

白菜不同品种对硝酸盐吸收积累差异原因初探

董晓英^{1,2} 李式军² 沈仁芳¹

(¹ 土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008; ² 南京农业大学园艺学院, 南京 210095)

摘要: 用两组积累硝酸盐不同的白菜品种作试材, 测定其吸收硝酸盐的速率、动力学常数 K_m 与 V_{max} 、硝酸还原代谢库内硝酸根浓度 (MPS) 和硝酸还原酶活性 (NRA), 结果表明, 不同白菜品种吸收硝酸盐的速率、 K_m 与 V_{max} 、MPS、NRA 存在较大的差异; 硝酸盐积累的差异主要是由于吸收硝酸盐的速率不同, 与硝酸根在其体内的运转、代谢并无显著直接相关。

关键词: 白菜; 硝酸盐; 吸收

中图分类号: S 634.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 04-0470-03

1 目的、材料与方法

大量研究证明硝酸盐对人体有害。作者以白菜 (*Brassica campestris* L. ssp. *Chinensis* Makino.) 为试材, 通过测定不同品种间硝酸盐吸收速率及吸收动力学的差异、硝酸还原酶活性 (NRA) 及代谢库内硝酸盐含量 (MPS), 试图探明造成其积累差异的机理, 为降低硝酸盐积累提供理论依据。4 个品种为青优 3 号、杨青 1 号、寒优 1 号、矮抗青。种子消毒后催芽, 播在装有蛭石和珍珠岩的育苗盘中, 出苗后浇去离子水, 一星期后浇 1/4 Hoagland 营养液, 以长有 3 片真叶的幼苗作为试验材料。在测前取出完整幼苗, 用去离子水冲洗干净备用。试验在培养室内进行, 温度为 20~25℃。每处理均重复 3 次。幼苗吸收硝酸盐速率的测定: 幼苗放在 0.2 mmol/L KNO_3 溶液内, 6500 lx 光照, 通气, 诱导幼苗吸收硝酸盐的能力, 3 h 后把幼苗转入 30 mL KNO_3 溶液中 (KNO_3 低浓度水平: 0.05、0.2、0.5、1.0、2.0 mmol·L⁻¹; KNO_3 高浓度水平: 5、10、20、35、50 mmol·L⁻¹), 吸收 4 h 后取出幼苗, 测定吸收后溶液中硝酸根的浓度。幼苗吸收硝酸盐时间的测定: 每品种各 4 株幼苗为 1 组, 分别放在 0.5 和 5.0 mmol·L⁻¹ KNO_3 中, 吸收 0.5、1.0、1.5、2.0 h 后分别测定溶液的硝酸根浓度。白菜幼苗吸收硝酸根动力学参数采用 Line weaver-Burk 的双倒数作图法计算, 公式为 $1/V = K_m/V_{max} \times 1/[S] + 1/V_{max}$, V 为吸收速率, K_m 为米氏常数, V_{max} 为最大吸收速率, $[S]$ 为反应物浓度。硝酸盐的测定用 Catalado 的水杨酸—浓硫酸法。NRA 的测定应用活体测定法^[1]。MPS 的测定参照许长葛等的方法^[2]。

2 结果与讨论

2.1 不同白菜品种吸收硝酸根速率的差异和动力学参数

由图 1 可见, 在 0.05 mmol·L⁻¹ 硝酸钾溶液中, 除寒优 1 号有少量吸收外, 其它品种皆向外分泌硝酸根; 低于 0.2 mmol·L⁻¹, 吸收速率皆非常小, 但速度上升迅速, 随溶液中 NO_3^- 浓度的升高, 吸收速度上升的趋势渐缓。在浓度高于 0.5 mmol·L⁻¹ 的硝酸钾溶液中, 高积累硝酸盐品种 (杨青 1 号与矮抗青) 的吸收速率皆高于两个积累硝酸盐少的品种 (寒优 1 号与青优 3 号), 其吸收速率的大小顺序与各品种积累硝酸盐量的大小一致 (图 1)。在高浓度硝酸钾溶液中, 整个过程中高积累硝酸盐的品种矮抗青吸收硝酸根的速率均高于低积累硝酸盐品种青优 3 号, 在 5~35 mmol·L⁻¹ 浓度之间, 矮抗青的吸收速度增加快于青优 3 号, 两者的距离逐渐拉大 (图 2)。

收稿日期: 2002-11-01; 修回日期: 2003-04-07

基金项目: 国家自然科学基金项目 (39570496)

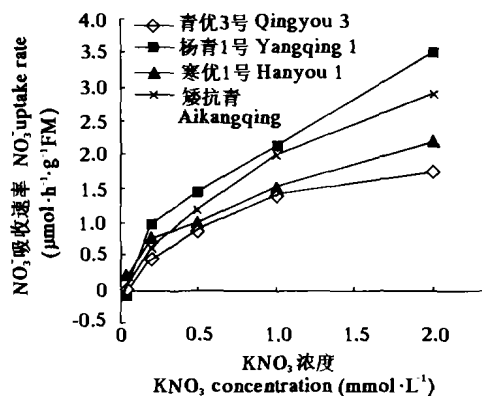
图1 白菜在低浓度 KNO_3 溶液中吸收 NO_3^- 的速率

Fig. 1 Absorption rate of nitrate by pak-choi in relation to nitrate concentration

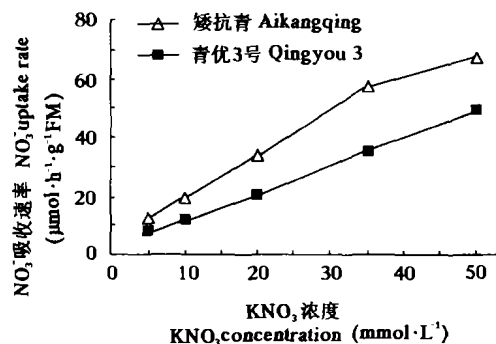
图2 白菜在高浓度 KNO_3 溶液中吸收 NO_3^- 的速率

Fig. 2 Absorption rate of nitrate by pak-choi in relation to nitrate concentration

由表1可见,在低浓度的 KNO_3 溶液 ($0.2 \sim 2.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 中,矮抗青的 K_m 值与 V_{\max} 均最高,表明其与 NO_3^- 的亲合力虽小,但具有速度优势,可以通过加大吸收速度来获得 NO_3^- 的充分供给,所以在高浓度硝酸盐介质中,其硝酸盐积累很高。青优3号的 K_m 仅是矮抗青的 $1/4$,其与硝酸根的亲合力较高,但是其 V_{\max} 也仅是矮抗青的 $1/4$,因此其与 NO_3^- 的亲合力虽较大,但吸收速度却较慢。在高浓度 KNO_3 溶液 ($5 \sim 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 中,矮抗青的 K_m 值小于青优3号,即与硝酸根的亲合力大于青优3号,而 V_{\max} 又大于青优3号,因此矮抗青吸收 NO_3^- 的效率高于青优3号,由此表明在其它条件一致的情况下,在高 NO_3^- 浓度介质中,矮抗青具有更高的吸收硝酸盐的能力,这与其高积累硝酸盐能力一致(表2)。

表1 白菜吸收 NO_3^- 的动力学参数Table 1 Differences in kinetics parameters of NO_3^- uptake by pak-choi

KNO_3 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	品 种 Cultivars	K_m ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	V_{\max} ($\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$)
0.05 ~ 2.0	青优3号 Qingyou 3	1.8319 b	4.0225 b
	寒优1号 Hanyou 1	0.4014 a	2.3750 a
	杨青1号 Yangqing 1	0.5955 a	3.4664 b
	矮抗青 Aikangqing	7.1499 c	17.0755 c
5 ~ 50	青优3号 Qingyou 3	118.44 a	167.22 a
	矮抗青 Aikangqing	100.49 a	221.78 b

表2 白菜叶片硝酸还原酶活性(NRA)和硝酸还原代谢库内硝酸盐含量(MPS)

Table 2 NRA and MPS of pak-choi

品种 Cultivars	NRA ($\text{NO}_3^- \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \text{FM}$)		硝酸盐 Nitrate($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$)		
	- NO_3^-	+ NO_3^-	总量 Total	MPS	MPS/Total (%)
青优3号 Qingyou 3	102.3 d	270.7 a	51.28 a	7.297 a	14.23 c
杨青1号 Yangqing 1	249.4 c	443.7 b	96.71 c	10.925 b	11.26 b
寒优1号 Hanyou 1	95.7 b	233.3 a	65.67 b	6.339 a	9.65 b
矮抗青 Aikangqing	52.3 a	226.9 a	91.98 c	7.410 a	7.66 a

2.2 白菜幼苗吸收 NO_3^- 的时间进程

从图3可以看出,不论在 0.5 还是 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ KNO_3 溶液中,青优3号对 NO_3^- 的吸收量总是最小。在低浓度溶液中, NO_3^- 吸收量寒优1号最大,其次是矮抗青和杨青1号;矮抗青在 $0.5 \sim 1.5 \text{ h}$ 吸收量增加迅速, 1.5 h 后吸收量增加缓慢(图3, A),原因可能是矮抗青与硝酸根的亲合力小(K_m 大),寒优1号与硝酸根的亲合力最大。在 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 高浓度硝酸钾溶液中,开始在 $0.5 \sim 1.0 \text{ h}$ 时,矮抗青的 NO_3^- 吸收量大于杨青1号等,在 1.0 h 之后,其吸收量增加缓慢,而杨青1号的 NO_3^- 吸收量反而迅速超过矮抗青;至 1.5 h 时,杨青1号的 NO_3^- 吸收量增加更迅速。在 0.5 h 时,寒优1号与青优3号的 NO_3^- 吸收量几乎相等,随后寒优1号迅速增加,吸收量超过青优3号(图3, B)。造成上述现象的原因可能是由于杨青1号和寒优1号具有较低的 K_m 值,对硝酸根的亲合力大,具有更多的吸收点位,在高浓度硝酸钾溶液中可以更有效地吸收硝酸根;而矮抗青的 K_m 值较大,与硝酸根亲合力小,在高浓度的硝

酸钾溶液中经过一段时间的吸收后,其吸收位点渐被硝酸根所饱和,吸收量渐小。

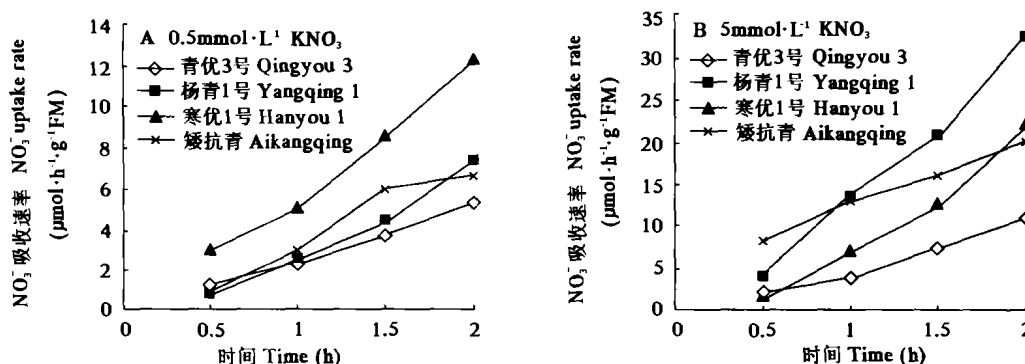


图 3 白菜吸收 NO_3^- 的时间进程

Fig. 3 Time course of nitrate uptake by pak-choi

2.3 白菜品种硝酸还原酶活性 (NRA) 与硝酸还原代谢库内硝酸根含量 (MPS) 的差异

由表 2 可见,杨青 1 号在供试的 4 个品种中,其 NRA 最高, MPS 最高,但其叶片 NO_3^- 总含量也最高,硝酸盐积累最多;矮抗青却是 NRA 最低,硝酸还原代谢库内的 NO_3^- 占其 NO_3^- 总含量的比例最低,硝酸盐积累也多;青优 3 号 NRA 仅是杨青 1 号的 1/2,但 MPS/Total 却最高,其硝酸盐含量最低。寒优 1 号与青优 3 号 NRA、MPS、总硝酸盐含量相近,但 MPS/Total 差异显著。另外,在反应介质中无 NO_3^- 时,矮抗青的 NRA 显著低于其它品种,而在加入 NO_3^- 后 NRA 升高到与青优 3 号、寒优 1 号相近水平。这也与上面低浓度 NO_3^- 溶液中矮抗青的低 K_m 值相吻合。

由此可见,品种间叶片 NRA 的差异可归因于硝酸还原代谢库内 NO_3^- 含量的不同; MPS 大的品种, NRA 高。但一个品种的 NRA 高并不代表它的硝酸盐积累少,只能表明其同化能力强,合成的含氮有机物多,但可能由于其吸收能力强,吸收的硝酸根离子多于其他品种而致使硝酸盐积累多于其他品种。根据研究,只有代谢库内的硝酸根 (MPS) 才可被利用,因此 MPS 对硝酸盐的被利用程度有决定性作用。本试验中, MPS 高的品种,其 NRA 高,但硝酸盐积累并不少,由此认为一个品种的 NRA 强, MPS 高,可能使其对硝酸盐的利用程度增加,并不能代表它的硝酸盐积累的量少,而 MPS/Total 与品种硝酸盐积累却有一些联系。

由本试验推论,造成白菜品种间硝酸盐积累差异的更主要的直接的原因是品种间吸收硝酸根的速率不同,同时也可能 MPS/Total 值联合对其硝酸盐积累起决定作用,此种关系有待于进一步实验验证。

参考文献:

- 1 陈 薇,张德颐.植物组织中 NR 的提取、测定和纯化.植物生理学通讯,1980,(4):45~49
- 2 许长嵩,倪晋山.小麦叶内硝酸还原的代谢库.植物生理学报,1990,16(3):277~283

The Nitrate Uptake and Accumulation of Pak-choi

Dong Xiaoying^{1,2}, Li Shijun², and Shen Renfang¹

(¹ State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; ² College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Four pak-choi cultivars with different nitrate accumulation level were applied for explaining their genotypic variation in nitrate accumulation. Their dynamics parameters in nitrate uptaking, Michaelis constant (K_m), the maximum uptake Velocity (V_{max}), nitrate content in nitrate metabolic pool (MPS) and nitrate reductase activity (NRA), were measured, results showed that K_m and V_{max} , MPS, NRA varied greatly in different pak-choi cultivars. But there was no relationship between nitrate content and NRA, MPS. Their variation in nitrate accumulation more resulted from their different uptake rate of nitrate than their NRA, MPS.

Key words: Pak-choi; Nitrate accumulation; Absorption