



生态学杂志  
*Chinese Journal of Ecology*  
ISSN 1000-4890, CN 21-1148/Q

## 《生态学杂志》网络首发论文

题目： 维 C 工业废母液对不结球白菜氮素利用及品质的影响  
作者： 葛小艺，高明夫，徐慧  
收稿日期： 2022-11-03  
网络首发日期： 2023-05-09  
引用格式： 葛小艺，高明夫，徐慧. 维 C 工业废母液对不结球白菜氮素利用及品质的影响[J/OL]. 生态学杂志.  
<https://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1148.Q.20230508.1729.006.html>



**网络首发：**在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认：**纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

# 维 C 工业废母液对不结球白菜氮素利用及品质的影响

葛小艺<sup>1,2</sup> 高明夫<sup>2,3</sup> 徐慧<sup>2,3\*</sup>

(<sup>1</sup>辽宁大学生命科学院, 沈阳 110036; <sup>2</sup>中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016; <sup>3</sup>新疆库车市现代农业科创中心, 842000)

**摘要** 促进作物对氮肥的吸收和同化对提高作物产量、改善品质至关重要。目前, 低分子量有机质对植物利用土壤氮素的影响研究鲜有报道。本研究目的在于探究以小分子有机酸为主要成分的维生素 C 工业废弃液古龙酸母液 (RAE) 在不结球白菜 (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*) 利用土壤氮素过程中发挥的作用。结果表明, 施用 RAE 后, 氮肥农学效率、氮肥偏生产力、氮肥生理利用率和氮肥表观利用率分别提高 171.2%、57.9%、46.1% 和 86.1%。施用 RAE 显著促进了植株生长, 叶片总氮积累量和生物量分别提高 60.7% 和 57.9%。同时, 叶绿素含量提高 16.7%, 可溶性蛋白和游离氨基酸含量分别提高 65.4% 和 15.1%, 且亚硝酸盐还原酶、谷氨酰胺合成酶和谷氨酸合成酶表达水平上调, 表明光合作用得到强化, 显著促进了无机氮同化。综上, RAE 能够显著提高氮肥利用率, 在增加作物产量的同时, 还可以改善作物品质。本研究为 RAE 的资源化利用提供了科学依据, 并为提高氮肥利用率带来一种具潜在应用前景的有机增效剂。

**关键词** 有机酸; 不结球白菜; 氮肥; 同化; 利用率

**Effects of industrial vitamin C production-residue after evaporation on nitrogen utilization and quality of non-heading Chinese cabbage.** GE Xiaoyi<sup>1,2</sup>, GAO Mingfu<sup>2,3</sup>, XU Hui<sup>2,3\*</sup> (<sup>1</sup>School of Life Science, Liaoning University, Shenyang110036, Liaoning, China; <sup>2</sup>Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang110016, Liaoning, China; <sup>3</sup>Scientific Innovation Center for Contemporary Agriculture of Kuqa City, Xinjiang 842000, China).

**Abstract:** It is crucial to promote the uptake and assimilation of nitrogen fertilizer for improving crop yield and quality. Currently, little research has been reported on the effect of low molecular weight organic matters on soil nitrogen utilization by plants. Here, we investigated the effect of industrial vitamin C production-residue after evaporation (RAE), which is mainly composed of small-molecule organic acids, on the utilization of soil nitrogen by non-heading Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*). The results showed that RAE application increased the nitrogen fertilizer agronomic efficiency, nitrogen fertilizer bias productivity, nitrogen fertilizer physiological efficiency, and nitrogen fertilizer apparent efficiency by 171.2%, 57.9%, 46.1% and 86.1%, respectively. The plant growth was significantly promoted, with the total nitrogen accumulation and biomass of leaves being increased by 60.7% and 57.9%, respectively. Meanwhile, chlorophyll content was increased by 16.7%, with soluble protein and free amino acid contents being increased by 65.4% and 15.1%, respectively, and the expression levels of *nitrite reductase*, *glutamine synthetase* and *glutamate synthase* being up-regulated, indicating that photosynthesis was enhanced and inorganic nitrogen assimilation was significantly promoted. In conclusion, RAE could significantly improve nitrogen use efficiency, yield and quality of non-heading Chinese cabbage.

国家重点研发计划项目(2020YFA0907800)、沈阳市科技计划项目(22322305)资助。

收稿日期: 2022-11-03 接受日期: 2023-05-05

\*通信作者 E-mail: xuhui@iae.ac.cn

This study provided a scientific basis for resource utilization of RAE as a potential organic synergist for improving nitrogen fertilizer utilization.

**Key words:** organic acid; non-heading Chinese cabbage; nitrogen fertilizer; assimilation; utilization

氮素是作物生长发育过程中必需的大量元素之一。植物缺少氮元素，会生长缓慢，变得瘦小。合理利用氮素可以促进植物的光合作用 (Mu *et al.*, 2021)，延缓植物叶片的衰老 (李宪利等, 1997)，提高植物的产量和品质 (戴廷波等, 2001)。植物快速获得氮元素的途径即施用氮肥，氮肥是增产的基础，对作物最终产量的贡献达 40%~50% (李琦等, 2015)。然而，氮肥利用率低是中国农业生产中存在的主要问题，其利用率仅为 30%~35%。造成这一结果的主要原因在于农业生产中过量施用氮肥及不合理的管理措施 (Liu *et al.*, 2010)。氮肥施用过多不仅会降低氮肥利用率 (冯洋等, 2014)，同时还对环境产生负面影响，导致水体富营养化、温室效应加剧等 (Liu *et al.*, 2013)。因此，提高作物的氮素利用效率，对减少环境污染、节约资源、降低农业生产成本具有重要意义。

目前，通过施加有机肥、秸秆还田等利用大分子有机质对植物吸收氮素有一定的促进作用，并且关于植株体内氮素运转与秸秆和厩肥等大分子有机质之间的关系已有较多研究 (黄懿梅等, 2005; 胡国庆等, 2016)。然而，秸秆和厩肥用量大、不易收集、运输成本高、降解周期长，腐熟不当会引发烧苗或者病害等，且存在导致硝酸盐大量淋失的可能 (Lund *et al.*, 1980; Forge *et al.*, 2016)。相较之下，一些可利用的小分子量有机物质同样具有改善土壤环境，促进作物生长的功能，并且可被作物快速利用，在土壤中滞留周期短 (Jones *et al.*, 2003)。例如，乙酰丙酸钾可以提高辣椒的产量和品质 (于丹等, 2013)，苹果酸、柠檬酸及草酸处理均能显著提升梨叶片功能与果实品质，其中草酸处理对叶片生长促进效果最佳 (邵微等, 2022)，但目前缺乏对植物吸收和同化氮素的研究。

维 C 工业化生产采用的是我国科学家 20 世纪 70 年代独创的“维 C 两步生物发酵法”，该方法较传统“莱氏化学法”的生产成本低、无有毒有害物料，因此成为目前唯一工业化应用的维 C 生产工艺 (Yang *et al.*, 2016)。古龙酸母液 (RAE) 是维 C 发酵液经超滤、浓缩和结晶等工序后的剩余釜底残液。我国作为全球唯一的维生素 C 原粉生产地，每年产生约 5 万吨废弃 RAE (徐慧等, 2021)。古龙酸母液的主要成分为小分子有机酸混合物 (2-酮基-L-古龙酸、草酸、甲酸、戊酸等)，不含抗生素和农药，重金属含量符合肥料和食品标准。由于上述有机酸大多具有多个羧基及羟基等活性基团，具有较强的配位螯合作用，因此对于提高土壤的营养有效性 (Fox *et al.*, 1990; 王震宇等, 2009)，缓解重金属的毒害 (Fischer *et al.*, 2002)，增强土壤微生物及酶活性都具有重要影响 (Renella *et al.*, 2007; 孔涛等, 2016)。前期研究发现，RAE 具有改善土壤肥力，促进植物维生素 C 和可溶性糖的积累，提高作物产量的作用 (孔涛等, 2016)，但 RAE 对植物吸收和同化土壤中氮素的影响尚不清楚。因此，本研究将探索 RAE 在提高氮肥利用率、促进氮素同化以及改善作物品质过程中的作用，进一步评估 RAE 在农业生产中的应用潜力，以期为提高作物氮素利用率提供一种新的可利用的有机质资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料与设计

盆栽试验选用不结球白菜 (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*) 为供试作物，土壤采用辽宁沈阳农田生态系统国家野外科学观测研究站 (41°31'N, 123°24'E) 的旱田土壤。土壤 pH 为 5.91，土壤有机碳含量为 6.7 g·kg<sup>-1</sup>，铵态氮、硝态氮、有效磷、速效钾含量分别为 9.5、4.6、37.6、89.1 mg·kg<sup>-1</sup>。

试验共设置 3 个处理组：(1) 底肥无氮肥、自来水浇灌组 (CK)；(2) 底肥施氮肥、自来水浇灌组 (CN)；(3) 底肥施氮肥、RAE 稀释 200 倍浇灌组 (RN)。每组处理 4 个重

复。底肥施加比例按照 N : P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> : K<sub>2</sub>O=1 : 0.35 : 0.6, 分别折算为相应量的尿素、过磷酸钙和氯化钾。各施肥处理的施肥量除 CK 处理不施氮肥外, 各处理的氮、磷、钾肥用量相同, 植株种植前将肥料与土壤充分混匀后装入盆中, 其后在植株生长期间不再追肥。盆栽实验在全自动光照培养箱中进行, 培养条件为: 温度 22~25 °C, 相对湿度为 60%±10%, 光照昼夜交替周期为 12 h/12 h, 光照强度为 9000 lx。每 7 天 CK 组和 CN 组施加一次自来水, RN 组施加一次稀释 200 倍的 RAE, 培养周期为 28 天。

## 1.2 植株样品生理生化指标的测定

在试验第 28 天 (成熟期) 对所有植株的株高、最大叶长、最大叶宽和干重进行测定, 其中株高测定植株根颈部到主茎顶部之间的距离, 最大叶长测定叶基到叶尖的距离, 最大叶宽测定叶片上与主脉垂直方向上的最宽处, 生物量采用烘干法测定, 于 105 °C 条件下杀青 30 min, 再于 80 °C 恒温条件下烘干后称重。称取植株叶片新鲜样品 0.1~0.5 g 用于下述指标测定: 可溶性糖含量采用苯酚-硫酸法测定 (Nielsen, 2010)、可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝法测定 (Bradford, 1976)、叶绿素含量采用乙醇提取法 (Lichtenthaler, 1987) 测定, 游离氨基酸含量采用氨基酸分析仪 (L-8900) 测定 (李梅等, 2016)。

## 1.3 植株叶片氮代谢相关基因表达量的测定

采用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 方法测定目的基因的相对表达量。总 RNA 的提取按照 *SteadyPure Universal RNA Extraction Kit* (Accurate Biotechnology (Hunan) Co., Ltd.) 说明方法执行, 获得的样品总 RNA 立即进行反转录。RT-qPCR 反应体系执行 SYBR® Green Premix Pro Taq HSqPCR Kit (Accurate Biotechnology (Hunan) Co., Ltd.) 说明, 检测平台为 Rotor-Gene 3000。程序设定如表 1 所示, 根据 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 上公布的油菜氮同化关键基因的序列, 由 Primer 5.0 软件根据其开放阅读框进行引物设计, 其中每个基因的同源基因与多拷贝基因均分开设计引物。选择 *Actin* 为内参基因。引物序列如表 2 所示 (徐瑶等, 2016), 基因相对表达量采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 算法计算。

表 1 RT-qPCR 的运行程序

Table 1 Operation procedure of RT-qPCR

步骤 Procedure	温度 Temperature (°C)	时间 Time (s)	循环数 Cycle number
热启动 Hot start	95	300	1
变性 Degeneration	95	15	45
退火 Annealing	60	35	
延伸 Elongation	72	45	

表 2 植物氮代谢相关的基因引物

Table 2 Primers of genes related to nitrogen metabolism in plants

引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Primer sequences (5'-3')
<i>NiR-F</i>	GATCTGGCTTACATGCCTGCTAA
<i>NiR-R</i>	GACCTTCTTGTCTGAGGGTGG
<i>Fd-GOGAT-F</i>	CTTAGGGAAGGCTTGGTTATGTC
<i>Fd-GOGAT-R</i>	GCTATCGGTTCCGGTCTGAAAGTA
<i>NADH-GOGAT-F</i>	TCCGAACTCTAACCGAAAT
<i>NADH-GOGAT-R</i>	TTGGACAACGCAATCAGC
<i>Cytoplasm-GS-F</i>	TATGGGTTGGAGGTTTCAG
<i>Cytoplasm-GS-R</i>	AACATCAGGGTGGCTAAA
<i>Chloroplast-GS-F</i>	ATCCTTCCGTGGAGGCAATAAC

<i>Chloroplast-GS-R</i>	CAATCGGTTTGGGATCAAGTGTT
<i>GDH-F</i>	AAACAGCAGTGGCTAACA
<i>GDH-R</i>	ACTCACCGCAACTATCTT
<i>Actin-F</i>	TGTGCCAATCTACGAGGGTTT
<i>Actin-R</i>	TTTCCCGCTCTGCTGTTGT

注：*NIR*，亚硝酸盐还原酶；*Fd-GOGAT*，以铁氧还蛋白（Fd）为电子供体的谷氨酸合酶；*NADH-GOGAT*，以 NADH 为电子供体的谷氨酸合酶；*Cytoplasm-GS*，胞质型谷氨酰胺合成酶；*Chloroplast-GS*，质体型谷氨酰胺合成酶；*GDH*，谷氨酸脱氢酶；*Actin*：内参基因。下同。

Note: *NIR*, nitrite reductase; *Fd-GOGAT*, glutamate synthase with ferredoxin (Fd) as electron donor; *NADH-GOGAT*, glutamate synthase with NADH as electron donor; *Cytoplasm-GS*, Cytoplasmic glutamine synthase; *Chloroplast-GS*, glutamine synthetase; *GDH*, glutamate dehydrogenase; *Actin*: reference gene. The same below.

#### 1.4 氮含量及氮肥利用率的测定及计算

植物叶片和土壤的全氮含量采用元素分析仪（VARIO）测定（王巧环等, 2013）。氮肥利用率计算公式如下（李银水等, 2011）：

$$\text{氮肥农学效率 (AE}_N, \text{g} \cdot \text{g}^{-1}) = (\text{施氮后作物产量} - \text{不施氮作物产量}) / \text{施氮量}$$

$$\text{氮肥偏生产力 (PFP}_N, \text{g} \cdot \text{g}^{-1}) = \text{施氮后作物产量} / \text{施氮量}$$

$$\text{氮肥生理利用率 (PE}_N, \text{g} \cdot \text{g}^{-1}) = (\text{施氮后作物产量} - \text{不施氮作物产量}) / (\text{施氮后作物吸氮总量} - \text{不施氮作物吸氮总量})$$

$$\text{氮肥表观利用率 (RE}_N, \%) = (\text{施氮后作物吸氮总量} - \text{不施氮作物吸氮总量}) / \text{施氮量} \times 100\%$$

#### 1.5 数据处理

试验结果采用 SPSS 19.0 统计分析软件进行方差分析和相关分析，不同处理间采用最小显著差数法（LSD 法）进行差异显著性检验（ $P < 0.05$ ），采用 Microsoft Excel 2016 软件进行数据整理和 GraphPad Prism 8 软件制图。

## 2 结果与分析

### 2.1 植株生长和生物量

表 3 不同施肥处理对成熟期植株生长和生物量的影响

Table 3 Effects of different fertilization treatments on plant growth and biomass at mature stage

处理 Treatment	株高 Plant height (cm)	最大叶长 Maximum leaf length (cm)	最大叶宽 Maximum leaf width (cm)	叶片数 Number of leaves	地上生物量 Above-ground biomass (g)
CK	4.54±0.77a	4.51±0.56b	2.91±0.36b	7.14±0.69b	0.70±0.08c
CN	4.71±0.48a	5.23±0.62b	3.76±0.88ab	8.43±0.98a	1.06±0.04b
RN	4.44±0.85a	6.31±1.05a	4.51±0.92a	8.71±0.95a	1.67±0.17a

注：CK：对照组，底肥无氮肥，自来水处理；CN：底肥施氮肥，自来水处理；RN：底肥施氮肥，RAE 稀释 200 倍处理。表中数据为平均值±标准误；同列不同字母表示组间差异达显著水平（ $P < 0.05$ ）。下同。

Note: CK: Control group, no nitrogen fertilizer in the bottom fertilizer, tap water treatment; CN: Nitrogen fertilizer in the bottom fertilizer, tap water treatment; RN: Nitrogen fertilizer in the bottom fertilizer, RAE diluted 200 times treatment. Data in the table are mean±standard error; Different letters in the same column indicated significant difference between groups ( $P < 0.05$ ). The same below.

如表 3 所示，与对照相比，施氮肥对植株的株高、最大叶长、最大叶宽、叶片数和地上部生物量均有不同程度的提高，上述指标增加幅度分别为 3.8%、15.8%、28.9%、18.0% 和 51.1%，在叶片数和地上部生物量上有显著差异。氮肥加 RAE 组相比于施氮肥组，最大

叶长，地上部生物量有显著差异，分别提高 20.8%和 57.9%。由此可见，土壤中施氮肥后添加 RAE，可以明显优化肥料中氮素在促进生长、增加产量方面的效果。

## 2.2 植株碳水化合物和含氮有机物

表 4 不同施肥处理对成熟期植株碳水化合物和含氮有机物的影响 ( $\text{mg g}^{-1}$ )

Table 4 Effects of different fertilization treatments on plant carbohydrates and nitrogenous organic matter at mature stage

处理 Treatment	可溶性糖 Soluble sugar	可溶性蛋白 Soluble protein	叶绿素 Chlorophyll	游离氨基酸 Free amino acids
CK	1.66±0.16b	1.13±0.15c	0.53±0.01c	0.68±0.08b
CN	3.61±0.28a	3.23±0.50b	1.13±0.02b	0.97±0.11a
RN	3.55±0.39a	5.34±0.42a	1.32±0.01a	1.12±0.03a

由表 4 可以看出，与对照组相比，施氮肥组的可溶性糖、可溶性蛋白、叶绿素和游离氨基酸含量均有增加，分别提高了 116.8%、186.8%、113.3%和 42.9%。与施氮肥组相比，氮肥加 RAE 组可溶性蛋白含量提高 65.4%，叶绿素含量提高 16.7%，游离氨基酸提高 15.1%。表明土壤中施氮后施加 RAE，对植株可溶性蛋白、叶绿素和游离氨基酸的合成有促进作用。

## 2.3 植株氮素含量与氮总积累量

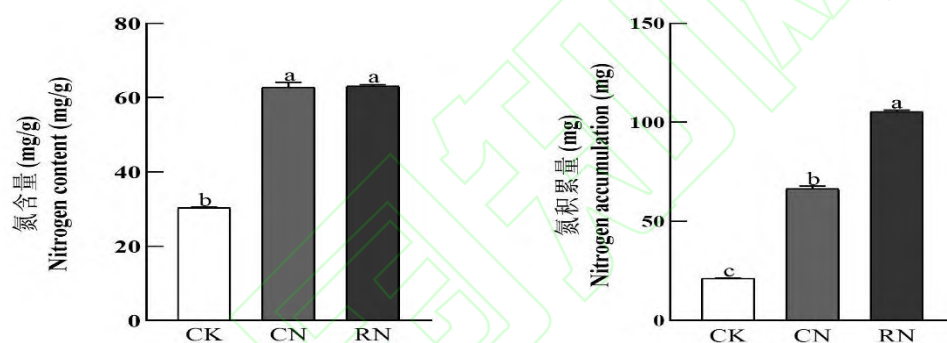


图 1 不同施肥处理对成熟期植株叶片氮含量与氮积累量的影响

Fig. 1 Effects of different fertilization treatments on leaf nitrogen content and nitrogen accumulation in mature plants

注：氮总积累量=生物量×氮素含量。误差线上方不同小写字母表示组间差异达显著水平 ( $P<0.05$ )。下同。  
Note: Total nitrogen accumulation=biomass×nitrogen content. Different lowercase letters above the error line indicated significant difference between groups ( $P<0.05$ ). The same below.

由图 1 可见，相比于对照组而言，施氮肥组植株叶片单位重量下的氮含量显著提高 107.1%，施氮肥与 RAE 组合处理相比于施氮肥组差异不显著。但是，植株叶片中氮总积累量相比于施氮肥组显著提高 60.7%。表明施加氮肥能显著提高植株叶片总氮素吸收量，而当 RAE 配施氮肥时，则能显著促进植株的生长并增加叶片中的氮总积累量。

## 2.4 植株氮肥利用率

表 5 不同施肥处理对成熟期植株氮肥利用率的影响

Table 5 Effects of different fertilization treatments on nitrogen efficiency of mature plants

处理 Treatment	农学效率 $\text{AE}_N (\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	偏生产力 $\text{PFP}_N (\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	生理利用率 $\text{PE}_N (\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	表观利用率 $\text{RE}_N (\%)$
CN	1.59±0.20b	4.71±0.20b	7.90±0.74b	20.11±0.62b
RN	4.32±0.74a	7.43±0.74a	11.54±2.02a	37.42±0.31a

注：氮肥农学效率（ $AE_N$ ）反映了单位施氮量下作物经济产量的增加情况；氮肥偏生产力（ $PFP_N$ ）反映了单位施氮量对产量的贡献；氮肥生理利用率（ $PE_N$ ）反映了作物在吸收同等数量氮素时所获得经济产量的效果；氮肥表观利用率（ $RE_N$ ）反映的是当季作物对氮肥的回收情况。

Note: Agronomic efficiency of nitrogen fertilizer ( $AE_N$ ) reflects the increase in economic crop yield per unit of applied nitrogen; Bias productivity of nitrogen fertilizer ( $PFP_N$ ) reflects the contribution to yield per unit of applied nitrogen; Physiological efficiency of nitrogen fertilizer ( $PE_N$ ) reflects the effect of economic yield obtained by the crop when the same amount of nitrogen is absorbed; Apparent efficiency of nitrogen fertilizer ( $RE_N$ ) reflects the recovery of nitrogen fertilizer by the crop in the current season.

由表 5 可看出，相比于施氮肥组，氮肥配施 RAE 组能够提高植株氮肥利用率的相关指标，氮肥农学效率、氮肥偏生产力、氮肥生理利用率和表观利用率分别显著提高了 171.2%、57.9%、46.1%和 86.1%。而氮肥利用率相关指标的提高，表明施加 RAE 将减少过量施用氮肥对土壤及环境造成的污染，避免了肥料浪费，提高了经济效益。

## 2.5 植株氮代谢酶的基因表达

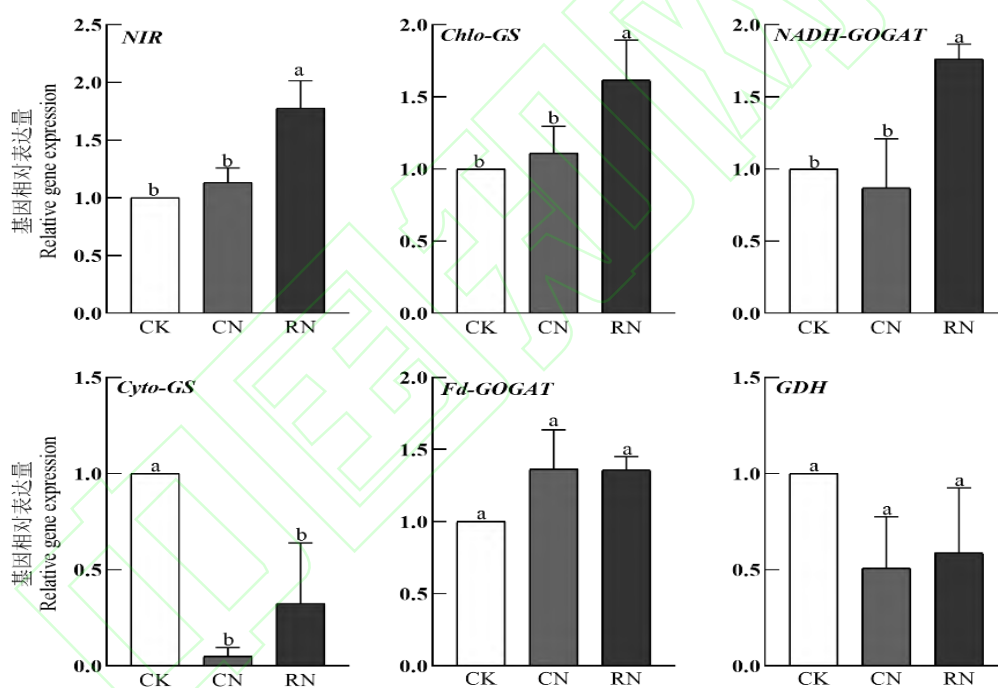


图 2 不同施肥处理对成熟期植株叶片氮代谢相关酶基因表达的影响

Fig. 2 Effects of different fertilization treatments on the expression of enzymes related to nitrogen metabolism in leaves of mature plants

对 3 组植物叶片中氮代谢相关基因亚硝酸盐还原酶（NIR）、胞质型谷氨酰胺合成酶（Cytoplasm-GS）、质体型谷氨酰胺合成酶（Chloroplast-GS）、以 NADH 为电子供体的谷氨酸合酶（NADH-GOGAT）、以 Fd 为电子供体的谷氨酸合酶（Fd-GOGAT）和谷氨酸脱氢酶（GDH）的表达水平进行相对定量测定。首先，相比于对照组，施氮肥组在 NIR、Chlo-GS、Fd-GOGAT 的表达上具有不同程度的上调；与施氮肥组相比，施氮肥加 RAE 处理在 NIR、Chlo-GS、NADH-GOGAT、Cyto-GS 和 GDH 的表达上均有所上调，在 NIR、Chlo-GS、NADH-GOGAT 表达丰度上显著高于其他组，三者分别涉及亚硝酸盐还原、谷氨酰胺和谷氨酸的合成，表明施加 RAE 对植株同化氮素具有促进作用（图 2）。

## 3 讨论

氮通常是限制大部分陆生植物生长的营养物质，氮素有效性成为陆地生态系统初级生产力的关键决定因素 (Liu *et al.*, 2018)。在可持续农业生产中，保证作物生产力的同时，降低环境风险最有效的手段之一就是提高植物吸收和同化氮素的效率 (Zhang *et al.*, 2015)。相关研究表明，施用一些低分子有机质，如有机酸、氨基酸等，可改善土壤理化性质，增强土壤生物肥力，提高根系可吸收利用的速效养分 (吕娜娜等, 2018)。本研究发现，施加 RAE，可以明显优化肥料氮素在促进生长、提高产量方面的作用效果，与常规施氮肥处理相比，植株最大叶长、最大叶宽、叶片数、地上部干重均得到明显提升。其原因，一方面可能是由于 RAE 中富含多种小分子有机营养物质，施入土壤后有利于作物直接利用这类碳源，从而强化新陈代谢过程，增加植物的氮需求，从而促进植株生长，提高作物产量 (马林, 2004; 李瑞波, 2013; Li *et al.*, 2014; 万群, 2016)。另一方面，RAE 中含有多种化学活性官能团 (羧基、羟基、羰基等)，与化学氮肥可能会发生离子交换、氢键缔合、羰基加成、自由基反应而形成氢键、络合配位键、离子键或共价键，以及物理-化学吸附作用，减少了化学氮肥与土壤的直接接触面积，形成的化学键都具有较高的化学稳定性，减少作物生长前期氮素损失，降低氮肥的溶解转化时间，使氮素缓慢的释放它的养分供给植物，增加作物中后期的氮素供应，从而提高氮素的作用效果，提高了氮肥利用率 (梁宗存等, 1999; 刘增兵等, 2009; 张健等, 2018)。不过，RAE 中不同活性官能团在提高氮肥利用率过程中的具体贡献有待进一步评估。总体而言，RAE 在提高氮肥利用效率方面发挥了积极作用，施用 RAE 后， $AE_N$ 、 $PFP_N$ 、 $PE_N$  和  $RE_N$  分别显著提高了 171.2%、57.9%、46.1% 和 86.1%。上述研究结果证实，RAE 能显著促进植物对土壤中氮素的利用效率，进而提高作物产量。

迄今为止，大量的研究涉及叶片氮含量与光合作用的关系 (Broadley *et al.*, 2001; Ghannoum *et al.*, 2005)。氮素供应与叶片面积和绿叶寿命密切相关，对生物量有较大影响。这可能是由于氮是叶绿素的一个重要组成部分，负责促进营养生长和植物叶子的绿色着色 (Chandler *et al.*, 1995)。提高氮素用量或利用率，促进氮的吸收，能够提高植物叶片中叶绿素合成，进而强化光合作用 (Makino *et al.*, 1997)，而光合作用的能量大部分用于碳、氮代谢 (Huppe *et al.*, 1994)。本研究发现，施用 RAE 后，光合色素含量显著提高，这能够强化光合作用，为氮代谢提供更多所需的能量，进而促进氨基酸、蛋白质等有机氮化合物的合成。本研究中，生物量、氨基酸和可溶性蛋白含量的提升证实了这一点。

硝酸盐和铵盐是植物合成有机氮化合物的主要氮源。不结球白菜有明显的喜“硝”特性，容易富集硝酸盐 (Tian *et al.*, 2000)。硝酸盐虽然是植物必需的矿质养分，但对人体无益，摄入人体内的硝酸盐在口腔、肠道、胃中酶的作用下极易还原成亚硝酸盐。而这些亚硝酸盐则可与体内的代谢中间产物胺类化合物和氨基酸进一步化合形成强致癌的亚硝基化合物 (张维理等, 1995)。本研究发现，在施用 RAE 后，植株叶片中 *NIR* 表达水平显著上调，该代谢酶表达的提高可以激活和促进植物体吸收和转化亚硝酸盐，将亚硝酸盐转化为  $NO$  或  $NH_3$ ，从而减少植物叶片中亚硝酸盐累积。同时，*NADH-GOGAT* 和 *Chlo-GS* 表达量显著上调，二者在氮素同化代谢的循环过程中起关键作用。植物体内 95% 以上的  $NH_4^+$  通过 *GS/GOGAT* 循环同化 (Lea *et al.*, 1992; 赵越等, 2003)，此外，*NADH-GOGAT* 是连接氮无机同化和有机同化的纽带，在作物氮代谢中至关重要。上述结果表明，在施加氮肥的同时加入 RAE，能够促进植株对硝氮和铵氮的同化能力，兼顾了作物产量的提高和作物品质的改善。但是，本研究是在盆栽试验条件下模拟进行的，外界因素可能会导致 RAE 的施用效果存在差异。因此，未来研究可结合田间不同作物试验进一步验证氮肥与 RAE 联合施用效果。

#### 4 结论

施加氮肥的同时添加 RAE 可以优化氮肥的利用效果，提升植株叶片的氮总积累量 (包括含氮有机物)，氮肥农学利用率、氮肥偏生产力、氮肥生理利用率和表观利用率显著



提高,强化了硝态氮和铵态氮的同化作用,促进作物生长,在提高作物产量同时,实现了作物品质的改善。因此,富含低分子量有机酸的维C古龙酸母液可以作为提高氮肥利用率、提高作物品质的一种有效资源。

#### 参考文献

- 戴廷波,曹卫星,荆奇. 2001. 氮形态对不同小麦基因型氮素吸收和光合作用的影响. 应用生态学报, **12**(6): 849-852.
- 冯洋,陈海飞,胡孝明,等. 2014. 高、中、低产田水稻适宜施氮量和氮肥利用率的研究. 植物营养与肥料学报, **20**(1): 7-16.
- 胡国庆,刘肖,何红波,等. 2016. 免耕覆盖还田下玉米秸秆氮素的去向研究. 土壤学报, **53**(4): 963-971.
- 黄懿梅,苟春林,来航线,等. 2005. 两种添加剂对猪粪玉米秸秆堆肥氮素转化和堆肥质量的影响. 干旱地区农业研究, **23**(6): 112-118.
- 孔涛,李勃,李志能,等. 2016. 古龙酸母液和北虫草废弃培养基混制有机肥对设施蔬菜和土壤肥力的影响. 中国土壤与肥料, (6): 56-61.
- 孔涛,刘民,淑敏,等. 2016. 低分子量有机酸对土壤微生物数量和酶活性的影响. 环境化学, **35**(2): 348-354.
- 李梅,刘金华,楼兵干,等. 2016. 植物鲜样中游离氨基酸提取方法的比较. 实验室研究与探索, **35**(4): 34-38, 51.
- 李琦,马莉,赵跃,等. 2015. 不同温度制备的棉花秸秆生物碳对棉花生长及氮肥利用率( $^{15}\text{N}$ )的影响. 植物营养与肥料学报, **21**(3): 600-607.
- 李瑞波. 2013. 从有机碳营养的视角透视农作物现象. 磷肥与复肥, **28**(5): 4-7.
- 李宪利,高东升,米瑞英. 1997. 苹果植株硝酸还原酶(NR)研究初报. 山东农业大学学报, (1): 3-6.
- 李银水,鲁剑巍,廖星,等. 2011. 氮肥用量对油菜产量及氮素利用效率的影响. 中国油料作物学报, **33**(4): 379-383.
- 梁宗存,成绍鑫,武丽萍. 1999. 煤中腐植酸与尿素相互作用机理的研究. 燃料化学学报, **27**(2): 176-181.
- 刘增兵,赵秉强,林治安. 2009. 熔融造粒腐植酸尿素的缓释性能研究. 植物营养与肥料学报, **15**(6): 1444-1449.
- 吕娜娜,沈宗专,王东升,等. 2018. 施用氨基酸有机肥对黄瓜产量及土壤生物学性状的影响. 南京农业大学学报, **41**(3): 456-464.
- 马林. 2004. 植物对氨基酸的吸收和利用. 西南科技大学学报, **19**(1): 102-107.
- 邵微,徐国益,于会丽,等. 2022. 低分子量有机酸水溶肥提升梨叶片光合,养分吸收及果实品质. 果树学报, **39**(6): 992-1003.
- 万群. 2016. 菜籽饼肥发酵液对樱桃番茄生长、品质及氮代谢的影响. 西南农业学报, **29**(9): 2150-2154.
- 王巧环,任玉芬,孟龄,等. 2013. 元素分析仪同时测定土壤中全氮和有机碳. 分析试验室, **32**(10): 41-45.
- 王震宇,温胜芳,罗先香,等. 2009. 2种水生植物根际溶液磷素时空变异及有机酸分泌. 环境科学, **30**(8): 2248-2252.
- 徐慧,杨伟超,李嘉文. 2021. 维生素C第二步混菌发酵技术研究新进展. 微生物学杂志, **41**(2): 1-9.
- 徐瑶,牟建梅,张国芹,等. 2016. 施硫对不结球白菜硝酸盐累积及氮硫同化关键基因表达的影响. 中国农业科学, **49**(11): 2222-2233.
- 于丹,徐福利,王渭玲,等. 2013. 低分子量有机酸喷施对辣椒生长、养分吸收、产量及果实品质的影响. 西北农业学报, **22**(6): 118-125.
- 张健,李燕婷,袁亮,等. 2018. 氨基酸发酵尾液可促进樱桃番茄对水溶肥料氮素的吸收利用. 植物营养与肥料学报, **24**(1): 114-121.
- 张维理,田哲旭,张宁,等. 1995. 我国北方农用氮肥造成地下水硝酸盐污染的调查. 植物营养与肥料学报, (2): 82-89.
- 赵越,魏自民,李成,等. 2003. 甜菜氮代谢关键酶与其产质量的关系. 东北农业大学学报, **34**(4): 455-458.

- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**: 248-254.
- Broadley MR, Escobar-Gutiérrez AJ, Burns A, *et al.* 2001. Nitrogen-limited growth of lettuce is associated with lower stomatal conductance. *New Phytologist*, **152**: 97-106.
- Chandler JM, Dale JE. 1995. Nitrogen deficiency and fertilization effects on needle growth and photosynthesis in Sitka spruce (*Picea sitchensis*). *Tree Physiology*, **15**: 813-817.
- Fischer K, Bipp HP. 2002. Removal of heavy metals from soil components and soils by natural chelating agents. Part II. Soil extraction by sugar acids. *Water, Air, and Soil Pollution*, **138**: 271-288.
- Forge T, Kenney E, Hashimoto N, *et al.* 2016. Compost and poultry manure as preplant soil amendments for red raspberry: Comparative effects on root lesion nematodes, soil quality and risk of nitrate leaching. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **223**: 48-58.
- Fox TR, Comerford NB, McFee WW. 1990. Phosphorus and aluminum release from a spodic horizon mediated by organic-acids. *Soil Science Society of America Journal*, **54**: 1763-1767.
- Ghannoum O, Evans, JR, Chow, *et al.* 2005. Faster Rubisco is the key to superior nitrogen-use efficiency in NADP-malic enzyme relative to NAD-malic enzyme C4 grasses. *Plant Physiology*, **137**: 638-650.
- Huppe HC, Turpin DH. 1994. Integration of carbon and nitrogen metabolism in plant and algal cells. *Annual Review of Plant Biology*, **45**: 577-607.
- Jones DL, Dennis PG, Owen AG, *et al.* 2003. Organic acid behavior in soils—misconceptions and knowledge gaps. *Plant and Soil*, **248**: 31-41.
- Lea PJ, Blackwell RD, Joy KW. 1992. Ammonia assimilation in higher plants// Meng K, Pilbeam DJ, eds. Nitrogen metabolism of plant. New York: Oxford Scientific Publishers: 153-186.
- Li S, Liu L, Jiang H, *et al.* 2014. It was found that amino sugar nitrogen was a new source of energy for plant. *Journal of Agricultural Science*, **6**: 45-53.
- Lichtenthaler HK. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, **148**: 350-382.
- Liu JG, You LZ, Amini M, *et al.* 2010. A high-resolution assessment on global nitrogen flows in cropland. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**: 803-804.
- Liu XJ, Zhang Y, Han WX, *et al.* 2013. Enhanced nitrogen deposition over China. *Nature*, **494**: 459-462.
- Liu XY, Koba K, Koyama LA, *et al.* 2018. Nitrate is an important nitrogen source for Arctic tundra plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **115**: 3398-3403.
- Lund Z F, Doss B D. 1980. Residual effects of dairy cattle manure on plant growth and soil properties 1. *Agronomy Journal*, **72**: 123-130.
- Makino A, Sato T, Nakano H, *et al.* 1997. Leaf photosynthesis, plant growth and nitrogen allocation in rice under different irradiances. *Planta*, **203**: 390-398.
- Mu X, Chen Y. 2021. The physiological response of photosynthesis to nitrogen deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry*, **158**: 76-82.
- Nielsen SS. 2010. Phenol-sulfuric acid method for total carbohydrates. Food Analysis Laboratory Manual: 47-53.
- Renella G, Landi L, Valori F, *et al.* 2007. Microbial and hydrolase activity after release of low molecular weight organic compounds by a model root surface in a clayey and a sandy soil. *Applied Soil Ecology*, **36**: 124-129.
- Tian XH, Li SX. 2000. Uptake capacity of several vegetable crops to nitrate and ammonium. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, **6**: 194-201.
- Yang W, Xu H. 2016. Industrial fermentation of vitamin C// Vandamme EJ, Revuelta JL, eds. Industrial Biotechnology of Vitamins, Biopigments, and Antioxidants. Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA Press: 161-192.

Zhang X, Davidson EA, Mauzerall DL, *et al.* 2015. Managing nitrogen for sustainable development. *Nature*, **528**: 51-59.

**作者简介** 葛小艺，女，1998年生，硕士研究生，主要研究方向为植物营养调节。E-mail: 810418928@qq.com  
**责任编辑** 魏中青

