

DOI: 10.5846/stxb201402250324

汪庆兵, 张建锋, 陈光才, 孙慧, 吴灏, 张颖, 杨泉泉, 王丽. 不同氮处理下速生柳对水体氮的吸收、分配及生理响应. 生态学报, 2015, 35(16): 5364-5373.

Wang Q B, Zhang J F, Chen G C, Sun H, Wu H, Zhang Y, Yang Q Q, Wang L. Nitrogen absorption/distribution and physiological characteristics of *Salix matsudana* seedlings grown in hydroponic solution. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(16): 5364-5373.

不同氮处理下速生柳对水体氮的吸收、分配及生理响应

汪庆兵¹, 张建锋^{1,*}, 陈光才¹, 孙慧¹, 吴灏¹, 张颖^{1,2}, 杨泉泉¹, 王丽¹

1 中国林科院亚热带林业研究所, 富阳 311400

2 青岛农业大学, 青岛 266109

摘要: 采用水培法, 研究了旱柳苗在外源添加不同氮水平 (贫氮、中氮、富氮、过氮) 的铵态氮 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) 和硝态氮 ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) 的生长、氮吸收、分配和生理响应。结果表明: 一定范围氮浓度的增加能够促进旱柳苗的生长, 但过量氮会抑制其生长, 且 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的抑制作用大于 $\text{NO}_3^-\text{-N}$; 两种氮处理下, 旱柳表现出对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的吸收偏好, 在同一氮水平时, 旱柳各部位氮原子百分含量 Atom% ^{15}N (AT%)、 ^{15}N 吸收量和来自氮源的 N% (Ndf%) 均为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理大于 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理, 且随着氮浓度的增加, 差异增大, 且在旱柳各部位的分布为根 > 茎 > 叶; 2 种氮素过量和不足均会对旱柳根和叶生理指标产生不同的影响, 其中在过氮水平时, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理下根系活力比对照减少了 50.61% 和增加了 19.53%; 在过氮水平时, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理柳树苗根总长、根表面积、根平均直径、根体积和侧根数分别对照下降了 30.92%、29.48%、19.44%、27.01% 和 36.41%, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理柳树苗相应的根系形态指标分别对照下降了 1.66%、5.65%、1.49%、5.06% 和 25.72%。可见, 高浓度 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 对旱柳苗的胁迫影响大于 $\text{NO}_3^-\text{-N}$, 在应用于水体氮污染修复时可通过改变水体无机氮的比例, 削弱其对旱柳的影响, 从而提高旱柳对水体氮污染的修复效果。

关键词: ^{15}N 示踪; 旱柳; 铵态氮; 硝态氮; 吸收分配; 生理响应

Nitrogen absorption/distribution and physiological characteristics of *Salix matsudana* seedlings grown in hydroponic solution

WANG Qingbing¹, ZHANG Jianfeng^{1,*}, CHEN Guangcai¹, SUN Hui¹, WU Hao¹, ZHANG Ying^{1,2}, YANG Quanquan¹, WANG Li¹

1 Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang 311400, China

2 Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China

Abstract: In recent years, due to global climate change and unpredictable human activities, the problem of water resource shortage and environmental water pollution has become widespread. Particularly, nitrogen pollution of water in China is a problem, owing to atmospheric nitrogen deposition and excess of nitrate, which results in a significant increase in water soluble nitrogen and eutrophication. To address the issue, an important multipurpose tree species, willow (*Salix* sp.), which has large biomass production and high resistance to environmental stress, has been studied, and as proved effective in the uptake and accumulation of pollutants from contaminated waters and soils. Hence, it was employed in the present experiment. In the current study, the seedling of *Salix matsudana* was selected to probe the characteristics of growth,

基金项目: 林业公益性行业科研专项 (201104055); 国家科技支撑专题 (2012BAJ24B0504); 中央级公益性科研院所基金重点项目 (RISF2013001)

收稿日期: 2014-02-25; **网络出版日期:** 2014-10-08

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhangk126@126.com

nitrogen absorption/distribution, and physiological responses under different nitrogen treatments. These included poor nitrogen (1.4 mg/L), medium nitrogen (2.8 mg/L), high nitrogen (7.0 mg/L), and excessive nitrogen (28.0 mg/L), which are levels related to the water eutrophication classification standard. Nitrogen was added as ammonium nitrogen ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) and nitrate nitrogen ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) through water culture experiments. The results showed that the biomass of *Salix matsudana* increased with increasing nitrogen to some extent, but the growth was inhibited under excessive nitrogen concentrations, and $\text{NH}_4^+\text{-N}$ showed a higher inhibition than $\text{NO}_3^-\text{-N}$. Meanwhile, *Salix matsudana* had a preference for $\text{NH}_4^+\text{-N}$ absorption over $\text{NO}_3^-\text{-N}$ when provided with the same concentration of nitrogen. The order of AT% contents, ^{15}N absorption and Ndff% in different organs of *Salix matsudana* was, root > stem > leaf, and the content of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ was higher than that of $\text{NO}_3^-\text{-N}$. Furthermore, the difference showed an increasing trend with rising nitrogen concentration. Moreover, with increasing nitrogen concentration, the rate of ^{15}N allocation was significantly different in different organs for the two kinds of nitrogen. Specifically, for $\text{NH}_4^+\text{-N}$ treatment, the ^{15}N allocation rate showed a trend of increasing after first decreasing, and nitrogen levels peaked in the root of *Salix matsudana*. The maximum value appeared under medium nitrogen concentrations; while the ^{15}N allocation rate in leaves showed a trend of gradually falling, and the maximum value appeared in the case of poor nitrogen concentration. Both inadequate and excessive nitrogen in solution showed significant effects on the physiological traits of willow seedlings. The chemical form of nitrogen also showed significantly different effects on physiological characterizations of willow. The root activity decreased by 50.61% and increased by 19.53% under excessive nitrogen when compared with the control. Furthermore, indicators such as root length, root surface area, root volume, root diameter and root tips of *Salix matsudana*, decreased by 30.92%, 29.48%, 19.44%, 27.01%, and 36.41% respectively, under $\text{NH}_4^+\text{-N}$ treatment. The root length, root surface area, root volume, root diameter, and root tips of *Salix matsudana* were decreased by 1.66%, 5.56%, 1.49%, 5.06%, and 25.72% respectively, under $\text{NO}_3^-\text{-N}$ treatment. Thus, it could be concluded that the influence of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ stress on *Salix matsudana* was higher than that of $\text{NO}_3^-\text{-N}$ when seedlings were exposed to high concentration of nitrogen. Therefore $\text{NO}_3^-\text{-N}$ certain concentrations could be added to alleviate the damage caused by $\text{NH}_4^+\text{-N}$ on *Salix matsudana*.

Key Words: ^{15}N tracer technique; *Salix matsudana*; ammonium nitrogen; nitrate nitrogen; absorption distribution; physiological characteristics

近年来,由于全球气候变化和人为活动的影响,以及大气氮沉降的加剧,世界范围内水体氮污染普遍存在^[1]。大气氮沉降以及硝酸盐的过量导致水体可溶性氮大幅度增加,我国水体氮污染状况不容乐观^[2-3]。植物修复是利用绿色植物来转移、容纳或转化污染物,达到降低或清除污染物的一种环境修复技术^[4]。植物修复因其具有高效、经济和景观效果好等特点,普遍被应用于土壤、水体污染的修复研究^[5-6]。目前,对水体富营养化的修复研究大多集中于水生和草本植物等,对木本植物的相关研究则较少^[5, 7]。柳树性喜湿,根系发达,适应性强,生长速度快,耐水性好,常于水旁栽植,对水体氮、磷污染有很好的修复作用,是应用于富营养化水体植物修复的重要树种^[8-9]。

氮是核酸、蛋白质和其他有机分子以及他们的分解代谢产物不可或缺的组成元素^[10]。但环境中过量氮的存在,会引起植物生理特征变化。例如, NH_4^+ 过量会使得大部分植物生长、生理特征的改变,甚至引起植物体内矿质元素、有机离子和氨基酸等含量的变化^[11-12]。在植物根系环境中,过多的 NH_4^+ 或者 NO_3^- 存在时,不但对大多数植物具有毒害作用,而且会进一步影响其不同部位对氮的吸收、积累和分配^[13]。同位素示踪技术是指外源添加与生物体内的元素或者物质完全共同运行的示踪物,用来指示其内部某元素或物质变化过程的一种方法^[14]。利用氮稳定同位素示踪技术,能从本质上揭示相关生态学过程发生的机理,从而成为生态学科研工作十分重要的工具之一^[15]。有研究表明,基于 ^{15}N 的标记特性、可测定性及与普通氮易于区别的特点,研

究中运用 ^{15}N 示踪技术,可以让我们更好地理解植物对不同氮素吸收和分配机理^[16-18]。

本文选用常见速生柳——旱柳(*Salix matsudana*)作为试验材料,采用溶液培养法,通过外源添加 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$,考察速生旱柳苗在不同浓度的2种单一氮源处理下对氮的吸收、分配情况,以及生长和生理响应特征,预期为柳树用于氮污染水体的修复提供理论基础和科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料培养与方法

实验选用的柳树无性系于2013年3月份引种于山东滨州一逸林业有限公司,为旱柳无性系27号。将柳树枝条剪成10cm长插条,均匀扦插于40cm×20cm的有孔泡沫板中,每个泡沫板上扦插12棵插条,置于19L的方形塑料箱中培养。自然光照强度下,温度为20—30℃,每天光照约10h。用改进的Hoagland营养液配方培养^[19](营养液成分为:0.51 g/L KNO_3 , 0.82 g/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.136 g/L KH_2PO_4 , 0.49 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2.86 mg/L H_3BO_3 , 1.81 mg/L $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.22 mg/L $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.45 mg/L $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$, 0.6 mg/L FeSO_4 , 0.744 mg/L EDTA)。保持24 h通气,每7 d更换1次营养液,营养液pH控制在6.5左右。待柳树幼苗生长3个月后,选取长势良好且生长基本一致的幼苗,通过测定株高和整株生物量,选取长势一定(株高 $\pm < 5$ cm、株生物量 $\pm < 10$ g)的柳树苗用于试验。柳树苗先用自来水冲洗,再用蒸馏水清洗后晾干10 min左右,放入无离子水中培养,1周后达到氮饥饿状态,进行氮吸收试验。

将处理好的柳树苗置于19 L的方形塑料箱中,每箱8棵,用海绵和泡沫板固定,共48箱,用不含 KNO_3 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$,含有 CaSO_4 的上述Hoagland配方1/4倍的营养液,以保证柳树能正常生长,同时设置不同氮处理进行培养。氮分别以($^{15}\text{NH}_4$) $_2\text{SO}_4$ ($\text{NH}_4^+\text{-N}$)和 K^{15}NO_3 ($\text{NO}_3^-\text{-N}$)(购自上海化工研究院,丰度为99.99%)形式添加,根据水体富营养化分级标准^[20],将氮浓度设置为1.4、2.8、7.0和28.0 mg/L 4个浓度水平(以N计),分别代表贫氮(N1)、中氮(N2)、富氮(N3)和过氮(N4)水平,共8个处理,每个处理2箱,共16棵柳树苗,并设置3次重复。每7 d换1次营养,其中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理组加入0.588 mg/L硝化抑制剂($\text{C}_2\text{H}_4\text{N}_4$)(每箱2 mL),以防止 $^{15}\text{NH}_4^+$ 向 $^{15}\text{NO}_3^-$ 的转化。整个试验于2013年3—8月份在中国林科院亚热带林业研究所温室大棚和实验室中进行,研究所位于浙江省富阳市,海拔90 m,亚热带季风气候,年平均气温16.2℃,年平均降水量1452 mm。

1.2 测定方法

1.2.1 植株鲜重与干重测定

第28天收获植株时,每个处理取出6棵叶片和根系完整的柳树苗,测定其鲜重和干重,在实验室用去离子水洗净,分根、茎、叶,在实验室晾干测定鲜重;测定干重样品在105℃下杀青0.5 h后,在75℃下烘干72 h,用感量为0.01 g的电子天平称量,统计单株根系和地上部(茎和叶)的生物量。

1.2.2 植株各部分 $\delta^{15}\text{N}$ 含量测定

用于测定各部分 $\delta^{15}\text{N}$ 含量的柳树苗,分别第7、14、21天和第28天在每个处理取出6棵柳树苗,测定鲜重和干重,方法同上。烘干后粉碎过100目筛,用于测定 $\delta^{15}\text{N}$ 含量。用DELTA V Advantage同位素比率质谱仪和Flash EA1112 HT元素分析仪(Thermo Fisher Scientific,美国)测定样品中的 $\delta^{15}\text{N}$ 值(误差值控制在 $\pm < 0.2\text{‰}$)。参考林光辉^[21]和赵登超^[22]等,计算得到柳树各器官的氮原子百分含量 $\text{Atom}\%^{15}\text{N}$ (AT%)、 ^{15}N 吸收量、来自氮源的 $\text{N}\%$ (Ndff%) and ^{15}N 分配率。

1.2.3 植株叶片和根系生理指标测定

所有氮处理在培养的第28天上午,在剩余完整柳树中取其第3—5叶位成熟叶片和长势良好的根系若干,立即于4℃左右低温冷藏带回实验室进行生理指标的测定,试验均重复3—6次。根据课题组前期的研究和预实验,测定柳树苗叶片和根系相关生理指标:过氧化氢酶(CAT)采用紫外吸收法测定,过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚氧化法测定,超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)光化学还

原法测定,丙二醛(MDA)采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定;根系活力采用 α -萘氧化法测定^[23-24],CAT测定在24 h内完成,其它指标均在48 h内完成测定;根系形态采用全自动双光源根系扫描分析仪测定,分析软件为Regent Instruments公司提供的WinRHIZO Pro 2005b,由此得出试验柳树苗的根系长度、根面积、根体积、根平均直径和根尖数。

1.3 数据分析

数据采用Excel 2007进行初步分析整理,用SPSS 18.0进行方差齐性检验,对柳树苗生物量、¹⁵N含量、叶和根各生理指标以及根系形态指标作单因素($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 或 $\text{NO}_3^-\text{-N}$)ANOVA分析,并用LSD作多重比较分析($P<0.05$),采用Origin 7.5制图。

2 结果与分析

2.1 不同氮处理对旱柳各器官生物量和氮吸收的影响

不同氮处理下,旱柳苗单株地下部和地上部的生物量(以干重计)差异显著($P<0.05$),且2种氮对根系和地上部的影响不同(表1)。结果表明,一定范围氮浓度的增加能够促进旱柳的生长,但过量氮会抑制其生长,且 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的抑制作用大于 $\text{NO}_3^-\text{-N}$;旱柳表现出对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的吸收偏好,在同一氮水平时,旱柳各部位的AT%、

表1 不同氮处理对旱柳各器官生物量、AT%、N%、¹⁵N吸收量和Ndff值的影响

Table 1 Effect on the biomass, AT%, N%, ¹⁵N absorption and Ndff in the different organs of *Salix matsudana* by different nitrogen treatments

器官 Organs	氮处理 Nitrogen treatments	生物量 Biomass/g	原子百分含量 Atom/% ¹⁵ N AT/%	氮含量 N content N/%	¹⁵ N吸收量×1000 Nitrogen absorption/g	来自氮源 N/% N from Nitrogen source Ndff/%
根 Root	$\text{NH}_4^+\text{-N1}$	2.93±0.27abA	3.10±0.08dA	1.06±0.11cB	0.97±0.17cA	2.74±0.08dA
	$\text{NH}_4^+\text{-N2}$	3.57±0.51aA	5.58±0.15cA	1.72±0.09bA	3.43±0.52cA	5.22±0.15cA
	$\text{NH}_4^+\text{-N3}$	2.81±0.37bB	10.50±0.80bA	4.72±0.32aA	14.00±2.96aA	10.17±0.80bA
	$\text{NH}_4^+\text{-N4}$	2.17±0.09bB	18.96±0.56aA	1.90±0.10bB	7.88±0.50bB	18.66±0.56aA
	$\text{NO}_3^-\text{-N1}$	2.43±0.31cA	3.04±0.07dA	1.47±0.10dA	1.09±0.22cA	2.68±0.06dA
	$\text{NO}_3^-\text{-N2}$	3.34±0.24bA	3.92±0.08cB	1.81±0.20cA	2.37±0.39cB	3.56±0.08cB
	$\text{NO}_3^-\text{-N3}$	4.38±0.27bA	7.51±0.12bB	3.16±0.12bB	10.42±0.94bA	7.17±0.12bB
	$\text{NO}_3^-\text{-N4}$	3.43±0.24aA	13.85±0.24aB	2.79±0.17aA	13.30±1.92aA	13.53±0.24aB
茎 Stem	$\text{NH}_4^+\text{-N1}$	10.31±1.00cA	1.25±0.03cA	0.56±0.12bB	0.72±0.23bB	0.88±0.03bA
	$\text{NH}_4^+\text{-N2}$	11.65±1.11bcA	2.51±0.04bcA	0.25±0.10cB	0.75±0.37bB	2.15±0.04bA
	$\text{NH}_4^+\text{-N3}$	13.50±0.84bB	5.09±0.16bA	0.98±0.14aB	6.77±1.34bA	4.74±0.16bA
	$\text{NH}_4^+\text{-N4}$	16.76±1.38aA	17.31±2.81aA	0.72±0.21abB	21.74±10.96aA	17.00±2.82aA
	$\text{NO}_3^-\text{-N1}$	11.67±0.42dA	1.27±0.03dA	1.45±0.08bA	2.16±0.14cA	0.91±0.04dA
	$\text{NO}_3^-\text{-N2}$	13.09±0.12cA	1.77±0.04cB	3.25±0.09aA	7.55±0.44bA	1.41±0.04cB
	$\text{NO}_3^-\text{-N3}$	22.22±0.46aA	2.77±0.10bB	1.13±0.14cA	6.93±0.68bA	2.41±0.10bB
	$\text{NO}_3^-\text{-N4}$	14.40±0.32bB	11.35±0.32aB	1.15±0.07cA	18.79±1.25aA	11.02±0.32aB
叶 Leaf	$\text{NH}_4^+\text{-N1}$	3.85±0.35bA	1.07±0.01cA	2.02±0.08cA	0.83±0.12cA	0.70±0.01cA
	$\text{NH}_4^+\text{-N2}$	4.25±0.82bA	1.61±0.05cA	1.61±0.07dB	1.10±0.21cA	1.24±0.05cA
	$\text{NH}_4^+\text{-N3}$	4.86±0.85abB	2.75±0.08bA	3.84±0.17aB	5.11±0.73bA	2.39±0.08bA
	$\text{NH}_4^+\text{-N4}$	5.56±0.47aA	10.58±0.62aA	2.24±0.05bB	13.22±2.07aA	10.25±0.62aA
	$\text{NO}_3^-\text{-N1}$	3.84±0.51cA	0.62±0.02dA	1.28±0.09dB	0.31±0.06cB	0.25±0.02dB
	$\text{NO}_3^-\text{-N2}$	4.23±0.31bcA	0.88±0.05cB	2.41±0.09cA	0.90±0.10cA	0.51±0.05cB
	$\text{NO}_3^-\text{-N3}$	7.45±0.44aA	0.95±0.04bB	4.52±0.05aA	3.22±0.28bB	0.59±0.03bB
	$\text{NO}_3^-\text{-N4}$	4.85±0.52bA	6.62±0.03aB	3.40±0.07bA	10.88±1.00aA	6.27±0.02aB

不同小写字母表示 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 或 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 各处理间各指标差异显著($P<0.05$),不同大写字母表示同一氮浓度 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理间各指标差异显著($P<0.05$)

^{15}N 吸收量和 $\text{Ndf}\%$ 均为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理大于 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理,且随着处理浓度的增加,差异增大,其在旱柳各部位的分布为根 > 茎 > 叶;而最终能够被旱柳同化利用的氮表明,除茎中 $\text{N}\%$ 含量在 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 中氮水平最高外,其它均在富氮时达到 $\text{N}\%$ 的峰值,过量氮并不能够完全被旱柳同化、利用。表明 2 种氮素对旱柳的生长及氮吸收的影响不一,尤其在富氮和过氮时呈显著性差异 ($P < 0.05$),这可能与旱柳对 2 种氮素的选择性吸收不同,且可能存在不同的运输途径,从而导致结果不一。

4 个氮浓度中,在 4 个取样阶段均为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理高于 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理,表明旱柳对 2 种无机氮的吸收更偏向于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$;其中,仅有在中氮水平时,旱柳根和叶的 $\text{AT}\%$ 含量呈显著性增加,且呈现出持续增加的趋势;而在贫氮、富氮和过氮水平下,根或叶在 2 种氮的吸收过程中, $\text{AT}\%$ 含量在其不同时期出现了一定程度的下降,即发生不同程度的吸收停止现象(图 1)。这可能是由于旱柳根系对 2 种氮素的亲和性不同以及不同氮素对旱柳苗的生理变化特征的影响不同引起的。植物中的 ^{15}N 随时间而富集,但 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理中,在开始的 14 d 变化不大,表明在开始吸收了 ^{15}N 后就基本停止了吸收;而 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理中,柳树对培养液中 ^{15}N 的吸收则一直持续^[12, 25],叶片吸收氮在 14 d 后反而下降,可能由于部分 ^{15}N 发生硝化作用或者其它迁移转化等^[26]。

2.2 不同氮处理对旱柳各器官的影响 ^{15}N 分配率的影响

随着氮浓度的增加,两种氮素对旱柳各器官 ^{15}N 分配率的影响差异显著 ($P < 0.05$) (表 2)。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理中,随着氮浓度的增加,根中 ^{15}N 分配率呈先增加后减少的趋势,在中氮水平达到最大值,叶中 ^{15}N 分配率呈逐渐减少的趋势,其最大值出现在贫氮水平; $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理中,随着氮浓度的增加,根中 ^{15}N 分配率呈先增加后减少的趋势,在富氮水平达到最大值,叶中 ^{15}N 分配率呈逐渐增加的趋势,其最大值出现在过氮水平。

表 2 不同氮处理对旱柳各器官 ^{15}N 分配率的影响

Table 2 Effect on the allocation rate of ^{15}N in the different organs of <i>Salix matsudana</i> by different nitrogen treatments					
氮种类 Nitrogen type	器官 Organs	氮营养等级 Gradient of nitrogen			
		N1	N2	N3	N4
$\text{NH}_4^+\text{-N}$	根	38.51±5.63cA	64.79±5.85aA	53.90±3.49bA	19.14±4.60dB
	茎	28.22±4.59bB	14.53±7.88bB	26.28±3.43bA	48.93±9.43aA
	叶	33.27±4.29aA	20.67±3.17bA	19.82±0.78bA	31.93±5.31aA
$\text{NO}_3^-\text{-N}$	根	30.49±2.86bA	21.87±2.25cB	50.61±2.27aA	30.87±2.69bA
	茎	60.95±3.69bA	69.84±2.68aA	33.74±3.25dA	43.82±3.64cA
	叶	8.56±0.96cB	8.28±0.72cB	15.66±1.06bB	25.31±1.02aA

2.3 不同氮处理对旱柳叶和根 CAT、POD、SOD、MDA 的影响

旱柳叶 CAT 活性随着营养液中氮浓度的升高, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理呈先减少后增加的趋势, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理呈现 S 形变化, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理最大值出现在过氮水平,为比对照增加了 252.02%, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理最大值出现在富氮水平,比对照增加了 122.07%;而在根中,其 CAT 活性值变化规律表现为:随着营养液中氮浓度的升高, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理均呈现先减少后增加的趋势, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理最大值均出现在过氮水平,比对照增加了 155.75% 和 638.87% (图 2)。

旱柳叶 POD 活性值,随着营养液中氮浓度的升高, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理呈先减少后增加的趋势, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理则相反,呈现先增加后减少的趋势, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理最大值出现在过氮水平,比对照增加了 80.14%, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理最小值出现在贫氮水平,比对照减少了 39.52%;而在根中,其 POD 活性在 2 种氮处理中变化趋势一致,均为先增加后减少,其中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理最大值出现在过氮水平,比对照增加了 47.03%,贫氮时最小(比对照减少了 47.48%), $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理最大值出现在过氮水平,比对照增加了 137.79% (图 3)。

旱柳叶 SOD 活性值,随着营养液中氮浓度的升高, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理呈先减少后增加, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理则表现为一直增加的趋势,其中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理最小值出现在过氮水平,比对照减少了 52.77%, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理最大和最小分别出现在过氮水平和贫氮水平,分别比对照增加 24.48% 和减少 21.78%;而在根中,其 SOD 活性值随着营养液中

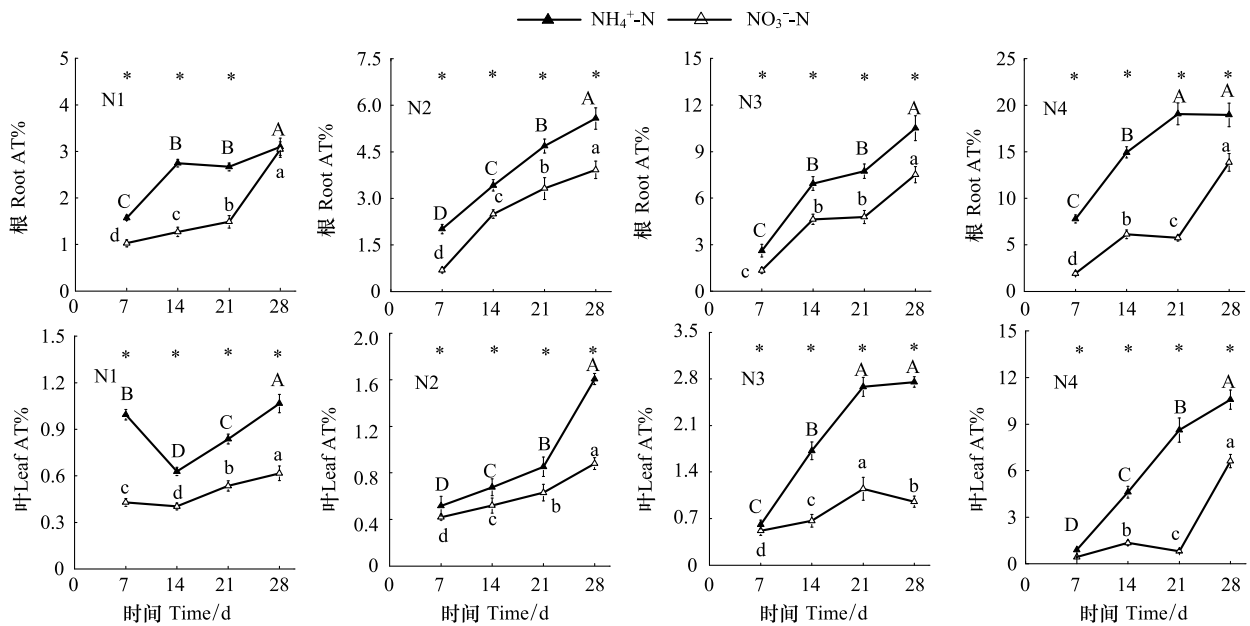


图 1 不同氮处理对旱柳吸收、分配水体氮素的影响

Fig.1 Effects of different nitrogen treatments on the absorption and distribution of nitrogen in *Salix matsudana*

不同大写字母表示 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理间柳树指标差异显著 ($P < 0.05$), 不同小写字母表示 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理间柳树指标差异显著 ($P < 0.05$), * 表示 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 之间差异显著 ($P < 0.05$)

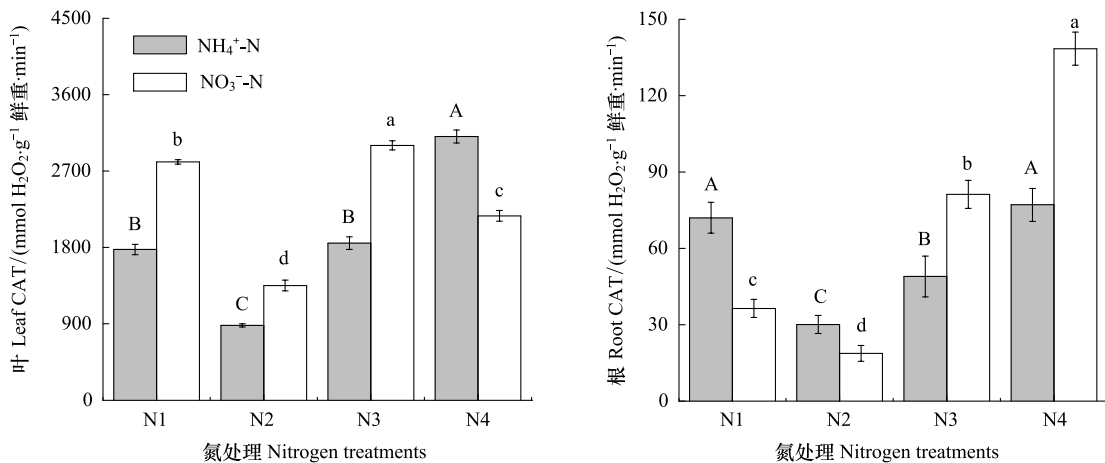


图 2 不同氮处理对旱柳叶和根 CAT 活性的影响

Fig.2 Effects of different nitrogen treatments on the activity of CAT in leaf and root of *Salix matsudana*

不同大写字母表示 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理间柳树指标差异显著 ($P < 0.05$), 不同小写字母表示 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理间柳树指标差异显著 ($P < 0.05$)

氮浓度的升高, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理呈现出 S 形变化, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理则表现出先减少后增加的变化过程, 其中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理最大值出现在贫氮水平, 比对照增加了 39.49%, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理最大值出现在过氮水平, 比对照增加了 53.89% (图 4)。

关于不同氮处理对旱柳叶和根中 MDA 的含量的影响, 随着营养液中氮浓度的升高, 在叶中, 与对照相比, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 各处理间的差异较小, 无显著性差异 ($P < 0.05$), 而在根中, 2 种氮处理变化趋势一致, 均表现为先增加后减少的变化趋势, 其中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理最小值出现在贫氮水平, 比对照减少了 36.16%, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理最小值出现在过氮水平, 比对照减少了 29.85% (图 5)。

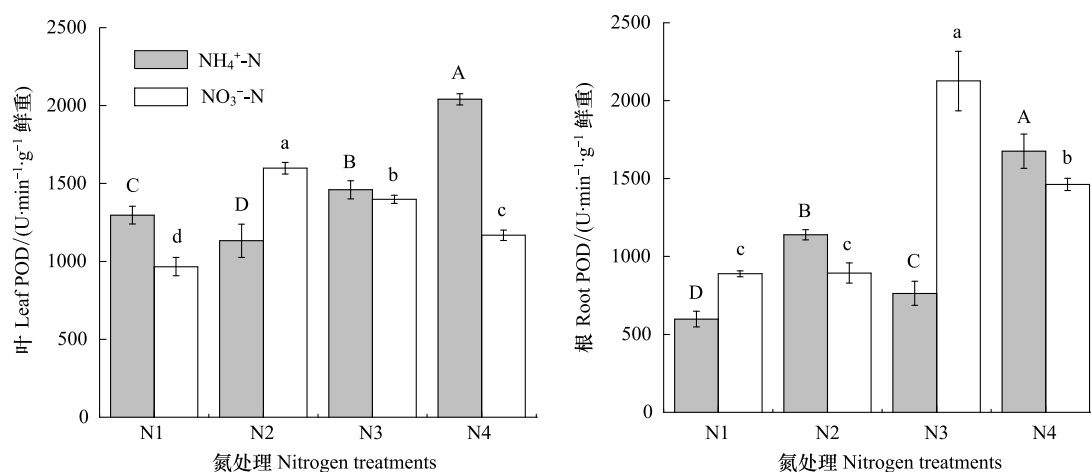


图3 不同氮处理对旱柳叶和根 POD 的影响

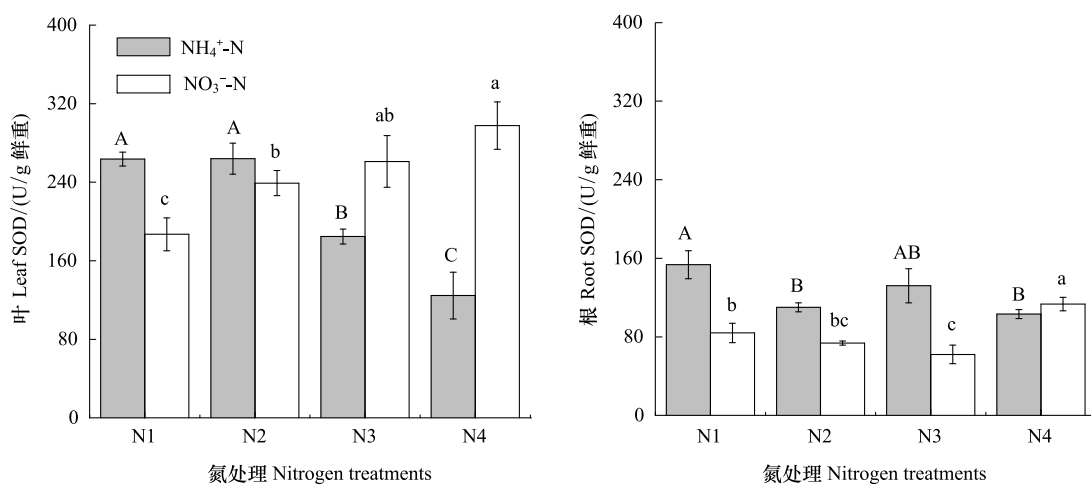
Fig.3 Effects of different nitrogen treatments on the activity of POD in leaf and root of *Salix matsudana*

图4 不同氮处理对旱柳叶和根 SOD 的影响

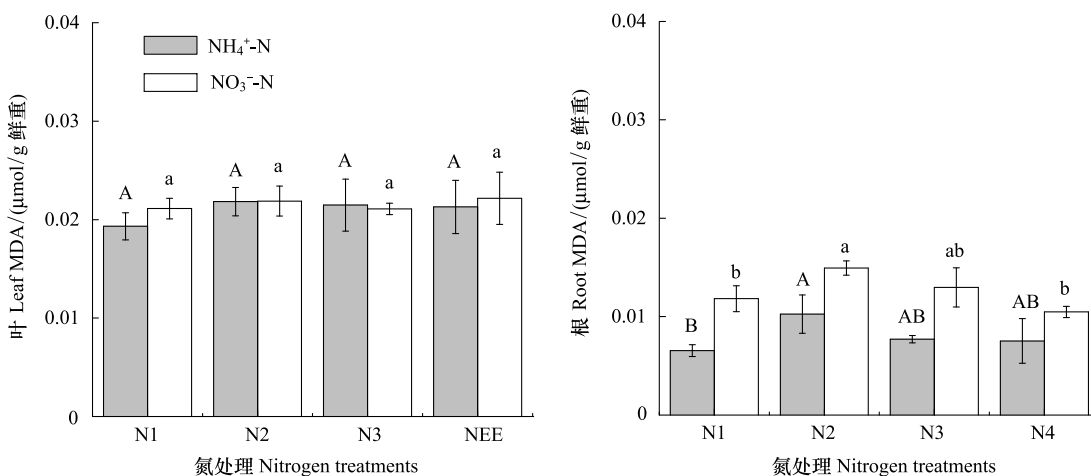
Fig.4 Effects of different nitrogen treatments on the activity of SOD in leaf and root of *Salix matsudana*

图5 不同氮处理对旱柳叶和根 MDA 的影响

Fig.5 Effects of different nitrogen treatments on the contents of MDA in leaf and root of *Salix matsudana*

2.4 不同氮处理对旱柳根系活力和根系形态的影响

随着营养液中氮浓度的升高,旱柳根系活力差异较大。其变化规律分别为: $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理呈现出先增加后减少的变化趋势,最小值出现在富氮水平,比对照减少了 50.61%, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理则随着培养液中氮浓度的增加,根系活力进一步提高,根系活力最高的为过氮水平,比对照提高了 19.53%(图 6)。

随着水体氮浓度的增加,旱柳苗的根系形态指标基本呈先增加后减少的趋势(表 3)。除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理中柳树苗的根平均直径和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理中柳树苗的侧根数最大值均出现在对照(中氮水平)时,表明 2 种氮缺乏或过量均对其有抑制作用。在贫氮水平, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理柳树苗根总长、根表面积、根平均直径、根体积和侧根数分别对对照减少了 10.38%、8.02%、12.52%、19.66% 和 17.73%; $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理柳树苗相应的根系形态指标分别对对照减少了 11.88%、31.05%、0、21.04% 和 36.20%。在过氮水平, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 处理柳树苗根总长、根表面积、根平均直径、根体积和侧根数分别对照下降了 30.92%、29.48%、19.44%、27.01% 和 36.41%; $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 处理的柳树苗相应的根系形态指标分别对对照下降了 1.66%、5.65%、1.49%、5.06% 和 25.72%。

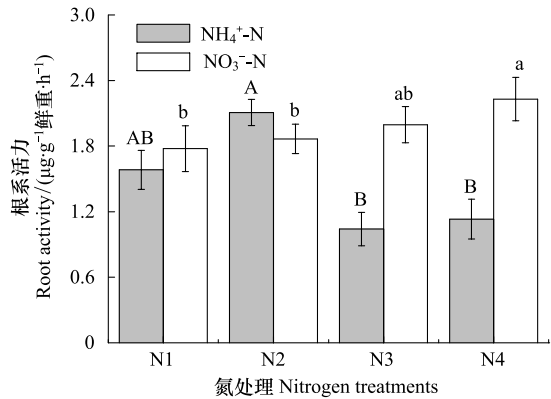


图 6 不同氮处理对旱柳根系活力的影响

Fig.6 Effects of different nitrogen treatments on the root activity of *Salix matsudana*

表 3 不同氮处理对旱柳根系形态的影响

Table 3 Dynamic of root morphology of *Salix matsudana* under different nitrogen treatments

氮素种类 Nitrogen species	氮处理 Nitrogen treatments	根总长/1000 Root length/cm	根表面积 Root surface area/ cm^2	根平均直径 Root diameter /mm	根体积 Root volume / cm^3	侧根数/1000 Root Tips
$\text{NH}_4^+\text{-N}$	N1	$8.03\pm0.38\text{cB}$	$1675.08\pm87.07\text{bA}$	$0.63\pm0.02\text{bcA}$	$25.34\pm7.99\text{bA}$	$16.56\pm0.59\text{cA}$
	N2	$8.96\pm0.69\text{bB}$	$1821.16\pm60.80\text{bB}$	$0.72\pm0.06\text{aA}$	$31.54\pm4.70\text{bA}$	$20.13\pm1.58\text{bA}$
	N3	$13.65\pm0.26\text{aA}$	$2662.09\pm173.84\text{aA}$	$0.65\pm0.01\text{bB}$	$45.42\pm1.80\text{aA}$	$32.10\pm3.00\text{aA}$
	N4	$6.19\pm0.43\text{dB}$	$1284.34\pm75.31\text{cB}$	$0.58\pm0.03\text{cB}$	$23.02\pm4.11\text{bA}$	$12.80\pm0.71\text{dB}$
$\text{NO}_3^-\text{-N}$	N1	$9.57\pm0.39\text{bA}$	$1513.48\pm101.23\text{bA}$	$0.67\pm0.02\text{bA}$	$27.47\pm4.64\text{aA}$	$17.41\pm0.99\text{bA}$
	N2	$10.86\pm0.79\text{abA}$	$2194.89\pm162.08\text{aA}$	$0.67\pm0.02\text{bA}$	$34.79\pm7.62\text{aA}$	$27.29\pm4.39\text{aA}$
	N3	$12.04\pm0.40\text{aB}$	$2046.73\pm166.42\text{aB}$	$0.71\pm0.01\text{aA}$	$36.19\pm7.97\text{aA}$	$20.18\pm1.38\text{bB}$
	N4	$10.68\pm1.00\text{bA}$	$2070.93\pm192.90\text{aA}$	$0.66\pm0.03\text{bA}$	$33.03\pm7.91\text{aA}$	$20.27\pm0.29\text{bA}$

3 讨论

关于不同形态氮引起不同结果的假设目前有:(1)离子间的拮抗与互相促进作用,以及高浓度 NH_4^+ 存在时通常引起植物对碳水化合物需求^[11];(2)通过改变外界环境因子(比如温度和光强等),可以在一定程度改变植物体氮素的分布格局;(3)供应的氮素形态不同,通常对植物生长和生理特征影响不同,通常高浓度的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 会对植物产生一定的毒害作用^[27]。除此之外,由于植物对不同形态氮源的敏感度不同,且水体不同 pH 值也会对植物吸收和分配氮素产生影响,植物吸收和分配氮素的途径也存在多样化,这些都会造成植物体内¹⁵N 含量的差异^[11]。在 NH_4^+ 胁迫下,不同的植物或者同一植物的不同品种之间表现出实质性的变化;但目前仍无统一的结论, NH_4^+ 通常会增加或减少一些复杂的生理过程;其化学机制目前仍不是很清楚,在揭示植物在 NH_4^+ 胁迫下的反应研究中,有研究者认为根际 NH_4^+ 过量造成植物碳消耗增大,故适量增加植物根际环境碳源供给可以缓解 NH_4^+ 的毒害作用,此外还有一方面是对渗透调节的改变,增加钾离子的供给也可

以缓解 NH_4^+ 的毒害作用^[12]。本研究表明,2 种氮素不足或过量均对旱柳根系有抑制作用,不同形态氮处理时,与对照相比, NO_3^- -N 处理在氮不足时对柳树苗根系形态的抑制作用大于 NH_4^+ -N 处理, NH_4^+ -N 处理在氮过量时对柳树苗根系形态具有明显的抑制作用, NO_3^- -N 处理的抑制作用较小。这与 Cruz^[28] 和闫慧等^[29] 的研究相一致。

CAT 大量分布于动植物细胞内,属于活性氧清除剂,可分解机体代谢过程中产生的活性氧如 H_2O_2 、 O_2^- 等,这些物质可对植物体尤其是质膜产生毒害作用,测定 CAT 的活性可以评价机体受活性氧毒害的程度^[30]。本研究中,旱柳叶片在低氮浓度时 NH_4^+ -N 处理的 CAT 活性小于 NO_3^- -N 处理,在高氮浓度时 NH_4^+ -N 处理的 CAT 活性大于 NO_3^- -N 处理;旱柳根 CAT 活性变化趋势则相反,在高氮浓度时 NH_4^+ -N 处理的 CAT 活性小于 NO_3^- -N 处理。该结果可能为高氮浓度时 NH_4^+ -N 对旱柳叶片的毒害作用较明显,而在低氮浓度时 NH_4^+ -N 对旱柳根系的毒害作用较明显。POD 和 SOD 是植物体内重要的保护酶类。SOD 主要功能是催化 O_2^- 歧化为 H_2O_2 ,使之在植物组织内维持较低浓度,从而消除其对细胞的伤害,SOD 活性强弱与植物的抗氧化能力密切相关。POD 能催化分解其他底物以消耗 H_2O_2 ,它与 SOD 相互协调,能有效清除代谢过程产生的活性氧,从而减弱活性氧引起的膜脂过氧化及其它伤害过程^[19, 31]。本研究产生的结果,可能是由于进入到植物体的 NH_4^+ 使其产生有害的过氧化物,而随着氮浓度的增加,植物体内的过氧化物的量也增加,从而使得 POD 和 SOD 的活性提高,而过量氮存在时,超过植物自身的解毒能力临界值时,便会产生毒害作用,从而使得 POD 和 SOD 的活性在一定程度降低。

MDA 是常用的膜脂过氧化指标,植物器官衰老或在逆境下往往发生膜脂过氧化作用,MDA 是产物之一,其含量高低表示细胞膜脂过氧化程度的大小和植物对逆境条件耐受的强弱^[31-32]。本研究表明氮不足和过量均不利于旱柳的生长,且 NH_4^+ -N 的影响大于 NO_3^- -N。根系活力是指整个根系的代谢状况,其活力大小直接影响植物地上部的生理生化情况,而根部又是植物直接与 NH_4^+ 接触的部位,很容易受到 NH_4^+ 毒害^[33]。因此植物的根系活力可以敏感地反映其受 NH_4^+ 毒害的严重程度。本研究表明同一浓度时, NH_4^+ -N 对旱柳根系活力的影响大于 NO_3^- -N,该结果与 Cruz 等人^[34] 的研究结果相类似。

氮素在植物体内的分布一般集中于生命活动最活跃的部分^[25]。植物对不同形态氮的吸收具有选择性,且当环境条件发生改变时,植物能调节对不同形态的选择性吸收^[35-36]。氮素的不足和过量均会对植物的生长和生理产生影响,而在 NH_4^+ -N 单一存在时,其不足和过量会对植物根系和叶片产生一定的毒害作用。这主要是由于供给的氮素形态不同,植物的不同器官对其的吸收竞争能力也不一样,由此也可以比较植物的器官需要发挥不同的生理功能,所以对不同形态的氮素竞争吸收量不一样。2 种氮处理下,柳树¹⁵N 的吸收特性是否与柳树的解剖结构和品种有特异性相关还有待进一步的研究。在柳树应用于水体氮污染修复时,可以适当增加水体 NO_3^- -N 的比例,以此增加柳树对水体氮的吸收去除效果。

致谢: 山东滨州一逸林业有限公司总经理焦传礼先生提供实验材料。

参考文献 (References):

- [1] Erisman J W, Sutton M A, Galloway J, Klimont Z, Winiwarter W. How a century of ammonia synthesis changed the world. *Nature Geoscience*, 2008, 1: 636-639.
- [2] Liu X J, Zhang Y, Han W X, Tang A, Shen J L, Cui Z L, Vitousek P, Erisman J W, Goulding K, Christie P, Fangmeier A, Zhang F S. Enhanced nitrogen deposition over China. *Nature*, 2013, 494(7438): 459-462.
- [3] Gao C, Zhu J G, Zhu J Y, Gao X, Dou Y J, Hosen Y. Nitrogen export from an agriculture watershed in the Taihu Lake area, China. *Environmental Geochemistry and Health*, 2004, 26(2): 199-207.
- [4] 张庆费, 郑思俊, 夏楠. 植物修复概念与特点. *园林*, 2010, (1): 62-64.
- [5] 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.
- [6] Fang Y Y, Yang X E, Chang H Q, Pu P M. *In-situ* remediation of polluted water body by planting hydrophytes. *Chinese Journal of Applied*

- Ecology, 2008, 19(2): 407-412.
- [7] 程丽巍, 邹定辉, 郑青松, 刘兆普, 李枫, 蒋和平. 光照和温度对氮饥饿及饱和营养条件下石莼(*Ulva lactuca*)的硝态氮吸收动力学影响. 生态学杂志, 2010, 29(5): 939-944.
- [8] 陈彩虹, 刘治昆, 陈光才, 单奇华, 张建锋. 苏柳 172 和垂柳对 Cu^{2+} 的吸收特性及有机酸影响. 生态学报, 2011, 31(18): 5255-5263.
- [9] 王瑛, 张建锋, 陈光才. 柳树对水体氮素的去除率及其吸收动力学. 生态学杂志, 2012, 31(9): 2305-2311.
- [10] 黄建国. 植物营养学. 北京: 中国林业出版社, 2004: 82-106.
- [11] Ariz I, Cruz C, Moran J F, González-Moro M B, García-Olaverri C, González-Murua C, Martins-Loução M A, Aparicio-Tejo P M. Depletion of the heaviest stable N isotope is associated with $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ toxicity in NH_4^+ -fed plants. BMC Plant Biology, 2011, 11(1): 83-83.
- [12] Ariz I, Artola E, Asensio A C, Cruchaga S, Aparicio-Tejo P M, Moran J F. High irradiance increases NH_4^+ tolerance in *Pisum sativum*: Higher carbon and energy availability improve ion balance but not N assimilation. Journal of Plant Physiology, 2011, 168(10): 1009-1015.
- [13] Ariz I, Esteban R, García-Plazaola J I, Becerril J M, Aparicio-Tejo P M, Moran J F. High irradiance induces photoprotective mechanisms and a positive effect on NH_4^+ stress in *Pisum sativum* L. Journal of Plant Physiology, 2010, 167(13): 1038-1045.
- [14] 汪庆兵, 张建锋, 陈光才. 基于 ^{15}N 示踪技术的植物-土壤系统氮循环研究进展. 热带亚热带植物学报, 2013, 21(5): 479-488.
- [15] 王巧兰, 吴礼树, 赵竹青. ^{15}N 示踪技术在植物 N 素营养研究中的应用及进展. 华中农业大学学报, 2007, 26(1): 127-132.
- [16] 林光辉. 稳定同位素生态学: 先进技术推动的生态学新分支. 植物生态学报, 2010, 34(2): 119-122.
- [17] Kuang Y W, Sun F F, Wen D Z, Xu Z H, Huang L B, Li J. Nitrogen deposition influences nitrogen isotope composition in soil and needles of *Pinus massoniana* forests along an urban-rural gradient in the Pearl River Delta of south China. Journal of Soils and Sediments, 2011, 11(4): 589-595.
- [18] 王晓英, 贺明荣, 刘永环, 张洪华, 李飞, 华芳霞, 孟淑华. 水氮耦合对冬小麦氮肥吸收及土壤硝态氮残留淋溶的影响. 生态学报, 2008, 28(2): 685-694.
- [19] 刘治昆, 陈彩虹, 陈光才, 张建锋. Cu^{2+} 胁迫对 2 种速生柳幼苗生长及生理特性的影响. 西北植物学报, 2011, 31(6): 1195-1202.
- [20] 王明翠, 刘雪芹, 张建辉. 湖泊富营养化评价方法及分级标准. 中国环境监测, 2002, 18(5): 47-49.
- [21] 林光辉. 稳定同位素生态学. 北京: 高等教育出版社, 2013: 1-16.
- [22] 赵登超, 姜远茂, 彭福田, 张进, 张序, 隋静, 何乃波. 不同施肥时期对冬枣 ^{15}N 贮藏及翌年分配利用的影响. 中国农业科学, 2006, 39(8): 1626-1631.
- [23] 张志良, 瞿伟菁, 李小方. 植物生理学实验指导(第 3 版). 北京: 高等教育出版社, 2003: 36-38.
- [24] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000: 134-260.
- [25] 董雯怡, 聂立水, 李吉跃, 沈应柏, 张志毅. 应用 ^{15}N 示踪研究毛白杨苗木对不同形态氮素的吸收及分配. 北京林业大学学报, 2009, 31(4): 97-101.
- [26] 黄见良, 邹应斌, 彭少兵, Buresh R J. 水稻对氮素的吸收、分配及其在组织中的挥发损失. 植物营养与肥料学报, 2004, 10(6): 579-583.
- [27] Zhu Z, Gerendas J, Bendixen R, Schinner K, Tabrizi H, Sattelmacher B, Hansen U P. Different tolerance to light stress in NO_3^- and NH_4^+ grown *Phaseolus vulgaris* L. Plant Biology, 2000, 2(5): 558-570.
- [28] Cruz C, Domínguez-Valdivia M D, Aparicio-Tejo P M, Lamsfus C, Bio A, Martins-Loução M A, Moran J F. Intra-specific variation in pea responses to ammonium nutrition leads to different degrees of tolerance. Environmental and Experimental Botany, 2011, 70(2/3): 233-243.
- [29] 闫慧, 吴茜, 丁佳, 张守仁. 不同降水及氮添加对浙江古田山 4 种树木幼苗光合生理生态特征与生物量的影响. 生态学报, 2013, 33(14): 4226-4236.
- [30] Domínguez-Valdivia M D, Aparicio-Tejo P M, Lamsfus C, Cruz C, Martins-Loução M A, Moran J F. Nitrogen nutrition and antioxidant metabolism in ammonium-tolerant and -sensitive plants. Physiologia Plantarum, 2008, 132(3): 359-369.
- [31] 杨卫东, 陈益泰. 镉胁迫对旱柳细胞膜透性和抗氧化酶活性的影响. 西北植物学报, 2009, 28(11): 2263-2269.
- [32] 古志钦, 张利权. 互花米草对持续淹水胁迫的生理响应. 环境科学学报, 2009, 29(4): 876-881.
- [33] 房娟, 陈光才, 楼崇, 张建锋. Pb 胁迫对柳树根系形态和生理特性的影响. 安徽农业科学, 2011, 39(15): 8951-8953, 8989-8989.
- [34] Cruz C, Bio A F M, Domínguez-Valdivia M D, Aparicio-Tejo P M, Lamsfus C, Martins-Loução M A. How does glutamine synthetase activity determine plant tolerance to ammonium?. Planta, 2006, 223(5): 1068-1080.
- [35] 吴楚, 王政权, 范志强. 氮素形态处理下水曲柳幼苗养分吸收利用与生长及养分分配与生物量分配的关系. 生态学报, 2005, 25(6): 1282-1290.