

不同施氮水平下秋马铃薯的生长以及*StNR*和*StAT*的表达

胡新喜¹, 冯艳青¹, 雷 艳¹, 刘明月¹, 熊兴耀^{1,2,*}

(¹湖南农业大学园艺园林学院, 湖南省马铃薯工程技术研究中心, 长沙 410128; ²中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘 要: 通过对不同氮素水平下秋马铃薯生长及叶片氮素转运与吸收相关基因表达的研究, 结果表明, 块茎形成期和块茎膨大期叶片叶绿素含量 (SPAD 值) 随施氮量的增加而增加; 硝酸还原酶基因 (*StNR*) 和铵转运蛋白基因 (*StAT*) 的表达量随施氮量的增加而降低, *StNR* 和 *StAT* 的表达量与施氮量、叶绿素含量呈极显著负相关 ($P < 0.01$)。随着施氮量的增加, 马铃薯株高和茎粗呈上升趋势, 但单株结薯数、单薯质量和产量均呈先上升后下降的趋势, 块茎淀粉含量呈降低趋势; 秋马铃薯的施氮水平在 $90 \sim 135 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 为宜。土壤和块茎硝态氮含量均随着施氮量的增加而增加, $0 \sim 20 \text{ cm}$ 深土壤硝态氮含量在 $1.55 \sim 9.34 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 块茎硝态氮含量在 $20.58 \sim 49.81 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 各处理间差异极显著 ($P < 0.01$)。研究结果可为大田马铃薯植株氮素营养分子诊断技术的建立及大田氮素运筹提供理论依据。

关键词: 马铃薯; 硝酸还原酶; 铵转运蛋白; 施氮水平; 光合作用

中图分类号: S 532

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2015) 10-1974-09

Effects of Nitrogen Rate on Plant Growth of Autumn Potato Crop and Gene Expression of Nitrate Reductase and Ammonium Transporter

HU Xin-xi¹, FENG Yan-qing¹, LEI Yan¹, LIU Ming-yue¹, and XIONG Xing-yao^{1,2,*}

(¹Hunan Provincial Engineering Research Center for Potatoes, College of Horticulture and Landscape, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; ²The Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Effects of nitrogen (N) rate on the growth of autumn field-grown potato plants and the expression of nitrate reductase gene (*StNR*) and ammonium transporter gene (*StAT*) were studied. SPAD reading increased as fertilizer N rate increased from 0 to $360 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ at the tuber initiation and the tuber bulking periods; Interestingly, the expression of *StNR* and *StAT* in leaf tissue decreased as fertilizer N rate increased, exhibiting a significant ($P < 0.01$) negative correlation with nitrate application rate and SPAD reading at the tuber initiation and the tuber bulking periods. Plant height and stem diameter increased with increasing fertilizer N rate. For the total tuber number per plant, the mean tuber weight and the total yield, they increased to the maximum values, then decreased while fertilizer N rate increased. For

收稿日期: 2015-05-20; 修回日期: 2015-10-09

基金项目: 公益性行业科研专项经费项目 (201203096); 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-10-P19)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: xiongxingyao@caas.cn)

starch content, it decreased with increasing fertilizer N rate. Taken together, fertilizer N rate at 90 - 135 kg · hm⁻² can be recommended for the autumn potato crop. Additional analysis demonstrated that as fertilizer N application increased, soil and tuber ammonium-N concentration increased. In soil of 0 - 20 cm depth in the potato root zone, ammonium-N level was between 1.55 to 9.34 mg · kg⁻¹; And no significant increase was observed when N fertilizer N rate was below 360 kg · hm⁻². In tubers, ammonium-N concentration was between 20.58 to 49.81 mg · kg⁻¹; And as fertilizer N rate increased, a significant increase ($P < 0.01$) of tuber ammonium-N was observed. The results would provide theoretical basis for establishment of the molecular detection method for nitrogen sufficiency in field-grown potato plants and field nitrogen fertilizer managements.

Key words: *Solanum tuberosum*; nitrate reductase; ammonium transporter; nitrogen rate; photosynthesis

中国的马铃薯播种面积和总产均居世界首位, 但单产低于世界平均水平 (吴秋云 等, 2012)。近年来南方马铃薯生产发展迅速, 秋播马铃薯一般于 9 月上旬播种, 12 月至翌年 1 月收获, 种植效益好, 已成为南方农民秋季大力发展的优势作物 (张鸿 等, 2007)。

增施氮肥能提高马铃薯块茎的大小, 从而提高单位面积产量 (Zebarth & Rosen, 2007), 但是过量施氮影响块茎品质, 如块茎比重降低 (Long et al., 2004), 硝酸盐含量增加 (Zebarth et al., 2004), 增加天冬酰胺积累, 导致烹饪过程中形成有毒和致癌的丙烯酰胺 (Lea et al., 2007), 并造成土壤氮素流失 (van Es et al., 2002; Zebarth et al., 2008)。生产上要实现施氮与作物需氮的平衡, 存在很大的困难, 因为不同年份、不同田块的土壤供氮与作物需氮之间存在较大差异 (Olfs et al., 2005; Scharf et al., 2005), 因此, 可以根据作物氮素营养状况进行氮素的动态管理 (Goffart & Olivier, 2004; Goffart et al., 2008)。作物氮素营养诊断方法有植株叶色诊断 (王绍华 等, 2002)、叶片全氮诊断 (周建 等, 2007)、土壤氮素测试 (陈世勇 等, 2008)、植株硝态氮含量 (危常州 等, 2002)、叶绿素仪快速诊断 (Blackmer & Sotham, 1994) 和遥感技术 (薛利红 等, 2003) 等方法, 其中最为常见方法是叶绿素仪测定 SPAD 值 (Vos & Bom, 1993; Goffart & Olivier, 2004) 和测定叶柄硝态氮含量的方法 (Porter & Sisson, 1991; Lewis & Love, 1994), 而中国一直采用土壤测试为主和植株营养诊断为辅的技术路线, 但土壤测试结果易受取样点位置、数量、时间和深度的影响。这些方法是间接测定方法, 而且易受土壤中水分、养分等环境因素及马铃薯生育期的影响 (Olfs et al., 2005)。Hazen 等 (2003) 认为测定基因表达量是一种衡量植株氮素充足与否更直接的措施。Li 等 (2010) 和 Zebarth 等 (2011) 分别研究了马铃薯试管苗和大田马铃薯植株的氮素代谢相关基因对氮素亏缺的响应, 探索采用氮素代谢相关基因定量表达来衡量植株氮素营养, 用于指导马铃薯氮素调控。

Li 等 (2013) 的研究表明, 秋马铃薯块茎淀粉含量随施氮量的增加呈先升后降的变化; 杨华等 (2013) 的研究结果表明秋马铃薯可溶性淀粉合成酶随着施氮量的增加呈先升后降的变化。由于秋季前期的高温干旱、后期的霜冻以及脱毒种薯的缺乏, 秋马铃薯产量相对较低, 生产上施肥一般参照冬播马铃薯施肥水平, 施肥水平过高。本试验中一方面研究氮素水平对秋马铃薯生长、产量与品质的影响, 以期为中国南方秋马铃薯氮肥管理提供技术指导; 另一方面研究南方秋马铃薯产量和氮素代谢相关基因硝酸还原酶基因与铵转运蛋白基因表达对氮素的响应情况, 将为建立中国南方马铃薯植株氮素营养分子诊断技术, 实现施氮与马铃薯需氮的平衡提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与试验设计

试材是中国南方主栽的从荷兰引进的马铃薯品种‘费乌瑞它’，由湖南省马铃薯工程技术研究中心提供。

试验于 2012 年在湖南农业大学校内蔬菜基地进行，土壤为黏壤土，有机质、全氮、全磷、全钾含量分别为 20.5、1.24、1.14、20.5 g·kg⁻¹，前茬作物为十字花科蔬菜。试验采取单因子随机区组设计，施氮量 7 个水平（纯 N 0、45、90、135、180、270、360 kg·hm⁻²），3 次重复，共 21 个小区。小区面积 24 m²，各处理 P、K 肥一致（150 kg·hm⁻² P₂O₅、360 kg·hm⁻² K₂O），施入的 N、P、K 肥分别为尿素、钙镁磷肥和硫酸钾，各处理均做基肥一次性施入。

土壤翻耕后，按畦宽 80 cm，沟宽 40 cm 整畦，宽窄行种植，宽行 80 cm，窄行 40 cm，株距 20 cm。选取大小一致、没有病虫害的小整薯播种到基质，播种前用药剂拌种，并用遮阳网覆盖。出苗后，于 9 月 10 日选择整齐一致的带薯幼苗移栽。齐苗后 15 d 结合除草培土 1 次；收获时间为 12 月 1 日。

1.2 测定项目与方法

分别于块茎形成期和块茎膨大期，测定第 4 完全展开叶顶小叶的叶绿素含量（SPAD 值）、净光合速率，并取生长一致的 10 株上述状态顶小叶，混合，经液氮速冻后于 - 80 ℃ 保存备用。

用 Trizol 试剂盒（TRANSGEN，北京）提取叶片总 RNA。使用 GoScriptTM cDNA 逆转录酶系统（Promega，北京）将 2 μg RNA 转录成 cDNA。以 cDNA 为模板，利用实时荧光定量 PCR 仪（BioRad iCycle，CA，USA）检测不同氮素水平条件下块茎形成期和膨大期马铃薯叶片硝酸还原酶基因（*StNR*）和铵转运蛋白基因（*StAT*）的表达情况，根据 GenBank 中 *StNR* 和 *StAT* 序列用 Primer Express 2.0 软件设计引物（表 1）。反应体系为 2× *Taq* PCR Master Mix（含荧光染料）10 μL、10 μmol·L⁻¹ 引物各 1 μL、cDNA 模板 2 μL、补超纯水补至 20 μL。扩增程序为 95 ℃ 2 min；95 ℃ 5 s，60 ℃ 30 s，40 个循环。阈值与 Ct 值由荧光定量 PCR 仪自带软件自动得出，ΔCt = Ct_{*StNR/StAT*} - Ct_{*Actin*}，基因的相对表达量为 2^{-ΔCt}。

表 1 实时荧光 PCR 检测引物
Table 1 Primers used for real time PCR detection

基因 Gene	基因序列号 NCBI accession	引物名 Primer name	引物序列 Primer sequence
硝酸还原酶基因 Nitrate reductase	U76701	NR-F	5'-TGGACATATCTATGATGCCTCACG-3'
		NR-R	5'-AGTTCACCAATCCTAAAGTCCTCCA-3'
铵转运蛋白基因 Ammonium transporter	XM_006340410	AT-F	5'-TGCTGCTGGTGGATTGCTTATTAC-3'
		AT-R	5'-GCTTTCCAATGAAACCATTAGAAGG-3'
<i>Actin</i>	GQ339765	Actin-F	5'-AGGTCCTCTTCCAGCCATCCA-3'
		Actin-R	5'-CCACTGAGCACAAATGTTACCGTAG-3'

块茎成熟期测定马铃薯植株的株高和茎粗；收获时进行小区测产，每小区 5 点取样，每点取 2 株共 10 株，计算单株结薯数、单株产量、单薯质量及小区总产量、商品薯产量，块茎按大小分级，不足 50 g 为非商品薯，50 g 及以上为商品薯，并折合成每公顷产量；比重法测定块茎淀粉含量。

采用 Excel 2007 和 DPS2000 对试验数据进行差异性分析。

2 结果与分析

2.1 施氮水平对马铃薯叶片叶绿素含量及光合作用的影响

在马铃薯整个生长过程中, 随着施氮水平的提高, 植株叶片颜色逐渐加深, 块茎形成期和块茎膨大期马铃薯植株叶片 SPAD 值呈上升趋势 (图 1), 块茎形成期 (34.2 ~ 47.9) 高于块茎膨大期 (31.1 ~ 43.9), 相关性分析结果表明块茎形成期和块茎膨大期叶片 SPAD 值与施氮水平呈极显著正相关 ($P < 0.01$, $r = 0.95$)。块茎膨大期各处理植株第 4 片完全展开叶的顶小叶净光合速率为 $25.5 \sim 29.0 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 随施氮水平的增加呈先上升后下降的趋势, 不同施氮水平处理间差异不显著。

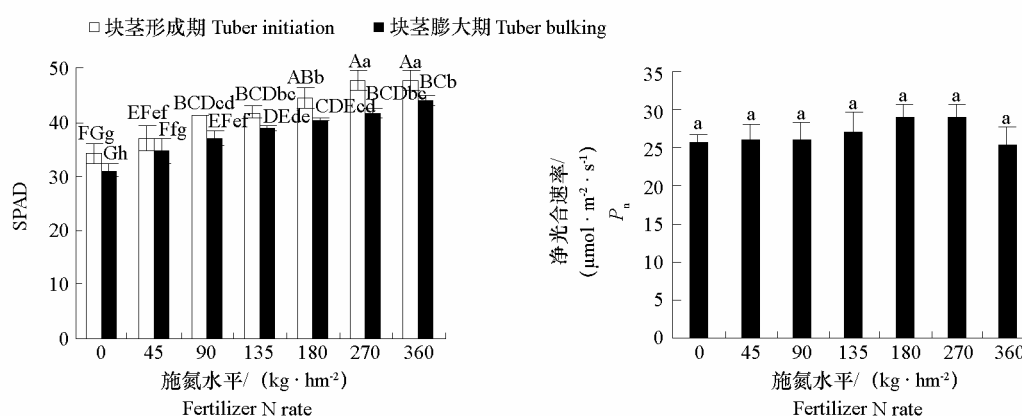


图 1 施氮水平对马铃薯叶片叶绿素含量 (SPAD) 和净光合速率的影响

同一时期不同大小写字母表示不同处理间差异显著。下同。

Fig. 1 Effect of fertilizer N rate on SPAD and photosynthesis of potato leaf

Different capital and small letters in the same period meant significant difference among different treatments. The same below.

2.2 施氮水平对秋马铃薯生长及产量的影响

随着施氮水平的提高, 马铃薯株高和茎粗呈上升趋势, 说明增施氮肥可促进地上部的生长, 但是茎粗/株高的比值呈先上升后下降的趋势 (表 2); 随着施氮水平的提高, 单株结薯数、单薯质量、产量和淀粉含量均呈先上升后下降的趋势 (表 2); 施氮水平为 0 的处理的单株结薯数最少, 为 2.77 个, 显著低于施 N 90、135 和 $360 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 处理; 0 处理的单薯质量为 34.89 g, 显著低于其他处理; 0 处理的总产量和商品薯产量最低, 分别为 9741.0 和 $7906.2 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$, 显著低于其他处理, $135 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 处理的总产量和商品薯产量分别为 20359.1 和 $18108.8 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$, 显著高于施 N 0、45、90 和 $360 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 处理; 0 和 $360 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 处理的商品薯率分别为 83.48% 和 83.80%, 显著低于其他处理; 0 处理的淀粉含量为 8.14%, 当施 N 45 ~ $360 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时, 淀粉含量随施氮水平呈降低趋势。

2.3 施氮水平对马铃薯叶片硝酸还原酶和氨转运蛋白基因表达的影响

qRT-PCR 检测结果表明, 块茎膨大期 0 处理叶片的硝酸还原酶基因 (*StNR*) 表达水平最高, 随着施氮水平的提高, 基因的表达水平呈下降趋势, 块茎形成期呈相似的变化趋势, 施氮水平在 0 ~ $270 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时同一处理块茎膨大期 *StNR* 基因表达水平比块茎形成期的高 (图 2); 相关性分析表明 *StNR* 基因表达水平与施氮水平呈极显著负相关 (块茎形成期和膨大期均为 $r = 0.9$, $P < 0.01$)。从图 2 中

可以看出，随着施氮水平的提高，块茎膨大期铵转运蛋白基因（*StAT*）表达水平呈下降趋势，块茎形成期呈相似的变化趋势；相关性分析表明基因表达水平与施氮水平呈极显著负相关（块茎形成期 $r = 0.8$ ， $P < 0.01$ ，块茎膨大期 $r = 0.84$ ， $P < 0.01$ ）。

表 2 施氮水平对秋马铃薯生长及产量、品质的影响
Table 2 Effect of fertilizer N rate on plant growth, tuber yields and quality

施氮水平/ (kg · hm ⁻²) Fertilizer N rate	株高/cm Plant height	茎粗/mm Stem diameter	茎粗/株高 (× 10 ⁻²) Stem diameter/Plant height	单株结薯数 Tuber number per plant	单薯质量/g Mean tuber weight
0	37.00 ± 3.99 c	7.62 ± 0.65 c	2.09 ± 0.38 b	2.77 ± 0.52 b	34.89 ± 4.72 c
45	38.27 ± 3.69 c	9.11 ± 0.89 bc	2.38 ± 0.04 ab	3.30 ± 0.62 ab	49.81 ± 8.15 ab
90	38.60 ± 4.20 c	8.97 ± 0.30 bc	2.34 ± 0.25 ab	3.80 ± 0.52 a	48.73 ± 3.58 ab
135	44.20 ± 4.51 abc	10.86 ± 1.79 a	2.45 ± 0.19 a	3.89 ± 0.18 a	56.44 ± 5.96 a
180	42.4 ± 1.91 bc	10.45 ± 0.56 ab	2.47 ± 0.24 a	3.52 ± 0.35 ab	57.62 ± 5.16 a
270	48.2 ± 5.91 ab	10.15 ± 0.28 ab	2.13 ± 0.29 ab	3.40 ± 0.910 ab	57.54 ± 5.18 a
360	49.67 ± 3.72 a	10.91 ± 0.78 a	2.20 ± 0.11 ab	3.86 ± 0.21 a	42.50 ± 7.28 bc

施氮水平/ (kg · hm ⁻²) Fertilizer N rate	总产量/ (kg · hm ⁻²) Total yield	商品薯产量/ (kg · hm ⁻²) Marketable yield	商品薯率/% Marketable tuber rate	淀粉含量/% Starch content
0	9 741.0 ± 1 722.2 c	7 906.2 ± 1 335.9 c	83.48 ± 3.55 b	8.140 ± 0.000 b
45	14 996.6 ± 1 461.3 b	13 323.8 ± 1 078.4 b	88.85 ± 1.85 a	8.994 ± 0.857 a
90	17 118.8 ± 3 398.8 ab	15 354.2 ± 3 130.8 ab	89.69 ± 2.37 a	8.924 ± 0.327 ab
135	20 359.1 ± 1 392.6 a	18 108.8 ± 2 125.2 a	88.95 ± 5.09 a	8.710 ± 0.124 ab
180	18 695.4 ± 547.6 ab	16 656.0 ± 702.4 ab	89.09 ± 1.39 a	8.570 ± 0.371 ab
270	17 719.1 ± 3 478.1 ab	15 853.8 ± 2 681.0 ab	89.47 ± 2.31 a	8.520 ± 0.157 ab
360	16 046.3 ± 1 192.3 b	13 447.5 ± 1 789.7 b	83.80 ± 5.05 b	8.140 ± 0.214 b

注：同一列中不同小写字母表示不同处理间差异显著。
Note: Different small letters in the same column meant significant difference among different treatments.

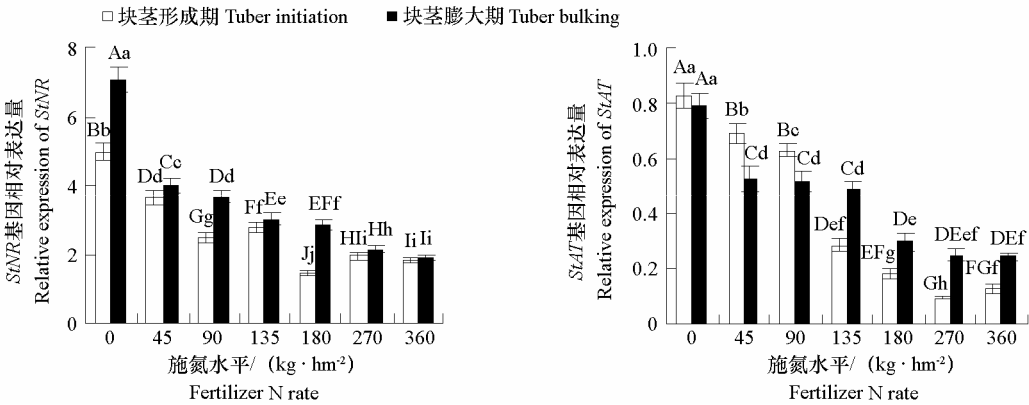


图 2 施氮水平对块茎形成期和膨大期马铃薯叶片 *StNR* 和 *StAT* 基因表达的影响
Fig. 2 Effect of fertilizer N rate on expression of *StNR* and *StAT* measured on the stage of tuber initiation and tuber bulking

相关性分析表明，块茎形成期和块茎膨大期叶片的 SPAD 值与 *StNR*、*StAT* 基因表达量呈极显著负相关，块茎形成期 SPAD 值和 *StNR*、*StAT* 基因表达量的相关系数分别为 -0.92 ($P < 0.01$)、 -0.95 ($P < 0.01$)，块茎膨大期 SPAD 和 *StNR*、*StAT* 基因表达量的相关系数分别为 -0.95 ($P < 0.01$) 和 -0.96 ($P < 0.01$)。

通过对叶片 SPAD 值和 *StNR*、*StAT* 基因表达值进行曲线拟合，*StNR* 和 *StAT* 基因表达值均随 SPAD 值的升高而降低，块茎形成期和块茎膨大期 *StNR* 基因的拟合度均高于 *StAT*（图 3）。

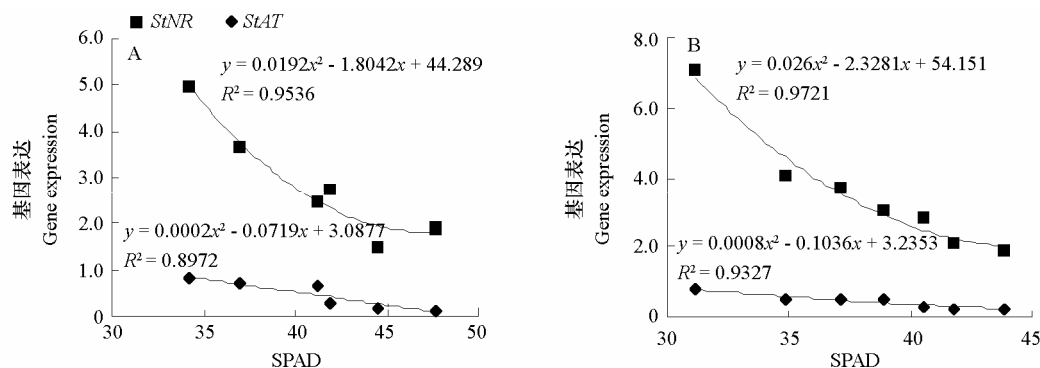


图3 块茎形成期(A)和膨大期(B)马铃薯叶片 SPAD 值与叶片 *StNR* 和 *StAT* 基因表达的相关性

Fig. 3 Relationship between SPAD and expression of *StNR* and *StAT* measured on the stage of tuber initiation (A) and tuber bulking (B)

2.4 施氮水平对秋土壤和马铃薯块茎硝态氮含量的影响

块茎硝态氮含量随施氮量的增加而上升, 含量在 $20.58 \sim 49.81 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 各处理间差异极显著(图4), 相关性分析表明块茎硝态氮含量与施氮水平呈极显著正相关($r = 0.98$, $P < 0.01$); 各处理 0 ~ 20 cm 土壤中的硝态氮浓度成上升趋势, 含量在 $1.55 \sim 9.34 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 施氮 $360 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 处理显著高于其他处理(图4), 相关性分析表明土壤硝态氮含量与施氮水平亦呈极显著正相关($r = 0.88$, $P < 0.01$)。

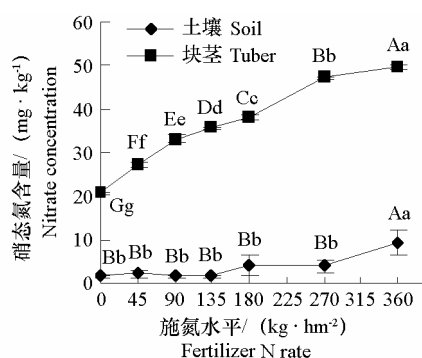


图4 不同施氮水平对土壤及块茎硝态氮含量的影响

不同大小写字母表示同类样品不同处理间差异显著。

Fig. 4 Effect of fertilizer N rate on soil nitrate-N concentration for 0 ~ 20 cm depth in the potato root zone and tuber nitrate-N concentration

Different capital and small letters meant significant difference among different treatments.

3 讨论

3.1 施氮水平对马铃薯叶绿素含量及光合作用的影响

叶绿素含量的高低, 直接影响着光合作用的强弱, 直接影响块茎的干物质形成, 并在一定的程度上反映了叶片含氮水平。Botha 等(2006)研究表明马铃薯叶片叶绿素指数与叶绿素含量显著相关, 并被证明是衡量马铃薯植株氮素状况的有用指标(Vos & Bom, 1993), SPAD 值被用作生长季马铃薯氮素管理的基础(Goffart & Olivier, 2004)。本研究结果表明, 随着施氮水平的提高, 秋马铃薯叶片 SPAD 值呈上升趋势, 施氮水平与叶片 SPAD 呈极显著正相关, 但是块茎膨大期的 SPAD 值低于块茎形成期, 块茎形成期及之前马铃薯以地上生长为主, 进入块茎膨大期后, 马铃薯以地下块茎生长为主, 土壤中的氮素及地上部的氮素运输到块茎, 造成叶片氮素含量降低, 这和 Zebarth 等(2011)的研究结果相似。光合作用测定结果表明, 施氮水平在 $0 \sim 270 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时, 净光合速率随施氮水平呈上升趋势, 施氮水平在 $360 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时, 净光合速率反而下降。

3.2 施氮水平对马铃薯生长及产量的影响

氮素是作物生长发育不可缺少的营养元素, 它是植物体内叶绿素、蛋白质、核酸的组成部分,

又是很多内源激素的组成部分。增施氮肥能提高块茎的大小,从而提高单位面积产量(Zebarth & Rosen, 2007)。本研究结果表明,随着施氮水平的提高,植株的株高和茎粗呈上升趋势,说明增施氮肥可促进地上部的生长,但是茎粗/株高的比值呈先上升后下降的趋势;单株结薯数、单薯质量、产量均呈先上升后下降的趋势,说明缺氮和过量施氮均不利于马铃薯的生长和产量形成。Ojala 等(1990)的研究结果也表明马铃薯产量随施氮水平呈先上升后下降的趋势。因此,秋马铃薯的施氮水平以 $90 \sim 135 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 为宜。除 0 处理外,随着施氮水平的提高,淀粉含量呈下降的趋势,与 Westermann 等(1994)和 Ojala 等(1990)的研究结果相似,不同于 Li 等(2013)淀粉含量随施氮水平呈先升后降的研究结果。

3.3 施氮水平对马铃薯氮素代谢相关基因表达的影响

植物通过基因表达的变化响应逆境胁迫(Hazen et al., 2003)。不少研究表明施氮水平影响了植物氮素代谢和转运基因的表达(Forde, 2000; Wang et al., 2003; Schachtman & Shin, 2007),但利用氮素代谢基因和转运基因的表达来衡量马铃薯植株氮素营养状况的研究较少, Li 等(2010)研究了氮素亏缺对水培条件下 3 个马铃薯品种试管苗 4 个氮素代谢相关的基因的表达情况,结果表明氮素亏缺 3 ~ 7 d 时,硝酸还原酶(Nitrate reductase, NR)、亚硝酸还原酶(Nitrite reductase, NiR)、天冬酰胺合成酶(Asparagine synthetase, AS)基因的表达量下调,其中硝酸还原酶基因最明显; Zebarth 等(2011)研究了大田条件下氮素亏缺对 1 个马铃薯品种 27 个氮素代谢相关基因的表达情况,结果表明在植株的整个生长季节,只有铵转运蛋白基因的表达水平与氮素水平及产量呈显著负相关。本研究结果表明,大田栽培条件下南方秋马铃薯的两个重要时期即块茎形成期和块茎膨大期 *StNR* 和 *StAT* 的基因表达水平与施氮水平、叶片 SPAD 值呈极显著负相关,结合 Li 等(2010)和 Zebarth 等(2011)的研究,说明 *StNR* 和 *StAT* 的表达量在其他品种上也是随施氮量的增加呈下降趋势。植物体内的硝态氮包括液泡中储备的硝态氮和细胞质内的硝态氮,当土壤中供氮充足时,硝态氮作为非代谢物质以一种半储备状态存在于植物液泡内,当植物需氮增加或缺氮时,硝酸还原酶的活性增强,将液泡中的硝态氮还原成铵态氮,由铵转运蛋白负责铵态氮的运输,因此,当土壤供氮不足时,硝酸还原酶和铵转运蛋白基因的表达水平高,供氮充足时反之,两个基因的表达水平与氮素水平呈负相关。

叶柄硝态氮含量测定是最常用的作物氮素营养诊断方法(Porter & Sisson, 1991; Lewis & Love, 1994)。氮亏欠时,植物利用液泡中储备的硝态氮,硝酸还原酶的活性与植物液泡中储备的硝态氮存在对应关系,硝酸还原酶的活性和液泡中储备的硝态氮比植株总硝态氮的含量更直接和灵敏地反映作物对氮的需求,但液泡中储备的硝态氮很难单独测定,因此,可以用硝酸还原酶的活性或硝酸还原酶基因的表达水平代替硝态氮作为氮素营养诊断指标,能更准确地估计植株氮素营养状况。

根据 Li 等(2010)、Zebarth 等(2011)和本研究的结果,与 SPAD 值、硝态氮含量一样, *StNR* 和 *StAT* 的表达量可以作为衡量马铃薯植株氮素状况的指标,但是具体表达水平受品种、生长时期和环境的影响,利用 *StNR* 和 *StAT* 基因的定量表达建立一种马铃薯植株氮素营养的分子诊断技术,还需要多品种多点多年试验。

3.4 施氮水平对块茎和土壤硝态氮含量的影响

过量施氮会造成块茎硝酸盐浓度提高(Zebarth et al., 2004; 陈忠荫和周娜娜, 2008)和土壤硝态氮含量的上升(陈忠荫和周娜娜, 2008)。本研究表明,随着施氮水平的提高,块茎中硝态氮含量显著增加,最高达 $49.81 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,作为蔬菜仍属于安全范围,但如果作为加工用,会导致烹饪过程中形成丙烯酰胺(Lea et al., 2007); $0 \sim 270 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 施氮水平范围内,土壤中的硝态氮呈缓慢上升

趋势, 各处理差异不显著, 可能是由于一部分氮被马铃薯地上植株和块茎吸收, 一部分氮素以硝酸盐和一氧化二氮的形式流失 (van Es et al., 2002; Zebarth et al., 2008), 具体流失的量还需要进一步的研究。

References

- Blackmer T M, Sothapem J S. 1994. Use of a chlomphyll meter to monitor nitrogen status and schedule fortigation for corn. *Journal of Production Agriculture*, 8 (1): 56 - 60.
- Botha E J, Zebarth B J, Leblon B. 2006. Non-destructive estimation of potato leaf chlorophyll and protein contents from hyperspectral measurements using the PROSPECT radiative transfer model. *Canadian Journal of Plant Science*, 86 (1): 279 - 291.
- Chen Shi-yong, Tan Qing-jun, Zhao Rrong-fang, Sun Qin-ping, Chen Xin-ping, Zhang Fu-suo. 2008. Optimization of the N fertilizer management of silage corn based on soil mineral nitrogen test. *Acta Prataculturae Sinica*, 17 (3): 156 - 161. (in Chinese)
- 陈世勇, 谭庆军, 赵荣芳, 孙钦平, 陈新平, 张福锁. 2008. 应用土壤无机氮测试优化青贮玉米氮素管理. *草业学报*, 17 (3): 156 - 161.
- Chen Zhong-yin, Zhou Na-na. 2008. Effect of different N level on contents in potato tubers and soil. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 36 (16): 6857, 6871. (in Chinese)
- 陈忠荫, 周娜娜. 2008. 不同氮水平对马铃薯块茎和土壤 NO⁻N 含量的影响. *安徽农业科学*, 36 (16): 6857, 6871.
- Forde B G. 2000. Nitrate transporters in plants: Structure, function and regulation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1465 (1 - 2): 219 - 235.
- Goffart J P, Olivier M. 2004. Management of N-fertilization of the potato crop using total N-advice software and in-season chlorophyll-meter measurements//MacKerron D K L, Haverkort A J. *Decision support systems in potato production*. Wageningen: Wageningen Academic Publishers: 69 - 83.
- Goffart J P, Olivier M, Frankinet M. 2008. Potato crop nitrogen status assessment to improve N fertilization management and efficiency: Past-present-future. *Potato Research*, 51 (3): 355 - 383.
- Hazen S P, Wu Y, Kreps J A. 2003. Gene expression profiling of plant responses to abiotic stress. *Functional Integrative Genomics*, 3 (3): 105 - 111.
- Lea P J, Sodek L, Parry M A J, Shewry P R, Halford N G. 2007. Asparagine in plants. *Annals of Applied Biology*, 150 (1): 1 - 26.
- Lewis, R J, Love S L. 1994. Potato genotypes differ in petiole nitratenitrogen concentrations over time. *HortScience*, 29 (2): 175 - 179.
- Li P, Zheng S, Cai G, Cheng H, Yuan J. 2013. The influence of nitrogen nutrition on starch accumulation in the process of tuber development in autumn *Solanum tuberosum* L. *Agricultural Science & Technology*, 14 (11): 1599 - 1602, 1609.
- Li X Q, Sveshnikov D, Zebarth B J, Tai H, De Koeper D, Millard P, Haroon M, Singh M. 2010. Detection of nitrogen sufficiency in potato plants using gene expression markers. *American Journal of Potato Research*, 87 (1): 50 - 59.
- Long C M, Snapp S S, Douches D S, Chase R W. 2004. Tuber yield, storability, and quality of Michigan cultivars in response to nitrogen management and seedpiece spacing. *American Journal of Potato Research*, 81 (5): 347 - 357.
- Ojala J C, Stark J C, Kleinkopf G E. 1990. Influence of irrigation and nitrogen management on potato yiled and quality. *Amercan Potato Journal*, 67 (1): 29 - 43.
- Olfs H W, Blankenau K, Brentrup F, Jasper J, Link A, Lammel J. 2005. Soil- and plant-based nitrogen-fertilizer recommendations in arable farming. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168 (4): 414 - 431.
- Porter G A, Sisson J A. 1991. Petiole nitrate content of maine grown Russet Burbank and Shepody potatoes in response to varying nitrogen rate. *American Potato Journal*, 68 (5): 493 - 505.
- Schachtman D P, Shin R. 2007. Nutrient sensing and signaling: NPKS. *Annual Review of Plant Biology*, 58 (1): 47 - 69.
- Scharf P C, Kitchen N R, Sudduth K A, Davis J G, Hubbard V C, Lory J A. 2005. Field-scale variability in optimal nitrogen fertilizer rate for corn. *Agronomy Journal*, 97 (2): 452 - 461.
- van Es H M, Czymmek K J, Ketterings Q M. 2002. Management effects on nitrogen leaching and guidelines for a nitrogen leaching index in New York. *Journal of Soil and Water Conservation*, 57 (6): 499 - 504.

- Vos J, Bom M. 1993. Hand-held chlorophyll meter: A promising tool to assess the nitrogen status of potato foliage. *Potato Research*, 36 (3): 301 - 308.
- Wang R, Okamoto M, Xing X, Crawford N M. 2003. Microarray analysis of the nitrate response in *Arabidopsis* roots and shoots reveals over 1 000 rapidly responding genes and new linkages to glucose, trehalose-6-phosphate, iron, and sulfate metabolism. *Plant Physiology*, 132 (1): 556 - 567.
- Wang Shao-hua, Cao Wei-xing, Wang Qiang-sheng, Ding Yan-feng, Huang Pi-sheng, Ling Qi-hong. 2002. Positional distribution of leaf color and diagnosis of nitrogen nutrition in rice plant. *Scientia Agricultura Sinica*, 35 (12): 1461 - 1466. (in Chinese)
王绍华, 曹卫星, 王强盛, 丁艳锋, 黄丕生, 凌启鸿. 2002. 水稻叶色分布特点与氮素营养诊断. *中国农业科学*, 35 (12): 1461 - 1466.
- Wei Chang-zhou, Zhang Fu-suo, Zhu He-ming, Hou Zhen-an, Guo Guan-shan, Bao Bai-yang. 2002. Study on cotton nitrogen diagnosis and topdressing recommendation in North Xinjiang. *Scientia Agricultura sinica*, 35 (12): 1500 - 1505. (in Chinese)
危常州, 张福锁, 朱和明, 侯振安, 郭冠山, 鲍柏洋. 2002. 新疆棉花氮营养诊断及追肥推荐研究. *中国农业科学*, 35 (12): 1500 - 1505.
- Westermann D T, James D W, Tindall T A, Hurst R L. 1994. Nitrogen and potassium fertilization of potatoes: Sugars and starch. *American Potato Journal*, 71 (7): 433 - 453.
- Wu Qiu-yun, Huang Ke, Song Yong, He Chang-zheng, Liu Ming-yue, Xiong Xing-yao. 2012. World potato production status from 2000 to 2009. *Chinese Potato Journal*, 26 (2): 115 - 121. (in Chinese)
吴秋云, 黄科, 宋勇, 何长征, 刘明月, 熊兴耀. 2012. 2000—2009年世界马铃薯生产状况分析. *中国马铃薯*, 26 (2): 115 - 121.
- Xue Li-hong, Cao Wei-xing, Luo Wei-hong, Jiang Dong, Meng Ya-li, Zhu Yan. 2003. Diagnosis of nitrogen status canopy spectral in rice leaves with the reflectance. *Scientia Agricultura Sinica*, 36 (7): 807 - 812. (in Chinese)
薛利红, 曹卫星, 罗卫红, 姜东, 孟亚利, 朱艳. 2003. 基于冠层反射光谱的水稻群体叶片氮素状况监测. *中国农业科学*, 36 (7): 807 - 812.
- Yang Hua, Zheng Shun-lin, Li Pei-hua, Cheng Hong, Liu Fan, Yuan Ji-chao. 2013. Effects of nourishment on the key enzymes of starch synthesis in the process of tuber formation in autumn *Solanum tuberosum* L. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 31 (1): 9 - 14. (in Chinese)
杨华, 郑顺林, 李佩华, 程红, 刘帆, 袁继超. 2013. 氮营养水平对秋马铃薯块茎发育中淀粉合成关键酶的影响. *四川农业大学学报*, 31 (1): 9 - 14.
- Zebarth B J, Leclerc Y, Moreau G, Botha E. 2004. Rate and timing of nitrogen fertilization of Russet Burbank potato: Yield and processing quality. *Canadian Journal of Plant Science*, 84 (3): 855 - 863.
- Zebarth B J, Rochette P, Burton D L. 2008. N₂O emissions from spring barley production as influenced by fertilizer nitrogen rate. *Canadian Journal of Soil Science*, 88 (2): 197 - 205.
- Zebarth B J, Rosen C J. 2007. Research perspective on nitrogen BMP development for potato. *American Journal of Potato Research*, 84 (1): 3 - 18.
- Zebarth B J, Tai H, Luo S, Millard P, De Koeper D, Li X-Q, Xiong X. 2011. Differential gene expression as an indicator of nitrogen sufficiency in field-grown potato plants. *Plant Soil*, 345 (1 - 2): 387 - 400.
- Zhang Hong, Liu Ding-hui, He Wei. 2007. Analysis of technical advantage and benefit of autumn potato cultivated with no tillage and straw mulching in Sichuan. *Sichuan Agricultural Science and Technology*, (5): 26 - 27. (in Chinese)
张鸿, 刘定辉, 何卫. 2007. 四川秋马铃薯免耕稻草覆盖栽培的技术优势与效益分析. *四川农业科技*, (5): 26 - 27.
- Zhou Jian, Yuan De-yi, Zhang Lin, Li You-wu. 2007. Foliar nutrient analysis of *Pyrus pyrifolia* Whangkeumbae and recommended fertilizer rates. *Journal of Zhejiang Forestry College*, 24 (1): 39 - 43. (in Chinese)
周建, 袁德义, 张琳, 李佑武. 2007. 黄金梨叶片营养诊断及施肥标准. *浙江林学院学报*, 24 (1): 39 - 43.