

底质类型与正反扦插对轮叶黑藻生长生理的影响

蔺庆伟¹, 靳同霞¹, 马剑敏¹, 张 义², 刘碧云², 贺 锋², 吴振斌²

(1. 河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453007;

2. 中国科学院水生生物研究所, 湖北 武汉 430070)

摘要:底质是沉水植物扎根生长并稳定繁衍的基本条件, 不同类型底质物化特性存在差异。为了探究沉水植物大规模引植过程中产生生态学顶端颠倒现象对其恢复生长的影响, 通过室内水族缸模拟实验和杭州西湖茅家埠湖区原位盆栽实验, 研究不同类型底质(湖泥、湖泥+沙子、沙子、黄土)和正反向扦插对轮叶黑藻(*Hydrilla verticillata*)生长形态及生理指标的影响。结果显示, 不同底质类型对黑藻生物量积累、分蘖数等形态指标影响显著($P < 0.05$), 湖泥中黑藻生长最佳, 其增加生物量(6.27 g)、分蘖数(19.8 枝)在4种底质中最大; 其次为黄土(5.14 g和18.8 枝), 其能促进植株和根系伸长; 叶绿素、蛋白含量、超氧化物歧化酶活性及丙二醛测定结果进一步印证以上结果。各种底质中, 反向扦插处理的黑藻分蘖数和根数较正向扦插均有显著减少, 尤其是黄土底质中, 反向比正向扦插分别减少10.2枝和22.8根, 生物量降低2.961 g, 但不影响最终形态学上端的形成。西湖茅家埠原位实验表明, 在含水率和营养较低的底质中, 盆栽黑藻长势相对优于含水率和营养较高底质中的黑藻, 且同一底质盆栽于原位时比异位时更有利于生物量积累。建议恢复沉水植被时可以适当改良底质, 尤其是物理特性, 种植时需区分植物形态学的上下端。研究结果可为不同类型底质的浅水湖泊沉水植物群落恢复提供参考。

关键词:底质类型; 轮叶黑藻; 正反扦插; 生长形态; 生理指标

中图分类号: Q948.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-3075(2021)01-0091-10

底质是沉水植物扎根生长并稳定繁衍的基本条件, 也是其营养素的直接来源。不同类型沉积物中营养盐状况、微量元素、氧化还原环境、底质结构类型存在差异(Wu et al, 2015)及其不同的物理特性(王培等, 2015), 使得沉水植物的生长产生变化(Barko et al, 1991)。沉水植物主要靠根系直接从底泥吸收养分满足其营养需求(王华等, 2008), 所以底质养分组成在一定程度上影响很多沉水植物的生物量积累(赵海超等, 2010)、营养分配(Xiao & Wu, 2007)、根系分布(Xie & Wang, 2007), 且底质类型对无性系分株特征产生强烈影响。然而, 水利改造和生态环境修复工程中的底质清淤以及基底改良使底质结构和组成发生极大变化(Zhang et al, 2016); 同时, 水土流失和沉降造成底质区域性差异, 对沉水植物恢复产生一定的影响(李垒等, 2010)。因此, 结

合野外实际条件研究底质类型对沉水植物生长生理的具体影响, 对顺利重建和恢复受损水体的水生植被具有实际意义。

轮叶黑藻(*Hydrilla verticillata*)为水鳖科沉水植物, 生物量较多分布于植株的中上部, 净化能力强(Srivastava & Bhainsa, 2016)。该植物具有较强的无性繁殖能力, 断枝、鳞茎、块茎均可作为无性繁殖体(Song et al, 2018), 能够吸附悬浮物和营养盐, 其化感作用可抑制浮游藻类水华, 故常作为恢复沉水植被时的耐污先锋种使用(马剑敏等, 2010)。关于沉水植物断枝生殖能力的研究较多, 包括环境因子、断枝长度及位置、引种方式对其繁殖的影响等(高莹等, 2007; 葛绪广等, 2009), 但在水族缸中可控条件下及正反向扦插对轮叶黑藻生长影响的研究鲜有报道。

杭州西湖(30°15'45"N, 120°16'30"E)是世界闻名的城市景观湖泊, 水域面积6.39 km², 平均水深1.56 m, 水体容量约1 429万 m³, 近些年也受到富营养化困扰。为改善提升西湖水质, 国家“十二五”水体污染控制与治理科技重大专项在西湖西进水域(茅家埠、乌龟潭、浴鹄湾)和小南湖进行了沉水植被恢复与重建示范工程(蔺庆伟, 2015)。茅家埠、乌龟潭和浴鹄湾在2003年前属当地茶园, 2002年12月

收稿日期: 2019-01-28

基金项目: 中国博士后科学基金(2019M662498); 国家“十二五”水体污染控制与治理科技重大专项(2012ZX07101-007); 河南省自然科学基金(182300410147)。

作者简介: 蔺庆伟, 1988年生, 男, 博士后, 研究方向为污染治理与生态修复。E-mail: qingweilin1988@163.com

通信作者: 马剑敏, 1965年生, 教授, 主要从事污染治理与生态修复教研工作。E-mail: majm95@126.com

至2003年9月,经挖掘疏浚而成为西湖西进水域(林丰妹等,2007)。由于不同湖区底质特征不一样,沉水植物大规模扦插种植过程中不可避免产生形态学顶端向上或向下,导致沉水植物的恢复生长情况呈现一定的差异性。因此,研究不同底质条件下以及正反向扦插对轮叶黑藻无性繁殖能力及其生产力的影响具有现实意义,其结果将为沉水植物群落恢复提供参考资料。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

室内模拟实验所用水族缸为玻璃缸,规格1 cm厚,长×宽×高=70 cm×50 cm×80 cm。湖区原位盆栽实验所用塑料盆规格,长×宽×高=43 cm×28 cm×15 cm。

轮叶黑藻采自西湖西进水域,经蒸馏水清洗干净,在实验室优化培养。湖泥采自西湖茅家埠底泥,沙土采用建筑材料沙子,黄土采自农田土壤(经过2周的浸水处理后使用)。分别去除杂质,经晾干过筛后使用,混匀,设置湖泥、湖泥+沙子(1:1)、沙子、黄土4种底质。培养液用充分曝气的自来水。

1.2 研究方法

1.2.1 水族缸模拟实验 实验于2014年7月7-20日进行,平均温度(27.3 ± 0.4) $^{\circ}\text{C}$,平均光照($24\ 900 \pm 130$)lx。于杭州水专项工作站室内室外自然条件下,将4种底质分别平铺于4个水族缸中15 cm厚,加自来水50 cm。选取长势优良黑藻,从上端剪取(10 ± 1)cm,鲜重(0.540 ± 0.014)g,分形态学顶端朝上栽种(正向扦插)和顶端朝下栽种(反向扦插)两种处理,每种处理8个重复,栽植于4种底质中,做好标签。实验结束时小心挖取黑藻植株,清洗干净,测量株长及新芽总长、根长及根重,计数分蘖数、根数等形态指标,测定黑藻茎叶叶绿素a(Chl-a)、超氧化物歧化酶(SOD)总活性、可溶性蛋白含量、丙二醛(MDA)含量等生理指标。

1.2.2 湖区原位盆栽实验 茅家埠湖区I号位点和II号位点不同底质对黑藻影响盆栽实验布置位点见图1。实验于2014年9月17日至10月16日进行,平均温度(23.8 ± 0.4) $^{\circ}\text{C}$,平均光照为($21\ 600 \pm 110$)lx。

选取长势优良的轮叶黑藻,经清洗,挑选剪取黑藻形态学上端15 cm左右,鲜重(0.580 ± 0.022)g。采自茅家埠I号位点及II号位点区域底泥,清除杂物后分别拌匀,分装到塑料盆内10 cm,形态学顶端

朝上栽种黑藻10株(5株/排×2排)。在I、II号位点0.8 m水深位置,用结实尼龙绳将栽有黑藻的盆沉入水中,两种底质在两个位点原位和交叉实验,各4个重复。交叉实验具体操作规定:在I号位点盆栽装原位底泥的为I-A,盆栽装II号位点底泥的为I-B;在II号位点盆栽装原位底泥的为II-A,盆栽装I号位点底泥的为II-B。为避免鱼虾、风浪等对黑藻的干扰,盆栽实验区域外围安装网眼1 cm的尼龙网。

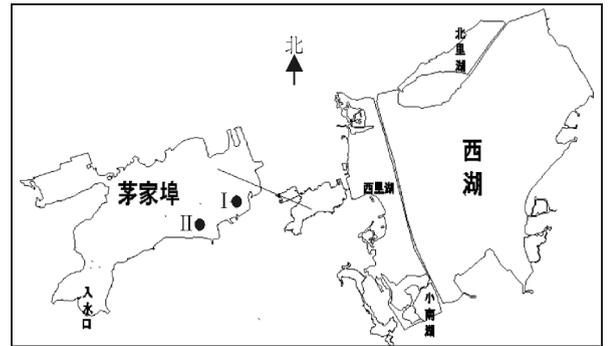


图1 茅家埠湖区原位盆栽不同底质对轮叶黑藻影响实验位点布置

Fig.1 Site layout of the situ container experiment in Maojiabu Lake

实验结束测定植株形态指标,为保证样品新鲜,形态指标测定完后立即进行生理指标的测定。

1.3 测定指标和方法

1.3.1 植株形态指标及生物量 实验结束后,将植株小心连根挖起,除去杂质,清洗干净然后分类装袋。带回实验室电子天平称量测定生物量和根重,计数分蘖数量和根数,普通尺子测量株长和根长。用0.02精度的游标卡尺测量节间长,取其均值。

1.3.2 植株生理指标 称取0.4 g新鲜黑藻茎叶测定叶绿素含量,采用95%乙醇研磨提取分光光度法测定。0.4 g茎叶通过氮蓝四唑(NBT)光化还原法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性;0.5 g茎叶测定可溶性蛋白含量,按照考马斯亮蓝G-250染料结合法测定;0.5 g茎叶测定植物组织丙二醛(MDA)含量,通过TBA显色反应分光光度法测定(李合生,2006;史树德等,2011)。

1.3.3 底质指标 将新鲜泥样各自混匀,取适量在105 $^{\circ}\text{C}$ 下烘干至恒重,由烘干后的质量损失计算得到底泥的含水率(Moisture content, MC);底质中总氮(TN)用重铬酸钾-硫酸消解,然后采用紫外分光光度法测定(金相灿和屠清瑛,1990);总磷(TP)采用欧盟推荐的沉积物磷形态分级分离方法(SMT)和

钼锑抗分光光度法测定(Ruban et al, 2001);底质有机质测定采用重铬酸钾容量法-稀释热法(鲍士旦,2000);氧化还原电位(ORP)通过手持便携式监测仪器 Thermo Orion-230 m(上海)测定新鲜底质样品。底质风干研磨过筛后,利用激光粒度仪(S3500,USA)作粒度分析。

1.3.4 水质指标 按国家标准方法测定水质指标。TN采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法(GB11894-1989)测定,TP采用过硫酸钾消解钼酸铵分光光度法(GB11893-1989)测定,水中叶绿素a(Chl-a)含量采用丙酮萃取分光光度法测定,水中pH和溶解氧(DO)利用便携式多参数水质分析仪(YSI Professional Plus,USA)现场测定。

1.4 数据统计与分析方法

数据通过Excel统计做图表,利用SPSS 21.0统计分析。就不同底质类型、正反向扦插种植方式

及其交互作用对轮叶黑藻生长及形态指标的影响,进行双因素方差分析(Two-way ANOVA),两种因素对黑藻生理相关指标的影响,进行单因素方差分析(One-way ANOVA),进行两两比较LSD和Duncan分析,设定 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。对原位盆栽底质、水质数据和黑藻生长指标进行主成分分析和Pearson相关性分析,找出关键影响因子。

2 结果与分析

2.1 黑藻生长繁殖及生理指标变化

水族缸模拟实验4种底质中水质及底质初始基本参数指标如表1~表3。湖泥营养肥沃,有机质丰厚,且质地柔软;沙子贫瘠且含水率(MC)最低,其粒径多大于0.1 mm;黄土营养贫瘠但含水率较高,粒径细小且多小于0.01 mm,属粘性底质。

表1 实验初始各底质水族缸中水质指标

Tab.1 Initial water quality indicators of the different sediments

指标	湖泥	湖泥+沙子	沙子	黄土
pH	8.31±0.02 ^a	8.97±0.03 ^c	9.02±0.03 ^c	8.84±0.03 ^b
DO/mg·L ⁻¹	10.36±0.02 ^a	12.88±0.03 ^d	10.53±0.02 ^b	11.03±0.03 ^c
Chl-a/μg·L ⁻¹	4.545±0.008 ^b	5.583±0.011 ^d	3.669±0.005 ^a	5.473±0.006 ^c
TN/mg·L ⁻¹	0.397±0.082 ^b	0.471±0.192 ^b	0.104±0.037 ^a	0.054±0.022 ^a
TP/mg·L ⁻¹	0.076±0.002 ^a	0.096±0.002 ^b	0.096±0.002 ^b	0.092±0.002 ^b

注:同行数据上标的不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Note: Different lower case superscripts indicate a significant difference ($P < 0.05$).

表2 实验初始水族缸中4种底质指标

Tab.2 Initial physiochemical parameters of the four sediment types

指标	湖泥	湖泥+沙子	沙子	黄土
MC/%	54.73±1.30 ^d	43.14±0.61 ^b	26.21±2.92 ^a	49.06±2.00 ^c
TN/μg·mg ⁻¹	3.104±0.091 ^d	2.172±0.069 ^c	0.301±0.007 ^a	1.114±0.067 ^b
TP/μg·mg ⁻¹	1.048±0.068 ^b	1.021±0.026 ^b	0.803±0.083 ^a	0.644±0.028 ^a
TOC/g·kg ⁻¹	60.107±1.160 ^b	45.335±7.262 ^b	7.131±0.353 ^a	11.305±1.209 ^a
ORP/mV	171.6±8.9 ^a	217.7±10.2 ^{ab}	251.5±11.7 ^{ab}	326.6±10.4 ^b

注:同行数据上标的不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Note: Different lower case superscripts indicate a significant difference ($P < 0.05$).

表3 水族缸实验用底质粒径分布

Tab.3 Particle size distribution of the four sediment types

粒径分布/ mm	不同底质粒径占比/%			
	湖泥	湖泥+沙子	沙子	黄土
<0.01	25±1 ^b	2±0 ^a	0±0 ^a	61±2 ^c
0.01~0.05	39±2 ^c	17±1 ^b	4±0 ^a	33±1 ^c
0.05~0.1	18±1 ^b	16±1 ^b	14±1 ^b	3±0 ^a
>0.1	18±1 ^b	65±2 ^c	82±3 ^d	3±0 ^a

注:同行数据上标的不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

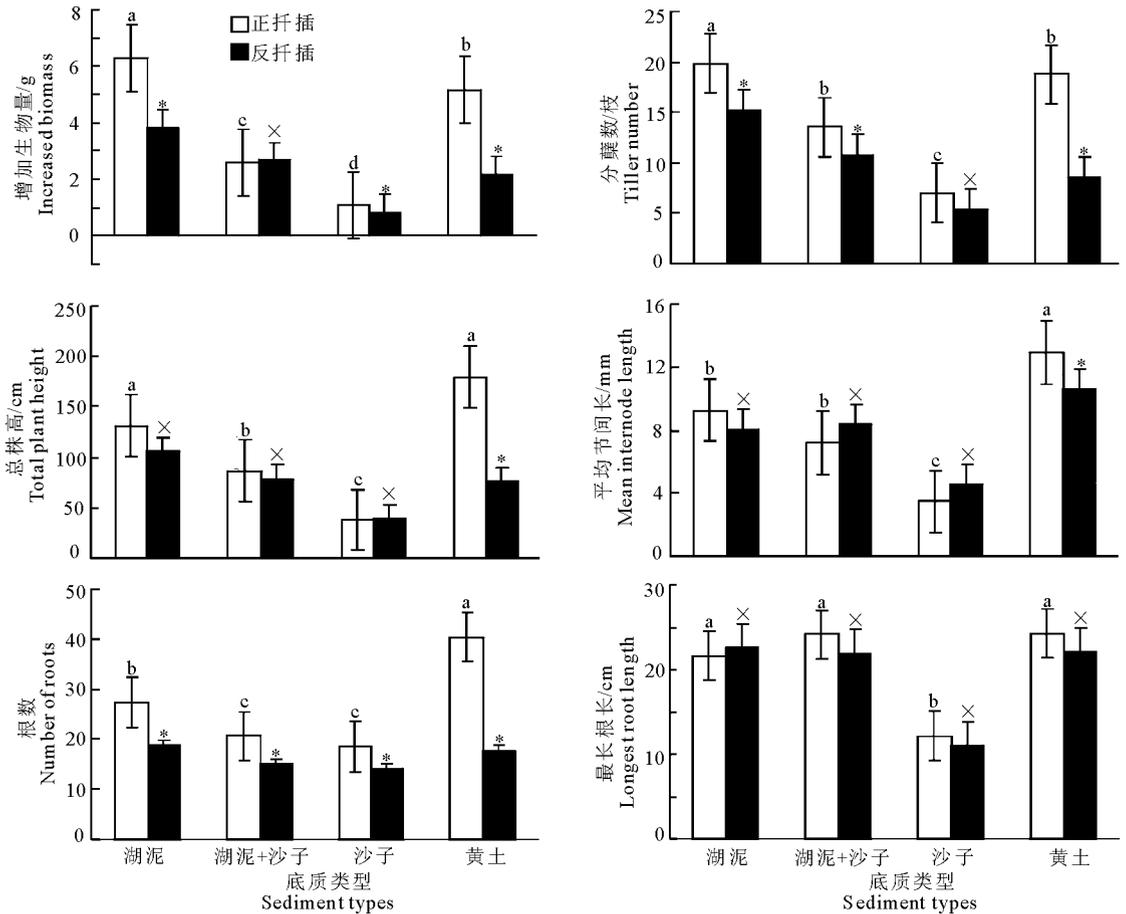
Note: Different lower case superscripts indicate a significant difference($P < 0.05$).

水族缸模拟实验不同底质类型对黑藻无性繁殖特征的影响结果如图2所示,就增加生物量、新分蘖数两个指标而言,表现为:湖泥>黄土>湖泥+沙子>沙子,与正反向扦插交互作用双因子方差两两比较Duncan分析表明,4种底质类型间增加生物量存在显著差异($P < 0.05$),而分蘖数在黄土和湖泥+沙子间无显著差异($P > 0.05$)。

4种底质中,黑藻均有产生不定根、萌发新芽、进而发育生长成新植株的能力,只是该能力在不同

底质间有所差异。正向扦插时,总株高、平均节间长、根数和根重均以黄土底质中为最大,分别为179.6 cm、12.92 mm、40.4根、24.24 g;其次为湖泥;沙子底质中最小,分别为38.4 cm、3.48 mm、

18.6根、12.14 g。反向扦插时,除平均节间长最大值(10.60 mm)位于黄土底质中外,其他形态指标最大值均位于湖泥底质;所有指标最小值均位于沙子底质中。



(a、b、c、d 不同字母表示不同底质间差异显著, $P < 0.05$; * 和 X 分别表示正反向扦插影响有和无显著差异)

图2 不同底质中正反向扦插黑藻的生长和形态特征

Different letters above the columns indicate a significant difference among different sediment types ($P < 0.05$);

* and X respectively indicate a significant difference and no significant difference between positive and negative cuttings

Fig.2 Growth parameters and morphological characteristics of *H. verticillata* with positive and negative cuttings in the different sediment types

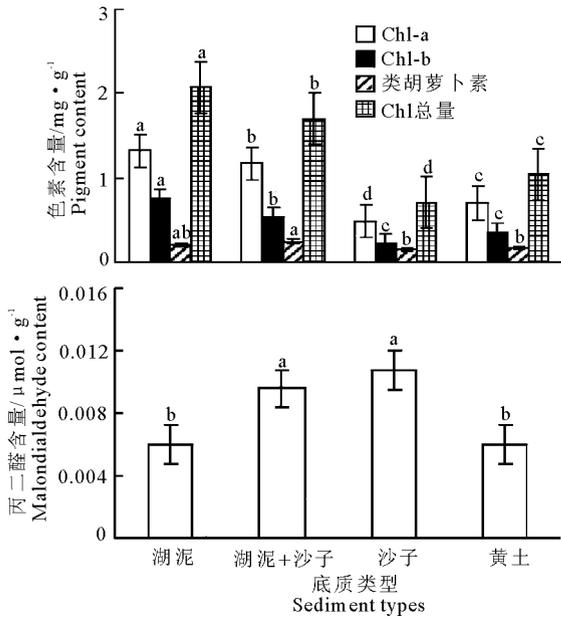
实验种植后第3天,湖泥底质中正向扦插黑藻即全部有第一棵新芽生发出来,湖泥+沙子和沙子、黄土正向扦插均有3株未生出新芽。实验结束时湖泥中正向扦插黑藻新分蘖数达20枝,新增生物量达到6.27 g,增加了11.37倍。双因子方差分析表明,就黑藻总株高而言,除黄土外其他3种底质间差异显著($P < 0.05$),而平均节间长在湖泥、沙子、黄土间存在显著性差异($P < 0.05$);湖泥+沙子与沙子间根数无显著差异($P > 0.05$),而二者与湖泥、黄土有显著性差异;对根重而言,湖泥和黄土间均不存在显著性差异,而与沙子、湖泥+沙子间存在显著差异。最长根长表现为黄土>湖泥+沙子>湖泥>沙

子,沙子与其他3种底质有显著性差异($P < 0.05$)。表明黄土中营养盐贫瘠并不影响总株高,反而促进平均节间长。

4种底质对黑藻生理指标产生明显影响(图3)。不同底质间叶绿素a含量、叶绿素总含量存在极显著差异($P < 0.01$),叶绿素总量以湖泥中最大(2.072 mg/g),沙子中最小(0.708 mg/g);叶绿素b含量沙子和黄土间无显著性差异;湖泥、沙子及黄土中黑藻类胡萝卜素含量三者间无显著性差异,但湖泥+沙子与沙子、黄土间有显著差异。黑藻蛋白含量以湖泥中最大(70.65 mg/g),且与沙子、黄土底质间有显著差异,黄土中最小(43.93 mg/g)。

湖泥与湖泥+沙子中黑藻 MDA 含量以及沙子与黄土间黑藻 MDA 含量均存在显著性差异,以沙子中最大,为 $0.01077 \mu\text{mol/g}$,湖泥中最小,为

$0.00599 \mu\text{mol/g}$;植株的 SOD 活性 4 种底质间没有显著差异($P>0.01$);相对而言,湖泥更适合黑藻的生长。



(不同上标字母表示差异显著, $P<0.01$)

图3 不同底质对黑藻生理指标的影响

Different letters above the columns indicate a significant difference ($P<0.01$)

Fig.3 Effects of different sediments on physiological indices of *H. verticillata*

2.2 正反向扦插与底质类型的交叉作用

正反向扦插种植方式对黑藻生物量、分蘖数和根数具有显著影响(增加生物量 $P=0.016<0.05$, 分蘖数 $P=0.003<0.01$, 根数 $P=0.002<0.01$)。不论是哪种底质,反向扦插处理黑藻分蘖数和根数较正向扦插均有显著减少,尤其是黄土底质中,反向扦插分蘖数和根数比正向扦插分别减少 10.2 枝和 22.8 根(图 2)。

除湖泥+沙子中反向扦插生物量略大于正向扦插外,其他 3 种底质中均显著降低,黄土中降低最多,为 2.961 g,其次为湖泥底质,为 2.448 g。正反向扦插对湖泥、湖泥+沙子及沙子中黑藻总株高并无显著影响,而在黄土底质中反向扦插显著抑制黑藻伸长。在湖泥+沙子和沙子两种底质中,反向扦插黑藻平均节间长大于正向扦插,在其他两种底质中相反,黄土底质中正反向扦插对黑藻平均节间长影响显著。湖泥中黑藻最长根长反向扦插较正向扦插有所增大,其他 3 种底质中均减少,但变化均不显著($P=0.494$)。双因子方差分析表明,黄土底质中黑藻增加生物量及总株高正反扦插种植存在显著性差异($P<0.05$)。底质类型对所有指标影响均达到显著水平,正反向扦插对平均节间长($P=0.369>$

0.05)和最长根长($P=0.094>0.05$)影响不显著。而底质类型和正反向扦插交互作用除对最长根长影响不显著外($P=0.258>0.05$),对其他指标均有显著影响。

实验还观测到,不论实验开始正向扦插还是反向扦插,黑藻新芽都会生出且向水面方向生长,最终形成形态学上端,表明正反向扦插对新芽最终形态学上端形成并无影响,但会延长形成时间。

2.3 湖区原位盆栽的黑藻生长

茅家埠原位不同底质盆栽实验所用底质基本参数特征如表 4。可知 I 号位点底质比 II 号位点肥沃,且质地较软;II 号位点区底质杂质较多,多螺类。水质参数如表 5 所示,I 号和 II 号位点间营养水平无较大差异,II 号位点水中 Chl-a 浓度和 DO 略大于 I 号位点。

茅家埠湖区不同底质对黑藻生长形态的影响见表 6。实验结束时黑藻生物量均较初始种植生物量减少,虽有新根系生成,但长势不好,可能被鱼类、螺类牧食。I-B 黑藻生物量、株数、株高、根重、平均节间长均比 I-A 大,II-A 均比 II-B 大。LSD 分析表明,两者间存在显著性差异($P<0.05$)。所有形态指标最大值均位于 II-A 组,生物量、根重、节

间长最小值均位于 II-B 组,株数和株高最小值位于 I-A 组。整体而言,II 位点黑藻较 I 号位点长势

优良,可见 II 号位点底质更适合黑藻生长,同一底质盆栽于原位时比在异位时更有利于黑藻生长。

表 4 茅家埠湖区 I 号位点及 II 号位点底质参数

Tab.4 Sediment parameters of sites I and II in the Maojiabu area of West Lake

位点	MC/%	TN/ $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$	TP/ $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$	TOC/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	ORP/mV
I 号	69.07 \pm 1.42 ^b	3.244 \pm 0.191 ^a	0.631 \pm 0.011 ^a	61.254 \pm 1.206 ^b	101.6 \pm 3.7 ^b
II 号	34.26 \pm 0.83 ^a	2.277 \pm 0.178 ^a	0.664 \pm 0.013 ^a	42.046 \pm 1.014 ^a	74.6 \pm 3.1 ^a

表 5 茅家埠湖区 I 号位点及 II 号位点水质参数

Tab.5 Water quality parameters at sites I and II in Maojiabu area of West Lake

位点	TN/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	TP/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	Chl-a/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	pH	DO/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
I 号	1.329 \pm 0.146 ^a	0.067 \pm 0.007 ^a	5.687 \pm 0.283 ^a	7.893 \pm 0.104 ^a	7.813 \pm 0.224 ^a
II 号	1.469 \pm 0.103 ^a	0.057 \pm 0.007 ^a	8.183 \pm 0.463 ^b	8.285 \pm 0.153 ^a	10.200 \pm 0.306 ^b

主成分分析表明,底质含水率、TOC、ORP、水中 Chl-a 含量是影响黑藻生长的主要因子。Pearson 相关分析表明,生物量、株高、根重与底质含水率、TN、TOC、ORP 显著负相关,与水中 TN、Chl-a

和 DO 显著正相关(表 7)。综合来看,黑藻生长形态不仅受底质的理化性质影响,而且与生长水体环境有一定关系;底质不是唯一主要影响因素,水深、透明度也可能有较大影响。

表 6 茅家埠湖区不同底质中黑藻生长和形态特征

Tab.6 Growth parameters and morphological characteristics of *H. verticillata* in different sediments of the Maojiabu area of West Lake

编组	生物量/g	株数	株高/cm	根重/g	平均节间长/mm
I-A	8.03 \pm 0.14 ^b	13 \pm 1 ^b	7.8 \pm 0.3 ^b	1.20 \pm 0.01 ^b	6.22 \pm 0.01 ^b
I-B	13.16 \pm 0.17 ^a	19 \pm 1 ^a	13.2 \pm 0.6 ^a	1.80 \pm 0.02 ^a	6.84 \pm 0.01 ^a
II-A	16.07 \pm 0.23 ^a	28 \pm 2 ^a	17.8 \pm 0.7 ^a	2.50 \pm 0.06 ^a	11.42 \pm 0.02 ^a
II-B	4.11 \pm 0.07 ^b	19 \pm 2 ^a	8.6 \pm 0.3 ^b	0.90 \pm 0.01 ^b	5.84 \pm 0.01 ^b

注:不同字母表示差异显著, $P < 0.05$ 。

Note: Different lower case superscripts indicate a significant difference($P < 0.05$).

表 7 原位盆栽底质、水质指标与黑藻生长形态指标 Pearson 相关性分析

Tab.7 Pearson correlation analysis for sediments and water quality parameters with morphological indices of *H. verticillata* for the in-situ experiment

指标	MC	TN _底	TP _底	TOC	ORP	TN _水	TP _水	Chl-a	pH	DO
生物量	-0.944**	-0.927**	0.714	-0.974**	-0.956**	0.963**	-0.833*	0.951**	0.930**	0.944**
株数	-0.775	-0.785	0.753	-0.772	-0.753	0.747	-0.567	0.772	0.822*	0.766
株高	-0.942**	-0.939**	0.810	-0.941**	-0.934**	0.933**	-0.768	0.943**	0.959**	0.937**
根重	-0.922**	-0.908*	0.714	-0.925**	-0.931**	0.938**	-0.801	0.929**	0.917*	0.921**
节间长	-0.722	-0.715	0.594	-0.723	-0.723	0.729	-0.595	0.726	0.738	0.718

注:**表示相关性在 $P < 0.01$ 显著,*表示相关性在 $P < 0.05$ 显著。

Note:** indicates extremely significant correlation ($P < 0.01$), * indicates significant correlation($P < 0.05$).

I 号位点和 II 号位点原位不同底质对黑藻生理指标、叶绿素总含量、SOD 活性、蛋白含量和 MDA 含量的影响结果如图 4 所示。底质类型对黑藻生理存在显著影响,主要是底质理化属性如氮、磷含量、有机质及硬度等的影响。

I 号位点和 II 号位点内黑藻叶绿素总含量均有不同程度增高,但 I 号位点黑藻叶绿素总含量增高明显大于 II 号位点,且 I-B 生长的黑藻植株叶绿素总含量相对高于 I-A,II-A 黑藻叶绿素总含量高于 II-B。

与初始值比较,所有处理黑藻中 SOD 活性均减小,II-A 中减小最大,其次为 I-B 中,相对而言,II 号位点底质更抑制 SOD 活性。

黑藻蛋白含量较初始值有所降低,不同位点不同底质中降低程度有差异。黑藻蛋白含量 I-A 中降低值大于 I-B 中,II-A 中降低值大于 II-B 中;此外,I 号位点黑藻 MDA 含量升高,而 II 号位点降低,I-A 中黑藻 MDA 含量略高于 I-B 中,II-B 中略高于 II-A 中。比较而言,II 号位点底质更适合黑藻的生长。

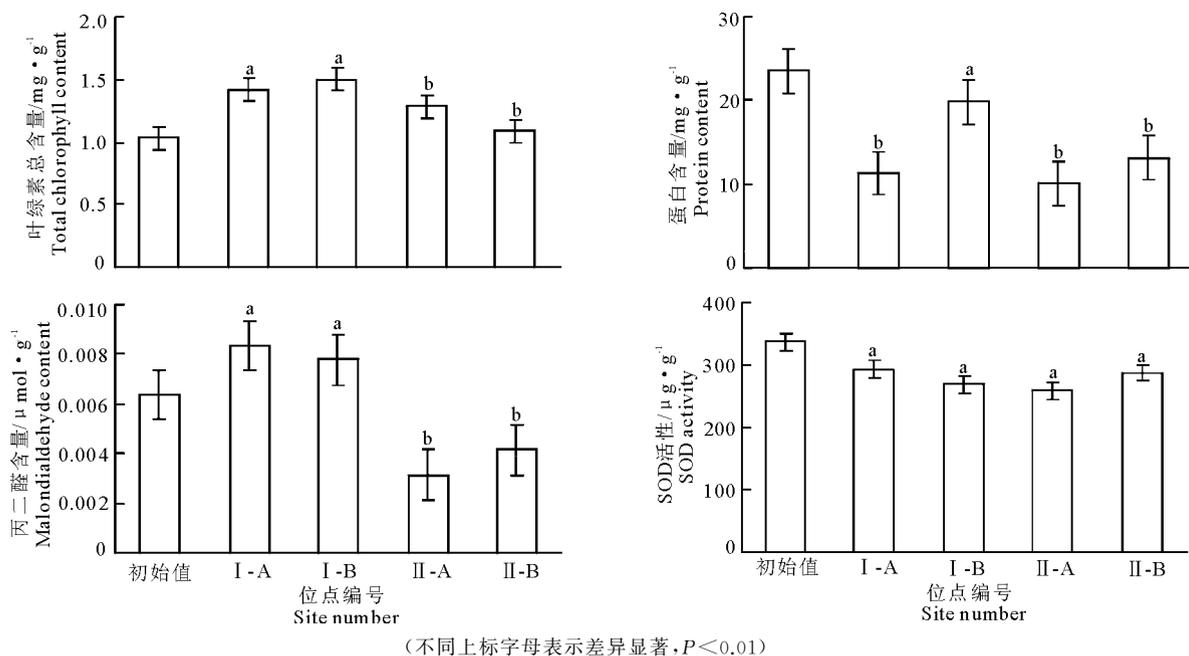


图4 茅家埠湖区不同类型底质中黑藻叶绿素总含量、蛋白含量、MDA含量及SOD活性

Different letters above the columns indicate a significant difference ($P < 0.01$)

Fig.4 Total chlorophyll content, protein content, MDA content and SOD activity of *H. verticillata* in different sediments of the Maojiabu area of the West Lake

3 讨论

3.1 底质类型对轮叶黑藻生长及生理的影响

3.1.1 生长形态 底质性质对沉水植物的生长、生理具有重要影响,针对特定的底质环境,沉水植物会进行自身调整,在形态和生理方面做出应激性和适应性反应。黄土底质较为贫瘠,但 11.305 g/kg 的有机质也刺激了黑藻的生长,主要体现在生物量的积累、分蘖数、总株高及平均节间长等指标上,这与 Barko 等(1988)研究结果“贫营养条件下有机质的少量添加促进生物量的增加”相一致;而在低营养条件下,营养元素在低有机质中的长距离扩散,限制了黑藻的生长。Cizkova & Thompson(1992)研究认为底质中同时增加有机质和过高的氮素含量会抑制植物的生长;本研究中,营养盐丰富、有机质肥沃的湖泥底质中黑藻生物量仅比贫瘠黄土中高 1.133 g ,推断可能是由于湖泥高营养盐和高有机质共同作用的结果。含量过高的有机质分解释放毒素(甲烷、硫化物等)对黑藻产生胁迫,导致其生长不利(Marin-Muniz et al, 2014)。Silveira & Thomaz(2015)也指出,黑藻适宜生长的底质有机质含量需在 7%左右,超过 13%黑藻不能繁殖扩增;此外,不同底质结构和有机物组成会影响钾元素的含量,钾的低供应进而影响黑藻的生长(Barko et al, 1991)。不同底质

间 ORP 不同,使得营养释放不均匀,也可能造成植物生长的差异,ORP 较低时,底质释磷量增加(高丽等, 2005)。本研究 4 个水族缸中,除湖泥外水中 TP 浓度几乎无差异,而湖泥和湖泥+沙子组与沙子和黄土组间 TN 含量差异显著,可能与水中 DO 含量、pH,以及底质中微生物群落组成不同(如硝化细菌、反硝化细菌、氨氧化细菌及聚磷菌等)有一定关系,需要进一步的探究。原位盆栽实验 I 号和 II 号位点间水中营养水平无显著差异,因此植物生长差异可以排除上述水质指标的影响。

黑藻茎叶较脆,腋芽处均可以生根,根形因底质理化性质不同而有一定的可塑性(马剑敏等, 2010)。本研究中,黑藻根系是扦插以后生成的,实验结束时观察到沙子底质中黑藻根发生曲折、弯曲状,且根据根数、最长根长、根直径的比较,可以认为黑藻根系受到底质理化性质的影响而异。李垒等(2010)指出,轮叶黑藻的平均最高植株分别出现在 10%沙土与岸边土掺混底质、50%粘土与岸边土掺混底质和 30%腐殖土与岸边土掺混底质中,适宜轮叶黑藻恢复生长的基质顺序为:粘土 > 腐殖土 > 沙土,说明不同成分组成的底质对黑藻生长具有影响;此外,与水族缸湖泥底质中生长相比,湖泊原位盆栽黑藻单株生物量积累、分蘖数、节间长及根重均较低。水族缸实验中自来水本身营养较低,添加的湖泥营养会释

放转移到自来水水中,但含量仍然低于湖水中,然而营养水平相对较高的湖水中的黑藻生长较弱,可能与湖泊原位开放的水体环境、扰动较大有关,也可能与湖区原位实验的开展时间有关,底质并非影响沉水植物生长的唯一因素。原位盆栽实验主成分分析表明,底质含水率、TOC、ORP、水中 Chl-a 含量是影响黑藻生长的主要因子。

3.1.2 生理指标 本研究中,黑藻叶绿素含量以湖泥中最大,沙子中最小,且湖泥+沙子与沙子、黄土间有显著差异,此结果与陈开宁等(2006)研究结果相似。湖泥中植物叶绿素 a 和 b 的含量均比生土和沙石的高,黑藻不适宜在生土中生长。湖泥中生长的黑藻蛋白含量最大,黄土中最小,说明沙子、黄土基质不利于黑藻对营养的代谢合成,分析原因可能是沙子和黄土含水率相对较低、有机质和营养贫瘠的缘故,也可能是二者粒径分布不均衡,沙子基质中 $> 0.1 \text{ mm}$ 的粒径占 82%,黄土基质中 $< 0.01 \text{ mm}$ 的占 61%,如此均不利于养分的传导运输。

植物在逆境或衰老条件下,会发生膜脂的过氧化作用,进而产生 MDA 产物,其含量升高意味着膜的破坏加重(李合生,2006)。水族缸模拟实验中,黑藻 MDA 含量以沙子中最大,湖泥中最小,二者间差异显著,说明实验结束时沙子基质对黑藻已经产生胁迫,其叶片发黄的表象及叶绿素含量最低的结果与此相应,与陈开宁等(2006)研究结果一致。沙子和湖泥+沙子中底质氮磷营养水平悬殊,然而二者间黑藻 MDA 含量无显著差异,推测可能是底质物理特性如粒径分布、含水率差异所致。就植株 SOD 活性而言,在 4 种底质间黑藻受胁迫程度无显著差异($P > 0.01$)。比较而言,湖泥更适合黑藻的生理活性代谢,为生长提供较好的条件;此外,本研究发​​现营养相对贫瘠的 II 号底质生长的黑藻植株叶绿素含量相对低于营养肥沃的 I 号底质种植的黑藻叶绿素含量,此结果与李鹏善等(2018)研究结果一致。表明高底质营养(0.054%N、0.073%P)处理能促进轮叶黑藻的生长,其生物量、叶绿素含量、水体溶氧量和 pH 均高于低底质营养处理组(0.04%N、0.06%P)。相对丰富的 N、P 营养有助于促进光合作用,利于叶绿素的合成。

对植物而言,提供的营养要在一定范围内,太贫瘠和太肥沃均不合适。本研究中,质地较硬、有机质较少、氮磷含量较低的 II 号位点底质中生长的黑藻 SOD 活性较低,两位点的底质在相互交换水体环境条件下黑藻蛋白含量增高,表明 II 号位点底质中黑

藻受胁迫程度相对较低,交换水环境后可能胁迫有所增加。颜昌宙等(2007)研究不同浓度 NH_4^+-N 对黑藻生理指标的影响,发现低浓度 NH_4^+-N 处理组的蛋白质含量随实验进程下降后上升,而对照组持续上升,高浓度处理组的蛋白则呈明显降低,过氧化物酶和 SOD 活性在高浓度 NH_4^+-N 条件下增加显著,并表现为先上升再下降的格局。在较低营养浓度条件下,底质中的有机物质、矿物元素和营养盐是沉水植物生长所必须,如果底质中营养负荷过高,也会对沉水植物的生长产生胁迫或抑制(张俊,2006)。丁桂珍等(2014)也认为氮、磷、钾、镁、锌、硼对轮叶黑藻生长有促进作用,但只有合理补充才有利于其生长,过量投入可能适得其反。

3.2 正反向扦插对黑藻生长的影响

种植方式的不同,可能造成植物生长演替的不同。植物均有形态学顶端,正常情况下,植物都会向有利于自身发展的方向生长,如此也适应自然界最小能耗原则。然而,在湖泊中大规模扦插种植沉水植物时,难做到每株都理顺,不可避免地产生形态学顶端向下植入底质中的情况。反向种植违反了自然规律,给植物生长带来一定的阻力。本研究发现,反向扦插种植抑制了黑藻分蘖数和根数的增长,但对新芽最终形态学上端的形成无影响,只会延长其形成时间。马梦洁等(2017)研究也表明,在黑泥、黄土和河沙基质上,反向扦插使得黑藻生长缓慢,但促进了其不定根、分枝的提前生成,生成的不定根数量和分枝数在水平放置时均大于正向扦插和反向扦插,但生物量还是正向扦插时最大。反向扦插一定程度上抑制了黑藻的生长、生物量积累以及分枝,可能与生长激素的极性运输有关,在反向扦插条件下,生长素无法从茎顶端逆向运输到根尖(李俊华和种康,2006)。生长素主要在植物具有分生能力的茎尖、幼叶和根等器官中合成,而且单向运输可在植物不同组织中形成生长素浓度差,以调控植物的发育生理过程,如维管发生、顶端优势、向性生长等,如此决定植物的形态(Friml et al,2003)。由于地心引力,使得反向扦插影响黑藻生长素的正常运输以及对营养盐的正常吸收;而反向扦插不影响黑藻最终形态学上端的形成,这也是植物生存本能的调整策略和生长特性。在湖泥+沙子和沙子两种底质中,反向扦插黑藻的平均节间长大于正向扦插,其他两种底质中相反,黄土底质中正反向扦插对黑藻平均节间长影响显著,这可能与黑藻反向扦插对底质理化性质适应情况及营养盐吸收受阻有密切关系。

参考文献

- 鲍士旦,2000.土壤农化分析[M].3版.北京:中国农业出版社.
- 陈开宁,陈小峰,陈伟民,等,2006.不同基质对四种沉水植物生长的影响[J].应用生态学报,17(8):1511-1516.
- 丁桂珍,艾桃山,喻运珍,等,2014.不同营养盐对轮叶黑藻生长的影响[J].水生生态学杂志,35(3):66-69.
- 高丽,杨浩,周健民,2005.环境条件变化对滇池沉积物磷释放的影响[J].土壤,37(2):216-219.
- 高莹,余小敏,刘杰,等,2007.狐尾藻断枝上不定根与芽发生的初步研究[J].水生生物学报,31(5):727-731.
- 葛绪广,王国祥,陆贻超,2009.4种沉水植物断枝再生能力研究[J].水生生态学杂志,30(4):23-28.
- 金相灿,屠清瑛,1990.湖泊富营养化调查规范[M].2版.北京:中国环境科学出版社.
- 李合生,2006.植物生理生化实验原理和技术[M].2版.北京:高等教育出版社.
- 李俊华,种康,2006.植物生长素极性运输调控机理的研究进展[J].植物学通报,(5):466-477.
- 李奎,廖日红,牛影,等,2010.不同特性底质对沉水植物恢复生长的影响[J].生态环境学报,19(11):2680-2685.
- 李鹏善,朱正杰,严燕儿,等,2018.不同光照强度和底质营养对三种沉水植物的影响[J].生态科学,37(1):101-107.
- 林丰妹,叶旭红,焦荔,等,2007.综合保护工程对杭州西湖生态环境的影响[J].水资源与水工程学报,18(6):52-55.
- 蒯庆伟,2015.杭州西湖西进水域沉水植物斑块镶嵌格局优化及稳定化研究[D].新乡:河南师范大学:12-14.
- 马剑敏,胡灵卫,胡倩如,等,2010.伊乐藻和黑藻断枝根和芽的发生及生长研究[J].水生生物学报,34(3):525-532.
- 马梦洁,李定龙,张毅敏,等,2017.不同底质和扦插方式对沉水植物恢复生长的影响[J].常州大学学报(自然科学版),29(4):87-92.
- 史树德,孙亚卿,魏磊,等,2011.植物生理学实验指导[M].北京:中国林业出版社.
- 王华,逢勇,刘申宝,等,2008.沉水植物生长影响因子研究进展[J].生态学报,(8):3958-3968.
- 王培,胡清菁,王朋辉,等,2015.桂林寨底地下河沉水植物群落结构调查及影响因子分析[J].水生生态学杂志,36(1):34-39.
- 颜昌富,曾阿妍,金相灿,等,2007.不同浓度氮对轮叶黑藻的生理影响[J].生态学报,27(3):1050-1055.
- 张俊,2006.底质性质对沉水植物生长的影响[D].南京:河海大学.
- 赵海超,王圣瑞,杨苏文,等,2010.两种底质对狐尾藻生长和生理指标的影响[J].生态环境学报,19(1):40-44.
- Barko J W, Smart R M, McFarland D G, et al, 1988. Interrelationships between the growth of *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle and sediment nutrient availability[J]. Aquatic Botany, 32(3):205-216.
- Barko J W, Gunnison D, Carpenter S R, 1991. Sediment interactions with submersed macrophyte growth and community dynamics [J]. Aquatic Botany, 41(1):41-65.
- Cizkova K H K, Thompson K, 1992. Carbon starvation: a key to reed decline in eutrophic lakes[J]. Aquatic Botany, 43(2):105-113.
- Friml J, Vieten A, Sauer M, et al, 2003. Efflux-dependent auxin gradients establish the apical-basal axis of Arabidopsis[J]. Nature, 426:147-153.
- Marin-Muniz J S, Hernandez M E, Moreno-Casasol P, 2014. Comparing soil carbon sequestration in coastal freshwater wetlands with various geomorphic features and plant communities in Veracruz[J]. Mex Plant Soil, 378:189-203.
- Ruban V, Lopez-Sanchez J F, Pardo P, et al, 2001. Harmonized protocol and certified reference material for the determination of extractable contents of phosphorus in freshwater sediments-A synthesis of recent works[J]. Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 307:224-228.
- Silveira M J, 2015. Thomaz SM. Growth of a native versus an invasive submerged aquatic macrophyte differs in relation to mud and organic matter concentration in sediment[J]. Aquatic Botany, 124:85-91.
- Song Y, He X J, Chen M, et al, 2018. Effects of pH on the Submerged Macrophyte *Hydrilla verticillata* [J]. Russian Journal of Plant Physiology, 65(4):611-619.
- Srivastava S, Bhainsa K C, 2016. Evaluation of uranium removal by *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle from low level nuclear waste under laboratory conditions [J]. Journal of Environmental Management, 167:124-129.
- Wu J, Dai Y R, Rui S Y, et al, 2015. Acclimation of *Hydrilla verticillata* to sediment anoxia in vegetation restoration in eutrophic waters [J]. Ecotoxicology, 24(10):2181-2189.
- Xiao K Y, Wu Z H, 2007. Differential effects of water depth and sediment type on clonal growth of the submersed macrophyte *Vallisneria spiralis* [J]. Hydrobiologia, 589(1):265-272.
- Xie Y H, Wang J D, 2007. Growth and root distribution of *Vallisneria spiralis* in heterogeneous sediment environments [J]. Aquatic Botany, 86(1):9-13.
- Zhang Y, Wang C, He F, et al, 2016. In-situ Adsorption-biological combined technology treating sediment phosphorus in all fractions [J]. Scientific Reports, 6:1-17.

Effects of Sediment Type and Positive/Negative Cutting on Growth and Physiology of *Hydrilla verticillata*

LIN Qing-wei¹, JIN Tong-xia¹, MA Jian-min¹, ZHANG Yi², LIU Bi-yun², HE Feng², WU Zhen-bin²

(1.College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007,P.R.China;

2.Institute of hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430070,P.R.China)

Abstract: Sediment is the substrate on which submerged plants to take root, grow and reproduce. Different types of sediment vary in physicochemical characteristics and directly affect the growth of submerged plants. Moreover, topological inversion of plant morphology occurs during large-scale reproduction of submerged plants, influencing the recovery and growth of submerged plants. In this study, the effects of four sediment types (lake mud, lake mud+sand, sand and clay) and positive/negative cutting on the growth morphology and physiology of *Hydrilla verticillata* were studied using a laboratory aquarium experiment and an in-situ container experiment in the Maojiabu area of Hangzhou West Lake. The laboratory experiment (July 7–20, 2014), with each sediment type included positive and reverse cutting of *H. verticillata*. The four sediment types were placed in aquaria maintained at $(27.3 \pm 0.4)^\circ\text{C}$ and average light intensity $(24\ 900 \pm 130)$ lx, with eight repetitions per sediment type. The in-situ experiment (September 17–October 16, 2014) was carried out at two sites, with the different sediment types in containers at $(23.8 \pm 0.4)^\circ\text{C}$ and average light intensity $(21\ 600 \pm 110)$ lx. Morphological and physiological indices of *H. verticillata* were measured at the end of each trial. Among the sediment types there were significant differences in biomass, number of tillers and other morphological indices ($P < 0.05$). *H. verticillata* grew best in the lake mud type of sediment, with the largest average biomass (6.27 g) and tiller number (19.8), followed by the clay (biomass, 5.14 g; tiller number, 18.8). The clay also benefitted *H. verticillata* height and root system development. Measurements of chlorophyll, protein, malondialdehyde content and superoxide dismutase activity confirmed these findings. The increase of tiller and root number and the biomass of *H. verticillata* were significantly affected by reverse cutting, with average values, respectively, of 1.6–10.2, 4.6–22.8 and 0.26–2.96 g, but the morphology of the upper plant was not affected. For the in-situ potted sediment experiment in Maojiabu Lake, the growth of *H. verticillata* in the relatively barren sediment with low moisture content was better than in the relatively fertile sediment with high moisture content. Further, the biomass increase of *H. verticillata* in potted sediment was larger than in the heterotopic sediment. This suggests that the sediment, particularly in terms of physical characteristics, should be improved before restoring submerged vegetation. It is also necessary to distinguish the upper from the lower end of the plants before planting. Our results provide a reference for restoring submerged plant communities in shallow lakes with different sediments.

Key words: sediment type; *Hydrilla verticillata*; positive/reverse cutting; growth morphology; physiological indices