



研究报告 Original Papers

叶面施氮对芹菜叶绿素含量及代谢有关基因表达的影响

陈晨¹, 陈雪琼², 陈月珍³, 冯顾城², 束胜^{1,4}, 王俐翔⁴, 陶建平¹, 谭国飞⁵, 陈姝妍¹, 刘佩卓¹, 王雅慧¹, 熊爱生^{1,4,*}

¹南京农业大学园艺学院, 作物遗传与种质创新利用全国重点实验室, 农业农村部华东地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 南京210095

²南京市溧水区华成蔬菜专业合作社, 南京211200

³淮安市蔬菜科学研究所, 江苏淮安223021

⁴宿迁市设施园艺研究院(南京农业大学宿迁研究院), 江苏宿迁223800

⁵贵州省农业科学院园艺研究所, 贵阳550006

*通信作者(xiongaisheng@njau.edu.cn)

摘要: 芹菜(*Apium graveolens*)是我国重要的绿叶类蔬菜, 营养丰富, 品种多样。芹菜食用部位的叶绿素含量是衡量其品质的重要指标之一。为研究叶面喷施不同浓度氮肥对芹菜叶绿素含量及代谢相关基因表达的影响, 本文以‘紫衣仙子’‘赛雪’‘四季西芹’‘黄太极’‘宁芹1号’五个品种的芹菜为材料, 开展不同浓度氮肥叶面喷施处理试验。通过比较分析各组芹菜植株表型差异, 测定芹菜叶片中叶绿素 a 、叶绿素 b 、总叶绿素含量及叶绿素代谢相关基因表达量, 发现: 5、20和50 g·L⁻¹的氮肥处理分别促进了芹菜叶片中叶绿素 a 、总叶绿素及叶绿素 b 的积累, 且20 g·L⁻¹氮肥处理提升了各试验芹菜品种中叶绿素含量。氮肥喷施对各品种芹菜中叶绿素含量的影响存在一定差异, ‘赛雪’在20 g·L⁻¹氮肥喷施后叶绿素含量显著提高。5 g·L⁻¹氮肥可促进叶绿素代谢相关基因表达; 20 g·L⁻¹氮肥喷施主要提高叶绿素合成相关基因 $AgglX$ 、 $AgHEML$ 、 $AgHEMA$ 的表达量, 显著增加芹菜叶绿素含量; 50 g·L⁻¹氮肥对叶绿素降解相关基因 $AgHCAR$ 、 $AgPAO$ 表达下调作用更明显, 且能促进叶绿素 a 含量/叶绿素 b 含量比值提升。研究对促进芹菜叶绿素含量的最适氮肥处理浓度的结果进行了分析, 并结合叶绿素代谢相关基因表达对其分子机制进行了探讨。

关键词: 芹菜; 氮肥; 叶面喷施; 叶绿素; 代谢; 基因表达

Effects of foliar application of nitrogen fertilizer on chlorophyll content and expression of metabolism-related genes in celery

CHEN Chen¹, CHEN Xueqiong², CHEN Yuezheng³, FENG Gucheng², SHU Sheng^{1,4},
WANG Lixiang⁴, TAO Jianping¹, TAN Guofei⁵, CHEN Shuyan¹, LIU Peizhuo¹, WANG Yahui¹,
XIONG Aisheng^{1,4,*}

¹College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, National Key Laboratory of Crop Genetics & Germplasm Enhancement and Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs Key Laboratory of Biology and Germplasm

收稿 2022-10-09 修定 2023-03-15

资助 江苏省重点研发计划(BE2022386)、江苏省种业振兴“揭榜挂帅”项目(JBGS[2021]068)、宿迁市重点研发项目(L202108)、淮安市重点研发项目(HAN202108)和江苏高校优势学科建设项目(PAPD)。

Enhancement of Horticultural Crops in East China, Nanjing 210095, China

²Nanjing Lishui District Huacheng Vegetable Cooperatives, Nanjing 211200, China

³Huaian Institute of Vegetable Sciences, Huaian, Jiangsu 223021, China

⁴Suqian Facility Horticulture Research Institute, Suqian Research Institute of Nanjing Agricultural University, Suqian, Jiangsu 223800, China

⁵Institute of Horticulture, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006, China

*Corresponding author (xiongaisheng@njau.edu.cn)

Abstract: Celery (*Apium graveolens*) is an important green leaf vegetable with rich nutrition and various cultivars. The chlorophyll content of edible part is one of the important evaluation indexes of celery quality. In order to study the effect of different concentrations of nitrogen fertilizer on chlorophyll content and chlorophyll metabolism-related gene expression levels in celery, five cultivars of celery, 'Ziyi Xianzi', 'Saixue', 'Siji Xiqin', 'Huangtaiji' and 'Ningqin No. 1', were used as materials to carry out foliar spraying experiments with different concentrations of nitrogen fertilizer. We compared the phenotypic differences of celery plants, determined the contents of chlorophyll *a* (Chl *a*), chlorophyll *b* (Chl *b*) and total chlorophyll, and analyzed the expression levels of genes related to chlorophyll metabolism in each group. The results were found as follow: the contents of Chl *a*, total chlorophyll and Chl *b* in celery leaf blades were increased by 5, 20 and 50 g·L⁻¹ nitrogen fertilizer. The chlorophyll contents were increased under 20 g·L⁻¹ nitrogen fertilizer treatment in all celery cultivars. There were some differences in the effects of nitrogen spraying on the chlorophyll contents of celery cultivars. The chlorophyll content of 'Saixue' increased significantly after 20 g·L⁻¹ nitrogen spraying. The 5 g·L⁻¹ nitrogen fertilizer promoted the expression of metabolism-related genes. The 20 g·L⁻¹ nitrogen fertilizer promoted the expression levels of *AggltX*, *AgHEML* and *AgHEMA* genes related to chlorophyll synthesis, and the content of chlorophyll in celery was significantly increased. The 50 g·L⁻¹ nitrogen fertilizer reduced the expression levels of *AgHCAR* and *AgPAO* genes related to chlorophyll degradation, and the Chl *a*/Chl *b* ratio was increased. This study analyzed the optimal nitrogen concentration to promote the chlorophyll content of celery, and discussed its molecular mechanism combined with the expression of genes related to chlorophyll metabolism in celery.

Key words: celery; nitrogen fertilizer; foliar spray; chlorophyll; metabolism; gene expression

芹菜(*Apium graveolens*)为伞形科(Apiaceae)芹属一、二年生草本植物,是重要的叶菜类蔬菜作物(Li等2020; Wang等2022)。芹菜可按照产地来源不同分为本芹和西芹两类,也可按照叶柄色泽的差异分为绿芹、黄芹、白芹和紫芹。芹菜富含叶绿素(chlorophyll)、抗坏血酸(ascorbic acid)、可溶性糖(soluble sugar)、芹菜素(apigenin)等营养物质(熊爱生2019)。叶绿素作为光合作用过程中占主导地位的色素类物质,其含量及比例影响着植株对光能的吸收转化及各类营养物质的合成,对芹菜产量及品质的形成具有重要作用(贾丽丽等2021)。

叶绿素的生物合成及降解进程涉及一系列酶促反应,相关基因表达水平及中间产物积累量的

变化,都会对植株叶绿素含量及比例产生影响(贾敏等2022)。叶绿素合成可分为3个主要阶段:第一阶段为谷氨酰t-RNA合成酶(*gltX*)、谷氨酰t-RNA还原酶(*HEMA*)及谷氨酸-1-半醛转氨酶(*HEML*)调控下合成5-氨基酮戊酸(5-ALA);第二阶段是经过酶促反应合成原叶琳IX;第三阶段是在原叶琳IX的基础上由叶绿素酸酯 a 加氧酶(*CAO*)催化合成叶绿素 a (chlorophyll *a*, Chl *a*)和叶绿素 b (chlorophyll *b*, Chl *b*; 黄蔚2017)。叶绿素降解包含两个主要步骤:第一步是叶绿素 b 经7-羟基叶绿素 a 还原酶(*HCAR*)转化成叶绿素 a ,再经脱镁还原反应形成初级荧光叶绿素代谢物(pFCC);第二步是pFCC在液泡中脱去基团后,经脱镁叶绿素酶(*PPH*)、脱镁叶

绿酸 a 加氧酶(PAO)等催化降解(吕海龙等2021; Reena等2017)。叶绿素 a 与叶绿素 b 具有不同的结构与功能, 协同进行光合作用中不同波长及强度光能的捕获与转化, 其含量及比例可影响芹菜的生长发育(Pavlyuk等2018)。

氮肥是农业生产中运用最为广泛的肥料之一。科学施氮不仅能促进蔬菜作物增产, 也可通过影响叶菜类作物的叶片叶绿素含量及比例, 改善其多项外观品质性状(Reena等2016)。叶绿素是叶菜类蔬菜作物进行光合作用的重要色素, 植株净光合速率可随叶绿素含量增加而增加(龙桂英等2022)。目前芹菜叶面氮肥研究多集中于对目标生理指标适宜氮肥施用浓度的筛选等生理层面, 在氮肥叶面喷施影响叶绿素代谢及相关基因表达方面的研究还不够深入。本研究以5个芹菜品种‘紫衣仙子’(‘Ziyi Xianzi’)、‘赛雪’(‘Saixue’)、‘四季西芹’(‘Siji Xiqin’)、‘黄太极’(‘Huangtaiji’)和‘宁芹1号’(‘Ningqin No. 1’)为材料, 使用不同浓度(0、5、20、50 g·L⁻¹)氮肥进行叶面喷施处理, 测定叶片中叶绿素含量、比例及叶绿素代谢相关基因相对表达量, 以期研究不同浓度氮肥对芹菜叶绿素含量影响的分子机制, 为在芹菜等叶菜类蔬菜作物生产上科学施用叶面氮肥提供一定借鉴。

1 材料与方法

1.1 植物材料

选用芹菜(*Apium graveolens* L.) ‘紫衣仙子’(紫芹)、‘赛雪’(白芹)、‘四季西芹’(绿芹)、‘黄太极’(黄芹)和‘宁芹1号’(黄心芹)五个芹菜品种为材料, 芹菜种质资源均保存于南京农业大学作物遗传与种质创新利用全国重点实验室伞形科蔬菜作物研究室。图1所示为定植第60天时的各品种芹菜植株: ‘紫衣仙子’叶柄为紫红色, 叶片为深绿色, 质地较柔软; ‘赛雪’叶柄为白色且粗壮、实心, 叶片嫩绿, 植株高大; ‘四季西芹’叶柄深绿有光泽, 叶片绿色较深且挺拔; ‘黄太极’叶柄呈淡黄色, 叶片为黄绿色且脆嫩; ‘宁芹1号’叶柄空心, 呈浅黄色, 叶片为浅绿色, 叶片面积较大且植株高挺。

1.2 材料种植及处理

试验在宿迁市设施园艺研究院(南京农业大学宿迁研究院)设施大棚进行, 按完全随机区组进行试验田设计, 每个浓度氮素处理均设置3个小区, 每个小区面积为5 m²。按照设施芹菜常规栽培方法进行管理, 以保证芹菜植株的正常生长发育。自芹菜定植第40天起, 每隔5 d进行一次不同浓度氮肥叶面喷施, 共计处理4次。施加的叶面氮肥为尿



图1 不同品种芹菜的表型

Fig. 1 Morphological characteristics of different celery cultivars

I: ‘紫衣仙子’; II: ‘赛雪’; III: ‘四季西芹’; IV: ‘黄太极’; V: ‘宁芹1号’。标尺代表10 cm长度。

素(分析纯, 南京辉亚生物科技有限公司), 施用浓度分别为0 (对照组)、5、20和50 g·L⁻¹, 每个小区喷施500 mL溶液。至定植第60天时收集样品, 每个小区随机选取3株以上芹菜进行外观形态拍照及样品采收。采收后立即放入液氮中速冻, 保存于-80℃冰箱。

1.3 叶绿素的提取与测定

利用乙醇浸提比色法进行叶绿素的提取与含量测定。将去除叶脉后的新鲜叶片于105℃条件下杀青, 80℃烘干8 h, 取研磨的叶片干粉0.3 g, 加入25 mL 95%乙醇(分析纯, 上海瑞永生物科技有限公司)提取叶绿素。使用Spectramax酶标仪(Molecular Devices公司, 美国), 于645和663 nm波长下检测浸提液吸光值, 每个样品设置3个生物学重复。参考乔富廉(2002)所述叶绿素含量与吸光值关系公式, 计算叶绿素 a 、叶绿素 b 及总叶绿素含量。

1.4 总RNA提取及cDNA制备

使用多糖多酚植物总RNA提取试剂盒(RNA simple total RNA Kit, Tiangen, 北京)提取芹菜叶片总RNA。用Nanodrop 2000微量紫外分光光度计(Molecular Devices公司, 美国)检测RNA的浓度及质量。依据Prime Script RT reagent Kit (TaKaRa, 大连)反转录试剂盒使用说明, 将总RNA反转录为cDNA。

1.5 实时荧光定量PCR分析

使用实时荧光定量PCR (RT-qPCR)测定不同浓度氮素处理下芹菜叶片中叶绿素合成和降解途径相关基因的表达量。RT-qPCR反应总体系为20 μ L, 包括: 10 μ L SYBR Premix Ex Taq、7.2 μ L去离子水、2 μ L稀释后的cDNA, 以及各0.4 μ L正、反向引物。反应程序为: 95℃变性35 s, 60℃退火30 s, 总计40个循环。以芹菜 $AgTUB-B$ 基因作为内参基因, 叶绿素代谢相关基因的RT-qPCR引物序列参考本课题组之前的研究(Liu等2019; 黄蔚2017), 选取5个与叶绿素合成相关的基因($Agglx$ 、 $AgHEMA$ 、 $AgHEML$ 、 $AgMPE$ 、 $AgCAO$)及3个与叶绿素降解相关的基因($AgHCAR$ 、 $AgPPH$ 、 $AgPAO$)。依据 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因相对表达量(Schäffer等2001), 每个样品设置3个生物学重复, 由南京金斯瑞科技有

限公司合成引物。

1.6 数据分析

使用SPSS 22.0统计分析软件(IBM公司, 美国), 通过单因素方差分析和Duncan's多重比较法处理数据和分析。使用Prism 9.4软件(GraphPad公司, 美国)制图。

2 实验结果

2.1 不同浓度氮肥处理对芹菜叶片中叶绿素含量的影响

图2为不同浓度氮肥处理后芹菜叶片中叶绿素 a 、叶绿素 b 及总叶绿素含量。与对照相比, ‘紫衣仙子’叶片中叶绿素 a 含量随着氮肥施用浓度增加呈上升趋势, 且在浓度为20和50 g·L⁻¹的氮肥处理下显著高于对照; ‘赛雪’叶片中叶绿素 a 含量在20 g·L⁻¹的氮肥施用后达最大值1.86 mg·g⁻¹ (DW), 为对照1.7倍, 是各试验品种中叶绿素 a 含量增幅最显著的品种; ‘四季西芹’叶片中叶绿素 a 含量在5 g·L⁻¹氮肥施用下达到峰值; ‘黄太极’和‘宁芹1号’中叶绿素 a 含量均在20 g·L⁻¹的氮素处理下最高, 且与对照相比均达到显著水平; 当氮素浓度提升至50 g·L⁻¹时, ‘黄太极’叶片中叶绿素 a 含量显著下降(图2-A)。

与对照组相比, 20 g·L⁻¹氮肥处理下‘紫衣仙子’、‘赛雪’、‘四季西芹’三个品种芹菜叶片中叶绿素 b 含量均显著升高, 氮肥处理浓度升高至50 g·L⁻¹后叶绿素 b 含量较20 g·L⁻¹氮肥处理组均显著下降; ‘黄太极’和‘宁芹1号’叶绿素 b 含量则随氮肥施用浓度的增加总体呈上升趋势, 其中‘黄太极’在50 g·L⁻¹氮肥处理下叶绿素 b 含量达0.19 mg·g⁻¹ (DW), 为对照组的1.8倍, 叶绿素 b 含量增幅最为显著(图2-B)。

与对照组相比, 仅有‘四季西芹’在50 g·L⁻¹氮肥处理下总叶绿素含量显著低于对照组; 在‘赛雪’、‘黄太极’、‘宁芹1号’中, 总叶绿素含量均在20 g·L⁻¹的氮肥处理后达到峰值, 其中‘赛雪’在该处理浓度下总叶绿素含量达2.07 mg·g⁻¹ (DW), 为对照组1.7倍, 总叶绿素含量及增幅均最大; ‘紫衣仙子’芹菜总叶绿素含量随处理浓度的增加而不断升高, 并在处理浓度为20和50 g·L⁻¹时达显著水平(图2-C)。

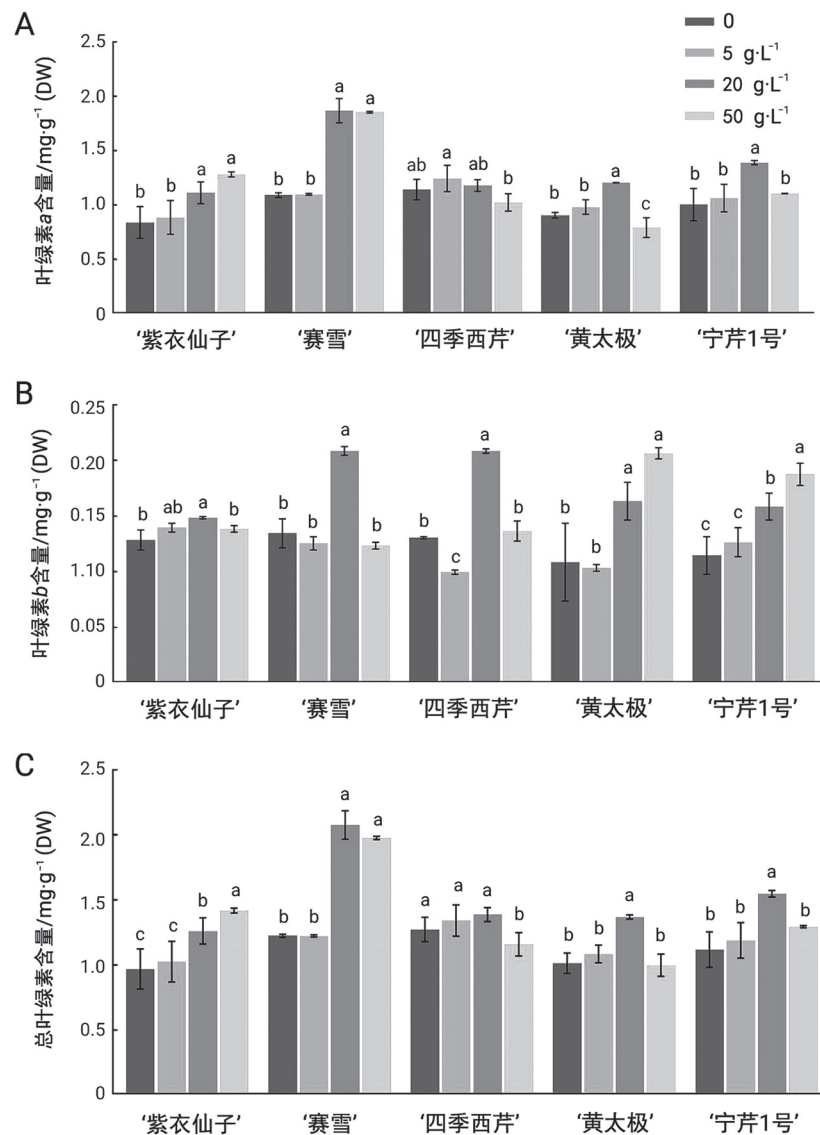


图2 不同浓度氮肥处理对芹菜叶片中叶绿素含量的影响

Fig. 2 Effects of different nitrogen fertilizer concentrations on chlorophyll contents in leaf blades of celery

A: 叶绿素a含量; B: 叶绿素b含量; C: 总叶绿素含量。DW: 干质量。各图数据均按品种分组后进行差异显著性分析, 不同小写字母标识表示在0.05水平上差异显著; 图中数值用3次生物学重复的平均值±标准偏差表示; 下同。

2.2 不同浓度氮肥处理对芹菜叶片中叶绿素比例的影响

与对照相比, '紫衣仙子'和'赛雪'中, 叶绿素a含量与叶绿素b含量比值(叶绿素a/b)随处理浓度增加而升高, 其中'赛雪'在50 g·L⁻¹氮肥处理下叶绿素a/b最高且增幅最大; '四季西芹'中, 叶绿素a/b在5 g·L⁻¹氮肥处理下达最高值, 之后随处理浓度的增加先降后升; '黄太极'中叶绿素a/b不断下降; '宁芹

1号'中除在50 g·L⁻¹氮肥处理下叶绿素a/b显著降低, 其余浓度处理组与对照组相比均无显著差异(图3)。

2.3 不同浓度氮肥处理对芹菜叶片中叶绿素合成相关基因相对表达量的影响

如图4所示, 与对照组相比, 5 g·L⁻¹氮肥处理可显著提高各叶绿素合成相关基因在'赛雪'中的表达水平, 其中AgHEMA及AgMPE基因表达上调最

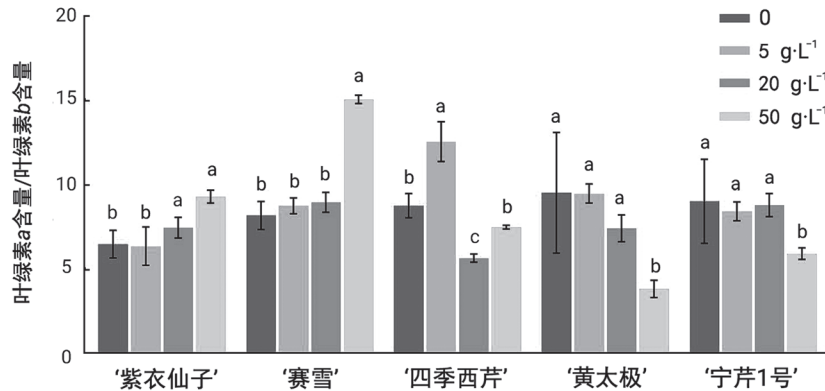


图3 不同浓度氮肥处理对芹菜叶片中叶绿素a/b的影响

Fig. 3 Effects of different nitrogen fertilizer concentrations on chlorophyll a/b in leaf blades of celery

为显著, 达到对照组的10倍以上; 在‘黄太极’叶片中, 各合成相关基因表达量均有一定程度的升高。在20 g·L⁻¹氮肥处理时, ‘宁芹1号’叶片中*AgHEML*基因增幅达对照组10.9倍, ‘四季西芹’及‘赛雪’叶片中*AgHEMA*及*AgCAO*基因表达量也明显增加, ‘黄太极’叶片中各基因表达量均有一定程度上升。在50 g·L⁻¹氮肥处理时, ‘黄太极’叶片中各基因表达量均显著高于对照, *AgHEML*及*AgMPE*基因增幅分别为5.0倍和5.6倍; ‘四季西芹’叶片中各基因表达水平均有一定幅度下调。

2.4 不同浓度氮肥处理对芹菜叶片中叶绿素降解相关基因相对表达量的影响

如图5所示, 与对照组相比, 5 g·L⁻¹氮肥处理下, ‘赛雪’叶片中*AgHCAR*及*AgPAO*基因相对表达量显著提高, *AgPPH*基因相对表达量显著下调; ‘紫衣仙子’‘四季西芹’‘黄太极’叶片中*AgPPH*基因相对表达量显著上调。20 g·L⁻¹氮肥处理下, *AgHCAR*基因在‘紫衣仙子’‘赛雪’‘宁芹1号’叶片中表达量升高。50 g·L⁻¹氮肥处理下, ‘紫衣仙子’‘黄太极’‘赛雪’叶片中*AgPAO*、*AgHCAR*基因相对表达量均上调。

3 讨论

施用氮肥是园艺作物设施栽培中增产提质的重要环节之一, 可通过促进植株光合系统发育及光合作用影响植株生长发育, 其作用效果与氮肥施用浓度、时期和配比均有较大关系(曹辉等2022)。氮素是叶绿素卟啉环重要的构成元素之一,

适当补充氮素可促进植株叶绿素合成, 通过影响叶绿素含量及光合酶类物质活性调控光合作用(刘文艳等2022; Gou等2020)。缺氮条件下, 谷子(*Setaria italica*)幼苗叶片中叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素含量均显著下降, 不利于植株生物量积累(鲁一薇等2022)。氮、磷、钾肥的减量配施, 可以提升紫薇(*Lagerstroemia indica*)容器苗光合作用效率及叶绿素含量, 明显改善苗木生长状况(黄兰清等2022)。但施氮浓度过高会酸化土壤, 影响芹菜对氮肥的吸收利用能力, 导致芹菜叶绿素含量降低并积累大量亚硝酸盐(吕海龙等2021)。本研究也发现, 适宜浓度的氮肥处理能促进芹菜叶绿素的积累, 且当处理浓度高于其最适浓度时, 叶绿素含量也出现了逐渐下降甚至低于对照组的现象。各试验品种中, 除‘紫衣仙子’适宜采用50 g·L⁻¹氮肥处理外, 其余四个品种均在氮肥浓度为20 g·L⁻¹时总叶绿素含量最高。

芹菜叶绿素生物合成及降解受多个基因的调控。叶绿素生物合成需先在*AgglT*X、*AgHEMA*及*AgHEML*基因作用下, 由谷氨酸合成5-ALA(张鑫等2020)。黄瓜(*Cucumis sativus*)在面临低氮胁迫时, *HEML*和*HMEA*基因表达水平均降低, 适宜浓度氮肥补充有助于其表达水平回升及叶绿素合成(Oka等2012)。在对水曲柳(*Fraxinus mandshurica*)进行系列梯度的氮素处理时, 叶绿素合成前体物质5-ALA的合成速率随处理浓度升高呈不规则波动变化(吴楚等2003)。结合各叶绿素合成相关基因相

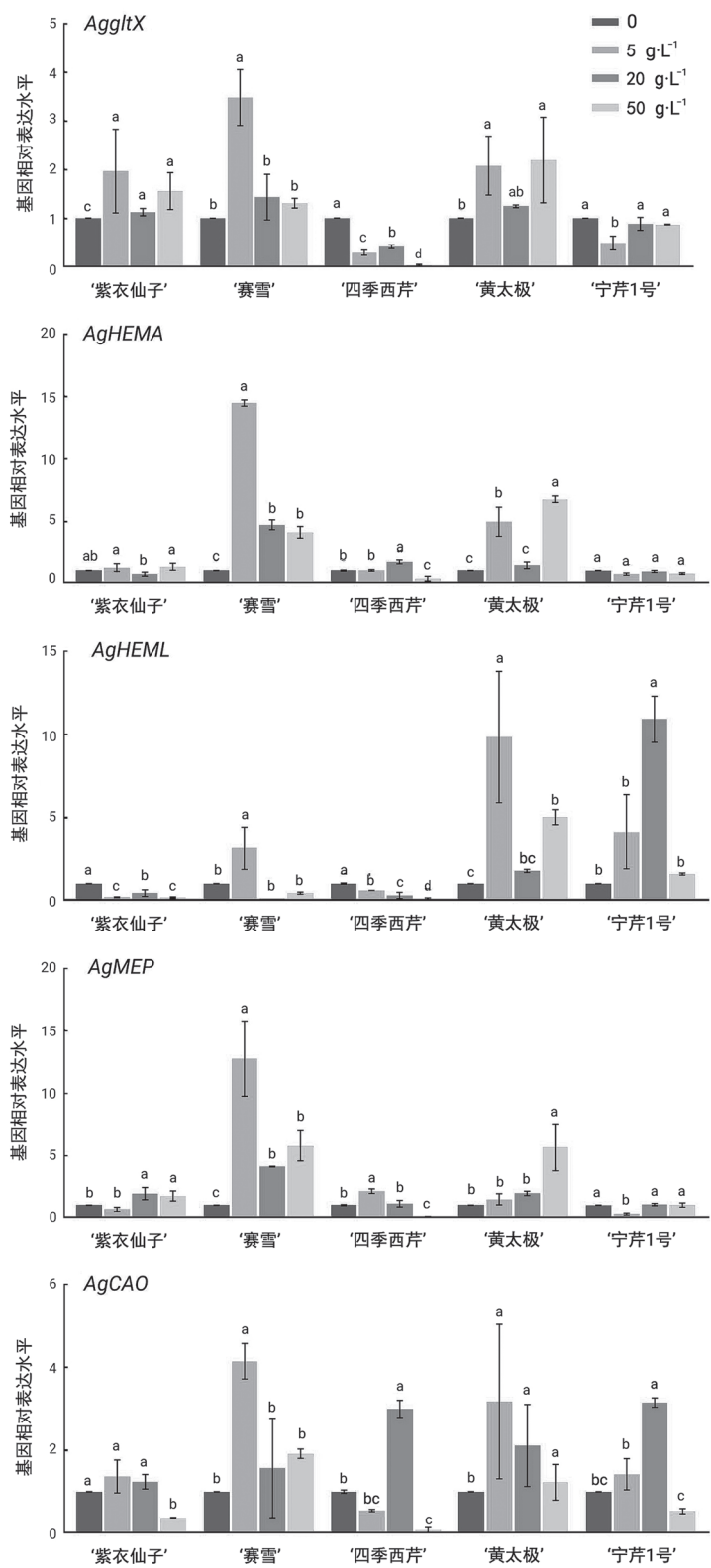


图4 不同浓度氮肥处理对芹菜叶片中叶绿素合成相关基因相对表达量的影响

Fig. 4 Effects of different nitrogen fertilizer concentrations on relative expression levels of chlorophyll synthesis-related genes in leaf blades of celery

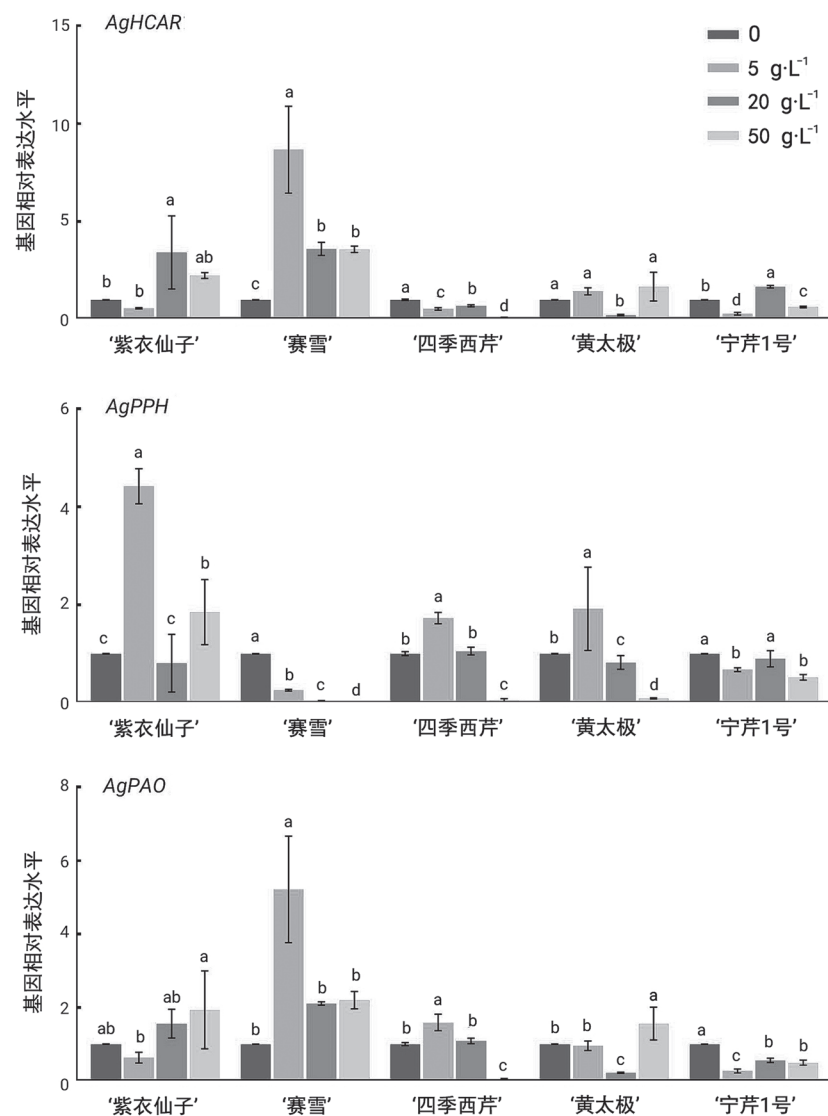


图5 不同浓度氮肥处理对芹菜叶片中叶绿素降解相关基因相对表达量的影响

Fig. 5 Effects of different nitrogen fertilizer concentrations on relative expression levels of chlorophyll degradation-related genes in leaf blades of celery

对表达量结果, 在5和20 g·L⁻¹的氮肥处理浓度下, *AgHEML*、*AggltX*及*AgHEMA*三个与叶绿素合成过程中限速酶合成相关的基因, 相对表达水平较对照组普遍提高。该浓度与最适宜总叶绿素及叶绿素a积累的氮肥处理浓度也基本重叠, 但不同芹菜品种最适宜叶绿素含量提升的氮肥处理浓度存在些许差异。

在叶绿素降解过程中*AgPPH*基因调控脱镁叶绿素a转化常见于植物叶片衰老阶段, 且植物生

长后期PAO的活性大幅度降低(黄蔚2017; 王伟等2011)。也有相关研究发现, 菜心(*Brassica oleracea*)采后贮藏期间叶片逐渐衰老失绿, 叶片中*BrPAO*基因表达也呈上调趋势(龙桂英等2022)。在芒麦(*Miscanthus sinensis*)成熟叶中, 补施60 kg·hm⁻²氮肥最利于维持高龄芒麦叶片的叶绿素含量及光合效率, 氮肥处理浓度降低或提高则效果相对欠佳(张永超等2022)。本次试验中也发现, 当氮肥施用浓度超过对芹菜叶绿素含量积累最佳的处理浓度

时, *AgHCAR*、*AgPAO*等叶绿素转化降解有关基因的相对表达量上调幅度较各叶绿素合成有关基因更大, 可能是导致芹菜叶片中叶绿素含量降低的原因之一。

叶绿素 a 及叶绿素 b 是高等植物中叶绿素的主要存在形式, 两者均含4个环镁卟啉环主体结构, 适期适量补施氮肥及其他微量元素可促进叶片叶绿素合成及叶绿素 a/b 提高, 增强植株氮同化能力相关的光能利用率及抗逆能力(Ramírez-Olvera等2019)。当叶绿素 a/b 较高时, 作物叶片偏向黄绿色, 其光合系统在强光下仍能保持较高光合速率(Golubkina等2020)。通过对比观察各品种芹菜外观图片及叶绿素 a/b 也可以发现, 芹菜叶片中叶绿素 a/b 越大则叶片绿色越浅。在叶绿素 a/b 较小的芹菜品种中, 适宜浓度氮肥处理对该指标提升效果更明显。此外, *AgCAO*基因作为叶绿素 b 合成通路中的关键基因, 其表达水平与叶绿素 a/b 呈负相关关系; *AgHCAR*基因调控叶绿素 b 转化为叶绿素 a , 其表达水平与该指标呈正相关关系。本文结果为该领域后续的深入研究提供理论基础, 也从叶面氮肥合理施用促进叶绿素积累的角度出发, 为芹菜产品品质提高提供思路。

参考文献(References)

- Cao H, Zhang YL, Wang N, et al (2022). Effects of soil carbon enrichment and nitrogen reduction in soil on nitrate reduction and growth of *Malus hupehensis* var. *pingyiensis*. *Plant Physiol J*, 58: 1145–1152 (in Chinese with English abstract) [曹辉, 张艳丽, 王娜等(2022). 土壤增碳减氮对平邑甜茶硝酸还原及生长的影响. *植物生理学报*, 58: 1145–1152]
- Golubkina NA, Kharchenko VA, Moldovan AI, et al (2020). Yield, growth, quality, biochemical characteristics and elemental composition of plant parts of celery leafy, stalk and root types grown in the northern hemisphere. *Plants*, 9: 484
- Gou T, Yang L, Hu W, et al (2020). Silicon improves the growth of cucumber under excess nitrate stress by enhancing nitrogen assimilation and chlorophyll synthesis. *Plant Physiol Biochem*, 152: 53–61
- Huang LQ, Wu LJ, Wang XM, et al (2022). Effects of formulated fertilization on growth, flowering and physiology of container seedlings of *Lagerstroemia indica* ‘Zi Jing Ling’. *Plant Physiol J*, 58: 1735–1746 (in Chinese with English abstract) [黄兰清, 吴丽君, 王晓明等(2022). 配方施肥对‘紫精灵’紫薇容器苗生长、开花及生理的影响. *植物生理学报*, 58: 1735–1746]
- Huang W (2017). The influence of extreme temperature on the accumulation of chlorophyll and ascorbic acid in celery leaves (dissertation). Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese with English abstract) [黄蔚(2017). 温度胁迫对芹菜叶中叶绿素合成与抗坏血酸含量的影响(学位论文). 南京: 南京农业大学]
- Jia LL, Shen D, Chen LZ, et al (2021). Comparison and evaluation of agronomic traits of celery transplanted in autumn-winter in southern Jiangsu Province. *Acta Agric Shanghai*, 37: 1–7 (in Chinese with English abstract) [贾丽丽, 沈迪, 陈龙正等(2021). 苏南地区秋冬茬移栽芹菜农艺性状的比较与评价. *上海农业学报*, 37: 1–7]
- Jia M, Zhu SQ, Wang YH, et al (2022). Effect of different storage conditions on the content of chlorophyll and expression analysis of related gene in celery (*Apium graveolens*). *J Agric Biotechnol*, 30: 1078–1086 (in Chinese with English abstract) [贾敏, 朱胜琪, 王雅慧等(2022). 不同贮藏条件对芹菜叶绿素含量的影响及相关基因表达分析. *农业生物技术学报*, 30: 1078–1086]
- Li MY, Feng K, Hou XL, et al (2020). The genome sequence of celery (*Apium graveolens* L.), an important leaf vegetable crop rich in apigenin in the Apiaceae family. *Hortic Res*, 7: 9
- Liu JX, Feng K, Duan AQ, et al (2019). Isolation, purification and characterization of an ascorbate peroxidase from celery and over expression of the *AgAPX1* gene enhanced ascorbate content and drought tolerance in *Arabidopsis*. *BMC Plant Biol*, 19: 488
- Liu WY, Liu CF, Teng RM, et al (2022). Identification of circadian clock gene *CsCCA1* and its effect on photosynthetic characteristics in tea plant. *Plant Physiol J*, 58 (3): 554–564 (in Chinese with English abstract) [刘文艳, 刘春方, 滕瑞敏等(2022). 茶树生物钟基因*CsCCA1*的鉴定及对光合特性的影响. *植物生理学报*, 58 (3): 554–564]
- Long GY, Lin TT, Liu YQ, et al (2022). Effects of modified atmosphere package on the quality and expression of senescence-related genes of Chinese flowering cabbage during shelf-life storage. *Mod Food*, 28: 197–203 (in Chinese with English abstract) [龙桂英, 林婷婷, 刘宜奇等(2022). 自发气调包装对菜心货架期品质和衰老相关基因表达的影响. *现代食品*, 28: 197–203]
- Lü HL, Wang JM, Guo ZJ, et al (2021). Effects of reducing nitrogen fertilizer and applying different bio-organic fertilizer on growth, yield and quality of celery. *Soil Crops*, 10: 273–281 (in Chinese with English abstract) [吕海龙, 王姣敏, 郭子军等(2021). 氮肥减量配施不同生物有

- 机肥对芹菜生长和产量品质的影响. 土壤与作物, 10: 273–281]
- Lu YW, Cui JH, Guo S, et al (2022). Effects of nitrogen deficiency stress on the growth of foxtail millet seedlings. J China Agric Univ, 27: 18–25 (in Chinese with English abstract) [鲁一薇, 崔纪菡, 郭帅等(2022). 缺氮胁迫对谷子幼苗生长发育的影响. 中国农业大学学报, 27: 18–25]
- Oka M, Shimoda Y, Sato N, et al (2012). Absciscic acid substantially inhibits senescence of cucumber plants (*Cucumis sativus*) grown under low nitrogen conditions. J Plant Physiol, 169: 789–796
- Pavlyuk R, Pogarskaya V, Mykhaylov V, et al (2018). The study of bas complex in chlorophyll-containing vegetables and development of health-improving nanoproductions by a deep processing method. East Eur J Enterp Technol, 2: 48–56
- Qiao FL (2002). Analytical Technique for Plant Physiology Test. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press (in Chinese) [乔富廉(2002). 植物生理学试验分析测定技术. 北京: 中国农业科技出版社]
- Ramírez-Olvera SM, Trejo-Téllez LI, Pérez-Sato JA, et al (2019). Silicon stimulates initial growth and chlorophyll *a/b* ratio in rice seedlings, and alters the concentrations of Ca, B, and Zn in plant tissues. J Plant Nutr, 42: 1928–1940
- Reena, Dhyani VC, Chaturvedi S (2017). Efficient nitrogen management in wheat (*Triticum aestivum*) using leaf-colour chart and chlorophyll meter for optimizing growth, yield and nitrogen-use efficiency. Ind J Agron, 61: 392–395
- Schäffer AA, Aravind L, Madden TL, et al (2001). Improving the accuracy of PSI-BLAST protein database searches with composition-based statistics and other refinements. Nucleic Acids Res, 29: 2994–3005
- Wang W, Xu YJ, Wan ZJ (2011). Cloning and expression analysis of key genes *PPH* and *PAO* for chlorophyll degradation in cucumber. J Hortic, 38: 1104–1110 (in Chinese with English abstract) [王伟, 徐跃进, 万正杰(2011). 黄瓜叶绿素降解关键酶基因*PPH*和*PAO* cDNA片段的克隆与表达初步分析. 园艺学报, 38: 1104–1110]
- Wang XJ, Luo Q, Li T, Meng PH, et al (2022). Origin, evolution, breeding, and omics of Apiaceae: a family of vegetables and medicinal plants. Hortic Res, 9: uhac076
- Wu C, Wang ZQ, Fan ZQ, et al (2003). Effects of different concentration and form ratios of nitrogen on chlorophyll biosynthesis, photosynthesis, and biomass partitioning in *Fraxinus mandshurica* seedlings. Acta Phytoecol Sin, 27: 771–779 (in English) [吴楚, 王政权, 范志强等(2003). 不同氮浓度和形态比例对水曲柳幼苗叶绿素合成、光合作用以及生物量分配的影响. 植物生态学报, 27: 771–779]
- Xiong AS (2019). Apiaceae Vegetable Germplasm Resources. Nanjing: Jiangsu Fenghuang Science and Technology Press (in Chinese) [熊爱生(2019). 伞形科蔬菜种质资源学. 南京: 江苏凤凰科学技术出版社]
- Zhang X, Mo AW, Xu PH, et al (2020). Expression analysis of key enzyme genes in chlorophyll degradation pathway in stay green soybean leaves. Mol Plant Breed, 18: 4871–4877 (in Chinese with English abstract) [张鑫, 莫翱伟, 许鹏昊等(2020). 持绿大豆叶片中叶绿素降解途径关键酶基因的表达分析. 分子植物育种, 18: 4871–4877]
- Zhang YC, Liang GL, Qin Y, et al (2022). Characteristics of chlorophyll and photosynthesis in leaves and their responses to nutrients during aging of *Elymus sibiricus*. Pratac J, 31: 229–237 (in Chinese with English abstract) [张永超, 梁国玲, 秦燕等(2022). 老芒麦衰老过程中叶片叶绿素和光合作用变化特征及对养分的响应. 草业学报, 31: 229–237]