

氮肥施用量與採收前光照處理對設施栽培圓葉萵苣生長與硝酸鹽含量之影響

蕭巧玲¹ 何佳勳² 楊純明^{3,4*}

摘要

蕭巧玲、何佳勳、楊純明。2021。氮肥施用量與採收前光照處理對設施栽培圓葉萵苣生長與硝酸鹽含量之影響。台灣農業研究 70(4):299–309。

葉菜類蔬菜對於硝酸鹽的蓄積除了遺傳因子控制之外，栽培過程中的氮肥管理及光照亦是 2 項影響植體硝酸鹽含量變化原因。本研究於行政院農業委員會農業試驗所農場之簡易塑膠布設施內進行，探討於 4 種氮肥處理下，在採收前以輔助人工光源調節設施內光環境對圓葉萵苣「明豐 3 號」(*Lactuca sativa* cv. 'Ming Feng No. 3') 生長及硝酸鹽含量之影響。試驗係以發光二極體 (light-emitting diode; LED) 及省電燈泡 (energy-saving light bulb; ELB) 為人工光源，計有藍光 LED (LED_B)、紅光 LED (LED_R)、藍紅光 LED ($LED_{3B:1R}$)、紅藍光 LED ($LED_{3R:1B}$) 及省電燈泡 (ELB) 等 5 種，另以不照光 (no light) 為對照，共計 6 種光照處理。試驗結果顯示，在 $30 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$ 及 $203 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$ 兩種較低氮肥處理下圓葉萵苣植體具有較低硝酸鹽含量，當氮肥提高至 $346 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$ 及 $376 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$ 雖可獲得較高生長表現 (包括株高、地上部鮮重及葉數)，但亦使植體蓄積較多硝酸鹽。此 4 種氮肥處理植株於採收前 6 h 進行不同光照處理時，經與不照光處理比較，可發現 4 種氮肥處理搭配輔助光照皆有降低硝酸鹽含量之效果。其中，在 $376 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$ 氮肥處理下，以 LED_B 及 $LED_{3B:1R}$ 可使硝酸鹽分別降低 14% 及 23%。又將 $376 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$ 氮肥處理植株於採收前 4 h 及 6 h，分別以 LED_B 、ELB 進行光照處理，結果顯示皆可減少圓葉萵苣植體硝酸鹽，且兩處理間無顯著差異。經分析葉片淨二氧化碳交換速率 (視同光合作用速率) 與植體硝酸鹽含量間之相關性，結果顯示兩者間呈現顯著的二次曲線關係，即硝酸鹽含量隨著光合作用速率的升高而呈曲線型下降；當光合作用速率提高至 $4.5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 以上時，植體硝酸鹽含量可維持於 $3,000 \text{ mg kg}^{-1}$ (3,000 ppm) 以下。綜合本研究結果，顯見氮肥施用量將明顯影響圓葉萵苣植體生長量及硝酸鹽含量，若於採收前進行額外輔助光照處理，將可獲得調降硝酸鹽含量效果，而於相近效果下，則以 4 h 光照時間較 6 h 者可節省用電成本。

關鍵詞：硝酸鹽、葉萵苣、光環境、發光二極體、氮肥。

前言

硝酸鹽 (nitrate; NO_3^-) 在許多植物 (如青花菜、花椰菜、芥藍菜、根菜類等) 植體中皆可發現，亦為植物氮肥來源之一，尤為葉菜類蔬菜吸收氮素之主要型式。然而，若於生產過程中不當施用氮肥，尤其過量使用時，雖然也

許可以加速達到採收期，卻常有硝酸鹽累積情形 (Marschner 1995; Li *et al.* 2013)，引起消費者對農產品安全的疑慮。在國人日趨重視食品安全的氛圍下，如何控制或甚至減少農產品中的硝酸鹽含量，已成為現階段農業生產的重要課題之一。

一般而言，硝酸鹽本質並無毒性，令人擔

* 收件日期：2021 年 5 月 4 日；接受日期：2021 年 8 月 17 日。

* 通訊作者：cmyang0616@gmail.com

¹ 農委會農業試驗所作物組副研究員。台灣 台中市。

² 農委會農業試驗所作物組助理研究員。台灣 台中市。

³ 農委會農業試驗所作物組前研究員兼組長。台灣 台中市。

⁴ 明道大學精緻農業學系副教授。台灣 彰化縣。

憂的主因係當經過攝食進入人體後轉成亞硝酸鹽 (nitrite)，容易與氧競爭血紅素 (hemoglobin) 之結合位置，形成變性血紅素 (methemoglobin)，致使紅血球攜氧能力降低，導致高鐵血紅蛋白血症 (methemoglobinemia) (Kim-Shapiro *et al.* 2005)。長期食用過量硝酸鹽的食材，將可能導致毒性反應，並形成缺氧狀態，而發生呼吸急促、心律不整等現象 (Block 2020)。硝酸鹽在人體內被代謝後形成之亞硝酸鹽會與蛋白質等其他食物消化後形成之二級胺結合，產生亞硝胺 (nitrosamines) 等致癌物質。在動物試驗中，亞硝胺具有強烈肝毒性，會引起腸胃道及肝臟的癌症 (Sanchez-Echaniz *et al.* 2001; Du *et al.* 2007)。

世界衛生組織 (World Health Organization; WHO) 特別評估並制定每人每公斤體重每日硝酸鹽攝取安全容許量為 $3.7 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (World Health Organization 1996)，歐盟於 2006 年規範菠菜與萐蕎依不同品種、栽培季節及環境訂定硝酸鹽含量應在 $2,000\text{--}4,500 \text{ mg kg}^{-1}$ (ppm)。惟因後續評估 4 萬多種蔬菜種植條件仍可能無法達到上述的標準，因此在 2011 年時放寬修正為 $2,000\text{--}5,000 \text{ mg kg}^{-1}$ (Official Journal European Union 2011)。

由於葉菜類蔬菜硝酸鹽累 (蓄) 積決定於硝酸鹽吸收、同化及運送，除了遺傳因子控制之外，環境中光照、溫度、採收時間及儲藏條件亦會影響硝酸鹽之含量 (European Food Safety Authority 2008; Hsiao *et al.* 2013)。因此，歐盟所訂定之硝酸鹽限量標準，亦依照不同栽培環境而有差異。一般從根部所吸收硝酸鹽進入植體後，需經過還原作用，植體才得以真正利用，並進一步化合成植體所需各種胺基酸及蛋白質，供作物生長發育所需。硝酸鹽在植體中含量受硝酸鹽還原酶 (nitrate reductase; NR) 代謝活性及速率影響，而硝酸鹽還原酶則受多種因子調控，包括光照、溫度、光合作用、荷爾蒙及生長速率等皆可能影響其合成與活性 (Crawford 1995; Li & Oaks 1995)。栽培環境中之光照訊號刺激能活化硝酸還原酶活化而調節硝酸鹽含量，葉片液泡中硝酸鹽也受到光照影響而有濃度及運送之變化 (Cookson *et al.* 2005)。以藍光光照 5 min 後，觀察阿拉伯芥

葉肉細胞中硝酸鹽含量變化，當在暗期 (不照光) 時硝酸鹽會貯存在液泡中，待有光照時從液泡中釋放到細胞質中，並且在由暗期轉換至光期之過渡期間，硝酸鹽還原酶受光及細胞質中低濃度硝酸鹽活化並開始合成 (Cookson *et al.* 2005)。因而，光影響植體硝酸鹽含量，似乎能實際運用作為調節蔬菜硝酸鹽含量之工具。

在日照不充足地區，人工光源之應用十分普遍，以避免蔬菜硝酸鹽累積現象。例如，東歐立陶宛採用人工補光方式，在採收前 3 d 加強紅光發光二極體 (light-emitting diode; LED) 光照，可使不同品種葉萐蕎硝酸鹽含量降低達 20–56%。以光週期 12 h 條件栽培波菜，觀察在不同光強度下植體硝酸鹽含量日夜變化，發現當逐步調高光強度時，植體硝酸鹽含量隨光強度增加逐漸下降。尤其在開始光照後 3 h 內，即能明顯降低硝酸鹽含量，而且亞硝酸鹽含量變化趨緩 (Chang *et al.* 2013)。由此可知，栽培環境中之光照條件對植體中硝酸鹽含量之調整極為重要，吾人也可據以作為主動調節植體硝酸鹽含量之工具。

作物栽培仍以陽光為主要光源，但陽光易受季節及氣候環境等影響，人們因此將光知識及人工光源延伸利用於各種設施 (或溫室)，以人工光源來提供或補充作物所需光照環境，使農作物避免負向自然環境之威脅，得以在設施內持續生產甚或提高生產物之質量。目前人工光源利用於作物栽培之種類頗多，包括有省電燈泡 (energy-saving light bulb; ELB)、螢光燈、水銀燈、高壓鈉燈及發光二極體 (LED) 等多種。其中，LED 已逐漸普遍利用於簡易設施、先進 (精密) 設施、植物工場及其他用途，成為當前最具農業應用潛力人工光源之一。由於 LED 使用直流電源，可以調整光照強度、頻率及光質比例，又具有散熱率低、壽命長及發光效率高等特性，能夠產生連續光源、間歇性光源及組合光源來提供作物不同生長階段所需光環境 (Jao & Fang 2000; Fang & Jao 2004)。

萐蕎類蔬菜係台北市果菜批發市場成交量最高之前十大蔬菜，依其葉型及品種 (系) 等可多樣分類，可供炒食、煮食或生食，其中圓葉萐蕎莖部肥大且軟嫩，乃國人喜愛之葉用蔬

菜種類。Wang *et al.* (1998) 曾調查 28 種葉圓葉萵苣栽培種之硝酸鹽含量，發現品種間含量差異甚大，圓葉種葉圓葉萵苣則歸屬於硝酸鹽高累積型之一。有鑑於葉菜類蔬菜硝酸鹽累積問題之重要性，以及光環境對調節硝酸鹽含量之潛在應用性，本研究延續先前試驗結果 (Hsiao *et al.* 2013)，透過不同氮肥管理及人工光源補充等試驗條件，探討及釐清其對調節圓葉圓葉萵苣硝酸鹽含量之差異。期以提供農企業/農民生產低硝酸鹽圓葉圓葉萵苣栽培技術改進之參考，因應消費者對於健康安全蔬菜生產之高度需求。

材料與方法

圓葉圓葉萵苣之種植及栽培管理

本研究在位於台中市霧峰區之行政院農業委員會農業試驗所農場簡易塑膠布設施內進行試驗，以圓葉圓葉萵苣 (*Lactuca sativa*) 「明豐 3 號」 ('Ming Feng No. 3') 作為參試材料，分別於 2012 年 5 月至 10 月期間栽植，共計種植 8 批次。栽培介質採用泥炭土 (Tref, Jiffy Products International BV, Zwijndrecht, The Netherlands)、3 號珍珠石 (南海蛭石工業，台灣新北市) 及炭化稻殼按比例 (v/v/v = 3 : 1 : 1) 混合均勻，介質 pH 值約為 5.5–6.5 間。將介質填入 56 cm (L) × 36 cm (W) × 20 cm (H) 栽植籃。圓葉圓葉萵苣種子以 0.45 g pot⁻¹ 均勻撒播，播種後 5–7 d 進行疏苗 (thinning)。

在播種前及生育中期 (播種後 15–17 d) 分別施用基肥及追肥等不同氮肥組合 (表 1)，包括 1 倍追肥 (F1)、1 倍基肥 + 1 倍追肥 (F2)、

2 倍基肥 (F3) 及 2 倍基肥 + 1 倍追肥 (F4) 等 4 種組合，氮肥 (素) 含量高低分別換算為 30、203、346 及 376 kg N · ha⁻¹，據以釐清不等氮肥施用量對圓葉圓葉萵苣生長及硝酸鹽含量之影響。

病蟲草害管理

葉用圓葉圓葉萵苣常見病害包括菌核病、葉斑病及露菌病，但本試驗期間少有前述病害發生，因此未施用病害防治藥劑。惟蟲害係本試驗栽培過程易出現之生物性危害因子，包括甜菜夜蛾、小菜蛾。因此，為減少蟲卵可能殘留於介質及盆器中，在播種前將 6% 培丹粒劑 (cartap hydrochloride) 1 g pot⁻¹ 與基肥混拌入介質中，作為預防性控制來減少蟲害發生。種植圓葉圓葉萵苣前，簡易設施周圍已先懸掛甜菜夜蛾性費洛蒙誘蟲盒，降低甜菜夜蛾發生率。生育期間如遇每株圓葉圓葉萵苣有甜菜夜蛾幼蟲約 3–5 隻時，即施用稀釋 1,500× 之 2.15% 因滅汀乳劑 (emamectin benzoate)，以防止蔓延。簡易設施建置於農田土壤之上，以雜草抑制蓆鋪設地面，以減少雜草種子萌發，遇有雜草植株穿透抑制蓆則以人工除草方式摘除，降低病蟲源寄生。

採收前額外輔助光照處理

本主題共進行試驗 I 及試驗 II 兩項，前者在於探討光照處理效果，後者在於比較光照處理時程 (6 h 及 4 h) 之差異。試驗 I 在圓葉圓葉萵苣播種後約 30 d 可達商業販售之採收期，於收穫當日之日出前 6 h，施以不同光波段之照光處理，包括發光二極體 (LED) 燈泡 (電壓

表 1. 不等氮肥投施量組合之處理代號及氮素含量。

Table 1. Codes and various nitrogen contents in fertilizer in different fertilization treatments.

Treatment code	Treatment description	Organic fertilizer	Urea [CO(NH ₂) ₂]	Ordinary superphosphate [CaH ₄ (PO ₄) ₂]	Potassium chloride (KCl)	No. 1 composite fertilizer ^z		Total nitrogen
						kg ha ⁻¹	kg ha ⁻¹	
F1	1× top-dressing	-	-	-	10	150	30	
F2	1× basal + 1× top-dressing	3,750	50	25	60	150	203	
F3	2× basal	7,500	100	50	100	-	346	
F4	2× basal + 1× top-dressing	7,500	100	50	110	150	376	

^z No. 1 composite fertilizer includes N, P₂O₅ and K₂O in ratio of 20 : 5 : 10, respectively, made by Taiwan Fertilizer Company (TFC), Taiwan.

110 V、功率 10 W，工業研究院，台灣新竹市) 和省電燈泡(電壓 110–120 V、功率 23 W，台灣飛利浦電子公司，台灣台北市)，後者指一體式緊湊型螢光燈泡 (compact fluorescent lamp; CFL)。人工光源設置於葉萐萐植株上方 0.85 m，隨植株高度調整以維持相同距離，計有藍光 LED (LED_B)，波長 440–460 nm，光強度 $1.63 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、紅光 LED (LED_R)，波長 640–660 nm，光強度 $4.91 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、藍紅光 LED ($LED_{3B:1R}$)，3 藍光 + 1 紅光，光強度 $2.98 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、紅藍光 LED ($LED_{3R:1B}$)，3 紅光 + 1 藍光，光強度 $3.59 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)、省電燈泡 (ELB，含有 430、540 及 610 nm 等 3 個中心波長，光強度 $1.64 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，色溫 6500K，Philips Helix 畫光色)，以不照光為對照組 (no light control)，共計 6 種光環境，以探究收穫前人為補光對圓葉萐萐植體中硝酸鹽含量之效應。試驗 II 係為瞭解縮短光照處理時程 (時間) 對圓葉萐萐植體硝酸鹽含量是否存在差異效果，乃以藍光 LED (LED_B) 及畫光色省電燈泡 (ELB) 分別於收穫當天之日出前光照 4 h 或 6 h，比較不同處理時程之植體硝酸鹽含量。

植體硝酸鹽分析

照光結束後及日出前，切取試驗之圓葉萐萐植株地上部，以檢測植體硝酸鹽含量。取 300 g 圓葉萐萐植體，以均質機 (Model 275, Norwalk Compressor Company, Stratford, CT, USA) 打碎並攪拌均勻後，加入 600 mL 70°C 之 RO (reverse osmosis) 逆滲透水。再由此取 1 mL 混合溶液，以去離子水 (deionized water) 定量至 20 mL 後，置於 100°C 水浴槽內加熱 30 min。待冷卻後，利用濾紙 (Whatman, No. 5) 過濾出澄清液，吸取 1 mL 之澄清液並定量至 5 mL。經震盪均勻後，以 2 通道數位檢測系統 (Astoria 2 Analyzer System, Astoria-Pacific International, Clackamas, OR, USA) 分析圓葉萐萐植體硝酸鹽含量。

圓葉萐萐植株生長性狀及光合作用調查與試驗統計

光照處理結束後，量測圓葉萐萐之葉片淨二氣化碳交換速率 (視同光合作用速率)。以光合作用氣體分析系統 (LI-6400XT, LI-COR Inc.,

Lincoln, NE, USA) 夾取植株中心往外數第 4 片完全展開葉，將 1 cm^2 葉室的氣體分析器置於葉片上部 1/3 處，夾取時間為每葉 3 min，流速設定 $150 \mu\text{mol s}^{-1}$ ，取 80、90 及 100 s 測值之平均值為該葉片代表值。各光照處理皆有 3 重複 (3 栽植籃)，每重複皆量測 3 株葉片之淨二氣化碳交換速率 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)，取 3 株平均值為各重複代表值，再取 3 重複之均值為各光照處理代表值。光合作用速率量測完成後，切取地上部植株以調查生長性狀，包含株高、葉片數、地上部鮮重及乾重 (80°C 烘乾 72 h)，每處理 3 重複，每重複調查 6 株。

本試驗期間收集試區鄰近之農業試驗所一級農業氣象測站測值 (月報表)，包括每日的日均溫 (daily mean air temperature, °C)、日射量 (daily irradiance, MJ m⁻²)、日照時數 (sunshine hours, h) 及相對濕度 (relative humidity, %) (表 2)。本研究室於簡易網室內進行，試驗環境相同，採完全隨機設計 (Completely Randomized Design; CRD)，將栽植籃隨機擺放，4 重複，每重複共計 4 種肥料及 6 種光照處理。試驗資料以行政院農業委員會購置之 SAS-EG 視窗版軟體進行統計分析，再以 SigmaPlot (Version 8.0) 統計繪圖軟體繪製圖形。

結果與討論

氮肥處理影響圓葉萐萐植體硝酸鹽含量及生長性狀表現

本研究於試驗期間根據所施用肥料之基肥及追肥的倍率換算總氮素投施量 (表 1)，於採收前量測圓葉萐萐植體硝酸鹽含量及生長性狀，同時量測各生育期間之氣象變因平均值及累加值，包括日均溫、日射量、日照時數及相對濕度等氣象參數，亦計算平均生育期 (日數) (表 2)，提供氣象環境訊息。由氮肥最低投施量 $30 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$ (1 倍追肥) 至最高投施量 $376 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$ (2 倍基肥 + 1 倍追肥)，比較採收時之植體硝酸鹽含量可知，植體硝酸鹽含量有隨著氮肥投施量增加而升高的趨勢 (圖 1)，惟受到施用方法影響。因此，仍應釐清氮肥投施量與硝酸鹽含量關係。如何適量投施氮肥，以充分利用於植株生長而不致累 (蓄) 積硝酸鹽於植

表 2. 在簡易設施栽培之圓葉萵苣「明豐 3 號」(*Lactuca sativa* var. 'Ming Feng No. 3') 於 2012 年 5 月至 10 月試驗期間不同栽植期量測氣象變因之累加值與平均值。

Table 2. The accumulated and mean values of climatic variables during different growing periods of lettuce (*Lactuca sativa* var. 'Ming Feng No. 3') cultivated under protected structure from May to October in 2012.

Growing period	Duration (d)	Temperature (°C)		Irradiance (MJ m⁻²)		Sunshine hours (h)		Relative humidity (%)	
		Sum	Ave.	Sum	Ave.	Sum	Ave.	Range	Ave.
1	05/21–06/24 (35)	950.7	27.2	561.9	16.1	167.8	4.8	73.1–94.5	84.4
2	05/28–06/27 (31)	852.5	27.5	472.5	15.2	133.4	4.3	73.1–94.5	85.0
3	06/04–07/04 (31)	866.4	27.9	473.5	15.3	132.9	4.3	73.1–94.5	83.7
4	07/06–08/05 (31)	886.4	28.6	505.4	16.3	170.7	5.5	70.0–96.3	81.2
5	07/13–08/13 (32)	905.7	28.3	487.0	15.2	152.8	4.8	71.1–96.3	81.9
6	07/20–08/20 (32)	894.8	28.0	452.5	14.1	136.1	4.3	76.2–96.3	84.1
7	07/27–08/27 (32)	896.5	28.0	458.6	14.3	145.9	4.6	76.2–96.3	83.5
8	09/10–10/10 (31)	808.0	26.1	550.1	17.7	263.8	8.5	69.0–83.7	76.5
Mean	(32)	882.6	27.7	495.2	15.5	162.9	5.1	72.7–94.1	82.5

體中，乃圓葉萵苣及其他葉菜類必須建立之施肥技術。固然栽培期間僅施用 1 倍量追肥處理之植體硝酸鹽含量最低，僅約 $1,200 \text{ mg kg}^{-1}$ ，然其外觀株型未達該商品之販售要求，顯見在此施用量下並不足以供應植株生長所需 (Hsiao et al. 2013)。2 倍基肥 (346 kg N ha^{-1}) 之氮肥投施量較 1 倍基肥 + 1 倍追肥 (203 kg N ha^{-1}) 者高，然後者之硝酸鹽含量卻多約 $1,200 \text{ mg kg}^{-1}$ ，可知施肥時機似乎亦是影響植體硝酸鹽含量重要因素之一。此外，由於基肥於圓葉萵苣播種前即混合入介質中，經過植體吸收及水分淋洗等過程，原有氮肥於生育後期可能已所剩無幾 (Fan et al. 2014)，因此高基肥用量未必能拉長介質供應氮素之時間，卻避免了植體硝酸鹽的蓄積。在最高氮量之 2 倍基肥 + 1 倍追肥 (376 kg N ha^{-1}) 處理下，能於植株生育權期充分供應期所需氮素，但亦使植體累積高於 $4,500 \text{ mg kg}^{-1}$ 之硝酸鹽含量。由此研究結果顯示，1 倍基肥 + 1 倍追肥 (203 kg N ha^{-1}) 施肥方法可以使植體有相對較少之硝酸鹽及較佳生長性狀 (僅低於最高氮肥量處理)。據此，合理氮肥施用方法及投施量宜先行建立，俾使蔬菜栽培系統既能促進植株生長又能控制植體硝酸鹽於合理範圍。

在植體硝酸鹽含量與植株生長性狀間之關係方面 (圖 2)，隨著氮肥投施量增加，植株生

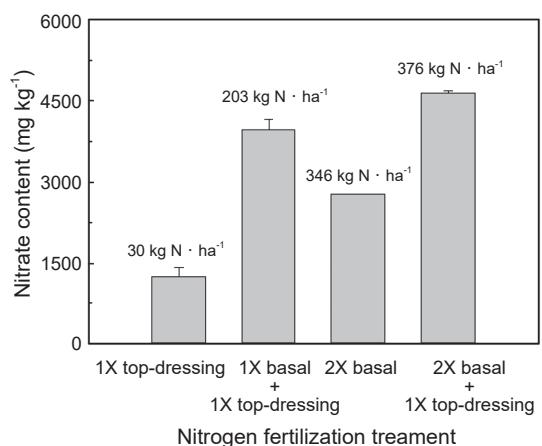


圖 1. 在簡易設施栽培之圓葉萵苣「明豐 3 號」(*Lactuca sativa* var. 'Ming Feng No. 3') 於 2012 年 5 月至 10 月試驗期間，施用不同氮肥處理組合之植體硝酸鹽含量。不同氮肥處理分別於播種前及生育中期 (播種後 15–17 d) 以基肥及追肥施用，包括 1 倍追肥、1 倍基肥 + 1 倍追肥、2 倍基肥及 2 倍基肥 + 1 倍追肥等 4 種組合，氮肥 (素) 含量高低分別換算為 30 、 203 、 346 及 376 kg N ha^{-1} 。

Fig. 1. Effects of different amounts of nitrogen fertilizer applications on nitrate content of lettuce (*Lactuca sativa* var. 'Ming Feng No. 3') grown under protected structure from May to October in 2012. Basal fertilizer and top-dressing were applied before seed sowing and at two weeks after seed sowing, respectively. Total nitrogen was calculated as 30 kg N ha^{-1} for $1 \times$ top-dressing, 203 kg N ha^{-1} for $1 \times$ basal + $1 \times$ top-dressing, 346 kg N ha^{-1} for $2 \times$ basal, and 376 kg N ha^{-1} for $2 \times$ basal + $1 \times$ top-dressing, respectively.

長性狀 (如株高、地上部鮮重及葉數) 亦隨之增長，尤其葉數可達到顯著之二次曲線關係。雖然硝酸鹽型式 (或稱硝酸態) 氮肥增加與鮮

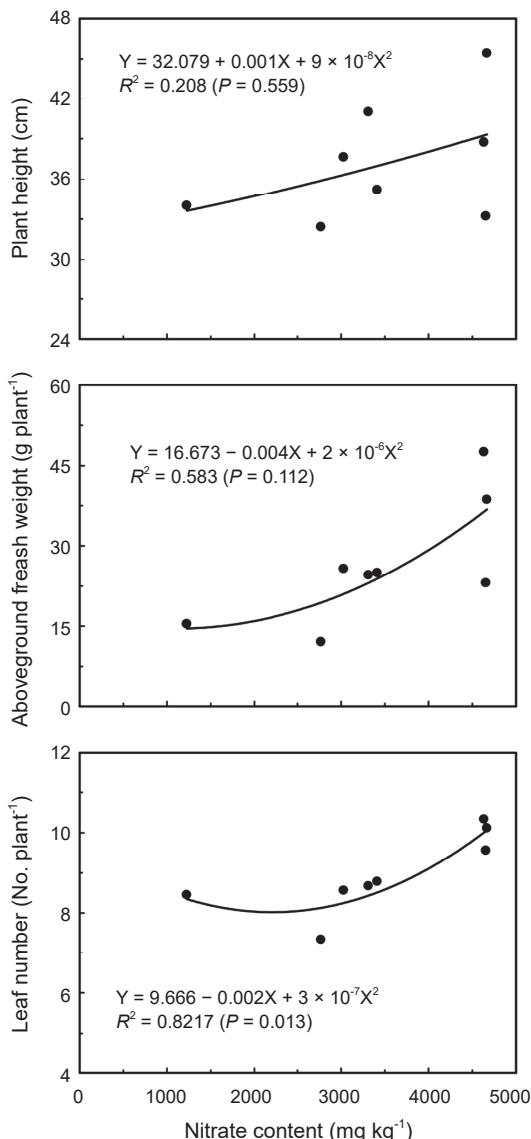


圖 2. 在簡易設施栽培之圓葉萵苣「明豐 3 號」(*Lactuca sativa* var. 'Ming Feng No. 3') 以不同氮肥處理之植體硝酸鹽含量與生長性狀 (包括株高、地上部鮮重及葉數) 之二次曲線關係圖。

Fig. 2. Changes in plant height, aboveground fresh weight and leaf number in plants of lettuce (*Lactuca sativa* var. 'Ming Feng No. 3') grown under protected structure with nitrate contents of plants that treated with varied amounts of nitrogen fertilizer.

重間之關係未達統計顯著，似乎仍可期待施用此類氮肥對鮮重之促進作用。其次，施用硝酸態氮肥若未能完全利用，將形成植體高量硝酸鹽蓄積之負面結果。因此，本試驗最高氮肥施用量處理雖有最大生長促進，卻也蓄積了高量 ($4,500 \text{ mg kg}^{-1}$) 之植體硝酸鹽。一般植體內之硝酸鹽很快即被分布至各部位利用，然而其他條件 (如環境因子、發生生物性逆境) 如未能配合，將會造成過多硝酸鹽之累積。再者，植物對於氮肥種類具有偏好性，通常旱作作物 (如葉菜類) 對於硝酸態氮肥的吸收利用高於銨態氮肥。因此，如能適當比例混用硝酸態及硝酸態氮肥，將可改變部分作物之硝酸鹽及銨在農作物 (如大白菜、番茄及玉米等) 植體中的分布、利用及累積 (Li *et al.* 2013)。惟此是否可延用於圓葉萵苣，尚待進一步研究及瞭解。

特定光環境對不同氮肥處理之圓葉萵苣植體硝酸鹽含量的影響

葉菜類蔬菜硝酸鹽累 (蓄) 積決定於對硝酸態肥料吸收、同化、運送及植株生長速度之綜合交感，除了遺傳因子控制之外，環境中光照長短、強弱及光波段亦會影響硝酸鹽含量變化 (Wang *et al.* 1998)。本研究比較 4 種氮肥在 6 種人工光源環境中的硝酸鹽含量，分析結果發現不同氮肥之間與不同人工光源之間都存在極顯著差異，且氮肥及光源之間有極顯著交感作用，表示不同氮肥在不同人工光源處理的植體硝酸鹽含量有所不同 (表 3)，因此應當慎選合適的人工光源搭配氮肥用量。

續探討圓葉萵苣採收前額外給予 6 h 人工

表 3. 四種氮肥及 6 種光環境處理對圓葉萵苣硝酸鹽含量之變方分析表。

Table 3. Analysis of variance (ANOVA) for of 6 lighting treatments under four nitrogen application rates on nitrate content of lettuce (*Lactuca sativa* cv. 'Ming Feng No. 3').

Parameter	df	F
N application rates (N)	3	6.06**
Lighting condition (L)	5	650.11**
N × L	14	10.31**
Error	71	

** denote significance at 1% level.

光源照射的補光處理，對降低硝酸鹽含量之效應(表4)。試驗結果顯示除了F2肥料處理外，其他5種人工光源對不同氮肥處理之圓葉萵苣硝酸鹽含量皆有不等程度之調節作用。在較高肥料的F4處理中，雖有較佳的生長性狀(圖2)，然在未提供人工照光環境下之硝酸鹽含量可高達 $4,652 \text{ mg kg}^{-1}$ 。以最小顯著性差異測驗(least significant difference; LSD)結果顯示，輔以額外光照可相對調降硝酸鹽含量。比較不同人工光源處理對圓葉萵苣硝酸鹽含量之影響，發現 LED_B 及 $\text{LED}_{3B:1R}$ 可分別使硝酸鹽顯著降低至 $4,003 \text{ mg kg}^{-1}$ 及 $3,586 \text{ mg kg}^{-1}$ ，即約降低14%及23%累積量，而多波段之ELB與不照光比較，亦明顯降低了15%。研究(Matsumoto *et al.* 2010; Samuoliené *et al.* 2011)指出，不同萵苣品種間對感受光照而調節硝酸鹽含量之特性存有差異，以混合不同比例之藍紅光栽培‘Greenwave’萵苣，可使其硝酸鹽含量降至 $3,000 \text{ mg kg}^{-1}$ 以下，而紅葉萵苣‘Multired 4’與綠葉萵苣‘Multigreen 3’兩品種以紅光補光則可降低植體硝酸鹽含量最高達56%，惟淡綠葉萵苣‘Multiblond 2’經過紅光照射後卻增

加超過6倍硝酸鹽含量。本研究所選用之‘明豐3號’圓葉萵苣似乎對藍光波段具有調節硝酸鹽含量之正向反應，藍光加上紅光亦然，而對於所引起之生理反應未來仍需加以探究。

在本研究之光照環境下，採收前光照6 h所需用電量約為0.3度電[($10 \text{ W} \times 6 \text{ h} \times 5 \text{ bulbs m}^{-2}$)/1,000瓦時(kW h)]，雖僅於採收前照射，長期使用仍屬一可觀成本支出。為評估減少光照時間是否能維持降低硝酸鹽之效應，乃以 LED_B 及ELB分別光照4 h及6 h，檢視對硝酸鹽含量之差別(顯著性差異測驗結果如表5)。比較不照光之對照組，4 h及6 h之光照時間皆能有效降低硝酸鹽含量。以 LED_B 而言，雖然6 h光照效果略優於4 h光照者效，然衡量用電成本下，4 h之成本支出相對較少。ELB之2種光照時間對調節硝酸鹽效果未有顯著差異，顯示縮短光照時間至4 h仍可達到降低硝酸鹽含量效果。綜此試驗結果，從節能角度而言，4 h光照較能減少用電成本支出(用電量0.2度電)，值得推薦為降低硝酸鹽含量之光照時程(間)。

表4. 在簡易設施栽培之圓葉萵苣「明豐3號」(*Lactuca sativa* var. ‘Ming Feng No. 3’)投施不等量氮肥組合在不同光照處理[含發光二極體(LED)及省電燈泡等人工光源]下對植體硝酸鹽含量之影響。光照處理係在採收日之黎明前6 h實施。

Table 4. Effects of lighting treatments by light-emitting diodes (LEDs) and energy-saving light bulb (ELB) on nitrate content of lettuce (*Lactuca sativa* cv. ‘Ming Feng No. 3’) applied with different amounts of nitrogen fertilizer cultivated under protected structure. The lighting treatments started at 6 h after dawn before harvest.

Treatment	F1 ^z	F2	F3	F4
	Nitrate content (mg kg ⁻¹)			
No-light control	1,227 a ^y	3,966 a	2,771 ab	4,652 a
LED_B^x	56 d	3,935 a	2,557 bc	4,003 b
LED_R	836 b	3,896 a	2,994 a	3,756 b
$\text{LED}_{3B:1R}$	624 bc	3,869 a	2,559 c	3,586 b
$\text{LED}_{3R:1B}$	818 b	-	2,471 bc	4,615 a
ELB	534 c	4,090 a	2,391 c	3,935 b
$\text{LSD}_{0.05}$	230	287	250	471

^z F1, applied 1× top dressing at two weeks after seed sowing (a total of $30 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$); F2, applied 1× basal fertilizer at seed sowing and 1× top-dressing at two weeks after sowing, respectively (a total of $203 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$); F3, applied 2× basal fertilizer at seed sowing (a total of $346 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$); F4, applied 2× basal fertilizer at seed sowing and 1× top-dressing at two weeks after sowing (a total of $376 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$), respectively.

^y Within a column means followed by the same letter are not significantly different at the 0.05 level of probability by the Fisher’s least significant difference (LSD) procedure.

^x LED_B : 10 W blue light LED; LED_R : 10 W red light LED; $\text{LED}_{3B:1R}$: 10 W LED with combination of 3 blue light and 1 red light; $\text{LED}_{3R:1B}$: 10 W LED with combination of 3 red light and 1 blue light; ELB, 23 W energy-saving light bulb. LED: light-emitting diode.

表 5. 在簡易設施栽培之圓葉萵苣「明豐 3 號」(*Lactuca sativa* var. 'Ming Feng No. 3') 以 F4 氮肥投施量組合下在採收前以不同光照處理 [藍光發光二極體 (LED) 或省電燈泡] 4 h 或 6 h 之植體中硝酸鹽含量。

Table 5. Nitrate contents in lettuce (*Lactuca sativa* var. 'Ming Feng No. 3') applied with F4 nitrogen fertilization^z and different lighting treatments with blue light LED (light-emitting diode) or ELB (energy-saving light bulb) in 4 h or 6 h before harvest grown under protected structure.

Treatment	Nitrate content (mg kg ⁻¹)
No light control	4,653 a ^y
LED _b -4 h	4,240 B
LED _b -6 h	4,030 B
ELB-4 h	4,066 B
ELB-6 h	4,235 ab
LSD _{0.05}	494

^z F4, applied 2× basal fertilizer at seed sowing and 1× top-dressing at two weeks after seeding sowing, respectively, with a total of 376 kg N · ha⁻¹.

^y Within a column means followed by the same letter are not significantly different at the 0.05 level of probability by the Fisher's least significant difference (LSD) procedure.

光合作用對植體硝酸鹽含量之影響

為瞭解光合作用對圓葉萵苣植體硝酸鹽含量之影響，乃進行葉片淨二氧化碳交換速率(視同光合作用速率)之量測，並分析相同葉片之硝酸鹽含量，將兩者間關係繪製於圖 3。根據結果，可發現光合作用與硝酸鹽含量之間呈現顯著二次曲線關係，隨著光合作用速率逐漸提升則植體硝酸鹽含量呈現下降趨勢。當光合作用速率提高至 4.5 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ 時，硝酸鹽含量可維持於 3,000 mg kg⁻¹ 以下(圖 3)。據此推測，採收前額外人工光照可能促進光合作用進行，新生成之碳水化合物可以利用植體硝酸鹽而減少硝酸鹽含量。有研究 (Stitt 1999; Samuolienė *et al.* 2009) 指出，光合作用所增加之單醣(如葡萄糖)有助於協同調節硝酸鹽同化成為胺基酸，另光照刺激引起硝酸鹽釋放與儲存時，能改變蛋白質合成酵素活性進而調節氮素在碳水化合物與胺基酸合成間之分配，直接或間接的降低硝酸鹽含量。又除了光合作用之外，光照亦可活化硝酸鹽還原酶(nitrate

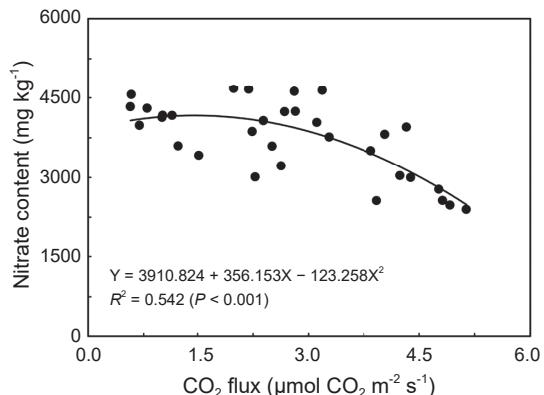


圖 3. 在簡易設施栽培之圓葉萵苣「明豐 3 號」(*Lactuca sativa* var. 'Ming Feng No. 3') 於 2012 年 5 月至 10 月試驗期間，量測之葉片淨二氣化碳交換速率(視同光合作用速率)與硝酸鹽之二次曲線關係圖。

Fig. 3. Relationship between nitrate content and CO₂ flux (i.e., photosynthetic rate) in lettuce (*Lactuca sativa* var. 'Ming Feng No. 3') grown under protected structure from May to October in 2012.

reductase) 促使同化硝酸鹽，此作用也是光照調節硝酸鹽之直接證據。未來研究可進一步釐清不同光波段對硝酸鹽還原酶之影響，以及造成硝酸鹽含量之改變，作為未來實際運用之理論基礎。

結論

總結本研究試驗結果，可知適當氮肥投施量係控制圓葉萵苣植體硝酸鹽含量之主要方法，而生產管理者若為促進植株生長或縮短達到採收所需日數而提高氮肥使用量，例如因應颱風過後菜價飆升時之蔬菜供給，則可採取適當施肥方法及於採收前利用人工輔助光照，來獲得增進圓葉萵苣生產之效果。為期兼顧增產及維持硝酸鹽含量於臨界值以下，則合理之氮肥投施量、施用方法及光照處理組合將可構成圓葉萵苣之最佳栽培技術。本項系列研究未來將探討不同波段、光輻射強度及光照射期程對於其他葉菜類蔬菜生長及硝酸鹽含量之影響，

以擴大應用範圍來回應消費者對農產品安全之需求。

引用文獻

- Block, J. 2020. Nitrate Poisoning of Livestock. V839. Extension Knowledge. North Dakota State University. Fargo, ND. 4 pp.
- Chang, A. C., T. Y. Yang, and G. L. Riskowski. 2013. Ascorbic acid, nitrate, and nitrite concentration relationship to the 24 hour light/dark cycle for spinach grown in different conditions. *Food Chem.* 138:382–388. doi:10.1016/j.foodchem.2012.10.036
- Cookson, S. J., L. E. Williams, and A. J. Miller. 2005. Light-dark changes in cytosolic nitrate pools depend on nitrate reductase activity in *Arabidopsis* leaf cells. *Plant Physiol.* 138:1097–1105. doi:10.1104/pp.105.062349
- Crawford, N. M. 1995. Nitrate: Nutrient and signal for plant growth. *Plant Cell.* 7:859–868. doi:10.1105/tpc.7.7.859
- Du, S. T., Y. S. Zhang, and X. Y. Lin. 2007. Accumulation of nitrate in vegetables and its possible implications to human health. *Agric. Sci. China.* 6:1246–1255. doi:10.1016/S1671-2927(07)60169-2
- European Food Safety Authority. 2008. Nitrate in vegetables- Scientific opinion panel on contaminants in the food chain. *EFSA J.* 689:1–79. doi:10.2903/j.efsa.2008.689
- Fan, Z., S. Lin, X. Zhang, Z. Jiang, K. Yang, D. Jian, Y. Chen, J. Li, Q. Chen, and J. Wang. 2014. Conventional flooding irrigation causes an overuse of nitrogen fertilizer and low nitrogen use efficiency in intensively used solar greenhouse vegetable production. *Agric. Water Manage.* 144:11–19. doi:10.1016/j.agwat.2014.05.010
- Fang, W. and R. C. Jao. 2004. Effects of different light intensity and quality on the growth of potato plantlets *in vitro* using super-bright red and blue LED. *Seed Nurs. (Taiwan)* 6(2):56–73. (in Chinese with English abstract) doi:10.30077/SN.200406.0006
- Hsiao, C. L., C. M. Yang, C. H. Ho, S. J. Tsai, Y. W. Lin, and T. S. Liu. 2013. Effects of nitrogen fertilization and climatic environment on growth and nitrate content of lettuce (*Lactuca sativa*) grown under protected structure. *Crop Environ. Bioinform.* 10:284–289. (in Chinese with English abstract) doi:10.30061/CEB.201312_10(4).0006
- Jao, R. C. and W. Fang. 2000. Simulation of light environment under blue and red LEDs. *J. Agric. Mach.* 9(3):51–63. (in Chinese with English abstract) doi:10.30062/JAM.200009.0004
- Kim-Shapiro, D. B., M. T. Gladwin, R. P. Patel, and N. Hogg. 2005. The reaction between nitrite and hemoglobin: The role of nitrite in hemoglobin-mediated hypoxic vasodilation. *J. Inorg. Biochem.* 99:237–246. doi:10.1016/j.jinorgbio.2004.10.034
- Li, S. X., Z. H. Wang, and B. A. Stewart. 2013. Responses of crop plants to ammonium and nitrate N. *Adv. Agron.* 118:205–397. doi:10.1016/B978-0-12-405942-9.00005-0
- Li, X. Z. and A. Oaks. 1995. The effect of light on the nitrate and nitrite reductases in *Zea mays*. *Plant Sci.* 109:115–118. doi:10.1016/0168-9452(95)04159-R
- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd ed. Academic Press. London, UK. 889 pp. doi:10.1016/B978-0-12-473542-2.X5000-7
- Matsumoto, T., H. Itoh, Y. Shirai, N. Shiraishi, and Y. Uno. 2010. Effects of light quality on growth and nitrate concentration in lettuce. *J. SHITA.* 22:140–147. (in Japanese with English abstract) doi:10.2525/SHTA.22.140
- Official Journal of European Union. 2011. Commission regulation (EU) No 1258/2011 of 2 December 2011 amending regulation (EU) No 1886/2006 as regards maximum levels for nitrates in foodstuffs. 54:L320/15–17. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:320:0015:0017:EN:PDF> (visit on 04/28/2021)
- Samuolienė, G., A. Urbonavičiūtė, P. Duchovskis, Z. Bliznikas, P. Vitta, and A. Žukauskas. 2009. Decrease in nitrate concentration in leafy vegetables under a solid-state illuminator. *HortScience.* 44:1857–1860. doi:10.21273/HORTSCI.44.7.1857
- Samuolienė, G., A. Brazaitytė, R. Sirtautas, A. Novičkovas, and P. Duchovskis. 2011. Supplementary red-LED lighting affects phytochemicals and nitrate of baby leaf lettuce. *J. Food Agric. Environ.* 9:271–274. doi:10.1234/4.2011.2267
- Sanchez-Echaniz, J., J. Benito-Fernández, and S. Mintegui-Raso. 2001. Methemoglobinemia and consumption of vegetables in infants. *Pediatrics.* 107:1024–1028. doi:10.1542/peds.107.5.1024
- Stitt, M. 1999. Nitrate regulation of metabolism and growth. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2:178–186. doi:10.1016/S1369-5266(99)80033-8
- Wang, S. T., S. L. Lin, W. N. Chang, and C. H. Hsiao. 1998. Cultivar's differences in nitrate content of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *J. Agric. Res. China.* 47:63–70. (in Chinese with English abstract) doi:10.29951/JARC.199803.0005

World Health Organization. 1996. Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants in Food /Prepared by the forty-fourth meeting of the

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). World Health Organization. Geneva, Switzerland. 465 pp.

Effects of Nitrogen Fertilizer Amounts and Lighting Treatment before Harvest on Growth and Nitrate Content of Lettuce (*Lactuca sativa*) under Protected Structures

Chiao-Ling Hsiao¹, Chia-Hsun Ho², and Chwen-Ming Yang^{3,4*}

Hsiao, C. L., C. H. Ho, and C. M. Yang. 2021. Effects of nitrogen fertilizer amounts and lighting treatment before harvest on growth and nitrate content of lettuce (*Lactuca sativa*) under protected structures. J. Taiwan Agric. Res. 70(4):299–309.

Abstract

Accumulation of nitrate content in leafy vegetables is affected by not only genetic factors but also nitrogen (N) fertilization and lighting conditions during plant growth. Pot experiments were conducted under a protected structure covered with plastics in an experimental farm located in the Taiwan Agricultural Research Institute. Four amounts of N fertilizers were applied during growing period of lettuce (*Lactuca sativa* cv. ‘Ming Feng No. 3’). Supplemental lighting was provided by different artificial light sources at 4 or 6 h before harvest. A total of 6 supplemental lighting treatments using light-emitting diode (LED) and energy-saving light bulb (ELB; a compact fluorescent lamp) were used as light sources and plants treated with no light as a control. Results showed that plants treated with N fertilizer at a rate of 30 and 203 kg N · ha⁻¹ had comparatively lower nitrate contents than those of higher N inputs. Increasing the amount of N fertilizer promoted plant growth. Plants after being applied with higher N rates (346 and 376 kg N · ha⁻¹) showed better growth, in terms of traits of plant height, aboveground fresh weight and leaf number, however, higher N generated a greater nitrate accumulation. The contents of nitrate were compared in lettuce plants after being treated with 6 h of supplemental lighting of blue light LED (LED_B), red light LED (LED_R), 3 blue/1 red mix LED (LED_{3B:1R}), 3 red/1 blue mix LED (LED_{3R:1B}), or ELB before harvest. The results indicated that a lower nitrate content was found in plants treated with supplemental lighting prior to harvest in all 4 nitrogen application rates, compared to that of plants without light treatment. At the highest nitrogen rate of 376 kg N · ha⁻¹, the nitrate content reduced by 14% and 23% with the treatments of LED_B and LED_{3B:1R}, respectively. No difference was found among plants treated with 4 h and 6 h of supplemental lighting of either LED_B or ELB in plants applied with 376 kg N · ha⁻¹. The relationship between photosynthetic rate (i.e., net CO₂ flux) and nitrate content was curvilinear, in which nitrate content was decreased curvilinearly with the increasing of photosynthetic rates in leaves of lettuce. At photosynthetic rate greater than 4.5 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹, nitrate content was maintained in less than 3,000 mg kg⁻¹ (3,000 ppm). Accordingly, this study demonstrated the effects of nitrogen fertilization on nitrate content and growth performance in lettuce. To further reduce nitrate content at time of harvesting, a supplemental lighting by artificial light sources for 4 h prior to harvest would be as effective as that of 6 h to save energy cost.

Key words: Nitrate, Lettuce (*Lactuca sativa*), Light environment, Light-emitting diodes (LEDs), Nitrogen fertilization.

Received: May 4, 2021; Accepted: August 17, 2021.

* Corresponding author, e-mail: cmyang0616@gmail.com

¹ Associate Research Fellow, Division of Crop Science, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.

² Assistant Research Fellow, Division of Crop Science, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.

³ Former Research Fellow and Division Director, Division of Crop Science, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.

⁴ Associate Professor, Department of Post Modern Agriculture, Ming Dao University, Changhua County, Taiwan, ROC.

