Contents lists available at ScienceDirect

Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/eng

Research
Watershed Ecology—Article

过氧化氢作为环境胁迫指标在植被管理中的应用

Takashi Asaeda*, Senavirathna Mudalige Don Hiranya Jayasanka, LiPing Xia, Abner Barnuevo

Department of Environmental Science and Technology, Saitama University, Saitama 338-8570, Japan

ARTICLE INFO

Article history:
Received 11 December 2017
Revised 17 May 2018
Accepted 3 September 2018
Available online 8 September 2018

关键词
大型植物
河岸边区域
环境梯度
胁迫指标
活性氧类
过氧化氢

摘要

适应性植被管理非常耗时，其需要长时间的野外监测以获取可靠的数据。目前适应性植被管理手段虽已被广泛应用，但在进行栖息地状况评估时，仍然依赖于长时间的野外观测。目前的植被相关研究中，活性氧类（ROS）已经被视为一种环境胁迫指标。在这些 ROS 中，过氧化氢（H_2O_2）相对稳定，并且可以被准确、方便地量化。植物中 H_2O_2 含量可以被用作岸生和水生植被管理过程的胁迫指标，同时可以用来评估栖息地中单一植物物种的生长状况。本研究证明了植被管理中应用 H_2O_2 作为定量化环境胁迫指标的可行性。在实验室和野外（日本的真嗣湖、沙巴河、伊诺河和海河）条件下，分别开展了不同胁迫程度下大型水生植物和岸生植物生成 H_2O_2 情况的研究，结果表明 H_2O_2 可以作为环境管理中的胁迫指标。

© 2018 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

1. 引言

植被管理在植被恢复、濒危物种保护和杂草管控中发挥着重要的作用。在适应性植被管理中，通常需要使用长时间观测的数据。长时间观测是确定植被状况的最常见方法，但其需要较多的时间和金钱成本。植物群落规模的增长和减少取决于环境胁迫和植物耐受性之间的关系。如果能够调整植被的耐受性，那么整体环境胁迫的相对强度可以用来表征合适的栖息地状况水平。同样，为了表征植物的现有状况和预测未来状况，评估植被所受的环境胁迫是十分必要的。

有关环境胁迫对植物影响的研究结果表明，一些植物的植株体征会受到环境胁迫的影响[1,2]。活性氧类（ROS）的积累程度可用于识别作用在植物上的环境胁迫程度，但这一现象在现实环境中很少被关注[3–5]。在ROS中，过氧化氢（H_2O_2）在植被的多个部位生成，如叶绿体、线粒体、过氧化物酶体和细胞膜等。H_2O_2相对稳定，并且容易被生物膜转运。与其他ROS[如超氧化物自由基（O_2^-）和氢氧自由基（·OH）]相比，H_2O_2可以被方便地检测到，且损失最小，在植物学研究中被广泛地用于识别ROS造成的植被损伤和环境胁迫程度。

本研究旨在阐明H_2O_2作为定量植物环境胁迫指标应用于环境胁迫识别的适用性。本研究将对实验室和自然状况下大型沉水植物和陆生植物产生的H_2O_2进行分析，

* Corresponding author.
E-mail address: asaeda@mail.saitama-u.ac.jp (T. Asaeda)

2095-8099/© 2018 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).
英文原文: Engineering 2018, 4(5): 610–616
引用本文: Takashi Asaeda, Senavirathna Mudalige Don Hiranya Jayasanka, Li-Ping Xia, Abner Barnuevo. Application of Hydrogen Peroxide as an Environmental Stress Indicator for Vegetation Management. *Engineering*, https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.09.001

并在实验室条件下探讨大型沉水植物——埃格草（*Egeria densa*）、苦草（*Vallisneria asiatica*）、菹草（*Potamogeton crispus*）和伊乐藻（*Elodea nuttallii*）等对湍流胁迫的响应程度，以及在实验室条件下穗花狐尾藻（*Myriophyllum spicatum*）对硫化氢（H_2S）胁迫的适应性。本研究在自然条件下对日本的真嗣湖、沙巴河和伊诺河的眼子菜（*P. anguillanus*）和埃格草的光反应实验适应性进行研究，并沿着海河两岸观察岸生植物[芦苇（*Phragmites australis*）、卡开芦（*Phragmites karka*）、南荻（*Miscanthus sacchariflorus*）、白皮柳（*Salix pierotii*）和胡桃楸（*Juglans mandshurica var. sieboldiana*）]的状况。

2. 材料和方法

2.1. 植被的存储与培养

在近岸处采集的埃格草、苦草、菹草、伊乐藻和穗花狐尾藻，用去氯自来水冲洗，去除附着的杂物。当附着藻类时，用镊子仔细清理植物。在实验室条件下[（25 ± 2）℃，12/12日光灯光照，光通量密度（PPFD）为100~120 μmol·m^{-2}·s^{-1}]，将植物栽培于玻璃容器中数月。将玻璃容器彻底清洗，在其中分层堆放商品沙（90% 的沙粒直径小于1 mm）作为基质，提供霍格兰溶液作为营养源。在植被移植之前，观察是否有藻类附着，并且挑选无藻类的植物进行实验研究。

2.2. 湍流胁迫实验

实验材料为苦草、眼子菜和伊乐藻。在一个配有4 cm沙层且被彻底清洗过的玻璃容器（5.7 cm × 15.7 cm，高度为24.5 cm）中进行实验。从培养箱中剪掉同样大小的顶端尖端（3~5 cm）。每个实验箱种植6株植物。每个箱中的水位（营养物为5%霍格兰溶液）维持在高于基质17 cm处。

根据已发表的文献[6,7]，可以利用一个振荡频率为2 Hz、振幅为3 cm的垂直振荡水平栅格产生湍流。按照操作规定，直流电发电机在微观尺度产生的湍流相对较小。应用二维电磁流仪器（SF-5712，Tokyo Keisoku公司，日本）测定该区域的6个对称点处的微观尺度水平流速场。分别在水面下5 cm、10 cm和15cm 3个深度监测每一个点的流速波动。通过在每个深度6次测定后取平均值的方法来计算湍流的流速。

在湍流胁迫实验一周前，植物需要适应新的实验环境[（25 ± 2）℃，12/12日光灯光照，PPFD为100~120 μmol·m^{-2}·s^{-1}]。在此之后，植物被连续不断地暴露在湍流胁迫中，持续21 d。在暴露之后，立即对实验组和对照组进行化学分析。

2.3. 硫化氢胁迫实验

去除穗花狐尾藻的两个顶端尖端后，将其插入海绵块中，放进500 mL的玻璃烧杯。以不添加其他溶剂的5%霍格兰溶液作为培养基。植物生长在0.0 mmol·L^{-1}（对照组）、0.1 mmol·L^{-1}、0.2 mmol·L^{-1}、0.5 mmol·L^{-1}、1.0 mmol·L^{-1} H_2S暴露的烧杯中，每个浓度设置3个平行样品。在H_2S暴露实验中，硫氢化钠（NaHS）作为H_2S的供体。

H_2S溶液通过二元胺-甲基蓝比色法测定浓度[8]：4 mL混合二元胺与50 mL水样混合，20 min后使用分光光度法在670 nm处测定吸光度。应用NaHS校准标准测定其浓度，浓度单位为mmol·L^{-1}。每隔24 h（通过H_2S的短半衰期计算得到[9]）更换新的培养基。通过加入1 mol·L^{-1}的NaOH或H_2S，使pH值保持在5.0~5.5[10,11]。测量最初和最终的茎长后，计算茎长差值，测定实验时长后计算相对生长率（SGR）。

2.4. 实地观察

2.4.1. 采样点

真嗣湖（Shinji Lake）是日本西部的一个盐水湖，因盛产蚬（*Corbicula*）等双壳类而闻名。目前大型植物菹草生长茂盛，取代了湖底部原有的沉积物，从而严重影响了蚬类的生长[12]。阐明菹草集中生长和分布的原因，对其管理十分必要。本研究于2017年8月22日进行了实地观察，并在海平面到2.5 m深范围内，沿着两个样带采集大型植物样品。

近期，入侵物种埃格草在日本西部之前没有大型植物生长的很多河中出现[13]。埃格草的入侵阻碍了香鱼（一种日本常见的淡水鱼）产卵，并且显著减少了香鱼的捕获量。本研究在沙巴河（Saba River）和伊诺河（Eno River）的几个样带进行了实地观察。于2016年6月11日到15日及9月16日到17日，在这些样点进行采样和观测。另外，于2016年11月11日到13日采集海河（Hii River）的样品。每个样品的采样点设置在每条河流埃格草生长较厚且均匀的地方，或者流速相对较高并且生物量较小的地方。在每一个采样点，每隔2~5 m进行采样和测定。在20%（高于栖息地）和80%（栖息地中）水深处用超声波速度计测定并记录流速。

2.4.2. 水下大型植物采样步骤

菹草植物样品从两个样带（Tr1和Tr2）的不同深度处采集，并且存储在装有干冰的冷却箱中。采集的样品以最快的速度转移到实验室中进行化学分析。每个样方（0.5 m×0.5 m）采集3份平行样品。水中光照强度和PPFD使用便携式量子光通量计（Apogee，MQ-200，美国），从底部到顶部每10 cm测定一次。此外，pH值、浊度、温度和溶解氧（DO）用便携式水质仪（U-53，Horiba公司，日本）测定。

光合作用会产生大量ROS。为了去除光合作用产生的H_2O_2，本研究设置了黑暗培养对照实验。在黑暗培养实验中，放置一个2 m×2 m的黑色塑料板于沉水植物栖息地上30 min。在流水中，用铁杆固定黑色塑料板，使它漂浮在水面上，并且塑料板应不影响大型植物生长区和栖息地附近的流速。植物样品在水深80%处进行无光采集。同样，光照射样品应在未被塑料板覆盖过的大型植物处采集。

2.4.3. 河岸区采样步骤

在海河特定的芦苇、卡开芦和南荻生长界限明显的区域进行采样。沿着垂直于河的方向，在不同的高度（高达7 m处）处采集草本样品。河岸区域长有较多的白皮柳和胡桃楸等日本河流中常见的植物。河岸上的树种对定殖位置有各自适合的高度。在真嗣湖下游14 km处，沿着典型水位高度处2 km的河岸区，分别对白皮柳和胡桃楸进行计数。采集太阳照射暴露组与黑暗实验组的树叶，用于化学分析。所有植物样品在采集后，立即放置在装有干冰的冷却箱中，运到实验室进行分析。

2.5. 化学分析

对2.2~2.4节中的植物组织样品进行生物化学胁迫指标分析。提取新鲜嫩枝的色素到5 mL的*N*,*N*-二甲基甲酰胺溶液中，用分光光度法测定叶绿素a（Chl-a）、叶绿素b（Chl-b）和类胡萝卜素，采用文献[14]中的方法和公式，计算色素含量。Chl-a、Chl-b和类胡萝卜素单位采用$\mu g \cdot g^{-1}$鲜重（FW）。

在H_2O_2实验中，提取约100 mg新鲜植物嫩枝中的酶于冰冷的聚乙烯吡咯烷酮（PVP）磷酸盐缓冲液（50 $mmol \cdot L^{-1}$，pH 6.0）中。将提取物在4 ℃下以5000 *g*（*g*=9.8 $m \cdot s^{-2}$）离心分离15 min，立即收集上清液并存储在–80 ℃下，直至进行化学分析。采用文献[15]修正的分光光度计方法测定内源H_2O_2浓度。将750 μL等分样品和2.5 mL 0.1%硫酸钛在20%（*V*/*V*）的H_2SO_4溶液中混合，并将混合物在20 ℃下以5000 *g*离心15 min。产生的黄色溶液在410 nm波长处采用分光光度计测定。H_2O_2浓度通过标准曲线估算，结果单位为$\mu mol \cdot g^{-1}$ FW。

采用文献[16]修改后的分光光度计方法测定吲哚乙酸（IAA）的浓度。植物顶端尖端组织鲜样（约100 mg）在2.5 mL蒸馏水中研磨，在20℃以5000 *g*离心15 min，收集上清液。将萃取出的1.0 mL酶与2.0 mL改良后的萨尔科夫斯基试剂混合，形成粉色溶液，1 h后在530 nm波长处测定。IAA的浓度从标准曲线推算，单位采用$\mu g.g^{-1}$ FW。

3. 结果

3.1. 实验室内结果

湍流强度与植物叶和茎中的H_2O_2浓度的关系如图1所示。在物种特异性层面，两者具有极高的正相关性。与菹草、伊乐藻不同，苦草具有多叶结构，显示出比其他植被更高的H_2O_2浓度。菹草和伊乐藻也显示相似的趋势。相关关系显示，叶片中H_2O_2含量的波动比茎大，叶片中的H_2O_2浓度更高。Chl-a浓度、IAA含量和生长率与H_2O_2浓度的关系在图2（a）~（c）中分别显示，均显示为负相关关系，并且伸长率随H_2O_2浓度增加显著降低。尽管只有少量的H_2O_2存在于组织中，但伸长率的降低也十分显著。

图3反映的是在培养基中增加H_2O_2浓度后穗花狐尾藻的响应。叶片中H_2O_2的浓度轻微降低到0.2 $mmol \cdot L^{-1}$ H_2S，然后随着H_2O_2浓度的升高而增加。Chl-a和类胡萝卜素的浓度图（图4）表明Chl-a与叶片中H_2O_2的负相关关系。类胡萝卜素对叶片中的H_2O_2的响应相对分散。穗

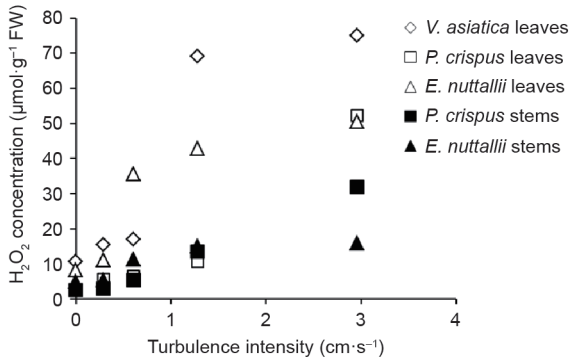

图1. 苦草、菹草和伊乐藻的H_2O_2浓度随湍流强度变化关系。菹草和伊乐藻的数据为叶片和茎数据，苦草数据为叶片数据。

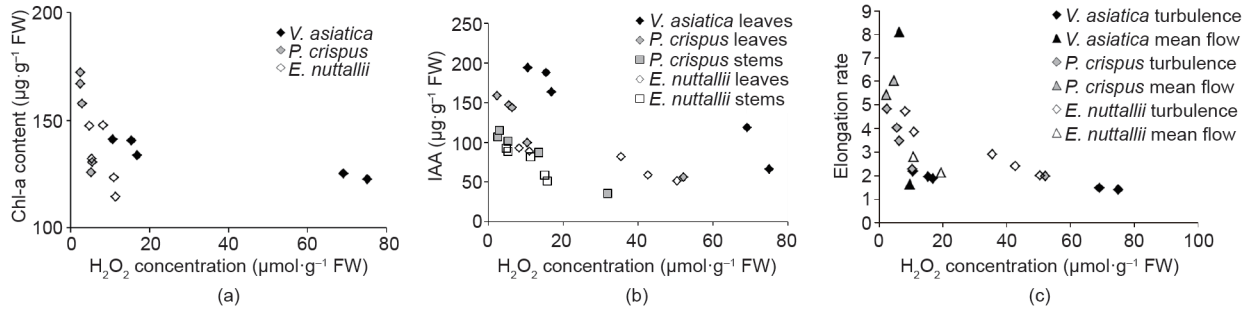

图2.（a）苦草、菹草和伊乐藻的Chl-a随植物的H_2O_2浓度变化关系；（b）苦草和伊乐藻叶片和茎中的IAA与H_2O_2含量的关系（苦草只有叶片数据）；（c）苦草、菹草和伊乐藻的植物延伸率（终株长/初始株长）在湍流和平均流速条件下与H_2O_2含量的关系。

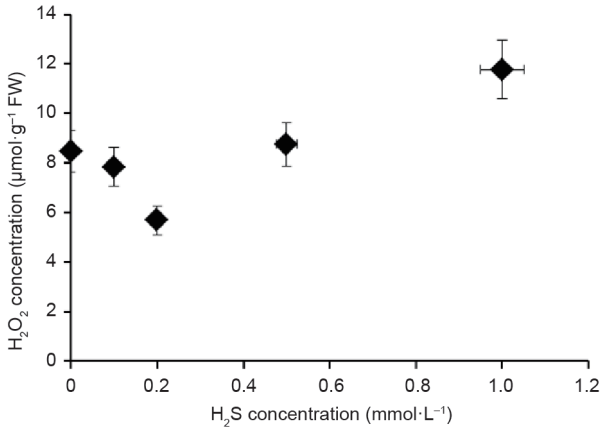

图3. 穗花狐尾藻在不同H_2S浓度培养基中的叶片H_2O_2含量。误差棒代表标准差。

花狐尾藻的生长率不受植物组织中的H_2O_2含量的影响，尤其是H_2O_2含量高于8.0 μg·g^{-1} FW[图4（b）]时。

3.2. 海河观测

图5表明眼子菜叶片中的H_2O_2浓度与约20 cm深处的树冠光通量强度有关。H_2O_2浓度一直很低，直到200~300 μmol·m^{-2}·s^{-1} PPFD，之后随着PPFD升高而升高。图6说明了眼子菜的生物量分布与水深的关系。在1.2 m水深处生物量达到最大值，在更深和更浅的地方生物量均有所下降。特别值得注意的是，在不足0.3 m水深处生物量为0。

图5中的数据包括正午时不同深度和湖底正上方50 cm的PPFD值。湖中的光强度用消光系数（0.025 cm^{-1}）估算。水面处的PPFD值设定为1100 μmol·m^{-2}·s^{-1}，约为生长季的最大值。

3.3. 河流观测

在沙巴河和伊诺河，历史数据显示2016年6月水温维持在（19±1）℃，2016年9月在24±0.5 ℃。总氮（TN）和总磷（TP）分别为0.3~0.8 mg·L^{-1}和0.01~0.10 mg·L^{-1}，浊度和pH值分别低于100散射浊度（NTU）和6.5~7.5（除去洪水时），此外DO接近饱和。这些参数显示，埃格草处于一个适合生长的环境[17]。这几条河的典型景观如图7所示。在浅于40 cm深的位置不存在大型植物生长区；大型植物在约1 m深处增多；在深于1.5 m深处减少。

水深度80%处光照实验和30 min黑暗实验观测条件下的湍流强度（均方根流速）与大型植物H_2O_2浓度的关系如图8所示。随着湍流强度增加，黑暗处理过的植物的H_2O_2浓度与湍流强度呈同比例增加。与黑暗实验处理过的样品相比，光照条件下的大型植物在同一湍流水平

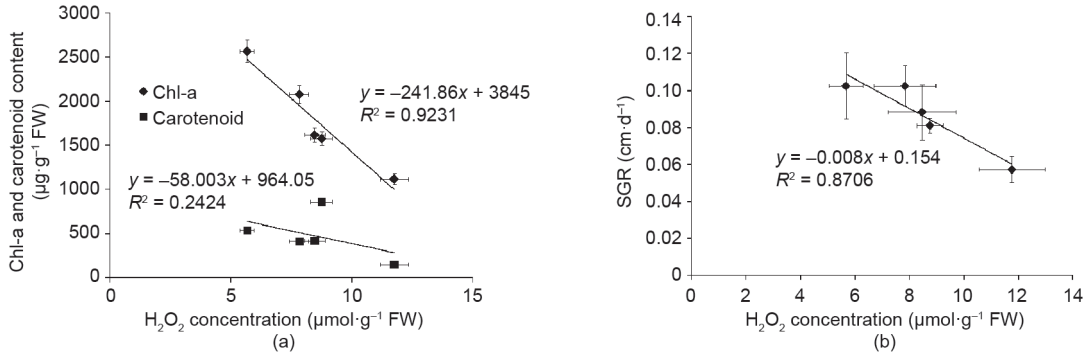

图4. 穗花狐尾藻中（a）Chl-a和类胡萝卜素的含量与H_2O_2浓度的关系；（b）生长率（SGR）与H_2O_2含量的关系。误差棒代表标准差。

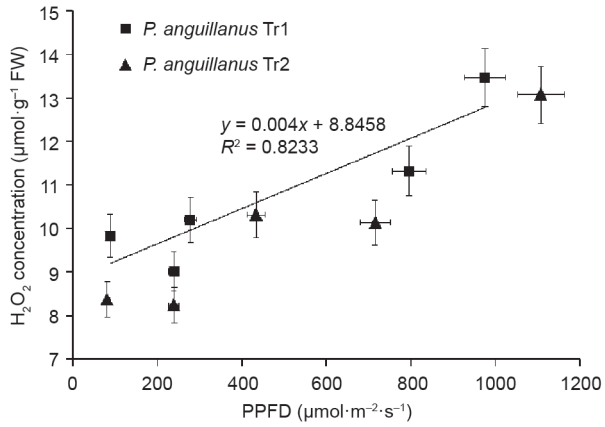

图5. 眼子菜顶端树冠的H_2O_2浓度与PPFD的关系。

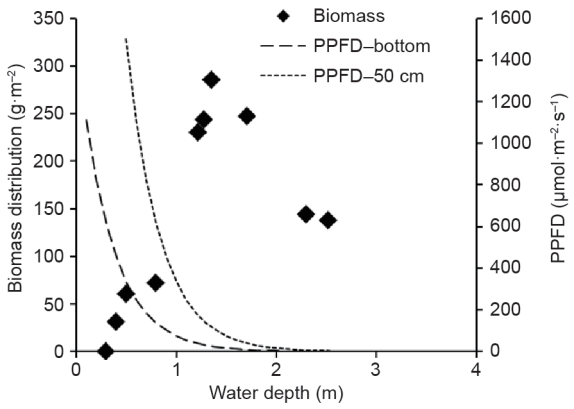

图6. 真嗣湖的植物生物量中眼子菜的生物量（干重）和垂直剖面上PPDF分布。在生物量图例中，“PPFD-bottom”和“PPFD-50 cm”分别代表芦苇的生物量在河底部和高于河底部50 cm处估算的PPFD。

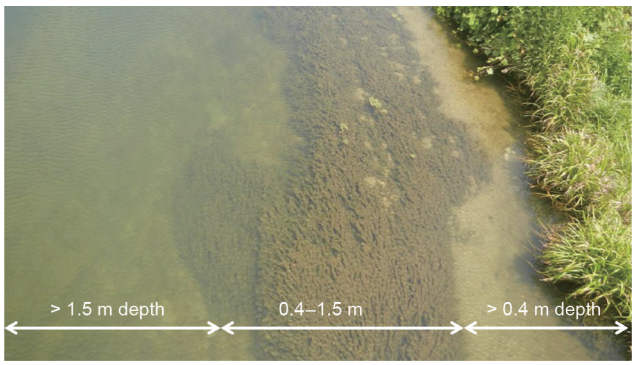

图7. 河中生物量分布。大型植物存在于0.4~1.5 m深处，而在更深或更浅处不存在。

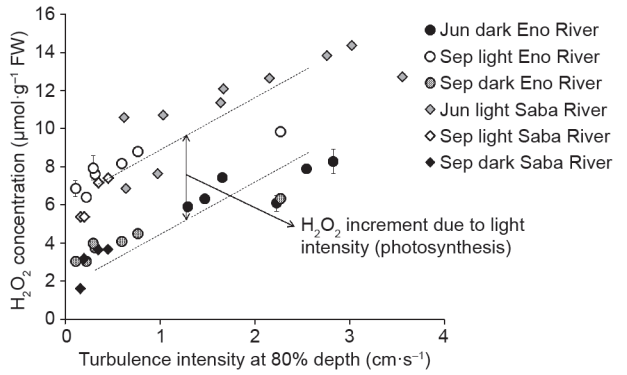

图8. 6~9月伊诺河和沙巴河水深度80%处沉水植物中H_2O_2对不同湍流强度的响应。“light”和“dark”分别代表光照样品和30 min黑暗处理样品。虚线三角形代表与湍流相关的H_2O_2增量。

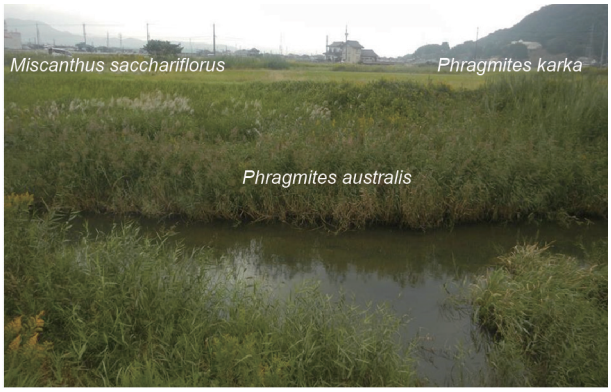

图9. 日本海河的3种草本植物分布情况。

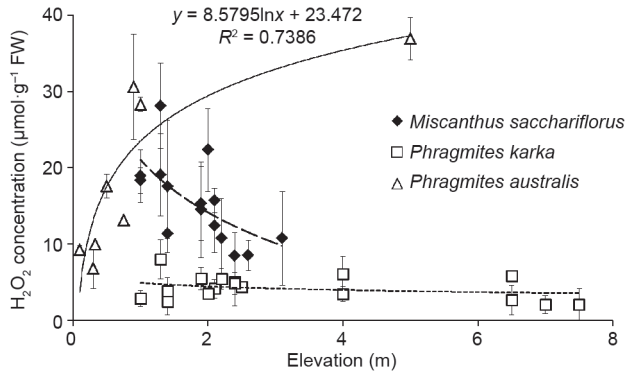

图10. 海河中从水平面到不同高度分布的3种草本植物的H_2O_2响应情况。对数趋势的渐近线、虚线和点状线分别代表芦苇、南荻和卡开芦。误差棒代表标准差。

下每一时段都有更高的H_2O_2浓度。尽管随着湍流流速增加，误差也增加，但是H_2O_2在黑暗实验条件下和光照条件下随湍流强度变化的增加率相等。

图9说明了3种主要的草本植物（芦苇、南荻和卡开芦）的分布。芦苇分布在高度低于1 m的近水处，南荻分布在更高处。卡开芦分布在水平面至高于水平面4 m处。湿度相对较高时，芦苇的H_2O_2浓度在低处较低，而随位置的升高而快速地增加，变化范围为0~1 m。相反的，2 m以下的南荻的H_2O_2浓度一直很高，但在更高处逐渐减少。卡开芦的H_2O_2浓度保持恒定，与高度无关(图10)。光照和黑暗实验条件下，植物组织H_2O_2的浓度无差异。

海河的岸边区域最初主要分布着草本植物。近期，木本植物（尤其是白皮柳和胡桃楸）的数量在增加。通常，白皮柳生长在水边，胡桃楸生长在稍高处（通常水

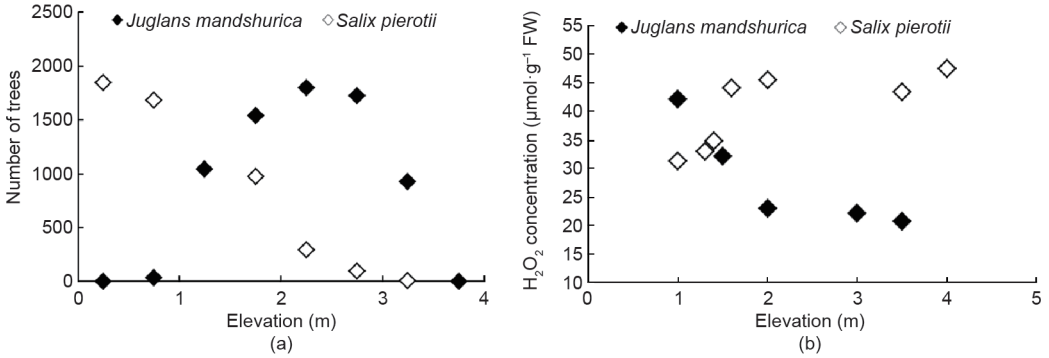

图11.（a）海河两种木本植物的分布（树的数量）随所处位置高度（从水平面开始）的变化情况；（b）海河两种木本植物的H_2O_2含量分布随所处位置高度（从水平面开始）的变化情况。

位上约2 m处）。观测区两种植物植株和叶片的H_2O_2浓度分别如图11（a）和（b）所示。随着所处位置升高，沙柳的个体数量减少，并且不能在高于3 m处生长，但H_2O_2含量正好相反。水平面以上1 m处无胡桃楸生长；高于1 m时植物数量增加，在2 m处达到最大值。胡桃楸的H_2O_2含量随着所处位置高度的上升而减少。

4. 讨论

4.1. H_2O_2 作为环境胁迫指标

平均流速和湍流是两个影响水生植物状况的基本指标。平均流速相对稳定且具有单向性。湍流的瞬时流速在大小和方向上随时间变化产生偏差和波动。机械胁迫实验的结果显示，与恒定流速和静水中的植物相比，湍流中植物的H_2O_2浓度和抗氧化酶活性变化更明显。当大型植物处在振荡流中时，细胞和细胞壁会发生形态变化[18]。随着湍流增强，植物生长、细胞质壁分离、淀粉颗粒的积累减少[18]，但淀粉颗粒的大小随湍流强度增大而增加。另外，机械胁迫引起的湍流会导致伊乐藻抗坏血酸盐、γ-氨基丁酸（GABA）和天冬酰胺（Asn）的积累，以及代谢途径[特别是异柠檬酸-草酸、组氨酸（Glu-His）、Glu-GABA、抗坏血酸-草酸和天冬氨酸-天冬酰胺（Asp-Asn）过程]的改变。湍流通常与大于通过雷诺数算出的垂直流速的平均流速有关，所以很难确定引起胁迫的是平均流速还是湍流。微观结果清晰地显示，湍流的强度是大型植物的主要胁迫。

另一个影响水生物状态的驱动力是H_2S。在最适生长环境中，H_2S在水生态系统的生物、物理和化学过程中都起到重要的作用。有研究表明，低浓度的H_2S可以促进植物的生长[19]。然而，生物化学过程如微生物有机质的降解和水淹、低氧土壤条件下的异化硫酸钠的减少等都会产生过量的H_2S[20,21]。高浓度的H_2S对包括大型植物在内的许多水生有机体具有毒性，影响其生理学特征，并因此产生胁迫[20–23]。H_2S影响的实验结果显示，高浓度的H_2S暴露引发更严重的氧化胁迫，并使植物生长减缓[10]。另外，水环境中高浓度的H_2S通过增加氧气需求率并创造无氧环境来消耗水中的DO。无氧环境会影响植物营养物质的吸收以及光合作用和新陈代谢过程[24,25]。

植物组织中H_2O_2浓度的增加会损伤细胞，改变植物的生长和生理特征[2,26]。尽管植物具有天然免疫机制ROS清除系统[5]，但H_2O_2连续的产生和积累将最终导致细胞器的损伤，从而降低植物的生长率，同时也降低植物与其他植物争夺栖息地的竞争力[27]。

多种环境驱动力（如湍流、低氧和H_2S）是对水生植物生长和分布不利的物理和生物化学过程。这些因子同时也引起了植物对生物化学胁迫的响应。这些生物化学特征（特别是ROS）被广泛用作评估植物对于不同的生物、非生物源的压力响应的指标。在这些ROS中，H_2O_2最稳定，并且相对容易测定。

4.2. 太阳光辐射的影响

野外调查结果显示受阳光照射的样品比黑暗实验处理的样品H_2O_2浓度更高。这是因为光和复合体在光合作用中有大量的ROS生成。ROS的积累会产生更高的PPFD值，导致系统细胞器损伤，降低光合作用和减缓生长。与陆生植物（进化为可以在强太阳辐射下生长的植物）相反，大型沉水植物对于强太阳辐射的耐受性很低。

在大型植物生长的旺季，较少的太阳照射被认为是限制大型植物在湖和河区域中定植的主要因素[28]。但

是现在的结果表明，强光照也是抑制大型植物在水分充足地区生长的因素。在浅水地区中，底部出现的高光强度会抑制大型植物的定植。超过1.5 m深的清水深水位地区底部的光强度不高，为大型植物提供了更适合的生长环境。光强在200~300 μmol·m^{-2}·s^{-1} PPFD时，处于中等水深的大型植物生物量增加。另外，在河流的中等水深（如1 m），大型植物生长得更高，原因在于太阳辐射对大型植物造成的胁迫与流速相当，甚至更高。

4.3. 对竞争物种的影响

芦苇和南荻是日本河流岸边带的两个主要物种，它们广泛生长于河岸带，本研究比较两种植物后发现，芦苇占据更接近水的区域，而南荻占据更高的区域[29–31]。现有研究从叶片中测定的H_2O_2浓度恰好符合这个特点：芦苇生长在低地的低处和高地的高处，南荻生长在低地的高处和高地的低处。由于体型较大，卡开芦通常在生境中独立生长，H_2O_2浓度和高度之间尚不明确的关系与芦苇在河岸边的广泛分布特征一致。相反地，白皮柳和胡桃楸都是海河常见的物种[30]。但是它们的栖息地被隔离，白皮柳生长在近水地，胡桃楸生长在高地。这个特点清晰反映了它们的H_2O_2的分布。

这些结果说明了H_2O_2浓度作为环境胁迫梯度的指标应用于识别栖息地优势植物种的适用性。

4.4. 植被管理中的应用

常用的植被管理方法是基于适应性的方法。重复使用几种类型的处理方法后，在每次处理过程中，确定和实施合适的处理之前，要对管理区域植被的生长、茂盛或消亡进行长时间的监测。这些方法需要长期的监测和巨大的成本。在濒危物种恢复过程中，往往需要很长时间才能成功地恢复目标物种。

收割是杂草管理的主要方法，但耗费人力。在已知对物种不利的条件下，可以采用不费人力的除草方法。本研究提出了一种利用取样和化学分析等相对简单的方法对植物环境条件进行快速监测的系统。此外，该方法还量化了总环境胁迫对管理计划的影响，同时也可以用来识别实际情况中的主要胁迫源。

5. 结论

实验室结果和野外数据表明，H_2O_2浓度和环境胁迫梯度之间存在一定的相关性，尤其是受到湍流和H_2S的影响时，相关性更加明显。不同胁迫源的作用效果可以利用H_2O_2浓度和胁迫梯度的关系被精确地区分。因此，生物化学胁迫响应可能成为潜在的证据和指标来识别植物的胁迫源。未来实验将提供进一步的数据，证明H_2O_2在不同环境下表征植物生长状况的可行性。

Acknowledgements

This work was financially supported by grant-in-aid from Japan Society for the Promotion of Science, Scientific Research (15H04045), Development Grant for River Management Technology from the Ministry of Land, Infrastructure, Transportation and Tourism, Japan, and River Found from River Foundation of Japan.

Compliance with ethics guidelines

Takashi Asaeda, Senavirathna Mudalige Don Hiranya Jayasanka, Li-Ping Xia, and Abner Barnuevo declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

References

[1] Asada K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. Plant Physiol 2006;141(2):391–6.
[2] Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. J Bot 2012;2012:1–26.
[3] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci 2002;7(9):405–10.
[4] Foyer CH, Shigeoka S. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. Plant Physiol 2011;155(1):93–100.
[5] Suzuki N, Koussevitzky S, Mittler R, Miller G. ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. Plant Cell Environ 2012;35 (2):259–70.
[6] Ellawala C, Asaeda T, Kawamura K. Influence of flow turbulence on growth and indole acetic acid and H_2O_2 metabolism of three aquatic macrophyte species. Aquat Ecol 2011;45(3):417–26.
[7] Ellawala C, Asaeda T, Kawamura K. The effect of flow turbulence on growth, nutrient uptake and stable carbon and nitrogen isotope signatures in Chara fibrosa. Ann Limnol Int J Lim 2012;48(3):349–54.
[8] Cline JD. Spectrophotometric determination of hydrogen sulfide in natural waters. Limnol Oceanogr 1969;14(3):454–8.
[9] Napoli AM, Mason-Plunkett J, Valente J, Sucov A. Full recovery of two simultaneous cases of hydrogen sulfide toxicity. Hosp Physician 2006;42:47–50.
[10] Parveen M, Asaeda T, Rashid MH. Hydrogen sulfide induced growth, photosynthesis and biochemical responses in three submerged macrophytes. Flora 2017;230:1–11.
[11] Parveen M, Asaeda T, Rashid MH. Biochemical adaptations of four submerged macrophytes under combined exposure to hypoxia and hydrogen sulphide. PLoS One 2017;12(8):e0182691.
[12] Atapaththu KSS, Asaeda T, Yamamuro M, Kamiya H. Effects of water turbulence on plant, sediment and water quality in reed (*Phragmites australis*) community. Ekologia (Bratisl) 2017;36(1):1–9.
[13] River environmental database [Internet]. Tokyo: Ministry of Land, Infrastructure, Transportation and Tourism, Inc.; c2007 [updated 2018 May 24; cited 2017 Oct 8]. Available from: http://mizukoku.nilim.go.jp/ksnkankyo/

03/index.htm.
[14] Porra RJ, Thompson WA, Kriedemann PE. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. BBABIO 1989;975:384–94.
[15] Jana S, Choudhuri MA. Glycolate metabolism of three submersed aquatic angiosperms during ageing. Aquat Bot 1982;12:345–54.
[16] Gordon SA, Weber RP. Colorimetric estimation of inodoleacetic acid. Plant Physiol 1951;26(1):192–5.
[17] Chalanika De Silva HC, Asaeda T. Stress response and tolerance of the submerged macrophyte *Elodea nuttallii* (Planch.) St. John to heat stress: a comparative study of shock heat stress and gradual heat stress. Plant Biosyst 2018;152(4):787–94.
[18] Atapaththu KSS, Miyagi A, Atsuzawa K, Kaneko Y, Kawai-Yamada M, Asaeda T. Effects of water turbulence on variations in cell ultrastructure and metabolism of amino acids in the submersed macrophyte, *Elodea nuttallii* (Planch.) H. St. John. Plant Biol 2015;17(5):997–1004.
[19] Dooley FD, Nair SP, Ward PD. Increased growth and germination success in plants following hydrogen sulfide administration. PLoS One 2013;8(4):e62048.
[20] Hou Z, Wang L, Liu J, Hou L, Liu X. Hydrogen sulfide regulates ethylene-induced stomatal closure in Arabidopsis thaliana. J Integr Plant Biol 2013;55(3):277–89.
[21] Geurts JJM, Sarneel JM, Willers BJC, Roelofs JGM, Verhoeven JTA, Lamers LPM. Interacting effects of sulphate pollution, sulphide toxicity and eutrophication on vegetation development in fens: a mesocosm experiment. Environ Pollut 2009;157(7):2072–81.
[22] Lisjak M, Teklic T, Wilson ID, Whiteman M, Hancock JT. Hydrogen sulfide: environmental factor or signalling molecule? Plant Cell Environ 2013;36 (9):1607–16.
[23] Wu J, Cheng S, Liang W, He F, Wu Z. Effects of sediment anoxia and light on turion germination and early growth of *Potamogeton crispus*. Hydrobiologia 2009;628(1):111–9.
[24] King GM, Klug MJ, Wiegert RG, Chalmers A. Relation of soil water movement and sulfide concentration to *Spartina alterniflora* production in a Georgia salt marsh. Science 1982;218(4567):61–3.
[25] Holmer M, Frederiksen MS, Møllegaard H. Sulfur accumulation in eelgrass (*Zostera marina*) and effect of sulfur on eelgrass growth. Aquat Bot 2005;81 (4):367–79.
[26] Cheeseman JM. Hydrogen peroxide and plant stress: a challenging relationship. Plant Stress 2007;1:4–15.
[27] Chalanika De Silva HC, Asaeda T. Effects of heat stress on growth, photosynthetic pigments, oxidative damage and competitive capacity of three submerged macrophytes. J Plant Interact 2017;12(1):228–36.
[28] Bunt J. Light and photosynthesis in aquatic ecosystems. Aquat Bot 1995;50 (1):111–2.
[29] Asaeda T, Siong K, Kawashima T, Sakamoto K. Growth of *Phragmites japonica* on a sandbar of regulated river: morphological adaptation of the plant to low water and nutrient availability in the substrate. River Res Appl 2009;25 (7):874–91.
[30] Sanjaya K, Asaeda T. Assessing the performance of a riparian vegetation model in a river with a low slope and fine sediment. Environ Technol 2017;38 (5):517–28.
[31] Asaeda T, Sanjaya K. The effect of the shortage of gravel sediment in midstream river channels on riparian vegetation cover. River Res Appl 2017;33(7):1107–18.