

中等实验规模下不同营养环境对苦草(*Vallisneria natans*)生长的影响*

郭洪涛, 曹 特, 倪乐意**

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘 要: 本实验分别选用武汉东湖中营养和富营养湖区的湖水和底泥, 并在水柱中添加氮或磷以设置高营养、中营养、中营养添加磷、中营养添加氮等四种营养环境. 测定这四种营养条件下栽培苦草(*Vallisneria natans*)的生长和生化指标变化, 探讨不同营养环境对苦草生长的影响机制. 实验结果表明, 苦草的生物量、叶数和新芽数等生长指标在中营养环境最高, 中营养环境添加磷次之, 中营养环境添加氮较低, 在高营养环境最低; 苦草可溶性糖和游离氨基酸含量在高营养环境中最高, 在中营养环境、中营养环境添加磷和中营养环境添加氮等处理间没有明显差异. 结果分析表明, 高营养环境影响苦草的碳氮代谢水平并抑制苦草生长, 这可能是由于苦草过量富集高营养环境中的氮素造成的; 中营养环境中氮的升高会在一定程度上抑制苦草的生长, 而磷的升高对苦草生长没有明显抑制作用.

关键词: 富营养化; 氮磷; 苦草; 生物量; 游离氨基酸; 可溶性糖

Effects of different nutrient conditions on the growth of a submerged macrophyte, *Vallisneria natans*, in a mesocosm experiment

GUO Hongtao, CAO Te & NI Leyi

(Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, P.R.China)

Abstract: In order to understand the effects of water and sediment on the growth of submersed macrophyte during eutrophication of waterbody, an experiment was carried out to study the effects of water and sediment from mesotrophic and eutrophic area of Lake Donghu on the growth of *Vallisneria natans*. Four treatments were designed, including eutrophic and mesotrophic culture conditions, and mesotrophic condition with inorganic nitrogen and phosphorus addition respectively. Indices of the growth experiments included biomass, both the number and length of leaves, number of sprout, were measured. Biochemistry indices including soluble carbohydrate content and free amino acid content were measured. The results showed that biomass, number of leaves and sprout of *V. natans* were the highest growing in mesotrophic condition, phosphorus addition was the second, and nitrogen addition was the third. The plant in eutrophic condition showed the lowest growth. The results indicated that high trophic condition inhibit the growth of *V. natans* significantly. Increase of inorganic nitrogen in mesotrophic water inhibited the plant more than did the increase of the phosphorus, suggesting that nitrogen enrichment during eutrophication may be more important than phosphorus for the decline of macrophytes. Soluble carbohydrate and free amino acid contents of *V. natans* in eutrophic condition were significantly higher than those in mesotrophic conditions, indicating that carbon and nitrogen metabolism of the plant were affected. This might be attributed to excessive accumulation of N in eutrophic waters of submersed macrophyte.

Keywords: Eutrophication; *Vallisneria natans*; growth; carbon and nitrogen metabolism

湖泊富营养化已成为世人日益关注的环境问题^[1-3], 它通常会导导致湖泊沉水植被的衰退甚至消失^[4-5], 并破坏湖泊生态系统的结构、功能和稳定性, 使湖泊由清水稳态向浊水稳态发生转变和水质恶化, 严重影响到正常的工农业用水和饮水安全^[6-8].

* 国家重点基础研究发展计划“973”项目(2002CB412300)和国家自然科学基金项目(30570280)联合资助. 2007-03-28 收稿; 2007-06-12 收修改稿. 郭洪涛, 男, 1980 年生, 硕士研究生; E-mail: htguo1@hotmail.com.

** 通讯作者; E-mail: nily@ihb.ac.cn.

一般认为,富营养化湖泊中沉水植被消失是由多种因素造成^[9-13],氮、磷含量升高是主要原因之一^[14-25]。目前,有关氮和磷含量升高对沉水植物的影响研究多采用高浓度营养急性生理实验^[14]、单一营养水培实验^[15]、或者底泥异质性实验等^[16-22]。然而,自然条件下沉水植物的生长并非只受到单一环境因子的影响。当湖泊营养水平处于动态变化时,水体和底泥相互影响其营养水平。单因子实验往往难以真实反映植物生长的自然环境。因此,实验条件下模拟自然湖泊的营养状况,并研究其对沉水植物生长影响对探讨富营养湖泊中沉水植被衰退的机理是十分有必要的。

武汉东湖(30°37'N, 114°28'E)是长江中下游地区的典型富营养化湖泊,其水果湖湖区处于超富营养水平,沉水植物在上个世纪90年代以前就完全消失,其汤林湖湖区处于中富营养水平,至今仍有少量沉水植物分布^[26]。为研究湖泊富营养化对沉水植被的影响并权衡湖水中氮和磷浓度升高可能起到的作用,作者在本实验中设置了超富营养(H)、中富营养(M)、中富营养添加氮(N)和中富营养添加磷(P)四种营养条件,并研究它们对该区域常见沉水植物——苦草(*Vallisneria spiralis*)生长和碳氮代谢的影响,以探寻湖泊富营养化致使沉水植被消失的机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料和设计

本实验在东湖湖泊生态系统实验站紧靠东湖岸边的水泥池(2m×1m×1m)中进行,水泥池上方有透明的防雨顶棚,实验共进行64d(2004年06月10日至2004年08月14日)。实验用的苦草幼苗于2004年5月底采自湖北省保安湖,并选用长势一致的幼苗栽种于水泥池中。实验设置的四种处理见表1。营养状况见表2。每种处理做三个平行,共12个水泥池。每个水泥池底铺设厚度为约20cm的底泥,水深75cm。种植约100株苦草,平均重量为1.18g/株。每5d测定水体水化学,pH,水温等指标。并参照水化学结果,给水体添加营养盐(NH₄)₂SO₄和KH₂PO₄使其尽量保持各种设置营养水平,在室外实验过程中定期采集植物样品并做室内分析及测定。

表1 实验营养环境设计

Tab.1 Experimental design

	H	M	N	P
底泥	水果湖底泥	汤林湖底泥	汤林湖底泥	汤林湖底泥
		10% 水果湖水	10% 水果湖水	10% 水果湖水
水体	100% 水果湖水	+ 90% 自来水	+ 90% 自来水	+ 90% 自来水
			+ 硫酸铵	+ 磷酸二氢钾

表2 实验条件

Tab.2 Experimental conditions (mean±SD)

		H	M	N	P
上覆水	NH ₄ -N(mg/L)	0.50 (±0.01)	0.41(±0.03)	0.22(±0.02)	0.08(±0.02)
	NO ₃ -N(mg/L)	0.80 (±0.12)	0.50(±0.06)	1.27(±0.10)	1.07(±0.07)
	PO ₄ -P(mg/L)	0.15 (±0.03)	0.04(±0.03)	0.05(±0.03)	0.11(±0.05)
	pH	8.98 (±0.30)	8.17(±0.12)	8.06(±0.02)	8.13(±0.09)
间隙水	NH ₄ -N(mg/L)	8.64(±0.58)	4.48(±0.22)	4.48(±0.41)	4.88(±0.61)
	PO ₄ -P(mg/L)	0.08(±0.02)	0.03(±0.01)	0.02(±0.00)	0.02(±0.01)

1.2 水化学分析

在实验前测定底泥间隙水水化学。取一定量底泥,3000转/min离心5min,水样经滤膜过滤,按照纳氏试剂分光光度法、GB7480-97、GB/T 8538-1995,用分光光度计测定NH₄-N、NO₃-N、PO₄-P浓度。上

覆水经 Whatman GF/C 滤膜过滤后, 按同样方法分析.

1.3 植物形态和生物量

每次每个处理的每个重复中取样 3 株, 用自来水洗净, 轻轻擦拭干植株, 计算叶片数目, 测量叶片长度(最长叶片长度), 用电子天平称鲜重.

1.4 植物组织可溶性糖和游离氨基酸含量分析

可溶性糖含量测定采用蒽酮法(Yemm and Willis, 1945), 游离氨基酸含量测定采用茚三酮法(Yemm and Cocking, 1955).

1.5 光照和 pH

分别采用 Li-1000 数据采集器(Li-cor)的 Li-190SA 和 Li-192SA 探头于正午 12 时测定水上和水下光合有效辐射(PAR; 400–700nm). 水体 pH 于下午 15 时左右用 MV-pH 计测定.

1.6 统计分析

数据采用 STATISTICA 做 95%可信度分析并用 DUNCAN TEST 做多重比较处理间显著性检验.

1.7 环境因素

12 个水泥池规格完全相同平行分布两排. 四种处理间, 光照时间, 光照强度, 大气温度, 水体温度等环境因子差异不大. 各重复处理所用同种营养水平底泥和水, 经水化学分析无显著差别. 在实验期间, 定期测定水化学并通过换水或添加营养盐使各种处理维持营养水平稳定, 在实验期间没有浮游生物和水绵等其他生物大量生长, 苦草叶片上基本无附生生物大量生长.

2 结果

2.1 生长指标

在前 5d 时间里, 四种处理下生物量(鲜重)及其变化没有明显差异(图 1): 生物量基本相同, 上升不明显, 第 5d 生物量最小值为 1.42g/ind., 最大值为 1.59g/ind. 表明苦草没有明显生长. 5d 之后, 各种处理下生物量变化明显: 四种处理中 H 处理苦草生物量最小, N 处理次之, M 和 P 处理基本相同并最大; 例如在实验的第 22d, H 处理生物量为 2.4g/ind., M 处理, P 处理和 N 处理分别为 4.76, 3.94, 4.64g/ind. H 处理生物量在第 39d 达到最大, N 处理生物量在第 49d 达到最大, M 和 P 处理生物量保持上升. 表明高营养底质和水处理抑制了苦草生长, 添加氮对苦草生长也有一定抑制.

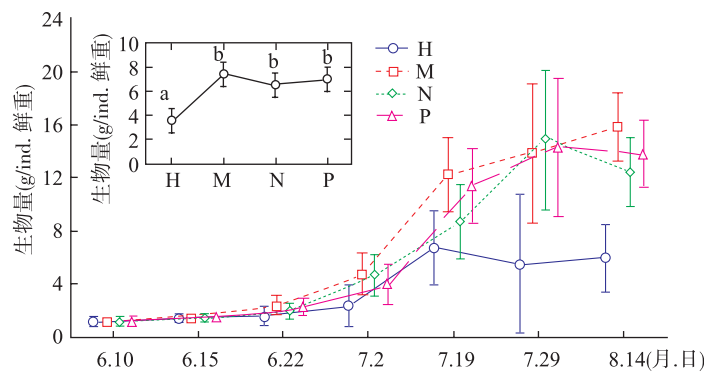


图 1 4 种处理植株生物量变化

Fig.1 Change of the biomass of *V.natans* in different treatments

在前 5d 时间里, 四种处理下单株总叶片数及其变化没有明显差异: 叶片数基本相同, 增加不明显. 从第 5–22d, 四种处理下叶数都在增加. M 处理下叶数最多, P 和 N 处理居中, H 处理最少, 22d 之后各处理差异更明显, M 处理下叶数持续增加, E 处理下叶片较早停止增长, P 和 N 处理叶数居中. 例如在第 22d, H, M, P, N 处理下单株叶片数目分别为 9.0, 10.5, 10.1, 9.5 个. 表明苦草叶片生长状况变化与生物量指标基本相同(图 2).

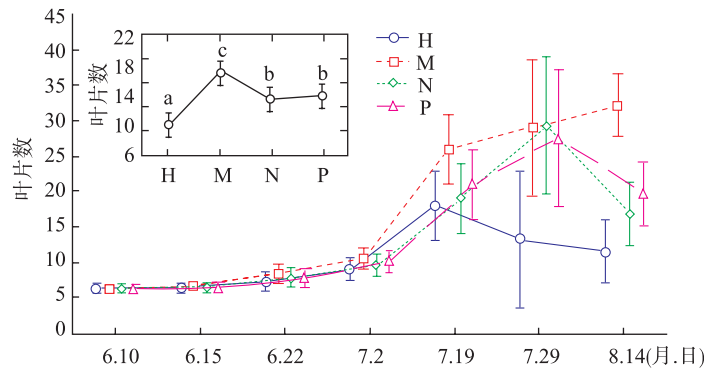


图 2 4 种处理植株叶数变化

Fig.2 Change of the number of leaves of *V.natans* in different treatments

实验期间单株总叶长度持续增加, 四种处理差异不明显, 例如在第 39d, 在 H, M, P, N 四种处理下, 单株总叶长分别为 58.7, 55.9, 57.6, 59.0 cm/ind.(图 3).

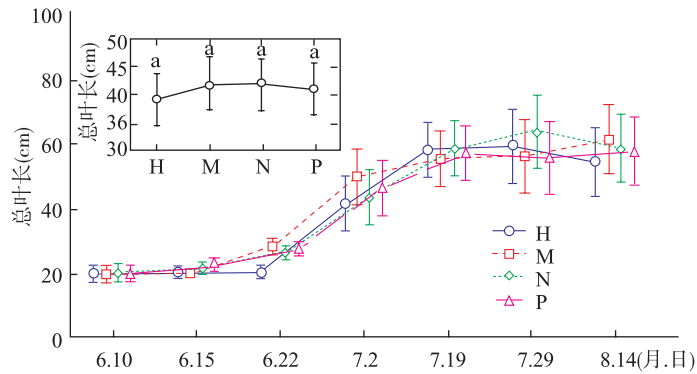


图 3 4 种处理植株叶总长变化

Fig.3 Change of the length of total leaves of *V.natans* in different treatments

实验期间前 5d, 四种处理下单株新芽数目基本为零. 第 12d 后, 新芽数 M 处理最多, P 和 N 处理次之, H 处理最少. M 处理在第 39d 达到最大值, 此后开始略微减少, E 处理在第 39d 达到最大值, 此后急剧减少, P 和 N 处理在第 49d 达到最大值, 此后急剧减少. 说明植物没有再萌发新芽(图 4).

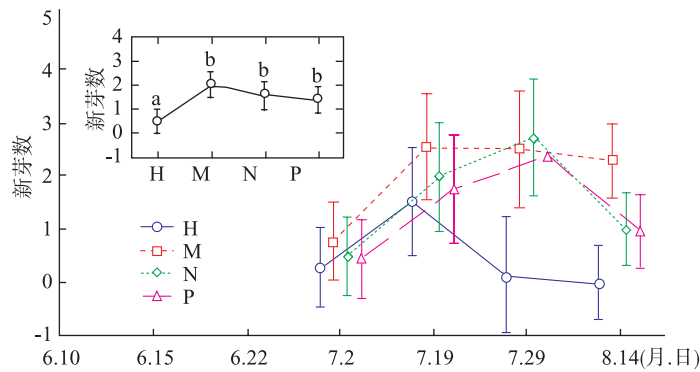


图 4 4 种处理植株芽数目变化

Fig.4 Change of the number of turions of *V.natans* in different treatments

2.2 可溶性糖和游离氨基酸含量

四种处理下可溶性糖含量随时间增加减少,但是在同时期比较表明 H 处理比其他三种处理略高(图 5).四种处理下游离氨基酸含量随时间增加没有明显变化,但是在同时期比较, H 处理和 N 处理下含量较高,其他两种处理下含量较低(图 6).

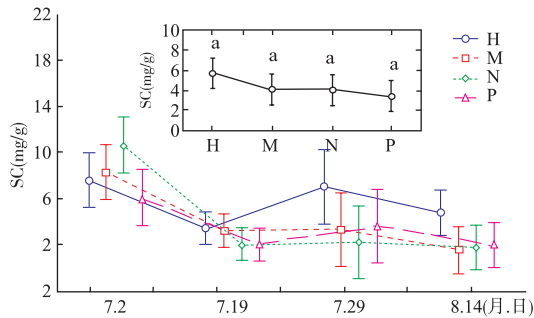


图 5 4 种处理植物组织可溶性糖含量变化
Fig.5 Change of the soluble carbohydrate (SC)
contents of *V.natans* in different treatments

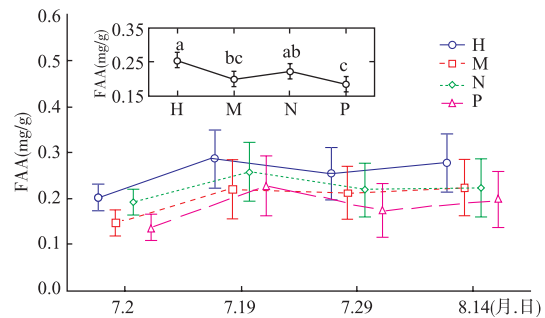


图 6 4 种处理植物组织游离氨基酸含量变化
Fig.6 Change of the free amino acid (FAA)
contents of *V.natans* in different treatments

2.3 各指标相关性分析

苦草的各种生长指标间呈密切正相关, SC 与生长指标间呈显著负相关, FAA 只与叶片长度呈显著正相关(表 3).

表 3 各指标相关性分析

Tab.3 The correlations of parameters

	游离氨基酸含量	可溶性糖含量	生物量	新芽数量	叶子长度
可溶性糖含量	-0.203				
生物量	0.027	-0.650***			
新芽数量	-0.057	-0.501***	0.757***		
叶片长度	0.370**	-0.475***	0.618***	0.524***	
叶片数量	0.005	-0.622***	0.877***	0.881***	0.506***

3 讨论

不同营养环境对水生植物生长的影响国内外均有所报道. Ozimek^[23]和Pokorny^[24]等人研究发现低浓度氮磷含量促进沉水植物生长,随营养水平升高,它们逐渐引起植物快速生长,最终抑制沉水植物生长,可导致沉水植被消失.曹特等^[14]研究发现在富营养条件下,0.6mg/L的氨氮或5mg/L硝氮均可使金鱼藻抗氧化酶POD活性升高,植物生长受到抑制,表明在高营养环境中,金鱼藻的正常生长受到抑制.倪乐意^[15]研究发现水柱氮磷浓度升高抑制黄丝草生长,并认为发生于1970s的富营养化是导致武汉东湖沉水植被消失的原因之一.王斌等实验发现在高营养环境抑制竹叶眼子菜生长,王工君研究发现富营养条件下轮叶黑藻生长受到影响^[27-28].高浓度硝氮对植物胁迫也有报道^[29-30].以上研究表明在高营养环境里,多种水生植物的生长均受到不同程度的抑制.本研究结果显示高营养条件下苦草单株生物量,叶总数和叶总长,均低于中营养处理;室外实验过程观察到高营养处理苦草植物体瘦小,根系极短,叶片枯黄,底层叶尖端发生溃烂,中营养处理则没有此现象.以上三种生长指标变化规律表明武汉东湖水果湖区湖水和底泥对苦草生长有明显抑制作用,汤林湖区湖水和底泥对苦草生长抑制作用不显著.即高营养环境显著抑制苦草的生长.该结果与前人研究结果相同.有已经发现沉水植物既能通过起根系吸收来自于底泥的营养物质,也能通过茎叶吸收来自水体的营养物质^[31-37],在高营养环境里,水体和底泥均含有高浓度氮磷时,植物将会通过两种途径过量吸收氮磷^[14],导致沉水植物内在生理伤害,表现出生长抑制现象.可能

是湖泊富营养化过程中沉水植被退化重要原因。

苦草单株植物新芽产生数量是无性繁殖能力高低的重要指示。而无性繁殖是苦草的主要繁殖方式之一,陈开宁等^[29]调查发现几乎所有苦草种群均为有性繁殖和无性繁殖两种方式共存,但无性繁殖是其每年种群恢复的主要方式。本实验结果显示高营养处理下苦草新芽数均低于中营养处理。表明水果湖区水体和底泥对苦草克隆繁殖有明显的抑制作用。分析认为,单株植物新芽数减少,则叶片数目相应减少,叶片数目减少,则生物量降低,苦草种群衰退。据此推测高营养环境通过抑制某些沉水植物无性繁殖使其种群衰退,导致沉水植被衰退甚至消失。

有报道^[38]认为营养环境升高影响沉水植物碳氮代谢并可能使碳氮水平失衡,这主要是因为营养环境中氮、磷含量升高的原因。可溶性糖和游离氨基酸是植物体内碳氮代谢的多种中间产物的总和。因此它们含量的变化可以反映植物碳氮代谢的变化情况。本研究结果显示高营养环境植物可溶性糖含量高于其它三种环境,而游离氨基酸含量在高营养环境和中营养加氮环境较高,其他两种处理下含量较低。显示氮对植物碳氮代谢有比较明显的影响。这主要是因为在高营养环境下生长,植物被动吸收大量的氮素,使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。大量氮积累对植物产生生理毒性,可溶性糖应对胁迫而大量积累于植物叶片中,导致植物根部可溶性糖减少。植物根部可溶性糖含量降低导致新芽产生受到影响,最终植物体生长被抑制。报道^[39]显示沉水植物菹草也有相同现象发生。

在本实验中,各指标数据相关性分析结果显示,各生长指标间呈密切正相关。生物量主要受到叶片和侧株数目的影响,从生理上可以理解为高营养环境改变植物正常生理代谢,无法产生更多的新芽或者叶片,单株植物生物量增加停止或者下降。各生长指标同植物组织可溶性糖显著负相关,这是因为植物生长比较快,消耗大量能量,所以体内可溶性糖含量下降;植物生长较慢时,可溶性糖在植物体积积累,从而使其含量上升。游离氨基酸同叶片长度显著正相关,其中的规律还无法解释,这方面需要做更多的研究。

4 参考文献

- [1] OECD. Eutrophication of waters: monitoring, assessment and control. Paris: OECD, 1982.
- [2] 金相灿, 刘鸿亮, 屠清英等. 中国湖泊的富营养化. 北京: 中国环境科学出版社, 1990: 13, 135.
- [3] Bennion H, Juggins S, Anderson NJ. Predicting epilimnetic phosphorus concentrations using improved diatom-based transfer function and its application to lake eutrophication management. *Environmental Science Technology*, 1996, **30**(6): 2004-2007.
- [4] Ozimek T, Kowalewski A. Long-term changes of the submersed macrophytes in eutrophic lake Mikolajskie(North poland). *Aquat Bot*, 1984, **19**: 1-11.
- [5] Pokorny J, Kvet J, Ondok JP. Functioning of the plant component in densely stocked fishponds. *BullEcol*, 1990, **21**(3): 44-48.
- [6] Blindow I, Andersson G, Haregy A *et al*. Long term pattern of alternate stable states in two shallow eutrophic lakes. *Freshwater Biology*, 1993, **30**(1): 159-167.
- [7] Arnl M. Aquatic macrophytes as tools for lake management. *Hydrobiologia*, 1999, **395/396**: 181-190.
- [8] Ewel JJ. Restoration is the ultimate test of ecology theory in restoration ecology. U K: Cambridge University Press, 1987: 31-33.
- [9] Short FT, Burdick DM, Kaldy JEK. Mesocosm experiments quantify the effects of eutrophication on eelgrass *Zostera marina*. *Limnol Oceanogr*, 1995, **40**: 740-749.
- [10] Moore KA. Seasonal variations in eelgrass(*Zostera marina L.*)responses to nutrient enrichment and reduced light availability in experimental ecosystems. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2000, **244**: 1-28.
- [11] Ni LY. Growth of *Potamogeton maackianus* under low-light stress in eutrophic water. *J Freshw Ecol*, 2001, **6**: 249-256.
- [12] Silberstein K, Chiffings AW, Mccomb AJ. The loss of seagrass in Cockburn sound, western Australia.III.the effect of epiphytes on productivity of *Posidonia australis* Hook. *F Aquat Bot*, 1986, **24**: 355-371.
- [13] Sand JK. Effect of epiphytes on eelgrass photosynthesis. *Aquat Bot*, 1977, **3**: 55-63.

- [14] 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): 299-302.
- [15] Ni L. Effects of water column nutrient enrichment on the growth of *Potamogeton rnaackianus* A. Been. *Aquat Plant Manage*, 2001, **39**: 83-87.
- [16] Chu JZH, Wang SR, Jin XC. Effects of sediments nutrition condition on the growth and the photosynthesis of *Hydrilla verticillata*. *Ecology and Environment*, 2006, **15**(4): 702-707.
- [17] 邱东茹, 吴振斌, 邓家齐. 武汉东湖湖水和底泥对黄丝草生长的影响. 植物资源与环境, 1997, **6**(4): 45-46.
- [18] 陈开宁, 陈小峰, 陈伟民等. 不同基质对四种沉水植物生长的影响. 应用生态学报, 2006, **17** (8): 1511-1516.
- [19] 雷泽湘, 谢贻发, 刘正文. 太湖梅梁湾不同沉积物对3种沉水植物生长的影响. 华中师范大学学报(自然科学版), 2006, **40**(6): 2.
- [20] 王 君, 顾宇飞, 纪东成等. 富营养条件下不同形态氮对轮叶黑藻(*Hydrilla verticillata*)的生理影响. 环境科学研究, 2006, (1): 19.
- [21] 楚建周, 王圣瑞, 金相灿等. 底质营养状况对黑藻生长及光合作用的影响. 生态环境, 2006, **15**(4): 702-707.
- [22] 张 俊, 朱 伟, 操家顺等. 水体底质异质对沉水植物生长的影响. 水资源保护, 2006, **22**(7): 4.
- [23] Ozimek T, Kowalewski A. Long-term changes of the submersed macrophytes in eutrophic lake Mikolajskie(North poland). *Aquat Bot*, 1984, **19**: 1-11.
- [24] Pokorny J, Kvet J, Ondok JP. Functioning of the plant component in densely stocked fishponds. *Bull Ecol*, 1990, **21**(3): 44-48.
- [25] Xie YH, An S, Wu B. Resource allocation in the submerged plant *Vallisneria natans* related to sediment type, rather than water-column nutrients. *Freshwater Biology*, 2005, **50**: 391-402.
- [26] 刘建康. 东湖生态学研究(一). 北京: 科学出版社, 1990.
- [27] 王 斌, 李 伟. 不同N、P浓度条件下竹叶眼子菜的生理反应. 生态学报, 2002, **22**(10): 16-20.
- [28] 王工君, 顾宇飞, 纪东成等. 富营养条件下不同形态氮对轮叶黑藻(*Hydrilla verticillata*)的生理影响. 环境科学研究, 2006, **19**(1): 71-74.
- [29] 陈开宁, 兰策介, 史龙新等. 苦草繁殖生态学研究. 植物生态学报, 2006, **30**(3): 487-495.
- [30] Best EP, Woltman H, Jacobs FH. Sediment-related growth limitation of *Elodea nuttallii* as indicated by a fertilization experiment. *Freshwater Biology*, 1996, **36**: 33-44.
- [31] Carignan R, Kalff J. Phosphorus sources for aquatic weeds: water or Sediments? *Science*, 1980, **207**: 987-989.
- [32] Barko JW, Smart RM. Sediment-based nutrition of submersed macrophytes. *Aquat Bot*, 1981, (10): 339-352.
- [33] Smith CS, Adams MS. Phosphorus transfer from sediments by *Myriophyllum spicatum*. *Limnol Oceanogr*, 1986, **31**: 1312-1321.
- [34] Van WR. Ecological studies on *Potamogeton pectinatus* L.V. nutritional ecology, in vitro uptake of nutrients and growth limitation. *Aquat Bot*, 1989, **35**: 319-335.
- [35] Carignan R. An experimental model to estimate the relative importance of roots in P uptake by aquatic macrophytes. *Can J Fish Aquat Sci*, 1982, **39**: 243-247.
- [36] Barko JW, Gunnison G, Carpenter SR. Sediment interactions with submersed macrophyte growth and community dynamics. *Aquat Bot*, 1991, **41**: 41-65.
- [37] Carr GM, Chambers PA. Macrophyte growth and sediment phosphorus and nitrogen in a Canadian prairie river. *Freshw Biol*, 1998, **39**: 525-536.
- [38] David ML. Effects of light and nutrient availability on the growth, allocation, carbon/nitrogen balance, phenolic chemistry, and resistance to herbivory of two freshwater macrophytes. *Oecologia*, 2003, **137**: 32-41.
- [39] Cao T, Ni LY, Xie P. Acute biochemical responses of a submersed Macrophyte, *Potamogeton crispus* L., to high ammonium in an aquarium experiment. *Journal of Freshwater Ecology*, 2004, **19**(6): 19-20.