

菠菜硝态氮累积和还原与植株生长的关系

黄彩变^{1,2}, 王朝辉^{1*}, 王小英¹, 李生秀¹

(1.西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100; 2.中国科学院新疆生态与地理研究所, 乌鲁木齐 830011)

摘要:通过盆栽试验,以两个硝态氮含量差异显著的菠菜品种为供试材料,在不同生长时期,测定了叶柄、叶片干重、水分含量、硝态氮含量及叶片内源和外源硝酸还原酶活性,研究菠菜硝态氮累积和硝酸还原酶活性的动态变化及其与植株生长变化的关系。结果表明,随生长期后移,叶柄、叶片及地上部干重和水分含量先增加而后降低,硝态氮含量则持续降低,低硝态氮累积品种S9的下降更为明显,出苗后52 d和62 d地上部分分别降低了100%和89.7%;叶片内源和外源酶活性则随植株生长量增加而增加,高硝态氮累积品种S4增加(379%和199%)更明显,之后该品种酶活性随植株生长量降低而显著下降,品种S9却显著增加,分别为121%和288%。生长前期,品种S4硝态氮含量、干重增长速率及内源、外源酶活性均显著高于品种S9,内源/外源酶活性比值却明显低于后者;生长后期,除外源酶活性和内源/外源酶活性比值外,品种间差异均不明显。因此,生长前期高累积品种硝态氮含量降低较少,主要原因可能是其内源/外源酶活性比值(70.7%)较低,生长后期该品种的内源/外源酶活性比值(98.2%)显著增加后,硝态氮含量迅速下降进一步证明了这一推测。综合上述结果可知,内源/外源酶活性比值更能揭示植株生长变化引起的品种间硝态氮含量变化差异。

关键词:硝态氮;硝酸还原酶活性;干重;含水量;叶柄;叶片;菠菜

中图分类号:X171.5 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2011)04-0613-06

Nitrate Accumulation and Reduction in Spinach and Their Relations to Plant Growth

HUANG Cai-bian^{1,2}, WANG Zhao-hui^{1*}, WANG Xiao-ying¹, LI Sheng-xiu¹

(1.College of Resources and Environmental Sciences, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, China; 2.Xinjiang Institute of Ecology and Geography, CAS, Urumqi 830011, China)

Abstract: Previous research indicates that nitrate accumulation in plants changed with plant growth, but mechanisms behind those changes are unknown. Understanding these mechanisms will benefit adopting appropriate strategies to decrease the nitrate content in plants since high nitrate accumulation in leafy vegetables is potentially toxic to human health. A pot experiment was carried out to investigate the dry weight, water content, and nitrate-N concentrations of petioles and leaf blades, and *in vivo* and *in vitro* nitrate reductase activity (NRA) in leaf blades of two spinach cultivars at different growth stages. The objective was to study the dynamic changes of nitrate-N concentrations and NRA of two spinach cultivars, and their relations to plant growth. The results showed that the dry weights and water contents of petioles, leaf blades, and shoot for both cultivars increased with the increase of plant biomass and then declined with the decrease of plant growth. However, the nitrate-N concentrations of both cultivars decreased with plant growth, and the decrease for cultivar S9 with lower nitrate-N concentration was more significantly than that for cultivar S4 with higher nitrate-N concentration. During the early growth stage, *in vivo* and *in vitro* NRA increased with plant growth, and these for cultivar S4 increased by 379% and 199% which were significantly higher than that for cultivar S9, but they were decreased for cultivar S4 and increased for cultivar S9 at later growth stage. The increase of dry weight and water content, nitrate-N concentrations, *in vivo* and *in vitro* NRA of cultivar S4 were significantly higher, but the ratio of *in vivo* / *in vitro* NRA was lower than those of cultivar S9 on days 40 and 52 after germination. These differences between spinach cultivars were not significant at later growth stage. This indicated that the nitrate decrease of cultivar S4 was more slowly than that of cultivar S9 should be due to its lower ratio of *in vivo* / *in vitro* NRA, and this hypothesis was proved by the fact that the nitrate-N concentration of cultivar S4 decreased significantly with the increase of *in vivo* / *in vitro* NRA ratio at late stage. This suggested that the variations of nitrate-N concentration for both cultivars be closely re-

收稿日期:2010-08-17

基金项目:国家自然科学基金项目(30871596, 40671107);西北农林科技大学创新团队建设计划、基本科研业务费专项

作者简介:黄彩变(1982—),女,河南南阳人,博士,研究方向为植物营养生理生态。E-mail:huangcaibian@tom.com

* 通讯作者:王朝辉 E-mail:w-zhaohui@263.net

lated to the ratio of *in vivo* / *in vitro* NRA at different growth stages.

Keywords: nitrate-N; nitrate reductase activity; dry weight; water content; petiole; leaf blade; spinach

近年来,为了提高蔬菜产量,满足市场不断增长的需求,菜农大量施用化学肥料,特别是氮肥。在通气良好的土壤上,施入的铵态或酰胺态氮肥,及有机质矿化形成的铵态氮,都会经硝化作用很快转化为硝态氮,因而,硝态氮成为进入植物体的主要氮素形态。不少研究发现蔬菜中硝态氮含量与施氮量呈显著正相关^[1-3],过量投入氮肥,蔬菜生长量增加不明显,甚至受到抑制^[2],以叶菜类更为明显。过多的硝态氮累积虽无害于植物本身,但硝态氮是强致癌物亚硝胺的前体,对人类健康具有潜在威胁^[4]。因此,深入研究硝态氮累积与叶菜生长关系,对降低蔬菜硝态氮累积,合理施用氮肥具有重要指导意义。

硝态氮累积和植株生长的关系已受到国内外不少学者关注,通常认为硝态氮含量随株龄增加而减少^[5-6],品种间硝态氮累积差异随株龄增加而增加^[7-8]。关于硝态氮含量与蔬菜生长量关系却无定论,对不同莴苣品种研究发现地上部分硝态氮含量与植株鲜重、干重均呈显著负相关关系^[7,9],但也有一些品种例外,无确定相关关系^[10]。对不同菠菜品种研究却发现,叶柄硝态氮含量与地上部鲜重、干重及水分含量均表现出显著正相关关系^[11]。上述结果不一致的主要原因除了蔬菜种类及品种间的差异外,还可能与测定时期及器官部位的不同有关。

进入植物体的硝态氮大部分要经过硝酸还原酶作用进行还原转化,然后参与一系列代谢过程,因此,硝酸还原酶在硝态氮转化利用过程中的作用备受关注^[12-14],而对硝酸还原酶活性的发挥与植物生长需求关系却关注较少。对两个拟南芥品种的研究发现,硝酸还原酶活性要高于植物实际生长需求,且随生长期后移,和植株生长速率同步下降^[15]。对草莓的研究也发现硝酸还原酶活性在苗期较高,之后随植株生长而降低^[16]。然而,这种变化在叶类蔬菜的研究中却鲜有报道。鉴于硝酸还原酶和硝态氮转化利用的密切关系,同步研究叶菜类硝态氮累积和硝酸还原酶活性变化与植株生长的关系,可进一步揭示叶菜硝态氮累积的动态变化规律,为降低硝态氮累积,提高硝态氮利用效率提供理论依据。为此,本试验选用硝态氮含量差异明显的两个菠菜品种,在不同生长期,分析了两个品种间叶柄、叶片及地上部硝态氮累积与干重、水分含量及叶片硝酸还原酶活性,以期查明菠菜硝态

氮累积和硝酸还原酶活性的动态变化规律及其与植株生长变化的关系。

1 材料与方法

1.1 试验设计

本研究采用盆栽试验,试验用盆为直径8 cm、高6 cm的棕色陶瓷钵。供试土壤采自西北农林科技大学试验田耕层(0~20 cm),其中有机质含量17.2 g·kg⁻¹,全氮1.05 g·kg⁻¹,硝态氮17.3 mg·kg⁻¹,铵态氮27.5 mg·kg⁻¹,速效钾127 mg·kg⁻¹,速效磷14.2 mg·kg⁻¹,pH 7.8。

供试材料为前期筛选所得的两个硝态氮含量差异显著的菠菜品种“河北圆叶”(S4)(高硝态氮累积品种)和“沙尔沁大叶”(S9)(低硝态氮累积品种)。2007年5月17日,每盆装入过2 mm筛的风干土0.2 kg,和蛭石按体积比2:1混匀。施肥量为纯N(KNO₃)0.4 g·kg⁻¹(风干土),P₂O₅(KH₂PO₄)0.3 g·kg⁻¹(风干土),均作基肥一次施入。装盆后浇水静置一夜,种子提前一天浸泡,第二天播种,之后直接放入ZPW-350型植物智能培养箱中。箱内温度设为20℃/15℃,光照时间为11 h/13 h(d/n),光照强度为17 530 lx,湿度为60%~65%。每个品种重复15次。出苗后,及时疏苗,每盆定苗3株。菠菜生长期根据土壤干湿情况,采用称重法灌水,每次灌水时保持土壤含水量(即灌水量/每盆干土重)为20%。

1.2 采样及测定

在出苗后40 d(七叶期)、52 d(旺长期)和62 d(抽薹初期)分别采样,均在上午9:00—9:30进行,只采地上部分,各品种取长势一致的3个重复。采下的植株立即装入已做好标记的塑料袋并密封袋口,以防水分散失。每株选出顶端完全展开的两片叶,用于测定硝酸还原酶活性。其余部分根据分析目的按器官分为叶柄和叶片(抽薹初期,因茎秆生物量较小又和叶柄相连,归算在叶柄部分),以防止硝态氮在各器官之间的转移。然后分别切碎混匀,分为两部分。用于测定硝态氮的一部分样品先放入冰箱0~4℃下冷藏。另一部分样品,称量后装入纸袋,放入烘箱中,在90℃烘30 min后,降温至65℃烘至恒重,用于计算水分含量和干重。

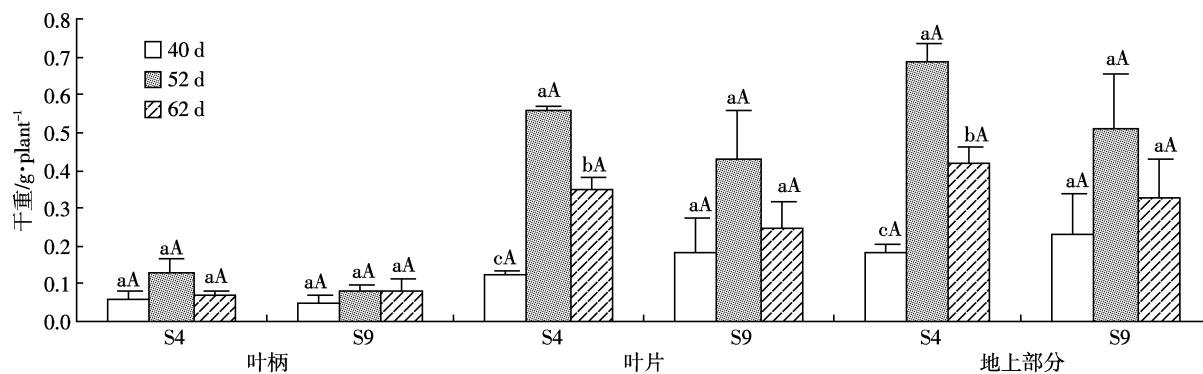
硝态氮提取采用研磨浸提法^[17],待测液中的硝态

氮浓度用连续分析仪测定。地上部分硝态氮含量采用加权平均法,由叶柄和叶片重量与相应的硝态氮含量计算。叶片内源和外源硝酸还原酶活性在采样当天采用内源和外源基质法^[18]测定。试验结果采用 SPSS 13.0 统计软件进行方差分析。

2 结果及分析

2.1 不同生长期地上部及叶柄、叶片的干重变化

两个菠菜品种叶柄、叶片及地上部干重均随生长期后移迅速增加,而后又降低,变化速率因品种而异(图1)。生长前期,品种S4叶片和地上部干重分别显著增加了354%和279%,后期则下降了38%和39%,整个测定期间叶柄变化幅度均不明显。品种S9叶柄、叶片及地上部干重随植株生长的变化均不明显,与品种S4间的差异虽在出苗后52 d最大,但仍未达显著水平。可以看出,随生长期后移品种S4地上部干重变化较快,这主要与其叶片干重的快速变化有关。



图中不同字母表示差异达5%显著水平 $P<0.05$ (LSD),小写字母表示同一品种不同生长期的差异,大写字母表示同一生长期品种间差异。下同。
The different letters indicate the difference at $P<0.05$ between the two spinach genotypes is significant. Small letters for the difference between growth stages of the same cultivar, while capital letters for the difference between cultivars at the same growth stage. Follows are the same.

图1 两个菠菜品种叶柄、叶片和地上部分干重随生长时间的变化

Figure 1 Dry weights of petioles, leaf blades and shoot of two spinach cultivars at different growth stages

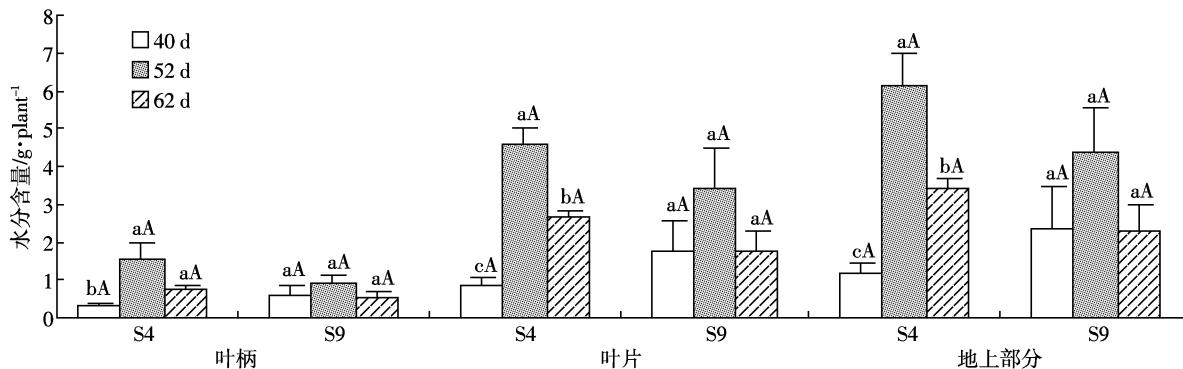


图2 两个菠菜品种叶柄、叶片及地上部分水分含量随生长时间的变化

Figure 2 Water content in petiole, leaf blade and shoot of two spinach cultivars at different growth stages

2.2 不同生长期地上部及叶柄、叶片的水分含量变化

水分是菠菜生物量的重要组成部分,其含量随生长期后移先显著增加,而后又不同程度下降(图2)。在出苗后40~52 d,品种S4和S9地上部水分含量分别增加了429%和85%,到后期则分别降低了44%和47%。叶柄和叶片水分含量变化和地上部一致,生长前期品种S4水分含量分别增加了374%和457%,品种S9则分别增加56%和95%;在出苗后52~62 d,品种S4的水分含量明显下降,叶柄和叶片分别降低了53%和42%,品种S9分别降低了43%和49%。品种间水分含量差异也呈先增加而后降低趋势,但均未达显著水平。

2.3 不同生长期地上部及叶柄、叶片硝态氮含量变化

两个菠菜品种地上部硝态氮含量均随生长期后移不断降低,降低幅度因品种而异(图3)。品种S4和S9在出苗后40~52 d分别下降了26.2%和100%,出苗后52~62 d分别下降了60.1%和89.7%。和地上部

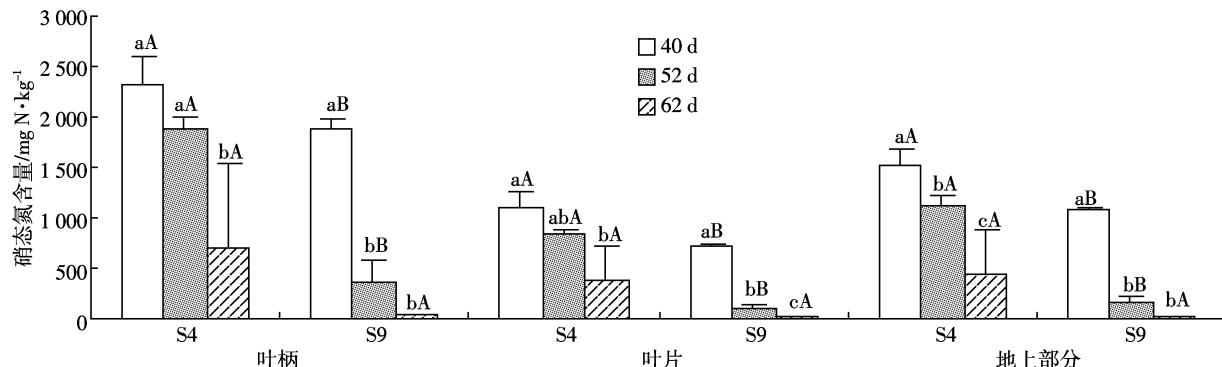


图3 两个菠菜品种叶柄、叶片和地上部分硝态氮含量随生长时间的变化

Figure 3 Nitrate-N concentrations in petioles, leaf blades and shoot of two spinach cultivars at different growth stages

分含量变化相同,品种S4叶柄和叶片在生长前期分别下降了18.7%和22.4%,品种S9相应为81.3%和86.5%;生长后期,品种S4分别下降了62.5%和55.3%,品种S9分别为85.9%和79.4%。由此可见,品种S9硝态氮含量随生长期后移下降速率明显高于品种S4,在旺长期(出苗后52 d)差异最大。

品种间地上部硝态氮含量差异变化则不同,随生长期后移先增加而后降低(图3),出苗后52 d差异最大,为969 mg N·kg⁻¹。品种间叶柄和叶片硝态氮含量差异同样在出苗后52 d最高,分别为1535 mg N·kg⁻¹和752 mg N·kg⁻¹,之后则迅速降低,差异也不明显。上述结果表明,品种间硝态氮含量差异变化与不同生长期两个菠菜品种硝态氮含量降低速度密切相关。

2.4 不同生长期叶片硝酸还原酶活性变化

叶片硝酸还原酶活性随植株生长变化因品种而异(表1)。品种S4内源和外源酶活性在出苗后52 d快速增加,分别为379%和199%,之后则分别下降44.8%和60.3%。品种S9则随生长期后移持续增加,出苗后52 d时分别增加43.4%和45.7%,生长后期分别为121%和288%。内源与外源硝酸还原酶活性的比值可反映潜在硝酸还原酶活性的实际发挥程度。随生长期后移,品种S4酶活性比值迅速增加,出苗后62 d最高。品种S9则呈降低趋势,出苗后52 d减少

了1.2%,之后又减少了31.5%。

品种间内源和外源酶活性差异随植株生长先增加而后降低。出苗后40~52 d,品种S4显著高于品种S9,且在52 d时差异最大,内源和外源酶活性分别相差13.0 μg NO₂·g⁻¹ FW·h⁻¹和18.5 μg NO₂·g⁻¹ FW·h⁻¹,之后则下降。品种间酶活性比值变化不同,出苗后40 d,品种S4低于品种S9约30.3%,之后二者差异迅速变小,在62 d时品种S4已高出品种S9约56.6%。

3 讨论

硝态氮吸收和植物生长量增加不同步,生长滞后所造成的养分富集效应往往使蔬菜体内的硝态氮累积量急剧上升^[5],相应地,因植物生长速率快于硝态氮累积速率而引起的养分稀释作用又使植株体内硝态氮含量下降^[2]。本试验结果表明,两个菠菜品种叶柄、叶片及地上部干重和水分含量均随生长期后移先迅速增加而后降低,品种间差异却不明显。硝态氮含量随生长期后移持续降低,品种间差异呈先增加而后降低趋势。生长期前,品种S4地上部硝态氮累积量(硝态氮含量×单株生长量)增加了275%,明显低于干物质累积速率,因此,该生长期硝态氮仍处于累积阶段,其含量下降的主要原因可能与养分稀释作用有关。品种S9地上部硝态氮累积量虽降低了73%,但未影响

表1 不同生长期菠菜叶片内源和外源硝酸还原酶活性及其比值

Table 1 *In vivo* and *in vitro* nitrate reductase activity (NRA), and the ratio of *in vivo* to *in vitro* NRA in leaf blades of two spinach cultivars at different growth stages

生长时间/d	内源酶活性/μg NO₂·g⁻¹ FW·h⁻¹		外源酶活性/μg NO₂·g⁻¹ FW·h⁻¹		内源/外源	
	S4	S9	S4	S9	S4	S9
40	3.31bA	1.98bB	7.48bA	2.65bB	44.2%	74.5%
52	15.84aA	2.83bB	22.41aA	3.86bB	70.7%	73.3%
62	8.75bA	6.26aA	8.90bB	14.99aA	98.2%	41.8%

干物质的累积,说明植物体内累积硝态氮已开始被再利用^[19],其植株体内硝态氮含量下降速度明显高于品种S4。生长后期,下部老叶开始黄化脱落,植物已明显缺氮,生长受到抑制。因此,两个菠菜品种硝态氮含量均迅速降低,差异明显减小。可以看出,品种间硝态氮累积差异的变化可能与不同生长时期植物生长的氮素需求状况密切相关。

硝酸还原酶是植物氮代谢的关键酶,其活性高低在一定程度上可更灵敏地反映植物叶片氮素营养状况和代谢水平^[12],和植株生长的关系密切。对拟南芥叶片外源酶活性研究表明硝酸还原酶活性随植株生长速率降低而降低^[15],而对烟草叶片的研究却认为,硝酸还原酶活性和植株生长速率无相关关系^[20]。本研究表明,在旺长期,植株生长速度较快,高硝态氮累积品种S4内源和外源酶活性也迅速增加,而低累积品种S9酶活性增加幅度较小;抽薹初期,植株生长受到抑制,高硝态氮累积品种酶活性显著下降,低累积品种却显著增加,这表明植株生长变化对硝酸还原酶活性的影响因品种而异。硝酸还原酶不仅是硝态氮还原的限速酶^[21],同时是一种基质诱导酶^[22],主要存在于细胞质膜内侧。在旺长期,品种S4仍有硝态氮进入体内,有利于细胞质硝酸还原酶的合成与激活,因此该品种酶活性显著增加。品种S9累积硝态氮已开始被再利用,说明此时硝酸还原酶活性的维持主要依赖于贮存液泡的硝态氮被释放至细胞质^[13]。在生长后期,品种S4和S9累积硝态氮作为补给氮源大幅度被转化,硝酸还原酶活性的变化也可能与液泡硝态氮释放快慢有关。由此可见,硝酸还原酶活性和植株生长的关系与植物氮素营养状况密切相关。

品种间硝态氮累积差异和硝酸还原酶活性的关系一直是揭示品种间硝态氮累积差异原因的出发点,但两者的关系却无定论^[18]。旺长期,品种S4硝态氮含量、生长速率及内源、外源酶活性均显著高于品种S9,其硝态氮含量却降低较少,内源/外源酶活性比值也较低,因此品种间硝态氮含量变化及差异可能与潜在硝酸还原酶活性发挥程度较低有关。在生长后期,品种间硝态氮含量、生长量及内源酶活性差异均不显著,品种S4内源/外源酶活性比值显著增加的同时硝态氮含量大幅度下降,品种S9累积硝态氮几乎被耗竭,潜在酶活性的发挥程度因硝态氮的缺乏明显受到抑制。这进一步证明了硝态氮累积与潜在硝酸还原酶活性发挥程度变化之间的密切关系。因此,内源/外源酶活性比值更能揭示品种间硝态氮含量变化差异与

植株生长变化的关系。

4 结论

(1)两个菠菜品种间硝态氮含量存在显著差异,而生长量的差异不明显。随生长时间后移,地上部硝态氮累积随植株干重及水分含量增加而降低,低累积品种S9硝态氮下降(降低速率为100%)更为明显;生长后期随干重及水分含量下降而继续降低,高累积品种S4降低了60.1%,但仍慢于品种S9(89.7%)。因此,高累积品种可适当晚收,低累积品种S9在旺长期及时早收,既可减少硝态氮累积,也不影响蔬菜产量。

(2)植株生长变化对硝酸还原酶活性的影响因品种而异,植株生长快速增加时,高硝态氮累积品种内源和外源酶活性也迅速增加,而低累积品种酶活性增加幅度较小;植株生长受到抑制,高累积品种酶活性显著下降,低累积品种却显著增加。这表明硝酸还原酶活性并不能反映植株生长变化。

(3)旺长期,品种S4硝态氮含量、生长速率及内源、外源酶活性均显著高于品种S9,其硝态氮含量却降低较少,主要原因可能是其内源/外源酶活性比值(70.7%)较低,抽薹初期该品种的内源/外源酶活性比值(98.2%)显著增加后,硝态氮含量迅速下降进一步证明了这一推测。因此,内源/外源酶活性比值更能揭示植株生长变化引起的品种间硝态氮含量变化差异。

参考文献:

- [1] 陈俭霖. 蔬菜硝酸盐累积机制及其调控措施研究进展[J]. 污染防治技术, 2005, 18(3):29–31.
CHEN Jian-lin. Advance in mechanism of nitrate accumulation and measures for reducing content in vegetables[J]. *Pollution Control Technology*, 2005, 18(3):29–31.
- [2] CHEN Bao-ming, WANG Zhao-hui, LI Sheng-xiu, 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*, 2004, 167:635–643.
- [3] 张贵龙, 任天志, 邱建军, 等. 日光温室白萝卜生产系统的氮素利用与平衡研究[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(7):1500–1507.
ZHANG Gui-long, REN Tian-zhi, QIU Jian-jun, et al. Nitrogen utilization and balance of *Rapanus sativus* L. production system in green-house[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(7):1500–1507.
- [4] Jakszyn P, González C A. Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: A systematic review of the epidemiological evidence[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2006, 12(27): 4296–4303.
- [5] 王朝辉, 田霄鸿, 李生秀. 叶类蔬菜的硝态氮累积及成因研究 [J]. 生

- 态学报, 2001, 21(7):1136–1141.
- WANG Zhao-hui, TIAN Xiao-hong, LI Sheng-xiu. The cause of nitrate accumulation in leafy vegetables [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21 (7):1136–1141.
- [6] Bélanger G, Walsh J R, Richards J E, et al. Critical petiole nitrate concentration of two processing potato cultivars in Eastern Canada [J]. *American Journal of Potato Research*, 2003, 80:251–262.
- [7] Reinink K, Eenink A H. Genotypical difference in nitrate accumulation in shoots and roots of lettuce [J]. *Scientia Horticulture*, 1988, 37:13–24.
- [8] BLom-Zandstra M, Alber H E. Nitrate concentration and reduction in different genotypes of lettuce[J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1986, 111(6):908–911.
- [9] Reinink K, Groenwold R, Bootsma A. Genotypical differences in nitrate content in *Lactuca sativa* L. and related species and correlation with dry matter content[J]. *Euphytica*, 1987, 36:11–18.
- [10] Reinink K. Relationship between effects of seasonal change on nitrate and dry matter content in lettuce[J]. *Scientia Horticulture*, 1993, 53: 35–44.
- [11] 王西娜, 王朝辉, 陈宝明, 等. 不同品种菠菜叶柄和叶片的硝态氮含量与植株生长的关系[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(5): 675–681.
WANG Xi-na, WANG Zhao-hui, CHEN Bao-ming, et al. Nitrate accumulation in petiole and blade of different spinach cultivars and its relation to plant growth[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2005, 11 (5):675–681.
- [12] Michael A, Nicodemus K, Francis Salifu, et al. Nitrate reductase activity and nitrogen compounds in xylem exudate of *Juglans nigra* seedlings: Relation to nitrogen source and supply[J]. *Trees*, 2008, 22: 685–695.
- [13] 陈巍, 罗金葵, 尹晓明, 等. 硝酸盐在两个小白菜品种体内的分布及调配[J]. 中国农业科学, 2005, 38(11):2277–2282.
CHEN Wei, LUO Jin-kui, YIN Xiao-ming, et al. Distribution and remobilization of nitrate in two cultivars of Pakchoi plant[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(11):2277–2282.
- [14] YANG Xiao-yu, WANG Xiu-feng, WEI Min, et al. Changes of nitrate reductase activity in cucumber seedlings in response to nitrate stress[J]. *Agricultural Sciences in China*, 2010, 9(2):216–222.
- [15] Cheeseman J M, Tankou S K. Nitrate reductase and growth of *Arabidopsis thaliana* in solution culture[J]. *Plant and Soil*, 2004, 266:143–152.
- [16] Taghavi T S, Babalar M. The effect of nitrate and plant size on nitrate uptake and in vitro nitrate reductase activity in strawberry (*Fragaria ananassa* cv. *Selva*)[J]. *Scientia Horticulturae*, 2007, 112:393–398.
- [17] 王朝辉, 李生秀. 蔬菜不同器官的硝态氮与水分、全氮、全磷的关系[J]. 植物营养与肥料学报, 1996, 2(2):144–152.
WANG Zhao-hui, LI Sheng-xiu. Relationships between nitrate contents and water, total N as well as total P in different organs of vegetable plants[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 1996, 2(2): 144–152.
- [18] 刘忠, 王朝辉, 李生秀. 硝态氮难以在菠菜叶柄中还原的原因初探[J]. 中国农业科学, 2006, 39(11):2294–2299.
LIU Zhong, WANG Zhao-hui, LI Sheng-xiu. A preliminary study on why it is difficult to reduce nitrate in spinach petiole[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(11):2294–2299.
- [19] 宋海星, 刘强, 荣湘民, 等. 不同品种油菜氮效率差异及其成因分析[J]. 水土保持学报, 2007, 21(5):159–179.
SONG Hai-xing, LIU Qiang, RONG Xiang-min, et al. Studies on nitrogen efficiency differences and its reason analysis in different oilseed rape cultivar[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2007, 21(5): 159–179.
- [20] Scheible W R, González-Fontes A, Morcuende R, et al. Tobacco mutants with a decreased number of functional nia genes compensate by modifying the diurnal regulation of transcription, post-translational modification and turnover of nitrate reductase[J]. *Planta*, 1997, 203: 304–319.
- [21] Barber M J, Desai S K, Marohnic C C, et al. Synthesis and bacterial expression of a gene encoding the heme domain of assimilatory nitrate reductase[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2002, 402(1): 38–50.
- [22] Notton B A, Hewitt E J. Incorporation of radioactive molybdenum into protein during nitrate reductase formation and effect of molybdenum on nitrate reductase and diaphorase activities of spinach (*Spinacea oleracea* L.)[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1971, 12:465–477.
- [23] 刘忠, 王朝辉, 李生秀. 菠菜叶片硝态氮还原对叶柄硝态氮含量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2007, 3(2):313–317.
LIU Zhong, WANG Zhao-hui, LI Sheng-xiu. Influence of nitrate reduction in leaf blades on nitrate–N concentration in petioles of spinach[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2007, 13(2):313–317.