

高等水生植物对集胞藻(*Synahocystis* sp.)的化感作用研究*

吴程, 常学秀, 吴锋, 刘军燕, 郑桂来

(云南大学 生命科学学院, 云南 昆明 650091)

摘要: 通过比较 10 种高等水生植物(粉绿狐尾藻、水葫芦、水浮莲、金边富贵竹、苻菜、海菜花、金鱼藻、穗状狐尾藻、黑藻、苦草) 培养水对集胞藻的化感作用, 发现不同受试水生植物对集胞藻生长的影响存在明显差异。海菜花培养水对受试藻种的生长略有促进作用, 而其他水生植物培养水均表现出不同程度的抑藻效应。抑藻效应的强弱顺序依次为: 粉绿狐尾藻 > 水葫芦 > 金鱼藻 > 水浮莲 > 苻菜 > 穗状狐尾藻 > 黑藻 > 金边富贵竹 > 苦草, 其中粉绿狐尾藻的抑藻效率高达 89.9%。这说明受试水生植物能够释放某些化感物质到水体环境中, 干扰集胞藻的正常生长。进一步研究粉绿狐尾藻、水葫芦和金鱼藻对集胞藻藻细胞吸收光谱及其特征吸收峰的影响, 发现它们释放的化感物质可破坏集胞藻的叶绿素 a 和藻胆蛋白(包括 PC 和 APC) 的特征吸收峰, 降低藻细胞对光的吸收能力, 说明高等水生植物释放某些的化感物质损害藻类的叶绿素 a 和藻胆蛋白可能是其抑制或杀死浮游藻类的重要途径之一。

关键词: 高等水生植物; 化感作用; 集胞藻; 藻胆蛋白; 叶绿素 a

中图分类号: Q 948.121; Q 946.92 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-7971(2008)05-0535-06

水生植物和藻类同处于生态系统初级生产者位置, 它们之间除了在光和营养的利用方面存在竞争外, 分泌物间的生化干预作用也是二者相互作用的一个重要方面^[1]。由于水生植物一方面可分泌化感物质抑制藻类生长, 另一方面其生长繁殖还可大量吸收营养物质、改善水质、美化环境^[2-10], 因此在湖泊(或水库)富营养化及水华爆发等生态问题的日益突出的今天(如滇池), 利用水生植物化感效应控制蓝藻水华的理论和技术研究受到国内外的普遍重视。

本研究综合比较了粉绿狐尾藻、水浮莲、水葫芦、苻菜、苦草、海菜花、金边富贵竹、金鱼藻、穗状狐尾藻、黑藻等 10 种水生植物对蓝藻模式研究藻种——集胞藻(*Synahocystis* sp.)的化感作用, 为进一步分析水生植物和藻类之间的化感作用和更好地开展水环境的生物防治提供有价值的资料。

1 实验材料与方法

1.1 材料 粉绿狐尾藻 (*Myriophyllum*

aquaticum (Vell.) Verdec.)、水浮莲(*Pistia stratiotes* L.)、水葫芦(*Eichhornia crassipes*)、苻菜(*Nymphaoides peltatum* (Gmel.) O. Kuntze)、苦草(*Vallisneria spiralis*)、海菜花(*Ottelia acuminata*)等水生植物取自滇池湖滨人工湿地及昆明植物所, 金边富贵竹(*Dracaena sanderiana* cv. *Virescens*)、金鱼藻(*Ceratophyllum demersum* L.)、穗状狐尾藻(*Myriophyllum spicatum*)、黑藻(*Hydrilla verticillata*)购自景星花鸟市场。植物取回实验室后用自来水清洗干净, 并经曝气的自来水进行预培养。实验藻种集胞藻(*Synahocystis* sp.)滇池 FACHB680 株系由中国科学院水生生物研究所提供。

1.2 藻种的培养 实验前, 将藻种转至经修改的 HGZ-145 培养液(见表 1)驯化培养 1 周, 培养条件如下: 温度(25 ± 1) °C, 12 h 光照, 光强为 2 500 lx。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。

* 收稿日期: 2008-02-15

基金项目: 云南省应用基础研究计划项目资助(2007C150M); 云南省教育厅基础研究基金项目资助(07J50556)。

作者简介: 吴程(1981-), 男, 海南人, 硕士生, 主要从事污染化学生态学方面的研究。

通讯作者: 常学秀(1972-), 女, 云南人, 博士, 副教授, 主要从事污染生态学方面的研究

表 1 经修改的 HGZ - 145 培养基配方

Tab. 1 The components of the amended HGZ - 145 culture medium

常量元素	质量浓度/(g·L ⁻¹)	微量元素	质量浓度/(g·L ⁻¹)
NaNO ₃	0.2	HBO ₃	0.00286
KNO ₃	0.051	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.00181
K ₂ HPO ₄	0.049	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.000222
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.075	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.000391
Na ₂ CO ₃	0.02	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.000079
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	0.059	Fe-EDTA ^[11]	0.000932
NH ₄ Cl(NH ₄ Cl-EDTA) ^[11]	0.0391		

1.3 水生植物培养及其培养水的制备 在装有 7000 mL 蒸馏水的玻璃缸(34 cm × 15 cm × 24 cm)外裹一层宽约 15 cm 不透光厚纸以遮光,以防抑藻物质在强光下分解^[12],然后种植一定鲜重的茁壮植株。在室外半封闭大棚中于自然光照和温度条件下培养 10 d 后,取 1 L 培养水用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,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 100 mL 培养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。

1.4 培养与观测 在 250 mL 锥形瓶中加入 100 mL 试验液,再加入 10 mL 集胞藻藻液,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) °C,12 h 光照,光强 2500 lx。每天摇动锥形瓶 4 次。从接种当天开始每天吸取 10 mL 藻液测其在 663 nm 处的光密度(OD₆₆₃)值,而后补充 10 mL 相应添加液。试验中的对照组和处理组均设 3 个平行,试验所有操作均在无菌条件下进行。

1.5 测定方法 藻细胞光密度(OD₆₆₃)值用 755B 型分光光度计在 663 nm 下测定。使用北京普析通用仪器有限责任公司制造的 UVwin5(TU-1901 双光束紫外-可见分光光度计)在波长 400~800 nm 下测定藻细胞的吸收光谱和特征峰值。

抑制率 IR(Inhibition ratio)的计算方法在文献[14]的方法上略作修改,其计算公式为 $IR = (1 - \frac{N_t}{M_t}) \times 100\%$,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

OD₆₆₃值。

1.6 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 结果与讨论

2.1 10 种受试植物培养水对集胞藻生长的影响 经回归分析发现,在经修改 HGZ-145 培养基条件下,集胞藻现藻液光密度(OD₆₆₃)值与时间具有明显的指数关系,其指数方程为 $y = 0.256e^{0.1035x}$, $R^2 = 0.9748$ (y 为 OD₆₆₃ 值, x 为培养时间)。说明所用培养基对集胞藻的正常生长没有明显干扰。

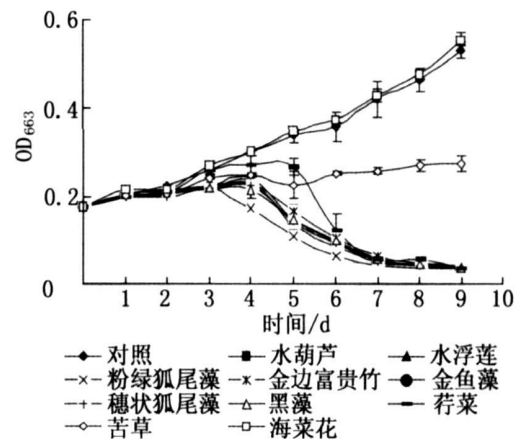


图 1 受试植物培养水对集胞藻生长的化感作用

Fig. 1 Allelopathic effects of macrophytes on *Synalocystis* sp.

从图 1 中可看出,除海菜花外,其他 9 种受试植物培养水对集胞藻的生长均表现出强度不同的

抑制作用, 粉绿狐尾藻对集胞藻抑制作用最强, 苦草的抑制效应最弱, 而海菜花则表现出一定程度的促进作用 ($P = 0.021 < 0.05$), 接种后第 6 天比对照组集胞藻 OD 值高出 4.9%。经 T 检验发现, 处理组和对组藻类生长状况差异显著 ($P < 0.05$)。在受试植物(除海菜花)培养水的影响下, 处理组集胞藻的生长曲线上升幅度较小(与对照组相比而言), 并于第 3 天开始藻类生长曲线陆续急剧下降, 藻液开始黄化。随着时间的延续, 藻类逐渐消亡。这说明水生植物培养水中存在干扰藻类正常生长的化感物质。

通过计算不同培养时间的抑藻效率, 可定量比

表 2 10 种水生植物的抑藻效率

Tab 2 Allelopathic inhibition ratios (IR) of ten macrophytes on *Synahocystis* sp

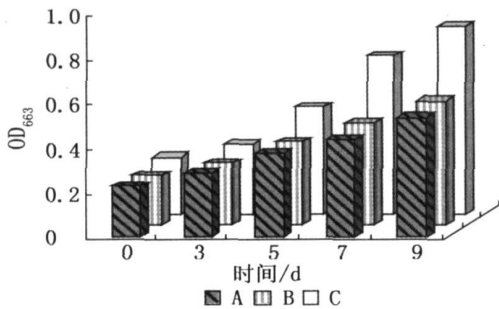
%

时间	水葫芦	水浮莲	粉绿狐尾藻	荇菜	金边富贵竹	金鱼藻	穗状狐尾藻	黑藻	苦草	海菜花
第 4 天	21.4	19.4	42.9	29.5	23.5	22.1	24.4	27.3	9.5	- 1.3
第 6 天	76.0	73.9	82.2	73.3	70.2	73.9	73.1	72.1	23.1	- 4.7
第 7 天	88.1	86.6	89.9	87.2	84.8	87.8	87.5	86.1	25.1	- 1.9

- : 表示促进作用。

2.2 粉绿狐尾藻、水葫芦、金鱼藻培养水对集胞藻吸收光谱及特征吸收峰的影响 由于粉绿狐尾藻、水葫芦和金鱼藻这 3 种水生植物的抑藻效果较好, 为进一步分析高等水生植物化感作用对集胞藻的抑制机理, 本文研究了粉绿狐尾藻、水葫芦、金鱼藻培养水对集胞藻吸收光谱及特征吸收峰的影响。集胞藻藻细胞吸收光谱是综合反映集胞藻生长情况

的指标之一。实验结果表明, 对照藻样吸收光谱曲线上的 3 个特征吸收峰分别位于 443, 629, 683 nm 处, 443 nm 处为叶绿素 a (Chla) 在蓝光区的吸收峰, 629 nm 处为藻蓝蛋白(PC) 在橙光区的吸收峰, 683 nm 处为别藻蓝蛋白(APC) 和 Chla 在红光区的吸收峰(见图 2~ 5)。



A, B, C 分别表示藻细胞在 683, 629, 443 nm 处的光谱特征吸收峰(下同)。

图 2 对照组藻细胞光谱特征吸收峰变化情况

Fig. 2 The peaks of absorption spectrum of *Synahocystis* sp. of control in different time

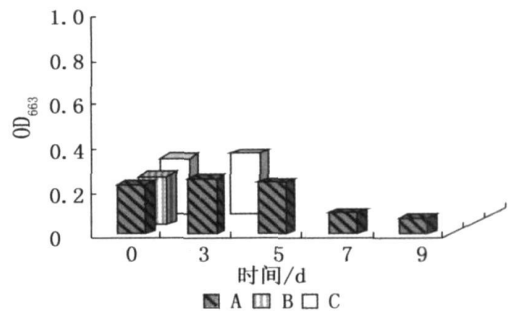


图 3 粉绿狐尾藻处理组藻细胞光谱特征吸收峰变化情况

Fig. 3 Effects of *M. aquaticum* on the peaks of absorption spectrum of *Synahocystis* sp. in different time

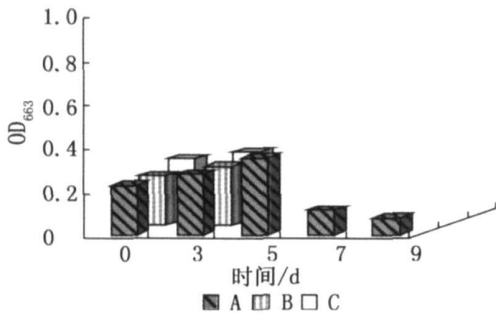


图 4 水葫芦处理组藻细胞光谱特征吸收峰变化情况

Fig. 4 Effects of *Eichhornia crassipes* on the peaks of absorption spectrum of *Synahocystis* sp. in different time

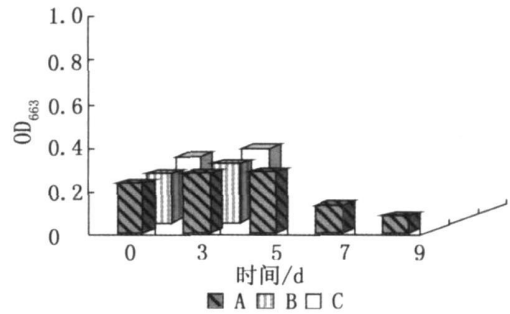


图 5 金鱼藻处理组藻细胞光谱特征吸收峰变化情况

Fig. 5 Effects of *C. demersum* on the peaks of absorption spectrum of *Synahocystis* sp. in different time

藻细胞吸收光谱特征吸收峰测定结果显示(见图 2~5): 对照组藻样 3 个特征吸收峰值随时间增加均呈指数趋势(其指数方程拟合度分别为 0.979, 0.991, 0.994) 增长; 而所有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。

所有处理组 443 nm 与 629 nm 处的吸收峰反应均较为敏感, 处理后第 5 天波峰就已消失, 尤其是粉绿狐尾藻处理组, 其 629 nm 处的吸收峰于处理后第 3 天就已消失; 而 681 nm 处的波峰至第 9 天时仍有峰值检出(第 9 天时, 粉绿狐尾藻、水葫芦、金鱼藻特征峰值分别为初始值的 33.5%, 35.3%, 35.5%)。波峰的变化情况直观反映了 3 种受试植物均可通过释放了某些化感物质, 对集胞藻 629 nm 处 PC 吸收峰和 443 nm 处 Chl a 吸收峰造成较大的损伤(尤其是粉绿狐尾藻对集胞藻 629 nm 处 PC 吸收峰的损伤程度最大), 而对 683 nm 处 APC 与 Chl a 的共同吸收峰的损伤最小。此外, 不同水生植物对集胞藻 3 个特征吸收峰的损伤程度是不一致的, 粉绿狐尾藻对集胞藻特征吸收峰的损伤程度较金鱼藻和水葫芦强。这与上述结果相吻合。

3 讨论与结论

3.1 高等水生植物能够释放某些化感物质影响藻类的正常生长, 但植物种类不同其化感作用效果有较大差异 目前, 有关水生植物化感抑藻研究的植物主要集中于沉水植物, 对挺水或浮水植物的研究少^[4~10]。本研究以挺水或浮水植物为主, 综合对比挺水植物、浮水植物及沉水植物等 10 种水生植物

的化感抑藻效应发现, 10 种受试植物能够释放某些化感物质影响藻类的正常生长, 但植物种类不同其化感作用效果有较大差异, 其中粉绿狐尾藻的化感抑藻效果最好, 处理至第 7 天时抑藻率高达 89.9%, 水葫芦、金鱼藻、水浮莲、苕菜、穗状狐尾藻、黑藻、金边富贵竹、苦草等 8 种植物次之; 而海菜花培养水对集胞藻的生长略有促进作用。

国内外相关研究也发现相似的化感抑藻现象, 如 Nakai 等^[5] 发现大型水生植物(水盾草、穗状狐尾藻、金鱼藻、埃格草、尖叶眼子菜、石龙尾、密刺苦草、水蕴草、菹草)对铜绿微囊藻的化感作用存在较大的差异性, 其中穗状狐尾藻的抑藻效果最好, 而菹草没有明显的抑藻效果。俞子文等^[3] 发现水葫芦、水花生等水生植物对雷氏衣藻的生长具有不同程度的化感抑制作用, 而西洋菜对雷氏衣藻的生长具有促进作用。这些研究成果与本研究结果相似, 说明水生植物化感抑藻效应强弱与植物本身密切相关, 这可能是不同植物其产生并分泌(或释放)次生代谢产物的种类和数量存在较大差异^[15~17]。因而, 利用水生植物控藻技术时, 须谨慎对待水生植物种类选取的问题。

3.2 损害叶绿素 a 和藻胆蛋白可能是高等水生植物化感物质抑制或杀死集胞藻的重要途径之一

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 2 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 的功能^[17,18]。藻胆蛋白既受基因组的精细调控, 又受到环境因素的调控^[17,19], 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^[18, 20]. 高等水生植物对浮游藻类藻胆蛋白和叶绿素 a 的系统研究鲜见报道, 相关研究多着眼于水生植物对蓝藻 Chla 和 PS II 的抑制效应^[7, 8, 12].

本研究发现, 受试植物释放的化感物质进入藻细胞可引起 Chla 和藻胆蛋白(包括 PC 和 APC) 的降解, 从而抑制集胞藻对光的捕获和转化. 因而, 在水生植物培养水的作用下, 集胞藻特征吸收峰的受损态势随处理时间增加而增强, 但对其特征吸收峰(Chla 特征峰、PC 特征峰和 APC 特征峰) 的损伤程度因植物种类和特征峰类型的不同而存在差异. 造成此现象的可能解释包括 2 方面的内容: ①不同水生植物分泌的化感物质不同, 其对集胞藻特征峰的损伤潜力不同; ②叶绿素 a、藻蓝蛋白(PC) 和别藻蓝蛋白(APC) 对水生植物化感物质(即便是同一水生植物) 的敏感程度不同. 综上所述, 损害叶绿素 a 和藻胆蛋白, 进而阻断集胞藻对光的捕获和吸收, 可能是高等水生植物化感物质抑制或杀死集胞藻的重要途径之一.

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!

参考文献:

[1] 陈德辉, 刘永定, 宋立荣. 蓖齿眼子菜对栅藻和微囊藻的他感作用及其参数[J]. 水生生物学报, 2004, 28(2): 163-168.

[2] 张维昊, 周连风, 吴小刚, 等. 菹蒲对铜绿微囊藻的化感作用[J]. 中国环境科学, 2006, 26(3): 355-358.

[3] 俞子文, 孙文浩, 郭克勤, 等. 几种高等水生植物的克藻效应[J]. 水生生物学报, 1992, 16(1): 1-7.

[4] NAKAIS, HOSOMI M, OKADA M, et al. Control of algal growth by macrophytes and macrophyte extracted bioactive compounds[J]. Water Science and Technology, 1996, 39(8): 47-53.

[5] NAKAIS, INOUE Y, HOSOMI M, et al. Growth inhibition of blue-green algal by allelopathic effects of macrophytes [J]. Water Science and Technology, 1999, 39(8): 47-53.

[6] NAKAIS, INOUE Y, HOSOMI M, et al. *Myriophyllum spicatum* - released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis*

aeruginosa [J]. Water Research, 2000, 34: 3 026-3 032.

[7] GROSS E M. Allelopathic action by submersed macrophytes on epiphytes and phytoplankton: Algicidal hydrolysable polyphenols from *Myriophyllum spicatum* [M]. Kiel: Christian Albrechts University, 1995.

[8] EVA L, ANJA K L, CHARILAOS G, et al. Polyphenolic allelochemicals from the aquatic angiosperm *Myriophyllum spicatum* inhibit photosystem II [J]. Plant Physiology, 2002, 130(4): 2 011-2 018.

[9] VAN DONK E, VAN DE BUND W J. Impact of submerged macrophytes including charophytes on phyto- and zooplankton communities: allelopathy versus other mechanisms[J]. Aquatic Botany, 2002, 72: 261-274.

[10] 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[C]. 生态科学进展(第3卷), 北京: 高等教育出版社, 2007: 147-174.

[11] 叶居新, 何池全, 陈少风. 石菹蒲的克藻效应[J]. 植物生态学, 1999, 23(4): 379-384.

[12] 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[J]. 农村生态环境, 2001, 17(3): 42-44, 47.

[13] 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[J]. 中国给水排水, 2004, 20(11): 18-21.

[14] 孔垂华, 徐涛, 胡飞, 等. 环境胁迫下植物的化感作用及其诱导机制[J]. 生态学报, 2000, 20(5): 849-854.

[15] 孔垂华, 胡飞. 植物化感相生相克作用及其应用[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.

[16] AN MIN, LIU D L, JOHNSON I R, et al. Mathematical modelling of allelopathy: II. The dynamics of allelochemicals from living plants in the environment [J]. Ecological Modelling, 2003, 161: 53-66.

[17] 蒋丽金, 赵井泉. 藻类天线系统的结构与功能研究进展[J]. 科学通报, 1997, 42(1): 1-8.

[18] 李建宏, 曾昭琪. Co、Ni、Cu、Zn 离子对蓝藻藻胆体光谱影响研究[J]. 南京大学学报: 自然科学版, 1997, 33(4): 639-643.

[19] 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[J]. 生物物理学报, 2001, 17(4): 767-772.

[20] 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[J]. 湖泊科学, 1999, 11(2): 135-40.

Studies on allelopathy of aquatic macrophytes on *Synahocystis* sp.

WU Cheng, CHANG Xue-xiu, WU Feng, LIU Jun-yan, ZHENG Gui-lai

(School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract: Allelopathy of culture water from ten kinds of macrophytes on *Synahocystis* sp. was investigated. The results showed that there was slightly stimulation effect for *Ottelia acuminata* culture water on *Synahocystis* sp., while significant inhibition effects of other nine macrophytes on the algae were performed, and their inhibition capability was as following: *M. aquaticum* > *E. crassipes* > *C. demersum* > *P. stratiotes* > *N. peltatum* > *M. spicatum* > *H. verticillata* > *D. sanderiana* > *V. spiralis*, the inhibition ratio of *M. aquaticum* on *Synahocystis* sp. is up to 89.9%. By analyzing the absorption spectral curve and the characteristic peaks of *Synahocystis* sp. cell, it was found that *M. aquaticum*, *Eichhornia crassipes* and *C. demersum* could secrete some allelochemicals, which destroyed the chlorophyll a and phycobiliprotein absorption peak, and disturbing the course of light-harvesting of *Synahocystis* sp.. It probably indicated that allelopathic compounds released by macrophytes restrain the photosynthetic system of algae, which was one of importance ways for macrophytes inhibiting or even killing algae.

Key words: aquatic macrophytes; allelopathy; *Synahocystis* sp.; phycobiliprotein; chlorophyll a

* * * * *

(上接第 534 页)

Outcrossing rates analysis of three *A momum* species in Zingiberaceae

CHEN Xu-Chao^{1,2}, LI Qing-jun¹

(1. Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303, China;

2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Flexistylous is a novel flowering strategy occurring in ginger family (Zingiberaceae). It is a unique and “active” floral dimorphism achieved by both changing the position of the stigma and separating the maturation of male and female organs in different times during anthesis. In this research, outcrossing rates of two species (*A momum maximum* and *A. putrescens*) with flexistylous and one species (*A. villosum*) without flexistylous were compared using allozyme experiments. The results show that the outcrossing rates of flexistylous species are significantly higher than that of the species without flexistylous. Moreover, within the natural populations of flexistylous species, outcrossing rates of anaflexistylous morphs are higher than that of cataflexistylous morphs. These findings demonstrate that flexistylous may play an effective role to promoting outcrossing.

Key words: mating system; allozyme; flexistylous; ginger; sexual interference