

# 根际不同供氮水平对紫青菜生长和营养品质的影响

刘爱荣<sup>a</sup>, 张远兵<sup>b</sup>, 黄守程<sup>a</sup>, 胡能兵<sup>c</sup>, 林平<sup>c</sup>

(安徽科技学院, a. 生命科学学院; b. 建筑学院; c. 农学院, 安徽 凤阳 233100)

**摘要:** 为了解根际供氮对紫青菜(*Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *communis*)生长和营养品质的影响, 用不同水平的 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 处理, 对紫青菜的生理特性和营养品质进行研究。结果表明, 随着供氮水平的增加, 紫青菜的鲜质量、干质量、根系活力和游离氨基酸含量均呈先上升后略下降趋势; 硝酸还原酶(NR)活性、叶绿素含量、 $\text{NO}_3^-$ 含量和可溶性蛋白质含量均呈上升趋势; DPPH·自由基清除率、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)同工酶和过氧化氢酶(CAT)同工酶活性等均提高; 而花青素苷相对含量、可溶性糖含量、维生素 C (Vc)含量、总酚含量和 FRAP 值均呈下降趋势。根际 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 为 $75\sim 300\text{ mg L}^{-1}$ 时, 紫青菜的鲜质量和干质量较低;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 达 $1200\text{ mg L}^{-1}$ 时, 其鲜质量和干质量又低于 $600\text{ mg L}^{-1}$ 处理的, 植株积累较多 $\text{NO}_3^-$ , 导致营养品质下降, 同时根际也积累 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 。因此,  $600\text{ mg L}^{-1}$ 的根际 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 是适宜的氮水平, 其鲜质量和干质量均最高、营养均衡、抗氧化能力强。

**关键词:** 氮素; 紫青菜; 生长; 营养品质; 抗氧化能力

doi: 10.11926/j.issn.1005-3395.2016.01.008

## Effect of Nitrogen Supply Level in Rhizosphere on Growth and Nutritional Quality of Purple Pak-choi

LIU Ai-rong<sup>a</sup>, ZHANG Yuan-bing<sup>b</sup>, HUANG Shou-cheng<sup>a</sup>, HU Neng-bing<sup>c</sup>, LIN Ping<sup>c</sup>

(a. College of Life Science; b. College of Architecture; c. College of Agricultural, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, Anhui, China)

**Abstract:** In order to understand the effects of rhizosphere N supply on the growth and nutritional quality of purple pak-choi (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *communis*), the physiological and nutrition characters were studied treated with different levels of  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . The results showed that the fresh and dry weight, root activity, free amino acid content of purple pak-choi increased initially and then slightly decreased with the N level increment. Nitrate reductase (NR) activity, contents of chlorophyll,  $\text{NO}_3^-$  and soluble protein, and DPPH· radical scavenging rate increased, activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) isozymes showed upward trend, while the contents of relative anthocyanin, soluble sugar, vitamin C (Vc) and total phenols, and FRAP value decreased. Meantime, the fresh and dry weight of purple pak-choi treated with  $75\sim 300\text{ mg L}^{-1}\text{ NH}_4\text{NO}_3$  was low. The fresh and dry weight treated by  $1200\text{ mg L}^{-1}\text{ NH}_4\text{NO}_3$  was lower than that by  $600\text{ mg L}^{-1}\text{ NH}_4\text{NO}_3$ , more  $\text{NO}_3^-$  accumulated in plant led to decline of nutrient quality, and  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  deposited in rhizosphere. So, the optimum level of  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  was  $600\text{ mg L}^{-1}$  because of high fresh and dry weight, balanced nutrition and strong antioxidant ability.

**Key words:** Nitrogen; Purple pak-choi; Growth; Nutritional quality; Antioxidant ability

收稿日期: 2015-01-12

接受日期: 2015-04-24

基金项目: 安徽省科技厅攻关计划项目(1301031030); 安徽省科技厅农业科技成果转化项目(1404032007)资助

This work was supported by the Program for Tackling Key Problems of Anhui Scientific and Technological Department (Grant No. 1301031030), and the Transformation Project for Agricultural Scientific and Technology Achievements of Anhui Scientific and Technological Department (Grant No. 1404032007).

作者简介: 刘爱荣(1966-), 女, 教授, 主要从事植物环境生理方面研究。E-mail: liuar@ahstu.edu.cn

氮素营养对叶菜类作物的生长、产量与营养品质有极其重要的影响<sup>[1-6]</sup>。与其他农作物相比, 叶菜类是嗜氮作物<sup>[1-2]</sup>, 施用氮肥增产明显, 且外观上叶片鲜绿宽大, 光泽度好。因而在高产、高收益刺激下, 栽培过程中常过量施用化学氮肥, 尤其是在设施栽培条件下更为严重。过量偏施氮肥是当前叶菜类施肥中存在的突出问题之一, 既降低氮肥利用率和施用效益; 又易导致硝酸盐积累, 降低品质<sup>[1-7]</sup>; 同时还污染环境<sup>[7-8]</sup>。

当前, 随着经济的发展和水平的提高, 人们不仅关注蔬菜的感官和口味, 而且更加关注其营养品质和抗氧化能力。人们预防氧化损伤相关疾病的有效方法之一就是从小膳食中获得抗氧化物质或具有激活体内抗氧化防御体系功能的物质<sup>[9-10]</sup>。当前, 紫色蔬菜既有非紫色同类蔬菜的营养价值, 又有高含量的花青素, 比普通绿色蔬菜的抗氧化能力强, 具有预防高血压、减缓肝功能障碍等保健功效, 因而市场上紫色蔬菜备受青睐<sup>[11]</sup>。紫青菜(*Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *communis*) 是小白菜的变种<sup>[12]</sup>, 为一种新上市的紫色叶菜类蔬菜, 关于紫青菜的紫色基因定位<sup>[13]</sup>、花色苷组成分析<sup>[14]</sup>、理化性质<sup>[15]</sup>和提取工艺<sup>[12]</sup>已有相关研究, 但不同氮素水平对紫青菜生长、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>含量及抗氧化酶活性的影响还鲜见报道。为此, 本研究采用水培试验, 比较根际不同供氮水平对紫青菜生长、营养品质以及抗氧化能力的影响, 为合理施用氮肥, 获得产量高、营养品质优和抗氧化能力强的紫青菜提供理论依据, 也为避免施用过量氮肥导致土壤和水体污染提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

紫青菜(*Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *communis*) 紫盛<sup>®</sup>品种的种子由烟台奇山种业有限责任公司提供。2013年9月30日将紫青菜种子播入土中, 出苗后常规管理。10月25日选取长势一致的幼苗移入装有等量1/4 Hoagland营养液的塑料盆中, 每盆2株幼苗, 共120盆, 并置于荫棚下。5 d后改用1/2 Hoagland营养液培养。11月16日将紫青菜移到塑料大棚中继续培养, 大棚内自然光强和光照时间, 温度为5℃~28℃, 相对湿度为75%~85%。

### 1.2 试验设计

用KCl和CaCl<sub>2</sub>分别代替Hoagland营养液中的

KNO<sub>3</sub>和Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 即为缺氮的Hoagland营养液<sup>[16]</sup>, 但K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>及其它必需元素浓度不变, 用NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>代替Hoagland营养液中的氮素。11月20日对紫青菜进行不同氮素水平处理。NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>浓度分别为(对照)、75、150、300、600、1200 mg L<sup>-1</sup>, 其中600 mg L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>的氮素浓度为210 mg L<sup>-1</sup>, 与完全Hoagland营养液中的氮素相当; 75、150、300、1200 mg L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>中的氮素则分别与1/8、1/4、1/2和2×Hoagland营养液中的氮素相当; NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>溶液均用缺氮的Hoagland营养液配制。每天补充蒸发的水分, 每3 d更换1次处理液。12月10日开始取样测定, 鲜质量和干质量每处理3次重复, 6株苗为1次重复; 其它指标每处理3次重复, 结果均以平均值±标准误差表示。

### 1.3 方法

从培养盆中将紫青菜植株完整取出, 分别用自来水、蒸馏水快速冲洗干净, 植株表面水分再用吸水纸吸干, 称鲜质量。再将新鲜植株置于105℃烘箱中杀青10 min, 65℃烘干后称干质量。取根尖样品用氯化三苯基四氮唑(TTC)法<sup>[17]</sup>测定根系活力。取同一叶位叶片的相同部位, 用分光光度法<sup>[17]</sup>测定叶绿素含量, 磺胺比色法<sup>[17]</sup>测定硝酸还原酶(NR)活性, 硝基水杨酸法<sup>[18]</sup>测定NO<sub>3</sub><sup>-</sup>含量, Brandford方法<sup>[19]</sup>测定可溶性蛋白含量, 茚三酮法<sup>[20]</sup>测定游离氨基酸含量, 苯酚法<sup>[18]</sup>测定可溶性糖含量。

按照张志良方法<sup>[21]</sup>测定花青素含量, 以A<sub>530</sub>=0.1时的花青素浓度为1个单位(U); 二甲苯-2,6-二氯酚靛酚比色法<sup>[20]</sup>测定维生素(Vc)含量; 按Folin法<sup>[22]</sup>测定总酚含量, 以mg g<sup>-1</sup> FW表示; 参照Benzie等的方法<sup>[23]</sup>测定铁还原抗氧化能力(Ferric reducing antioxidant power, FRAP); 参照Tadolini等<sup>[24]</sup>和Tepe等<sup>[25]</sup>的方法测定DPPH· (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, 即1,1-二苯基-2-三硝基苯肼) 自由基清除率, DPPH· 自由基清除率(%)=(A<sub>对照</sub>-A<sub>样品</sub>)/A<sub>对照</sub>×100%, 其中A<sub>对照</sub>为对照的吸光值; A<sub>样品</sub>为样品反应液的吸光值; 用氮蓝四唑(NBT)法<sup>[17]</sup>测定SOD活性。用Excel进行数据处理, 并用SPSS17.0进行方差分析和多重比较。

取紫青菜功能叶5 g, 加5.0 mL 0.05 mol L<sup>-1</sup>磷酸缓冲液(pH 7.8)冰浴研磨, 4℃下13000×g离心20 min, 取上清液(即粗酶液)进行POD同工酶聚丙烯酰胺凝胶电泳, 30 μL的加样量, 样品为20%蔗

糖:0.1%溴酚蓝:粗酶液=1:1:4的混合液。浓缩胶和分离胶浓度分别为4%和7%，电压分别为100 V和120 V，于4℃下电泳。CAT同工酶的聚丙烯酰胺凝胶电泳基本与POD同工酶的方法相同，只是制备CAT分离胶时，加入占总体积0.5%的可溶性淀粉。电泳结束后，将POD同工酶凝胶用蒸馏水冲洗3次，放入H<sub>2</sub>O:0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:4% NH<sub>4</sub>Cl:5% EDTA-Na<sub>2</sub>:2%联苯胺=9:1:1:1:1的染色液中震荡浸泡，至显现蓝色条带。将CAT同工酶凝胶置于3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:0.1 mol L<sup>-1</sup>磷酸缓冲液(pH 7.0):0.06 mol L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: H<sub>2</sub>O = 5:10: 7:78溶液中震荡浸泡15 min，然后将凝胶置于0.09 mol L<sup>-1</sup> KI:冰醋酸:H<sub>2</sub>O = 5:1:94溶液中浸泡，直至深蓝色背景上出现白色酶带。POD和CAT同工酶凝胶染色或脱色后均用AlphaImager IS- 220USA型凝胶成像系统拍照。

## 2 结果和分析

### 2.1 对生长、根系活力、叶绿素含量及硝酸还原酶(NR)活性的影响

从表1可见，随着供氮水平的提高，紫青菜的鲜质量、干质量和根系活力均呈先上升后略下降趋势；75~600 mg L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>处理的鲜质量、干质量和根系活力分别比对照增加93.48%~476.72%、46.59%~173.74%和13.88%~50.24%；1200 mg L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>处理的分别比对照增加391.78%、155.36%和30.74%，但比600 mg L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>处理的分别下降了17.21%、7.20%和12.98%。NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>处理的叶绿素含量和NR活性分别比对照增加3.53%~24.87%和15.28%~172.21%。鲜质量、干质量、根系活力、叶绿素含量和硝酸还原酶活性与氮素水平均呈正相关

关系，相关系数 $r$ 分别为0.782 ( $P>0.05$ )、0.743 ( $P>0.05$ )、0.454 ( $P>0.05$ )、0.925 ( $P<0.01$ )和0.950 ( $P<0.01$ )。

### 2.2 对营养品质的影响

从表2可看出，NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>处理使紫青菜叶片的NO<sub>3</sub><sup>-</sup>和可溶性蛋白质含量均提高，比对照分别提高90.26%~528.18%和34.49%~159.04%。紫青菜叶片的游离氨基酸含量随NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>处理浓度的升高呈先上升后略下降趋势，75~600 mg L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>处理的游离氨基酸含量比对照高20.43%~248.86%；1200 mg L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>处理的比对照高241.27%，差异显著，但比600 mg L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>处理的低2.21%，差异不显著。NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>处理的紫青菜叶片可溶性糖含量比对照下降了17.28%~62.23%，差异显著。紫青菜叶片的NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、可溶性蛋白质和游离氨基酸含量与氮素水平均呈正相关关系， $r$ 分别为0.999 ( $P<0.01$ )、0.940 ( $P<0.01$ )和0.891 ( $P<0.05$ )；可溶性糖含量则与氮素水平呈负相关关系( $r=-0.883$ )( $P<0.05$ )。

### 2.3 对抗氧化能力的影响

花青素苷、Vc、总酚等均为非酶促抗氧化类物质。随着供氮水平的提高，紫青菜叶片的花青素苷相对含量、Vc、总酚含量均呈下降趋势，分别比对照下降了4.35%~17.16%、16.74%~58.70%和11.00%~40.11% (表3)。它们与氮素水平均呈显著负相关， $r$ 分别为-0.896 ( $P<0.05$ )、-0.900 ( $P<0.05$ )和-0.909 ( $P<0.05$ )。随着供氮水平的提高，FRAP和DPPH·自由基清除率分别比对照下降了9.42%~60.87%和上升了4.95%~31.00%， $r$ 分别为-0.984 ( $P<0.01$ )和0.919 ( $P<0.01$ )。

表1 氮素水平对生长、根系活力、叶绿素含量和硝酸还原酶活性的影响

Table 1 Effects of nitrogen levels on growth, root activity, chlorophyll content, and nitrate reductase activity

NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	鲜质量 Fresh weight (g)	干质量 Dry weight (g)	根系活力 Root activity (mg h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> )	叶绿素含量 Chlorophyll content (mg g <sup>-1</sup> )	硝酸还原酶活性 Nitrate reductase activity (μg h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> )
0	14.32±1.38f	1.44±0.11e	625.71±46.26c	1.35±0.05d	20.35±1.72e
75	27.71±3.25e	2.11±0.18d	712.53±14.47c	1.39±0.04d	23.46±1.16de
150	39.51±1.69d	2.74±0.03c	823.04±67.82b	1.43±0.04cd	27.70±2.37d
300	58.15±1.51c	3.51±0.13b	920.04±77.77a	1.51±0.09bc	35.43±5.23c
600	82.56±3.87a	3.94±0.05a	940.03±52.33a	1.58±0.07ab	49.09±2.28b
1200	70.43±2.61b	3.67±0.03b	818.02±30.42b	1.63±0.04a	55.40±4.32a

同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。下表同。

Data followed different small letters within column indicate significant difference at 0.05 level. The same is following Tables.

表 2 氮素水平对营养品质的影响

Table 2 Effect of nitrogen levels on nutritional quality

NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg g <sup>-1</sup> )	可溶性蛋白含量 (mg g <sup>-1</sup> ) Soluble protein content	游离氨基酸含量 (mg g <sup>-1</sup> ) Free amino acid content	可溶性糖含量 (mg g <sup>-1</sup> ) Soluble sugar content
0	1.17±0.15d	27.37±5.09e	0.52±0.04c	21.52±1.86a
75	1.53±0.11cd	36.81±3.58d	0.62±0.06c	17.80±1.18b
150	2.17±0.31cd	43.44±3.06cd	0.90±0.05b	14.93±0.64c
300	3.00±0.34c	50.26±3.52c	1.02±0.07b	12.97±1.18c
600	5.20±0.71b	60.62±8.55b	1.81±0.14a	10.19±0.28d
1200	8.93±1.78a	70.90±3.25a	1.77±0.22a	8.13±1.00e

表 3 氮素水平对抗氧化能力的影响

Table 3 Effects of nitrogen levels on antioxidant abilities

NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	花青素相对含量 Relative content of anthocyanins (U)	Vc (mg g <sup>-1</sup> )	总酚含量 Total phenols content (mg g <sup>-1</sup> )	FRAP (μmol g <sup>-1</sup> FW)	DPPH· 自由基清除率 DPPH· radical scavenging rate (%)
0	146.12±2.68a	1.09±0.07a	1.07±0.09a	89.31±1.73a	70.10±1.51f
75	139.77±4.85ab	0.91±0.04b	0.95±0.02ab	80.90±2.22b	73.58±2.46e
150	134.67±4.00bc	0.80±0.04bc	0.86±0.03b	78.31±2.24b	78.15±1.60d
300	130.03±3.23cd	0.68±0.03c	0.82±0.01c	65.95±4.99c	83.03±1.17c
600	126.25±3.47de	0.64±0.09c	0.77±0.08c	57.20±5.92d	87.62±1.47b
1200	121.05±3.21e	0.45±0.05d	0.64±0.04d	34.95±1.35e	91.90±0.98a

## 2.4 对 SOD 活性和 POD、CAT 同工酶的影响

从图1可见, 随NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>处理浓度的升高紫青菜叶片SOD活性不断提高, 比对照提高22.07%~193.71%; SOD活性与氮素水平呈正相关,  $r = 0.975$  ( $P < 0.01$ )。紫青菜叶片中有6种POD同工酶(图2), 分别为POD1~POD6, 以POD1活性最强, 其次为POD2和POD3, 且两者差别不明显; 再次为POD6、POD5和POD4。随着供氮水平的提高, POD1、POD2、POD3、POD6活性明显增强, POD5活性也增强但弱于前4种; POD4活性变化不明显。

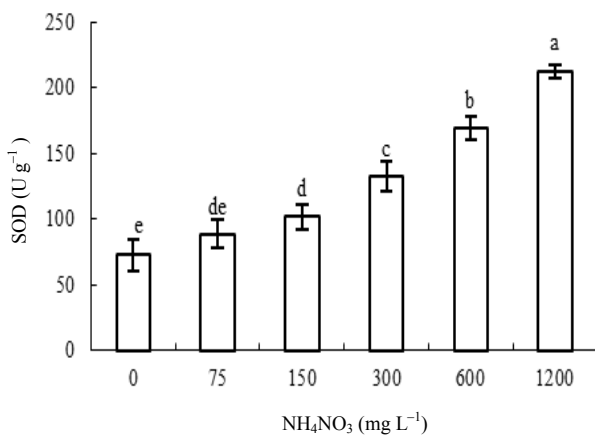


图 1 氮素水平对超氧化物歧化酶活性的影响

Fig. 1 Effects of nitrogen levels on superoxide dismutase (SOD) activity

紫青菜叶片中有4种CAT同工酶(图2), 分别为CAT1~CAT4, 以CAT1和CAT3活性较强, 其次为CAT2, CAT4活性最弱。随NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>浓度的提高, CAT1~CAT4活性均不断提高, 且4种同工酶活性均以1200 mg L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>处理的最高。

## 3 讨论和结论

适当增加氮素供应能增加叶菜类蔬菜, 如青菜 (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*)、菠菜 (*Spinacia oleracea*)、芥蓝 (*B. alboglabra*)、小白菜 (*B. rapa* var. *chinensis*) 和大白菜 (*B. rapa*, syn. *B. campestris*) 等的产量<sup>[1-7]</sup>。但氮素供应过多, 反而导致小白菜产量下降<sup>[26]</sup>, 本研究与前人的研究结果一致。有研究表明, 叶绿素含量和硝酸还原酶活性分别反映光合能力和还原NO<sub>3</sub><sup>-</sup>的状况<sup>[27-28]</sup>, 根系活力可指示根系主动吸收水分和矿质元素的能力<sup>[20]</sup>。本试验中随着根际NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>水平提高, 紫青菜叶绿素含量和还原NO<sub>3</sub><sup>-</sup>能力逐渐提高, 根系主动吸收氮素的能力先增强后略下降, 且他们的提高幅度均小于NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>提高的幅度。这表明随着根际NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>水平提高, 一方面导致紫青菜体内硝酸盐积累, 引起品质下降, 同时还产生氮素毒害作用, 1200 mg L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>处理

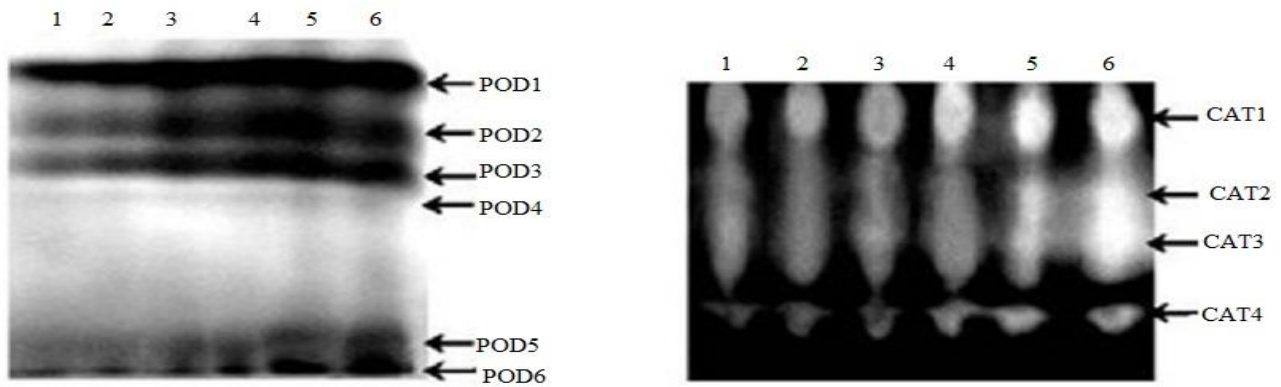


图2 氮素水平对过氧化物酶同工酶和过氧化氢酶同工酶活性的影响。1~6 分别表示 0、75、150、300、600、1200 mg L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>。

Fig. 2 Effect of nitrogen levels on peroxidase (POD) and catalase (CAT) isoenzymes activities. 1-6 present 0, 75, 150, 300, 600, and 1200 mg L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, respectively.

导致NO<sub>3</sub><sup>-</sup>含量的急剧增加就说明了这一点；另一方面也引起根际NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>积累，加重根际土壤和水体的硝酸盐污染。因此，从紫青菜产量、对NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>的吸收和利用能力的角度来看，施用NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>应以600 mg L<sup>-1</sup>比较适宜。

叶菜类蔬菜中NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、可溶性蛋白质、游离氨基酸和可溶性糖含量是评价营养品质的重要指标<sup>[1-5]</sup>。除可溶性糖外，这些物质的组成元素均含有氮元素。优质的叶菜类蔬菜的叶片NO<sub>3</sub><sup>-</sup>含量低，可溶性Haerdter研究了蔬菜氮肥供应水平与产量、品质间蛋白质、游离氨基酸和可溶性糖含量相对较高<sup>[3-7]</sup>。的关系，认为产量和蔬菜中的NO<sub>3</sub><sup>-</sup>含量很难协调和统一<sup>[29]</sup>。本研究结果表明中，随着根际NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>水平提高，鲜质量、干质量和游离氨基酸含量先上升后略下降；NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、可溶性蛋白质含量上升，可溶性糖含量下降，与Haerdter的结论一致。从构成紫青菜营养品质物质的元素来分析，不含氮元素与含氮元素的营养物质，甚至含氮元素的营养物质之间(如NO<sub>3</sub><sup>-</sup>与可溶性蛋白质、游离氨基酸)也是很难协调和统一。因此，综合产量、均衡营养因素分析，紫青菜栽培中合理施用NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>的水平以600 mg L<sup>-1</sup>为宜。

自由基清除剂可分为非酶类抗氧化剂和抗氧化酶两大类，前者主要有维生素E、Vc、酚类、花青素苷、β-胡萝卜素等(这些物质均不含氮元素)；后者主要有SOD、POD、CAT等<sup>[30]</sup>(这些酶均含氮元素)。非酶类抗氧化剂含量和抗氧化酶活性可以衡量植物的抗氧化能力。本研究中，75~1200 mg L<sup>-1</sup>根际NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>处理，紫青菜叶片中的花青素苷、Vc、总酚含量均下降，而SOD活性、POD和CAT同工酶活性

增强。有研究报道，N元素缺乏能提高番茄(*Lycopersicon esculentum*)叶片中花青素含量<sup>[31]</sup>，引起拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)<sup>[32]</sup>、番茄幼苗<sup>[33]</sup>和烟草(*Nicotiana tabacum*)<sup>[34]</sup>等积累酚类物质，与本研究结果一致。因此，推测根际供应低水平氮素，紫青菜主要是通过不含氮元素的非酶类抗氧化剂来清除代谢中产生的自由基，增加根际供氮水平则以含氮元素的抗氧化酶来清除自由基。根际不同供氮水平下，紫青菜的自由基清除剂种类也不同。由于有的非酶类抗氧化剂对高温烹调耐受性强于抗氧化酶，所以结合紫青菜根际不同供氮水平下的鲜质量和干质量变化以及抗氧化能力等因素分析，根际NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>水平也不宜过高，以600 mg L<sup>-1</sup>合理。

FRAP值和DPPH·自由基清除率均可反映植株抗氧化能力的强弱，但他们均不能体现不同抗氧化物质反应速度的快慢，因为存在如胡萝卜素等能吸收波长为515 nm的物质，会干扰DPPH·法的检测<sup>[35]</sup>。有研究报道小白菜的FRAP值和DPPH·自由基清除率均随硝态氮水平的提高而降低<sup>[26]</sup>，本研究结果与其不尽相同，FRAP值和DPPH·自由基清除率随根际NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>水平的提高分别呈下降和上升趋势。FRAP值的下降可能是因为非酶类抗氧化剂(尤其是花青素苷)含量的减少所致，或者是供应氮素的形态和植物种类不同所致，具体原因有待进一步研究。另外，POD或CAT同工酶图谱中分别有6和4个谱带，且活性均随供氮水平提高而增强，说明增加氮素供应，均无特异性POD同工酶或CAT同工酶诱导表达，而是增强了组成性同工酶的表达。

综合各因素分析，栽培中合理的根际NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>水平应为600 mg L<sup>-1</sup>。低于此水平其鲜质量和干质

量低; 高于此水平其鲜质量和干质量也不高, 且植株体内易积累硝酸盐, 根际积累 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 引起根际土壤和水体的硝酸盐污染。

## 参考文献

- [1] WEI Z Y, ZHANG Z P, LEE M R, et al. Effect of 5-aminolevulinic acid on leaf senescence and nitrogen metabolism of pakchoi under different nitrate levels [J]. *J Plant Nutr*, 2012, 35(1): 49–63.
- [2] LUO, J K, SUN S B, JIA L J, et al. The mechanism of nitrate accumulation in Pakchoi [*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* (L.)] [J]. *Plant Soil*, 2006, 282(1/2): 291–300.
- [3] ZHANG C F, LI Z Z, LU Y, et al. Effects of nitrogen fertilizer concentrations and forms on pakchoi yield and quality [J]. *Acta Agri Shanghai*, 2014, 30(1): 75–78.  
张彩峰, 李珍珍, 陆奕, 等. 氮肥浓度及形态对青菜产量及品质的影响 [J]. *上海农业学报*, 2014, 30(1): 75–78.
- [4] SUN X X, WANG J, ZHOU Y, et al. Effects of different nitrogen levels on the growth and quality of spinach [J]. *J Nanjing Agri Univ*, 2005, 28(3): 126–128.  
孙兴祥, 王健, 周毅, 等. 不同氮素水平对菠菜生长和品质的影响 [J]. *南京农业大学学报*, 2005, 28(3): 126–128.
- [5] CHEN R Y, LIU H C, SONG C Z, et al. Effect of nitrogen nutrient on the growth and quality of Chinese kale [J]. *Trans CSAE*, 2005, 21(Suppl): 143–146.  
陈日远, 刘厚诚, 宋传珍, 等. 氮素营养对芥蓝生长和品质的影响 [J]. *农业工程学报*, 2005, 21(增刊): 143–146.
- [6] YANG X Y, YANG J S. Effects of nitrogen levels on the growth and nitrate accumulation of pakchoi [J]. *Plant Nutri Fertil Sci*, 2007, 13(1): 160–163.  
杨晓英, 杨劲松. 氮素供应水平对小白菜生长和硝酸盐积累的影响 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2007, 13(1): 160–163.
- [7] LI J L, CHEN X P, LI X L, et al. Effect of N fertilization on yield, nitrate content and N apparent losses of Chinese cabbage [J]. *Acta Pedol Sin*, 2003, 40(2): 261–266.  
李俊良, 陈新平, 李晓林, 等. 大白菜氮肥施用的产量效应、品质效应和环境效应 [J]. *土壤学报*, 2003, 40(2): 261–266.
- [8] SUN J, WEI A G, MAO H P, et al. Discrimination of lettuce leaves' nitrogen status based on hyperspectral imaging technology and ELM [J]. *Trans CSAM*, 2014, 45(7): 272–277.  
孙俊, 卫爱国, 毛罕平, 等. 基于高光谱图像及 ELM 的生菜叶片氮素水平定性分析 [J]. *农业机械学报*, 2014, 45(7): 272–277.
- [9] MATÉS J M, SEGURA J A, ALONSO F J, et al. Anticancer antioxidant regulatory functions of phytochemicals [J]. *Curr Med Chem*, 2011, 18(15): 2315–2338.
- [10] YUAN L H, XIAO Z X, MA W W, et al. Effect of vegetable and fruit juice riching in flavonoids on antioxidant function of body [J]. *Chin J Publ Health*, 2012, 28(6): 870–871.  
苑林宏, 肖忠新, 麻微微, 等. 富含黄酮类蔬菜和果汁对机体抗氧化功能影响 [J]. *中国公共卫生*, 2012, 28(6): 870–871.
- [11] LIU P Y, ZHANG B H, HE W M, et al. Resources collection and screening of excellent germplasm of purple vegetable [J]. *China Veget*, 2010(23): 51–52.  
刘庞源, 张宝海, 何伟明, 等. 紫色蔬菜资源的收集与优异种质的筛选 [J]. *中国蔬菜*, 2010(23): 51–52.
- [12] YANG B Y, YE L P, LIN L L, et al. Ultrasonic condition optimization for anthocyanin extraction from purple cabbage by using response surface methodology (RSM) [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2014, 22(4): 373–382.  
杨碧云, 叶丽萍, 林琳琳, 等. 响应面法优化超声辅助提取紫色小白菜花青苷的工艺研究 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2014, 22(4): 373–382.
- [13] LIU J, WANG W H, ZHANG D S, et al. Primary mapping of *pur*, a gene controlling purple leaf color in *Brassica rapa* [J]. *Acta Agri Boreali-Sin*, 2013, 28(1): 49–53.  
刘瑾, 汪维红, 张德双, 等. 控制白菜叶片紫色的 *pur* 基因初步定位 [J]. *华北农学报*, 2013, 28(1): 49–53.
- [14] XU X L, ZHAO X Y, WANG D, et al. HPLC-ESI-MS analysis of the structure and content of anthocyanins in purple pakchoi [J]. *Sci Techn Food Ind*, 2014, 35(11): 278–281, 294.  
徐学玲, 赵岫云, 王丹, 等. HPLC-ESI-MS分析紫色小白菜中花色苷组成成分 [J]. *食品工业科技*, 2014, 35(11): 278–281, 294.
- [15] LI C X. The study of physicochemical property of anthocyanidin in purple parchoi [D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University, 2011: 16–42.  
李长新. 紫色小白菜花青素理化性质研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2011: 16–42.
- [16] XU K, GUO Y P, ZHANG S L, et al. Effects of elevated  $\text{CO}_2$  on photoinhibition of strawberry leaves under different nitrogen levels [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2007, 18(1): 87–93.  
徐凯, 郭延平, 张上隆, 等. 不同氮素水平下二氧化碳富集对草莓叶片光抑制的影响 [J]. *应用生态学报*, 2007, 18(1): 87–93.
- [17] ZHANG S Q. *Plant Physiology Experiment Technology Tutorial* [M]. Beijing: Science Press, 2011: 50–53, 69–72.  
张蜀秋. *植物生理学实验技术教程* [M]. 北京: 科学出版社, 2011: 50–53, 69–72.
- [18] ZHANG Y S, HUANG X, CHEN Y F. *Plant Physiology Experiment Tutorial* [M]. Beijing: High Education Press, 2009: 20–21, 88–89.  
张以顺, 黄霞, 陈云凤. *植物生理学实验教程* [M]. 北京: 高等教

- 育出版社, 2009: 20-21, 88-89.
- [19] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72(1/2): 248-254.
- [20] Wang X K. Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment [M]. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 2006: 199-201, 268-270.  
王学奎. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 第二版. 北京: 高等教育出版社, 2006: 199-201, 268-270.
- [21] ZHANG Z L, QU W J, LI X F. Experiment Guidance of Plant Physiology [M]. 4th ed. Beijing: Higher Education Press, 2009: 140-141.  
张志良, 瞿伟菁, 李小方. 植物生理学实验指导 [M]. 第四版. 北京: 高等教育出版社, 2009: 140-141.
- [22] XU H Y, SUN X D, ZHANG P J, et al. Determination of total polyphenols of Chinese jujube juice by folin-ciocaleu method [J]. *Food Res Devel*, 2009, 30(3): 126-128.  
徐辉艳, 孙晓东, 张佩君, 等. 红枣汁中总酚含量的福林法测定 [J]. *食品研究与开发*, 2009, 30(3): 126-128.
- [23] BENZIE I F F, STRAIN J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': The FRAP assay [J]. *Anal Biochem*, 1996, 239(1): 70-76.
- [24] Tadolini B, Juliano C, Piu L, et al. Resveratrol inhibition of lipid peroxidation [J]. *Free Rad Res*, 2000, 33(1): 105-114.
- [25] TEPE B, SOKMEN M, AKPULAT H A, et al. *In vitro* antioxidant activities of the methanol extracts of five *Allium* species from Turkey [J]. *Food Chem*, 2005, 92(1): 89-92.
- [26] ZHU W F. Effects of nitrogen nutrition on antioxidant contents and antioxidative activities in Chinese cabbage (*Brassica chinensis* L.) [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008: 14-17.  
朱伟锋. 氮素营养对小白菜体内抗氧化物质含量和抗氧化活性的影响 [D]. 杭州: 浙江大学, 2008: 14-17.
- [27] JALEEL C A, SANKAR B, SRIDHARAN R, et al. Soli salinity alters growth, chlorophyll content, and secondary metabolite accumulation in *Catharanthus roseus* [J]. *Turkish J Biol*, 2008, 32(2): 79-83.
- [28] SOLOMONSON L P, BARBER M J. Assimilatory nitrate reductase: Functional properties and regulation [J]. *Ann Rev Plant Phys Plant Mol Biol*, 1990, 41: 225-253.
- [29] HAERDTER R. Plant nutrition and fertilization of high yield and quality of vegetables [M]// XIE J C, CHEN J X. Garden Soil Fertility and Adequate Fertilization to Vegetables. Nanjing: Hehai University Press, 1997: 1-11.  
HAERDTER R. 高产优质蔬菜的植物营养和施肥 [M]// 谢健昌, 陈际型. 菜园土壤肥力与蔬菜合理施肥. 南京: 河海大学出版社, 1997: 1-11.
- [30] CAO X M, LUO C L, MA J. Progress on study of radical-scavenging active component of natural products [J]. *Food Sci Techn*, 2009, 34(9): 59-62.  
曹秀明, 罗春兰, 马娇. 天然产物清除自由基活性成分的研究进展 [J]. *食品科技*, 2009, 34(9): 59-62.
- [31] BONGUE-BARTELSMAN M, PHILLIPS D A. Nitrogen stress regulates gene expression of enzymes in the flavonoid biosynthetic pathway of tomato [J]. *Plant Phys Biochem*, 1995, 33(5): 539-546.
- [32] LEA U S, SLIMESTAD R, SMEDVIG P, et al. Nitrogen deficiency enhances expression of specific MYB and bHLH transcription factors and accumulation of end products in the flavonoid pathway [J]. *Planta*, 2007, 225(5): 1245-1253.
- [33] STEWART A J, CHAPMAN W, JENKINS G I, et al. The effect of nitrogen and phosphorus deficiency on flavonol accumulation in plant tissues [J]. *Plant Cell Environ*, 2001, 24(11): 1189-1197.
- [34] FRITZ C, PALACIOS-ROJAS N, FEIL R, et al. Regulation of secondary metabolism by the carbon-nitrogen status in tobacco: Nitrate inhibits large sectors of phenylpropanoid metabolism [J]. *Plant J*, 2006, 46(4): 533-548.
- [35] XU G H, ZHANG F M, ZHANG L. Development of antioxidant assays *in vitro* of fruits and vegetables [J]. *Food Res Devel*, 2010, 31(11): 215-219.  
徐贵华, 张凤梅, 张磊. 果蔬食品体外抗氧化方法研究进展 [J]. *食品研究与开发*, 2010, 31(11): 215-219.