

三种高原常见沉水植物对不同浓度铵氮的生理响应机制研究

常诏峰^{1,2,3}, 鲜玲³, Samuel Wamburu Muthui³, 刘帆³, 严雪³

(1. 西藏大学青藏高原生态与环境研究中心, 西藏拉萨 850000;

2. 西藏大学理学院, 西藏拉萨 850000;

3. 中国科学院水生植物与流域生态重点实验室, 中国科学院武汉植物园, 湖北武汉 430074)

摘要:分析植物受到高铵态氮胁迫时的响应特征,明确高浓度铵态氮对沉水植物产生毒性机制,为利用沉水植物修复高浓度铵态氮污染水体提供理论指导。选取苦草(*Vallisneria natans*)、大茨藻(*Najas marina*)和穿叶眼子菜(*Potamogeton perfoliatus*)3种沉水植物为研究对象,研究了不同浓度铵态氮(0、0.1、3、15和50 mg/L)对3种沉水植物的生理影响,初步探讨了沉水植物在高铵态氮浓度水体中退化的原因。当水体铵态氮浓度超过15 mg/L时,植物体内叶绿素和蛋白含量呈下降趋势,而游离氨基酸的含量呈上升趋势,植物叶绿素荧光值显著降低,植物无法正常进行光合作用。当铵态氮浓度低于15 mg/L时苦草对铵态氮的去除率明显低于大茨藻和穿叶眼子菜。铵态氮浓度较高时,大茨藻组织总氮含量高于穿叶眼子菜和苦草,而FAA和可溶性蛋白含量则是穿叶眼子菜最高。当水体中铵态氮浓度达到15 mg/L时,湖泊中广泛分布的沉水植物无法存活,植物光合能力下降是影响其存活的主要因素。本研究从机理层面初步揭示了3种广布沉水植物物种在高铵态氮水体中消失的原因。

关键词:沉水植物;铵态氮;游离氨基酸;苦草;大茨藻;穿叶眼子菜

中图分类号:Q945.79 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2022)06-0108-08

沉水植物不仅能够吸附、吸收和转化水体中养分,净化水质,减少沉积物再悬浮,降低浊度,还能调节水生生态系统的物质循环,增加水生生物多样性(Scheffer, 1990)。利用水生植物尤其是沉水植物修复水体,被认为是水体修复的有效途径之一(曹特, 2006),也是近几年的研究热点(Coban et al, 2015; Xian et al, 2020)。

铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)是影响沉水植物生长的重要因素之一,低浓度铵态氮能促进沉水植物生长,高浓度铵态氮会抑制沉水植物生长,过高浓度甚至可导致其死亡(周金波等, 2018)。高铵态氮的抑制作用干扰营养的吸收和激素的平衡,导致碳和氮的不平衡,并且影响叶绿素的合成和光合作用(钟爱文, 2018)。铵态氮能导致沉水植物体内游离氨基酸的积累,沉水植物的叶片对抑制铵态氮的吸收缺少反馈机制,在高铵态氮环境中它们就会倾向于吸收超过生长

和维持生命所需要的氮量(Cao et al, 2007)。为了防止 NH_4^+ 的毒性,许多大型植物通过将 NH_4^+ 与游离氨基酸(FAA)结合或将其运输出植物细胞来减少 NH_4^+ 的积累(Britto & Kronzucker, 2002; Cao et al, 2009)。已有研究关注到沉水植物在铵态氮影响下的响应机制,其研究地点主要集中于湖泊中,其水体铵态氮浓度范围小于3 mg/L。前期野外调查结果表明,在其他水体水环境中,尤其是黑臭河道铵态氮的稳定浓度可达15 mg/L(Xian et al, 2020),但沉水植物对更高浓度铵态氮的响应机制还不明确。为了解植物吸收铵态氮后对植物的生理影响,本研究选取了分布广泛的沉水植物为研究材料,对植物组织中总氮、游离氨基酸以及可溶性蛋白含量进行了测定,从生理上探究其不能存活的原因,通过测定不同指标来分析植物受到高铵态氮胁迫时的响应特征,进而明确高浓度铵态氮对沉水植物产生毒性的机制。

1 材料和方法

1.1 物种的选择

本研究选取应用价值高、分布广的云贵高原常见沉水植物苦草(*Vallisneria natans*)、大茨藻(*Najas marina*)和青藏高原常见沉水植物穿叶眼子菜(*Potamogeton perfoliatus*)作为实验材料,采集地点为云南

收稿日期:2021-04-13 修回日期:2022-11-21

基金项目:国家自然科学基金项目(31270372, 32070383)。

作者简介:常诏峰, 1992年生,男,硕士,研究方向为污染生态学。E-mail:15071474610@163.com

通信作者:严雪,研究员,研究方向为水域污染生态学。E-mail:yanx@wbgcas.cn

洱海。苦草为水鳖科沉水草本,常用于绿化布置和生态修复;大茨藻为茨藻科一年生沉水草本,全草可做绿肥和饲料;穿叶眼子菜为眼子菜科多年生沉水草本,用于绿化布置和饵料(赵家荣,2009)。这些沉水植物应用价值高、应用范围广,且能稳定存活在铵态氮浓度<3 mg/L的高原湖泊水体中,但不能稳定存活在高浓度铵态氮水体(3~15 mg/L)中。野外湖泊采样水体铵态氮浓度一般为0.1~3.0 mg/L。另有实验研究在铵态氮浓度高于3 mg/L条件下上述沉水植物也能存活(高奇英等,2019;Xian et al,2020)。所以上述3种沉水植物的对比研究对了解高浓度铵态氮水体(3~15 mg/L)中沉水植物的消失具有重要意义。

1.2 实验设计

选用生长状态良好的沉水植物成熟植株地上部分10 g,清洗干净后培养在在塑料碗内。培养液采用1/10 Hoagland’s 稀释液,1.25 L (NH₄)₂SO₄ 溶液。设置成0、0.1、3、15和50 mg/L 5个浓度,每个不含植物的对应浓度溶液设为对照;上述浓度梯度依据野外调查和前期的实验研究,其中0 mg/L为纯水培养的对照组;0.1 mg/L为参照地表水环境质量标准基本项目标准限值,I类水铵态氮浓度标准选取;3 mg/L依据野外采样过程中沉水植被丰富的水体中铵态氮浓度;15 mg/L为野外调查过程中有沉水植物分布的最高浓度的铵态氮水体;50 mg/L为前期实验研究中沉水植物耐受铵态氮胁迫的最高浓度(Apudo et al,2016)。各处理5次重复,培养4 d。

1.3 测定指标

Fv/Fm可用于调查水生植物的生物和非生物胁迫(Apudo et al,2016),通过测定Fv/Fm和总叶绿素含量反映植物光合作用能力对铵态氮的耐受性。测定水体中的溶解氧(DO)反映植物光合作用能力。测定培养基中铵态氮含量、植物总氮、游离氨基酸(FAA)和可溶性蛋白的含量反映植物对铵态氮的吸

收。计算铵态氮去除率(C)如下式。
$$C=(1-C_1/C_0)\times 100\%$$

式中:C₁为植物培养液4 d后铵态氮浓度;C₀为无植物的培养液4 d后铵态氮浓度。

1.4 实验方法

用纳氏试剂分光光度法(HJ535-2009)测定铵态氮含量;植物总氮按靛酚蓝法测定(Yao et al,2018);茚三酮法测定游离氨基酸FAA的含量(Yokoyama & Hiramatsu,2003;Zhong et al,2018);考马斯亮蓝 G-250 方法测定蛋白质的含量(Arias-Baldrich et al,2017;Bradford,1976);叶绿素荧光(Fv/Fm)由PAM 2100(PAM-2100,Walz,Effeltrich,Germany)测定;用95%乙醇避光萃取植物叶片24 h后分光光度计测萃取液吸光度的方法测定叶片叶绿素含量(Apudo et al,2016;Wellburn & Lichtenthaler,1984)。利用便携式溶氧仪(YSI,Pro Plus)测定各培养液的溶解氧(DO)含量。

1.5 统计分析

数值用平均值±标准差(Mean ± SD)表示。水质参数的平均值和标准误由一次采样时间内每个处理的重复计算所得。数据分析采用SPSS 22.0 软件进行,在进行t检验和单因素方差分析(one-way ANOVA)之前,所有的数据都经过正态性和方差齐性检验。所有测试的显著性水平P值为0.05。同一物种的不同浓度铵态氮处理条件下,总叶绿素含量、溶解氧、铵氮、游离氨基酸、可溶性蛋白之间的差异采用单因素方差分析,用Tukey法进行多重比较。用OriginPro 2016软件作图。

2 结果与分析

2.1 培养液铵态氮浓度的变化

随着水体铵态氮浓度升高,植物对铵态氮的去除率降低(图1)。0.1~3 mg/L 培养液培养的植物对

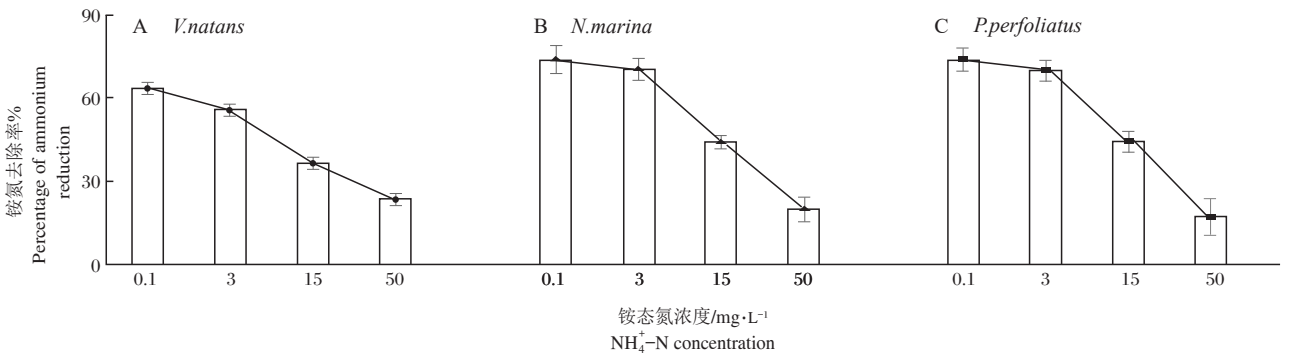


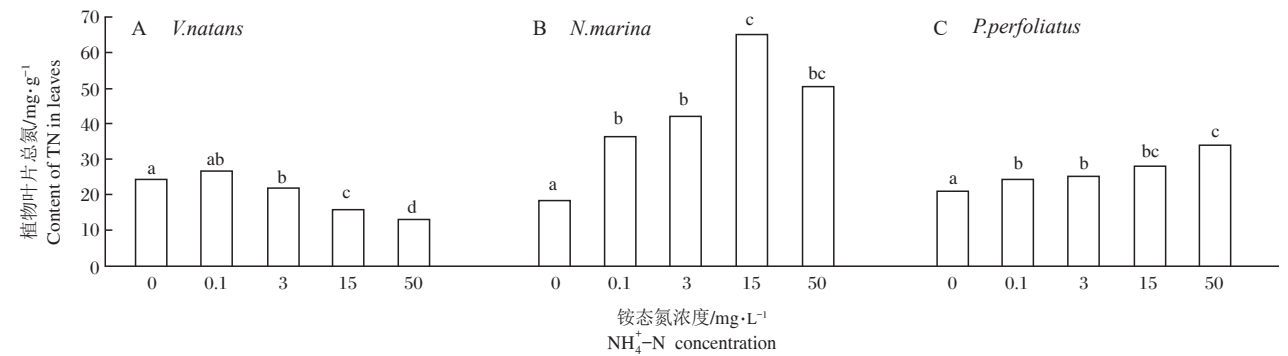
图1 培养4 d后植物对培养液中铵态氮去除率
Fig. 1 Removal of ammonia nitrogen from solution by plants after four days

水体铵态氮的去除率超过 50%; 培养液浓度 >3 mg/L 时植物对水中铵态氮去除率显著下降, 培养液铵态氮浓度 >15 mg/L 时植物对水体铵态氮去除率急剧下降, 铵态氮浓度高达 50 mg/L 时沉水植物的活性已经急剧下降或其本身已消解。3 种沉水植物对铵态氮的去除能力有差异。当铵态氮浓度低于 15 mg/L 时苦草(图 1A)对铵态氮的去除率明显低于大茨藻(图 1B)和穿叶眼子菜(图 1C)。

2.2 植物对氮的吸收与转化

培养 4 d 后, 3 种植物叶片中总氮含量见图 2。苦草在高浓度铵态氮培养下植物总氮含量显著低于低浓度组(图 2A); 大茨藻植物总氮含量随着培养液铵态氮浓度的升高显著增加, 并在 15 mg/L 时达到最大值 65.3 mg/g(图 2B); 穿叶眼子菜在 0.1、3、15 mg/L 培养液中培养后植物总氮无显著差异, 但在 50 mg/L 浓度培养的植物总氮达到 33.9 mg/g, 与其他各组差异显著。铵态氮浓度较高时, 大茨藻组织总氮含量高于穿叶眼子菜和苦草(图 2), 而 FAA 和可溶性蛋白含量则是穿叶眼子菜最高(图 3 和图 4)。

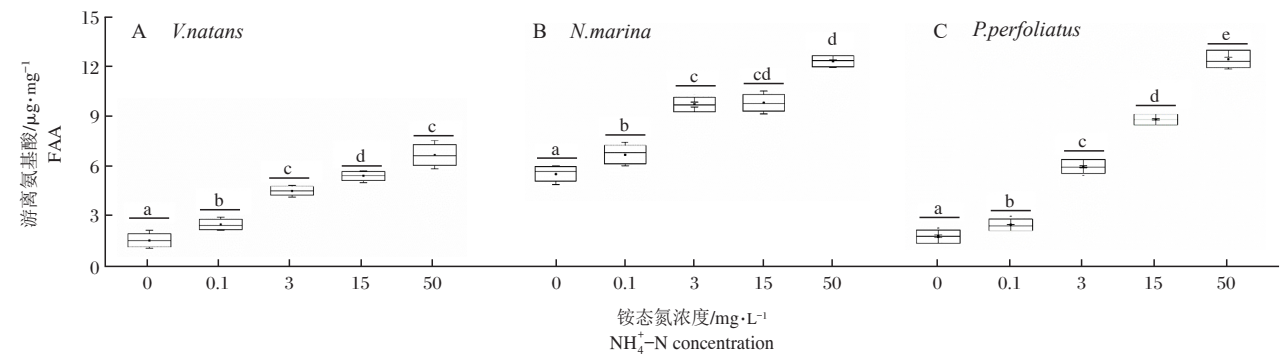
随着培养液中铵离子浓度的增加, 3 种沉水植物的 FAA 含量显著增加。苦草 FAA 含量从对照组(0 mg/L)的 1.47 μg/mg 增长到最高培养液浓度(50 mg/L)的 6.93 μg/mg(图 3A), 不同浓度培养液使苦草体内 FAA 含量差异显著; 大茨藻 FAA 含量从对照组(0 mg/L)的 5.78 μg/mg 增长到最高培养液浓度(50 mg/L)的 12.42 μg/mg(图 3B), 0.1 mg/L 和 3 mg/L 培养液使大茨藻体内 FAA 含量差异最显著; 穿叶眼子菜 FAA 含量从对照组(0 mg/L)的 1.85 μg/mg 增长到最高培养液浓度(50 mg/L)的 12.31 μg/mg(图 3C), 不同浓度培养液使大茨藻体内 FAA 含量差异显著。与 TN 和 FAA 不同, 在铵态氮浓度增加条件下, 苦草(图 4A)可溶性蛋白含量下降, 从对照组的 0.44 mg/g 下降到高浓度组(50 mg/L)的 0.17 mg/g; 大茨藻(图 4B)可溶性蛋白含量下降, 从对照组的 0.74 mg/g 下降到高浓度组(50 mg/L)的 0.35 mg/g; 而穿叶眼子菜(图 4C)在铵态氮浓度高于 3 mg/L 条件下可溶性蛋白含量下降, 最低为 0.69 mg/g。



同一测定指标下不同字母表示处理间差异显著(P<0.05)

图 2 培养 4 d 后植物叶片中(干重)总氮含量

Different letters indicate significant differences among treatments (P<0.05); DW, dry weight
Figure 2 Total nitrogen content in the different plant leaves after four days

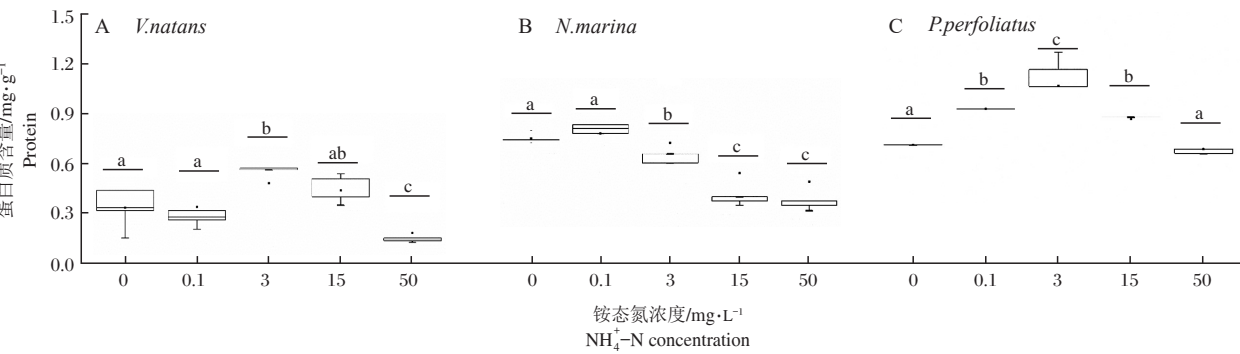


同一测定指标下不同字母表示处理间差异显著(P<0.05)

图 3 培养 4 d 后植物叶片游离氨基酸含量

Different letters indicate significant differences among treatments (P<0.05)

Fig. 3 Free amino acid content of different plant leaves after four days



同一测定指标下不同字母表示处理间差异显著(P<0.05)

图4 培养4 d后植物叶片蛋白质含量

Different letters indicate significant differences among treatments (P<0.05)

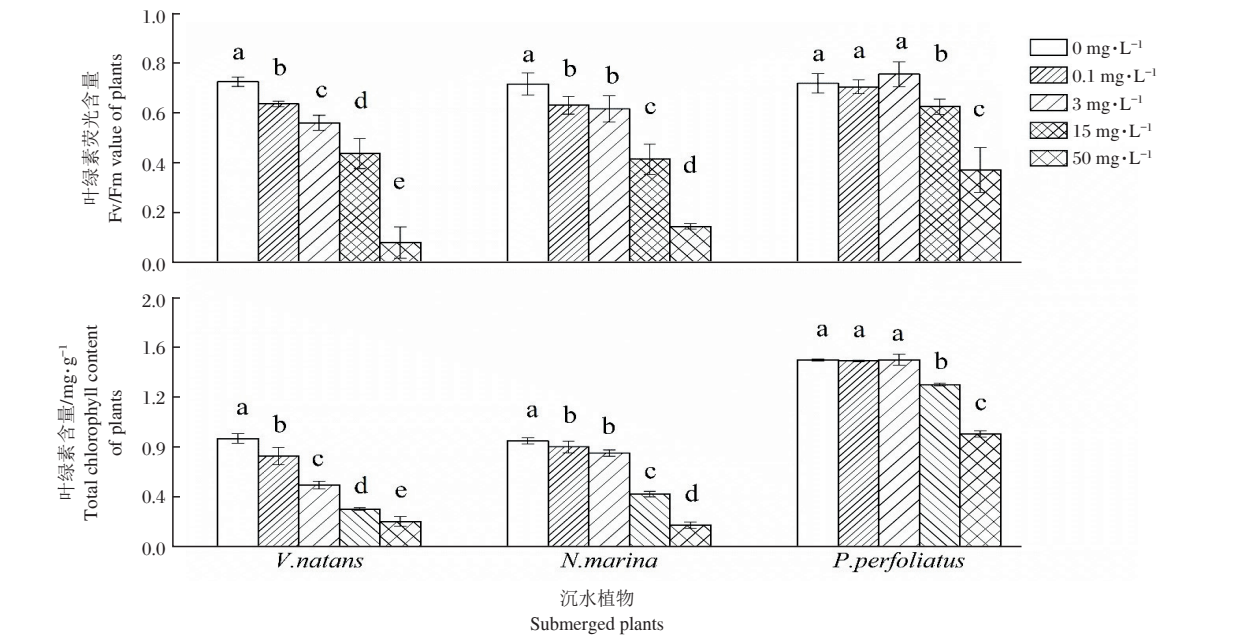
Fig. 4 Protein content of different plant leaves after four days

穿叶眼子菜和大茨藻的可溶性蛋白含量和游离氨基酸含量高于苦草。结合3种沉水植物对铵态氮的去除率比较(图1)可知,苦草受高浓度铵态氮胁迫后蛋白质含量和产生的游离氨基酸含量低于大茨藻和穿叶眼子菜,所以在高浓度铵态氮的生理响应上苦草较大茨藻和穿叶眼子菜更敏感。

2.3 沉水植物对铵态氮的耐受性

以Fv/Fm和总叶绿素含量为主要指标判断沉水植物是否存在铵态氮胁迫,如图5。在不同浓度铵态氮溶液中培养4 d后,不同物种之间发生了显著变化。苦草和大茨藻的Fv/Fm显著降低,苦草从对照组的0.72降到高浓度组(50 mg/L)的0.08,大

茨藻从对照组的0.74降到高浓度组的0.16;在低铵态氮浓度(<3 mg/L)下,穿叶眼子菜没有显著差异,Fv/Fm为0.7~0.72,15 mg/L和50 mg/L浓度组与低浓度组差异显著,分别为0.62和0.37。叶绿素含量的变化趋势与Fv/Fm变化趋势一致,苦草从对照组0.87 mg/g降到高浓度组的0.2 mg/g,大茨藻从对照组的0.85降到高浓度组的0.17;在低铵态氮浓度(<3 mg/L)下,穿叶眼子菜没有显著差异,叶绿素含量在15 mg/L和50 mg/L浓度组与低浓度组差异显著,分别为1.3 mg/g和0.9 mg/g。上述3种沉水植物中,苦草是铵态氮最敏感的物种,而穿叶眼子菜是最耐受的物种。



同一测定指标下不同字母表示处理间差异显著(P<0.05)

图5 培养4 d后植物(鲜重)叶绿素荧光和叶绿素含量

Different letters indicate significant differences among treatments (P<0.05)

Fig. 5 Plant chlorophyll fluorescence and chlorophyll content of the different plant leaves after four days

光合反应中心各有数个叶绿素分子,反应中心减少会引起叶绿素含量的下降。高铵态氮损害了沉水植物叶片中光系统中的反应中心,致使沉水植物叶片光反应减弱, F_v/F_m 与三磷酸腺苷(ATP)的合成过程有关,并直接影响植物放氧和植物色素的含量。与大茨藻和穿叶眼子菜相比苦草叶绿素含量受铵态氮浓度影响更显著,表明高游离氨基酸解除植物细胞毒性的能力有利于光合作用的正常进行。

与对照组相比上述 3 种沉水植物培养液中的溶氧均呈显著下降趋势(图 6),表明在高浓度铵态氮溶液胁迫下,上述 3 种沉水植物的生物活性显著下降($P<0.05$)。在高铵态氮胁迫下,沉水植物的光合系统等遭到破坏。苦草培养液溶氧由对照组的 6.86 mg/L 下降到高浓度组的 2.31 mg/L,大茨藻培养液溶氧由对照组的 6.66 mg/L 下降到高浓度组的 2.65 mg/L,穿叶眼子菜培养液溶氧在低铵态氮浓度(<3 mg/L)下为 5.17~6.11 mg/L, 15 mg/L 和 50 mg/L 浓度组与低浓度组差异显著,分别为 3.26 mg/L 和 1.26 mg/L。

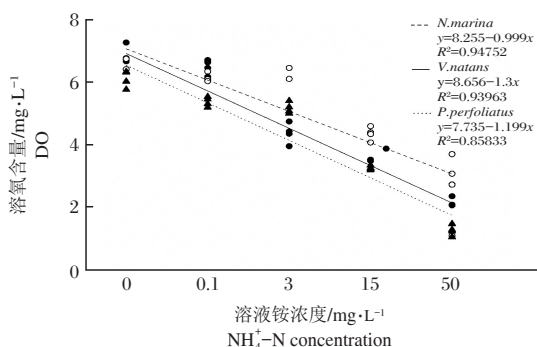


图 6 培养 4 d 后培养液溶氧的含量

Fig. 6 Dissolved oxygen (DO) content in the different culture solutions after four days

3 讨论

尽管沉水植物被广泛用于铵态氮污染水体的修复,但很少有人在不同浓度尤其是高浓度铵态氮水体的修复物种选择上区分沉水植物耐铵态氮的浓度及生理响应。本研究将 F_v/F_m 和总叶绿素含量作为主要指标,分析广泛分布的沉水植物苦草、大茨藻和穿叶眼子菜在高浓度铵态氮培养下的生理响应。 F_v/F_m 是检查沉水植物胁迫状态下能否表达光系统 II 的至关重要指标(Baker & Oxborough, 2004)。当植物面临胁迫时,ATP 和 NADPH 的产生将受到影响,导致可用的开放式反应中心数量减少(Baker, 2008)。当用高浓度的铵态氮处理时,3 个物种的 F_v/F_m 显著降低,特别是苦草。

植物细胞中的铵毒性与植物体内碳供应的枯竭及叶绿体超微结构的破坏有关(Bittanszky et al, 2015)。对耐铵型植物的研究表明,内部碳库为维持组织内的低氮含量提供了能量基础(Cao et al, 2011; Yuan et al, 2015)。穿叶眼子菜需要更多的光来进行光合作用,因此总是分布于浅水区(Li et al, 2015; Yuan et al, 2013)。然而,在较高的铵态氮胁迫下,它的光系统遭到破坏,实验中 F_v/F_m 、叶绿素含量和溶氧的急剧下降可以反映出这一现象。这可能是因为铵转化为氨基酸或酰胺的总速率低于其吸收速率或通过氨基酸机制的细胞生产速率(Bittanszky et al, 2015),增加了植物组织中铵的积累。细胞中的高铵离子也可能破坏叶绿体的超微结构和碳骨架,并破坏碳氮的平衡(Cao et al, 2011; Yu et al, 2017)。总氮、游离氨基酸和可溶性蛋白的显著增加表明,当铵态氮耐受型沉水植物受到高浓度的铵态氮胁迫时,它具有很强的吸收铵的能力。为了避免铵在植物细胞中积累,植物通常将铵吸收到含氮有机化合物中(Britto & Kronzucker, 2002; Cao et al, 2009)。对于铵敏感型沉水植物如苦草,随着培养液铵态氮浓度的增加,未观察到植物总氮升高的趋势,但是苦草的游离氨基酸含量显著上升。这可能导致了苦草中蛋白质降解(Skopelitis et al, 2006),吸收铵的能力降低,致使铵在细胞内积累,最终造成损伤(Nolte et al, 2004)。

植物吸收利用铵态氮受植物体内酶的活性影响,沉水植物体内铵的合成主要由谷氨酰胺合成酶(GS)和谷氨酸脱氢酶(GDH)参与(Xian et al, 2020)。在高浓度铵态氮胁迫下,沉水植物铵的同化主要通过 GDH 的催化作用完成(Zhou et al, 2015)。低浓度铵态氮条件下,GS 途径对铵的同化起主要作用,但 GS 能耗较高(Geisseler et al, 2009),当环境中铵态氮浓度过高时 GS 活性会受到抑制(Silberbach et al, 2005)。高浓度铵态氮条件下,植物光合系统受损,导致沉水植物吸收 NH_4^+ 后,会将 NH_4^+ 合成含氮有机物并储存在体内以避免 NH_4^+ 在体内的大量积累(Cao et al, 2009)。

游离氨基酸在高铵态氮环境中含量较高。铵态氮对植物碳氮代谢有显著影响,因为在高铵态氮环境下生长,植物被动吸收大量的氮素,使铵态氮在组织中大量积累导致氮代谢水平改变,游离氨基酸大量产生(郭洪涛等, 2008)。本研究发现,苦草、大茨藻、穿叶眼子菜在培养液浓度达到 15 mg/L 及更高浓度时植物体内游离氨基酸含量增加,但植物可溶性

蛋白含量显著降低,且植物已经逐步降解。游离氨基酸与铵离子结合解除沉水植物毒性的现象在更高浓度铵态氮水体中不能实现。

综合上述研究,3种沉水植物中大茨藻对铵态氮的去除能力最强,去除率高于苦草,在与穿叶眼子菜的比较中发现,铵态氮去除率接近的情况下其体内总氮含量要高于穿叶眼子菜。这表明其体内组织对氮的转化更有效。在铵态氮胁迫中,苦草敏感性高于大茨藻和穿叶眼子菜,这一现象与苦草受胁迫时产生游离氨基酸含量低于大茨藻和穿叶眼子菜有关。游离氨基酸可以与铵离子结合减轻植物体内铵的毒性,穿叶眼子菜和大茨藻受胁迫时植物体内总氮含量、游离氨基酸含量和能够分解产生游离氨基酸的蛋白质含量高于苦草,对氮的转化能力也强于苦草。苦草叶绿素荧光、叶绿素含量和培养液溶氧均低于大茨藻和穿叶眼子菜,表明苦草在3种植物中光合能力损伤最严重。沉水植物对铵态氮的耐受机理为:沉水植物体内总氮含量、游离氨基酸含量和蛋白质含量越高,植物转化氮的能力越强,植物对铵态氮的耐受性越强;植物体内游离氨基酸和蛋白质含量越高植物结合铵离子能力越强,植物对水体铵态氮的抗性越强;植物叶绿素荧光、叶绿素含量及水体溶氧含量越高植物光合能力损伤越弱。沉水植物叶片的光合作用细胞中产生游离氨基酸的能力是沉水植物叶片对水体铵态氮净化和沉水植物对铵态氮耐受的关键因素。在湖泊水体铵态氮浓度低于3 mg/L时,沉水植物通过分解可溶性蛋白产生游离氨基酸缓解铵态氮的毒性。而铵态氮浓度高于3 mg/L时,随着水体铵态氮浓度的增加,沉水植物游离氨基酸与铵的结合加速了蛋白质的分解,最终导致植物的损伤。

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。
- 高奇英,朱文君,刘晓波,等,2019. 不同浓度氨氮对5种沉水植物生长的影响[J]. 水生态学杂志,40(6): 67-72。
- 郭洪涛,曹特,倪乐意,2008. 中等实验规模下不同营养环境对苦草(*Vallisneria natans*)生长的影响[J]. 湖泊科学, (2): 221-227。
- 赵家荣,2009. 水生植物图鉴[M]. 武汉:华中科技大学出版社。
- 钟爱文,2018. 埃格草(*Egeria densa*)对铵氮胁迫的生长和生理响应[J]. 环境科学研究,31(1): 117-122。
- 周金波,金树权,包薇红,等,2018. 不同浓度氨氮对4种沉水

- 植物的生长影响比较研究[J]. 农业资源与环境学报,35(1):74-81。
- Apudo A A, Cao Y, Wakibia J, et al, 2016. Physiological plastic responses to acute NH_4^+ -N toxicity in *Myriophyllum spicatum* L. cultured in high and low nutrient conditions[J]. Environmental and Experimental Botany, 130:79-85。
- Arias-Baldrich C, de la Osa C, Bosch N, et al, 2017. Enzymatic activity, gene expression and posttranslational modifications of photosynthetic and non-photosynthetic phosphoenolpyruvate carboxylase in ammonium-stressed sorghum plants[J]. Journal of Plant Physiology, 214:39-47。
- Baker N R, Oxborough K, 2004. Chlorophyll Fluorescence as a Probe of Photosynthetic Productivity[M]// Papageorgiou G C, Govindjee, Chlorophyll a Fluorescence. Advances in Photosynthesis and Respiration. Dordrecht: Springer: 66-79。
- Baker N R, 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo[J]. Annual review of plant biology, 59: 89-113。
- Bittsanszky A, Pilinszky K, Gyulai G, et al, 2015. Overcoming ammonium toxicity[J]. Plant Science. 231:184-190。
- Bradford M M, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 72(1/2):248-254。
- Britto D T, Kronzucker H, 2002. NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review[J]. Journal of Plant Physiology, 159:567-584。
- Cao T, Xie P, Ni L Y, et al, 2007. The role of NH_4^+ toxicity in the decline of the submersed macrophyte *Vallisneria spiralis* in lakes of the Yangtze River basin, China[J]. Marine and freshwater research, 58(6): 581-587。
- Cao T, Xie P, Ni L Y, et al, 2009. Carbon and nitrogen metabolism of an eutrophication tolerant macrophyte, *Potamogeton crispus*, under NH_4^+ stress and low light availability [J]. Environmental and Experimental Botany, 66: 74-78。
- 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(8): 1620-1629。
- Coban O, Kuschik P, Kappelmeyer U, 2015. Nitrogen transforming community in a horizontal subsurface-flow constructed wetland[J]. Water Research, 74:203-212。
- Geisseler D, Doane T A, Horwath W R, 2009. Determining potential glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase activity in soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 41(8): 1741-1749。
- Li W, Cao T, Ni L Y, et al, 2015. Size-dependent C, N and P stoichiometry of three submersed macrophytes along wa-

- ter depth gradients[J]. Environmental Earth Sciences, 74 (5):3733–3738.
- Nolte S A, Young B G, Mungur R, et al, 2004. The glutamate dehydrogenase gene *gdhA* increased the resistance of tobacco to glufosinate[J]. Weed Research, 44(4):335–339.
- Scheffer M, 1990. Multiplicity of stable states in freshwater systems[J]. Hydrobiologia, 200:475–486.
- Silberbach M, Schäfer M, Hüser A T, et al, 2005. Adaptation of *Corynebacterium glutamicum* to ammonium limitation: a global analysis using transcriptome and proteome techniques[J]. Applied and environmental microbiology, 71 (5): 2391–2402.
- Skopelitis D S, Paranychianakis N V, Paschalidis K A, et al, 2006. Abiotic stress generates ROS that signal expression of anionic glutamate dehydrogenases to form glutamate for proline synthesis in tobacco and grapevine[J]. The Plant Cell, 18(10):2767–2781.
- Wellburn A R, Lichtenthaler H, 1984. Formulae and program to determine total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents[M]//Sybesma C, Advances in Photosynthesis Research, Dordrecht: Springer: 9–12.
- Xian L, Zhang Y Z, Cao Y, et al, 2020. Glutamate dehydrogenase plays an important role in ammonium detoxification by submerged macrophytes[J]. Science of The Total Environment, 722:137859.
- Yao L, Chen C, Liu G, et al, 2018. Sediment nitrogen cycling rates and microbial abundance along a submerged vegetation gradient in a eutrophic lake[J]. Science of the Total Environment, 616: 899–907.
- Yokoyama S, Hiramatsu J I, 2003. A modified ninhydrin reagent using ascorbic acid instead of potassium cyanide [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 95 (2): 204–205.
- Yu Q, Wang H J, Wang H Z, et al, 2017. Does the responses of *Vallisneria natans* (Lour.) Hara to high nitrogen loading differ between the summer high-growth season and the low-growth season? [J]. Science of the Total Environment, 601:1513–1521.
- Yuan G, Cao T, Fu H, et al, 2013. Linking carbon and nitrogen metabolism to depth distribution of submersed macrophytes using high ammonium dosing tests and a lake survey[J]. Freshwater Biology, 58: 2532–2540.
- Yuan G, Fu H, Zhong J, et al, 2015. Nitrogen/carbon metabolism in response to NH_4^+ pulse for two submersed macrophytes[J]. Aquatic Botany, 121: 76–82.
- Zhong C, Cao X, Bai Z, et al, 2018. Nitrogen metabolism correlates with the acclimation of photosynthesis to short-term water stress in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 125: 52–62.
- Zhou Y, Zhang C, Lin J, et al, 2015. Over-expression of a glutamate dehydrogenase gene, *MgGDH*, from *Magnaporthe grisea* confers tolerance to dehydration stress in transgenic rice[J]. Planta, 241(3): 727–740.

(责任编辑 郑金秀)

Physiological Response of Three Common Submerged Plateau Plants to Ammonia Nitrogen

CHANG Zhao-feng^{1,2,3}, XIAN Ling³, Samuel Wamburu Muthui³, LIU Fan³, YAN Xue³

- (1. Tibetan Plateau Ecology and Environment Research Center, Tibet University, Lhasa 850000, P.R. China;
- 2. College of Science, Tibet University, Lhasa 850000, P.R. China;
- 3. Key Laboratory of Aquatic Botany and Watershed Ecology, Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, P.R. China)

Abstract: In this study, three submerged plant species (*Vallisneria natans*, *Najas marina* and *Potamogeton perfoliatus*) were selected for a stress test with high concentrations of ammonia nitrogen ($\text{NH}_4^+\text{-N}$). Four $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentrations with a control (0, 0.1, 3, 15 and 50 mg/L) were set, and the physiological response of the three plants to the different concentrations were compared by determining the levels of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and dissolved oxygen in the solution, and the total nitrogen (TN), free amino acid (FAA), soluble protein, chlorophyll-a and maximum photochemical quantum yield (F_v/F_m) in the plant leaves. The response of submerged plants to high concentrations of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ was then characterized and the causes of submerged macrophyte degradation at high $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentrations were discussed. With increasing solution concentrations of $\text{NH}_4^+\text{-N}$, the removal rate of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ by plants decreased. In treatment groups with $\text{NH}_4^+\text{-N}$ below 15 mg/L, the removal rate of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ by *V. natans* was clearly lower than by *N. marina* and *P. perfoliatus*. In the treatments with higher $\text{NH}_4^+\text{-N}$, the TN in *V. natans* leaves was higher than in the leaves of *N. marina* and *P. perfoliatus*, while the levels of FAA and soluble protein were highest in *P. perfoliatus* leaves. When the concentration of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ in the water body exceeded 15 mg/L, the chlorophyll-a and protein in the three plants declined, while the FAA increased. Further, the F_v/F_m of macrophytes decreased significantly, indicating that photosynthesis was inhibited when the $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentration reached 15 mg/L. In conclusion, the submerged macrophytes cannot survive in aquatic ecosystems at $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentrations at or above 15 mg/L, due to loss of photosynthetic capacity. This study revealed the causes of submerged macrophyte degradation in lakes with high $\text{NH}_4^+\text{-N}$, and provides theoretical guidance for using submerged macrophytes to restore aquatic ecosystems with high $\text{NH}_4^+\text{-N}$ levels.

Key words: submerged macrophyte; ammonia nitrogen; free amino acids; *Vallisneria natans*; *Najas marina*; *Potamogeton perfoliatus*