

水生入侵植物对常见水华的抑藻效应 及其影响机理*

王赛君 吴 湘 王奕棉 楼雯靓 卢雨芳

(浙江省水生生物资源养护与开发技术研究重点实验室 湖州师范学院生命科学学院 湖州 313000)

摘要 为促使水生入侵植物的资源化利用以减少其对环境的危害, 本文选取我国 3 种常见水生入侵植物, 即水浮莲(*Pistia stratiotes*)、凤眼莲(*Eichhornia crassipes*)、空心莲子草(*Alternanthera philoxeroides*)作为研究对象, 研究不同的植物化感作用方式(植物种植水抑藻、植物粗提物抑藻)对蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)、梅尼小环藻(*Cyclotella meneghiniana*)、铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)这 3 种常见水华微藻生长的抑制作用差异及其影响机理。结果表明, 3 种植物的种植水和粗提物均对不同微藻表现出选择性抑制作用, 且种植水的抑藻效果总体强于粗提物。其中以空心莲子草种植水对铜绿微囊藻的抑制作用最强, 共培养第 7 天藻细胞光密度 OD_{750} 值下降 78.19%, 叶绿素 a (chl a)含量下降 96.61%。铜绿微囊藻在空心莲子草种植水影响下, 藻细胞的呼吸速率先升高后降低, 光合速率逐渐降低, 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)等抗氧化酶的活性, 以及蛋白质和膜脂过氧化产物丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量均呈现先升高后降低的趋势, 由此可知铜绿微囊藻在共培养过程中受到了明显的胁迫和伤害。而在共培养第 11 天, 实验组的胞外藻毒素含量较对照组仅增加 8.69%, 差异不显著($P>0.05$), 说明空心莲子草种植水在有效抑制铜绿微囊藻生长的同时不会促进藻毒素的释放, 具有较好的生态安全性。

关键词 水生入侵植物; 微藻; 化感作用; 生长抑制; 抑藻机理

中图分类号 X52; Q946.8

doi: 10.11693/hyhz20161200294

随着水体富营养化程度的加剧, 频繁暴发的水华严重威胁水环境安全并成为全球关注的水环境问题(Heisler *et al.*, 2008; O'Neil *et al.*, 2012)。因此, 寻找高效、安全、简便的抑藻方法已成为水环境保护领域一个前沿和热点的研究课题。利用水生植物产生的化感物质控制有害藻类的生长是一种较有前景的生态抑藻方法(Xiao *et al.*, 2010), 具有效果好、费用低、材料天然易得、不易造成二次污染等优点。目前已发现多种水生植物的化感物质对藻类生长具有一定抑制

作用(Gross, 2003; Wang *et al.*, 2011; Bährs *et al.*, 2012), 其中水生入侵植物由于具备生物量大、生长迅速、次生代谢物质更加丰富等特点, 使得利用其化感物质进行藻类控制研究具有更好的应用前景, 且利于入侵植物的资源化利用, 减少其对生态环境的危害。因此, 将水生入侵植物及其产生的化感物质应用于水华控制研究具有重要的环境和生态意义。

研究发现, 天然富营养化水体中频繁发生的水华往往由多种藻类共同引发, 且不同水域的优势藻

* 浙江省重点研发计划项目, 2015C03018 号; 国家自然科学基金青年科学基金项目, 21207036 号; 湖州市生态文明先行示范区科技专项重点项目, 2014ZD2019 号; 国家社科基金特别委托项目, 16@ZH005 号; 浙江省大学生新苗人才计划项目, 2016R427022 号; 浙江省自然科学基金青年科学基金项目, LQ12B07001 号; 国家级大学生创新创业训练计划项目, 201510347014 号。王赛君, 本科生, E-mail: 854949427@qq.com

通讯作者: 吴 湘, 副教授, E-mail: wwxx1981@126.com

收稿日期: 2016-12-31, 收修改稿日期: 2017-05-11

种也各不相同, 而化感物质具有一定的选择性和专一性(Li *et al.*, 2005), 往往只对一种或少数藻种有较强的化感抑制作用, 对其他藻种抑制效果一般或者无抑制(郭长城等, 2009)。因此, 根据不同水域的水华组成特征, 选择具有代表性的水华优势藻种作为研究对象, 研究不同类型水生入侵植物化感物质的选择性抑藻作用及其影响机理, 对推进水生入侵植物化感作用的高效实际应用具有重要意义。此外, 水生入侵植物化感物质的选择性抑藻作用差异不仅与藻种自身特性以及植物种类有关, 还与化感作用的方式有关, 针对不同藻种筛选高效抑藻的化感作用方式也是利用水生入侵植物化感物质控制水华的重要前提和基础。同时还应注意在进行实际水体水华控制时, 化感物质对除藻类以外的其他水生生物的生态安全性的影响。

基于上述研究基础, 本文选取 3 种我国常见的水生入侵植物, 即水浮莲(*Pistia stratiotes*)、凤眼莲(*Eichhornia crassipes*)、空心莲子草(*Alternanthera philoxeroides*)作为研究对象, 研究不同的植物化感作用方式(植物种植水抑藻、植物粗提物抑藻)对绿藻门的蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)、硅藻门的梅尼小环藻(*Cyclotella meneghiniana*)、蓝藻门的铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)等 3 种常见水华微藻的生长抑制作用差异, 阐明水生入侵植物化感作用的选择性抑藻规律, 并确定其最佳化感作用方式。在此基础上, 进一步深入研究水生入侵植物化感作用对选择性受抑最强的藻种生理生化指标的影响, 以此推测选择性化感抑藻的作用靶点。最后考察水生植物化感作用的生态安全性, 为其在水华频发水体实行高效、安全的实际应用提供理论与实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 水生入侵植物 水浮莲、凤眼莲、空心莲子草均采自湖州当地农村野外河道, 并用以下方法对这 3 种水生入侵植物进行处理以获取实验材料:

种植水的制备: 将 3 种水生入侵植物的全株洗净, 吸干表面水分, 各称取 40g 置于 4000mL 的 Hoagland's 营养液中进行培养(鲜啟鸣等, 2005), 3 天后过滤培养液作为各种植物的种植水(10g/L), 4°C 低温储存备用。

植物粗提物的提取: 采用乙酸乙酯溶剂、索氏提取法提取各植物的粗提物(Wu *et al.*, 2013; 吴湘等, 2014)。称取 20g 干植物体(粉碎至 50 目), 置于 500mL

锥形瓶中, 加入 400mL 乙酸乙酯, 超声波(KQ-100DB 型数控超声波清洗机, 昆山市超声仪器有限公司)常温提取 1h。提取结束后, 用滤纸滤去提取液中的残渣, 并通过 0.22 μ m 有机系滤膜(购自上海亚兴净化材料厂)除去颗粒物的干扰, 之后利用旋转蒸发仪(RE-52 系列, 购自上海亚荣生化仪器厂)以 100r/min 转速在 65°C 下除去溶剂, 获得浸膏并称重, 最后用二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO; 浓度低于 1%时对微藻生长无影响)进行定容溶解(Ball *et al.*, 2001), 以 10g/L 的浓度定容至 DMSO 溶液中备用。

1.1.2 藻种 蛋白核小球藻(FACHB-415)、梅尼小环藻(FACHB-1654)、铜绿微囊藻(FACHB-315)由中国科学院水生生物研究所淡水藻种库提供, 实验前铜绿微囊藻和蛋白核小球藻采用 BG-11 培养基预培养 9—10 天, 梅尼小环藻采用 CSI 培养基预培养 7—8 天, 使之处于对数增长期。

1.2 实验设计与方法

1.2.1 实验设计 不同水生入侵植物种植水对不同藻类增殖的影响: 将水浮莲、凤眼莲、空心莲子草的种植水分别以体积比为 20:1 的量(鲜啟鸣等, 2005)等量加入蛋白核小球藻(初始光密度 OD₇₅₀ 为 0.126)、梅尼小环藻(初始 OD₇₅₀ 为 0.630)、铜绿微囊藻(初始 OD₇₅₀ 为 0.083)的培养液中, 共培养 7 天, 每天通过测定藻细胞的 OD₇₅₀ 和叶绿素 *a*(chl *a*)含量的变化, 研究不同水生入侵植物种植水对不同藻类生长的影响及其选择性抑藻作用。

不同水生入侵植物粗提物对不同藻类生长的影响研究: 将水浮莲、凤眼莲、空心莲子草的粗提物分别等量加入蛋白核小球藻(初始 OD₇₅₀ 为 0.583)、梅尼小环藻(初始 OD₇₅₀ 为 0.457)、铜绿微囊藻(初始 OD₇₅₀ 为 0.172)的培养液中, 使其最终浓度均为 0.1g/L, 在培养温度为 25°C、光照条件为 2000lx、昼夜比设置为 12h:12h 的条件下共培养 7 天, 每天通过测定各平行组藻细胞的 OD₇₅₀ 和 chl *a* 含量变化, 研究不同水生入侵植物粗提物对不同藻类生长的影响及其选择性抑藻作用。

水生入侵植物对选择性抑制藻类的生长影响机理研究: 在实验 和 的实验结果基础上, 进一步研究水生入侵植物的最佳抑藻方式对其选择性抑制作用最强的藻种的生理生化指标的影响, 以此阐明水生入侵植物对选择性抑制藻类的生长影响机理。

1.2.2 实验方法 藻细胞光密度值(OD₇₅₀)的测定: 取定量的藻细胞培养液, 采用分光光度计(752PC 型, 购自上海光谱仪器有限公司)测定其 OD₇₅₀ 值。

藻细胞 chl *a* 含量的测定: 用真空抽滤泵抽滤收集藻细胞后, 加入 20mL 90%丙酮, 在 4℃ 避光抽提 24h, 之后 4000r/min 离心 10min, 取上清液, 以 90%的丙酮为空白, 测定其吸光度(A_{664}), chl *a* 的含量依据以下公式进行计算:

$$\rho(\text{chl } a) = 11.41(\mu\text{g/mL}) \times A_{664}$$

生理生化指标的测定: 主要包括藻细胞的光合色素(以叶绿体色素含量为代表)、呼吸速率、丙二醛含量(malondialdehyde, MDA)、蛋白质含量和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)等抗氧化酶的活性。各指标测定方法参考《植物生理生化实验原理与技术(第3版)》(王学奎等, 2015), 胞外藻毒素含量测定方法参照吴颖川等(2016)。采用的具体方法为: 叶绿体色素含量测定采用分光光度法; 蛋白质含量测定采用紫外吸收法(Varian 紫外分光光度计, Cary50); MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸(2-Thiobarbituric acid, TBA)法; 呼吸速率测定采用小篮子法(广口瓶法); CAT 活性测定采用高锰酸钾滴定法; POD 活性测定采用愈创木酚法; SOD 活性测定用氮蓝四唑法; 藻毒素含量测定采用 ELISA 试剂盒(购于中国科学院水生生物研究所)。

1.3 数据统计与分析

实验所有样品均平行测定 3 次, 结果取其均值。实验数据利用 Microsoft Excel 2016 进行单因子方差统计分析和制图。

2 结果与讨论

2.1 不同水生入侵植物的两种化感作用方式对常见水华藻种生长的影响差异

2.1.1 对蛋白核小球藻生长的影响差异 由图 1 可知, 水浮莲种植水对蛋白核小球藻的生长有一定促进作用, 而水浮莲粗提物对蛋白核小球藻的生长表现出较强抑制作用。这可能是因为水生入侵植物抑藻作用的强弱与其分泌化感物质的浓度密切相关(Nakai *et al*, 1999), 由此推测水浮莲化感物质的水溶性较差, 导致其种植水中所含化感物质浓度较低, 对蛋白核小球藻的生长反而起促进作用, 而水浮莲化感物质易被乙酸乙酯溶解提取, 因此其植物粗提物表现出较强的抑藻作用。根据图 1 还可看出, 凤眼莲、空心莲子草种植水对蛋白核小球藻的抑藻效果都要显著优于其植物粗提物: 共培养第 7 天空心莲子草种植水处理组的 OD_{750} 值下降 64.12%, chl *a* 含量下降 68.76%, 而凤眼莲种植水处理组的 OD_{750} 下降值则高达 77.32%, chl *a* 含量下降 86.84%, 后者的抑藻效果相对更好。由此可见这两种植物分泌的化感物质水溶性都较好, 因种植水中所含化感物质浓度较高, 使得其对蛋白核小球藻的生长抑制作用较强。

2.1.2 对梅尼小环藻生长的影响差异 水浮莲粗提物中有效的化感组分不稳定, 易被分解转化而浓度降低, 或者其中一部分被梅尼小环藻吸收并转化

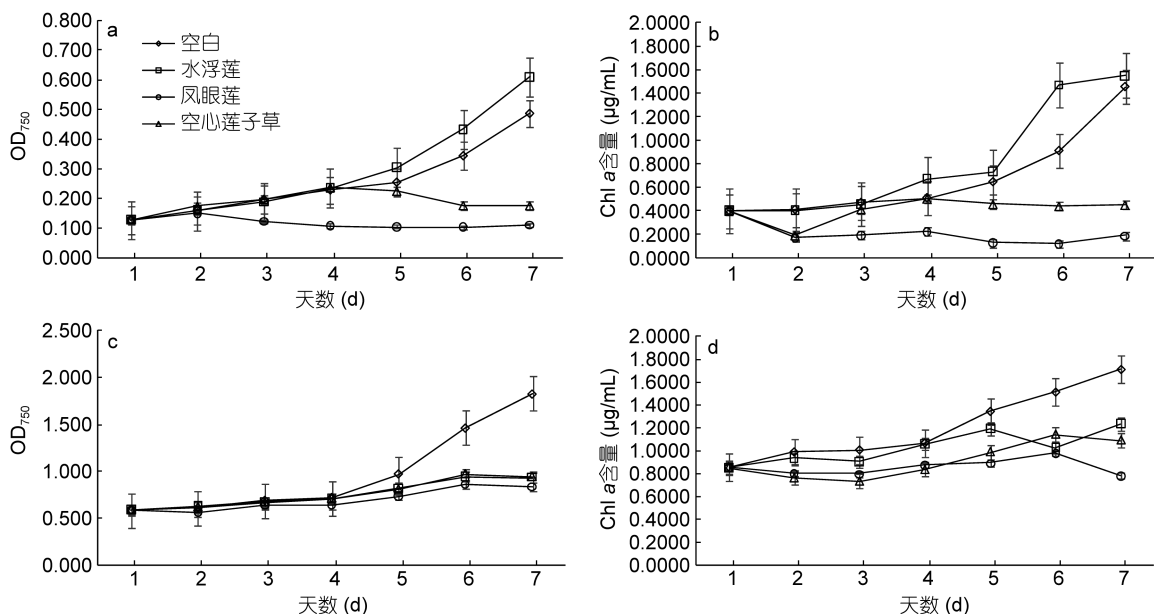


图 1 不同水生入侵植物的两种化感作用方式对蛋白核小球藻的生长抑制作用差异

Fig. 1 The growth inhibition effects for two allelopathic methods of different invasive aquatic plants on *Chlorella pyrenoidosa*
注: a、b 为水生入侵植物种植水处理组, c、d 为水生入侵植物粗提液处理组。

为其同化产物(门玉洁等, 2006; 李庆华等, 2010)。凤眼莲根部含有抑藻活性物质, 且乙酸乙酯对其萃取作用最佳(张振业等, 2013)。chl *a* 含量的减少可能与活性氧的伤害有关(唐学玺等, 1998), 在化感物质的胁迫下, 梅尼小环藻叶绿体产生的有害活性氧无法及时清除, 使叶绿体膜受到氧化, 基质外露, 叶绿体代谢功能紊乱, 从而导致 chl *a* 含量降低(李睿等, 2006)。根据图 2 可以看出, 水浮莲种植水的抑藻效果强于凤眼莲和空心莲子草的种植水, 凤眼莲粗提物

的抑藻效果强于水浮莲和空心莲子草的粗提物。相比较而言, 共培养第 7 天水浮莲种植水处理组的 OD₇₅₀ 值下降 65.37%, chl *a* 含量下降 64.64%, 而凤眼莲粗提物处理组的 OD₇₅₀ 值仅下降 43.16%, chl *a* 含量下降 57.50%, 由此说明水浮莲种植水中植物分泌的化感物质对梅尼小环藻的选择性抑藻作用最强, 这与可促进蛋白核小球藻生长的结果(图 1)不同, 可能是因为不同藻种对水生入侵植物分泌的化感物质的敏感程度不同。

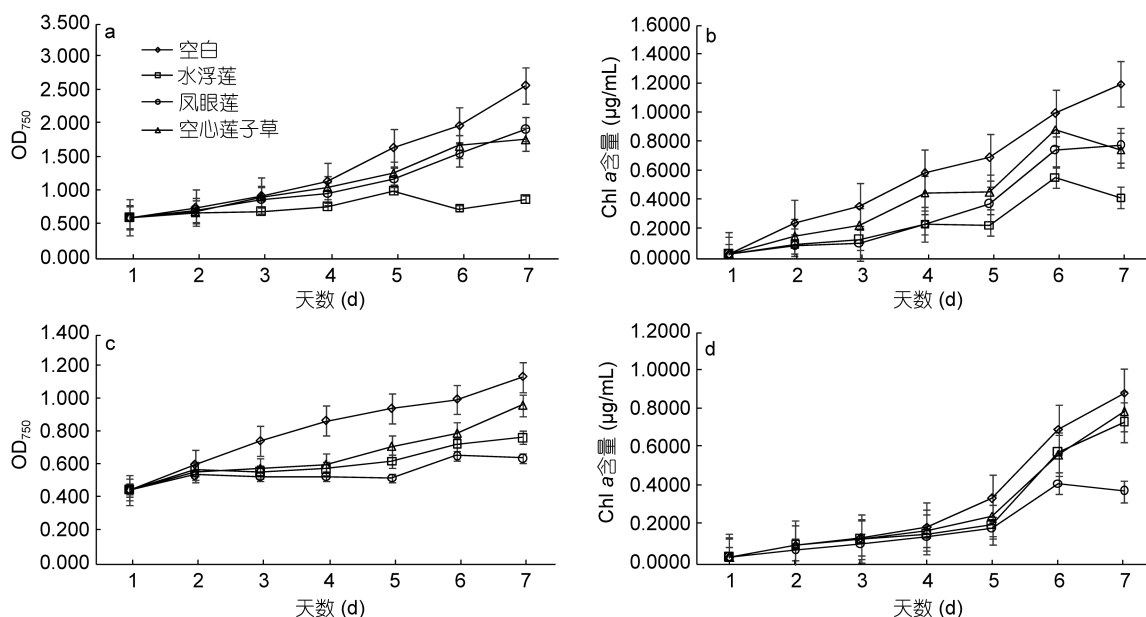


图 2 不同水生入侵植物的两种化感作用方式对梅尼小环藻的生长抑制作用差异

Fig. 2 The growth inhibition effects for two allelopathic methods of different invasive aquatic plants on *Cyclotella meneghiniana*
注: a、b 为水生入侵植物种植水处理组, c、d 为水生入侵植物粗提液处理组。

2.1.3 对铜绿微囊藻生长的影响差异 不同植物所分泌的物质对铜绿微囊藻的生长抑制作用影响差异很大(李磊等, 2007)。实验后期实验组 OD₇₅₀ 明显下降, 藻体开始黄化失绿, chl *a* 含量呈明显下降趋势, 这可能是因为随着化感物质在藻细胞内逐渐积累, 藻细胞开始破壁, 大量死亡。由图 3 可见, 凤眼莲粗提物的抑藻效果比水浮莲和空心莲子草好, 最高 OD₇₅₀ 下降值可达 79.08%, chl *a* 含量下降 90.20%。投加水浮莲种植水实验组共培养第 7 天 OD₇₅₀ 值下降 58.18%, chl *a* 含量下降 84.44%; 投加凤眼莲种植水实验组共培养第 7 天 OD₇₅₀ 值下降 69.09%, chl *a* 含量下降 90.91%; 投加空心莲子草种植水实验组共培养第 7 天 OD₇₅₀ 值下降 78.19%, chl *a* 含量下降 96.61%, 由此可知, 空心莲子草种植水对铜绿微囊藻的生长抑制效果最佳。

综上所述, 3 种水生入侵植物的种植水对 3 种水华藻种的生长抑制作用总体好于粗提物, 而种植水的化感作用表现出选择性抑藻效果: 水浮莲、凤眼莲、空心莲子草的种植水分别对梅尼小环藻、蛋白核小球藻、铜绿微囊藻的生长抑制效果最佳, 其中以空心莲子草种植水对铜绿微囊藻的选择性抑制作用最为显著。因此, 下文将着重陈述空心莲子草种植水对铜绿微囊藻生理生化指标的影响的研究。

2.2 空心莲子草种植水对铜绿微囊藻生理生化指标的影响

2.2.1 对光合色素的影响 藻细胞中的叶绿体色素含量往往与藻细胞的生长状况及其光合作用密切相关(何池全等, 1999)。由图 4 可见, 对照组(空白组)的叶绿体色素含量在实验过程中存在波动现象, 而实验组的趋势与对照组基本一致, 但相比对照组出

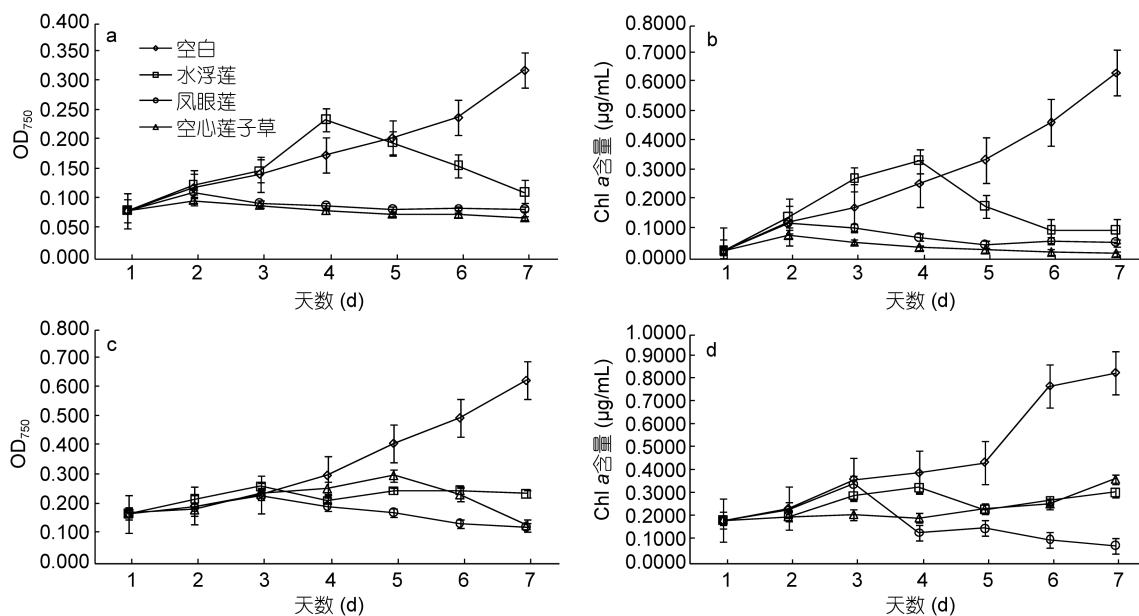


图3 不同水生入侵植物的两种化感作用方式对铜绿微囊藻的生长抑制作用差异

Fig. 3 The growth inhibition effects for two allelopathic methods of different invasive aquatic plants on *Microcystis aeruginosa*
注: a、b 为水生入侵植物种植水处理组, c、d 为水生入侵植物粗提液处理组。

现了明显的下降, 到第7天下降88.12%, 这与实验过程中观察到藻液逐渐变澄清的现象一致。数据处理的结果表明, 在实验过程中空心莲子草种植水对铜绿微囊藻叶绿体色素含量的影响非常明显, 此结果与实验组铜绿微囊藻光合作用受到明显抑制的现象吻合。

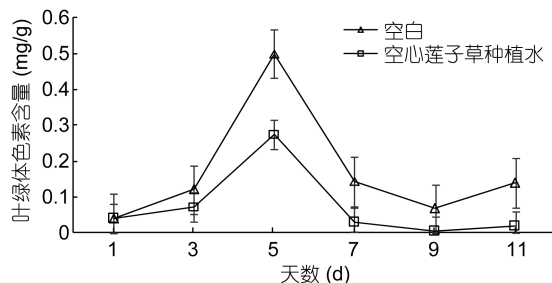


图4 空心莲子草种植水对铜绿微囊藻叶绿体色素含量的影响

Fig. 4 Influences of planting water of *Alternanthera philoxeroides* on the chloroplast pigment content of *M. aeruginosa*

2.2.2 对呼吸速率的影响 由图5可见, 培养11天后对照组铜绿微囊藻的呼吸速率由 $0.040 \text{ mgCO}_2/(\text{mL} \cdot \text{h})$ 提高到 $0.137 \text{ mgCO}_2/(\text{mL} \cdot \text{h})$, 而实验组则下降到 $0.017 \text{ mgCO}_2/(\text{mL} \cdot \text{h})$, 且实验组在加入空心莲子草种植水第5天呼吸速率明显提高, 几乎为对照组的2倍。呼吸速率的急剧增加是铜绿微囊藻细胞受到胁迫的一种表现(王立新等, 2004; 李锋民等, 2007), 可见

种植水中的化感物质对藻细胞形成了伤害。第7天实验组呼吸速率明显下降, 此时藻细胞已经开始解体, 而对照组藻细胞呼吸速率处于稳定增长期, 到第11天实验组藻细胞呼吸速率下降87.59%。

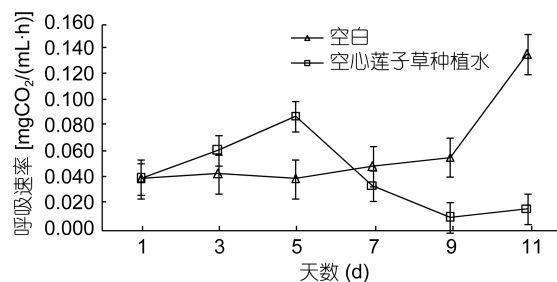


图5 空心莲子草种植水对铜绿微囊藻呼吸速率的影响
Fig. 5 Influences of planting water of *A. philoxeroides* on the respiration rate of *M. aeruginosa*

2.2.3 对抗氧化酶(POD、CAT、SOD)活性以及MDA含量的影响 当藻细胞受到外界胁迫时, 细胞内产生大量活性氧, 破坏膜结构, 使膜透性消失, 导致藻细胞抗氧化酶活性上升, 但当细胞内氧自由基浓度超过一定范围, 抗氧化酶不能及时清除过量的氧自由基时, 导致藻细胞大量死亡, 抗氧化酶活性降低(Lu et al, 2014)。由图6a—c可知, 对照组藻细胞的抗氧化酶活性在实验过程中存在一定波动, 但总体上处于平稳状态, 而实验组藻细胞POD活性第5天相比对照组提高2倍以上, 随后开始下降, 到第9天急

剧下降 54.93%; CAT 活性在实验前期一直高于对照组, 到第 7 天急剧下降, 第 9 天接近为 0; SOD 活性则呈现出先升后降的趋势, 到第 11 天下降了 68.50%。POD、CAT、SOD 活性在处理前期增大是因为铜绿微囊藻在种植水中受到化感物质的胁迫而做出的应激反应, 而在后期下降说明藻细胞已经受到实质性的损害, 大量藻细胞死亡。MDA 是脂质过氧化的产物,

其形成和积累量可作为细胞膜结构损伤、藻细胞受胁迫程度的一种标志(唐萍等, 2000)。SOD 活性对于防止膜脂过氧化连锁反应具有重要作用, 由图 6c—d 可知, 当 SOD 活性最大时 MDA 含量急剧下降, 实验组 MDA 含量在第 3 天较第 1 天升高了 8.26%, 而第 3 天后其显著降低可能与此时藻细胞膜结构受到严重损伤相关, 实验过程中对照组 MDA 含量未见大幅度波动。

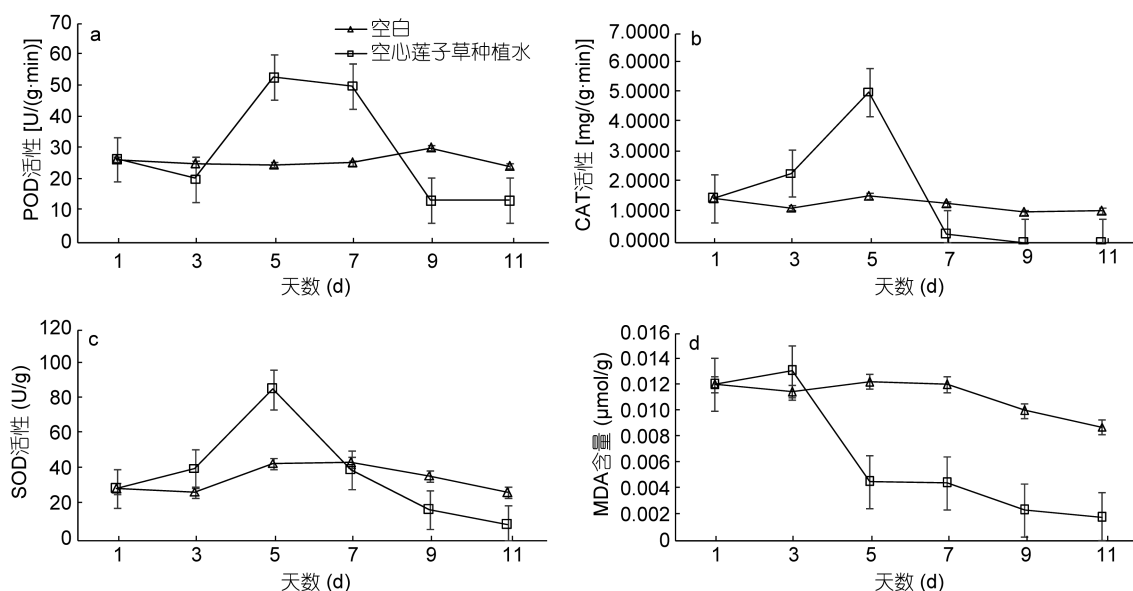


图 6 空心莲子草种植水对铜绿微囊藻 POD 活性(a)、CAT 活性(b)、SOD 活性(c)、MAD 含量(d)的影响

Fig. 6 Influences of planting water of *A. philoxeroides* on the activities of POD (a), CAT (b), SOD (c) and MAD (d) of *M. aeruginosa*

2.2.4 对蛋白质含量的影响 藻细胞中含有多种蛋白质, 包括参与代谢的各种酶、光合系统蛋白以及藻胆蛋白等。在受到环境胁迫时, 细胞可能会合成逆境蛋白用以对抗环境, 细胞结构受到不可逆破坏, 蛋白质积累减少甚至停止, 同时参与各种生理活动的酶合成受到抑制或被大量分解, 导致细胞代谢功能紊乱, 直至细胞死亡(周晓见等, 2011)。由图 7 可见, 对照组藻细胞的蛋白质含量在整个实验过程中呈上升趋势, 而实验组藻细胞中蛋白质含量在培养前 5 天略有上升, 而后下降, 到第 11 天下降 99.31%, 藻细胞结构严重受损, 表明铜绿微囊藻细胞内的蛋白质合成及水解系统对空心莲子草种植水中的化感物质相当敏感。

2.2.5 对胞外藻毒素含量的影响

到第 11 天测得对照组胞外藻毒素, 即微囊藻毒素(Microcystins, MCs)的含量为 $0.7308\mu\text{g/L}$, 实验组胞外 MCs 含量为 $0.7944\mu\text{g/L}$, 实验组仅比对照组增加 8.69%, 此结果表明投加空心莲子草种植水后铜绿

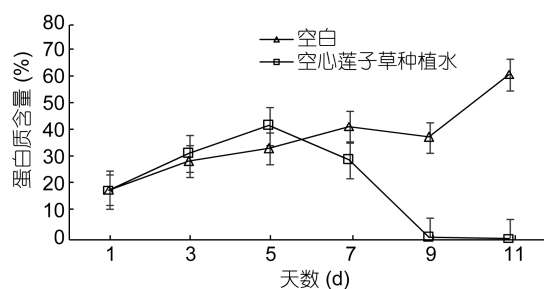


图 7 空心莲子草种植水对铜绿微囊藻蛋白质含量的影响

Fig. 7 Influences of planting water of *A. philoxeroides* on the protein content of *M. aeruginosa*

微囊藻培养液中藻毒素含量并无明显增加, 这可能是因为空心莲子草种植水所含化感物质的影响下, 铜绿微囊藻藻细胞的破壁率并不高, 处理后仅有少部分细胞破裂导致胞外藻毒素含量略微增加, 说明空心莲子草种植水并不是通过裂解藻细胞实现抑藻, 因此具有较好的生态安全性, 不会对环境造成二次污染。

3 结论

(1) 3 种水生入侵植物种植水对 3 种常见水华藻种表现出选择性抑藻作用, 水浮莲、凤眼莲、空心莲子草的种植水分别对梅尼小环藻、蛋白核小球藻、铜绿微囊藻增殖产生较强的抑制效果, 其中空心莲子草种植水对铜绿微囊藻的抑制作用最强;

(2) 3 种水生入侵植物粗提物对 3 种常见水华藻种也表现出较好的抑制作用, 其中以凤眼莲粗提物的效果最好。但是总体而言, 水生入侵植物粗提物的抑藻效果不及种植水;

(3) 铜绿微囊藻与空心莲子草种植水共培养过程中, 藻细胞的叶绿体色素含量、呼吸速率、POD 活性、CAT 活性、SOD 活性、MDA 积累量、蛋白质含量均受到显著影响, 共培养 11 天后铜绿微囊藻培养液即出现藻体黄化、细胞结构进行性损伤等明显的胁迫和伤害现象。

参 考 文 献

- 门玉洁, 胡洪营, 李锋民, 2006. 芦苇化感组分对斜生栅藻 *Scenedesmus obliquus* 生长特性的影响. 生态环境, 15(5): 925—929
- 王立新, 吴国荣, 王建安等, 2004. 黑藻(*Hydrilla verticillata*)对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)抑制作用. 湖泊科学, 16(4): 337—342
- 王学奎, 黄见良, 2015. 植物生理生化实验原理与技术. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 131—286
- 李 睿, 刘 玉, 谭凤仪等, 2006. 双酚 A 对微小环藻的毒性效应. 中山大学学报(自然科学版), 45(3): 110—113
- 李 磊, 侯文华, 2007. 荷花和睡莲种植水对铜绿微囊藻生长的抑制作用研究. 环境科学, 28(10): 2180—2186
- 李庆华, 郭沛涌, 田美燕等, 2010. 两种陆生植物浸提液对蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)的化感作用. 浙江大学学报(理学版), 37(1): 80—86
- 李锋民, 胡洪营, 种云霄等, 2007. 芦苇化感物质 EMA 对铜绿微囊藻生理特性的影响. 中国环境科学, 27(3): 377—381
- 吴 湘, 吴 昊, 叶金云, 2014. 黄花水龙化感物质对铜绿微囊藻生长及藻毒素产生和释放的影响. 海洋与湖沼, 45(4): 783—788
- 吴颖川, 邹 琳, 汪 瑾等, 2016. EGCG 对铜绿微囊藻的抑制效应及机制研究. 南京农业大学学报, 39(1): 78—83
- 何池全, 叶居新, 1999. 石菖蒲(*Acorus tatarinowii*)克藻效应的研究. 生态学报, 19(5): 754—758
- 张振业, 2013. 凤眼莲根系提取物对铜绿微囊藻的化感抑制作用研究. 扬州: 扬州大学硕士学位论文, 1—65
- 周晓见, 夏 洁, 靳翠丽等, 2011. 龙爪槐正己烷提取物对铜绿微囊藻抑制机理的研究. 安徽农业科学, 39(29): 18135—18137
- 郭长城, 李 欣, 胡洪营, 2009. 芦苇生物活性组分对小球藻生长的促进效应. 中国环境科学, 29(11): 1186—1189
- 唐 萍, 吴国荣, 陆长梅等, 2000. 凤眼莲根系分泌物对栅藻结构及代谢的影响. 环境科学学报, 20(3): 355—359
- 唐学玺, 颜挺进, 李永祺等, 1998. 久效磷对扁藻的损伤作用. 叶绿素 a 降解与活性氧损伤的相关性. 应用生态学报, 9(6): 631—634
- 鲜啟鸣, 陈海东, 邹惠仙等, 2005. 四种沉水植物的克藻效应. 湖泊科学, 17(1): 75—80
- Bährs H, Steinberg C E W, 2012. Impact of two different humic substances on selected coccal green algae and cyanobacteria—changes in growth and photosynthetic performance. Environmental Science and Pollution Research, 19(2): 335—346
- Ball A S, Williams M, Vincent D, *et al*, 2001. Algal growth control by a barley straw extract. Bioresource Technology, 77(2): 177—181
- Gross E M, 2003. Allelopathy of aquatic autotrophs. Critical Reviews in Plant Sciences, 22(3—4): 313—339
- Heisler J, Glibert P M, Burkholder J M, *et al*, 2008. Eutrophication and harmful algal blooms: a scientific consensus. Harmful Algae, 8(1): 3—13
- Li F M, Hu H Y, 2005. Isolation and characterization of a novel antialgal allelochemical from *Phragmites communis*. Applied and Environmental Microbiology, 71(11): 6545—6553
- Lu Y P, Wang J, Yu Y, *et al*, 2014. Changes in the physiology and gene expression of *Microcystis aeruginosa* under EGCG stress. Chemosphere, 117: 164—169
- Nakai S, Inoue Y, Hosomi M, *et al*, 1999. Growth inhibition of blue-green algae by allelopathic effects of macrophytes. Water Science and Technology, 39(8): 47—53
- O'Neil J M, Davis T W, Burford M A, *et al*, 2012. The rise of harmful cyanobacteria blooms: the potential roles of eutrophication and climate change. Harmful Algae, 14: 313—334
- Wang J, Zhu J Y, Liu S P, *et al*, 2011. Generation of reactive oxygen species in cyanobacteria and green algae induced by allelochemicals of submerged macrophytes. Chemosphere, 85(6): 977—982
- Wu X, Wu H, Chen J R, *et al*, 2013. Effects of allelochemical extracted from water lettuce (*Pistia stratiotes* Linn.) on the growth, microcystin production and release of *Microcystis aeruginosa*. Environmental Science and Pollution Research, 20(11): 8192—8201
- Xiao X, Chen Y X, Liang X Q, *et al*, 2010. Effects of Tibetan hulless barley on bloom-forming cyanobacterium (*Microcystis aeruginosa*) measured by different physiological and morphologic parameters. Chemosphere, 81(9): 1118—1123

INHIBITORY EFFECT OF INVASIVE AQUATIC PLANTS ON COMMON ALGAE BLOOM SPECIES AND THE UNDERLYING PHYSIOLOGICAL MECHANISMS

WANG Sai-Jun, WU Xiang, WANG Yi-Mian, LOU Wen-Jing, LU Yu-Fang

(Key Laboratory of Aquatic Resources Conservation and Development Technology Research, College of Life Sciences, Huzhou University, Huzhou 313000, China)

Abstract To utilize the resource of invasive aquatic plants and reduce their harm to the environment, three typical invasive aquatic plants (*Pistia stratiotes*, *Eichhornia crassipes* and *Alternanthera philoxeroides*) were chosen as the study objects to investigate the influences of their two different allelopathy ways (algae-inhibition respectively by planting water and crude extract) on the growth of three common algae bloom species (*Chlorella pyrenoidosa*, *Cyclotella meneghiniana*, *Microcystis aeruginos*), and the underlying physiological mechanisms of algae-inhibitory was also investigated. The experimental results indicate that both the planting water and crude extract of the three plants showed selective algae-inhibitory effect on different microalgae, and the algae-inhibitory effects of planting water were overall stronger than the crude extract. Furthermore, the *A. philoxeroides* planting water had the strongest inhibitory effect on *M. aeruginos* and the OD₇₅₀ of algal cells decreased by 73.09% and the content of chl *a* decreased by 96.61% on the 7th day of co-culture. Under the influence of *A. philoxeroides* planting water, the respiration rate of *M. aeruginos* increased firstly and then decreased. The photosynthetic rate decreased gradually, while the activities of antioxidant enzymes (SOD, POD, CAT), protein content, and malondialdehyde (MDA) content increased firstly then decreased, which indicated that *M. aeruginos* was subjected to coercion and injury obviously during the entire culturing period. However, the total amount of microcystins (MCs) in the experimental group increased by only 8.69% more than that of the blank group ($P < 0.05$) on the 11th day of co-culture. Therefore, it can be concluded that the application of *A. philoxeroides* planting water has a high degree of ecological safety and can be adopted in practical control of algae blooms, because it can effectively inhibit the growth of *M. aeruginos* without increasing the release of cyanotoxins.

Key words invasive aquatic plants; microalgae; allelopathy; growth inhibition; algae-inhibitory mechanism