

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2015.10.2015040901

汪小雄,姜成春,汪晓军,等.白玉兰落叶水浸出液抑制蓝藻生长和叶绿素荧光特性分析[J].环境化学,2015,34(10):1867-1874

WANG Xiaoxiong, JIANG Chengchun, WANG Xiaojun, et al. Effects of aqueous extract of *Magnolia denudata* defoliation on the growth and chlorophyll fluorescence characteristics of cyanobacterium[J].Environmental Chemistry, 2015, 34(10):1867-1874

白玉兰落叶水浸出液抑制蓝藻生长和 叶绿素荧光特性分析*

汪小雄^{1,2**} 姜成春² 汪晓军¹ 谢炜平² 朱佳²

(1. 华南理工大学环境科学与工程学院, 广州, 510640; 2. 深圳职业技术学院建筑与环境工程学院, 深圳, 518055)

摘要 利用浮游植物荧光仪对暴露于不同浓度白玉兰落叶水浸出液下微囊藻生长、最大光合作用效率(F_v/F_m)、实际光合作用效率 $[Y(II)]$ 、光能利用效率(α)和最大相对电子传递速率($rETR_{max}$)进行为期15 d的检测,分析白玉兰落叶浸出液对微囊藻的抑制效应和叶绿素荧光特性影响.结果发现,白玉兰落叶浸出液能有效抑制微囊藻的生长,呈明显浓度抑制型变化,抑藻能力随时间的延长而下降.低浓度(0.4、0.8、1.2、1.6 $g \cdot L^{-1}$)浸出液胁迫下,对微囊藻叶绿素荧光参数无显著影响;高浓度(2.0 $g \cdot L^{-1}$)浸出液胁迫下,在早期(4 d内)对荧光参数有极显著抑制作用.三维荧光图谱表明,在投量为2.0 $g \cdot L^{-1}$ 时,第15天色氨酸及酪氨酸荧光峰强度约为1.2 $g \cdot L^{-1}$ 投量情况下的1/3,同时腐殖酸的荧光峰强度减弱.第7—15天,藻细胞生长的半抑制浓度 EC_{50} 值最小约为0.5—0.7 $g \cdot L^{-1}$.

关键词 白玉兰, 铜绿微囊藻, 化感作用, 浮游植物荧光仪.

Effects of aqueous extract of *Magnolia denudata* defoliation on the growth and chlorophyll fluorescence characteristics of cyanobacterium

WANG Xiaoxiong^{1,2**} JIANG Chengchun² WANG Xiaojun¹ XIE Weiping² ZHU Jia²

(1. College of Environment and Energy, South China University of Technology, Guangzhou, 510640, China;

2. School of Civil and Environmental Engineering, Shenzhen Polytechnic, Shenzhen, 518055, China)

Abstract: The growth and physiology of bloom-forming *M. aeruginosa* were determined by the pulse amplitude modulated fluorimetry when exposed to aqueous extract of *M. denudata* defoliation for 15 d. The cell growth, maximal efficiency (F_v/F_m), effective quantum yield ($Y(II)$) of PS II photochemistry, photosynthesis efficiency (α) and maximum relative electron transport rate ($rETR_{max}$) were used to evaluate the growth and photosynthesis in *M. aeruginosa*. The extract stored for 5 days significantly inhibited the growth of *M. aeruginosa* in a concentration-dependent way. It showed that low concentrations (0.4, 0.8, 1.2 and 1.6 $g \cdot L^{-1}$) of the extract had little effect on the four chlorophyll fluorescence parameters. However, high concentration (2.0 $g \cdot L^{-1}$) of the extract significantly affected the fluorescence parameters at early stage (4 d). Three-dimensional fluorescence spectroscopy showed that on day 15 of the treatment the peak intensity of tryptophan and tyrosine fluorescence with 2.0 $g \cdot L^{-1}$ extract is about a third of than 1.2 $g \cdot L^{-1}$ extract. At the same time, the peak intensity of humic acid fluorescence was much weaker. On 7—15 d, the EC_{50} of algal growth was the smallest which was about 0.5—0.7 $g \cdot L^{-1}$.

2015年4月9日收稿.

* 国家自然科学基金(51378316);公益性行业水利科研专项(201301047);深圳市科技局(JCYJ20130331151242230, JCYJ201504301657307)资助.

** 通讯联系人; E-mail: wangxiaoxiong20@szpt.edu.cn

Keywords: *Magnolia denudate*, *Microcystis aeruginosa*, allelopathy, pulse amplitude modulated fluorimetry.

近年来,我国湖泊、河流等水体有害藻类暴发现象频繁,水华发生的频率与严重程度增长趋势明显,蓝藻是引起藻类水华的主要污染藻类,为优势藻种,其暴发可能引起恶臭、释放藻毒素、堵塞滤除床,威胁到饮用水水源安全^[1-2].目前,国内外除藻方法主要为物理法、化学法和生物法等3大类^[3-6].物理方法不能从根本上解决营养成分对藻类的刺激作用,化学除藻虽然具有一定效果,但易造成环境污染或破坏生态平衡^[7].生物控藻技术是一种生态修复技术,虽处于发展初期,但发展前景良好.化感控藻被认为是一种新型的生物抑藻技术,具有高效、经济、生态学风险小等特点,近年来备受国内外关注^[8-9].

迄今为止,利用农作物化感作用控藻,应用效果最好的是大麦^[10-12]和稻草秸秆^[13-15],无论在现场或者实验室实验,都证明了其抑制藻类生长的有效性.多种乔木植物新鲜叶片浸出液的控藻研究表明,广玉兰、龙爪槐和黄杨抑藻活性较强^[16-17].以上植物浸出液的控藻实验中,最大浸出液的投入量为8.0—10.0 g·L⁻¹,在抑制藻类生长的同时,可能导致水体营养盐的增加.无论是利用水生植物,还是陆生植物的化感活性控藻,报道多以鲜活植物体在培植条件下种植水对藻类的化感作用,或者利用植物的新鲜植物器官浸出液抑藻为主,然而利用植物器官的废弃物(如植物落叶),废弃物浸出液是否具有化感抑藻活性的报道较少.虽然植物的化感作用控藻已引起人们广泛关注,但依然存在以下问题亟需解决:某些植物浸出液的制备时间较长,有的长达3个月之久;植物浸出液的投入量问题;部分实验为短期(1—7 d)甚至更短的胁迫实验,不能较长时间反映控藻效果;实验过程中,浸出液胁迫对蓝藻光合作用参数的影响.乔木植物广玉兰具有较强的抑藻活性,铜绿微囊藻抑制率可达97.4%^[17].白玉兰(*Magnolia denudata*)属于落叶乔木,与广玉兰同属于木兰科植物,主要分布于中国中部及西南地区,建立以白玉兰落叶抑藻机制为基础的水体生态调控体系,具有潜在的实用价值,如利用落叶控藻,还具有废物利用等优点.

本文以白玉兰落叶为实验材料,分析落叶水浸出液对微囊藻的生长和叶绿素荧光特性的影响,以期对白玉兰落叶水浸出液控藻的应用提供依据.

1 材料与方方法

1.1 实验材料

白玉兰落叶采自于人工种植树种,采集地点位于广东省深圳市某高校校园,树龄约8—10 a,收集地面脱落的较干净的树叶用于实验,为缩短落叶水浸出液的制备时间,制备方法参照苏文等^[15]的方法:落叶用自来水冲洗3—5次,40℃下干燥5 d,人工将落叶揉碎,取50 g粉碎落叶浸泡于装有500 mL蒸馏水的锥形瓶中,26℃人工气候箱放置5 d后,用0.22 μm滤膜抽滤浸出液,减少其他微生物影响,存于冰箱中冷藏待用.

1.2 藻种及培养

藻种铜绿微囊藻由中国科学院武汉水生生物研究所提供,在BG-11培养基^[18]中培养,光照培养箱,培养条件为:光强约30 μmol·m⁻²·s⁻¹,温度26±1℃,光暗比12 h:12 h,每天定时摇晃1—2次.

1.3 实验方法

从抑藻有效性和不增加水体的营养盐风险考虑,设置1个对照组和5个质量浓度梯度组(初始值为0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 g·L⁻¹)用于实验,在250 mL锥形瓶内加入100 mL BG-11培养基,接种处于对数生长期的铜绿微囊藻1 mL,实验开始处理组中分别添加白玉兰母液0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mL,蒸馏水定容到相同体积,每个浓度梯度设置3个平行样,实验重复3次,于实验第1、4、7、10、15天取样,测定叶绿素a浓度和叶绿素荧光各项参数.

1.4 叶绿素荧光参数的测定

采用德国Walz公司的浮游植物荧光仪(Phyto-PAM)测定.微藻样品暗适应2 min后进行测量,叶绿素荧光参数 F_v/F_m (最大光能转化效率)、 $Y(II)$ (实际光能转化效率)、叶绿素a浓度可在荧光仪上直

接读出,通过拟合快速光曲线,得到 α 和 $rETR_{max}$ 光合参数。

1.5 三维荧光光谱分析

三维荧光光谱采用日本岛津荧光分光光度计(日立 F-7000)测定。激发波长 E_x 和发射波长 E_m 均为 5 nm;扫描波长范围为 E_x 和 E_m 均为 200—600 nm;扫描光谱进行仪器自动校正。取对照组和质量浓度为 1.2、2.0 $g \cdot L^{-1}$ 处理组的藻液于实验第 1、7、15 天扫描检测。

1.6 EC_{50} 的计算

EC_{50} 是指半抑制浓度,采用 SPSS13.0 软件包计算,参照贾春生的计算方法^[19]。菜单中调出 Probit Analyze 对话框, total 为对照组叶绿素 a 浓度, response 为对照组与相应浓度处理的差值,选择常用对数转换,其它保持默认选项。

1.7 统计分析

运用 SPSS13.0 软件包进行统计分析,水浸出液浓度和胁迫时间作为双因子自变量,进行双因子方差分析并对实验结果进行统计分析, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与讨论

2.1 白玉兰落叶浸出液对铜绿微囊藻生长的抑制作用

采用的白玉兰浸出液的浓度为 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 $g \cdot L^{-1}$,研究其对微囊藻的抑制效果,根据叶绿素 a 与对照组百分比来表征,结果如图 1 所示。研究发现,处理组从第 1 天(接种当天算起),藻的生长没有多大的变化,并没有受到明显抑制,处理各组的叶绿素 a 相对含量为 85%—95%之间,无显著差异($P > 0.05$)。第 4—10 天时,在低浓度(0.4—0.8 $g \cdot L^{-1}$)浸出液情况下,叶绿素 a 相对含量为 25%—85%,第 15 天时,相对含量约为 50%,与对照组相比,抑制效果具有显著性差异($P < 0.01$);同样,在较高浓度(1.2—2.0 $g \cdot L^{-1}$)浸出液时,叶绿素 a 相对含量为 15%—30%,第 7 天叶绿素 a 相对含量最低约为 15.1% (浸出液浓度为 2.0 $g \cdot L^{-1}$),与对照相比,抑制效果具有显著性影响($P < 0.01$)。在培养的后期(第 15 天),浸出液浓度 0.8—2.0 $g \cdot L^{-1}$ 组叶绿素 a 相对含量相比第 10 天稍微增加,抑制能力减弱。

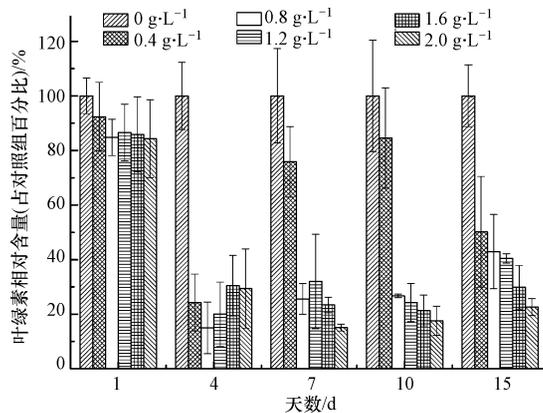


图 1 白玉兰落叶浸出液对铜绿微囊藻暴露 1、4、7、10、15 d 后叶绿素 a 相对含量的影响

Fig.1 The relative content of Chl-a of *M. aeruginosa* after 1, 4, 7, 10 and 15 d *M. denudata* defoliation exposure

水稻秸秆对铜绿微囊藻生长的抑制作用表明,处理组从第 1 天开始,藻的生长就受明显抑制,第 15 天时抑藻效果有所下降,但高浓度处理组(8.0 $g \cdot L^{-1}$ 和 10.0 $g \cdot L^{-1}$)抑藻效果仍可达 60%,与对照相比具有极显著差异^[15]。相对于西方型大麦秸秆,东方型大麦秸秆提取液在较高浓度情况下(2.0—10.0 $g \cdot L^{-1}$),能有效抑制铜绿微囊藻的生长,但第 15 天时其抑藻能力与第 10 天比较有所下降^[20]。本实验表明,铜绿微囊藻在白玉兰落叶水浸出液胁迫下,控藻效果随浸出液浓度的增加而升高,随着暴露时间的增加,抑藻能力降低。落叶浸出液中含有的化感抑藻活性物质不稳定,在较长时间的胁迫下,逐渐发生分解,抑藻效果降低,其他学者的研究表明,抑藻活性物质可能对氧气或微生物敏感,时间越长,抑藻效果越差^[15, 21]。另外,本实验较低浓度落叶水浸出液(0.4—2.0 $g \cdot L^{-1}$),第 15 天的抑藻效果可达 77%左

右(浸出液浓度 $2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$).在生产实践中,低浓度的水浸出液,有利于降低水体营养盐增加风险.

2.2 白玉兰落叶浸出液对铜绿微囊藻叶绿素 a 浓度的影响

通过测定铜绿微囊藻叶绿素 a 浓度,第 1 天各组叶绿素 a 含量在 $30\text{—}35 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间(图 2),处理组和对照组差异区别不大,无显著差异($P>0.05$).第 10 天时,在低浓度浸出液胁迫下,叶绿素 a 浓度约为 $2216 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ($0.4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 $743 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ($0.8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$),与对照组相比,抑制效果具有显著差异($P<0.01$);高浓度组中,叶绿素 a 浓度分别是 $636, 558, 460 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (浸出液浓度分别为 $1.2, 1.6, 2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$).第 15 天时,控藻能力最强的浸出液浓度为 $2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,叶绿素 a 浓度为 $1220 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右,对照组中约为 $5400 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,叶绿素 a 含量约为对照组的 23%,抑制效果具有显著差异($P<0.01$).

叶绿素 a 含量与其光合作用密切相关.抑藻物质通过破坏藻类叶绿素,影响其光合作用,从而降低其生物量^[22].水生植物对藻类化感作用研究表明,黄菖蒲和狭叶香蒲可以诱导微囊藻产生氧化胁迫,导致叶绿素大量分解^[23],金鱼藻能明显降低铜绿微囊藻的叶绿素 a 浓度^[24].芦苇中分离出的化感物质 2-甲基乙酰乙酸乙酯(EMA)显著加速微囊藻细胞叶绿素 a 的降解,降低铜绿微囊藻的光合作用速率^[25].乔木植物中,广玉兰新鲜叶片分泌的提取物能够破坏微囊藻的叶绿素,影响光合色素的合成和积累,降低细胞吸收光能的能力,光合作用减弱,生长受到抑制^[17].本研究表明,白玉兰落叶浸出液能有效抑制微囊藻的叶绿素 a 的浓度,控制微囊藻的生长作用,可能落叶中含有的化感物质破坏或阻止藻类中叶绿素的合成.然而,在实验的后期,即使较高浓度的处理组,其叶绿素 a 浓度依然较高,因此,在实际应用中,必须定期添加浸出液,才可能阻止藻类的过快生长,这与大麦、水稻等多种植物的化感控藻中研究相似^[10,15],可能为化感控藻的普遍现象.

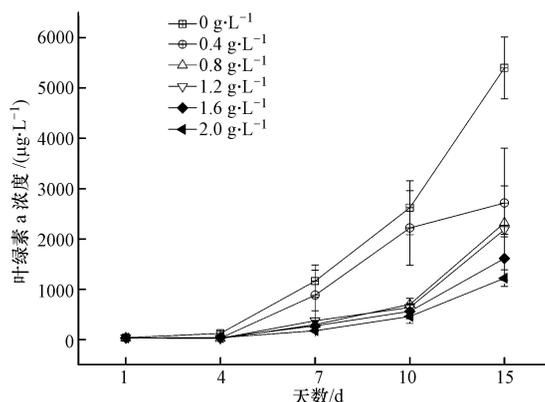


图 2 白玉兰落叶浸出液对铜绿微囊藻暴露 1、4、7、10、15 d 后叶绿素 a 浓度的影响

Fig.2 Chl-a concentration of *M. aeruginosa* after 1, 4, 7, 10 and 15 d *M. denudata* defoliation exposure

2.3 白玉兰落叶浸出液对铜绿微囊藻叶绿素荧光参数的影响

抑制光系统 II (PS II) 是另一种机制化感作用, F_v/F_m 和 $Y(II)$ 分别表示 PS II 光系统的最大光能转化效率和潜在活性,是反映微藻生长是否良好的重要指标^[26-27].白玉兰落叶浸出液对铜绿微囊藻叶绿素荧光参数 F_v/F_m 和 $Y(II)$ 的影响结果如图 3(a)、(b) 所示.第 1 天,对照组和处理组的 F_v/F_m 在 0.55 左右,第 4 天,对照组 F_v/F_m 的值上升较快,接近 0.8,第 7—15 天期间,对照组和各处理组变化不是特别明显,保持在 0.7 左右(图 3(a)). $Y(II)$ 与 F_v/F_m 值变化趋势相同,各组的 $Y(II)$ 值比 F_v/F_m 值偏小(图 3(b)).对照组与低浓度浸出液处理下 ($0.4, 0.8, 1.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), F_v/F_m 和 $Y(II)$ 值在第 1—7 天增长迅速,从第 7 天开始,基本上处于稳定状态,可能较低浓度的浸出液不足以影响到微藻的 PS II 反应中心,或者微囊藻存在反应中心的修复系统;反之,高浓度的浸出液 ($1.6, 2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 对微藻 F_v/F_m 和 $Y(II)$ 的影响极显著($P<0.01$).

α , rETRmax 分别表示光能利用效率和最大相对电子传递速率,白玉兰落叶浸出液对铜绿微囊藻上述荧光参数的影响结果如图 3(c)、(d) 所示.第 1 天,对照和各处理组 α 值变化不明显,维持在 $0.2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}$ 左右.第 4 天时,高浓度处理组 ($1.6, 2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) α 值明显下降,浸出液浓度为 $2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, α 值为 $0.17 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}$,约为对照组的 57%,下降幅度明显,与对照组相比,具有极显著影响($P<$

0.01).第7—15天,对照和处理组的 α 值保持在 $0.3 \mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}$ 左右(图 3(c)).除高浓度处理组 ($2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 $r\text{ETR}_{\text{max}}$ 在第1—4天有所滑落外,其余各组 $r\text{ETR}_{\text{max}}$ 值从第1天到第7天,一直表现为升高,至第7—15天,保持在到 160—200 a.u. 之间, $r\text{ETR}_{\text{max}}$ 的最低值约为 95.6 a.u. ($2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 第4天),相应对照组约为 179.0 a.u.,约为对照组的 53.4%(图 3(d)),具有极显著影响 ($P < 0.01$).

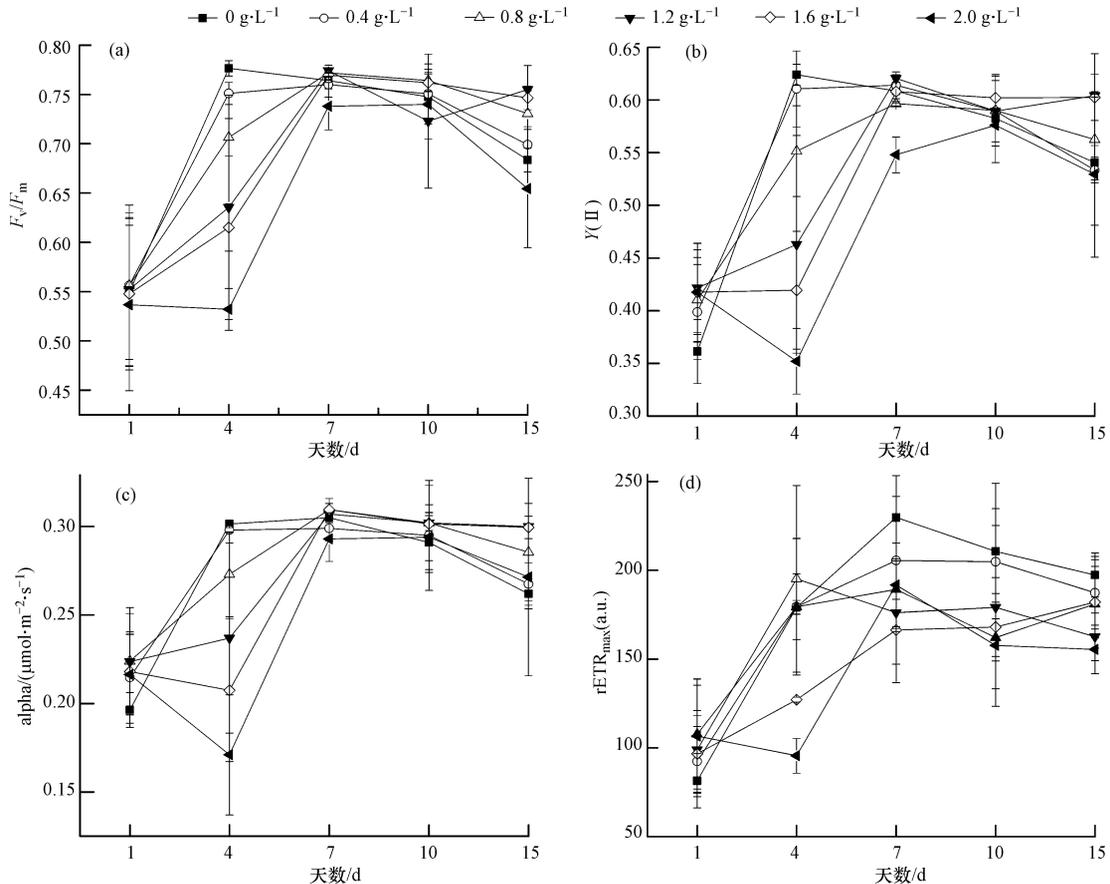


图 3 白玉兰落叶浸出液对铜绿微囊藻叶绿素荧光参数的影响

Fig.3 Effect of *M. denudata* defoliation extract on the fluorescence parameters of *M. aeruginosa*

有研究认为,化感物质中的酮类、多酚类、酚酸类及二萜类物质为很强的电子受体,通过争夺 PS II 电子传递链中的电子,阻断电子传递链^[28].某些脂肪酸类物质能破坏光合反应中心膜结构^[29-31],从而抑制微藻的荧光参数.实验结果表明,高浓度的白玉兰落叶水浸出液 ($1.6, 2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)、胁迫时间和两者的交互作用对微囊藻荧光参数具有极显著影响,低浓度浸出液 ($0.4-1.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 影响不显著,在胁迫后期,浸出液对叶绿素荧光参数影响减弱.表明在早期阶段(第1—4天),高浓度抑制了微囊藻光合作用 PS II 的原初反应,后期阶段(第4—15天),微囊藻适应了浸出液胁迫,PS II 反应中心又恢复正常.桉树叶水浸出液对海洋微藻的研究表明,荧光参数在后期阶段(72、96 h)逐渐适应了这种胁迫^[32],该结果与本研究的浸出液的胁迫作用对荧光参数的影响趋势相似.

2.4 白玉兰落叶浸出液对铜绿微囊藻三维荧光的影响

采用三维荧光光谱,研究白玉兰落叶浸出液对于藻细胞光谱的影响,结果如图 4 所示.对照组谱图中主要包括 1 个荧光峰,该荧光峰主要为微生物溶解性代谢物而产生的,位于激发/发射波长 280/310 nm 附近,可能为色氨酸及酪氨酸的荧光峰^[33],荧光峰的强度第 1 天,第 7 天和第 15 天分别为: 15.0, 17.0 和 36.9,第 15 天的荧光强度约为第 1 天的 2.5 倍,与叶绿素 a 浓度的增加趋势一致.白玉兰落叶浸出液的添加,谱图中除出现色氨酸及酪氨酸的荧光峰外,出现另两处对应的荧光峰,其中一个为腐殖酸对应的荧光峰(位于 310/430 nm 附近),另一个荧光峰 340/440 nm 附近,具体为何种物质有待确定,与预氯化会导致荧光峰强度和位置的变化^[34]相同,白玉兰落叶浸出液同样会引起荧光峰强度和位置发生

变化,当投量从 $1.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 升高至 $2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,色氨酸及酪氨酸的荧光峰相对强度有所上升,且位置发生偏移,在投量增加的情况下,腐殖酸的对应荧光峰强度增加,第 15 天时,在投量为 $2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,色氨酸及酪氨酸荧光峰强度约为对照组的 0.3 倍,腐殖酸的荧光峰强度约为第 1 天的 0.37 倍,荧光峰强度随着时间的推移逐渐减弱,可能是该类物质易降解的缘故。

许多水生植物能产生黄酮类物质,Huang 等研究表明,5,4'-二羟基黄酮、芹黄素和毛地黄黄酮等 3 种物质能显著抑制蓝藻的生长^[35].大麦秸秆水浸出液中主要的抑藻成分为一对旋光异构体:Salcolin A 和 Salcolin B,其分子式 $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{O}_{11}$,前者通过抑制藻细胞内酯酶的活性和细胞膜去极化,后者直接作用于藻细胞的细胞膜,使其破裂而导致死亡^[10].盐京九号水稻秸秆乙醚提取液结果显示,浸提液中有有机酸类和酚类物质有显著的抑藻效应^[21].广玉兰叶片正丁醇提取物中含有大量的抑藻活性物质,能够对铜绿微囊藻起到很好的抑制效果,抑藻活性物质为小分子的醇类、酮类和酯类物质^[16].白玉兰落叶水浸出液腐殖酸的荧光峰为何种物质,需要其它实验来证实,后期将对水浸出液的提取物进一步研究,并对其有效成分进行分离提纯和化学鉴定,争取得到安全高效的抑藻活性物质。

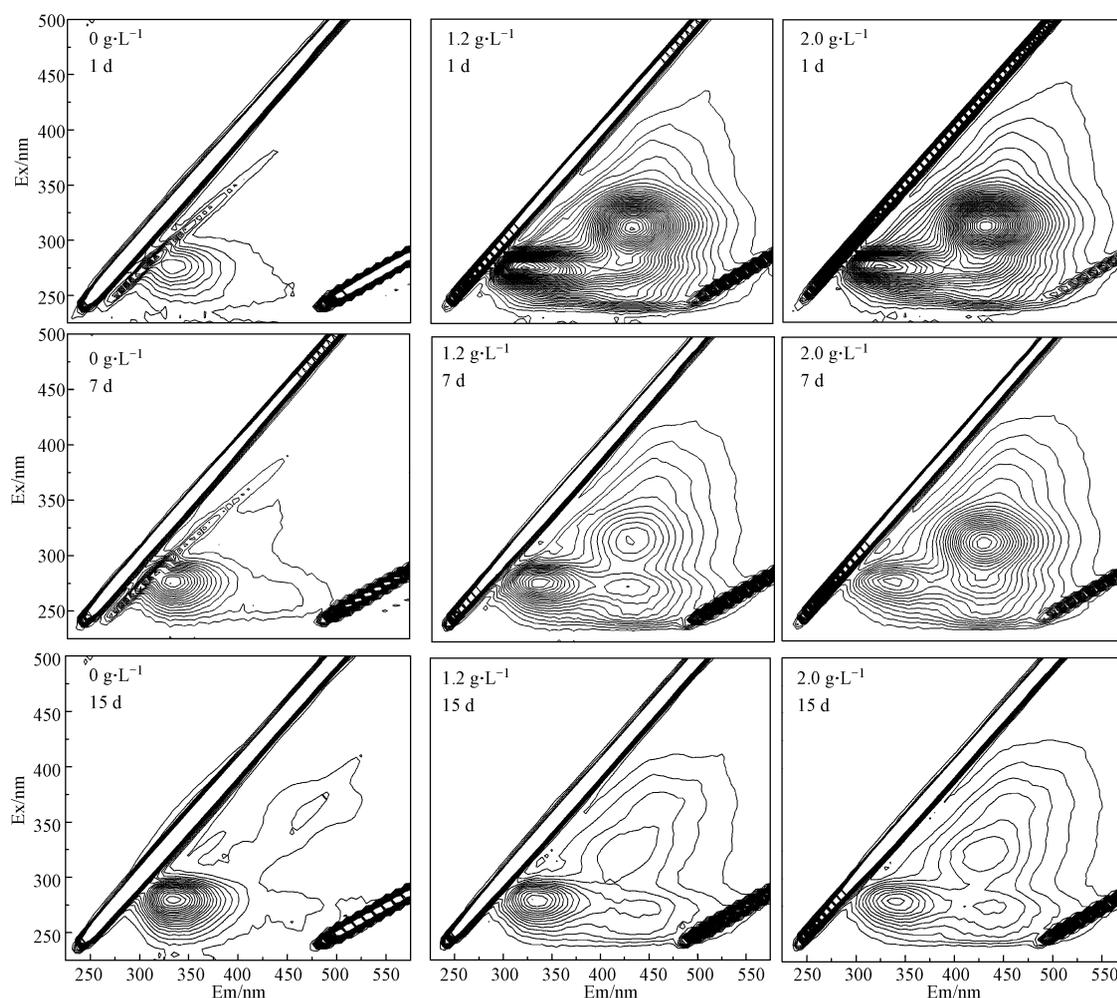


图 4 白玉兰落叶浸出液在第 1、7、15 天铜绿微囊藻的三维荧光图谱

Fig. 4 EEM fluorescence spectra of *M. aeruginosa* after 1, 7, 15 d exposure to *M. denudata* defoliation extract

2.5 白玉兰落叶浸出液对铜绿微囊藻 EC_{50} 的影响

在不同的时间,微囊藻的 EC_{50} 有区别,由表 1 中可知,其中在第 1、4 天时, EC_{50} 值偏高,远大于第 7—15 天.在第 1—4 天时,表明浸出液在早期对微囊藻的抑制效果较弱,可能是浸出液中活性物质还没有表现作用,或相关活性物质并没有得到有效降解,并没有影响到藻的生长的原因;在第 7—15 天时, EC_{50} 值变化差别不大,约为 $0.5\text{--}0.7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,处于最低值.大麦秸秆抑藻 15 d 的培养期中,培养后期细胞生长的 EC_{50} 值较小^[21],而稻秆在培养的第 1—15 天,细胞生长的 EC_{50} 值基本变化不大^[26],两者第 15 天细胞生

长(藻细胞数量)的 EC_{50} 约为 $6.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。白玉兰落叶第 7—15 天时,细胞生长(叶绿素 a) EC_{50} 值最小值,约为稻秆或大麦秸秆的 1/10。本研究与以上结果存在差异,原因可能与实验中所用的植物浸出液的种类不同,抑藻活性物质存在区别有关。另外,实验中只需投入较少量的落叶而能达到较好的控藻效果,减少水体营养盐投入的风险。

表 1 白玉兰落叶水浸出液处理第 1、4、7、10、15 天的铜绿微囊藻叶绿素 a 浓度的 EC_{50} 变化
Table 1 EC_{50} for the Chl-a concentration of *M. aeruginosa* after 1,4,7,10 and 15 d treatment with the water extract of *M. denudata* defoliation

处理/d	1 d	4 d	7 d	10 d	15 d
$EC_{50}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	19.95	10.97	0.66	0.71	0.48

3 结论

(1) 白玉兰落叶浸出液抑制铜绿微囊藻生长的半抑制浓度值表明,第 7—15 天的 EC_{50} 值最小,该时间段浸出液抑藻效果较强;当浸出液浓度为 $2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (干重),第 15 天的抑藻效果可达 77% 左右,抑藻效果随着胁迫时间的延长抑制效果呈先增强后下滑的趋势。

(2) 低浓度 ($0.4, 0.8, 1.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 浸出液胁迫下,对微囊藻叶绿素荧光参数无显著影响;高浓度 ($1.6, 2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 浸出液胁迫下,在早期 (4 d 内) 对荧光参数有显著抑制作用。

(3) 白玉兰落叶浸出液的投加会引起色氨酸及酪氨酸的荧光峰强度上升,较高投量能有效抑制与微囊藻生长密切相关的色氨酸及酪氨酸荧光峰强度,同时腐殖酸的荧光峰强度随着时间的推移减弱。

参 考 文 献

- [1] 闫海,潘纲,张明明,等.微囊藻毒素的提取和提纯研究[J].环境科学学报,2004,24(2):355-359
- [2] 汪小雄,姜成春,朱佳,等.臭氧灭活水中铜绿微囊藻影响因素研究[J].中国环境科学,2012,32(4):653-658
- [3] Della G M, Isidori M, Lavorgna M, et al. Bioactivity of phenanthrenes from *Juncus acutus* on *Selenastrum capricornutum*[J]. Journal of Chemical Ecology, 2004, 30(4): 867-879
- [4] 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[J].环境科学进展,1995,6(3):44-49
- [5] 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
- [6] 花铭,陈良燕,尹大强.邻苯三酚和咖啡酸对铜绿微囊藻的化感作用及其机理[J].环境化学,2008,27(3):331-334
- [7] 汪小雄,姜成春,朱佳,等.微生物在除藻方面的应用研究[J].工业水处理,2011,31(2):1-4
- [8] 张彬,王书敏,刘小兵,等.植物化感抑藻物质研究[J].给水排水,2011,37(4):115-121
- [9] VYVYAN J R. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals[J]. Tetrahedron, 2002, 58(9): 1631-1646
- [10] 肖溪.大麦秸秆对蓝藻化感抑制作用与机理的研究[D].杭州,浙江大学博士学位论文,2012
- [11] Everall N C, Lees D R. The identification and significance of chemicals released from decomposing barley straw during reservoir algal control[J]. Water Research, 1997, 31(3), 614-620
- [12] Ball A S, Williams M, Vincet, et al. Algal growth control by a barley straw extract[J]. Bioresource Technology, 2001, 77(2): 177-181
- [13] 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
- [14] 吴小平,张平静.发酵稻草抑藻机理研究[J].生态环境,2006,15(1):20-22
- [15] 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
- [16] 董昆明,缪莉,李楠,等.广玉兰叶片浸提液中铜绿微囊藻化学成分分析[J].环境化学,2011,30(12):1253-1258
- [17] 靳翠丽,周晓见,李楠,等.广玉兰提取物对铜绿微囊藻抑制作用的机制研究[J].环境污染与防治,2011,31(12):50-53
- [18] Rippka R, Deruelles J, Waterbury J B, et al. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria[J]. Journal of General Microbiology, 1979, 111(1): 1-61
- [19] 贾春生.利用 SPSS 软件计算杀虫剂的 LC_{50} [J].昆虫知识,2006,43(3):414-417
- [20] Xiao X, Chen Y X, Liang X Q, et al. Tibetan hullless barley efficiently inhibited bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*[J]. Chemosphere, 2010, 81(9): 1118-1123
- [21] 张余霞,张玲,张阳阳,等.盐京九号水稻秸秆对铜绿微囊藻的抑制作用[J].生态与农村环境学报,2008,24(3):60-63,80
- [22] 孙颖颖,王长海.球等鞭金藻生长抑制物的抑藻机理[J].浙江大学学报,2009,35(1):51-57
- [23] 李小路,潘慧云,徐洁,等.金鱼藻与铜绿微囊藻共生情况下的化感作用[J].环境科学学报,2008,28(11):2243-2249

- [24] 陈国元,唐凯.不同质量浓度黄菖蒲和狭叶香蒲对铜绿微囊藻的化感作用[J].环境工程学报,2014,8(2):465-470
- [25] Hong Y, Hu H Y, Li F M. Physiological and biochemical effects of Allelo-chemical ethyl 2-methyl acetoacetate (EMA) on cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2008, 71(2): 527-534
- [26] Kooten O V, Snel J F H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology[J]. Photosynthesis Research, 1990, 25(3): 147-150
- [27] 梁英,冯力霞,尹翠玲,等.叶绿素荧光技术在微藻环境胁迫研究中的应用现状及前景[J].海洋科学,2007,31(1): 71-76
- [28] KöRner S, Nichllisch A. Allelopathic growth inhibition of selected phytoplankton species by submerged macrophytes[J]. Journal of Phycology, 2002, 38(5): 862-871
- [29] Wu J, Chiang Y, Huang W, et al. Cytotoxic effects of free fatty acids on phytoplankton algae and cyanobacteria[J]. Aquatic Toxicology, 2006, 80(4): 338-345
- [30] Waridel P, Wolfender J L, Lachavanne J B, et al. Ent-Labdane glycosides from the aquatic plant *Potamogeton lucensand* analytical evaluation of the lipophilic extract constituents of various *Potamogeton* species[J]. Phytochemistry, 2004, 65(7): 945-954
- [31] Nakai S, Yamad S, Hosomi M. Anti-cyanobacterial fatty acids released from *Myriophyllum spicatum*[J]. Hydrobiologia, 2005, 543(1): 71-78
- [32] 姜恒,吴斌,阎冰,等.桉树叶水浸出液对2种海洋微藻生长和叶绿素荧光特性的影响[J].环境科学研究,2013,26(11):1186-1193
- [33] Chen W, Westerhoff P, Leeneer J A, et al. Fluorescence excitation-emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter[J]. Environmental Science & Technology, 2003, 37(24):5701-5710
- [34] 马敏,刘锐平,刘会娟,等.预氯化对铝盐混凝铜绿微囊藻过程中溶解性有机物和残余铝的影响[J].环境科学学报,2014,34(1): 73-78
- [35] Huang H M, Xiao X, Ghadouani A, et al. Effects of natural flavonoids on photosynthetic activity and cell integrity in *Microcystis aeruginosa* [J]. Toxins, 2015, 7: 66-80