研究简报

可溶性无机氮在川蔓藻组织中的累积规律

王 卫红[1,2]　季 民[2]
(1. 天津大学建筑学院, 天津 300072; 2. 天津大学环境科学与工程学院, 天津 300072)

ENRICHMENT RULE OF *RUPPIA MARITIMA* TO SOLUBLE INORGANIC NITROGEN

WANG Wei-Hong[1,2] and JI Min[2]
(1. *School of Architecture, Tianjin University, Tianjin* 300072; 2. *School of Environmental Science and Engineering, Tianjin University, Tianjin* 300072)

关键词: 无机氮; 川蔓藻; 稳定性同位素; 富集度
Key words: Inorganic nitrogen; *Ruppia maritima*; Stable isotope; Enrichment
中图分类号: X52　　文献标识码: A　　文章编号: 1000-3207(2008)03-0417-03

近 20 年来, 由于稳定性同位素无放射性、无污染、不受环境条件限制、无衰变且实验时间不受限制等优点, 使稳定性同位素示踪方法作为一种了解复杂生态过程的工具, 得到了广泛的应用[1—7]。其中固氮新品种^{15}N 示踪技术主要用来确证发生了固氮和研究固氮过程中氮的代谢[1,4]。近年来, 稳定性氮同位素比值成为研究污染物在食物网生物富集和放大效应的重要参数, 开始被应用于水生态系统污染物的环境行为研究中[2,3]。稳定碳同位素比值也常用于生态系统食物链结构的分析[2], 但该比值随营养层次的富集不明显(富集因子约为 1), 所以稳定碳同位素比值主要用来确定生物种的食物组成以及追踪生态系统中的主要物质(碳源)的来源[2,6,7]。目前关于利用^{15}N 示踪技术研究沉水植物对富营养化水体中氮的累积规律的研究报道较少。其中沉水植物川蔓藻(*Ruppia maritima*)由于其广泛的盐度容忍性以及在富营养化的水体中迅速生长的能力成为滨海湿地生态恢复的首选先锋植物[8]。大量的研究表明川蔓藻能够显著地改变河口海岸带栖息地的水质质量和沉积物的生物地球化学循环[8,9]。本文在实验室条件下, 利用水培方法研究了川蔓藻对水体中氨氮和硝酸盐氮的累积规律, 目的在于进一步揭示川蔓藻对富营养化水体中氮的响应机制。

1　材料与方法

1.1　材料　2004 年 6 月初将采自天津滨海新区一个再生水(水体盐度 3.15g/L)河道入水口处的川蔓藻培养在室外装有河道再生水的 120L 塑料箱中。一周后将生长出有一枝叶子的新芽连同根一起切下, 用流动的自来水清洗表面附生藻类, 再置于装 500mL 蒸馏水的三角瓶中震荡清洗。然后悬浮培养在经 0.22μm 过滤的再生水中, 培养条件为光照强度 5000lx, 光暗比 16h∶8h, 温度 20—25℃。培养三周后, 取新发出的长 10cm 左右的无性分株(Ramets)用于实验。

为了标记稳定性同位素不受再生水中其他成分干扰, 实验使用 Thursby 提出的营养液配方[9], 使用 NaCl 将盐度调为 3.15g/L。稳定性同位素$^{15}NH_4Cl$ 和 $Na^{15}NO_3$均由上海化工研究院提供。

1.2　试验方法　取 42 个 250mL 三角瓶, 每瓶加 200mL 营养液, 1g 川蔓藻, 其中 21 个三角瓶中营养液的氮源由$^{15}NH_4Cl$+$NaNO_3$供给, 参照河道再生水中氨氮与硝酸盐氮的平均浓度水平, 其中$^{15}NH_4Cl$ 的浓度为 2mg/L, $NaNO_3$的浓度为 10mg/L。另 21 个三角瓶中营养液的氮源由 NH_4Cl+ $Na^{15}NO_3$供给, 其中 NH_4Cl 的浓度为 2mg/L, $Na^{15}NO_3$的浓度为 10mg/L。实验进行 7d。每天对两种处理各取 3 瓶, 取出植物后用滤纸轻轻吸干表面水分, 放入 80℃烘箱中 48h, 然后研磨过 120 目筛, 称重装入标记号码的玻璃小瓶中, 放回烘箱。同法取样至第 7 天。最后将所有植物样品集中送中国科学院植物所测定分析。使用 Thermo Finnigan MAT DELTA^{plus} XP 同位素比率质谱仪(Isotope-ratio mass spectrometers, IRMS), 通过 CONFLO Ⅲ设备, 用 Flash EA 1112 元素分析仪自动连续分析植物样品中的 N 同位素。

1.3　数据处理与计算　示踪试验植物样品的同位素分析委托中国科学院植物研究所生态与环境科学稳定同位素实验室测定。仪器分析可以测出植物样品中$^{15}N/^{14}N$ 的比值。以 $\delta^{15}N$(‰)表示对^{15}N 的富集度, 计算公式[2,6] 如下:

$$\delta^{15}N(‰) = (R_{样品}/R_{标准} - 1) \times 1000$$

收稿日期: 2006-11-17; 修订日期: 2007-05-21
基金项目: 国家 863 攻关课题"天津市滨海新区水环境质量改善技术与综合示范"(2003AA601030); 中国博士后科学基金资助
通讯作者: 王卫红(1968—), 女, 山西太原人; 博士后; 主要研究方向为景观水体的生态修复。E-mail: red-wangwei@163.com

式中 $R=^{15}N/^{14}N$ 为氮同位素比值，$R_{样品}$指植物样品中的氮同位素比值，$R_{标准}$指标准大气氮同位素比值。

2 结果与讨论

使用稳定性同位素$^{15}NH_4Cl$和$Na^{15}NO_3$作为两种氮源同时供给川蔓藻，结果显示川蔓藻能够同时吸收两种氮源（图1），但$^{15}NH_4^+$-N在川蔓藻植株体内随时间的富集度显著高于$^{15}NO_3^-$-N的富积度。以往大量的研究认为，当水体中同时有氨氮和硝酸盐氮时，沉水植物普遍优先利用氨氮[8—11]。Thursby研究发现川蔓藻的根吸收氨氮的速率是硝酸盐氮的9倍，当水体两种氮源同时存在时，NO_3^--N的吸收能被显著抑制[9]。在本实验中$^{15}NO_3^-$的浓度是$^{15}NH_4^+$的5倍，但川蔓藻优先吸收NH_4^+-N的同时，对NO_3^--N仍有吸收。比较两种氮源在植株体内富集度的比值随时间的变化（图2），可以明显地看出，在第1天$^{15}NH_4^+$-N在川蔓藻植株体内迅速富集并在随后的2d一直维持较高的比率。可以推测川蔓藻对氨氮的吸收速率显著高于对硝酸盐氮的吸收，这与Thursby的研究结果一致。氨氮过量吸收对植物是有毒害作用的。

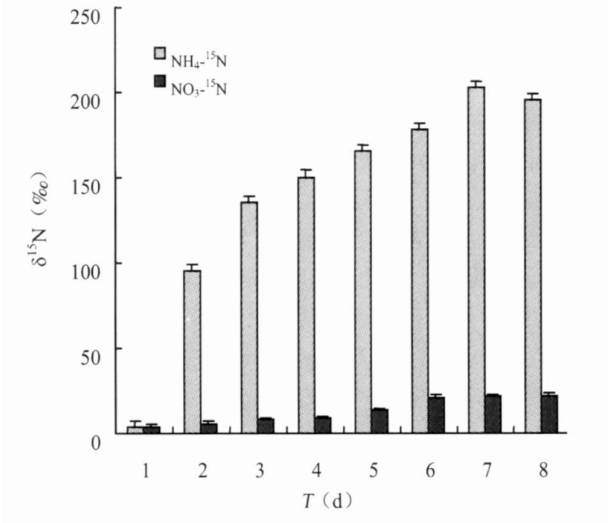


图1 川蔓藻植株体内$^{15}NH_4^+$-N和$^{15}NO_3^-$-N的富集度比较

Fig. 1 Enrichment comparison of $^{15}NH_4^+$-N and $^{15}NO_3^-$-N in tissues of *Ruppia maritima*

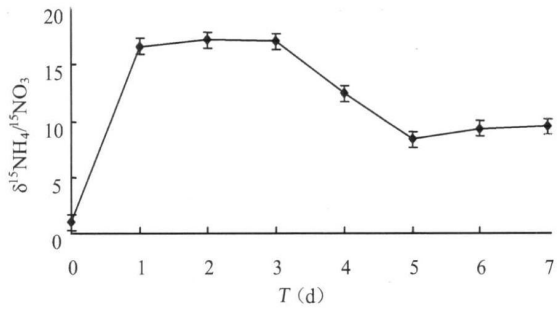


图2 $^{15}NH_4$-N和$^{15}NO_3$-N在川蔓藻植株体内富集的比值随时间的变化

Fig. 2 Enrichment ratio changes of $^{15}NH_4$-N and $^{15}NO_3^-$-N in tissues of *Ruppia maritime* with time

显然川蔓藻具有较强的耐氨能力。通常耐氨植物在吸收过多的NH_4^+-N时会及时转化为酰胺而消除氨毒[11]。因此到第4天$\delta^{15}NH_4^+/^{15}NO_3$出现明显地下降，在第5天比值最小，然后又开始极缓慢地上升。

对$^{15}NH_4^+$和$^{15}NO_3$在川蔓藻植株体内的累积进行回归分析（图3、图4），发现川蔓藻对两种氮源的累积规律为：随着时间延长，$^{15}NH_4^+$-N在川蔓藻植株体内的富集度呈对数增加，回归方程为$\delta^{15}NH_4^+$（‰）$=91.137\ln(t)+19.941$，t为时间天（$R^2=0.9687$）。$^{15}NO_3^-$-N在川蔓藻植株体内的累积则呈指数增加，回归方程为$\delta^{15}NO_3^-$（‰）$=3.2952e^{0.2661t}$（$R^2=0.9469$）。Thursby曾研究发现川蔓藻的根与叶对NH_4^+的吸收不受水体中有无NO_3^-的影响，而对NO_3^-的吸收明显受到水体中NH_4^+的抑制[9]。从图3和图4可以看出，在实验初期的前3天，$^{15}NH_4^+$迅速被吸收，随着时间延长$^{15}NH_4^+$在川蔓藻植株体内的富积逐渐缓慢；而川蔓藻对$^{15}NO_3^-$的吸收则在实验初期被抑制，当实验后期水体中$^{15}NH_4^+$被吸收耗尽时，水体中的$^{15}NO_3^-$则被大量富积。因此$^{15}NH_4^+$-N和$^{15}NO_3^-$-N在川蔓藻植株体内的富积度呈现不同的增长趋势。

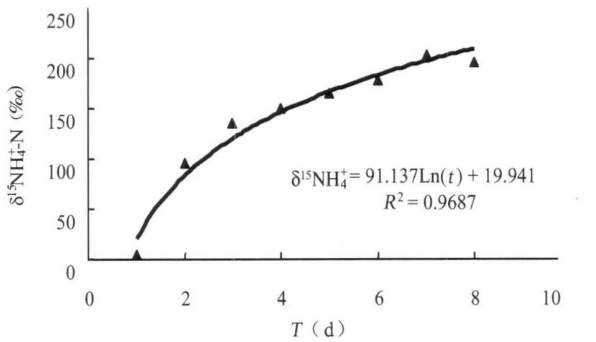


图3 $^{15}NH_4^+$-N在川蔓藻植株体内随时间的富集

Fig. 3 Enrichment of $^{15}NH_4^+$-N in tissues of *Ruppia maritima* with time

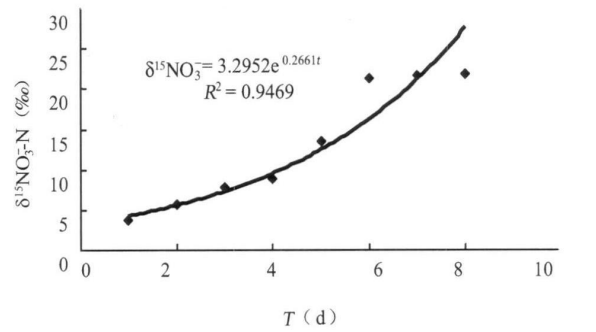


图4 $^{15}NO_3^-$-N在川蔓藻植株体内随时间的富集

Fig. 4 Enrichment of $^{15}NO_3^-$-N in tissues of *Ruppia maritima* with time

一些研究认为氨氮对植物毒害的机理是使光合磷酸化解偶联和降低细胞内碳水化合物[11]。对川蔓藻干重与$\delta^{15}N$

的富集度作图(图5)可以发现, 随着 $\delta^{15}N$ 的富集度的增加, 川蔓藻的干重并不是随着氮的富集逐渐降低, 而是迅速降低后一直维持在相对稳定的水平。此时 $\delta^{15}N$ 的富集度在101.2而川蔓藻的干重在160mg左右。对氨氮和硝酸盐氮不同的富积规律可以推测, 川蔓藻对 NH_4^+ 的吸收可能具有反馈抑制机制, 这使川蔓藻在富营养化的水体中能够调节过量的氮积累对其能量的损耗, 来维持正常的生长代谢。

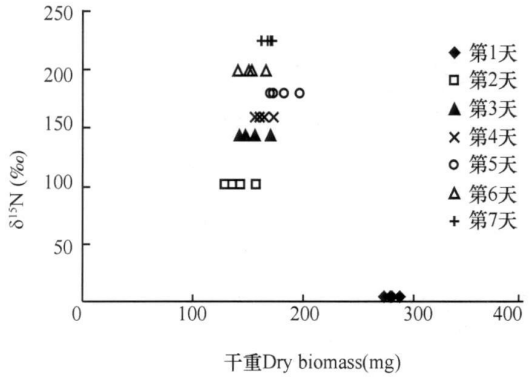


图5　川蔓藻的干重与 $\delta^{15}N$ 富集度的关系

Fig. 5　Relation of $\delta^{15}N$ enrichment and dry biomass of *Ruppia maritima*

3　结　论

本文使用稳定性同位素 $^{15}NH_4Cl$ 和 $Na^{15}NO_3$ 研究了同时供给两种氮源情况下, 川蔓藻对无机氮的累积规律。研究结果表明: 川蔓藻能够同时吸收两种氮源, $^{15}NH_4^+$-N 在川蔓藻植株体内的富集度显著高于 $^{15}NO_3^-$-N。$^{15}NH_4^+$-N 在川蔓藻植株体内的富集度随时间呈对数增加, 而 $^{15}NO_3^-$-N 的富集度则随时间呈指数增加。川蔓藻对 NH_4^+ 的吸收可能具有反馈抑制机制, 这使川蔓藻能够调节过量的氮积累对其能量的损耗, 来维持正常的生长代谢。

参考文献:

[1] Hou J H, Li L J, Du W N. Application of stable isotope techniques ^{15}N in agricultural research [J]. *Journal of the Chemical Fertilizer Industry*, 2003, **30**(6): 11—14 [侯静华, 李良君, 杜晚宁. 稳定性同位素 ^{15}N 在我国农业研究中的应用. 化肥工业, 2003, **30**(6): 11—14]

[2] Kidd K A, Schindler D W, Hesslein R H, *et al*. Correlation between stable nitrogen isotope ratios and concentrations of organochlorines in biota from a freshwater food web [J]. *The Science of the Total Environment*, 1995, **160/161**: 381—390

[3] Fisk A T, Hobson K A, Norstrom R J. Influence of chemical and biological factors on trophic transfer of persistent organic pollutants in the northwater Polynya marine food web [J]. *Environ. Sci. Technol.*, 2001, **35**: 732—738

[4] Wei D P, Bai L Y, Hua L, *et al*. The effect of different levels of fertilizer on nitrogen nutrient of pasture using ^{15}N isotope dilution method [J]. *Acta Agrialturae Nucleatae Sinica*, 2000, **14**(2): 104—109 [韦东普, 白玲玉, 华珞, 等. 用同位素 ^{15}N 稀释法研究牧草的氮素营养, 核农学报, 2000, **14**(2): 104—109]

[5] Ye L X. The application of stable isotope techniques in marine ecology [J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 1990, **3**: 80—85 [叶立勋. 稳定性同位素技术在海洋生态学中的应用. 海洋湖沼通报, 1990, **3**: 80—85]

[6] Lin Q, Wang S L. The composition of stable carbon isotope and some influencing factors of submerged plant [J]. *Acta Ecological Sinica*, 2001, **21**(5): 806—809 [林清, 王绍令. 沉水植物稳定碳同位素组成及影响因素分析. 生态学报, 2001, **21**(5): 806—809]

[7] Huang L, Wu Y, Zhang J, *et al*. Distribution of C, N, P and $\delta^{13}C$ in aquatic plants of some lakes in the Middle Yangtze Valley [J]. *Acta Geoscientica Sinica*, 2004, **24**(6): 515—518 [黄亮, 吴莹, 张经, 等. 长江中游若干湖泊水生植物体内 C、N、P 及 $\delta^{13}C$ 分布. 地球学报, 2004, **24**(6): 515—518]

[8] Hyun J C, Michael A P. Season growth and reproduction of *Ruppia maritima* L. in lake Pontchartrain, Louisiana, USA [J]. *Aquatic Botany*, 2005, **81**: 37—49

[9] Thursby G B. Nutritional requirements of the submerged angiosperm *Ruppia maritima* in algae-free culture [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1984, **16**: 45—50

[10] Ni L Y. Stress of fertile sediment on the growth of submerged macrophytes in eutrophic waters [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, **25**(4): 399—405 [倪乐意. 富营养水体中肥活底质对沉水植物生长的胁迫. 水生生物学报, 2001, **25**(4): 399—405]

[11] Cao T, Ni L Y. Responses of antioxidases of *Ceratophyllum demersum* to the increase inorganic nitrogen in water column [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, **28**(3): 299—303 [曹特, 倪乐意. 金鱼藻抗氧化酶对水体无机氮升高的响应. 水生生物学报, 2004, **28**(3): 299—303]