

# 粉绿狐尾藻 (*Myriophyllum aquaticum*) 对 铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 的化感抑制效应及其生理机制

吴 程, 常学秀\*, 董红娟, 李地福, 刘军燕

(云南大学生命科学学院, 昆明 650091)

**摘要:** 由于生物法, 尤其是水生植物化感控藻方法在治理水体富营养化及水华现象中具有多方面的优势, 近年来该领域的理论和技术研究备受世界各国关注。采用初始添加种植水和连续添加种植水的方法, 研究挺水型粉绿狐尾藻对铜绿微囊藻的化感抑藻效应, 并从光合作用的角度探讨其对铜绿微囊藻化感抑制的生理生态机制及作用靶点。研究表明: 粉绿狐尾藻能够分泌某些化感物质有效抑制铜绿微囊藻的正常生长, 其抑藻效应是通过连续释放某些化感物质作用于铜绿微囊藻而实现的, 且具有累积性; 粉绿狐尾藻分泌化感物质对铜绿微囊藻的 Chl a、PC 及 APC 的损伤程度存在差异 (如处理 5 d 后, Chl a、PC、APC 的相对含量分别降至 52.7%、15.3%、7.6%), 其中藻胆蛋白 (尤其是 APC) 比 Chl a 更为敏感, 说明藻胆蛋白是粉绿狐尾藻化感物质抑制铜绿微囊藻的关键靶点。研究为水生植物化感控藻技术的发展提供了新的材料, 并有助于深入了解水体生态系统的化学生态作用及其机制。

**关键词:** 粉绿狐尾藻; 铜绿微囊藻; 化感抑制作用; 光合系统

文章编号: 1000-0933(2008)06-2595-09 中图分类号: Q143, Q145, Q948 文献标识码: A

## Allelopathic inhibitory effect of *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc. on *Microcystis aeruginosa* and its physiological mechanism

WU Cheng, CHANG Xue-Xiu\*, DONG Hong-Juan, LI Di-Fu, LIU Jun-Yan

School of Life Science of Yunnan University, Kunming 650091, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(6): 2595 ~ 2603.

**Abstract:** Eutrophication and algal blooms have been the most serious environmental problems in the world, and biological tools — especially the allelopathic inhibition effects of aquatic macrophytes on phytoplankton growth have been receiving world-wide concern. In our experiments, allelopathic inhibitory effect of *Myriophyllum aquaticum* culture water on *Microcystis aeruginosa* and its eco-physiological mechanism were investigated by initial addition assays and continuous addition assays. The results showed that the growth of *M. aeruginosa* was markedly inhibited by the *M. aquaticum* culture water; compared to initial addition assays, *M. aquaticum* exhibited stronger inhibitory potential on *M. aeruginosa* by continuous addition assays, indicating that allelopathic compounds might be excreted continuously by *M. aquaticum*, and the inhibition effects would have the cumulation trait. We also found that the relative content of Chl a, PC and APC of *M.*

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)资助项目(2002CB412306)

收稿日期: 2007-04-23; 修订日期: 2007-11-07

作者简介: 吴程(1981~), 男, 海南人, 硕士生, 主要从事污染生态学研究。E-mail: wucheng-0314@163.com

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: changxx@126.com

致谢: 本研究得到云南大学陆树刚教授、郭晓荣博士的热情帮助, 在此表示衷心感谢。

**Foundation item:** The project was financially supported by National Basic Research Program of China (No. 2002CB412306)

**Received date:** 2007-04-23; **Accepted date:** 2007-11-07

**Biography:** WU Cheng, Master candidate, mainly engaged in pollution ecology. E-mail: wucheng-0314@163.com

*aeruginosa* decreased to 52.7%, 15.3% and 7.6% respectively after being treated by *M. aquaticum* culture water for 5 days, and phycobiliprotein (especially APC) decreased more than Chl a. These results suggested that the phycobiliprotein would be the target of allelopathic inhibition of *M. aquaticum* on *M. aeruginosa*, and a new macrophyte to control cyanobacterial blooms would be found.

**Key Words:** *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc.; *Microcystis aeruginosa*; allelopathic inhibitory effects; photosynthetic system

在富营养化水体中,蓝藻群体大量、快速滋生已对水体生态系统的平衡和人体健康构成极大威胁。因此,控制和消除富营养化水体中蓝藻的爆发性增长是目前生态学和环境科学领域的重要任务。目前,控制蓝藻水华的技术一般包括物理方法(如机械除藻、遮光除藻等)、化学方法(添加杀藻剂、絮凝剂等)和生物方法(放养鱼类、食藻虫、种植水生植物、接种溶藻菌等),其中生物控藻技术因其环境安全性较高、运行成本相对低廉等优势而普遍被人们接受<sup>[1]</sup>。在众多的控藻生物中,具有化感抑藻能力的高等水生植物因其可分泌化感物质抑制藻类暴发,且在生长发育过程中可吸收大量营养物质、改善景观并有助于水生生态系统的修复和重建而备受青睐<sup>[1~5]</sup>。相关研究发现,穗状狐尾藻<sup>[5~10]</sup>、金鱼藻<sup>[5,11~14]</sup>、轮藻<sup>[15~18]</sup>、凤眼莲<sup>[2,19,20]</sup>、芦苇<sup>[21,22]</sup>、石菖蒲<sup>[23,24]</sup>等高等水生植物均能够分泌某些化感物质抑制浮游藻类的生长。粉绿狐尾藻(*M. aquaticum*)是小二仙草科狐尾藻属植物,因能在富营养化水体中快速生长、在生长发育过程中可大量污染物、具有良好的景观效果等优点,近年来被广泛应用于污染水体的生态修复<sup>[4,25,26]</sup>。但是关于粉绿狐尾藻对富营养化水体中优势藻类的化感抑制效应及其对藻类的抑制机理研究尚未见报道。

目前对高等水生植物化感抑藻作用的研究主要从2个方向进行,一是基于开发克藻剂为目标的化感物质分离和鉴定,二是以机理探讨为目标的受体生物生理生态变化过程研究。对后者的研究表明,水生植物化感物质能够破坏藻细胞的超微结构<sup>[27,28]</sup>、抑制藻类的光合作用(如破坏叶绿素 a、降低光合放氧速率及抑制光合系统 II)和呼吸作用<sup>[6~8,15,16,27,28]</sup>、影响藻细胞内某些蛋白质的合成或酶的活性<sup>[6,7,20,28]</sup>,从而实现了对藻类生长的抑制甚至死亡。一般认为,蓝藻具有强大的生命力主要归因于其独特的光合系统<sup>[29~32]</sup>,但水生植物化感物质如何损伤蓝藻的光合系统尚不十分清楚。

本文采用初始添加种植水和连续添加种植水的方法,研究了粉绿狐尾藻对滇池水华优势藻种——铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)的化感抑制效应及其对铜绿微囊藻光合系统抑制靶位点。换句话说,也就是本研究拟回答以下问题:(1)粉绿狐尾藻对铜绿微囊藻是否有化感抑制作用及其抑藻特性如何?(2)若有抑藻效应,粉绿狐尾藻化感抑藻在铜绿微囊藻光合系统上的作用靶位点如何? 以为水生植物化感控藻技术的发展提供新的材料,并为深入阐释水体生态系统的化学生态作用及其机制提供有价值的资料。

## 1 实验材料与方法

### 1.1 实验材料

粉绿狐尾藻(*M. aquaticum*)取自滇池湖滨人工湿地。采回实验室后用自来水清洗干净,并于经曝气的自来水进行预培养。实验藻种铜绿微囊藻(*M. aeruginosa*)滇池 FACHB 905 株及培养基 HGZ-145 配方均由中国科学院水生生物研究所提供。实验前,将藻种转至经修改的 HGZ-145 培养液驯化培养一周(温度 25℃ ± 1℃)后,转接入该培养基中培养至指数增长期,备用。所有操作均在无菌条件下进行。

### 1.2 培养液的配制

本研究所采用的培养基,其具体配方见表 1。

### 1.3 粉绿狐尾藻培养及其种植水的制备

在装有 7000ml 蒸馏水的玻璃缸(34cm × 15cm × 24cm)外裹一层不透光白色厚纸以遮光,以防抑藻物质在强光下分解<sup>[20]</sup>;而后种植约 110g 茁壮的粉绿狐尾藻(种植密度约为 16 g/L),在室外半封闭大棚中于自然

光照和温度条件下(试验时间为2006年8月至07年2月)培养10 d后,取1L种植水用0.45 μm的微孔滤膜过滤(用以除菌),并用该滤液代替蒸馏水配制经修改的HGZ-145培养液,即处理组的试验用液。以后则每天提取100ml种植水抽滤后加入上述培养基成分,作为处理组的添加液,对照以培养基作为添加液。

表1 经修改的HGZ-145培养基配方

Table 1 The components of the updated HGZ-145 culture medium

常量元素 Major nutrients	含量(g/L) Content (g/L)	微量元素 Trace elements	含量(g/L) Content (g/L)
NaNO <sub>3</sub>	0.2	HBO <sub>3</sub>	0.00286
KNO <sub>3</sub>	0.051		
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.049	MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.00181
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.075	ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.000222
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.02	Na <sub>2</sub> Mo <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.000391
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.059	CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.000079
NH <sub>4</sub> Cl(NH <sub>4</sub> Cl- EDTA)	0.0391	Fe-EDTA	0.000932

注: NH<sub>4</sub>Cl(NH<sub>4</sub>Cl- EDTA)与 Fe-EDTA 配置的方法参照文献[24] NH<sub>4</sub>Cl (NH<sub>4</sub>Cl- EDTA) and Fe-EDTA were made out following Reference [24]

## 1.4 铜绿微囊藻培养与指标测定

### 1.4.1 初始添加法(initial addition)培养与观测

在500ml的三角锥形瓶中加入150ml试验液,再加入10ml的藻种,置于人工气候箱(重庆市永生实验仪器厂生产,型号SHH-500GS)中恒温培养,温度25℃ ± 1℃,12h光照(光强度为2500lux)。每天摇动锥形瓶4次,并经常改变它们的位置。从接种当天开始每天吸取藻液测其在663nm处的光密度(OD)值。试验中的对照组和处理组均设3个平行,试验所有操作(抽滤、转移、取藻液等)均在无菌条件下进行。

### 1.4.2 连续添加法(continuous addition)培养与观测

在250ml的三角锥形瓶中加入100ml试验液,再加入10ml藻种,并按照上述条件培养。从接种当天开始每天吸取藻液测定相应的指标(详见1.4.3)后补充相应的添加液。试验中的对照组和处理组均设3个平行,试验所有操作(抽滤、转移、取藻样等)均在无菌条件下进行。

### 1.4.3 测定指标、方法及计算

**藻细胞生长曲线** 每天相同时间用755B型分光光度计在663nm下测定藻液的光密度(OD<sub>663</sub>)值,绘制生长曲线。

**抑制率 IR(Inhibition Ratio)计算** 在已有研究方法上略作修改<sup>[21]</sup>,其计算公式为:  $IR(100\%) = (1 - N_t/M_t) \times 100$ , 式中 IR 代表抑制率;  $N_t$  代表处理组第  $t$  天藻细胞 OD 值;  $M_t$  代表对照组第  $t$  天藻细胞 OD 值。

**藻细胞叶绿素 a(Chl a)含量的测定** 参照文献报道的方法<sup>[32]</sup>。藻细胞 Chl a 相对含量  $\eta$  的计算公式为:  $\eta(100\%) = \psi_t/\varphi_t \times 100$ ,  $\psi_t$  为处理组第  $t$  天藻细胞叶绿素 a 含量;  $\varphi_t$  为对照组第  $t$  天藻细胞叶绿素 a 含量。

**藻细胞光谱及特征峰值测定** 使用北京普析通用仪器有限责任公司制造的 UV win5(TU-1901 双光束紫外-可见分光光度计)在波长350~800nm下测定藻细胞的吸收光谱和特征峰值。

**藻胆蛋白吸收光谱测定** 参照文献报道的方法<sup>[30]</sup>制备藻胆蛋白,使用上述 UV win5 在波长500~700nm下测定其吸收光谱。

**藻胆蛋白相对含量的计算** 参照文献<sup>[30]</sup>报道的方法制备藻胆蛋白,根据藻蓝蛋白(PC)和别藻蓝蛋白(APC)特征吸收峰,使用上述 UV win5 在波长438、620、653nm下测定藻胆蛋白的吸光值,利用公式(1)、(2)、(3)、(4)计算藻胆蛋白相对含量。

$$C_{PC} = \frac{A_{620} - 0.195 \times A_{438} - 0.587 \times (A_{653} - 0.157 \times A_{438})}{4.741 \times E_{653}^{PC}} \quad (1)$$

$$C_{APC} = \frac{A_{653} - 0.157 \times A_{438} - 0.188 \times (A_{620} - 0.195 \times A_{438})}{4.741 \times E_{620}^{APC}} \quad (2)$$

$$PC \text{ 相对含量} = \text{处理样品 } C_{PC} / \text{对照样品 } C_{PC} \quad (3);$$

$$APC \text{ 相对含量} = \text{处理样品 } C_{APC} / \text{对照样品 } C_{APC} \quad (4);$$

式中,  $C_{PC}$  和  $C_{APC}$  分别表示  $PC$  和  $APC$  的质量浓度。  $A_{620}$ 、 $A_{438}$  和  $A_{653}$  分别表示上述藻胆蛋白提取液在 438、620 和 653nm 的吸光值。  $E_{653}^{PC}$  表示  $PC$  在 653nm 处的吸光系数,  $E_{620}^{APC}$  表示  $APC$  在 620nm 处的吸光系数。  $E_{653}^{PC}$  和  $E_{620}^{APC}$  可通过求相对含量消去。

### 1.5 数据处理及分析

本文所列数据均为平均值, 运用 excel2003 及 SPSS(Statistical Package for the Social Science) 11.5 统计软件进行数据处理和显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 铜绿微囊藻在经修改 HGZ-145 培养基中的驯化情况

用经修改 HGZ-145 培养基对铜绿微囊藻进行 10 d 的驯化培养并测定其生物量变化(图 1)。分析结果显示, 藻液光密度( $OD_{663}$ )值与时间具有明显的指数关系, 其指数方程为  $y = 0.0605e^{0.2066x}$ ,  $R^2 = 0.9982$  ( $y$  为  $OD_{663}$  值,  $x$  为培养时间)。说明所用培养基对铜绿微囊藻的正常生长没有明显干扰。

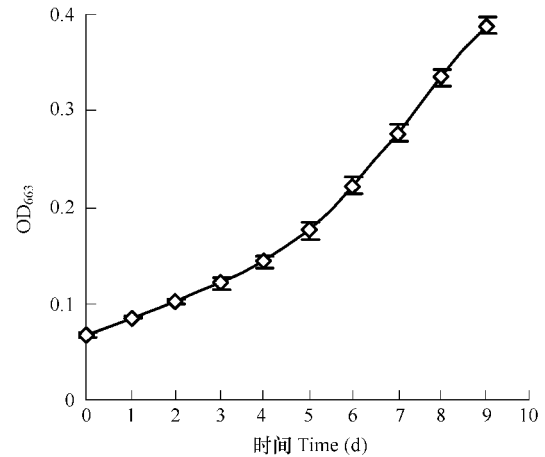


图 1 铜绿微囊藻在经修改 HGZ-145 培养基中的驯化情况  
Fig. 1 Domestication of *M. aeruginosa* in updated HGZ-145

### 2.2 粉绿狐尾藻种植水对铜绿微囊藻生物量的影响

初始添加种植水的实验结果显示(图 2): 在粉绿狐尾藻种植水处理下, 铜绿微囊藻生长缓慢, 接种后第 9 天藻液  $OD_{663}$  值仅为对照的 60%, 处理组和对照组藻类生物量的变化差异显著(经  $T$  检验,  $P = 0.006 < 0.05$ ), 说明粉绿狐尾藻种植水对铜绿微囊藻的生长产生了明显抑制作用, 其相对抑制率( $IR$ )呈现先增加后减小的态势,  $IR$  最高值仅为 45.19% (出现在第 10 天)。当实验进行至第 28 天时, 粉绿狐尾藻种植水未能使铜绿微囊藻致死, 藻液  $OD_{663}$  值达 1.391, 其相对抑制率降低为 29.55%。

连续添加种植水的实验结果显示(图 3): 与初始添加法相比, 种植水连续添加条件下粉绿狐尾藻对铜

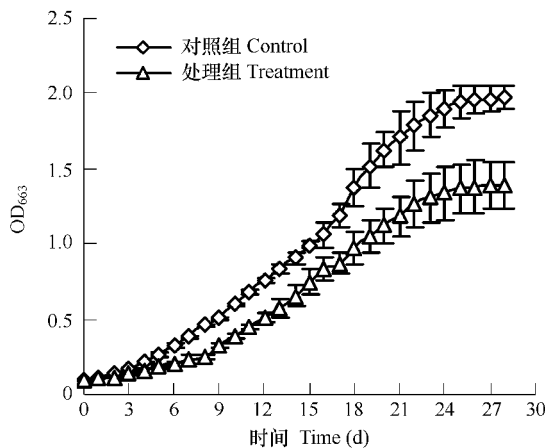


图 2 初始添加种植水, 粉绿狐尾藻对铜绿微囊藻的化感抑制作用  
Fig. 2 Allelopathic inhibition of *M. aquaticum* on *M. aeruginosa* with initial addition

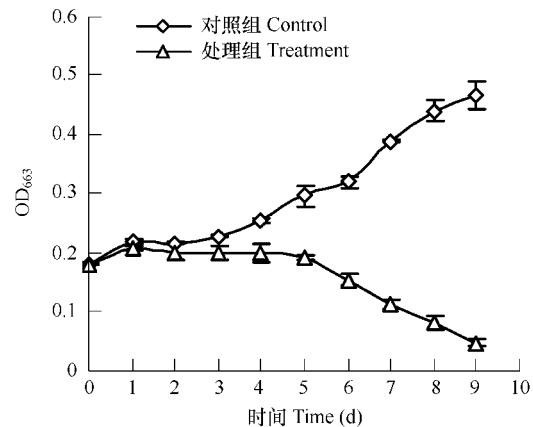


图 3 连续添加种植水, 粉绿狐尾藻对铜绿微囊藻的化感抑制作用  
Fig. 3 Allelopathic inhibition of *M. aquaticum* on *M. aeruginosa* with continuous addition

绿微囊藻的化感抑制作用更为明显,其 *IR* 值在处理第 9 天时已高达 89.61%。经 *T* 检验,处理组和对照组藻类生物量的变化差异显著( $P=0.017 < 0.05$ ),从第 1 天开始,铜绿微囊藻的生长情况就表现出明显的受抑制状态,藻类生长曲线平缓,并于接藻种后第 5 天开始急剧下滑,藻细胞开始黄化。随时间的延续,藻细胞逐渐分解、消亡。

由于连续添加粉绿狐尾藻种植水可取得较好的抑藻效果,故以下均采用连续添加法进行进一步的研究。

### 2.3 粉绿狐尾藻种植水对铜绿微囊藻藻细胞吸收光谱及特征吸收峰的影响

铜绿微囊藻藻细胞吸收光谱是综合反映铜绿微囊藻生长情况的指标之一。实验结果显示(图 4 和图 6),对照藻样吸收光谱曲线上的 3 个特征吸收峰分别位于 440nm、626 nm 及 681 nm 处,440 nm 处为 Chl a 在蓝光区的吸收峰,626 nm 处为 PC 在橙光区的吸收峰,681 nm 处为 APC 和 Chl a 在红光区的吸收峰。

藻细胞吸收光谱测定结果表明:对照组铜绿微囊藻藻细胞吸收光谱曲线逐步上移,藻细胞吸收光值随时间的增加而增大(图 4);而处理组在接藻种后第 3 天,藻细胞吸收光谱曲线已开始变形,吸收光谱值减小,曲线逐渐下降,至接藻种后第 7 天藻细胞吸收光谱曲线近乎呈一条直线(图 5)。这说明粉绿狐尾藻种植水释放的化感物质可能抑制铜绿微囊藻对光的捕获,从而抑制其生长。

藻细胞吸收光谱特征吸收峰测定结果显示:对照组藻样 3 个特征吸收峰值随时间增加均呈指数增长趋势(其指数方程拟合度均大于 0.98)(图 6);而处理组藻样在接种后第 3 天,特征吸收峰值开始下降,且 3 个吸收峰表现出不同的变化趋势。626 nm 处的吸收峰反应较为敏感,处理后第 5 天波峰就已消失(图 7);440nm 处的吸收峰值呈先升后降态势,并于处理后第 7 天消失,而 681 nm 处的波峰至第 9 天时仍有峰值检出(其峰值为初始值的 47.2%)。波峰的变化情况直观反映了粉绿狐尾藻释放的化感物质对 626nm 处 PC 吸收峰的伤害程度比 440 处 Chl a 吸收峰大,而对 681 nm 处 APC 与 Chl a 的共同吸收峰的伤害最小。

综上所述,粉绿狐尾藻释放的化感物质进入藻细胞可使叶绿素 a 和藻胆蛋白(包括 PC 和 APC)受损害,进而抑制铜绿微囊藻对光的捕获。其作用位点可能具有某种选择性,但对其确切的作用靶位点仍不清楚。换句话说,也就是 Chl a、PC、APC 三个部位中哪个对粉绿狐尾藻释放的化感物质最为敏感,最易于受损,仍需做进一步阐释。

### 2.4 粉绿狐尾藻种植水对铜绿微囊藻藻胆蛋白和叶绿素 a 的影响

#### 2.4.1 粉绿狐尾藻种植水对藻胆蛋白吸收光谱的影响

藻胆蛋白吸收光谱的测定结果显示:对照组藻样的藻胆蛋白吸收光谱曲线随时间增加而不断上移,藻胆蛋白吸收值不断增加(图 8);而处理组藻样的藻胆蛋白吸收光谱曲线呈下降趋势,且其下降幅度随时间增加而增大,至第 5 天时藻胆蛋白已几乎没有吸收光度值(图 9)。这一结果说明粉绿狐尾藻种植水对铜绿微囊藻藻胆蛋白有明显的抑制作用,以至于第 5 天藻胆蛋白基本完全破损。这与藻细胞吸收光谱的分析结果相一致。

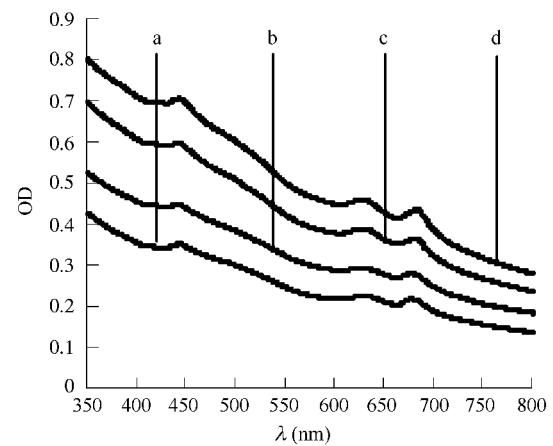


图 4 对照组藻细胞吸收光谱变化情况

Fig. 4 The absorption spectrum of *M. aeruginosa* of control in different times

注:a、b、c、d 分别表示铜绿微囊藻在接种当天、第 3 天、第 5 天、第 7 天的藻细胞吸收光谱曲线;图 5 注同图 4 a、b、c、d denote respectively the absorption spectrum curve of *M. aeruginosa* inoculated culture water from *M. aquaticum* at the day of 1st, 3rd, 5th and 7th day; The note of Fig. 5 is the same of Fig. 4

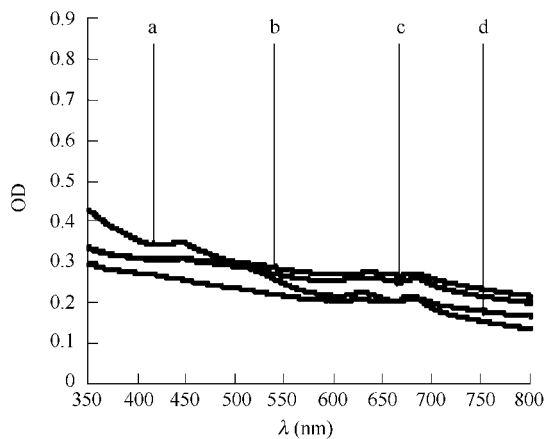


图5 处理组藻细胞吸收光谱变化情况

Fig. 5 Effects of *M. aquaticum* on the absorption spectrum of *M. aeruginosa* in different times

#### 2.4.2 粉绿狐尾藻种植水对藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白及叶绿素 a 相对含量的影响

实验结果表明,在粉绿狐尾藻种植水作用下,铜绿微囊藻的 APC、PC 及 Chl a 三者的相对含量均急剧下降,经线性回归分析发现:APC、PC 及 Chl a 的下降趋势度(即其线性回归方程斜率的绝对数值)分别为 11.98、11.70、10.96(图 10)。说明粉绿狐尾藻分泌的化感物质对 APC、PC 及 Chl a 的伤害程度是不一致的,如第 5 天时,APC、PC 的相对含量已分别降至 7.6% 和 15.3%,APC、PC 已基本破损;而 Chl a 仅降至 52.7%(图 10),以至于第 5 天(甚至是第 7 天)时,藻细胞在 681 nm 处的特征吸收峰仍具有一定的吸收值(图 6)。

这说明相对 Chl a 而言,藻胆蛋白对粉绿狐尾藻分泌的化感物质更为敏感而易于受损。进行不同时刻(即第 3、5、7、9 天)的 *F* 检验发现,粉绿狐尾藻分泌的化感物质对 APC、PC 及 Chl a 的伤害具有显著差异性( $P < 0.05$ ),对 APC 的损害程度最大,PC 次之,Chl a 最小。

结合图 7 结果分析,藻细胞 APC 与 Chl a 共同吸收峰(681 nm 处)的受损程度在 3 个波峰中最轻,这进一步反映了 Chl a 对粉绿狐尾藻分泌的化感物质的敏感性比藻胆蛋白小,以致在 APC 受损后,Chl a 在红光区仍有一定的吸收峰值。

### 3 讨论与结论

#### 3.1 粉绿狐尾藻分泌某些化感物质有效抑制铜绿微囊藻的正常生长,具有广阔的应用前景

上述分析表明:粉绿狐尾藻种植水均对铜绿微囊藻的正常生长产生影响,且采用连续添加法时,抑藻效果更为明显。这说明粉绿狐尾藻能分泌某些化感物质有效抑制铜绿微囊藻的正常生长甚至使其死亡。一般认为,水生植物的化感抑藻作用是多种化学物质混合作用的结果<sup>[1,2,19]</sup>,因此在富营养化水体中种植粉绿狐尾藻使其连续释放化感物质抑藻是一种较为理想的控藻方法。

粉绿狐尾藻是多年生挺水或沉水草本植物,属外来物种,适应生境能力强,能在多种不同的环境下生长<sup>[26]</sup>,具有强烈的化感抑藻(铜绿微囊藻)效果,其生长发育过程可去除多种污染物(如,磷<sup>[4,25]</sup>、三硝基甲苯<sup>[33]</sup>、重金属污染物<sup>[4]</sup>等)且观赏效果较好,是水体富营养化植物修复或水华生物控制工程中的有效物种,具

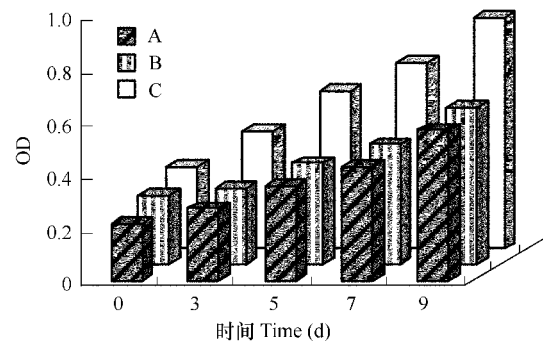


图6 对照组藻细胞光谱特征吸收峰变化情况

Fig. 6 The peaks of absorption spectrum of *M. aeruginosa* of control in different times

注:A、B、C 分别表示藻细胞在 681 nm、626 nm、440 nm 处的光谱特征吸收峰;图 7 注同图 6 A、B、C denote respectively the peaks of the absorption spectrum of *M. aeruginosa* at 681 nm, 626 nm and 440 nm wavelength; The note of Fig. 7 is the same as Fig. 6

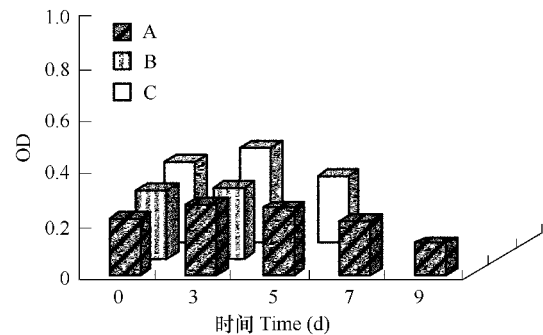


图7 处理组藻细胞光谱特征吸收峰变化情况

Fig. 7 Effects of *M. aquaticum* on the peaks of absorption spectrum of *M. aeruginosa* in different times

有广阔的应用前景。但粉绿狐尾藻作为外来物种,在南非已引起一些生态入侵问题<sup>[34]</sup>,故实际应用过程中应防止其产生生态入侵等新的生态环境问题。

### 3.2 粉绿狐尾藻对铜绿微囊藻的化感抑制作用是通过连续分泌某些化感物质不断作用于藻细胞而实现并具有累积效应

采用初始添加法,粉绿狐尾藻种植水能够抑制铜绿微囊藻的正常生长,但未出现致死效应;而采用连续添加法时,粉绿狐尾藻种植水表现出强烈的化感抑藻效应而使铜绿微囊藻趋向死亡。这说明粉绿狐尾藻抑藻效应具有累积性,且连续分泌某些化感物质持续作用于铜绿微囊藻而实现抑藻效应,以至采用初始添加法时,粉绿狐尾藻种植水的相对抑藻率随时间增加而出现先增大后减小的现象。国内外相关研究也发现,水生植物能连续释放某些化感物质抑制浮游藻类的生长,且这些物质的理化性质不稳定。如,穗状狐尾藻<sup>[6,9]</sup>、金鱼藻<sup>[13]</sup>、苦草<sup>[13]</sup>等水生植物均能分泌某些化感物质抑制铜绿微囊藻的生长,并且仅当化感物质达到一定量时才表现出抑藻效应<sup>[1,2,9,11,13,35]</sup>。因此,水生植物的化感抑藻作用表现出明显的累积效应。

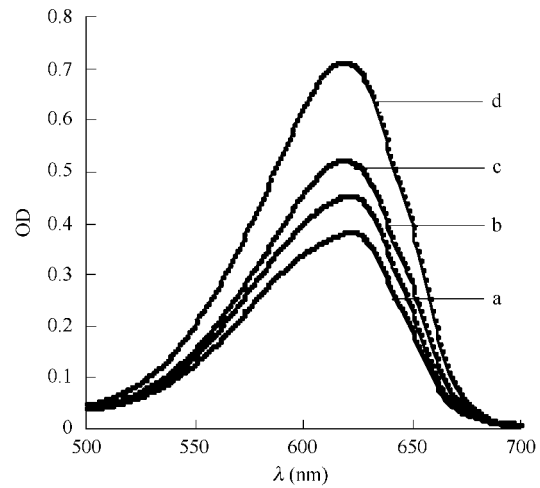


图8 对照组藻胆蛋白吸收光谱的变化情况

Fig. 8 The absorption spectrum of phycobili-protein of *M. aeruginosa* of control in different times

a、b、c、d 分别表示铜绿微囊藻在接种当天、第3天、第5天、第7天时的藻胆蛋白吸收光谱曲线;图9 注图8 a, b, c, d denote respectively the absorption spectrum curve of *M. aeruginosa* of phycobilibiprotein inoculated culture water from *M. aquaticum* at the day of 1st, 3rd, 5th and 7th day; The not of Fig. 9 is the same as Fig. 8

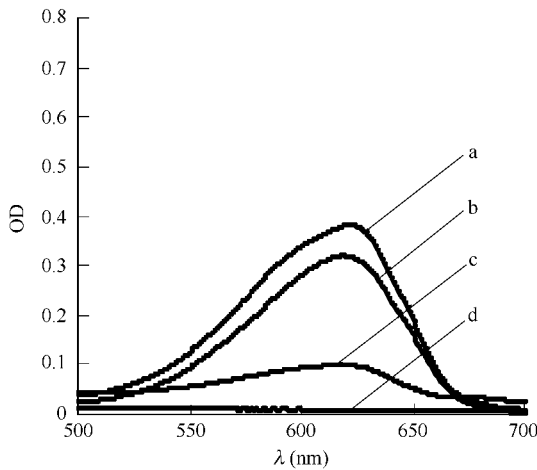


图9 处理组藻胆蛋白吸收光谱的变化情况

Fig. 9 Effects of *M. aquaticum* on the absorption spectrum of phycobilibiprotein of *M. aeruginosa* in different times

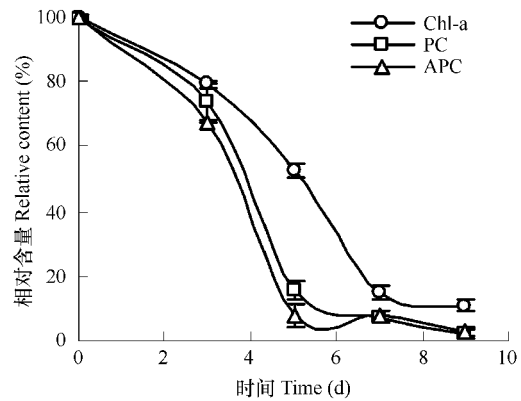


图10 粉绿狐尾藻对铜绿微囊藻 Chl a, PC, APC 的影响

Fig. 10 Effects of *M. aquaticum* on the contents of Chl a, PC and APC of *M. aeruginosa*

### 3.3 藻胆蛋白是粉绿狐尾藻化感抑藻(铜绿微囊藻)的关键靶位点之一

藻胆蛋白是蓝藻光合作用捕光天线的主要功能团,位于捕光天线——藻胆体内,它主要由 PC 和 APC 两种蛋白构成,具有捕获光能并将能量高效传递给光系统 II (PS II) 反应中心——叶绿素 a (Chl a) 的功能<sup>[29~31]</sup>。根据其发色团与蛋白调制作用的差别,可形成 490~660nm 区间内不同的吸收光谱,它们的吸收谱恰好弥补了叶绿素无吸收或弱吸收的光谱区,以致蓝藻具有在几乎任何环境下都能生存的独特性质,这主要归因于它们强大的天线系统。然而,藻胆蛋白的合成既受基因组的精细调控,又受到环境因素的调控<sup>[29~32]</sup>,

在受到外界胁迫时,易受破坏。目前,相关研究多集中于 Cu、Pb、Zn、Co、Ni 等金属元素对藻类的藻胆蛋白的抑制机制,并发现其是金属元素的重要作用位点之一<sup>[36,37]</sup>。而国内外有关高等水生植物对浮游藻类光合抑制机理的报道主要集中于叶绿素或 PS II 上,如凤眼莲根系释放的化感物质能使藻细胞 Chl a 的含量明显下降<sup>[1,20]</sup>;穗状狐尾藻分泌的特里马素 II<sup>[6,8]</sup>能抑制蓝藻(如铜绿微囊藻)的 PS II 而实现化感抑藻效应,但对藻胆蛋白这一重要的捕光系统的影响研究未见报道。

本文通过逐层分析粉绿狐尾藻对铜绿微囊藻藻细胞吸收光谱、藻胆蛋白吸收光谱、APC 和 PC 及 Chl a 三者相对含量等指标的变化态势,发现藻胆蛋白尤其是 APC 对粉绿狐尾藻分泌的化感物质更为敏感、更易于受损,从而证实了藻胆蛋白(尤其是 APC)是粉绿狐尾藻对铜绿微囊藻光合系统的化感抑制靶位点。说明粉绿狐尾藻释放的化感物质可直接破坏铜绿微囊藻的捕光天线——藻胆体内的辅助捕光色素系统,阻断藻胆蛋白对光电子的捕获和传递,从而抑制其光合作用,最终导致藻细胞生长停滞甚至死亡。

#### References:

- [ 1 ] Chang X X, Wu C, Zhao J. Advance of allelopathic inhibitory effects of aquatic macrophytes on algae and its application. In: Duan C Q ed. Advance in ecological Science. Beijing: Higher Education Press, 2007. 3: 147—174.
- [ 2 ] Yu Z W, Sun W H, Guo K Q, et al. Allelopathic effects of several aquatic plants on algae. Acta Hydrobiologica Sinica, 1992, 16(1): 1—7.
- [ 3 ] Van Donk E, Van De Bund W J. Impact of submerged macrophytes including charophytes on phyto- and zooplankton communities: allelopathy versus other mechanisms. Aquatic Botany, 2002, 72: 261—274.
- [ 4 ] Collins B S, Sharitz R R, Coughlin D P. Elemental composition of native wetland plants in constructed mesocosm treatment wetlands. Bioresource Technology, 2005, 96: 937—948.
- [ 5 ] Nakai S, Inoue Y, Hosomi M, et al. Growth inhibition of blue-green algal by allelopathic effects of macrophytes. Water Science and Technology, 1999, 39 (8): 47—53.
- [ 6 ] Gross E M. Allelopathic action by submersed macrophytes on epiphytes and phytoplankton: Algicidal hydrolysable polyphenols from *Myriophyllum spicatum*. Kiel: Christian Albrechts University, 1995.
- [ 7 ] Gross E M, Meyer H, Schilling G. Release and ecological impact of algicidal hydrolysable polyphenols in *Myriophyllum spicatum*. Phytochemistry, 1996, 41(1): 133—138.
- [ 8 ] Eva L, Anja K L, Charilaos G, et al. Polyphenolic Allelochemicals from the Aquatic Angiosperm *Myriophyllum spicatum* Inhibit Photosystem II. Plant Physiology, 2002, 130 (4): 2011—2018.
- [ 9 ] Nakai S, Hosomi M, Okada M, et al. Control of algal growth by macrophytes and macrophyte extracted bioactive compounds. Water Science and Technology, 1996, 39(8): 47—53.
- [ 10 ] Nakai S, Inoue Y, Hosomi M, et al. *Myriophyllum spicatum*-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis aeruginosa*. Water Research, 2000, 34: 3026—3032.
- [ 11 ] Yuan J F, Zhang Z S. Biochemical interference of aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum* on algae. Acta Ecologica Sinica, 1993, 13: 45—50.
- [ 12 ] Gross E M, Erhard D, Iványi E. Allelopathic activity of *Ceratophyllum demersum* L. and *Najas marina* ssp. *Intermedia* (Wolfgang) Casper. Hydrobiologia, 2003, 506—509 (1-3): 583—589.
- [ 13 ] Xian Q M, Chen H D, Zou H X, et al. Allelopathic effects of four submerged macrophytes on *Microcystis aeruginosa*. Journal of Lake Science, 2005, 17 (1): 75—80.
- [ 14 ] Xian Q M, Chen H D, Zou H X, et al. Allelopathic activity of Volatile substance from submerged macrophytes on *Microcystin aeruginosa*. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26 (11): 3349—3354.
- [ 15 ] Wiium-Andersen S, Anthoni U, Christophersen C, et al. Allelopathic effects on phytoplankton by substances isolated from aquatic macrophytes (*Charales*). Oikos, 1982, 39 (2): 187—190.
- [ 16 ] Wiium-Andersen S. Allelopathy among aquatic plants. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol, 1987, 27: 167—172.
- [ 17 ] Johanna B, Michael S. Allelopathic activity of *Chara aspera*. Hydrobiologia, 2003, 501: 109—115.
- [ 18 ] Mulderij G, Van Donk E, Roelofs J G M. Differential sensitivity of green algae to allelopathic substances from *Chara*. Hydrobiologia, 2003, 491: 261—271.
- [ 19 ] Sun W H, Yu S W, Yang S Y, et al. Allelochemicals from Root Exudates of Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*). Acta Phytophysiologica Sinica, 1993, 19 (1): 92—96.
- [ 20 ] Tang P, Wu G R, Lu C M, et al. Allelopathic Effects of Several Higher Aquatic Plants in Taihu Lake on *Scenedesmus arcuatus* Lemm. Rural Eco-Environment, 2001, 17 (3): 42—44, 47.
- [ 21 ] Li F M, Hu H Y. Allelopathy and inhibitory effect of extracts from macrophytes on algae growth. China Water & Waste Water, 2004, 20 (11):



- 18—21.
- [22] Li F M, Hu H Y. Allelopathic effects of different macrophytes on the growth of *Microcystis aeruginosa*. *Allelopathy Journal*, 2005, 15 (1): 145—152.
- [23] He C Q, Ye J X. Inhibitory effects of *Acorus tatarinowii* on algae growth. *Acta Ecologica Sinica*, 1999, 19 (5): 754—758.
- [24] Ye J X, He C Q, Chen S F. Allelopathic effect of *Acorus tatarinowii* on algae growth. *Acta Phytocologica Sinica*, 1999, 23 (4): 379—384.
- [25] Li W, Friedrich R. In situ removal of dissolved phosphorus in irrigation drainage water by planted floats: preliminary results from growth chamber experiment. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2002, 90 (1): 9—15.
- [26] Zhou H G, Huang Z F, Wang F L. landscape of aquatic plants. Guiyang: Guizhou Science and Technology Press, 2006. 31.
- [27] Polio A, Pinto G, Roberto L, et al. Effects of the potential allelochemical  $\alpha$ -asarone on growth physiology and ultra structure of two unicellular green algae. *Journal of Applied Phycology*, 1993, 5: 395—403.
- [28] Wang L X, Wu G R, Wang J A, et al. The inhibition of *Hydrilla verticillata* on *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Lake Science*, 2004, 16 (4): 337—342.
- [29] Jiang L J, Zhao J Q. Advance in the Research of the structures and functions of algae antennae system, *Chinese Science Bulletin*, 1997, 42 (1): 1—8.
- [30] Sun X Y, Liu Y, Wu Q Y. The effects of deletion of chlorophyll and heterotrophy on phycobiliprotein content of cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803. *Chinese Bulletin of Botany*, 1998, 15 (2): 58—62.
- [31] Zhang J P, Xie J, Zhao J Q, et al. Studies on the energy transfer processes and dynamics in R-phycoeyanin from *Polysiphonia urceola*. *Acta Biophysica Sinica*, 2001, 17 (4): 767—772.
- [32] Wang Y H, Li Y G, Shi D J, et al. Mixotrophic and photoautotrophic cultivation of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Journal of East China University of Science and Technology*, 2001, 27 (3): 247—250.
- [33] Medina V F, Larson S L, Bergstedt A E. Phyto-removal of trinitrotoluene from water with batch kinetic studies. *Water Research*, 2000, 34 (10): 2713—2722.
- [34] Cilliers C J. *Lysathia n.* sp. (Coleoptera: Chrysomelidae), a host-specific beetle for the control of the aquatic weed *Myriophyllum aquaticum* (Haloragaceae) in South Africa. *Hydrobiologia*, 1999, 415: 271—276.
- [35] Zhuang Y Y, Zhao F, Dai S G, et al. Algal growth inhibition by phytotoxins. *Advances in Environmental Science*, 1995, 3 (6): 44—49.
- [36] Li J H, Zeng Z Q. Effects of Co, Ni, Cu, Zn ions on spectra of phycobiliprotein-vesicle. *Journal of Nanjing University (Natural Science)*, 1997, 33 (4): 639—643.
- [37] Zhou C F, Wu G R, Lu C M, et al. Effect of  $\text{pH}^{2+}$  on the growth of *Spirulina platensis* and its physiological characters. *Journal of Lake Science*, 1999, 11 (2): 135—140.

#### 参考文献:

- [1] 常学秀, 吴程, 赵瑾. 水生高等植物化感抑藻效应及其应用研究进展. 见: 段昌群主编, 生态科学进展, 北京: 高等教育出版社, 2007. 3: 147—174.
- [2] 俞子文, 孙文浩, 郭克勤, 等. 几种高等水生植物的克藻效应. *水生生物学报*, 1992, 16(1): 1—7.
- [11] 袁峻峰, 章宗涉. 金鱼藻对藻类的生化干预作用. *生态学报*, 1993, 13 (1): 45—50.
- [13] 鲜啟鸣, 陈海东, 邹惠仙, 等. 四种沉水植物的克藻效应. *湖泊科学*, 2005, 17 (1): 75—80.
- [14] 鲜啟鸣, 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. *生态学报*, 2006, 26 (11): 3349—3354.
- [19] 孙文浩, 余叔文, 杨善元, 等. 凤眼莲根系分泌物中的克藻化合物. *植物生理学报*, 1993, 19(1): 92—96.
- [20] 唐 萍, 吴国荣, 陆长梅, 等. 太湖水域几种高等水生植物的克藻效应. *农村生态环境*, 2001, 17 (3): 42—44, 47.
- [21] 李锋民, 胡洪营. 大型水生植物浸出液对藻类的化感抑制作用. *中国给水排水*, 2004, 20 (11): 18—21.
- [23] 何池全, 叶居新. 石菖蒲(*Acorus tatarinowii*)克藻效应的研究. *生态学报*, 1999, 19 (5): 754—758.
- [24] 叶居新, 何池全, 陈少凤. 石菖蒲的克藻效应. *植物生态学*, 1999, 23 (4): 379—384.
- [26] 周厚高, 黄子锋, 王凤兰. 水体植物景观. 贵阳: 贵州科技出版社, 2006. 31.
- [28] 王立新, 吴国荣, 王建安, 等. 黑藻(*Hydrilla verticillata*)对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)抑制作用. *湖泊科学*, 2004, 16 (4): 337—342.
- [29] 蒋丽金, 赵井泉. 藻类天线系统的结构与功能研究进展. *科学通报*, 1997, 42 (1): 1—8.
- [30] 孙晓筠, 刘颖, 吴庆余. 叶绿素缺失和异养生长对蓝藻 *Synechocystis* sp. PCC6803 藻胆蛋白含量的影响. *植物学通报*, 1998, 15 (2): 58—62.
- [31] 张建平, 谢洁, 赵井泉, 等. 多管藻中 R-藻蓝蛋白能量传递途径及动力学. *生物物理学报*, 2001, 17 (4): 767—772.
- [32] 王永红, 李元广, 施定基, 等. 封闭式光生物反应器集胞藻 6803 光自养和混合营养培养比较. *华东理工大学学报*, 2001, 27 (3): 247—250.
- [35] 庄源益, 赵凡, 戴树桂, 等. 高等水生植物对藻类生长的克制效应. *环境科学进展*, 1995, 3 (6): 44—49.
- [36] 李建宏, 曾昭琪. Co、Ni、Cu、Zn 离子对蓝藻藻胆体光谱影响研究. *南京大学学报(自然科学)*, 1997, 33 (4): 639—643.
- [37] 周长芳, 吴国荣, 陆长梅, 等. 铅污染对钝顶螺旋藻生长及某些生理性状的影响. *湖泊科学*, 1999, 11 (2): 135—140.