

水深对苦草生长及叶片 PS II 光化学特性的影响*

杨 鑫 张启超 孙淑雲 陈开宁^{**}

(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 利用植物效率仪(Handy-PEA)测定水深 0.6、1.3、2.0 m 下苦草叶片的快速荧光诱导动力学曲线(OJIP 曲线), 并采用 JIP-test 方法分析和处理数据, 研究水深对苦草生长和叶片光合机理的影响。结果表明: 随着水深增加, 水下光强显著衰减, 苦草生物量、无性系分株数、叶片数、根系总长度、根系表面积等形态指标显著降低, 而最大叶长、平均叶长、最大叶宽无显著变化, 2.0 m 水深对苦草的生长产生了负面影响; 单位反应中心吸收、捕获、电子传递、传递到电子传递末端的量子效率(ABS/RC 、 TR_0/RC 、 ET_0/RC 、 RE_0/RC) 显著降低, 单位反应中心的耗散量子效率(DI_0/RC) 也显著下降, 导致 3 种水深处理下单位反应中心吸收的能传递电子链末端的效率(φ_{R0}) 以及用于电子传递的能量成功传递到电子链末端的效率(δ_{R0}) 差异不显著, 表明水深梯度对单位反应中心光合效率影响不显著; 单位面积反应中心数(RC/CS_0) 显著增加, 相同受光面积时水深 2.0 m 处叶片光合作用显著强于水深 0.6 m 处; 性能参数 PI_{abs} 、 PI_{cs} 和 $PI_{abs,total}$ 显著提高, 表明低光胁迫有利于光能向活跃化学能转变。苦草叶片通过激活未激活的反应中心, 而不是提高单位反应中心光能利用效率来适应弱光强, 且水深 1.3 m 较适合苦草生长。

关键词 苦草 水深 叶绿素荧光 光合系统 II JIP 方法

文章编号 1001-9332(2014)06-1623-09 **中图分类号** X173 **文献标识码** A

Effects of water depth on the growth of *Vallisneria natans* and photosynthetic system II photochemical characteristics of the leaves. YANG Xin, ZHANG Qi-chao, SUN Shu-yun, CHEN Kai-ning (State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2014, 25(6): 1623–1631.

Abstract: The effects of water depth on the growth of *Vallisneria natans* and photosynthetic system II photochemical characteristics of the leaves were investigated at three depths of 0.6, 1.3 and 2.0 m. The rapid fluorescence induction kinetics curves (OJIP) of the leaves were measured with Plant Efficiency Analyzer and analyzed with JIP-test. The results indicated that the light intensities at water depths of 0.6, 1.3 and 2.0 m were obviously different and the growth of *V. natans* was restricted under water depth of 2.0 m. Biomass, number of ramets, number of leaves, total root length, root surface area and other morphological indices decreased significantly with the increasing water depth, and the maximum leaf length, average leaf length, maximum leaf width changed insignificantly with the water depth. With the increasing water depth, absorption flux per reaction center (ABS/RC), trapped energy flux per RC (TR_0/RC), electron transport flux per RC (ET_0/RC), reduction of end acceptors at photosynthetic system I (PS I) electron acceptor side per RC (RE_0/RC) decreased significantly. The dissipated energy flux per RC (DI_0/RC) also decreased significantly, which led to no obvious difference in quantum yield for the reduction of end acceptors of PS I per photon absorbed (φ_{R0}) and the efficiency for the trapped exciton to move an electron into the electron transport chain from Q_A^- to the PS I end electron acceptors (δ_{R0}). Because the amount of active PS II RCs per CS increased significantly, photosynthesis per area of *V. natans* grown at 2.0 m was significantly greater than that of *V. natans* grown at 0.6 m. The performance index PI_{abs} , PI_{cs} , $PI_{abs,total}$ photochemistry efficiency of leaves of *V. natans* grown at 2.0 m was significantly in-

* 国家自然科学基金项目(41171413, 41230853)和“十二五”国家巢湖水专项(2012ZX07103-002)资助。

** 通讯作者. E-mail: knchen@niglas.ac.cn

creased, suggesting that light stress may promote a more efficient conversion of light energy to active chemical energy. *V. natans* leaves accommodate the low light intensity environment through activating inactive reaction centers but not through improving light utilization efficiency per reaction center, and the water depth of 1.3 m may be more suitable for the growth of *V. natans*.

Key words: *Vallisneria natans*; water depth; chlorophyll fluorescence; photosynthetic system II; JIP-test.

沉水植物是湖泊生态系统中重要的初级生产者,对生态系统的健康和稳定有重要作用^[1-2]。随着人类活动的加剧,湖泊的沉水植物开始衰退,甚至消失,导致湖泊生态系统失调^[3-4]。在湖泊生态系统修复过程中,恢复和重建水生植被的生态修复方法已成为湖泊修复的重要途径,其重点和难点在于沉水植物的恢复和重建^[5]。影响沉水植物恢复的因素较多,其中水深通过影响水下可利用光照、真光层深度等环境因素,影响沉水植物的生长和空间分布^[6-8]。目前,水深对沉水植物空间分布、生长和繁殖等方面已有大量研究报道^[8-14],而有关沉水植物光合荧光方面的研究较少^[15]。

植物叶绿体吸收的光能传递到特定的光反应中心引发光化学反应,以推动电子传递,电子传递产生同化力(ATP 和 NADPH)用于固定 CO₂。其中,原初反应、电子传递和光合磷酸化基本属于光反应^[15]。Kautsky 和 Hirsch^[16]最先认识到光合原初反应和叶绿素荧光存在着密切关系。随着研究的深入,人们逐渐认识到荧光诱导动力学曲线中蕴藏着丰富的信息。Strasser 在生物膜能量流动的基础上建立了针对快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的数据分析和处理方法——JIP-test^[17-18]。利用该方法可以获得有关光系统Ⅱ(PSⅡ)的大量信息,为深入研究光合作用原初反应提供了有力而便捷的工具。目前,该技术在高温、低温、干旱、盐胁迫等逆境对陆生植物的光合生理的影响研究中得到了广泛应用^[19-22],在水生植物光合生理研究中也有应用,为全面理解水生植物光合生理提供了全新的手段。

苦草(*Vallisneria natans*)属于水鳖科苦草属,是典型的沉水植物,也是水体生态恢复的常选物种,近年来得到了广泛的引种。目前,水深对苦草生态学影响的研究较多^[12,23],但有关水深对苦草光合生理的影响方面较少。本文通过原位测定其叶片的快速荧光诱导动力学曲线(OJIP 曲线),研究 0.6、1.3 和 2.0 m 等 3 种水深对苦草叶片光合生理的影响,探讨苦草生长的适宜水深条件以及苦草提高光能利用效率的内在机制,以期为湖泊水位调控及苦草种群

的恢复提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2012 年 12 月于太湖胥口湾收集苦草球茎,球茎预培养于室外塑料水桶中(200 L)。试验前选取发育程度和形态较为一致的植株移植于种植钵内。苦草初始生物量为(0.19±0.00) g(FM),株高(9.38±0.84) cm,平均每株苦草有 4 片叶片。

1.2 试验设计

本试验为室外控制试验,在方形水塔(1.84 m×1.84 m×2.20 m)中通过吊桶的方式设置 0.6、1.3 和 2.0 m 3 种不同水深条件。挑选出水下生长的 12 株发育程度和形态较为一致的苦草,随机选择一株种植于种植钵(10.00 cm×8.50 cm×9.50 cm)中,并悬挂于 3 种不同水深处,每处理 4 次重复。试验底泥[总氮(TN)为 2.25 mg·g⁻¹、总磷(TP)为 0.51 mg·g⁻¹、烧失量(LOI)为 3.24%]采自太湖胥口湾苦草群落立地表层 10 cm 的沉积物,经过曝气 48 h 的自来水与太湖水(40:1)混合成试验用水,其 TN 为 0.872 mg·L⁻¹,TP 为 0.007 mg·L⁻¹,NO₃⁻-N 为 0.033 mg·L⁻¹,NO₂⁻-N 为 0.007 mg·L⁻¹,NH₄⁺-N 为 0.152 mg·L⁻¹,PO₄³⁻-P 为 0.001 mg·L⁻¹,Chl a 为 22.985 μg·L⁻¹。试验从 2013 年 5 月 5 日开始,培养 1 个月后,每处理选取 16 片大小(每株选取 4 片)一致的叶片测定各生理指标。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 水下光照强度测定 每隔 5 d 利用微型 Li-Cor 质子探头(Walz GmbH Effeltrich, 德国)于 12:00 测定水面及水深 0.2、0.4、0.6、1.0、1.3、1.5、1.7 和 2.0 m 处的光照强度,重复 6 次,由于天气条件不同,数据差异大,因此取相对值比较不同水深光照强度的差别:

$$R = P/P_0 \times 100\%$$

式中: R 为光照强度相对值; P 为实测水下光照强度; P₀ 为实测水面光照强度。

1.3.2 苦草形态与生物量测定

记录叶片数和分株

数等形态指标。采用便携式叶面积仪 (Li-3000C, Lincoln, NE, USA) 测定叶片面积、长度和宽度; 采用根系分析软件 (WinRhizo Pro 2007, Régent Instruments, Québec, Canada) 分析根表面积、体积等。洗净植物样并区分根、叶, 自然风干后于 80 °C 下烘 48 h 至恒量, 称干质量。

1.3.3 快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的测定 根据 Strasser 等^[24] 的方法, 用连续激发式荧光仪

(Handy PEA, Hansatech Instruments, Norfolk, UK) 测定连体叶片荧光参数, 采用 PEA Plus 软件处理数据。9:30—11:30, 每处理选取较为一致的 16 片叶片, 夹上暗适应叶夹 (距离顶端 20 cm 处), 30 min 后依次打开叶夹, 启动饱和脉冲光仪 (3000 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 2 s), 仪器自动记录 10 μs ~ 2 s 高分辨率间隔荧光信号, 测得叶绿素荧光诱导参数^[25]。各荧光参数的意义及计算公式见表 1。

表 1 快速叶绿素荧光诱导动力学曲线 (OJIP) 分析中荧光参数

Table 1 Parameters in the analysis of chlorophyll a fluorescence (OJIP) transient

	荧光参数 Fluorescence parameter	描述 Description
基本参数	F_0 ; F_m	最小荧光 Minimum fluorescence, when all PS II reaction center (RC) was open, 最大荧光 Maximum fluorescence, when all PS II RC was closed
Extracted parameter	F_t ; $F_{50\ \mu\text{s}}$; $F_{100\ \mu\text{s}}$; $F_{300\ \mu\text{s}}$; $F_j(F_{2\ \text{ms}})$; $F_I(F_{30\ \text{ms}})$	t , 50 μs , 100 μs , 300 μs , 2 ms, 30 ms, 瞬时荧光值 Fluorescence intensities at t , 50, 100, 300 μs , 2 ms, 30 ms, 分别达到最大荧光的时间 Time (in ms) to reach F_m
	t_{Fm}	荧光曲线与 F_m 所围面积 Total complementary area between fluorescence induction curve and $F = F_m$
	Area	J-I 相相对可变荧光 Relative variable fluorescence at the J-step (2 ms) and I-step (30 ms)
	$V_J = (F_{2\ \text{ms}} - F_0) / (F_m - F_0)$; $V_I = (F_{30\ \text{ms}} - F_0) / (F_m - F_0)$	相对荧光的初始斜率 Approximated initial slope (in ms^{-1}) of the fluorescence transient $V = f(t)$
	$M_0 = (dv/dt)_0 = 4(F_{300\ \mu\text{s}} - F_0) / (F_m - F_0)$	可变荧光占 $F_j - F_0$ 振幅的比例 Ratio of variable fluorescence to the amplitude $F_j - F_0$
	$W_t = (F_t - F_0) / (F_j - F_0)$	标准化后的 J-P 相和直接 $F = F_m$ 之间的面积 Normalized total complementary area above the OJIP transient
	$S_m = \text{Area} / (F_m - F_0)$	从 0 到 t_{Fm} 时间内 Q_A 被氧化还原的次数 Number of Q_A reduction events between time 0 to t_{Fm}
	$N = S_m \times M_0 \times (1/V_J)$	最大光化学效率 Maximum quantum yield of primary photochemistry at $t=0$; 用于耗散的量子产额 Quantum yield at $t=0$ for energy dissipation
量子产率参数	$\varphi_{P0} = TR_0 / ABS = 1 - F_0 / F_m = F_v / F_m$; $\varphi_{D0} = 1 - \varphi_{P0} = F_0 / F_m$	吸收的能量用于电子传递的量子产额 Quantum yield for electron transport at $t=0$
Yield or flux ratio	$\varphi_{E0} = ET_0 / ABS = (F_v / F_m) (1 - V_I)$	捕获的光能用于 Q_A^- 下游电子传递的量子产额 Probability that a trapped exciton moves an electron into the trapped electron transport chain beyond Q_A^-
	$\Psi_{E0} = ET_0 / TR_0 = 1 - V_I$	电子传递的能量能传递到电子链末端的量子产率 Efficiency with which an electron can move from the reduced intersystem electron acceptors to the PS I end electron acceptors
	$\delta_{R0} = RE_0 / ET_0 = (1 - V_J) (1 - V_I)$	吸收的能量能传递到电子链末端的量子产率 Quantum yield for the reduction of end acceptors of PS I per photon absorbed
	$\varphi_{R0} = RE_0 / ABS = \varphi_{P0} \Psi_{E0} \delta_{R0}$	捕获的能量能传递到电子链末端的量子产率 Efficiency with which a trapped exciton can move an electron into the electron transport chain from Q_A^- to the PS I end electron acceptors
	$\rho_{R0} = RE_0 / TR_0 = \Psi_{E0} \delta_{R0}$	单位面积吸收的能量 Absorption flux per CS, 单位面积电子传递的能量 Electron transport flux per CS, 单位面积捕获的能量 Trapped energy flux per CS, 单位面积耗散的能量 Dissipated energy flux per CS, 单位面积传递到电子链末端的能量 Reduction of end acceptors at PS I electron acceptor side per CS, 单位面积有活性的反应中心密度 Amount of active PS II RC per CS
单位面积的能量流参数	$ABS / CS_0 = F_0$; $ET_0 / CS_0 = (ABS / CS_0) \varphi_{E0}$; $TR_0 / CS_0 = (ABS / CS_0) \varphi_{P0}$; $DI_0 / CS_0 = ABS / CS_0 - TR_0 / CS_0$; $RE_0 / CS_0 = (ET_0 / CS_0) \delta_{R0}$; $RC / CS_0 = \varphi_{P0} (ABS / CS_0) (V_I / M_0)$	单位面积反应中心吸收的能量 Absorption flux per RC, 单位面积反应中心捕获的能量 Trapped energy flux per RC, 单位面积反应中心电子传递的能量 Electron transport flux per RC, 单位面积反应中心耗散的能量 Dissipated energy flux per RC, 单位面积反应中心传递到电子链末端的能量 Reduction of end acceptors at PS I electron acceptor side per RC
单位反应中心的能量流参数	$ABS / RC = M_0 / V_J \varphi_{P0}$; $TR_0 / RC = M_0 / V_I$; $ET_0 / RC = (M_0 / V_J) \Psi_{E0}$; $DI_0 / RC = ABS / RC - TR_0 / RC$; $RE_0 / RC = (ET_0 / RC) \delta_{R0}$	以吸收光能为基础的性能参数 PI on absorption basis, 以单位面积为基准的性能参数 PI on CS basis, 综合性能参数 Total PI, measuring the performance up to the PS I end electron acceptors
性能参数	$PI_{abs} = (RC / ABS) [\varphi_{P0} / (1 - \varphi_{P0})] [\Psi_{E0} / (1 - \Psi_{E0})]$; $PI_{cs} = (RC / CS_0) [\varphi_{P0} / (1 - \varphi_{P0})] [\Psi_{E0} / (1 - \Psi_{E0})]$; $PI_{abs, total} = (RC / ABS) [\varphi_{P0} / (1 - \varphi_{P0})] [\Psi_{E0} / (1 - \Psi_{E0})] [\delta_{R0} / (1 - \delta_{R0})]$	
Performance index (PI)		

1.4 数据处理

采用 Origin 8.6 软件对数据进行统计分析和作图。利用单因素方差分析法分析水深对苦草光合生理的影响，并采用 Tukey 法进行多重比较 ($\alpha = 0.05$)。图中数据为平均值±标准差。

2 结果与分析

2.1 水深对水下光强的影响

光在水体的传播过程中受到水体悬浮质的吸收和散射，从而造成光的衰减。由图 1 可知，随水深增加，水下光强衰减明显。其中，水深 0.6、1.3 和 2.0 m 处的光强为水面光强的 35.3%、14.2% 和 6.1%，且差异显著。

2.2 水深对苦草生长的影响

水深对苦草无性分株的形成具有明显的抑制作用。由表 2 可知，水深 0.6 m 处苦草平均分株数为水深 2.0 m 处的 2.1 倍。水深由 0.6 m 增加到 2.0 m，苦草平均叶片数由 22.7 显著减少到 10.7，表明高水位明显抑制苦草新叶生成。水深 2.0 m 处苦草叶片总面积小于 0.6 m 处的 50.0%。3 种水深处理下苦草最大叶长、最大叶宽和平均叶长差异均不显著。

不同水深处理下苦草根系形态参数具有显著差异（图 2）。水深由 0.6 m 增加到 2.0 m，苦草根系长度、根系表面积、根系体积、根系投影面积、平均根系直径和根尖数分别下降 62.7%、62.7%、66.2%、56.3%、9.7% 和 34.9%。根系长度和根系表面积均在直径 0.2~0.4 mm 内最大，根系体积在直径 >0.6 mm 内最大。在 0.6、1.3 和 2.0 m 水深处理下，根系直径为 0.2~0.4 mm 的根系长度分别

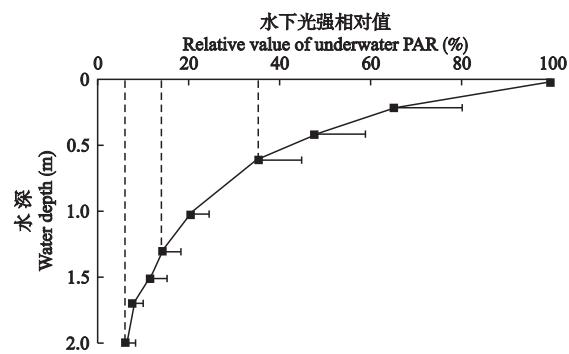


图 1 不同水深下光照强度的相对值

Fig. 1 Relative value of irradiance under different water depths.

占总根系长度的 55.8%、47.3% 和 44.3%，根系表面积分别占总根系表面积的 48.1%、44.0% 和 42.4%；根系直径 >0.6 mm 的根系体积分别占总根系体积的 67.8%、57.1% 和 65.5%。表明水深由 0.6 m 增加至 1.3 m，特别是增加至 2.0 m 时，对苦草根系发育和分布有显著的负面影响。

水深对苦草生物量积累和根冠比产生显著影响。由图 3 可知，苦草根、叶和总生物量以水深 0.6 m 处最大，1.3 m 次之，2.0 m 处最小，且差异均显著。随着水深增加，根冠比由 0.24 下降到 0.09。可见，深水位对苦草生物量积累有抑制作用，并且水深 2.0 m 处苦草分配更多的生物量到叶片中。

2.3 水深对快速叶绿素 a 荧光诱导动力学曲线的影响

典型的快速叶绿素荧光诱导动力学曲线有 O ($10\sim50 \mu\text{s}$)、J ($2\times10^3 \mu\text{s}$)、I ($3\times10^4 \mu\text{s}$)、P ($3\sim10\times10^5 \mu\text{s}$) 等相。叶片充分暗适应后， Q_A 、 Q_B 及 PQ 等

表 2 不同水深下苦草的形态特征

Table 2 Morphological characteristics of *Vallisneria natans* under different water depths

项目 Item	水深 Water depth (m)		
	0.6	1.3	2.0
叶片数 Number of leaves	22.67±4.73a	17.00±1.00a	10.67±3.05b
最大叶长 Maximum leaf length (cm)	62.13±14.58a	68.97±11.99a	54.90±7.29a
最大叶宽 Maximum leaf width (cm)	0.57±0.06a	0.40±0.10a	0.48±0.10a
分株数 Number of ramets	5.00±1.00a	3.67±0.58a	2.33±0.58b
平均叶长 Average leaf length (cm)	24.69±3.62a	19.62±3.67a	28.64±4.45a
总叶片面积 Total leaf area (cm ²)	571.80±91.84a	298.18±79.69b	263.33±21.50b
总根系长度 Total root length (cm)	524.40±104.16a	349.94±59.57a	195.78±55.45b
总根系表面积 Total surface area of roots (cm ²)	64.94±12.38a	44.67±13.05a	24.21±9.35b
平均根系直径 Average root diameter (cm)	0.40±0.01a	0.37±0.00a	0.36±0.01b
根系体积 Total root volume (cm ³)	0.64±0.12a	0.42±0.13a	0.22±0.09b
根尖数 Total root tips	418.00±9.17a	356.00±43.49a	273.33±49.24b
根系投影面积 Total project area of roots (cm ²)	20.67±3.94a	14.22±4.15a	9.04±1.59b

不同字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。Different letters indicated significant difference among treatments at 0.05 level. 下同 The same below.

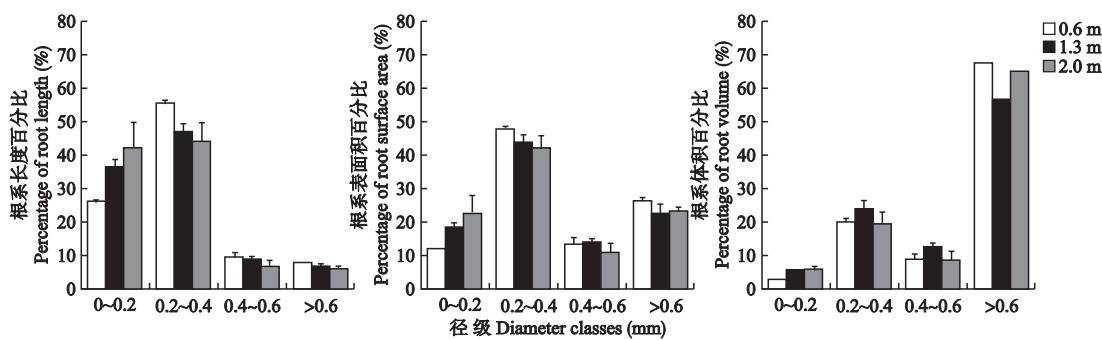


图 2 不同水深下苦草根系长度、根系表面积和根系体积在不同径级中的分布

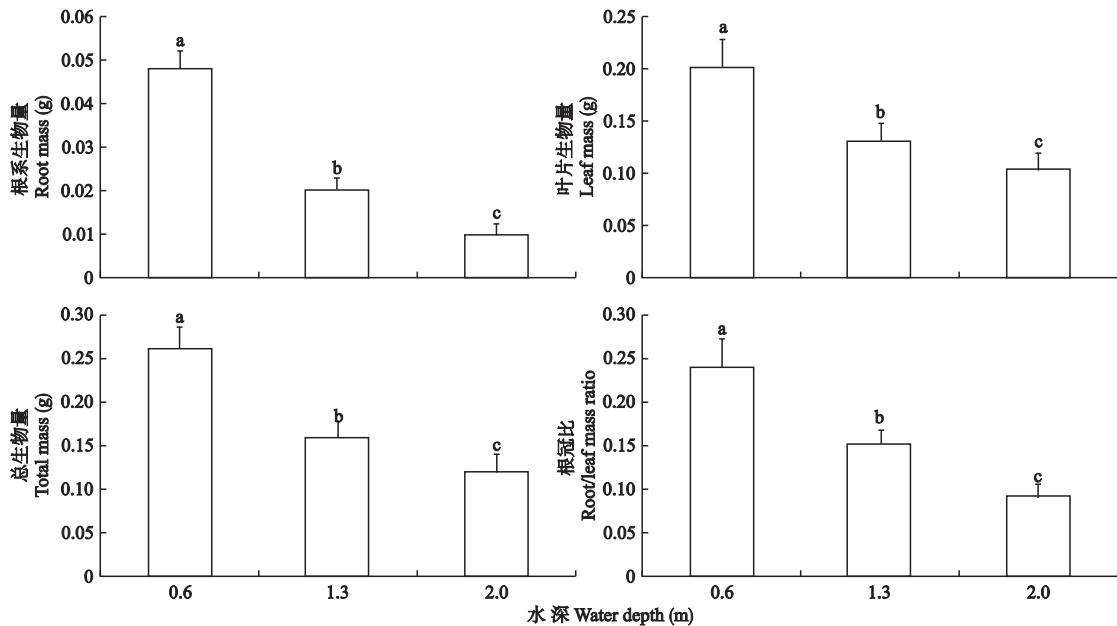
Fig. 2 Percentage of root length, surface area, and volume per diameter class of *Vallisneria natans* under different water depths.

图 3 不同水深下苦草的根系生物量、叶片生物量、总生物量和根冠比

Fig. 3 Root mass, leaf mass, total biomass and root/leaf mass ratio of *Vallisneria natans* under different water depths.不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$) Different letters indicated significant difference among treatments at 0.05 level. 下同 The same below.

电子受体均完全失去电子而被氧化,这时 PS II 反应中心可最大限度地接收光量子,此时叶片受光后发射荧光最小,处于初始相“O”(F_0)。当 PS II 被激发后产生的电子经由 Pheo 传给 Q_A ,将其还原,生成 Q_A^- 。此时,由于 Q_B 不能及时从 Q_A^- 接受电子将它氧化,造成 Q_A^- 的大量积累,荧光迅速上升至 J 点。电子从 Q_A^- 向 Q_B 传递过程中出现的 I 点,表明 PQ 库被还原(I-P)。P 点出现是因为 PS II 反应中心完全关闭,不再接受光量子,此时荧光产量最高(F_m)^[17]。表明不同水深处理的荧光诱导动力学曲线形状发生了一定改变。由表 3 可知,随水深增加, F_0 、 $F_{50\mu s}$ 和 $F_{100\mu s}$ 差异不显著,说明 PS II 反应中心最大限度地接受光量子的能力基本相同;而 $F_{300\mu s}$ (F_k)、 F_J 、 F_I 、 F_m 分别增加 21.9%、47.5%、78.0%、

78.4%,且差异均显著。0.6 m 处苦草叶片荧光动力学曲线经极短的时间(在 J 点之前),叶绿素荧光产量就会上升,出现 k 点(照光后约 300 μs 处的特征位点),此点的相对荧光值 W_k 的升高作为 PS II 供体侧(放氧复合体 OEC)发生伤害的标志^[26], W_k 的升高程度代表 OEC 被破坏的程度^[27]。水深由 2.0 m 到 0.6 m, W_k 升高 28.8%,说明 0.6 m 处苦草叶片叶绿素 PS II 反应中心 OEC 已破坏。P 峰的高低可代表 PS II 的光化学活性,反映了 PS II 的电子传递情况^[28]。0.6 m 处 P 峰下降显著,说明低水位强光可抑制 PS II 的光化学反应,使 PS II 反应中心受到伤害。

2.4 水深对叶绿素荧光动力学参数的影响

2.4.1 对 V_J 、 V_I 、 M_0 、 S_m 、 N 、Area 的影响

V_J 和 V_I 反映了照光 2 和 30 ms 时有活性的反应中心的关闭程

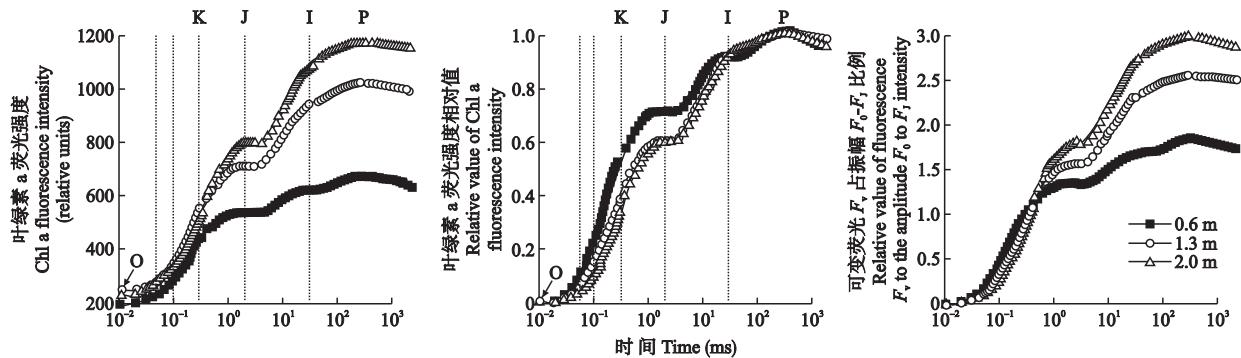


图 4 不同水深下苦草叶片快速叶绿素诱导动力学曲线和相对可变荧光 F_v 占振幅 $F_0 - F_J$ 的比例曲线

Fig. 4 Effects of water depth treatments on the high irradiance actinic-light-induced chlorophyll a fluorescence (OJIP) transient of dark-adapted *Vallisneria natans* leaves and the ratio of variable fluorescence F_v to the amplitude ($F_0 - F_J$) plotted on a logarithmic time scale (0.01 ms to 2 s).

度, 叶片中 Q_A^- 与 Q_A 的比例; M_0 反映了 Q_A 被还原的最大速率, 即 O-J 过程中 Q_A 被还原的速率; Area 和 S_m 反映了从 0 ms 到 t_{Fm} 时间内关闭所有反应中心所需要的能量, 即从 0 ms 到 t_{Fm} 时间内将电子传递链中的电子受体全部还原所需的能量; N 反映了从 2 ms 到 t_{Fm} 时间内 Q_A 的氧化还原次数^[17, 25]. 本研究结果表明, 水深 0.6 m 处 V_J 较 2.0 m 处显著增加 22.6%, 而 V_I 差异不显著, 随水深增加, M_0 下降 57.4%, 说明 2 ms 之前水深 0.6 m 处苦草叶片 PS II 反应中心 Q_A 被还原速率快, 有活性的反应中心关闭程度高, 而照光 30 ms 后, 关闭程度基本相同. 水深

梯度对 S_m 影响不显著, 说明不同水深下关闭所有反应中心所需能量差异不大. 随着水深增加, N 下降 44.1%, 说明 0.6 m 处叶片从 Q_A^- 传递走的电子较多, 即 PS II 受体侧的电子传递能力相对较高.

2.4.2 对单位反应中心(RC)光能吸收、传递和转化的影响 依据叶绿体能量流动模型图, 天线色素吸收的能量(ABS)中一小部分主要以热能和荧光(F)的形式耗散掉, 大部分则被反应中心(RC , 指有活性的反应中心)捕获(TR), 在反应中心激发能被转化为还原能. 将 Q_A 还原为 Q_A^- , 后者又可以被重新氧化, 从而产生电子传递(ET), 把传递的电子用于固定 CO_2 或其他途径^[17].

由表 4 可知, 随水深增加, ABS/RC 、 DI_0/RC 、 TR_0/RC 、 RE_0/RC 、 δ_{R0} 、 φ_{D0} 分别下降 32.6%、59.8%、22.1%、28.6%、45.7%、40.7%, 且差异均显著; Ψ_{E0} 、 φ_{E0} 、 φ_{P0} 变化相反, 分别增加 58.3%、77.8%、15.1%.

表 3 不同水深下苦草瞬时荧光的基本参数

Table 3 Parameters extracted and selected from recorded chlorophyll a fluorescence transient of *Vallisneria natans* under different water depths

Parameter	水深 Water depth (m)		
	0.6	1.3	2.0
$F_0(ABS/CS_0)$	178.18±61.19a	214.89±62.65a	192.60±27.17a
F_m	656.91±149.82b	1012.47±197.24a	1170.00±161.34a
F_v	477.73±116.19c	798.58±146.05b	977.40±136.69a
F_v/F_0	2.92±1.03c	3.89±0.72b	5.08±0.28a
$F_{50\ \mu s}$	238.45±66.00a	283.37±76.04a	260.20±29.22a
$F_{100\ \mu s}$	306.36±75.09a	353.11±94.76a	320.70±30.04a
$F_{300\ \mu s}$	448.27±92.06b	548.42±125.16a	546.50±52.66a
F_J	536.91±117.36b	712.36±145.72a	792.30±98.07a
F_I	617.45±147.54b	941.84±186.40a	1098.00±158.32a
W_k	0.76±0.05a	0.67±0.05b	0.59±0.05c
V_J	0.76±0.04a	0.62±0.02b	0.62±0.02b
V_I	0.92±0.02a	0.91±0.01a	0.93±0.01a
t_{Fm}	302.73±50.42a	313.16±72.04a	318.00±58.89a
M_0	1.92±0.18a	1.40±0.13b	1.22±0.13c
Area	5527.64±1222.41b	9349.37±2153.32a	10167.60±1405.77a
S_m	11.80±2.16a	11.70±1.68a	10.50±1.56a
N	30.00±6.36a	26.07±3.93a	20.82±4.32b

表 4 不同水深下单位反应中心能量流和量子产率参数

Table 4 Specific energy fluxes per reaction center (RC) and flux ratio parameters under different water depths

Parameter	水深 Water depth (m)		
	0.6	1.3	2.0
ABS/RC	3.50±0.42a	2.83±0.26b	2.36±0.19c
DI_0/RC	0.97±0.36a	0.60±0.13b	0.39±0.04c
TR_0/RC	2.53±0.15a	2.23±0.18b	1.97±0.16c
ET_0/RC	0.61±0.10c	0.84±0.08a	0.76±0.05b
RE_0/RC	0.21±0.05a	0.20±0.04a	0.15±0.04b
$\varphi_{P0}(F_v/F_m)$	0.73±0.07c	0.79±0.03b	0.84±0.01a
Ψ_{E0}	0.24±0.04b	0.38±0.02a	0.38±0.02a
φ_{E0}	0.18±0.04b	0.30±0.03a	0.32±0.02a
δ_{R0}	0.35±0.09a	0.24±0.04b	0.19±0.04b
φ_{R0}	0.06±0.02a	0.07±0.01a	0.06±0.01a
φ_{D0}	0.27±0.07a	0.21±0.03b	0.16±0.01c
ρ_{R0}	0.08±0.02a	0.09±0.01a	0.07±0.01a

表 5 不同水深下单位面积能量流参数

Table 5 Phenomenological flux parameters per cross section (CS) under different water depths

水深 Water depth (m)	DI_0/CS_0	TR_0/CS_0	ET_0/CS_0	RE_0/CS_0	RC/CS_0
0.6	51.12±27.65a	127.06±36.19b	30.83±10.37b	10.10±2.66b	50.77±16.16b
1.3	46.19±19.81a	167.71±43.66a	62.76±15.81a	14.96±4.68a	75.31±18.92a
2.0	31.76±4.93a	160.84±22.46ab	62.10±10.96a	11.84±1.63ab	82.57±16.38a

且差异均显著; φ_{R0} 、 ρ_{R0} 变化不显著。说明水深 0.6 m 处苦草叶片单位反应中心吸收、捕获和用于电子传递的能量虽然显著增加,但是吸收的能被有活性的反应中心捕获和用于电子传递的以及捕获的用于电子传递的显著减小,最终导致吸收的能量成功传递到电子链末端以及用于电子传递能量成功传递到电子链末端的差异不显著。

2.4.3 对单位面积(CS)光能的吸收、传递与转化的影响 水深对枯草叶片单位受光面积各种量子效率的影响存在一定差异。3 种水深处理下, ABS/CS_0 (F_0)、 DI_0/CS_0 差异不显著(表 3、表 5); TR_0/CS_0 、 ET_0/CS_0 、 RE_0/CS_0 均为水深 1.3 m 处最大, 水深 0.6 m 处最小, 且差异显著, 而水深 1.3 和 2.0 m 处差异不显著, 说明水深 1.3 和 2.0 m 处 PS II 反应中心降解和失活较晚, 结构相对稳定、失活率低, 用来还原 Q_A 的激发能较多; 水深由 0.6 m 增加到 2.0 m, RC/CS_0 增加 62.1%, 说明水深 2.0 m 处苦草叶片参与光能转换的反应中心的数量较高。

2.4.4 对 PI_{abs} 、 PI_{cs} 和 $PI_{abs,total}$ 的影响 性能指数 (PI_{abs} 、 PI_{cs}) 包含 3 个独立参数, 即 RC/ABS (或 RC/CS)、 φ_{R0} 、 Ψ_{E0} , 综合性能指数 $PI_{abs,total}$ 包含 4 个独立参数, 即 RC/ABS 、 φ_{R0} 、 Ψ_{E0} 、 δ_{R0} , 它们能更准确地反映植物光合机构的状态以及胁迫对光合机构的影响^[29-30]。由图 5 可知, 随水深增加, PI_{abs} 、 PI_{cs} 和 $PI_{abs,total}$ 分别提高 352.7%、450.1%、115.4%, 且差

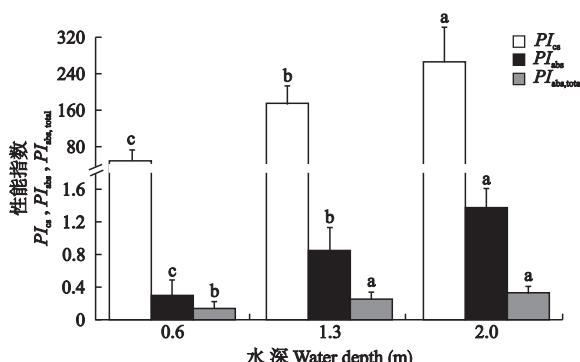
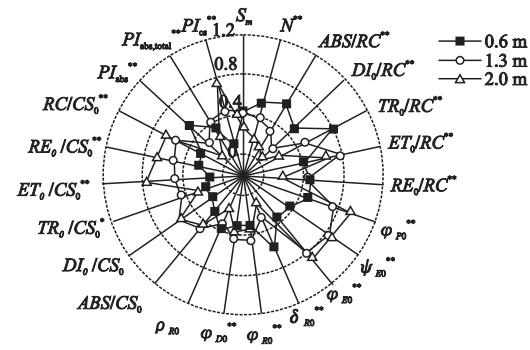
图 5 不同水深下性能参数 PI_{cs} 、 PI_{abs} 和 $PI_{abs, total}$ Fig. 5 Performance index PI_{cs} , PI_{abs} , $PI_{abs, total}$ under different water depths.

图 6 不同水深对单位反应中心能量流、单位面积能量流和量子产率参数的影响

Fig. 6 Effects of water depths on specific energy fluxes per RC, phenomenological fluxes per CS flux ratio and parameters.

所有数据经极值法化处理 All the values expressed were processed by extreme method. * $P<0.05$; ** $P<0.01$.

异显著, 说明水深 2.0 m 处苦草光化学性能好, 有利于光能向活跃化学能转变。

3 讨 论

3.1 水深对苦草生长的影响

水深对水生植物的分布和群落结构具有重要影响, 不仅能够通过影响光合作用直接影响植物的生长, 而且可通过改变底泥的理化性状对植物生长造成间接影响^[8,10]。水生植物对水深变化能在形态上产生一系列响应^[12-13]。本研究中, 水深 0.6 ~ 2.0 m 处苦草叶片数、叶片总面积、分株数、根系长度、表面积等形态指标呈显著差异。根系形态的可塑性响应被认为是植物获取资源的适应性机制之一, 具有细长根系的植物较粗短根系的植物具有更高的营养获取效率, 同时, 根系表面积的提高也可以增加根系与底泥的接触面积^[31]。但基质营养相同, 不同水深处理下苦草根系长度、根系表面积、根系体积、根系平均直径等差异显著。这表明根系形态指标受到了水深的显著影响。其原因可能有两方面: 一是存在一种根系对营养需求的反馈调节机制, 由于沉水植物的叶片能够从上覆水体中吸收一定的营养物质, 从而减轻了根系对营养获取的需求; 二是植物最优分配原理, 植物总生物量相对恒定, 增加某一组织的投入

必然导致其他组织投入的减少,植物为获取更多光照,将大量资源分配给叶片,造成植物根系的发育受到一定抑制。

生物量是植物生长状态的主要衡量指标,植物生长的好坏可以通过生物量的变化直接表现出来。本研究中,苦草生物量及其分配受到水深的显著影响。其原因可能与水下的光强有关,光照是沉水植物生长的决定性因素^[32],但光照会随着水深增加而逐渐衰减。因此,较大水深条件下苦草的生长会受到光照的限制。在对水深的响应过程中,沉水植物面临着一个维持满足根系和地上部分生长需要的平衡。这有利于植株根系对营养物质的获取和促使植物生长接近水面以获取足够的光照。本研究中,苦草根冠比随水深增加显著下降,表明生物量分配有利于植株地上部分生长。这也是植物适应水下弱光照条件的一种对策。

3.2 水深对苦草叶绿素快速荧光诱导动力学的影响

叶绿素荧光的变化可以在一定程度上反映环境因子对植物的影响,通过对不同环境条件下快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的分析,可深入了解环境因子对植物光合机构主要是PSⅡ反应中心的影响以及光合机构对环境的适应机制。Strasser等^[17,26]以生物膜中能量流动理论为基础,通过计算能量流和能量比率来衡量在给定物理状态下样品材料内部变化,建立了高度简化的能量流动模型。在此基础上建立了针对快速叶绿素荧光诱导曲线的数据分析方法和处理方法,即JIP-测定(JIP-test)。主要包括分析PSⅡ供体侧、供体侧以及反应中心的变化。

在高温、干旱等胁迫条件下,照光后约300 μs时会出现K相。研究表明,K相的出现是由OEC受到伤害引起^[26-27]。3种水深处理下,叶片W_k显著变化,表明PSⅡ的供体侧在水深0.6 m处受到伤害。这可能是由水深0.6 m处苦草叶片较多,相互拥挤,从而导致提前衰老或水下光强过强。

PSⅡ受体侧主要包括Q_A、Q_B、PQ库等^[17]。而M₀、S_m、φ_{E0}、Ψ_{E0}等参数主要反映PSⅡ受体侧的变化。本研究中,3种水深处理下苦草叶片PSⅡ受体侧电子传递体(S_m)变化不明显,而水深2.0 m处苦草叶片PSⅡ捕获的光能把电子传递到电子传递链中Q_A⁻下游电子受体的量(φ_{E0})增多,有活性的反应中心的开放程度(Ψ_{E0})增大,用于还原Q_A的光能量减少,使得Q_A的还原(M₀)减慢,Q_A⁻的积累相对降低,从而使PSⅡ受体侧有更多的电子从Q_A⁻进入下游

电子传递链,即PSⅡ受体侧电子传递能力相对增大,所以水深2.0 m处苦草叶片PSⅡ受体侧有效能量传递效率增大,PSⅡ受体侧活性有所提高。

JIP-test得到光合机构的比活性,即单位反应中心(RC)或单位受光面积(CS)的各种量子效率(ABS/CS、TR₀/CS₀、ET₀/CS₀、DI₀/CS₀、RE₀/CS₀、ABS/RC、DI₀/RC、TR₀/RC、ET₀/RC、RE₀/RC)以及单位面积上的活性反应中心的数量(RC/CS₀),能够更确切地反映植物光合器官对光能的吸收、转化和耗散情况^[29-30]。本研究中,水深0.6 m处单位反应中心吸收、捕获、电子传递、传递到电子传递末端的量子效率(ABS/RC、TR₀/RC、ET₀/RC、RE₀/RC)显著高于水深2.0 m处,但单位反应中心的耗散量子效率(DI₀/RC)同样在水深0.6 m处显著偏高,最终导致3种水深处理下单位反应中心吸收的能传递电子链末端的概率(φ_{R0})以及用于电子传递的能量成功传递到电子链末端的概率(δ_{R0})差异不显著。说明水深梯度对单位反应中心光合效率影响不显著。随着水深增加,单位面积反应中心数(RC/CS₀)显著增加,因此,3种水深处理下,相同受光面积时水深2.0 m处苦草叶片光合作用显著强于水深0.6 m苦草叶片。

有研究表明,PI_{abs}(PI_{cs})可以准确地反映植物光合机构的状态,对某些胁迫比F_v/F_m(φ_{P0})更敏感^[29-30]。由于PI_{abs}(PI_{cs})包含的3个独立参数RC/ABS(或RC/CS)、φ_{P0}、Ψ_{E0}主要反映PSⅡ反应中心的效率,而不能反映PSⅠ反应中心转化情况,故PI_{abs}(PI_{cs})不能准确反映植物整个光合机构的状态。PI_{abs,total}通过添加参数δ_{R0}有效解决了这一问题,故PI_{abs,total}能够准确全面地反映植物光合机构的状态。本研究中,随水深增加,PI_{abs,total}显著提高,说明水深2.0 m处苦草光的化学效率高,从而适应高水位弱光强环境。

综上,苦草叶片通过激活未激活的反应中心而不是通过提高单位反应中心的效率来提高光能利用率,从而适应弱光强。然而,深水位光资源的严重匮乏导致植物净光合作用远远小于浅水区域0.6和1.3 m植物(总生物量差异显著),且荧光分析发现,水深0.6 m处苦草光合生理已经受到了伤害,故水深1.3 m较适合苦草生长。

致谢 采样和试验过程中得到施娴和陈超的帮助,在此表示感谢。

参考文献

- [1] Carpenter SM, Lodge DM. Effects of submersed macro-

- phytes on ecosystem processes. *Aquatic Botany*, 1986, **26**: 341–370
- [2] Wu QL, Zwart G, Wu JF, et al. Submersed macrophytes play a key role in structuring bacterioplankton community composition in the large, shallow, subtropical Taihu Lake, China. *Environmental Microbiology*, 2007, **9**: 2765–2774
- [3] Egertson CJ, Kopaska JA, Downing JA. A century of change in macrophyte abundance and composition in response to agricultural eutrophication. *Hydrobiologia*, 2004, **524**: 145–156
- [4] Orth RJ, Williams MR, Marion SR, et al. Long-term trends in submersed aquatic vegetation (SAV) in Chesapeake Bay, USA, related to water quality. *Estuaries and Coasts*, 2010, **33**: 1144–1163
- [5] Hilt S, Gross EM, Hupfer M, et al. Restoration of submersed vegetation in shallow eutrophic lakes: A guideline and state of the art in Germany. *Limnologica: Ecology and Management of Inland Waters*, 2006, **36**: 155–171
- [6] Zhang YL, Zhang B, Ma RH, et al. Optically active substances and their contributions to the underwater light climate in Lake Taihu, a large shallow lake in China. *Fundamental and Applied Limnology*, 2007, **170**: 11–19
- [7] Bucak T, Saraoğlu E, Levi E, et al. The influence of water level on macrophyte growth and trophic interactions in eutrophic Mediterranean shallow lakes: A mesocosm experiment with and without fish. *Freshwater Biology*, 2012, **57**: 1631–1642
- [8] Fu H, Yuan GX, Cao T, et al. An alternative mechanism for shade adaptation: Implication of allometric responses of three submersed macrophytes to water depth. *Ecological Research*, 2012, **27**: 1087–1094
- [9] Zhu GR, Li W, Zhang M, et al. Adaptation of submersed macrophytes to both water depth and flood intensity as revealed by their mechanical resistance. *Hydrobiologia*, 2012, **696**: 77–93
- [10] Li W, Cao T, Ni LY, et al. Effects of water depth on carbon, nitrogen and phosphorus stoichiometry of five submersed macrophytes in an *in situ* experiment. *Ecological Engineering*, 2013, **61**: 358–365
- [11] Zhai S-J (翟水晶), Hu W-P (胡维平), Deng J-C (邓建才), et al. Effects of different water depths and sediment on *Potamogeton malaianus* in Lake Taihu. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2008, **28**(7): 3335–3041 (in Chinese)
- [12] Fu H (符 辉), Yuan G-X (袁桂香), Cao T (曹 特), et al. Clonal growth and foraging behavior of a submersed macrophyte *Vallisneria natans* in response to water depth gradient. *Journal of Lake Sciences* (湖泊科学), 2012, **24**(5): 705–711 (in Chinese)
- [13] Chen Z-Y (陈正勇), Wang G-X (王国祥), Wu X-D (吴晓东), et al. Ecological adaptability of *Potamogeton crispus* under different water depths. *Journal of Lake Sciences* (湖泊科学), 2011, **23**(6): 942–948 (in Chinese)
- [14] Wang H-Y (王海洋), Chen J-K (陈家宽), Zhou J (周 进). Influence of water level gradient on plant growth, reproduction and biomass allocation of wetland plant species. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报), 1999, **23**(3): 269–274 (in Chinese)
- [15] Berry JA, Downton WJS. Environmental regulation of photosynthesis. *Photosynthesis*, 1982, **2**: 263–343
- [16] Kautsky H, Hirsch A. Neue versuche zur kohlen-säureassimilation. *Naturwissenschaften*, 1931, **19**: 964
- [17] Strasser BJ, Strasser RJ. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP-test// Mathis P, ed. *Photosynthesis: From Light to Bio-*
- sphere. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publisher, 1995: 977–980
- [18] Force L, Critchley C, van Rensen JJS. New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. *Photosynthesis Research*, 2003, **78**: 17–33
- [19] Rapacz M. Chlorophyll a fluorescence transient during freezing and recovery in winter wheat. *Photosynthetica*, 2007, **45**: 409–418
- [20] Qu YN, Zhou Q, Yu BJ. Effects of Zn^{2+} and niflumic acid on photosynthesis in *Glycine soja* and *Glycine max* seedlings under NaCl stress. *Environmental and Experimental Botany*, 2009, **65**: 304–309
- [21] Redillas MC, Strasser RJ, Jeong JS, et al. The use of JIP test to evaluate drought-tolerance of transgenic rice overexpressing OsNAC10. *Plant Biotechnology Reports*, 2011, **5**: 169–175
- [22] Tóth SZ, Schansker G, Garab G, et al. Photosynthetic electron transport activity in heat-treated barley leaves: The role of internal alternative electron donors to photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta: Bioenergetics*, 2007, **1767**: 295–305
- [23] Xiao KY, Yu D, Wu ZH. Differential effects of water depth and sediment type on clonal growth of the submersed macrophyte *Vallisneria natans*. *Hydrobiologia*, 2007, **589**: 265–272
- [24] Strasser RJ, Srivastava A. Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria, *Photochemistry and Photobiology*, 1995, **61**: 32–42
- [25] Li P-M (李鹏民), Gao H-Y (高辉远), Strasser RJ. Application of the fast chlorophyll fluorescence induction dynamics analysis in photosynthesis study. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology* (植物生理与分子生物学学报), 2005, **31**(6): 559–566 (in Chinese)
- [26] Strasser BJ. Donor side capacity of photosystem II probed by chlorophyll a fluorescence transients. *Photosynthesis Research*, 1997, **52**: 147–155
- [27] Jiang CD, Jiang GM, Wang X, et al. Enhanced photosystem II thermostability during leaf growth of elm (*Ulmus pumila*) seedlings. *Photosynthetica*, 2006, **44**: 411–418
- [28] Lu C-M (卢从明), Zhang Q-D (张其德), Kuang T-Y (匡廷云). The effects of water stress on photosystem II in wheat. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), 1994, **36**(2): 93–98 (in Chinese)
- [29] Appenroth KJ, Stöckel J, Srivastava A, et al. Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrhiza* as probed by OJIP chlorophyll a fluorescence measurements. *Environmental Pollution*, 2001, **115**: 49–64
- [30] van Heerden PDR, Strasser RJ, Krüger GHJ. Reduction of dark chilling stress in N_2 -fixing soybean by nitrate as indicated by chlorophyll a fluorescence kinetics. *Physiologia Plantarum*, 2004, **121**: 239–249
- [31] Xie Y, Luo WB, Ren B, et al. Morphological and physiological responses to sediment type and light availability in roots of the submersed plant *Myriophyllum Spi-catum*. *Annals of Botany*, 2007, **100**: 1517–1523
- [32] Bornette G, Puijalon S. Response of aquatic plants to abiotic factors: A review. *Aquatic Sciences*, 2011, **73**: 1–14

作者简介 杨 鑫,男,1990年生,硕士研究生。主要从事水生植物与生态修复研究。E-mail: yxin15@foxmail.com

责任编辑 孙 菊