

NH₄⁺ 和 CO₂ 复合胁迫对水蕴草及其生长水体的影响

常雅军¹, 王 巍^{1,2}, 刘吉祥¹, 李韵涵¹, 孙林鹤¹, 姚东瑞^{1,①}

[1. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014; 2. 南京林业大学生态与环境学院, 江苏 南京 210037]

摘要: 为了探究大气 CO₂ 浓度升高背景下, 水蕴草 [*Elodea densa* (Planch.) Casp.] 对水体 NH₄⁺ 胁迫的响应机制, 设置 2 个 NH₄⁺ 质量浓度水平 (1 和 6 mg · L⁻¹) 和 3 个 CO₂ 流量水平 (0.0、0.4 和 1.0 m³ · h⁻¹, 分别对应环境 CO₂、低流量 CO₂ 和高流量 CO₂), 对胁迫 0、3、10 和 17 d 时 6 个处理组的水体物理化学指标及水蕴草的生长量和生理生化指标 [包括叶绿素含量、抗氧化酶活性、丙二醛 (MDA) 含量和碳氮代谢关键酶活性] 进行了比较和双因素方差分析。结果显示: 与胁迫 0 d 和 NH₄⁺ 单一胁迫处理组相比, 胁迫 3、10 和 17 d 时, 4 个复合胁迫处理组水体的溶解氧含量和 pH 值显著 ($P < 0.05$) 下降, 而电导率、氧化还原电位、盐度、NH₄⁺ 含量和 HCO₃⁻ 含量多显著升高, 并且, CO₂ 流量对上述水体指标的影响以及 NH₄⁺ 质量浓度对水体 NH₄⁺ 含量的影响在 0.001 水平具有统计学意义, 二者交互作用对水体 NH₄⁺ 含量的影响在 0.05 水平具有统计学意义。6 个处理组的水蕴草生长量均为负值; 在同一 CO₂ 流量下, 1 和 6 mg · L⁻¹ NH₄⁺ 处理组间的水蕴草生长量差异较小, 而在同一 NH₄⁺ 质量浓度下, 低流量和高流量 CO₂ 处理组的水蕴草生长量显著低于环境 CO₂ 处理组; 并且, 仅 CO₂ 流量对水蕴草生长量的影响在 0.001 水平具有统计学意义。4 个复合胁迫处理组水蕴草的叶绿素含量均随胁迫时间延长呈现先升高后降低的变化趋势; 与环境 CO₂ 处理组相比, 整体而言, 4 个复合胁迫处理组水蕴草的超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性在胁迫 3 d 时显著下降、在胁迫 10 和 17 d 时显著升高, 过氧化氢酶活性在胁迫 3、10、17 d 时升高; 在同一 NH₄⁺ 质量浓度下, 高流量 CO₂ 处理组水蕴草的 MDA 含量在胁迫 10 和 17 d 时显著低于低流量 CO₂ 处理组。总体来看, 在同一 NH₄⁺ 质量浓度下, 低流量和高流量 CO₂ 处理组水蕴草的谷氨酰胺合成酶 (GS)、谷氨酸合酶和谷氨酸脱氢酶 (GDH) 活性在胁迫 3 d 时高于环境 CO₂ 处理组, 而 GS、GDH、核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶和碳酸酐酶活性在胁迫 10 和 17 d 时低于环境 CO₂ 处理组。以上研究结果显示: CO₂ 浓度升高可促进水蕴草的碳氮协同代谢, 从而缓解水中 NH₄⁺ 对水蕴草的毒性效应, 但随着胁迫时间延长, 溶解在水中的 HCO₃⁻ 不断累积, 导致水体酸化, 反而加剧了 NH₄⁺ 对水蕴草的毒性效应。

关键词: 水蕴草; CO₂; NH₄⁺; 复合胁迫; 双因素方差分析; 碳氮代谢

中图分类号: Q945.78; X171.4; X52 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2025)02-0011-11

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2025.02.02

Effects of NH₄⁺ and CO₂ combined stress on *Elodea densa* and its growing water body CHANG Yajun¹, WANG Wei^{1,2}, LIU Jixiang¹, LI Yunhan¹, SUN Linhe¹, YAO Dongrui^{1,①} [1. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences (Nanjing Botanical Garden, Mem. Sun Yat-Sen), Nanjing 210014, China; 2. College of Ecology and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China], *J. Plant Resour. & Environ.*, 2025, 34(2): 11-21

Abstract: To explore the response mechanism of *Elodea densa* (Planch.) Casp. to NH₄⁺ stress of water body under the background of elevating atmospheric CO₂ concentration, two NH₄⁺ mass concentration levels (1 and 6 mg · L⁻¹) and three CO₂ flow rate levels (0.0, 0.4, and 1.0 m³ · h⁻¹, corresponding to ambient CO₂, low flow rate of CO₂, and high flow rate of CO₂, respectively) were set, the physical and

收稿日期: 2024-12-11

基金项目: 江苏省省属公益类科研院所自主科研课题 (BM2018021-6); 江苏省“六大人才高峰”高层次人才项目 (TD-JNHB-008)

作者简介: 常雅军 (1980—), 女, 甘肃天水人, 博士, 副研究员, 主要从事水生植物资源与环境方面的研究工作。

① 通信作者 E-mail: 498430769@qq.com

引用格式: 常雅军, 王 巍, 刘吉祥, 等. NH₄⁺ 和 CO₂ 复合胁迫对水蕴草及其生长水体的影响 [J]. 植物资源与环境学报, 2025, 34(2): 11-21.

chemical indexes of water body and growth increment and physiological and biochemical indexes [including chlorophyll content, antioxidant enzyme activities, malonaldehyde (MDA) content, and activities of key enzymes in carbon and nitrogen metabolisms] of *E. densa* in six treatment groups at 0, 3, 10, and 17 d of stress were compared and analyzed by using two-factor analysis of variance. The results show that, compared with 0 d of stress and NH_4^+ single stress treatment group, at 3, 10, and 17 d of stress, the dissolved oxygen content and pH value of the water body in the four combined stress treatment groups significantly ($P < 0.05$) decrease, while the electric conductivity, oxidation-reduction potential, salinity, NH_4^+ content, and HCO_3^- content mostly increase significantly, in addition, the effects of CO_2 flow rate on the above indexes of water body and the effect of NH_4^+ mass concentration on the NH_4^+ content in the water body are statistically significant at the 0.001 level, and the effect of their interaction on the NH_4^+ content in the water body is statistically significant at the 0.05 level. The growth increments of *E. densa* in the six treatment groups are all negative; under the same CO_2 flow rate, the difference in growth increment of *E. densa* between 1 and 6 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NH_4^+ treatment groups is relatively small, while under the same NH_4^+ mass concentration, the growth increments of *E. densa* in the low and high CO_2 flow rate treatment groups are both significantly lower than that in the ambient CO_2 treatment group; moreover, only the effect of CO_2 flow rate on the growth increment of *E. densa* is statistically significant at the 0.001 level. The chlorophyll content of *E. densa* in the four combined stress treatment groups show a variation tendency of first increase and then decrease with the elongation of stress time; compared with the ambient CO_2 treatment group, on the whole, the activities of superoxide dismutase and peroxidase of *E. densa* in the four combined stress treatment groups significantly decrease at 3 d of stress and significantly increase at 10 and 17 d of stress, while the catalase activity increases at 3, 10, and 17 d of stress; under the same NH_4^+ mass concentration, the MDA content of *E. densa* in the high CO_2 flow rate treatment group is significantly lower than that in the low CO_2 flow rate treatment group at 10 and 17 d of stress. Overall, under the same NH_4^+ mass concentration, the activities of glutamine synthetase (GS), glutamate synthase, and glutamate dehydrogenase (GDH) of *E. densa* in the low and high CO_2 flow rate treatment groups are higher than those in the ambient CO_2 treatment group at 3 d of stress, while the activities of GS, GDH, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activity, and carbonic anhydrase are lower than those in the ambient CO_2 treatment group at 10 and 17 d of stress. The above results suggested that elevated CO_2 concentration can promote the synergistic carbon-nitrogen metabolism of *E. densa*, thereby alleviating the toxic effect of NH_4^+ in water on *E. densa*, but with the elongation of stress time, the dissolved HCO_3^- in water accumulates, leading to water body acidification, which in turn exacerbates the toxic effect of NH_4^+ on *E. densa*.

Key words: *Elodea densa* (Planch.) Casp.; CO_2 ; NH_4^+ ; combined stress; two-factor analysis of variance; carbon and nitrogen metabolism

工业革命以来,大气 CO_2 浓度持续上升^[1],改变了陆地生态系统碳循环,进而影响植物的生理生态过程^[2]。研究发现,植物可通过提高水分利用效率、降低气孔导度及优化根系结构等方式响应大气 CO_2 浓度升高的胁迫环境^[3]。大气 CO_2 浓度升高可改变水体的无机碳水平,重构水生生态系统的碳循环格局^[4],进而影响水生植物生长。沉水植物为水生生态系统的核心组份,具有调节溶解氧浓度、净化水质、抑制富营养化及维持生物多样性等功能,对水生生态系统稳定具有不可替代的作用^[5-6]。

湖泊/水库为沉水植物的重要生境,其沉积物“源—汇”平衡易受环境变化或人为干扰影响,可能引发水体二次污染^[7-8]。氮素为湿地沉积物营养水

平的一个指示因子,可显著驱动湿地水体的富营养化进程^[9]。虽然铵态氮 ($\text{NH}_4^+ - \text{N}$) 是植物的直接氮源,但其过量积累会对植物产生一定的毒害效应^[10]。如今,面源污染输入与内源释放导致的 NH_4^+ 富集已对沉水植物生存构成严重威胁^[9-10]。沉水植物为水生生态系统的初级生产者,关于其对 NH_4^+ 胁迫和 CO_2 交互作用下的生长和生理生化响应尚不清楚,这不利于湖泊/水库水下森林构建、富营养化水体生物修复和水生生态系统管护。

水蕴草 [*Elodea densa* (Planch.) Casp.] 为典型的沉水植物,具有构建水下森林、强化水体自净能力、维持生态平衡等生态功能,被广泛应用于水生生态修复工程^[11-12]。然而,目前关于大气 CO_2 浓度升高背景下

水蕴草对 NH_4^+ 胁迫的响应机制尚不明确,制约着水蕴草在富营养化水体生态修复方面的应用。为了探明究竟是 CO_2 浓度升高通过促进碳氮协同代谢缓解水蕴草的 NH_4^+ 毒性效应还是 CO_2 溶解导致的水体酸化加剧水蕴草的 NH_4^+ 毒性效应亦或是这 2 种机制的交互作用,本研究比较分析了不同水平 CO_2 和 NH_4^+ 复合胁迫下水蕴草生长水体的物理化学指标及植株的生长和生理生化指标,以期为水生生态系统适应性管理及富营养化治理提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试水蕴草由宜兴千禾生态科技有限公司提供,株龄约 3 个月。选取生长苗壮的水蕴草,清洗后置于温度 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 、光照度 $2\ 000\ \text{lx}$ 、光照时间 $14\ \text{h}\cdot\text{d}^{-1}$ 的条件下培养。待植株长出新芽后,取 $15\ \text{g}$ 左右水蕴草,使用分析天平(精度 $0.01\ \text{g}$)精确称量(始质量)后种植于装有 $1/10$ Hoagland 营养液的圆柱形水缸(内径 $18\ \text{cm}$ 、高 $60\ \text{cm}$ 、缸底 $4\ \text{kg}$ 泥沙)中,培养条件同上。

1.2 方法

1.2.1 实验设计 根据相关研究结果(水蕴草在大于或等于 $1\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NH_4^+ 条件下会出现胁迫响应^[11-12]), NH_4^+ 质量浓度设置 2 个水平,分别为 1 和 $6\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。 CO_2 流量设置 3 个水平,分别为环境 CO_2 (未通入 CO_2 , 即 CO_2 流量为 $0.0\ \text{m}^3\cdot\text{h}^{-1}$)、低流量 CO_2 ($0.4\ \text{m}^3\cdot\text{h}^{-1}$) 和高流量 CO_2 ($1.0\ \text{m}^3\cdot\text{h}^{-1}$)。2 个因素各水平相互组合,共组成 6 个处理组,即 2 个 NH_4^+ 单一胁迫处理组和 4 个复合胁迫处理组,每组设 3 个生物学重复。实验期间,先配制 $5.2\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ NH_4Cl 母液,再按设置的 NH_4^+ 质量浓度水平向缸中添加相应体积的 NH_4Cl 母液;采用 CO_2 气体罐供给 CO_2 , 通过玻璃转子流量计控制流量大小,分别在每天 9:30—10:30 和 14:30—15:30 利用水面下 $20\ \text{cm}$ 处的泵头将体积分数 100% CO_2 通入水体中。在通入 CO_2 0、3、10 和 17 d 的 9:00 采集各处理组的水和水蕴草样品,采样量分别为 $0.1\ \text{L}$ 和 $0.5\ \text{g}$ 。将采集的水蕴草的茎和叶迅速放入液氮中冷冻,并保存在 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中。若取样时间与 CO_2 通入时间冲突,则先取样再通入 CO_2 。

1.2.2 水体物理化学指标测定 每次采样前,用 YSI

ProPlus 便携式多参数水质分析仪(美国 YSI 公司)在水面下 $20\ \text{cm}$ 处监测水体的 pH 值、溶解氧含量、氧化还原电位、盐度和电导率。水样采集后必须在 $2\ \text{h}$ 内送回实验室,一部分用于 HCO_3^- 含量测定^[13],另一部分通过 $0.45\ \mu\text{m}$ 水系滤膜(天津腾仪器有限公司)过滤后,用于 NH_4^+ 含量测定^[14]。

1.2.3 水蕴草叶绿素含量测定 取水蕴草样品 $0.1\ \text{g}$,加入无水乙醇 $5\ \text{mL}$,使叶片完全浸于无水乙醇中,密封后置于黑暗处浸提,期间摇动 2 次。当叶片完全变白时,测定波长 663 和 $645\ \text{nm}$ 下提取液的光密度(OD),并计算叶绿素含量^{[15]21-25}。

1.2.4 水蕴草酶活性及丙二醛含量测定 取水蕴草样品 $100\ \text{mg}$,液氮中研磨成粉状,用于粗酶液提取。其中,用于测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性,丙二醛(MDA)含量以及谷氨酰胺合成酶(GS)、谷氨酸合酶(GOGAT)和谷氨酸脱氢酶(GDH)活性的粗酶液使用 $2\ \text{mL}\ 0.2\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS 缓冲液(pH 7.0)提取^{[15]51-54};用于测定核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶(Rubisco)和碳酸酐酶(CA)活性的粗酶液使用 $2\ \text{mL}\ 0.05\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl 缓冲液(pH 8.2)提取^[16]。上述指标测定均采用 96T 酶联免疫分析(ELISA)试剂盒(南京森贝伽生物科技有限公司)完成。

1.2.5 水蕴草生长量测定 实验结束(胁迫 17 d)时,收取全部水蕴草,用清水洗净后,吸水纸吸干表面水分,使用分析天平称量终质量,用终质量减去始质量,差值即生长量。

1.3 数据统计分析

采用 WPS Office 2024 软件和 Origin 2021 软件进行数据处理和图表绘制,采用 SPSS 26.0 软件对数据进行显著性分析。

2 结果和分析

2.1 NH_4^+ 和 CO_2 复合胁迫对水蕴草生长水体物理化学指标的影响

2.1.1 水体物理化学指标的比较 各处理组水蕴草生长水体的物理化学指标统计结果见表 1。结果显示:随着胁迫时间延长,6 个处理组的溶解氧含量变化各异,pH 值呈“降—升—降”的变化趋势,并且,各处理组的溶解氧含量和 pH 值在胁迫 3、10 和 17 d 时均显著($P<0.05$)低于胁迫 0 d。在同一 NH_4^+ 质量浓

度下,胁迫3、10和17 d时,溶解氧含量和pH值基本上随着CO₂流量升高而下降,并且,低流量(0.4 m³·h⁻¹)和高流量(1.0 m³·h⁻¹)CO₂处理组的溶解氧含量和pH值均显著低于环境(0.0 m³·h⁻¹)CO₂处理组。在同一CO₂流量下,胁迫3、10和17 d时

6 mg·L⁻¹ NH₄⁺处理组的溶解氧含量和pH值基本上低于1 mg·L⁻¹ NH₄⁺处理组。

总体来看,随着胁迫时间延长,6个处理组的电导率和盐度呈先升后降的变化趋势,氧化还原电位呈“升—降—升”的变化趋势,NH₄⁺含量变化各异,4个

表1 NH₄⁺和CO₂复合胁迫对水蕴草生长水体物理化学指标的影响($\bar{X}\pm SE$)¹⁾

Table 1 Effects of NH₄⁺ and CO₂ combined stress on physical and chemical indexes of water body for the growth of *Elodea densa* (Planch.) Casp. ($\bar{X}\pm SE$)¹⁾

NH ₄ ⁺ 质量浓度/(mg·L ⁻¹) NH ₄ ⁺ mass concentration	CO ₂ 流量/(m ³ ·h ⁻¹) CO ₂ flow rate	不同时间的溶解氧含量/(mg·L ⁻¹) Dissolved oxygen content at different times			
		0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	7.99±0.06a	7.96±0.28a	6.64±0.32a *	6.85±0.21a *
1	0.4	7.99±0.06a	2.57±0.07b *	2.78±0.21b *	2.33±0.02b *
1	1.0	7.99±0.06a	2.04±0.01b *	0.96±0.10c *	1.93±0.17b *
6	0.0	7.69±0.16a	7.38±0.17a	5.06±0.10a *	3.34±0.22a *
6	0.4	7.69±0.16a	2.05±0.29b *	2.25±0.72b *	1.85±0.12b *
6	1.0	7.69±0.16a	1.63±0.08b *	0.53±0.06b *	1.36±0.24b *
NH ₄ ⁺ 质量浓度/(mg·L ⁻¹) NH ₄ ⁺ mass concentration	CO ₂ 流量/(m ³ ·h ⁻¹) CO ₂ flow rate	不同时间的pH值 pH value at different times			
		0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	7.74±0.10a	7.51±0.10a *	8.25±0.04a *	7.68±0.02a
1	0.4	7.74±0.10a	5.52±0.02b *	6.42±0.05b *	5.69±0.04b *
1	1.0	7.74±0.10a	5.49±0.03b *	6.27±0.04b *	5.78±0.09b *
6	0.0	7.93±0.01a	7.67±0.03a *	8.24±0.05a *	7.30±0.03a *
6	0.4	7.93±0.01a	5.51±0.01b *	6.36±0.08b *	5.74±0.07b *
6	1.0	7.93±0.01a	5.45±0.04b *	6.27±0.04b *	5.52±0.03c *
NH ₄ ⁺ 质量浓度/(mg·L ⁻¹) NH ₄ ⁺ mass concentration	CO ₂ 流量/(m ³ ·h ⁻¹) CO ₂ flow rate	不同时间的电导率/(μS·cm ⁻¹) Electric conductivity at different times			
		0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	510.43±13.33a	488.70±4.99c *	504.67±3.18c	554.00±0.58c *
1	0.4	510.43±13.33a	599.00±11.06b *	692.67±12.78b *	564.00±0.58b *
1	1.0	510.43±13.33a	616.67±11.46a *	749.67±24.94a *	572.67±0.33a *
6	0.0	511.33±14.10a	543.33±11.10b *	563.00±13.43c *	558.67±0.33c *
6	0.4	511.33±14.10a	648.67±10.73a *	740.00±8.33b *	568.33±0.33b *
6	1.0	511.33±14.10a	653.33±2.96a *	778.33±9.39a *	579.67±0.33a *
NH ₄ ⁺ 质量浓度/(mg·L ⁻¹) NH ₄ ⁺ mass concentration	CO ₂ 流量/(m ³ ·h ⁻¹) CO ₂ flow rate	不同时间的氧化还原电位/mV Oxidation-reduction potential at different times			
		0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	198.25±3.95a	199.13±3.28c	157.97±0.55b *	230.00±3.00c *
1	0.4	198.25±3.95a	246.67±1.04b *	211.20±3.38a *	359.67±10.33b *
1	1.0	198.25±3.95a	253.60±0.20a *	206.03±0.49a *	425.33±1.76a *
6	0.0	187.63±0.49a	191.77±1.53c *	155.17±0.71c *	211.67±0.88b *
6	0.4	187.63±0.49a	253.90±0.47a *	220.00±2.88a *	365.00±10.12a *
6	1.0	187.63±0.49a	250.40±0.12b *	200.70±1.16b *	140.33±70.21c *
NH ₄ ⁺ 质量浓度/(mg·L ⁻¹) NH ₄ ⁺ mass concentration	CO ₂ 流量/(m ³ ·h ⁻¹) CO ₂ flow rate	不同时间的盐度/% Salinity at different times			
		0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	0.027±0.000a	0.026±0.000b *	0.027±0.000c	0.030±0.000a *
1	0.4	0.027±0.000a	0.032±0.001a *	0.037±0.001b *	0.031±0.001a *
1	1.0	0.027±0.000a	0.033±0.001a *	0.040±0.001a *	0.030±0.000a *
6	0.0	0.029±0.001a	0.029±0.001b	0.030±0.001c *	0.032±0.001a *
6	0.4	0.029±0.001a	0.035±0.001a *	0.039±0.000b *	0.030±0.002a *
6	1.0	0.029±0.001a	0.035±0.000a *	0.041±0.000a *	0.031±0.000a *

续表1 Table 1 (Continued)

NH_4^+ 质量浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) NH_4^+ mass concentration	CO_2 流量/($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$) CO_2 flow rate	不同时间的 NH_4^+ 含量/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) NH_4^+ content at different times			
		0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	0.66±0.02a	0.46±0.02c *	0.00±0.00c *	0.00±0.00c *
1	0.4	0.66±0.02a	0.63±0.01b	0.74±0.01b *	0.83±0.01b *
1	1.0	0.66±0.02a	0.72±0.02a *	0.86±0.00a *	0.94±0.03a *
6	0.0	4.33±0.08a	3.84±0.04b *	1.11±0.10c *	0.00±0.00c *
6	0.4	4.33±0.08a	4.48±0.09a	3.69±0.10b *	3.24±0.06b *
6	1.0	4.33±0.08a	4.65±0.11a *	4.75±0.09a *	5.86±0.05a *

NH_4^+ 质量浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) NH_4^+ mass concentration	CO_2 流量/($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$) CO_2 flow rate	不同时间的 HCO_3^- 含量/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) HCO_3^- content at different times			
		0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	149.49±10.68a	146.95±2.83b	148.98±2.22c	130.17±3.67c *
1	0.4	149.49±10.68a	170.34±9.17a *	263.39±2.22b *	298.48±4.52b *
1	1.0	149.49±10.68a	186.61±2.22a *	302.54±6.73a *	354.41±2.22a *
6	0.0	154.32±5.38a	125.09±1.76c *	158.64±4.66c	117.46±2.33c *
6	0.4	154.32±5.38a	172.37±2.33b *	255.76±2.22b *	293.90±2.22b *
6	1.0	154.32±5.38a	190.17±4.43a *	306.10±1.83a *	360.51±3.09a *

¹⁾ 同列中不同小写字母表示在同一 NH_4^+ 质量浓度下不同 CO_2 处理组间的差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant differences ($P < 0.05$) between different CO_2 treatment groups under the same NH_4^+ mass concentration. * : 表示与胁迫 0 d 的差异显著 ($P < 0.05$) Representing the significant difference ($P < 0.05$) with 0 d of stress.

复合胁迫处理组的 HCO_3^- 含量逐渐升高; 并且, 胁迫 3、10 和 17 d 时各处理组的电导率、氧化还原电位、盐度、 NH_4^+ 含量和 HCO_3^- 含量与胁迫 0 d 的差异显著。在同一 NH_4^+ 质量浓度下, 胁迫 3、10 和 17 d 时, 电导率、盐度、 NH_4^+ 含量和 HCO_3^- 含量总体上随着 CO_2 流量升高而升高, 氧化还原电位则总体上表现为在低流量 CO_2 处理组最高, 并且, 低流量和高流量 CO_2 处理组的指标数值总体上显著高于环境 CO_2 处理组。在同一 CO_2 流量下, 胁迫 3、10 和 17 d 时, $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

NH_4^+ 处理组的电导率、盐度、 NH_4^+ 含量和 HCO_3^- 含量总体上高于 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NH_4^+ 处理组, 氧化还原电位则在低流量 CO_2 下高于 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NH_4^+ 处理组、在高流量 CO_2 下低于 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NH_4^+ 处理组。

2.1.2 双因素方差分析 分析结果(表 2)显示: NH_4^+ 质量浓度对水体 NH_4^+ 含量的影响在 0.001 水平具有统计学意义, CO_2 流量对 7 个水体物理化学指标的影响均在 0.001 水平具有统计学意义, 二者交互作用对水体 NH_4^+ 含量的影响在 0.05 水平具有统计学意义。

表 2 NH_4^+ 和 CO_2 复合胁迫对水蕴草生长水体物理化学指标影响的双因素方差分析¹⁾

Table 2 Two-factor analysis of variance on the effects of NH_4^+ and CO_2 combined stress on physical and chemical indexes of water body for the growth of *Elodea densa* (Planch.) Casp.¹⁾

因子 Factor	各指标的 F 值 F value of each index						
	溶解氧含量 Dissolved oxygen content	pH 值 pH value	电导率 Electric conductivity	氧化还原电位 Oxidation-reduction potential	盐度 Salinity	NH_4^+ 含量 NH_4^+ content	HCO_3^- 含量 HCO_3^- content
A	0.946	0.000	1.874	3.218	1.018	207.156 ***	0.016
B	13.140 ***	25.578 ***	10.015 ***	8.203 ***	9.344 ***	15.569 ***	19.580 ***
A×B	0.564	0.005	0.034	1.885	0.096	5.786 *	0.027

¹⁾ A: NH_4^+ 质量浓度 NH_4^+ mass concentration; B: CO_2 流量 CO_2 flow rate. * : $P < 0.05$; *** : $P < 0.001$.

2.2 NH_4^+ 和 CO_2 复合胁迫对水蕴草生长量和生理生化指标的影响

2.2.1 水蕴草生长量和叶绿素含量的比较 从各处理组水蕴草生长量(表 3)看, 6 个处理组的生长量均

为负值。在同一 NH_4^+ 质量浓度下, 生长量随着 CO_2 流量升高而下降, 并且, 在 3 个 CO_2 流量处理组间差异显著 ($P < 0.05$)。但是, 在同一 CO_2 流量下, 1 和 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NH_4^+ 处理组的生长量差异较小。

从各处理组水蕴草叶绿素含量(表3)看,胁迫3、10和17 d时各处理组的叶绿素含量基本上显著高于胁迫0 d,并且,4个复合胁迫处理组的叶绿素含量均随着胁迫时间延长呈现先升后降的变化趋势。在同一 NH_4^+ 质量浓度下,胁迫3 d时低流量(0.4

$\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$) CO_2 处理组的叶绿素含量最高;胁迫10和17 d时4个复合胁迫处理组的叶绿素含量总体上随着 CO_2 流量升高而下降。在同一 CO_2 流量下,胁迫3、10和17 d时 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ 处理组的叶绿素含量多低于 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ 处理组。

表3 NH_4^+ 和 CO_2 复合胁迫对水蕴草生长量和叶绿素含量的影响($\bar{X} \pm \text{SE}$)¹⁾

Table 3 Effects of NH_4^+ and CO_2 combined stress on growth increment and chlorophyll content of *Elodea densa* (Planch.) Casp. ($\bar{X} \pm \text{SE}$)¹⁾

NH_4^+ 质量浓度/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) NH_4^+ mass concentration	CO_2 流量/ ($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$) CO_2 flow rate	生长量/g Growth increment	不同时间的叶绿素含量/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) Chlorophyll content at different times			
			0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	-3.22±0.29a	0.19±0.01a	0.30±0.01b*	0.32±0.01a*	0.37±0.03a*
1	0.4	-6.27±0.19b	0.19±0.01a	0.45±0.03a*	0.27±0.01b*	0.24±0.02b*
1	1.0	-8.45±1.01c	0.19±0.01a	0.32±0.01b*	0.34±0.01a*	0.24±0.01b*
6	0.0	-4.25±0.42a	0.19±0.01a	0.31±0.00a*	0.43±0.03a*	0.46±0.03a*
6	0.4	-6.27±0.52b	0.19±0.01a	0.37±0.08a*	0.41±0.00a*	0.26±0.03b
6	1.0	-8.18±0.53c	0.19±0.01a	0.28±0.02a*	0.26±0.01b*	0.17±0.01c

¹⁾ 同列中不同小写字母表示在同一 NH_4^+ 质量浓度下不同 CO_2 处理组间的差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant differences ($P < 0.05$) between different CO_2 treatment groups under the same NH_4^+ mass concentration. *: 表示与胁迫0 d的差异显著 ($P < 0.05$) Representing the significant difference ($P < 0.05$) with 0 d of stress.

2.2.2 水蕴草抗氧化酶活性和丙二醛含量的比较
各处理组水蕴草抗氧化酶活性和丙二醛含量的统计结果见表4。由表4可见,总体来看,与胁迫0 d相比,各处理组的超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量在胁迫3、10和17 d显著降低,而过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性却在胁迫3、10和17 d显著升高。与环境($0.0 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$) CO_2 处理组

相比,在同一 NH_4^+ 质量浓度下,胁迫3 d时,低流量和高流量($1.0 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$) CO_2 处理组的SOD和POD活性显著下降,CAT活性显著升高,MDA含量则在低流量 CO_2 处理组下降,在高流量 CO_2 处理组升高;胁迫10和17 d时,低流量和高流量 CO_2 处理组的SOD、POD和CAT活性总体上均高于环境 CO_2 处理组,而MDA含量却总体上低于环境 CO_2 处理组。在低流量

表4 NH_4^+ 和 CO_2 复合胁迫对水蕴草抗氧化酶活性和丙二醛含量的影响($\bar{X} \pm \text{SE}$)¹⁾

Table 4 Effects of NH_4^+ and CO_2 combined stress on antioxidant enzyme activities and malonaldehyde content in *Elodea densa* (Planch.) Casp. ($\bar{X} \pm \text{SE}$)¹⁾

NH_4^+ 质量浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) NH_4^+ mass concentration	CO_2 流量/($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$) CO_2 flow rate	不同时间的超氧化物歧化酶活性/($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$) Superoxide dismutase activity at different times			
		0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	31.38±0.74a	39.56±1.50a*	17.04±0.67c*	17.83±0.27b*
1	0.4	31.38±0.74a	32.13±0.71b*	22.00±0.59b*	19.97±0.02b*
1	1.0	31.38±0.74a	13.75±1.35c*	28.02±1.60a*	23.09±0.72a*
6	0.0	31.38±0.74a	22.99±1.99a*	22.28±1.00b*	25.91±1.26a*
6	0.4	31.38±0.74a	17.85±1.44b*	31.09±1.41a	24.17±0.69a*
6	1.0	31.38±0.74a	15.76±0.67b*	23.72±0.46b*	24.13±0.14a*

NH_4^+ 质量浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) NH_4^+ mass concentration	CO_2 流量/($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$) CO_2 flow rate	不同时间的过氧化物酶活性/($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$) Peroxidase activity at different times			
		0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	11.20±0.36a	23.12±0.12a*	11.21±0.63b	12.03±0.69c
1	0.4	11.20±0.36a	19.82±0.79b*	16.89±0.56a*	14.88±0.34b*
1	1.0	11.20±0.36a	11.25±1.61c	19.28±1.87a*	21.27±0.48a*
6	0.0	11.20±0.36a	24.89±0.49a*	19.17±0.50a*	12.60±0.46b*
6	0.4	11.20±0.36a	17.01±0.61b*	21.03±0.75a*	16.90±1.09a*
6	1.0	11.20±0.36a	18.94±1.02b*	16.28±0.25b*	17.91±0.10a*

续表4 Table 4 (Continued)

NH_4^+ 质量浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) NH_4^+ mass concentration	CO_2 流量/($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$) CO_2 flow rate	不同时间的过氧化氢酶活性/($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$) Catalase activity at different times			
		0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	1.02±0.02a	15.76±1.19b*	12.77±0.46a*	10.11±0.58b*
1	0.4	1.02±0.02a	19.45±0.13a*	16.20±1.79a*	13.68±0.67a*
1	1.0	1.02±0.02a	18.35±0.35a*	14.80±0.46a*	15.68±0.14a*
6	0.0	1.02±0.02a	11.92±0.72b*	10.80±1.49a*	9.15±0.36c*
6	0.4	1.02±0.02a	20.19±1.19a*	11.80±0.94a*	19.22±0.08a*
6	1.0	1.02±0.02a	17.75±0.58a*	8.44±0.32b*	14.46±0.36b*

NH_4^+ 质量浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) NH_4^+ mass concentration	CO_2 流量/($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$) CO_2 flow rate	不同时间的丙二醛含量/($\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) Malonaldehyde content at different times			
		0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	5.32±0.26a	4.23±0.25ab*	4.24±0.25b*	2.24±0.79a*
1	0.4	5.32±0.26a	3.44±0.20b*	5.40±0.18a	2.91±0.26a*
1	1.0	5.32±0.26a	4.43±0.01a*	4.11±0.31b*	0.93±0.02b*
6	0.0	5.32±0.26a	2.49±0.10b*	6.04±0.03a*	2.77±0.09a*
6	0.4	5.32±0.26a	1.06±0.09c*	6.39±0.20a*	2.59±0.16a*
6	1.0	5.32±0.26a	2.83±0.10a*	4.77±0.08b*	0.56±0.12b*

¹⁾ 同列中不同小写字母表示在同一 NH_4^+ 质量浓度下不同 CO_2 处理组间的差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant differences ($P < 0.05$) between different CO_2 treatment groups under the same NH_4^+ mass concentration. * : 表示与胁迫 0 d 的差异显著 ($P < 0.05$) Representing the significant difference ($P < 0.05$) with 0 d of stress.

CO_2 下, $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ 处理组的 SOD 和 POD 活性在胁迫 3 d 时低于 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ 处理组,但在胁迫 10 和 17 d 时却高于 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ 处理组;而在高流量 CO_2 下, $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ 处理组的 SOD 和 POD 活性在胁迫 3 d 时高于 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ 处理组,但在胁迫 10 和 17 d 时却低于 NH_4^+ 处理组;在同一 CO_2 流量下,胁迫 3、10 和 17 d 时 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ 处理组的 CAT 活性和 MDA 含量总体上均低于 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ 处理组。

2.2.3 水蕴草碳氮代谢关键酶活性的比较 各处理组水蕴草碳氮代谢关键酶活性的统计结果见表 5。由表 5 可见,总体来看,与胁迫 0 d 相比,各处理组的谷氨酰胺合成酶(GS)和谷氨酸合酶(GOGAT)活性

在胁迫 3、10 和 17 d 时显著升高,谷氨酸脱氢酶(GDH)活性在胁迫 3、10 和 17 d 时下降,核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶(Rubisco)活性在胁迫 3 和 10 d 时显著下降、在胁迫 17 d 时显著升高,碳酸酐酶(CA)活性在不同胁迫时间的变化较为复杂,但在胁迫 17 d 时基本上表现为下降。总体来看, $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ 下低流量 CO_2 处理组的 GS 活性高于环境 CO_2 处理组, $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ 下高流量 CO_2 处理组及 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ 下的低流量和高流量 CO_2 处理组的 GS 活性均低于环境 CO_2 处理组;在同一 NH_4^+ 质量浓度下,低流量和高流量 CO_2 处理组的 GOGAT 活性高于环境 CO_2 处理组, Rubisco 活性低于环境 CO_2 处理组; $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ 下低流量 CO_2 处理组的 GDH 活性和

表 5 NH_4^+ 和 CO_2 胁迫对水蕴草碳氮代谢关键酶活性的影响 ($\bar{X} \pm SE$)¹⁾

Table 5 Effects of NH_4^+ and CO_2 stress on activities of key enzymes in carbon and nitrogen metabolism of *Elodea densa* (Planch.) Casp. ($\bar{X} \pm SE$)¹⁾

NH_4^+ 质量浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) NH_4^+ mass concentration	CO_2 流量/($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$) CO_2 flow rate	不同时间的谷氨酰胺合成酶活性/($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$) Glutamine synthetase activity at different times			
		0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	19.17±0.45a	27.13±0.50b*	32.99±0.97a*	35.44±1.66a*
1	0.4	19.17±0.45a	33.08±1.52a*	34.85±2.77a*	30.50±0.75b*
1	1.0	19.17±0.45a	25.90±0.43b*	24.38±2.93b*	38.71±0.81a*
6	0.0	19.17±0.45a	11.05±1.62b*	41.48±2.09a*	36.16±0.88a*
6	0.4	19.17±0.45a	40.38±1.06a*	27.73±0.74b*	28.86±0.91b*
6	1.0	19.17±0.45a	9.45±0.60b*	27.69±0.82b*	24.59±0.67c*

续表5 Table 5 (Continued)

NH ₄ ⁺ 质量浓度/(mg · L ⁻¹) NH ₄ ⁺ mass concentration	CO ₂ 流量/(m ³ · h ⁻¹) CO ₂ flow rate	不同时间的谷氨酸合酶活性/(μmol · min ⁻¹ · L ⁻¹) Glutamate synthase activity at different times			
		0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	33.32±1.78a	45.99±1.56ab *	34.26±0.27b	35.89±1.13b
1	0.4	33.32±1.78a	53.72±2.87a *	56.96±2.07a *	46.83±0.95a *
1	1.0	33.32±1.78a	39.27±0.51b *	59.18±6.92a *	48.84±0.09a *
6	0.0	33.32±1.78a	24.22±1.88b *	42.03±3.61a *	36.41±0.73b
6	0.4	33.32±1.78a	30.79±0.28b	48.83±2.50a *	58.93±2.69a *
6	1.0	33.32±1.78a	43.06±2.05a *	38.84±1.40a *	53.34±2.16a *
NH ₄ ⁺ 质量浓度/(mg · L ⁻¹) NH ₄ ⁺ mass concentration	CO ₂ 流量/(m ³ · h ⁻¹) CO ₂ flow rate	不同时间的谷氨酸脱氢酶活性/(μmol · min ⁻¹ · L ⁻¹) Glutamate dehydrogenase activity at different times			
		0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	900.56±157.23a	952.59±52.68b	1 023.18±57.31a	909.50±70.33a
1	0.4	900.56±157.23a	1 465.45±81.97a *	1 079.44±39.31a	757.35±40.43ab
1	1.0	900.56±157.23a	695.51±111.15b	527.67±51.80b *	587.38±28.78b *
6	0.0	900.56±157.23a	554.42±57.61b *	1 121.19±38.28a	863.82±26.60a
6	0.4	900.56±157.23a	556.35±29.83b *	855.06±34.47b	775.58±50.90a
6	1.0	900.56±157.23a	773.81±66.39a	824.32±26.23b	549.27±0.81b *
NH ₄ ⁺ 质量浓度/(mg · L ⁻¹) NH ₄ ⁺ mass concentration	CO ₂ 流量/(m ³ · h ⁻¹) CO ₂ flow rate	不同时间的核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶活性/(μmol · min ⁻¹ · L ⁻¹) Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activity at different times			
		0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	297.10±23.67a	399.95±7.99a *	155.22±7.96a *	595.21±30.98a *
1	0.4	297.10±23.67a	162.61±4.89b *	173.17±15.04a *	431.60±14.90b *
1	1.0	297.10±23.67a	239.30±41.96b *	198.07±12.52a *	429.46±20.38b *
6	0.0	297.10±23.67a	227.16±10.95a *	291.15±21.71a	514.43±19.96a *
6	0.4	297.10±23.67a	249.44±2.69a *	226.09±9.34b *	379.47±16.83b *
6	1.0	297.10±23.67a	122.36±7.45b *	226.09±3.67b *	392.48±52.72b *
NH ₄ ⁺ 质量浓度/(mg · L ⁻¹) NH ₄ ⁺ mass concentration	CO ₂ 流量/(m ³ · h ⁻¹) CO ₂ flow rate	不同时间的碳酸酐酶活性/(μmol · min ⁻¹ · L ⁻¹) Carbonic anhydrase activity at different times			
		0 d	3 d	10 d	17 d
1	0.0	134.03±3.48a	229.75±0.70a *	158.40±1.99a *	138.74±3.41a
1	0.4	134.03±3.48a	186.14±2.46b *	117.43±4.85b *	96.19±3.45b *
1	1.0	134.03±3.48a	232.41±9.45a *	157.91±10.07a *	106.13±2.81b *
6	0.0	134.03±3.48a	80.63±10.20b *	167.55±7.69a *	120.49±6.19a
6	0.4	134.03±3.48a	80.85±5.84b *	142.01±5.04b	95.50±2.10b *
6	1.0	134.03±3.48a	124.34±8.14a	130.39±2.55b	124.04±1.08a

1) 同列中不同小写字母表示在同一 NH₄⁺ 质量浓度下不同 CO₂ 处理组间的差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant differences ($P < 0.05$) between different CO₂ treatment groups under the same NH₄⁺ mass concentration. *: 表示与胁迫 0 d 的差异显著 ($P < 0.05$) Representing the significant difference ($P < 0.05$) with 0 d of stress.

6 mg · L⁻¹ NH₄⁺ 下高流量 CO₂ 处理组的 CA 活性高于环境 CO₂ 处理组,其余同一 NH₄⁺ 质量浓度下低流量和高流量 CO₂ 处理组的 GDH 和 CA 活性均降低。在低流量 CO₂ 下,胁迫 3、10 和 17 d 时,6 mg · L⁻¹ NH₄⁺ 处理组的 GS、GOGAT、GDH 和 CA 活性总体上低于 1 mg · L⁻¹ NH₄⁺ 处理组,而 Rubisco 活性总体上高于 1 mg · L⁻¹ NH₄⁺ 处理组;在高流量 CO₂ 下,胁迫 3、10 和 17 d 时,6 mg · L⁻¹ NH₄⁺ 处理组的 GS、Rubisco 和 CA

活性总体上低于 1 mg · L⁻¹ NH₄⁺ 处理组,而 GOGAT 和 GDH 活性总体上高于 1 mg · L⁻¹ NH₄⁺ 处理组。

2.2.4 双因素方差分析 分析结果(表 6)显示:NH₄⁺ 质量浓度对水蕴草 CA 活性的影响在 0.01 水平具有统计学意义,CO₂ 流量对水蕴草生长量和 GOGAT 活性的影响分别在 0.001 和 0.05 水平具有统计学意义,二者交互作用对水蕴草生长量和生理生化指标的影响均无统计学意义。

表6 NH_4^+ 和 CO_2 胁迫对水蕴草生长量及生理生化指标影响的双因素方差分析¹⁾Table 6 Two-factor analysis of variance on the effects of NH_4^+ and CO_2 stress on growth increment and physiological and biochemical indexes of *Elodea densa* (Planch.) Casp.¹⁾

因子 Factor	各指标的 F 值 F value of each index					
	生长量 Growth increment	叶绿素含量 Chlorophyll content	超氧化物歧化酶活性 Superoxide dismutase activity	过氧化物酶活性 Peroxidase activity	过氧化氢酶活性 Catalase activity	丙二醛含量 Malonaldehyde content
A	0.313	0.242	0.010	1.265	0.052	2.197
B	33.547 ***	1.829	0.158	1.254	0.287	0.513
A×B	0.749	1.054	0.055	0.870	0.052	0.992

因子 Factor	各指标的 F 值 F value of each index				
	谷氨酰胺合成酶活性 Glutamine synthetase activity	谷氨酸合酶活性 Glutamate synthase activity	谷氨酸脱氢酶活性 Glutamate dehydrogenase activity	核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶活性 Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activity	碳酸酐酶活性 Carbonic anhydrase activity
A	2.399	0.371	2.178	0.612	9.009 **
B	1.072	3.890 *	0.985	1.347	1.409
A×B	2.648	0.131	2.051	0.261	0.261

¹⁾ A: NH_4^+ 质量浓度 NH_4^+ mass concentration; B: CO_2 流量 CO_2 flow rate. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

3 讨 论

3.1 NH_4^+ 和 CO_2 复合胁迫对水蕴草生长水体的影响机制

研究发现,大气中 CO_2 浓度升高可提高水生生态系统中生物可用无机碳的水平,降低水体的 pH 值^[6],使水体酸化;而水体酸化会影响水中生物的呼吸作用和光合作用,改变水中的溶解氧含量^[17],并通过改变水体的化学平衡影响水体电导率、盐度和氧化还原电位^[18]。本研究结果显示:通入低流量($0.4 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$)和高流量($1.0 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$) CO_2 后,水蕴草生长水体的溶解氧含量和 pH 值显著下降,而水体的电导率、氧化还原电位、盐度、 NH_4^+ 含量和 HCO_3^- 含量多显著升高,并且 CO_2 流量对水体上述 7 个物理化学指标的影响均在 0.001 水平具有统计学意义。说明通入 CO_2 后,水中的 HCO_3^- 含量显著升高,致使水体酸化,由此推测 CO_2 浓度升高导致的水体酸化是导致水蕴草生长水体中电导率、氧化还原电位、盐度以及 NH_4^+ 和 HCO_3^- 含量发生变化的主要原因。

3.2 NH_4^+ 和 CO_2 复合胁迫对水蕴草生长和生理代谢的影响机制

NH_4^+ 是植物吸收氮的重要形式之一,但过高浓度 NH_4^+ 可能导致植物生长受抑制^[19]。本研究中,水蕴草的生长量在 1 和 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ 质量浓度下均为负值,说明水蕴草的生长受到抑制。该研究结果与

Su 等^[20]得到的水蕴草相关研究结果吻合。本研究还发现, NH_4^+ 质量浓度和 CO_2 流量越高,水蕴草的生长状况越差,甚至出现部分植株整株枯萎。但是,同一 CO_2 流量下 1 和 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ 处理组间的水蕴草生长量差异较小,而同一 NH_4^+ 质量浓度下低流量和高流量 CO_2 处理组的水蕴草生长量均显著低于环境 CO_2 处理组,并且, CO_2 流量对水蕴草生长量的影响在 0.001 水平具有统计学意义,结合 CO_2 流量对水体 pH 值和 HCO_3^- 含量的影响在 0.001 水平具有统计学意义,认为 CO_2 浓度升高导致的水体酸化可能是抑制水蕴草生长的主要原因,其抑制效果显著大于 NH_4^+ 单一胁迫。

叶绿素含量变化可直接影响植物的光合作用速率。叶绿素含量较低时,植物的光合作用速率下降,致使植物生长受到抑制^[21-22]。本研究中,4 个复合胁迫处理组水蕴草的叶绿素含量均随胁迫时间延长呈现先升高后降低的变化趋势,结合水体 NH_4^+ 和 HCO_3^- 含量变化,说明在通入 CO_2 的一定时间内,水中溶解的 HCO_3^- 增多,可有效缓解 NH_4^+ 对水蕴草的毒害效应,增强水蕴草的光合能力,利于水蕴草生长,但随着胁迫时间的延长,水中的 HCO_3^- 越来越多,致使水体酸化越来越严重,从而抑制水蕴草的光合能力和植株生长。

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)均为抗氧化酶,负责清除植物在逆境中产生的活性氧(ROS)^[23]。整体而言,4 个复合

胁迫处理组水蕴草的 SOD 和 POD 活性在胁迫 3 d 时显著低于环境 ($0.0 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$) CO_2 处理组,在胁迫 10 和 17 d 时显著高于环境 CO_2 处理组,4 个复合胁迫处理组水蕴草的 CAT 活性在胁迫 3、10、17 d 时高于环境 CO_2 处理组。说明在 NH_4^+ 胁迫下,通入 CO_2 初期能够缓解 NH_4^+ 对水蕴草的胁迫作用,然而随着 CO_2 持续通入,水中的 HCO_3^- 不断积累,加剧了 NH_4^+ 对水蕴草的胁迫效应。另有研究表明,当植物暴露于高浓度 CO_2 环境中时,其体内的 ROS 生成减少^[24],这也是本研究中高通量 CO_2 处理组水蕴草的抗氧化酶活性多低于低通量 CO_2 处理组的主要原因。丙二醛(MDA)含量变化可表明膜脂质过氧化程度,间接反映膜系统的损伤程度和植物的抗逆性^[25]。研究发现,不同植物体内的 MDA 含量对 CO_2 浓度变化的响应不同^[26-27]。在相同 NH_4^+ 质量浓度下,低流量 CO_2 处理组的水蕴草 MDA 含量在胁迫 3 d 时显著低于环境 CO_2 处理组,而在胁迫 10 和 17 d 时总体上高于环境 CO_2 处理组,说明在通入 CO_2 一定时间内,低流量 CO_2 能够明显减小 NH_4^+ 胁迫对水蕴草的伤害程度。

谷氨酰胺合成酶(GS)/谷氨酸合酶(GOGAT)循环是植物体同化 NH_4^+ 的主要途径,由 GS 和 GOGAT 催化^[28-29]。谷氨酸脱氢酶(GDH)循环为植物体同化 NH_4^+ 的替代方法,主要依赖 GDH 的调节作用^[30]。研究表明,GS/GOGAT 循环在植物的非生物胁迫中发挥调节作用^[31-32],而 GDH 循环在植物体解除 NH_4^+ 毒害过程中具有显著作用^[33-34]。总体来看,在同一 NH_4^+ 胁迫下,低流量和高流量 CO_2 处理组水蕴草的 GS、GOGAT 和 GDH 活性在胁迫 3 d 时高于环境 CO_2 处理组,而 GS、GDH 和核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶(Rubisco)活性在胁迫 10 和 17 d 时低于环境 CO_2 处理组。说明通入 CO_2 后,水蕴草能够快速启动氮、碳代谢系统,加速 NH_4^+ 同化代谢过程,促进水蕴草对 NH_4^+ 的吸收,但随着胁迫时间的延长,水中的 NH_4^+ 和 HCO_3^- 不断积累,碳氮代谢循环中的关键酶活性被抑制,最终阻碍了水蕴草对 NH_4^+ 的吸收。研究发现,沉水植物体内的碳酸酐酶(CA)能够将 HCO_3^- 转化为 CO_2 和 H_2O ^[35]。总体来看,在同一 NH_4^+ 胁迫下,低流量和高流量 CO_2 处理组水蕴草的 CA 活性在胁迫 10 和 17 d 时显著低于环境 CO_2 处理组。说明随着胁迫时间的持续,水蕴草体内的 CA 发生变性或降解,致使 CA 活性下降,最终导致水蕴草的碳代谢水平下

降。双因素方差分析结果显示: NH_4^+ 质量浓度对水蕴草 CA 活性的影响在 0.01 水平具有统计学意义,而 CO_2 流量对水蕴草 GOGAT 活性的影响在 0.05 水平具有统计学意义,二者交互作用对水蕴草各指标的影响均不具有统计学意义,说明水体 NH_4^+ 和 CO_2 复合胁迫能够促进水蕴草对水体中 HCO_3^- 和 NH_4^+ 的吸收利用。

3.3 结论

综上所述,随着 CO_2 流量升高,溶解在水中的 HCO_3^- 增多,促进 NH_4^+ 胁迫下沉水植物水蕴草的碳氮代谢,从而缓解 NH_4^+ 对水蕴草的毒害作用,但随着胁迫时间的延长,溶解在水中的 HCO_3^- 越来越多,导致水体酸化,最终加剧了 NH_4^+ 对水蕴草的毒害效应。此外,在 NH_4^+ 质量浓度为 1 和 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, NH_4^+ 和 CO_2 交互作用在胁迫 3 d 时促进水蕴草生长,但在胁迫 10 和 17 d 时却加剧了水蕴草受伤害的程度,且 CO_2 溶解导致的水体酸化对水蕴草生长的毒害效应大于 NH_4^+ 。

参考文献:

- [1] FIELD C B, BARROS V R, DOKKEN D J, et al. Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Working Group II Contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2014: 1-32.
- [2] LONG S P, AINSWORTH E A, ROGERS A, et al. Rising atmospheric carbon dioxide: plants FACE the future [J]. Annual Review of Plant Biology, 2004, 55: 591-628.
- [3] AINSWORTH E A, LONG S P. 30 years of free-air carbon dioxide enrichment (FACE): what have we learned about future crop productivity and its potential for adaptation? [J]. Global Change Biology, 2021, 27(1): 27-49.
- [4] HASLER C T, BUTMAN D, JEFFREY J D, et al. Freshwater biota and rising pCO_2 ? [J]. Ecology Letters, 2016, 19: 98-108.
- [5] 赵星雨, 王 轲, 孙响铃, 等. 沉水植物在水生态系统恢复中的作用及局限性 [J]. 江西水产科技, 2021(5): 46-47, 50.
- [6] HUSSNER A, SMITH R, METTLER-ALTMANN T, et al. Simulated global increases in atmospheric CO_2 alter the tissue composition, but not the growth of some submerged aquatic plant bicarbonate users growing in DIC rich waters [J]. Aquatic Botany, 2019, 153: 44-50.
- [7] 邓延慧, 王正文, 丁润楠, 等. 太湖湖体沉积物营养盐和重金属污染特征研究 [J]. 环境生态学, 2020, 2(12): 67-72.
- [8] 廖润华, 吴小刚, 王兆德, 等. 太湖流域湖围网拆除后沉积物营养盐和重金属空间分布特征及评价 [J]. 湖泊科学, 2021, 33(5): 1436-1447.

- [9] 葛 刚, 徐燕花, 赵 磊, 等. 鄱阳湖典型湿地土壤有机质及氮素空间分布特征[J]. 长江流域资源与环境, 2010, 19(6): 619-622.
- [10] SETIÉN I, FUERTES-MENDIZABAL T, GONZÁLEZ A, et al. High irradiance improves ammonium tolerance in wheat plants by increasing N assimilation[J]. Journal of Plant Physiology, 2013, 170: 758-771.
- [11] DA COSTA L, VIEIRA L A, MICHELAN T S, et al. Growth allocation shifts in the invasive *Hydrilla verticillata* under interspecific competition with native submerged macrophytes[J]. Plants, 2024, 13: 3500.
- [12] PENG Q, HUO B, YANG H, et al. Increased invasion of submerged macrophytes makes native species more susceptible to eutrophication in freshwater ecosystems[J]. Science of the Total Environment, 2024, 909: 168658.
- [13] 霍成玉, 胡兰基, 何媛媛. 酸碱滴定结合硼酸盐校正法测定盐湖卤水中的碳酸根、碳酸氢根和氢氧根[J]. 当代化工, 2021, 50(7): 1760-1764.
- [14] CUI J, WANG W, LI J F, et al. Removal effects of *Myriophyllum aquaticum* on combined pollutants of nutrients and heavy metals in simulated swine wastewater in summer[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 213: 112032.
- [15] 沈 羽. 小麦叶片响应多环芳烃(菲)积累的生物学机制及其调控研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2018.
- [16] 李 雪, 刘 娟, 薛华龙, 等. 玉米和花生间作体系光合碳同化酶活性对 CO_2 浓度升高的响应特征[J]. 西北植物学报, 2021, 41(7): 1210-1220.
- [17] HUANG D, LI S, LU Y, et al. Effects of diflufenburon on shrimp (*Neocaridina palmata*) in freshwater systems dominated by submerged plant (*Ceratophyllum demersum*) [J]. Chemosphere, 2023, 313: 137567.
- [18] RIEBESELL U, GATTUSO J-P. Lessons learned from ocean acidification research [J]. Nature Climate Change, 2015, 5: 12-14.
- [19] MARINO G, GUZMAN-DELGADO P, SANTOS E, et al. Interactive effect of branch source-sink ratio and leaf aging on photosynthesis in pistachio[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1194177.
- [20] SU S, ZHOU Y, QIN J G, et al. Physiological responses of *Egeria densa* to high ammonium concentration and nitrogen deficiency[J]. Chemosphere, 2012, 86: 538-545.
- [21] BAYAT L, ARAB M, ALINIAEIFARD S et al. Effects of growth under different light spectra on the subsequent high light tolerance in rose plants[J]. AoB Plants, 2018, 10: ply052.
- [22] YANG W, YUAN Y, YANG P, et al. *ZmGluTR1* is involved in chlorophyll biosynthesis and is essential for maize development[J]. Journal of Plant Physiology, 2023, 290: 154115.
- [23] GILL S S, TUTEJA N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48: 909-930.
- [24] ABDELGAWAD H, FARFAN-VIGNOLO E R, DE VOS D, et al. Elevated CO_2 mitigates drought and temperature-induced oxidative stress differently in grasses and legumes[J]. Plant Science, 2015, 231: 1-10.
- [25] MITTLER R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance [J]. Trends in Plant Science, 2002, 7(9): 405-410.
- [26] ŽALTAUSKAITĖ J, DIKŠAITYTĖ A, MIŠKELYTĖ D, et al. Effects of elevated CO_2 concentration and temperature on the mixed-culture grown wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) response to auxin herbicide [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2023, 30: 13711-13725.
- [27] DE SOUZA E A C C, ALVAREZ-PIZARRO J C, DE SOUSA LOPES L, et al. Nitrate and ammonium nutrition modulates the photosynthetic performance and antioxidant defense in salt-stressed grass species [J]. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2021, 21: 3016-3029.
- [28] LEA P J, MIFLIN B J. Nitrogen assimilation and its relevance to crop improvement[J]. Annual Plant Reviews, 2010, 42: 1-40.
- [29] MIFLIN B J, LEA P J. The path of ammonia assimilation in the plant kingdom[J]. Trends in Biochemical Sciences, 1976, 1(5): 103-106.
- [30] SARASKETA A, GONZÁLEZ-MORO M B, GONZÁLEZ-MURUA C, et al. Exploring ammonium tolerance in a large panel of *Arabidopsis thaliana* natural accessions[J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65(20): 6023-6033.
- [31] YIN H, YANG F, HE X, et al. Advances in the functional study of glutamine synthetase in plant abiotic stress tolerance response [J]. The Crop Journal, 2022, 10: 917-923.
- [32] FORTUNATO S, NIGRO D, LASORELLA C, et al. The role of glutamine synthetase (GS) and glutamate synthase (GOGAT) in the improvement of nitrogen use efficiency in cereals [J]. Biomolecules, 2023, 13: 1771.
- [33] SKOPELITIS D S, PARANYCHIANAKIS N V, PASCHALIDIS K A, et al. 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, 2006, 18: 2767-2781.
- [34] ZHOU Y, ZHANG C, LIN J, et al. Over-expression of a glutamate dehydrogenase gene, *MgGDH*, from *Magnaporthe grisea* confers tolerance to dehydration stress in transgenic rice [J]. Planta, 2015, 241: 727-740.
- [35] LI P, LIAO Z, ZHOU J, et al. Bicarbonate-use by aquatic macrophytes allows a reduction in photorespiration at low CO_2 concentrations [J]. Environmental and Experimental Botany, 2021, 188: 104520.

(责任编辑: 佟金凤)