

不同氮源对苦草 (*Vallisneria natans*) 生长及生理指标的影响

朱增银, 陈 灿, 贾海霞, 卫 立, 尹大强^①

(污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京大学环境学院, 江苏 南京 210093)

摘要: 通过实验室静态模拟, 研究了在富营养条件下 ($4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ TN}$, $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ TP}$) 不同比例铵态氮和硝态氮 (6:0, 5:1, 3:3, 1:5 和 0:6) 对苦草 [*Vallisneria natans* (Lour.) Hara] 的生长与生理指标的影响。结果表明, 随着铵态氮和硝态氮比例的下降, 苦草相对生长率和蛋白质含量先升高后下降, 超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷氨酰胺合成酶 (GS) 活性逐渐下降, 硝酸还原酶 (NR) 活性逐渐升高。在 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ TN}$ 和 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ TP}$ 条件下, 若不考虑磷的作用, 高浓度铵态氮对苦草的生理功能有影响, 对其生长有明显的抑制作用; 而当铵态氮浓度小于 $0.67 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时却可以促进苦草的生长。

关键词: 苦草; 富营养化; 铵态氮; 硝态氮; 生理作用

中图分类号: Q945.78; Q948.116 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2006)04-0048-04

Effects of different nitrogen forms on growth and physiological indexes of *Vallisneria natans* ZHU Zeng-yin, CHEN Can, JIA Hai-xia, WEI Li, YIN Da-qiang^① (State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2006, 15(4): 48-51

Abstract: The effects of different ratios of $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ to $\text{NO}_3^- \text{-N}$ (6:0, 5:1, 3:3, 1:5 and 0:6) on growth and physiological indexes of *Vallisneria natans* (Lour.) Hara and the mechanism were investigated under eutrophic nutrient condition ($4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ TN}$ and $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ TP}$) by the static laboratory experiment. The results showed that relative growth rate and protein content first increased significantly then decreased, the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutamine synthetase (GS) decreased gradually, the activity of nitrate reductase (NR) increased gradually with decrease of ratio of $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ to $\text{NO}_3^- \text{-N}$ in culture medium. The results indicated that when concentrations of TN and TP were set, the increase of $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ concentration in water could exert a stress influence on normal growth of *V. natans*. When the concentration of $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ was lower than $0.67 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the growth of *V. natans* was promoted.

Key words: *Vallisneria natans* (Lour.) Hara; eutrophic; $\text{NH}_4^+ \text{-N}$; $\text{NO}_3^- \text{-N}$; physiological effect

氮是造成湖泊水体富营养化的主要营养物质, 是大型植物初级生产的限制因子之一^[1]。最新研究表明, 氮在浅水湖泊沉水植物退化中起重要作用^[2]。铵态氮 ($\text{NH}_4^+ \text{-N}$) 与硝态氮 ($\text{NO}_3^- \text{-N}$) 是富营养化水体中的 2 种重要氮形态^[3], 它们都是植物可吸收利用的氮素形态, 但植物对二者的吸收、运输、储藏和同化存在很大差异, 且它们能影响植物的正常生理过程和生长发育^[4]。这 2 种氮形态对植物生长的影响程度不仅取决于植物种类, 而且还与二者的浓度及比例有关^[4], 水体中铵态氮过量对沉水植物具有毒害作用^[5]。有研究表明, 在富营养化严

重、沉水植物绝迹的太湖五里湖区, 铵态氮与硝态氮的比例为 3.2:1, 而在有水生植物生长的东太湖区则为 1:13^[6]。因此, 研究不同比例铵态氮与硝态氮对沉水植物生长的影响及其生理机制, 对认识水生植被的退化机理及指导富营养化湖泊沉水植被的恢复重建都具有重要意义。

收稿日期: 2006-04-11

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目 (2002CB412307) 和江苏省自然科学基金资助项目 (BK2005082)

作者简介: 朱增银 (1981-), 男, 江苏东台人, 硕士, 主要从事环境生物学研究。

^① 通讯作者 E-mail: yindq@nju.edu.cn

为此,作者在实验室模拟条件下,定量分析了在富营养($4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TN 和 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TP)水体中,不同比例铵态氮与硝态氮供应条件下苦草 [*Vallisneria natans* (Lour.) Hara] 的相对增长率、蛋白质含量及超氧化物歧化酶(SOD)、谷氨酰胺合成酶(GS)和硝酸还原酶(NR)活性的变化,为阐明富营养化水体中不同比例铵态氮与硝态氮对苦草的生长和生理作用及解释富营养化湖泊中沉水植物退化的机理和沉水植被的恢复重建提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

将2005年4月从太湖采集到的苦草 [*Vallisneria natans* (Lour.) Hara] 块茎在实验室中进行育苗培养,所得苦草植株用于实验。

培养液采用改进的 Hoagland's 1/10 稀释液,培养液中添加 $88.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 、 $13.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ K_2SO_4 及 $123.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{Mg}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 使培养液中 Ca^{2+} 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 SO_4^{2-} 和 Cl^- 的浓度分别达 32.0 、 6.0 、 12.0 、 63.0 和 $46.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 培养液中 TN 和 TP 浓度参照湖泊富营养化标准设定, TN 浓度为 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 用 NH_4Cl 和 NaNO_3 分别配制,使用时按比例添加; TP 浓度为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 用 KH_2PO_4 配制。培养液用新鲜的自来水配制。

1.2 方法

1.2.1 处理方法 2005年5月,将由苦草块茎培养的大小相等(株高 $22 \pm 2 \text{ cm}$) 且生长良好的苦草苗移栽到杯底铺有 $3 \sim 4 \text{ cm}$ 细沙的 5 L 烧杯中,分组培养(培养液 4 L), 每杯移栽苦草 $8 \sim 10$ 株,保持每杯植物质量相等($7 \pm 0.2 \text{ g}$)。设置营养液中 TN 浓度一致($4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 用 NH_4Cl 和 NaNO_3 配成铵态氮与硝态氮的比例分别为 $6:0$ 、 $5:1$ 、 $3:3$ 、 $1:5$ 和 $0:6$ 的5个处理组,以 C1、C2、C3、C4 和 C5 表示,并设置1个无氮对照组(CK), 每组设3个平行。

将各处理组的苦草在室温下放置于植物灯(60 W , 6组)下,每天光照 12 h , 光照强度 8000 lx 。每隔 7 d 换1次培养液(维持培养液中各成分浓度稳定和防止藻类繁生), 实验第28天时随机取等量叶片 1 g 用于测定各项生理生化指标。

1.2.2 分析方法 蛋白质含量测定采用考马斯亮

蓝法^[7]; 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用邻苯三酚自氧化法^[8]; 谷氨酰胺合成酶(GS)活性采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒进行分析; 硝酸还原酶(NR)活性测定采用离子法^[7]; 相对增长率(R) = $(W_{28} - W_0) / W_0$, 其中, W_{28} 为实验结束(28 d)后生物量总量(鲜重), W_0 为实验前生物量总量(鲜重)。

1.2.3 数据处理 实验数据采用 EXCEL 软件进行统计处理, 组间比较采用 t 检验。

2 结果和分析

2.1 不同比例铵态氮与硝态氮对苦草相对增长率的影响

培养28 d后, 铵态氮和硝态氮比例不同的培养液对苦草相对增长率的影响见表1。

表1 在不同比例铵态氮和硝态氮培养液中苦草的相对增长率¹⁾
Table 1 Relative growth rate of *Vallisneria natans* (Lour.) Hara in culture solutions with different ratios of $\text{NH}_4^+ \cdot \text{N}$ to $\text{NO}_3^- \cdot \text{N}$ ¹⁾

处理组 Group	$\text{NH}_4^+ \cdot \text{N} : \text{NO}_3^- \cdot \text{N}$	相对增长率 Relative growth rate
CK	-	0.76 ± 0.02
C1	6:0	0.08 ± 0.02 **
C2	5:1	0.20 ± 0.03 **
C3	3:3	0.76 ± 0.06
C4	1:5	0.99 ± 0.05 *
C5	0:6	0.91 ± 0.12 *

¹⁾ *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

由表1可以看出,在铵态氮和硝态氮比例分别为 $6:0$ 和 $5:1$ 的 C1 和 C2 处理组中,苦草的相对增长率明显低于对照及其他处理组($P < 0.01$), 仅为对照组的 11.03% 和 26.09% ; 随硝态氮所占比例的增大,苦草的相对增长率增加,铵态氮和硝态氮比例分别为 $1:5$ 和 $0:6$ 的 C4 和 C5 处理组的苦草相对增长率显著高于对照和其他处理组($P < 0.05$)。结果表明,不同氮源对苦草的生长有影响,其中高浓度铵态氮抑制苦草生长。

2.2 不同比例铵态氮与硝态氮对苦草蛋白质含量的影响

培养28 d后, 铵态氮与硝态氮比例不同的培养液对苦草蛋白质含量的影响见表2。各处理组蛋白质含量均大于对照组,且随铵态氮和硝态氮比例的下降,苦草的蛋白质含量呈先上升后下降的趋势,除

C5 处理组外,其他处理组的蛋白质含量显著高于对照组 ($P < 0.05$),且以铵态氮和硝态氮比例相等 (3:3) 的 C3 处理组最高,蛋白质含量达 $29.22 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$,是对照组的 1.90 倍。

表2 在铵态氮和硝态氮比例不同的培养液中苦草蛋白质含量的变化¹⁾

Table 2 Change of protein content of *Vallisneria natans* (Lour.) Hara in culture solutions with different ratios of $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ to $\text{NO}_3^- \text{-N}$ ¹⁾

处理组 Group	$\text{NH}_4^+ \text{-N} : \text{NO}_3^- \text{-N}$	蛋白质含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ Protein content
CK	-	15.39 ± 2.88
C1	6:0	22.93 ± 3.90 *
C2	5:1	23.50 ± 4.14 *
C3	3:3	29.22 ± 3.77 **
C4	1:5	19.17 ± 4.34 *
C5	0:6	17.05 ± 2.93

¹⁾ *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

2.3 不同比例铵态氮与硝态氮对苦草超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

在铵态氮与硝态氮比例不同的培养液中,除 C5 处理组外,其他各处理组苦草的 SOD 活性均显著高于对照组 ($P < 0.05$) (表 3),其中铵态氮与硝态氮比例为 6:0 的 C1 处理组的 SOD 活性最高,达 $108.83 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$,是对照组的 1.55 倍。随着铵态氮与硝态氮比例的下降,苦草 SOD 活性呈逐渐下降趋势。表 3 结果表明,当总氮浓度一定时,高浓度铵态氮使苦草的 SOD 活性升高;当铵态氮浓度大于 $0.67 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,苦草的生长受到明显的抑制。

表3 在铵态氮和硝态氮比例不同的培养液中苦草超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化¹⁾

Table 3 Change of superoxide dismutase (SOD) activity of *Vallisneria natans* (Lour.) Hara in culture solutions with different ratios of $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ to $\text{NO}_3^- \text{-N}$ ¹⁾

处理组 Group	$\text{NH}_4^+ \text{-N} : \text{NO}_3^- \text{-N}$	SOD 活性/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ SOD activity
CK	-	70.10 ± 8.40
C1	6:0	108.83 ± 20.88 **
C2	5:1	99.49 ± 10.21 **
C3	3:3	89.74 ± 7.65 *
C4	1:5	82.76 ± 9.12 *
C5	0:6	78.03 ± 8.34

¹⁾ *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

2.4 不同比例铵态氮与硝态氮对苦草谷氨酰胺合成酶(GS)活性的影响

在铵态氮与硝态氮比例不同的培养液中,苦草

各处理组的 GS 活性均高于对照组,并且随着铵态氮与硝态氮比例的下降呈现逐渐降低的趋势,其中比例为 6:0 的 C1 处理组 GS 活性显著高于其他处理组以及对照组 ($P < 0.01$);虽然 C5 处理组苦草的 GS 活性高于对照组,但是差异不显著 ($P > 0.05$)。结果表明,不同氮源对苦草的 GS 活性有影响,高浓度铵态氮可诱导苦草 GS 活性升高;铵态氮和硝态氮比例小于 1:5,即铵态氮的浓度小于 $0.67 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,对苦草 GS 活性影响不明显。

表4 在铵态氮和硝态氮比例不同的培养液中苦草谷氨酰胺合成酶(GS)活性变化¹⁾

Table 4 Change of glutamine synthetase (GS) activity of *Vallisneria natans* (Lour.) Hara in culture solutions with different ratios of $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ to $\text{NO}_3^- \text{-N}$ ¹⁾

处理组 Group	$\text{NH}_4^+ \text{-N} : \text{NO}_3^- \text{-N}$	GS 活性/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ GS activity
CK	-	14.92 ± 2.07
C1	6:0	24.73 ± 3.91 **
C2	5:1	21.48 ± 3.93 *
C3	3:3	19.68 ± 1.62 *
C4	1:5	17.45 ± 2.43 *
C5	0:6	15.53 ± 0.98

¹⁾ *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

2.5 不同比例铵态氮与硝态氮对苦草硝酸还原酶(NR)活性的影响

在铵态氮和硝态氮比例不同的培养液中,各处理组苦草的 NR 活性均高于对照组,并且随着铵态氮和硝态氮比例的下降呈现逐渐上升的趋势,其中铵态氮和硝态氮比例为 0:6 的 C5 处理组苦草的 NR 活性达 $2.74 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$,是对照组的 1.65 倍;C1 处理组苦草的 NR 活性虽然高于对照组,但差异不显著 ($P > 0.05$);而 C2、C3 和 C4 处理组苦草的 NR 活性均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。研究结果表

表5 在铵态氮和硝态氮比例不同的培养液中苦草硝酸还原酶(NR)活性的变化¹⁾

Table 5 Change of nitrate reductase (NR) activity of *Vallisneria natans* (Lour.) Hara in culture solutions with different ratios of $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ to $\text{NO}_3^- \text{-N}$ ¹⁾

处理组 Group	$\text{NH}_4^+ \text{-N} : \text{NO}_3^- \text{-N}$	NR 活性/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ NR activity
CK	-	1.66 ± 0.06
C1	6:0	1.85 ± 0.09
C2	5:1	1.96 ± 0.16 *
C3	3:3	2.06 ± 0.20 *
C4	1:5	2.12 ± 0.14 *
C5	0:6	2.74 ± 0.26 **

¹⁾ *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

明,不同氮源对苦草 NR 活性有影响,较高浓度硝态氮能诱导苦草 NR 活性升高。

3 讨 论

不同形态的氮素对沉水植物的生理活动有很大的影响^[2]。铵态氮和硝态氮不仅影响沉水植物的生理活动和生长,而且也影响对沉水植物营养成分的吸收^[9-11]。王珺等发现,高浓度铵态氮能抑制轮叶黑藻(*Hydrilla verticillata*)生长^[5]。在高浓度铵态氮条件下,苦草相对生长率明显下降,这说明水体中高浓度的铵态氮对苦草产生氨害,对其生长有明显的抑制作用。植物吸收过多的铵态氮将产生氨害作用,在高浓度的铵态氮环境中,苦草表现出相对较高的 GS 和 SOD 活性;NR 活性则随着硝态氮浓度的增加而升高,表明在高浓度铵态氮条件下苦草体内含有一定的游离氨,氮代谢较多地停留在酰胺阶段,不能进一步合成蛋白质;硝态氮含量的增加则促进了苦草对硝酸盐的吸收利用,底物的增加使 NR 活性上升。

研究表明,在总氮总磷浓度恒定的条件下($4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TN 和 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TP),不考虑磷的作用,不同氮源对苦草的生理和生长具有明显影响。高浓度铵态氮对苦草产生明显胁迫作用,影响其生理功能,抑制其生长。增加硝态氮浓度并控制铵态氮的浓度小于 $0.67 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,则可以促进苦草生长。

水体中的铵态氮浓度受到多种环境因素的影响,其中水体 pH 值对铵态氮浓度的影响最大,因

此,在不同 pH 值条件下不同氮源对沉水植物的生长和生理作用还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 吴振斌,邱东茹,贺 锋,等. 沉水植物重建对富营养水体氮磷营养水平的影响[J]. 应用生态学报, 2003, 14(8): 1351 - 1353.
- [2] Maria G S, Erik J, Joan G, et al. Does high nitrogen loading prevent clear-water conditions in shallow lakes at moderately high phosphorus concentrations? [J]. Freshwater Biology, 2005, 50: 27 - 41.
- [3] 金相灿,刘鸿亮. 中国湖泊富营养化[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990. 31 - 32.
- [4] 樊明寿,孙亚卿,邵金旺,等. 不同形态氮素对燕麦营养生长和磷素利用的影响[J]. 作物学报, 2005, 31(1): 114 - 118.
- [5] 王 珺,顾宇飞,纪东城,等. 富营养条件下不同比例氮形态对轮叶黑藻(*Hydrilla verticillata*)的生理影响[J]. 环境科学研究, 2006, 19(1): 71 - 74.
- [6] 中国科学院南京地理与湖泊研究所. 太湖湖泊生态系统研究所 1999 年年报[R]. 南京: 中国科学院南京地理与湖泊研究所, 2000.
- [7] 中国科学院上海植物生理研究所,上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999. 127.
- [8] 王 珺,顾宇飞,朱增银,等. 不同营养状态下金鱼藻的生理反应[J]. 应用生态学报, 2005, 16(2): 337 - 340.
- [9] Majerowicz N, Kerbauy G B, Nievola C C, et al. Growth and nitrogen metabolism of *Catasetum fimbriatum* (Orchidaceae) grown with different nitrogen sources [J]. Environmental and Experimental Botany, 2000, 44: 195 - 206.
- [10] Cedergreen N, Madsen T V. Nitrate reductase activity in roots and shoots of aquatic macrophytes[J]. Aquatic Botany, 2003, 76: 203 - 212.
- [11] Vermeer C P, Escher M, Portielje R, et al. Nitrogen uptake and translocation by *Chara*[J]. Aquatic Botany, 2003, 76: 245 - 258.