

供氮水平对菠菜营养品质和体内抗氧化酶活性的影响*

张英鹏 林咸永** 章永松

(浙江大学环境与资源学院, 杭州 310029)

【摘要】通过水培实验,研究了供氮水平对菠菜营养品质和抗氧化酶活性的影响。结果表明,供氮水平由 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加到 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,菠菜产量显著增加,叶片中的维生素C(Vc)含量随着供氮浓度由 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 提高到 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,再提高供氮水平,Vc含量则明显下降。叶片硝酸盐含量随着氮浓度的提高而增加。供氮浓度从 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加到 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,叶片可溶态草酸含量略有下降,再提高供氮水平则明显上升,而草酸总量随供氮水平提高,先显著升高然后略有降低。SOD和POD酶的活性随供氮水平由 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 提高到 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 而增加,再提高供氮水平,酶活性显著下降;CAT活性随供氮水平的增加而降低,叶片MDA含量先降低后显著升高,而游离脯氨酸含量随氮水平的升高而增加。可见供氮水平为 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,菠菜叶片具有较高的生物量、Vc含量和抗氧化酶活性,较低的硝酸盐和草酸含量以及较低的MDA和游离脯氨酸含量,表明供氮浓度 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 有利于提高菠菜的产量、营养品质和抗逆能力,是菠菜生长较适宜的供氮水平。

关键词 菠菜 供氮水平 硝酸盐 维生素C 草酸 抗氧化酶活性 脯氨酸

文章编号 1001-9332(2005)03-0519-05 中图分类号 S636.1 文献标识码 A

Effects of nitrogen supply on nutritional quality and antioxidative enzyme activities of spinach. ZHANG Ying-peng, LIN Xianyong, ZHANG Yongsong (College of Environment and Resource, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2005, 16(3): 519~523.

A hydroponic experiment was carried out to study the effects of nitrogen (N) supply on the nutritional quality and antioxidative enzyme activities of spinach. The results showed that when the N supply increased from 4 to $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, the biomass of spinach and its leaf vitamin C (Vc) content increased significantly, but a further increase of the N supply induced an obvious decrease of Vc content. An increasing N supply increased the nitrate content in leaves. The soluble oxalate content in leaves decreased slightly with the N supply from 4 to $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ N, but increased with a further increase of supplied N. Total oxalate content increased firstly, and then decreased with increasing N supply. SOD and POD activities increased with the N level up to $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ N, but drastically decreased with increasing N levels. CAT activity decreased when N level elevated. MDA content decreased firstly and then increased with increasing N levels, while free proline content decreased with increasing N supply. All of these indicated that $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ N was an appropriate N supply level for spinach to improve its biomass, nutritional quality, and resistance.

Key words *Spinacia oleracea*, Nitrogen supply, Nitrate, Vitamin C, Oxalate, Antioxidative enzyme activities, Proline.

1 引言

氮素营养对蔬菜作物的生长发育、产量形成与品质好坏具有重要作用。与其他农作物相比,蔬菜需N量较大,施用氮肥一般可以获得较高的经济效益,因而菜农为了获得蔬菜高产,常盲目过量地施用化学氮肥,尤其是在设施栽培条件下更为普遍和突出。过量偏施氮肥是当前蔬菜施肥中存在的最突出的问题之一^[16,34]。这不仅降低了氮肥的利用率和施用效益,加剧土壤养分失衡^[28],在保护地栽培条件下易造成严重的盐害^[29],而且污染地下水^[30,32],降低蔬

菜品质^[4,16,26,27,34],严重地影响蔬菜的可持续生产和生态环境安全。关于N对蔬菜的营养生理作用已有广泛深入的研究。但对于N供应尤其在高氮条件下,对蔬菜抗氧化酶活性和营养品质如草酸含量的影响等方面的研究较少。本文研究不同供氮水平对菠菜的生长、膜脂过氧化程度和抗氧化酶活性以及营养品质的影响,旨在为合理施用氮肥和提高蔬菜

* 国家自然科学基金项目(30370840)、国家重点基础研究发展规划项目(2002CB410806)、钾磷研究所和加拿大钾磷研究所(PPI/PPIC)以及杭州市环保局资助项目。

** 通讯联系人。E-mail: xylin@zju.edu.cn
2004-07-02 收稿, 2004-11-22 接受。

的营养品质提供理论依据。

2 材料与方法

2.1 供试材料

供试蔬菜是当地圆叶品种多能菠菜(*Spinacia oleracea*),以Hoagland营养液为基本营养液,钙水平调节到 $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$.N供以硝态氮,设 $N_1(4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1})$ 、 $N_2(8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1})$ 、 $N_3(12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1})$ 、 $N_4(16 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1})$ 、 $N_5(20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1})$ 5个水平,重复8次.筛选籽粒饱满的种子,催芽后在砂盘上育苗.待长至4片叶子时,移植至2.5 L的塑料桶中,每桶定苗8株,以 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 水平的Hoagland营养液供应一周后,以不同氮水平的Hoagland营养液进行培养,每周换一次营养液,每隔2 d调一次pH值于5.5~6.0之间,并补充损失的水分,连续通气.

培养1个月后取样,植株用蒸馏水冲洗干净,擦净水分,测定菠菜地上部的鲜重,并取叶片测定各种生理指标.

2.2 研究方法

草酸总量参照Baker^[3]略作修改进行测定:称取2.000 g植株样品于研钵中,加入2 ml $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl研磨,匀浆用30 ml的蒸馏水洗入50 ml离心管,加2滴正辛醇后沸水浴15 min,然后取出冷却过夜.第2天离心($5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,离心10 min),取上清液20 ml于离心管中,加入磷钨酸试剂5 ml,放置一段时间后(>5 h以上)再离心($5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,离心10 min),把离心的上清液全部转入离心管,缓慢向管中滴加浓氨水调节溶液到pH4.5~5.0,然后加入5 ml pH4.5的醋酸缓冲液后在4~7 °C下过夜.离心过夜的溶液($5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,离心10 min),倾出上清液后倒置离心管于干净的滤纸上,然后用20 ml淋洗液(用前需趁冷过滤)淋洗沉淀,再离心($5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,离心10 min)倾出滤液.用10%的 H_2SO_4 溶解洗涤沉淀并转入三角瓶中,沸水浴2 min后用 KMnO_4 趁热滴定至粉红色(30 s内不褪色).最后根据所用 KMnO_4 的体积计算菠菜中的草酸含量.

可溶态草酸测定用2 ml的蒸馏水研磨,其它步骤同上.

硝酸盐、脯氨酸和维生素C含量参照文献^[11]分别采用水杨酸法、茚三酮显色法和二氯靛酚钠滴定法测定.丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)及过氧化物酶(POD)活性参考文献^[33],分别采用硫代巴比妥酸比色法、NBT光化学还原法(一个酶活单位(U)相当于引起3 ml反应液达到50%抑制所需的酶量)、高锰酸表1 供氮水平对菠菜叶片Vc、硝酸盐和草酸含量的影响*

Table 1 Effect of nitrogen levels on Vc, nitrate and oxalate content in leaves of spinach

氮水平 Nitrogen levels ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	鲜重产量 Fresh weight ($\text{g} \cdot \text{plant}^{-1}$)	维生素C Vitamin C ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ FW}$)	硝酸盐 Nitrate ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ FW}$)	草酸 Oxalate($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ FW}$)	
				可溶态 Soluble oxalate	总 量 Total oxalate
4	$5.4 \pm 0.2\text{c}$	$891 \pm 64.0\text{b}$	$131.6 \pm 9.6\text{c}$	$6.4 \pm 0.32\text{b}$	$7.7 \pm 0.14\text{b}$
8	$6.8 \pm 0.3\text{ab}$	$1168 \pm 90.0\text{a}$	$288.0 \pm 6.3\text{b}$	$6.1 \pm 0.36\text{b}$	$8.2 \pm 0.69\text{b}$
12	$6.8 \pm 0.2\text{b}$	$742 \pm 47.0\text{c}$	$448.0 \pm 39.4\text{a}$	$7.8 \pm 0.26\text{a}$	$9.4 \pm 0.26\text{a}$
16	$7.4 \pm 0.1\text{ab}$	$668 \pm 40.0\text{c}$	$490.0 \pm 27.4\text{a}$	$7.7 \pm 0.83\text{a}$	$8.6 \pm 0.76\text{ab}$
20	$7.8 \pm 0.2\text{a}$	$663 \pm 29.0\text{c}$	$490.0 \pm 35.1\text{a}$	$8.0 \pm 0.67\text{a}$	$8.5 \pm 0.42\text{ab}$

* 不同字母差异达5%显著水平 Different letters in each line means significant at 5% level.

钾滴定法及愈创木酚氧化法进行测定.

3 结果与分析

3.1 供氮水平对菠菜产量和营养品质的影响

由表1可知,供氮浓度从 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加到 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,菠菜的鲜重产量极显著增加,增幅达到37.1%;而再提高供氮水平,菠菜产量没有显著增加.由此可见,在本试验条件下, $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 是菠菜生长的较适宜N供应水平.

维生素C、硝酸盐和草酸是衡量菠菜营养品质的3个重要指标.由表1可见,不同氮用量对叶片的Vc含量有显著影响.当供氮水平从 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 提高到 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,叶片的Vc含量显著增加,随后Vc含量随供氮水平的提高而下降,但在12、16和 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理间无显著差异.叶片中的硝酸盐含量随供氮水平的提高而增加(表1),但在高浓度供氮条件下(12、16和 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$),硝酸盐含量没有显著差异.

由表1还可看出,当供氮浓度由 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加到 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,可溶态草酸含量稍有下降,进一步提高供氮水平时,可溶态草酸含量显著增加,12、16和 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的草酸含量显著高于4和 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理.草酸总量则随供氮水平的提高而先显著升高然后略有降低,当供氮浓度为 $12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,草酸总量含量最高,达到 $9.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ FW}$,比 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理增加15.8%.

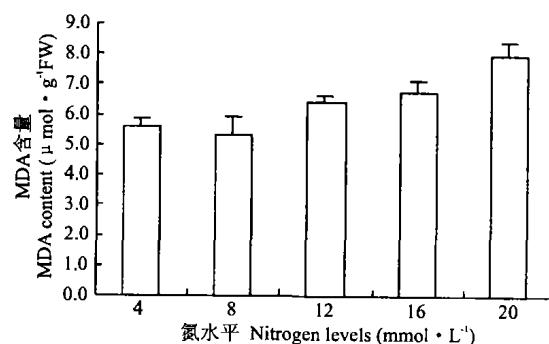


图1 供氮水平对菠菜叶片丙二醛的影响

Fig.1 Influence of nitrogen levels on MDA content in leaves of spinach.

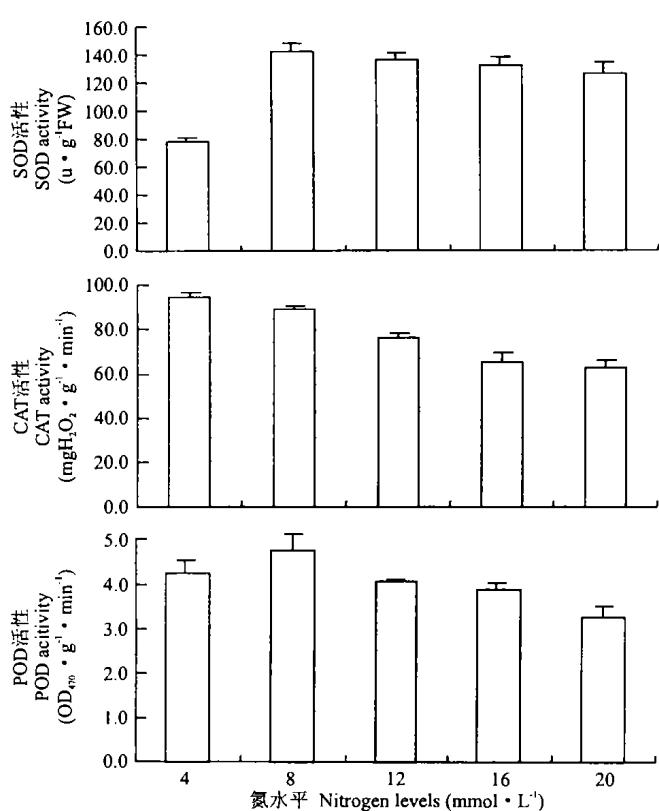


图 2 不同供氮水平对菠菜叶片 SOD、POD 和 CAT 活性的影响
Fig. 2 Effect of nitrogen level on SOD, POD and CAT activities in leaves of spinach.

3.2 供氮水平对菠菜叶片膜脂过氧化程度和 SOD 活性的影响

MDA 是植物在逆境和衰老过程中脂质过氧化作用的产物, 其含量常用来衡量膜脂质过氧化的程度。图 1 结果表明, 供氮浓度由 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加到 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, MDA 的含量略有降低; 再提高供氮水平, MDA 含量显著上升, 呈现出随着供氮水平的提高先下降后升高的趋势。

由图 2 可见, 氮水平从 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加到 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, SOD 的活性显著提高, 然后随供氮水平的提高而降低; CAT 活性随供氮水平的升高而呈下降的趋势; 而 POD 活性则由供氮水平从 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

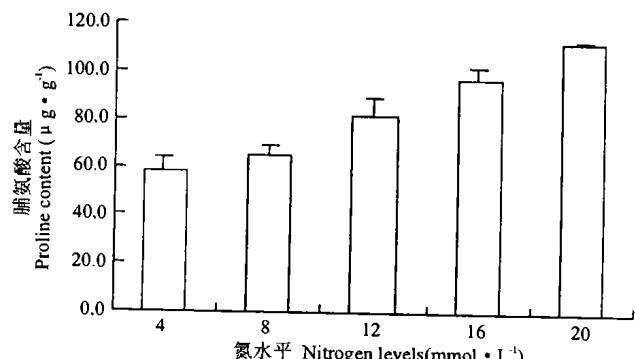


图 3 不同氮水平对菠菜叶片游离脯氨酸含量的影响
Fig. 3 Effect of nitrogen level on proline content in leaves of spinach.

L^{-1} 增加到 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时增加, 然后随供氮水平提高而显著降低。

3.3 不同氮水平对菠菜叶片游离脯氨酸的影响

由图 3 可见, 菠菜体内游离脯氨酸含量随供氮水平的提高而增加, 供氮水平由 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加到 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 游离脯氨酸含量增加不明显, 但继续增加供氮浓度, 其含量则显著上升。

4 讨 论

适宜的 N 供应水平是保证作物正常生长和产量形成的关键因子。通常, 当介质中氮浓度超过 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时植物生长会变慢。因此, 该浓度常被认为 是许多植物氮毒害的临界浓度^[23]。本试验结果表明, 随着供氮水平从 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 提高到 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 菠菜的生物量显著增加, 但进一步提高供氮水平, 产量却没有显著提高(表 1)。本试验虽没有观察到 Sánchez 等^[23]采用高氮处理引起菜豆产量急剧下降的结果, 但是氮浓度超过 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 后菠菜的生长变缓慢。由此可见, 从供氮水平对菠菜生长的影响来看, $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 是较适宜的供氮水平, 超过 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 增产幅度和效益则明显下降。

据报道, 人类膳食中 90% 以上的 Vc 来自水果和蔬菜。因此, Vc 是许多园艺作物的重要营养品质指标之一^[9]。N 对蔬菜作物 Vc 含量的影响已有不少报道, 但结果不尽一致^[18]。在结球莴苣 (*Lactuca sativa*) 中氮水平与 Vc 含量呈正相关^[9], 在大白菜 (*Brassica campestris*)^[9] 和莴苣^[25] 中却发现 Vc 含量与氮供应水平呈负相关。本试验结果表明, 适当提高供应水平能显著提高叶片 Vc 含量, $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的 Vc 含量最高, 进一步提高供氮浓度会导致 Vc 含量显著下降(表 1)。因此, 选择合理的供氮水平对于提高菠菜 Vc 尤为关键。

试验结果表明, 菠菜叶片的硝酸盐含量随着供氮水平的提高而增加。因此, 控制 N 用量是降低蔬菜体内硝酸盐积累的关键^[10]。国内外关于 N 营养水平对蔬菜体内硝酸盐积累的影响研究较多, 而对草酸积累的影响研究较少, 对体内草酸形态影响的研究则更少。草酸是一种毒素和抗营养因子, 在植物体内大多以可溶性钠、钾盐及难溶性钙镁盐等形式存在^[12]。研究表明, 蔬菜体内不同形态的草酸对人体健康的影响途径和效应有所不同。蔬菜体内的难溶态草酸能降低本身 Ca 的有效性, 草酸钙晶体也会对消化道组织会产生刺激作用, 引起人体的不适^[20]。而可溶态草酸不仅能与其它食物中的许多矿

质元素结合形成不能被肠道吸收的难溶性盐类,引起Ca、Fe、Mg和Cu等矿质元素的缺乏症,严重时会引起功能性低血钙痉挛^[8],而且草酸能与Ca结合导致尿路结石和肾结石^[20].此外,如果人体摄入过量可溶性草酸,还可能引起草酸的急性中毒^[12,19].N营养是影响蔬菜体内草酸含量的重要因素^[12].Aloni等^[2]的研究结果表明,随着供氮水平的提高,灯笼甜椒(*Capsicum annuum*)的草酸含量增加,高氮处理比低氮处理要高9倍.田间试验的结果表明,菠菜叶片的草酸含量也随着施氮量提高而增加^[6].Ahmed等^[1]却发现,供氮水平对番杏(*Tetragonia tetragonoides*)体内草酸含量没有明显的影响.本试验结果发现,在高氮处理时,叶片的可溶态草酸含量显著高于低氮和适宜氮水平,在8 mmol·L⁻¹时可溶态草酸含量最低;而草酸总量则随供氮水平的提高呈先显著升高然后略有降低的趋势.由此可见,N供应水平对菠菜体内草酸含量和形态都有明显的影响,通过调节介质中氮水平可以在一定程度上调控菠菜体内的草酸含量和形态.

植物体内存在的SOD、CAT和POD等抗氧化酶,能够在逆境胁迫和衰老过程中清除植物体内过量的活性氧,维持活性氧的代谢平衡和保护膜结构,协同抵御不良环境的胁迫.因此,抗氧化酶活性和MDA含量常被作为研究植物逆境生理和衰老生理的指标.由图1可见,在低氮和高氮水平下均导致了过氧化产物丙二醛的积累,表明菠菜体内产生超氧自由基积累,从而使膜脂产生过氧化作用.膜脂过氧化是由于超氧自由基作用的结果,而体内SOD、CAT和POD共同作用,能使自由基维持在较低的水平,从而防止自由基的毒害.当供氮水平由4 mmol·L⁻¹增加到8 mmol·L⁻¹时,SOD和POD的活性显著升高,从而消除MDA的过量积累;而继续提高供氮水平时,由于自由基的过量积累,可使SOD和POD活性下降,从而产生MDA的积累(图2).而CAT活性则随着供氮水平的提高而显著下降(图2).由于植物体内除了SOD、CAT、POD等抗氧化酶外,还存在其它的抗氧化酶和非酶抗氧化剂的协同作用.因此,植物体内自由基的产生和清除的关系十分复杂,故在低氮和高氮胁迫下,其它抗氧化酶和抗氧化剂的反应及其机理尚需进一步研究.

大量的研究表明,在许多环境胁迫(如干旱、涝害、盐害、热害及冷害、营养缺乏、重金属和铝毒等)条件下,植物体内均产生脯氨酸积累^[5,7,13~15,17,24,31].这是植物对各种环境胁迫的一

种生理适应性反应,主要起渗透调节物质、N贮藏化合物、羟自由基清除剂以及调节细胞还原势等作用^[23].Sánchez等^[21,23]研究表明,在高氮条件下,菜豆的豆荚和种子中积累脯氨酸;而在缺氮条件下,菜豆的豆荚和种子中脯氨酸累积显著下降^[22].在高氮条件下,体内脯氨酸积累的生理作用可作为N贮藏化合物以消除体内氨的毒害,而在缺N时,脯氨酸积累降低是由于脯氨酸降解作为氮源以维持体内的正常代谢^[21~23].本试验结果表明,菠菜叶片的游离脯氨酸含量随着供氮水平的提高而显著增加(图3),而且供氮水平与脯氨酸含量间呈极显著正相关($r=0.9915^{**}$).由此可见,菠菜叶片的脯氨酸含量可以较好地反映N供应状况,因此可作为作物体内N营养状况的一种生化指标.

综上所述,在供氮水平为8 mmol·L⁻¹时,菠菜可以获得较高的生物量和Vc含量以及较低的硝酸盐和草酸含量,较高的SOD、POD和CAT活性和较低的游离脯氨酸和MDA含量.因此,在本试验条件下,供氮浓度为8 mmol·L⁻¹时,有利于提高菠菜的产量、营养品质和抗逆能力,是菠菜生长较适宜的供氮水平.

参考文献

- Ahmed AK, Johnson KA. 2000. The effect of the ammonium: Nitrate ration, total nitrogen, salinity (NaCl) and calcium on the oxalate levels of *Tetragonia tetragonoides* Pallas Kunz. *J Hort Sci Biotech*, **75**(5):533~538
- Aloni B, Karni L, Rylski I, et al. 1994. The effect of nitrogen fertilization and shading on the incidence of "colour spots" in sweet pepper (*Capsicum annuum*) fruit. *J Hort Sci*, **69**(4):767~773
- Baker CJL. 1954. The determination of oxalates in fresh plant materials. *Analyst*, **77**:340~344
- Blom-Zandstra M. 1989. Nitrate accumulation in vegetables and its relationship to quality. *Ann Appl Biol*, **115**:553~561
- Delauney AJ, Verma DPS. 1993. Proline biosynthesis and osmo-regulation in plants. *Plant J*, **44**:215~223
- Elia A, Santamaria P, Serio F. 1998. Nitrogen nutrition, yield and quality of spinach. *J Sci Food Agric*, **76**:341~346
- Hare PD, Cress WA, van Staden J. 1999. Proline synthesis and degradation: A model system for elucidating stress-related signal transduction. *J Exp Bot*, **50**:413~434
- Hughes J, Norman RW. 1992. Diet and calcium stones. *Can Med Assoc J*, **146**:137~142
- Lee SK, Kader AA. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol Technol*, **20**:207~220
- Li H-H(李会合), Wang Z-Y(王正银), Li B-Z(李宝珍). 2004. Relationship between vegetable nutrition and nitrate content. *Chin J Appl Ecol(应用生态学报)*, **15**(9):1667~1672(in Chinese)
- Li H-S(李合生). 2000. Principle and Technology of Physiological and Biochemical Experiment of Plants. Beijing: High Education Press. 123~124, 246~247(in Chinese)
- Libert B, Francechi VR. 1987. Oxalate in crop plants. *J Agric Food Chem*, **35**:926~938

- 13 Lin X-Y(林咸永), Zhang Y-S(章永松), Luo A-C(罗安程), et al. 2002. Tolerance of wheat genotypes to Al toxicity in relation to their rhizosphere pH, NH_4^+ and NO_3^- uptake, and nitrate reduction under Al stress. *Plant Nutr Fert Sci*(植物营养与肥料学报), 8(3): 330~334(in Chinese)
- 14 Lin X-Y(林咸永), Zhang Y-S(章永松), Su L(苏玲), et al. 2000. Effects of phosphorus and potassium on some physiological and biochemical properties of barley under waterlogging stress. *Plant Nutr Fert Sci*(植物营养与肥料学报), 6(2): 159~165(in Chinese)
- 15 Lutts S, Majerus V, Kinet JM. 1999. NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa*) seedlings. *Physiol Plant*, 105: 450~458
- 16 Ma M-T(马茂桐), Chen J-X(陈际型), Xie J-C(谢建昌). 1997. Nutrient status and fertilization of vegetable garden soil in China. In: Xie J-C(谢建昌), Chen J-X(陈际型), eds. Soil Fertility of Vegetable Soils and Rational Fertilization of Vegetable Crops. Nanjing: Hehai University Press. 25~33(in Chinese)
- 17 Machackova I, Hansisova A, Krekule J. 1989. Levels of ethylene, ACC, MACC, ABA and proline as indicators of cold hardening and frost resistance in winter wheat. *Physiol Plant*, 76: 603~607
- 18 Mozafar A. 1993. Nitrogen fertilizers and the amount of vitamins in plants: A review. *J Plant Nutr*, 16(12): 2479~2506
- 19 Nakata PA. 2003. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. *Plant Sci*, 164: 901~909
- 20 Noonan SC, Savage GP. 1999. Oxalate content of foods and its effect on humans. *Asia Pacific J Clin Nutr*, 8(1): 64~74
- 21 Sánchez E, López-lefebvre LR, García PC, et al. 2001. Proline metabolism in response to highest nitrogen dosages in green bean plants(*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike). *J Plant Physiol*, 158: 593~598
- 22 Sánchez E, Ruiz JM, Romero L. 2001. The response of proline metabolism to nitrogen deficiency in pods and seeds of French bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike) plants. *J Sci Food Agric*, 81: 1471~1475
- 23 Sánchez E, Ruiz JM, Romero L. 2002. Proline metabolism in response to nitrogen toxicity in fruit of French Bean plants(*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike). *Sci Hort*, 93: 225~233
- 24 Shevyakova NI. 1984. Metabolism and the physiological role of proline in plants under conditions of water and salt stress. *Sov Plant Physiol*, 31: 597~608
- 25 Sorensen JN, Johansen AS, Poulsen N. 1994. Influence of growth conditions on the value of crisphead lettuce 1. Marketable and nutritional quality as affected by nitrogen supply, cultivar and plant age. *Plant Food Hum Nutr*, 46: 1~11
- 26 Wang Q(王庆), Wang L(王丽), He C-Y(赫崇岩), et al. 2000. Study on accumulation effect and control measure of nitrate with application of excessive nitrogenous fertilizer for different vegetables. *Agro-Environ Prot*(农业环境保护), 19(1): 46~49(in Chinese)
- 27 Wang Z-H(王朝辉), Li S-X(李生秀), Tian X-H(田霄鸿). 1998. Influence of nitrogen rates on nitrate accumulation in vegetables. *Plant Nutr Fert Sci*(植物营养与肥料学报), 4(1): 22~28(in Chinese)
- 28 Wang Z-H(王朝辉), Zhong Z-Q(宗志强), Li S-X(李生秀). 2002. Difference of several major nutrients accumulation in vegetable and cereal crop soils. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报), 13(9): 1091~1094(in Chinese)
- 29 Wu X-G(吴兴国). 2001. Causes and preventive measures of salt accumulation on face soil in vegetable greenhouse. *J Zhejiang Wanli Univ*(浙江万里学院学报), 14(3): 19~21(in Chinese)
- 30 Yuan X-M(袁新民), Yang X-Y(杨学云), Tong Y-A(同延安), et al. 2001. Effect of N-fertilizer rate on soil nitrate nitrogen accumulation. *Agric Res Arid Areas*(干旱地区农业研究), 19(1): 8~13(in Chinese)
- 31 Zaiffiejad M, Clark RB, Sullivan CY. 1997. Aluminum and water stress effects on growth and proline of sorghum. *J Plant Physiol*, 150: 338~344
- 32 Zhang Q-Z(张庆忠), Chen X(陈欣), Shen S-M(沈善敏). 2002. Advances in studies on accumulation and leaching of nitrate in farming soil. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报), 13(2): 233~238(in Chinese)
- 33 Zhang X-Z(张宪政). 1992. Research Method of Crop Physiology. Beijing: Agricultural Press. 207~212, 215~216(in Chinese)
- 34 Zhuang S-Y(庄舜尧), Sun X-T(孙秀廷). 1995. Effect of nitrogen fertilizers on nitrate accumulation in vegetables. *Prog Soil Sci*(土壤学进展), 23(3): 29~35(in Chinese)

作者简介 张英鹏,男,1977年生,博士生,主要从事蔬菜营养与养分管理方面的研究。Tel: 0371-86971147; E-mail: zhangyingpeng@163.com