

模拟酸雨对水葫芦根部 H^+ 、 NH_4^+ 、 NO_3^- 通量的影响

周之栋¹, 黄 华^{1,2}, 薛建辉¹

(1. 南京林业大学生物与环境学院, 江苏南京 210037; 2. 河南科技大学农学院, 河南洛阳 471003)

摘要: 以水葫芦为材料, 采用水培法, 利用非损伤微测技术, 研究了富营养条件下喷施 pH 值为 2.0 模拟酸雨后 1、3、6、12、24 h 水葫芦细根根尖 0~3 mm 区域 H^+ 、 NH_4^+ 、 NO_3^- 离子通量的变化。结果表明, 喷施酸雨后 24 h 内, 水葫芦根系对 H^+ 和 NH_4^+ 为净吸收, 对 NO_3^- 为净排放; 短期内酸雨对水葫芦根部 H^+ 、 NH_4^+ 、 NO_3^- 离子通量无显著性影响 ($P > 0.05$); 对 3 种离子做皮尔逊相关性分析, 发现两两之间无显著相关性。

关键词: 酸雨; 水葫芦; 根系; 离子通量

中图分类号: Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)06-0338-03

酸雨对陆地及水生生态系统的影响已成为全球重大环境问题^[1]。20 世纪 80 年代以来, 由于矿物燃料的大量使用, 排放到大气中的 SO_2 、 NO_x 不断增加, 酸雨问题愈加严重^[2], 由酸雨导致的植物伤害、生态平衡破坏、经济损失等诸多问题已引起人们的广泛关注^[3]。酸雨胁迫会威胁植物的生长发育, 目前研究主要集中在植物光合生理特性^[4-5]、抗氧化酶系统^[6]、植物种子萌发^[7-8]、植物生长^[9]等方面, 对植物根系离子通量的研究较少。非损伤微测技术(non-invasive micro-test technique, NMT) 是一种选择性分子/离子微电极技术, 具有非损伤性、时间空间高分辨率等特点, 能够保持被测样品完整, 可以在不破坏样品的前提下测到样品的生理特征和生命活动规律, 测试材料包括整体、器官、组织、细胞等^[10]。目前, 全球水体受到酸雨和富营养化双重威胁, 单一缓解富营养水体的植物已经不能满足治理水体污染的需求。水葫芦作为一种高效净化污染水体的水生植物^[11], 有效地降低了污染水体中氮营养盐浓度^[12]。有关水葫芦在受酸雨胁迫后不同时间根系对不同形态氮素的吸收能力及吸收偏好的研究还未见报道, 鉴于此, 本研究利用非损伤微测技术研究了水葫芦根系离子通量变化, 以探索受酸雨胁迫后植物根系吸收离子的变化, 以期探明遭受酸雨胁迫短期内是否会对水葫芦净化富营养化水体产生影响。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

水葫芦, 又名凤眼莲(*Eichhornia crassipes*), 属雨久花科水葫芦属, 为漂浮性恶性杂草, 主要分布于热带、亚热带以及部分温带地区的大小河流、湖泊。水葫芦根系发达, 根上须毛密

布, 有利于吸收水体中的营养元素^[13]。大量研究表明, 水葫芦对受污水体的净化效果明显优于其他任何一种水生生物, 可有效去除水体中的氮素, 现已被广泛应用于富营养化湖泊、河道、养殖废水、工业废水及垃圾渗滤液等方面的处理^[11]。

1.2 试验方法

本试验在南京林业大学下蜀林场温室中进行。水葫芦采自江苏南京。选取生长一致且生长旺盛的水葫芦幼苗, 分成 2 组, 转移到塑料周转箱(50 cm×38 cm×30 cm, 内盛 30 L 富营养液)。营养液成分: 4.000 mg/L NH_4NO_3 , 21.918 mg/L $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, 14.424 mg/L KNO_3 , 2.941 mg/L KH_2PO_4 , 1.000 mg/L $MgSO_4$ 。本试验采用 pH 值为 2.0 的酸雨处理, 用自来水和酸雨母液混合配成, 以 pH 值 7.0 的自来水为对照。酸雨母液为 1 mol/L 硫酸与 2 mol/L 硝酸的混合液。水葫芦在水培 4 周后, 进行模拟酸雨处理, 用塑料喷壶喷施模拟酸雨, 喷施量以水葫芦叶片滴水为止, 且保证每盆酸雨喷施量相同, 分别于酸雨处理后的 1、3、6、12、24 h, 采取根样, 测定 H^+ 、 NH_4^+ 、 NO_3^- 离子通量, 每个处理测定 3 个重复, 每个重复均取自不同的水葫芦根系。

本试验仪器选用 BIO-001A 型(Younger USA Sci. &Tech. Corp.)。选取新鲜健康的水葫芦新根为研究对象, 运用扫描离子选择电极技术进行非损伤性测试。选择新生嫩根, 从距离根尖 2 cm 处迅速剪下, 用滤纸条和玻璃块将根固定在培养皿底部, 在培养皿里用测试缓冲液平衡 3 min。 H^+ 测试液(pH 值 6.0): 0.1 mmol/L KCl, 0.1 mmol/L $CaCl_2$, 0.3 mmol/L MES(吗啉乙磺酸), pH 值 6.0; NH_4^+ 测试液: 0.1 mmol/L NH_4Cl , 0.1 mmol/L KCl, 0.1 mmol/L $CaCl_2$, 0.3 mmol/L MES, pH 值 6.0; NO_3^- 测试液: 0.1 mmol/L KNO_3 , 0.1 mmol/L KCl, 0.1 mmol/L $CaCl_2$, 0.3 mmol/L MES, pH 值 6.0。

试验选取水葫芦根尖 3 mm 区域, 测定电极近根表面端和远根表面端两点间(距离 30 μm) 的电压差, 利用校正得到的能斯特斜率和能斯特截距换算成两点之间的离子浓度差, 计算得出净离子通量。

1.3 数据分析

采用 Excel 2007 和 SPSS 19.0 软件进行数据处理和分析。

收稿日期: 2015-01-07

基金项目: 江苏省高校自然科学研究重大项目(编号: 12KJA180003); 江苏高校生物学优势学科建设工程项目(编号: 2014-PAPD)。

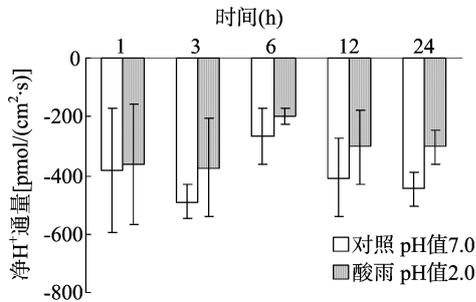
作者简介: 周之栋(1990—), 男, 山东临沂人, 硕士研究生, 主要从事生理生态学研究。E-mail: 1289597338@qq.com。

通信作者: 薛建辉, 博士, 教授, 主要从事森林生态学研究。Tel: (025) 85427220; E-mail: jhxue@njfu.edu.cn。

2 结果与分析

2.1 酸雨对 H⁺ 离子通量的影响

由图 1 可知,对照组和酸雨处理组 对 H⁺ 都表现为吸收,且对照组比酸雨组 H⁺ 吸收速率快,除 24 h 对照组与酸雨处理组存在显著差异 ($P < 0.05$) 外,其他时间 2 处理均无显著性差异。无论对照组还是酸雨处理组,H⁺ 吸收随着时间的变化表现趋势一样,总体表现为先稍微降低后逐渐升高。对照组 24 h 吸收速率最大,酸雨处理组 3 h 吸收速率最大,2 处理都在 6 h 净 H⁺ 吸收速率最低。



净离子通量正值代表离子排放,净离子通量负值代表离子吸收。下同。

图1 不同时间水葫芦根尖净H⁺通量

2.2 酸雨对 NH₄⁺ 离子通量的影响

由图 2 可知,除酸雨处理组 1 h 表现为轻微排放 NH₄⁺ 外,其他时间对照组和酸雨处理组均表现为对 NH₄⁺ 的吸收;3 h 和 12 h 对照组比酸雨处理组 NH₄⁺ 吸收速率快,6 h 和 24 h 酸雨处理组比对照组 NH₄⁺ 吸收速率快;对不同时间对照组与酸雨处理组做显著性检验,未发现二者具有显著性差异 ($P > 0.05$)。2 组数据变化趋势表现一样,对 NH₄⁺ 的吸收表现为先增加后又逐渐降低,再往后又增加的趋势。2 处理都在 12 h 对 NH₄⁺ 的吸收速率最低,对照组在 3 h 对 NH₄⁺ 的吸收速率最大,酸雨处理组在 6 h 对 NH₄⁺ 的吸收速率最大。

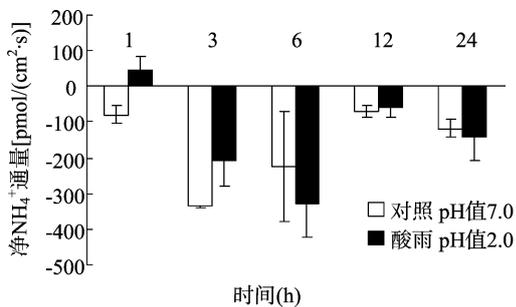


图2 不同时间水葫芦根尖净NH₄⁺通量

2.3 酸雨对 NO₃⁻ 离子通量的影响

由图 3 可知,对照组和酸雨处理组水葫芦根系均表现为对 NO₃⁻ 的排放,除 3 h 对照组 NO₃⁻ 的排放速率比酸雨处理组快外,其他各时间均是酸雨处理组 NO₃⁻ 的排放速率更快;对不同时间对照组与酸雨处理组做显著性检验,二者不具有显著性差异 ($P > 0.05$)。对照组根系对 NO₃⁻ 的排放速率表现为波浪起伏式变化,1 h 排放速率最低,12 h 排放速率最快;酸雨处理组对 NO₃⁻ 的排放速率表现为先增加后减少的趋势,1 h 排放速率最低,12 h 排放速率最快。

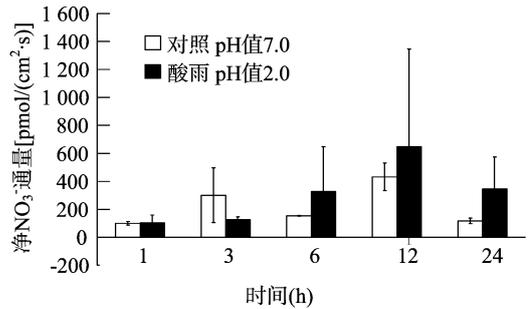


图3 不同时间水葫芦根尖净NO₃⁻通量

2.4 H⁺、NH₄⁺、NO₃⁻ 离子通量的相关性分析

对对照组和酸雨处理组 3 种离子的离子通量做线性相关性分析,发现两两之间相关关系不显著。相关系数见表 1、表 2。对照组 3 种离子的相关系数小,说明彼此之间的线性关系不明显。酸雨处理组 H⁺ 与 NH₄⁺ 相关系数为 -0.664,之间存在负相关,但相关关系不显著 ($P > 0.05$)。

表 1 对照组 H⁺、NH₄⁺、NO₃⁻ 通量的皮尔逊相关分析

离子	相关系数		
	H ⁺	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻
H ⁺	1	0.160	-0.312
NH ₄ ⁺		1	-0.077
NO ₃ ⁻			1

表 2 酸雨处理组 H⁺、NH₄⁺、NO₃⁻ 通量的皮尔逊相关分析

离子	相关系数		
	H ⁺	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻
H ⁺	1	-0.664	0.447
NH ₄ ⁺		1	-0.015
NO ₃ ⁻			1

3 讨论

本研究发现水葫芦根系在短期内吸收 H⁺,与 Jones 等的研究结果^[14]一致,与 Ma 等的研究结果^[15]不一致。NH₄⁺ 的部分吸收、NO₃⁻ 的排放是被动吸收过程,不需要 H⁺ 外排形成质子梯度来提供能量^[16],本研究发现水葫芦对 NH₄⁺ 表现为吸收,对 NO₃⁻ 表现为排放,即不需要产生质子梯度。对照组比酸雨组 H⁺ 吸收速率快,但除 24 h 外其他时间 2 处理均无显著性差异,说明短期内酸雨处理并没有对水葫芦根系吸收 H⁺ 产生显著影响。

对照组与酸雨处理组对 NH₄⁺ 均表现为吸收,但吸收速率二者之间无显著性差异,说明酸雨处理在短期内对水葫芦根系吸收 NH₄⁺ 并没有产生显著影响。对照组与酸雨处理组分别在 3 h 和 6 h 对 NH₄⁺ 的吸收速率达到最大,这与 H⁺ 在 6 h 的吸收速率最小相对应,分析可能是 NH₄⁺ 的吸收速率变大,需要消耗一定的能量,减少了 H⁺ 的吸收,有利于形成质子梯度,为 NH₄⁺ 的吸收提供能量。NH₄⁺ 是合成蛋白质和氨基酸的原料^[17],且 NH₄⁺ 同化作用需要的能量比 NO₃⁻ 同化作用需要的能量少,因此植物根尖分生组织可以以较少的能量利用

NH_4^+ , 为蛋白质合成提供氮素^[18], 此外 Colmer 等研究发现 NH_4^+ 的存在抑制 NO_3^- 的吸收, NO_3^- 的存在不会抑制 NH_4^+ 的吸收^[19], 所以水葫芦表现为对 NH_4^+ 的吸收作用。

对照组和酸雨处理组水葫芦根系均表现为对 NO_3^- 的排放, 总体酸雨处理组 NO_3^- 的排放速率比对照组快, 对不同时间对照组与酸雨处理组做显著性检验, 二者不具有显著性差异 ($P > 0.05$), 说明酸雨处理在短期内对水葫芦根系排放 NO_3^- 并没有产生显著影响。 NO_3^- 的吸收是主动运输, 需要消耗能量, 需要大量的 H^+ 外排, 形成质子梯度来供应能量^[20-21], 而本研究中 H^+ 表现为吸收作用, 无法形成大的质子梯度供应能量吸收 NO_3^- , 因此水葫芦根系表现为对 NO_3^- 的排放。

在 NH_4^+ 、 NO_3^- 吸收进植物根时, 经常伴随 H^+ 的外流^[20-21], H^+ 在植物对 NH_4^+ 、 NO_3^- 的吸收中起到关键作用, 因为 ATP 酶产生的 H^+ 梯度可以促进这些离子的吸收^[22-23], 同时有证据表明 H^+ 与 NH_4^+ 和 NO_3^- 通过协同转运蛋白进行协同转运^[20,24], 由于 NH_4^+ 和 NO_3^- 在植物根系中的吸收和同化作用与 H^+ 密切相关, 所以考虑净 H^+ 通量与净 NH_4^+ 和 NO_3^- 通量之间的相关关系。对 3 种离子的通量做线性相关性分析, 发现两两之间相关关系不显著, 这与前人的研究结果不同, Garnett 等对花旗松、美国黑松、亮果桉的根系进行分析, 发现净 H^+ 通量与净 NO_3^- 和净 NH_4^+ 通量具有显著的相关关系^[21,25]。

植物吸收不同形态的氮受许多环境因素的影响, 如通气状况、空气温度、培养液组成、溶液 pH 值、根部缺水和高浓度的盐, 同时也受到植物的生长阶段, 以及植物根部与细菌和真菌形成共生体的能力的影响^[26-28]。水葫芦吸收矿质离子的潜在生物学机制还不清楚, 有待进一步研究探明。

参考文献:

- [1] Menz F C, Seip H M. Acid rain in Europe and the United States: an update [J]. Environmental Science & Policy, 2004, 7 (4): 253 - 265.
- [2] 罗英. 模拟酸雨与富营养化复合胁迫对水生植物氮吸收的影响 [D]. 南京: 南京林业大学, 2012: 1 - 2.
- [3] Shukla J B, Sundar S, Naresh R. Modeling and analysis of the acid rain formation due to precipitation and its effect on plant species [J]. Natural Resource Modeling, 2013, 26 (1): 53 - 65.
- [4] 谢寅峰, 杨万红, 陆美蓉, 等. 模拟酸雨胁迫下硅对髯毛箬竹光合特性的影响 [J]. 应用生态学报, 2008, 19 (6): 1179 - 1184.
- [5] 金清, 江洪, 余树全, 等. 酸雨胁迫对苦楸幼苗气体交换与叶绿素荧光的影响 [J]. 植物生态学报, 2010, 34 (9): 1117 - 1124.
- [6] 刘建福, 王明元, 杨晨, 等. 外源 NO 对酸雨胁迫下龙眼幼苗生理特性的影响 [J]. 应用生态学报, 2013, 24 (8): 2235 - 2240.
- [7] 王丽红, 周青, 曾庆玲. 3 类抗性种子萌发过程中糖代谢对酸雨胁迫的响应 [J]. 环境科学, 2008, 29 (3): 799 - 803.
- [8] 周青, 曾庆玲, 黄晓华, 等. 三类抗性种子萌发对酸雨胁迫响应 [J]. 生态学报, 2004, 24 (9): 2029 - 2036.
- [9] 金清, 江洪, 余树全, 等. 酸雨胁迫对亚热带典型树种幼苗生长与光合作用的影响 [J]. 生态学报, 2009, 29 (6): 3322 - 3327.
- [10] 吕杰, 苗璐, 蔡蕊, 等. 非损伤微测技术在植物根系生长发育研究中的应用 [J]. 生物技术, 2013, 23 (1): 89 - 93.
- [11] 张志勇, 刘海琴, 严少华, 等. 水葫芦去除不同富营养化水体中氮、磷能力的比较 [J]. 江苏农业学报, 2009, 25 (5): 1039 - 1046.
- [12] 展巨宏, 李强, 邓莎, 等. 紫根水葫芦对富营养化水体中氮磷的净化效果研究 [J]. 地球与环境, 2014, 42 (3): 389 - 396.
- [13] 张春雨. 水葫芦对富营养化水体净化能力的研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2010: 5 - 6.
- [14] Jones D L, Shaff J E, Kochian L V. Role of calcium and other ions in directing root hair tip growth in *Limnium stoloniferum* [J]. Planta, 1995, 197 (4): 672 - 680.
- [15] Ma X J, Sun M, Sa G, et al. Ion fluxes in *Paxillus involutus* - inoculated roots of *Populus x canadensis* under saline stress [J]. Environmental and Experimental Botany, 2014, 108 (11): 99 - 108.
- [16] Luo J, Qin J J, He F F, et al. Net fluxes of ammonium and nitrate in association with H^+ fluxes in fine roots of *Populus popularis* [J]. Planta, 2013, 237 (4): 919 - 931.
- [17] Fang Y Y, Babourina O, Rengel Z, et al. Spatial distribution of ammonium and nitrate fluxes along roots of wetland plants [J]. Plant Science, 2007, 173 (2): 240 - 246.
- [18] Bloom A J, Sukrapanna S S, Warner R L. Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley [J]. Plant Physiology, 1992, 99 (4): 1294 - 1301.
- [19] Colmer T D, Bloom A J. A comparison of NH_4^+ and NO_3^- - Net fluxes along roots of rice and maize [J]. Plant Cell and Environment, 1998, 21 (2): 240 - 246.
- [20] Hawkins B J, Robbins S. pH affects ammonium, nitrate and proton fluxes in the apical region of conifer and soybean roots [J]. Physiologia Plantarum, 2010, 138 (2): 238 - 247.
- [21] Hawkins B J, Boukcim H, Plassard C. A comparison of ammonium, nitrate and proton net fluxes along seedling roots of douglas - fir and lodgepole pine grown and measured with different inorganic nitrogen sources [J]. Plant Cell and Environment, 2008, 31 (3): 278 - 287.
- [22] Miller A J, Cramer M D. Root nitrogen acquisition and assimilation. root physiology: from gene to function [J]. Springer Netherlands, 2005, 274 (1): 1 - 36.
- [23] Britto D T, Kronzucker H J. Futile cycling at the plasma membrane: a hallmark of low - affinity nutrient transport [J]. Trends in Plant Science, 2006, 11 (11): 529 - 534.
- [24] Wang M Y, Glass A, Shaff J E, et al. Ammonium uptake by rice roots (III. electrophysiology) [J]. Plant Physiology, 1994, 104 (3): 899 - 906.
- [25] Garnett T P, Shabala S N, Smethurst P J, et al. Simultaneous measurement of ammonium, nitrate and proton fluxes along the length of eucalypt roots [J]. Plant and Soil, 2001, 236 (1): 55 - 62.
- [26] Meeks J C, Steinberg N A, Enderlin C S, et al. Azolla - Anabaena relationship: XIII. Fixation of $^{15}\text{N}_2$ [J]. Plant Physiology, 1987, 84 (3): 883 - 886.
- [27] Garnett T P, Smethurst P J. Ammonium and nitrate uptake by *Eucalyptus nitens*: effects of pH and temperature [J]. Plant and Soil, 1999, 214 (1/2): 133 - 140.
- [28] Ikeda H. Utilization of nitrogen by vegetable crops [J]. Japan Agricultural Research Quarterly, 1991, 25 (2): 117 - 124.