

中华水韭对不同营养条件的生理生态响应

庄枫红¹, 马姜明^{1,2*}, 覃扬浚¹, 梅军林¹, 于方明³

(1 广西师范大学 生命科学学院, 广西桂林 541006; 2 珍稀濒危动植物生态与环境保护教育部重点实验室, 广西桂林 541006; 3 广西师范大学 环境与资源学院, 广西桂林 541006)

摘要: 采用水培法, 研究了不同营养条件对中华水韭叶片生理生化特性和光合荧光特性的影响。结果显示: 随着营养液中氮、磷浓度的升高, 中华水韭叶片的生理生化特性除叶绿素含量呈下降的变化趋势外, 可溶性糖、丙二醛、脯氨酸含量、过氧化氢酶活性 (CAT) 均呈上升趋势, 而过氧化物酶活性 (POD) 则呈先上升后下降的趋势; 同时叶片光合荧光特性中除非光化学猝灭系数 (qN) 呈上升的趋势外, PS II 的最大量子产量 (F_v/F_m)、有效量子产量 (Yield)、光化学猝灭系数 (qP)、最大潜在相对电子传递速率 (P_m) 以及快速光响应曲线初始斜率 (α) 和半饱和光强 (I_k) 均呈下降的趋势。研究表明, 随着水体氮、磷浓度的升高, 中华水韭在中度营养条件下 ($N\ 0.4\ mg \cdot L^{-1}$ 、 $P\ 0.04\ mg \cdot L^{-1}$) 耐受性较好, 但在高营养条件下 ($N\ 1.2\ mg \cdot L^{-1}$ 、 $P\ 0.12\ mg \cdot L^{-1}$) 耐受性较差, 其渗透调节能力和抗氧化能力上升, 但光合作用能力下降, 抑制了中华水韭的正常光合生理活动, 进而影响其生长, 推测水体富营养化可能是造成中华水韭濒危的重要原因之一。

关键词: 中华水韭; 营养条件; 生理生化特性; 光合荧光特性

中图分类号: Q945.79 文献标志码: A

Physiological and Ecological Responses in Leaves of *Isoetes sinensis* under Different Nutritional Conditions

ZHUANG Fenghong¹, MA Jiangming^{1,2*}, QIN Yanghui¹, MEI Junlin¹, YU Fangming³

(1 College of Life Sciences, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi 541006, China; 2 Key Laboratory of Ecology of Rare and Endangered Species and Environmental Protection, Ministry of Education, Guilin, Guangxi 541006, China; 3 College of Environment and Resource, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi 541006, China)

Abstract: Hydroponic culture was conducted to study the effect of different nutritional conditions on the growth of *Isoetes sinensis*. The paper examined the changing rule of physiological and biochemical characteristics and photosynthetic fluorescence characteristics. The results showed that the chlorophyll content decreased but other physiological and biochemical indexes including soluble sugar content, malondialdehyde (MDA) content, proline (PRO) content, catalase (CAT) activity gradually increased as N and P concentrations increased in nutrient solution. And the peroxidase (POD) activity increased at the beginning then decreased. Among the photosynthetic fluorescence characteristics, the PS II maximal quantum yield (F_v/F_m), PS II effective quantum yield (Yield), photochemical quenching (qP), higher potential maximum relative electron transfer rates (P_m), initial slope of rapid light curve (α) and half-starved value of light intensity (I_k) gradually decreased with N and P concentrations increased, while non-photochemical quenching (qN) increased. We could conclude that *Isoetes sinensis* had a better tolerance to the stress of

收稿日期: 2016-12-07; 修改稿收到日期: 2017-03-05

基金项目: 广西自然科学基金(2014GXNSFFA118108); 国家自然科学基金(31660197); 中国地质科学院岩溶生态系统与石漠化治理重点开放实验室基金(KERDC201101); 广西研究生教育创新计划(YCSZ2016047)

作者简介: 庄枫红(1992-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事植物生态学研究。E-mail: 375952739@qq.com

* 通信作者: 马姜明, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事植物生态学研究。E-mail: mjming03@gxnu.edu.cn

the medium nutrient condition but poor tolerance to the stress under the high nutrient condition with comparatively obvious physiological injury as N and P concentrations increased. The ability of osmotic adjustment and antioxidant capacity increased, but the photosynthesis capacity decreased with the high nutrient condition. The higher nitrogen and phosphorus could inhibit the physiological activities of *Isoetes sinensis*, and thus affected its growth. In terms of the possibility that one of the most important factors of endangerment of *Isoetes sinensis* attributes to the eutrophication water.

Key words: *Isoetes sinensis*; nutritional conditions; physiological and biochemical characteristics; photosynthetic fluorescence characteristics

中华水韭 (*Isoetes sinensis*) 又名华水韭, 是最古老的孑遗蕨类, 隶属于水韭科 (Isoetaceae) 水韭属 (*Isoetes*), 为国家一级重点保护植物^[1-2]。水韭对湿地环境监测、生物多样性保护、古生态和物种演化等研究都具有重要的科研价值^[3]。中华水韭形如韭菜, 主要分布于长江流域中下游地区和钱塘江流域, 其生长环境主要以沼泽地、淤泥地等浅水潮湿环境为主, 是一种敏感的沼泽指示植物^[4]。

氮和磷是植物群落构建所需的重要营养盐, 也是湿地生态系统的重要限制因子和水质富营养化的主要根源^[5], 湿地生境中氮和磷含量的改变会导致物种间竞争能力和对环境胁迫的适应能力的变化, 从而引发植物群落的改变, 最终导致湿地生态系统结构和功能的变化^[6-7]。近年来, 由于人类活动加剧, 城市化和工业化程度的不断提高, 湖泊、湿地水质快速恶化, 氮、磷营养盐含量严重超标, 富营养化情况严重^[8-9]。在过去几年中, 长江及其支流水系受到严重污染, 当水体富营养化超过了植株本身的净化能力, 引起水体中的氮、磷水平升高、水体浑浊、透明度下降时, 导致生长于水层底部、对水质变化非常敏感的沉水性植物如中华水韭被迫迁入边缘的浅水地带, 而在浅水地带又无法与沼生植物竞争, 于是逐渐消失^[10]。国内对湿地植物的研究集中于对富营养化水体的净化效果和净化植物种类选择^[11-13]等方面, 而对受富营养化水体胁迫的湿地植物, 尤其是珍稀濒危湿地植物的生理生态特性研究较少。本研究测定不同营养条件对中华水韭叶片叶绿素、丙二醛、渗透调节物质含量以及保护酶活性和光合系统的影响, 揭示中华水韭对不同营养条件的生理生态响应特性, 明确其对富营养化水体的适应能力, 为中华水韭的保护及生境选择提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料培养及处理

参试的中华水韭植株来源于湖南怀化市通道县。采用水培法, 选择长势良好、大小一致的中华水

韭成熟植株, 经去离子水清洗后, 移入含有 Hoagland 营养液的塑料容器中培养(塑料容器大小为 40 cm×28 cm×20 cm), 植物用白色泡沫板固定, 于营养液中预培养 10 d, 待生长良好、未出现任何不良症状后, 保持其他环境条件一致, 以 Hoagland 营养液为对照(CK), 再以 Hoagland 营养液为基础用尿素及 KH_2PO_4 配制模拟中度(M)和高度(H)富营养化水体(表 1), 继续培养 30 d。每盆 3 株, 重复 3 次。每 3 d 更换 1 次营养液, 并保持连续通气。整个实验在人工气候箱中进行, 培养条件是光照强度 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、光照时间 14 h/d、温度 $(25 \pm 0.5) \text{ }^\circ\text{C}$ 、湿度 $(85 \pm 5)\%$ 。30 d 后, 对其叶片进行生理指标测定。

1.2 测定指标及方法

1.2.1 叶片生理生化指标 叶绿素含量采用乙醇提取法测定, 可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定, 丙二醛 (MDA) 含量采用硫代巴比妥酸 (TBA) 法测定, 游离脯氨酸含量采用茚三酮比色法测定, 过氧化物酶 (POD) 活性采用愈创木酚比色法测定, 过氧化氢酶 (CAT) 活性采用紫外吸收法测定^[14-15]。

1.2.2 叶片叶绿素荧光参数 采用水下调制荧光仪 DIVING-PAM(德国 WALZ 公司)和数据采集软件 Wincontrol 测定叶绿素荧光参数。每个处理重复测定 3 次, 所得数据取平均值进行比较。测定时, 于 21:00 开始对连体叶片进行 30 min 的暗适应后, 打开叶夹, 开启检测光 ($0.15 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) 得出初始荧光 F_0 ; 再由饱和脉冲光 ($4000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 持续时间 0.8 s) 得出暗适应样品的最大荧光 F_m ; 然后开启光强度为 $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的光化光照射 20 s, 再经饱和脉冲光测得光适应样品的

表 1 氮和磷营养盐的添加浓度

Table 1 N and P nutrient concentration/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)

营养条件 Nutritional condition	N	P
对照 Control(CK)	0	0
中度 Medium(M)	0.4	0.04
高度 High(H)	1.2	0.12

最大荧光 F_m' 、实时荧光 F_t ，并按以下公式计算 PS II 的最大量子产量 F_v/F_m 、有效量子产量 $Yield$ 、光化学猝灭系数 qP 和非光化学猝灭系数 qN ^[16-18]：

$$F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m$$

$$Yield = (F_m' - F_t) / F_m'$$

$$qP = (F_m' - F_t) / (F_m' - F_0)$$

$$qN = (F_m - F_m') / (F_m - F_0)$$

1.2.3 快速光响应曲线 于 10:00 在遮蔽自然光条件下测量快速光响应曲线 (rapid light curve, RLC)，先对连体叶片进行 30 min 的暗适应后，打开叶夹，开启检测光 ($0.15 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) 得出 F_0 ，再由饱和脉冲光 ($4000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ，持续时间 0.8 s) 得出 F_m ，然后开启光强依次为 0、15、60、90、180、370、540、730 和 908 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的光化光，每个强度的光化光照射 10 s，两次光化光间隔 20 s，经检测光和饱和脉冲光测得 F_t 和 F_m' ，计算得到 8 个相对电子传递速率 ($rETR$)，绘出 $rETR$ 平均值的快速光响应曲线。

用 Smith 的公式对快速光曲线 (RLC) 进行拟合： $P = P_m \cdot \alpha \cdot PAR / \text{sqrt}[P_m^2 + (\alpha \cdot PAR)^2]$ 。

式中， P 为相对电子传递速率 ($rETR$)， PAR 为光合有效辐射， P_m 为无光抑制时的最大潜在相对电子传递速率 ($rETR_{\text{max}}$)， α 是快速光曲线的初始斜率，半饱和光强 $I_k = P_m / \alpha$ ^[17,19]。

1.3 数据统计分析

实验数据用 SPSS 19.0 和 SigmaPlot 10.0 软件分析并作图。采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 对不同处理间的差异进行检验，采用 Duncan 法在 0.05 水平下对不同数据间的差异进行多重比较，快速光曲线拟合采用最小二乘法。

2 结果与分析

2.1 营养条件对中华水韭生理生化特性的影响

2.1.1 叶绿素含量 由图 1 可知，随着营养液中氮、磷浓度升高，中华水韭叶片叶绿素含量总体呈下降的变化趋势；与对照 (CK) 相比，中营养条件 (M)、高营养条件 (H) 下中华水韭叶片的叶绿素含量分别显著降低了 6.43% 和 29.16%，且不同营养条件间叶绿素含量差异显著 ($P < 0.05$)。

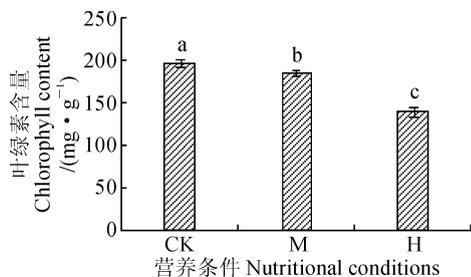
2.1.2 丙二醛含量 图 2 显示，随着营养液中氮、磷浓度升高，中华水韭叶片丙二醛含量总体呈上升的变化趋势，并以对照的丙二醛含量最低；中营养条件、高营养条件的丙二醛含量与对照相比分别显著升高了 117% 和 202%，不同营养条件间丙二醛含量

差异显著 ($P < 0.05$)。

2.1.3 渗透调节物质含量 随着营养液中氮、磷浓度升高，中华水韭叶片可溶性糖含量和脯氨酸含量总体呈上升的变化趋势，且以对照的含量最低 (图 3)。其中，中营养条件、高营养条件的可溶性糖含量与对照相比分别显著升高了 17.99% 和 33.95%，不同营养条件间可溶性糖含量差异显著 ($P < 0.05$)；与可溶性糖含量表现相似，中营养条件、高营养条件的脯氨酸含量与对照相比分别升高了 10.06% 和 104.77%，但在中营养条件下未达到显著水平 ($P > 0.05$)，而在高营养条件下达到显著水平。

2.1.4 保护酶活性 图 4 显示，随着营养液中氮、磷浓度升高，中华水韭叶片 POD 活性总体呈先上升后下降的变化趋势，并在中营养条件下最高；中营养条件、高营养条件的 POD 活性分别比对照显著升高了 236% 和 177%，不同营养条件间 POD 活性差异显著 ($P < 0.05$)。同时，中华水韭叶片 CAT 活性也总体呈上升的变化趋势，其中在中营养条件、高营养条件分别比对照升高了 161% 和 652%，但对照与中营养条件的 CAT 活性无显著差异 ($P > 0.05$)，与高营养条件的 CAT 活性差异显著。

以上结果说明中度和高度水体富营养化已经诱



不同字母表示处理间在 5% 水平上存在显著性差异，下同。
图 1 不同营养条件对中华水韭叶片叶绿素含量的影响
Different normal letters indicate significant difference among treatments at 5% level, the same as below

Fig.1 Effects of different nutritional conditions on chlorophyll content of leaves of *I. sinensis*

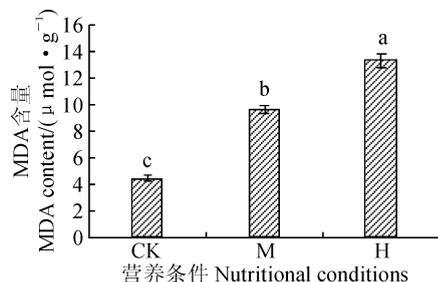


图 2 不同营养条件对中华水韭叶片丙二醛含量的影响
Fig.2 Effects of different nutritional conditions on MDA content of leaves of *I. sinensis*

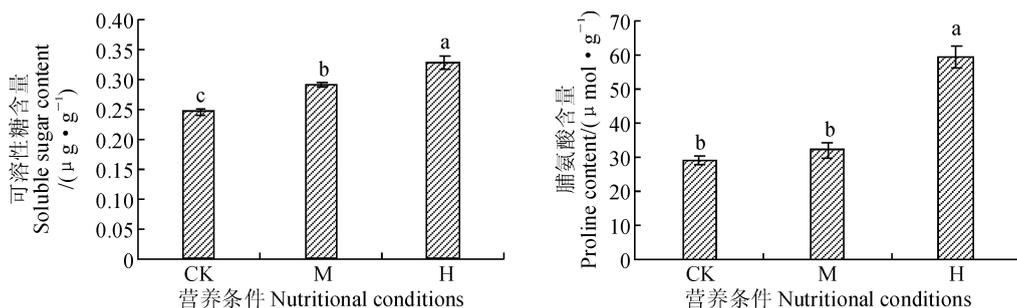


图3 不同营养条件对中华水韭叶片可溶性糖、脯氨酸含量的影响

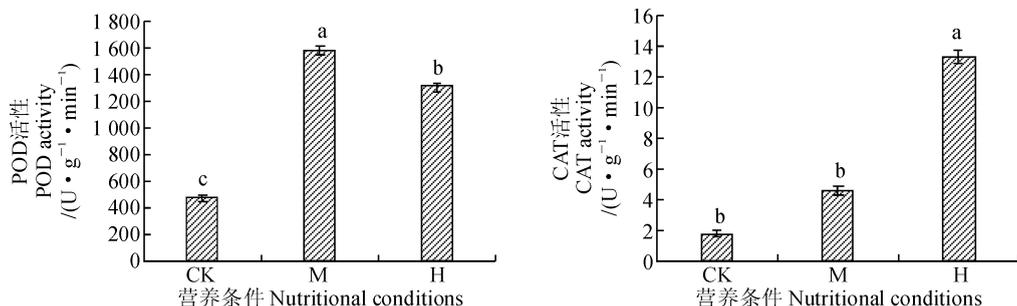
Fig. 3 Effects of different nutritional conditions on soluble sugar and proline contents of leaves of *I. sinensis*

图4 不同营养条件对中华水韭叶片 POD、CAT 酶活性的影响

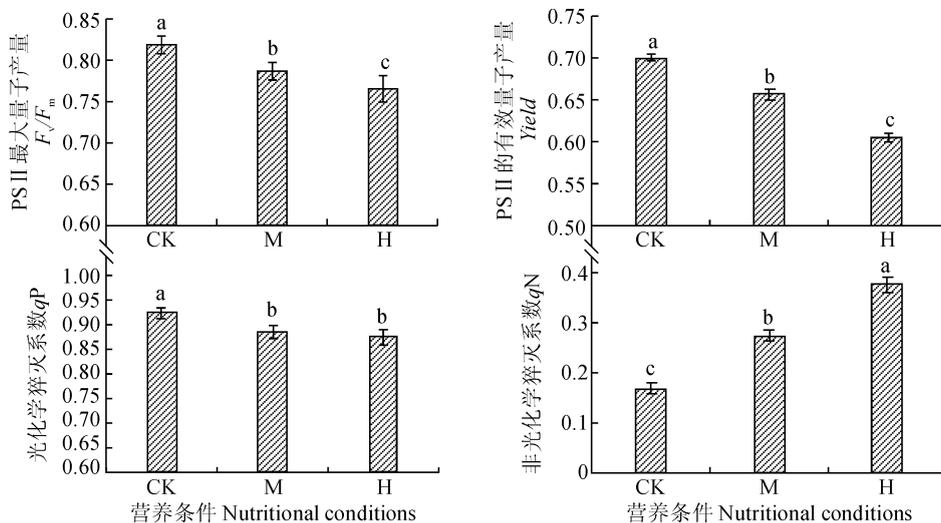
Fig. 4 Effects of different nutritional conditions on POD and CAT activities of leaves of *I. sinensis*

图5 不同营养条件对中华水韭叶片叶绿素荧光参数的影响

Fig. 5 Effects of different nutritional conditions on chlorophyll fluorescence parameters of leaves of *I. sinensis*

导中华水韭叶片主要保护酶活性和渗透调节物质含量不同程度升高,但其自身调节能力已无法有效消除因富营养化造成的过氧化伤害,致使叶片的过氧化产物 MDA 含量显著升高,叶绿素含量显著降低,严重抑制了其光合作用的正常进行。

2.2 营养条件对中华水韭光合荧光特性的影响

2.2.1 叶绿素荧光参数

由图 5 可知,随着营养液中氮、磷浓度升高,中华水韭叶片的 PS II 的最大量子产量 (F_v/F_m) 总体呈下降的变化趋势,中营养条件、高营养条件的 F_v/F_m 比对照分别显著降低了

3.91%和 6.47%,且不同营养条件间 F_v/F_m 差异显著 ($P < 0.05$)。同时,经过充分暗适应后,中华水韭叶片光合作用速率在 $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的光化光下逐渐上升至稳定时,PS II 反应中心的有效量子产量 (Yield) 以及光化学猝灭系数 (qP) 随着营养液中氮、磷浓度升高的变化趋势与 F_v/F_m 相似,均呈下降的变化趋势;与对照相比,中营养条件、高营养条件中华水韭叶片的 Yield 分别显著降低了 6.28%和 13.71%,而它们相应的 qP 分别显著降低了 4.11%和 5.31%,但中营养条件和高营养条件的

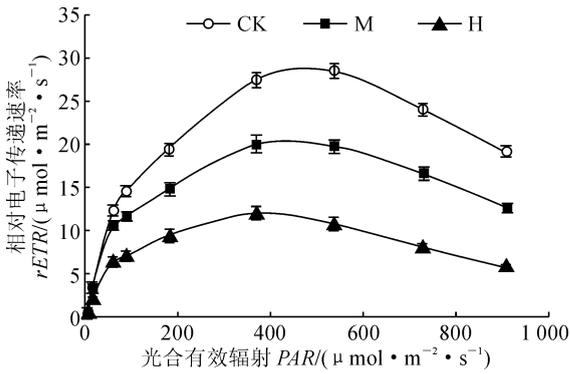


图6 不同营养条件下中华水韭的快速光响应曲线差异

Fig. 6 Changes of the rapid light curve of *I. sinensis* at different nutritional conditions

qP 无显著差异 ($P > 0.05$)。另外,随着营养液中氮、磷浓度升高,中华水韭叶片非光化学猝灭系数 (qN) 的变化规律与 qP 相反,呈上升的趋势,中营养条件、高营养条件的 qN 与对照相比分别显著升高了 62.13% 和 123.67%,且不同营养条件间差异显著。

2.2.2 快速光响应曲线 快速光响应曲线是相对电子传递速率 ($rETR$) 随光强变化的曲线,一般随着光强的升高, $rETR$ 逐渐升高,并在光强达到饱和点后达到最大值,之后随着光强的进一步升高而逐渐下降^[20]。本研究所设置的最大光强为 $908 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,不同营养条件的 $rETR$ 均呈现下降趋势(图6),不同营养条件下的曲线表现出明显的差异。通过对 RLCs 拟合分析^[17,19],可获得一系列反映光合能力的参数。

如图7所示,随着营养液中氮、磷浓度升高,中华水韭叶片的最大潜在相对电子传递速率 (P_m) 呈下降的变化趋势,其中营养条件、高营养条件下分别比对照显著降低了 30.64% 和 46.12%,且不同营养条件间差异显著 ($P < 0.05$)。同时,中华水韭叶片半饱和光强 (I_k) 和快速光响应曲线的初始斜率 (α) 随氮、磷浓度升高也表现出与 P_m 相似下降的趋势,中营养条件、高营养条件的 I_k 比对照分别显著降低了 24.77% 和 35.35%,它们的 α 则比相应对照分别显著降低了 7.77% 和 16.58%,且不同营养条件间均差异显著 ($P < 0.05$)。

以上结果说明中度和高度水体富营养化导致中华水韭叶片的 PSII 系统受到不同程度的破坏,其叶片最大的 PSII 光能转换效率 (F_v/F_m)、实际光合速率 ($Yield$)、电子传递活性 (qP)、潜在最大光合速率 (P_m)、叶片的捕光能力 (α) 和对强光的耐受能力 (I_k) 均呈现出不同程度的降低,同时天线色素吸收的光能无法用于电子传递而以热的形式耗散掉

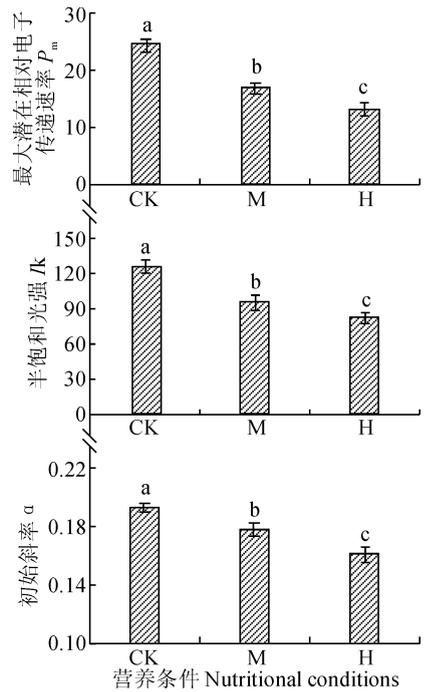


图7 不同营养条件对中华水韭叶片快速光响应曲线拟合参数的影响

Fig. 7 Effects of different nutritional conditions on fitted parameters from RLC of leaves of *I. sinensis* 的部分 (qN) 则显著升高。即中华水韭的光合作用明显受到中度和高度水体富营养化胁迫的抑制。

3 讨论

细胞膜的结构和功能的稳定性是植物抵御逆境危害的基础^[21]。植物受到逆境胁迫后其活性氧含量增加,当超出自身清除能力时活性氧会攻击蛋白质致使膜过氧化^[22],进而使细胞衰老、MDA 含量增加^[23]。本研究结果表明,随着营养液中 N、P 浓度升高,中华水韭叶片内 MDA 含量逐渐上升,而 MDA 含量多少可以反映膜过氧化伤害程度^[24],即 MDA 含量越高则植物细胞膜的受伤害程度越大。说明中华水韭叶片细胞中活性氧产生与清除在 N、P 浓度升高时失衡,细胞防御系统能力降低,活性氧的代谢平衡失调导致其含量增加,进而损伤膜脂和其他细胞成分。而 POD、CAT 是植物体内保护酶系统的重要组成部分,能够将活性氧自由基和 H_2O_2 等转化为 O_2 和 H_2O 等对自身不产生伤害的物质^[25],从而消除或减轻其危害,在一定程度上减缓逆境胁迫^[26-27]。本研究中中华水韭的 CAT 活性随着营养液中 N、P 浓度升高逐渐上升,说明中华水韭体内 H_2O_2 被催化分解,降低了 H_2O_2 在体内过量积累,从而减少活性氧伤害。但与 CAT 活性表现不同,POD 活性随着营养液中 N、P 浓度升高呈

先上升后下降的趋势,在中营养条件达到最大值,其后又降低。POD 是植物体内活性很高的一种酶,与植物光合作用及呼吸作用等都有关系,在植物生长过程中活性不断变化。说明本实验开始时,中华水韭通过启动 POD 抗逆机制来提高对逆境的适应能力,而随着 N、P 浓度升高,POD 活性有所下降,表明在较高浓度的富营养化胁迫下组织内 POD 开始负响应,清除活性氧的能力降低;从而导致活性氧进一步积累,造成质膜透性增大,膜功能受损,甚至引发叶绿体结构破坏,叶绿素含量下降,进而影响光合代谢,光合速率下降。POD 不仅参与消除活性氧自由基,也在逆境加强后及叶片衰老初期参与活性氧生成和叶绿素降解,并引发膜脂过氧化作用^[28]。

氮元素是一些常见代谢物的必需元素,也是叶绿素的主要成分^[29]。氮通过影响光合作用中一系列关键酶的活性来影响植物光合作用^[30]。氮肥能提高植物的光合效能^[31],尿素可促进多数植物幼苗的营养生长^[32]。磷是植物生长的必需营养元素,是植物体的组成成分,在物质代谢、酶活性调节、信号传导及光合和呼吸作用等方面都起着极为重要的作用^[33]。低磷条件使植株吸磷量减少,细胞内磷浓度降低,导致光合速率下降;高磷条件下叶片中磷含量上升,光合作用下降明显且生理代谢受到严重抑制^[34-35]。本研究表明,随着营养液中 N、P 浓度升高,中华水韭叶片内叶绿素含量逐渐下降,说明胁迫对中华水韭膜系统的损伤引起光合器官的伤害,导致叶绿体受到破坏,抑制了光合酶的活性和叶绿素的合成,光合效率降低,叶绿素总量和光合作用呈下降趋势。

植物的叶绿素荧光参数对研究植物光合作用和逆境生理生态学具有重要作用^[36]。叶绿素荧光动力学测定能够快速灵敏地反映 PS II 对光能的吸收、传递、耗散、分配等方面的状况^[37],因此常被用于评价环境胁迫对植物生长的影响^[38]。 F_v/F_m 代表暗适应下 PS II 的最大量子产量(原初光能转换效率),非胁迫条件下该参数变化极小,不受物种和生长条件的影响,而胁迫条件下明显下降^[16]。因此, F_v/F_m 能反映植物对光能的利用效率,是反映植物在胁迫条件下光合作用受抑制程度的理想指标^[39],其正常生长环境下一一般在 0.80~0.85 之间。本研究表明,中华水韭对照的 F_v/F_m 在 0.80~0.85 之间,而中营养及富营养条件的 F_v/F_m 则维持在 0.76~0.79 之间,说明添加 N、P 影响了中华水韭叶片的 PS II 系统活性,光合作用的原初反应过程受到明显抑制。而同时中华水韭叶片的 $Yield$ 、 qP 随着营

养液中 N、P 浓度升高呈下降的趋势,而其 qN 值则呈现上升的趋势,说明此时中华水韭的光合电子传递过程受到抑制,PS II 系统的开放程度降低,导致其捕获能量转化为化学能的能力和电子传递活性下降,降低光合效率和对光能的利用率;另一方面在 N、P 胁迫下中华水韭叶片 PS II 系统的潜在热耗散能力增强,从而避免因 PS II 吸收过量光能造成对植物光合器官的损伤,这是植物的一种自我保护机制^[40]。另外,测定叶绿素荧光快速光响应曲线可获得有关叶片相对电子传递速率特性的有效信息^[19]。光响应曲线参数中的 P_m 代表了叶片光合作用的最大能力,是光合速率的一种表达方式^[41]。 I_k 反映叶片对强光的耐受能力。 α 表示叶片光化学反应的启动速率^[41]。本研究表明,随着营养液中 N、P 浓度升高,中华水韭的快速光响应曲线进行拟合所得参数 P_m 、 I_k 、 α 均呈下降的趋势,说明中华水韭在受到胁迫时,光合作用强度减弱,对强光的耐受能力下降,光化学反应启动速率减慢,光能利用效率较低,无法充分利用较低的光能进行光合作用。

渗透调节功能是植物在长期进化过程中所演化出适应逆境因子的机制和策略。脯氨酸和可溶性糖是植物体内重要的渗透调节物质。在逆境胁迫下,植物膜系统完整性降低,膜内外平衡受到破坏时,这些有机溶质会主动积累,以提高细胞液浓度,降低其渗透势,增强吸水 and 持水能力,保持细胞生长、气孔开放和光合作用等生理过程,从而提高抗胁迫能力^[42-43]。如高营养环境中,苦草叶片内可溶性糖含量增加以应对由于被动吸收大量的氮素、游离氨基酸大量产生、大量氨积累对其产生的生理毒性^[44]。本研究表明,随着营养液中 N、P 浓度升高,中华水韭叶片内可溶性糖和脯氨酸含量呈相同的逐渐上升趋势,说明中华水韭能通过增加可溶性糖含量来保护酶类并提供能量来源,而脯氨酸含量的增加则有利于调控植物渗透势,在胁迫环境下维持细胞内稳态,从而适应过高的水体营养程度。

多年来,为了追求农业高产,化肥使用量逐年增加,导致湿地生态环境急剧恶化、水体富营养化加速、野生物种迅速减少^[45]。而水韭是古老的蕨类植物,根系的二歧发育模式^[46]远比种子植物侧根的内起源模式原始,生理代谢能力也比被子植物低下^[47],常用的 N、P 浓度就足以破坏叶片保护酶活性的平衡,造成叶片的生理损伤^[48]。因此,本研究通过测定中华水韭叶片的多项生理指标的表现,可知水体富营养化是造成中华水韭濒危的重要原因之一。

参考文献:

- [1] 印 红. 中国珍稀濒危植物图鉴[M]. 北京: 中国林业出版社, 2013: 32-36.
- [2] 刘 星, 刘 虹, 王青锋. 中国水韭属植物的孢子形态特征[J]. 植物分类学报, 2008, **46**(4): 479-489.
LIU X, LIU H, WANG Q F. Spore morphology of *Isoetes* (Isoetaceae) from China[J]. *Journal of Systematics and Evolution*, 2008, **46**(4): 479-489.
- [3] 李 婧, 关 畅, 范海翔, 等. 3 种湿地濒危水韭叶片对干旱胁迫的生理响应[J]. 湿地科学, 2015, (2): 217-222.
LI J, GUAN Y, FAN H X, *et al.* The physiological response of leaves of three kinds of endangered *Isoetes* under drought stress[J]. *Wetland Science*, 2015, (2): 217-222.
- [4] 陈家宽, 王海洋, 何国庆. 江西境内珍稀植物普通野生稻和中华水韭产地的考察[J]. 生物多样性, 1998, **6**(4): 260-266.
CHEN J K, WANG H Y, HE G Q. A survey on the habitats of *Oryza rufipogon* and *Isoetes sinensis* in Jiangxi Province [J]. *Biodiversity Science*, 1998, **6**(4): 260-266.
- [5] 王佳宁, 晏维金, 贾晓栋, 等. 长江流域点源氮磷营养盐的排放、模型及预测[J]. 环境科学学报, 2006, **26**(4): 658-666.
WANG J N, YAN W J, JIA X D, *et al.* Modeling the export of point sources of nutrients from the Yangtze River basin and discussing countermeasures[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, **26**(4): 658-666.
- [6] OLDE V H, PIETERSE N M, *et al.* N, P and K budgets along nutrient availability and productivity gradients in wetlands [J]. *Ecological Applications*, 2002, **12**(4): 1 010-1 026.
- [7] GUSEWELL S, KOERSELMAN W. Variation in nitrogen and phosphorus concentration of wetland plants[J]. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 2002, **5**(1): 37-61.
- [8] ZHANG M, CAO T, NI L Y, *et al.* Carbon, nitrogen and antioxidant enzyme responses of *potamogeton crispus*, to both low light and high nutrient stresses[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2010, **68**(1): 44-50.
- [9] 余国营, 刘永定, 丘昌强, 等. 滇池水生植被演替及其与水环境变化关系[J]. 湖泊科学, 2000, **12**(1): 73-80.
YU G Y, LIU Y D, QIU C Q, *et al.* Macrophyte succession in Dianchi Lake and relations with the environment[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2000, **12**(1): 73-80.
- [10] 庞新安. 中华水韭光合生理特性及其栖息地生境特征研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2003.
- [11] 周 玥, 韩玉国, 等. 4 种不同生活型湿地植物对富营养化水体的净化效果[J]. 应用生态学报, 2016, **27**(10): 3 353-3 360.
ZHOU Y, HAN Y G, *et al.* Purification efficiency of four different ecotypes of wetland plants on eutrophic water body [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, **27**(10): 3 353-3 360.
- [12] 卫小松, 夏品华, 袁 果, 等. 湿地植物对富营养化水体中氮磷的吸收及去除贡献[J]. 西南农业学报, 2016, **29**(2): 408-412.
WEI X S, XIA P H, YUAN G, *et al.* Absorption capacity and removal contribution of wetland plants to nitrogen and phosphorus in eutrophic water body[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2016, **29**(2): 408-412.
- [13] 李卫平, 刘建龙, 鲍交琦, 等. 包头黄河湿地生态恢复植物类型的选择[J]. 湿地科学, 2015, **13**(2): 211-216.
LI W P, LIU J L, BAO J Q, *et al.* Selection of plants for ecological restoration of yellow river wetlands in Baotou City [J]. *Wetland Science*, 2015, **13**(2): 211-216.
- [14] 张以顺, 黄 霞, 陈云凤. 植物生理学实验教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.
- [15] 夏建国, 兰海霞, 吴德勇. 铅胁迫对茶树生长及叶片生理指标的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, **29**(1): 56-61.
XIA J G, LAN H X, WU D Y. Lead stress on growth of tea trees and physiological index in leaves of tea[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, **29**(1): 56-61.
- [16] 张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论[J]. 植物学通报, 1999, **16**(4): 444-448.
ZHANG S R. A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 1999, **16**(4): 444-448.
- [17] SQUIRES M M, LESACK L F W. Spatial and temporal patterns of light attenuation among lakes of the Mackenzie Delta [J]. *Freshwater Biology*, 2003, **48**(1): 1-20.
- [18] 李 强, 王国祥, 等. 水体浊度对菹草萌发及萌发苗光合荧光特性的影响[J]. 生态学报, 2006, **26**(11): 3 594-3 601.
LI Q, WANG G X, *et al.* Influence of water turbidity on germination of *Potamogeton crispus* and growth of germinated seedling [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, **26**(11): 3 594-3 601.
- [19] RALPH P J, GADEMANN R. Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity[J]. *Aquatic Botany*, 2005, **82**(3): 222-237.
- [20] 柏 祥, 温 瑀, 魏国印, 等. 湿地水深梯度对芦竹 (*Arundo donax*) 生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2015, **21**(6): 1 157-1 161.
BAI X, WEN Y, WEI G Y, *et al.* Effects of water depth gradient on growth and chlorophyll fluorescence characteristics of *Arundo donax* [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2015, **21**(6): 1 157-1 161.
- [21] 贺红早, 李苇洁, 杨 玲, 等. 干旱胁迫下顶坛花椒细胞膜透性和超氧化物歧化酶活性对 Zn 的响应[J]. 安徽农业科学, 2008, **36**(2): 423-425.
HE H Z, LI W J, YANG L, *et al.* Response of cell membrane permeability and SOD activity of *Zanthoxylum Planispinum* var. *dingtanensis* to Zinc under drought stress[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2008, **36**(2): 423-425.
- [22] 杨晓清, 周再知, 梁坤南, 等. 氮素对模拟胁迫下土沉香幼苗抗旱生理的影响[J]. 热带作物学报, 2013, **34**(6): 1 121-1 127.
YANG X Q, ZHOU Z Z, LIANG K N, *et al.* Effects of Nitrogen nutrition on physiological traits of the *Aquilaria sinensis* seedlings under simulated water stress[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2013, **34**(6): 1 121-1 127.
- [23] 许耀照, 张芬琴, 等. 水分胁迫对彩椒幼苗生长及光合特性的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2016, **34**(2): 182-189.
XU Y Z, ZHANG F Q, *et al.* Effects of water stress on growth and photosynthetic characteristics of color pepper seedlings [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2016, **34**(2): 182-189.
- [24] CHEN G, HU W, XIE P, *et al.* Solvent for extracting malondialdehyde in plant as an index of senescence[J]. *Plant Physiology Communications*, 1991, (1): 19.
- [25] MISHRA S, SRIVASTAVA S, TRIPATHI R, *et al.* Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelation and antioxidant system in response to its accumulation[J]. *Chemosphere*, 2006, **65**: 1 027-1 039.
- [26] ROSALES M A, OCAMPO E, *et al.* Physiological analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars uncovers

- characteristics related to terminal drought resistance [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2012, 56: 24-34.
- [27] 李少锋, 李志辉, 等. 水分胁迫对椴叶花椒抗氧化酶活性等指标的影响[J]. 中南林业科技大学学报, 2008, 28(2): 29-34. LI S F, LI Z H, *et al.* Effect of water stress on activities of anti-oxidase and several physiological indexes of *Zanthoxylum ailanthoides* Sieb. et Zucc[J]. *Journal of Central South University of Forestry and Technology*, 2008, 28(2): 29-34.
- [28] KE S S, YANG M W. Effects of water stress on antioxidant system and lipid peroxidation in leaves of rhododendron fortunei[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2007, 34(5): 1 217-1 222.
- [29] 王东光, 尹光天, 邹文涛, 等. 氮素营养对闽楠幼苗生长及光合特性的影响[J]. 林业科学研究, 2013, 26(1): 70-75. WANG D G, YIN G T, ZOU W T, *et al.* Effects of nitrogen loading on growth and photosynthetic characteristics of *Phoebe bournei* seedlings[J]. *Forest Research*, 2013, 26(1): 70-75.
- [30] 吴巍, 赵军. 植物对氮素吸收利用的研究进展[J]. 中国农学通报, 2010, 26(13): 75-78. WU W, ZHAO J. Advances on plants' nitrogen assimilation and utilization [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26(13): 75-78.
- [31] 吉艳芝, 陈立新, 等. 施肥对落叶松人工林植物养分及生理特性的影响[J]. 生态环境, 2004, 13(2): 217-219. JI Y Z, CHEN L X, *et al.* Influence of fertilization on plant nutrition and physiological characteristics in larch plantations [J]. *Ecology and Environment Sciences*, 2004, 13(2): 217-219.
- [32] 贺维, 胡庭兴, 王锐, 等. 施肥对桢楠幼苗光合生理及生长特性的影响[J]. 西北植物学报, 2014, 34(6): 1 187-1 197. HE W, HU T X, WANG R, *et al.* Effect of fertilization on photosynthetic physiology and growth characteristics of *Phoebe zhenman* seedlings [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2014, 34(6): 1 187-1 197.
- [33] 贺军军, 姚艳丽, 林清火, 等. 不同施磷水平对橡胶幼苗光合与生理代谢的影响[J]. 热带农业科学, 2016, 36(4): 1-4. HE J J, YAO Y L, LIN Q H, *et al.* Effects of different phosphorus application levels on the photosynthesis and physiological metabolism of rubber tree seedlings [J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2016, 36(4): 1-4.
- [34] 于钦民, 徐福利, 王渭玲. 氮、磷肥对杉木幼苗生物量及养分分配的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(1): 118-128. YU Q M, XU F L, WANG W L. Effect of nitrogen and phosphorus fertilization on biomass and nutrient distribution of *Cunninghamia lanceolata* seedlings [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2014, 20(1): 118-128.
- [35] MAXWELL K, JOHNSON G N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51(345): 659-668.
- [36] 吴甘霖, 段仁燕, 王志高, 等. 干旱和复水对草莓叶片叶绿素荧光特性的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(14): 3 941-3 946. WU G L, DUAN R Y, WANG Z G, *et al.* Effects of drought stress and rehydration on chlorophyll fluorescence characteristics in *Fragaria × ananassa* Duch [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(14): 3 941-3 946.
- [37] ROHACEK K. Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships [J]. *Photosynthetica*, 2002, 40(1): 13-29.
- [38] 郝兴宇, 韩雪, 李萍, 等. 大气 CO₂ 浓度升高对绿豆叶片光合作用及叶绿素荧光参数的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(10): 2 776-2 780. HAO X Y, HAN X, LI P, *et al.* Effects of elevated atmospheric CO₂ concentration on mung bean leaf photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(10): 2 776-2 780.
- [39] 杨玉珍, 陈刚, 彭方仁. 干旱胁迫对不同种源香椿主要叶绿素荧光参数的影响[J]. 东北林业大学学报, 2010, 38(7): 49-51. YANG Y Z, CHEN G, PENG F R. Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters in seedlings of different *Toona sinensis* provenances [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2010, 38(7): 49-51.
- [40] 凌旌瑾. 环境胁迫对蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa*) 生长和光合作用的影响[D]. 上海: 华东师范大学, 2009.
- [41] SAROUSSI S, BEER S. Alpha and quantum yield of aquatic plants derived from PAM fluorometry: Uses and misuses [J]. *Aquatic Botany*, 2007, 86(1): 89-92.
- [42] FRANCA G C, THI A T P, PIMENTEL C, *et al.* Differences in growth and water relations among *Phaseolus vulgaris* cultivars in response to induced drought stress [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2000, 56: 24-34.
- [43] 刘晓东, 李洋洋, 何森. PEG模拟干旱胁迫对玉带草生理特性的影响[J]. 草业科学, 2012, 29(5): 687-693. LIU X D, LI Y Y, HE M. Physiological characteristics of *Phalaris arundinacea* var. *picta* under drought stress simulated by PEG [J]. *Pratacultural Science*, 2012, 29(5): 687-693.
- [44] 郭洪涛, 曹特, 倪乐意. 中等实验规模下不同营养环境对苦草 (*Vallisneria spiralis*) 生长的影响[J]. 湖泊科学, 2008, 20(2): 221-227. GUO H T, CAO T, NI L Y. Effects of different nutrient conditions on the growth of a submerged macrophyte, *Vallisneria spiralis*, in a mesocosm experiment [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2008, 20(2): 221-227.
- [45] 刘茂松, 姜志林, 李湘潭. 长江中下游湿地系统的功能及其保护[J]. 南京林业大学学报, 1999, 23(2): 27-30. LIU M S, JIANG Z L, LI X P. The function and protection of the wetland in the mid and lower reaches of Changjiang River [J]. *Journal of Nanjing Forestry University*, 1999, 23(2): 27-30.
- [46] 刘虹, 王青峰. 中国珍稀濒危植物东方水韭二歧根的发育[J]. 武汉大学学报, 2006, 52(6): 757-762. LIU H, WANG Q F. Dichotomous root development in *Isoetes orientalis*, a rare and endangered quillwort in China [J]. *Journal of Wuhan University*, 2006, 52(6): 757-762.
- [47] 孙昊, 刘婷婷, 等. 极度濒危蕨类中华水韭对除草剂的生理响应[J]. 西北植物学报, 2013, 33(9): 1 830-1 837. SUN H, LIU T T, *et al.* Physiological response to herbicides of *Isoetes sinensis* palmer critically endangered ferns [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2013, 33(9): 1 830-1 837.
- [48] 程树颖, 刘保东, 孙昊, 等. 两种濒危水韭叶片对化肥胁迫的生理响应[J]. 湿地科学, 2015, 13(1): 111-117. CHENG S Y, LIU B D, SUN H, *et al.* The physiological response of leaves of two kinds of endangered *Isoetes* under fertilizer stress [J]. *Wetland Science*, 2015, 13(1): 111-117.

(编辑:裴阿卫)