

紫玉兰对铜绿微囊藻生长的抑制作用

胡立涛, 陈建中*, 赵琴玘, 刘志宏 (湖州师范学院生命科学学院, 浙江湖州 313000)

摘要 [目的]探讨紫玉兰组织和器官对铜绿微囊藻生长的影响。[方法]在实验室条件下,以南太湖水华蓝藻铜绿微囊藻为材料,研究了不同处理方式的紫玉兰叶和花瓣对其生长的化感抑制作用。[结果]0.10%、0.50%和1.00%的紫玉兰叶提取液、高压灭菌紫玉兰叶和经过次氯酸钠消毒后的新鲜紫玉兰叶对铜绿微囊藻均有不同程度的抑制作用,0.10%紫玉兰花瓣提取液、0.10%高压灭菌紫玉兰花瓣和1.00%新鲜紫玉兰花瓣也可显著抑制铜绿微囊藻的生长。[结论]紫玉兰叶和花瓣中含有抑制铜绿微囊藻生长的化感物质,试验结果为生态控制蓝藻水华提供了理论依据。

关键词 铜绿微囊藻;紫玉兰;化感抑制

中图分类号 X173 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)16-0013-03

Inhibitory Effect of *Yulania liliiflora* on *Microcystis aeruginosa*

HU Li-tao, CHEN Jian-zhong*, ZHAO Qin-pin et al (College of Life Sciences, Huzhou University, Huzhou, Zhejiang 313000)

Abstract [Objective] To investigate the effect of the tissue and organs of *Yulania liliiflora* on the growth of *Microcystis aeruginosa*. [Method] The allelopathic effect of leaves and petals from *Y. liliiflora* on *M. aeruginosa* from south Taihu lake was studied. [Result] The 0.10%, 0.50% and 1.00% of the *Y. liliiflora* leaves extract, autoclaved *Y. liliiflora* leaves and fresh *Y. liliiflora* leaves disinfected by sodium hypochlorite had obvious inhibitory effect on *M. aeruginosa*. 0.10% of *Y. liliiflora* petal extract, 0.10% of autoclaved *Y. liliiflora* petals and 1.00% of fresh *Y. liliiflora* petals also inhibited the growth of *M. aeruginosa* significantly. [Conclusion] The leaves and petals of *Y. liliiflora* contain the allelochemicals that can inhibit the growth of *M. aeruginosa*. The results lay theoretical basis for ecological control on cyanobacterial bloom.

Key words *Microcystis aeruginosa*; *Yulania liliiflora*; Allelopathic inhibition

改革开放以来我国的经济取得了成就,但同时环境污染等一系列问题也日益突出,特别是水污染。据相关资料统计,我国90%的城市水、75%的湖泊和97%的城市地下水受到不同程度的污染,这些污染使水体表现出了不同程度的富营养化。水体富营养化往往导致藻类疯狂生长而形成水华、赤潮等,给人类环境造成污染^[1]。铜绿微囊藻是我国常见的水华微囊藻之一,也是一种典型的水华藻。控制水体富营养化和防治水华已经成为近年来环境领域的热点课题之一,而利用植物化感作用抑制藻类生长被认为是一种新型的生物抑藻技术,研究表明许多植物产生的化感物质可以抑制水体中有害藻类的生长^[2-9]。笔者以南太湖水华蓝藻铜绿微囊藻为试验材料,研究了新鲜紫玉兰叶和花、紫玉兰叶和花的提取液以及高温高压处理后的紫玉兰(*Yulania liliiflora*)叶和花对铜绿微囊藻生长的影响,旨在为利用植物的化感作用进行蓝藻水华的生态控制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 铜绿微囊藻:分离自水华暴发期间的浙江省湖州市太湖南岸表层水体,经室内扩大培养后用于试验。紫玉兰花瓣和叶:用自来水进行表面清洗,晾干后待用。

1.2 方法

1.2.1 紫玉兰叶和花瓣提取液的制备。按照Chen等^[2]的方法进行制备。将50g新鲜紫玉兰叶或花瓣切割成小于5mm×5mm的小块,混合后随机取10g放在100mL蒸馏水中煮沸2h,冷却后用玻璃纤维滤纸过滤,最后将滤液定容至100mL,即浓度为10%的提取液。

1.2.2 紫玉兰叶和花瓣提取液的抑藻活性试验。在装有BG-11培养基(母液)的培养瓶中,按浓度分别添加植物提取液并定容至最终体积200mL,对培养基进行高温高压灭菌,待培养基冷却后每瓶接种入2mL处于对数生长期的铜绿微囊藻。植物提取液的处理浓度分别为0.01%、0.10%、0.50%和1.00%,以蒸馏水作为对照,每个处理设4个重复。所有培养瓶置于培养室的培养架上进行培养,培养条件:温度25℃,日光灯照明,每天光照时间为12h,光强为5000lx。

1.2.3 高温高压灭菌紫玉兰叶和花对铜绿微囊藻的抑制作用试验。在培养瓶中装入200mL BG-11培养基,直接添加0.10%、0.50%和1.00%小于5mm×5mm的新鲜紫玉兰叶或花瓣组织,每个处理设4个重复,然后进行高温高压灭菌,冷却后向培养基中加入2mL处于对数生长期的铜绿微囊藻进行培养,培养条件同“1.2.2”。

1.2.4 次氯酸钠消毒的新鲜紫玉兰叶和花瓣对铜绿微囊藻生长的影响试验。新鲜紫玉兰叶和花瓣用0.5%次氯酸钠消毒灭菌30min后用无菌水冲洗5次。将消毒灭菌过的小于5mm×5mm的新鲜紫玉兰叶或花瓣小块组织按0.10%、0.50%和1.00%的浓度分别加入经高温高压灭菌后的200mL BG-11培养基中,最后接种2mL处于对数生长期的铜绿微囊藻进行培养,每个处理设4个重复,培养条件同“1.2.2”。

1.2.5 铜绿微囊藻生长量的测定。培养过程中,每天摇瓶2次。接种后分别于第0,1,3,5,7,⋯,31天,利用紫外-可见分光光度计,在665nm波长下测定蓝藻的OD值,再根据试验所得的藻光密度值(OD_{665nm})—藻细胞密度(个/mL)标准曲线,换算出铜绿微囊藻细胞的密度(个/mL),以藻细胞密度的变化表示铜绿微囊藻的生长情况。

1.3 数据统计 试验数据采用Excel和SPSS 13.0统计软件进行统计分析。

基金项目 浙江省自然科学基金项目(LY16C020003);国家级大学生创新创业训练计划项目(201510347013)。

作者简介 胡立涛(1994—),男,浙江临安人,本科生,专业:生物工程。
*通讯作者,博士,副教授,从事环境毒理学研究。

收稿日期 2017-04-05

2 结果与分析

2.1 紫玉兰叶提取液对铜绿微囊藻生长的影响 由图1可知,0.10%、0.50%和1.00%紫玉兰叶提取液对铜绿微囊藻均有明显的抑制作用,而0.01%紫玉兰叶提取液作用下的铜绿微囊藻生长量与对照无明显差异,其原因可能是0.01%的紫玉兰叶提取液中的化感物质含量低,不足以对蓝藻产生抑制作用。0.10%和0.50%紫玉兰叶提取液处理的铜绿微囊藻前期生长量差异不大,3 d后都基本停止了生长,但19 d后0.10%紫玉兰叶提取液处理下的铜绿微囊藻又重新以较快的生长速率继续生长,究其原因可能是0.10%提取液中的化感物质含量较低,但前期仍能起到明显的抑制作用,经过一段时间后其抑制效应有所降低。1.00%紫玉兰叶提取液作用下的铜绿微囊藻在9 d后基本停止了生长,其原因可能是浓度较高含有大量的化感物质。

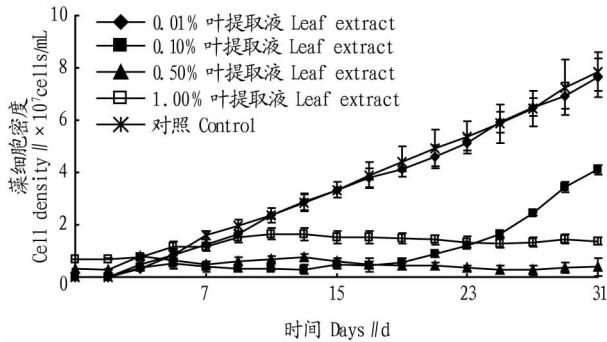


图1 紫玉兰叶提取液对铜绿微囊藻生长的影响

Fig. 1 Effect of the extract of *Y. liliiflora* leaves on the growth of *M. aeruginosa*

2.2 高温高压灭菌后的紫玉兰叶对铜绿微囊藻生长的影响 由图2可知,经过高温高压灭菌的紫玉兰叶有明显抑制铜绿微囊藻生长的作用。3 d后0.10%高温高压灭菌的紫玉兰叶处理后的铜绿微囊藻即基本停止生长,但21 d后又重新以较快的生长速率生长,31 d时其铜绿微囊藻的细胞密度为对照的36.6%;0.50%和1.00%高温高压灭菌紫玉兰叶处理后,虽然初期有一定的生长,但9 d后也基本停止生长,15 d时的藻细胞生长量分别为对照的71.3%和72.5%,31 d时则分别为对照的38.9%和44.3%。究其原因可能是较高浓度的紫玉兰叶经高温高压灭菌后,不仅释放出抑藻化感物质,

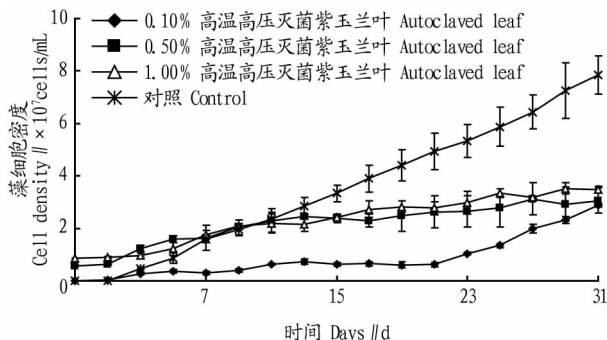


图2 高温高压灭菌紫玉兰叶对铜绿微囊藻生长的影响

Fig. 2 Effect of the autoclaved *Y. liliiflora* leaves on the growth of *M. aeruginosa*

同时也释放出较高浓度的促进蓝藻生长的营养物质。

2.3 次氯酸钠消毒后的新鲜紫玉兰叶对铜绿微囊藻生长的影响 由图3可知,经过次氯酸钠消毒过的新鲜紫玉兰叶对铜绿微囊藻有明显的抑制作用。0.10%和0.50%新鲜紫玉兰叶处理后的铜绿微囊藻生长量前期基本一致,但15 d后0.10%新鲜紫玉兰叶处理过的铜绿微囊藻又重新以较快的生长速率生长,而0.50%新鲜紫玉兰叶处理过的铜绿微囊藻基本停止生长,究其原因可能是0.10%新鲜紫玉兰叶中含有的抑藻化感物质含量较低,但初期足以起到明显的抑制作用,而后期较0.50%新鲜紫玉兰叶处理其抑制效应有所减弱。1.00%新鲜紫玉兰叶处理后的铜绿微囊藻前期生长量基本高于对照,但11 d后开始缓慢生长直至停止生长,其原因可能是1.00%新鲜紫玉兰叶含有丰富的营养物质。

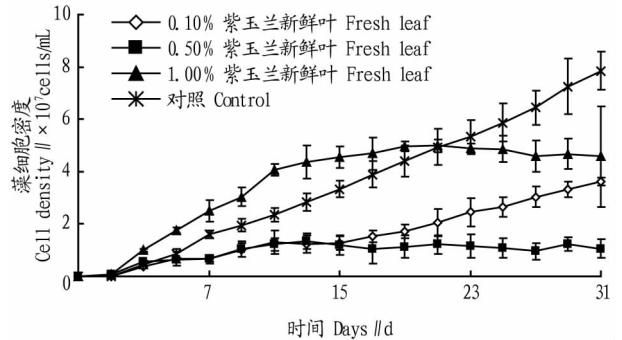


图3 新鲜紫玉兰叶对铜绿微囊藻生长的影响

Fig. 3 Effect of fresh *Y. liliiflora* leaves on the growth of *M. aeruginosa*

2.4 不同处理方式的紫玉兰叶和花对铜绿微囊藻生长影响的比较 由图4和表1可知,1.00%新鲜紫玉兰花对铜绿微囊藻具有极强的抑制作用,在处理期间铜绿微囊藻基本停止生长;同样浓度的新鲜紫玉兰叶在前期(21 d前)具有促进作用,藻细胞密度高于对照,后期有较明显的抑制作用,15 d时铜绿微囊藻的生长量为对照的137.0%,而25 d时为对照的82.8%,其抑制效果达到极显著水平。0.10%紫玉兰叶提取液对铜绿微囊藻也具有明显的抑制作用,15和25 d的抑制效果均达到极显著水平;0.10%紫玉兰花提取液、0.10%高压灭菌紫玉兰花和0.10%高压灭菌紫玉兰叶对铜绿微囊藻同样具有很强的抑制作用,且3种处理的抑藻效应

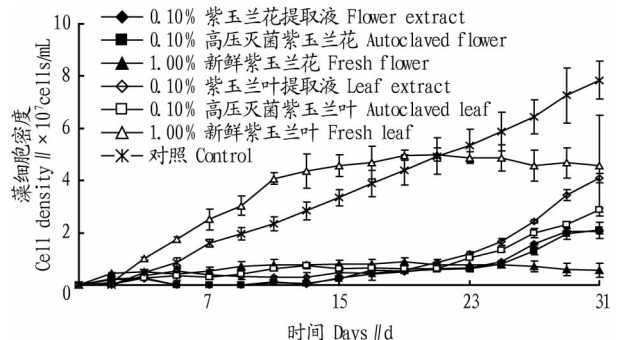


图4 紫玉兰花和叶对铜绿微囊藻生长的影响

Fig. 4 Effect of *Y. liliiflora* petals and leaves on the growth of *M. aeruginosa*

很相似,其铜绿微囊藻生长量基本处于 0.10% 紫玉兰叶提取液和 1.00% 新鲜紫玉兰花处理之间,15 和 25 d 时 3 种处理的藻细胞密度均极显著低于对照。研究表明紫玉兰花的抑藻效应优于紫玉兰叶,紫玉兰花瓣中可能含有较高浓度的抑藻化感物质。

表 1 不同处理方式的紫玉兰花瓣和叶对铜绿微囊藻生长的影响

Table 1 Effect of *Y. liliiflora* petals and leaves under different processing methods on the growth of *M. aeruginosa*

处理 Treatments	铜绿微囊藻细胞密度 Cell density // $\times 10^7$ cells/mL	
	接种 15 d 后 15 days after inoculation	接种 25 d 后 25 days after inoculation
对照 Control	3.330 \pm 0.316 bB	5.873 \pm 0.739 aA
1.00% 新鲜紫玉兰叶 1.00% fresh leaf	4.564 \pm 0.276 aA	4.860 \pm 0.375 bB
1.00% 新鲜紫玉兰花 1.00% fresh flower	0.809 \pm 0.129 cC	0.760 \pm 0.100 dD
0.10% 高压灭菌紫玉兰叶 0.10% autoclaved leaf	0.635 \pm 0.058 cdCD	0.348 \pm 0.084 cdCD
0.10% 高压灭菌紫玉兰花 0.10% autoclaved flower	0.236 \pm 0.028 eD	0.814 \pm 0.052 dD
0.10% 紫玉兰叶提取液 0.10% leaf extract	0.461 \pm 0.138 deCD	1.665 \pm 0.127 cC
0.10% 紫玉兰花提取液 0.10% flower extract	0.281 \pm 0.040 eD	0.887 \pm 0.067 cdD

注:同列数据后不同大、小写字母分别表示不同处理间在 0.01、0.05 水平差异显著

Note: Different capital letters and small letters at the same column showed significant differences among treatments at 0.01 and 0.05 level, respectively

3 讨论

蓝藻的疯长导致生态环境的一种不平衡,而其结果往往引起严重的生态破坏,造成巨大的经济损失,因此有必要采取切实有效措施进行预防和处理,避免水生生态系统的生态平衡遭到破坏,而如何有效处理是国内外的一个热门研究课题,常见的方法有物理法、化学法、综合处理法和生物法等。现在生物法逐渐得到认可成为主流的处理方法之一,这不仅是因为其具有快速高效、经济等特点,更主要的是其达到标本共治的效果且对生态平衡无破坏作用^[1-9]。

该研究利用紫玉兰叶和花瓣探讨了植物材料(或废弃物)对太湖蓝藻铜绿微囊藻的化感抑制效应。研究结果表

明,0.01% 紫玉兰叶提取液处理后,由于其处理浓度太低而含有较低浓度的抑藻化感物质,因而对蓝藻的生长无明显抑制作用,这与前人的研究结果^[2-4]基本一致。其他处理 0.10%、0.50% 和 1.00% 的紫玉兰叶提取液、高压灭菌紫玉兰叶和新鲜紫玉兰叶以及 0.10% 紫玉兰花提取液、0.10% 高压灭菌紫玉兰花和 1.00% 新鲜紫玉兰花均对铜绿微囊藻具有不同程度的明显抑制作用;1.00% 新鲜紫玉兰叶处理后,虽然前期(21 d 前)由于含有较高浓度的营养物质,其促进作用大于其中抑藻物质的抑制作用,但处理后仍具有较明显的蓝藻生长抑制效应,第 31 天时的蓝藻生长量仅为对照的 58.3%,而其他处理均优于该处理,表明紫玉兰叶和花瓣组织是较为理想的抑制蓝藻生长的植物材料。

4 结论

除了 0.01% 紫玉兰叶提取液对铜绿微囊藻没有抑制作用外,其他处理 0.10%、0.50% 和 1.00% 的紫玉兰叶提取液、高压灭菌紫玉兰叶和新鲜紫玉兰叶以及 0.10% 紫玉兰花提取液、0.10% 高压灭菌紫玉兰花和 1.00% 新鲜紫玉兰花均对铜绿微囊藻具有不同程度的抑制作用。

紫玉兰叶和花瓣中含有抑制铜绿微囊藻生长的化感物质,该研究结果可为生态控制蓝藻水华提供理论依据。

参考文献

- [1] SUN X X, CHOI J K, KIM E K. A preliminary study on the mechanism of harmful algal bloom mitigation by use of sophorolipid treatment[J]. Journal of experimental marine biology and ecology, 2004, 304(1): 35-49.
- [2] CHEN J Z, LIU Z L, REN G J, et al. Control of *Microcystis aeruginosa* TH01109 by batangs mandarin skin and dwarf banana peel[J]. Water S A, 2004, 30(2): 279-282.
- [3] 陈卫民, 张清敏, 戴树桂. 苦草与铜绿微囊藻的相互化感作用[J]. 中国环境科学, 2009, 29(2): 147-151.
- [4] 洪喻, 胡洪营. 水生植物化感抑藻作用研究与应用[J]. 科学通报, 2009, 54(3): 287-293.
- [5] 吴程. 高等水生植物化感抑藻效应及其影响因素和机理研究[D]. 昆明: 云南大学, 2008.
- [6] 李锋民, 胡洪营. 生物化感作用在水处理中的应用[J]. 中国给水排水, 2003, 19(7): 38-40.
- [7] 李磊, 侯文华. 荷花和睡莲种植水对铜绿微囊藻生长的抑制作用研究[J]. 环境科学, 2007, 28(10): 2180-2186.
- [8] 冯菁, 朱擎, 吴为中, 等. 稻草浸泡液对藻类抑制作用机制[J]. 环境科学, 2008, 29(12): 3376-3381.
- [9] 齐健, 陈建中, 张剑, 等. 花生壳对水华蓝藻的化感抑制作用研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(29): 18114-18115, 18243.

(上接第 12 页)

- [26] BRAY E A. Abscisic acid regulation of gene expression during water-deficit stress in the era of the *Arabidopsis* genome[J]. Plant cell & environment, 2002, 25(2): 153-161.

- [27] BOUDSOCQ M, BARBIERBRYGOO H, LAURIÈRE C. Identification of nine sucrose nonfermenting 1-related protein kinases 2 activated by hyperosmotic and saline stresses in *Arabidopsis thaliana*[J]. Journal of biological chemistry, 2004, 279(40): 41758-41766.

本刊提示 参考文献只列主要的、公开发表的文献,序号按文中出现先后编排。著录格式(含标点)如下:(1)期刊——作者(不超过 3 人者全部写出,超过者只写前 3 位,后加“等”)。文章题名[J]。期刊名,年份,卷(期):起止页码。(2)图书——编著者.书名[M]。版次(第一版不写)。出版地:出版者,出版年:起止页码。(3)论文集——析出文献作者.题名[C]//。主编.论文集名.出版地:出版者,出版年:起止页码。