

酸性条件下氮素形态对西红柿根系释放羟基的影响^①

万 青^{1,2}, 徐仁扣^{1*}, 黎星辉²

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008;

2 南京农业大学茶叶科学研究所, 南京 210095)

摘 要: 为研发酸化土壤的生物修复技术, 本文用水培实验和电位滴定方法研究了酸性条件下氮素形态对西红柿根系释放羟基的影响, 结果表明, 在初始 pH 为 4.0、 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比为 15:1、5:1、1:1 和 1:5 的营养液中, 由于西红柿对 NO_3^- -N 的偏好吸收导致根系释放羟基, 培养液 pH 升高。培养 1 周后 4 个 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比培养液 pH 分别升高了 1.60、1.15、0.57 和 0.29, 与西红柿对 NO_3^- -N 的吸收量和羟基释放量的大小一致。当西红柿生长在初始 pH 为 5.0 营养液中时, 仅 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比为 15:1 和 5:1 体系中西红柿根系释放羟基, 导致培养液 pH 升高; 在 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比为 1:1 和 1:5 体系中西红柿根系释放质子, 导致培养液 pH 降低。初始 pH5.0 条件下西红柿吸收的 NO_3^- -N 低于初始 pH4.0 条件下的, 其根系释放的羟基量也低于 pH4.0 体系中的。这些结果说明低 pH 条件有利于西红柿对 NO_3^- -N 的吸收, 西红柿根系也会释放更多的羟基。因此可以根据西红柿在强酸性条件下对 NO_3^- -N 的偏好吸收和根系释放羟基的特点对酸化土壤进行生物修复。

关键词: 西红柿; 铵态氮; 硝态氮; 羟基释放; 酸化土壤的生物修复

中图分类号: S153

近年来我国农田土壤酸化呈加速发展趋势^[1], 不仅在南方热带和亚热带地区, 就连北方地区农田土壤 pH 也明显下降^[2]。高强度农业利用条件下, NH_4^+ -N 肥的大量施用被认为是加速我国农田土壤酸化的主要原因^[2]。施入土壤中的 NH_4^+ -N 在微生物的作用下氧化为 NO_3^- -N, 这一过程释放质子, 导致土壤 pH 下降^[3]。特别当 NO_3^- -N 随降雨向底层土壤迁移或淋溶出土体时, 质子留在表层土壤中, 导致土壤酸化^[4-5]。如果硝化反应形成的 NO_3^- -N 被作物吸收利用, 由于植物为保持体内电荷平衡, 会通过根系释放羟基, 中和部分质子, 可以减缓 NH_4^+ -N 硝化对土壤的酸化作用^[6-7]。水培实验结果表明, 当营养液中氮素以 NO_3^- -N 为主时, 小麦和燕麦生长导致介质 pH 升高^[8-9]。盆栽条件下的土培实验结果表明, 小麦吸收 NO_3^- -N 导致根际土壤 pH 升高^[10-12]。虽然对植物根系吸收 NO_3^- -N 导致的 pH 升高已有报道, 但目前还缺少对根系羟基释放量的定量研究, 而且已有的研究主要采用小麦和玉米等少数作物作为指示植物, 对其他植物根系羟基释放及其对 pH 影响的研究和报道很少。不同植物对 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N

的喜好不同, 喜硝植物会吸收更多的 NO_3^- -N, 从理论上推测, 其根系会释放更多的羟基。西红柿为喜硝植物^[13], 本文以西红柿为试验材料, 通过水培实验和自动电位滴定方法研究了酸性条件下不同氮素形态对根系羟基释放量的影响, 研究结果可为土壤酸化阻控和酸性土壤的生物修复提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本试验采用的植物材料为西红柿, 品种为江蔬美国 903, 种子购自江苏省农业科学院。

1.2 培养方法

把种子洗净后放入铺有已浸湿脱脂棉的玻璃培养皿中, 置于 25℃ 恒温培养箱中保湿催芽。待种子露白后, 将其播入盛有沙土混合基质的育苗箱中, 置于日光温室中培养。当植株生长至 10 cm 高时, 将幼苗小心移出(避免根部损伤), 用自来水清洗根部, 再用去离子水清洗多次。挑选长势均一的苗, 每 3 株为一盆, 放入装有 1/3 营养液的 1 L 塑料桶中培养, 根部避光。

①基金项目: 国家自然科学基金项目(30821140538)和国家“十一五”科技支撑计划项目(2009BAD6B02)资助。

* 通讯作者 (rkxu@issas.ac.cn)

作者简介: 万青(1984—), 女, 河北邯郸人, 硕士研究生, 主要从事植物与土壤相互作用的研究。E-mail: wanqing_17@hotmail.com

当幼苗根部长出新的小白根时将其移入全营养液中培养。水培实验采用 Hoaglands 营养液,微量元素采用 Arnon 微量元素混合液。为了研究不同 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比对羟基释放的影响,对营养液的氮作了调整: NO_3^- -N 源采用 NaNO_3 , NH_4^+ -N 源采用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 。培养实验在人工气候箱中进行,生长条件为白天(16 h): 25°C 、相对湿度 75%、光照 12 000 lx; 夜晚(8 h): 20°C 、相对湿度 100%。

本试验设置 4.0 和 5.0 两个初始 pH 水平,每一初始 pH 条件下分别设置 4 种 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比,即 15:1、5:1、1:1、1:5,总氮浓度为 16 mmol/L,所有处理相同。每处理设 3 次重复,一个不长西红柿苗的营养液为对照。将幼苗放入初始 pH 为 4.0 (或 5.0) 的营养液中,从幼苗移入那天开始,每两天用 pH 计测定一次 pH 值,第七天取出西红柿苗,取部分培养液测定羟基释放量或质子释放量,另取部分培养液用以测定 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 的含量。将西红柿根和根部以上分别收获,于烘箱中先在 105°C 杀青 20 min, 再在 85°C 下恒温烘干 24 h, 然后分别测定两部分的干重。

1.3 测定方法

培养液 pH 用复合 pH 电极测定。羟基或质子释放量用自动电位滴定仪测定,用 0.01 mmol/L 的 HCl 或 NaOH 将溶液 pH 滴定到培养实验开始时的初始值,消耗的酸或碱数量分别为羟基或质子释放量。溶液中的 NH_4^+ 和 NO_3^- 用流动分析仪测定,根据培养实验前和实验后溶液中 2 种形态氮的差值计算西红柿对 NH_4^+ 和 NO_3^- 的吸收量。

1.4 统计分析

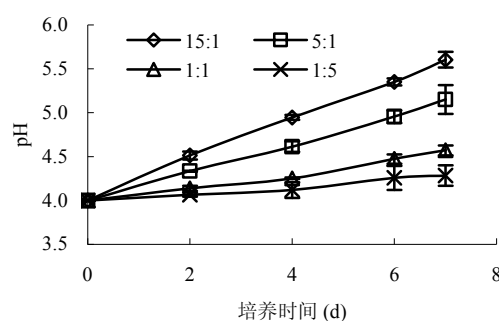
统计软件 SPSS15.0 用于显著性差异分析。

2 结果与讨论

2.1 不同 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比对西红柿培养液 pH 的影响

不同 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比条件下西红柿水培实验过程中 pH 的动态变化如图 1 和图 2 所示。当初始 pH 为 4.0 时,培养过程中培养液 pH 均随培养时间增加而升高, pH 升高的幅度随培养液初始 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比的增加而增大。第七天培养实验结束时, $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比为 15:1、5:1、1:1 和 1:5 处理的 pH 分别提高了 1.60、1.15、0.57 和 0.29, 这说明西红柿在生长过程中吸收 NO_3^- -N 并释放了碱性物质到介质中,导致培养液 pH 升高。特别是 NO_3^- -N 含量较高时,培养液 pH 有显著提高。图 2 中结果表明,当培养液初始 pH 为 5.0 时,仅当 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比为 15:1 和 5:1 时,培养液 pH 随培养时间增加有所

增加,而且增加幅度比图 1 中相应的 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比的情况下小得多。第七天培养实验结束时, pH 分别增加 0.64 和 0.24。当初始 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比为 1:1 和 1:5 时,培养液 pH 随培养时间增加而降低,降幅随 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比的减小而增加。说明较高的初始 pH 条件下,西红柿对 NH_4^+ -N 的吸收导致根系释放酸,使培养液 pH 下降。由于 pH 是强度因素,单纯从 pH 的变化无法定量比较根系酸和碱的释放量。



(图中的误差线为标准差,下同)

图 1 西红柿生长过程中初始 pH 为 4.0 时营养液的 pH 动态变化

Fig. 1 Dynamics of culture solution pH during the growth of tomato with the initial solution pH of 4.0

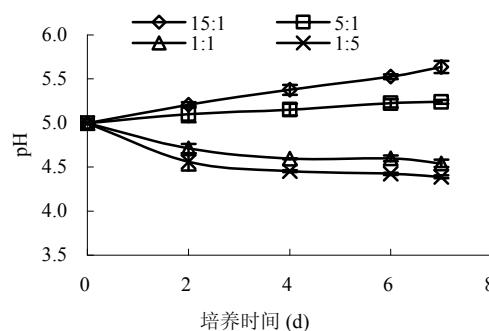


图 2 西红柿生长过程中初始 pH 为 5.0 时营养液的 pH 动态变化

Fig. 2 Dynamics of culture solution pH during the growth of tomato with the initial solution pH of 5.0

2.2 不同 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比下羟基或质子释放量

西红柿幼苗在培养液中连续培养一周后,测得根系释放的羟基或质子数量列于表 1 中。当培养液初始 pH 为 4.0 时,在 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比为 15:1、5:1、1:1 和 1:5 的处理中,西红柿根系均释放羟基,羟基释放量随 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比的增加而增加,与图 1 中 pH 的变化趋势相一致。当初始 pH 为 5.0 时,仅在 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比为 15:1 和 5:1 的处理中西红柿根系释放羟基,其他处理中西

红柿根系释放质子，质子释放量随 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比的减小而增加。与初始 pH4.0 的系统相比，相同 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比下，初始 pH5.0 体系中西红柿释放的羟基量要小得多。这说明低 pH 条件有利于西红柿对 NO_3^- -N 的吸收，而较高 pH 条件不利于西红柿对 NO_3^- -N 的吸收，表 2 中的结果说明了这一点。

表 1 培养一周后西红柿根系释放羟基或质子的数量
Table 1 The amount of hydroxyl or proton released by tomato roots after 7 days of cultivation

$\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$	羟基或质子释放量 ($\mu\text{mol/L}$)	
	初始 pH 4.0	初始 pH 5.0
15:1	172.51 a	67.68 a
5:1	126.51 b	16.59 b
1:1	93.97 bc	-44.20 c
1:5	58.91 c	-74.18 c

注：表中负值为质子释放量。数据之间差异的多重比较采用 LSD 法，同列不同字母表示处理间差异显著 ($p<0.05$)，下同。

表 2 中的结果表明，相同 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比下 pH4.0 体系中西红柿吸收的 NO_3^- -N 量均高于 pH5.0 体系中的，而且在 2 个 pH 系列中，西红柿对 NO_3^- -N 的吸收量基本随 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比的增加而增加，这是较低 pH 和较高 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比下西红柿释放较多羟基的主要原因。表中结果表明，无论初始 pH 为 4.0 还是 5.0，各处理的西红柿幼苗对 NO_3^- -N 的吸收要高于 NH_4^+ -N，说明西红柿是一种喜硝植物，它对 NO_3^- -N 有偏好吸收。初始 pH 为 4.0， $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比为 1:1 时西红柿对 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 的吸收量高于 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比为 1:5 和 5:1 时的，可能是由于两种形态氮含量相当时两者的协同作用所致。

表 2 不同 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比下西红柿根系对 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 的吸收量
Table 2 The amounts of NO_3^- -N and NH_4^+ -N absorbed by tomato from culture solutions with different $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ molar ratios

$\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$	pH 4.0		pH 5.0	
	NO_3^- -N (mg/L)	NH_4^+ -N (mg/L)	NO_3^- -N (mg/L)	NH_4^+ -N (mg/L)
15:1	41.44 a	2.15 a	20.00 a	2.83 a
5:1	24.68 b	4.44 a	14.64 a	3.67 a
1:1	27.66 b	12.65 b	12.75 a	8.50 b
1:5	12.06 c	9.06 c	15.07 a	13.83 c

各个处理的植物收获后，根部和根以上部分的干重列于表 3 中。结果表明，酸性条件下，随着 NO_3^- -N

含量的增加和植物对 NO_3^- -N 吸收量的增加，西红柿生物量也增加。但 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比 5:1 处理的生物量大于 15:1 处理，说明保持适当的 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 比更有利于西红柿的生长。不同处理间根以上部分的差异大于根部的差异。但统计分析结果显示，不同处理之间生物量的差异不显著。

植物吸收利用的氮主要为 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N，而植物对氮素的选择性吸收既与植物品种有关，又与环境因素有密切联系^[14]。一般认为较低的介质 pH 更有利于 NO_3^- 的吸收，这是由于 NO_3^- 的跨膜吸收是一个与 H^+ 共运的过程^[15]。低 pH 可提高 ATP 酶的活性，有利于根系对阴离子养分的主动吸收^[16]。这是本文观察到 pH4.0 介质中西红柿根系释放的羟基量高于 pH5.0 处理的主要原因。

表 3 培养实验结束时西红柿地上部和根部干重
Table 3 Dry weight of shoots and roots of tomato after culture experiments

$\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$	干重 (g/株)		
	地上部	根部	总重
15:1	0.144	0.031	0.223
5:1	0.155	0.026	0.232
1:1	0.124	0.024	0.189
1:5	0.109	0.023	0.168

3 结论

植物对阴阳离子的不平衡吸收导致其根系释放羟基或质子，以维持体内的电荷平衡。由于西红柿对 NO_3^- -N 的偏好吸收，导致根系释放羟基，提高了介质的 pH，特别在强酸性条件下羟基释放量更高。利用西红柿的这一特点，可以用它来对酸化土壤进行生物修复，利用其根系释放的羟基，提高根际土壤的 pH。

参考文献：

[1] 李贤胜, 杨平, 卢祖瑶, 汤祖明, 戴晓晶. 皖南山区土壤酸化趋势研究——以宣城市广德县为例. 土壤, 2008, 40(4): 676-679

[2] Guo JH, Liu XJ, Zhang Y, Shen JL, Han WX, Zhang WF, Christie P, Goulding, KWT, Vitousek PM, Zhang FS. Significant acidification in major Chinese croplands. Science, 2010, 327: 1 008-1 010

[3] Helyar KR. Nitrogen cycling and soil acidification. The Journal of the Australian Institute of Agricultural Science, 1976, 42: 217-221

[4] Cregan P, Scott B. Soil acidification—An agricultural and

- environmental problem // Pratley J, Robertson A. Agriculture and the Environmental Imperative. Collingwood Australia: CSIRO Publishing, 1998: 98–128
- [5] Xu RK, Coventry DR, Farhoodi A, Schultz JE. Soil acidification as influenced by crop rotations, stubble management and application of nitrogenous fertiliser, Tarlee, South Australia. Australian Journal of Soil Research, 2002, 40: 483–496
- [6] Schubert S, Yan F. Nitrate and ammonium nutrition of plants effects on acid/base balance and adaptation of root cell plasmalemma H^+ ATPase. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 1997, 160: 175–281
- [7] Tang C, Raphael C, Rengel Z, Bowden JW. Understanding subsoil acidification: effect of nitrogen transformation and nitrate leaching. Australian Journal of Soil Research, 2000, 38: 837–849
- [8] 孙亚卿, 邵金旺, 王莹, 樊明川. 氮素形态对燕麦生长和根际 pH 值的影响. 华北农学报, 2004, 19(3): 59–61
- [9] Durand R, Bellon N, Jaillard B. Determining the net flux of charge released by maize roots by directly measuring variations of the alkalinity in the nutrient solution. Plant and Soil, 2001, 229: 305–318
- [10] Rodriguez MB, Godeas A, Lavado RS. Soil acidity changes in bulk soil and maize rhizosphere in response to nitrogen fertilization. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2008, 39: 2 597–2 608
- [11] Weligama C, Tang C, Sale PWG, Conyers MK, Liu DL. Localized nitrate and phosphate application enhances root proliferation by wheat and maximizes rhizosphere alkalization in acid subsoil. Plant and Soil, 2008, 312: 101–115
- [12] Bravin MN, Martí AL, Clairotte M, Hinsinger P. Rhizosphere alkalization-a major driver of copper bioavailability over a broad pH range in a acidic, copper-contaminated soil. Plant and Soil, 2009, 318: 257–268
- [13] 高祖明, 张春兰, 倪金应, 张英, 周权锁. 黄瓜等九种蔬菜与 NO_3^- -N 亲和力的研究. 南京农业大学学报, 1990, 13(1): 75–79
- [14] 上官周平, 李世清. 旱地作物氮素营养生理生态. 北京: 科学出版社, 2004, 35
- [15] Ullrich WR. Transport of nitrate and ammonium through plant membranes // Mengel K, Pilbeam KJ. Nitrogen Metabolism in Plant. Oxford: Oxford University Press, 1994: 121–137
- [16] Yan F, Feuerle R, Schäffer S, Fortmeier H, Schubert S. 1998. Adaptation of active proton pumping and plasmalemma ATPase activity of corn roots to low root medium pH. Plant Physiology, 1998, 117: 311–319

Effect of NO_3^-/NH_4^+ Molar Ratio on Release of Hydroxyl from Tomato Roots in Acidic Culture Solutions

WAN Qing^{1,2}, XU Ren-kou¹, LI Xing-hui²

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China;

2 Tea Science Institute of Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: In order to develop bioremediation technology for acidified soils, effect of NO_3^-/NH_4^+ molar ratio on release of hydroxyl from tomato roots under acidic conditions was investigated with solution culture experiments and automatic potentiometric titrations. When the initial pH was 4.0 and NO_3^-/NH_4^+ molar ratios were 15:1, 5:1, 1:1 and 1:5, tomato took up more nitrate from culture solution and its roots released hydroxyl into culture solutions, and thus led to the increase of solution pH. The pH of culture solutions with NO_3^-/NH_4^+ molar ratios of 15:1, 5:1, 1:1 and 1:5 was increased by 1.60, 1.15, 0.57 and 0.29 units after 7 days of tomato cultivation. The change of solution pH was consistent with the amounts of nitrate absorbed by tomato and hydroxyl released by its roots. When tomato grew in the culture solution with initial pH of 5.0, its roots released hydroxyl in the solutions with NO_3^-/NH_4^+ molar ration of 15:1 and 5:1, while they released proton in the solutions with NO_3^-/NH_4^+ molar ratios of 1:1 and 1:5. Tomato absorbed more nitrate and its roots released more amount of hydroxyl in the solutions of initial pH 4.0 than in the solutions of initial pH 5.0. Therefore, tomato can be used to remediate acidified soils due to its preferential absorption for nitrate and the release of hydroxyl from its roots.

Key words: Tomato, Ammonium, Nitrate, Release of hydroxyl, Bioremediation of acidified soil