

硝态氮难以在菠菜叶柄中还原的原因初探

刘忠^{1,2}, 王朝辉¹, 李生秀¹

(¹西北农林科技大学资源与环境学院, 杨凌 712100; ²广西农业科学院, 南宁 530007)

摘要: 【目的】蔬菜硝态氮过量累积危害人类健康, 叶柄是蔬菜硝态氮累积的主要器官, 揭示其累积硝态氮的原因是解决这一问题的关键。【方法】以3个菠菜品种为供试材料, 设置不同氮水平进行盆栽试验, 在不同生长期采样, 测定叶柄硝态氮含量、内外源硝酸还原酶活性、细胞的硝态氮代谢库与贮存库大小, 以及加入叶片硝酸还原酶后叶柄组织的亚硝态氮生成速率。【结果】叶柄硝态氮含量与其硝酸还原酶活性、代谢库大小无明显关系, 但内外源硝酸还原酶活性的比值高、贮存库小, 加入叶片硝酸还原酶后叶柄组织的亚硝态氮生成速率高的品种, 其叶柄硝态氮含量低。【结论】叶柄潜在硝酸还原酶活性的实际表达程度、叶柄细胞液泡的大小、硝态氮由贮存库(液泡)进入代谢库(细胞质)的难易程度是造成硝态氮难以在叶柄中还原及品种间叶柄硝态氮含量差异的重要原因。

关键词: 叶柄; 硝态氮; 硝酸还原酶活性; 硝态氮代谢库

A Preliminary Study on Why It Is Difficult to Reduce Nitrate Spinach Petiole

LIU Zhong^{1,2}, WANG Zhao-hui¹, LI Sheng-xiu¹

(¹College of Resources and Environmental Science, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100;
²Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007)

Abstract: 【Objective】Over-accumulation of nitrate in leafy vegetables has resulted in detrimental impact on human health. Since petiole is the major organ for nitrate accumulation, an understanding of the cause for nitrate accumulation in this organ may be the key step to solve the problem. 【Method】A pot experiment was carried out to study the nitrate accumulation, distribution and allocation, as well as its reduction in the vegetable petioles, using three spinach (*Spinacia oleracea* L.) cultivars obviously different in nitrate concentration as test plants. Nitrogen fertilizer was applied at two rates, 0.1 and 0.3 g N·kg⁻¹ soil on the basal application of 0.3 g P₂O₅·kg⁻¹ soil. Determinations were performed for the petiole nitrate concentration, the *in vivo* and *in vitro* nitrate reductase activity (NRA) of the petiole tissue, and the nitrate metabolic pool size (NMPS) and storage pool size (NSPS) of the petiole cell. The velocity of nitrite formation in the petiole tissue was also determined after the nitrate reductase extracted from the leaf blade was added to the incubation solution. 【Result】The obtained results showed that the nitrate concentration of the petiole had no direct relationship with its NRA over different cultivars, but had a negative correlation with the ratio of *in vivo* to *in vitro* NRA. The NMPS in the petiole cell was not related, while the NSPS was positively correlated with the nitrate concentration in petioles over the tested cultivars. When the nitrate reductase extracted from leaf blades was added to the solution for incubation of petiole tissue, the formation rate of nitrite by petiole tissue was all increased for the three spinach cultivars, and it was obviously higher for cultivars with relatively lower petiole nitrate concentration. 【Conclusion】This indicated that the expressing degrees of the potential NRA in the petiole tissue, the NSPS of the petiole cell, and the capacity for the cell transporting nitrate from its storage pool (the vacuole) to metabolic pool (the plasma) were the main reason why it is difficult for nitrate to be reduced in petiole. Nitrate concentrations in the petiole were different over spinach cultivars.

Key words: Petiole; Nitrate N; Nitrate reductase activity; Nitrate metabolic pool

收稿日期: 2006-02-27; 接受日期: 2006-07-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(30370843, 30230230和40671107)、农业部“948”重大项目(2003-Z53)资助

作者简介: 刘忠(1978-), 女, 湖北松滋人, 助研, 硕士, 研究方向为植物营养生理。Tel: 0771-3276102; Fax: 0771-2230110; E-mail: lisaliuzhong@yahoo.com.cn. 通讯作者王朝辉(1968-), 男, 河北元氏人, 教授, 博士, 研究方向为作物系统的氮素及其生态环境效应。Tel: 029-87080055; Fax: 029-87080055; E-mail: w-zhaohui@263.net

0 引言

【本研究的重要意义】蔬菜体内过量累积的硝态氮对其本身危害不大，却严重危害人体健康^[1~5]。叶柄是蔬菜硝态氮累积的主要器官，揭示其累积硝态氮的原因，会为降低蔬菜硝态氮累积、选育硝态氮含量低的优良品种提供理论依据。【前人研究进展】硝态氮在植物体内的还原是影响累积的重要因素。硝酸还原酶是还原过程中的关键酶^[6,7]。自 1953 年发现以来^[8]，一直受到研究者的关注。由于硝酸还原酶主要分布在植物叶片中，目前关于硝态氮累积与还原的研究主要集中在硝态氮含量与叶片硝酸还原酶活性（nitrate reductase activity, NRA）的关系^[9~12]。【本研究切入点】除叶片外，叶柄也是叶类蔬菜的主要构成部分，占植株生物量的 30% 以上^[13]。不少研究表明菠菜各个器官的硝态氮含量有明显差异，叶柄中的硝态氮含量最高^[14~16]，可占整株累积总量的 60%~80% 以上^[13]，远高于根和叶片。叶柄硝态氮含量的高低，直接影响蔬菜整株的硝态氮累积水平。叶柄硝态氮含量为何如此高？叶柄中的硝态氮为何难以在叶柄被还原，或者难以转移到叶片中被还原呢？至今尚未见这方面的报道。除硝酸还原酶活性外，硝态氮在植物细胞中的分布也是影响其还原、转化和累积的重要因素。植物细胞内硝态氮呈区域化分布，大部分进入液泡，小部分存在于细胞质中。而硝酸还原酶则主要存在于细胞质膜内侧^[17,18]，可将细胞质中的硝态氮迅速还原，而液泡内因没有硝酸还原酶存在，其中的硝态氮难以被还原。因此，一般称细胞质为硝态氮的代谢库（metabolic pool），液泡为硝态氮的贮存库（storage pool）^[19,20]。硝态氮代谢库的大小（metabolic pool size, MPS）是影响植物硝态氮累积的主要内在因素^[21]。蔬菜叶柄的硝态氮累积与这些因素又是何种关系？累积于液泡中的硝态氮只有重新进入细胞质才能被还原，并参与氮素代谢。虽然硝态氮可以离开液泡，但离开液泡进入细胞质的速率又如何？均未见报道。【拟解决的关键问题】本文主要从不同菠菜品种叶柄内外源硝酸还原酶活性高低，叶柄的硝态氮代谢库大小，以及加入外源硝酸还原酶后叶柄组织亚硝态氮的生成速率来探讨叶类蔬菜叶柄硝态氮大量累积的原因。

1 材料与方法

1.1 试验布置

本研究的盆栽试验于 2003 年 9~12 月，在西北农林科技大学试验站温室进行。

试验钵为深棕色硬质不透光塑料盆，土壤为采自西北农林科技大学试验田 0~20 cm 耕层的土壤。土壤的有机质含量 15.2 g·kg⁻¹，全氮 1.1 g·kg⁻¹，硝态氮 41.2 mg·kg⁻¹，铵态氮 1.3 mg·kg⁻¹，速效磷 13.2 mg·kg⁻¹，速效钾 98.0 mg·kg⁻¹，pH 8.2。

2003 年 9 月 15 日装盆播种，每盆装土 4 kg（以干土计），每公斤土施 P₂O₅ 0.30 g，氮肥设每公斤土施纯氮 0.1 和 0.3 g 2 个水平；磷肥为三料磷肥，氮肥为硝酸钾。供试的 3 个菠菜品种分别来自甘肃（S1）、新疆（S19）和宁夏（S20）。每盆播 10 粒种子。待菠菜幼苗长出 3 片真叶时，每盆定苗 4 株。每个氮水平种植 24 盆，以保证每次采样均有 3 个重复。采用称重法灌水，每次灌水保持各盆土壤含水量为 20%。

1.2 采样与测定

分别在 2003 年 11 月 20 日和 12 月 5 日（晴天，上午 9:00）采样。采下的植株样立即装入塑料袋、标记密封，放入致冷藏箱，带回实验室。根据分析目的不同把蔬菜地上部分按器官部位分开，迅速称重，然后再分别装入塑料袋、标记密封、放入冰箱，在 0~4℃ 保存。叶柄的内外源硝酸还原酶活性，叶柄的硝态氮代谢库及贮存库，以及加入叶片硝酸还原酶粗提液后叶柄组织亚硝态氮的生成速率在采样当天测定；叶柄硝态氮的浸提在次日进行，浸提液中的硝态氮含量采用连续流动分析仪测定。

叶柄硝酸还原酶活性的测定：将不同品种菠菜的叶柄切成 0.1 cm 厚的小片，分别混合均匀，每个品种称 4 份，每份 1 g，分别装入盛有 10 ml 反应介质的 50 ml 三角瓶中。其中 1 个三角瓶在加入样品前预先加入 30% 的三氯乙酸 1 ml 作为对照，对照和处理的三角瓶均放入真空干燥器中，抽气，使样品完全浸入反应介质，然后取出三角瓶，盖上橡皮塞，转入恒温箱，在黑暗、30℃ 条件下培养 1 h。培养完成后，取出三角瓶，立即在处理的 3 个三角瓶中也加入 30% 的三氯乙酸 1 ml，终止反应。用磺胺比色法测定反应介质中形成的亚硝态氮。硝酸还原酶活性以每小时每克鲜组织样品形成亚硝酸根的微克数表示，单位为： $\mu\text{gNO}_2\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{h}^{-1}$ 。内源硝酸还原酶活性测定的反应介质为 10 ml pH 7.5 的 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸缓冲液，外源酶活性的反应介质为 pH 7.5 的 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸缓冲液 5 ml 和 0.2 mol·L⁻¹ 的 KNO₃ 5 ml。

叶柄细胞中硝态氮代谢库的测定参照 Steingröver 的方法^[22], 其大小以每克叶柄鲜组织样品中分配在细胞质中的硝态氮微克数表示, 单位为: $\text{mgN}\cdot\text{kg}^{-1}\text{FW}$ 。贮存库的大小由叶柄硝态氮含量与代谢库中硝态氮含量的差值求得。

叶片硝酸还原酶的提取参照陈薇等的方法^[23]: 将 3 个品种菠菜的叶片切成 $0.5\text{ cm}\times 0.5\text{ cm}$ 的小片, 每个品种称 1 份, 每份称取 4 g, 分别置于研钵中, 在低温冰箱中冰冻 0.5 h, 加入石英砂及提取液 32 ml 后, 用研棒磨成匀浆, 然后转移至 50 ml 离心管中, 在 10°C 、4 000 r/min 条件下离心 15 min, 得到的上清液即为硝酸还原酶的粗提液。提取液为 pH 8.8 的磷酸缓冲液 ($25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) + EDTA ($1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) + 半胱氨酸 ($10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。将 3 个品种菠菜叶片的酶粗提液等体积混匀、备用。

加入外源硝酸还原酶后, 叶柄组织亚硝态氮的生成速率测定: 将 3 个品种菠菜的叶柄分别切成 0.1 cm 厚薄片, 每个品种称 8 份, 每份 0.5 g, 分别放入盛有 5 ml pH 7.5、浓度为 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液的 50 ml 三角瓶中, 其中 4 个三角瓶中迅速加入 5 ml 硝酸还原酶粗提液 (其中 1 个三角瓶还加 30% 的三氯乙酸 1 ml 作为对照, 另外 3 个为处理), 剩余的 4 个三角瓶中各加 5 ml 蒸馏水 (其中一个预先加入 1 ml 三氯乙酸作为对照)。 30°C 暗中培养 1 min 后取出, 迅速往处理瓶中加入 30% 的三氯乙酸 1 ml 终止反应, 然后用磺胺比色法测定介质中的亚硝态氮生成量。叶柄组织的亚硝态氮生成速率以处理与对照的亚硝态氮生成量差值来计算, 单位为 $\mu\text{gNO}_2\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{h}^{-1}$ 。

2 结果与分析

2.1 不同菠菜品种的叶柄硝态氮含量差异

不同采样时间的测定 (表 1) 表明, 施用氮肥可以显著提高菠菜叶柄的硝态氮含量。第 1 次采样, 与每公斤土施纯氮 0.1 g 相比, 施 0.3 g 时, 品种 S19, S20 和 S1 叶柄的硝态氮含量分别增加 216, 210 和 117 $\text{mgN}\cdot\text{kg}^{-1}$; 第 2 次采样, 分别增加 322, 475 和 458 $\text{mgN}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。就同一施氮水平而言, 3 个品种的叶柄硝态氮含量存在明显差异, 且两次采样均是品种 S1 的叶柄硝态氮含量最高, S20 次之, S19 最低。由两次采样的叶柄硝态氮含量平均值来看, 在施氮量为 $0.1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 品种 S19, S20 和 S1 分别为 627, 659 和 773 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 施氮 $0.3\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 分别为 896、1 002 和 1 060

$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。可见, 菠菜品种之间的硝态氮累积差异, 不因氮肥用量和采样时期而变化。

表 1 两次采样 3 个菠菜品种的叶柄硝态氮含量

Table 1 Nitrate concentration in the petiole of 3 spinach cultivars at 2 sampling times

采样时间 Sampling date	品种 Cultivars	硝态氮含量 Nitrate concentration ($\text{mgN}\cdot\text{kg}^{-1}$)	
		$0.1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$0.3\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$
Nov. 20	S19	871	1087
	S20	884	1094
	S1	1018	1135
<i>LSD</i> _{0.05}		51	62
Dec. 5	S19	383	705
	S20	434	909
	S1	527	985
<i>LSD</i> _{0.05}		90	76

2.2 不同菠菜品种叶柄的内、外源硝酸还原酶活性

对 3 个菠菜品种的叶柄内、外源硝酸还原酶活性测定结果表明 (表 2), 就叶柄而言, 不论是其内源, 还是外源硝酸还原酶活性, 均与硝态氮含量无确定的关系。然而, 内源/外源硝酸还原酶活性比值的情况却

表 2 3 个菠菜品种叶柄的内、外源硝酸还原酶活性

Table 2 *In vivo* and *in vitro* NRA in the petiole of the 3 spinach cultivars

施氮量 N rates ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	品种 Cultivars	叶柄硝酸还原酶活性 NRA in petiole ($\mu\text{g NO}_2\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{h}^{-1}$)		内源/外源 <i>In vivo</i> / <i>In vitro</i>
		内源 <i>In vivo</i>	外源 <i>In vitro</i>	
		Nov. 20		
0.1	S19	3.07	3.55	86.5
	S20	2.88	4.90	58.7
	S1	2.88	4.68	61.5
<i>LSD</i> _{0.05}		0.5	0.6	
0.3	S19	4.03	4.66	86.4
	S20	3.97	5.02	79.2
	S1	3.94	5.17	76.1
<i>LSD</i> _{0.05}		0.2	0.45	
Dec. 5				
0.1	S19	3.54	6.44	54.9
	S20	3.82	7.36	51.9
	S1	4.06	13.27	30.6
<i>LSD</i> _{0.05}		0.58	2.49	
0.3	S19	8.66	10.79	80.3
	S20	8.08	15.63	51.7
	S1	6.64	13.27	50.0
<i>LSD</i> _{0.05}		3.99	1.55	

不同。11 月 20 日采样, 除施氮 $0.1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的处理外, 3 个品种间叶柄的硝态氮含量与其内源/外源硝酸还原酶活性的比值均呈相反趋势, 即比值高的硝态氮含量低; 反之, 硝态氮含量则高。从两次采样的平均值来看, 在施氮量为 $0.1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 品种 S19, S20 和 S1 内源/外源硝酸还原酶活性的比值分别为 70.7%、55.3% 和 46.1%; 施氮 $0.3\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 分别为 83.4%、65.5% 和 63.1%。均与品种间叶柄硝态氮含量呈相反趋势。

2.3 不同菠菜品种叶柄细胞的硝态氮代谢库大小

两次采样对叶柄细胞硝态氮贮存与代谢库的测定 (表 3) 表明: 叶柄细胞中硝态氮代谢库的大小远小于贮存库, 仅有 0.2%~0.7% 的硝态氮分布于代谢库, 可见叶柄细胞的硝态氮代谢库很小。从不同品种来看, 3 个品种之间叶柄细胞的硝态氮代谢库大小亦无确定关系。与代谢库不同, 贮存库大小依次为 S1 最高, S20、S19 依次次之, 与叶柄的硝态氮含量高低情况一致。

2.4 加入外源硝酸还原酶后叶柄组织亚硝态氮的生成速率

对加入和未加叶片硝酸还原酶的叶柄组织亚硝态氮生成速率的测定表明, 加入外源硝酸还原酶后, 3 个品种叶柄组织的亚硝态氮生成速率均明显增加。

表 3 3 个菠菜品种叶柄细胞的硝态氮代谢库与贮存库大小
Table 3 Nitrate metabolic and storage pool size in the petiole cell of 3 spinach cultivars

施氮量 N Rates ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	品种 Cultivars	代谢库与贮存库 NMPS and NSPS ($\text{mg N}\cdot\text{kg}^{-1}$)	
		代谢库 MPS	贮存库 SPS
Nov. 20			
0.1	S19	4	867
	S20	4	880
	S1	4	1014
$LSD_{0.05}$		0.3	0.34
0.3	S19	4	1082
	S20	5	1089
	S1	5	1131
$LSD_{0.05}$		0.2	0.21
Dec. 5			
0.1	S19	2	382
	S20	2	432
	S1	1	525
$LSD_{0.05}$		0.4	0.37
0.3	S19	5	701
	S20	5	904
	S1	4	982
$LSD_{0.05}$		0.3	0.26

从加入硝酸还原酶后亚硝态氮的生成速率来看, 不论是施氮 $0.1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 还是 $0.3\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的处理, 均是品种 S19 最高、S20 次之、S1 最低。这与叶柄硝态氮含量的高低顺序相反。说明硝态氮由液泡进入细胞质的速率高, 则硝态氮易被还原, 叶柄的硝态氮含量就低; 反之, 则高。

表 4 加入叶片硝酸还原酶后叶柄组织亚硝态氮生成速率
Table 4 Formation rate of nitrite by petiole tissue after addition of nitrate reductase extracted from leaf blade of spinach

施氮量 N rates ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	品种 Cultivars	亚硝态氮的生成速率 Rate of reducing nitrate to nitrite ($\mu\text{g NO}_2^- \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}\cdot\text{h}^{-1}$)	
		加入前 No reductase addition	加入后 Addition of reductase
		0.1	S19
	S20	3.89	4.55
	S1	2.98	3.68
$LSD_{0.05}$		0.68	0.51
0.3	S19	5.62	6.48
	S20	5.37	5.86
	S1	4.59	5.41
$LSD_{0.05}$		0.74	0.53

采样时间为 2003 年 12 月 5 日 Sampling: December 5, 2003

3 讨论

植物硝态氮累积与硝酸还原酶活性的关系一直是作物氮素营养研究的热点问题, 但关于两者的关系一直没有定论。有人认为, 硝酸还原酶是底物诱导酶, 基质中硝态氮含量高时, 有利于诱导该酶合成和激活, 所以硝态氮含量与硝酸还原酶活性呈正相关^[24]; 有人认为, 硝酸还原酶活性高时, 可还原更多的硝态氮, 有利于降低基质中硝态氮含量, 因此硝态氮含量与硝酸还原酶活性呈负相关^[9]。陈宝明对 30 个菠菜品种的测定证明, 作物的硝酸还原酶活性与硝态氮含量之间不能用确定的正或负相关来描述^[13]。本试验对 3 个菠菜品种的研究进一步证实这一结论。就叶柄而言, 不论是其内源, 还是外源硝酸还原酶活性, 均与硝态氮含量无确定关系。

由于内源酶活性反映了植物实际生长条件下的酶活性, 外源酶活性代表着硝酸还原酶的潜在或最大还原能力, 所以内源与外源硝酸还原酶活性的比值反映了潜在硝酸还原酶活性得以实际表达的程度。试验结果表明, 3 个品种间叶柄的硝态氮含量与其内/外源

硝酸还原酶活性的比值均呈相反趋势,即比值高的硝态氮含量低;反之,硝态氮含量则高。这进一步证明影响蔬菜硝态氮含量高低的不是硝酸还原酶活性的绝对数值大小,而是潜在硝酸还原酶活性的表达程度。潜在硝态氮还原能力得以实际发挥的程度越高,还原的硝态氮越多,蔬菜的硝态氮含量就越低。潜在硝酸还原酶活性的实际表达程度是影响硝态氮累积的一个重要因素,叶柄硝态氮含量高与其潜在硝酸还原酶活性不能充分发挥有关。

3个菠菜品种叶柄细胞硝态氮代谢库远小于贮存库,细胞内的硝态氮仅有0.2%~0.7%分布于代谢库,说明叶柄细胞的硝态氮代谢库很小,叶柄本身对硝态氮的还原代谢能力很低。品种间叶柄硝态氮代谢库大小与其硝态氮含量也没有确定关系。然而,贮存库大小与叶柄硝态氮含量高低却情况一致,即贮存库大的品种,其叶柄硝态氮含量高。进一步说明叶柄的硝态氮主要贮存在液泡中^[25,26],叶柄组织细胞的硝态氮贮存库(液泡)大小是影响其硝态氮累积高低的重要原因。

影响叶柄硝态氮还原的因素除硝酸还原酶活性、硝态氮在细胞质与液泡之间的分配外,硝态氮离开液泡进入细胞质的难易程度也是一个重要的制约因素。一般生长条件下,叶柄细胞自身的硝酸还原酶对硝态氮的还原能力较低,其组织的亚硝态氮生成速率不能反映叶柄细胞内硝态氮由液泡进入细胞质的最高速率。因此,在本试验中,由叶片组织提取有活性的硝酸还原酶,加入到叶柄组织培养液中,来诱导和提高叶柄组织的亚硝态氮生成速率。试验结果证明,提取叶片硝酸还原酶加入到叶柄组织培养液中,确实可以提高叶柄组织的亚硝态氮生成速率。与3个菠菜品种叶柄的硝态氮含量比较可以看出,加入硝酸还原酶后亚硝态氮生成速率高的品种,其叶柄硝态氮含量低。由于加入硝酸还原酶后的亚硝态氮生成速率可以较客观地反映硝态氮由叶柄组织液泡进入细胞质的速率,因此这一结果说明硝态氮由液泡进入细胞质的速率高,则硝态氮易被还原,叶柄的硝态氮含量就低。硝态氮离开液泡进入细胞质的难易程度也是影响品种之间叶柄硝态氮含量高低的一个重要因素。

4 结 论

植物潜在硝酸还原酶活性的实际表达程度是影响其硝态氮累积的一个重要因素。叶柄硝态氮含量高的品种与其叶柄潜在硝酸还原酶活性不能充分发挥

有关。硝态氮主要贮存在液泡中,硝态氮贮存库(液泡)大小是造成植物硝态氮累积多少的重要原因。叶柄细胞硝态氮贮存库大的品种,其叶柄硝态氮含量亦高;硝态氮由液泡进入细胞质的速率高,则硝态氮易被还原,叶柄的硝态氮含量就低。硝态氮离开液泡进入细胞质的难易程度也是影响品种之间叶柄硝态氮含量高低的一个重要因素。这些结果对于进一步深入揭示叶柄过量累积硝态氮的原因,降低蔬菜硝态氮累积,选育硝态氮含量低的蔬菜品种有重要意义。

References

- [1] Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. *Harcourt Brace Jovanovich Martin*, 1986: 197-218.
- [2] Dich J, Jrvinen R, Knekt P, Penttil P L. Dietary intakes of nitrate, nitrite and NDMA in the finish mobile clinic health examination survey. *Food Additive and Contaminants*, 1996, 13: 541-552.
- [3] Walker R. Nitrate, nitrite and N-nitroso compounds: A review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. *Food Additive and Contaminants*, 1990, 7: 717-768.
- [4] Choi B C K. N-nitroso compounds and human cancer: a molecular epidemiological approach. *American Journal of Epidemiology*, 1985, 121: 737-743.
- [5] 沈明珠, 翟宝杰, 东惠茹, 李俊国. 蔬菜硝酸盐累积的研究 I. 不同蔬菜硝酸盐、亚硝酸盐含量评价. *园艺学报*, 1982, 9(4): 41-48.
Shen M Z, Zhai B J, Dong H R, Li J G. Studies on nitrate accumulation in vegetable crops I. Evaluation of nitrate and nitrite in different vegetables. *Acta Horticulturae Science*, 1982, 9(4): 41-48. (in Chinese)
- [6] Beevers L, Hagean R H. Uptake and reduction of nitrate: bacteria and higher plants. *Inorganic Plant Nutrition. Encyclopedia of Plant Physiology. New Series*, 1983, 15A: 351-375.
- [7] Tischner R. Nitrate uptake and reduction in higher and lower plants. *Plant, Cell and Environment*, 2000, 23: 1005-1024.
- [8] Evans H J, Nason A. Pyridine nucleotide nitrate reductase from extracts of higher plants. *Plant Physiology*, 1953, 28: 233-254.
- [9] Datta R, Sharma R. Temporal and spatial regulation of nitrate reductase and nitrate reductase in greening maize leaves. *Plant Science*, 1999, 144: 77-83.
- [10] 胡承孝, 邓波儿, 刘同仇. 施用氮肥对小白菜、蕃茄中硝酸盐累积的影响. *华中农业大学学报*, 1992, 11: 239-243.
Hu C X, Deng B E, Liu T C. Effects of nitrogen fertilizer on nitrate accumulation by the Chinese cabbage (*Brassica Chinensis*) and

- toamato (*Lycopersicon Esculentum*). *Journal of Huazhong Agricultural University*, 1992, 11: 239-243. (in Chinese)
- [11] 陈新平, 邹春琴, 刘亚萍, 张福锁. 菠菜不同品种累积硝酸盐能力的差异及其原因. *植物营养与肥料学报*, 2000, 6(1): 30-34.
Chen X P, Zou C Q, Liu Y P, Zhang F S. The nitrate content difference of the reason among four spinach varieties. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2000, 6 (1): 30-34. (in Chinese)
- [12] 王利群, 王 勇, 董 英, 王文兵. 硝酸盐对硝酸还原酶活性的诱导及硝酸还原酶基因的克隆. *生物工程学报*, 2003, 19: 632-635.
Wang L Q, Wang Y, Dong Y, Wang W B. Induced activity of nitrate reductase by nitrate and cloning of nitrate reductase gene. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2003, 19: 632-635. (in Chinese)
- [13] 陈宝明. 蔬菜硝态氮临界含量及其影响因素. 西北农林科技大学硕士研究生学位论文, 2002.
Chen B M. 2002. Critical nitrate-N concentration in vegetables and influencing factors. A Dissertation for the Degree of Master of Northwest Agriculture and Forestry University, 2002. (in Chinese)
- [14] 白碧君. 蔬菜中硝酸盐积累及其控制的研究. *农业文摘 (园艺)*, 1992, 8(6): 8-15.
Bai B J, Research on nitrate accumulation in vegetables and its regulation. *Agricultural Abstracts (Horticulture)*, 1992, 8 (6): 8-15. (in Chinese)
- [15] 艾绍英, 唐拴虎, 李生秀, 史崇英. 氮素供应水平对蔬菜硝酸盐积累与分布的影响. *华南农业大学学报*, 2000, 21(2): 14-17.
Ai S Y, Tang S H, Li S X, Shi C Y. Influence of nitrogen rates on nitrate accumulation and distribution in vegetables. *Journal of South China Agricultural University*, 2000, 21 (2): 14-17. (in Chinese)
- [16] 陈 巍, 罗金葵, 尹晓明, 贾莉君, 张攀伟, 沈其荣. 硝酸盐在两个小白菜品种体内的分布及调配. *中国农业科学*, 2005, 38: 2277-2282.
Chen W, Luo J K, Yin X M, Jia L J, Zhang P W, Shen Q R. Distribution and remobilization of nitrate in two cultivars of pakchoi plant. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38: 2277-2282. (in Chinese)
- [17] Campbell W H. Nitrate reductase and its role in nitrate assimilation in plants. *Physiol Plant*, 1988, 74: 214-219.
- [18] Ward M R, Grimes H D, Huffaker R C. Latent nitrate reductase activity is associated with the plasma membrane of corn roots. *Planta*, 1989, 177: 470-475.
- [19] Martinoia E, Heck U, Wiemken A. Vacuoles as storage compartments for nitrate in barley leaves. *Nature*, 1981, 289: 292-294.
- [20] 许长嵩. 植物体内 NO_3^- 的可给性对硝酸还原酶活性的调节. *植物生理学通讯*, 1991, 27(3): 173-177.
Xu C A. Regulation of nitrate reductase activity *in vivo* by nitrate availability in higher plants. *Plant Physiology Communication*, 1991, 27 (3): 173-177. (in Chinese)
- [21] 董晓英, 李式军, 沈仁芳. 白菜不同品种对酸盐吸收积累的差异原因初探. *园艺学报*, 2003, 30: 470-472.
Dong X Y, Li S J, Shen R F. The nitrate uptake and accumulation of pakchoi. *Acta Horticulturae Sinica*, 2003, 30: 470-472. (in Chinese)
- [22] Steingröver E, Ratering P, Siesling J. Daily changes in uptake, reduction and storage of nitrate in spinach grown at low light intensity. *Plant Physiology*, 1986, 66: 550-556.
- [23] 陈 薇, 张德颐. 植物组织中硝酸还原酶的提取、测定和纯化. *植物生理学通讯*, 1980, (4): 45-49.
Chen W, Zhang D E. Extraction, determination and purification of nitrate reductase from plant tissue. *Plant Physiology Communication*, 1980, (4): 45-49. (in Chinese)
- [24] 高祖明, 张耀栋, 张道勇, 史瑞和. 氮磷钾对叶菜硝酸盐累积和硝酸还原酶、过氧化物酶活性的影响. *园艺学报*, 1989, 16: 293-297.
Gao Z M, Zhang Y D, Zhang D Y, Shi R H. Effects of N, P, K treatments on the cumulation of nitrate and the activities of nitrate reductase and superoxidase in two leafy vegetables. *Acta Horticulturae Science*, 1989, 16: 293-297. (in Chinese)
- [25] Miller A J, Smith S J. Nitrate transport and compartmentation in cereal root cells. *Journal of Experiment Botany*, 1996, 47: 843-854.
- [26] McIntyre G I. The role of nitrate in the osmotic and nutritional control of plant development. *Australian Journal of Plant Physiology*, 1997, 24: 103-118.

(责任编辑 李云霞)