

# 不同氮浓度对羌活幼苗生长及抗氧化酶系统的效应

张燕<sup>1,2</sup>, 王红兰<sup>2</sup>, 蒋舜媛<sup>1,2\*</sup>, 孙辉<sup>3</sup>, 杨萍<sup>1,2</sup>, 杜玖珍<sup>2</sup>, 孙洪兵<sup>2</sup>, 周毅<sup>2</sup>

(1. 西南医科大学 药学院, 四川 泸州 646000; 2. 四川省中医药科学院, 成都 610041;  
3. 四川大学 建筑与环境学院 环境科学与工程系, 成都 610065)

**[摘要]** 目的:研究不同氮浓度对羌活幼苗的生长发育及抗氧化酶系统的影响,为羌活人工栽培的科学施肥提供理论依据。**方法:**基于室内水培实验,采用酶标仪动态监测不同N浓度(0,10,15,20,40 mmol·L<sup>-1</sup>)处理下,羌活根茎抗氧化酶[超氧化物歧化酶(SOD),过氧化物酶(POD),过氧化氢酶(CAT),抗坏血酸过氧化物酶(APX)]活性的变化规律。**结果:**氮浓度介于15~20 mmol·L<sup>-1</sup>时,可有效促进羌活地上部分和地下部分生长;氮浓度超过20 mmol·L<sup>-1</sup>时,羌活地上部分生长受到明显抑制。随着氮浓度的增加,羌活根茎的SOD和POD活性呈现“V”型变化规律。即低N(10 mmol·L<sup>-1</sup>)和高N(40 mmol·L<sup>-1</sup>)处理下SOD和POD活性较高,中N(15 mmol·L<sup>-1</sup>)处理的最小。对于CAT和APX,培养初期各处理间酶活性无显著性差异,但培养至42 d,高N处理下酶活性最高且显著高于中N处理的对应值。**结论:**羌活对氮素营养状况存在剂量-效应关系,即低浓度和高浓度N都不利于羌活植株的生长,且高N环境下羌活植株抗氧化酶活性显著高于其他浓度较低处理。

**[关键词]** 羌活; 根茎; 氮培养; 形态学指标; 抗氧化酶活性

**[中图分类号]** R284.1;R282.2;R931.2;R22;R243 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)07-0038-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20180710

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180112.1331.002.html>

**[网络出版时间]** 2018-01-15 14:49

## Effect of Different Nitrogen Concentrations on Growth and Antioxidant Enzymes Activity in *Notopterygium incisum* Seedling in Cultivation Matrix

ZHANG Yan<sup>1,2</sup>, WANG Hong-lan<sup>2</sup>, JIANG Shun-yuan<sup>1,2\*</sup>, SUN Hui<sup>3</sup>, YANG Ping<sup>1,2</sup>,  
DU Jiu-zhen<sup>2</sup>, SUN Hong-bing<sup>2</sup>, ZHOU Yi<sup>2</sup>

(1. College of Pharmacy, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China;

2. Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China;

3. Department of Environmental Science and Engineering, College of Architecture and Environment, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

**[Abstract]** **Objective:** To discuss the effect of various nitrogen (N) concentrations on the antioxidase activity and the growth of *Notopterygium incisum* seedling. **Method:** Enzyme-labeled instrument was used to measure the activity of antioxidant enzymes [superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX)] of *N. incisum* seedling rhizome that were treated with various concentrations (0, 10, 15, 20 and 40 mmol·L<sup>-1</sup>) of N. **Result:** According to our findings, the growth of *N. incisum* seedling was effectively promoted with N with the concentrations between 15 mmol·L<sup>-1</sup> and 20 mmol·L<sup>-1</sup>, while growing slowly in N with the concentration above 20 mmol·L<sup>-1</sup>. SOD and APX activities of *N. incisum* rhizome showed an obvious

**[收稿日期]** 20171013(026)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(8147331);国家“中医药现代化研究”重点专项(SQ2017YFC170295);2012年中医药部门公共卫生专项

**[第一作者]** 张燕,在读硕士,从事药用植物生理生态研究,Tel:15223052868,E-mail:zhangyanzi233@163.com

**[通信作者]** \*蒋舜媛,博士,研究员,从事中药资源与栽培研究,Tel 028-87428339,E-mail:jsy007@vip.sina.com

‘V’ shape with the increase of concentration. In high-concentration N ( $40 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), SOD and APX activities were the highest; and in middle-concentration N ( $15 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), the activities were the lowest. For CAT and APX activities, there was no significantly difference in various concentrations of N in the early time, while the activities under the high concentration was significantly higher than those in the middle-concentration N ( $P < 0.05$ ) in 42 d. **Conclusion:** Therefore, it can conclude that low and high concentrations of N caused the slow growth of *N. incisum* seedling, and a dose-effect relationship was observed. The antioxidant enzyme activity of *N. incisum* rhizome was significantly increased in a high-concentration N stress.

[**Key words**] *Notopterygium incisum*; rhizome; nitrogen stress; morphological indices; antioxidase activity

羌活为伞形科中国特有的珍稀濒危药用植物,局域分布于青藏高原及周边海拔 3 000 m 以上的高寒生境的多年生草本植物类群,也是传统中藏族、羌族药中常用的大宗药材羌活(*Notopterygii Rhizoma et Radix*)最重要的基源植物<sup>[1]</sup>。羌活药材性温,味辛、苦,气浓郁,具有解表散寒、祛风除湿,止痛之功效,主治风寒感冒,头痛项强,风湿痹痛,肩背酸痛<sup>[2-3]</sup>。随着国内外对羌活需求量的增加,供需矛盾日益尖锐<sup>[4-5]</sup>。据国家工信部中药材监测预警平台《中药材天地网》统计,全国生产羌活入方成药的企业达七百多家,仅生产九味羌活丸(颗粒)的药厂就有 60 余家,市场年需求量在 3 000 t 以上,羌活野生药材从 2007 年以来已不足 1 000 t 的年供应量。严重的供需矛盾导致的掠夺性采挖,加剧野生羌活资源枯竭。

为提高人工栽培中羌活(宽叶羌活)药材的产量与品质,许多学者就调控 N,P,K 的含量及其施用配比进行了大量研究。高凌花<sup>[6]</sup>通过野外实地调查、大田移栽和实验室分析相结合的方式研究了追肥对移栽羌活的产量与质量的影响,发现在氮磷配合施用的情况下适当增加磷肥的用量可提高宽叶羌活的产量;杨有霖<sup>[7]</sup>研究确定了单施尿素与过磷酸钙对 3 年生宽叶羌活药材高产的最佳施用量分别为  $120, 400 \text{ kg}\cdot\text{h}^{-1}\text{m}^{-2}$ 。方子森等<sup>[8]</sup>研究表明,羌活药材产量和挥发油含量随施氮量的增加而增加,而浸出物含量随施氮量的增加呈先增后降的变化趋势,且不合适的施肥会降低其的产量和品质<sup>[9]</sup>。然而,关于氮胁迫下羌活抗氧化酶系统的响应机制却鲜有报道。

氮是植物生长发育必须的元素,也是细胞结构物质的组成成分,在植物生命活动中占有首要的地位,又称生命元素<sup>[10]</sup>。但是,不合理的氮施用浓度会形成逆境胁迫环境,影响植物的生长,严重时影响植物激素水平,使细胞壁变薄,叶片坏死,易倒伏等<sup>[11]</sup>。植物为了抵御逆境胁迫的伤害,通过提高体

内超氧化物歧化酶(SOD),过氧化物酶(POD)等抗氧化酶的活性,及时清除氧自由基防止膜脂过氧化维持了细胞膜完整性<sup>[12-13]</sup>。它们的联合作用在植物抗逆境胁迫中起重要作用,在鸢尾<sup>[14]</sup>、玉米<sup>[15]</sup>和坛紫菜<sup>[16]</sup>等植物中均发现低氮胁迫下,植物体内的 SOD,POD 和过氧化氢酶(CAT)活性增加以清除活性氧离子,减缓胁迫下膜脂过氧化作用。因此,为了系统和客观地认识羌活抗氧化酶系统对不同氮浓度的响应规律,本文测定了不同浓度氮(0,10,15,20,40  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )处理下羌活幼苗的生长发育状况和抗氧化酶 SOD,POD,CAT 及抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的变化,以期阐明不同氮浓度对羌活幼苗的生长和抗氧化酶系统的影响,探讨羌活抗氧化酶系统对不同氮浓度的反应和适应机制,同时为羌活人工栽培的科学施肥提供理论依据。

## 1 材料

供试材料为人工培育羌活一年生实生苗,经四川省中医药科学院蒋舜媛研究员鉴定为伞形科植物羌活 *Notopterygium incisum*。

Thermo Scientific Sorvall ST16R 型通用台式离心机,Thermo Multiskan GO 型全波长酶标仪(赛默飞世尔科技中国有限公司);BCD-539WL 型冰箱(青岛海尔股份有限公司),JD200-3 型电子天平(沈阳龙腾电子有限公司),Eppendorf Research plus 型移液枪(艾本德中国有限公司),Rs-9902 型日胜加氧泵(义乌市宝杰水族器材有限公司)。

## 2 方法

**2.1 试验设计** 通过室内水培方式培养羌活。培养液中的氮源为硝酸铵,硝态氮与氨态氮的比例为 1:1,基础营养液按照去氮的 Hoagland 营养液配置。实验共设 5 个氮处理,依次为 0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (无 N),10  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (低 N),15  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (中 N),20  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (较高 N),40  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (高 N)。同时采用氯化钾调整各处理下  $\text{K}^+$  浓度,使  $\text{K}^+$  浓度等同于完全培养液的  $\text{K}^+$  浓度;用氯化钙补充  $\text{Ca}^{2+}$  浓度,

使  $\text{Ca}^{2+}$  浓度等同于完全培养液的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度。调节营养液 pH 为 6。

2017 年 2 月 4 日在种苗基地采集一年生羌活种苗样品,带回四川省中医药科学院中药资源与种植研究所培养室进行室内水培试验。挑选长短粗细一致的羌活种苗,移栽至容积为 12 L 的塑料培养容器(长 35 cm × 宽 20 cm × 高 22 cm)中,每盆 50 株。以塑料飘浮板为支撑,用白雨花石(雨花石的主要成分是二氧化硅)固定种苗根茎使其直立。用 LED 灯提供光源,光照强度 3 000 Lux。采用黑色塑料袋覆盖培养容器上表面、侧面及底面,做根部遮光处理。营养液中氧气由 12 W 加氧泵 24 h 提供,室温(15 ~ 25 °C)。每隔 1 周更换 1 次营养液,以保证每个处理下 N 浓度维持在设定浓度。

**2.2 形态学指标的测定** 2017 年 3 月 2 日开始水培试验,每隔一天测量 1 次种苗新生侧根数(每个处理重复 18 株);每隔 1 周采用直尺和游标卡尺测量根长、叶柄长、叶面积及叶柄粗(每个处理重复 10 株)。实验结束后采用电子天平称量根质量(每个处理重复 10 株)。采用纸重法<sup>[17]</sup>(每个处理重复 10 株)测定叶面积。其中,侧根数量为 18 株羌活新生侧根的总和。

**2.3 根茎抗氧化酶活性的测定** 每隔 2 周取不同处理下羌活根茎鲜样采用多功能酶标仪测定抗氧化酶活性。

酶液提取方法<sup>[18]</sup>:称取植株根茎部位 0.2 g 于预冷研钵中,加入 0.05 mol·L<sup>-1</sup>的磷酸缓冲液(pH 7.8 含 1% PVP)1.6 mL,冰浴下匀浆,4 °C 下离心 20 min (10 000 r·min<sup>-1</sup>),收集上清液上酶标仪测定 SOD,POD,CAT 及 APX 的含量。

采用氮蓝四唑光还原法测定 SOD 活性,以抑制 NBT 光化还原 50% 作为 1 个酶活性单位(U·g<sup>-1</sup>)<sup>[19]</sup>;采用愈创木酚显色法测定 POD 活性,以每分钟吸光度变化 0.01 作为一个酶活性单位(U·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>)<sup>[19]</sup>;采用紫外分光光度法测定 CAT 活性,以每分钟吸光度变化 0.01 作为一个酶活性单位(U·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>)<sup>[20]</sup>;采用紫外分光光度法测定 APX 活性,以每分钟氧化 1 μmol AsA 的酶量为 1 个酶活单位(U·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>)<sup>[21]</sup>。

**2.4 数据处理** 利用 Excel 2007 对实验数据进行初步计算,采用 SPSS 23.0 软件进行单因素方差分析,LSD 法进行多重比较( $P < 0.05$ ),采用 Origin 9.0 软件制图。

### 3 结果与分析

**3.1 不同氮浓度对羌活地上部分生长的影响** 不同 N 浓度处理下,羌活地上部分的生长状况如图 1 所示。由图 1 可知,随着 N 浓度的升高,羌活叶面积呈先增加后减小的趋势。培养至 42 d 时,较高 N 处理(20 mmol·L<sup>-1</sup>)下叶面积最大,为 15.09 cm<sup>2</sup>,显著高于其他处理的对应值( $P < 0.05$ );无 N 处理的叶面积最小为 6.61 cm<sup>2</sup>,与其他处理组的叶面积均有显著性差异( $P < 0.05$ ),说明植物缺氮会影响植株的正常生长。

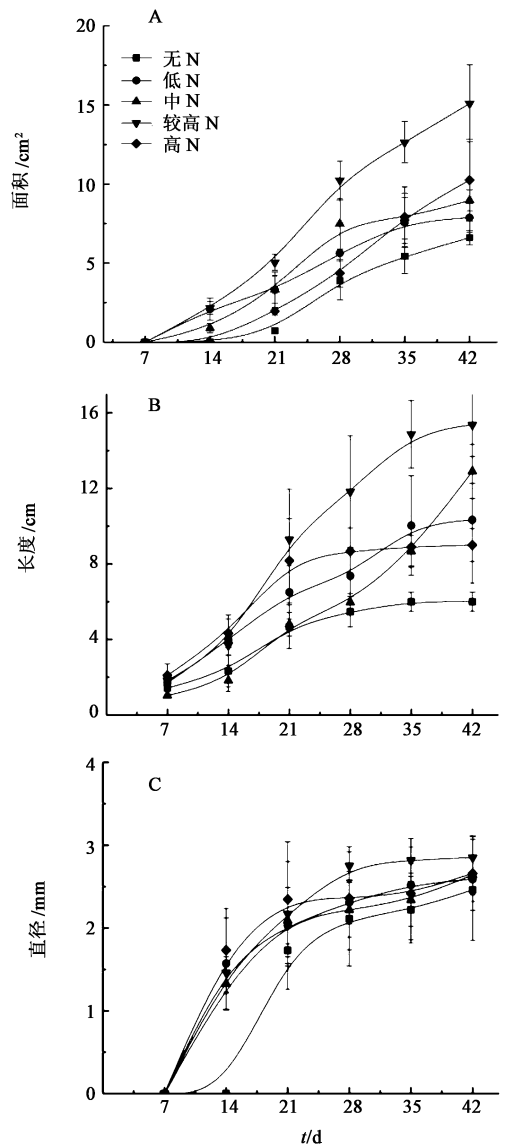


图 1 不同氮浓度下羌活叶面积(A),叶柄长(B),叶柄粗(C)的动态变化( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig.1 Dynamic change of leaf area (A), petiole length (B), petiole thick (C) of *Notopterygium incisum* under various N concentration ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

对于羌活叶柄长度,随着 N 浓度的增加,羌活

叶柄长度呈先增加后减少的趋势。羌活种苗培养至 42 d 时,较高 N 处理( $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )下叶柄长度最长,为  $15.37 \text{ cm}$ ,显著高于除中 N( $15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )处理外的其他处理( $P < 0.05$ );无 N 处理的叶面积最小为  $6.00 \text{ cm}^2$ ,且其值与中 N( $15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),较高 N ( $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )处理组的叶面积均有显著性差异( $P < 0.05$ );由此说明,施 N 浓度为  $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时将有助于羌活叶柄的快速生长。

羌活叶柄粗也随着幼苗生长一直处于增长趋势,从出苗至出苗 21 d 叶柄增粗速率最快;出苗 28 d 后叶柄增粗变缓,至出苗 42 d 后叶柄最粗。同时笔者发现,随着 N 浓度的增加,叶柄粗呈先增加后减少的趋势,较高 N ( $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )处理下,羌活叶柄最粗,显著高于其他处理方法( $P < 0.05$ )。

综上所述,N 培养对羌活地上部分生长具有浓度效应。当 N 浓度低于  $15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  或高于  $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,羌活植株地上部分长势较差;当 N 浓度介于  $15 \sim 20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,羌活地上长势较好。因此可认为低 N 或高 N 均不利于羌活地上部分的生长,其生长最适 N 浓度为  $15 \sim 20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

### 3.2 不同氮浓度对羌活地下部分生长的影响

**3.2.1 不同氮浓度对羌活侧根发育的影响** 不同氮浓度培养下,羌活侧根数的变化趋势见图 2。结果发现随着羌活幼苗的生长,不同处理下其侧根数均呈现持续增加趋势。培养 17 d 后,随着 N 浓度的增加,羌活侧根数量呈先降后升再降再升“W”型的变化趋势。低 N ( $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )处理组侧根数量最少为 19,中 N ( $15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )处理组侧根数量最多为 47。由此说明低 N ( $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )能抑制羌活侧根发生,这一结论与杨莹<sup>[22]</sup>研究结果一致。

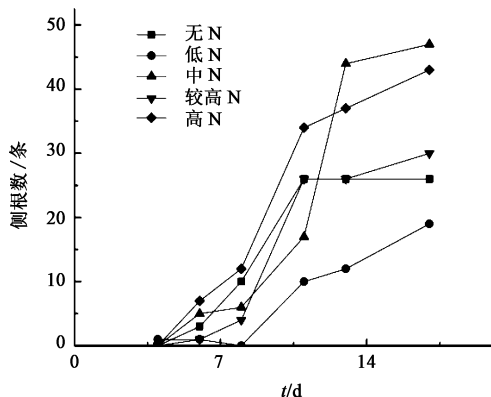


图 2 不同氮浓度下羌活根茎侧生根条数的变化  
Fig. 2 Lateral root number of *Notopterygium incisum* rhizome under various N concentration

**3.2.2 不同氮浓度对羌活根茎生长的影响** 不同氮浓度培养下,羌活地下部分形态学指标的变化规律如表 1 所示。随着氮浓度增加,羌活根鲜质量、根长、根粗生长速度均呈先增加后降低的变化趋势。当 N 浓度介于  $10 \sim 20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时(低 N,中 N 和较高 N 处理),其根茎生长速度较快。根鲜质量增长比平均值为  $18.91\%$ ,根长增长比平均值为  $7.63\%$ ,根粗增长比平均值为  $13.60\%$ 。当 N 浓度为  $40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,羌活根茎生长速度最小,其对应值分别为  $7.19\%$ , $4.59\%$  和  $4.28\%$ 。由此说明,羌活地下根茎生长最适 N 浓度为  $10 \sim 20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。当 N 浓度超过  $40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,羌活根茎生长较为缓慢。

表 1 不同氮浓度下羌活根茎增粗比率

Table 1 Percentage of rhizome thickening of *Notopterygium incisum* under various N concentration %

处理方法	根鲜质量增长	根长增长	根粗增长
无 N	14.70 <sup>a,b</sup>	6.36 <sup>ab</sup>	11.42 <sup>ab</sup>
低 N	18.99 <sup>a</sup>	7.55 <sup>ab</sup>	12.78 <sup>ab</sup>
中 N	20.55 <sup>a</sup>	8.52 <sup>a</sup>	15.32 <sup>a</sup>
较高 N	17.20 <sup>a,b</sup>	6.81 <sup>ab</sup>	12.70 <sup>ab</sup>
高 N	7.19 <sup>b</sup>	4.59 <sup>b</sup>	4.28 <sup>b</sup>

注:同一指标不同字母者表示差异显著  $P < 0.05$ (表 2 ~ 5 同)。

### 3.3 不同氮浓度对羌活根茎抗氧化酶活性的影响

#### 3.3.1 不同氮浓度对羌活根茎 SOD 活性的影响

不同氮浓度培养下羌活根茎 SOD 活性的变化趋势如表 2。培养前,羌活根茎 SOD 活性值为  $(79.98 \pm 7.61) \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 。随着培养时间的延长,不同氮浓度处理下羌活根茎 SOD 活性均呈现出先上升后下降的变化趋势。培养至 14 d 时,SOD 活性值出现峰值,随后出现明显下降趋势。

表 2 不同氮浓度下不同生长日期羌活根茎 SOD 活性的动态变化 ( $\bar{x} \pm s, n = 9$ )

Table 2 Dynamic change of SOD activity of *Notopterygium incisum* rhizome under various N concentration ( $\bar{x} \pm s, n = 9$ )  $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$

处理方法	14 d	28 d	42 d
无 N	$89.82 \pm 0.81^b$	$77.15 \pm 5.69^b$	$77.14 \pm 7.37^{bc}$
低 N	$90.74 \pm 1.41^b$	$76.34 \pm 3.90^a$	$81.01 \pm 2.23^a$
中 N	$86.60 \pm 3.28^c$	$76.31 \pm 6.34^a$	$74.45 \pm 6.61^c$
较高 N	$92.09 \pm 0.79^{bc}$	$84.05 \pm 3.08^a$	$85.08 \pm 1.43^b$
高 N	$92.84 \pm 0.30^a$	$82.88 \pm 2.75^a$	$82.88 \pm 2.20^a$

对于同一培养时间节点,不同氮浓度培养下羌活根茎 SOD 活性则呈现出“V”型变化规律。即高

氮 ( $20 \sim 40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 培养下 SOD 活性最高, 低氮 ( $< 10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的次之, 中氮 ( $15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的 SOD 活性最小。由此说明, SOD 活性对 N 具有浓度和时间效应。

### 3.3.2 不同氮浓度对羌活根茎 POD 活性的影响

表 3 给出了不同氮浓度培养下羌活根茎 POD 活性的变化趋势。培养前, 羌活根茎 POD 值为 ( $11\,267.21 \pm 3\,113.01$ )  $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。培养至 14 d 时, 低 N 和高 N 处理下 POD 活性均增加, 分别为  $14\,780.45, 16\,049.77 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。无 N, 中 N 和较高 N 处理的则降低, 依次为  $9\,705.74, 6\,587.28, 8\,402.23 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。培养至 28 d 时, 无 N 处理的 POD 活性显著低于 ( $P < 0.05$ ) 其他处理的对应值, 为  $9\,000.21 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ , 其他处理间 POD 活性值无显著性差异。培养至 42 d 时, 低 N 和高 N 处理的 POD 活性最高, 无 N 和较高 N 的次之, 中 N 的对应值最低。

表 3 不同氮浓度下不同生长日期羌活根茎 POD 活性的动态变化 ( $\bar{x} \pm s, n=9$ )

Table 3 Dynamic change of POD activity of *Notopterygium incisum* rhizome under various N concentration ( $\bar{x} \pm s, n=9$ )  $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$

处理 方法	14 d	28 d	42 d
无 N	$9\,705.74 \pm 2\,143.16^{bc}$	$9\,000.21 \pm 2\,398.34^b$	$13\,013.06 \pm 2\,959.24^{bc}$
低 N	$14\,780.45 \pm 3\,147.01^{ab}$	$15\,338.49 \pm 2\,442.17^a$	$22\,697.49 \pm 5\,148.94^a$
中 N	$6\,587.28 \pm 1\,804.59^c$	$15\,824.11 \pm 4\,024.88^a$	$12\,282.91 \pm 1\,722.74^c$
较高 N	$8\,402.23 \pm 2\,322.09^c$	$17\,760.61 \pm 3\,586.07^a$	$17\,105.13 \pm 3\,685.34^b$
高 N	$16\,049.77 \pm 3\,608.04^a$	$17\,677.01 \pm 4\,344.94^a$	$21\,472.28 \pm 5\,782.77^a$

同时笔者发现, 随着胁迫时间的延长, 低 N 和高 N 处理下, 羌活根茎的 POD 活性出现持续上升的趋势, 胁迫培养至 42 d 后, POD 活性达到峰值, 均大于  $21\,000 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 对于无 N, 中 N 和较高 N 处理, POD 活性则呈现出先下降后上升的趋势, 培养 14 d 时有最小值, 均低于  $9\,700 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ , 显著低于低 N 和高 N 处理的对应值 ( $P < 0.05$ )。

### 3.3.3 不同氮浓度对羌活根茎 CAT 活性的影响

不同氮浓度培养下羌活根茎 CAT 活性的变化规律如表 4。培养前, 羌活根茎 CAT 活性值为 ( $16.48 \pm 3.53$ )  $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。培养初期, 无 N 处理下 CAT 活性最高, 为  $35.54 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 其他处理无显著性差异。培养至 28 d 时, 低 N 和较高 N 处理下的 CAT 活性较高, 但与其他处理相比, 差异不显著。培养至 42 d 时, 高 N 处理下 CAT 活性最高, 显著高于中 N

处理的  $61.04 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。从表 4 还可以看出, 低 N 和较高 N 处理下, 羌活根茎 CAT 活性呈现先下降后上升的趋势; 高 N 处理 ( $40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 下, 其活性一直呈上升趋势, 在培养 42 d 时有最大值, 为  $61.04 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ , 显著高于中 N 处理的对应值 ( $P < 0.05$ )。

表 4 不同氮浓度下羌活根茎 CAT 活性的动态变化 ( $\bar{x} \pm s, n=9$ )

Table 4 Dynamic change of CAT activity of *Notopterygium incisum* rhizome under various N concentration ( $\bar{x} \pm s, n=9$ )  $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$

处理 方法	14 d	28 d	42 d
无 N	$35.54 \pm 10.12^a$	$23.05 \pm 2.63^a$	$29.23 \pm 3.68^{ab}$
低 N	$10.17 \pm 1.93^b$	$39.43 \pm 5.53^a$	$38.19 \pm 5.31^{ab}$
中 N	$8.27 \pm 2.11^b$	$23.05 \pm 5.41^a$	$14.15 \pm 3.97^b$
较高 N	$11.36 \pm 1.64^b$	$42.21 \pm 7.64^a$	$42.37 \pm 7.10^{ab}$
高 N	$20.26 \pm 5.14^{ab}$	$29.70 \pm 5.37^a$	$61.04 \pm 17.4^a$

### 3.3.4 不同氮浓度对羌活根茎 APX 活性的影响

不同氮浓度培养下羌活根茎 APX 活性的变化趋势如表 5。培养前, 羌活根茎 APX 活性值为 ( $170.01 \pm 28.84$ )  $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。培养初期, 各处理下 APX 活性值无显著性差异, 介于  $1\,120.93 \sim 1\,945.75 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。培养至 28 d 时, 较高 N 处理的 APX 活性最高 ( $2\,805.48 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ), 显著高于其他处理的对应值; 无 N 处理的 APX 活性最低, 为  $1\,119.17 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。培养至 42 d 时, 高 N 和较高 N 处理下的 APX 活性较高, 低 N 处理的次之, 中 N 处理的最低, 为  $495.31 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。同时笔者发现, 随着培养时间的延长, 不同氮浓度培养下羌活根茎 APX 活性均呈先上升后下降的趋势。培养至 28 d 时其值最大, 均值为  $1\,773.25 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

表 5 不同氮浓度下羌活根茎 APX 活性的动态变化 ( $\bar{x} \pm s, n=9$ )

Table 5 Dynamic change of APX activity of *Notopterygium incisum* rhizome under various N concentration ( $\bar{x} \pm s, n=9$ )  $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$

处理 方法	14 d	28 d	42 d
无 N	$1\,460.99 \pm 329.17^a$	$1\,119.17 \pm 79.13^b$	$671.42 \pm 79.13^b$
低 N	$1\,592.49 \pm 328.06^a$	$1\,611.64 \pm 341.01^b$	$864.79 \pm 74.57^b$
中 N	$1\,443.92 \pm 263.26^a$	$1\,649.74 \pm 328.32^b$	$495.31 \pm 109.90^b$
较高 N	$1\,945.75 \pm 266.36^a$	$2\,805.48 \pm 563.84^a$	$965.14 \pm 234.14^a$
高 N	$1\,120.93 \pm 202.66^a$	$1\,680.25 \pm 256.72^a$	$1\,334.65 \pm 193.19^a$

## 4 讨论与结论

**4.1 不同氮浓度对羌活幼苗生长发育的影响** 氮对植物的生长发育具有调控作用,适当的氮浓度可以显著促进茎的生长,延长叶片寿命。植物缺乏氮肥时叶片黄化、根量减少。但过量施用氮肥则会使植株贪青徒长,叶大而薄、易干枯<sup>[22]</sup>。本研究结果也表明,无氮、低氮(10 mmol·L<sup>-1</sup>)和高氮处理(40 mmol·L<sup>-1</sup>)抑制了羌活地上部分的生长,导致叶生物量积累较少;而正常施氮(15 mmol·L<sup>-1</sup>)和较高氮处理(20 mmol·L<sup>-1</sup>)不仅促进了羌活地上部分的生长,也增加了地下部分生物量的积累。在番茄<sup>[23]</sup>、三七<sup>[24]</sup>、桔梗<sup>[25]</sup>等植物方面的研究也有类似的规律。这可能是因为氮素的缺乏难以满足植物自身的营养需求,而过于充足的氮供给会使植物根系周围出现渗透胁迫,抑制植物对元素的有效吸收,从而导致植物地上部分生长缓慢。适宜的施氮水平(15~20 mmol·L<sup>-1</sup>)既给羌活植株提供了充足的养分,又充分保障了羌活植株有机物的生成和运输,所以植株长势较好。

### 4.2 不同氮浓度对羌活根茎抗氧化酶活性的影响

正常情况下,植物体在生命活动中产生的活性氧自由基存在着产生和清除的一个动态平衡状态,不足以使组织受到伤害,但遇到胁迫时,该平衡被打破,产生大量的活性氧,对植物细胞造成破坏影响植物生理状态<sup>[26]</sup>。SOD, POD, CAT 和 APX 协同作用,清除这些活性氧以保持体内代谢平衡,使植物免受氧化伤害<sup>[27]</sup>。本研究结果表明,随着氮浓度的增加,羌活根茎的 SOD 和 POD 活性呈现“V”型变化规律。即高 N 和低 N 处理下 SOD 和 POD 活性较高,中 N 处理的最小。对于 CAT,培养初期各处理下 CAT 活性无显著性差异,但随着培养时间的延长,高 N 处理下 CAT 活性最高,中 N 处理的最低且显著低于高 N 处理的对应值。APX 活性呈现出与 CAT 相似的变化规律。这说明氮浓度对羌活幼苗具有双重作用,低浓度时随着 N 浓度的升高,幼苗生长快速,抗氧化酶活性逐渐降低;在高浓度时随着 N 浓度的升高,对幼苗生长有抑制作用,抗氧化酶活性逐渐增强。由此表明,过高或过低的氮浓度均会给羌活植株生长造成胁迫,植株通过提高抗氧化酶活性以适应 N 胁迫。因此抗氧化酶活性的升高可能是羌活面对 N 胁迫的一种响应。国内其他学者研究其他植物时也得出了类似规律。如张雪等<sup>[28]</sup>研究发现黄瓜在缺氮时植物抗氧化酶系统中的 3 种抗氧化酶(SOD, POD 和 CAT)的酶活性中均显著上

升;耐低氮品种的玉米,通过增强 POD 活性来降低膜脂过氧化伤害,延缓叶片衰老,从而提高了其对低氮环境的适应性<sup>[29]</sup>。

综上所述,羌活的适宜氮素浓度范围为 15~20 mmol·L<sup>-1</sup>,羌活与其他很多植物一样,对氮营养状况存在剂量-效应关系;在低浓度和高浓度下都不利于羌活植株的生长,同时高浓度氮素对羌活产生胁迫,高氮环境下羌活植株抗氧化酶系活性显著高于其他较低浓度处理。

### [参考文献]

- [1] 孙辉,蒋舜媛,陈士林,等. 高寒山区濒危药用植物羌活产地适宜性及生产区划分析[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(5): 535-538.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 183.
- [3] 符积勤,周利民. 加味羌活汤内服和离子导入治疗风寒湿痹证神经根型颈椎病 67 例临床分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(20): 184-187.
- [4] 周毅,蒋舜媛,马小军,等. 羌活资源危机和保护[J]. 中草药, 2003, 34(10): 109-111.
- [5] 孙辉,蒋舜媛,周毅,等. 药用植物羌活现状及其民族植物学调查[J]. 世界科技研究与发展, 2004, 26(6): 42-47.
- [6] 高凌花. 羌活生态特性及施肥对其产质量影响的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2007.
- [7] 杨有霖. 不同氮磷配比对三年生宽叶羌活药材产量及品质的影响[J]. 北方园艺, 2011(19): 163-166.
- [8] 方子森,高凌花,张恩和,等. 人工施用氮肥、磷肥对宽叶羌活产量和质量的影响[J]. 草业学报, 2010, 19(4): 54-60.
- [9] 何尤,尹红芳,席旭东,等. 不同施肥处理对宽叶羌活产量及品质的影响[J]. 中草药, 2009, 40(6): 958-960.
- [10] 潘瑞焱. 植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2012: 34-35.
- [11] 萧浪涛. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008: 70, 89.
- [12] 赵梅,周瑞莲,刘建芳,等. 冬季融冻过程中白三叶叶片抗氧化酶活力和渗透调节物含量变化与抗冻性的关系[J]. 生态学报, 2011, 31(2): 306-315.
- [13] 徐立军,魏胜利,王文全,等. 板栗落叶水浸提液对掌叶半夏种子发芽及幼苗生长的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 125-128.
- [14] 马杰,赵兰枝,刘弘. 外源硝态氮对水培鸢尾叶片抗氧化酶活性的影响[J]. 西北林学院学报, 2014, 29(6): 20-23.

- [15] 张立新, 李生秀. 氮、钾、甜菜碱对水分胁迫下夏玉米叶片膜脂过氧化和保护酶活性的影响[J]. 作物学报, 2007, 33(3): 482-490.
- [16] 周巍巍, 谢潮添, 陈昌生, 等. 低氮、磷胁迫对坛紫菜叶状体生理生化特征的影响[J]. 水产学报, 2011, 35(4): 543-550.
- [17] 吴起明. 绿竹叶面积指数测定[J]. 福建林业科技, 2001, 28(2): 68-70.
- [18] HUANG X S, LIU J H, CHEN X J. Overexpression of *PtrABF* gene, a bZIP transcription factor isolated from *Poncirus trifoliata*, enhances dehydration and drought tolerance in tobacco via scavenging ROS and modulating expression of stress-responsive genes[J]. BMC Plant Biol, 2010, 10(1): 230-248.
- [19] 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: 164-168.
- [20] 赵亚华. 生物化学实验技术教程[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2000: 151-154.
- [21] 张亚宏, 孙万仓, 魏文慧, 等. 自交对甘蓝型油菜叶片 SOD, CAT, APX 活性的影响[J]. 华北农学报, 2008, 23(1): 105-108.
- [22] 杨莹. 羌活栽培部分关键技术及品质对比研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2013.
- [23] 杜娅丹. 无土栽培番茄对不同氮肥形态和浓度的响应[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- [24] 郑冬梅. 不同氮素形态及用量对三七生长、品质和生理特征的影响[D]. 昆明: 云南民族大学, 2015.
- [25] 赵姣姣. 桔梗设施无土栽培氮营养与光照条件研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
- [26] 李璇, 岳红, 王升, 等. 影响植物抗氧化酶活性的因素及其研究热点和现状[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(7): 973-978.
- [27] Rios G K, Erdei L, Lips S H, et al. The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources[J]. Plant Sci, 2002, 162(6): 923-930.
- [28] 张雪, 李强, 余宏军, 等. 氮胁迫对黄瓜幼苗抗氧化酶系统的影响[J]. 农业工程学报, 2016, 32(S2): 142-147.
- [29] 李强, 罗延宏, 龙文靖, 等. 低氮胁迫对不同耐低氮性玉米品种苗期生长和生理特性的影响[J]. 草业学报, 2014, 23(4): 204-212.

[责任编辑 顾雪竹]