

3种沉水植物对5种富营养化藻类生长的化感效应

汤仲恩¹, 种云霄¹, 吴启堂¹, 李玲玲², 朱文玲¹

(1 华南农业大学 资源环境学院 环境科学与工程系, 广东 广州 510642; 2 衡水市环保研究所, 河北 衡水 053000)

摘要:通过连续滴加培养液的方式研究了狐尾藻 *Myriophyllum spicatum*、马来眼子菜 *Potamogeton malaiianus*、苦草 *Vallisneria asiatica* 3种沉水植物对5种富营养化淡水藻类:衣藻 *Chlamy domonas sajabo*、铜绿微囊藻 *Microcystis aeruginosa*、纤细席藻 *Phormidium tenue*、四尾栅藻 *Scenedesmus quaclricauda*、小球藻 *Chlorella pyrenoidosa* 的化感效应. 研究表明:(1) 马来眼子菜培养液对铜绿微囊藻、小球藻、衣藻和四尾栅藻的生长都具有明显的抑制作用,但对纤细席藻生长没有影响;(2) 苦草培养液对小球藻、衣藻和纤细席藻的生长都具有明显的抑制作用,对四尾栅藻生长具有促进作用,对铜绿微囊藻生长没有影响;(3) 狐尾藻培养液对小球藻、衣藻的生长都具有明显的抑制作用,对铜绿微囊藻生长具有促进作用,对四尾栅藻、纤细席藻生长没有影响.

关键词:沉水植物; 富营养化; 藻类; 化感作用

中图分类号:X173

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2007)04-0042-05

Allelopathic Effects of Three Submerged Macrophytes on Five Eutrophic Algae

TANG Zhong-en¹, CHONG Yun-xiao¹, WU Qi-tang¹, LI Ling-ling², ZHU Wen-ling¹

(1 Department of Environment Science and Engineering, College of Resources
and Environment, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;
2 Hengshui Environmental Protection Institute, Hengshui 053000, China)

Abstract: Allelopathic effects of three submerged macrophytes, *Myriophyllum spicatum*, *Potamogeton malaiianus*, *Vallisneria asiatica* on five eutrophic algae *Chlamy domonas sajabo*, *Microcystis aeruginosa*, *Phormidium tenue*, *Scenedesmus quaclricauda* and *Chlorella pyrenoidosa* were investigated. The results indicated that, (1) The culture solution of *Potamogeton malaiianus* inhibited the growth of *Microcystis aeruginosa*, *Chlamy domonas sajabo*, *Scenedesmus quaclricauda* and *Chlorella pyrenoidosa*, and had no effect on *Phormidium tenue*; (2) The culture solution of *Vallisneria asiatica* inhibited the growth of *Chlamy domonas sajabo*, *Phormidium tenue* and *Chlorella pyrenoidosa*, accelerated the growth of *Scenedesmus quaclricauda* and had no effect on *Microcystis aeruginosa*; (3) The culture solution of *Myriophyllum spicatum* inhibited the growth of *Chlamy domonas sajabo* and *Chlorella pyrenoidosa*, accelerated the growth of *Microcystis aeruginosa*, and had no effect on *Phormidium tenue* and *Scenedesmus quaclricauda*.

Key words: submerged macrophytes; eutrophication; algae; allelopathy

目前在我国,许多淡水水体的富营养化都导致蓝绿藻类出现爆发性生长,即“水华”,严重危害了水生生态系统健康以及水体的正常使用功能. 如何有效控制藻类生长,改善富营养化水体的水质,并维持

健康的水生生态系统是迫切需要研究解决的水环境问题. 研究发现,一些种类大型沉水植物的存在对“水华”藻类生长具有抑制作用,其主要机制是沉水植物可以向水中分泌具有抑制藻类生长的化感物

收稿日期:2007-04-11

作者简介:汤仲恩(1982—),男,硕士研究生; 通讯作者:种云霄(1974—),女,讲师,博士,E-mail: cyx04@scau.edu.cn

基金项目:华南农业大学校长基金(4200-K05050);华南农业大学资源环境学院院长基金

质^[1-2],因此利用沉水植物来控制富营养化水体的藻类爆发,改善富营养化水体水环境质量正在成为生态抑藻研究的热点^[3-4].本文选择华南地区几种常见的沉水植物,研究了它们的培养液对5种蓝绿藻生长的抑制作用,希望为沉水植物治理水体富营养化的应用提供依据.

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 沉水植物 狐尾藻 *Myriophyllum spicatum*、马来眼子菜 *Potamogeton malaianus*、苦草 *Vallisneria asiatica* 采自广州市郊河流水塘等水体,采回后在华南农业大学资源环境学院日光温室内的玻璃缸中分别扩大培养.

1.1.2 藻类的获得与培养 5种淡水藻类分别是蓝藻:铜绿微囊藻 *Microcystis aeruginosa* 和纤细席藻 *Phormidium tenue*,绿藻:衣藻 *Chlamydomonas sajabo*、四尾栅藻 *Scenedesmus quaetricauda* 和小球藻 *Chlorella pyrenoidosa*,购于中国科学院武汉水生生物研究所淡水藻种库.这5种藻类是许多富营养化淡水水体藻类“水华”的常见藻类,特别是华南地区.购回后每隔一段时间采用 Hoagland(1×)营养液进行转接纯培养,以便保持藻种具有较高的活力.试验前1周,5种藻种采用 Hoagland(1×)营养液于 GXZ 智能型光照培养箱中(白天温度 30℃、光强 5 000 lx,晚上温度 25℃、光强 2 000 lx)进行预培养 7 d.

1.1.3 沉水植物培养液的获得 于 3 L 大烧杯中加入 2.5 L Hoagland(0.25×)营养液,放入生长良好(根、茎、叶完好,叶色正常)的水草 25 g(达到生物浓度为 10 g/L 营养液的水平),置于日光温室内培养 7 d,试验期间的温度 13.9~26.9℃、光强 3 830~25 600 lx.水草放入前经蒸馏水清洗 3 次,每次 10 min,去除植株上携带的泥沙等杂质.培养液取出后经 0.22 μm 的微滤膜抽滤处理,滤掉可能带入的原生动物及微生物等.滤液放入低温冰箱 0~4℃ 保存备用.

1.2 方法

1.2.1 藻液培养 于 DL-CJ-2ND 医用型洁净工作台上,5种预培养好的纯藻液分别各取 5 mL 接入盛有 300 mL Hoagland(1×)营养液的 1 000 mL 锥形瓶中,然后分别滴加入 3 种水草培养液 20 mL 混匀进行培养,每种组合设置 3 个重复,每种藻类分别滴加 20 mL Hoagland(1×)营养液取代水草培养液作为对照.并于当天测定各种藻细胞的密度的背景值.然后置于日光温室内自然光照培养.试验间培养条件:温度 13.9~26.9℃、光照 3 830~25 600 lx.培

养过程中每 2 d 取 10 mL 藻液测定其藻细胞密度,随后添加新的培养液 20 mL,一共进行 7 次滴加,前后共 19 d.

1.2.2 藻细胞密度测定 用 UV-754 型分光光度计测定波长为 650 nm 下的 D 值,测定前手动迅速摇匀锥形瓶内藻液,再取 10 mL 于试管中用低频漩涡振荡器震荡 2 min 令藻细胞分布均匀,然后进行测定.

1.2.3 藻类相对生长速率的计算 藻细胞生物量增加以相对生长率(relative growth rate, RGR)来衡量,按下式计算^[5]:

$$RGR = (\ln N_2 - \ln N_1) / t,$$

式中, N_2 表示试验结束时的藻细胞的个数; N_1 表示试验开始时的藻细胞个数; t 为试验进行时间(单位:d). $RGR < 0$ 时,表明藻液已受到抑制并逐渐死亡; $RGR \geq 0$ 时,表明所设置条件藻液可以生长耐受.

藻细胞个数与 $D_{650\text{ nm}}$ 的转换关系如下:试验开始的同时,以相同初始条件开始接种纯培养 5 种藻液,在相同的环境条件培养下,每隔 2 d 用 UV-754 型分光光度计测定藻细胞的 $D_{650\text{ nm}}$,与此同时利用微生物血球计数直板计数法测量对应 $D_{650\text{ nm}}$ 的藻细胞个数,然后根据 $D_{650\text{ nm}}$ 与对应的藻细胞个数关系作出标准曲线方程.

1.2.4 统计分析 每种藻滴加 3 种培养液的相对生长率分别与空白对照之间的差异采用 t 检验进行统计显著性分析,分析采用 SAS 软件 8.1 版本.

2 结果与分析

2.1 5种藻类的标准曲线方程

5种藻类的 $D_{650\text{ nm}}$ 与对应细胞个数的标准曲线方程见表 1.从表 1 可以看出,标准曲线方程的相关系数都比较接近 1,这说明用血球计数直板计数法数出来的藻细胞个数与之相对应的 $D_{650\text{ nm}}$ 值具有很好的线性关系,这也说明采用分光光度法来衡量藻细胞的生长情况是具有较高可信度的.

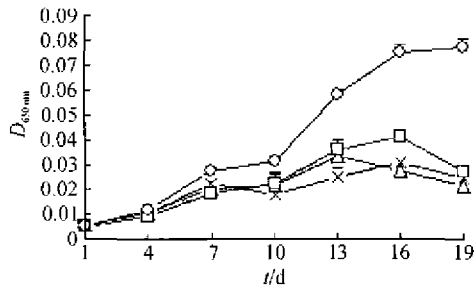
2.2 3种培养液对小球藻生长速率影响

图 1 是小球藻在滴加狐尾藻、马来眼子菜、苦草 3 种植物培养液时的生长曲线.由图 1 可以看出,小球藻在滴加 3 种培养液时生物量随时间而增长的趋势与空白对照相同,但增长速率明显低于空白对照.并且滴加 3 种培养液的小球藻生长曲线在试验期间都有一个共同点,就是生长曲线都有一个最高点,然后开始下降,最终达到基本一致的生物量,其中滴加狐尾藻与苦草培养液的生长曲线峰值出现在试验第 16 d,而马来眼子菜的出现在试验第 13 d,而对照一直到试验结束,生物量仍有增长趋势.

表1 5种藻类 $D_{650\text{ nm}}$ 与对应细胞个数的标准曲线方程¹⁾Tab.1 Standard curve equations between $D_{650\text{ nm}}$ of five algae and the corresponding cell quantity

藻类 algae	编号 no.	标准曲线方程 ¹⁾ standard curve equations	相关 系数(R^2)
小球藻 <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	9	$y = 0.0084x + 0.0038$	0.9936
四尾栅藻 <i>Scenedesmus quaclricauda</i>	45	$y = 0.0054x + 0.0018$	0.9996
铜绿微囊藻 <i>Microcystis aeruginosa</i>	315	$y = 0.0062x + 0.0051$	0.9986
衣藻 <i>Chlamy domonas saiao</i>	726	$y = 0.0032x + 0.0027$	0.9972
纤细席藻 <i>Phormidium tenue</i>	886	$y = 0.0047x + 0.0018$	0.9995

1) $y: D_{650\text{ nm}}$; x : 细胞个数, 为了计算方便细胞个数统一省略了 10^4 的数量级



—x—狐尾藻 *Myriophyllum spicatum*; —△—马来眼子菜 *Potamogeton malaiianus*; —□—苦草 *Vallasneria asiatica*; —◇—空白 control

图1 小球藻在滴加3种沉水植物培养液时的生长曲线

Fig.1 Growth curve of *Chlorella pyrenoidosa* cultivated in culture solution of three submerged macrophytes

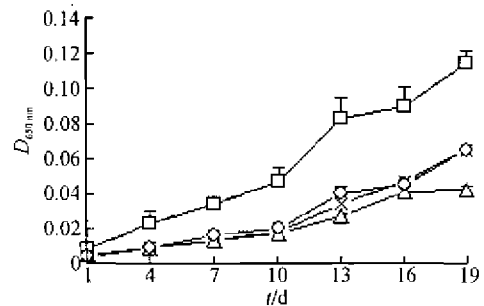
统计分析结果表明,小球藻在滴加3种沉水植物培养液的相对生长率与空白之间的差异均具有统计学意义(其中 t 检验值狐尾藻 15.57, 马来眼子菜 5.37, 苦草 6.76)。表明狐尾藻、马来眼子菜、苦草3种沉水植物的培养液对小球藻的生长均具有显著的抑制作用。

2.3 3种培养液对四尾栅藻生长速率影响

图2是四尾栅藻在滴加狐尾藻、马来眼子菜、苦草3种植物培养液时的生长曲线。由图2可以看出,与不滴加培养液的空白相同,四尾栅藻在滴加3种培养液时生物量同样呈现随时间而增长的趋势。其中,四尾栅藻在滴加苦草培养液时的生物量增长速率要高于对照和另外2种培养液,而滴加另外2种培养液与空白对照的生长速率则较为接近。在试验结束时,四尾栅藻在滴加马来眼子菜培养液生物量趋于平缓,而在其他2种处理与空白对照中都有继续增长的趋势。

统计分析结果表明,四尾栅藻的相对生长率在滴加马来眼子菜培养液和苦草培养液与空白之间具有统计学差异(t 检验值马来眼子菜 6.29, 苦草 16.52);在滴加狐尾藻培养液与空白之间没有统计学差异(t 检验值 0.27)。表明狐尾藻培养液对四尾栅藻的生长没有明显影响;马来眼子菜培养液对四尾栅藻的生长具有显著抑制作用;苦草培养液对四尾

栅藻的生长具有显著的促进作用。



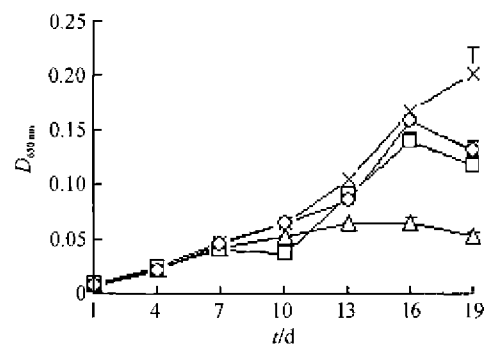
—x—狐尾藻 *Myriophyllum spicatum*; —△—马来眼子菜 *Potamogeton malaiianus*; —□—苦草 *Vallasneria asiatica*; —◇—空白 control

图2 四尾栅藻在滴加3种沉水植物培养液时的生长曲线

Fig.2 Growth curve of *Scenedesmus quaclricauda* cultivated in culture solution of three submerged macrophytes

2.4 3种培养液对铜绿微囊藻生长速率影响

图3是铜绿微囊藻在滴加狐尾藻、马来眼子菜、苦草3种植物培养液时的生长曲线。由图3可以看出,铜绿微囊藻生长在滴加苦草和马来眼子菜培养液都有一个最高点,分别出现在第16和13 d;而滴加狐尾藻培养液直到试验结束还有增长趋势;空白对照与滴加苦草培养液的生长曲线较为相似,而滴加马来眼子菜培养液的生长曲线则较为平缓,生物量维持在比较低的水平。



—x—狐尾藻 *Myriophyllum spicatum*; —△—马来眼子菜 *Potamogeton malaiianus*; —□—苦草 *Vallasneria asiatica*; —◇—空白 control

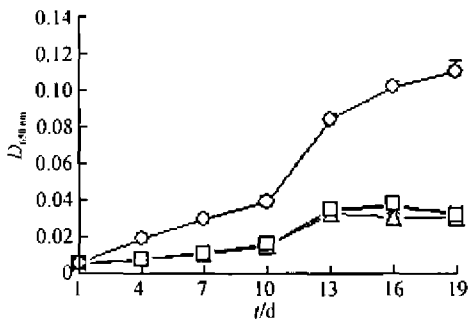
图3 铜绿微囊藻在滴加3种沉水植物培养液时的生长曲线

Fig.3 Growth curve of *Microcystis aeruginosa* cultivated in culture solution of three submerged macrophytes

统计分析结果表明,铜绿微囊藻的相对增长率在滴加狐尾藻和苦草培养液与空白之间没有显著性差异(t 检验值狐尾藻 1.23,苦草 1.03),在滴加马来眼子菜培养液与空白之间具有显著性差异(t 检验值 4.59)。表明狐尾藻和苦草培养液对铜绿微囊藻的生长没有明显影响,马来眼子菜培养液对铜绿微囊藻的生长具有显著性抑制作用。

2.5 3种培养液对衣藻生长速率影响

图4是衣藻在滴加狐尾藻、马来眼子菜、苦草3种植物培养液时的生长曲线。由图4可以看出,与不滴加培养液的空白相同,衣藻在滴加3种培养液时生物量同样呈现随时间而增长的趋势,但增长速率明显低于对照。并且滴加3种培养液的衣藻生长曲线在试验期间都有一个共同点,就是生长曲线都有一个最高点,然后开始下降,最终达到基本一致的生物量,其中滴加狐尾藻与苦草培养液的生长曲线峰值出现在试验第16d,而马来眼子菜的出现在试验第13d,而对照一直到试验结束,生物量仍有增长趋势。



—◇—空白 control; —×—狐尾藻 *Myriophyllum spicatum*; —△—马来眼子菜 *Potamogeton malaianus*; —□—苦草 *Vallisneria asiatica*

图4 衣藻在滴加3种沉水植物培养液时的生长曲线
Fig.4 Growth curve of *Chlamy domonas sajabo* cultivated in culture solution of three submerged macrophytes

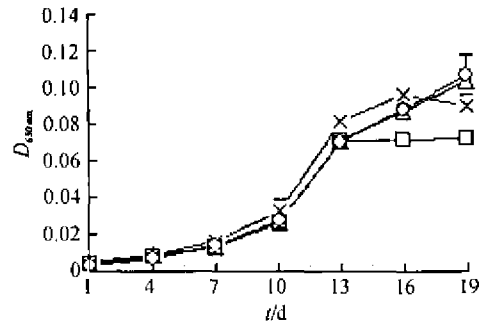
统计分析结果表明,衣藻的相对增长率在滴加3种沉水植物培养液与空白之间的差异均具有统计学意义(t 检验值狐尾藻 4.32,马来眼子菜 7.42,苦草 7.31)。表明狐尾藻、马来眼子菜、苦草3种沉水植物的培养液对衣藻的生长均呈现出显著的抑制作用。

2.6 3种培养液对纤细席藻生长速率影响

图5是纤细席藻在滴加狐尾藻、马来眼子菜、苦草3种植物培养液时的生长曲线。由图5可以看出,滴加马来眼子菜培养液与空白对照的纤细席藻生长曲线基本一致,试验期间都是处于持续上升趋势;在试验的前13d,滴加苦草培养液与空白对照的生长曲线基本一致,之后生物量基本维持在试验第13d的水平;在试验的前16d,滴加狐尾藻培养液也与空

白对照的生长曲线比较接近,而且在试验第16d出现生长最高点,之后稍有下降。

统计分析结果表明,纤细席藻的相对增长率在滴加狐尾藻和马来眼子菜培养液与空白之间没有显著性差异(t 检验值狐尾藻 2.33,马来眼子菜 0.82)在滴加苦草培养液与空白之间具有显著性差异(t 检验值 3.38)。表明狐尾藻和马来眼子菜培养液对纤细席藻的生长没有明显影响;苦草培养液对纤细席藻的生长具有显著抑制作用。



—◇—空白 control; —×—狐尾藻 *Myriophyllum spicatum*; —△—马来眼子菜 *Potamogeton malaianus*; —□—苦草 *Vallisneria asiatica*

图5 纤细席藻在滴加3种沉水植物培养液时的生长曲线
Fig.5 Growth curve of *Phormidium tenue* cultivated in culture solution of three submerged macrophytes

3 讨论与结论

3.1 3种沉水植物对铜绿微囊藻的化感作用

由于能够释放出强毒性的藻毒素,蓝藻是许多抑藻研究首先关注的藻类类群,特别是铜绿微囊藻。已有的研究表明,许多大型水生植物种类可以通过向水中分泌化感物质抑制铜绿微囊藻的生长,如凤眼莲、金鱼藻、菖蒲等^[1-2]。从本研究结果来看,3种水草中,马来眼子菜的培养液表现出明显的抑制作用,表明其培养液中可能含有马来眼子菜分泌的能够抑制铜绿微囊藻生长的化感物质;而苦草培养液对铜绿微囊藻生长没有明显影响,鲜启明等^[6-7]的研究表明铜绿微囊藻的生长在滴加苦草培养液与对照基本相同,即没有明显的抑藻作用,但他对新鲜苦草挥发性物质的研究表明其鲜植株的乙醚提取组分对铜绿微囊藻具有较强的抑制作用。可见,苦草植物体自身含有对铜绿微囊藻具有抑制作用的组分,但不能通过向水中分泌起到化感抑制作用。而在本研究中,苦草培养液对另一种蓝藻——纤细席藻表现出了明显的抑制作用,这表明苦草也向水中分泌某些化感物质,但这些物质化感作用具有某种专一性,在本研究表现为只对纤细席藻有作用,对铜绿微囊藻

没有作用。

日本学者 Nakai 等^[8-10]研究表明狐尾藻可通过向水中分泌多种低分子量有机酸以及多酚类物质对铜绿微囊藻产生强烈的抑制作用。在本研究中,对于铜绿微囊藻生长,狐尾藻培养液表现出了明显的促进作用,原因可能在于本研究条件下,狐尾藻培养液中抑藻物质浓度较低,出现化感物质常有的“低促高抑”现象^[1]。

3.2 3种沉水植物对绿藻的化感作用

相对于蓝藻,绿藻是许多抑藻研究较少关注的藻类类群,在有关沉水植物抑藻作用的研究中,针对绿藻抑制作用的报道也还比较少。本研究中,3种沉水植物狐尾藻、马来眼子菜和苦草培养液对所选绿藻的生长呈现出了不同的特性,对小球藻和衣藻,3种植物均呈现出明显的抑制作用,但是对于另一种绿藻——四尾栅藻,只有马来眼子菜表现出了明显的抑制作用,狐尾藻没有影响,而苦草则表现出明显的促进作用。由此表明,这3种植物也能够向水中分泌抑制小球藻和衣藻生长的化感物质,其中马来眼子菜分泌的化感物质对四尾栅藻同样具有抑制作用。

从本研究结果来看,每种沉水植物都对多种藻类包括蓝藻和绿藻呈现出了明显的抑制作用,特别是马来眼子菜,而针对不同藻类所起作用是否为同一种化感物质,抑或是每种藻类均有专一性的化感物质,还有待进一步研究。

3.3 3种沉水植物抑藻特性比较及其应用

本研究选取的3种沉水植物抑藻特性相比较而言,马来眼子菜的抑藻效应更具有广谱性,在富营养

化水体中与蓝绿藻类的竞争更具有优势,可优先考虑作为一些富营养化水体沉水植被恢复的先鋒种。

参考文献:

- [1] 鲜启鸣,陈海东,邹惠仙,等. 淡水水生植物化感作用研究进展[J]. 生态学杂志,2005,24(6):664-669.
- [2] 胡洪营,门玉洁,李锋民. 植物化感作用抑制藻类生长的研究进展[J]. 生态环境,2006,15(1):153-157.
- [3] 金相灿. 湖泊富营养化控制和管理技术[M]. 北京:化学工业出版社,2001:121.
- [4] SCHEFFER M, HOSPER H S, MEIJER M L, et al. Alternative equilibria in shallow lakes [J]. Trends Ecol Environ, 1993,8:275-279.
- [5] HUNT R. Plant growth analysis [M]. London: Edward Arnold, 1978:67.
- [6] 鲜启明,陈海东,邹惠仙,等. 四种沉水植物的克藻效应[J]. 湖泊科学,2005,17(1):75-80.
- [7] 鲜启明,陈海东,邹惠仙,等. 沉水植物中挥发性物质对铜绿微囊藻的化感作用[J]. 生态学报,2006,26(11):3549-3552.
- [8] NAKAI S, INOUE Y, HOSOMI M, et al. Growth inhibition of blue-green algae by allelopathic effects of macrophytes [J]. Water Science and Technology, 1999,39(8):47-53.
- [9] NAKAI S, INOUE Y, HOSOMI M, et al. *Myriophyllum spicatum*-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis aeruginosa* [J]. Water Research, 2000,34(11):3026-3032.
- [10] NAKAI S. Anti-cyanobacterial fatty acids released from *Myriophyllum spicatum* Hydrobiologia [J]. Water Science and Technology, 2005,543(1):71-78.

【责任编辑 周志红】