

氮素形态对菠菜可食部分硝酸盐和草酸累积的影响

张英鹏¹, 徐旭军², 林咸永^{1*}, 章永松¹, 都韶婷¹, 李刚¹

(1 教育部环境修复与生态健康重点实验室, 浙江大学环境与资源学院, 浙江杭州 310029;

2 浙江大学校医院, 浙江杭州, 310029)

摘要: 采用溶液培养试验研究了营养液中硝态氮/铵态氮比例对菠菜地上部可食部分不同器官硝酸盐以及不同形态草酸累积的影响。结果表明, 菠菜地上部生物量随供铵比例从 0% 提高到 50% 呈增加趋势而后显著下降。叶片和地上部可食部分的硝酸盐含量和累积量均随供铵比例增加而显著下降; 叶柄的硝酸盐含量随供铵比例提高而降低, 而硝酸盐累积量则先升高后显著下降。叶片是菠菜积累草酸的主要器官, 可溶态草酸与草酸总量分别占地上部的 56.3%~89.8% 和 76.6%~87.4%。可溶态草酸是菠菜体内草酸的主要形态, 在叶片、叶柄及地上部中所占草酸总量的比例分别在 36.7%~83.5%, 79.0%~93.3% 以及 50.0%~83.0% 之间。地上部各器官的可溶态草酸含量、难溶态草酸含量和草酸总量以及累积量均随着供铵比例的增加而显著下降, 叶片和地上部的草酸含量和累积量的下降幅度均高于叶柄。可见, 调节营养液中硝态氮/铵态氮比例可以有效降低菠菜地上部可食部分硝酸盐和草酸的含量和累积量, 50/50 是营养液中适宜的硝态氮/铵态氮比例, 不仅菠菜的生物量最高, 而且硝酸盐和各形态草酸的含量以及累积量较低, 从而大大减轻了硝酸盐和草酸对人体健康产生的负面影响。

关键词: 硝态氮/铵态氮比例; 菠菜; 可食部分; 硝酸盐; 草酸形态

中图分类号: S636.106

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2006)02-0227-06

Effects of nitrogen forms on nitrate and oxalate accumulation in edible parts of spinach

ZHANG Ying-peng¹, XU Xu-jun², LIN Xian-yong^{1*}, ZHANG Yong-song¹, DU Shao-ting¹, LI Gang¹

(1 Key Lab of Envir. Remed. and Ecosystem Health, MOE, College of Envir. and Natural Resour, Zhejiang Univ., Hangzhou 310029, China; 2 Hospital of Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: Nitrate and oxalate are two major quality-related compounds present in high quantities in some vegetables such as spinach and deteriorate the nutritional quality of food. Oxalate could lead to the formation of calcium oxalate kidney stones and reduce the bioavailability of calcium, iron and other minerals. Oxalate forms in vegetables have different effects on human health, but previous studies have focused mainly on the total oxalate in vegetables. Little is known about how N source can influence content and accumulation of different oxalate forms in vegetable. A hydroponic experiment was carried out to study the effects of nitrate/ammonium ratio in nutrient solution on accumulation of nitrate and oxalates in the edible parts of spinach shoots. Results showed that biomass of spinach increased firstly as ammonium proportion was increased from 0 to 50% then drastically decreased with the proportion of ammonium further increased. Nitrate content and amounts of nitrate accumulation in leaves and shoots reduced markedly with the increase of the ammonium proportion; Nitrate content in petioles decreased with the proportion of ammonium increased while amounts of nitrate accumulation in petioles elevated firstly then markedly reduced. Leaf was the major oxalate-accumulating tissue of spinach, the amounts of soluble oxalate and total oxalate accumulation in leaves constituted 56.3%—89.8% and 76.6%—87.4% of those in shoots, respectively. Soluble oxalate was the predominant form of oxalate of spinach, which in leaves, petioles and shoots occupied 36.7%—83.5%, 79.0%—93.3% and 50.0%~83.0% of total oxalate. The content

收稿日期: 2004-11-05

修改稿收到日期: 2005-04-18

基金项目: (国家自然科学基金(30370840); 国家重点基础研究发展计划(2002CB410806); PPL/PPIC(X10073); 杭州市环保局(W00228)资助。

作者简介: 张英鹏(1977—), 男, 山东烟台人, 博士研究生, 主要从事蔬菜营养与养分管理方面的研究。* 通讯作者

and accumulation amounts of soluble oxalate, insoluble oxalate and total oxalate in leaves, petioles and shoots decreased drastically when the proportion of ammonium was elevated. The extent of reduction of oxalate content and the amounts of oxalate accumulation in leaves and shoots was higher than that in petioles. These results indicate that higher nutritional quality of spinach with lower nitrate and oxalate content and accumulation in edible parts could be achieved by manipulating the ratios of nitrate to ammonium in nutrient solution. Appropriate ratio of nitrate to ammonium is 50/50, at which nitrate and oxalate content and accumulation can be markedly reduced without depressing plant growth.

Key words: nitrate/ammonium ratio; spinach; edible parts; nitrate; oxalate form

菠菜 (*Spinacia oleracea* L.) 是一种硝酸盐高积累的蔬菜,也是草酸累积型蔬菜^[1-4]。硝酸盐是致癌物亚硝酸胺的前体,易诱发人体消化系统癌变^[5-7];而草酸是一种抗营养因子,不仅影响矿质元素钙、镁和锌等有效性^[8-10],而且易导致人体患草酸钙肾结石^[11-12]。因此,摄入含有高量硝酸盐和草酸的菠菜不利于人体健康。

研究表明,氮素营养是影响菠菜生长以及硝酸盐和草酸累积的一个重要因素。营养液中供氮水平过高或在田间大量施用氮肥常导致菠菜体内积累高量的硝酸盐和草酸^[1,3,13-14]。调节营养液中氮素形态或施用不同氮肥品种对蔬菜体内硝酸盐含量^[15-17]和草酸含量都有一定的影响^[18-21]。在植物体内,草酸常以可溶态的草酸钾钠盐和难溶态的草酸钙存在,不同形态的草酸对人体健康具有不同的效应^[9,22]。但是,以往的研究主要集中在氮素形态对植物体内草酸总量的影响^[18-21],关于氮素形态对不同形态草酸在蔬菜体内累积情况的研究甚少。本研究采用溶液培养的方法,探讨不同硝铵配比对菠菜地上部可食部分各器官中硝酸盐以及不同形态的草酸累积的影响,旨在为合理施用氮肥,生产硝酸盐和草酸低积累的优质蔬菜以及增进人体健康提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验在浙江大学的玻璃温室内进行。供试材料是本地圆叶品种多能菠菜 (*Spinacia oleracea* L.), 以 Hoagland 营养液为基本营养液。在前期研究中发现 8 mmol/L 的供氮浓度是菠菜生长较为适宜的氮素供应水平^[14], 故在此试验中采用此供氮浓度。试验设置硝态氮/铵态氮比例 ($\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$) 为 100/0、75/25、50/50、25/75、0/100 等 5 个处理, 通过 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 KNO_3 与 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 不同比例的配合维持硝铵比, 重复 8 次。筛选子粒饱满的种子, 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, 用不同硝/铵比的 Hoagland 营养液进行培养, 每隔 2 d 调节 pH 值至 5.5—6.0 之间, 每周换 1 次营养液, 并补充损失的水分, 连续通气。

在食用期(培养 1 个月)取样, 植株迅速用自来水冲洗干净, 然后用蒸馏水冲洗, 擦净水分, 称量菠菜地上部的鲜重, 并把地上部按叶片和叶柄分开称重。然后取叶片、叶柄进行草酸总量、可溶态草酸和硝酸盐含量的测定。

1.2 测定项目与方法

硝态氮含量采用水杨酸法测定^[23]。

草酸总量参照 Baker 的方法^[24]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 mol/L 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 r/min, 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 r/min, 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 pH 4.5—5.0 (用 pH 计测定), 然后加入 5 mL pH 4.5 的醋酸缓冲液后在 4—7 °C 下过夜。离心过夜的溶液 (5000 r/min, 离心 10 min), 接着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 r/min, 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 滴定至粉红色 (30s 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。

可溶态草酸的测定是用 2 mL 的蒸馏水研磨, 其它步骤同上。

难溶态草酸含量由下式计算得到: 难溶态草酸含量 = 草酸总量 - 可溶态草酸含量。

地上部可食部分的硝态氮含量和各形态的草酸含量均采用加权平均值法, 由叶片和叶柄的重量及其对应的硝态氮含量和草酸含量测定值得求。

试验数据用 DPS 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 氮素形态对菠菜地上部生物量积累的影响

营养液中不同的硝态氮/铵态氮比例对菠菜地上部可食部分生物量有显著的影响(图1)。适当增加溶液中供铵比例(25%和50%)能显著提高菠菜叶柄和地上部的生物量,而对叶片的鲜重没有明显影响;在供铵50%时菠菜叶柄和地上部的生物量最高,比完全供应硝态氮处理增加6.7%和25.4%。继续提高供铵比例菠菜叶片、叶柄和地上部的生物量均显著降低。完全供铵时,植株生长矮小,生物量的积累受到明显抑制。此外,叶片生物量占地上部总生物量的62.6%~69.1%,显著高于叶柄所占的比例。

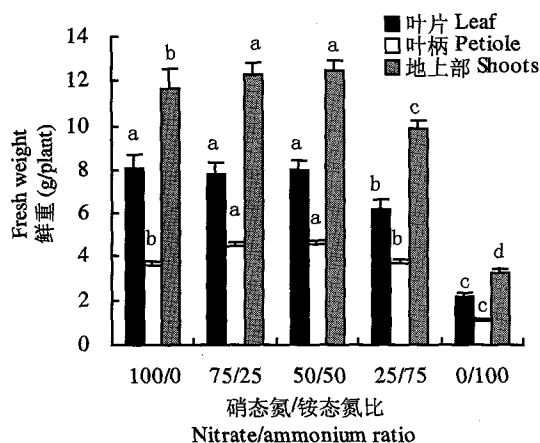


图1 不同硝态氮/铵态氮比例对菠菜地上部生物量的影响

Fig.1 Effect of nitrate/ammonium ratio on shoot biomass of spinach

(每一系列的不同字母表示差异达到5%显著水平,下同。)

Different letters in series mean significant at 5% level, same as follows.)

2.2 不同硝态氮/铵态氮比例对菠菜地上部各器官硝酸盐含量和累积量的影响

图2可知,随着供铵比例的提高,叶片、叶柄和地上部硝酸盐含量都显著降低。此外,叶柄的硝酸盐含量要显著高于叶片的硝酸盐含量。

不同硝/铵比对菠菜地上部硝酸盐累积量的影响见图3。随着溶液中供铵比例的提高,叶片硝酸盐累积量显著下降。而叶柄中的硝酸盐累积量随供铵比例的提高而呈先升高后下降的趋势,供铵比例为25%和50%时,硝酸盐的累积量较高,与适当供铵提高了叶柄的生物量有关(图1)。地上部硝酸盐累积量随硝态氮/铵态氮比例的降低而呈显著下

降的趋势,完全供铵时其积累量远远低于供应硝态氮的各个处理。

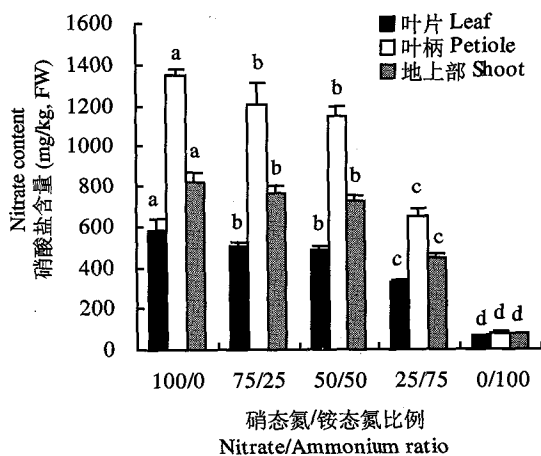


图2 不同硝态氮/铵态氮比例对菠菜地上部器官及可食部分硝酸盐含量的影响

Fig.2 Effect of nitrate/ammonium ratio on nitrate content in different tissues of spinach

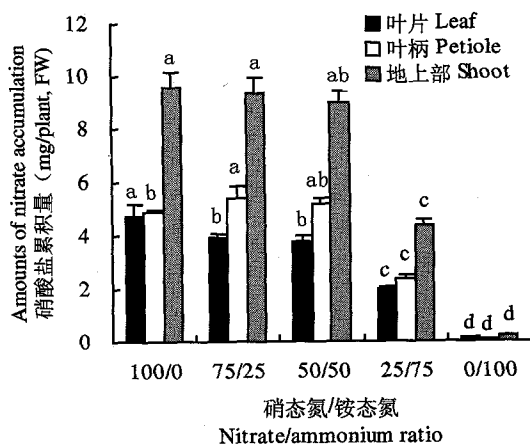


图3 不同硝态氮/铵态氮比例对菠菜不同器官硝酸盐累积量的影响

Fig.3 Effect of nitrate/ammonium ratio on amount of nitrate accumulation in different tissues of spinach plants

2.3 不同硝态氮/铵态氮比例对菠菜不同器官及地上部各形态草酸含量和累积的影响

不同硝/铵比对菠菜草酸含量的影响(表1)看出,叶片、叶柄及地上部可食部分中各种形态的草酸含量均随着铵态氮比例的增加而显著下降,但是叶片中各形态草酸含量的下降幅度高于叶柄。

营养液中硝态氮/铵态氮比例对菠菜各器官不同形态的草酸累积也有显著的影响(表2)。叶片、叶柄和地上部可溶态草酸、难溶态草酸和草酸总量

的积累量随着硝态氮/铵态氮比例的下降而显著减少。叶片和叶柄可溶态草酸分别占地上部可溶态草酸积累量的56.3%~89.8%和10.2%~43.8%，而在草酸总量的积累量中，叶片和叶柄分别为地上部的76.6%~87.4%和12.6%~23.4%；地上部可溶态草

酸占草酸总量的50.0%~78.0%。可见，叶片是菠菜积累草酸的主要器官。菠菜各器官积累的草酸以可溶态草酸为主，在叶片、叶柄及地上部中所占草酸总量的比例分别在36.7%~83.5%、79.0%~93.3%及50.0%~83.0%。

表1 硝态氮/铵态氮对比对菠菜叶片、叶柄及地上部各形态草酸含量的影响 (mg/g, FW)

Table 1 Effects of nitrate/ammonium ratio in nutrient solution on concentrations of different oxalate forms in leaves, petioles and shoots of spinach plants

NO ₃ ⁻ /NH ₄ ⁺ 比例 NO ₃ ⁻ /NH ₄ ⁺ ratio	可溶态草酸 Soluble oxalate			难溶态草酸 Insoluble oxalate			草酸总量 Total oxalate		
	叶片 Leaf	叶柄 Petiole	地上部 Shoot	叶片 Leaf	叶柄 Petiole	地上部 Shoot	叶片 Leaf	叶柄 Petiole	地上部 Shoot
100/0	8.337 a	2.782 a	6.621 a	2.584 a	0.758 a	2.019 a	10.743 a	3.456 a	8.491 a
75/25	6.232 b	1.925 b	4.627 b	2.466 a	0.304 b	1.683 b	8.658 b	1.976 b	6.235 b
50/50	5.418 c	1.086 c	3.844 c	1.118 b	0.296 b	0.819 c	6.484 c	1.368 c	4.625 c
25/75	3.432 d	1.351 c	2.653 d	1.536 b	0.184 bc	0.921 c	4.968 d	1.535 c	3.683 d
0/100	0.855 e	1.328 c	1.013 e	1.411 b	0.065 c	0.962 c	2.263 e	1.348 c	1.958 e

表2 硝态氮/铵态氮比例对叶片、叶柄和地上部不同形态草酸积累量的影响 (mg/plant, FW)

Table 2 Effects of nitrate/ammonium ratio in solution culture on the accumulation of oxalates of different forms in leaves, petioles and shoots of spinach plants

NO ₃ ⁻ /NH ₄ ⁺ 比例 NO ₃ ⁻ /NH ₄ ⁺ ratio	可溶态草酸 Soluble oxalate			难溶态草酸 Insoluble oxalate			草酸总量 Total oxalate		
	叶片 Leaf	叶柄 Petiole	地上部 Shoot	叶片 Leaf	叶柄 Petiole	地上部 Shoot	叶片 Leaf	叶柄 Petiole	地上部 Shoot
100/0	67.4 a	10.1 a	77.5 a	20.9 a	2.7 a	23.6 a	86.8 a	12.5 a	99.3 a
75/25	48.9 b	8.1 b	57.0 b	19.4 a	1.4 b	20.8 a	67.9 b	8.8 b	76.7 b
50/50	43.0 c	4.9 c	47.9 c	8.9 b	1.3 b	10.2 b	51.5 c	6.2 c	57.7 c
25/75	21.1 d	5.0 c	26.1 d	8.4 b	0.7 c	9.1 b	30.6 d	5.7 c	36.3 d
0/100	1.8 e	1.4 d	3.2 e	3.0 c	0.1 d	3.1 c	4.9 e	1.5 d	6.4 e

3 讨论

硝态氮和铵态氮是植物吸收利用的两种主要氮素形态。当介质中单独供应铵态氮时，铵离子会对许多植物产生毒害作用，而硝态氮和铵态氮联合供应常常能减轻铵的毒害，并提高其生物量^[25]。本研究的结果表明，单独供铵时，菠菜植株的叶片、叶柄和地上部生物量显著低于单独供应硝态氮、硝态氮与铵态氮混合氮源处理。营养液中增加适当比例的铵态氮(25%和50%)可以提高菠菜地上部生物量，在硝/铵比为50/50时，菠菜的生物量最大(图1)。这可能是由于硝态氮和铵态氮联合供应时，既能促进细胞分裂素的合成，又能降低硝态氮的吸收和还原所消耗的能量，而且吸收铵态氮产生的酸化又可以抵消吸收硝态氮时引起的根际碱化，从而有利于菠菜的生长^[25]。

已有不少研究表明，氮素形态对硝酸盐积累具有显著影响。在菠菜^[14]和不结球白菜^[15]中发现硝酸盐含量随着营养液中铵态氮比例的增加而降低。在本研究中也发现菠菜叶片、叶柄和地上部可食部分的硝酸盐含量以及地上部积累量均随着供铵比例的增加而显著降低(图2和3)，而且叶片和叶柄都是硝酸盐积累的重要器官(图3)。因此，通过调节营养液中硝态氮/铵态氮比例在一定程度上能够降低菠菜地上部可食部分硝酸盐的累积。

氮素形态对蔬菜累积草酸的影响已有少量报道。Rinallo等^[20]发现，猕猴桃供应氯化铵和硝酸铵比硝酸钙和硝酸钾的草酸含量要低得多。Takebe等^[19]发现，增加铵态氮比例和施用缓释肥料能大大降低菠菜叶片中的草酸含量；Ahmed等^[26]报道，氮素形态对番杏(*Tetragonia tetragonoides* Pallas. Kunz.)草酸含量有显著影响，硝态氮/铵态氮比为

50/50 和 0/100 时草酸含量最低。最近, Palaniswamy 等^[21]在马齿苋 (*Portulaca oleraceae* L.) 中也发现, 草酸含量随着铵态氮比例的提高而显著下降。上述研究主要集中在氮素形态对草酸总量的影响, 而关于氮素形态对草酸不同形态含量以及在蔬菜体内不同器官的积累情况了解甚少。本研究发现, 叶片、叶柄和地上部可食部分的草酸总量、可溶态草酸和难溶态草酸的含量及累积量都呈现出随供铵比例增加而下降的趋势(表 1 和表 2), 而且叶片是菠菜积累各形态草酸的主要器官。氮素形态对菠菜体内草酸合成的影响可能与其对体内的 pH 和离子平衡的不同影响造成。1 个 NO_3^- 离子经根系吸收进入菠菜体内还原成铵离子可以产生 2 个 OH^- , 而铵离子同化为氨基酸产生 1 个 H^+ , 因此 1 个 NO_3^- 离子的还原和同化可以净产生 1 个 OH^- 而引起细胞质的碱化, 细胞会增加草酸和苹果酸等有机酸的合成, 以保持细胞质 pH 的稳态(合成的有机酸种类因植物种类不同而异, 菠菜以合成草酸为主); 而当供应铵态氮时, 在根系和地上部会增加 Cl^- 、 SO_4^{2-} 和 H_2PO_4^- 等无机阴离子的积累, 而且由于铵离子的吸收和还原会造成细胞质 pH 下降, 促进有机阴离子的降解(脱羧作用), 从而造成体内有机阴离子浓度较低^[27]。在供给 NO_3^- -N 时, 植物吸收较多的 NO_3^- 会引起体内阳离子的累积超过阴离子, 因此植物需要合成有机酸阴离子如草酸来维持电荷平衡^[28]。除了上述两个原因以外, 硝酸盐对草酸氧化酶活性的抑制作用也可能是供应硝态氮导致草酸在植物体内大量积累的原因之一^[8]。

本试验的结果表明, 叶片、叶柄和地上部积累的草酸均以可溶态草酸为主, 提高铵态氮的供应比例, 可明显降低可溶态草酸的含量, 这与 Morita 等^[29]在茶树上的研究结果相似。适当提高营养液中铵态氮的比例不仅可以大大降低菠菜地上部可食部分可溶态草酸含量和累积量, 而且也可有效降低草酸总量(表 1、表 2), 这可以提高膳食中钙、镁和铁等矿质元素的有效性, 而且可以降低人体患泌尿系结石的风险。诚然, 上述研究是在溶液培养条件下进行的, 这与生产实际情况有一定的差异, 因此, 在田间条件下不同氮素形态对菠菜草酸累积的影响尚需进一步地研究。

参考文献:

[1] Bakr A A, Gawish R A. Trials to reduce nitrate and oxalate content in some leafy vegetables. 2 Interactive effects of the manipulating of the

- soil nutrient supply, different blanching media and preservation methods followed by cooking process [J]. *J. Sci. Food Agric.*, 1997, 73: 169-178.
- [2] Elia A, Santamaria P, Serio F. Nitrogen nutrition, yield and quality of spinach [J]. *J. Sci. Food Agric.*, 1998, 76: 341-346.
- [3] Santamaria P, Elia A, Serio F, Todaro E. A survey of nitrate and oxalate content in fresh vegetables [J]. *J. Sci. Food Agric.*, 1999, 79: 1882-1888.
- [4] 于红梅, 龚元石, 李子忠, 张小兰. 不同水氮管理对苋菜和菠菜的产量及硝酸盐含量的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2004, 10(3): 302-305.
- Yu H M, Gong Y S, Li Z Z, Zhang X L. Effect of different water and nitrogen management on yield and nitrate content of amaranth and spinach [J]. *Plant Nutrient and Fertilizer Science*, 2004, 10(3): 302-305.
- [5] 周泽义. 中国蔬菜硝酸盐和亚硝酸盐污染机制及控制对策[J]. *资源生态环境网络研究动态*, 1999, 10(1): 13-19.
- Zhou Z Y. The nitrate and nitrite contamination mechanism and control in vegetables in China [J]. *Development of Research Network for Natural Resources, Environment and Ecology*, 1999, 10(1): 13-19.
- [6] 王朝辉, 李生秀, 田霄鸿. 不同氮肥用量对蔬菜硝态氮累积的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 1998, 4(1): 22-28.
- Wang Z H, Li S X, Tian X H. Influence of nitrogen rates on nitrate accumulation in vegetables [J]. *Plant Nutrient and Fertilizer Science*, 1998, 4(1): 22-28.
- [7] 沈明珠, 翟宝杰, 东惠茹, 李俊国. 蔬菜硝酸盐累积的研究: I. 不同蔬菜硝酸盐、亚硝酸盐含量评价[J]. *园艺学报*, 1982, 9(4): 41-48.
- Shen M Z, Zhai B J, Dong H R, Li J G. Studies on nitrate accumulation in vegetable crops: I. Evaluation of nitrate and nitrite in different vegetables [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 1982, 9(4): 41-48.
- [8] Libert B, Francechi V R. Oxalate in crop plants [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 1987, 35: 926-938.
- [9] Noonan S C, Savage G P. Oxalate content of foods and its effect on humans [J]. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.*, 1999, 8(1): 64-74.
- [10] Bohn T, Davidsson L, Walczyk T, Hurrell R F. Fractional magnesium absorption is significantly lower in human subjects from a meal served with an oxalate-rich vegetable, spinach, as compared with a meal served with kale, a vegetable with a low oxalate content [J]. *British J. Nutr.*, 2004, 91: 601-606.
- [11] Lewandowski S, Rodgers A L. Idiopathic calcium oxalate urolithiasis: Risk factors and conservative treatment [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2004, 345: 17-34.
- [12] Pak CYC. Kidney stones [J]. *The Lancet*, 1998, 351: 1797-1801.
- [13] 庄舜尧, 孙秀廷. 氮肥对蔬菜硝酸盐累积的影响[J]. *土壤学进展*, 1995, 23(3): 29-35.
- Zhuang X Y, Sun X T. Effect of nitrogen fertilizers on nitrate accumulation in vegetables [J]. *Progress in Soil Sci.*, 1995, 23(3): 29-35.
- [14] 张英鹏, 徐旭军, 林咸永, 等. 供氮水平对菠菜产量、硝酸盐和草酸累积的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2004, 10(5): 494-498.

- Zhang Y P, Xu X J, Lin X Y *et al.* Influence of different nitrogen levels on biomass, nitrate and oxalate accumulation in spinach [J]. *Plant Nutrient and Fertilizer Science*, 2004, 10(5): 494-498.
- [15] 张春兰,高祖明,张耀栋,唐为民. 氮素形态和 NO_3^- -N 与 NH_4^+ -N 对比对菠菜生长和品质的影响 [J]. *南京农业大学学报*, 1990, 13(3): 70-74.
- Zhang C L, Gao Z M, Zhang Y D, Tang W M. The effects of different nitrogen forms and their concentration combinations on the growth and quality of spinach [J]. *J. of Nanjing Agric. Univ.*, 1990, 13(3): 70-74.
- [16] 朱祝军,蒋有条. 不同形态氮素对不结球白菜生长和硝酸盐积累的影响(简报)[J]. *植物生理学通讯*, 1994, 30(3): 198-201.
- Zhu Z J, Jiang Y T. Effects of different nitrogen forms on the growth and nitrate accumulation of nonheading Chinese cabbage [J]. *Plant Physiol. Commun.*, 1994, 30(3): 198-201.
- [17] 胡承孝,邓波儿. 氮肥对小白菜、蕃茄供食器官品质的影响 [J]. *植物营养与肥料学报*, 1997, 3(1): 85-89.
- Hu C X, Deng B E. Effect of nitrogen fertilizer on the qualities of Chinese cabbage and tomato fruits [J]. *Plant Nutrient and Fertilizer Science*, 1997, 3(1): 85-89.
- [18] Joy K W. Accumulation of oxalate in tissues of sugar-beet, and the effect of nitrogen supply [J]. *Ann. Bot.*, 1964, 28(112): 689-701.
- [19] Takebe M, Yoneyama T. Effect of ammonium-nitrogen supply on oxalic acid content in spinach grown in hydroponics and fields [A]. Ando T(eds.). *Plant nutrition for sustainable food production and environment* [C]. Japan: Kluwer Academic Publishers, 1997. 957-958.
- [20] Rinallo C, Modi G. Content of oxalate in *Actinidia deliciosa* plants grown in nutrient solutions with different nitrogen forms [J]. *Biol. Plant.*, 2002, 45(1): 137-139.
- [21] Palaniswamy U R, Bible B B, McAvoy R J. Oxalic acid concentrations in Purslane (*Portulaca oleraceae* L.) is altered by the stage of harvest and the nitrate to ammonium ratios in hydroponics [J]. *Scientia Horticulturae*, 2004, 102: 267-275.
- [22] Nakata P A. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants [J]. *Plant Sci.*, 2003, 164: 901-909.
- [23] 李合生. *植物生理生化实验原理和技术* [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000. 123-124.
- Li H S. *Principle and technology of physiological and biochemical experiment of plants* [M]. Beijing: High Education Press, 2000. 123-124.
- [24] Baker C J L. The determination of oxalates in fresh plant materials [J]. *Analyst.*, 1954, 77: 340-344.
- [25] Britto D T, Kronzucker H J. NH_4^+ toxicity in higher plants: A critical review [J]. *J. Plant Physiol.*, 2002, 159: 567-584.
- [26] Ahmed A K, Johnson K A. The effect of the ammonium: Nitrate ratios, total nitrogen, salinity (NaCl) and calcium on the oxalate levels of *Tetragonia tetragonioides* Pallas Kunz [J]. *J. Hort. Sci. Biotech.*, 2000, 75(5): 533-538.
- [27] Reid R J, Smith F A. The cytoplasmic pH stat [A]. Rengel Z. (eds.). *Handbook of plant growth* [C]. New York: Marcel Dekker, 2001. 49-71.
- [28] Kirkby E A, Mengel K. Ionic balance in different tissues of the tomato plant in relation to nitrate, urea, or ammonium nutrition [J]. *Plant Physiol.*, 1967, 42: 6-14.
- [29] Morita A, Suzuki R, Yokota H. Effect of ammonium application on the oxalate content of tea plants (*Camellia sinensis* L.) [J]. *Soil Sci. Plant. Nutr.*, 2004, 50(5): 763-769.