

5-硝基愈创木酚钠对韭菜叶片 硝酸还原同化的影响

李红利¹, 王俊玲², 薛占军¹, 王 梅¹, 高志奎^{1*}

(1 河北农业大学 园艺学院, 河北保定 071001; 2 河北农业大学 生命科学学院, 河北保定 071001)

摘 要:以3年生‘大金钩韭菜’为供试材料,采用 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的5-硝基愈创木酚钠(5-NGS)进行叶面喷施处理,分析对韭菜叶片硝酸盐含量、氮代谢关键酶活性、氨基酸组分、营养品质及叶绿素荧光动力学活性的影响,以探索5-NGS对促进 NO_3^- 还原同化的相关机制。结果表明:(1)5-NGS处理使韭菜叶片硝酸还原酶(NR)、谷氨酰胺合成酶(GS)、谷氨酸草酰乙酸转氨酶(GOT)和谷氨酸丙酮酸转氨酶(GPT)等氮代谢关键酶活性分别比对照显著提高58.7%、26.5%、179.4%、131.3%,硝酸盐含量显著降低26.1%。(2)5-NGS处理韭菜叶片的可溶性蛋白、维生素C分别显著提高49.5%、25.0%,氨基酸总量及其组分含量也显著增加,但可溶性糖含量显著降低。(3)5-NGS处理使韭菜叶片的PSⅡ电子传递速率显著增加11.3%,其生物量、叶面积、叶绿素含量等也显著增加。研究认为,韭菜叶面喷施5-NGS使得末端的蛋白质合成活性增强,拉动了游离氨基酸向蛋白质的转化,同时调动了转氨作用的积极协同配合,还可能调动碳同化产物的协同配合,促进了前端硝态氮转化为谷氨酸和衍生氨基酸,从而降低了韭菜叶片的 NO_3^- 累积,并改善营养品质,促进了植株生长。

关键词:5-硝基愈创木酚钠;韭菜;硝酸盐累积;氨基酸组分

中图分类号:Q945.1;Q945.78

文献标志码:A

Effects of 5-Nitroguaiacol Sodium on Nitrate Reduction and Assimilation in the Leaves of Chinese Chive

LI Hongli¹, WANG Junling², XUE Zhanjun¹, WANG Mei¹, GAO Zhikui^{1*}

(1 College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China; 2 College of Life Sciences, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China)

Abstract: The 5-nitroguaiacol sodium (5-NGS, $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) was applied to spray 10cm height of Chinese chives (cv. Dajingou). The nitrate content, key enzyme activities of nitrogen metabolism, amino acid components, nutritional quality and chlorophyll a fluorescence were measured and compared with control treatment (spraying water) at 12 d. The results showed that: (1) 5-NGS significantly enhanced activities of nitrate reductase (NR), glutamine synthetase (GS), glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), glutamate pyruvate transaminase (GPT) by 58.7%, 26.5%, 179.4%, 131.3%, and the nitrate content reduction by 26.1%. (2) 5-NGS significantly enhanced soluble protein, Vc contents by 49.5%, 25.0%, respectively. Significantly higher contents of 15 kinds of amino acids were also observed in 5-NGS-treated leaf than that in control leaf of Chinese chives. However, soluble sugar content in 5-NGS-treated leaf was lower than that in control leaf. (3) 5-NGS significantly enhanced biomass, leaf area, chlorophyll content, and increased electron

收稿日期: 2014-06-29; 修改稿收到日期: 2014-08-05

基金项目: 河北省科技支撑计划(11220701D); 河北省自然科学基金(C2013204076)

作者简介: 李红利(1992—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事蔬菜质量安全与营养研究。E-mail: 583513032@qq.com

* 通信作者: 高志奎, 教授, 博士生导师, 主要从事蔬菜光合生理研究。E-mail: gaozhikui2005@163.com

transport rate(ETR) by 11.3%. Thus, the ability of 5-NGS to increase nitrate reductase(e. g. NR) and higher nitrogen assimilation enzyme(e. g. GS, GOT, GPT) activities might be an important attribution linked to low nitrate accumulation in leaves of Chinese chive.

Key words: 5-NGS; Chinese chive; nitrate accumulation; amino acid composition

硝酸盐是一种天然化合物,是氮循环的一部分,在自然界中广泛存在。人体摄入的硝酸盐主要来自叶菜类蔬菜^[1]。早期研究发现,摄入硝酸盐含量较高的蔬菜会增加人们患肠胃癌、高铁血红蛋白症等疾病^[2-3]。因此,蔬菜中硝酸盐含量高低被视为评价蔬菜品质的一个重要指标^[4]。普遍认为,造成蔬菜硝酸盐累积差异的主要原因是遗传因素,但根本原因是蔬菜体内 NO_3^- 的吸收量大于还原同化量^[5]。因此,降低叶菜类蔬菜硝酸盐含量有效途径,一是控制植物根系对硝态氮的吸收量,如控制肥料数量和种类的配方施肥技术^[6]、减控氮肥施用量,此类研究和应用已获得显著成效;二是加速硝酸盐在植物体内的还原,通常以加强氮代谢酶活性和改善植物营养品质而达到这一目的^[7]。近年,本实验室以促进 NO_3^- 还原同化为切入点,基于 C-N 代谢、N-S 代谢、C-N-S 代谢之间偶联平衡关系,进行了有效地降低 NO_3^- 累积措施研究,并取得了显著成效^[8-10]。

复硝酚钠是一种新型植物生长调节剂,它能调节植物体内核酸、蛋白质和酶的合成,促进植物体内原生质流动,增强细胞活力,对促进植物生根、生长和结果^[11-14]具有显著功效。本实验室采用复硝酚钠处理韭菜叶片取得了显著降低硝酸盐累积的效应^[15]。并且进一步试验发现,在复硝酚钠组分中,5-硝基愈创木酚钠(5-NGS)是降低硝酸盐累积的主要活性成分。因此,本研究进行了 5-NGS 对硝酸盐还原同化及氨基酸代谢调控途径效应的研究探索。

本试验以韭菜为试材,以促进硝酸盐还原同化为切入点,在复硝酚钠组分(邻硝基苯酚钠、对硝基苯酚钠和 5-硝基愈创木酚钠)降低韭菜硝酸盐含量的前期试验基础上,进行叶面喷洒 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 5-NGS 处理,通过韭菜叶片硝酸盐含量、氮代谢关键酶活性、氨基酸组分、营养物质及叶绿素荧光动力学活性分析,探索 5-NGS 对促进 NO_3^- 还原同化的相关机制,为农产品品质提高及氮素高效利用运筹提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料与处理

试材为 3 年生‘大金沟韭菜’,试验于 2014 年 4

月在河北省保定市聂庄日光温室进行。试验地土质为潮褐土,基本理化性状为容重 $1.25 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ 、有机质 $12.45 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、全氮 $1.03 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、硝态氮 $9.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、全磷 $0.92 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、碱解氮 $75.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、速效钾 $175.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、速效磷 $22.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、pH 7.2。

2014 年 4 月 20 日上午,在前期试验的基础上选用 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 5-硝基愈创木酚钠(5-NGS)对前茬收割后第 16 天的韭菜叶面进行喷雾处理,以喷施清水为对照(CK),水剂总量 600 mL,每次处理重复 3 次,小区面积 5.0 m^2 。于处理后第 12 天上午选取长势一致的韭菜叶片进行采样测定。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 硝酸盐含量 参照李合生的方法^[16]。

1.2.2 氮代谢关键酶活性 硝酸还原酶(NR)活性参照李合生的方法进行^[16],谷氨酰胺合成酶(GS)活性参照陈煜等^[17]的方法测定,谷氨酸草酰乙酸转氨酶(GOT)和谷氨酸丙酮酸转氨酶(GPT)活性采用光度比色法测定^[18]。

1.2.3 营养品质 游离氨基酸含量采用水合茚三酮法测定,可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定,可溶性糖含量采用硫酸-蒽酮法测定,Vc 含量采用 2,6-二氯酚靛酚钠法测定^[19]。

1.2.4 氨基酸组分及含量 各处理随机选取 15 株韭菜叶片,测量鲜重,之后在 105°C 下杀青 30 min,再转移到 70°C 下烘干至恒重,测其干重,均取平均值。粉碎后用 biochrom 30+氨基酸自动分析仪进行测定;色谱条件:离子交换柱: $4.6 \text{ mm} \times 20 \text{ cm}$;柱温在 $20 \sim 90^\circ\text{C}$ 之间变化;可见光检测器:波长:570 nm、440 nm;流动相:柠檬酸和柠檬酸钠缓冲溶液;流动相流速:35 mL/h;茚三酮流速:25 mL/h;分析时间:50 min。

1.2.5 叶绿素荧光参数 采用德国 WALZ 公司生产的调制式荧光成像系统(MINI-IMAGINE-PAM)进行叶绿素荧光参数测定^[20]。韭菜叶片暗适应 20 min 后,在测量光(强度为 $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,脉冲频率为 1 Hz)下诱导产生初始荧光(F_0),随后用饱和脉冲光(强度为 $4800 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,脉冲光时间为 0.8 s)激发产生最大荧光(F_m)。当荧光

从最大值降到接近 F_0 水平时,用光化光(强度为 $150\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)诱导荧光动力学,并每隔 20 s 打开饱和脉冲光测光适应后的最大荧光(F_m')和最小荧光(F_0')。在每个材料测定光诱导动力学曲线后,从动力学曲线中导出所需要参数数据,进行统计分析。

1.3 数据处理

以上所有指标重复 3 次,试验数据采用 Excel 2003 软件整理和绘图,用 DPS 7.05 软件进行 Duncan's 多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 5-NGS 对韭菜叶片硝酸盐含量和氮代谢关键酶活性的影响

韭菜叶面喷施 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 5-NGS 后第 12 天,其叶片硝酸盐含量显著低于对照 26.1%;同时韭菜叶片氮代谢关键酶活性均显著高于对照(CK),且 NR、GS、GOT 和 GPT 活性增加幅度分别为 58.7%、26.5%、179.4%和 131.3%(表 1)。以上结果表明,5-NGS 处理显著增强了氮代谢关键酶活性,尤其是大幅度增强了转氨酶 GOT 和 GPT 活性,从而显著减少了韭菜叶片硝酸盐的累积。

2.2 5-NGS 对韭菜叶片氨基酸组分及含量的影响

植物体内的氨基酸是合成蛋白质的原料。将蛋白质进行酸水解后,测定其组分和含量对研究植物的氮素营养状况和氮代谢变化等均有重要意义^[21-23]。由表 2 可见,5-NGS 处理的韭菜叶片 16 种氨基酸组分含量均不同程度高于对照,但不同的氨基酸组分对 5-NGS 的响应程度不同。其中,各组分中以谷氨酸含量最高,蛋氨酸含量最低;与对照相比,5-NGS 处理后韭菜叶片蛋白质的酸水解氨基酸组分中,除了蛋氨酸含量增加幅度较小(7.2%)外,其它 15 种氨基酸均显著增加 30%以上,天冬氨酸、脯氨酸、丙氨酸、缬氨酸和丝氨酸 5 种氨基酸增加幅

度甚至达到 40%以上;另外,5-NGS 处理后韭菜叶片蛋白质的酸水解氨基酸总量也比对照显著增加了 38.1%。以上结果表明,5-NGS 处理均显著提高了韭菜叶片游离氨基酸各组分的含量和总量。

2.3 5-NGS 对韭菜叶片营养物质含量的影响

叶面喷施 5-NGS 处理后,韭菜叶片的游离氨基酸、可溶性蛋白和 Vc 含量均显著高于对照 CK,且增加幅度分别为 14.9%、49.5%和 25.0%(表 3);而可溶性糖含量在喷施 5-NGS 后显著低于对照 50.6%。以上结果说明,5-NGS 处理能从整体上明显提高韭菜的营养品质。

表 2 5-NGS 对韭菜叶片氨基酸组分及含量的影响

Table 2 Effects of 5-NGS on amino acid composition and contents in the leaves of Chinese chive

氨基酸组分 Amino acid composition	组分含量 Composition content		相对增加率 Increasing rate/%
	CK	5-NGS	
谷氨酸 Glutamic	1.784b	2.365a	32.5
组氨酸 Histidine	0.215b	0.291a	35.3
精氨酸 Argine	0.654b	0.877a	34.1
脯氨酸 Proline	0.708b	1.007a	42.3
天冬氨酸 Aspartic	1.169b	1.724a	47.5
苏氨酸 Threonine	0.555b	0.757a	36.3
赖氨酸 Lysine	0.732b	1.014a	38.5
蛋氨酸 Methionine	0.149a	0.159a	7.2
异亮氨酸 Ileucine	0.531b	0.733a	37.5
丙氨酸 Alanine	0.835b	1.194a	43.1
缬氨酸 Valine	0.641b	0.942a	46.9
亮氨酸 Leucine	0.966b	1.291a	34.8
丝氨酸 Serine	0.589b	0.846a	43.7
甘氨酸 Glycine	0.646b	0.878a	36.0
酪氨酸 Tyrosine	0.281b	0.375a	33.5
苯丙氨酸 Phenylalanine	0.683b	0.923a	35.2
总量 Total	11.130b	15.373a	38.1

注:每行不同小写字母表示处理和对照间在 0.05 水平存在显著差异。

Note: Different letters in each line indicate significant difference between treatment and control at 0.05 level.

表 1 5-NGS 对韭菜叶片硝酸盐含量和几种酶活性的影响

Table 1 Effects of 5-NGS on the nitrate content, and several enzyme activities in the leaves of Chinese chive

处理 Treatment	硝酸盐含量 Nitrate content /(mg·kg ⁻¹)	NR 活性 NR activity /(μg·g ⁻¹ ·h ⁻¹)	GS 活性 GS activity /(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	GOT 活性 GOT activity /(μmol·g ⁻¹ ·h ⁻¹)	GPT 活性 GPT activity /(μmol·g ⁻¹ ·h ⁻¹)
5-NGS	927.22b	7.31a	3.25a	19.70a	9.64a
对照 CK	1 253.00a	4.61b	2.57b	7.05b	4.17b

注:NR, 硝酸还原酶;GS, 谷氨酰胺合成酶;GOT, 谷氨酸草酰乙酸转氨酶;GPT, 谷氨酸丙酮酸转氨酶;同列不同小写字母表示处理与对照之间在 0.05 水平差异显著;表 3 同。

Note: NR, Nitrate reductase; GS, Glufaminc synthetasc; GOT, Glutamate oxaloacetate transaminase; GPT, Glutamate pyruvate transaminase; Different letters in each column indicate significant difference between treatment and control at 0.05 level. Table 3 same as this.

表 3 5-NGS 对韭菜叶片营养物质含量的影响

Table 3 Effects of 5-NGS on the nutritional substance contents in the leaves of Chinese chive

处理 Treatment	可溶性糖含量 Soluble sugar content (mg · g ⁻¹)	游离氨基酸含量 Amino acids content (mg · g ⁻¹)	可溶性蛋白质含量 Soluble protein content (mg · g ⁻¹)	Vc 含量 Vitamin C content (mg · g ⁻¹)
5-NGS	5.26b	0.53a	7.50a	5.21a
对照 CK	10.65a	0.46b	5.02b	4.17b

表 4 5-NGS 对韭菜生长及叶绿素荧光动力学活性的影响

Table 4 Effects of 5-NGS on growth and chlorophyll fluorescence kinetic activity in the leaves of Chinese chive

指标 Index	处理 Treatment	
	CK	5-NGS
鲜重 Fresh weight/g	4.81b	6.80a
干重 Dry weight/g	0.37b	0.58a
干物率 Dry matter rate/%	7.67b	8.54a
最大叶面积 Leaf area/(cm ²)	25.31b	31.84a
叶绿素含量 Chlorophyll content/(mg · g ⁻¹)	1.15b	1.49a
类胡萝卜素含量 Carotenoid content/(mg · g ⁻¹)	0.35a	0.39a
PSⅡ电子传递速率 ETR/(μmol · m ⁻² · s ⁻¹)	41.47b	46.16a

注:同行不同小写字母表示处理与对照之间在 0.05 水平差异显著。
Note:Different letters in each line indicate significant difference between treatment and control at 0.05 level.

2.4 5-NGS 对韭菜叶片生长及叶绿素荧光动力学活性的影响

韭菜叶片喷施 5-NGS 后,明显促进了韭菜的生长,并提高了光合色素含量和叶绿素荧光动力学活性(表 4)。其中,韭菜叶片鲜重、干重、干物率、最大叶面积和叶绿素含量增加效果最显著,增加幅度分别为 41.4%、57.4%、11.3%、25.8%和 15.5%;同时,叶片 PSⅡ电子传递速率与对照相比显著增加 11.3%。可见,5-NGS 处理能促进韭菜叶片的能量转化,为韭菜的生长提供了更多的化学能,进而加速了叶片内部的物质代谢过程,从而促进了植株生长。

3 讨 论

在植物氮素代谢途径中,硝酸盐的还原同化需经过 NO₃⁻→NO₂⁻→NH₄⁺→谷氨酰胺→谷氨酸→衍生氨基酸→蛋白质的连续过程^[24]。因此,影响硝酸盐还原同化的因素主要有硝酸还原酶(NR)、氨初级同化酶(GS)和转氨酶(GOT、GPT)的数量与活性,以及呼吸作用和光合作用提供的还原能力(NADH/NADPH/Fd)、ATP 和 C-骨架。

其中,NR 既是限速关键酶,又是一个调节酶,调控着整个氮素还原同化进程^[25]。NR 的活性不仅易受底物(细胞质内硝酸盐)浓度^[26]的影响,还与中

端(NH₄⁺→谷氨酰胺→谷氨酸)的初级同化活性和末端(谷氨酸→衍生氨基酸→蛋白质)的次级同化活性相关联。本试验对韭菜叶面喷施 5-NGS 处理后,韭菜叶片 NR 活性与对照相比显著增加 58.7%;同时,氮素初级同化动力泵 GS 提高了 26.5%,尤其是氮素次级同化动力泵 GOT 和 GPT 活性分别大幅度提高了 179.4%和 131.3%,反映出 5-NGS 处理能促进硝酸盐的还原和同化,特别是能调动转氨作用的积极协同配合,从而促进了硝酸盐转化合成氨基酸和蛋白质,将液泡中积累的无效氮素转化成有效氮素以降低硝酸盐的累积。

氨基酸的合成直接或间接影响着植物生长发育的各个方面,并作用于氮源的还原同化和源-库转运^[27]。可溶性蛋白与游离氨基酸 P/A 比值在一定程度上可以反映植株体内氨基酸与蛋白质的周转情况^[28]。本研究发现,5-NGS 处理后韭菜叶片转氨酶 GOT 和 GPT 活性分别大幅度提高了 179.4%和 131.3%,致使游离氨基酸含量明显增加 14.9%,尤其是可溶性蛋白含量和蛋白质水解氨基酸组分含量显著增加了 49.5%和 38.1%。另外,可溶性蛋白与游离氨基酸的比值 P/A 也显著提高了 30.2%。这表明,在氮素还原同化途径中,末端的蛋白质合成活性增强,促进了游离氨基酸向蛋白质的转化和再分配,不仅拉动了氮代谢的中后端的氮同化次级动力泵(GOT 和 GPT)的转氨作用合成更多的衍生氨基酸,而且拉动了中前端的氮同化初级动力泵(GS)活性合成更多的谷氨酸。这与李林妍等^[29]关于韭菜硝酸盐还原同化效应的研究结果一致。

5-硝基愈创木酚钠(5-NGS)是一种强力细胞复活剂,其价值高,作用效果好,调节能力强。据文献报道,5-NGS 对植物生根、生长、生殖及结果等发育阶段均有不同程度的促进作用^[11-14],并能迅速渗入植物体内,增加光合作用,促进养分吸收,对提高作物品质量和产量具有明显功效^[30]。本试验结果表明,韭菜经 5-NGS 处理后,叶片的鲜重、干重和干物率均显著高于对照;同时,5-NGS 处理还提高了韭菜叶片的叶绿素含量、PSⅡ电子传递能力。叶绿素荧

光动力学活性的增加,一方面有利于光合碳吸收,为氮代谢的高效利用提供碳骨架;另一方面有利于为氮代谢的高效运转提供能量驱动力,促进了硝酸盐的还原同化。

氮素还原同化过程还需要碳代谢产物(α -酮戊二酸等系列底物)的协同配合^[8,31]。于彩莲等^[32]观察到 5-NGS 处理显著降低了大豆种子萌发试验过程中可溶性糖含量。李红利等^[15]在复硝酚钠对韭菜生长及硝酸盐还原同化效应的研究中也观察到,复硝酚钠处理后韭菜叶片可溶性糖含量减少,而干物质累积增加,本研究结果与之相似。究其原因可能与同化产物作为碳骨架用于合成更多的氨基酸和蛋白质有关。

另外,氨基酸除了在蛋白质合成中起着众所周知的组分作用外,在植物的初级和次生代谢物中也发挥了重要的功能^[27]。本研究发现,蛋白质的酸水解氨基酸中以谷氨酸最高,5-NGS 处理大幅度增加了天冬氨酸、脯氨酸、丙氨酸、缬氨酸和丝氨酸 5 种氨基酸的含量。其中,谷氨酸、谷氨酰胺、天冬氨酸、

天冬酰胺为 N-转运氨基酸^[33]。谷氨酸是生物体内氮代谢的基本氨基酸之一,在代谢上具有重要意义。谷氨酸与氨结合生成谷氨酰胺,进而合成蛋白质,并且继谷氨酸转氨作用后形成其衍生物天冬氨酸是调控植物根部 NO_3^- 吸收的信号分子,能够抑制 NO_3^- 吸收^[34];丝氨酸被认为是一种光呼吸氨基酸,其含量会影响光呼吸速率,而硝酸还原酶的活性也与光呼吸有关^[35]。然而,目前关于这些氨基酸对硝酸盐还原同化及与其它代谢组分的关系还有待于进一步研究。

综上所述,韭菜叶面喷施 5-NGS 使得末端的蛋白质合成活性增强,拉动了游离氨基酸向蛋白质的转化,不仅能够显著提高氮还原动力泵(NR)和氮同化初级动力泵(GS)活性,而且能够同时调动氮同化次级动力泵(GOT 和 GPT)的转氨作用积极协同配合,还可能调动碳同化产物的积极协同配合,促进了前端硝态氮转化为谷氨酸和衍生氨基酸,从而降低了韭菜叶片 NO_3^- 累积,提高了营养品质,促进了韭菜的生长。

参考文献:

- [1] SANTAMARIA P, ELIA A, SERIO F. Fertilization strategies for lowering nitrate content in leafy vegetables: Chicory and rocket salad cases[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1998, **21**(9): 1 791–1 803.
- [2] BARTSCH H, OHSHIMA H, PIGNATELLI B. Inhibitors of endogenous nitrosation; mechanisms and implications in human cancer prevention[J]. *Mutation Research*, 1988, **202**: 307–324.
- [3] SLOB W, VAN DER BERG R, VAN VEEN M P. A statistical exposure model applied to nitrate intake in the dutch population[M]// Health aspects of nitrates and its metabolites. Strasbourg: Council of Europe Press, 1995: 75–82.
- [4] DU SH T(都韶婷), ZHANG Y S(章永松), LIN X Y(林咸永), *et al.* Accumulation of nitrate in vegetables and its possible implications to human health[J]. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2007, **40**(9): 2 007–2 014(in Chinese).
- [5] LIU J P(刘继培), ZHAO T K(赵同科), AN ZH ZH(安志装), *et al.* The mechanisms of the nitrate accumulation, factors and control measures of the vegetables[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2008, **24**(3): 95–107(in Chinese).
- [6] WANG ZH Y(王正银), LI H H(李会合), LI B ZH(李宝珍), *et al.* Influence of nitrogen rates, soil fertility and harvest time on nitrate in Chinese cabbage[J]. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2003, **36**(9): 1 057–1 064(in Chinese).
- [7] 李亦松. 氮肥对绿叶类蔬菜硝酸盐累积的影响及机理的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2006.
- [8] XU G H(徐广辉), GAO ZH K(高志奎), LI X L(李祥莉), *et al.* Effects of spraying leaves with propanetriol on nitrate content in Chinese chive[J]. *Journal of Hebei Agri. Uni.* (河北农业大学学报), 2007, **31**(1): 13–16(in Chinese).
- [9] HUO J(霍捷), WANG J L(王俊玲), XUE ZH J(薛占军), *et al.* Effects of sodium bisulfite on nitrate reduction and photosynthetic capacity in the leaves of non-heading Chinese cabbage[J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报), 2012, **39**(4): 719–726(in Chinese).
- [10] CAO Y B(曹岩坡), GAO ZH K(高志奎), HE J P(何俊萍), *et al.* Effects of exogenous salicylic acid on nitrate accumulation and reduction and assimilation in the leaves of Chinese chive[J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报), 2009, **36**(3): 415–420(in Chinese).
- [11] CARLUCCI M V, CASTRO P R C. Effects of atonik on fruiting of ‘miguelpereira’ tomato plants[J]. *An. Esc. Super Agric.*, 1982, **39**(2): 605–614.
- [12] AL-BADAWAY A A, ABDALLA N M, RIZK G A, *et al.* Influences of atonik and atonik-G treatments on growth and volatile oil content of *Matricaria chamomilla*[J]. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Am.*, 1984, (11): 220–223.
- [13] SINGH G, SHARMA B. Effects of growth regulators on groundnut productivity[J]. *Indian J. Ecol.*, 1982, **9**(2): 281–285.
- [14] MIRANDA-STALDER S H G, APPEZZATO-DA G B, CASTRO P R C. Effects of plant growth regulators on the morphology and yield

- of sequioa straw berry[J]. *An Esc Super Agric.*, 1990, **47**(2):317—334.
- [15] LI H L(李红利), WANG J L(王俊玲), XUE ZH J(薛占军), *et al.* Effects of compound sodium nitrophenolate on growth and nitrate reduction and assimilation in the leaves of Chinese chive[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2014, **34**(4):740—745(in Chinese).
- [16] 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—137.
- [17] CHEN Y(陈煜), ZHU B G(朱保葛), ZHANG J(张敬), *et al.* Effects of different nitrogens on activities of nitrate reductase, glutamine synthetase and seed protein contents in soybean cultivars[J]. *Soybean Science* (大豆科学), 2004, **23**(2):143—146(in Chinese).
- [18] WU L H(吴良欢), JIANG SH H(蒋式洪), TAO Q N(陶勤楠). Effects and methods of the activity colorimetric determination of plant transaminase (GOT and GPT)[J]. *Chinese Journal of Soil Science* (土壤通报), 1998, **29**(3):136—138(in Chinese).
- [19] 西北农业大学植物生理生化教研组. 植物生理学实验指导[M]. 西安:陕西科学技术出版社. 1986:103—105, 42—44, 35—36.
- [20] WANG J L(王俊玲), GAO ZH K(高志奎), HUO J(霍捷). Effects of exogenous salicylic acid on nitrate accumulation and PS II activity under different light intensity in the leaves of Chinese chive[J]. *Acta Agric. Boreali-Sin.* (华北农学报), 2011, **26**(1):47—50(in Chinese).
- [21] ZHOU B Y(周碧燕), CHEN J N(陈杰农), JI Z L(季作梁), *et al.* Changes of superoxide dismutase activity and water-soluble protein content in bananas during winter[J]. *Journal of Fruit Science* (果树学报), 1999, **16**(3):192—196(in Chinese).
- [22] WANG L X(王丽雪), LI R F(李荣富), ZHANG F R(张福仁), *et al.* Changes of total protein and peroxidase activity in grape shoots, and their relationships to cold resistance[J]. *Journal of Inner Mongolia Institute of Agriculture and Animal Husbandry* (内蒙古农业大学学报), 1996, (1):45—50(in Chinese).
- [23] WANG SH J(王淑杰), WANG J M(王家明), LI Y D(李亚东), *et al.* The relationship between amino acid variety, content and cold resistance of grapevine[J]. *Viticulture & Enology* (葡萄栽培与酿酒), 1998, (1):3—5(in Chinese).
- [24] BOB B B, WILHELM G, RUSSELL L J. Biochemistry & Molecular Biology of Plants[M]. American Society of Plant Physiologists, 2000:636—687.
- [25] MACKOWN C T, JAKSON W A, VOLK R G. Partitioning of previously accumulated nitrate to translocation, reduction, and efflux in corn roots[J]. *Plant*, 1983, (157):824.
- [26] LU F G(卢凤刚), CHEN G L(陈贵林), LÜ G Y(吕桂云). Effects of different nitrogen concentrations on yield and quality of Chinese chive[J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报), 2005, **32**(1):131—133(in Chinese).
- [27] BUCHANAN B B, GRUISSEM W, JONES R L. Biochemistry and molecular biology of plants[M]. Beijing:Science Press, 2002.
- [28] YU SH(于莎), WANG Y H(王友华), ZHOU ZH G(周治国), *et al.* Effect of shade on nitrogen metabolism and its mechanism in cotton plant at flowering and boll-forming stage[J]. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 2011, **37**(10):1 879—1 887(in Chinese).
- [29] LI L Y(李林妍), WANG J L(王俊玲), WANG M(王梅), *et al.* Effects of exogenous salicylic acid on nitrate reduction and assimilation in Chinese chive under weak light[J]. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2012, **45**(20):4 216—4 223(in Chinese).
- [30] CHENG M J(程美洁), WANG X Q(王训迺), ZHOU C R(周彩荣). Review on the synthesis of sodium 5-nitroguaiacolate[J]. *Hebei Chemical* (河北化工), 2007, **30**(10):6—8(in Chinese).
- [31] LIU H ZH(刘洪展), ZHENG F R(郑风荣), ZHAO SH J(赵世杰). Effects of exogenous nitrogen nutrition of roots on photosynthetic characteristics of leaves in wheat under heat stress[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas* (干旱地区农业研究), 2006, **4**(2):52—56(in Chinese).
- [32] YU C L(于彩莲), LIU B(刘波), YAN H(燕红), *et al.* Effects of sodium nitrophenolate and its composition on germination of soybean seed[J]. *Soybean Science*, 2010, **29**(3):440—443(in Chinese).
- [33] 翟礼嘉, 顾红雅, 白书农, 等. 植物生物化学与分子生物学[M]. 北京:科学出版社, 2004:290—333.
- [34] MILLER A J, FAN X R, SHEN Q R, *et al.* Amino acids and nitrate as signals for the regulation of nitrogen acquisition[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, **59**(1):111—119.
- [35] PENG X X(彭新湘), LI M Q(李明启). Effects of photorespiratory metabolites glycolate, glyoxylate and oxalate on nitrate reduction in tobacco leaf[J]. *Acta Phytophysiologica Sinica* (植物生理学报), 1987, **13**(2):182—189(in Chinese).