

不同氮肥水平下 SPAD 读数与菠菜硝态氮含量关系的初步研究

刘艳菊^{1,2}, 朱永官¹, 丁 辉², 童依平¹

(1. 中国科学院生态环境研究中心土壤环境研究室, 北京 100085; 2. 北京市理化分析测试中心研究协作室, 北京 100089)

摘 要:采用盆栽试验方法探讨利用手提式叶绿素计预测菠菜氮含量、硝酸盐含量的可能性。试验分尿素氮 4 个浓度水平, 4 个重复, 每盆施土 2 kg。收获期菠菜生物量、叶片和根的干重及含氮量的分析表明, 在 100 mg · kg⁻¹ 施氮浓度时获得最大生长量和最低硝态氮含量。SPAD 值与菠菜叶片的含氮量、硝态氮含量显著相关, 表明利用便携式叶绿素计测定菠菜叶片叶绿素的 SPAD (Soil - Plant Analysis Development, 土壤 - 植物分析模式) 值对菠菜叶片的含氮量、菠菜硝态氮含量具有潜在的预测作用。SPAD 读数随着时间的延续而下降, 表明还可能用于有效控制菠菜的最佳收获时间。

关键词:叶绿素计; SPAD 值; 生物量; 硝态氮; 监测

中图分类号:S131.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2004)03-0484-04

Relationship Between SPAD Values and Contents of NO₃ - N in Spinacia oleracea

LIU Yan-ju^{1,2}, ZHU Yong-guan¹, DING Hui², TONG Yi-ping¹

(1. Research Center for Eco - Environmental Sciences, CAS, Beijing 100085, China; 2. Beijing Centre for Physical and Chemical Analysis 100089, China)

Abstract: This study is aiming at investigating possibility of predicting concentration of nitrogen, nitrate in spinach using a pocket apparatus chlorophyll meter (Minolta, Japan) based on a pot experiment. Spinach was grown in plastic pots filled with 2 kg brown soil per pot with urea as only nitrogen fertilizer. Four fertilizer application rates (0, 100, 200, 400 mg · kg⁻¹ urea - N) were used in this study with four replicates for each treatment. After pre - treatment, seeds of spinach were sown on 21st March and plants were harvested on 7th May in 2003. SPAD values were read once a week 20 days after seedling emergence. Furthermore, plant biomass, leaf and root dry weights, total nitrogen content in leaf and root, NO₃ - N in leaf were measured after harvesting. The results showed that SPAD readings in the control started to drop on 25 th April and continued to decrease through the rest of the growth season. The readings for 100 and 200 mg · kg⁻¹ urea - N fertilizer treatment began to decrease on 2nd May. For the treatment with 400 mg · kg⁻¹ urea - N, the SPAD readings showed a decrease only on 2nd May. Plant biomass (including leaf and root dry weights) all reached their highest value when N was applied at the rate of 100 mg · kg⁻¹ as urea - N. The total nitrogen concentrations in leaves and roots increased significantly ($\alpha = 0.001$) with increasing rates of urea - N fertilizer application. NO₃ - N in leaf also increased significantly ($\alpha = 0.001$) with increasing N application rates, except that there was no significant difference between the control and the treatment of 100 mg · kg⁻¹ urea - N. Based on all parameters investigated in this experiment, it was suggested that 100 mg · kg⁻¹ urea - N fertilizer be the best rate and 200 mg · kg⁻¹ urea - N be the second. Meanwhile, SPAD readings in leaves of spinach were significantly correlated to their nitrogen and NO₃ - N concentrations. This may be concluded that SPAD readings of spinach was useful for estimation of NO₃ - N concentrations of spinach, and practical for field use to assist the decision - making for N management and harvest arrangements. Field experiment is needed to verify the findings from this greenhouse study.

Keywords: chlorophyll meter; SPAD value; biomass; nitrate; monitoring

蔬菜易于富集硝酸盐,人体摄入的硝酸盐有 75% 来自蔬菜^[11]。施氮肥是使硝酸盐含量明显增加的主要原因^[12],过量施用氮肥使累积过程加剧^[13],蔬菜品质退化^[14],还造成地下水的高度富盐基化和对土壤造成污染。叶菜类蔬菜中硝酸盐含量随氮肥用量增加呈上升趋势,其中菠菜最为明显^[12]。过量的硝酸盐与消化系统癌变有关^[15]。在采用手提式 Hydro N - Tester (Minolta, Japan) 仪器快捷方便地用于预测果树叶绿素和氮水平^[16]的同时,国内外近年来成功研究了利用叶绿素计即时读取的 SPAD 值诊断不同水稻品种的氮素营养水平^[17, 81]、诊断水稻追氮法^[19]、提高氮肥利用率^[10]。试验还证明可以利用叶绿素计的 SPAD 值决定棉铃开放之前短季棉花氮需求的追肥^[111]。本研究探讨 SPAD 值在控制氮肥施用量和菠菜的最佳收获时机应用中的可行性。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试土壤:采自北京市郊区怀柔某林地的褐土。参照《土壤农化分析》一书^[12]的有关章节,分析得土壤有机质为 1.15%, CEC 7.6 cmol · kg⁻¹, 速效氮 65.4 mg · kg⁻¹, 速效磷 14.8 mg · kg⁻¹, 速效钾 59.7 mg · kg⁻¹, pH 7.3。土壤风干过 2 mm 筛供盆栽试验用。

供试种子:购置新夏王菠菜种子。

1.2 试验方法

1.2.1 催芽试验

用 1:2 的 30% H₂O₂: 蒸馏水溶液浸泡菠菜种子 10 min,洗净。置 4 ℃ 冰箱 24 h, 25 ℃ 培养箱中培养 2 ~ 3 d 催芽,以备种植。

1.2.2 试验设计

设 0, 0.43, 0.86, 1.71 g 尿素 · 盆⁻¹(相当于 0, 100, 200, 400 mg · kg⁻¹N) 4 个氮肥水平进行盆栽试验。各处理均施 0.97 g K₂HPO₄ · 3H₂O · 盆⁻¹(相当于 200 mg · kg⁻¹ K₂O 和 150 mg · kg⁻¹ P₂O₅)。氮肥用量采用单因子试验设计,随机排列,重复 4 次,计 16 盆。每盆装土 2 kg。2003 年 3 月 21 日播种已经催芽的菠菜种子,每盆留取 3 株长势一致的植株。5 月 7 日收获。试验过程中控制生长条件:温度 (25 ± 3)℃, 湿度 40% ~ 60%。

1.2.3 试验分析

SPAD 值的测定:采用日本美能达公司生产的手提式叶绿素仪测定菠菜叶片的 SPAD 值。4 月 21 日

(播种后第 29 d)起每周测定一次,收获前做最后一次测定。选取每株菠菜的第一对成熟叶片,在每片叶中部和两侧读取 3 个数据,每盆取 3 株植物叶片的平均值。

生物量的测定:收获时将植物沿茎基部剪断,地上部叶片用去离子水洗净,吸水纸吸干残留水分,称总鲜重。随机称取 2 份平行样,每份约 1 g 叶片放入小塑封袋,冰冻,以备测量叶片硝态氮含量。剩余样品置 100 ℃ 杀青 30 min, 70 ℃ 烘至恒重,得叶片干重。地下部根用 1 mm 筛挑取根毛,去离子水洗净, 100 ℃ 杀青 15 min, 70 ℃ 烘至恒重,得根干重。菠菜叶片和根的干重之和即菠菜的生物量。烘干的样品用来分析叶片和根的含氮量。

硝态氮的测定参照《植物生理生化试验原理和技术》^[12],将“生物量的测定”中冰冻的植物鲜样剪碎,置 20 mL 具塞塑料试管中,加 5 mL 去离子水,置于沸水浴中 30 min 后取出,期间每 10 min 摇动一次。冷却后将提取液过滤到 25 mL 容量瓶中,反复冲洗残渣,定容至刻度。吸取样液 0.1 mL,加入 5% 水杨酸 - 硫酸溶液 0.4 mL,混匀后在室温下放置 20 min,再慢慢加入 9.5 mL 8% NaOH 溶液,冷却至室温后,用分光光度计测量。以空白作参比,在 410 nm 波长下测其吸光度。同时,测定 0, 10, 20, 30, 40, 60 mg · kg⁻¹ 硝态氮的系列标准溶液的吸光度,绘制标准曲线。查得溶液的硝态氮浓度,计算样品的硝态氮含量。

全氮的测定凯氏定:氮法测定菠菜叶片、菠菜根的含氮量。采用 GBW07605 (GSV - 4) 作为标准参考物质,控制试验的准确度。

1.3 统计分析

数据采用 Genstat 软件 (NAG Ltd, 英格兰) 进行统计分析。

2 试验结果

2.1 不同时期叶绿素计 SPAD 读数的变化

菠菜叶片的 SPAD 值 4 月 18 日为 40.1 ~ 55.7, 4 月 25 日为 30.7 ~ 56.5, 5 月 2 日为 12.0 ~ 48.3, 收获时为 3.8 ~ 44.6。不同测定时期各处理之间具有极显著差异 ($\alpha = 0.001$), t -检验表明 200 mg · kg⁻¹ 和 400 mg · kg⁻¹ 的氮施用浓度在 5 月 2 日无显著差异。不同生长时期各处理 SPAD 的平均值之间至少在 $\alpha = 0.05$ 水平上差异显著。对于同一处理而言,菠菜叶片的 SPAD 值随着时间的推移不断下降,具有极显著差异 ($\alpha = 0.001$, 0, 100, 200 mg · kg⁻¹ 施氮浓度) 和

显著差异($\alpha = 0.05$, $400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 施氮浓度)。对照试验的 SPAD 读数最先开始并持续下降; $100, 200\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 施氮浓度的菠菜的 SPAD 读数在 5 月 2 日开始显著下降。 $400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 施氮浓度的菠菜的 SPAD 读数仅在 5 月 2 日显著下降, 详见表 1。

表 1 不同尿素 - 氮肥浓度处理的菠菜叶片 SPAD 读数
随着生长时期的变化

Table 1 Spinach leaf SPAD variance in growing period with different urea - N concentration		SPAD 读数			
施氮用浓度 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$		4 月 18 日 (29d)	4 月 25 日 (36d)	5 月 2 日 (43d)	5 月 6 日 (47d)
0		41.0 ± 0.7^a	31.3 ± 0.5^a	12.8 ± 1.1^a	5.5 ± 1.6^a
100		41.9 ± 1.4^a	43.5 ± 1.1^b	33.8 ± 1.7^b	18.4 ± 0.3^b
200		45.4 ± 1.6^b	47.1 ± 2.0^c	41.3 ± 0.8^c	34.5 ± 2.7^c
400		52.1 ± 3.2^c	54.2 ± 2.0^d	43.8 ± 6.6^c	41.9 ± 2.2^d
不同差异 显著性分析		**	**	**	**

注: a, b, c, d: 同一日期各处理之间。字母相同时表示处理之间无显著差异, 字母不同时表示处理之间有显著差异。表 2, 3, 4 同此。e, f, g, h: 同一处理的不同日期之间。字母相同时表示处理之间无显著差异, 字母不同时表示处理之间具有显著差异。

表 2 不同尿素 - 氮肥浓度处理下菠菜的生物量、叶片干重和根干重的变化

Table 2 Variance of spinach biomass, leaf and root dry weight in different urea - N concentration				
施用浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	生物量/g	叶片干重/g	根干重/g	叶干重/根干重
0	2.462 ± 0.146^a	1.443 ± 0.087^a	1.019 ± 0.061^a	1.417 ± 0.030
100	6.316 ± 0.533^b	4.838 ± 0.363^b	1.478 ± 0.179^b	3.290 ± 0.196
200	5.082 ± 1.110^b	4.540 ± 0.908^b	0.541 ± 0.204^c	8.780 ± 1.402
400	2.902 ± 0.433^a	2.569 ± 0.369^c	0.333 ± 0.064^c	7.777 ± 0.419
各处理间的差异显著性分析	**	**	**	**

kg^{-1} 时叶片的含氮量达到最高值, $400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时根部的含氮量达到最高值。各处理中, 叶片含氮量普遍大于根含氮量, 见表 3。

2.4 叶片硝态氮含量

叶片硝态氮含量为 $36.6 \sim 943.2\text{ mgN} \cdot \text{kg}^{-1}\text{FW}$, 不同处理间具极显著差异 ($\alpha = 0.001$)。除施氮肥浓度为 $100\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和对照之间的菠菜叶片硝态氮含量之间无显著差异外, 菠菜叶片的硝态氮含量随着施氮浓度的增高而显著增高, 见表 4。

3 讨论

3.1 不同施氮浓度下菠菜各参数变化的对比

人们种植菠菜的最大期望就是用最少量的氮肥用量获取菠菜的最大生物量、最高的叶片产量和最高的叶片/根的比值, 以获取最大的利润并将成本降到最低。从环境保护的角度上考虑则同时期望获得最低硝态氮含量。将不同处理的菠菜各个参数排序

2.2 生物量、叶片干重和根干重

菠菜的生物量为 $0.489 \sim 6.835\text{ g}$, 各处理间具极显著差异 ($\alpha = 0.001$), t 检验表明在施氮浓度为 $100\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $200\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间, 以及 $400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和对照之间无显著差异。叶片干重为 $1.328 \sim 5.723\text{ g}$, 各处理之间具极显著差异 ($\alpha = 0.001$), t 检验分析表明施氮浓度为 $100\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $200\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时无显著差异。根干重为 $0.263 \sim 1.636\text{ g}$, 各处理间差异极显著 ($\alpha = 0.001$), t 检验表明施氮浓度为 $200\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间无显著差异。施氮浓度为 $100\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 菠菜的生物量、叶片和根的干重均达到最高值, 见表 2。

2.3 叶片和根的含氮量

菠菜叶片含氮量为 $1.72\% \sim 5.36\%$, 不同处理之间差异极显著 ($\alpha = 0.001$), t 检验表明在施氮浓度为 $200\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时无显著差异。根含氮量为 $1.10\% \sim 4.10\%$, 不同处理间差异极显著 ($\alpha = 0.001$)。随着土壤氮肥施用浓度的增加, 叶片和根含氮量呈增高趋势。当土壤施氮浓度为 $200\text{ mg} \cdot$

表 3 不同尿素 - 氮肥浓度处理下菠菜叶片和根的含氮量变化

Table 3 Variance of nitrogen contents in spinach leaf and root under differently applied urea - N concentrations		
施用浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	叶片含氮量/%	根含氮量/%
0	$1.94 \pm 0.18a$	1.15 ± 0.05^a
100	3.82 ± 0.35^b	1.96 ± 0.09^b
200	5.24 ± 0.12^c	3.05 ± 0.11^c
400	5.24 ± 0.07^c	3.38 ± 0.46^d

表 4 不同尿素 - 氮浓度处理下菠菜叶片的硝态氮含量的变化

Table 4 Variance of nitrogen contents in spinach leaf under differently applied urea - N concentrations	
施用浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	硝态氮含量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}\text{FW}$
0	76.0 ± 27.6^a
100	63.3 ± 29.2^a
200	512.1 ± 90.4^b
400	713.9 ± 202.1^c

后, 根据人们对各个参数的喜恶程度从 I ~ IV 进行标记, 见表 5。本次对照试验的菠菜各参数中, 除硝态氮含量最低外, 其他参数均不可取。在进行 $400\text{ mg} \cdot$

表 5 不同尿素 - 氮浓度处理各参数的比较
Table 5 The comparison between parameters of spinach under differently applied urea - N concentrations

施用浓度 /mg · kg ⁻¹	生物量 /g	叶干重 /g	叶干重/ 根干重	叶含氮量 /g	叶片硝态 氮含量/g
0	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅲ	Ⅰ
100	Ⅰ	Ⅰ	Ⅰ	Ⅱ	Ⅰ
200	Ⅰ	Ⅰ	Ⅰ	Ⅰ	Ⅱ
400	Ⅱ	Ⅱ	Ⅰ	Ⅰ	Ⅲ

注：Ⅰ为 优先采用指标，Ⅱ为次级采用指标，Ⅲ为三级采用指标，Ⅳ为拒绝采用指标

kg⁻¹ 尿素 - 氮浓度处理时，硝态氮含量最高，生物量和叶干重也不及另外两组低浓度处理,此处理不适宜选用。100 mg · kg⁻¹ 的氮处理试验表现出叶干重和生物量均达到最高值,同时叶片硝态氮的含量达到最低值,且与对照无显著差异。与 100 mg · kg⁻¹ 氮处理试验数据相比,200 mg · kg⁻¹ 氮处理时叶片硝态氮浓度

表 6 菠菜的叶片 SPAD 值、生物量、叶片和根干重、叶片硝态氮含量、叶片和根含氮量相关系数
Table 6 Correlation between spinach leaf SPAD value, biomass, leaf and root dry weight, leaf NO₃ - N content, leaf and root nitrogen contents

项目	硝态氮	氮肥量	生物量	叶干重	根干重	叶含氮量	根含氮量	收获后土壤 N%
SPAD 值	0. 905	0. 946	0. 089	0. 323	- 0. 738	0. 943	0. 681	- 0. 066
硝态氮		0. 924	- 0. 239	- 0. 003	- 0. 880	0. 785	0. 574	0. 146
氮肥量			- 0. 053	0. 155	- 0. 710	0. 843	0. 533	0. 087
生物量				0. 966	0. 525	0. 341	0. 341	- 0. 548
叶干重					0. 288	0. 560	0. 509	- 0. 541
根干重						- 0. 580	- 0. 417	- 0. 245
叶含氮量							0. 737	- 0. 199
根含氮量								- 0. 271

以上对不同氮浓度处理状况下菠菜各参数之间的相关性分析表明，SPAD 读数与硝态氮以及叶片中的氮浓度显著相关，说明 SPAD 值的读数有可能用来预测菠菜叶片中硝态氮含量。这说明叶绿素计即时读取的 SPAD 值诊断水稻品种的氮素营养水平^[7、8]、诊断水稻追氮法^[9]有可能在菠菜中得以很好应用。随着不同生长时期菠菜叶片 SPAD 值的变化可以推断，菠菜叶片中硝态氮含量随着生长时间的延长逐渐降低,从而可能用以确定不同浓度下收获菠菜的最佳时间。由于本结论基于盆栽试验，同时氮肥处理仅在 4 个水平上进行,因而仍有局限性。具体的预测方法的确定,仍需更进一步的试验验证。

参考文献:

[1] Forman D, Al - Dabbagh S, Doll R. Nitrates, nitrites and gastric cancer in Great Britain[J]. *Nature*, 1985, 313: 620 - 625.
[2] 马娟娟,胡才才. 钾, 锌肥与氮肥配施对油菜体内硝酸盐累积的影响[J]. *山西农业科学*, 2000, 28(2): 49 - 52.
[3] 王朝辉,田霄鸿,等. 叶类蔬菜的硝态氮累积及成因研究[J]. *生态学报*, 2001, 21(7): 1136 - 1141.
[4] 任祖淦,蔡元呈. 施用化学氮肥对蔬菜硝酸盐的累积及其治理研

的生物量、叶干重、叶含氮量都达到最高值,叶干重/根干重也比 100 mg · kg⁻¹ 氮处理高,但硝态氮含量比 100 mg · kg⁻¹ 的菠菜叶片的硝态氮含量也高。根据有关资料,《北京市蔬菜质量暂行标准》规定的菠菜中硝酸盐最高限量为 3 000 mg · kg⁻¹(此值相当于 677 mg · kg⁻¹ 硝态氮)。200 mg · kg⁻¹ 时菠菜叶片的硝态氮浓度(512. 1 ± 90. 4),接近此值但未超限。而 100 mg · kg⁻¹ 氮处理中各种参数均达到最佳值,为最佳处理,200 mg · kg⁻¹ 氮处理次之。

3. 2 SPAD 读数在预测菠菜硝态氮中的作用

在讨论这个问题之前,首先对不同参数之间的相关性作一分析。菠菜叶片的 SPAD 值与施用尿素 - 氮浓度、菠菜叶片硝态氮浓度、叶片含氮量、根的含氮量在 α = 0. 05 水平上具有显著正相关,见表 6。菠菜叶片含氮量与根的含氮量呈显著正相关(α = 0. 05)。

究[J]. *土壤通报*, 1999, 30(6): 265 - 267.
[5] 吴多三. 无公害蔬菜与施肥技术[J]. *北京农业科学*, 1998, 16(1): 16 - 18.
[6] Shaahan MM, El - Sayed AA, Abou El - Nour EAA. Predicting nitrogen, magnesium and iron nutritional status in some perennial crops using a portable chlorophyll meter[J]. *Scientia Horticulturæ*, 1999, 82(3 - 4): 339 - 348.
[7] Peng S, Garcia FV, Laza RC, Cassman KG. Adjustment for specific leaf weight improves chlorophyll meter's estimate of rice leaf nitrogen concentration[J]. *Agronomy Journal*, 1993, 85: 987 - 990.
[8] 沈掌泉,王珂,朱君艳. 叶绿素计诊断不同水稻品种氮素营养水平的研究初报[J]. *科技通报*, 2002, 18(3): 173 - 176.
[9] 吴良欢,陶勤南. 水稻叶绿素计诊断追氮法研究[J]. *浙江农业大学学报*, 1999, 25(2): 135 - 138.
[10] Peng S, Garcia FV, Laza RC, et al Increased N - use efficiency using a chlorophyll meter on high - yielding irrigated rice[J]. *Field Crops Research*, 1996, 47: 243 - 252.
[11] Wu Feibo, Wu Lianghuan, Xu Fuhua. Chlorophyll meter to predict nitrogen sidedress requirements for short - season cotton (Gossypium hirsutum L.) [J]. *Field Crops Research*, 1998, 56(3): 309 - 314.
[12] 鲍士旦. 土壤氨化分析 [M]. 北京:中国农业出版社,1981. 495.
[13] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000. 278.

致谢:感谢中科院生态环境研究中心土壤室的各位老师和同学在试验过程中提供的帮助。