

水杨酸和亚硫酸氢钠降低小白菜硝酸盐累积的复合效应研究

付雪清¹, 李红利¹, 朱翠敏¹, 高志奎¹, 王俊玲²

(1. 河北农业大学 园艺学院, 河北 保定 071000; 2. 河北农业大学 生命学院, 河北 保定 071000)

摘 要:以“佳惠”青梗小白菜为试材, 针对叶菜类蔬菜硝酸盐(NO_3^-)累积影响农产品安全问题, 以调控氮代谢促进硝酸盐还原同化为切入点, 研究了水杨酸(SA)和亚硫酸氢钠(NaHSO_3)叶面喷施对小白菜叶片硝酸盐累积的下调效应及营养品质的影响。结果表明: 叶面喷施3 mmol/L SA 和 10 mmol/L NaHSO_3 处理后第 12 天可以显著降低小白菜叶片 NO_3^- 含量, 分别降低了 39.71%、35.91%; 而 2 mmol/L SA 和 8 mmol/L NaHSO_3 复合叶面喷施在处理第 12 天小白菜叶片 NO_3^- 含量显著降低了 56.35%, 呈现出明显的复合效应; 同时, 二者复合处理可以显著提高小白菜的鲜重、干重和干重/鲜重, 而对小白菜株高作用无显著影响; 而氮代谢关键酶, 硝酸还原酶(NR)、谷氨酰胺合成酶(GS)、谷氨酸草酰乙酸转氨酶(GOT)、谷氨酸丙酮酸转氨酶(GPT)活性分别提高了 43.65%、40.83%、32.37%、80.21%; 另外, 小白菜叶片可溶性糖、可溶性蛋白质、游离氨基酸和维生素 C 含量也分别增加了 32.47%、24.55%、30.50%、55.56%。

关键词:小白菜; 硝酸还原酶; 水杨酸; 亚硫酸氢钠; 氮硫代谢

中图分类号:S 565.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)04-0009-04

蔬菜在人们的日常饮食中占有重要地位^[1], 但极易富集硝酸盐。一般认为, NO_3^- 累积的原因在于吸收大于还原。现阶段国内外基于限制吸收的角度, 对减控氮素供给的措施进行了大量研究。一般采取控制氮素的施用量、氮磷钾的合理配比施肥、采用硝化抑制剂来抑制土壤硝化, 以及用其它形态氮素替代速效氮素等方法来降低蔬菜体内 NO_3^- 的累积^[2-6], 并取得了显著成效。课题组在充分发挥和挖掘现有基因型效能的基础上, 以促进 NO_3^- 的还原与同化能力为切入点, 获得了外加碳源, 谷氨酸和水杨酸(salicylic acid, SA)等降低硝酸盐累积的积极措施^[7-9], 其中水杨酸的降低效果尤为突出; 同时基于氮硫代谢相互偶联和平衡关系, 对小白菜进行了外施无机硫的处理, 即通过硫代谢影响氮代谢来保障相关物料和能量的供应和系统间质能分配等的方法, 筛

选出了高效降低小白菜硝酸盐累积的无机硫化合物— NaHSO_3 及其适宜浓度和处理方式^[10]。利用降低硝酸盐效果显著的 SA 和 NaHSO_3 混合施用, 进一步研究能否降低植物体内 NO_3^- 累积。

该试验选用 NaHSO_3 为硫源, 以 SA 和 NaHSO_3 的不同浓度配比对小白菜进行叶面喷施处理, 分析其对小白菜生长、叶片硝酸盐含量、营养品质及关键酶活性的影响, 以期筛选出 SA 和 NaHSO_3 降低小白菜硝酸盐累积的调控技术措施, 为中国无公害蔬菜产业的发展提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为北京硕源种子有限公司的“佳惠”青梗小白菜(*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *communis* Tsen et Lee)。

1.2 试验方法

试验在河北农业大学日光温室进行, 试验地土质为砂壤土, 容重 1.28 g/cm³, 有机质 22.15 g/kg, 碱解氮 71.98 mg/kg, 有效磷 144.6 mg/kg, 速效钾 212.39 mg/kg, 有效硫 20.1 mg/kg, pH 7.6。于 2012 年 9 月 3 日播种育苗, 15 d 后定植, 常规农艺管理。待生长至 5 叶 1 心时, 选取长势一致的小白菜叶面喷施不同配比的 SA 和 NaHSO_3 , 共设 16 个处理(表 1), 各处理重复 3 次, 小区

第一作者简介:付雪清(1988-), 女, 河北保定人, 硕士研究生, 研究方向为蔬菜质量与安全营养研究。E-mail: xueqing0628@163.com。

责任作者:高志奎(1963-), 男, 河北迁安人, 博士, 教授, 博士生导师, 现主要从事蔬菜生理生态等研究工作。E-mail: gaozhikui2005@163.com。

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(C2013204076)。

收稿日期:2013-10-24

面积 6 m²。并分别在第 0、6、12 天在各小区混合取样,测定小白菜叶片的 NO₃⁻ 含量。在处理第 12 天对处理的 CK、SA-2、S-8 和 SA2-S8 进行指标测定。

表 1 不同配施处理

Table 1 Different combined application treatments

编号 Number	水杨酸 SA /mmol·L ⁻¹	亚硫酸氢钠 NaHSO ₃ /mmol·L ⁻¹	编号 Number	水杨酸 SA /mmol·L ⁻¹	亚硫酸氢钠 NaHSO ₃ /mmol·L ⁻¹
CK	0	0	SA2-S10	2	10
SA-2	2	0	SA2-S12	2	12
SA-3	3	0	SA3-S8	3	8
SA-4	4	0	SA3-S10	3	10
S-8	0	8	SA3-S12	3	12
S-10	0	10	SA4-S8	4	8
S-12	0	12	SA4-S10	4	10
SA2-S8	2	8	SA4-S12	4	12

1.3 项目测定

NO₃⁻ 含量的测定参照李合生^[11] 的方法。地上部生物量的测定:各处理随机选取单株小白菜地上部,测量株高和鲜重,之后在 105℃ 下杀青 30 min,再转移到 60℃ 下烘干至恒重,测其干重。叶绿素含量的测定采用 SPAD-502 Plus 叶绿素计。营养品质的测定:游离氨基

酸含量采用水合茚三酮法;可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝 G-250 法;可溶性糖含量采用硫酸-蒽酮法;维生素 C 含量采用 2,6-二氯酚靛酚钠法^[12]。关键酶活性的测定:硝酸还原酶(NR)活性采用活体分光光度法^[12];谷氨酰胺合成酶(GS)活性参照王月福等^[13] 的方法;谷氨酸草酰乙酸转氨酶(GOT)活性和谷氨酸丙酮酸转氨酶(GPT)活性参照吴良欢等^[14] 的方法。所有测定指标重复 3 次。

1.4 数据分析

采用 Microsoft Excel 2003 软件对数据进行处理及制图,并用 DPS v 7.05 软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 SA 和 NaHSO₃ 对小白菜叶片 NO₃⁻ 含量的影响

由图 1 可知,SA 和 NaHSO₃ 处理第 12 天较第 6 天表现出更明显降低小白菜叶片 NO₃⁻ 含量的效果。其中,单施处理 SA-3 和 S-10 可分别降低 NO₃⁻ 含量 39.71%和 35.91%,复合处理中 SA2-S8 降低小白菜 NO₃⁻ 含量效果最为明显,为 56.35%,优于 SA-2 (18.13%)和 S-8(25.55%)单独喷施的效果之和。

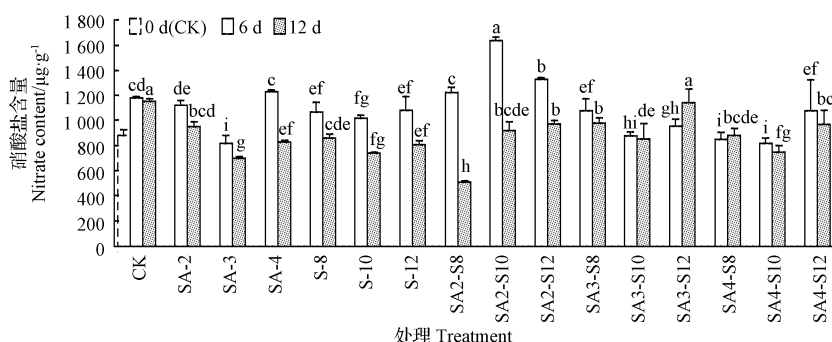


图 1 不同处理对小白菜叶片硝酸盐含量的影响

Fig.1 Effect of different treatments on the nitrate content in leaves of non-heading Chinese cabbage

2.2 SA 和 NaHSO₃ 对小白菜生长的影响

由表 2 可知,处理后第 12 天,SA-2 处理的小白菜鲜重有所降低,但干重/鲜重提高了 30.00%;S-8 处理

表 2 不同处理对小白菜生物量和叶绿素含量的影响

Table 2 Effect of different treatments on the plant biomass and chlorophyll content in non-heading Chinese cabbage

处理后第 12 天 On the twelfth day after treatment					
处理 Treatment	株高 Height /cm	生物量 Plant biomass/g			叶绿素含量 Chlorophyll content /SPAD 值
		鲜重	干重	干重/鲜重	
		Fresh weight	Dry weight	Dry weight /fresh weight	
CK	18.00a	56.85c	2.29b	0.040b	41.37a
SA-2	17.23a	45.91d	2.38b	0.052a	41.13a
S-8	17.83a	61.18b	3.20a	0.052a	43.40a
SA2-S8	18.17a	64.05a	3.28a	0.051a	44.67a

注:表中同列小写字母表示 0.05 水平差异显著。

Note: Different letters in same column mean significant difference at 5% level.

和 SA2-S8 均可显著提高小白菜的鲜重、干重和干重/鲜重,且混合喷施对鲜重和干重的影响明显优于 SA-2,然而各处理对叶绿素含量的影响无显著差异。

2.3 SA 和 NaHSO₃ 对小白菜营养品质的影响

由图 2 可知,处理后第 12 天,单独喷施中只有 S-8 可显著提高小白菜叶片的可溶性糖含量,但对其它营养品质无显著影响;而混合喷施处理 SA2-S8 的复合效应显著高于单独处理,分别提高了小白菜叶片的可溶性糖、可溶性蛋白质、游离氨基酸及维生素 C 含量 32.47%、24.55%、30.50%、55.56%。

2.4 SA 和 NaHSO₃ 对小白菜叶片 NR、GS、GOT 和 GPT 活性的影响

由图 3 可知,处理后第 12 天,单独喷施 SA 或 NaHSO₃ 均可显著提高 GOT 和 GPT 活性,但对 NR 和 GS 活性无显著影响;而叶面喷施 SA2-S8 可使得 NR、

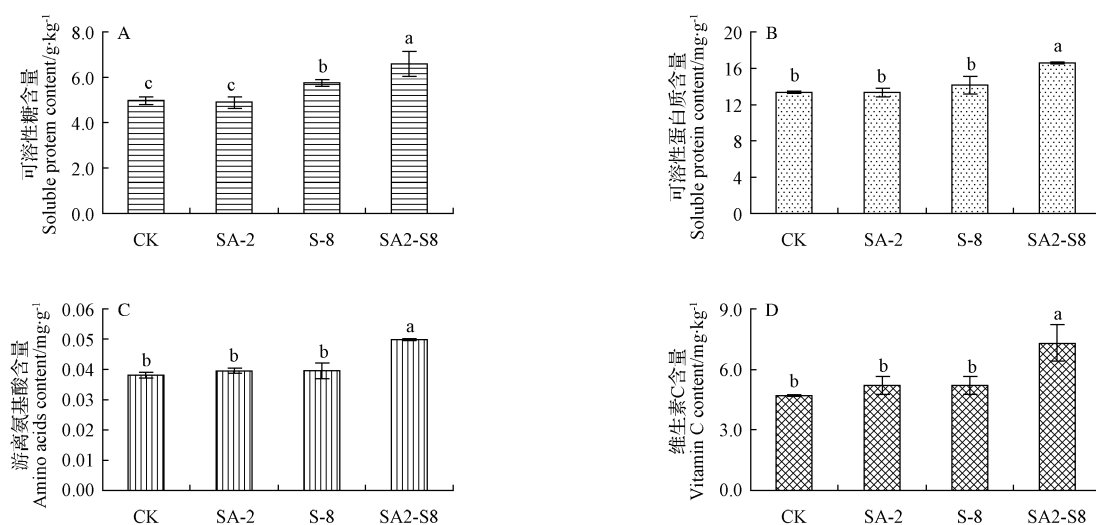
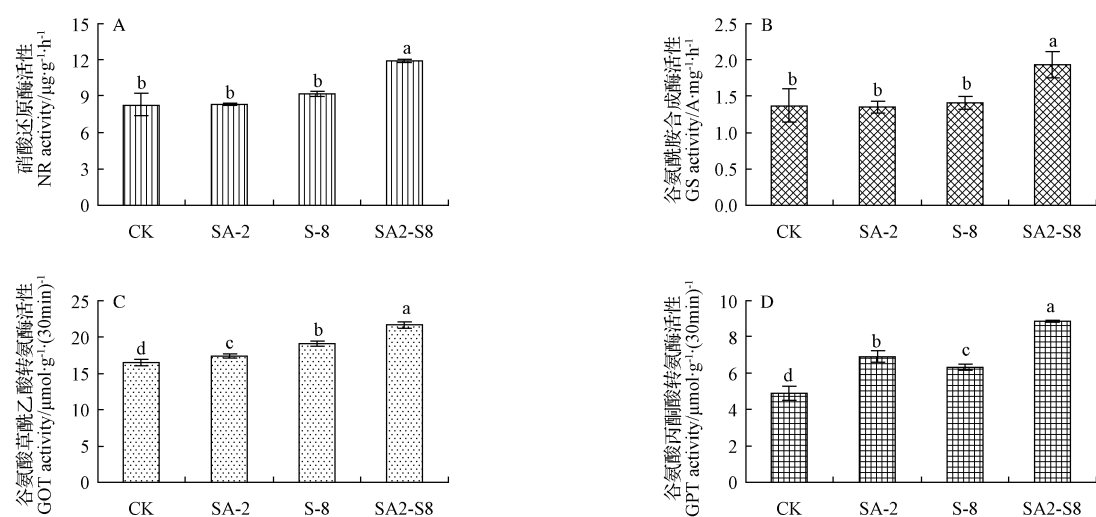
图2 SA和NaHSO₃配施对小白菜叶片营养品质的影响Fig. 2 Effect of SA and NaHSO₃ on the nutritional quality in leaves of non-heading Chinese cabbage

图3 不同处理对小白菜叶片NR(A)、GS(B)、GOT(C)、GPT(D)活性的影响

Fig. 3 Effect of different treatments on the NR(A)、GS(B)、GOT(C) and GPT(D) in leaves of non-heading Chinese cabbage

GS、GOT、GPT 活性分别显著提高 43.65%、40.83%、32.37%和 80.21%，表现出了明显的复合效应。

3 结论与讨论

通过对 SA 和 NaHSO₃ 浓度梯度的设置与复合,以及处理时间的选取,确定出降低小白菜叶片 NO₃⁻ 含量最佳的处理为 2 mmol/L SA 和 8 mmol/L 的 NaHSO₃ 混合叶面喷施,最为显著的时期为处理后第 12 天。该处理不仅显著降低了小白菜叶片的 NO₃⁻ 含量,对提高小白菜地上部鲜重、干重和干重/鲜重比及促进氮代谢过程中关键酶活性以及增进产品品质也起到了积极作用。

NR 是氮代谢过程中的限速酶,是催化 NO₃⁻ 还原

同化的关键酶,NR 活性的提高能促使 NO₃⁻ 的还原同化。前人研究认为,适宜浓度的 SA 可以诱导 NR 的活性,促进根系的生长发育^[15],并且能够促进氮素的吸收和还原,减少了硝酸盐进入液泡贮积^[8]。而 S 作为 NR 的组成成分在一定程度上也影响着植物对氮的吸收^[16-17],霍捷^[18]的研究表明,10 mol/L NaHSO₃ 能明显降低小白菜叶片 NO₃⁻ 含量,提高氮代谢关键酶活性。该试验中单独喷施 SA 和 NaHSO₃ 在适宜浓度下也均能达到显著降低 NO₃⁻ 累积的效果,且二者混合喷施效果更为显著。混合喷施 SA 和 NaHSO₃ 使得小白菜硝酸盐含量降低了 56.35%,鲜重仅提高了 12.66%,该结果表明,硝酸盐累积的降低并非稀释效应(鲜重增加)所

致。加之,二者混合喷施不但显著促进了氮代谢还原和同化动力泵 NR、GS 以及转氨作用关键酶 GOT 和 GPT 的活性,而且小白菜叶片的可溶性糖、可溶性蛋白质、游离氨基酸以及维生素 C 含量均有显著提高。可见,SA 和 NaHSO_3 是通过发挥对氮代谢还原和同化动力泵的提升并协同调控转氨作用,从而促进硝态氮更多地转化为游离氨基酸和可溶性蛋白质,起到了改善内在品质的积极作用。而单独喷施处理中 3 mmol/L SA 和 10 mmol/L NaHSO_3 对降低小白菜叶片硝酸盐含量效果最为显著,混合喷施则以 2 mmol/L SA 和 8 mmol/L NaHSO_3 复合效应明显,相对于单独喷施 2 种外源物质的需求量有所降低,SA 和 NaHSO_3 在调控氮代谢的过程中起到了一定的协同作用,且二者协同作用对降低小白菜叶片硝酸盐含量的效果甚至优于二者单独作用之和,同时增加(减少)或单方面增加(减少)二者的施用量来进行复合均不能达到如此效应,由此可见,SA 和 NaHSO_3 在配合施用时代不仅与二者各自的浓度相关,也与其复合比例密切相关。然而,关于二者在植物体内是如何达到协同作用促进氮代谢高效运转的相关机理有待进一步研究。

参考文献

- [1] 汪李平,向长萍,王运华.我国蔬菜硝酸盐污染状况及防治途径研究进展(上)[J].长江蔬菜,2000(4):3-6.
- [2] 陈贵林,高秀瑞.氨基酸和尿素替代硝态氮对水培不结球白菜和生菜硝酸盐含量的影响[J].中国农业科学,2002,35(2):187-191.
- [3] 王正银,李会合,李宝珍,等.氮肥、土壤肥力和采收期对小白菜体内硝酸盐含量的影响[J].中国农业科学,2003,36(9):1057-1064.
- [4] 周文利.硫酸亚铁对小白菜生物量与硝酸盐含量和产量的影响[J].北方园艺,2010(2):34-35.
- [5] 江立庚,曹卫星,甘秀芹,等.不同施氮水平对南方早稻氮素吸收利用及其产量和品质的影响[J].中国农业科学,2004,37(4):490-496.
- [6] Babik I,Elkner K. The effect of nitrogen fertilization and irrigation on yield and quality broccoli[J]. Acta Hort,2002(5):33-44.
- [7] 徐广辉,高志奎,李祥莉,等.叶面喷施丙三醇对韭菜硝酸盐含量的影响[J].河北农业大学学报,2007,31(1):13-16.
- [8] 曹岩坡,高志奎,何俊萍,等.外源水杨酸对韭菜硝酸盐还原与同化的影响[J].园艺学报,2009,36(3):415-420.
- [9] 李林妍,王俊玲,王梅,等.遮光下外源水杨酸对韭菜硝酸盐还原同化效应的研究[J].中国农业科学,2012,45(20):4216-4223.
- [10] 霍捷,王俊玲,薛占军,等.亚硫酸氢钠对白菜叶片硝酸盐还原及光合能力的影响[J].园艺学报,2012,39(4):719-726.
- [11] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000:123-137.
- [12] 西北农业大学植物生理生化教研组.植物生理学实验指导[M].西安:陕西科学技术出版社,1986:103-105,42-44,35-36.
- [13] 王月福,于振文,李尚霞,等.氮素营养水平对冬小麦氮代谢关键酶活性变化和籽粒蛋白质含量的影响[J].作物学报,2002,28(6):743-748.
- [14] 吴良欢,蒋式洪,陶勤南.植物转氨酶(GOT 和 GPT)活性比色测定方法及其应用[J].土壤通报,1998,29(3):136-138.
- [15] 高夕全,刘爱荣.水杨酸对水稻幼苗硝酸还原酶活性和根系生长的影响[J].安徽农业技术师范学院学报,2000,14(1):13-15.
- [16] 刘中良,刘世琦,张自坤.硫对大蒜生理特性及主要矿质元素吸收的影响[J].中国蔬菜,2010(10):46-50.
- [17] 刘中良,刘世琦,张自坤,等.水培条件下硫对大蒜营养品质和鲜重的影响[J].中国农学通报,2010,26(10):207-211.
- [18] 霍捷.无机硫降低小白菜叶片硝酸盐累积的效应及机理研究[D].保定:河北农业大学,2012.

The Compound Effect of SA and Sodium Bisulfite on Reducing Nitrate Accumulation in the Leaf of Non-heading Chinese Cabbage

FU Xue-qing¹, LI Hong-li¹, ZHU Cui-min¹, GAO Zhi-kui¹, WANG Jun-ling²

(1. College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071000; 2. College of Life Science, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071000)

Abstract: Taking non-heading Chinese cabbage 'Jiahui' as material, aimed at resolving the problem of nitrate accumulated in the leaf vegetables influencing the quality of agricultural products badly, basing itself on the nitrogen and sulfur metabolism correlation, the effect of different ratios of salicylic acid (SA) and sodium bisulfite (NaHSO_3) on the nutritional quality and nitrate content in the leaf of non-heading Chinese cabbage were studied. The results showed that, on the 12th day, when spraying 3 mmol/L SA or 10 mmol/L NaHSO_3 , they could reduce the nitrate content in the leaves of non-heading Chinese cabbage for 39.71% or 35.91%, but when the ratios of SA was 2 mmol/L and the NaHSO_3 was 8 mmol/L, the mixture brought the best effect, reducing the nitrate content to 56.35%, showed an obvious combined effect. At the same time, the fresh weight, dry weight and fresh weight/dry weight were significantly improved except the height; however the activity of key enzymes of nitrogen metabolism such as NR, GS, GOT and GPT were increased by 43.65%, 40.83%, 32.37% and 80.21% respectively. In addition, the soluble sugar, the soluble protein, the amino acids and the vitamin C content were increased 32.47%, 24.55%, 30.50% and 55.56% respectively.

Key words: non-heading Chinese cabbage; nitrate reduction; salicylic acid(SA); NaHSO_3 ; nitrogen-sulfur metabolism