

空心菜对不同形态氮吸收动力学特性研究^{*}

周晓红, 王国祥, 杨 飞, 何 伟, 杨 周

(南京师范大学 地理科学学院, 江苏省环境演变及生态建设重点实验室, 南京 210046)

摘 要:对空心菜不同形态氮素吸收动力学特性进行了研究,发现其吸附曲线均符合 Michaelis-Menten 酶动力学方程,采用 LB 转换式处理数据对其动力学参数进行计算,得出以下结论: 空心菜对铵态氮的亲合力大于对硝态氮的亲合力($K_m\text{铵态氮} < K_m\text{硝态氮}$),说明空心菜有优先吸收铵态氮的趋势,表明在实际净化水质过程中,若有足够的停留时间,空心菜对铵态氮的净化程度更高一些; 空心菜对铵态氮的最大吸收速率 V_{\max} 为 $0.001\ 85\ \text{mmol}/(\text{g} \cdot \text{FW} \cdot \text{h})$,对硝态氮最大吸收速率 V_{\max} 为 $0.000\ 279\ \text{mmol}/(\text{g} \cdot \text{FW} \cdot \text{h})$, $V_{\max\text{铵态氮}} > V_{\max\text{硝态氮}}$,表明空心菜对铵态氮的净化速率要大于对硝态氮的净化速率; 当溶液中存在铵态氮时,空心菜对硝态氮的亲合力增加了 2.5%,而最大吸收速率则减少 34%,总的吸收能力降低,表明溶液中铵态氮的存在不影响空心菜根细胞膜上载体与硝态氮之间的亲和性,但影响载体对硝态氮的运转速度。

关键词:吸收动力学;氮;形态;空心菜

中图分类号:S601;S636.9

文献标识码:A

文章编号:1005-3409(2008)05-0084-04

Uptake Kinetic Characteristics of Different Ammonium and Nitrate by *Ipomoea aquatica* Forsk

ZHOU Xiao-hong, WANG Guo-xiang, YANG Fei, HE Wei, YANG Zhou

(Jiangsu Key Laboratory of Environmental Change and Ecological Construction, College of Geographical Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China)

Abstract: The uptake Kinetic characteristics of different ammonium and nitrate by *Ipomoea aquatica* Forsk was researched. The results showed that The K_m value of ammonium uptake was less than that of nitrate uptake by *Ipomoea aquatica* Forsk ($K_m\text{ ammonium} < K_m\text{ nitrate}$), Which indicated that the *Ipomoea aquatica* Forsk preferential uptake and clean up ammonium and reflected the cleaning degree would be higher in the enough retention time. The maximum rate of ammonium uptake by *Ipomoea aquatica* Forsk was larger than that of nitrate uptake and the maximum rate of ammonium was $0.001\ 85\ \text{mmol}/(\text{g} \cdot \text{FW} \cdot \text{h})$ and the maximum rate of nitrate was $0.000\ 279\ \text{mmol}/(\text{g} \cdot \text{FW} \cdot \text{h})$, which indicated that the purification rate of the ammonium was bigger than nitrate. The K_m of nitrate uptake increased 2.5% and the maximum rate of nitrate decreases 34% with the existence of NH_4^+ and the uptake ability decreased, which indicated that the K_m between the carrier of cell membrane and the nitrate of *Ipomoea aquatica* Forsk would not be affected, but the operation speed would be influenced with the existence of NH_4^+ .

Key words: uptake kinetics; Nitrogen; form; *Ipomoea aquatica* Forsk

利用水生、陆生植物修复治理富营养化水体的研究已开展多年^[1-4],其中空心菜生长速率快,组织氮磷含量高,可以一次栽种多次收割,对净化污水,将营养盐不断从污水中输出而不致造成二次污染有很强的优势^[5],因此成为污水氮磷转化的重要植物类群,被广泛应用,如戴全裕等^[6]利用水蕹菜处理饮食废水、程树培等^[7]利用水蕹菜处理螺丝生产废水,为浮床种植水蕹菜治理污染水体提供科学依据。然而此类研究更多集中在空心菜对富营养化水体治理效果方面,对空心菜净化污水的机制研究较少。

动力学研究在阐述植物尤其是栽培植物(如水稻、甜菜、小麦、黄瓜等)营养物质吸收特性方面的应用已十分普遍^[8-12],用于比较同一作物不同品种营养特性的差异也已有报道^[11-12]。然而针对水生植物对于水体氮、磷等营养污染物质吸收动力学特性的研究却很少,仅见沈根祥^[13]对浮萍吸收不同形态氮的动力学特性进行研究,但尚未见空心菜吸收动力学研究的报道。空心菜不仅对废水中的铵态氮和硝态氮具有较高的耐性,而且具有明显的净化作用,植物体的直接吸收作用是其净化作用的重要机制之一,因此以酶促反应

^{*} 收稿日期:2008-01-21

基金项目:国家教育部“211”和科技创新工程重大项目培育基金联合资助项目(# 705824-2)

作者简介:周晓红(1981-),女,陕西凤翔人,博士研究生,主要从事水环境生态修复研究。E-mail: xhzhou0214 @yahoo. com. cn

通信作者:王国祥(1963-),男,江苏如皋人,教授,博士生导师,主要从事水环境生态修复研究。E-mail: wangguoxiang @njnu. edu. cn

动力学理论为基础,开展空心菜对不同形态氮的吸收动力研究,对进一步明确空心菜对废水中氮素的去除机理以及确定污染修复工程中铵态氮与硝态氮的负荷均具有理论和实践意义。

1 材料与方法

1.1 植物材料

空心菜(*Ipomoea aquatica* Forsk)又名蕹菜、通菜等,是旋花科-年生草本植物,属蔓生植物。由于其为须根系,根系发达,同时在每节除腋芽外,可长出不定根植物,植株再生能力强,同时空心菜有很强的耐高温和耐污性能,可以一次栽种多次采收,这对净化污水,将营养盐不断从污水中输出而不致造成水体二次污染卓有成效^[5,14],因此近年来作为生态浮床理想物种,广泛用于治理污染河道、富营养化湖泊等。

实验所用空心菜为2007年7月种子萌发所得。首先选择大小一致的空心菜种子500粒置于培养皿中,每个培养皿放置50颗,培养液选用自来水培养,每两天更换一次。待植物长至(10±1)cm时进行实验。实验前将空心菜根用去离子水冲洗干净,转入0.2 mmol/L硫酸钙溶液中,pH调整到6~6.2,预培养24 h,以消除自由空间中残留的氮对吸收实验的影响。

1.2 实验设计

1.2.1 空心菜吸收铵态氮的动力学实验

以0.2 mmol/L硫酸钙为支持电解质,配制系列(0.5, 1, 2, 3, 7, 10, 20, 50 mg/L铵态氮,即0.01, 0.02, 0.04, 0.05, 0.13, 0.19, 0.38, 0.94 mmol/L)含氮溶液,调节pH值到6.0。设3个平行重复,吸收不同浓度的含氮溶液250 ml,置于500 ml烧杯中,将大小一致的吸干表面附着水分的空心菜根系全部侵入溶液中,每组各10株,吸附8 h后立刻取出空心菜,用吸水纸吸干水分后,对其根系进行称重。随后测定溶液中剩余铵态氮,差值法计算吸收量和吸收速率[mmol/(g·FW·h)]。以溶液中铵态氮浓度为横坐标,吸收速率为纵坐标做图,并采用Michaelis-Menten方程($V = \frac{V_{\max} \cdot C}{K_m + C}$)的Lineweaver & Burk转换式(简称LB转换式)处理数据^[15],即 $\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{C}$,以 $\frac{1}{V}$ 对 $\frac{1}{C}$ 做图,计算动力学最大吸收速率(V_{\max})和米氏常数(K_m),阐明空心菜吸收铵态氮的动力学特性。

1.2.2 空心菜吸收硝态氮的动力学实验

以0.2 mmol/L硫酸钙为支持电解质,配制系列(0.5, 1, 2, 3, 7, 10, 20, 50 mg/L硝态氮,即0.005, 0.01, 0.02, 0.03, 0.07, 0.10, 0.20, 0.50 mmol/L)含氮溶液,调节pH值到6.0。设3个平行重复,每组设3个平行重复,吸收实验采用方法及数据处理同1.2.1。

1.2.3 铵态氮对空心菜吸收硝态氮的影响

以0.2 mmol/L硫酸钙为支持电解质,配制硝态氮浓度分别为0.5, 1, 2, 3, 7, 10, 20, 50 mg/L(即0.005, 0.01, 0.02, 0.03, 0.07, 0.10, 0.20, 0.50 mmol/L)的含氮溶液,每组铵态氮浓度均为8 mg/L(0.15 mmol/L),调节pH值到6.0。每组设3个平行重复,吸收实验采用方法及数据处理同1.2.1。

1.3 实验场所

实验是在南京师范大学水环境修复中试平台中进行,实验期间温度为30~32℃,光照175×10²~190×10²lx。

1.4 水质理化指标测定

水体NH₄⁺-N、NO₃⁻-N等指标采用Skalar(荷兰)水质流动分析仪测定,光照强度采用上海嘉定学联仪表厂的ZDS-10型照度计于正午12:00测定,pH用便携式pH计测定。

2 结果与分析

2.1 空心菜吸收铵态氮动力学特征分析

由图1可知,空心菜根系对NH₄⁺的吸收速率随溶液NH₄⁺浓度的增加而增大,吸收曲线符合Michaelis-Menten方程,其回归方程为

$$V = \frac{0.00185C}{0.1382 + C}$$

决定系数 $R^2 = 0.9968$ ($n = 8$),达到极显著水平($P < 0.01$)。按照Michaelis-Menten方程的LB转换式对其动力学参数计算后得知(表1),最大吸收速率 V_{\max} 为0.00185 mmol/(g·FW·h),米氏常数 K_m 为0.1382 mmol/L。

2.2 空心菜吸收硝态氮动力学特征分析

由图2可知,空心菜根系对NO₃⁻的吸收速率随溶液NO₃⁻浓度的增加而增大,吸收曲线符合Michaelis-Menten方程,其回归方程为

$$V = \frac{0.000279C}{0.1496 + C}$$

决定系数 $R^2 = 0.9922$ ($n = 8$),达到极显著水平($P < 0.01$)。按照Michaelis-Menten方程的LB转换式对其动力学参数计算后得知(表1),最大吸收速率 V_{\max} 为0.000279 mmol/(g·FW·h),米氏常数 K_m 为0.1496 mmol/L。

2.3 NH₄⁺对空心菜吸收NO₃⁻动力学的影响

在NH₄⁺存在条件下,空心菜对NO₃⁻的吸收依然符合Michaelis-Menten方程,比较有NH₄⁺与无NH₄⁺情况下的NO₃⁻吸收动力学曲线(图3),发现8 mg/L的NH₄⁺对根系吸收NO₃⁻的速率有一定的影响。

有NH₄⁺存在时,空心菜吸收NO₃⁻的 V_{\max} 值为0.000208 mmol/(g·FW·h),比无NH₄⁺的情况降低34%。表明NH₄⁺存在的条件下,空心菜对NO₃⁻内在吸收潜力变小,表明NH₄⁺存在降低了空心菜对NO₃⁻的转运速率。NH₄⁺的存在,对 K_m 值的变化不大,仅增加了2.5%,说明NH₄⁺对空心菜NO₃⁻吸收的 K_m 值的影响较小,即空心菜根系对NO₃⁻的亲合力受NH₄⁺的影响较小。

3 讨论

植物修复污染水体,特别是生态浮床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,根系作为植物重要的吸收器官,影响其吸收养分的因素主要有两方面,一是根系的大小,二是根系的吸收能力^[9]。研究表明,根系吸收NO₃⁻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,吸收硝态氮所需能量主要

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^[10]符合 Michaelis-Menten 酶动力学方程。在根系吸收动力学参数中, V_{max} 和 K_m 这两个参数被广泛用来表征根系吸

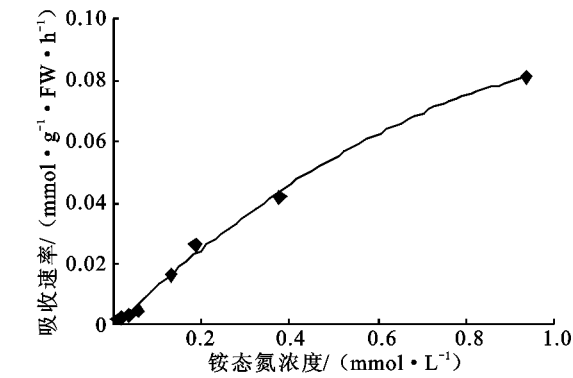


图 1 空心菜根系 NH_4^+ 吸收速率随 NH_4^+ 浓度的变化曲线

收离子的效率, 揭示不同植物对营养元素吸收差异的本质原因所在^[16]。 V_{max} 表示吸收所能达到的最大速率, 愈大, 表示吸收的内在潜力愈大; K_m 表示根系对所吸收离子的亲和能力, 愈小, 表示亲和能力愈大。

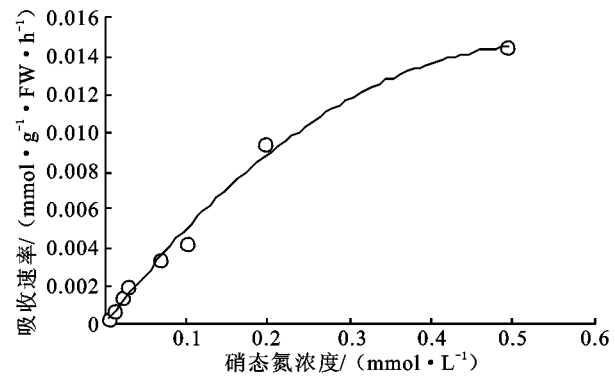


图 2 空心菜根系 NO_3^- 吸收速率随 NO_3^- 浓度的变化曲线

表 1 空心菜吸收不同形态氮的动力学参数

氮形态	动力学方程	$V_{max}/$ ($mmol \cdot g^{-1} \cdot FW \cdot h^{-1}$)	$K_m/$ ($mmol \cdot L^{-1}$)	R^2 ($n = 8$)	r ($n = 8$)
NH_4^+	$V = \frac{0.000279 C}{0.1496 + C}$	0.00185	0.1382	0.9968	0.911
NO_3^-	$V = \frac{0.000279 C}{0.1496 + C}$	0.000279	0.1496	0.9922	0.976

(注: r 指米氏方程直线转换式的自变量与因变量间的相关系数, $r_{0.05(8)} = 0.707$; $r_{0.01(8)} = 0.834$, 下同; R^2 为米氏方程决定系数)

表 2 空心菜 NO_3^- 吸收动力学参数受 NH_4^+ 的影响

氮形态	加 NH_4^+ 后 NO_3^- 吸收动力学参数			加 NH_4^+ 后 NO_3^- 吸收动力学参数的变化值	
	最大吸收速率/ ($mmol \cdot g^{-1} \cdot FW \cdot h^{-1}$)	米氏常数/ ($mmol \cdot L^{-1}$)	r ($n = 8$)	V_{max} 的 变化率/ %	K_m 的 变化率/ %
NO_3^-	0.000208	0.153377	0.994	- 34 %	+ 2.5 %

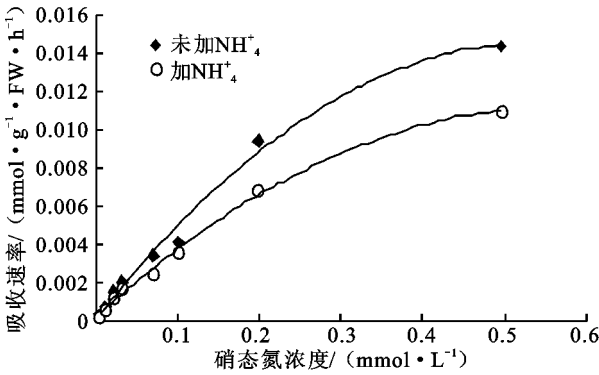


图 3 NH_4^+ 存在时空心菜 NO_3^- 吸收速率随 NO_3^- 浓度的变化

实验结果表明, 空心菜对铵态氮和硝态氮的亲和力、最大吸收速率存在明显差异。空心菜对铵态氮的亲和力大于对硝态氮的亲和力 ($K_{m硝态氮} > K_{m铵态氮}$), 说明空心菜有优先吸收铵态氮的趋势, 表明在实际净化水质过程中, 若有足够的停留时间, 空心菜对铵态氮的净化程度更高一些, 这一结论与沈根祥等^[13]对浮萍的研究, 孙敏等^[11]对小麦的研究结果一致。实验结果还表明, 空心菜对铵态氮的最大吸收速率大于对硝态氮的最大吸收速率, 表明空心菜对铵态氮的净化速率要大于对硝态氮的净化速率, 净化速率一方面与根系的吸收有关, 同时与通过消化作用转化为硝态氮和氨挥发作用亦有关。

关于 NH_4^+ 对 NO_3^- 吸收的影响, 本文研究表明, 在溶液中存在 NH_4^+ 时, 空心菜对 NO_3^- 的亲和力有所增加, 但变化幅度不大, 仅增加了 2.5 %, 而最大吸收速率则减少 34 %, 总的吸收能力降低, 表明溶液中 NH_4^+ 的存在不影响空心菜根细胞膜上载体与 NO_3^- 之间的亲和性, 但影响载体对 NO_3^- 的运转速度。研究表明^[17], 载体对离子的运转速度至少受两个因素的制约, 即载体本身的数量和所处的膜环境^[16]。也就是说, NH_4^+ 对 NO_3^- 吸收的影响可能通过 2 种途径: 一是影响了控制 NO_3^- 载体蛋白合成的基因的表达, 进而减少细胞膜上载体蛋白的总量; 二是 NH_4^+ 的存在可能影响载体所处细胞膜上的周边环境, 例如膜电位的改变^[18]、膜极化程度的改变^[19]、膜结构的改变^[20]等从而降低了载体对离子的运转速度。此外, NH_4^+ 的跨膜吸收改变了细胞质的 pH^[21], 这可能会改变代谢过程及其产物进而反馈抑制 NO_3^- 的吸收。同时发现, NH_4^+ 及其同化产物可能通过抑制体内 NO_3^- 的还原来进一步阻止植物对 NO_3^- 的吸收, 因此导致空心菜对 NO_3^- 的吸收速率有显著变化。

参考文献:

[1] Qiu D R, Wu Z B, Liu B Y, et al. The restoration of aquatic macrophytes for improving water quality in a hypertrophic shallow lake in Hubei Province, China

[J]. Ecological Engineering ,2001 ,18 (2) :147-156.

[2] Jukkrit M , Saburo I. Modelling of environmental phyto-remediation in Eutrophic river the case of water hyacinth harvest in Tha-chin Rive[J]. Thailand Ecological Modelling ,2001 ,142 (1/2) : 121-134.

[3] 王超,张文明,王沛芳. 黄花水龙对富营养化水体中氮磷去除效果的研究[J]. 环境科学,2007 ,28 (5) :975-981.

[4] 厉恩华,刘贵华,李伟,等. 洪湖三种水生植物的分解速率及氮、磷动态[J]. 中国环境科学,2006 ,26(6) :667-671.

[5] 李欲如,操家顺,徐峰,等. 水蕹菜对苏州重污染水体净化功能的研究[J]. 环境污染与防治,2006 ,28(1) :69-71.

[6] 戴全裕,将兴昌,张珩,等. 水蕹菜对啤酒及饮食废水净化与资源化研究[J]. 环境科学学报,1996 ,16 (2) :334-337.

[7] 程树培,丁树荣,胡忠明. 利用人工基质无土栽培水蕹菜净化镉丝废水的研究[J]. 环境科学,1991 ,12 (4) :47-51.

[8] 杨肖娥,孙羲. 不同水稻品种 NH_4^+ 和 NO_3^- 吸收的动力学[J]. 土壤通报,1991 ,22(5) :222-224.

[9] 刘秀珍,孙立艳. 黄瓜苗期吸收 NO_3^- 、 K^+ 的动力学研究[J]. 山西农业大学学报,1995 ,15 (3) :277-279.

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

[11] 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[J]. 麦类作物学报,2006 ,26(5) :84-87.

[12] 韩胜芳,李淑文,吴立强,等. 不同小麦品种氮效率与氮吸收对氮素供应的响应及生理机制[J]. 应用生态学报,2007 ,18 (4) :807-812.

[13] 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[J]. 土壤通报,2006 ,37 (3) :505-508.

[14] 操家顺,李欲如,陈娟. 水蕹菜对重污染河道净化及克藻功能[J]. 水资源保护,2006 ,22(2) :36-41.

[15] Eisenthal P, Cornish-Bowder A. The direct linear plot, a new graphical procedure for estimating enzyme kinetic parameters[J]. Biochem J., 1974 ,139 :715-720.

[16] Wary J L, Kinghorn J R. Molecular and Genetic Aspects of Nitrate Assimilation[M]. New York:Oxford University Press,1989.

[17] 汪晓丽,封克,盛海君,等. 不同水稻基因型苗期 NO_3^- 吸收动力学特征及其受吸收液中 NH_4^+ 的影响[J]. 中国农业科学,2003 ,36(11) :1306-1311.

[18] Schubert S, Yan Y. Nitrate and ammonium nutrition of plants: Effects on acid/ base balance and adaptation of root cell plasmalemma H^+ ATPase[J]. Zeitschrift fur Pflanzenernahrung und Bodenkunde, 1996 ,160 :275-281.

[19] Crawford N M, Glass A D M. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants[J]. Trends in Plant Science,1998 ,3 :389-395.

[20] 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 :240-246.

[21] Kosegarten H, Grolig F, Esch A, et al. Effects of NH_4^+ , NO_3^- and HCO_3^- on apoplast pH in the outer cortex of root zones of maize, as measured by the fluorescence ratio of fluorescein boronic acid[J]. Planta, 1999 ,209 :444-452.

(上接第 83 页)

参考文献:

[1] 杨澄,刘建军,张万庆. 桥山主要森林类型枯落物持水性能及养分含量测定初报[J]. 西北林学院学报,1996 ,11 (4) :7-11.

[2] 白顺江,陆贵巧,谷建才,等. 雾灵山自然保护区不同森林类型枯落物水文作用研究 [J]. 河北农业大学学报,2006 ,29(3) :50-52.

[3] 高人,周广柱. 辽宁东部山区几种主要森林植被类型枯落物层持水性能研究[J]. 沈阳农业大学学报,2002 ,33 (2) :115-118.

[4] 姜海燕,赵雨森,陈祥伟,等. 大兴安岭岭南几种主要森林类型土壤水文功能研究[J]. 水土保持学报,2007 ,21 (3) :150-153.

[5] 马志贵,王金锡. 大熊猫栖息环境的森林凋落物动态研究[J]. 植物生态学报,1993 ,17(2) :155-163.

[6] 王顺利,王金叶. 祁连山青海云杉林苔藓枯落物分布与水文特征[J]. 水土保持研究,2006 ,13 (5) :156-159.

[7] 林波,刘庆,吴彦,等. 川西亚高山人工针叶林枯枝落叶及苔藓层的持水性能[J]. 应用与环境生物学报,2002 ,8 (3) :235.

[8] 张万儒,许本彤,杨承栋,等. 山地森林土壤枯枝落叶层结构和功能的研究[J]. 土壤学报,1990 ,27(2) :121-131.

[9] 王景升. 西藏色季拉山暗针叶林水量平衡[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2002.

[10] 辛学兵. 西藏色季拉山冷杉林生态系统养分循环的研究[D]. 北京:北京林业大学,2003.