

利用¹⁵N标记研究铵态氮与硝态氮对大豆的营养作用

董守坤, 刘丽君, 马春梅, 孙聪姝, 龚振平, 祖伟

(东北农业大学 农学院, 农业部东北地区作物栽培科学观测实验站, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:以东农47为材料, 采用¹⁵N示踪技术, 利用组培的方式进行了铵态氮与硝态氮营养作用研究。结果表明, 在无菌条件下, 以 NH_4^+ -N为唯一氮源大豆表现出了铵盐毒害; 以 NO_3^- -N和混合态氮作为氮源时, 大豆可以正常生长。以混合态氮为氮源植株总生物量最大, 以 NO_3^- -N为氮源次之, 以 NH_4^+ -N为氮源的处理生物量最小, 不同形态氮之间生物量差异达到显著水平。随氮素水平增加, 外源氮在植株中比例增加, 当培养基中 NH_4^+ -N与 NO_3^- -N比例为1:1时, 大豆吸收 NH_4^+ -N与 NO_3^- -N比例为1.5:1, 叶片、茎、根 NH_4^+ -N与 NO_3^- -N吸收比例分别为1.6:1、1.4:1和1.6:1, 说明硝态氮的存在能够解除铵盐毒害并促进大豆对氮素的吸收利用。

关键词:大豆; 氮素; 铵态氮; 硝态氮

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2012)06-0911-04

Study on the Role of NH_4^+ -N and NO_3^- -N on Soybean Nutrition Using Labeled ¹⁵N

DONG Shou-kun, LIU Li-jun, MA Chun-mei, SUN Cong-shu, GONG Zhen-ping, ZU Wei

(Agronomy College, Northeast Agricultural University, Northeast Area Crop Cultivation Science Observation Experiment Station of Ministry of Agriculture, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

Abstract: This paper studied the role of NH_4^+ -N and NO_3^- -N on soybean (Dongnong47) nutrition using ¹⁵N trace technique and tissue culture. The results showed that soybean appeared ammonium salt toxicity when NH_4^+ -N was used as nitrogen source under aseptic condition, soybean could grow normally when NO_3^- -N and mixed nitrogen (NO_3^- -N: NH_4^+ -N = 1:1) were used as nitrogen source. The total biomass reached maximum when mixed nitrogen were used as nitrogen source, NO_3^- -N took second place, NH_4^+ -N reached minimum. Biomass differences between the different forms of nitrogen reached a significant level. Exogenous nitrogen absorbed by soybean plants increased with nitrogen level. When the ratio of NH_4^+ -N and NO_3^- -N in culture medium was 1:1, the ratio of NH_4^+ -N and NO_3^- -N absorbed by soybean was approximately 1.5:1, and the ratios of NH_4^+ -N and NO_3^- -N absorbed by leaf, stem and root were 1.6:1, 1.4:1 and 1.6:1, respectively. Results suggest nitrate nitrogen could eliminate ammonium salt toxicity and promoted nitrogen absorption and utilization in soybean.

Key words: Soybean; Nitrogen; NH_4^+ -N; NO_3^- -N

植物能够吸收利用的氮素形态有硝态氮(NO_3^- -N)、铵态氮(NH_4^+ -N)、亚硝态氮(NO_2^- -N)、单质态氮(N_2)及一些可溶性有机含氮化合物, 如氨基酸、酰胺、核酸及其降解产物、尿素等。虽然无机态氮只占土壤全氮含量的1%~2%, 但从营养意义来讲, 植物生长过程中硝态氮与铵态氮是两种主要矿质氮源, 二者的吸收量约占植物吸收阴阳离子总量的80%^[1]。田霄红等^[2-3]以莴苣、油菜、大豆、小麦、菠菜、小白菜、大青菜为材料的试验表明: 仅以硝态氮为氮源时, 7种作物均生长良好; 当铵态氮加入量占到全氮量50% (硝态氮: 铵态氮为1:1)时, 除大豆外, 其余作物的生长均已受到一定程度的抑制, 其中莴苣最为显著, 当完全供给铵态氮时, 7种作物的生长均已受阻, 5种蔬菜的生长量(鲜重)降低幅度均在70%以上。说明不同作物对不同形态氮素的利用存在差异。

然而, 在常规条件下, 铵态氮(NH_4^+ -N)、硝态氮(NO_3^- -N)会转化为其它形态氮, 很难严格控制其形态及比例, 本试验采用¹⁵N示踪技术, 探讨了铵态氮(NH_4^+ -N)和硝态氮(NO_3^- -N)对大豆的营养作用, 以期大豆氮素营养的调控机理研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于2007年在东北农业大学进行。供试大豆(*Glycine max*)品种为东农47。

采用组培的方法, 用无色透明的1 000 mL广口试剂瓶配置MS培养基(氮素除外)^[4], 每瓶培养基中播5粒消毒的大豆种子(用70%酒精灭菌1 min, 再用0.1%的 HgCl_2 灭菌10 min, 无菌水冲洗3次), 每天光照12 h, 温度25℃, 无菌室中培养28 d。

收稿日期: 2012-07-13

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAD14B06); 大豆生物学省部共建教育部重点实验室开放基金(SB11B03)。

第一作者简介: 董守坤(1978-), 男, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为大豆栽培生理及保护性耕作。E-mail: dongshoukun@yahoo.com.cn。

通讯作者: 龚振平(1966-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为大豆栽培生理及保护性耕作。E-mail: gzpyx2004@163.com。

试验设3种氮素形态, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$:以硫酸铵为氮源; $\text{NO}_3^- - \text{N}$:以硝酸钾为氮源;混合态氮:以硫酸铵和硝酸钾为氮源($\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 比例为1:1);4个氮素水平,分别为100、200、400、600 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。另外设置氮素浓度为300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合态氮($\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 比例为1:1),将其分为两组,一组采用 K^{15}NO_3 (^{15}N 丰度为10.2%)和普通(NH_4) $_2\text{SO}_4$ 配置,另一组采用($^{15}\text{NH}_4$) $_2\text{SO}_4$ (^{15}N 丰度为10.2%)和普通 KNO_3 配置,以计算 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 的吸收比例。以不加氮源处理为对照,10次重复。

1.2 测定项目与方法

氮素含量采用凯氏定氮法^[5]测定。

^{15}N 丰度采用MAT2251型质谱仪测定^[6]:样品首先经凯氏法消化,测定液浓缩,置于高真空条件下,

用质谱仪进行测定。自然界 ^{15}N 丰度为0.336%。

铵态氮(或硝态氮)(%) = [测定样品 ^{15}N 丰度(%) - 自然界 ^{15}N 丰度(%)] / 10.2%。

植株干重的测量:将植株按照不同部位分解后于105℃下杀青30 min,65℃烘干至恒重,然后分别称量全株及各部位干重。

1.3 数据分析

数据采用SPSS 16.0软件统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同氮源对大豆生长的影响

在无菌的组培条件下,不加氮源,大豆可以利用籽粒储存的氮维持短时间生长,长出少量的叶片,根系生长较正常(图1A)。以 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 为唯一氮



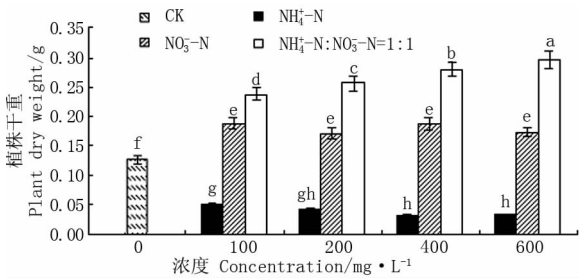
A (0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), B1($\text{NH}_4^+ - \text{N}$ = 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), B2($\text{NH}_4^+ - \text{N}$ = 200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), B3($\text{NH}_4^+ - \text{N}$ = 400 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), B4($\text{NH}_4^+ - \text{N}$ = 600 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); C1($\text{NO}_3^- - \text{N}$ = 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), C2($\text{NO}_3^- - \text{N}$ = 200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), C3($\text{NO}_3^- - \text{N}$ = 400 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), C4($\text{NO}_3^- - \text{N}$ = 600 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); D1($\text{NH}_4^+ - \text{N}$ + $\text{NO}_3^- - \text{N}$ = 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), D2($\text{NH}_4^+ - \text{N}$ + $\text{NO}_3^- - \text{N}$ = 200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), D3($\text{NH}_4^+ - \text{N}$ + $\text{NO}_3^- - \text{N}$ = 400 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), D4($\text{NH}_4^+ - \text{N}$ + $\text{NO}_3^- - \text{N}$ = 600 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)

图1 不同氮水平条件下大豆生长情况

Fig. 1 Growth status of soybean in different N condition

源时,大豆子叶刚刚展开即表现出铵盐毒害,不再继续生长,根系也逐渐停止生长,并随浓度的增加毒害加重(图 1B1 ~ B4)。以 NO₃⁻-N 为氮源时,大豆可以正常生长,叶片肥大,根系发达(图 1C1 ~ C4)。以混合态氮(NH₄⁺-N:NO₃⁻-N = 1:1)为氮源时,其生长也表现正常,根系较发达(图 1D1 ~ D4),当混合态氮中 NH₄⁺-N 浓度为 50 mg·L⁻¹ 时即能正常生长,而当混合态氮中 NH₄⁺-N 浓度达 300 mg·L⁻¹ 时生长也表现正常,根系发达,并未表现出铵盐毒害。这说明 NO₃⁻-N 可以起到解除铵盐毒害的作用,使大豆能够进行铵的同化,而没有 NO₃⁻-N 或硝化细菌时大豆不能同化 NH₄⁺-N。

从图 2 中看出,以混合态氮为氮源时,植株干重最大,NO₃⁻-N 次之,NH₄⁺-N 最小,不同形态氮之间生物量差异达到显著水平。仅以 NH₄⁺-N 为氮源时,200,400 与 600 mg·L⁻¹ 处理植株总生物量差异不显著,100 mg·L⁻¹ 处理植株干重显著高于 400 和 600 mg·L⁻¹;仅以 NO₃⁻-N 为氮源时各处理间植株干重无显著差异;以混合态氮为氮源时,随着氮素浓度的增加,植株干重显著增加,这说明混合态氮对大豆生长是有利的。



不同字母表示 5% 水平差异显著。Different letters mean significantly different at 5% level.

图 2 不同形态氮条件下植株干重

Fig. 2 Dry weight of plant under different N forms

2.2 铵态氮和硝态氮对大豆的营养的作用

在培养基中 NH₄⁺-N:NO₃⁻-N 为 1:1 并且供氮水平为 300 mg·L⁻¹ 时,分别测定植株中各部位¹⁵NH₄⁺-N 和¹⁵NO₃⁻-N 的¹⁵N 丰度(表 1),结果全株对 NH₄⁺-N 与 NO₃⁻-N 吸收比例为 1.5:1,叶片、茎和根对 NH₄⁺-N 与 NO₃⁻-N 吸收比例分别为 1.6:1、1.4:1 和 1.6:1,大豆植株对 NH₄⁺-N 的吸收大于 NO₃⁻-N。

从表 2 可以看出,当培养基中 NH₄⁺-N:NO₃⁻-N 为 1:1 时,随氮素水平增加,大豆植株中的 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 含量逐渐增大,说明混合态氮的浓度越高,植株对外源氮的利用越高。

表 1 大豆吸收 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 比例

Table 1 Ratio of NH₄⁺-N and NO₃⁻-N absorbed by soybean

部位 Part	NH ₄ ⁺ -N/%	NO ₃ ⁻ -N/%	NH ₄ ⁺ -N/NO ₃ ⁻ -N
叶 Leaf	25.2	15.4	1.64
茎 Stem	29.0	20.7	1.40
根 Root	38.7	24.5	1.58
全株 Whole plant	30.6	20.4	1.52

表 2 大豆植株中 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 比例

Table 2 Ratio of NH₄⁺-N and NO₃⁻-N absorbed by plant in different parts

部位 Part	N/mg·L ⁻¹	NH ₄ ⁺ -N/%	NO ₃ ⁻ -N/%	NH ₄ ⁺ -N + NO ₃ ⁻ -N/%
叶 Leaf	100	30.6	18.7	49.3
	200	39.3	24.0	63.3
	400	57.7	35.2	92.9
	600	57.5	35.1	92.6
茎 Stem	100	23.0	16.5	39.5
	200	34.0	24.4	58.4
	400	48.5	34.7	83.2
	600	53.6	38.3	91.9
根 Root	100	29.6	18.8	48.4
	200	45.6	28.9	74.5
	400	58.3	36.9	95.2
	600	59.9	38.0	97.9
全株 Whole plant	100	26.7	17.7	44.4
	200	38.3	25.5	63.8
	400	52.9	35.3	88.2
	600	55.6	37.9	93.5

培养基中 NH₄⁺-N:NO₃⁻-N = 1:1。In the medium NH₄⁺-N:NO₃⁻-N = 1:1.

3 讨 论

传统观点认为,植物以 NH_4^+ -N 为唯一氮源时, NH_4^+ -N 供应水平过高会导致植株的生长速率下降^[7-8]。另外,以 NH_4^+ -N 为唯一氮源时,由于缺乏 NO_3^- -N,植株对 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等阳离子的吸收减少,细胞渗透势降低,使植株生长受到抑制^[9]。本研究中,在无菌条件下,大豆以 NH_4^+ -N 为氮源表现出了铵盐毒害,而在硝态氮存在条件下,大豆却能够正常生长,说明 NO_3^- -N 可以起到解除铵盐毒害的作用,使大豆能够进行铵的同化,在没有 NO_3^- -N 或硝化细菌的存在下大豆不能同化 NH_4^+ -N。在砂培条件下,由于硝化细菌的存在, NH_4^+ -N 水平高达 $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,大豆仍能正常生长^[10],没有表现铵盐毒害,进一步说明 NO_3^- -N 对解除铵盐毒害有很强的作用。

本研究表明, NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 的共同存在更有利于大豆的生长,这与相关学者在不同作物上的研究结果^[11-14]有一定相似之处。仅以 NO_3^- -N 为氮源处理,培养基中氮浓度增加对植株干重的增加没有明显影响;以混合态氮为氮源时,随氮素水平增加,植株干重显著增大,在无菌的混合态氮条件下 NH_4^+ -N 对大豆的营养作用是 NO_3^- -N 的 1.5 倍。

参考文献

- [1] 北京农业大学主编. 农业化学(第二版)[M]. 北京:中国农业出版社,2000:256-269. (Beijing Agricultural University. Agricultural chemistry(The second edition)[M]. Beijing:China Agricultural Press,2000:256-269.)
- [2] 田霄鸿,李生秀,王朝辉. 冬小麦等4种作物对铵、硝态氮的吸收能力[J]. 西北植物学报,2000,20(1):29-37. (Tian X H, Li S X, Wang Z H. Uptake capacity of ammonium and nitrate to several crops[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica,2000,20(1):29-37.)
- [3] 田霄鸿,李生秀. 几种蔬菜对硝态氮、铵态氮的相对吸收能力[J]. 植物营养与肥料学报,2000,6(2):194-201. (Tian X H, Li S X. Uptake capacity of several vegetable crops to nitrate and ammonium[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science,2000,6(2):194-201.)
- [4] 刘文斌,方小平,许泽永. 大豆与花生愈伤组织的诱导与培养[J]. 湖北大学学报,1998,20(4):380-382. (Liu W B, Fang X P, Xu Z Y. Callus culture of soybean and peanut[J]. Journal of Hubei University,1998,20(4):380-382.)
- [5] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京:中国农业出版社,2000:25-58. (Bao S D. Agricultural analysis of soil[M]. Beijing:China Agricultural Press,2000:25-58.)
- [6] 金喜军,马春梅,龚振平,等. 大豆鼓粒期对肥料氮的吸收与分配研究[J]. 植物营养与肥料学报,2010,16(2):395-399. (Jin X J, Ma C M, Gong G P, et al. Study on fertilizer-N absorption and distribution of soybean(*Glycine max* L.) during the seed-filling period[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science,2010,16(2):395-399.)
- [7] 肖凯,张树华,邹定辉,等. 不同形态氮素营养对小麦光合特性的影响[J]. 作物学报,2000,26(1):53-59. (Xiao K, Zhang S H, Zou D H, et al. The effects of different nitrogen nutrition forms on photosynthetic characteristics in wheat leaves[J]. Acta Agronomica Sinica,2000,26(1):53-59.)
- [8] Marschner H. 著,李春俭等译. 高等植物的矿质营养[M]. 北京:中国农业大学出版社,2001:159-177. (Marschner H. compilation, Li C J, et al. translated. Mineral nutrition of higher plants [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2001: 159-177.)
- [9] 门中华. 冬小麦硝态氮利用的生理特征及其影响因素[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2004. (Men Z H. Physiological characteristics and influence factor of nitrate-N use of winter wheat[D]. Yangling:Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry,2004.)
- [10] 董守坤,龚振平,祖伟. 氮素营养水平对大豆氮素积累及产量的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2010,16(1):65-70. (Dong S K, Gong Z P, Zu W. Effect of nitrogen nutrition level on N-accumulation and yields of soybean[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science,2010,16(1):65-70.)
- [11] 杨肖娥,孙羲. 生育后期施用 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 对水稻的生理效应[J]. 土壤通报,1990,21(3):110-114. (Yang X E, Sun X. Physiological effect of applying NO_3^- -N and NH_4^+ -N on rice in later developmental stage[J]. Chinese Journal of Soil Science,1990,21(3):110-114.)
- [12] 何文寿,李生秀,李辉桃. 六种作物不同生育期吸收铵、硝态氮的特性[J]. 作物学报,1999,25(2):221-227. (He W S, Li S X, Li H T. Characteristics of absorbing ammonium and nitrate nitrogen of six crops at different growth stages[J]. Acta Agronomica Sinica,1999,25(2):221-227.)
- [13] 田霄鸿,李生秀,王朝辉,等. 莴笋对不同形态氮素的反应[J]. 应用生态学报,2003,14(3):377-381. (Tian X H, Li S X, Wang C H, et al. Response of lettuce to different nitrogen forms[J]. Chinese Journal of Applied Ecology,2003,14(3):377-381.)
- [14] 宋海星,申斯乐,闫石,等. 硝态氮与氨态氮对大豆幼苗生长及氮素积累的影响[J]. 大豆科学,1997,16(2):178-180. (Song H X, Shen S L, Yan S, et al. Effect of NO_3^- -N and NH_4^+ -N on soybean seedling and nitrogen accumulation[J]. Soybean Science,1997,16(2):178-180.)