DOI: 10.3724/SP.J.1035.2011.00075

粉绿狐尾藻和凤眼莲对不同形态氮吸收动力学研究

金春华 陆开宏 胡智勇 谢丽凤 梁晶晶 张春景

(宁波大学教育部应用海洋生物技术重点实验室, 宁波 315211)

摘要: 采用改进常规耗竭法, 研究了粉绿狐尾藻(*Myriophyllum aquaticum*)、凤眼莲(*Eichhornia crassipes*)在抑菌和非抑菌两种处理中对 NO_3^-、NH_4^+ 吸收的动力学特征。结果表明: 两种植物对 NO_3^- 和 NH_4^+ 的最大吸收速率(I_{max})和亲和力($1/K_m$)有显著差异, 凤眼莲对 NO_3^-、NH_4^+ 的吸收速率显著高于狐尾藻, 说明凤眼莲更适宜用于污染水体养分的去除; 不同植物对 NO_3^-、NH_4^+ 表现出吸收偏好性, 凤眼莲对 NO_3^- 有较高的 I_{max} 值和亲和力, 而狐尾藻对 NH_4^+ 有较高的 I_{max} 值和亲和力; 抑菌处理能显著增加凤眼莲对 NH_4^+ 的吸收速率, NO_3^- 浓度高于 1.00 mmol/L 时, 抑菌处理能显著减小凤眼莲对 NO_3^- 的吸收速率, 狐尾藻对 NO_3^-、NH_4^+ 的吸收未受到抑菌处理的显著影响。

关键词: 粉绿狐尾藻; 凤眼莲; 氮; 吸收动力学

中图分类号: X52 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2011)01-0075-05

利用水生植物净化富营养水体国内外已有较多研究, 其中, 对植物修复过程中氮磷去除效果及其机制的研究备受关注[1—3]。一般认为, 水生植物去除养分主要通过两方面的作用, 即植物的吸收、吸附、富集作用和植物根际微生物的降解作用。植物发达的根系为微生物提供了附着环境, 植物能够运输营养物质以及氧气到其根部来促进植物根际环境微生物的生长和新陈代谢并以此来加强其生物转化作用。不同植物对污染水体中养分的净化能力有所不同, 通过不同植物对营养盐吸收的研究可以揭示植物对环境污染物的去除能力[4]。植物营养动力学研究为分析环境条件对植物吸收养分的影响, 比较不同种类或品种间养分吸收特征的差异提供了量化指标, 并在阐述植物尤其是栽培植物(如水稻、大麦、小麦、玉米、甜菜、黄瓜等)的营养物质吸收特性方面普遍应用[5,6], 而在水生植物上的应用研究尚不多见, 仅见对浮萍(*Lemna minor*)[7]、空心菜(*I pomoea aquatica*)[8]等少数植物的研究报道。营养吸收动力学参数虽然只是植物吸收特性的数量化描述, 难以直接反映植物吸收能力的深层次机理, 但在富营养水体植物修复工程中, 尤其在确定不同氮、磷负荷水体的适宜净化植物时, 需要对更多植物的研究予以支撑。

粉绿狐尾藻(*Myriophyllum aquaticum*)和凤眼莲(*Eichhornia crassipes*)是两种高度耐污且具有明显净化作用的水生植物, 近年来常用作重富营养水体生态修复的先锋植物。本研究以酶促反应动力学理论为基础, 开展这两种水生植物对不同形态氮素吸收动力学的研究, 以比较不同氮形态和氮浓度时两种植物的养分吸收特性及对水体氮素的去除效率; 并通过测定两种植物在抑菌和非抑菌常规环境中的吸收常数 K_m 和最大吸收速率 I_{max}, 探讨水生植物吸收作用和根际微生物等降解作用对氮素去除的贡献, 以进一步明晰不同水生植物的净化机理。

1 材料与方法

1.1 试验材料

水生植物的准备: 选择生长大小一致的粉绿狐尾藻(根长 3—8 cm, 株鲜重 2—5 g)、凤眼莲(根长 2—6 cm, 株鲜重 5—10 g)幼体, 先用自来水清洗, 然后用蒸馏水清洗, 最后将其幼体在 Hogland 营养液中

收稿日期: 2009-11-26; **修订日期:** 2010-09-26

基金项目: 863 国家高技术研究发展计划项目(2007AA10Z409); 浙江省重大科技专项重点社会发展项目(2009C03017-4)资助

作者简介: 金春华(1964—), 男, 浙江东阳人; 副教授; 主要从事环境保护与生态修复研究; E-mail: jinchunhua@nbu.edu.cn

通讯作者: 陆开宏(1964—), 男, 浙江余姚人; 教授, 博士生导师; 主要从事水域生态学研究; E-mail: lukaihong@nbu.edu.cn

培养 2 周以上, 每 3 天更换营养液。在试验前将植物用去离子水冲洗干净, 转入 0.1 mmol/L 的 $CaSO_4$ 溶液中, 预培养 48h, 以排除自由空间中残留的氮素对吸收试验的影响。

1.2 试验方法

两种水生植物对 NO_3^-、NH_4^+ 的吸收动力学试验采用改进的常规耗竭法[9], 以 0.1 mmol/L 的 $CaSO_4$ 为支持液, 配制 A、B 2 个系列浓度梯度(0.05、0.10、0.25、0.50、0.75、1.00、1.25、1.50 mmol/L)培养液, 共 8 个处理, 3 个重复, 其中 A 系列培养液不加任何试剂, B 系列培养液加入能抑制微生物但对植物生长无显著影响的微生物抑制剂(氨苄青霉素 10 mg/L、丙烯基硫脲 20 mg/L、氯酸钾 122 mg/L)。吸取不同浓度的含氮溶液 A 或 B 400 mL, 分别加入吸干表面水分的 2 种水生植物, 置于 500 mL 容器中进行吸收试验, 每个容器中放置狐尾藻 2 株, 凤眼莲 1 株。

试验在温度为(25±1)℃、光照强度为 72 μmol/m^2·s 光照培养箱中进行, 吸收 6h, 立即取出植株, 烘干, 分别对狐尾藻和凤眼莲整个植株进行干质量称量, 并测定培养液中的 NO_3^-、NH_4^+ 的含量, 根据吸收前后 N 浓度的变化量, 计算单位植物干质量在单位时间内的 N 净吸收速率。采用 Michaelis-Menten 动力学方程($v=\frac{I_{max}\times C}{K_m+C}$, C 为营养盐浓度, v 为各浓度下营养盐吸收速率, I_{max} 为最大吸收速率, K_m 为米氏常数)的 Hofstee 转化式处理数据, 即 $v=I_{max}-K_m\times\frac{v}{C}$, 求出吸收动力学参数 I_{max} 和 K_m[9]。营养液 NO_3^-、NH_4^+ 含量均用全自动间断化学分析仪(Smart 2000)测定。

1.3 数据统计

数据处理在 SPSS13.0 统计软件上进行。各处理间 NO_3^-、NH_4^+ 吸收速率先进行两因素方差分析, 再进行 Duncan 多重比较。

2 结 果

2.1 不同植物对 NO_3^-、NH_4^+ 的吸收动力学特征

从图 1、图 2 可以看出, 随着溶液中 NO_3^-、NH_4^+ 浓度的提高, 两种水生植物对 NO_3^-、NH_4^+ 的吸收速

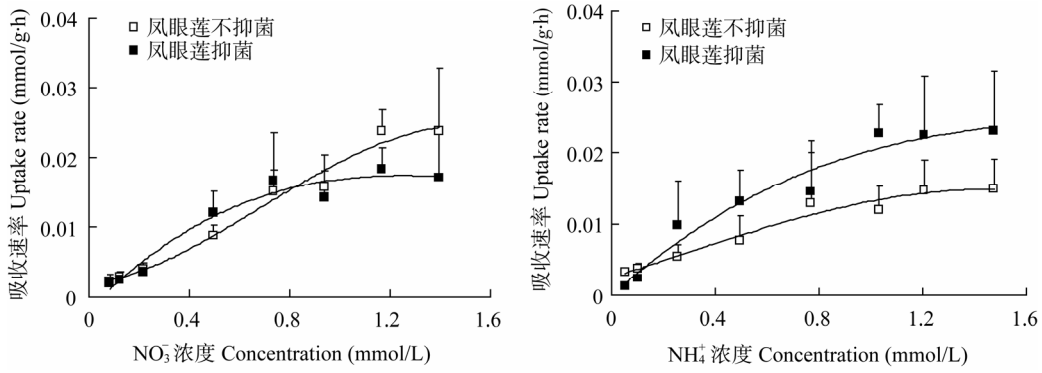


图 1 凤眼莲对 NO_3^-、NH_4^+ 吸收速率

Fig. 1 NO_3^- and NH_4^+ uptake rates by *E. crassipes*

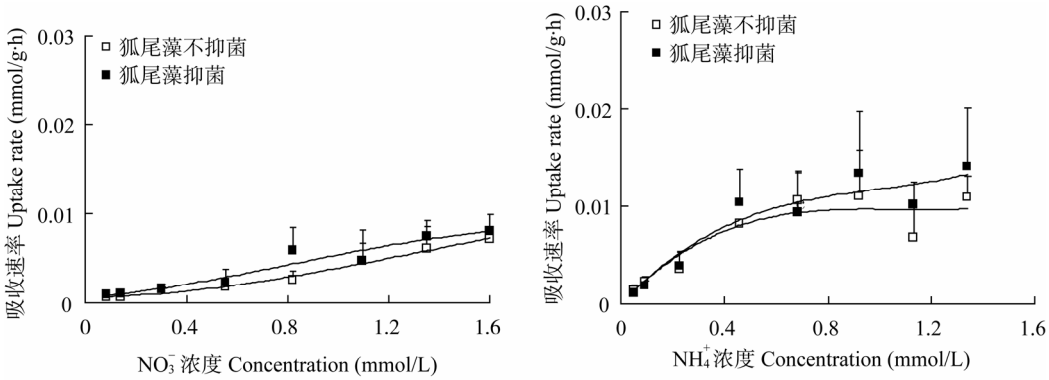


图 2 狐尾藻对 NO_3^-、NH_4^+ 吸收速率

Fig. 2 NO_3^- and NH_4^+ uptake rates by *M. aquaticum*

率不断增加, 并逐渐趋于饱和。两种植物对 NO_3^-、NH_4^+ 吸收速率差异显著, 无论是在抑菌还是在非抑菌条件下, 凤眼莲对 NO_3^-、NH_4^+ 吸收速率均要显著高于狐尾藻(P<0.05), 说明前者的吸 N 能力强。同种植物对 NO_3^-、和 NH_4^+ 的吸收速率也有所差异, 凤眼莲对 NO_3^- 的吸收速率要高于对 NH_4^+ 的吸收速率(P<0.05), 而狐尾藻表现出相反的趋势(P<0.01)。

从动力学参数来看(表 1), 凤眼莲对 NO_3^- 的 I_{max} 和 K_m 均要显著高于狐尾藻(P<0.05), 由于 K_m 值越大, 代表载体与 NO_3^- 的亲和力越低, 说明即凤眼莲对 NO_3^- 的吸收优势主要体现在较高的 I_{max}, 也即凤眼莲对 NO_3^- 更快的转运速度; 两种植物对 NH_4^+ 的 I_{max} 无显著差异, 而 K_m 差异显著(P<0.05), 也即狐尾藻对 NH_4^+ 的 K_m 值要显著高于凤眼莲, 说明凤眼莲对 NH_4^+ 的吸收优势主要体现在较小的 K_m 值, 即载体与 NH_4^+ 间更高的亲和性。同种植物对 N 吸收比较, 狐尾藻对 NH_4^+ 的吸收优势, 凤眼莲对 NO_3^- 的吸收速率均体现为较高的 I_{max} 值和较小的 K_m 值。

表 1　凤眼莲、狐尾藻吸收 NO_3^-、NH_4^+ 的动力学参数

Tab. 1　Kinetic parameters of NO_3^- and NH_4^+ absorption by *E. crassipes* and *M. aquaticum*

植物 Species	N 素形态 Nutrient	非抑菌 Non-antimicrobial treatment		抑菌 Antimicrobial treatment	
		I_{max} (μmol/h·g)	K_m (μmol/L)	I_{max} (μmol/h·g)	K_m (μmol/L)
凤眼莲 *E. crassipes*	NO_3^-	40.3±0.1	1423.3±48.9	21.20±3.6	563.6±74.2
	NH_4^+	14.5±1.5	222.2±42.9	27.0±4.0	572.0±22.2
狐尾藻 *M. aquaticum*	NO_3^-	6.10±0.7	687.8±162.4	7.50±1.4	584.6±205.9
	NH_4^+	13.1±2.5	403.5±77.0	17.8±1.6	618.3±27.2

2.2　抑菌处理对植物吸收动力学特征影响

抑菌处理后, 凤眼莲、狐尾藻对 NO_3^-、NH_4^+ 的吸收仍符合 Michaelis-Menten 动力学方程。NO_3^- 浓度低于 1.00 mmol/L 时, 抑菌处理未显著影响凤眼莲对 NO_3^- 的吸收速率, NO_3^- 浓度高于 1.00 mmol/L 时, 非抑菌组凤眼莲对 NO_3^- 的吸收速率要显著高于抑菌组(P<0.05), 而狐尾藻在抑菌、非抑菌两种处理下对 NO_3^- 吸收速率无显著差异(P>0.05); 狐尾藻对 NH_4^+ 的吸收速率同样未受到抑菌处理的影响, 而抑菌组凤眼莲对 NH_4^+ 的吸收速率要显著高于非抑菌组(图 1), 从动力学参数来看, 抑菌处理后, 凤眼莲对 NH_4^+ 的 I_{max} 增加了 86.21%, 而 K_m 减小了约 1.5 倍。

3　讨　论

植物修复污染水体, 特别是水生湿地植物对水体净化主要通过根系的吸收、根系附着微生物的硝化、反硝化等途径实现。研究表明, 植物根系吸收 NO_3^- 是逆浓度梯度进入细胞, 它的进入可以维持细胞内电化学势平衡, 吸收 NO_3^- 所需能量主要是由 H^+ 浓度梯度提供; NH_4^+ 的吸收是逆化学势进行, 并且能被代谢抑制所阻断, 因而被认为是一个热力学主动吸收过程, 符合 Michaelis-Menten 动力学方程[10]。

NO_3^-、NH_4^+ 是植物生长所必需的营养盐来源, 不同植物对 N 的吸收能力有所差异, 对 NO_3^-、NH_4^+ 会表现出偏好性, 这具有重要的生态和实践意义[11]。在本实验条件下, 凤眼莲与狐尾藻相比, 前者在 NO_3^-、NH_4^+ 的吸收上均显示出显著优势, 说明富营养水体中凤眼莲对养分的去除能力要高于狐尾藻。现有资料表明, 不同植物对 NO_3^- 和 NH_4^+ 的营养吸收动力学参数存在很大差别, 例如紫萍(*Spirodela oligorrhiza*)对 NO_3^-、NH_4^+ 的 I_{max} 分别为 0.01255 mmol/gFW·h、0.00712 mmol/g FW·h[7], 而美人蕉(*Canna indica*)对 NO_3^-、NH_4^+ 的 I_{max} 分别为 0.167 mmol/g DW·h、0.238 mmol/g DW·h[4]。本实验结果表明, 狐尾藻有优先吸收 NH_4^+ 的趋势, 而凤眼莲对 NO_3^- 有强烈的吸收偏好性, 这与多数情况下水生植物优先吸收净化 NH_4^+ 的结论有一定出入[12,13]。产生差异的原因, 一方面是由于在不同研究中植物所处营养和其他环境不同所致, 如 Brix, *et al*.[14]通过研究发现植物根基环境的酸碱度、氮源含量都能影响

香蒲对氮的吸收, 另一方面也确实反映了不同植物在营养吸收方面存在的种间差异, 刘锋等[15]的研究亦证实了这一点。因此为了深入了解不同植物的营养吸收特性差异, 开展相同培养条件下不同种类的比较研究是必要的。

水生植物对 N 的 I_{max} 和 K_m 不仅在不同植物种类间有差别, 同时与其根际环境条件密切相关, 根际环境的温度、pH、溶氧、营养盐组成及与植物有共生关系的细菌、真菌等都会影响水生植物对 N 的吸收[14, 16]。在植物根际有氧微环境中, 微生物可以通过硝化作用将 NH_4^+ 转化为 NO_x, 同时可以提供厌氧的微环境支持反硝化作用, 转变 NO_x 为 N_2[17]。本研究在培养液中加入微生物抑制剂后, 狐尾藻对 NO_3^-、NH_4^+ 的吸收速率没有受到显著影响, 凤眼莲对 NO_3^- 的吸收速率在抑菌和非抑菌组无显著差异, 而抑菌组、非抑菌组凤眼莲对 NH_4^+ 吸收速率差异显著, 说明加入微生物抑制剂后, 能促进凤眼莲对 NH_4^+ 的吸收。从动力学参数上反映, 抑菌处理后, 凤眼莲对 NH_4^+ 的 I_{max} 增加了 86.21%, 而 K_m 减小了约 1.5 倍, 这可能是由于微生物抑制剂中丙烯基硫脲, 氯酸钾能有效抑制各类细菌的活性[18], 延长了环境中有效态 N 的停留时间, 促进了植物对 N 的吸收。焦晓光等[19]的研究同样表明硝化抑制剂的存在能促进小麦对 N 的吸收。营养离子的细胞膜转移过程都是通过质子驱动力来进行的, 该驱动力源于细胞膜上的 H^+-ATP 酶通过分解 ATP 获得能量将细胞内的 H^+ 泵出膜外所建立起的跨膜 pH 梯度和膜电位[20], 微生物的存在与否会改变载体所处细胞膜上的周边环境, 尤其是对 pH 产生了较大影响, 从而影响植物根细胞膜上载体对 NO_3^-、NH_4^+ 的转运速度。同时, 根际环境微生物的活性受抑制, 反硝化作用损失的 NO_3^- 量减少, 影响植物对养分的吸收, 根际微生物的硝化、反硝化作用及其呼吸代谢产生的 CO_2 改变了根际环境的 pH, 对离子的吸收产生影响, 具体原因有待进一步研究。

需要说明的是, 本研究采用的微生物抑制剂抑制虽然避免了水体中微生物可能带来的影响, 但是无法区分植物的根系吸收和叶片吸收, 试验获得的数据反映的是该植物的整体吸收。而且植物在不同的生长时期, 对养分的利用特性有所差异, 且在实验条件下植物对养分的吸收速率与在自然条件下的营养吸收也有所差异的, 因此, 对根际微生物影响植物吸收的机理分析还有待更多的实验支持。

参考文献:

[1] Wu A P, Wu S K, Ni L Y. Study of macrophytes nitrogen and phosphorus contents of the shallow lakes in the middle reaches of Changjiang River [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, **29**(4): 406—412 [吴爱平, 吴世凯, 倪乐意. 长江中游浅水湖泊水生植物氮磷含量与水柱营养的关系. 水生生物学报, 2005, **29**(4): 406—412]

[2] Jan V. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands [J]. *Science of the Total Environment*, 2007, **380**: 48—65

[3] Cheng H S, Mohd K Y, Brian S, *et al*. Nutrient removal in a pilot and full scale constructed wetland, Putrajaya city, Malaysia [J]. *Journal of Environmental Management*, 2008, **88**(2): 307—317

[4] Zhang Z H, Rengel Z, Meney K. Kinetics of ammonium, nitrate and phosphorus uptake by *Canna indica* and *Schoenoplectus validus* [J]. *Aquatic Botany*, 2009, **91**(2): 71—74

[5] Zhang Y L, Dong Y Y, Shen Q R, *et al.* Characteristics of NH_4^+ and NO_3^- uptake by rices of different genotypes [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2004, **41**(6): 918—923 [张亚丽, 董园园, 沈其荣, 等. 不同水稻品种对铵态氮和硝态氮吸收特性的研究. 土壤学报, 2004, **41**(6): 918—923]

[6] Sun M, Guo W S, Zhu X K, *et al*. Kinetics of nitrate and ammonium uptake by different wheat genotypes at seedling stage [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2006, **26**(5): 84—87 [孙敏, 郭文善, 朱新开, 等. 不同氮效率小麦品种苗期根系的 NO_3^-、NH_4^+ 吸收动力学特征. 麦类作物学报, 2006, **26**(5): 84—87]

[7] Shen G X, Yao F, Hu H, *et al*. The kinetics of ammonium and nitrate uptake by duckweed (Spirodela oligorrhiza) plant [J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2006, **27**(3): 505—508 [沈根祥, 姚芳, 胡宏, 等. 浮萍吸收不同形态氮的动力学特性研究. 土壤通报. 2006, **27**(3): 505—508]

[8] Zhou X H, Wang G X, Yang F, *et al*. Uptake kinetic characteristics of different ammonium and nitrate by Ipomoea aquatica forsk [J]. *Research of Soil and Water Conservation*, 2008, **15**(5): 84—87 [周晓红, 王国祥, 杨飞, 等. 空心菜对不同形态氮吸收动力学特性研究. 水土保持研究. 2008, **15**(5): 84—87]

[9] Zhang L, Ruan J Y. Comparison on research methods for fluoride uptake kinetics of tea plant [J]. *Journal of Tea Science*, 2008, **28**(3): 195—200 [张磊, 阮建云. 茶树氟吸收动力学参数测定方法的研究. 茶叶科学, 2008, **28**(3): 195—200]

[10] Zhao Y, Ma F M, Zhang D Y. Study on the absorption kinetics of different nitrogen in sugar beet [J]. *Journal of North-*

east Agricultural University, 2006, **37**(3): 294—298 [赵越, 马凤鸣, 张多英. 甜菜对不同氮素吸收动力学的研究. 东北农业大学学报, 2006, **37**(3): 294—298]

[11] Forde B G., Clarkson D T, Nitrate and ammonium nutrition of plants: physiological and molecular perspectives [J]. *Advances in Botanical Research*, 1999, **30**: 1—90

[12] Munzarova E, Lorenzen B, Brix H, *et al*. The effects of NH_4^+ and NO_3^- on growth, resource allocation and nitrogen uptake kinetics of *Phragmites australis* and *Glyceria maxima* [J]. *Aquatic Botany*, 2005, **8**: 326—342

[13] Fang Y Y, Babourina O, Rengel Z, *et al*. Ammonium and nitrate uptake by the floating plant *Landoltia punctata* [J]. *Annals of Botany*, 2007, **99**: 365—370

[14] Brix H, Dyhr-Jensen K, Lorenzen B. Root-zone acidity and nitrogen source affects *Typha latifolia* L growth and uptake kinetics of ammonium and nitrate [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002, **53**: 2441—2450

[15] Liu F, Li M, Li H L, *et al*. A preliminary study on NH_4^+-N uptake kinetics of *Potamogeton malaianus* under different nutrient conditions [J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2009, **27**(1): 98—101 [刘锋, 黎明, 李洪林, 等. 不同营养条件下竹叶眼子菜 NH_4^+-N 吸收动力学的初步研究. 武汉植物学研究, 2009, **27**(1): 98—101]

[16] Garnett T P, Smethurst P J. Ammonium and nitrate uptake by *Eucalyptusnitens*: effect of pH and temperature [J]. *Plant and Soil,* 1999, **214**: 133—140

[17] Chang H Q, Li N, Xu X F. NH_4^+ and NO_3^- uptake kinetics of three aquatic macrophytes [J]. *Ecology and Environment*, 2008, **17**(2): 511—514 [常会庆, 李娜, 徐晓峰. 三种水生植物对不同形态氮素吸收动力学研究. 生态环境, 2008, **17**(2): 511—514]

[18] Wang J L, Wu L B, Qi X, *et al*. Characterization of nitrification activity of activated sludge by oxygen uptake rate (OUR) [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1999, **19**(3): 225—229 [王建龙, 吴立波, 齐星. 用氧吸收速率(OUR)表征活性污泥硝化活性的研究. 环境科学学报, 1999, **19**(3): 225—229]

[19] Jiao X G, Liang W J, Chen L J, *et al*. Effects of urease /nitrification inhibitors on soil available N and microbial biomass N and on N uptake of wheat [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, **15**(10): 1903—1906 [焦晓光, 梁文举, 陈利军, 等. 脲酶/硝化抑制剂对土壤有效态氮、微生物量氮和小麦氮吸收的影响. 应用生态学报, 2004, **15**(10): 1903—1906]

[20] Serrano R. Structure and function of plasma membrane ATPase Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology, 1989, **40**: 61—94

KINETICS OF AMMONIUM AND NITRATE UPTAKE BY *MYRIOPHYLLUM AQUATICUM* AND *EICHHORNIA CRASSIPES*

JIN Chun-Hua, LU Kai-Hong, HU Zhi-Yong, XIE Li-Feng, LIANG Jing-Jing and ZHANG Chun-Jing

(*Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology*, *Ministry of Education*, *Ningbo University*, *Ningbo* 315211)

Abstract: The nutrient uptake kinetics of *M. aquaticum* and *E. crassipes* were investigated by using the modified depletion method under nutrient solution of antimicrobial treatment and non-antimicrobial treatment. The maximum uptake rate (I_{max}) and Michaelis–Menten constant (K_m) were estimated by iterative curve fitting. The I_{max} and K_m for the plants was significantly different between two plants. The absorption rates of NO_3^- and NH_4^+ in *E. crassipes* were significantly higher than that in *M. aquaticum*, illuminated that *M. aquaticum* was proper for treatment of the seriously polluted water. The I_{max} and $1/K_m$ for NO_3^- was higher than that of NH_4^+ in *E. crassipes*. In contrast, The I_{max} and $1/K_m$ for NH_4^+ was higher than that of NO_3^- in *M. aquaticum*. In *E. crassipes,* the absorption rates of NH_4^+ in an timicrobial treatment were significantly higher than that in non-antimicrobial treatment, and the absorption rates of NO_3^- in antimicrobial treatment were significantly lower than that in non-antimicrobial treatment when the concentration of NO_3^- was higher than 1.00 mmol/L. There were no difference between antimicrobial treatment and non-antimicrobial treatment for the absorption rates of NO_3^- and NH_4^+ in *M. aquaticum*.

Key words: *Myriophyllum aquaticum; Eichhornia crassipes*; Nitrogen; Uptake kinetics