

## 硝酸还原酶抑制剂钨酸钠对油菜硝态氮积累的影响

杨荣, 邱炜红, 王朝辉\*, 王小英

西北农林科技大学资源环境学院, 陕西杨凌712100

**摘要:** 采用溶液培养方法, 选取硝酸盐积累差异明显的两个油菜品种(低硝态氮积累品种‘红油3号’和高硝态氮积累品种‘中双6号’), 研究苗期根系硝酸还原酶(NR)活性被抑制以后两个油菜品种叶片、叶柄和根系中NR活性和硝态氮含量的变化。结果表明: 1.0 mmol·L<sup>-1</sup>的NR活性抑制剂Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub>对两个油菜品种的根系NR活性抑制效果最佳; 根系NR活性被抑制以后, 两个油菜品种的根系NR活性、硝态氮吸收速率均显著下降, 而硝态氮含量却显著上升; 且Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub>对‘中双6号’硝态氮吸收的抑制程度强于其对‘红油3号’的抑制。叶片和叶柄的NR活性变化不显著, 但叶柄硝态氮含量显著下降, 叶片硝态氮含量稳定, 且这一趋势在低积累品种‘红油3号’中表现得更为明显。

**关键词:** 油菜; 硝酸还原酶; 硝态氮; 硝酸还原酶抑制剂(Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub>)

## Effects of Nitrate Reductase Inhibitor Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> on Nitrate Accumulation in Oilseed Rape

YANG Rong, QIU Wei-Hong, WANG Zhao-Hui\*, WANG Xiao-Ying

College of Resources and Environmental Science, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100, China

**Abstract:** A soilless culture (nutrient solution) experiment was conducted to study the effects of nitrate reductase inhibitor Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> on nitrate reductase (NR) activity and NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N content in some organs (including root, leaf, petiole) of two different cultivars (high nitrate-N accumulation type ‘Zhongshuang 6’ and low nitrate-N accumulation type ‘Hongyou 3’) oilseed rape (*Brassica napus* L.) at seedling stage. Results showed that the most appropriate concentration of Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> was 1.0 mmol·L<sup>-1</sup>; Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> significantly decreased NR activity and NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N absorption rate in the root of oilseed rape comparing with the control (CK), however, significantly increasing in NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N content. High nitrate accumulation type ‘Zhongshuang 6’ had higher inhibitor efficiency comparing with low nitrate accumulation type ‘Hongyou 3’. There were no significant difference on NR activity in leaf and petiole with or without Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub>, in contrast, Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> significantly decreased NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N content in the petiole of oilseed rape, and NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N content in the leaf was almost stable under it treatment, especially in ‘Hongyou 3’.

**Key words:** oilseed rape; nitrate reductase; nitrate-N; nitrate reductase inhibitor (Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub>)

硝态氮是植物最主要的矿质营养元素, 但在自然条件下又常成为限制植物生长的主要因素, 高浓度的硝态氮极易造成植物的奢侈吸收, 蔬菜尤为如此。大量研究证明, 硝酸盐代谢的许多产物与癌症有关, 如鼻咽癌、食道癌、胃癌及肝癌等, 此外也会导致婴幼儿致畸、致癌等(Ikemoto等2002; Kelley和Duggan 2003; Santamaria 2006; Du等2007)。自20世纪60年代以来, 世界各国都在致力于蔬菜中硝酸盐污染成因及其控制途径的研究。

油菜(*Brassica napus* L.)不仅是我国的重要油料产物, 因为其苗期植株茎叶细嫩, 又常被作为冬季和早春食用蔬菜。但经相关学者研究, 其体内硝酸盐含量却远远高出了我国关于蔬菜硝酸盐含

量的标准(GB 18406.1-2001) (王朝辉等2001; 朱飞飞2009; 都韶婷和章永松2010), 长期食用不利于人体健康。如何从油菜作物本身出发来探讨不同油菜品种硝酸盐积累差异的机制, 筛选低硝酸盐积累的油菜品种, 是解决其体内硝酸盐高积累的关键。

硝酸还原酶(NR)做为硝酸盐还原过程的关键酶和限速酶, 其活性高低直接反映了植物对硝态氮还原及转化能力的强弱, 与植物吸收和积累硝

收稿 2011-09-28 修定 2011-11-14

资助 国家自然科学基金(30871596和30971866)和农业公益性行业科研专项(201103005和201103003)。

\* 通讯作者(E-mail: w-zhaohui@263.net; Tel: 029-87082234)。

态氮的能力密切相关(Crawford 1995; Vidal和Gutiérrez 2008)。NR为同聚多亚基蛋白,每个亚基含有3个辅基:黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)、细胞色素(Cytc)以及钼辅因子(MoCo),每个辅基就是一个氧化还原中心(Redinbaugh和Campbell 1985; Crawford 1995; Heidari等2011; Anjana等2011)。钼原子(Mo)是NR的重要组成部分,直接关系到硝酸盐还原过程的电子转移,而钨原子(W)性质与钼原子相似,可以直接取代NR复合体中的钼,从而起到抑制NR活性的作用(Heimer等1969; Aslam 1982; Deng等1989; Quy等1991; L'vov等2002; Moura等2004; Yu等2010),故 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 常被作为NR活性的抑制剂。

目前大部分的学者认为,植物硝酸盐的还原作用首先发生在绿色叶片中,然而也有部分学者认为根系硝酸盐还原能力在氮素利用早期具有不可比拟的作用(Gojon等1986; Stoimenova等2003)。虽然植物根系硝酸盐还原能力最大仅占整个植株还原能力的23%~37% (Scheurwater等2002),但目前仍还没有被完全理解,这主要与研究根系NR的难度之大有关系。此外关于根系NR与地上部各器官硝态氮含量的关系的研究还鲜见报道,也鲜见从抑制根系NR活性角度出发来研究各器官NR、硝态氮含量变化以及这种变化和叶柄硝态氮高积累关系的报道。为解决这一问题,本研究选取了前期试验筛选所获得的生物量没有显著差异,但硝态氮积累能力不同的两个油菜品种(‘红油3号’和‘中双6号’),通过添加NR抑制剂 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ ,抑制根系NR活性,结合根系吸收速率、各器官NR活性、硝态氮含量变化,研究根系NR活性被抑制以后对各器官硝态氮积累的影响以及探讨根系NR活性与不同油菜品种叶柄硝态氮积累差异的关系,从而为降低蔬菜体内硝酸盐含量,提高植株氮利用效率提供理论依据。

## 材料与方法

### 1 试验材料

选取前期筛选所得的硝态氮含量差异显著的两个油菜(*Brassica napus* L.)品种:‘红油3号’和‘中双6号’。水培营养液参考完全大泽营养液和Arnon营养液,稍作修改。营养液中养分含量如下:  $\text{NaNO}_3$

12  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{K}_2\text{SO}_4$  2  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{CaCl}_2$  4  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  2.86  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{MnSO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$  1.54  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.22  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.08  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{H}_2\text{MoO}_4$  0.02  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; Fe-EDTA 3.0  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

油菜种子经100 mL的NaClO (1%)消毒20 min后,再用100 mL的蒸馏水冲洗6次。将消毒后的种子放到铺有滤纸的培养皿中,加入一定量的蒸馏水使滤纸完全湿润,之后放到恒温培养箱中,黑暗条件下于25 °C下培养24 h。待种子露白后,将其播于已准备好的基质培养穴盘中。待幼苗长至二叶一心时,洗去根系基质,再将幼苗移入装有5.2 L 1/4浓度上述营养液的硬质不透明塑料盆中。每盆用海绵固定同一品种4株,每个品种培养16盆。之后放入植物生长室内培养,温度设定为25~30 °C/15~20 °C(白天/晚上),光照时间为10 h (8:00~18:00),室内相对湿度为60%±5%,光照强度为180  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

用1/4营养液培养2 d后,换为1/2营养液,培养一周以后换为完全营养液培养,之后每3 d换一次营养液。营养液每天保持上下午各通气1 h, pH用0.1  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的NaOH和 $\text{H}_2\text{SO}_4$ 调在6.0~6.5之间。由于植物对水分的吸收以及蒸腾作用,需每天定时(18:00)补充蒸馏水以保持原营养液的体积。继续培养15 d后,将营养液更换为无氮营养液,进行饥饿处理,2 d后取油菜幼苗用于试验。

## 2 试验方法

### 2.1 对不同油菜品种根系NR活性起最强抑制作用的 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 浓度筛选试验

将出苗35 d的油菜秧苗取出,将其根部浸入添加 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 的营养液中, $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 处理浓度分别为:0、0.4、0.8、1.0、1.3  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,吸收3 h后测定各处理油菜根系NR活性,筛选出对油菜根系NR活性抑制最强的 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 浓度。

### 2.2 根系NR活性受抑条件下不同油菜品种各器官硝态氮积累的影响试验

每个品种各选长势一致的3株幼苗为一组,作为一个处理,每个处理重复4次。将幼苗根部浸入到1 000 mL添加 $\text{Na}_2\text{WO}_4$  (1.0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )的营养液(实验组: TR)中,以不添加钨酸钠的营养液为对照(对照组: CK),处理与对照溶液中均含1.0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

$\text{NO}_3^-$ 。营养液用分析纯 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 配制, 支持电解质为 $0.2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{CaSO}_4$ , 各处理的pH值均为6.0。

试验时将油菜幼苗根系完全浸入到1 000 mL的上述营养液中, 在温度 $(25\pm 1)^\circ\text{C}$ 、光照强度 $180 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、相对湿度65%~80%条件下培养, 分别在0、0.5、1.0、2.0、3.0 h吸取5 mL营养液进行硝态氮含量的测定, 每次取样后随即加入5 mL电解质( $0.2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CaSO}_4$ )以补充溶液到起始体积。吸收结束后, 取出幼苗, 将每组油菜根部剪下, 轻轻擦干水分, 称量每组总根重。根系吸收前后溶液中硝态氮含量用流动分析仪测定, 根据吸收前后硝态氮含量的变化量计算根单位鲜重在单位时间内硝态氮的净吸收率。

然后把油菜按器官(叶柄、叶片、根系)分开, 称量各器官的重量, 分别切碎混匀, 分为2个部分: 用于测定硝态氮部分的样品放入冰箱 $0\sim 4^\circ\text{C}$ 条件下冷藏; 另一部分样品用于测定NR活性, 当天完成测定。

### 3 测定方法

NR活性采用活体法测定(李合生2000); 硝态氮含量测定采用研磨浸提法(王朝辉和李生秀1996), 浸提液用连续流动分析仪测定; 植株从营养液中吸收的硝态氮含量由营养液中起始硝态氮含量与培养后硝态氮含量之差计算。试验所获得的数据均经过SAS统计分析, SigmaPlot作图, 方差分析采用Fisher's LSD test。

## 实验结果

### 1 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 浓度对油菜根系NR活性的影响

$\text{Na}_2\text{WO}_4$ 处理有效降低了两个油菜品种根系NR活性(图1)。当 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 浓度由0增加至 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 两个油菜品种根系NR活性随着 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 浓度的增加呈逐渐下降趋势(图1), 当 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 浓度达到 $1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 油菜根系NR活性几乎接近于 $0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 浓度由 $1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加至 $1.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 两个油菜品种的根系NR活性则几乎不再发生变化。由此可见,  $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 浓度为 $1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时可有效地抑制油菜根系NR活性。

### 2 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 对两个油菜品种各器官NR活性的影响

培养液中添加 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 后, 显著降低了两个油

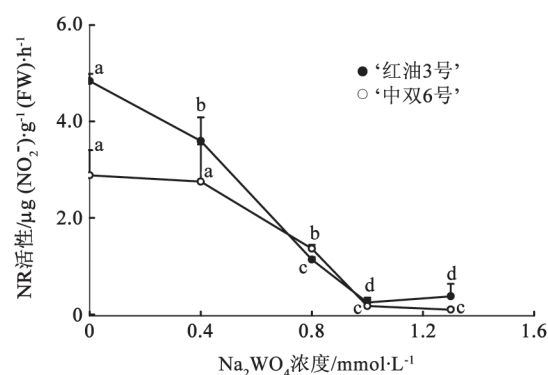


图1 不同 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 浓度对油菜根系NR活性的影响

Fig.1 Effects of different concentrations of  $\text{Na}_2\text{WO}_4$  on the nitrate reductase activity of oilseed rape root

不同小写字母代表同一油菜品种不同 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 浓度处理之间的根系NR活性差异显著( $P<0.05$ )。

菜品种根系的NR活性, 但叶片和叶柄中NR活性并未显著下降(表1)。 $\text{‘红油3号’}$ 未加入 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 时, 根系NR活性为 $59.53 \mu\text{g}(\text{NO}_2)\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$ , 当加入 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 后, 根系NR活性降至 $5.15 \mu\text{g}(\text{NO}_2)\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$ , 降低了 $54.38 \mu\text{g}(\text{NO}_2)\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$ ;  $\text{‘中双6号’}$ 由 $34.40 \mu\text{g}(\text{NO}_2)\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$ 降至 $0.37 \mu\text{g}(\text{NO}_2)\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$ , 降低了 $34.03 \mu\text{g}(\text{NO}_2)\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$ ; 两个油菜品种叶片和叶柄中NR活性很低(表1), 均小于 $0.7 \mu\text{g}(\text{NO}_2)\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$ , 且两个油菜品种叶片和叶柄中NR活性受 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 影响较小, 均未产生显著

表1 两个油菜品种各器官NR活性

Table 1 Nitrate reductase activity in different organs of the two oilseed rape cultivars

器官	处理	NR活性/ $\mu\text{g}(\text{NO}_2)\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$
叶片	CK ‘红油3号’	$0.67\pm 0.11^a$
	TR ‘红油3号’	$0.50\pm 0.15^a$
	CK ‘中双6号’	$0.67\pm 0.11^a$
	TR ‘中双6号’	$0.60\pm 0.05^a$
叶柄	CK ‘红油3号’	$0.03\pm 0.01^{ab}$
	TR ‘红油3号’	$0.09\pm 0.04^a$
	CK ‘中双6号’	$0.02\pm 0.01^b$
	TR ‘中双6号’	可略而不计
根系	CK ‘红油3号’	$59.53\pm 3.73^a$
	TR ‘红油3号’	$5.15\pm 1.09^c$
	CK ‘中双6号’	$34.40\pm 6.32^b$
	TR ‘中双6号’	$0.37\pm 0.03^d$

不同小写字母代表两个油菜品种 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 处理前后同一器官中NR活性差异显著( $P<0.05$ )。

性差异。这说明在本试验条件下,两个油菜品种根系NR活性被抑条件下,对其叶片和叶柄中NR活性并无显著影响,而低积累品种根系起始NR活性高,受抑后降低幅度为91%,较小于高积累品种的99%。

### 3 根系NR活性受抑条件下,两个油菜品种根系硝态氮吸收速率的变化

根系NR活性被抑制以后,两个油菜品种对硝态氮的吸收速率明显下降(图2),经差异显著性分析,除了在刚开始的0.5 h以及1 h中的‘红油3号’外,其余时间里,两个品种对照组和实验组硝态氮吸收速率均达到显著性差异。高积累品种‘中双6号’吸收速率下降的幅度较大,可达 $4.03 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$ ,低积累品种‘红油3号’下降最快时为 $2.30 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$ 。

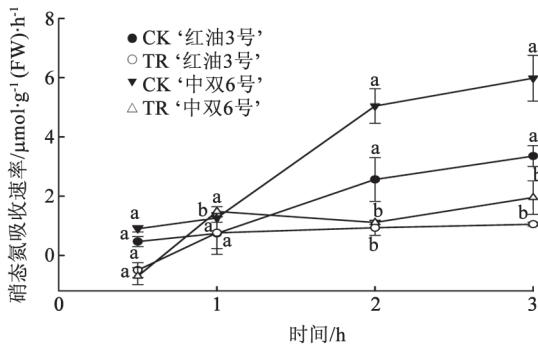


图2  $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 对两个油菜品种硝态氮吸收速率的影响  
Fig.2 Effects of  $\text{Na}_2\text{WO}_4$  on  $\text{NO}_3^-$ -N uptake rate by two oilseed rape cultivars

不同小写字母代表同一时间同一油菜品种 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 处理与否硝态氮吸收速率差异显著( $P<0.05$ )。

### 4 根系NR活性受抑条件下,两个油菜品种各器官硝态氮含量的变化

根系NR活性被抑制后,根系硝态氮含量显著升高,叶柄硝态氮含量显著下降,而叶片硝态氮含量则无显著变化(图3)。对照与处理相比,根系NR活性被抑制后高积累品种‘中双6号’根系硝态氮含量提高了108%,低积累品种‘红油3号’则提高了71%;叶柄硝态氮含量,高积累品种‘中双6号’下降幅度较小,降低了5.5%,‘红油3号’降幅较大,降低了11.9%;叶片硝态氮含量虽然有所升高,但处理与对照差异不显著。

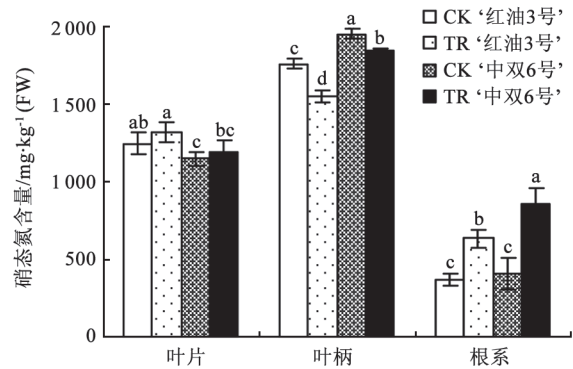


图3  $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 对两个油菜品种不同器官硝态氮含量的影响  
Fig.3 Effects of  $\text{Na}_2\text{WO}_4$  on  $\text{NO}_3^-$ -N concentration in different organs of two oilseed rape cultivars

不同小写字母代表两个油菜品种在 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 处理与否同一器官中硝态氮含量差异显著( $P<0.05$ )。

## 讨 论

本试验结果表明抑制两个油菜品种根系NR活性的最佳 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 浓度为 $1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (图1),这与其他研究者的研究结果并不一致,如,梁亮(2008)研究发现抑制小白菜根系NR活性的最佳 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 浓度为 $0.8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,而司江英等(2004)研究发现抑制水稻根系NR活性的最佳浓度为 $0.15 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,这说明不同植物根系NR活性对硝酸还原酶抑制剂 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 的响应不同,达到最强抑制效果所需浓度不同。

Deng等(1989)研究发现根系硝酸还原酶活性被抑制以后,显著影响NR的还原能力,会造成根系硝态氮的大量积累,本试验发现相同结果。两个油菜品种根系加入 $\text{Na}_2\text{WO}_4$ 以后,根系中的硝态氮含量显著升高,而根系对硝态氮的吸收能力显著下降。从品种来看,根系NR活性被抑以后,原本根系NR活性较高的低积累品种‘红油3号’NR活性降低了91%,吸收速率4 h内平均下降了66%,而高积累品种‘中双6号’根系NR活性的降幅为99%,吸收速率平均下降了73%,这说明根系NR活性不仅决定了根系的还原能力,也影响着根系对硝态氮的吸收速率。根系氮素在正常的还原条件下,还原产物会调节整个植物体氮素状况的信息,而这一信息又调节氮素同化产物的反馈抑制作用,反过来作用于根系中相关基因的表达,从而影响根系对氮素的吸收(Tsujimoto等2007; Patterson等2010)。

笔者认为, 较高的根系NR活性, 提供了其较强的根系还原能力和吸收能力, 而根系较高的NR活性、较低硝态氮吸收速率以及根系NR活性被抑制以后存有的NR活性的大小可能是造成低积累油菜品种根系硝态氮积累较低以及叶柄硝态氮含量低的重要原因。此外, 根系NR活性的下降引起其中硝态氮大量积累, 但根系中大量积累的硝态氮并没有促成叶柄中硝态氮含量的迅速增加, 其含量反而降低(图3), 说明根系NR活性受抑制条件下, 大量积累于根系中的硝态氮并没有被运输到地上部分。这可能的原因是, 一方面, 植物对硝态氮的吸收和向上运输硝态氮均是主动运输的过程, 需由跨质膜的质子电化学梯度提供能量, 梁亮(2008)、Hansch等(2001)发现, NR活性被抑制以后, 根系可溶性糖也会大量积累。糖类的不正常代谢, 从而影响了能量的供应, 进而制约硝态氮的运输; 另一方面, 在硝态氮为唯一氮源的状态下, 植物根系NR活性被抑制以后, 硝态氮的还原无法正常进行, 根系中氮代谢下游的氨基酸无法产生, 阻碍了下游信号的传递, 使植株无法对氮素进行正常的分配和转移(Hansch等2001; Flores等2004; Krouk等2010)。但是否可以在油菜收获前期进行短时间的NR活性抑制处理以降低其体内硝酸盐含量, 这还有待进一步试验的验证和肯定, 但此不失为一种新的思路。

对植物生长而言, 细胞质中硝态氮担任着重要角色, 故当地上部缺氮时, 叶柄液泡储存的大量硝态氮会被调动出来运输至叶片细胞质中以补充被代谢掉的硝态氮, 使叶片中硝态氮含量保持在相对稳定状态(汪晓丽2010; Fan等2007; 沈其荣等2003; Granstedt和Huffaker 1982)。本实验也证实了这一结论, 在根系NR活性被抑制的条件下, 造成油菜地上部缺氮, 叶柄硝态氮含量显著下降, 然而叶片硝态氮却保持相对稳定(图3)。此外, 针对不同品种间硝态氮在根系吸收受抑条件下的再利用能力而言, ‘红油3号’叶柄硝态氮含量下降11.9%, ‘中双6号’硝态氮下降了5.5%, 叶片增加的硝态氮含量相对应的分别为5.7%和4.2%, 说明低积累品种‘红油3号’叶柄中硝态氮被运输出来, 而补充到叶片中因同化过程所造成的硝酸盐浓度减少的速度较高积累品种‘中双6号’快。但叶柄是如何将硝

态氮调动出来以维持叶片细胞质中硝态氮的正常代谢, 其具体机制还有待于进一步的研究和探索。

### 参考文献

- 都韶婷, 章永松(2010). 增施CO<sub>2</sub>降低小白菜硝酸盐积累的机理研究. 植物营养与肥料学报, 16 (6): 1509~1514
- 李合生(2000). 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 123~128
- 梁亮(2008). 硝酸还原酶活性对小白菜硝酸盐积累及相关代谢调节的研究[硕士论文]. 南京: 南京农业大学
- 沈其荣, 汤利, 徐阳春(2003). 植物液泡中硝酸盐行为的研究概况. 土壤学报, 40 (3): 465~470
- 司江英, 汪晓丽, 陈平, 封克(2004). 硝酸还原酶抑制剂和NH<sub>4</sub><sup>+</sup>对不同基因型水稻苗期NO<sub>3</sub><sup>-</sup>吸收的影响. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 25 (1): 59~62
- 汪晓丽(2010). 小麦幼苗根系对 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>的吸收及细胞内NO<sub>3</sub><sup>-</sup>的分布与调节机制研究[博士论文]. 扬州: 扬州大学
- 王朝辉, 田霄鸿, 李生秀(2001). 叶类蔬菜的硝态氮累积及成因研究. 生态学报, 21 (7): 1136~1141
- 王朝辉, 李生秀(1996). 蔬菜不同器官的硝态氮与水分、全氮、全磷的关系. 植物营养和肥料学报, 2 (2): 144~152
- 朱飞飞(2009). 苗期硝态氮累积与油菜生长、产量及品质的关系 [硕士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学
- Anjana, Umar S, Abrol YP, Iqbal M (2011). Modulation of nitrogen-uptake efficiency in wheat genotypes differing in nitrate reductase activity. J Plant Nutr, 34: 920~933
- Aslam M (1982). Differential effect of tungsten on the development of endogenous and nitrate-induced nitrate reductase activities in soybean leaves. Plant Physiol, 70 (1): 35~38
- Crawford NM (1995). Nitrate: nutrient and signal for plant growth. Plant Cell, 7 (7): 859~868
- Deng M, Moureaux T, Caboche M (1989). Tungstate, a molybdate analog inactivating nitrate reductase, deregulates the expression of the nitrate reductase structural gene. Plant Physiol, 91 (1): 304~309
- Du ST, Zhang YS, Lin XY (2007). Accumulation of nitrate in vegetables and its possible implications to human health. Agr Sci Chin, 6 (10): 1246~1255
- Fan XR, Jia LJ, Li YL, Smith S, Miller AJ, Shen QR (2007). Comparing nitrate storage and remobilization in two rice cultivars that differ in their nitrogen use efficiency. J Exp Bot, 58 (7): 1729~1740
- Flores P, Botella MA, Cerda A, Martinez V (2004). Influence of nitrate level on nitrate assimilation in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants under saline stress. Can J Bot, 82 (2): 207~213
- Gojon A, Passama L, Robin P (1986). Root contribution to nitrate reduction in barley seedlings (*Hordeum vulgare* L.). Plant Soil, 91 (1): 339~342
- Granstedt RC, Huffaker RC (1982). Identification of the leaf vacuole as a major nitrate storage pool. Plant Physiol, 70 (2): 410~413
- Hansch R, Fessel DG, Witt C, Hesberg C, Hoffmann G, Liu PW, Engels C, Kruse J, Rennenberg H, Kaiser WM, Mendel RR (2001).

- Tobacco plants that lack expression of functional nitrate reductase in roots show changes in growth rates and metabolite accumulation. *J Exp Bot*, 52 (359): 1251~1258
- Heidari B, Matre P, Nemie-Feyissa D, Meyer C, Rognli OA, Møller SG, Lillo C (2011). Protein phosphatase 2A B55 and a regulatory subunits interact with nitrate reductase and are essential for nitrate reductase activation. *Plant Physiol*, 156 (1): 165~172
- Heimer YM, Wray JL, Filner P (1969). The effect of tungstate on nitrate assimilation in higher plant tissues. *Plant Physiol*, 44 (8): 1197~1199
- Ikemoto Y, Teraguchi M, Kobayashi Y (2002). Plasma levels of nitrate in congenital heart disease: comparison with healthy children. *Pediatr Cardiol*, 23 (2): 132~136
- Kelley JR, Duggan JM (2003). Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Clin Epidemiol*, 56 (1): 1~9
- Krouk G, Crawford NM, Coruzzi GM, Tsay YF (2010). Nitrate signaling: adaptation to fluctuating environments. *Curr Opin Plant Biol*, 13 (3): 265~272
- L'vov NP, Nosikov AN, Antipov AN (2002). Tungsten-containing enzymes. *Biochemistry (Moscow)*, 67 (2): 196~200
- Moura JIG, Brondino CD, Trincao J, Romao MJ (2004). Mo and W bis-MGD enzymes: nitrate reductases and formate dehydrogenases. *J Biol Inorg Chem*, 9 (7): 791~799
- Patterson K, Cakmak T, Cooper A, Lager I, Rasmusson AG, Escobar MA (2010). Distinct signalling pathways and transcriptome response signatures differentiate ammonium- and nitrate-supplied plants. *Plant Cell Environ*, 33 (9): 1486~1501
- Quy LV, Lamaze T, Champigny ML (1991). Short-term effects of nitrate on sucrose synthesis in wheat leaves. *Planta*, 185 (1): 53~57
- Redinbaugh MG, Campbell WH (1985). Quaternary structure and composition of squash NADH:nitrate reductase. *J Biol Chem*, 260 (6): 3380~3385
- Santamaria P (2006). Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. *J Sci Food Agric*, 86 (1): 10~17
- Scheurwater I, Koren M, Lambers H, Atkin OK (2002). The contribution of roots and shoots to whole plant nitrate reduction in fast- and slow-growing grass species. *J Exp Bot*, 53 (374): 1635~1642
- Stoimenova M, Libourel IGL, Ratcliffe RG, Kaiser WM (2003). The role of nitrate reduction in the anoxic metabolism of roots II. Anoxic metabolism of tobacco roots with or without nitrate reductase activity. *Plant Soil*, 253 (1): 155~167
- Tsujimoto R, Yamazaki H, Maeda S, Omata T (2007). Distinct roles of nitrate and nitrite in regulation of expression of the nitrate transport genes in the moss *Physcomitrella patens*. *Plant Cell Physiol*, 48 (3): 484~497
- Vidal EA, Gutiérrez RA (2008). A systems view of nitrogen nutrient and metabolite responses in *Arabidopsis*. *Curr Opin Plant Biol*, 11 (5): 521~529
- Yu M, Hu CX, Sun XC, Wang YH (2010). Influences of Mo on nitrate reductase, glutamine synthetase and nitrogen accumulation and utilization in Mo-efficient and Mo-inefficient winter wheat cultivars. *Agr Sci Chin*, 9 (3): 355~361