

## 美丽微孢藻种植水对水华鱼腥藻的化感抑制作用研究

谭海剑<sup>1,2</sup>, 潘伟斌<sup>2</sup>, 陈敏毅<sup>1</sup>, 姚伟卿<sup>2,3</sup>

(1.广州市环境技术中心, 广东 广州 510180; 2.华南理工大学环境与能源学院, 广东 广州 510006;

3. 广东环境保护工程职业学院, 广东 佛山 528216)

**摘要:** 为探讨美丽微孢藻对水华藻类的化感作用, 研究了美丽微孢藻种植水对水华鱼腥藻的光密度、叶绿素 a 和细胞活性的影响。结果表明: 浓度为 25% 的美丽微孢藻种植水在 0~2 d 时可显著抑制水华鱼腥藻生长, 但在 2 d 后无法对其产生显著抑制; 浓度为 50% 的美丽微孢藻种植水在整个实验周期内均可显著抑制水华鱼腥藻生长; 浓度为 25% 的美丽微孢藻种植水在短期内会使大部分藻细胞处于死亡或低活性状态, 但在 7 d 时有 31.40% 的藻细胞恢复了高活性状态, 其化感控藻作用有限; 浓度为 50% 的美丽微孢藻种植水在整个实验周期内均使大部分藻细胞均处于死亡或低活性状态, 具有较强的化感抑制作用。

**关键词:** 美丽微孢藻; 种植水; 水华鱼腥藻; 化感抑制作用

**中图分类号:** X513

**文献标志码:** A

### Study of Allelopathic Inhibition of *Anabaena Flos-aquae* by *Microspora Amoena* Culture Water

Tan Haijian<sup>1,2</sup>, Pan Weibin<sup>2</sup>, Chen Minyi<sup>1</sup>, Yao Weiqing<sup>2,3</sup>

(1. Guangzhou Environmental Technology Center, Guangzhou 510180, China;

2. College of Environment and Energy, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China;

3. Guangdong Vocational College of Environmental Protection Engineering, Foshan 528216, China)

**Abstract:** To discuss allelopathic inhibition of *Anabaena Flos-aquae* by *Microspora Amoena* culture water, in the paper, the influences of *Microspora Amoena* culture water on optical density, Chlorophyll A and cell activity of *Anabaena Flos-aquae* were studied. The results showed that culture water with the concentration of 25% *Microspora Amoena* could significantly inhibit the growth of *Anabaena Flos-aquae* in the first two days, but from the third day, the inhibition was not as significant as in the previous two days. Culture water with the concentration of 50% *Microspora Amoena* could significantly inhibit the growth of *Anabaena Flos-aquae* within the whole experimental period. Culture water with the concentration of 25% *Microspora Amoena* could lead most algal cells into a death or low activity state in a short period, but the high activity of 31.40% of the algal cells would be recovered in the seventh day. Therefore, allelopathic inhibition of the algal by the culture water with the concentration of 25% *Microspora Amoena* was limited. Culture water with the concentration of 50% *Microspora Amoena* could lead most algal cells into a death or low activity state during the whole experimental period, with stronger allelopathic inhibition.

**Keywords:** *Microspora Amoena*; Culture Water; *Anabaena Flos-aquae*; Allelopathic Inhibition

**CLC number:** X513

水生植物在富营养化水体控藻和生态修复中具有重要作用<sup>[1]</sup>, 植物化感作用抑藻作为一种新型的生物抑藻技术已备受关注<sup>[2]</sup>。化感作用是指植物通过向外界环境释放化合物, 对其它植物(包括微生物)产生促进或抑制作用<sup>[3]</sup>, 其中抑制现象更为普遍, 翻译成中文也称相生相克作用

和他感作用等。目前关于沉水植物对浮游藻类化感作用的研究已经有较多报道, 但关于水生大型丝状藻类对水华藻类的化感作用研究报道尚不多见<sup>[4]</sup>, 而美丽微孢藻对水华藻类的化感作用研究在国内外相关研究中尚未见报道。

水华鱼腥藻属蓝藻门、蓝藻纲、念珠藻目、

收稿日期: 2013-11-20

作者简介: 王芳芳(1980-), 女, 硕士研究生。研究方向: 气候变化与遥感应用。E-mail: wywff5167@qq.com

念珠科、鱼腥藻属,是一种常见水华藻类。2007年太湖梅梁湾暴发大规模藻类水华导致无锡市停止供水,对当地人民的生活带来较大影响,水华鱼腥藻即为太湖藻类水华爆发的主要藻种之一<sup>[5]</sup>。

美丽微孢藻属于绿藻门、绿藻纲、丝藻目、微孢藻科、微孢藻属,是一种丝状绿藻,属于周从生物中的附植藻类,可附着于植物表面生长。目前,美丽微孢藻对浮游藻类化感作用的研究尚未见报道。

作者研究了美丽微孢藻对一种常见的水华蓝藻水华鱼腥藻的化感作用,旨在为研究丝状绿藻在水生生态系统中的作用和富营养化水体的环境修复工程提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 美丽微孢藻 (*Microspora amoena*) 本研究所用美丽微孢藻均从广州的沉水植物苦草表面分离获得。分离方法参考吕莹<sup>[6]</sup>的方法,取苦草表面丝状藻多次冲洗,置于摇床中震荡(120 r/min),初步去除丝状藻类表面的附着物;取经震荡后的丝状藻类置入直径60 mm的培养皿中,使用解剖针挑出单根美丽微孢藻藻丝,镜检,选择表面无其他藻类和附着物的美丽微孢藻藻丝,使用无菌蒸馏水冲洗5~6次,将清洗后的藻丝体在0.5%~0.75%低浓度的agar平板上拖动6~12次,除去丝体表面残余的细菌,置于培养液中培养。培养条件:温度为25℃,光照为3 000 lx,光/暗周期为13 h/11 h。

1.1.2 水华鱼腥藻 (*Anabaena flos-aquae*) 本研究所用水华鱼腥藻均购自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库,藻种采用BG-11培养液扩大培养,实验开始前2个月逐步使用1×改良Hoagland培养液<sup>[7]</sup>于LRH-250-GS人工气候箱中进行驯化培养。培养条件:温度为25℃,光照为3 000 lx,光/暗周期为14 h/10h。

### 1.2 实验方法

取经湿热灭菌(121℃, 30 min)的1 L玻璃

锥形瓶,加入经灭菌的0.8 L 0.1×改良Hoagland溶液、充氧曝气头和橡胶管,充氧泵充入经过0.22 μm过滤的空气,使用灭菌过的棉塞塞住瓶口。除菌空气的充入,既可补充营养液中碳源的不足,又可起到搅拌的作用,使烧杯中溶液混合均匀。

选取生长良好的美丽微孢藻鲜重为(0.60±0.01) g用无菌水反复冲洗,放入上述玻璃锥形瓶中,置于人工气候箱中培养。培养条件:温度为25℃,光照为3 000 lx,光/暗周期为13 h/11 h。

加入美丽微孢藻14 d后,取美丽微孢藻培养液在无菌条件下经过0.22 μm微孔滤膜抽真空过滤获得种植水。取140 mL种植水加入无菌500 mL玻璃锥形瓶中,而后加入水华鱼腥藻浓藻液90 mL、经灭菌的4×改良hoagland营养液50 mL,作为处理组TM×0.5,其中美丽微孢藻种植水占藻液总体积的50%;取70 mL种植水滤液加入无菌500 mL玻璃锥形瓶中,而后加入90 mL水华鱼腥藻浓藻液、50 mL经灭菌的4×改良hoagland营养液、70 mL无菌蒸馏水,作为处理组TM×0.25,其中美丽微孢藻种植水占藻液总体积的50%;以灭菌的蒸馏水代替种植水滤液做对照。使各实验组初始的藻液OD<sub>680</sub>约为0.28,营养水平约为1×改良hoagland。每个处理重复两次。

将各处理组置于LRH-250-GS人工气候箱中培养,温度为25℃,光照为3000 lx,光/暗周期为13 h/11 h。实验过程中每隔一定的时间测定藻液的光密度OD<sub>680</sub>;实验0、4和7 d测定藻细胞活性;实验开始和结束时,测定藻液的叶绿素a浓度,并计算去除率。叶绿素a去除率计算方法见下式。

$$q = \frac{\text{Chl-a}_0 - \text{Chl-a}_e}{\text{Chl-a}_0} \times 100\%$$

式中,  $q$ 为叶Chl-a去除率;  $\text{Chl-a}_0$ 为实验开始时藻液Chl-a浓度, (μg/L);  $\text{Chl-a}_e$ 为实验结束时藻液Chl-a浓度, (μg/L)。

### 1.3 测定方法

1.3.1 取样方法 将装有藻液的锥形瓶置于摇床中震荡(120 r/min) 10 min,震荡结束静置10 min

后从锥形瓶中取上清液用于测定。

**1.3.2 藻液光密度的测定** 使用光密度法测量藻类细胞数量具有操作简单、检测速度快、重现性好等优点<sup>[8]</sup>。为检验利用光密度表征藻细胞数量的可行性,本研究正式实验开始前,使用TU-1800SPC紫外可见分光光度计测定水华鱼腥藻细胞的光密度 $OD_{680}$ ,同时,使用血球计数板计数法测量对应 $OD_{680}$ 的藻细胞密度。将水华鱼腥藻在680 nm处的吸光度值与使用血球计数板测定的藻细胞密度值进行了关联,实验结果见表1。

表1 水华鱼腥藻藻细胞密度与对应的光密度

| 序号 | 细胞密度( $10^6$ /mL) | 吸光度    |
|----|-------------------|--------|
| 1  | 6.5               | 0.4842 |
| 2  | 5.5               | 0.4020 |
| 3  | 4.5               | 0.3374 |
| 4  | 2.5               | 0.1859 |
| 5  | 1.5               | 0.1079 |
| 6  | 0                 | 0.0000 |

由实验结果可得二者相关系数 $R^2=0.9996$ ,接近1,说明水华鱼腥藻藻液在680 nm处吸光度值 $OD_{680}$ (即光密度)与其藻细胞密度具有很好的线性关系,与胡先文等<sup>[9]</sup>的研究相符,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。

**1.3.3 藻液叶绿素a含量的测定** 采用乙醇萃取-分光光度法<sup>[10]</sup>测定藻液叶绿素a含量。

**1.3.4 水华鱼腥藻细胞活性的测定** 采用FDA-PI双色荧光法<sup>[11]</sup>检测水华鱼腥藻细胞活性。

染色剂制备方法:称取0.04 g FDA(二乙酸荧光素, Sigma)溶于10 mL丙酮中,配置成4 mg/mL的丙酮溶液,置于4℃冰箱中保存。称取0.01 g PI(碘化丙锭, Sigma)溶于10 mL DPBS缓冲溶液(Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline)<sup>[12]</sup>,配置成1 mg/mL的溶液,置于4℃冰箱中保存。

染色及观测方法:向藻液加入FDA溶液和PI溶液,使藻液中FDA浓度为100  $\mu$ g/mL、PI浓度为50  $\mu$ g/mL,振荡混合均匀后在室温黑暗处放置5 min,而后,使用荧光显微镜(Nikon 90i, 日本)在500 nm激发波长下对藻细胞活性进行观

察,观察时间保持在5 min内。在500 nm激发波长下,活细胞被FDA染成绿色,死细胞被PI染成红色,用Nikon相机拍下染色状况。使用荧光显微镜自带的NIS-Elements图像分析软件对荧光照片进行分析。

## 1.4 数据分析

数据的统计分析均使用SPSS 13.0软件进行,图表均使用Origin7.5 软件绘制。

## 1.5 干扰因素的排除

只有在排除光照抑制、营养竞争和微生物作用的前提下,才可认为藻类生长抑制是由化感作用造成的<sup>[7]</sup>。本研究参考吴晓辉<sup>[7]</sup>的实验方法对光照、营养盐和微生物作用的干扰进行了排除。

研究实验采用侧面加光,各处理组光照强度为3 000 lx,为藻类正常培养的光强,不会造成光照抑制。在化感作用和藻类毒理研究中,常采用高浓度方法来排除营养不足对藻类生长的影响<sup>[13-14]</sup>。藻类生长实验初始时的营养盐浓度均设置为1×改良hoagland,与藻类培养时的营养水平一致,不会对藻类的生长造成不利影响。在进行沉水植物种植水抑藻实验时须先排除微生物的干扰,通常可以用过滤除菌或高温高压灭菌的方法<sup>[15-17]</sup>。考虑到植物的化感物质中可能含有热不稳定物质,本研究采用了0.22  $\mu$ m的微孔滤膜过滤除菌的办法,以使微生物的影响降到较低水平。

# 2 结果与讨论

## 2.1 结果分析

**2.1.1 光密度变化情况** 实验过程中各处理组光密度变化情况见图1。

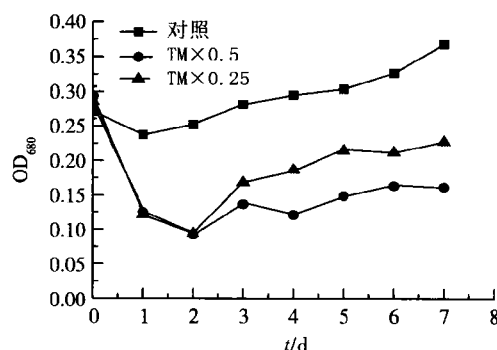


图1 光密度变化情况

实验初始时对照组和各处理组藻液的 $OD_{680}$ 值接近, 约为0.28左右, 各处理组间无显著性差异 ( $P<0.05$ )。

对照组藻液的 $OD_{680}$ 值在实验0~1 d略有降低, 1~7 d表现出持续升高, 7 d时对照组藻液的 $OD_{680}$ 值达到0.3679。

TM $\times$ 0.25处理组藻液 $OD_{680}$ 值在实验0~2 d持续降低, 2 d时出现 $OD_{680}$ 最低值0.0933, 经统计分析, 与初始时相比具有显著性差异 ( $P<0.05$ ); 2~7 d表现出持续升高, 7 d时回升至0.2272。TM $\times$ 0.5处理组藻液 $OD_{680}$ 值在实验0~2 d持续降低, 2 d时出现 $OD_{680}$ 最低值0.0920, 2~7 d则表现出持续升高, 7 d时回升至0.1612。

对实验7 d时各实验组水华鱼腥藻藻液 $OD_{680}$ 值进行统计分析可知:

(1) 对照组水华鱼腥藻藻液 $OD_{680}$ 值显著高于各处理组 ( $P<0.05$ ), 且与初始时相比显著升高 ( $P<0.05$ )。

(2) TM $\times$ 0.5处理组水华鱼腥藻藻液 $OD_{680}$ 值与初始时比较均显著下降 ( $P<0.05$ ), TM $\times$ 0.25处理组水华鱼腥藻的 $OD_{680}$ 值与初始时相比, 在 $P<0.05$ 的置信区间上无显著差异, 但 $P<0.1$ 的置信区间上存在显著性差异。

(3) TM $\times$ 0.25处理组水华鱼腥藻的 $OD_{680}$ 值显著高于TM $\times$ 0.5处理组 ( $P<0.05$ )。

2.1.2 叶绿素a变化情况 藻液叶绿素a浓度在实验开始和结束各测定一次, 结果见图2。

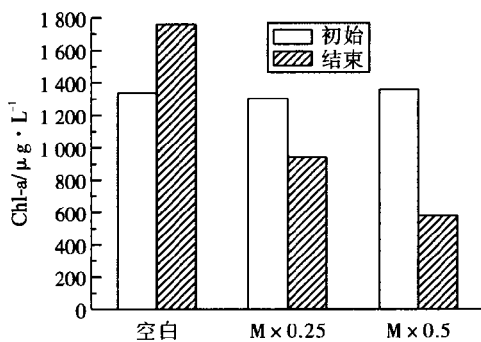


图2 Chl-a 变化情况

实验初始时各处理组叶绿素a接近, 无显

著性差异 ( $P<0.05$ )。到实验7 d时, 对照组藻液叶绿素a由初始的1339.13  $\mu\text{g/L}$  升高至1760.24  $\mu\text{g/L}$ , 显著高于各处理组 ( $P<0.05$ ), 表现一定的生长。

TM $\times$ 0.5处理组叶绿素a与实验初始时比较有显著下降 ( $P<0.05$ ), 说明TM $\times$ 0.5处理组水华鱼腥藻的生长受到了明显的抑制; TM $\times$ 0.25处理组叶绿素a与实验初始时相比, 在 $P<0.05$ 的置信区间上无显著差异, 但在 $P<0.1$ 的置信区间上存在显著性差异, 说明M $\times$ 0.25处理组水华鱼腥藻的生长受到了一定的抑制。TM $\times$ 0.5处理组叶绿素a含量显著低于TM $\times$ 0.25处理组 ( $P<0.05$ ), 由初始的1360.20  $\mu\text{g/L}$  降低至579.79  $\mu\text{g/L}$ , 去除率为57.37%, 藻液发黄。

### 2.1.3 美丽微孢藻对水华鱼腥藻细胞活性的影响

FDA本身不发荧光, 进入细胞后, 释放出荧光素, 在蓝色光激发下发射出绿色的荧光; PI是一种大分子核酸染料, 它不能透过完整的细胞膜, 只能进入有缺损的细胞膜或死亡细胞, 在蓝色光激发下发射出红色的荧光。采用FDA-PI 双色荧光法进行细胞活性检测, 活性高的细胞发出强烈的绿色荧光, 活性低的细胞发出稍显绿色的荧光, 死亡细胞和细胞碎片发出红色荧光<sup>[18]</sup>。在荧光条件下观测各处理组水华鱼腥藻细胞, 对藻液中发出耀眼绿色荧光 (绿色值大于200) 的强活性藻细胞、明亮的绿色荧光 (绿色值150~200) 的中等活性藻细胞、仅可见的绿色荧光 (绿色值100~250) 低活性藻细胞和红色荧光 (绿色值0~100) 的死亡藻细胞进行计数并计算其占总细胞数的相应比例, 结果见表2~4。

表2 对照组细胞活性变化情况

| 活性等级 | 0d/%  | 4d/%  | 7d/%  |
|------|-------|-------|-------|
| 高活性  | 84.10 | 87.13 | 92.20 |
| 中等活性 | 6.34  | 5.13  | 3.11  |
| 低活性  | 8.14  | 6.59  | 3.99  |
| 死亡   | 1.41  | 1.15  | 0.70  |

表3 TM×0.25处理组细胞活性变化情况

| 活性等级 | 0d/%  | 4d/%  | 7d/%  |
|------|-------|-------|-------|
| 高活性  | 85.82 | 1.26  | 31.40 |
| 中等活性 | 7.66  | 17.51 | 2.62  |
| 低活性  | 3.15  | 53.89 | 12.67 |
| 死亡   | 3.37  | 27.34 | 53.32 |

表4 TM×0.50细胞活性变化情况

| 活性等级 | 0d/%  | 4d/%  | 7d/%  |
|------|-------|-------|-------|
| 高活性  | 86.54 | 2.10  | 5.24  |
| 中等活性 | 7.27  | 8.46  | 7.89  |
| 低活性  | 2.99  | 12.60 | 3.93  |
| 死亡   | 3.20  | 76.84 | 82.94 |

## 2.2 结果讨论

2.2.1 光密度和叶绿素a变化情况 FDA-PI 双色荧光染色条件下藻细胞活性变化情况见图3~图8。

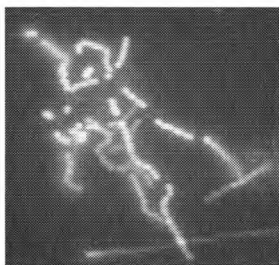


图3 0d时对照组  
荧光显微照片

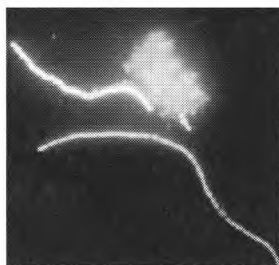


图4 7d时对照组  
荧光显微照片



图5 0d时M×0.25  
处理组荧光显微照片



图6 7d时M×0.25  
处理组荧光显微照片

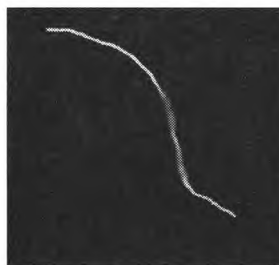


图7 0d时M×0.5  
处理组荧光显微照片

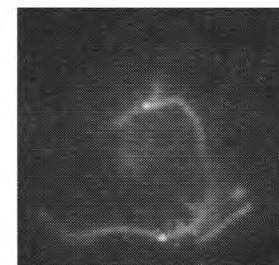


图8 7d时M×0.5  
处理组荧光显微照片

通过光密度和叶绿素a变化情况来反映藻细胞的生长情况，是研究藻类化感作用的常见方法。高李李等<sup>[19]</sup>通过蛋白核小球藻的光密度变化情况研究了化感物质肉桂酸乙酯对其生长的影响，郭亚丽等<sup>[20]</sup>通过测定铜绿微囊藻光密度在680 nm 波长处的吸光度探讨了阿魏酸和香豆素对铜绿微囊藻的化感作用，傅海燕等<sup>[4]</sup>通过叶绿素a变化情况研究了水网藻种植水对铜绿微囊藻生长的抑制作用，周世伟等<sup>[21]</sup>通过叶绿素a变化情况鼠尾藻和鸭毛藻水提液对三角褐指藻的抑制作用。通过光密度和叶绿素a变化情况来反映藻细胞的生长情况，是研究藻类化感作用的常见方法。本研究参考上述研究，采用光密度和叶绿素a来表征水华鱼腥藻的生长情况。

对照组水华鱼腥藻在整个实验过程中总体保持生长，说明水华鱼腥藻适应本实验中设置的培养条件。

TM×0.25处理组0~2 d表现出生长抑制，2~7 d 则恢复生长，表明25%的美丽微孢藻种植水在0~2 d时对水华鱼腥藻的生长产生了有效的化感抑制作用，但是2 d后化感作用降低，无法抑制水华鱼腥藻的生长，7 d时水华鱼腥藻的 $OD_{680}$ 值和叶绿素a浓度与初始相比均无显著性差异( $P>0.05$ )。总体来说，占藻液总体积25%的美丽微孢藻种植水对水华鱼腥藻化感抑制作用较弱。

TM×0.50处理组0~2d表现出生长抑制，2~7 d则缓慢生长，说明50%的美丽微孢藻种植水在0~2 d时对水华鱼腥藻的生长产生了有效的化感抑制作用，且2 d后仍能抑制水华鱼腥藻的迅速生长。7 d时TM×0.50处理组水华鱼腥藻的 $OD_{680}$ 值和叶绿素a浓度与初始相比仍存在显著性差异( $P>0.05$ )，表明占藻液总体积50%的美丽微孢藻种植水可以对水华鱼腥藻产生有效的化感抑制作用。

结果表明，25%和50%的美丽微孢藻种植水均对水华鱼腥藻的生长产生了一定的抑制作用，50%美丽微孢藻种植水对水华鱼腥藻生长的抑制作用强于25%美丽微孢藻种植水，这与周杰等<sup>[22]</sup>对两种丝状绿藻（团集纲毛藻和

鞘藻)种植水对两种常见的水华藻类(铜绿微囊藻和斜生栅藻)生长影响的研究结果类似。

### 2.2.2 美丽微孢藻对水华鱼腥藻细胞活性的影响

早在1985年, Jones et al<sup>[23]</sup>就采用了FDA-PI 双色荧光法对细胞进行活性检测,发现FDA-PI 双色荧光法细胞活性检测是一种快速、可靠的方法。近年来, FDA-PI 双色荧光法被广泛用于细胞活性检测相关研究。庄丽伟等<sup>[24]</sup>通过研究证明荧光物质FDA和PI能分别标记强活力胚胎、弱活力胚胎和死胚胎,且FDA对胚胎无毒副作用,PI对完整的胚胎也无毒副作用;苏文等<sup>[25]</sup>通过分别对铜绿微囊藻细胞进行FDA、PI染色后进行荧光检测的方法,研究了水稻秸秆浸泡液对铜绿微囊藻活性的影响;湛丽斌等<sup>[11]</sup>使用FDA-PI双色荧光法对水华鱼腥藻和铜绿微囊藻的活性进行检测,结果表明:用FDA-PI双色荧光法检测以上两种蓝藻细胞的活性时,可根据细胞所发出的不同荧光而判断细胞活性,在蓝色光激发下(495 nm),活细胞被双醋酸荧光素FDA染成亮绿色,死亡细胞和细胞碎片被碘化丙锭PI染成红色,与本研究观察的现象相符。本研究结果表明。

(1) 对照组在整个实验过程中始终保持着较高的活性,进一步说明了水华鱼腥藻可以适应本实验中设置的培养条件。

(2) TM × 0.25处理组在4 d时大部分藻细胞已经处于低活性或死亡状态;7 d时藻细胞活性出现了一定的分化,超过50%的藻细胞死亡,同时有30%以上的藻细胞处于高活性状态。表明虽然大部分藻细胞因受到25%的美丽微孢藻种植水的抑制死亡或低活性状态,但是仍有部分细胞能够抵抗其的化感作用重新复苏。25%美丽微孢藻种植水的化感控藻作用有限。

(3) TM × 0.50处理组在4 d时即有76.84%的藻细胞死亡,接近90%的藻细胞处于死亡或低活性活状态,仍能保持高活性的藻细胞仅2.10%;7 d时仍有82.94%的藻细胞死亡,86.87%的藻细胞处于死亡或低活性活状态,保持高活性的藻细胞仅5.24%。表明50%的美丽微孢藻种植水在短

期内即可将大部分水华鱼腥藻杀死,并能在一定的时期内持续控制鱼腥藻的生长,具有较强的化感控藻作用。

## 3 结论与展望

(1) 25%的美丽微孢藻种植水在0~2 d时对水华鱼腥藻的生长产生了显著的化感抑制作用,但是2 d后化感作用降低,无法显著抑制水华鱼腥藻的生长,表明25%的美丽微孢藻种植水对水华鱼腥藻化感抑制作用较弱。

(2) 50%的美丽微孢藻种植水在0~2 d时对水华鱼腥藻的生长产生了有效的化感抑制作用,2 d后化感作用降低,但仍能显著抑制水华鱼腥藻的生长,表明50%的美丽微孢藻种植水对水华鱼腥藻产生了有效的化感抑制作用。

(3) 25%的美丽微孢藻种植水在短期内会使大部分藻细胞处于死亡或低活性状态,但是仍有部分细胞能够抵抗25%的美丽微孢藻种植水的化感作用而复苏,其化感控藻作用有限。50%的美丽微孢藻种植水在短期内即可将大部分水华鱼腥藻杀死,并能在一定的时期内持续控制住水华鱼腥藻细胞的活性,具有较强的化感控藻作用。

(4) 光密度、叶绿素a和藻细胞活性的变化情况均表明,美丽微孢藻种植水在藻液中所占的比例会对其控藻效果产生重要影响,50%的美丽微孢藻种植水处理组对水华鱼腥藻的化感抑制作用强于25%的美丽微孢藻种植水。

在前期研究中我们已经发现有附植藻类(即美丽微孢藻)附着的沉水植物对水华藻类的化感抑制作用强于单一沉水植物<sup>[26]</sup>,本文通过研究进一步发现美丽微孢藻种植水可对水华鱼腥藻产生化感抑制作用,在今后防治藻类水华爆发工作中可以尝试在沉水植物或其他载体上接种美丽微孢藻,利用其化感作用抑制水华藻类的爆发,进而为水体富营养化的环境保护和生态修复工作提供参考。

(下转第23页)

## 4 结语

湖泊水质的好坏,污染的轻重,最终都会在生物上得到反映。底栖动物可以稳定地反应这些变化。从这方面来看,利用底栖动物对水体进行评价比起理化指标具有一定的优越性。通过对云龙湖底栖动物的5年研究分析表明,从生物多样性指数来看,云龙湖水质近年来有所改善,但提高幅度不大,并且生物多样性指数不考虑种的指示意义,只考虑群落的结构特征,将种类多寡、个体丰度、均匀度3者压缩成一个信息<sup>[4]</sup>。单纯用生物多样性指数评价有一定的局限性。结合种类变化、生物密度变化、优势种群变化及底质组成变化分析可知,东湖水体环境近5年呈现逐年变好的趋势。由于西湖有水产养殖区,多年饲料碎屑及水体中污染物的不断沉积,造成西湖底质有机污染及富营养化有加重的趋势,底泥中能耐污

的颤蚓类大量增多。虽然底栖动物特别是颤蚓类和摇蚊幼虫可以以底泥中腐屑、细菌及底栖藻类为食物,可以在一定程度上加速水底有机碎屑的分解和利用调节泥——水界面的物质交换,促进水体自净<sup>[9]</sup>。但是,当底质有机污染程度不断加重,超过底栖动物的利用和清除能力后,势必会对水体造成不利影响。所以应进一步优化渔业生产控制和防止水体富营养化,保护珍贵的水资源,营造出更为清洁优美的生活环境。

## 参考文献

- [1] 郭红娟,崔 博,吕 晋,等.武汉湖泊底栖动物群落结构及水质生态评价[J].华东科技大学学报:自然科学版,2005(10):88-91.
- [2] 国家环保局.水和废水监测分析方法(第四版)[M].北京:中国环境科学出版社,2006:712-713.
- [3] 彭建华,刘家寿,熊邦喜,等.湖北浮桥水库底栖动物的群落结构[J].湖泊科学,2002(14-1):90-96.
- [4] 国家环保局.水生生物监测手册[M].南京:东南大学出版社,1993:172.
- [5] 大连水产学院.淡水生物学[M].北京:农业出版社,1988:185.
- [6] Elodea nuttallii against epiphytes and phytoplankton[J].Aquatic Botany, 2006, 85(3): 203-211.
- [7] Mulderij G, Mau B, Van D E. et al. Allelopathic activity of Stratiotes aloides on phytoplankton—towards identification of allelopathic substances[J]. Hydrobiologia,2007, 584(1): 89-100.
- [8] 林 敏,潘伟斌,张太平,等.三株溶藻细菌溶藻活性代谢产物的初步研究[J].生态环境,2007, 16(02): 358-362.
- [9] 杨维东,李丽璇,刘洁生,等.海洋底栖甲藻利玛原甲藻(Proocentrum lima)对三种赤潮藻的化感作用[J].环境科学学报,2008, 28(08): 1631-1637.
- [10] 祁爱群,钱凯先,邵健忠,等.FDA-PI双色荧光分光光度法检测细胞活性变化[J].细胞生物学杂志,2000, 22(01): 50-53.
- [11] 高李李,郭沛涌,苏光明,等.化感物质肉桂酸乙酯对蛋白核小球藻生长及生理特性的影响[J].环境科学,2013, 34(1): 156-162.
- [12] 郭亚丽,傅海燕,黄国和,等.阿魏酸和香豆素对铜绿微囊藻的化感作用[J].环境科学,2013, 34(4): 1492-1497.
- [13] 周世伟,刘苏静,杨翠云,等.鼠尾藻和鸭毛藻水提液对三角褐指藻的抑制作用[J].生态环境学报,2009,18(6):2027-2032.
- [14] 周 杰,王晓琼,裴国凤.丝状绿藻种植水对栅藻和微囊藻生长的影响[J].中南民族大学学报:自然科学版,2008, 27(3): 32-35.
- [15] Jones K H, Senft J A. An Improved Method to Determine Cell Viability by Simultaneous Staining with Fluorescein Diacetate-propidium Iodide[J].The Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 1985, 33(1): 77-79.
- [16] 庄丽伟,许厚强,隋世燕,等.FDA-PI荧光双色法快速评价小鼠桑椹胚活力[J].四川动物,2009, 28(02): 209-213.
- [17] 苏 文,孔繁翔,于 洋,等.水稻秸秆浸泡液对铜绿微囊藻生理特性的影响[J].环境科学,2013, 34(1): 150-155.
- [18] 谭海剑,潘伟斌,区晓劲,等.附植藻类—黑藻体系克藻效应初探[J].水生态学杂志,2009, 2(5): 31-35.
- [19] 张饮江,李 岩,张曼曼,等.富营养化水体原位控藻技术研究进展[J].科技导报,2013, 31(10):67-73.
- [20] 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.
- [21] Rice, E L. Allelopathy (2nd edition)[M]. Orlando Florida: Academic Press Inc., 1984: 207-225.
- [22] 傅海燕,柴 天,赵 坤,等.水网藻种植水对铜绿微囊藻生长的抑制作用研究[J].环境科学,2012, 33(5): 1564-1569.
- [23] 高 瑾.太湖水华蓝藻中藻蓝蛋白的富集分离[D].无锡:江南大学,2009:3.
- [24] 吕 莹.水华束丝藻胞外聚合物生物活性的研究[D].兰州:西北师范大学,2007:27.
- [25] 吴晓辉.常见眼子菜科沉水植物对浮游藻类的化感作用研究[D].武汉:中国科学院研究生院(水生生物研究所),2005:24-37-40.
- [26] 翟唯钢,魏方林,刘梅凤,等.藻类生长抑制试验中藻细胞计数方法比较[J].农药,2013,52(7): 497-502.
- [27] 胡先文,董元彦,张新萍,等.可见分光光度法测定水华鱼腥藻[J].华中农业大学学报,2002(03): 295-297.
- [28] 李 燕,潘伟斌,杨丽丽.三株溶藻细菌胞外溶藻活性物质若干分离特性的研究[J].微生物学通报,2008, 35(02): 171-177.
- [29] 湛丽斌,梁文艳,曲久辉,等.FDA-PI双色荧光法检测蓝藻细胞活性的研究[J].环境化学,2005, 24(05): 554-557.
- [30] 杨向民.全人抗体高效真核表达载体的构建与表面重塑抗rCab1[D].西安:第四军医大学,2008:50.
- [31] 张庭廷,陈传平,何 梅,等.几种高等水生植物的克藻效应研究[J].生物学杂志,2007, 24(04): 32-36.
- [32] Erhard D, Gross E M. Allelopathic activity of Elodea canadensis and

(上接第19页)

## 参考文献

- [1] 张饮江,李 岩,张曼曼,等.富营养化水体原位控藻技术研究进展[J].科技导报,2013, 31(10):67-73.
- [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] Rice, E L. Allelopathy (2nd edition)[M]. Orlando Florida: Academic Press Inc., 1984: 207-225.
- [4] 傅海燕,柴 天,赵 坤,等.水网藻种植水对铜绿微囊藻生长的抑制作用研究[J].环境科学,2012, 33(5): 1564-1569.
- [5] 高 瑾.太湖水华蓝藻中藻蓝蛋白的富集分离[D].无锡:江南大学,2009:3.
- [6] 吕 莹.水华束丝藻胞外聚合物生物活性的研究[D].兰州:西北师范大学,2007:27.
- [7] 吴晓辉.常见眼子菜科沉水植物对浮游藻类的化感作用研究[D].武汉:中国科学院研究生院(水生生物研究所),2005:24-37-40.
- [8] 翟唯钢,魏方林,刘梅凤,等.藻类生长抑制试验中藻细胞计数方法比较[J].农药,2013,52(7): 497-502.
- [9] 胡先文,董元彦,张新萍,等.可见分光光度法测定水华鱼腥藻[J].华中农业大学学报,2002(03): 295-297.
- [10] 李 燕,潘伟斌,杨丽丽.三株溶藻细菌胞外溶藻活性物质若干分离特性的研究[J].微生物学通报,2008, 35(02): 171-177.
- [11] 湛丽斌,梁文艳,曲久辉,等.FDA-PI双色荧光法检测蓝藻细胞活性的研究[J].环境化学,2005, 24(05): 554-557.
- [12] 杨向民.全人抗体高效真核表达载体的构建与表面重塑抗rCab1[D].西安:第四军医大学,2008:50.
- [13] 张庭廷,陈传平,何 梅,等.几种高等水生植物的克藻效应研究[J].生物学杂志,2007, 24(04): 32-36.
- [14] Erhard D, Gross E M. Allelopathic activity of Elodea canadensis and