

铵硝比例对不同基因型小白菜硝酸盐积累影响机理研究^①

赵首萍, 张瑞麟, 徐明飞, 郑纪慈*

(浙江省农业科学院农产品质量标准研究所, 杭州 310021)

摘要: 本研究以前期工作中筛选出的硝酸盐积累量存在显著差异的 2 个不同基因型小白菜品种为材料, 在人工气候箱水培条件下研究了不同铵硝比例对小白菜硝酸盐积累量、硝酸还原酶活性 (NRA) 和硝酸盐吸收基因 *NRT1* 和 *NRT2* 的表达量的影响。结果表明, 不同铵硝比例对小白菜硝酸盐积累量有显著影响, 且存在基因型差异。四月慢对硝酸盐吸收、积累及同化利用的能力都强于华冠青梗菜, 尤其是在高 NO_3^- 比例处理时。与华冠青梗菜相比, 四月慢对 NO_3^- 的同化利用的能力更不易受铵硝比例的影响。*NRT1* 和 *NRT2* 主要在根部表达, 且 *NRT1* 的表达量显著高于 *NRT2*, *NRT1* 和 *NRT2* 的表达量变化规律只能在一定程度上解释小白菜不同基因型间硝酸盐积累量的差异, 小白菜不同基因型品种间硝酸盐积累量差异的机理还需要进一步研究。

关键词: 小白菜; 硝酸盐; 基因型差异; *NRT1*; *NRT2*

中图分类号: S511; S143.1

蔬菜硝酸盐问题一直备受国内外研究者关注, 人体摄入的硝酸盐 80% 以上来自蔬菜^[1]。硝酸盐本身对人体毒性相对较低, 但进入人体后可被还原成有毒的亚硝酸盐, 可与人体内的次级胺反应, 形成强力致癌物——亚硝胺^[2-3]。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及其控制途径的研究, 对硝酸盐吸收机理进行了大量的研究^[4]。关于降低硝酸盐含量的措施方面, 提出了合理施用 N 肥^[5-6]、选择适宜采收期^[7], 采取适宜的贮藏加工^[8]等措施。大量的研究都证明, 施用 NH_4^+ -N 肥与 NO_3^- -N 肥相比, 可以显著降低蔬菜硝酸盐含量^[9-10], 但是关于这一现象的机理并不明确。Herbert 等^[11]研究了铵硝吸收的相互作用, 他们发现质膜 NH_4^+ 的流入, 胞质 NH_4^+ 的积累以及 NH_4^+ 的代谢都受到 NO_3^- 的促进作用, 即使在相同 N 水平下, 同时供应两种形态 N 时, 总 N 的吸收以及 N 向茎中的转运都高于单独施用 NH_4^+ 或 NO_3^- 的情况。尽管存在很多关于混合 N 源改善长势的报道, 但是对于铵硝协同吸收的机制研究很少, 尤其是在分子基础方面目前还没有研究报道。

近年来的研究已经证实, 高等植物主要通过低亲和的 *NRT1* 转运体和高亲和的 *NRT2* 转运体吸收 NO_3^- -N^[12-13], 并且这两类基因在拟南芥、水稻、番茄中已经得到克隆^[14-15]。Okamoto 等^[16]报道拟南芥中已

经鉴定出 4 个低亲和 (*NRT1*) 和 7 个高亲和 (*NRT2*) NO_3^- 转运体基因, 并发现 NO_3^- 在 100 ~ 50 mmol/L 之间时, 基因表达与 NO_3^- 吸收量的相关系数说明高亲和和低亲和的转运系统中主要是 *AtNRT2.1* 和 *AtNRT1.1* 在起作用, 这两个家族中其他成员的功能现在还不清楚。芸苔属 (*Brassica napus* L.) 蔬菜中已经获得了 *NRT1* 和 *NRT2* 基因的克隆^[17-18], 但是对于其表达规律及其与不同基因型品种间硝酸盐积累量的关系还未见报道。小白菜 (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* (L.) Makino) 是硝酸盐含量较高的蔬菜种类之一, 而且又是大众化的蔬菜之一, 降低小白菜中硝酸盐的积累有着重要的意义。本研究以前期研究中获得的硝酸盐积累量存在显著差异的两个不同基因型的小白菜品种为材料, 研究了不同铵硝比例对小白菜硝酸盐积累量的影响, 并检测了小白菜硝酸盐吸收转运蛋白基因 *NRT1* 和 *NRT2* 的表达量, 以期利用分子生物学手段降低小白菜硝酸盐积累量提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究以前期研究中筛选出的硝酸盐积累特性有显著差异的 2 个不同基因型小白菜 (*Brassica campestris* ssp. *Chinensis* (L.) Makino) 品种为材料, 如表 1 所示。

①基金项目: 浙江省自然科学基金项目 (Y307531) 和浙江省农业科学院创新提升项目资助。

* 通讯作者 (zjcpaper@yahoo.cn)

作者简介: 赵首萍 (1976—), 女, 黑龙江鸡西人, 博士, 主要从事植物营养研究。E-mail: zhaoshouping760320@yahoo.com.cn

表1 供试不同基因型小白菜品种

Table 1 Different genotype cultivars of Chinese cabbage in experiment

品种	特性
华冠青梗菜	低硝酸盐积累
四月慢	高硝酸盐积累

1.2 种子萌发及预培养条件和管理

选取饱满一致的小白菜种子在 1% NaClO 溶液中浸泡表面消毒 30 min, 蒸馏水洗净后, 放在 25℃ 恒温培养箱中避光催芽 2 天。将发芽整齐一致的种子播种于装有石英砂的穴盘中, 置于人工气候箱内培养。人工气候箱温度 25℃, 相对湿度 75%, 昼夜循环: 光照 14h/黑夜 10h。苗龄 10 天时, 小心取出, 用海绵夹住移栽于盛有 8 L 1/2 Hoagland 营养液的塑料托盘中, 每盘植苗 20 株, 生长过程每天每个托盘加入新营养液 1 L, 每 3 天换一次营养液, pH 6.0, 连续通气。

1.3 硝酸根吸收速率的测定

选取在 Hoagland 培养液中培养 25 天长势一致的小白菜幼苗, 进行 N 饥饿处理 48 h。然后将其置于以 0.2 mmol/L CaSO₄ 为溶剂配成的 NH₄⁺:NO₃⁻ 摩尔比不同总 N 水平为 5 mmol/L 的吸收液中吸收 5 h 后取出, 测定吸收前后吸收液的重量变化、硝酸盐浓度及小白菜根生物量, 计算吸收速率。吸收液 NH₄⁺:NO₃⁻ 摩尔比例分别为 100:0、75:25、50:50、25:75、0:100, 其中的 NH₄⁺ 以 (NH₄)₂SO₄ 形式提供, NO₃⁻ 以 KNO₃ 形式提供。

1.4 不同铵硝比例处理及取样测定

选取长势一致用 Hoagland 营养液培养 15 天的幼苗, 进行不同铵硝比例处理, 每个处理的总 N 水平为 5 mmol/L, NH₄⁺:NO₃⁻ 摩尔比例分别为 100:0 (5 mmol/L NH₄⁺)、75:25 (3.75 mmol/L NH₄⁺ + 1.25 mmol/L NO₃⁻)、50:50 (2.5 mmol/L NH₄⁺ + 2.5 mmol/L NO₃⁻)、25:75 (1.25 mmol/L NH₄⁺ + 3.75 mmol/L NO₃⁻) 和 0:100 (5 mmol/L NO₃⁻), 其中的 NH₄⁺ 以 (NH₄)₂SO₄ 形式提供, NO₃⁻ 以 KNO₃ 形式提供, 共 5 个处理, 每个处理 3 个重复, 各处理除 N 素外, 其他营养元素含量同 Hoagland 营养液。处理第 10 天取样, 分根、叶片、叶柄 3 个部分, 液氮速冻后, 置于 -80℃ 冰箱内保存备用。

1.4.1 硝酸盐含量和硝酸还原酶活性测定 参照中国科学院上海植物生理研究所主编《现代植物生理学实验指南》测定硝酸盐含量和硝酸还原酶活性。

1.4.2 硝酸根吸收基因 *NRT1* 和 *NRT2* 的表达量测定 取 -80℃ 保存的样品, 用异硫氰酸胍法提取

RNA, 用 powerscript™ 逆转录酶逆转录为 cDNA。以该 cDNA 为模板分析基因表达量的变化。按照 NCBI/GenBank 编号 *NRT1* (AJ278966) 和 *NRT2* (AJ293028) 的序列设计适合荧光定量 PCR 的 Taqman 探针及引物: *NRT1* 的正向引物为 5'-ctatatcgggtggcctcctcta-3', 反向引物为 5'-agcttttgcataaggggaat-3', 探针为 fam + ccaccgcccgtctacgaccgtctc + tamra, 扩增片段长度为 69 bp; *NRT2* 的正向引物为 5'-ggagcacaagccgcttgt-3', 反向引物为 5'-aagggtctgcgcgagaaac-3', 探针为 fam + agccaccttcgcaatcgttcctt + tamra, 扩增片段长度为 63 bp; 内参 18S rRNA 的正向引物为 5'-aaagcctaccacatcca-3', 反向引物为 5'-caccagacttgccctcca-3', 探针为 fam + agcaggcgcgcaaattacc + tamra, 扩增片段长度为 151 bp。引物由上海博亚生物技术有限公司合成, 纯度大于 99%; Taq™、MgCl₂ 和 dNTP 由宝 (TaKaRa) 生物工程 (大连) 有限公司提供。

1.5 统计分析

数据用计算机软件 Microsoft Excel 及 SPSS11.5 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同铵硝比例对硝酸盐积累量的影响

表 2 数据说明, 不同铵硝比例培养条件下青菜各部位的硝酸盐含量有显著差异。从根部的硝酸盐积累量来看, 华冠青梗菜在铵硝比为 50:50 的处理下最低, 且显著低于其他 4 个处理; 而四月慢在铵硝比为 50:50 和 25:75 的两个处理下硝酸盐含量最低, 都显著低于 0:100 的处理, 且二者间无显著差异。叶片中的硝酸盐积累量华冠青梗菜在铵硝比为 0:100 处理下显著高于其他处理, 而四月慢在铵硝比为 50:50 处理下显著高于其他处理。叶柄中的硝酸盐积累量华冠青梗菜在铵硝比为 25:75 和 0:100 处理下最高, 四月慢在铵硝比为 50:50 和 0:100 处理下最高。

可以看出, 不论是高硝酸盐积累品种还是低硝酸盐积累品种, 在同等供 N 水平下, 其硝酸盐积累量都受到不同供 N 形态的影响。但品种间硝酸盐积累量受铵硝比例影响的规律不同, 华冠青梗菜根中的硝酸盐积累量在铵硝比 0:100 处理时与 100:0、75:25 及 25:75 处理之间都没有显著差异, 但是四月慢的硝酸盐积累量在 0:100 处理时却显著高于 100:0 的处理, 这说明供试的两个不同基因型品种间对不同铵硝比例的反应不同。同时表 2 的数据也说明, 并不是在纯 NO₃⁻ 处理 (0:100 处理) 下硝酸盐积累量最高, 如四月慢叶片及叶柄硝酸盐积累量都是在 50:50 处理时最高;

表 2 供试小白菜品种在不同铵硝比例培养下的硝酸盐含量 (NO_3^- , mg/kg FW)
Table 2 Concentrations of nitrate in Chinese cabbage under different ratios of $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ solution

$\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$	华冠青梗菜			四月慢		
	根	叶	叶柄	根	叶	叶柄
100:0	5 625.00 cA	6 479.76 bcB	7 622.22 bD	9 563.94 aBC	9 714.72 aB	9 688.27 aB
75:25	5 659.82 cA	5 652.45 cB	8 328.49 bCD	11 104.18 aAB	11 995.37 aB	10 901.95 aB
50:50	3 913.67 cB	5 658.81 cB	9 593.61 bBC	8 527.35 bC	15 982.76 aA	18 499.32 aA
25:75	6 661.88 cA	5 824.62 cB	14 368.18 aA	8 885.53 bC	9 568.23 bB	9 549.58 bB
0:100	5 656.69 cA	10 395.62 bA	10 220.79 bAB	13 982.70 aA	9 462.20 bB	16 309.46 aA

注:表中数据为 3 个重复的平均值 $\pm$ 标准差 SE,表中大小写不同字母表示同行数据间硝酸盐含量差异显著 ($p<0.05$);大写字母表示同列处理间的硝酸盐含量差异显著 ($p<0.05$),下表同。

也不是在纯 NH_4^+ 处理下硝酸盐积累量最低,如根中的硝酸盐积累量四月慢和华冠青梗菜都是在 50:50 处理最低。

虽然不同铵硝比例对不同品种小白菜的硝酸盐积累量影响规律不同,但是高硝酸盐积累品种四月慢的硝酸盐积累量还是显著高于低硝酸盐积累品种华冠青梗菜,尤其是在铵硝比为 100:0、75:25 和 50:50 处理时(表 2)。在铵硝比 25:75 处理下的根和叶片硝酸盐积累量以及 0:100 处理的根和叶柄硝酸盐积累量都是四月慢显著高于华冠青梗菜。

2.2 不同铵硝比例对硝酸根吸收速率的影响

从吸收速率的测定结果可以看出(图 1),高硝酸盐积累品种四月慢在供试不同铵硝比例吸收液中的吸收速率都高于低硝酸盐积累品种华冠青梗菜,并且随着 NO_3^- 比例的增加,品种间的差异也增加,在吸收液铵硝比例为 25:75 和 0:100 中,四月慢的 NO_3^- 吸收速率显著高于华冠青梗菜 ($p<0.01$)。但是硝酸盐积累量并不都是四月慢显著高于华冠青梗菜(表 2),铵硝比 25:75 处理叶柄中的硝酸盐积累量华冠青梗菜显著高于四月慢,这说明硝酸盐的积累量并不完全与根系的 NO_3^- 吸收速率相关,在很大程度上取决于植株体内硝酸盐代谢途径的调节能力。

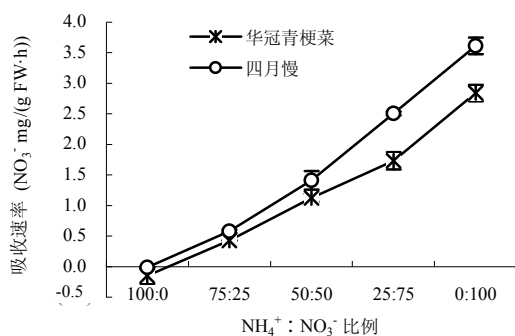


图 1 供试小白菜品种在不同铵硝比例吸收液中的吸收速率差异
Fig. 1 Nitrate uptake rates of Chinese cabbage cultivars under different ratios of $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ solution

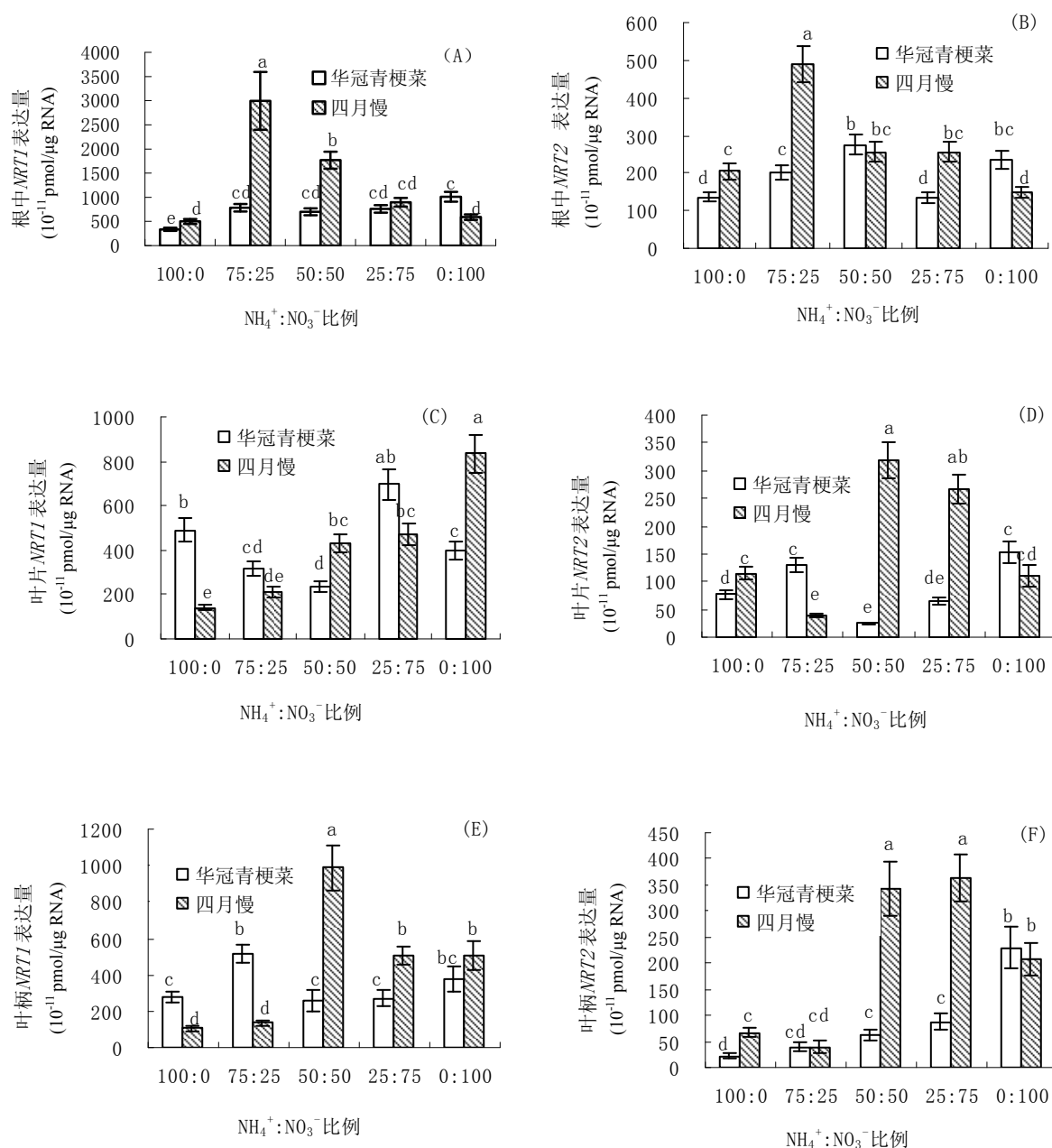
2.3 不同铵硝比例培养对硝酸根吸收基因 *NRT1* 和 *NRT2* 表达量影响

从定量 PCR 的结果来看,不同铵硝比例处理对硝酸盐吸收转运蛋白基因 *NRT* 表达有显著的影响,并且高硝酸盐积累品种四月慢与低硝酸盐积累品种华冠青梗菜之间存在差异(图 2)。从表达量来看,*NRT1* 在根、叶片及叶柄中的平均表达量数值分别为 1034、423 和 394,而 *NRT2* 在根、叶片及叶柄中的表达量分别为 234、130 和 147,远远低于 *NRT1* 的表达量,这说明在供试硝酸盐浓度下,*NRT1* 对硝酸盐吸收的贡献可能大于 *NRT2*。从表达部位来看,*NRT1* 和 *NRT2* 都是根中的表达量大于地上部。

不同铵硝比例对 *NRT1* 和 *NRT2* 表达有显著影响,且存在基因型差异。从根中的表达量看,华冠青梗菜的 *NRT1* 在有 NO_3^- 存在时的表达量显著高于无 NO_3^- 的处理,且在 NO_3^- 存在情况下 *NRT1* 表达量不受铵硝比例影响。四月慢 *NRT1* 和 *NRT2* 的表达都表现出明显的受低浓度 NO_3^- 诱导的特性;*NRT1* 在无 NO_3^- 的铵硝比 100:0 处理时表达量很低,当 NO_3^- 比例达到 25% 时,其表达量数值由 723 增加到 2 996,之后又随着 NO_3^- 浓度的增加而降低,在 NO_3^- 比例增加到 75% 和 100% 时,表达量与 100:0 处理没有显著差异(图 2);*NRT2* 也是在铵硝比 75:25 处理时,表达量迅速增加并显著高于 100:0 处理,之后随着 NO_3^- 比例的增加而迅速降低,在 50:50 及 25:75 处理时表达量与 100:0 处理没有显著差异,在 0:100 处理时表达量显著低于 100:0 处理。从叶片中的表达量来看,四月慢 *NRT1* 的表达量随着培养液中 NO_3^- 比例的增加而增加,到铵硝 0:100 处理时达到最高值。而华冠青梗菜叶片中 *NRT1* 的表达量在铵硝比例由 100:0 到 50:50 过程中逐渐降低,在铵硝比例达到 50:50 后的 25:75 处理中显著增加,而后在铵硝比例 0:100 处理中又显著降低。*NRT2*

在叶片中的表达四月慢和华冠青梗菜完全不同，以铵硝比例 50:50 为分界点，在铵硝比例由 100:0 变为 50:50 后，华冠青梗菜 *NRT2* 表达量显著增加，而四月慢 *NRT2* 表达量显著降低；在铵硝比例由 50:50 变为 0:100 过程中，华冠青梗菜 *NRT2* 表达量显著增加，而

四月慢 *NRT2* 表达量显著降低，二者叶片中 *NRT2* 的表达对不同铵硝比例的反应规律完全相反。在叶柄中的表达量品种间也有差异，尤其是铵硝比例在 50:50 到 0:100 时，*NRT1* 和 *NRT2* 表达量四月慢降低，而华冠青梗菜增加。



(图中不同字母表示不同处理差异显著 ($p < 0.05$); 误差线代表标准误差 SE)

图2 供试小白菜品种在不同铵硝比例处理时 *NRT1* 和 *NRT2* 在根 (A, B)、叶片 (C, D) 和叶柄 (E, F) 中的表达量

Fig. 2 Expressions of *NRT1* and *NRT2* in root (A, B), leaf (C, D) and stem (E, F) in Chinese cabbage cultivars under different $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ treatments

不同基因型品种间比较发现，根中 *NRT1* 的表达量在铵硝比 100:0、75:25 和 50:50 处理中，四月慢都显著高于华冠青梗菜，*NRT2* 的表达量除 0:100 处理外，

其他处理都是四月慢显著高于华冠青梗菜，这与品种间硝酸盐积累量差异趋势一致 (表 2)，说明 *NRT1* 和 *NRT2* 在根中的表达在一定程度上可以解释品种间根

部硝酸盐积累的差异。但是在铵硝 0:100 处理时, *NRT1* 和 *NRT2* 的表达量四月慢都低于华冠青梗菜, 而硝酸盐的积累量却是四月慢显著高于华冠青梗菜, 说明除了 *NRT1* 和 *NRT2* 外, 还有很多因素影响硝酸盐的积累, 可能还有其他基因参与这一过程并起到关键的作用, 也可能是受到硝酸盐代谢途径的影响。叶片中硝酸盐积累量除 0:100 处理外, 都是四月慢显著高于华冠青梗菜(表 2), 而 *NRT1* 的表达量只有铵硝 50:50 和 0:100 处理四月慢显著高于华冠青梗菜, *NRT2* 在铵硝 100:0、50:50 和 25:75 处理时四月慢显著高于华冠青梗菜。叶柄中的硝酸盐积累量在铵硝 25:75 处理时华冠青梗菜显著高于四月慢, 此时四月慢的 *NRT1* 和 *NRT2* 表达量都显著高于华冠青梗菜; 其他 4 个处理硝酸盐积累量都是四月慢显著高于华冠青梗菜, 但是只有铵硝 50:50 处理 *NRT2* 和 *NRT1* 表达量四月慢显著高于华冠青梗菜。尤其是在铵硝 0:100 处理时, *NRT1* 和 *NRT2* 的表达量在品种间没有显著差异, 但是硝酸盐积累量

却是四月慢显著高于华冠青梗菜, 这进一步说明, *NRT1* 和 *NRT2* 的表达不能全部解释品种间的硝酸盐积累量差异, 小白菜不同基因型品种间硝酸盐积累量差异的机理还需要进一步研究。

2.4 硝酸还原酶活性 (NRA) 分析

从硝酸还原酶的活性 (NRA) 测定结果来看 (表 3), 不同铵硝比例对 NRA 有显著影响, 对于低硝酸盐积累品种华冠青梗菜来说, 根、叶片及叶柄中的 NRA 在铵硝比例 50:50 处理时表现最高, 而高硝酸盐积累品种四月慢叶片和叶柄中的 NRA 基本在有 NO_3^- 存在时就显著增加, 根中的 NRA 在 NO_3^- 比例大于 50% 以后也显著增加, 这说明高硝酸盐积累品种四月慢对 NO_3^- 的同化利用能力受不同铵硝比例的影响不大, 而低硝酸盐积累品种对 NO_3^- 的同化利用能力则受到不同铵硝比例的显著影响。同时, 就植株各部位的 NRA 来看, 四月慢都高于华冠青梗菜 (表 3), 这证明了四月慢对 NO_3^- 的同化利用能力强于华冠青梗菜。

表 3 供试小白菜品种在不同铵硝比例下硝酸还原酶活性 (NRA) 差异 (NaNO_2 , $\mu\text{g}/(\text{g FW}\cdot\text{h})$)
Table 3 Nitrate reductase activities of Chinese cabbage under different ratio of $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ solution

$\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$	华冠青梗菜			四月慢		
	根	叶	叶柄	根	叶	叶柄
100:0	180.01 aAB	126.42 bcB	115.22 cdC	153.28 abC	90.86 dB	125.77 bcC
75:25	135.86 cB	89.09 dBC	141.06 cBC	187.62 abBC	150.19 bcA	249.32 aAB
50:50	192.86 bcA	174.28 cdA	260.39 aA	167.14 cdC	143.29 dA	240.73 abAB
25:75	139.80 cdB	55.88 eD	172.59 bcB	286.59 aA	128.58 dAB	207.73 bB
0:100	140.54 cdB	84.72 eC	118.31 deC	221.02 abAB	167.87 bcA	277.62 aA

3 讨论

本研究以不同基因型的小白菜品种为材料, 分析了不同铵硝比例对小白菜硝酸盐积累量的影响, 并检测了不同铵硝比例培养对小白菜硝酸盐吸收转运蛋白基因 *NRT* 表达量的影响, 研究结果表明高硝酸盐积累品种四月慢的硝酸盐积累量及根系对 NO_3^- 的吸收能力都显著高于华冠青梗菜, *NRT1* 和 *NRT2* 的表达也只能在一定程度上解释品种间硝酸盐积累量的差异。对于不同铵硝比例对小白菜硝酸盐积累量的影响, 目前有很多研究, 大部分研究都认为供应 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 肥与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 肥相比, 可以显著降低小白菜硝酸盐积累量^[10]。张春兰等^[19]的营养液培养试验表明, 以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为 N 源时, 菠菜的硝酸盐含量分别比以 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为 N 源时减少 79% 和 98%。胡承孝等^[20]的土培试验表现, 施用硫酸铵时小白菜的硝酸盐含量分别比施用硝酸铵降

低 38.9% 和 38.8%。但是对于这一过程的机理没有报道。而本研究选用的两个不同基因型的小白菜品种除华冠青梗菜叶柄的硝酸盐积累量在纯铵 (100:0 处理) 处理时最低外, 植株各部位的硝酸盐积累量都在不同铵硝比例处理下达到最低值。这一现象的原因可能是研究选用的品种差异所致, 本研究中的两个品种间也有差异, 证明了铵硝比例对小白菜硝酸盐积累量的影响存在基因型差异。同时本研究结果也说明, 高硝酸盐积累品种对硝酸盐同化利用的能力也比低硝酸盐积累品种强, 且相对低硝酸盐积累品种而言, 更不易受不同铵硝比例的影响。

4 结论

不同铵硝比例对小白菜硝酸盐积累量有显著影响, 且存在基因型差异。高硝酸盐积累品种四月慢的根、叶片、叶柄的硝酸盐含量都高于低硝酸盐积累品

种华冠青梗菜, 且四月慢对 NO_3^- 的吸收速率显著高于华冠青梗菜, 尤其是在高 NO_3^- 比例处理时。四月慢对 NO_3^- 的同化利用的能力强于华冠青梗菜, 且比华冠青梗菜更不易受铵硝比例的影响。*NRT1* 和 *NRT2* 主要在根部表达, 且 *NRT1* 的表达量显著高于 *NRT2*, *NRT1* 和 *NRT2* 的表达量变化规律只能在一定程度上解释小白菜不同基因型间硝酸盐积累量的差异, 小白菜不同基因型品种间硝酸盐积累量差异的机理还需要进一步研究。

参考文献:

- [1] Sharat D, Gangollia P, Brandtb A. Nitrate, nitrite and Nnitroso compounds. *European Journal of Pharmacology: Environmental Toxicology and Pharmacology*, 1994, 292(1): 1-38
- [2] Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *Journal of Clinical Epidemiology*, 2003, 56(1): 1-9
- [3] 汪李平, 向长萍, 王运华. 武汉地区夏季蔬菜硝酸盐含量状况及其防治. *华中农业大学学报*, 2000, 19 (5): 497-499
- [4] Shimon R, Asaph BC, Arnold JB. Nitrate assimilation in plant shoots depends on photorespiration. *PNAS*, 2004, 101(31): 11 506-11 510
- [5] 王翠红, 唐建初, 刘钦云, 黄启为, 张杨珠, 黄运湘, 冯跃华. NPK 肥不同配比对萝卜产量及硝酸盐含量的影响. *生态与农村环境学报*, 2006, 22(4): 62-66
- [6] Pasda G, Hahnldel R, Zerulla W. Effect of fertilizers with the new nitrification inhibitor DMPP (3, 4-dimethylpyrazole phosphate) on yield and quality of agriculture and horticultural crops. *Biology and Fertility of Soil*, 2001, 34(2): 85-97
- [7] 贺文爱, 龙明华, 白厚义, 于文进. 蔬菜硝酸盐积累机制研究的现状与展望. *长江蔬菜*, 2003(2): 30-33
- [8] 徐亚平, 刘凤枝, 战新华. 贮存方法和贮存时间对蔬菜样品中硝酸盐和亚硝酸盐含量的影响. *农业环境科学学报*, 2005, 24(1): 257-258
- [9] 李海英, 彭光浩. 液培条件下氮素形态和化控技术对蔬菜硝酸盐累积的影响. *土壤*, 2007, 39(6): 896-899
- [10] 陈巍, 罗金葵, 姜慧梅, 沈其荣. 不同形态氮素比例对不同小白菜品种生物量和硝酸盐含量的影响. *土壤学报*, 2004, 41(3): 420-425
- [11] Herbert JK, Siddiqi MY, Glass ADM, Kirk GJD. Nitrate-ammonium synergism in rice. A subcellular flux analysis. *Plant Physiology*, 1999, 119:1 041-1 045
- [12] Crawford NM, Glass ADM. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. *Trends in Plant Science*, 1998, 3(10): 389-395
- [13] Daniel-Vedele F, Filleur S, Caboche M. Nitrate transport: A key step in nitrate assimilation. *Current Opinion in Plant Biology*, 1998, 1(3): 235-239
- [14] Huang NC, Liu KH, Lo HJ, Tsay YF. Cloning and functional characterization of an arabidopsis nitrate transporter gene that encodes a constitutive component of low-affinity uptake. *The Plant Cell*, 1999, 11(8): 1381-1392
- [15] Wang R, Liu D, Crawford NM. The Arabidopsis CHL1 protein plays a major role in high-affinity nitrate uptake. *PNAS*, 1998, 95(25): 15 134-15 139
- [16] Okamoto M, John VJ, Glass ADM. Regulation of *NRT1* and *NRT2* gene families of Arabidopsis thaliana: Responses to nitrate provision. *Plant and Cell Physiology*, 2003, 44(3): 304-317
- [17] Truman LJ, Richardson A, Forde BG. Molecular cloning of higher plant homologues of the high-affinity nitrate transporter of chlamydomonas reinhardtii and Aspergillus nidulans. *Gene*, 1996, 175(1/2): 223-231
- [18] Sandrine FR, Erwan LD, Philippe L, James HM, Alaino. Effect of nitrate pulses on BnNRT1 and BnNRT2 genes: mRNA levels and nitrate influx rates in relation to the duration of N deprivation in Brassica napus L. *Journal of Experiment Botany*, 2002, 53: 711-721
- [19] 张春兰, 高祖明. 氮素形态和 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 配比对菠菜生长和品质的影响. *南京农业大学学报*, 1990, 13(3): 70-74
- [20] 胡承孝, 邓波儿. 施用氮肥对小白菜和番茄中硝酸盐积累的影响. *华中农业大学学报*, 1992, 11(3): 239-243

Influence of Different $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ Ratios on Nitrate Accumulation in Different Genotypes of Chinese Cabbage

ZHAO Shou-ping, ZHANG Rui-lin, XU Ming-fei, ZHENG Ji-ci

(Institute of Quality Standards for Agro-products, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract: Taking the different genotypes of Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* (L.) Makino) cultivars, hyper nitrate accumulator SYM and low nitrate accumulator HGQGC as materials, we investigated the accumulation of nitrate, nitrate reductase activity (NRA) and the expression levels of *NRT1* and *NRT2* in plant tissue. The results showed that different $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratios produced significant influence on nitrate accumulation and this influence varied with genotypes. SYM possessed stronger ability than HGQGC to absorb, accumulate and utilize nitrate especially under higher NO_3^- proportion treatments, and the NRA of HGQGC was more sensitive than SYM to different $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratios. The expressions of *NRT1* and *NRT2* mainly located in root, and the expression levels of *NRT1* was higher significantly than that of *NRT2*. The expression levels of *NRT1* and *NRT2* can partly explain the different nitrate accumulations between SYM and HGQGC under different $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratios; however, the mechanism of it needs more research.

Key words: Chinese cabbage, Nitrate, Genotypes, *NRT1*, *NRT2*