

营养液中添加氯化钠降低硫浓度对韭菜 硝酸盐累积的减控效应

王俊玲¹, 王梅², 高露³, 高爽⁴, 薛占军³, 武占会⁵, 高志奎^{3*}

[1 河北农业大学生命科学学院, 河北保定 071001; 2 河北农业大学科教兴农中心, 河北保定 071001;

3 河北农业大学园艺学院, 河北保定 071001; 4 河北农业大学食品科技学院, 河北保定 071001;

5 北京市农林科学院蔬菜研究中心, 农业部都市农业(北方)重点实验室, 北京 100097]

摘要:【目的】韭菜易于吸收和累积硝酸盐, 研究营养液中添加氯化钠(NaCl)和降低硫含量减少韭菜硝酸盐累积的效果, 并从氮代谢途径初步探讨其减少硝酸盐累积的机理。【方法】采用新型韭菜专用营养液架床栽培系统进行了韭菜水培试验。在营养液中添加NaCl 12 mmol/L的同时, 硫浓度设定为3、2、1和0 mmol/L 4个水平, 分别用NaCl+S₃, NaCl+S₂, NaCl+S₁和NaCl+S₀表示。韭菜生长30天后, 取样分析了不同硫水平下韭菜中的硝酸盐含量及主要氮代谢途径中的氨基酸含量。【结果】在营养液硫供应水平3 mmol/L下, 与营养液中不添加氯化钠处理(CK)相比, NaCl+S₃处理的韭菜硝酸盐累积降低了32.60%, 地上部干重、可溶性糖和可溶性蛋白质含量、根系活力显著增加; NaCl+S₁处理的韭菜硝酸盐累积降低了53.30%, 地上部干重、可溶性糖和可溶性蛋白质含量、根系活力显著增加。NaCl+S₁处理较NaCl+S₃处理更有利于降低硝酸盐含量。韭菜地上部的全氮含量无显著变化(NaCl+S₃处理)或略有增加(NaCl+S₁处理), 表明添加低浓度氯化钠并未限制氮素吸收。NaCl+S₃和NaCl+S₁处理下, 硝态氮还原活性(硝酸还原酶NR)和转氨活性(谷氨酸草酰乙酸转氨酶GOT、谷氨酸丙氨酸转氨酶GPT)增加, 尤其是初级同化活性(谷氨酰胺合成酶GS)分别大幅增加了43.57%和71.43%。NaCl+S₃和NaCl+S₁处理下, 丝氨酸途径的游离氨基酸代谢和天冬氨酸途径的蛋白质合成得到增强, 韭菜的游离氨基酸总量基本保持不变或略有增加, 而蛋白质水解氨基酸总量显著增加。【结论】韭菜专用营养液中添加NaCl 12 mmol/L并将硫浓度降低到1 mmol/L, 可显著提高根系和氮代谢关键酶活性, 在一定程度上改变游离氨基酸代谢途径和蛋白质合成途径, 进而在显著增加韭菜干物质的同时, 大大降低硝酸盐累积。

关键词: 韭菜; 营养液架床栽培; 硝酸盐累积; 氨基酸代谢途径

Decrement of nitrate accumulation in Chinese chives through adding NaCl and reducing SO₄²⁻ concentration in the nutrient solution

WANG Jun-ling¹, WANG Mei², GAO Lu³, GAO Shuang⁴, XUE Zhan-jun³, WU Zhan-hui⁵, GAO Zhi-kui^{3*}

[1 College of Life Sciences, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China; 2 Agricultural Center, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China; 3 College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China; 4 College of Food Science and Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China;

5 Beijing Vegetable Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Science/Key Laboratory of Urban

Agriculture (North), Ministry of Agriculture, Beijing 100097, China]

Abstract: 【Objectives】 Chinese chives are easy to accumulate NO₃⁻-N, so we tried to reduce the NO₃⁻-N accumulation through adding sodium chloride (NaCl) and reducing the SO₄²⁻ concentration, and studied the mechanism of the nitrogen metabolic pathway. 【Methods】 Trellis growing system was used in a hydroponic experiment of Chinese chive. A specific nutrient solution was used as control (containing SO₄²⁻ 3 mmol/L), and NaCl of 12 mmol/L was added into the solution, SO₄²⁻ concentration of 3, 2, 1 and 0 mmol/L were prepared for

收稿日期: 2019-10-11 接受日期: 2020-02-24

基金项目: 农业关键共性技术攻关专项(18226928D)。

联系方式: 王俊玲 E-mail: wangjunling2001@163.com; * 通信作者 高志奎 E-mail: gaozhikui2005@163.com

treatments of NaCl+S₃, NaCl+S₂, NaCl+S₁ and NaCl+S₀. The Chinese chives were treated for 30 days before sampled for measurement of N, NO₃⁻ and free amino acid contents, and some N-metabolic enzyme activities.

【 Results 】 Compared with CK, NaCl+S₃ remarkably decreased nitrate content by 32.60%, increased aboveground dry weight, nutrition quality and root activity of Chinese chives ($P < 0.05$). Reducing SO₄²⁻ concentration to 1 mmol/L (NaCl+S₁) decreased nitrate by 53.30% and increased significantly NaCl+S₃ did in the aboveground dry weight, nutrition quality and root activity. The activities of nitrate reductase (NR) and transaminase (GOT, GPT) were significantly increased, and those of glutamine synthetase (GS) were increased by such an amazing range of 43.57% and 71.43% under NaCl+S₃ and NaCl+S₁ treatments. The NaCl+S₃ and NaCl+S₁ treatments led to the improved serine pathway for free amino acid metabolism and the aspartic pathway for protein synthesis. As a result, the total free amino acid content remained basically unchanged or slightly increased, while the total amino acid hydrolyzed by protein was significantly increased. **【 Conclusions 】** Adding 12 mmol/L of NaCl and reducing the SO₄²⁻ concentration from 3 mmol/L to 1 mmol/L will stimulate greatly the root activity and the activities of key nitrogen metabolism enzymes, and lead to efficient free amino acid metabolic pathway and the protein synthetic pathway, as a result, increase the dry matter accumulation and nutrition quality of Chinese chives, and reduce nitrate accumulation in Chinese chive.

Key words: Chinese chive; hydroponic experiment with trellis growing system; nitrate accumulation; amino acid metabolism

叶菜类蔬菜易于累积硝酸盐(NO₃⁻), 为了追求高产, 采用化学肥料尤其是高氮供应进行土壤栽培的韭菜会呈现出较高的NO₃⁻累积(1400~2000 mg/kg), 对人体健康有潜在威胁^[1-3]。采用新型韭菜专用营养液架床栽培系统时, 即使中低氮供应(8~12 mmol/L)下, 使用营养液栽培韭菜的NO₃⁻累积(2600~3000 mg/kg)污染问题依然严重^[4-5], 迫切需要研究解决高产低NO₃⁻积累的技术措施。

一般认为, 植物体内NO₃⁻累积的原因是其吸收大于还原^[3,6]。常见的NO₃⁻累积减控措施是从源端限制硝态氮的供给量, 如限制氮肥的施用量^[7]、调节氮素形态及比例^[8-9]、使用硝化抑制剂^[10]等。筛选硝酸盐低亲和型的基因型控制硝态氮吸收的相关研究也有报道^[2,11]。本实验室以促进NO₃⁻还原同化为切入点, 探索出外施碳源、氨基酸、水杨酸及硫等有效降低NO₃⁻累积的措施, 尤其是硫降低硝酸盐累积的效果不仅涉及到硫的种类、施用方式和施用时期, 而且和氮的浓度有关^[3,12-13]。缺硫会引起生长量下降和NO₃⁻累积^[14]。有研究表明, 植物体内硫氮比值准确地维持在1:20, 硫素的同化基本与氮素的同化以及植物生长速率保持一致^[15]。生产上使用的韭菜专用营养液属于中低氮(12 mmol/L)高硫(3 mmol/L)配方, 其硫氮比值高达1:4, 远高于C₃植物体内适宜的硫氮比值, 适当降低营养液中硫的浓度对韭菜硝酸盐积累和生长的影响未见报道。

NaCl也被证实可以有效降低作物体内的硝酸盐含量, 如郑青松等^[16-17]观察到Cl⁻可降低番茄、向日葵

葵、菠菜、莴苣、甘蓝的硝酸盐累积^[18-19]。植物本身会通过改变氮代谢过程(氮代谢酶)来适应盐胁迫, 盐分会通过影响氮素同化途径来促进氮素还原^[20-21]。本实验室初步观察到, 低浓度NaCl(5~30 mmol/L)处理不仅可提高水培韭菜光合速率和可溶性固形物的含量, 还能显著降低韭菜硝酸盐的累积^[5], 但因离子浓度的增加导致营养液中电导率(EC)升高, 影响根系的生长。那么, 添加NaCl后, 保持营养液专用配方中氮、磷、钾、钙等离子浓度不变的前提下, 如何降低过量的硫调节营养液的离子浓度和硫氮比达到韭菜高产低硝酸盐累积有待研究。

本试验以营养液培韭菜为材料, 在前期获得12 mmol/L NaCl降低韭菜硝酸盐累积效果显著的基础上, 再基于植物体内氮硫同化代谢的平衡关系, 在减硫的同时采用营养液中添加NaCl处理, 分析韭菜叶片硝酸盐含量, 氮代谢相关酶活性、游离氨基酸和水解氨基酸组分含量的变化, 为研制高产低硝酸盐累积的韭菜营养液配方提供技术支持, 并探索其对韭菜硝酸盐累积的减控机理, 为挖掘积极有效型的蔬菜硝酸盐污染调控措施提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于2016年9月7日在北京市农林科学院蔬菜研究中心的玻璃连栋温室进行播种。试材为‘河南791’韭菜(6个月苗龄), 用新型韭菜专用营养液

架床栽培系统进行韭菜根株培养。架床培使用 72 孔无底栽培格盘 (54 cm × 28 cm), 每孔播种 4 粒。营养液为北京市农林科学院蔬菜研究中心栽培室课题组研发的韭菜专用型配方: Ca^{2+} 1 mmol/L、 K^+ 6 mmol/L、 NO_3^- 8 mmol/L、 NH_4^+ 4 mmol/L、 Mg^{2+} 2 mmol/L、 SO_4^{2-} 3 mmol/L、 PO_4^{3-} 2 mmol/L。

试验于 2017 年 9—10 月进行, 以韭菜专用营养液为对照 (CK), 在营养液中添加 NaCl 12 mmol/L, 将营养液中 SO_4^{2-} 浓度调至 3、2、1、0 mmol/L (S_3 、 S_2 、 S_1 、 S_0), CK 含 SO_4^{2-} 为 3 mmol/L, 共 5 个处理。

营养液 pH 控制在 6.0 ± 0.3 范围, 每 7 天调节一次, 并对营养液进行定期补充或更换。前茬韭菜收割后进行处理, 每个处理重复 4 次, 每一个 72 孔塑料无底格盘为 1 次重复, 每孔 3 株韭菜。在处理后第 30 天, 均随机取样 5 株, 4 次重复, 进行各项指标测定分析。

1.2 测定项目与方法

将植株置于烘箱中 105°C 下杀青 15 min, 然后在 75°C 下烘干至恒重, 并称量单株地上部干物质质量。然后用小型粉碎机 (北京金洋利科技发展有限公司, RT-25 型) 粉碎, 并过 0.20 mm 筛。一份经 TOPEX-40P 微波消解仪消解后, 使用凯氏定氮法测定^[22]全氮含量; 另一份使用液相色谱仪 (美国 Waters 公司, 2695 型) 测定水解氨基酸组分。

取新鲜韭菜地上部, 用打浆机处理为匀浆状态, 按比例稀释后使用液相色谱仪测定游离氨基酸

组分。采用水杨酸法^[22]测定硝酸盐含量; 采用硫酸-蒽酮比色法^[23]测定可溶性糖含量; 采用 2,6-二氯酚靛酚钠滴定法^[23]测定维生素 C 含量; 采用考马斯亮蓝 G-250 法^[23]测定可溶性蛋白质含量; 采用水合茚三酮法^[23]测定游离氨基酸含量。硝酸还原酶 (NR) 活性、谷氨酸草酰乙酸转氨酶 (GOT) 活性、谷氨酸丙氨酸转氨酶 (GPT) 活性、谷氨酰胺合成酶 (GS) 活性, 均采用试剂盒法测定。试验所需的试剂盒均购买于北京索莱宝科技有限公司。

剪取生长状态良好的植株根系, 先用自来水冲刷掉根系表面营养液, 然后用蒸馏水进行二次冲洗, 用滤纸把根系表面水分吸干, 电子天平称取 0.5 g, 采用 TTC 法^[22]测定根系活力。

1.3 数据处理

用软件 Excel 2010 将试验数据录入并处理、作图, 采用软件 SPSS Statistics17.0 对数据进行方差分析, 按照 Duncan's 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 营养液中添加 NaCl 减硫处理对韭菜干物质累积与硝酸盐含量的影响

与韭菜专用营养液 CK 相比, 加入 12 mmol/L NaCl 处理显著降低韭菜叶片中硝酸盐含量, 以 $\text{NaCl} + \text{S}_1$ 降低幅度最大, 比对照降低了 53.30%, $\text{NaCl} + \text{S}_3$ 显著降低了 32.60% (图 1-A)。

从图 1-B 可见, 加入 12 mmol/L NaCl 处理显著

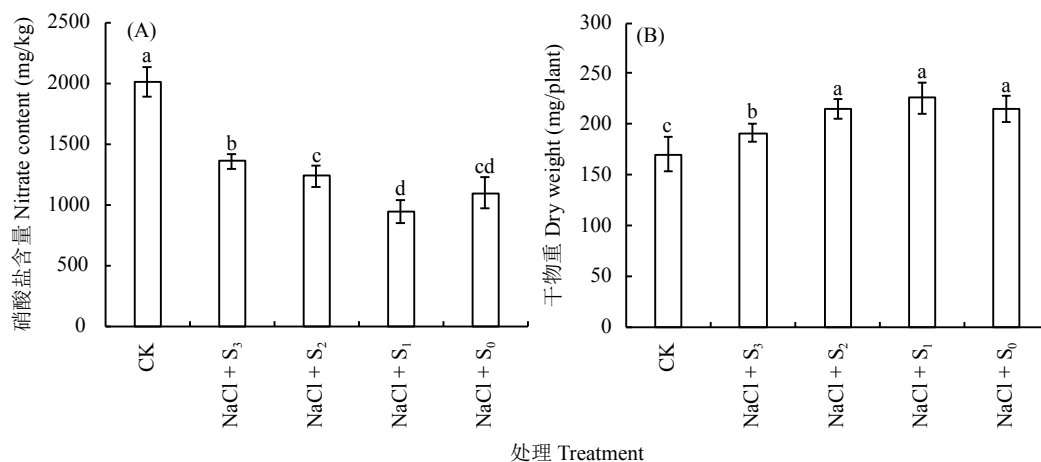


图 1 营养液中添加氯化钠减硫对韭菜硝酸盐含量和地上部干重的影响

Fig. 1 Nitrate content and shoot dry weight of Chinese chives under addition of NaCl and reduction of SO_4^{2-} concentration in the nutrient solution

[注 (Note): NaCl 添加量为 12 mmol/L, S_0 、 S_1 、 S_2 、 S_3 为将营养液中 SO_4^{2-} 浓度调至 0、1、2、3 mmol/L; 柱上不同字母表示处理间在 0.05 水平差异显著。 S_0 、 S_1 、 S_2 and S_3 represent the SO_4^{2-} concentration of 0, 1, 2 and 3 mmol/L, and the NaCl concentration is 12 mmol/L in the nutrient solution. Different small letters above the bars mean significant difference among treatments at the 0.05 level.]

提高了单株韭菜地上部干重, NaCl+S₃ 处理的韭菜地上部干重比 CK 提高了 12.42%, NaCl+S₂、NaCl+S₁ 和 NaCl+S₀ 处理比 CK 提高了 25.88%~32.62%, 比 NaCl+S₃ 增加了 12.0%~17.9%, 3 个减硫处理间差异不显著。

2.2 营养液中加入 NaCl 减硫处理对韭菜营养品质和风味的影响

从表 1 可见, 营养液中增加 NaCl 后, NaCl+S₃ 处理韭菜可溶性糖和可溶性蛋白质含量比 CK 分别提高了 11.77% 和 33.27%; NaCl+S₂、NaCl+S₁ 和 NaCl+S₀ 处理比 NaCl+S₃ 处理显著提高了韭菜可溶性糖含量; 加 NaCl 处理显著增加了韭菜的可溶性蛋白质含量, NaCl+S₁ 处理显著高于 NaCl+S₃ 处理, NaCl+S₂、NaCl+S₀ 处理与 NaCl+S₁ 处理差异未达到显著水平; 加氯化钠减硫处理对韭菜维生素 C 含量无显著影响。

2.3 营养液中加入 NaCl 减硫处理对韭菜游离氨基酸组分含量的影响

添加 NaCl 和减硫处理对各氮代谢途径中的游离氨基酸组分含量的影响不一(表 2)。与 CK 相比, 添加氯化钠显著增加了丝氨酸途径中的氨基酸含量, 4 个处理均显著增加了其中的丝氨酸含量, 而甘氨酸含量只有 NaCl+S₂ 处理相对于 CK、NaCl+S₃ 和 NaCl+S₀ 增加显著。表明丝氨酸途径中的丝氨酸受氯化钠的影响较为明显。莽草酸途径中, NaCl+S₀ 处理 3 个游离氨基酸组分的总量显著低于其他 4 个处理。其中苯丙氨酸含量不受处理影响; 添加氯化钠使酪氨酸含量显著降低, NaCl+S₀ 处理的酪氨酸含量更是显著低于含硫的 3 个处理; 而色氨酸含量在含硫的前提下, 增加氯化钠其含量显著增加。丙氨酸途径的 3 个氨基酸总量主要对硫浓度的变化较为敏

感, 过高(S₃)和过低(S₀)均降低该途径氨基酸含量。该途径 3 个氨基酸中, 缬氨酸和亮氨酸对 NaCl 和硫含量变化均不敏感, 而丙氨酸含量在 NaCl+S₂ 和 NaCl+S₁ 处理显著高于其它 3 个处理。天门冬氨酸途径 5 个氨基酸总量也是 NaCl+S₀ 处理显著低于 NaCl+S₂ 和 NaCl+S₁ 处理, 其中添加氯化钠处理的苏氨酸含量显著高于 CK, 而硫含量对其无显著影响; NaCl+S₂ 处理的异亮氨酸含量最高, 显著高于 CK 和 NaCl+S₀ 处理。谷氨酸途径有 5 个氨基酸组分, 其总含量 5 个处理间无显著差异, 组氨酸和谷氨酸含量不受处理影响, 精氨酸和脯氨酸含量均在 NaCl+S₀ 处理最低, 其中脯氨酸含量显著低于含硫的 4 个处理, 而鸟氨酸在 NaCl+S₂ 处理显著低于其他 4 个处理。

可以看出, 丝氨酸和苏氨酸含量受氯化钠的影响较为明显, 而受硫浓度的影响较小; 甘氨酸、色氨酸、丙氨酸、异亮氨酸、精氨酸和脯氨酸对硫的浓度较为敏感; 苯丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、天门冬氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、谷氨酸、组氨酸和鸟氨酸对 NaCl 和硫浓度均不敏感。

2.4 添加氯化钠减硫处理对韭菜水解氨基酸组分含量的影响

添加 NaCl 和减硫处理不同程度地影响了韭菜蛋白质的 5 个水解氨基酸途径的各组分及总含量(表 3)。营养液中添加 NaCl 的低浓度硫(S₁)和无硫(S₀)处理丝氨酸代谢途径总量和甘氨酸含量显著高于高浓度的硫处理(S₃、S₂), 而丝氨酸含量在 4 个硫酸根含量处理中只有 NaCl+S₂ 处理与 CK 比无显著变化, 其他 3 个处理均显著高于 CK, 表明添加 NaCl 并大幅度减少硫添加量主要通过调控丝氨酸和甘氨酸含量而影响丝氨酸途径。对于莽草酸途径而言, 与 CK 相比, 添加 NaCl 的含硫处理显著增加了莽草酸

表 1 不同处理下韭菜营养物质含量

Table 1 Nutrition quality of Chinese chives in different treatments

处理 Treatment	可溶性糖 Soluble sugar (%)	可溶性蛋白质 Soluble protein (%)	维生素 C Vc (mg/100 g)
CK	1.028 ± 0.011 d	4.081 ± 0.305 c	26.487 ± 1.878 a
NaCl+S ₃	1.149 ± 0.020 c	5.439 ± 0.310 b	27.809 ± 2.195 a
NaCl+S ₂	1.195 ± 0.021 b	6.046 ± 0.494 ab	20.809 ± 1.961 a
NaCl+S ₁	1.232 ± 0.037 b	7.019 ± 0.737 a	25.894 ± 3.921 a
NaCl+S ₀	1.327 ± 0.059 a	6.442 ± 0.187 ab	22.035 ± 4.745 a

注 (Note): NaCl 添加量为 12 mmol/L, S₀、S₁、S₂、S₃ 为将营养液中 SO₄²⁻ 浓度调至 0、1、2、3 mmol/L; 同列数据后不同小写字母表示处理间在 0.05 水平差异显著 S₀、S₁、S₂ and S₃ represent the SO₄²⁻ concentration of 0, 1, 2 and 3 mmol/L, and the NaCl concentration is 12 mmol/L in the nutrient solution. Values followed by different small letters mean significant difference among treatments at the 0.05 level.

表 2 添加氯化钠减硫处理下韭菜中主要氨基酸代谢途径中的游离氨基酸组含量 (mg/100 g)

Table 2 Contents of free amino acid components in the main metabolic pathway of Chinese chives under addition of NaCl and reduction of SO_4^{2-} concentration in the nutrient solution

氨基酸 Amino acid	CK	NaCl+S ₃	NaCl+S ₂	NaCl+S ₁	NaCl+S ₀
丝氨酸 Serine	15.15 ± 0.88 b	17.35 ± 1.02 a	17.96 ± 1.12 a	19.02 ± 1.66 a	18.44 ± 0.99 a
甘氨酸 Glycine	4.53 ± 0.24 b	4.65 ± 0.20 b	5.78 ± 0.19 a	5.17 ± 0.51 ab	4.41 ± 0.11 b
丝氨酸途径 Serine path	19.68 ± 0.91 b	22.01 ± 1.22 a	23.73 ± 1.02 a	24.18 ± 2.12 a	22.85 ± 0.90 a
酪氨酸 Tyrosine	12.55 ± 0.29 a	11.40 ± 0.67 b	10.94 ± 0.84 b	10.89 ± 0.67 b	9.99 ± 0.29 c
苯丙氨酸 Phenylalanine	31.24 ± 0.43 a	31.40 ± 2.64 a	31.95 ± 0.34 a	32.22 ± 2.65 a	29.95 ± 1.10 a
色氨酸 L-Tryptophan	0.66 ± 0.04 c	0.72 ± 0.03 b	0.94 ± 0.07 a	0.75 ± 0.04 b	0.67 ± 0.01 c
莽草酸途径 Shikimate path	44.45 ± 0.41 a	43.52 ± 2.19 a	43.83 ± 0.96 a	43.86 ± 2.93 a	40.61 ± 1.40 b
丙氨酸 Alanine	34.51 ± 0.59 b	35.27 ± 2.58 b	38.99 ± 2.55 a	38.99 ± 1.61 a	35.07 ± 0.91 b
缬氨酸 Valine	8.28 ± 0.38 a	8.54 ± 0.38 a	8.90 ± 0.45 a	8.61 ± 0.61 a	8.35 ± 0.74 a
亮氨酸 Leucine	20.33 ± 1.46 a	21.95 ± 1.46 a	21.58 ± 1.50 a	21.75 ± 0.56 a	20.95 ± 0.61 a
丙氨酸途径 Alanine path	63.12 ± 2.12 b	65.76 ± 4.15 ab	69.47 ± 3.14 a	69.35 ± 2.56 a	64.37 ± 1.16 b
天门冬氨酸 Aspartic	4.43 ± 0.20 a	4.45 ± 0.05 a	4.52 ± 0.21 a	4.54 ± 0.06 a	4.21 ± 0.20 a
苏氨酸 Threonine	9.23 ± 0.61 b	9.93 ± 0.41 a	10.72 ± 0.92 a	10.80 ± 0.41 a	10.09 ± 0.93 a
赖氨酸 Lysine	23.80 ± 1.10 a	23.37 ± 0.98 a	23.10 ± 1.60 a	23.82 ± 1.37 a	22.43 ± 0.74 a
蛋氨酸 Methionine	6.02 ± 0.33 a	6.25 ± 0.45 a	6.32 ± 0.26 a	6.28 ± 0.18 a	5.84 ± 0.05 a
异亮氨酸 Isoleucine	7.29 ± 0.19 b	7.93 ± 0.63 ab	8.68 ± 0.20 a	8.08 ± 0.79 ab	7.44 ± 0.52 b
天门冬氨酸途径 Aspartic path	50.77 ± 0.96 ab	51.93 ± 1.86 ab	53.34 ± 2.14 a	53.52 ± 1.70 a	50.01 ± 0.97 b
谷氨酸 Glutamic	14.85 ± 0.52 a	14.51 ± 0.35 a	14.16 ± 0.13 a	14.46 ± 0.70 a	13.88 ± 0.17 a
组氨酸 Histidine	2.39 ± 0.17 a	2.41 ± 0.18 a	2.30 ± 0.04 a	2.49 ± 0.02 a	2.41 ± 0.08 a
精氨酸 Argine	20.12 ± 0.25 ab	19.89 ± 0.59 ab	19.43 ± 0.90 ab	20.70 ± 0.91 a	19.06 ± 0.09 b
鸟氨酸 L-Ornithine	0.59 ± 0.02 a	0.59 ± 0.04 a	0.52 ± 0.03 b	0.58 ± 0.02 a	0.61 ± 0.02 a
脯氨酸 Proline	11.82 ± 0.51 a	11.75 ± 1.16 a	11.82 ± 0.71 a	11.63 ± 0.55 a	10.75 ± 0.27 b
谷氨酸途径 Glutamic path	49.77 ± 1.31 a	49.15 ± 1.93 a	48.23 ± 1.59 a	49.86 ± 1.95 a	46.71 ± 0.52 a
氨基酸总量 Total amino acid content	227.79 ± 3.92 ab	232.37 ± 10.39 ab	238.60 ± 5.49 a	240.77 ± 9.22 a	224.55 ± 4.91 b

注 (Note): NaCl 添加量为 12 mmol/L, S₃、S₂、S₁、S₀ 为将营养液中 SO_4^{2-} 浓度调至 3、2、1、0 mmol/L; 同行数据后不同小写字母表示处理间在 0.05 水平差异显著。S₀, S₁, S₂ and S₃ represent the SO_4^{2-} concentration of 0, 1, 2 and 3 mmol/L, and the NaCl concentration is 12 mmol/L in the nutrient solution. Values followed by different small letters in a row mean significant difference among treatments at the 0.05 level.

途径氨基酸总量和该途径中的苯丙氨酸含量, 而酪氨酸含量对硫酸根的浓度变化较为敏感, 过高 (S₃) 和过低 (S₀) 均显著降低该氨基酸含量。丙氨酸途径 3 个氨基酸总量和该途径中的丙氨酸对 NaCl 和硫含量变化均不敏感, 而缬氨酸含量受硫酸根的浓度变化影响, 高浓度 (S₃、S₂) 硫和无硫 (S₀) 处理均显著降低了该氨基酸含量; NaCl+S₁ 处理缬氨酸含量最高, 显著高于 CK 和其他 3 个处理; NaCl+S₂ 处理亮氨酸含量最。

与 CK 相比, 添加 NaCl 处理显著增加了天门冬

氨酸途径 5 个氨基酸总量和该途径中的天门冬氨酸含量; 苏氨酸对 NaCl 和硫的浓度变化较为敏感, 无硫的 NaCl+S₀ 处理与添加 NaCl 的 S₃ 和 S₁ 处理苏氨酸含量显著高于 CK, NaCl+S₂ 处理却显著低于 CK; 添加氯化钠无硫 NaCl+S₀ 处理赖氨酸和蛋氨酸含量显著低于其他 3 个含硫处理; 异亮氨酸含量 NaCl+S₃ 处理显著高于其他 4 个处理, 而硫浓度较高 (S₂) 和无硫 (S₀) 的 NaCl 处理与 CK 无显著差异。

营养液中添加 NaCl 的 4 个处理的谷氨酸途径 4 个氨基酸组分总量均显著高于 CK, 其中谷氨酸含

表 3 营养液中添加氯化钠降低硫浓度对韭菜水解氨基酸组分的影响 (g/100 g)

Table 3 Contents of hydrolyzed amino acid components in Chinese chives under addition of NaCl and reduction of SO_4^{2-} concentration in nutrient solution

氨基酸 Amino acids	CK	NaCl+S ₃	NaCl+S ₂	NaCl+S ₁	NaCl+S ₀
丝氨酸 Serine	1.14 ± 0.03 c	1.20 ± 0.05 b	1.17 ± 0.03 bc	1.20 ± 0.02 b	1.29 ± 0.07 a
甘氨酸 Glycine	1.21 ± 0.04 b	1.23 ± 0.03 b	1.17 ± 0.06 b	1.31 ± 0.04 a	1.36 ± 0.09 a
丝氨酸途径 Serine path	2.35 ± 0.07 b	2.43 ± 0.02 b	2.34 ± 0.09 b	2.51 ± 0.06 a	2.62 ± 0.15 a
酪氨酸 Tyrosine	0.84 ± 0.02 b	0.84 ± 0.01 b	0.89 ± 0.03 a	0.87 ± 0.02 a	0.84 ± 0.02 b
苯丙氨酸 Phenylalanine	1.15 ± 0.07 b	1.26 ± 0.02 a	1.31 ± 0.03 a	1.29 ± 0.03 a	1.06 ± 0.07 b
莽草酸途径 Shikimate path	1.99 ± 0.08 b	2.10 ± 0.03 a	2.20 ± 0.07 a	2.16 ± 0.05 a	1.90 ± 0.06 b
丙氨酸 Alanine	1.57 ± 0.06 a	1.64 ± 0.02 a	1.70 ± 0.02 a	1.72 ± 0.04 a	1.62 ± 0.15 a
缬氨酸 Valine	1.25 ± 0.06 b	1.32 ± 0.04 b	1.20 ± 0.01 b	1.36 ± 0.03 a	1.25 ± 0.08 b
亮氨酸 Leucine	1.77 ± 0.02 b	1.88 ± 0.10 a	1.72 ± 0.06 b	1.92 ± 0.06 a	1.86 ± 0.12 a
丙氨酸途径 Alanine path	4.59 ± 0.05 a	4.84 ± 0.13 a	4.62 ± 0.08 a	5.00 ± 0.13 a	4.73 ± 0.30 a
天门冬氨酸 Aspartic	1.64 ± 0.10 c	2.06 ± 0.08 b	2.15 ± 0.07 b	2.25 ± 0.04 a	2.29 ± 0.12 ab
苏氨酸 Threonine	0.97 ± 0.02 c	1.06 ± 0.04 b	0.63 ± 0.02 d	1.05 ± 0.03 b	1.50 ± 0.07 a
赖氨酸 Lysine	1.31 ± 0.05 a	1.40 ± 0.08 a	1.45 ± 0.07 a	1.39 ± 0.03 a	1.10 ± 0.04 b
蛋氨酸 Methionine	0.17 ± 0.01 b	0.20 ± 0.01 a	0.19 ± 0.01 a	0.20 ± 0.01 a	0.18 ± 0.01 b
异亮氨酸 Isoleucine	0.92 ± 0.02 c	1.15 ± 0.03 a	0.94 ± 0.04 c	0.99 ± 0.02 b	0.92 ± 0.06 c
天门冬氨酸途径 Aspartic path	5.01 ± 0.12 c	5.87 ± 0.24 a	5.36 ± 0.14 b	5.88 ± 0.09 a	5.99 ± 0.31 a
谷氨酸 Glutamic	3.12 ± 0.14 b	3.26 ± 0.07 ab	3.55 ± 0.16 a	3.38 ± 0.12 ab	3.33 ± 0.12 ab
组氨酸 Histidine	0.44 ± 0.03 c	0.46 ± 0.01 c	0.56 ± 0.01 a	0.48 ± 0.01 b	0.45 ± 0.02 c
精氨酸 Argine	1.21 ± 0.04 b	1.21 ± 0.06 b	1.18 ± 0.05 b	1.27 ± 0.03 a	1.29 ± 0.07 a
脯氨酸 Proline	1.00 ± 0.07 d	1.10 ± 0.01 c	1.83 ± 0.07 a	1.09 ± 0.03 c	1.20 ± 0.01 b
谷氨酸途径 Glutamic path	5.77 ± 0.25 d	6.03 ± 0.01 c	7.12 ± 0.28 a	6.22 ± 0.14 b	6.27 ± 0.21 b
氨基酸总量 Total amino acid content	19.71 ± 0.51 b	21.27 ± 0.38 a	21.64 ± 0.47 a	21.77 ± 0.47 a	21.51 ± 1.01 a

注 (Note): NaCl 添加量为 12 mmol/L, S₀、S₁、S₂、S₃ 为将营养液中 SO_4^{2-} 浓度调至 0、1、2、3 mmol/L; 同行数据后不同小写字母表示处理间在 0.05 水平差异显著。S₀, S₁, S₂ and S₃ represent the SO_4^{2-} concentration of 0, 1, 2 and 3 mmol/L, and the NaCl concentration is 12 mmol/L in the nutrient solution. Values followed by different small letters in a row mean significant difference among treatments at the 0.05 level.

量在 NaCl+S₂ 处理显著高于对照, 其他的 3 个 NaCl 处理与对照无显著差异; 该途径中的组氨酸、精氨酸和脯氨酸对硫酸根的浓度变化均比较敏感, 过高 (S₃) 和过低 (S₀) 硫浓度的 NaCl 处理组氨酸含量均显著低于 S₂ 和 S₁ 处理; 较低 (S₁) 硫浓度和无硫 (S₀) 处理精氨酸含量显著高于 S₃ 和 S₂ 处理, 添加 NaCl 处理脯氨酸含量显著高于 CK, 在 S₂ 和 S₀ 处理较高, S₃ 和 S₁ 处理无显著差异。

由此可见, 韭菜营养液中添加 NaCl 显著影响了丝氨酸、莽草酸、天门冬氨酸和谷氨酸途径, 并随着硫的减少, 韭菜水解氨基酸主要由谷氨酸途径向天门冬氨酸途径转变。除丙氨酸途径中丙氨酸含量各处理间无显著差异外, 其他氨基酸含量均或多或

少受 NaCl 和硫酸根浓度的影响。

2.5 营养液中添加 NaCl 减硫处理对韭菜硝酸盐还原同化酶活性的影响

NR、GS、GOT、GPT 都是氮代谢过程中的关键酶。NaCl+S₃ 处理的韭菜叶片中 NR、GS、GOT 活性比 CK 分别显著提高了 2.26%、43.57% 和 14.20%; NaCl+S₁ 可使韭菜叶片的 NR、GS 活性进一步增加, 比 CK 分别显著提高了 8.06%、71.43% (图 2)。

2.6 添加氯化钠减硫处理对韭菜含氮量与根系活力的影响

营养液中添加 NaCl 后 (NaCl+S₃) 韭菜含氮量没有显著变化 (图 3-A), 但根系活力比 CK 显著提高了

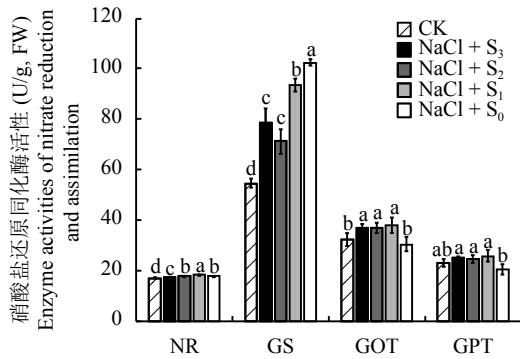


图2 添加氯化钠降低硫浓度对韭菜硝酸盐还原同化酶活性的影响

Fig. 2 Activities of NR, GS, GOT and GPT in Chinese chives under addition of NaCl and reduction of SO_4^{2-} concentration

[注 (Note): NR—硝酸还原酶 Nitrate reductase; GS—谷氨酰胺合成酶; GPT—谷氨酸丙氨酸转氨酶 Glutamine synthetase; GOT—谷氨酸草酰乙酸转氨酶 Glutamate-oxaloacetate transaminase; GPT—谷氨酸丙氨酸转氨酶 Glutamate-pymvate transaminase。NaCl 添加量为 12 mmol/L, S₀、S₁、S₂、S₃ 为将营养液中 SO_4^{2-} 浓度调至 0、1、2、3 mmol/L; 柱上不同小写字母表示处理间在 0.05 水平差异显著。S₀, S₁, S₂ and S₃ represent the SO_4^{2-} concentration of 0, 1, 2 and 3 mmol/L, and the NaCl concentration is 12 mmol/L in the nutrient solution. Different small letters above the bars mean significant difference among treatments at the 0.05 level.]

36.70% (图 3-B)。适当降低硫的浓度可进一步提高韭菜含氮量和根系活力, NaCl+S₂ 处理的韭菜的根系活力和地上部含氮量比 CK 分别提高了 81.99% 和 2.53%, NaCl+S₁ 和 NaCl+S₀ 虽然没有显著增加韭菜含氮量, 但是显著提高了根系活力。

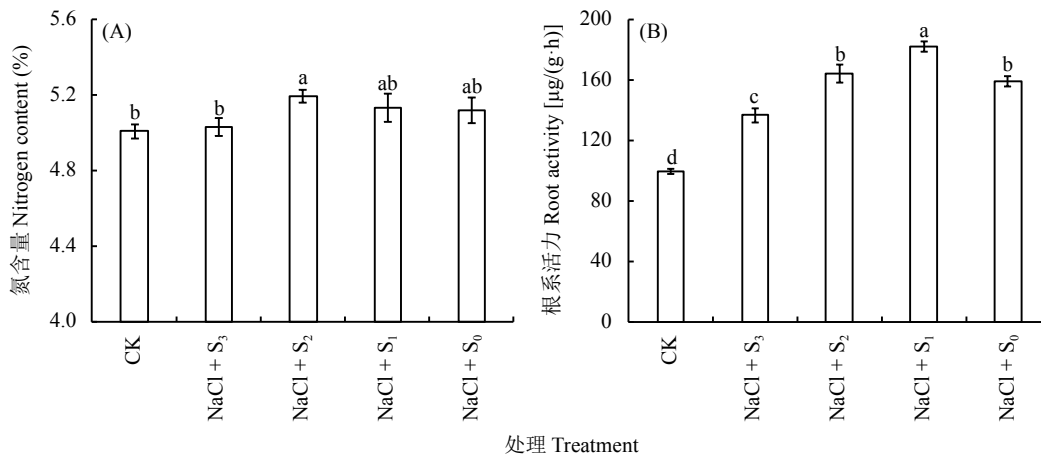


图3 供应氯化钠和不同硫水平下韭菜含氮量与根系活力

Fig. 3 Total nitrogen content and root activity of Chinese chives supplied with NaCl and different SO_4^{2-} concentrations

[注 (Note): NaCl 添加量为 12 mmol/L, S₀、S₁、S₂、S₃ 为将营养液中 SO_4^{2-} 浓度调至 0、1、2、3 mmol/L; 柱上不同小写字母表示处理间在 0.05 水平差异显著。S₀, S₁, S₂ and S₃ represent the SO_4^{2-} concentration of 0, 1, 2 and 3 mmol/L, and the NaCl concentration is 12 mmol/L in the nutrient solution. Different small letters above the bars mean significant difference among treatments at the 0.05 level.]

3 讨论

在 NO_3^- 还原同化途径中, 硝酸还原酶将 NO_3^- 还原为 NO_2^- 。此后, NO_2^- 被还原为 NH_4^+ , 而 NH_4^+ 通过谷氨酰胺合成酶并入谷氨酰胺中, 继而形成谷氨酸。再通过转氨合成其它氨基酸用于蛋白质合成。显然, NR、GS 以及其它转氨酶的活性, 乃至蛋白质合成酶的活性会与硝酸盐累积相关联。为了降低硝酸盐累积, 研究的焦点虽然较多地关注 NR 活性^[24-25], 但是也从 GS 活性寻径向下游拓展^[2]。

氯化钠的生物学效应研究以往主要集中在中高浓度 (50~300 mmol/L) 的盐胁迫领域^[26-29]。一些研究表明, 中高浓度的 NaCl 胁迫不仅会影响植物的氮素 (NO_3^-) 吸收、运输、累积, 而且还会影响氮素的还原、同化、转氨乃至蛋白质合成^[30]。一些报道认为, 中高浓度 NaCl 胁迫处理, 在根部 Cl^- 能够通过竞争拮抗抑制 NO_3^- 的过度吸收来降低植物体内的硝酸盐累积^[20,31]。

植物不仅会通过改变氮代谢过程 (氮代谢酶) 来适应盐胁迫^[28,32], 而且高水平的盐分会通过影响氮素同化途径来促进氮素还原^[20-21], 从而减少硝酸盐累积^[33]。Araujo 等^[27]观察到 100 mmol/L 盐胁迫下向日葵叶片的 NR 和亚硝酸还原酶 (NIR) 活性受到抑制, 而 GS 活性增加的现象; 同时谷氨酰胺和天冬酰胺、丝氨酸的含量增加。Naliwajski 等^[29]认为, 盐胁迫增加了谷氨酸 Glu 代谢的酶活性以及转氨酶活性。过量的 Na^+ 和 Cl^- 甚至改变了老叶 NH_4^+ 同化的途径, 削弱了谷氨酸合酶/谷氨酰胺合成酶 (GOGAT/GS) 途径

和升高了谷氨酸脱氢酶 (GDH) 途径^[28]。不同的盐会诱导蛋白质的合成出现差异^[34], 盐胁迫会抑制标记的亮氨酸的吸收及其进入蛋白质^[35]。

一般认为, Cl⁻作为细胞内的自由离子, 不会被同化进入有机分子, 而是参与整株的渗透调节及其平衡补偿^[30]。Veen 等^[36]发现, 当营养液中的 NO₃⁻被 Cl⁻部分替代时, 植物会吸收 Cl⁻来取代等量的 NO₃⁻。Barhoumi 等^[37]认为, 钠离子和氯离子能够改变酶的功能。Shen 等^[38]用 100 mmol/L NaCl 诱导燕麦渗透保护剂 (脯氨酸、甘氨酸、甜菜碱) 的合成, 并认为这些化合物能够稳定胞质酶的活性构象, 从而保护它们免受无机离子的钝化。一些试验发现, 采收前适量施氯或者用适量氯替代营养液中的硝态氮可以降低叶菜类蔬菜的硝酸盐累积^[25-26]。

本研究添加 12 mmol/L 的低浓度氯化钠处理表明, 营养液栽培的韭菜植株硝酸盐累积偏高问题明显得以减控。同时, 植物体内的全氮量并没有减少 (图 3-A), 根吸收活性增加 (图 3-B), 叶片中硝酸还原酶 (NR)、谷氨酰胺合成酶 (GS)、谷氨酸丙氨酸转氨酶 (GPT) 和谷氨酸草酰乙酸转氨酶 (GOT) 的活性增加。因此, 低浓度的 NaCl 盐处理会呈现出生理效应而非盐胁迫效应。这些结果进一步支持了适量的氯是通过促进氮素还原同化来降低硝酸盐累积的观点^[31]。

一般来说, 硫素的同化必须与氮素的同化以及植物生长速率保持一致, 植物体内硫氮比值准确地维持在 1 : 20^[14]。缺硫会引起生长量下降和硝酸盐累积^[25-26]。Sorin 等^[26]认为缺硫 (SO₄²⁻) 导致的渗透势减弱会通过增加 NO₃⁻、PO₄³⁻和 Cl⁻的累积来补偿。Wang 等^[2]也观察到盐胁迫不影响水稻对 SO₄²⁻和 H₂PO₄⁻的吸收。Liu 等^[31]观察到盐胁迫下提高 N 的有效性并不能提高植物对硫酸盐的吸收。Migge 等^[39]将烟草从 0.75 mmol/L SO₄²⁻的营养液中转入缺硫培养液培养 5 周时观察到, 缺硫会引起叶片的硝酸盐累积, 而 NR 和 GS 活性下降, 同时伴随着氨基酸池中谷氨酰胺和天冬酰胺、精氨酸的累积, 而天冬氨酸和谷氨酸含量减少, 丙氨酸和丝氨酸基本保持不变。

Sorin 等^[26]观察到从丰硫转入缺硫培养 (SO₄²⁻浓度从 508.7 μmol/L 到 5.8 μmol/L) 13 天的初期, 对油菜的生长无显著影响, 与液泡贮藏的 SO₄²⁻向外转运进入细胞质有关。本试验中的加 NaCl 无硫酸盐 (NaCl+S₀) 处理, 是从高氮 (12 mmol/L) 高硫 (3 mmol/L) 的对照营养液转入在营养液中添加 12

mmol/L 的低浓度氯化钠的无硫处理 (0 mmol/L SO₄²⁻) 培养 30 天, 呈现出干物质累积量与 NaCl+S₂ 和 NaCl+S₁ 减硫处理无显著差异, 即并无缺硫的症状。这可能与 30 天的短期无硫培养期间韭菜的根株 (根系、短缩茎、假茎) 细胞液泡中贮藏的硫量依然较为丰富有关。

可是, 本研究采用的韭菜专用营养液配方的硫氮比值高达 1 : 4。本试验在营养液中添加 12 mmol/L 的低浓度 NaCl 的同时采用减硫处理 (SO₄²⁻从 3 mmol/L 减至 1 mmol/L) 4 周表明, 硝酸盐累积进一步降低 (图 1-A), 同时干物质累积增加 (图 1-B), 全氮和根系吸收活性增加 (图 3), NR、GS、GOT、GPT 活性增加 (图 2)。这表明, 硫过剩或高硫也会导致硝酸盐累积; 相应地, 在 NaCl 处理下高硫时减硫会降低硝酸盐累积。同时还表明, 这种硝酸盐累积降低的效应与硝酸盐的还原同化活性增强有关。

众所周知, 叶片中游离氨基酸池处于补充与消耗的动态中。游离氨基酸池的大小与上游氨基酸合成源的补充动态和下游氨基酸转化入库 (合成蛋白质) 的消耗动态相关联。这里, 上游氨基酸的合成作为源; 而下游氨基酸转化入库即是所合成的蛋白质, 它可以被视为氨基酸的终端库, 亦即蛋白质水解氨基酸组分。一般来说, 当其合成大于转化 (源强大于库强) 时, 游离氨基酸池累积增大; 反之, 当其合成小于转化 (源强小于库强) 时, 游离氨基酸池减小; 而当源强和库强同步增加或降低时, 游离氨基酸池会保持不变或基本不变。

本研究中在氯化钠处理 (NaCl+S₃) 和减硫的氯化钠处理 (NaCl+S₂、NaCl+S₁) 下, 韭菜的游离氨基酸代谢池会保持基本不变或略有增加 (表 2); 可是, 氯化钠 (NaCl+S₃) 和减硫的氯化钠 (NaCl+S₂、NaCl+S₁) 处理均会使韭菜的蛋白质水解氨基酸总量显著增加 (表 3)。这在呈现出下游氨基酸的终端库的库强增加的同时, 会暗示着牵动上游氨基酸合成源的源强也会相应增加。这种源强的增加即是从氯化钠处理 (NaCl+S₃) 和减硫的氯化钠处理 (NaCl+S₂、NaCl+S₁) 的硝酸还原酶 (NR) 活性、谷氨酰胺合成酶 (GS) 活性、谷氨酸草酰乙酸转氨酶 (GOT) 活性、谷氨酸丙氨酸转氨酶 (GPT) 活性增加 (图 2) 所反映出的硝态氮还原活性、转氨活性尤其是初级同化活性的增加。

氯化钠 (NaCl+S₃) 处理会使游离氨基酸代谢途径转向以丝氨酸途径增加为主, 同时会使合成蛋白质所需的氨基酸代谢途径转向以天冬氨酸途径增加为

主。而减硫的氯化钠 ($\text{NaCl}+\text{S}_2$ 、 $\text{NaCl}+\text{S}_1$) 处理会使游离氨基酸代谢途径仍然保持以丝氨酸途径增加为主的特征; 同时随着营养液中硫素的减少, 则会使合成蛋白质所需的氨基酸代谢途径先转向谷氨酸途径增加为主, 再转向天冬氨酸途径增加为主的特征。从代谢组学的角度来看, 营养液中无论是不减硫 ($\text{NaCl}+\text{S}_3$) 还是减硫的氯化钠处理 ($\text{NaCl}+\text{S}_2$ 、 $\text{NaCl}+\text{S}_1$), 韭菜的游离氨基酸组分的分量池和下游氨基酸组分的终端分库强都会受到影响, 并且间接暗示着对上游氨基酸组分合成的分源强的影响。在低浓度氯化钠生理盐下, 无论是上游氨基酸组分合成的分源强, 还是下游氨基酸组分的终端分库强, 与氮素还原同化及转氨、蛋白质合成的有关酶的转录组和基因组的表达有待进一步研究。

多数研究认为, 氨基酸通过调控植物硝酸盐转运系统^[40]或同化过程^[41]间接影响植物根部 NO_3^- 吸收的负调控信号分子。Migge 等^[39]认为精氨酸、天冬氨酸和谷氨酸是下调 NR 活性和转录水平的一个可能途径, 从而负调控硝酸盐的还原同化。而甘氨酸可通过苹果酸穿梭作用向 NR 提供 NADH, 从而提高 NR 的活性, 促进硝酸盐的还原^[42]。本研究中游离氨基酸丝氨酸途径中的丝氨酸和天门冬氨酸途径的苏氨酸受氯化钠的影响较为明显, 其中丝氨酸被认为是一种光呼吸氨基酸, 而硝酸还原酶活性也与光呼吸有关^[43], 本研究中添加 NaCl 处理丝氨酸含量的增加是否影响了 NR 的活性有待进一步研究。另外, 研究还发现, 对硫酸根较为敏感的氨基酸有甘氨酸、色氨酸、丙氨酸、酪氨酸和脯氨酸。其中, 不含硫的氯化钠处理 $\text{NaCl}+\text{S}_0$ 酪氨酸和脯氨酸含量显著低于含硫处理, 但不同的硫浓度处理间无显著差异, 与 GOT 和 GPT 变化趋势类似; 甘氨酸、色氨酸和丙氨酸含量则随着减硫处理表现出先升高后降低的趋势, NR 活性也表现出相同的变化趋势, 这些氨基酸对氮代谢还原同化酶有无调控作用和调控的关键酶有待在分子水平上进一步研究。

4 结论

在韭菜专用营养液中添加 12 mmol/L 的氯化钠, 同时将 SO_4^{2-} 浓度从 3 mmol/L 降至 1 mmol/L, 可显著提高根系活性, 增加韭菜干物质和氮的累积以及氮代谢关键酶的活性, 进而促进硝态氮转化为游离氨基酸 (丝氨酸、苏氨酸、甘氨酸、色氨酸和丙

氨酸) 和可溶性蛋白, 从而降低硝酸盐的积累, 提高韭菜的营养品质。

减硫 ($\text{NaCl}+\text{S}_2$ 、 $\text{NaCl}+\text{S}_1$) 处理会使游离氨基酸代谢途径仍然保持以丝氨酸途径增加为主的特征; 同时随着营养液中硫素的减少, 则会使合成蛋白质所需的氨基酸代谢途径先转向谷氨酸途径增加为主, 再转向天冬氨酸途径增加为主的特征。

参 考 文 献:

- [1] Anjana S U, Iqbal M. Nitrate accumulation in plants, factors affecting the process, and human health implications[J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2007, 27(1): 45–57.
- [2] Wang X L, Cai X F, Xu C X, et al. Nitrate accumulation and expression patterns of genes involved in nitrate transport and assimilation in spinach[J]. *Molecules*, 2018, 23(9): 2231–2235.
- [3] 曹岩坡, 高志奎, 何俊萍, 等. 外源水杨酸对韭菜硝酸盐累积及还原同化的影响[J]. *园艺学报*, 2009, 36(3): 415–420.
Cao Y P, Gao Z K, He J P, et al. Effects of exogenous salicylic acid on nitrate accumulation and reduction and assimilation in the leaves of Chinese chive[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2009, 36(3): 415–420.
- [4] 杜红艳, 于平彬, 季延海, 等. 不同氮素浓度对水培韭菜生长发育与品质的影响[J]. *中国蔬菜*, 2015, (5): 45–48.
Du H Y, Yu P B, Ji Y H, et al. Effects of different nitrogen concentration on growth, development and quality of hydroponic Chinese chives[J]. *China Vegetables*, 2015, (5): 45–48.
- [5] 季延海, 于平彬, 武占会, 等. 低浓度 NaCl 对水培韭菜生长、产量及品质的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2015, 23(5): 628–633.
Ji Y H, Yu P B, Wu Z H, et al. Influence of low NaCl concentration on growth, quality and yield of Chinese chive in hydroponic culture[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2015, 23(5): 628–633.
- [6] Luo J, Lian Z H, Yan X L. Urea transformation and the adaptability of three leafy vegetables to urea as a source of nitrogen in hydroponic culture[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1993, 16(5): 797–812.
- [7] Chen B M, Wang Z H, Li S X, et al. Effects of nitrate supply on plant growth, nitrate accumulation, metabolic nitrate concentration and nitrate reductase activity in three leafy vegetables[J]. *Plant Science (Oxford)*, 2004, 167(3): 635–643.
- [8] Richardson S J, Hardgrave M. Effect of temperature, carbon dioxide enrichment, nitrogen form and rate of nitrogen fertilizer on the yield and nitrate content of two varieties of glasshouse lettuce[J]. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 1992, 59(3): 345–349.
- [9] Wang Z H, Li S X. Effects of N forms and rates on vegetable growth and nitrate accumulation[J]. *Pedosphere*, 2003, 13(4): 309–316.
- [10] Xu C, Wu L H, Ju X T, Zhang F S. Role of nitrification inhibitor DMPP (3, 4-dimethylpyrazole phosphate) in nitrate accumulation in greengrocery (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis*) and vegetable soil[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2005, 17: 81–83.
- [11] Yu X D, Sukumaran S, Márton L. Differential expression of the *Arabidopsis Nial1* and *Nia2* genes: cytokinin-induced nitrate reductase activity is correlated with increased *Nial1* transcription and mRNA

- levels[J]. *Plant Physiology*, 1998, 116(3): 1091–1096.
- [12] Ma C Y, Feng S D, Huang L L, *et al.* Exogenous salicylic acid prevents nitrogen dioxide-induced oxidative injury and nitrate accumulation in *Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* seedlings[J]. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2010, 85(3): 215–218.
- [13] 霍捷, 王俊玲, 薛占军, 等. 亚硫酸氢钠对小白菜叶片硝酸盐还原及光合能力的影响[J]. *园艺学报*, 2012, 39(4): 669–676.
Huo J, Wang J L, Xue Z J, *et al.* Effects of sodium bisulfite on nitrate reduction and photosynthetic capacity in the leaves of non-heading Chinese cabbage[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2012, 39(4): 669–676.
- [14] Blom-Zandstra G, Lampe J E M. The effect of chloride and sulphate salts on the nitrate content in lettuce plants[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1983, 6(7): 611–628.
- [15] Buchanan B B, Gruissem W, Jones R L. *Biochemistry and molecular biology of plants*[M]. American Society of Plant Physiologists, 2000, 636–687.
- [16] 郑青松, 杜爽, 刘兆普, 等. 外源氯对番茄幼苗生长及养分吸收、利用的影响[J]. *园艺学报*, 2006, 33(4): 849–852.
Zheng Q S, Du S, Liu Z P, *et al.* Effects of supplemental chloride on growth, nutrient absorption and utilization of tomato seedlings[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2006, 33(4): 849–852.
- [17] 郑青松, 杨文杰, 刘兆普, 等. 外源氯处理对向日葵幼苗生长、养分吸收及植株硝态氮含量的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2007, 13(6): 1161–1165.
Zheng Q S, Yang W J, Liu Z P, *et al.* Effects of supplemental chloride on growth, nutrient absorption and nitrate content of sunflower seedlings[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2007, 13(6): 1161–1165.
- [18] Maynard D N, Barker A V, Minotti P L, *et al.* Nitrate accumulation in vegetables[J]. *Advances in Agronomy*, 1976, 28: 71–118.
- [19] Urrestarazu M, Postigo A, Salas M, *et al.* Nitrate accumulation reduction using chloride in the nutrient solution on lettuce growing by NFT in semiarid climate conditions[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1998, 21(8): 1705–1714.
- [20] Garg B K, Vyas S P, Kathju S, *et al.* Salinity-fertility interaction on growth, mineral composition and nitrogen metabolism of Indian mustard[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1993, 16: 1637–1650.
- [21] Gouia H, Ghorbal M H, Touraine B. Effects of NaCl on flows of N and mineral ions and on NO₃⁻ reduction rate within whole plants of salt-sensitive bean and salt-tolerant cotton[J]. *Plant Physiology*, 1994, 105(4): 1409–1418.
- [22] 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, 211–212.
Li H S. *Principles and techniques of plant physiology and biochemistry experiments*[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000, 123–137, 211–212.
- [23] 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, 42–105.
Plant Physiology and Biochemistry Group of Northwest Agricultural University. *Instruction for plant physiology experiments*[M]. Xi'an: Shanxi Science and Technology Publishing House, 1986, 42–105.
- [24] Curtis I S, Power J B, de Laat A M M, *et al.* Expression of a chimeric nitrate reductase gene in transgenic lettuce reduces nitrate in leaves[J]. *Plant Cell Reports*, 1999, 18(11): 889–896.
- [25] Djennane S, Chauvin J E, Quillere I, *et al.* Introduction and expression of a deregulated tobacco nitrate reductase gene in potato lead to highly reduced nitrate levels in transgenic tubers[J]. *Transgenic Research*, 2002, 11(2): 175–184.
- [26] Sorin E, Etienne P, Maillard A, *et al.* Effect of sulphur deprivation on osmotic potential components and nitrogen metabolism in oilseed rape leaves: identification of a new early indicator[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(20): 6175–6189.
- [27] Araujo G D, Miranda R D, Mesquita R O, *et al.* Nitrogen assimilation pathways and ionic homeostasis are crucial for photosynthetic apparatus efficiency in salt-tolerant sunflower genotypes[J]. *Plant Growth Regulation*, 2018, 86: 375–388.
- [28] Wang H, Zhang M S, Guo R, *et al.* Effects of salt stress on ion balance and nitrogen metabolism of old and young leaves in rice[J]. *BMC Plant Biology*, 2012, 12: 194.
- [29] Naliwajski M R, Skłodowska M. The relationship between carbon and nitrogen metabolism in cucumber leaves acclimated to salt stress[J]. *Plant Biology*, 2018, 6(3): 6043.
- [30] Xu G H, Magen H, Tarchitzky J, Kafkafi U. Advances in chloride nutrition of plants[J]. *Advances in Agronomy*, 2000, 68(8): 97–110.
- [31] Liu L X, Shelp B J. Impact of chloride on nitrate absorption and accumulation by broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*)[J]. *Canadian Journal of Plant Science*, 1996, 76(2): 367–377.
- [32] Parida A K, Das A B. Effects of NaCl stress on nitrogen and phosphorous metabolism in a true mangrove *Bruguiera parviflora* grown under hydroponic culture[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2004, 161(8): 921–928.
- [33] Debouba M, Gouia H, Suzuki A, Ghorbel M H. NaCl stress effects on enzymes involved in nitrogen assimilation pathway in tomato "*Lycopersicon esculentum*" seedlings[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2006, 163(12): 1247–1258.
- [34] Kahane I, Poljakoff-Mayber A. Effect of substrate salinity on the ability for protein synthesis in pea roots[J]. *Plant Physiology*, 1968, 43(7): 1115–1119.
- [35] Ben-zioni A, Itai C, Vaadia Y. Water and salt stress, kinetin and protein synthesis in loacco leaves[J]. *Plant Physiology*, 1967, 42(3): 361–365.
- [36] Veen B W, Kleinendorst A. The role of nitrate in osmo regulation of Italian ryegrass[J]. *Plant and Soil*, 1986, 91(3): 433–436.
- [37] Barhoumi Z, Atia A, Rabhi M, *et al.* Nitrogen and NaCl salinity effects on the growth and nutrient acquisition of the grasses, *Aeluropus litoralis*, *Catapodium rigidum*, and *Brachypodium distachyum*[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2010, 173(1): 149–157.
- [38] Shen Z G, Shen Q R, Liang Y C, Liu Y L. Effect of nitrogen on the growth and photo-synthetic activity of salt-stressed barley[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1994, 17(5): 787–799.
- [39] Migge A, Bork C, Hell R, *et al.* Negative regulation of nitrate reductase gene expression by glutamine or asparagine accumulating

- in leaves of sulfur-deprived tobacco[J]. *Planta*, 2000, 211(4): 587–595.
- [40] Miller A J, Fan X R, Shen Q R, Smith S J. Amino acids and nitrate as signals for the regulation of nitrogen acquisition[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(1): 111–119.
- [41] 周诗毅, 陈晓菁, 黄建国, 何光源. 八种氨基酸对水稻硝酸盐吸收的影响[J]. *生物技术*, 2009, 19(4): 58–60.
- Zhou S Y, Chen X J, Huang J G, He G Y. Effects of eight amino acids on the nitrate uptake in rice[J]. *Biological Technology*, 2009, 19(4): 58–60.
- [42] 王莹, 史振声, 王志斌, 李凤海. 植物对氨基酸的吸收利用及氨基酸在农业中的应用[J]. *中国土壤与肥料*, 2008, (1): 6–11.
- Wang Y, Shi Z S, Wang Z B, Li F H. Absorption and utilization of amino acids by plant and application of amino acids on agriculture[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2008, (1): 6–11.
- [43] 彭新湘, 李明启. 光呼吸代谢物乙醇酸、乙醛酸和草酸对烟草叶片硝酸还原的影响[J]. *植物生理学报*, 1987, 13(2): 182–189.
- Peng X X, Li M Q. Effects of photorespiratory metabolites glycolate, glyoxylate and oxalate on nitrate reduction in tobacco leaf[J]. *Plant Physiology Journal*, 1987, 13(2): 182–189.