

### 3 种沉水植物碳氮代谢对水体氮源形态组成的响应

章伟,王和云,赵以军

(湖北工业大学资源与环境工程学院, 河湖生态修复及藻类利用湖北省重点实验室, 武汉 430068)

**摘要:**以沉水植物穗花狐尾藻(*Myriophyllum spicatum* L.)、伊乐藻(*Elodea canadensis* Michx)和金鱼藻(*Ceratophyllum demersum* L.)为试验对象,研究水体中不同硝态氮( $\text{NO}_3^-$ -N)和铵态氮( $\text{NH}_4^+$ -N)浓度比对植物碳氮(C-N)代谢的影响。2015年春季栽培3种沉水植物;7月,截取长约10 cm的植物顶端于1 L的玻璃烧杯预培养,光暗比为14 L:10 D,温度控制为光周期25℃,暗周期15℃,光照强度为110  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,预培养7 d后截取植物顶端1 g左右转入250 mL的锥形瓶,设计培养液总氮浓度为2 mg/L,按照 $\text{NH}_4^+$ -N与 $\text{NO}_3^-$ -N的浓度比设置2:1、1:1、1:2、2:0、0:2共计5个处理,以预培养液为对照,每个处理设置3个重复。结果表明:(1)与对照相比,氮氮添加显著提高了3种植物组织内游离氨基酸(FAA)的含量,且在氮氮浓度2 mg/L时FAA达最大;(2)植物体内可溶性糖含量(SC)存在显著的种间差异,二元方差分析显示处理间SC的差异,种间差异的贡献值为69%;(3)硝态氮完全替代铵态氮时,3种植物组织中的SC/FAA显著升高,二元方差分析显示处理间SC/FAA的差异主要源于氮源形态组成(56%);(4)伊乐藻体内FAA和SC含量均大于穗花狐尾藻和金鱼藻。这可能是它在富营养水体中更有优势的重要原因之一。

**关键词:**沉水植物;氮氮/硝氮;碳氮代谢;富营养化

**中图分类号:**Q178 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2017)02-0051-06

水体富营养化过程中营养盐形态、含量及比例发生改变,如在贫营养湖泊中无机氮主要以硝酸盐氮( $\text{NO}_3^-$ -N)为主,而在富营养湖泊中无机氮主要以氨氮( $\text{NH}_4^+$ -N)为主(王圣瑞和焦立新,2008;陈国元,2009)。随着水体富营养化的加剧,浅水湖泊的沉水植物优势种从喜好贫营养的轮藻(*Charophyte*)演替为喜好中富营养的植物种类,如伊乐藻(*Elodea canadensis* Michx)和穗花狐尾藻(*Myriophyllum spicatum* L.)(Blindow, 1992;邱东如和吴振斌,1997)。营养盐是影响沉水植物群落格局的关键因子之一(Chambers, 1987),水体中的磷酸盐和氨氮浓度会影响水生植物的群落组成(Carbiener et al, 1990);而硝酸盐浓度过高时会导致竞争型的漂浮植物大量生长并降低生物的多样性(Barker et al, 2008)。这是因为水生植物对不同形态氮的吸收具有种间特异性( $\text{NH}_4^+$ -N或者 $\text{NO}_3^-$ -N)(Schuurkes et al, 1986)。贫营养湖泊中水生植物主要通过根系优先吸收

$\text{NO}_3^-$ (Robe & Griffiths, 1994);而富营养湖泊中水生植物主要通过嫩枝优先吸收 $\text{NH}_4^+$ (Nichols & Keeney, 1976)。如穗花狐尾藻和大叶藻(*Zostera marina*)通过其根茎和嫩枝吸收水中的 $\text{NH}_4^+$ 和 $\text{NO}_3^-$ (Nichols & Keeney, 1976)。

环境养分浓度变化会对水生植物碳氮(C-N)代谢产生影响。富营养化水体中, $\text{NH}_4^+$ -N升高对水生植物C-N代谢产生胁迫。为了缓解 $\text{NH}_4^+$ 在植物体内的毒性,大部分植物会通过将 $\text{NH}_4^+$ 转换成游离氨基酸(FAA)和有机胺类来减少其在植物体内的积累或者将其转移出植物细胞(Zhang et al, 2010)。可溶性糖(SC)是连接光合作用,呼吸作用和碳水化合物储备的重要中间代谢产物,也是植物氮同化所需的底物,因此SC/FAA的变化能够反映氮氮胁迫对植物体内碳氮代谢的影响(Zhang et al, 2011)。比较而言,水体氮源形态如 $\text{NO}_3^-$ -N与 $\text{NH}_4^+$ -N浓度比对沉水植物碳氮(C-N)代谢的影响研究很少。

本研究拟在富营养条件下,以金鱼藻(*Ceratophyllum demersum* L.)和穗花狐尾藻、伊乐藻为研究对象,研究不同 $\text{NH}_4^+$ -N与 $\text{NO}_3^-$ -N浓度比条件下,3种沉水植物的生长以及FAA、SC含量的差异,探讨无机氮添加和不同 $\text{NH}_4^+$ -N和 $\text{NO}_3^-$ -N浓度配比对植物体内C-N代谢的影响。

收稿日期:2016-03-22

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31000161;31670367);湖北工业大学博士启动基金(337223)。

作者简介:章伟,1990年生,男,硕士研究生,研究方向为水生植物学。E-mail:350100909@qq.com

通信作者:王和云。E-mail:heyunwang2006@163.com

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料与预培养

2015年春,将取自武汉内沙湖的穗花狐尾藻、伊乐藻和武汉东湖的金鱼藻栽培在光照良好的水泥池里,自来水培养。2015年7月截取若干长势良好,长约10 cm的植物顶端洗净,分开放置于1 L的玻璃烧杯。同时取水泥池的水样用玻璃纤维膜(上海兴亚孔径0.45  $\mu\text{m}$ )过滤后加入装有水生植物的烧杯中进行预培养。烧杯置于光照培养箱中,光暗比为14 L:10 D,温度控制为光周期25 $^{\circ}\text{C}$ ,暗周期15 $^{\circ}\text{C}$ ,光照强度为110  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,预培养7 d。

### 1.2 实验设计

预培养7 d后,截取植物顶端1 g左右转入250 mL的锥形瓶,依据国家环保总局发布的标准(2002)设计培养液总氮浓度在V类标准2 mg/L,按照 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的浓度比设置5个处理,以预培养液为对照组A,每个处理设置3个重复(表1)。培养液中不同的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度比通过添加 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 和 $\text{KNO}_3$ 获得。

表1 实验水体氨氮浓度和硝氮浓度分组设计

Tab.1 Concentrations of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  and  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  in each experimental treatment

实验 编组	氨氮:硝氮	$\text{NH}_4^+\text{-N}/$ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{NO}_3^-\text{-N}/$ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
A	对照	0.05 $\pm$ 0.02	0.08 $\pm$ 0.03
B	2:1	1.35 $\pm$ 0.05	0.63 $\pm$ 0.06
C	1:1	1.14 $\pm$ 0.11	0.99 $\pm$ 0.09
D	1:2	0.67 $\pm$ 0.05	1.32 $\pm$ 0.08
E	2:0	2.11 $\pm$ 0.06	0.06 $\pm$ 0.02
F	0:2	0.07 $\pm$ 0.03	1.98 $\pm$ 0.03

实验在光照培养箱中进行,培养的光照和温度条件与预培养时一致。实验中所用容器为250 mL,装液量为200 mL。实验每隔1 d,在每个光周期开始时换水,以保证水体中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的浓度比,并检测其水中含量。

### 1.3 实验测量

实验结束,将植物取出用自来水清洗干净并称量,然后放入-20 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中冷冻保存。水柱中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 每隔1 d检测1次。纳氏试剂法测定 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ,紫外分光光度法测定 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (魏复盛,2002)。蒽酮法和茚三酮法分别测定游离氨基酸(FAA)和可溶性糖(SC)(Yemm & Willis, 1954; Yemm & Cocking, 1955)。水生植物的相对生长速率(RGR)计算公式如下:

$$\text{RGR} = (\ln W_t - \ln W_i) / T$$

式中: $T$  - 实验所用时间, $W_t$  - 实验后植物鲜重, $W_i$  - 实验前植物鲜重。

### 1.4 数据分析

采用SPSS19.0软件对所有数据进行统计分析,不同处理对FAA、SC、SC/FAA和RGR的影响通过单因素方差分析,为了区分种和氮处理对处理间植物指标的影响,以种和氮处理为因子进行二元方差分析,分别计算种、氮源形态及其交互作用对处理间差异的贡献比。

## 2 结果与分析

### 2.1 植物FAA和SC变化的种间差异

对穗花狐尾藻和金鱼藻而言,与对照相比,氨氮添加组(B, C, D, E)均显著提高了植物组织中的游离氨基酸(FAA)含量;而对伊乐藻而言,所有形态的氮源添加组(B, C, D, E, F)中植物组织中的FAA均显著增加(图1)。3种植物均在氨氮浓度2 mg/L时(E组)植物组织内FAA出现最大值;而在硝氮浓度2 mg/L(F组)FAA最小(图1)。二元方差分析显示,氮源形态组成设计对处理间FAA差异的贡献最大(41%)(表2)。

3种植物体内FAA和SC含量由高到低分别为:伊乐藻>穗花狐尾藻>金鱼藻。图2显示,氮源组成对植物体内可溶性糖(SC)也有显著性影响,金鱼藻体内SC含量绝对值小于穗花狐尾藻和伊乐藻。二元方差分析显示,植物的种间差异是影响处理间SC差异的最大贡献者(69%)(表2)。

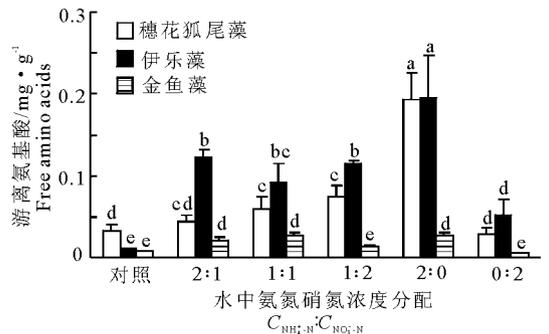


图1 沉水植物在不同 $C_{\text{NH}_4^+\text{-N}} : C_{\text{NO}_3^-\text{-N}}$ 条件下的游离氨基酸浓度

不同的小写字母代表处理间有显著性差异( $P < 0.05$ )

Fig.1 Free amino acid (FAA) content of three submerged plants grown under different

$C_{\text{NH}_4^+\text{-N}} : C_{\text{NO}_3^-\text{-N}}$  ratios

Different lower-letters indicated significant differences

( $P < 0.05$ ) between treatments.

对伊乐藻而言,所有的氮源添加组(B,C,D,E,F)均显著降低了植物组织中的可溶性糖与游离氨基酸比值(SC/FAA)(图3)。而对穗花狐尾藻和金鱼藻而言,则是所有的氮源添加组(B,C,D,E)降低其SC/FAA;即与对照相比,3种植物的SC/FAA值在添加氮源时显著降低,且3种植物均在氮源浓度最高(2 mg/L)时SC/FAA出现最小值。 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 完全替代 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 时,3种植物组织中的SC/FAA显著升高,二元方差分析显示,处理间SC/FAA的差异主要源于氮源形态组成(56%)(表2)。

表 2 种类和氮源形态设计对 4 个指标的差异贡献百分比

Tab. 2 Contribution of interspecific differences and the design of nitrogen source to the differences in the relative growth rate (RGR), free amino acid (FAA) content, soluble carbohydrate (SC) content and SC/FAA ratio observed among treatments

指标	平方和百分比/%			误差
	氮源形态设计	种类	种类×氮源形态设计	
RGR	12*	53***	12*	23
FAA	41***	32**	19***	8
SC	4	69***	24**	10
SC/FAA	56***	9*	30*	5

注:(1)氮源形态设计表示氨氮和硝氮的不同配比对指标差异的贡献比;(2)种类表示3种沉水植物穗花狐尾藻、伊乐藻、金鱼藻种间差异对指标差异的贡献比;(3)贡献比(平方和百分比)基于方差分析得出;(4)表中\*代表 $P < 0.05$ ,\*\*代表 $P < 0.01$ ,\*\*\*代表 $P < 0.001$ 。

Note: (1) Treatments used different  $C_{\text{NH}_4^+ \text{-N}} : C_{\text{NO}_3^- \text{-N}}$  ratios as indicated in Tab. 1; (2) Percentage of difference observed among treatments attributed to interspecific variance among three plants; Myriophyllum spicatum, Eelodea canadensis and Ceratophyllum demersum; (3) Percentage of explained variance based on two-way ANOVA; (4) Statistical significance is indicated by asterisk (s): \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .

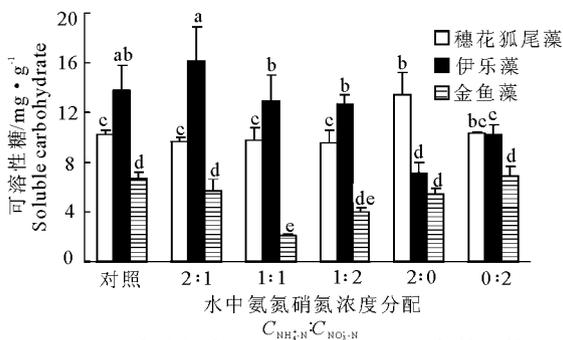


图 2 沉水植物在不同  $C_{\text{NH}_4^+ \text{-N}} : C_{\text{NO}_3^- \text{-N}}$  条件下的可溶性总糖浓度

不同的小写字母代表处理间有显著性差异( $P < 0.05$ )

Fig. 2 Soluble carbohydrate (SC) content of three submerged plants grown under different  $C_{\text{NH}_4^+ \text{-N}} : C_{\text{NO}_3^- \text{-N}}$  ratios

Different lower-letters indicated significant differences

( $P < 0.05$ ) between treatments.

## 2.2 植物的相对生长速率

对穗花狐尾藻而言,除了最高氨氮浓度(2 mg/L)之外,所有的无机氮添加均显著提高了其相对生长速率(RGR)。无机氮添加没有显著增加伊乐藻的RGR,但高氨氮处理(2 mg/L)显著降低了其RGR。金鱼藻的RGR在 $C_{\text{NH}_4^+ \text{-N}} : C_{\text{NO}_3^- \text{-N}} = 1 : 2$ 时最小,其相对生长速率小于另外2种植物(图4)。3种植物相对生长速率由高到低排序为:伊乐藻 > 穗花狐尾藻 > 金鱼藻。二元方差分析显示,种间差异的贡献百分比为53%(表2)。

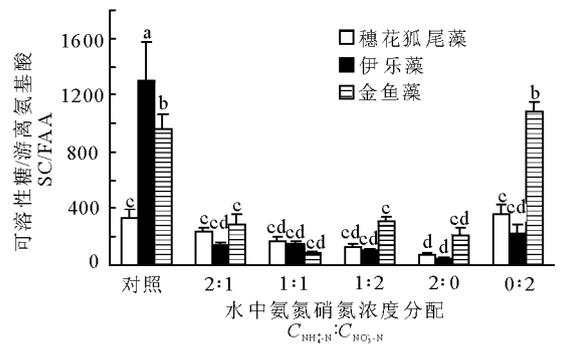


图 3 沉水植物在不同  $C_{\text{NH}_4^+ \text{-N}} : C_{\text{NO}_3^- \text{-N}}$  条件下的可溶性总糖和游离氨基酸浓度比值

不同的小写字母代表处理间有显著性差异( $P < 0.05$ )。

Fig. 3 FAA/SC ratio of three submerged plants grown under different  $C_{\text{NH}_4^+ \text{-N}} : C_{\text{NO}_3^- \text{-N}}$  ratios

Different lower-letters indicated significant differences ( $P < 0.05$ ) between treatments.

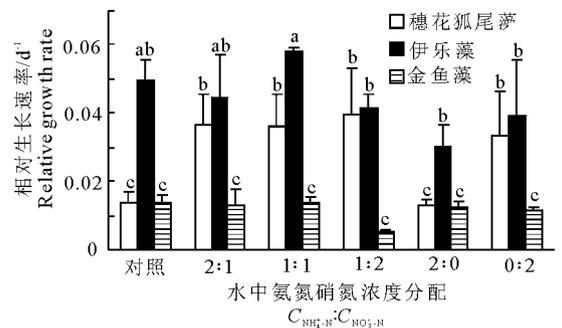


图 4 沉水植物在不同  $C_{\text{NH}_4^+ \text{-N}} : C_{\text{NO}_3^- \text{-N}}$  条件下的相对生长速率

不同的小写字母代表处理间有显著性差异( $P < 0.05$ )

Fig. 4 Relative growth rate (RGR) of three submerged plants grown under different  $C_{\text{NH}_4^+ \text{-N}} : C_{\text{NO}_3^- \text{-N}}$  ratios

Different lower-letters indicated significant differences

( $P < 0.05$ ) between treatments.

## 3 讨论

### 3.1 沉水植物对水体氨氮升高的响应

富营养水体背景下,植物在生长过程中更倾向

于利用  $\text{NH}_4^+$  作为氮源 (Smolders et al, 2002; James et al, 2004; Jampeetong & Brix, 2009); 当水体中  $\text{NH}_4^+$  浓度超过一定水平后, 植物的生长将受到抑制 (Clarke & Baldwin, 2002)。本研究中, 与对照相比,  $\text{NH}_4^+$ -N 添加显著提高了 3 种植物伊乐藻、穗花狐尾和藻金鱼藻组织内游离氨基酸 (FAA) 的含量, 且在  $\text{NH}_4^+$ -N 浓度 2 mg/L 时 FAA 达最大 (图 1, 图 3), 表明 3 种植物均能通过体内生成 FAA 来缓解外源性氮氮胁迫。菹草 (*Potamogeton crispus*) 在  $\text{NH}_4^+$ -N 的浓度为 1 mg/L 的培养液中培养 5 d 后, 发现菹草体内 FAA 含量有明显上升, 而 SC 含量相对减少 (Cao et al, 2009); 同时菹草在低光照和 0.32 mg/L  $\text{NH}_4^+$ -N 胁迫的条件下处理 10 d, 其体内 FAA 含量会升高并且 SC 含量会降低, 菹草体内 SC/FAA 比值也会降低 (Zhang et al, 2010)。Cao (2011) 研究发现, 金鱼藻、苦草 (*Vallisneria spiralis*) 和狐尾藻在  $\text{NH}_4^+$ -N 浓度在 0.25 mg/L 的条件下也有相同的响应。太湖中 5 种水生植物在  $\text{NH}_4^+$ -N 浓度较高的月份, 其体内 FAA 含量和 SC 含量也有相同的响应 (Zhang et al, 2011)。沉水植物通常以消耗体内 SC 为代价, 合成 FAA 以响应高氮氮胁迫。SC 是连接光合作用、呼吸作用和碳水化合物储备的重要中间代谢产物, 也是植物氮同化所需的底物。SC/FAA 的变化能够反映  $\text{NH}_4^+$ -N 胁迫对植物体内碳氮代谢的影响。本研究中, 3 种植物的 SC/FAA 均在氮氮浓度 2 mg/L 时最小, 表明高浓度氮氮影响到了 3 种植物的 C-N 代谢。在氮氮浓度 2 mg/L 时, 3 种植物均表现出了氮氮胁迫现象。

### 3.2 富营养背景下植物响应氮源形态的种间差异

自然水体的富营养化通常是  $\text{NH}_4^+$ -N 和  $\text{NO}_3^-$ -N 同步增加, 但至今关于氮氮对沉水植物胁迫的实验多以铵态氮作为唯一氮源 (Cao et al, 2009; Zhang et al, 2010)。从氮氮硝氮比来考虑植物 C-N 代谢的研究很少。富营养化水体中, 水生植物也会利用  $\text{NO}_3^-$ -N 作为氮源 (James et al, 2005), 但水生植物在吸收同化  $\text{NO}_3^-$ -N 时会消耗更多的能量 (Miller & Cramer, 2005)。本研究中, 2 mg/L 的  $\text{NO}_3^-$ -N 处理中, 伊乐藻的 FAA 增加, SC 降低导致 SC/FAA 显著降低, 表明在以  $\text{NO}_3^-$ -N 为唯一氮源时, 伊乐藻以 SC 消耗为代价形成更多的 FAA, 表现出如其他植物响应高氮氮胁迫类似的生理反应。如前所述, 贫营养湖泊中无机氮主要以  $\text{NO}_3^-$ -N 为主, 而在富营养湖泊中无机氮主要以  $\text{NH}_4^+$ -N 为主, 因此伊乐藻在富营养水体中更有营养利用优势, 是典型的富营养化水

体优势种。相对而言, 2 mg/L 的  $\text{NO}_3^-$ -N 处理对狐尾藻和金鱼藻的 FAA 和 SC 没有显著影响。曹特 (2006) 曾报道狐尾藻在  $\text{NO}_3^-$ -N 大于 2 mg/L, 作用 48 h 时, 其植物组织内  $\text{NH}_4^+$ -N 以及 FAA 含量显著增加; 说明狐尾藻要产生类似于  $\text{NH}_4^+$ -N 胁迫类的代谢反应需要更高的  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度。对金鱼藻而言, 当  $C_{\text{NH}_4^+-\text{N}} : C_{\text{NO}_3^--\text{N}}$  从 0 至 1 : 2, 即氮氮浓度达到 0.67 mg/L 时, 其 SC/FAA 即显著降低, 表明其 C-N 代谢受到了干扰。可见 3 种植物在响应不同氮源形态组成的无机氮添加时, 种间差异显著。

本研究中,  $\text{NO}_3^-$ -N 完全替代  $\text{NH}_4^+$ -N 时, 尽管 FAA 和 SC 的变化趋势不一致 (图 1, 图 2), 但 3 种植物组织中的 SC/FAA 显著升高 (图 3), 表明  $\text{NO}_3^-$ -N 有利于保持植物体内的 SC/FAA 比例。实际上, 植物体内 FAA 和 SC 的差异可以反映其适应的光照和氮营养生长环境的综合差异 (曹特, 2006)。充足的光照和营养配给对 FAA 和 SC 含量高的植物有利, 菹草和狐尾藻体内 FAA 和 SC 含量要大于苦草和金鱼藻 (Cao, 2009; 2011); 而在富营养化湖泊中, 菹草和狐尾藻多为优势种 (邱东如和吴振斌, 1997)。这与本研究的结果相符合。

金鱼藻喜好生活在中-富营养水体中, 而穗花狐尾藻和伊乐藻一般生活在富营养水体 (Nichols & Shaw, 1986)。在贫营养湖泊中, 无机氮主要以  $\text{NO}_3^-$ -N 为主, 而在富营养湖泊中主要是  $\text{NH}_4^+$ -N。我国长江中下游湖泊的沉水植被演替也伴随水柱中  $\text{NH}_4^+$ -N 含量的升高, 出现了偏好利用  $\text{NH}_4^+$ -N 的后续演替种狐尾藻 (Nichols & Keeney, 1976)。本研究中, 伊乐藻植物组织中的 FAA 与 SC 均大于穗花狐尾藻和金鱼藻, 表明外来种伊乐藻对于氮源形态的适应生理使其在富营养水体中更有优势。相对生长速率的种间差异也印证了这一点 (图 4)。

## 4 结论

不同的铵态氮与硝态氮处理对 3 种植物 (伊乐藻、狐尾藻和金鱼藻) 的 C-N 代谢的影响表现出显著的种间差异。与狐尾藻相比, 金鱼藻在较低的铵态氮与硝态氮处理即表现出氮氮胁迫; 而伊乐藻因为自身 FAA 和 SC 含量高于狐尾藻和金鱼藻, 在富营养水体具有竞争优势。植物适应水体氮氮/硝态氮变化的 C-N 代谢生理的种间差异, 说明外来种伊乐藻和穗花狐尾藻在氮营养利用方面, 具备强大的生理机制支持其在富营养化水体占优势。

## 参考文献

- 曹特,2006. 铵态氮富集对水生高等植物生化、生长和竞争胁迫研究[D]. 武汉:中国科学院水生生物研究所.
- 陈国元,2009. 富营养浅水湖泊氮素分布与硝化作用研究[D]. 武汉:中国科学院水生生物研究所.
- 国家环境保护总局,2002. 地表水环境质量标准[S]. 北京:中国环境科学出版社
- 邱东如,吴振斌,1997. 富营养化浅水湖泊沉水水生植被的衰退与恢复[J]. 湖泊科学,9(1):82-88.
- 王圣瑞,焦立新,金相灿,等. 2008. 长江中下游湖泊沉积物总氮、可交换态氮与固定态铵的赋存特征[J]. 环境科学学报,28(1):37-43.
- 魏复盛,2002. 水和废水监测分析方法(4版)[M]. 北京:中国环境科学出版社.
- Barker T, Hatton K, O'Connor M, et al, 2008. Effects of nitrate load on submerged plant biomass and species richness: results of a mesocosm experiment[J]. Fundam Appl Limnol, 173:89-100.
- Blindow I, 1992. Decline of charophytes during eutrophication: comparison with angiosperms[J]. Freshwater Biology, 28:9-14.
- Britto D T, Kronzucker H, 2002.  $\text{NH}_4^+$  toxicity in higher plants: a critical review[J]. Journal of Plant Physiology, 159:567-584.
- Cao T, Ni L Y, Xie P, 2004. Acute biochemical responses of a submersed macrophyte, *Potamogeton crispus* L., to high ammonium in an aquarium experiment [J]. Journal of Freshwater Ecology, 19:279-284.
- Cao T, Ni L Y, Xie P, et al, 2011. Effects of moderate ammonium enrichment on three submersed macrophytes under contrasting light availability[J]. Freshwater Biology, 56:1620-1629.
- Cao T, Xie P, Ni L Y, et al, 2009. Carbon and nitrogen metabolism of an eutrophication tolerant macrophyte, *Potamogeton crispus*, under  $\text{NH}_4^+$  stress and low light availability [J]. Environmental and Experimental Botany, 66:74-78.
- Carbiener R, Tremolieres M, Mercier J L, et al, 1990. Aquatic macrophyte communities as bioindicators of eutrophication in calcareous oligotrophic stream waters (Upper Rhine plain, Alsace)[J]. Vegetatio, 86:71-88.
- Chambers P A, 1987. Light and nutrients in the control of aquatic plant community structure II. In situ observation [J]. Journal of Ecology, 75:621-628.
- Clarke E, Baldwin A H, 2002. Response of wetland plants to ammonia and water level[J]. Ecol Eng, 18:257-264.
- James C, Fisher J, Russell V, et al, 2005. Nitrate availability and hydrophyte species richness in shallow lakes [J]. FreshwBiol, 50:1049-1063.
- James W F, Barko J W, Eakin H L, 2004. Impacts of sediment dewatering and rehydration on sediment nitrogen concentration and macrophyte growth[J]. Can J Fish AquatSci, 61:538-546.
- Jampeetong A, Brix H, 2009. Effects of  $\text{NH}_4^+$  concentration on growth, morphology and  $\text{NH}_4^+$  uptake kinetics of *Salviniana-tans*[J]. Ecol Eng,35:695-702.
- Miller A, Cramer M, 2005. Root nitrogen acquisition and assimilation[J]. Plant Soil, 274:1-36.
- Nichols D S, Keeney D R, 1976. Nitrogen nutrition of *Myriophyllum spicatum*: uptake and translocation of  $^{15}\text{N}$  by shoots and roots[J]. Freshwater Biology, 6:145-154.
- Nichols S A, Shaw B H, 1986. Ecological life histories of the three aquatic nuisance plants, *Myriophyllum spicatum*, *Potamogeton crispus* and *Elodea canadensis* [J]. Hydrobiol, 131:3-21.
- Riis T, Sand-Jensen K, 2001. Historical changes in species composition and richness accompanying perturbation and eutrophication of Danish lowland streams over 100 years [J]. Freshwater Biol, 46:269-280.
- Robe W E, Griffiths H, 1994. The impact of  $\text{NO}_3^-$  loading on the freshwater macrophyte *Littorella uniflora*: N utilization strategy in a slow-growing species from oligotrophic habitats [J]. Oecologia, 100:368-378.
- Schuurkes J A A R, Kok C J, Hartog D C, 1986. Ammonium and nitrate uptake by aquatic plants from poorly buffered and acidified waters[J]. Aquatic Botany, 24:131-146.
- Smolders A J P, Lucassen E C H E T, Roelofs J G M, 2002. The isoetid environment: biogeochemistry and threats[J]. Aquat Bot, 73:325-350.
- Yemm E W, Cocking E C, 1955. The determination of amino acids with ninhydrin[J]. Analyst, 80:209-213.
- Yemm E W, Willis A J, 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone[J]. Biochem J, 57:508-514.
- Zhang M, Cao T, Ni L Y, et al, 2010. Carbon, nitrogen and antioxidant enzyme responses of *Potamogeton crispus* to both low light and high nutrient stresses[J]. Environmental and Experimental Botany, 68:44-50.
- Zhang M, Wang Z Q, Xu J, et al, 2011. Ammonium, microcystins, and hypoxia of blooms in eutrophic water cause oxidative stress and C-N imbalance in submersed and floating-leaved aquatic plants in Lake Taihu, China [J]. Chemosphere, 82:329-339.

## Metabolic Characteristics of Three Submerged Macrophytes Exposed to Different $\text{NH}_4^+$ -N/ $\text{NO}_3^-$ -N Ratios in Eutrophic Water

ZHANG Wei, WANG He-yun, ZHAO Yi-jun

(Key Laboratory of Ecological Remediation of Lakes & Rivers and Algal Utilization of Hubei Province, College of Resources and Environmental Engineering, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, P. R. China)

**Abstract:** It is known that C-N metabolism in aquatic plants is depressed by high  $\text{NH}_4^+$ -N concentrations in eutrophic water. The ratio of soluble carbohydrate to free amino acid (SC/FAA) can be used to index  $\text{NH}_4^+$ -N stress on C-N metabolism in aquatic plants. In this study, the C-N metabolic characteristics of three submerged plants (*Myriophyllum spicatum* L., *Elodea canadensis* Michx and *Ceratophyllum demersum* Linn) grown under different ratios of  $\text{NH}_4^+$ -N :  $\text{NO}_3^-$ -N, with a total dissolved inorganic nitrogen of 2 mg/L (meets Class V water standard) were investigated. The growth rate and levels of FAA and SC of the three aquatic plants were compared to better understand the influence of the  $\text{NH}_4^+$ -N :  $\text{NO}_3^-$ -N ratio on aquatic plant metabolism. Five treatments with varying  $\text{NH}_4^+$ -N :  $\text{NO}_3^-$ -N ratios (adjusted with  $\text{NH}_4\text{Cl}$  and  $\text{KNO}_3$ ) and one control group were set, with each group run in triplicate. The treatments were as follows: Control, no added  $\text{NH}_4^+$ -N or  $\text{NO}_3^-$ -N; (1)  $\text{NH}_4^+$ -N :  $\text{NO}_3^-$ -N = 2 : 1; (2)  $\text{NH}_4^+$ -N :  $\text{NO}_3^-$ -N = 1 : 1; (3)  $\text{NH}_4^+$ -N :  $\text{NO}_3^-$ -N = 1 : 2; (4)  $\text{NH}_4^+$ -N only, no  $\text{NO}_3^-$ -N; (5)  $\text{NO}_3^-$ -N only, no added  $\text{NH}_4^+$ -N. The presence of  $\text{NH}_4^+$ -N significantly increased FAA content in all three plants and the FAA content increased with  $\text{NH}_4^+$ -N to a minimum of 2 mg/L, the highest treatment level in this study. In the control and the first three treatments, the SC content of the three species were significantly different and two-way ANOVA revealed that interspecific differences accounted for 69% of the observed difference in SC content. When no  $\text{NH}_4^+$ -N was added (only  $\text{NO}_3^-$ -N present), the SC/FAA ratio in all three species increased significantly and ANOVA indicated that the  $\text{NH}_4^+$ -N :  $\text{NO}_3^-$ -N ratio contributed 56% to the difference. In addition, *E. canadensis* Michx had a higher FAA and SC content than the other two species, which helps explain its growth advantage in eutrophic water bodies.

**Key words:** submerged plants;  $\text{NH}_4^+$ -N/ $\text{NO}_3^-$ -N ratio; C-N metabolism; eutrophication