

研究报告 Original Papers

菠菜叶片中硝态氮还原与叶柄中硝态氮累积的关系

刘忠 王朝辉* 陈宝明 李生秀

西北农林科技大学资源环境学院, 杨凌 712100

摘要 测定了不同生长期在不同施氮水平下3个菠菜品种各器官的硝态氮含量、叶片的硝酸还原酶活性、叶片细胞硝态氮的贮存库和代谢库大小。结果表明: 叶柄中硝态氮含量远高于其它器官, 其含量与叶片内源/外源硝酸还原酶活性的比值呈负相关; 叶片细胞中硝态氮代谢库的大小与叶柄中硝态氮含量之间没有确定的关系。

关键词 叶柄; 硝态氮; 硝酸还原酶活性; 硝态氮代谢库

Relationship Between Nitric Nitrogen Reduction in Leaf and Its Accumulation in Petiole of Spinach

LIU Zhong, WANG Zhao-Hui*, CHEN Bao-Ming, LI Sheng-Xiu

College of Resources and Environment Science, Northwestern Science and Technology University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100

Abstract The results showed that nitrate concentration in petiole is much higher than that in the other organs, nitrate concentration of petiole was negatively correlated with the ratio of *in vivo* nitrate reductase activity (NRA) to *in vitro* NRA in blade, and the nitrate metabolic pool size (MPS) in blade cell showed no certain relationship with nitrate concentration in petiole.

Key words petiole; nitrate; nitrate reductase activity; nitrate metabolic pool

叶类蔬菜累积的硝态氮是人类摄入硝态氮的主要来源^[1-3], 严重危害人类健康^[4,5]。我们的调查表明当前蔬菜中硝态氮污染依然严重^[6]。作为植物体内硝态氮还原的限速酶, 硝酸还原酶主要分布于叶片中, 其活性与硝态氮累积的关系一直是植物营养生理研究的热点问题。硝酸还原酶活性按测定方法可分为内源和外源酶活性。前者代表实际生长条件下的酶活性; 后者则反映了叶片硝酸还原酶的潜在或最高还原能力。目前研究的主要是内源酶活性^[7-9], 而忽视了外源酶活性与硝态氮累积的关系, 因而难以全面说明两者的关系。

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^[10]。叶柄中硝态氮含量高低, 直接影响蔬菜整株的硝态氮累积水平。但叶片对硝态氮的还原如何影响叶柄的硝态氮累积, 至今未见报道。植物叶片细胞内的硝态氮呈区域化分布^[11], 大部分进入贮存库(液泡), 小部分位于代谢库(细胞质)中。硝态氮代谢库大

小是植物氮素代谢能力高低的重要标志, 颇受人们关注。它与叶类蔬菜硝态氮累积的关系又是如何呢? 本文以硝态氮含量差异显著的3个菠菜品种为试验材料, 探讨了叶片中内源和外源硝酸还原酶活性, 以及硝态氮代谢库大小与叶柄硝态氮含量的关系。

材料与方法

培养试验在本校农业试验站温室进行。土壤采自大田耕层。土壤有机质含量为14.4 g·kg⁻¹, 全氮为1.4 g·kg⁻¹, 硝态氮为47.5 mg·kg⁻¹, 铵态氮为11.2 mg·kg⁻¹, Olsen-P为25.3 mg·kg⁻¹, 速效钾为107.7 mg·kg⁻¹, pH值为7.7。菠菜(*Spinacia*

收稿 2003-07-31 修定 2003-11-24

资助 国家重点基础研究专项经费项目(G1999011707) 和国家自然科学基金项目(30370843、39970429和30070429)。*通讯作者(E-mail:w-zhaohui@263.net, Tel:029-87092475)。

oleracer) 来自我国北方不同地区的3个品种: S1、S19、S20。试验在每公斤土施磷 0.30 g P_2O_5 的基础上, 设每公斤土施 0.30、0.45 和 0.60 g N 3 个氮水平, 每处理重复 4 盆。2001 年 8 月 26 日种植, 试验用盆为红棕色、硬质、不透光塑料盆, 每盆装土 4 kg (以干土计)。磷肥为过磷酸钙 (含 P_2O_5 12%), 全部与土壤混匀作基肥; 氮肥为尿素, 1/2 作基肥, 1/2 于四叶期定苗后 (每盆定植 6 株), 随灌水施入。蔬菜生长期间, 视土壤干湿情况灌水, 每次灌水保持土壤水分含量为 20%。

菠菜不同器官中硝态氮含量于 2001 年 11 月 29 日和 2001 年 12 月 14 日测定, 硝酸还原酶活性于 2001 年 11 月 26 日和 2001 年 12 月 13 日测定, 叶细胞代谢库与贮存库的测定在 2001 年 11 月 25 日和 2001 年 12 月 13 日进行。采样前 2 d 灌水 1 次, 以使采样时土壤湿度适宜, 便于取出菠菜根系。采样在晴天早上 8:30~9:30 之间进行, 采下的植株立即挂好标签, 装入塑料袋, 密封袋口, 以防水分散失, 带回实验室。根据分析目的将菠菜按器官分开, 以防止硝态氮在各器官之间转移。用自来水洗去根系表面粘附的泥土, 并立即用吸水纸擦干。迅速称量各器官、部位鲜重后, 用于测定硝态氮含量的样品分别切碎混匀, 装入塑料袋, 贴好标签, 放入 0~4℃ 冰箱中保存。硝态氮的浸取在采样的次日进行, 硝酸还原酶活性和叶细胞代谢库、贮存库的测定在采样当天进行。

植株各部位硝态氮含量采用研磨浸提法^[6], 将新鲜植物样制成待测液, 用连续流动分析仪测定待测液中的硝态氮含量。

叶片中硝酸还原酶活性分别采用内源和外源基质法^[10], 硝酸还原酶活性以每小时每克鲜样形成的亚硝酸根微克数表示 [$\mu\text{g}(\text{NO}_2) \cdot \text{g}^{-1}(\text{FW}) \cdot \text{h}^{-1}$]。

叶片细胞中硝态氮代谢库的测定参照 Steingröver^[12]、陈宝明等^[13]的方法; 贮存库的大小根据叶片中硝态氮含量与代谢库硝态氮含量的差值计算求得。

结果与讨论

1 菠菜各器官的硝态氮含量

测定 3 个菠菜品种各器官中硝态氮的结果表明, 叶柄中硝态氮含量最高, 且氮肥用量增加, 叶柄中硝态氮含量增加幅度最大。另外, 从整株的硝态氮含量 (图 1) 来看, 3 个品种的硝态氮含量存在明显差异: S1 的硝态氮含量最高, S20 次之, S19 最低。3 个品种的叶柄与根的硝态氮含量变化与整株一致。叶片却不同, 品种 S1 叶片中硝态氮含量最高, 但 S20 的含量却低于 S19。此外, 与根相比, 品种间叶柄的硝态氮含量差异更显著。可见, 叶柄中硝态氮含量差异更能明显地反映品种间的差异。

2 叶柄中硝态氮含量与叶片硝酸还原酶活性的关系

表 1 表明:

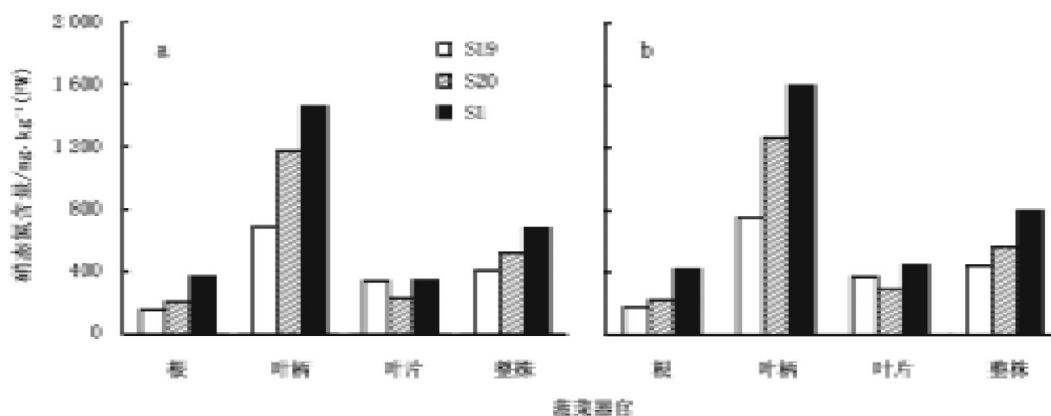


图1 菠菜各器官的硝态氮含量

Fig. 1 Nitric nitrogen contents in different organs of spinach

a. 施氮量为 0.3 g(N)·kg⁻¹(土); b. 施氮量为 0.45 g(N)·kg⁻¹(土)。采样时间: 2001 年 12 月 13 日。

表1 菠菜不同器官中硝态氮含量与叶片硝酸还原酶活性

Table 1 Nitric nitrogen contents in different organs and nitrate reductase activity in leaf of spinach

测定时间	品种	硝态氮含量/ mg kg^{-1}		叶片硝酸还原酶活性		
		叶柄	叶片	内源/ $\mu\text{g}(\text{NO}_2) \cdot \text{g}^{-1}(\text{FW}) \cdot \text{h}^{-1}$	外源/ $\mu\text{g}(\text{NO}_2) \cdot \text{g}^{-1}(\text{FW}) \cdot \text{h}^{-1}$	内源/外源(%)
11月26日	S19	944	571	18.1	36.4	49.7
	S20	1 473	606	17.7	42.7	41.3
	S1	1 481	593	14.1	61.1	23.1
12月13日	S19	686	342	10.4	17.8	58.4
	S20	1 171	232	8.5	18.9	45.1
	S1	1 454	345	9.9	29.0	34.1

土壤施氮量为 0.3 g kg^{-1} (土)。

(1)叶柄的硝态氮含量依然是S1最高, S20次之, S19最低, 与图1的顺序一致; 叶片的硝态氮含量则无确定顺序。进一步说明, 叶柄的硝态氮含量可以反映品种间硝态氮累积的差异。不同时间采样, 品种间叶片硝态含量高低变化的不确定性, 可能是叶片硝态氮含量与硝酸还原酶之间没有确定相关关系的原因之一。

(2)叶柄中硝态氮含量与叶片内源硝酸还原酶活性呈明显的负相关, 与外源硝酸还原酶活性呈正相关。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高还原能力, 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。3个品种间, 叶柄硝态氮含量与叶片内源/外源硝酸还原酶活性的比值呈明显的负相关(表1),

说明潜在硝态氮还原能力实际表达的程度越高, 还原的硝态氮就越多, 植株的硝态氮累积就越少, 是影响硝态氮累积的一个重要因素。

3 叶柄中硝态氮含量与叶片中硝态氮代谢库的关系

在施氮 0.6 g kg^{-1} (土)的情况下(表2), 植株叶柄的硝态氮含量依然是S1最高, S20次之, S19最低, 与前述结果(图1、表1)均一致; 而叶片硝态氮含量在品种间仍无确定顺序。测定叶片细胞中硝态氮贮存与代谢库的结果(表2)表明, 两者与叶柄的硝态氮含量间无确定的关系。虽然品种S1和S19、S19和S20之间, 叶片代谢库硝态氮含量高时, 叶柄的硝态氮含量较低, 但在品种S1和S20之间, 这一趋势并不存在, 且品种S1和S19的硝态氮代谢库差异亦不明显。就叶片代谢库与贮存库的硝态氮含量比值来看, 第2次采样

表2 菠菜不同器官中硝态氮含量与叶片细胞硝态氮代谢库和贮存库大小

Table 2 Nitric nitrogen contents in different organs, and MPS and storage pool size (SPS) of nitrate in the leaf blade cell of spinach

测定时间	品种	硝态氮含量/ mg kg^{-1}		叶片细胞硝态氮代谢库和贮存库		
		叶柄	叶片	代谢库/ $\text{mg}(\text{N}) \cdot \text{kg}^{-1}$	贮存库/ $\text{mg}(\text{N}) \cdot \text{kg}^{-1}$	代谢库/贮存库(%)
11月25日	S19	1 196	724	13	711	1.9
	S20	1 695	782	9	773	1.1
	S1	1 889	765	12	753	1.6
12月13日	S19	775	429	23	406	5.7
	S20	1 392	369	18	351	5.1
	S1	1 768	535	22	513	4.3

土壤施氮量为 0.6 g kg^{-1} (土)。

时, 其与品种间叶柄的硝态氮含量呈负相关, 但第1次采样却未见有这一关系。

总之, 虽然人们越来越认为叶片细胞中硝态氮代谢库的大小可以反映植物还原硝态氮的能力^[14, 15], 但它能否解释叶类蔬菜品种间硝态氮累积的差异? 硝态氮代谢库与贮存库的比值是反映硝态氮在细胞质与液泡之间的分配, 但这种分配上的差异是如何影响叶柄中硝态氮含量的, 它与品种间硝态氮累积的差异又有何关系, 均待进一步研究。

参考文献

- 1 沈明珠, 翟宝杰, 车惠茹等. 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
- 2 Vogtmann H, Temperli AT, Ukunsh et al. Accumulation of nitrates in leafy vegetables grown under contrasting agricultural systems. Biol Agr Hort, 1984, 2: 51~68
- 3 Santamaria P, Elia A. Producing nitrate-free endive heads: Effect of nitrogen form on growth, yield, and ion composition of endive. J Am Soc Hort Sci, 1997, 122(1): 140~145
- 4 Walker R. Nitrate, Nitrite and N-nitroso compounds: A review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. Food Add Cont, 1990, 7: 717~768
- 5 Dich J, Jrvinen R, Knekt P et al. Dietary intakes of nitrate, nitrite and NDMA in the Finish Mobile Clinic Health Examination Survey. Food Add Contam, 1996, 13: 541~552
- 6 王朝辉, 李生秀. 蔬菜不同器官的硝态氮含量与水分、全氮、全磷含量的关系. 植物营养与肥料学报, 1996, 2(2): 144~152
- 7 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(3): 239~243
- 8 Datta R, Sharma R. Temporal and spatial regulation of nitrate reductase and nitrite reductase in greening maize leaves. Plant Sci, 1999, 144: 77~83
- 9 高祖明, 张耀栋, 张道勇等. 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(4): 293~298
- 10 陈宝明. 蔬菜硝态氮临界含量及其影响因素[硕士学位论文]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2002
- 11 Martinoia E, Heck U, Wienken A. Vacuoles as storage compartments for nitrate in barley leaves. Nature, 1981, 289: 292~293
- 12 Steingröver E, Ratering P, Siesling J. Daily changes in uptake, reduction and storage of nitrate in spinach grown at low light intensity. Plant Physiol, 1986, 66: 550~556
- 13 陈宝明, 王朝辉, 李生秀. 菠菜叶片中硝态氮代谢库的测定. 植物生理学通讯, 2002, 38(2): 124~126
- 14 Campbell WH. Nitrate reductase and its role in nitrate assimilation in plants. Physiol Plant, 1988, 74: 214~219
- 15 Ferrari TE, Varner JE. Intact tissue assay for nitrite reductase in barley aleurone layers. Plant Physiol, 1971, 47: 790~794