

The Inhibitory Activities of *Pistia Stratiotes* L. on Three Cyanobacteria Species

Shenghua Zhang, Ye Liu, Peishi Sun

Research Institute of Engineering and Technology, Yunnan University, Kunming, China
Email: shhzhang2007@yahoo.com.cn

Received 2013

Abstract: Co-culture experiments and exudation experiments were designed to explore the allelopathic effects of *Pistia stratiotes* L. on three cyanobacteria species (*Microcystis aeruginosa*, *Aphanizomenon flosaquae* and *Anabaena flosaquae*). The results showed that *P. stratiotes* L. can inhibited the growth of these three cyanobacteria species. The inhibitory activities was appeared from the third day and became stronger till the 7th day, the inhibitory rate exceed 90% in co-cultured experiments at the end of experiments. After six days experiments, the growth of three cyanobacteria was inhibited by the exudation of 20 g/L *P. stratiotes* L., the inhibition rate reached 72.3% for *M. aeruginosa*, 73.8% for *Ap. flosaquae* and 86.5% for *An. flosaquae*. Comparing the algae growth inhibitory rate of co-culture experiment and exudation experiment, the algae inhibitory rate of co-culture system was higher than exudation treatment, which probably because the plant can secretes the chemical compounds continuously while the allelochemicals in exudation are degraded.

Keywords: Allelopathy; *Pistia Stratiotes* L.; *Microcystis Aeruginosa*; *Aphanizomenon Flosaquae*; *Anabaena Flosaquae*

大漂对几种常见水华蓝藻的抑制作用研究

张胜花, 刘 焯, 孙珮石

云南大学工程技术研究院, 昆明, 中国, 650091
Email: shhzhang2007@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013

摘 要: 以三种水华蓝藻为受试对象(铜绿微囊藻, 水华束丝藻和水华鱼腥藻), 采用共培养实验和种植水实验探讨大漂对三种水华蓝藻的抑制效果。实验结果表明, 大漂对三种水华蓝藻具有较为显著的抑制作用。共培养时, 大漂对铜绿微囊藻、水华束丝藻和水华鱼腥藻有明显的化感抑制效果, 抑制效果从第三天开始显露, 随着实验时间的延长不断增加, 至第七天抑制率都超过 90%。种植水实验结果显示, 大漂种植水对铜绿微囊藻、水华束丝藻和水华鱼腥藻有一定的抑制效果, 第六天抑制率分别达到 72.3%, 73.8%和 86.5%。比较共培养实验和种植水实验中第六天藻类生长的抑制率, 共培养时大漂对三种水华藻类的抑制率要明显大于种植水实验, 原因可能是共培养中大漂持续的分泌化感物质, 而种植水中的化感物质随着时间的推移有一定的降解。

关键词: 化感作用; 大漂; 铜绿微囊藻; 水华束丝藻; 水华鱼腥藻

1 引言

目前, 水体富营养化已成为全球普遍关注的水环

境问题之一。富营养化引发的藻类异常繁殖, 使水体透明度和容氧量降低, 加速湖泊的老化, 使水功能受阻甚至破坏, 给水资源的利用带来了巨大的损失。因此, 有效控制富营养化水体中的藻类, 防止水华发生

资助信息: 国家自然科学基金项目 (51008265)

成为目前环境领域的研究热点和前沿。水生植物生长快速,不仅能大量吸收水体中氮磷等营养物质,并且还可以通过释放化感物质来抑制水体藻类的生长。因此水生植物抑藻作用的研究,具有重要的环境和生态意义^[1],引起了人们越来越多的关注^[2-4]。

大漂 *Pistia stratiotes* L.系天南星科大漂属植物,又名大藻、浮萍、水浮莲。水浮莲味淡微辛,性平,无毒(根有微毒);作为一味中草药,具有内服发汗散风利尿解毒、外用去湿止痒等效能^[5]。虽然已有研究报道大漂对油菜种子和莴苣有较为明显的化感抑制作用^[6],但对跟其生活环境相近的水华藻类的化感抑制作用还鲜见报道。

本文通过研究大漂对铜绿微囊藻、水华束丝藻和水华鱼腥藻生长的影响,探讨大漂的化感抑藻作用,为合理利用大漂进行水体富营养化水华藻类的防治提供一些科学依据。

2 材料与方

2.1 实验材料

大漂采自昆明滇池草海,在室外有底泥的水缸中扩大培养。实验前 15 天转入室内用改良的 MIII 培养液适应培养^[7]。每三天更换培养液一次,每天取溶液测定植物对营养盐的吸收情况,待大漂在改良的 MIII 培养液中对营养盐吸收稳定后再将其加入共培养系统。为减少微生物在共培养体系中对藻类生长的影响,所有容器,营养盐都经过灭菌处理。培养条件为:25℃,16 h:8 h 光暗比,2500 lx。

铜绿微囊藻有毒株 (*Microcystis aeruginosa*, FACHB905)、水华束丝藻 (*Aphanizomenon flosaquae*, FACHB 1170)、水华鱼腥藻 (*Anabaena flosaquae*, FACHB 245) 购自中科院水生生物研究所藻种保藏中心,用 BG-11 培养液培养。实验前将藻种转入改良的 MIII 培养液中驯化培养 3 次,用进入对数生长期的藻细胞用作共培养实验和种植水实验的起始接种体。

2.2 共培养实验

将 10 cm×20 cm×30 cm 的玻璃方缸 170℃干热灭菌,上盖灭菌的玻璃板,加入 4 L 改良的 MIII 培养液。将充气泵的泵头和橡胶管灭菌后,放入玻璃缸中,充气泵充入经过 0.45 μm 的细菌过滤器后充入培养液

中。大漂经过 15 天的室内培养后,挑选生长状态良好的植株用蒸馏水和无菌水反复冲洗后,无菌滤纸吸干水份,按照鲜生物量浓度为 5 g/L、10 g/L、15 g/L、20 g/L 放入含有培养液的大方缸中。同时也加入受试藻液使其起始浓度达到 1×10^6 ind/mL。为了避免光和二氧化碳的竞争,共培养体系被置于光强为 2500 lx (16 h:8 h 光暗比),25℃条件下培养,同时曝入无菌空气补充 CO₂,实验周期为 7 d。每组实验设置 3 个平行。每天各组取培养液测定其 OD 值(铜绿微囊藻:650 nm,水华束丝藻:680 nm,水华鱼腥藻:665 nm),测定仪器为 UV-2000 紫外可见分光光度计 (Unico (Shanghai) Instrument Co., Ltd)。

2.3 种植水实验

将在室内培养 15 d 的大漂取出洗净后按照鲜重 20 g/L 的密度放入 6 L 的方缸中,改良的 MIII 培养液培养。培养条件同上,培养 3 d 后,取出种植水用 whatman GF/C 膜 (1.2 μm) 过滤。在 2 L 的锥形瓶中加入 1 L 种植水,添加营养盐直至与 MIII 营养程度相同后,加入三种待试藻类,使其初始密度达到 1×10^6 ind/mL。实验设置藻类空白对照,持续 6 d。每 3 d 取各组培养液测定其 OD 值,测定仪器及方法同上。

3 结果

3.1 大漂对铜绿微囊藻的抑制效果

大漂与铜绿微囊藻共培养实验结果见图 1。实验结果表明大漂对铜绿微囊藻有较为明显的化感抑制

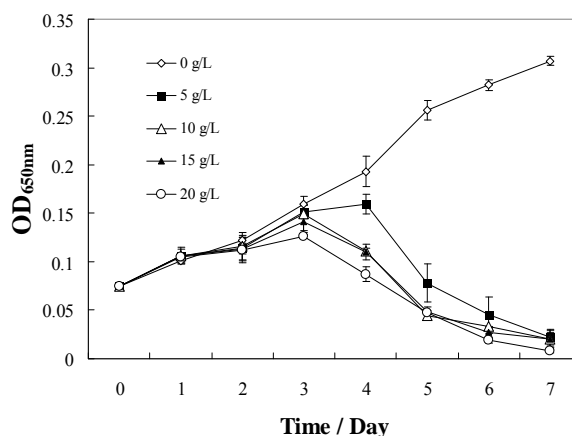


Figure 1. The growth curves of *M. aeruginosa* cocultured with *Pistia stratiotes* L. (bar = SD, n=3)
图 1. 共培养体系中铜绿微囊藻的生长曲线

作用，这种抑制作用从第三天开始显露，随着时间的延长，越来越明显，至第七天实验结束时，抑制率四种密度的大漂对铜绿微囊藻的抑制率都超过 90%。

种植水的实验结果显示，大漂种植水对铜绿微囊藻也有显著的抑制效果，20 g/L 大漂种植水处理 3 天的铜绿微囊藻与对照相比已有显著性差异（抑制率为 18%），6 天的抑制率达到 72.3%。

3.2 大藻对水华束丝藻的抑制效果

大漂与水华束丝藻共培养实验结果表明，大漂对水华束丝藻有较明显的抑制效果，从第二天开始 20 g/L 大漂的处理组就显示出明显的抑藻效果，实验结束时的第 7 天，四个处理组对水华束丝藻的抑制率全都超过 90%，最高的抑制率达到 97.8%，束丝藻全部死亡。

与对照相比，大漂种植水处理 3 天没有表现出明显的抑藻效果 ($p > 0.05$)，但实验第六天，处理组束丝藻藻液发黄，抑制率约为 74%。

3.3 大藻对水华鱼腥藻的抑制效果

与大漂共培养时，水华鱼腥藻的生长明显受限（图 3），抑制效果从实验第三天开始显现，实验结束时达到最大，第七天大漂密度为 5 g/L 的处理组鱼腥藻抑制率为 83%，而 20 g/L 时抑制率为 97%。

20 g/L 大漂种植水对水华鱼腥藻表现出显著的抑制效应（图 6），第三天的抑制率为 26.0%，第六天的抑制率为 86.5%。

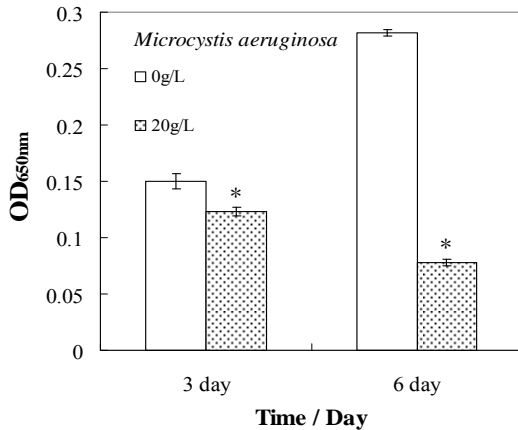


Figure 2. The effect of exudates from *Pistia striatiotes* L. on the growth of *Microcystis aeruginosa* (bar = SD, $n = 3$, * $p < 0.05$, compared with the control)
图 2. 大漂种植水对铜绿微囊藻的抑制效果

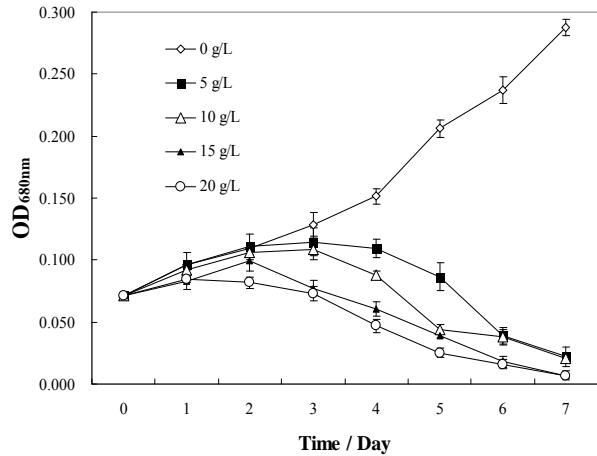


Figure 3. The growth curves of *Aphanizomenon flos-aquae* cocultured with *Pistia striatiotes* L. (bar = SD, $n = 3$)
图 3. 共培养体系中水华束丝藻共培养时水华的生长曲线

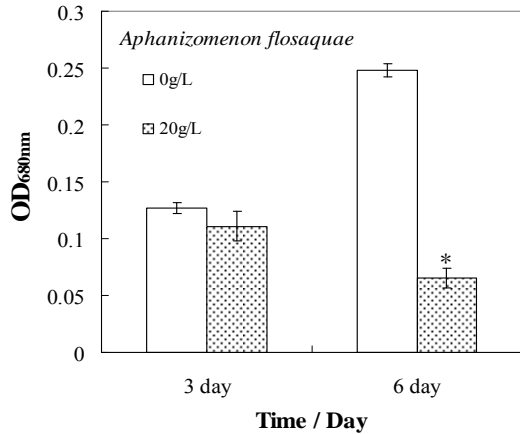


Figure 4. The effect of exudates from *Pistia striatiotes* L. on the growth of *Aphanizomenon flos-aquae* (bar = SD, $n = 3$, * $p < 0.05$, compared with the control)
图 4. 大漂种植水对水华束丝藻的抑制效果

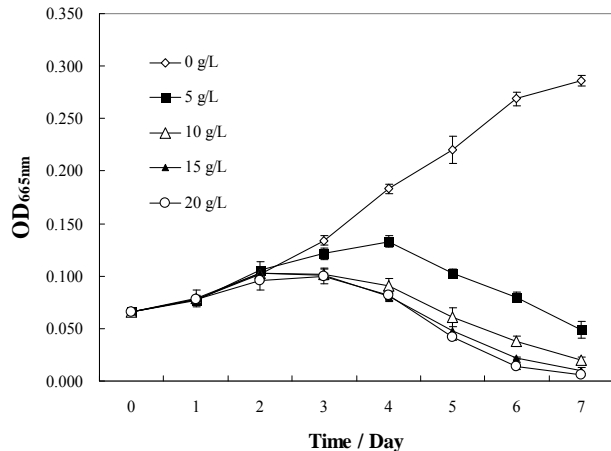


Figure 5. The growth curves of *Anabaena flos-aquae* cocultured with *Pistia striatiotes* L. (bar = SD, $n = 3$)
图 5. 共培养体系中水华鱼腥藻的生长曲线

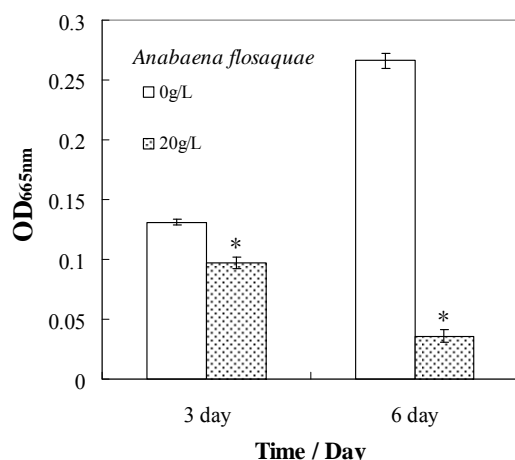


Figure 6. The effect of exudates from *Pistia stratiotes* L. on the growth *Anabaena flosaquae* (bar = SD, $n = 3$, * $p < 0.05$, compared with the control)

图 6. 大漂种植水对水华鱼腥藻的抑制效果

4 讨论与结论

4.1 讨论

水生植物与藻类之间不仅对环境因子如空间、光照、营养等生存条件的存在一定的竞争，而且植物通过向水体释放化学物质对藻类的生长产生影响。1949年 Hasler 等首次发现了水生植物对藻类的抑制效应以来^[8]，越来越多的研究表明，水生植物对藻类存在着明显的化感抑制作用^[9-12]。作为污水净化常用的漂浮植物大漂虽然目前已有研究报道具有一定的化感作用，其分泌物对油菜种子和莴苣有较为明显的化感抑制作用，但关于大漂对水华藻类的抑制效果和抑藻化合物方面的研究还鲜见报道。本文以三种水华常见蓝藻为受试对象，研究了大漂对其的化感效应。结合种植水实验和共培养实验，结果表明大漂对三种常见水华蓝藻具有明显的化感抑制效果。

将共培养实验与种植水试验结合起来能够验证水生植物是否对浮游藻类存在显著化感抑制效果。已有一些文献报道了水生植物对于水华蓝藻的抑制效果^[12,13]。孙文浩等对水葫芦的抑藻作用进行了较为详细的研究，不仅表明了水葫芦对藻类有一定的化感抑制作用，而且还从水葫芦分泌物中分离鉴定了两种起主要作用的化感物质^[14,15]，并且其抑藻效果明显优于 CuSO_4 。Nakai^[16]研究了多种植物，如穗状狐尾藻、水葫芦、马来眼子菜等对铜绿微囊藻的化感作用，结果表明有的植物能明显抑制铜绿微囊藻的生长，而某

些植物的化感抑制作用不明显。本实验通过共培养实验及种植水实验证实了大漂对三种水华蓝藻确实存在化感抑制效应，结果一致。

在植物密度一致的情况下，种植水试验可以显示水生植物能够分泌化感物质来抑制藻类的生长，而共培养实验中往往显示化感作用更明显，这是因为水生植物可以分泌化感物质来抑制藻类，而这些化感物质很可能是不稳定的^[16]，所以在共培养实验中由于化感物质源源不断地得到补充，从而显示更强的化感抑藻效果。本试验得到的结果与此一致，相同起始细胞密度的三种藻类，与大漂共培养 6 d 后，抑制率都超过 90%，而 20 g/L 植物种植水六天的抑制率为 72.3%（铜绿微囊藻），73.8%（水华束丝藻），86.5%（水华鱼腥藻）。

4.2 结论

本文研究了大漂对几种水华藻类的化感作用。实验结果表明：

(1) 共培养时，大漂对铜绿微囊藻、水华束丝藻和水华鱼腥藻有明显的化感抑制效果，抑制效果从第三天开始显露，随着实验时间的延长不断增加，至第七天抑制率都超过 90%。

(2) 种植水实验结果显示，大漂种植水对铜绿微囊藻、水华束丝藻和水华鱼腥藻有一定的抑制效果，第六天抑制率分别达到 72.3%，73.8% 和 86.5%。比较共培养实验和种植水实验中第六天藻类生长的抑制率，共培养时大漂对三种水华藻类的抑制率要明显大于种植水实验，原因可能是共培养中大漂持续分泌化感物质，而种植水中的化感物质随着时间的推移有一定的降解。

参考文献 (References)

- [1] F. M. Li, H. Y. Hu. Isolation and characterization of a novel anti-algal allelochemical from phragmites communis, Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(11): 6545-6553.
- [2] E. Leu, A. Krieger-Liszky, C. Goussias, et al. Polyphenolic Allelochemicals from the Aquatic Angiosperm *Myriophyllum spicatum* Inhibit Photosystem, Plant Physiology, 2002, 130(4): 2011-2018.
- [3] G. Mulderij, A. J. P. Smolders, E. Van Donk. Allelopathic effect of the aquatic macrophyte, *Stratiotes aloides*, on natural phytoplankton. Freshwater Biology, 2006, 51(3): 554-561.
- [4] X. X. Chang, F. Eigemann, S. Hilt. Do macrophytes support harmful cyanobacteria? Interactions with a green alga reverse

- the inhibiting effects of macrophyte allelochemicals on *Microcystis aeruginosa*. *Harmful Algae*, 2012, 19: 76-84.
- [5] 凌云, 张永林, 万峰. 中药大藻化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(5): 289-290.
- [6] H. W. Liu, L. Y. He, J. M. Gao, et al. Chemical Constituents from the Aquatic Weed *Pistia stratioides*, *Chemistry of Natural Compounds*, 2008, 44(2): 236-238.
- [7] S. Körner, A. Nicklisch. Allelopathic Growth Inhibition of Selected Phytoplankton Species by Submerged Macrophytes. *Journal of Phycology*, 2002, 38: 862-865.
- [8] A. D. Hasler, E. Jones. Demonstration of the antagonistic action of large aquatic plants on algae and rotifers. *Ecology*, 1949, 30(3): 359-365.
- [9] S. H. Zhang, P. S. Sun, F. J. Ge, Z. B. Wu. Different Sensitivities of *Selenastrum capricornutum* and Toxic Strain *Microcystis aeruginosa* to Exudates from two *Potamogeton* species. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2011, 20(1): 1359-1364.
- [10] T. T. Zhang, L. L. Wang, Z. X. He, D. Zhang. Growth Inhibition and Biochemical Changes of Cyanobacteria Induced by Emergent Macrophyte *Thalia dealbata* roots. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2011, 39(2): 88-92.
- [11] J. Y. Zhu, B. Liu, J. Wang, Y. Gao, Z. Wu. Study on the Mechanism of Allelopathic Influence on Cyanobacteria and Chlorophytes by Submerged Macrophyte (*Myriophyllum spicatum*) and its Secretion. *Aquatic Toxicology*, 2010, 98(2):196-203.
- [12] T. T. Zhang, M. He, A. P. Wu, L. W. Nie. Inhibitory Effects and Mechanisms of *Hydrilla verticillata* (Linn.f.) Royle Extracts on Freshwater Algae. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2012, 88(3): 477-481.
- [13] J. Z. Chen, H. Y. Zhang, Z. P. Han, J. Y. Ye, Z. L. Liu. The influence of aquatic macrophytes on *Microcystis aeruginosa* growth. *Ecological Engineering*, 2012, 42: 130-133.
- [14] 孙文浩, 等, 凤眼莲根系分泌物中的克藻化合物[J]. 植物生理学报, 1993, 19(1): 92-96.
- [15] 孙文浩, 等, 凤眼莲无菌培养及其克藻效应[J]. 植物生理学报, 1990, 16(3): 301-305.
- [16] S. Nakai, T. Inoue, M. Hosomi, et al. Growth Inhibition of Blue-green Algae by Allelopathic Effects of Macrophytes, *Water Science and Technology*, 1999, 39(8): 47-53.