

附着生物对太湖常见的两种沉水植物快速光曲线的影响^{*}

宋玉芝^{1,2}, 黄瑾¹, 秦伯强²

(1: 南京信息工程大学环境科学与工程学院, 南京 210044)

(2: 中国科学院南京地理与湖泊研究所湖泊与环境国家重点实验室, 南京 210008)

摘要: 在水草生长比较旺盛的季节(7-8月), 以水草较丰富的贡湖湾作为采样区域, 野外采样结合室内分析研究太湖常见的两种沉水植物马来眼子菜(*Potamogeton malaianus*)及穗花狐尾藻(*Myriophyllum spicatum*)叶上的附着生物的生物量; 利用脉冲振幅调制叶绿素荧光仪研究去除附着生物前后两种沉水植物的光合作用的变化。结果表明, 马来眼子菜和穗花狐尾藻两种沉水植物上的附着生物的现存量存在显著的差异, 附着生物群落中自养生物与异养生物的比值没有显著差异; 两种沉水植物在去除附着生物前后的光合参数有显著的变化, 光合作用效率、半饱和光强、最大电子传递速率增加。这表明附着生物降低了沉水植物光合作用。

关键词: 快速光曲线; 叶绿素荧光; 附着生物; 沉水植物; 太湖; 马来眼子菜; 穗花狐尾藻

Effects of epiphyte on the rapid light curves of two submerged macrophytes in Lake Taihu

SONG Yuzhi^{1,2}, HUANG Jin¹ & QIN Boqiang²

(1: *College of Environmental Science & Engineering, Nanjing University of Science Information & Technology, Nanjing 210044, P. R. China*)

(2: *State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, P. R. China*)

Abstract: In the submerged macrophyte-dominated Gonghu Bay of Lake Taihu, this paper studied the epiphyte biomass and its effect on the rapid light curves (RLC) of *Potamogeton malaianus* and *Myriophyllum spicatum* during the vigorous growth season (from July to August) of submerged macrophyte by using a submersible and pulse-amplitude modulated fluorometer (Diving-PAM). The results showed that the epiphyte biomass attached to leaves of *M. spicatum* was significantly higher than that attached to leaves of *P. malaianus*, but the ratio of heterotrophic biomass to autotrophic biomass in epiphytic communities attached *P. malaianus* was not different from that attached *M. spicatum*. Photosynthetic fluorescence characteristics, such as the photosynthetic coefficients, the half saturation point of light intensity and maximal relative electron transport rate of *P. malaianus* and *M. spicatum* with epiphyte were lower than those of the same plant species without epiphyte. The results indicated that epiphyte decreased photosynthesis of submerged plants.

Keywords: Rapid light curve; chlorophyll fluorescence; epiphyte; submerged macrophyte; Lake Taihu; *Potamogeton malaianus*; *Myriophyllum spicatum*

近年来, 水体富营养化导致沉水植物大面积衰退, 引起了人们的广泛关注。为了探究沉水植物衰退的原因, 国内外的研究者从富营养化水体的浊度、弱光照、高营养、浮游植物等^[1-3]对沉水植物的影响以及不同沉水植物间的相互影响开展了大量研究, 而有关附着生物对沉水植物影响的研究开展的比较少^[4-5]。有关附着生物对沉水植物影响的研究表明, 附着生物的存在会对宿主沉水植物的生长产生不利的影响, 从而影响沉水植物的分布及种群组成, 甚至导致其衰亡。Laugaste 等和 Smoot 等^[6-7]的研究发现, 在富营养化湖泊藻类暴发过程中, 首先出现的是附着生物的大量繁殖, 继而才发生浮游藻类的大量暴发。他们认为: 附着生物的大

* 国家水体污染控制与治理科技重大专项项目(2009ZX07101-013-03)、中国科学院知识创新工程重要方向性项目(KZCX2-YW-419)和国家自然科学基金重点项目(40730529)联合资助。2010-04-09 收稿; 2010-05-21 修改稿。宋玉芝, 女, 1970年生, 副教授; E-mail: syz70@nuist.edu.cn.

量繁殖或许是藻类暴发和沉水植物消亡的重要诱因。但由于湖泊中的附着生物对沉水植物的影响比较复杂^[8], 要想弄清附着生物在沉水植物生长发育中的作用, 势必要对水生高等植物光合特征进行系统的研究。由于受测定条件的限制, 野外原位观测附着生物对太湖沉水植物光合作用的影响还未见报道。本文利用叶绿素荧光技术, 通过野外观测和室内分析相结合, 研究太湖贡湖湾沉水植物优势种马来眼子菜 (*Potamogeton malaianus*) 及伴生种穗花狐尾藻 (*Myriophyllum spicatum*) 叶上的附着生物的生物量及其对沉水植物光合作用的影响, 这对认识沉水植被衰退机理, 指导沉水植被恢复重建具有理论和现实的意义。

1 材料与方法

1.1 试验地点及受试植物

2009年7月底到8月初在太湖贡湖湾设置采样点, 采样区水体总氮为 $1.194 \pm 0.012 \text{ mg/L}$ 、总磷为 $0.089 \pm 0.007 \text{ mg/L}$ 。采样区水生植物繁茂, 本文选用的沉水植物是马来眼子菜 (*Potamogeton malaianus* Miq.)、穗花狐尾藻 (*Myriophyllum spicatum* L.)。

马来眼子菜 (*P. malaianus* Miq.) 是眼子菜科多年生草本植物, 是一个广布种, 在太湖水体污染比较严重、水生植物面积不断萎缩、个别种类生物量不断减少甚至消失、水生植物群落向单一化发展的情况下, 马来眼子菜的分布面积却逐年扩张, 目前已是西太湖和贡湖湾沉水植物的优势种, 多以马来眼子菜群丛 (*Potamogeton malaianus* association)、荇菜-马来眼子菜群丛 (*Nymphoides peltata*-*Potamogeton malaianus* association) 存在^[9]。

穗花狐尾藻 (*M. spicatum* L.) 是小二仙草科 (Haloragidaceae) 多年生草本植物, 是一个广布种, 对水质适应性较强, 对底质要求不严, 在太湖分布面广, 主要为伴生种, 只在少数样点形成穗花狐尾藻群落或穗花狐尾藻-微齿眼子菜群落^[9]。

1.2 样品采集与处理

在采样点用采水器采集水样 1L, 将采集的水样放在低温保存, 用于分析水体中的总氮 (TN)、总磷 (TP)^[10]; 利用中国科学院南京地理与湖泊研究所自行研制的口径为 0.25 m^2 的水草采集刀采集水草, 采样时力求避免搅动以减少植物上附着生物的损失, 选取马来眼子菜和狐尾藻植物装入塑料袋中带回实验室, 用于附着生物的分选。附着生物分选是用软毛刷带水刷洗植株叶的表面, 刷洗液连同软毛刷冲洗液一并收集, 将收集的样品定容备用。刷洗过的植物叶在 75°C 的条件下烘干至恒重。

1.3 样品的分析

1.3.1 附着生物现存量^[11] 附着生物现存量用附着在植物表面有机物的多少来表示, 取一定体积分离的附着生物备用液过孔径为 $1.2 \mu\text{m}$ Whatman GF/C ($\Phi = 45 \text{ mm}$) 的滤膜, 用滤膜上残留固体物质 (105°C 烘干至恒重的质量) 与经 550°C 灼烧 6h 后的质量差 (无灰干重 (Ash Free Dry Weight, AFDW)) 表征有机物的含量, 3次重复。

1.3.2 附着藻类现存量 由于所有藻类都含有叶绿素 a (Chl. a), 通常用 Chl. a 含量来快速估算藻类的生物量^[11]。本文用 Chl. a 含量来表示附着藻类的生物量。取适量已分离的附着物的备用液, 用孔径为 $1.2 \mu\text{m}$ Whatman GF/C ($\Phi = 45 \text{ mm}$) 滤膜抽滤, 载有固着藻类的滤膜在冰箱冷冻 48h 后, 加入 6ml 左右经 80°C 水浴预热的 90% 乙醇, 并在 80°C 水浴中加热 2min, 随后立即将样品放到室温下避光处萃取 4-6h, 萃取结束后过滤并定容至一定体积, 用 722 型分光光度计在 665nm 和 750nm 处测定并计算 Chl. a 浓度。

1.3.3 快速光曲线的测定 在野外观测现场, 随机选择马来眼子菜和狐尾藻各 5 株, 利用水下脉冲调制叶绿素荧光仪 (DIVING-PAM) (德国 WALZ 公司) 原位测定沉水植物马来眼子菜和狐尾藻植物成熟叶片 (在未清除叶片上的附着物以及用手轻轻地去掉叶片上的附着物后分别测定) 的荧光强度。开启光强度分别为 0、53、143、276、418、615、832、1204、1615 的光化光, 在任一光合有效辐射 (Photosynthetically Active Radiation, PAR) 强度下照射 10s 后, 打开饱和脉冲前的荧光为 F , 打开饱和脉冲得到的最大荧光为 F_m' , 可变荧光 $\Delta F = F_m' - F_s$, 由此可以得出光系统 II 的有效量子产量 (Y)^[12]:

$$Y = \Delta F / F_m' = (F_m' - F_s) / F_m'$$

根据 Y 和 PAR 可以计算出相对电子传递速率 ($rETR$), 从而绘出平均值的快速光响应曲线:

$$rETR = Y \times PAR \times 0.5 \times 0.84$$

1.3.4 快速光曲线拟合 快速光曲线拟合用 SPSS 软件进行. 曲线拟合采用最小二乘法, 快速光曲线的拟合采用 Platt 等^[12-13]的公式:

$$rETR = rETR_m(1 - e^{-\alpha * PAR/rETR_m}) e^{-\beta * PAR/rETR_m}$$

式中, $rETR_m$ 代表无光抑制时的最大潜在相对电子传递速率; α 是 $rETR - PAR$ 曲线的初始斜率, 反映了光能利用的效率, β 是光抑制参数, 由此可以得出半饱和光强 (I_k):

$$I_k = rETR_m/\alpha$$

1.4 数据分析方法

本文中数据统计分析所用软件为 EXCEL 2003 和 SPSS16.0, 采用单因素方差分析 (One - Way ANOVA) 比较不同数据组间的差异.

2 结果与分析

2.1 植物叶片上附着生物、附着藻类的生物量

沉水植物马来眼子菜和穗花狐尾藻叶上附着生物的含量表明, 每克狐尾藻叶上的附着生物的生物量 (AFDM)、附着藻类的 Chl. a 分别是 $0.209 \pm 0.015\text{g}$ 、 $1.119 \pm 0.167\text{mg}$, 分别是马来眼子菜叶片上 AFDM ($0.122 \pm 0.008\text{g/g}$)、Chl. a ($0.581 \pm 0.124 \text{mg/g}$) 的 1.7、1.9 倍. 狐尾藻上的 AFDM、Chl. a 显著高于马来眼子菜叶片的 AFDM、Chl. a; 进一步分析马来眼子菜和狐尾藻叶上的附着生物组成发现, 马来眼子菜和狐尾藻叶上附着生物分别占总附着物 (分别为 $0.481 \pm 0.065\text{g/g}$ 、 $0.958 \pm 0.083\text{g/g}$) 的 25.36%、21.82%, 无机残留物分别占 74.64%、78.18%; 而在附着生物群落中, 自养生物和异养生物组成状况可用自养指数 (Autotrophic Index, AI) ($AFDM/Chl. a$) 表示^[14]. 从自养指数来看, 马来眼子菜和狐尾藻叶上附着生物群落的自养指数分别为 215.15 ± 33.80 、 187.76 ± 12.96 , 没有显著差异. 由此可见, 在相同的生境中, 两种沉水植物叶上的附着生物群落中自养生物与异养生物的比例没有显著差异, 但附着生物的量却有显著差异 ($P < 0.01$).

2.2 对光系统 II 有效量子产量的影响

在去除附着生物前后, 随光照强度 (PAR) 的升高得到的一系列光系统 II 有效量子产量 (图 1), 两种沉水植物光系统 II 有效量子产量均随 PAR 的增强呈逐渐下降的趋势, 变化曲线均可采用双指数衰减函数拟合: $Y = m + a * e^{-b * PAR} + ce^{-d * PAR}$ ($R_1^2 > 0.998$ (有附着生物), $R_2^2 > 0.998$ (去除附着生物)). 对狐尾藻而言, 附着生物随着 PAR 的增强对宿主植物光系统 II 有效量子产量的抑制作用增强, 当 PAR 超过 $832 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 范围内, 随 PAR 的增强, 附着生物对宿主植物光系统 II 有效量子产量抑制作用有所减弱; 对于沉水植物马来眼子菜来说, 光系统 II 有效量子产量也具有相似的变化规律. 这说明, 附着生物对两种宿主植物光系统 II 有效量子产量均有抑制作用, 抑制作用强弱与光强有关.

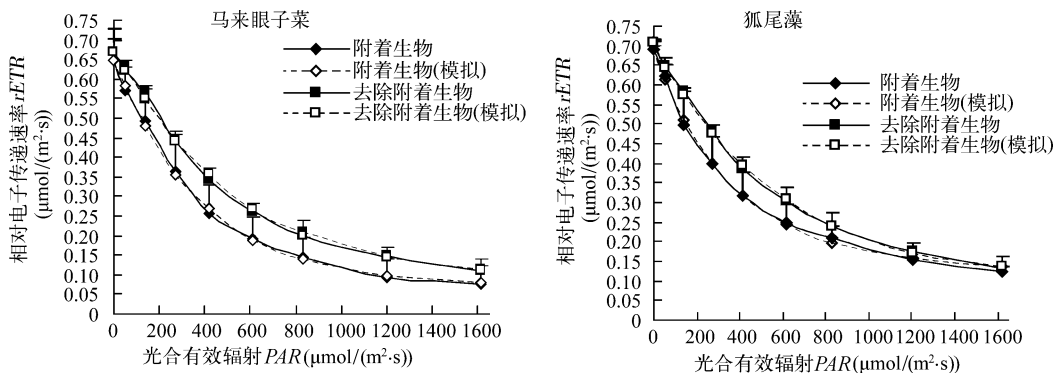


图 1 附着生物对两种沉水植物光系统 II 有效量子产量的影响

Fig. 1 Effects of epiphyte on quantum yield in photosystem II of *P. malaianus* and *M. spicatum*

2.3 对快速光曲线的影响

在去除附着生物前后, 马来眼子菜和狐尾藻的快速光曲线 (Rapid Light Curves, RLCs) 呈显著变化 (图 2), 但都可用常用的光响应曲线 $rETR = rETR_m(1 - e^{-\alpha * PAR/rETR_m})e^{-\beta * PAR/rETR_m}$ 拟合 ($R_1^2 > 0.998$ (有附着生物), $R_2^2 > 0.998$ (去除附着生物), $n = 9$). 通过分析 RLCs, 可以获得一系列反映光合能力的参数 (表 1). 在去除附着生物前, 沉水植物马来眼子菜光能利用效率 (α) 比狐尾藻略高, 去除附着生物后, 狐尾藻略高于马来眼子菜, 但都没有显著差异; 而对于同一种植物而言, 去除附着生物后, 沉水植物的 α 都有所增加, 这说明附着生物影响沉水植物对光能的利用效率. 在去除附着生物前, 沉水植物狐尾藻 $rETR_m$ 约是马来眼子菜 1.5 倍, 去除附着生物后, 沉水植物狐尾藻 $rETR_m$ 约是马来眼子菜的 1.2 倍, 没有去除前差异大. 与去除附着生物之前相比, 马来眼子菜和狐尾藻的 $rETR_m$ 在去除附着生物后均有所增加, 分别是去除附着生物前的 1.7 倍、1.3 倍左右. 这说明附着生物对两种沉水植物 $rETR_m$ 都有影响, 但对马来眼子菜的影响更大些. 在去除附着生物前, 沉水植物狐尾藻的 I_k 约是马来眼子菜的 1.5 倍, 去除附着生物后, 沉水植物狐尾藻 I_k 也高于马来眼子菜, 约是马来眼子菜的 1.2 倍. 对于同一种水生植物, 去除附着生物后马来眼子菜和狐尾藻的 I_k 高于去除附着生物前, 分别是去除附着生物前的 1.5 倍、1.2 倍左右. 这说明, 附着生物对两种沉水植物 I_k 都有影响, 但对马来眼子菜影响更大. 结合 $rETR_m$ 可知, 水生植物去除附着生物后, 对光强的适应性有所增加, 但不同植物对强光的耐性有所差异, 与马来眼子菜相比, 狐尾藻 I_k 在有若无附着生物的条件都比较高 (表 1).

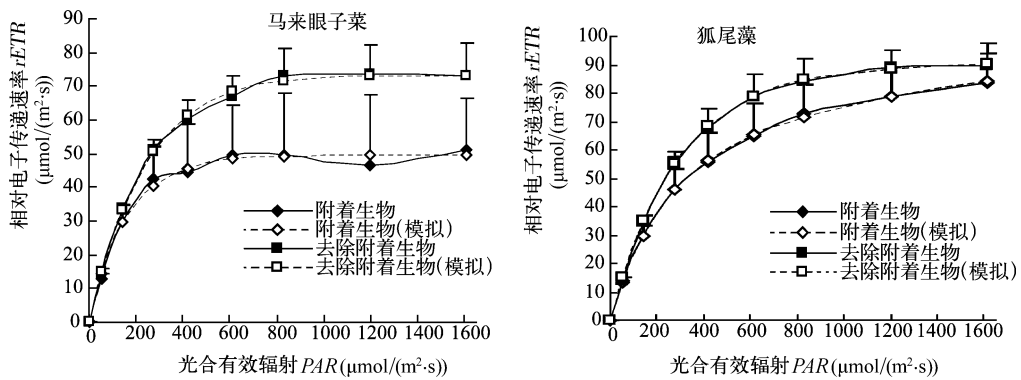


图 2 附着生物对两种沉水植物快速光曲线的影响

Fig. 2 Effects of epiphyte on rapid light curves of *P. malaianus* and *M. spicatum*

表 1 附着生物对沉水植物光合荧光参数的影响

Tab. 1 Effects of epiphyte on photosynthetic coefficients of *P. malaianus* and *M. spicatum*

光合荧光参数	马来眼子菜*	狐尾藻*	马来眼子菜	狐尾藻
$rETR_m$	44.979 ± 3.570	67.259 ± 18.266	74.928 ± 10.768	89.946 ± 19.075
α	0.288 ± 0.040	0.278 ± 0.031	0.307 ± 0.003	0.310 ± 0.013
I_k	157.928 ± 23.607	241.860 ± 45.900	243.856 ± 32.601	289.459 ± 58.531

* 表示未去除附着生物.

3 讨论

一般认为, 在不同的水环境中, 附着生物群落组成有显著差异, 而在相同的水环境中, 附着生物群落组成变化不大. 正因如此, 附着生物群落组成尤其是附着藻类群落组成, 是理想的监测水环境的生物指标, 已被广泛用于海洋、河流、湖泊等水体的生物监测中^[15-17]. 由于叶绿素 a (Chl. a) 和无灰干重 (AFDM) 是附着生物的群落生物量的两个重要参数, 也常用自养指数 AI (AFDM/Chl. a) 来表示附着生物群落中自养生物和异养生物组成和水质的评价指标^[14]. 在相同的水环境中, 自养指数 AI 变化不大, 这说明附着生物群落中自养生物和异养生物的比例比较稳定, 一旦水环境受到污染, 自养指数 AI 指数升高, 也就是说附着生物群落中

自养生物和异养生物的比例发生了变化.然而,附着生物群落的生物量在相同的水环境下,却有很大差异,这可能与附着生物附着的基质密切相关.已有的文献资料表明,水草的种类、生长情况、表面结构等均可直接影响到附着生物的生长^[18].本文研究结果表明,在狐尾藻和马来眼子菜两种沉水植物叶的表面,附着生物群落中自养指数变化没有显著差异,而附着生物群落的生物量有显著差异.这一结论和上述文献结论是一致的.

由于附着生物存在,无疑会对沉水植物光合生理产生影响,为了解附着生物对马来眼子菜和狐尾藻光合作用能力的影响,测定了植株叶片的快速光曲线(RLCs).传统研究沉水植物光合作用的方法主要是测定其吸收CO₂的量和放出O₂的,测量时要求在每一PAR梯度下适应较长时间(5-10min),测量过程中的光照会影响样品的光合状态,而且在野外难以进行平行测量,难以真正实现无损伤、原位测定的要求^[19-20].近年来,叶绿素荧光技术特别是调制叶绿素荧光测定系统的出现,可以缩短每一PAR梯度下的适应时间(10s),得出的典型光响应曲线—快速光曲线(RLCs)可以基本反映样品的自然光合状态^[12].本试验中水生植物的RLCs均是在自然条件下原位测量的,且测定结果均可采用拟合光响应曲线的方程来拟合,并获得一系列反映光合能力的参数.经对受试水生植物在去除附着生物前、后的光合荧光参数比较发现,对同种植物来说,去除附着生物后的光合荧光参数(α 、 $rETR_m$ 和 I_k)高于未去除附着生物的光合荧光参数.光合荧光参数 α 是RLCs的初始斜率,反映了叶片捕光能力的高低,与叶片的吸光系数和PS II对光能的利用能力有关.而 $rETR_m$ 和 I_k 反映了植物最大光合速率以及所耐受强光的能力^[12].去除附着生物后,受试的沉水植物不仅对光的吸收和利用能力提高、光合能力增强,而且对光强的耐受能力也增加,这说明附着生物影响了沉水植物的光合作用.本文这些研究结果与已有的控制实验所获得的成果是一致的^[21-22].此外,通过比较有附着生物两种沉水植物可知,狐尾藻上的附着生物量高,然而,狐尾藻的 I_k 、 $rETR_m$ 却高于马来眼子菜, α 值却略低于马来眼子菜但差别不大.这说明,在太湖贡湖湾目前的环境条件下,狐尾藻与马来眼子菜对光的捕获能力相差不大,但狐尾藻比马来眼子菜有更强的耐受强光的能力,而耐受强光能力强的植物具有较高的最大光合速率^[12].

致谢:采样及实验过程中得到王小东、杨杰、陈文宽的帮助,在此表示诚挚的谢意.

4 参考文献

- [1] 王华,逢勇,刘申宝等.沉水植物生长影响因子研究进展.生态学报,2008,28(8):3958-3968.
- [2] Feldmann T, Nöges P. Factors controlling macrophyte distribution in large shallow Lake Võrtsjärv. *Aquatic Botany*, 2007, 87(1):15-21.
- [3] 陈开宁,周万平,鲍饱和等.浮游植物对湖泊水体生态重建的响应——以太湖五里湖大型围隔示范工程为例.湖泊科学,2007,19(4):359-366.
- [4] 宋玉芝,秦伯强,高光等.附着生物对沉水植物伊乐藻生长的研究.生态环境,2007,16(6):1643-1647.
- [5] Irfanullah HM, Moss B. Factors influencing the return of submerged plants to a clear-water, shallow temperate lake. *Aquatic Botany*, 2004, 80(3):177-191.
- [6] Laugaste R, Lessok K. Planktonic algae and epiphyton of the littoral in lake Peipsi, Estonia. *Limnologia-Ecology and Management of Inland Waters*, 2004, 34(1-2):90-97.
- [7] Smoot JC, Langworthy DE, Levy M *et al.* Periphyton growth on submerged artificial substrate as a predictor of phytoplankton response to nutrient enrichment. *Journal of Microbiological Methods*, 1998, 32(1):11-19.
- [8] Kiss MK, Lakatos G, Borics G *et al.* Littoral macrophyte-periphyton complexes in two Hungarian shallow waters. *Hydrobiologia*, 2003, 506(1):541-548.
- [9] 刘伟龙,胡维平,陈永根等.西太湖水生植物时空变化.生态学报,2007,27(1):159-170.
- [10] 金相灿,屠清瑛.湖泊富营养化调查规范(第二版).北京:中国环境科学出版社,1990:160-184.
- [11] Steinman AD, Lamberti GA. Biomass and pigments of benthic algae. In: Hauer FR, Lamberti GA eds. *Methods in stream ecology*. San Diego, CA: Academic Press, 1996:297.
- [12] Ralph PJ, Gademann R. Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity. *Aquatic Botany*, 2005, 82(3):222-237.
- [13] Platt T, Gallegos CL, Harrison WG. Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton.

- Journal of Marine Research*, 1980, **38**:687-701.
- [14] 顾泳洁,王秀芝,廖祖荷. 利用着生生物群落动态变化监测水质的研究. 华东师范大学学报(自然科学版), 2005, (4):87-94.
- [15] Nayar S, Goh BPL, Chou LM. Settlement of marine periphytic algae in a tropical estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2005, **64**(2/3):241-248.
- [16] Baffico GD. Variations in the periphytic community structure and dynamics of Lake Nahuel Huapi (Patagonia, Argentina). *Hydrobiologia*, 2001, **455**:79-85.
- [17] 王朝晖,胡 韧,谷阳光等. 珠江广州河段着生藻类的群落结构及其与水质的关系. 环境科学学报, 2009, **29**(7):1510-1516.
- [18] 刘建康. 高级水生生物学. 北京:科学出版社, 1999.
- [19] Pagano AM, Titus JE. Submerged macrophyte growth at low pH contrasting responses of three species to dissolved inorganic carbon enrichment and sediment type. *Aquatic Botany*, 2004, **79**:65-74.
- [20] 苏文华,张光飞,张云孙等. 5种沉水植物的光合特征. 水生生物学报, 2004, **28**(4):391-395.
- [21] 李 强,王国祥,马 婷. 水网藻附着对亚洲苦草光合特性的影响. 湖泊科学, 2007, **19**(3):315-320.
- [22] 李 强,王国祥,王文林等. 悬浮泥沙水体对穗花狐尾藻(*Myriophyllum spicatum* L.) 光合荧光特性的影响. 湖泊科学, 2007, **19**(2):197-203.