographs of cross sections of grape leaves showing anatomical differences after staining with DAPI

I₂-KI 染色后的结果如图 5 所示。N-6 区和 N-12 区葡萄叶片中淀粉粒颗粒的大小和数量明显高于

N-0 区,以 N-6 区葡萄叶片中淀粉含量最多,N-12 区相对 N-6 区有减少的趋势。

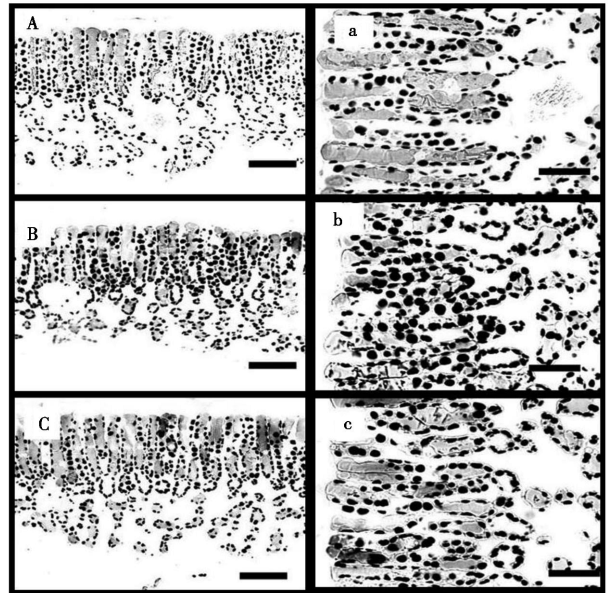
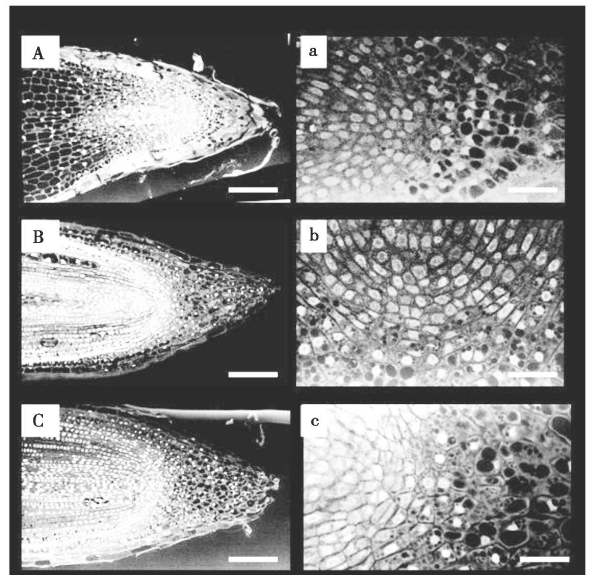


图 5 I₂-KI 染色下不同施氮量葡萄叶片的解剖结构

Fig. 5 Photomicrographs of cross sections of grape leaves showing anatomical differences after staining with I₂-KI

2.4 不同施氮量对葡萄根系组织细胞结构的影响

不同施氮量对葡萄根尖细胞组织结构的影响如图 6、7 所示。经 DAPI 染色后(图 6)可以看到,随着施氮量的增加,葡萄根顶端分裂组织细胞的细胞核染色程度及细胞核数量明显增强,但 N-6 区和 N-12 区之间没有显著差异。



样品叶片分别采于 N-0 区(A ,a) ,N-6 区(B ,b) 和 N-12 区(C ,c) . 左栏线段代表 100 μm 长,右栏线段是 25 μm 长

Samples were collected from N-0 plots(A ,a) ,N-6 plots(B ,b) ,and N-12 plots(C ,c) . The bars are 100 μm(left column) and 25 μm(right column) long

图 6 DAPI 染色下不同施氮量葡萄根尖的解剖结构

Fig. 6 Photomicrographs of longitudinal sections of grape roots showing anatomical differences after staining with DAPI

经 I_2 -KI 染色后的结果如图 7 所示,从图 7 可以看出,N-0 区根尖部几乎没有积累淀粉粒,而在 N-6 和 N-12 区,根尖部则积累了大量的淀粉粒。

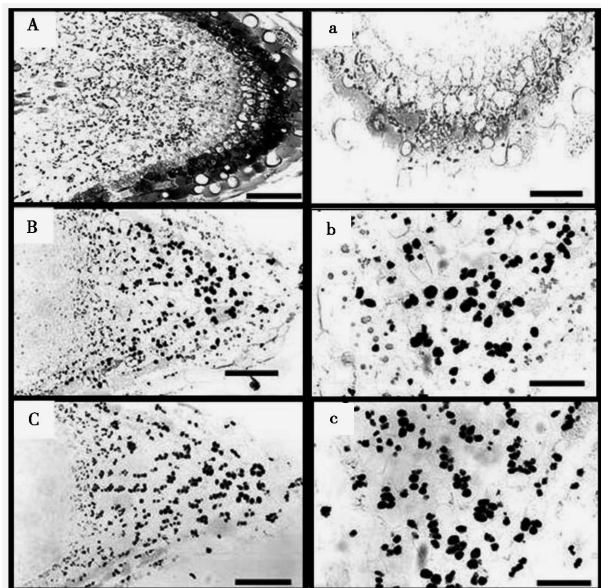


图 7 I_2 -KI 染色下不同施氮量葡萄根尖的解剖结构

Fig. 7 Photomicrographs of longitudinal sections of grape roots showing anatomical differences after staining with I_2 -KI

3 结论与讨论

3.1 施氮量对葡萄叶片生长的影响

随着氮肥施用量的增加,葡萄叶片的长、宽和叶面积都呈现增大的趋势。在同是蔓性的猕猴桃树上也出现与之一致的结果,这就是说,像葡萄这样的蔓生果树,在一定施肥量内是可以增大氮肥施用量来有效地扩大叶面积的,说明葡萄树喜氮肥。

3.2 施氮量对葡萄叶绿素含量及叶绿素荧光量子吸收率的影响

近些年,利用光合成中电子传导系统 (PS) 量子吸收率的叶绿素荧光来反映光合成的活性。有关果树叶片叶绿素荧光的报道很多^[15,16]。Henley 等^[17]报道氮肥施用量与果树叶绿素荧光之间存在着一定关系。本试验中,葡萄叶片叶绿素含量随着氮肥施用量的增加而增高,其中,以叶绿素 a 含量增加显著,叶绿素 b 增加不显著。通过对葡萄叶片叶绿素荧光量子吸收率的测定显示,随着氮肥施用量的增加,葡萄叶片叶绿素荧光量子吸收率显著增加,但在 N-6 到 N-12 区间增加速度有变缓的趋势,葡萄叶片叶绿素荧光量子吸收率与葡萄叶片叶绿素 a/b 值显现出一致的趋势,说明叶绿素俘获光子与叶绿素 a 有很大关系。

3.3 施氮量对葡萄叶片细胞组织结构的影响

DAPI 染色结果表明,葡萄叶片细胞核变化与氮

肥施用量没有显著关系,只是染色亮度上稍有差异。随着氮肥施用量的增加,从叶片解剖结构可以看出葡萄叶片栅栏组织细胞变短,这可能与叶面积增大叶片变薄有关。这一结果与叶绿素 a/b 值的测定结果一致,说明叶片变薄,含叶绿素的栅栏组织减少,叶片叶绿素含量和成分也有所改变。

淀粉是光合产物的主要贮存形式,从淀粉粒的积累也可以说明叶片的光合效率。 I_2 -KI 染色结果说明,随着氮肥施用量的增加,葡萄叶片中淀粉粒积累也呈现增加的趋势。氮肥施用量的多少会影响叶片内以淀粉为主的碳水化合物含量,而且与树体源器官的多少也有关系。一般来说,氮肥施用量增加可以促进树体的生长,因此树体的源器官也会增大,叶片中的碳水化合物的运转就会加快,贮存在叶片中的碳水化合物含量就降低。相反,如果氮素缺乏,源器官生长不好,碳水化合物从叶片中运转受抑制,淀粉在叶片中的积累就会增加。此外,长南信雄等^[18]在水稻上报道,淀粉积累,充满叶绿体会降低叶绿素含量。Nii 等和 Ali 等^[6-8]在桃和苹果树上所做的结果是随着氮肥施用量的增加,叶片中淀粉含量下降。这与本试验的结果相反。这可能与树种不同而生长方式也不同或取样时间不同有关。葡萄作为蔓性植物和苹果、桃及水稻不同,我们在同是蔓性的猕猴桃上试验获得了相同的结果,而在非蔓性的柿子和桃上得出了相反的结果(数据未发表)。

3.4 施氮量对葡萄根系组织细胞结构的影响

本试验中葡萄根尖分生组织细胞的细胞核随着施肥量的增加,细胞核数量和染色亮度都显著增加,但 N-6 到 N-12 区之间则差异不显著。氮素是植物细胞核中蛋白质和核酸以及酶的主要组成成分,特别是分生组织细胞,在细胞分裂增生时需要大量含有氮素的核酸、蛋白质及各种酶,氮素的缺乏会制约分生组织细胞的分裂和增生,从而也就影响果树根系的生长。

I_2 -KI 染色结果表明,随着氮肥施用量的增加,葡萄根尖分生组织细胞内淀粉粒的积累也显著增加,但 N-6 到 N-12 区之间差异不显著。淀粉是植物贮藏营养和能量的基本物质,淀粉的积累为新根的不断生长和根系的吸收奠定了基础。

参考文献:

- [1] Evans J R. Photosynthesis nitrogen relationships in leaves of plants[J]. Oecologia, 1989(78): 139 - 145.
- [2] 牧野周,前忠彦. C_3 型植物叶の最大光合成能力と叶身窒素[J]. 化学と生物, 1994(2): 409 - 413.
- [3] 云和义,试谈甜菜施用氮肥对其生长及质量的影响

- [J], 内蒙古农业科技, 1989(5): 13 - 15
- [4] 刘超川, 王晓峰, 王 勇, 等. 玉米氮肥用量的试验效果初报[J], 内蒙古农业科技, 2007(2): 34.
- [5] 范 磊, 高聚林, 王志刚, 等. 氮肥运筹对玉米饲用栽培物质生产特性的影响[J]. 内蒙古农业科技, 2007(3): 25 - 27, 53.
- [6] Nii N, Kato M, Hirano Y, *et al.* Starch accumulation and photosynthesis in leaves of young peach trees grown under different levels of nitrogen application[J]. Japan Soc Hort Sci, 1993, 62: 547 - 554.
- [7] Nii N, Yamaguchi, Nishimura. Changes in carbohydrate and ribulose biphosphata carboxylase-oxygenase contents in peach leaves after applications of different amount of nitrogen fertilizer[J]. Japan Soc Hort Sci, 1997, 66: 505 - 511.
- [8] Ali K, Nii N, Yamaguchi, *et al.* Levels of nonstructural carbohydrate in leaves and roots and some characteristics of chloroplasts after application of different amount of nitrogen fertilizer to peach seedlings [J]. Japan Soc Hort Sci, 1999, 68: 717 - 723.
- [9] Schaffer A A, Liu K C, Goldschmidt E E, *et al.* Citrus leaf chlorosis induced by sink removal: starch, nitrogen, and chloroplast ultrastructure[J]. Plant Physiol, 1986, 124: 111 - 121.
- [10] Gucci R, Petracek P D, Flore J A. The effect of fruit harvest on photosynthetic rate, starch content, and chloroplast ultrastructure in leaves of *Prunus avium* L [J]. Adv Hort Sci, 1991, 5: 19 - 22.
- [11] Neales T F, Incoll L D. The control of leaf photosynthesis rate by the level of assimilate concentration in the leaf: a review of the hypothesis[J]. Bot Rev, 1968, 34: 107 - 125.
- [12] Geiger D R. Effects of translocation and assimilate demand on photosynthesis[J]. Can J Bot, 1976, 54: 2337 - 2345.
- [13] Winternans J F G M, De Most D A. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls and their pheophytins in ethanol[J]. Biochim Biophys Acta, 1965, 109: 448 - 453.
- [14] Gentry B, Briantais J M, Baker N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence[J]. Biochim Biophys Acta, 1989, 990: 87 - 92.
- [15] Greer D H, Liang W A. Photoinhibition of photosynthesis in intact kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) leaves: effect of growth temperature on photoinhibition and recovery [J]. Planta, 1989, 180: 32 - 39.
- [16] Greer D H, Liang W A. Photoinhibition of photosynthesis in intact kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) leaves: changes in susceptibility to photoinhibition and recovery during the growth season[J]. Planta, 1992, 186: 418 - 425.
- [17] Henley W J, Levavasseur G, Franklin L A, *et al.* Photoacclimation and Photoinhibition in *Ulva rotundata* as influenced by nitrogen availability[J]. Planta, 1991, 184: 235 - 243.
- [18] 长南信雄, 川原治之助, 松田智明. 水稻叶绿体的微细構造に及ぼす窒素施用の影響[J]. 日作紀, 1977, 46: 387 - 392.