

喷施污泥热碱液对叶菜产量及氮转化酶的影响

吴晨瑞, 薛晓蓉, 王永亮, 白炬, 郭彩霞, 杨治平, 张强

引用本文:

吴晨瑞, 薛晓蓉, 王永亮, 白炬, 郭彩霞, 杨治平, 张强. 喷施污泥热碱液对叶菜产量及氮转化酶的影响[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(5): 1156–1165.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-1013>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

不同品种紫花苜蓿氮代谢的Cd耐性评价及其鉴定指标筛选

杨姝, 祖艳群, 李博, 毕玉芬, 何永美, 贾乐, 李元

农业环境科学学报. 2019, 38(6): 1211–1217 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-1137>

水溶性有机肥料对水稻产量和镉吸收的影响

刘利杉, 黄运湘, 黄楚瑜, 满海燕

农业环境科学学报. 2017, 36(5): 826–831 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1509>

暗管农田不同类型肥料对向日葵生长及土壤氮素分布的影响

祁茜, 史海滨, 闫建文, 李仙岳, 高晓瑜, 范理权, 郝云凤

农业环境科学学报. 2022, 41(3): 559–567 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0840>

生物基包膜抑制型尿素对土壤温室气体排放及小青菜产量的影响

刘楚桐, 陈松岭, 邹洪涛, 叶旭红, 陈春羽, 雷洋, 张玉龙

农业环境科学学报. 2021, 40(3): 677–684 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0658>

芸苔素内酯对糜子苯唑·二甲钠药害的缓解作用

林瑞嫦, 高玉萌, 王可心, 李鑫, 杨思敏, 高小丽

农业环境科学学报. 2022, 41(4): 726–734 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0832>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

吴晨瑞, 薛晓蓉, 王永亮, 等. 喷施污泥热碱液对叶菜产量及氮转化酶的影响[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(5): 1156-1165.

WU C R, XUE X R, WANG Y L, et al. Effects of spraying alkaline thermal hydrolysis liquid on leafy vegetable yield and nitrogen invertase[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(5): 1156-1165.

喷施污泥热碱液对叶菜产量及氮转化酶的影响

吴晨瑞^{1,2}, 薛晓蓉^{1,2}, 王永亮^{1,2}, 白炬^{1,2}, 郭彩霞^{1,2}, 杨治平^{1,2}, 张强^{1,2*}

(1. 山西农业大学, 太原 030031; 2. 土壤环境与养分资源山西省重点实验室, 太原 030031)

摘要: 污泥通过碱性热水解工艺(ATH)提取的富含多肽、蛋白质类的液体已被证实无毒性, 用于农业生产中可显著促进作物生长。为研究该液体对作物氮素吸收的影响及其同化机制, 以小青菜为研究对象, 以喷施清水为对照, 研究了200、400、600、800倍和1000倍5个稀释倍数处理条件下喷施热碱液对小青菜产量、氮素养分吸收及氮同化关键酶活性的影响。结果表明: 随着喷施热碱液稀释倍数的增加, 各指标均呈先升高后降低的趋势, 当热碱液稀释400倍时, 小青菜收获后, 其氮素累积量、叶绿素相对含量(SPAD值)和产量等达到较高水平, 且小青菜中硝酸还原酶(NR)、亚硝酸还原酶(NiR)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、谷氨酰胺合成酶(GS)、谷氨酸合成酶(GOGAT)在生育期间均可保持较高的活性; 偏最小二乘路径模型(PLS-PM)表明, 喷施热碱液后小青菜的氮素吸收主要受NR、GS、GOGAT的影响, 同时GOGAT对小青菜产量的提升有显著作用。研究表明, 喷施适宜稀释倍数的热碱液可提高小青菜氮素同化相关酶的活性, 促进小青菜生长和对养分的吸收, 从而提高产量。

关键词: 污泥热碱液; 氮素转化酶; 氮素利用率; 偏最小二乘路径模型

中图分类号: S63 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2023)05-1156-10 doi:10.11654/jaes.2022-1013

Effects of spraying alkaline thermal hydrolysis liquid on leafy vegetable yield and nitrogen invertase

WU Chenrui^{1,2}, XUE Xiaorong^{1,2}, WANG Yongliang^{1,2}, BAI Ju^{1,2}, GUO Caixia^{1,2}, YANG Zhiping^{1,2}, ZHANG Qiang^{1,2*}

(1. Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030031, China; 2. Shanxi Provincial Key Laboratory of Soil Environment and Nutrient Resources, Taiyuan 030031, China)

Abstract: The polypeptide-rich liquid extracted from alkaline thermal hydrolysis (ATH) sludge has proven to be non-toxic and usable in agricultural production, resulting in a significant increase in crop growth. However, little research has been done on the nitrogen uptake of crops or its assimilation mechanism via this liquid. In this study, *Brassica chinensis* was sprayed with ATH liquid diluted 200, 400, 600, 800 times, and 1 000 times, and, using water as the control, the yield, nitrogen absorption and assimilation, and key enzymatic activities were measured. The results show that as the dilution ratio of sprayed ATH liquid increased, all indices showed a trend of first increasing and then decreasing. When the ATH liquid was diluted 400 times, the nitrogen accumulation, relative chlorophyll content (SPAD value), and yield of *B. chinensis* were higher than those of the control after harvest. Under these conditions, nitrate reductase (NR), nitrite reductase (NiR), glutamate dehydrogenase (GDH), glutamine synthase (GS), and glutamate synthase (GOGAT) could maintain a high activity during the growth period. The partial least squares path modeling (PLS-PM) analysis showed that the nitrogen absorption in *B. chinensis* was predominantly affected by NR, GS, and GOGAT after spraying ATH liquid and that GOGAT significantly improved the yield. The appropriate dilution rates of sprayed ATH can improve the activities of nitrogen assimilation-related enzymes to promote growth and

收稿日期: 2022-10-11 录用日期: 2022-12-14

作者简介: 吴晨瑞(1998—), 男, 山西吕梁人, 硕士研究生, 从事植物营养和土壤互作与调控研究。E-mail: wcr13935452620@163.com

*通信作者: 张强 E-mail: zhangqiang0351@163.com

基金项目: 污泥水解多肽浓缩液成分、活性及作用机理研究(校企合作专项)

Project supported: Research on the Composition, Activity and Mechanism of Sludge Hydrolysis Polypeptide Concentrate (Special Project of School-enterprise Cooperation)

nutrient absorption in broccoli, thereby increasing the yield.

Keywords: alkaline thermal hydrolysis liquid; nitrogen converting enzyme; nitrogen utilization rate; partial least squares path modeling

氮素是作物吸收量最多的元素之一,也是高等植物不可或缺的营养元素。植物不仅可以将从无机氮同化为有机氮从而合成氨基酸等蛋白质,而且部分有机氮可以为植物提供氨基酸及生长发育所需氮源^[1-2],部分小分子肽也可被作物完全吸收,从而提高氮素利用率^[3-4]。与化肥相比,氨基酸类肥料可以改善土壤的理化性质,并且含有多种生物活性化学物质,可提高蔬菜作物的养分利用效率、产量和品质,降低农药成本,保护环境^[5]。而污泥中含有大量的蛋白质、氨基酸类物质,目前污泥通过高温热碱水解可生产出富含多肽、蛋白质、氨基酸的优质液体(热碱液)^[6],其中蛋白类物质含量高达30%~50%^[7-8],可以对作物起到积极作用且无毒性,为污泥的资源化、可持续化利用提供了新的思路。但是该液体对作物中氮素吸收转化的影响及其作用机制还鲜有研究。

根据对氨等各种氮的吸收和同化研究,叶面施用氨基酸可以提高土壤中氮素吸收效率,减少氮的淋溶^[9-11]。多项研究表明,叶面喷施氨基酸类叶面肥对番茄产量和大豆植株干物质、叶绿素积累有显著促进作用^[12-16]。也有研究表明,从污水、污泥中提取的含氮植物促生养分和植物促生生物刺激素液体的使用提高了大豆产量^[6]。前人研究主要集中于氨基酸类叶面肥对作物生长发育的影响,但对作物氮素吸收及氮同化机制影响的研究还比较匮乏。

随着城市人口的增加,污泥数量也在大幅增加^[17],污泥虽然含有丰富的营养元素,但由于其存在病原体、可腐烂有机物和重金属等有害物质无法直接用于农业生产,从而造成污泥资源化利用程度低^[18-19]。有研究表明热碱液不仅可以提取污泥中氨基酸等营养物质,还可以改善植物的生长,极大降低污泥中有机污染物和重金属元素的累积^[20-21],不引起重金属污染和土壤盐碱化^[6]。相关研究表明,合理稀释倍数的叶面氨基酸性肥料施用能够对作物生长起到关键作用^[22]。同时,圣亚男等^[23]的研究表明叶面喷施稀释1 000倍的氨基酸水溶肥提高生菜产量及品质的效果最显著;范蓓蓓^[24]的研究也表明,当浓缩沼液稀释250倍时对小青菜的产量和品质有明显效果,而油麦菜以稀释100倍最适宜。但关于热碱液在农业蔬菜应用中最佳稀释倍数及对作物氮素吸收影响的研究还暂无报道。

因此,本研究将不同稀释倍数的热碱液以叶面喷施的方式运用于农业蔬菜生产,通过监测在喷施不同稀释倍数热碱液条件下小青菜的生长发育及氮素吸收转化相关酶活性,探明其对作物生长及养分吸收的作用机理。旨在为热碱液对叶菜类作物氮素的作用机理研究提供理论基础,为其在蔬菜生产中的合理施用提供数据支撑,并为我国污泥的资源化、无害化利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验基本信息

本试验在山西农业大学龙城校区温室(37°46'40"N,112°34'43"E)中进行,供试盆栽土壤采集于太原市清徐县专业种植合作社菜园(37°36'14"N,112°20'44"E),该地区有5 a的蔬菜种植史,主要以种植小白菜为主,属于温带大陆性气候,年平均气温为10.2~10.6℃,年均降水量为500 mm左右,土壤类型为砂质壤土,基础理化性状为:全氮0.125 g·kg⁻¹、有效磷8.56 mg·kg⁻¹、速效钾136.00 mg·kg⁻¹、有机质14.85 g·kg⁻¹、pH 7.85。

供试蔬菜为小青菜(*Brassica chinensis*),品名为夏多美(北京农种公司)。氮肥为尿素(含N 46%)、磷肥为过磷酸钙(含P₂O₅ 16%)、钾肥为硫酸钾(含K₂O 50%)。本研究委托山西晋联环科科技有限公司,在pH 13、温度为140℃、污泥含水率为91%和时间为3 h的条件下将污泥放入高压反应釜中,加入一定量的去离子水调节其含水率并搅拌均匀,用CaO粉末调节pH,设定反应温度,进行搅拌,当釜内温度达到设定温度后开始计时,之后分离浓缩,进行热碱液的制备^[25],热碱液的主要成分如表1所示,且重金属含量远低于《中华人民共和国国家标准肥料中有毒有害物质的限量要求》(GB 38400—2019)与《中华人民共和国农业行业标准含氨基酸水溶肥料》(NY 1429—2010)。

1.2 盆栽试验设计

本试验以喷施等量清水为对照(CK),热碱液先用柠檬酸调至中性后分别稀释至200倍(T1)、400倍(T2)、600倍(T3)、800倍(T4)和1 000倍(T5),共6个处理,每个处理、每个时期各重复3次,共54盆。用内径21.5 cm、高15 cm的塑料盆进行盆栽试验,每盆栽

表1 热碱液的理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of alkaline thermal hydrolysis liquid

项目 Item	含量 Content	项目 Item	含量 Content
有机碳/(g·L ⁻¹)	153.49±9.37	Mg/(mg·L ⁻¹)	25.08±1.19
腐植酸/(g·L ⁻¹)	8.11±0.08	Fe/(mg·L ⁻¹)	54.41±5.00
蛋白质/(g·L ⁻¹)	63.6±1.9	Mn/(mg·L ⁻¹)	0.27±0.03
多肽/(g·L ⁻¹)	116.7±12.1	Cu/(mg·L ⁻¹)	0.12±0.02
游离氨基酸/(g·L ⁻¹)	54.67±5.21	Zn/(mg·L ⁻¹)	1.64±0.13
NH ₄ ⁺ -N/(g·L ⁻¹)	1.28±0.13	Hg/(μg·L ⁻¹)	66.23±5.88
NO ₃ ⁻ -N/(g·L ⁻¹)	0.19±0.04	As/(mg·L ⁻¹)	1.78±0.09
TN/(g·L ⁻¹)	44.08±0.32	Cd/(μg·L ⁻¹)	12.29±3.84
P/(mg·L ⁻¹)	316.0±18.9	Pb/(mg·L ⁻¹)	3.02±0.12
K/(g·L ⁻¹)	8.75±0.05	Cr/(mg·L ⁻¹)	1.81±0.08
Ca/(g·L ⁻¹)	55.3±3.7		

填供试土壤 2.5 kg, 各处理施用基肥(氮素 120 mg·kg⁻¹、P₂O₅ 100 mg·kg⁻¹、K₂O 150 mg·kg⁻¹)后, 平衡 3 d, 灌水, 使土壤孔隙含水量(WFPS)保持在 60%。每盆播 12 粒种子, 待长出 3 片叶后开始定苗, 每盆定苗 3 株, 定苗后每隔 7 d 进行一次喷施处理, 共喷施 6 次。分别在定苗后每隔两周从对应时期盆栽内进行一次地上部样品的采集, 到收获共取样 3 次。于 2021 年 8 月 10 日播种, 9 月 26 日采收。试验期间的平均温度为 (25±5) °C, 所有植株在病虫害防治方面的处理方式相同。

1.3 测定项目

1.3.1 常规指标测定

小青菜每次样品采收后称取鲜质量作为其产量, 部分样品在 105 °C 下杀青 30 min, 70 °C 下烘干至质量恒定后称干质量作为其干物质量, 粉碎过 60 目筛(孔径 0.25 mm)后, 用 Kjeldahl 法测定植株全氮含量。剩余样品保存至 -80 °C 环境中, 用于酶活性测定。叶片叶绿素相对含量(SPAD 值)采用 SPAD-502 仪测定^[26]。

1.3.2 氮素吸收转化相关酶活性测定

采用酶联免疫吸附法测定小青菜中的硝酸还原酶(NR)、亚硝酸还原酶(NiR)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、谷氨酸合成酶(GOGAT)、谷氨酰胺合成酶(GS)的活性。分别称取 0.1 g 小青菜样本, 加入 1 mL 提取液, 冰浴研磨, 离心后提取上清液于 96 孔 UV 板中, 加入试剂后在不同吸光度条件下用酶标仪进行酶活性测定。NR、GDH、GOGAT、GS 试剂盒购买于北京索莱宝生物有限公司, NiR 试剂盒购买于上海酶联生物有限公司。

1.3.3 参数计算及数据统计分析

氮素吸收效率(g·g⁻¹)=氮素吸收总量/供氮量×100%^[27]

氮素利用率(%)=(氮素吸收量-对照组氮素吸收量)/供氮量^[27]

采用 SPSS 23.0 软件进行方差分析, 均值以最小显著性差异法进行检验。采用 Origin 2018 制图, 偏最小二乘路径(PLS-PM)模型利用 R 语言中“plsmpm”软件包进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同稀释倍数热碱液对小青菜 SPAD 和生物量的影响

小青菜 SPAD 在整个生育期内呈先升高后降低的趋势(图 1a), 喷施不同稀释倍数的热碱液处理较 CK 均能显著提高 SPAD 值, 其中 T2、T3 处理的 SPAD 值在整个生育期内均保持较高水平, 分别比 CK 处理高出 10.02%、9.05%。

小青菜干物质量在整个生育期内呈升高趋势(图 1b), 喷施不同稀释倍数的热碱液处理较 CK 均能显著提高干物质量, 且与其他喷施处理相比, T2 处理在整个生育期内保持较高的生物量水平, 3 次采样分别高出 7.14%~33.66%、15.79%~61.96% 和 13.54%~24.38%, 并且可提高小青菜前期生长发育速率, 加快作物生长。

2.2 不同稀释倍数热碱液对小青菜产量和氮素吸收利用的影响

与 CK 相比, 不同稀释倍数条件下小青菜的产量、地上部氮素累积量均有所提升(表 2), 分别增加 0.86%~24.38% 和 7.87%~45.85%。产量、地上部氮素累积量随着喷施热碱液稀释倍数的增加呈先增加后降低的趋势, 在 T2 处理中达到最高值, 分别比其他喷施处理增加 13.54%~23.31% 和 10.56%~35.21%。

随着喷施热碱液稀释倍数的增加, 氮素吸收效率及氮素利用效率均呈先增加后降低的趋势(表 2), 但均高于 CK 处理。在 T2 处理中, 氮素吸收效率、氮素利用效率达到峰值, 分别比其他喷施处理增加 10.56%~45.85% 和 13.54%~24.38%, 说明喷施稀释倍数为 400 倍的热碱液对小青菜氮素的吸收利用有显著效果。

2.3 不同稀释倍数热碱液对小青菜氮素同化相关酶活性的影响

2.3.1 硝态氮同化酶活性

在定苗后第二周、第四周和第六周时, 小青菜

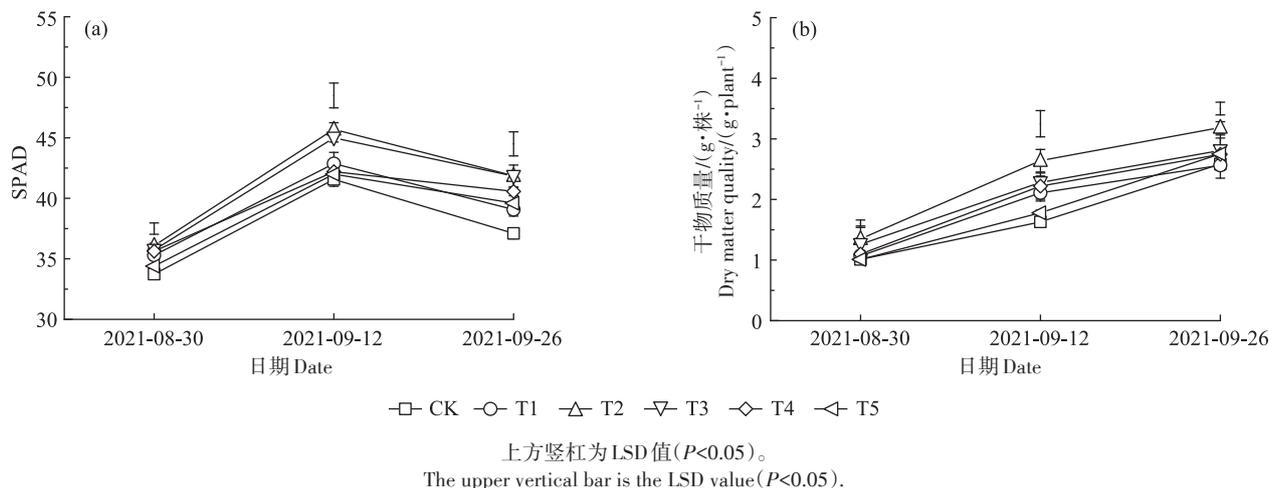


图1 喷施不同稀释倍数热碱液处理对各时期小青菜SPAD和干物质质量的影响

Figure 1 Effects of different concentrations of alkaline thermal hydrolysis liquid spraying treatments on SPAD and dry matter quality in *Brassica chinensis* in different periods

NR活性随着喷施热碱液稀释倍数的增加呈现先升高后下降的趋势(图2a),但均显著高于CK处理。在T2处理中,小青菜的NR活性最高,在第二周、第四周和第六周时分别比其他喷施处理增加10.43%~89.12%、13.21%~63.62%和7.01%~64.21%。同时,在定苗后第二周,各喷施热碱液处理中T2与T3、T4和T5均有显著差异,在定苗后第四周,T2与T4和T5均有显著差异,但在第六周后喷施热碱液处理间无显著差异,说明喷施热碱液稀释倍数为400倍的处理能够在小青菜生长前四周内提高NR活性,这可能是由于热碱液中小分子有机物质为氮代谢提供了能量和碳

骨架,加强了碳代谢,从而提高了NR活性^[28]。

在定苗后第二周、第四周和第六周中,小青菜NiR活性随着喷施热碱液稀释倍数的增加而呈现先升高后下降的趋势(图2b),但均显著高于CK处理。在T2处理中,小青菜的NiR活性最大,在第二周、第四周和第六周时分别比其他处理增加3.53%~61.36%、7.42%~33.41%和4.27%~44.33%。同时,随着喷施热碱液稀释倍数的增加,在定苗后第二周,各喷施热碱液处理中T2与T3、T4和T5均有显著差异,在定苗后第四周,T2与T1、T3、T4和T5均有显著差异,在定苗后第六周,T2与T3、T4和T5均有显著差异,说明喷施热碱液稀释倍数为400倍的处理能够提高NiR活性,从而促进对氮素的吸收利用。并且,不同时期和不同稀释倍数均对NR、NiR有交互影响。

2.3.2 氨态氮同化酶活性

在定苗后第二周、第四周和第六周时,小青菜GDH活性随着热碱液稀释倍数的增加,呈先升高后降低的趋势(图3a),但均显著高于CK处理。T2处理中,小青菜GDH活性达到峰值,在第二周、第四周和第六周时分别比其他喷施处理增加13.31%~62.95%、14.08%~70.47%和3.08%~39.43%。定苗后小青菜体内GDH活性随生长发育呈上升趋势,但在第六周时,各热碱液处理间无显著差异,说明小青菜喷施热碱液可显著加快作物体内GDH活性的升高速率并在后期保持较高水平,其中稀释倍数为400的倍处理可在较短时间内提高作物体内GDH活性,以促进作物对谷氨酸的合成,提高作物对氮素的吸收同化。

小青菜在定苗后第二周,各处理间GS活性无显

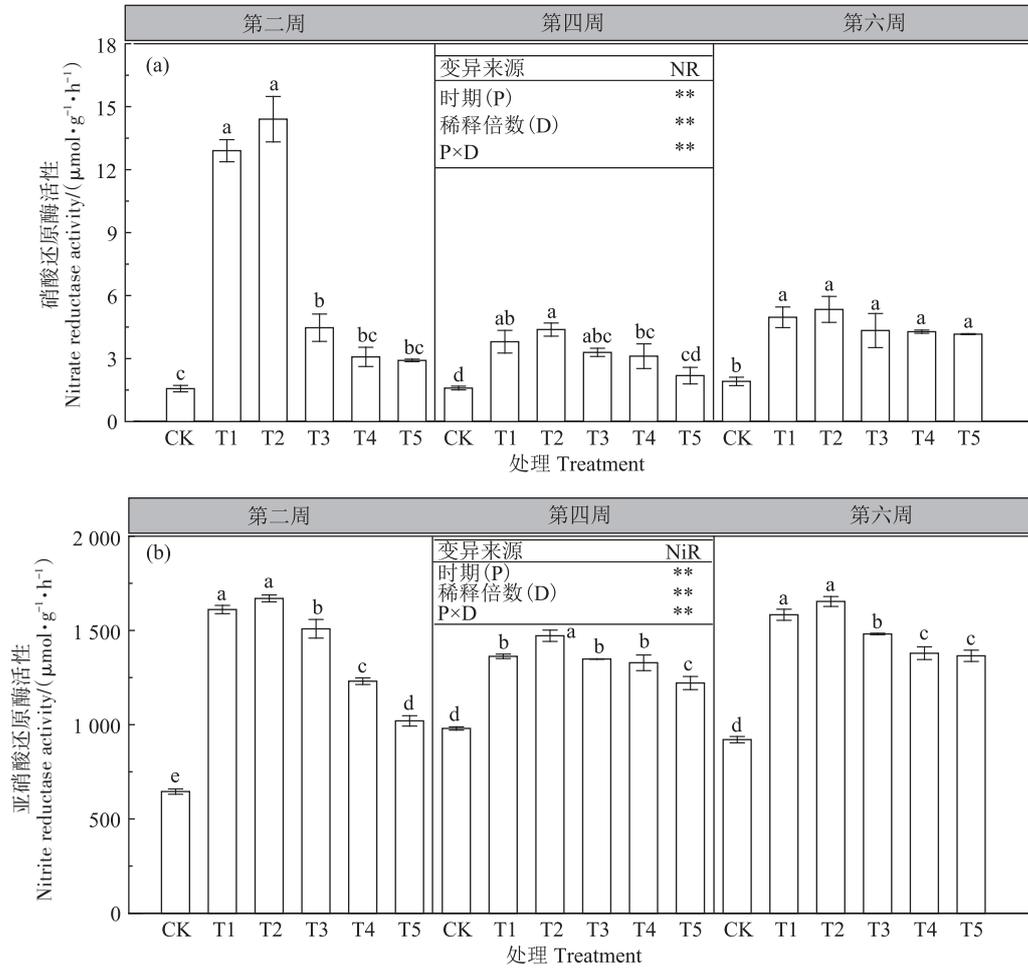
表2 喷施不同稀释倍数热碱液对小青菜产量、氮素吸收利用的影响

Table 2 Effects of yield, nitrogen absorption and utilization in *Brassica chinensis* at different stages of different concentration of alkaline thermal hydrolysis liquid spraying treatments

处理 Treatment	产量/ Yield/ (g·plant ⁻¹)	地上部氮累积量/ (mg·株 ⁻¹)		氮素吸收效率	
		Aboveground nitrogen accumulation/ (mg·plant ⁻¹)	Nitrogen uptake efficiency/ (g·g ⁻¹)	氮素利用效率	
CK	47.13±3.89b	86.92±4.01c	0.29±0.01c	9.18±0.08b	
T1	47.53±0.46b	114.67±7.07ab	0.38±0.02ab	13.18±0.02a	
T2	58.62±1.77a	126.78±5.86a	0.42±0.02a	7.22±0.01b	
T3	51.63±4.71ab	108.75±3.66abc	0.36±0.01abc	6.51±0.05b	
T4	50.60±0.28ab	106.61±13.79abc	0.35±0.05abc	2.26±0.01c	
T5	50.47±4.93ab	93.76±2.25bc	0.31±0.01bc		

注:同列不同字母表示不同处理间差异在P<0.05水平显著。

Note: Different letters in the same column indicate significant difference between treatments at P<0.05 level.



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. 下同。

The different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. The same below.

图2 喷施不同稀释倍数热碱液处理下各时期中小青菜中硝酸还原酶(NR)和亚硝酸还原酶(NiR)的活性

Figure 2 Nitrate reductase(NR) and nitrite reductase(NiR) activities in *Brassica chinensis* at different stages of different concentration of alkaline thermal hydrolysis liquid spraying treatments

著差异,在第六周,T1和T2处理显著高于CK,其余各处理与CK无显著差异。在第四周,GS活性随着喷施热碱液稀释倍数的增加,呈先增加后下降的趋势(图3b),在T2处理中达到最高值,分别比其他喷施处理显著增加3.11%~62.78%,说明在该时期内喷施热碱液可明显提高小青菜中GS活性,并且在稀释倍数为400倍时效果最好。在小青菜定苗后第二周、第四周和第六周中,随着喷施热碱液稀释倍数的增加,GOGAT活性呈先升高后下降的趋势(图3b),T2处理分别比其他喷施处理显著增加56.91%~74.67%、19.46%~53.79%和30.46%~79.39%,从而促进GS-GOGAT循环,提高氮素的吸收利用。定苗后小青菜体内GS活性随生长发育呈先上升后下降的趋势,但在第四周时喷施热碱液处理与CK处理有显著差异,说明稀释倍数为400倍的喷施热碱液可提高小青菜

体内GS活性峰值,促进谷氨酰胺的形成。定苗后小青菜体内GOGAT活性随生长发育呈稳定状态,但在稀释倍数为400倍条件下显著高于其他处理,并在小青菜整个生育期可保持较高值,以此保持对氮素较高水平的吸收转化。

总体而言,在小青菜生长发育期间喷施热碱液可明显提高小青菜中GDH、GOGAT、GS活性,并且在稀释倍数为400倍时效果最佳,从而提高了小青菜对氮素的同化。并且不同时期和不同稀释倍数均对GDH、GS和GOGAT有交互影响。

2.4 偏最小二乘路径分析(PLS-PM)

由图4a可知,为了最大限度解释各种酶对小青菜氮素吸收同化及产量的相互作用,利用PLS-PM进一步解释NR、NiR、GDH、GOGAT、GS对小青菜氮素吸收和产量的直接及间接影响,该模型对数据的拟合优度

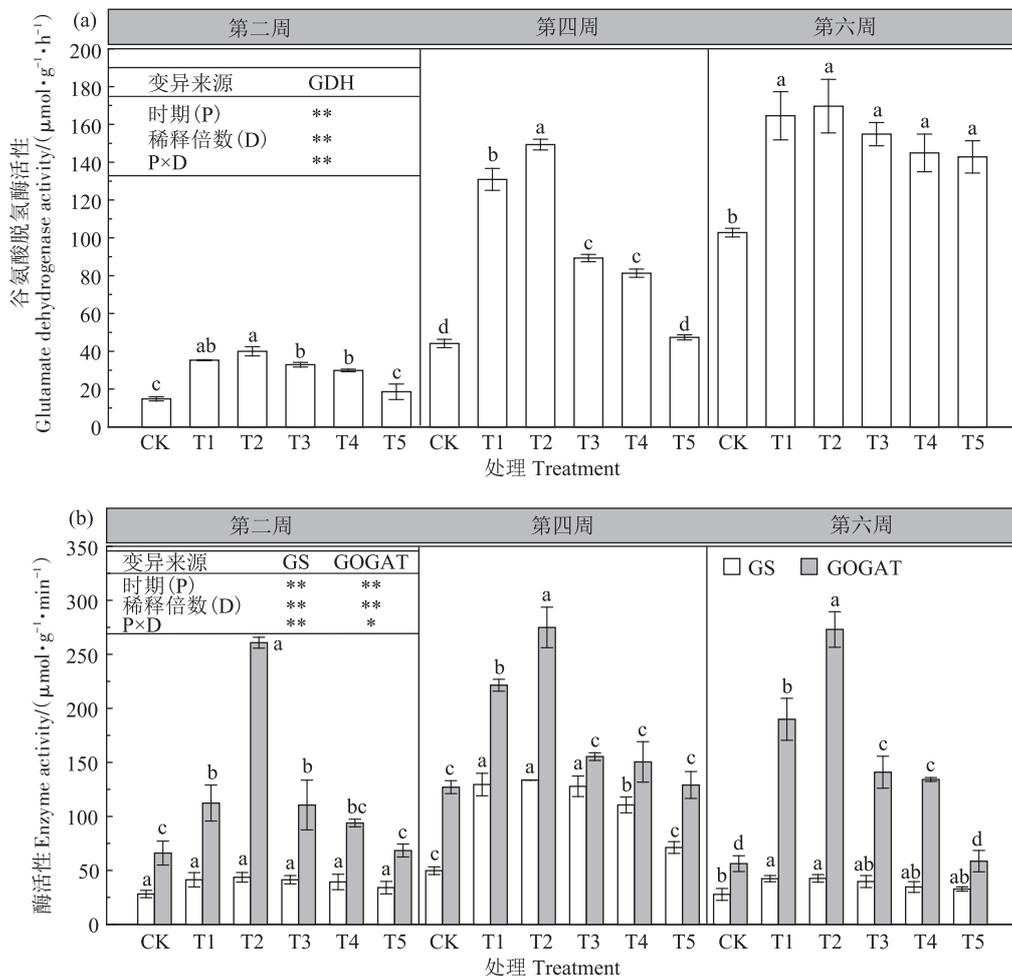


图3 喷施不同稀释倍数热碱液处理下各时期小青菜中谷氨酸脱氢酶(GDH)、谷氨酸合成酶(GOGAT)和谷氨酰胺合成酶(GS)活性
Figure 3 Glutamate dehydrogenase(GDH), glutamate synthase(GOGAT) and glutamine synthase(GS) activities in *Brassica chinensis* at different stages of different concentration of alkaline thermal hydrolysis liquid spraying treatments

为0.81。NR显著影响了NiR活性(0.895)和氮素累积量(0.642);GS显著影响了氮素累积量(0.418);小青菜产量主要受GOGAT(1.33)及氮素累积量(0.859)的影响;NR对产量的影响存在负作用(-1.02)。

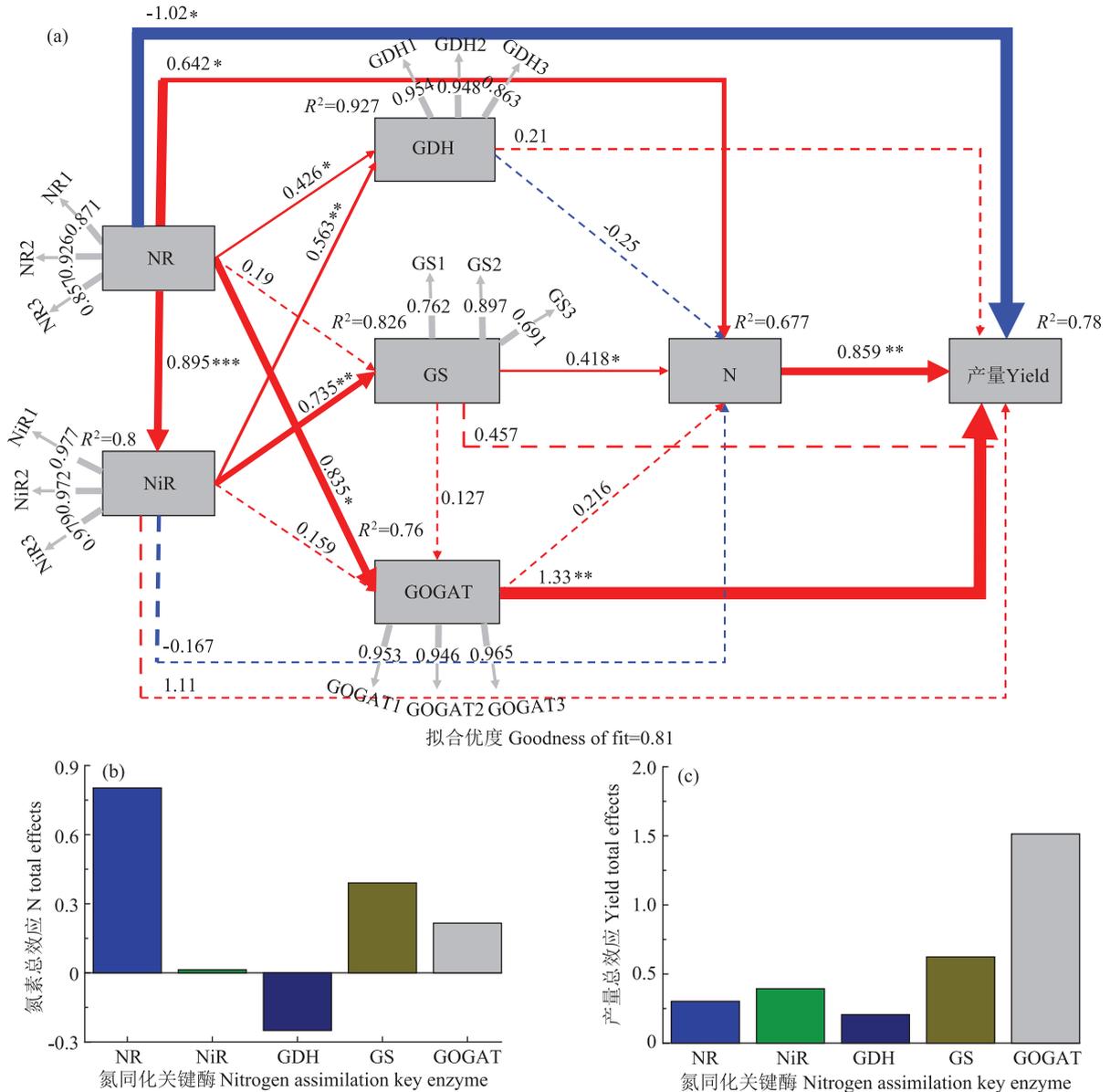
由图4b可知,在氮素累积量的总效应中,NR对其影响最大,为0.802 8,其次是GS、GOGAT,分别为0.390 7和0.216, GDH对氮素累积量存在负效应(-0.250 1)。由图4c可知,在产量的总效应中,所有酶对其影响均为正效应,其中,GS、GOGAT对其影响最大,分别为0.623 6和1.513 8,由此说明,GS-GOGAT循环对产量的提升具有重要作用。

3 讨论

3.1 不同稀释倍数热碱液对小青菜SPAD、产量和氮素累积量的影响

喷施蛋白、氨基酸类物质可促进作物体内氮素转

化从而提高产量^[28]。本研究中,喷施热碱液能促进小青菜对氮素的吸收利用,提高SPAD、产量、氮素吸收效率和利用效率(图1,表2)。有研究表明,小分子有机物不仅可以被植物直接吸收以为自身生长的新陈代谢提供碳源,从而促进作物对养分的吸收利用,刺激根系发育,增加对养分的吸收面积,提高养分累积量,还可为作物直接提供矿物养分,如氨基酸提供氮养分,增加作物体内氮素含量^[29]。同时,氮素利用是植物生长发育的重要生理活动,叶绿素含量、酶的调整,对氮素的吸收和利用有很大影响^[30],本试验结果表明随着喷施热碱液稀释倍数的增加,小青菜SPAD、氮素累积量和产量等呈先升高后降低的趋势(图1,表2),并且在稀释倍数为400倍时SPAD、产量和氮素累积量达到最大值,分别为41.87、58.62 $\text{g}\cdot\text{株}^{-1}$ 和126.78 $\text{mg}\cdot\text{株}^{-1}$ 。有研究表明,氨基酸叶面喷施可促进叶菜生长及其对养分的吸收,从而提高产量^[31],同时,



每个方框代表一个观测变量。箭头的宽度与路径的强度成正比。蓝色和红色箭头分别表示正、负显著影响。箭头上的数字表示重要的标准化路径系数。 R^2 表示模型解释的因变量方差。内模系数与0有显著差异性,分别为* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$,与0没有显著差异的路径显示为虚线。利用拟合优度统计量对模型进行总体评价。

Each box represents an observation variable. The width of arrows is proportional to the strength of path coefficients. The blue and red arrows indicate positive and negative significant effects, respectively. Numbers on the arrow indicate significant standardized path coefficients. R^2 indicates the variance of dependent variable explained by the model. Coefficients of inner model differ significantly from 0 are indicated by * is $P<0.05$, ** is $P<0.01$, *** is $P<0.001$, path coefficients that were not significantly different from 0 were shown as dashed lines. The model is assessed using the Goodness of Fit statistic.

图4 偏最小二乘路径(PLS-PM)模型中NR、NiR、GDH、GS及GOGAT对小青菜氮素吸收及产量的直接或间接影响分析(a)和小青菜氮素吸收(b)及产量(c)的影响效应

Figure 4 Partial least squares path modeling(PLS-PM) showed the direct and indirect effects of NR, NiR, GDH, GS and GOGAT on nitrogen absorption and yield of *Brassica chinensis*(a) and effects of NR, NiR, GDH, GS and GOGAT on nitrogen absorption(b) and yield (c) of *Brassica chinensis*

喷施适宜的稀释倍数对叶菜生长的促进效果最佳,这可能是因为合理的稀释倍数下喷施热碱液,小青菜的叶片可以较大程度地吸收其中的氨基酸等养分,过

高稀释倍数会降低养分含量、过低稀释倍数会造成烧苗现象^[22],从而降低喷施效果,对作物生长起到抑制作用^[22]。

3.2 不同稀释倍数热碱液对小青菜氮素同化相关酶活性的影响

硝态氮同化过程是主要的氮调控过程,该过程主要受到NR和NiR的作用,其中,NR是氮代谢重要的调节和限速酶^[27]。本试验结果表明,喷施热碱液稀释倍数为400倍的处理能够提高小青菜NR、NiR活性(图2),同时,NR对氮素吸收具有重要作用(图4b),也对产量的提升具有正效应(图4c)。这可能是由于热碱液中小分子有机物质加强碳代谢为氮代谢提供能量,提高了NR、NiR活性^[28],从而促进了对氮素的同化,提升了产量。有研究发现,喷施 γ -氨基丁酸可使生菜、油菜和韭菜中NR、NiR活性升高,从而促进叶菜内氮素的同化吸收^[33];叶面喷施蛋氨酸也可提高小白菜中NR、NiR活性,从而促进产量的提升^[34]。

硝态氮同化形成的 NH_4^+-N 在GDH的催化作用下,参与氨基酸降解过程中的氧化脱氨作用,催化合成与分解谷氨酸;在GS-GOGAT循环途径中形成谷氨酸和谷氨酰胺,最终通过氨基交换作用形成其他氨基酸或酰胺^[35-36]。本试验结果表明,随着喷施热碱液稀释倍数的增加各种酶的活性呈先升高后降低的趋势,小青菜在整个生育期中GDH和GOAGT活性在稀释倍数为400倍条件下表现出较高酶活性,并且能够保持较高水平(图3),但GDH对氮素吸收存在负效应(图4b),这可能是因为喷施热碱液后作物直接吸收其中小分子氨基酸,当外源小分子氨基酸足够时,小青菜体内氮素同化主要以GS-GOGAT途径为主,从而使植物体内GDH途径发生可逆反应,为TCA循环提供碳骨架^[37-38]。在小青菜生长发育第二周和第六周喷施热碱液,GS活性较第四周有所降低,但在稀释倍数为400倍时有较高活性(图3),这可能是因为生长在发育前期小青菜直接吸收热碱液中的小分子氨基酸,从而降低了对酰胺等大分子氨基酸的合成,后期作物趋于成熟也会减缓对大分子氨基酸的合成^[39-40],同时GDH催化作用下会产生 H^+ , H^+ 浓度升高会抑制GS活性,从而造成GS活性下降^[41]。GOGAT主要在植物体内参与谷氨酸等小分子的分解和代谢^[42],谷氨酸可以通过植物中的氨基酸转运体被植物直接吸收^[43],同时谷氨酸既是GS过程的底物,又是循环中关联的GOGAT过程的产物,为转化为其他氨基酸提供了氨基供体^[44],在氮素吸收中具有重要作用^[45]。本研究表明,稀释倍数为400倍时喷施热碱液对小青菜酶活性具有良好的促进作用(图3),GOGAT对产量的增加具有显著作用(图4c),这可能是因为合理稀

释倍数时,小青菜可最大限度地吸收外源氨基酸等养分,谷氨酰胺和谷氨酸的吸收可促进GS、GOGAT活性,当其含量充足时会影响作物体内氮同化相关酶基因的表达,从而提高GS、GOGAT活性^[46-47],促进对氮素的吸收,对小青菜生长产生显著效果。Geng等^[48]和Li等^[49]的研究结果表明,适量肥料可提高作物中GS、GOGAT的活性,促进氮素的累积,从而提升产量,但过量施肥会降低其活性,影响作物产量;也有研究表明,在适宜浓度下对作物进行喷施处理,可提高氮素代谢循环中关键酶活性,从而提高产量^[50]。叶面施用氮肥可提高NR、GS和GOGAT活性,从而改善氮素营养,提高氮素利用率,促进产量的提升^[51],本试验叶面喷施热碱液促进小青菜氮素的同化机理与前人的研究具有一定的相似性。

4 结论

(1)热碱液在不同喷施稀释倍数(200、400、600、800、1 000倍)条件下对小青菜产量及氮素同化相关酶活性的影响较大,稀释倍数为400倍的处理会提高硝酸还原酶(NR)、亚硝酸还原酶(NiR)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、谷氨酸合成酶(GOGAT)、谷氨酰胺合成酶(GS)的活性,且叶绿素相对含量(SPAD)和产量等达到最高,过高或过低的稀释倍数都会不同程度降低酶活性,从而影响作物对氮素的吸收同化。

(2)通过偏最小二乘路径模型分析可知,NR、GS和GOGAT对氮素吸收具有显著作用,GOGAT对产量的增加具有显著效果。

参考文献:

- [1] MCFARLIND J, RUESS R, KIELLAND K, et al. Cross-ecosystem comparisons of *in situ* plant uptake of amino acid-N and NH_4^+ [J]. *Ecosystems*, 2010, 13:177-193.
- [2] SOPER F M, PAUNGFEE-LONHIENNE C, BRACKIN R, et al. Susanne schmidt and nicole robinson arabidopsis and lobelia anceps access small peptides as a nitrogen source for growth[J]. *Functional Plant Biology*, 2011, 38:788-796.
- [3] KOMAROVA N Y, THOR K, GUBLER A, et al. AtPTR1 and AtPTR5 transport dipeptides in planta[J]. *Plant Physiology*, 2008, 148: 856-869.
- [4] PAUNGFEE-LONHIENNE C, SCHENK P M, LONHIENNE T G A, et al. Nitrogen affects cluster root formation and expression of putative peptide transporters[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60:2665-2676.
- [5] WANG J, LIN Z, WANG Y, et al. Production of a water-soluble fertilizer containing amino acids by solid state fermentation of soybean meal

- and evaluation of its efficacy on the rapeseed growth[J]. *Journal of Biotechnology*, 2014, 187:34-42.
- [6] TANG Y F, XIE H, SUN J, et al. Alkaline thermal hydrolysis of sewage sludge to produce high-quality liquid fertilizer rich in nitrogen-containing plant-growth-promoting nutrients and biostimulants[J]. *Water Research*, 2022, 211:118036.
- [7] 陈小粉. 外加酶促进剩余污泥热水解的研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2011. CHEN X F. Study on the addition of enzymes to promote the hydrolysis of residual sludge[D]. Changsha: Hunan University, 2011.
- [8] 卓杨. 高含固污泥热水解厌氧消化过程中氮硫转化控制及沼气脱硫研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2019. ZHUO Y. Study on nitrogen-sulfur conversion control and biogas desulfurization in the process of hydrolysis-anaerobic digestion of high solid sludge[D]. Xi'an: Xi'an University of Architecture and Technology, 2019.
- [9] SOURI M K. Amino chelate fertilizers: the new approach to the old problem: a review[J]. *Open Agriculture*, 2016, 1(1):118-123.
- [10] SHAFEEK M R, ALI A H, MAHMOUD A R, et al. Effects of foliar application of amino acid and bio fertilizer on growth and yield of onion plant under newly reclaimed land conditions[J]. *Middle East Journal of Applied Sciences*, 2018:1197-1206.
- [11] LIU X Q, KO K Y, KIM S H, et al. Effect of amino acid fertilization on nitrate assimilation of leafy radish and soil chemical properties in high nitrate soil[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2008, 39(1/2):269-281.
- [12] 周洲. 叶面喷施氨基酸和海藻提取混合物可改善柑桔的营养生长、产量和品质[J]. 中国果业信息, 2022, 39(2):52. ZHOU Z. Foliar spraying of amino acids and seaweed extraction mixtures can improve the vegetative growth, yield and quality of citrus[J]. *China Fruit Industry Information*, 2022, 39(2):52.
- [13] 全思懋. 不同叶面肥配方对蔬菜生长和品质的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2007. QUAN S M. Effects of different foliar fertilizer formulations on vegetable growth and quality[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2007.
- [14] 孙钦平, 刘本生, 李吉进, 等. 沼液叶面喷施对油菜产量、品质和氮素利用率的影响[J]. 中国沼气, 2013, 31(1):48-50. SUN Q P, LIU B S, LI J J, et al. Effects of foliar spraying of biogas slurry on yield, quality and nitrogen use efficiency of rapeseed[J]. *China Biogas*, 2013, 31(1):48-50.
- [15] KOUKOUNARAS A, TSOVALTZIS P, SIOMOS A S. Effect of root and foliar application of amino acids on the growth and yield of greenhouse tomato in different fertilization levels[J]. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 2013, 11(2):644-648.
- [16] ABD EL-AAL M. Effect of foliar spray with Litovitz and amino acids on growth, bio-constituents, anatomical and yield features of soybean plant[J]. *Annals of Agricultural Science*, 2018, 56(4):187-202.
- [17] 刘莹. 城市污水处理厂污泥处理处置现状与技术研究[J]. 节能与环保, 2019(1):78-79. LIU Y. Research on the status quo and technology of sludge treatment and disposal in urban sewage treatment plants[J]. *Energy Conservation and Environmental Protection*, 2019, (1):78-79.
- [18] KELESSIDIS A, STASINAKIS A S. Comparative study of the methods used for treatment and final disposal of sewage sludge in European countries[J]. *Waste Manage(Oxford)*, 2012, 32(6):1186-1195.
- [19] YANG G, ZHANG G, WANG H. Current state of sludge production, management, treatment and disposal in China[J]. *Water Research*, 2015, 78:60-73.
- [20] GSO N, QUSN C, LIU B, et al. Continuous pyrolysis of sewage sludge in a screw-feeding reactor: products characterization and ecological risk assessment of heavy metals[J]. *Energy Fuels*, 2017, 31(5):5063-5072.
- [21] CHEN H, CHEN D, HONG L. Influence of activation agent impregnated sewage sludge pyrolysis on emission characteristics of volatile combustion and De-NOx performance of activated char[J]. *Appl Energy*, 2015, 156:767-775.
- [22] 陈嘉军, 林祥, 谷淑波, 等. 花后叶面喷施尿素对冬小麦氮素吸收利用和产量的影响[J]. 作物学报, 2023, 49(1):277-285. CHEN J J, LIN X, GU S B, et al. Effects of post-flowering urea spraying on nitrogen uptake, utilization and yield of winter wheat[J]. *Acta Crops*, 2023, 49(1):277-285.
- [23] 圣亚男, 杨延杰, 陈丽平. 叶面喷施氨基酸水溶肥对生菜产量和品质的影响[J]. 辽宁农业科学, 2019(4):29-31. SHENG Y N, YANG Y J, CHEN L P. Effects of foliar spraying of amino acid water-soluble fertilizer on yield and quality of lettuce[J]. *Liaoning Agricultural Sciences*, 2019(4):29-31.
- [24] 范蓓蓓. 浓缩沼液的配方有机液肥开发研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015. FAN B B. Development and research of formula organic liquid fertilizer for concentrated biogas liquor[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015.
- [25] 崔静, 董岸杰, 张卫江, 等. 热碱水解提取污泥蛋白质的实验研究[J]. 环境工程学报, 2009, 3(10):1889-1892. CUI J, DONG A J, ZHANG W J, et al. Experimental study on extraction of sludge protein by hot alkali hydrolysis[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2009, 3(10):1889-1892.
- [26] 鲍士旦. 土壤农业化学分析[M]. 三版. 北京: 中国农业出版社, 2000. BAO S D. Soil agrochemical analysis[M]. 3rd Edition. Beijing: China Agricultural Press, 2000.
- [27] 罗跃, 张爱华, 王文华, 等. 贵州稻区产量、养分吸收利用对控释尿素的响应[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(5):81-88. LUO Y, ZHANG A H, WANG W H, et al. Responses of yield, nutrient uptake and utilization to controlled-release urea in rice areas of Guizhou[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2022, 50(5):81-88.
- [28] SOLOMONSON L P, SPEHAR A M. Model for the regulation of nitrate assimilation[J]. *Nature*, 1977, 265(5592):373-375.
- [29] 宋阳, 崔世茂, 杜金伟, 等. 氮肥不同施用量对葡萄叶片生长及根、叶细胞结构的影响[J]. 华北农学报, 2008, 23(3):204-208. SONG Y, CUI S M, DU J W, et al. Effects of different nitrogen application rates on leaf growth and root and leaf cell structure of grapes[J]. *North China Journal of Agricultural Sciences*, 2008, 23(3):204-208.
- [30] LUO J, QIN J, HE F, et al. Net fluxes of ammonium and nitrate in association with H⁺ fluxes in fine roots of *Populus popularize*[J]. *Planta*, 2013, 237(4):919-931.
- [31] 于会丽, 林治安, 李燕婷, 等. 喷施小分子有机物对小油菜生长发

- 育和养分吸收的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(6): 1560-1568. YU H L, LIN Z A, LI Y T, et al. Effects of spraying small molecule organic compounds on growth, development and nutrient uptake of small rapeseed[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2014, 20(6): 1560-1568.
- [32] 董瑞. 叶面喷施氮肥对小麦生理特性、产量及品质的影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2015. DONG R. Effects of foliar nitrogen spraying on physiological characteristics, yield and quality of wheat [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2015.
- [33] 王祥. γ -氨基丁酸对叶菜类蔬菜硝酸盐代谢的影响[D]. 保定:河北农业大学, 2014. WANG X. Effect of γ -aminobutyric acid on nitrate metabolism in leafy vegetables[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2014.
- [34] 张木, 胡承孝, 孙学成, 等. 叶面喷施微量元素和氨基酸对小白菜产量及品质的影响[J]. 华中农业大学学报, 2011, 30(5): 613-617. ZHANG M, HU C X, SUN X C, et al. Effects of foliar spraying of trace elements and amino acids on yield and quality of Chinese cabbage [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2011, 30(5): 613-617.
- [35] SHAH J M, BUKHARI S A H, ZENG J, et al. Nitrogen (N) metabolism related enzyme activities, cell ultrastructure and nutrient contents as affected by N level and barley genotype[J]. *J Integrate Agric*, 2017, 16(1): 190-198.
- [36] SOPER F M, PAUNGF00-LONHIEENNE C, BRACKIN R, et al. *Arabidopsis* and *Lobelia anceps* access small peptides as a nitrogen source for growth[J]. *Functional Plant Biology*, 2011, 38: 788-796.
- [37] 罗连光, 田昌, 颜应成, 等. 无机肥配施生物有机肥对超级稻Y两优1号产量及碳氮代谢的影响[J]. 杂交水稻, 2011, 26(1): 61-64. LUO L G, TIAN C, YAN Y C, et al. Effects of inorganic fertilizer combined with bio-organic fertilizer on yield and carbon and nitrogen metabolism of Super Rice Y Liang you No. 1[J]. *Hybrid Rice*, 2011, 26(1): 61-64.
- [38] 邱旭华. 水稻氮代谢基础研究: 谷氨酸脱氢酶作用的分子机理 [D]. 武汉:华中农业大学, 2009. QIU X H. Basic research on nitrogen metabolism in rice: molecular mechanism of glutamate dehydrogenase action[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2009.
- [39] ZHANG J W, WANG K J, HU C H, et al. Effect of nitrogen application period on forage nutrition value of summer maize[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2002, 33(2): 1337-1342.
- [40] LIU S Y, DONG S T, ZHAO B Q, et al. Effects of long terms fertilization on key enzyme activities of nitrogen metabolism in summer maize leaves[J]. *Trans China Acta Agronomica Sinica*, 2007, 33(2): 278-283.
- [41] LIBERT, B, FRANCESCHI V R. Oxalate in crop plants[J]. *J Agric Food Chem*, 1987, 35: 926-938.
- [42] DUBOIS F, TERCE-LAFORGUE T, GONZALEZ-MORO M B, et al. Glutamate dehydrogenase in plants; is there a new story for an old enzyme[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2003, 41: 565-576.
- [43] GALLET-BUDYNEK A, BRZOSTEK E, RODGERS V L, et al. Intact amino acid uptake by northern hardwood and conifer trees[J]. *Oecologia*, 2009, 160: 129-138.
- [44] KUMAR R G, SHAH K, DUBEY R S. Salinity induced behavioral changes in malate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase activities in rice seedlings of differing salt tolerance[J]. *Plant Sci*, 2000, 156(1): 23-34.
- [45] 邓扬悟. 甜瓜谷氨酰胺合成酶基因的克隆和功能研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2010. DENG Y W. Cloning and function of glutamine synthase gene in melon[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2010.
- [46] 汪建飞, 董彩霞, 沈其荣. 氮素不同形态对比对菠菜体内游离氨基酸含量和相关酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2007, 13(4): 664-670. WANG J F, DONG C X, SHEN Q R. Effects of different nitrogen morphological ratios on free amino acid content and related enzyme activities in Spinach[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2007, 13(4): 664-670.
- [47] OLIVEIRA I C, CORUZZI G M. Carbon and amino acids reciprocally modulate the expression of glutamine synthetase in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol*, 1999, 121: 301-310.
- [48] GENG Y H, LI G, CAO X Y. Effect of different nutrition levels of nitrogen and potassium on ammonia metabolism of spring maize[J]. *Journal of Maize Science*, 2009, 17(6): 101-104.
- [49] LI W L, LV Y J, LIU X M, et al. Effects of nitrogen fertilizer on nitrogen metabolizing enzymes, nitrogen utilization and yield of maize with different nitrogen efficiency[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2018, 31: 1829-1835.
- [50] 彭永彬. 叶面喷施肥五种氮肥对葡萄生长发育及氮代谢相关基因表达的影响[D]. 南京:南京农业大学, 2014. PENG Y B. Effects of foliar spraying of five nitrogen fertilizers on grape growth and development and expression of genes related to nitrogen metabolism[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.
- [51] 李永旗. 叶施尿素对棉花氮素吸收利用分配及生理生化特性的影响[D]. 北京:中国农业科学院, 2014. LI Y Q. Effects of leaf application of urea on nitrogen uptake, utilization, physiological and biochemical characteristics of cotton[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014.