

利用川蔓藻抑制景观水体中小球藻生长的研究

张楠, 季民, 王卫红, 王苗苗
(天津大学环境科学与工程学院, 天津 300072)

摘要: 采用共培养、培植水培养、浸提液培养 3 种方法, 研究了沉水植物——川蔓藻对天津滨海新区某景观水体 (以高盐度的再生水为水源) 中小球藻的克藻效应。结果表明, 川蔓藻对小球藻的生长具有明显的抑制作用, 共培养 1 d 后藻密度及叶绿素 a 的含量均大幅下降; 当培植水的体积分数为 60% 时其克藻效果最佳; 采用浸提液培养可使藻细胞的数量明显降低, 同时伴有丙二醛的积累和胞内物质的溶出。可见, 利用川蔓藻控制以高盐度再生水为补水的景观水体富营养化是可行的。

关键词: 川蔓藻; 小球藻; 克藻效应; 再生水

中图分类号: X703.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2007)13-0024-04

Allelopathic Effects of *Ruppia Maritima* on Growth of *Chlorella* Sp. in Scenic Water Body

ZHANG Nan, JI Min, WANG Wei-hong, WANG Miao-miao

(School of Environment Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: A series of experiments including coexistence culture, solution culture and aqueous leachate culture were carried out to investigate the allelopathic effect of submerged macrophyte *Ruppia maritima* on the growth of *Chlorella* sp. which is the main reason resulting in eutrophication of a scenic water body in the New Coastal Area of Tianjin, China. The results show that these three methods have allelopathic effects on the growth of *Chlorella* sp. The population of *Chlorella* sp. and the content of chlorophyll a are decreased remarkably after only one day in the experiment of coexistence culture. When the volume fraction of culture solution is 60%, the best allelopathic effect on algal growth can be obtained. It is found that the aqueous leachate can reduce the population of the algae with maleic dialdehyde (MDA) accumulation and dissolving endocellular matters evolution. *Ruppia maritima* is an available species for control of eutrophication of scenic water body with highly salty reclaimed water as make-up water.

Key words: *Ruppia maritima*; *Chlorella* sp.; allelopathic effect; reclaimed water

水体富营养化会破坏水生生态系统的平衡, 某些藻类释放的毒素还可导致人中毒^[1], 同时富营养化也是再生水回用的最大障碍。传统的物理、生物处理技术和常规的再生水处理工艺被用于去除氮、磷等营养物时存在流程长、难度大、费用高等缺陷,

利用化学药剂杀藻, 效果虽好但会产生二次污染。Satoshi Nakai 等人发现, 穗状狐尾藻、轮藻、马蹄莲等植物能够抑制水华绿藻及蓝藻的生长^[2-4], 这为富营养化水体的治理提供了一条新的途径。

笔者选择天津滨海咸水湖泊的沉水植物——川

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863) 项目 (2003AA601030)

蔓藻为研究对象,采用共培养、培植水培养、浸提液培养3种方法,研究了川蔓藻对景观水体(以高盐度再生水为水源)中小球藻的克藻效应,以期为滨海地区景观水体富营养化的防治提供一种可行的方法。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

以天津市滨海新区某净化厂的连续微滤深度处理工艺出水为供试原水,其总溶解性固体(TDS)为5.670 mg/L,DO为6.6 mg/L,浊度为0.5 NTU,TN为27.65 mg/L,TP为4.36 mg/L。

川蔓藻采自废弃的晒盐池,于以再生水为水源的景观水体中预培养3 d,选取生长良好、长势一致的植株,用再生水进行一周左右的室外自然光照适应性培养。根据野外实地调查,造成上述景观水体富营养化的藻类主要为小球藻,故本试验选取小球藻(购于中国科学院水生生物研究所)为处理对象。

1.2 试验方法

共培养试验

在装有500 mL再生水(已灭菌)的广口玻璃瓶中种植湿质量为1.5 g的川蔓藻;接种小球藻,使各组的初始吸光度(OD_{650})值分别为0.005、0.010、0.019、0.045、0.100、0.156;在温度为25℃、光照度为4 000 lx、光暗时间比为12 h/12 h的条件下培养5 d,每天测定藻液的 OD_{650} 和叶绿素a含量,每个浓度设3个平行样。

培植水培养试验

在装有1 500 mL再生水(已灭菌)的广口玻璃瓶中种植15 g川蔓藻,于光照培养箱中培养14 d后,取培植水依次采用孔径为0.45、0.22 μm的微孔滤膜抽滤备用。在250 mL三角瓶中加入一定量抽滤后的培植水,再用已灭菌的小球藻培养液定容至100 mL,使其中培植水的体积分数分别为20%、40%、60%、80%和100%,同时设置不含培植水的对照组(CK)。接种小球藻,使各组的初始 OD_{650} 值均为 0.010 ± 0.002 。在温度为25℃、光照度为4 000 lx、光暗时间比为12 h/12 h的条件下培养6 d,每天测定藻液的 OD_{650} 和叶绿素a含量,每个浓度设3个平行样。

浸提液培养试验

取25 g川蔓藻用去离子水冲洗干净后烘干至质量恒定,研磨成干粉并用去离子水溶解后提取浸

提液。分别用纱布、滤纸以及孔径为0.45、0.22 μm的微孔滤膜抽滤,以去离子水定容至500 mL备用。在250 mL三角瓶中加入一定量的上述浸提液,用已灭菌的小球藻培养液定容至100 mL,使其中浸提液的体积分数分别为5%、10%、15%、20%和25%,同时设置不含浸提液的对照组。接种等量的小球藻,使各组的初始藻细胞数量均为 349×10^6 个/mL。在温度为25℃、光照度为4 000 lx、光暗时间比为12 h/12 h的条件下培养5 d,每天测定藻细胞个数。试验结束后测定藻液中糖、蛋白及丙二醛的含量。每个浓度设3个平行样。

1.3 测定方法

在共培养及培植水培养试验中藻密度用650 nm处的吸光度值即 OD_{650} 表示,叶绿素a的含量参照浮游藻类叶绿素测定法测定^[5];在浸提液培养试验中,由于浸提液本身具有一定的颜色,故采用血球计数板计数表示藻密度。溶解性总糖、蛋白及丙二醛含量分别采用蒽酮比色法、Folin酚试剂法和硫代巴比妥比色法测定^[6]。试验结果采用生物统计软件进行方差分析。

2 结果与讨论

2.1 共培养的克藻效果

共培养对小球藻生长的影响见图1。

图1 共培养对小球藻生长的影响

Fig 1 Influence of *Ruppia maritima* on *Chlorella sp* during coexistence culture

由图 1 可知,对照组的小球藻数量呈对数增长趋势,而在共培养的各組中,川蔓藻对小球藻的生长均有明显的抑制作用,共培养 2 d 后,即使是初始藻密度较大的 3 组,其 OD_{650} 值也降至 0.030 以下,并且没有出现反弹;共培养 5 d 后, OD_{650} 值降至对照组的 1.3% ~ 7.1%。叶绿素 a 在接种 1 d 后达到峰值,且比对照组的大,说明川蔓藻的克藻作用尚没有发挥,甚至对其生长还有一定的促进作用,这可能与川蔓藻呼吸释放 CO_2 有关。之后叶绿素 a 的含量开始显著下降,并稳定在较低水平。培养 5 d 后叶绿素 a 含量降至对照组的 3.2% ~ 10.4%。观察显示,广口瓶的底部有深绿色的絮状体,应为死亡的小球藻,培养水则十分清澈。生物统计结果表明,对两个指标的影响均达到极其显著水平 ($P < 0.01$)。

以上分析表明,川蔓藻对水华小球藻生长的抑制作用有 24 h 左右的延时期,之后克藻作用明显,使藻密度和叶绿素 a 含量均稳定在较低的水平。

2.2 培植水的克藻效果

在用培植水培养小球藻的过程中,川蔓藻对小球藻生长的影响见图 2。

小球藻的生长都有抑制作用。其中培植水体积分数为 60% 时克藻效果最好,培养过程中藻液的 $OD_{650} < 0.050$ 。当培植水的体积分数较小时(20%、40%),培养约 2 d 后 OD_{650} 值会有小幅度的增加,之后克藻作用显现,两个指标值均明显下降。培养 6 d 时, OD_{650} 及叶绿素 a 含量分别降至对照组的(5.0% ~ 23.4%)、(9.1% ~ 23.8%)。生物统计结果显示,对两个指标的影响均达到极其显著水平 ($P < 0.01$)。

比较培植水培养试验与共培养试验的结果可以发现,虽然两种方法都有明显的克藻效应,但共培养时的藻密度及叶绿素 a 含量均明显低于培植水培养试验的。在克藻效应的延时期方面,共培养的比培植水培养的短将近 24 h,这说明共培养的克藻效果更好。经分析原因为,共培养时是活体川蔓藻直接作用于小球藻,其分泌物可随时释放到水中;而培植水中的克藻物质为一定量,甚至还有部分已经分解或挥发掉,故培植水的克藻效果略差些。克藻物质主要是植物的次生代谢物,有研究表明脂肪酸类、酚类、固醇类物质均有克藻作用^[7,8]。

2.3 浸提液的克藻效果

不同浓度的川蔓藻浸提液对小球藻生长的抑制效果见图 3。

图 2 培植水培养对小球藻生长的影响

Fig 2 Influence of *Ruppia maritima* on *Chlorella sp* during solution culture

由图 2 可知,培植水的体积分数虽有变化,但对

图 3 浸提液培养对小球藻生长的影响

Fig 3 Influence of aqueous leachates of *Ruppia maritima* on *Chlorella sp*

由图 3 可知,培养 4 d 后对照组的藻细胞数量达到了峰值 (1.905×10^6 个 /mL),之后维持稳定。低浓度组的藻细胞数量在培养的前 2 d 呈增加的趋势,但增幅较小,最高值 $< 700 \times 10^6$ 个 /mL。培养 5 d 后,浸提液培养组的藻细胞数量降至对照组的 0.8% ~ 13.2%。生物统计结果表明,对两个指标的影响均达到极其显著水平 ($P < 0.01$)。

丙二醛 (MDA)是细胞脂质过氧化的产物,其含量可反映藻细胞膜被破坏的程度。对 MDA、糖、蛋白的测定结果见表 1。

表 1 对 MDA、糖及蛋白含量的测定结果

Tab 1 Effects of aqueous leachates of *Ruppia maritima* on MDA, glucide, protein of *Chlorella sp*

项目	丙二醛 / ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	糖 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	蛋白 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
CK	0.027	2.587	2.053
浸提液体积分数为 5%	1.011	117.016	8.211
浸提液体积分数为 10%	0.314	36.050	4.106
浸提液体积分数为 15%	0.382	43.909	6.843
浸提液体积分数为 20%	0.341	39.117	7.527
浸提液体积分数为 25%	0.368	42.284	14.370

由表 1 可知,加入浸提液的各组的丙二醛含量比对照组有非常明显的增加,说明小球藻的细胞膜受破坏严重。同时,经浸提液培养后糖、蛋白的含量也均比对照组有明显的增加。生物统计结果表明,对 MDA、溶解性总糖含量的影响均达到极其显著水平 ($P < 0.01$)。

试验中观察到,培养 2 d 后液面有一层脂膜,但随着试验时间的进一步延长,脂膜层又逐渐消失了。经分析,这是由于小球藻的细胞膜被破坏后溢出了脂类物质,并最终被存活的藻吸收、分解所致。此外,随着浸提液体积分数的提高和培养时间的延长,在三角瓶底部出现了深绿色的絮状沉淀,并逐渐变成褐色,分析其为死亡的藻细胞。

由此可见,川蔓藻中含有能抑制水华小球藻生长的物质,并且克藻作用显著。培养 2 d 后,小球藻的数量即开始明显下降,5 d 后藻细胞膜有明显被破坏的迹象。

3 结论

川蔓藻对小球藻的生长具有明显的抑制效果。当采用共培养时,克藻效应有 1 d 的延时期,之后克

藻作用明显,使藻密度和叶绿素 a 含量均稳定在较低的水平。培植水培养比共培养的克藻效应延时期长约 1 d。川蔓藻的浸提液中含有能抑制水华小球藻生长的物质,且克藻作用显著。因此,可利用川蔓藻控制以高盐度再生水为水源的景观水体富营养化。

参考文献:

- [1] Sun X X, Choi J K. A preliminary study on the mechanism of harmful algal bloom mitigation by use of sophorolipid treatment[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 2004, 304 (1): 35 - 49.
- [2] Satoshi N, Yutaka I, Masaaki H, et al. Growth inhibition of blue-green algae by allelopathic effects of macrophytes [J]. Water Sci Technol, 1999, 39 (8): 47 - 53.
- [3] Mulderij G, Donk E V, Rodofs J G. Differential sensitivity of green algae to allelopathic substances from Chara [J]. Hydrobiologia, 2003, 491 (1 - 3): 261 - 271.
- [4] Greca M D, Ferrara M, Fiorentino A, et al. Antialgal compounds from Zantedeschia aethiopica [J]. Phytochemistry, 1998, 49 (5): 1299 - 1304.
- [5] 美国公共卫生协会. 水和废水标准检验法 [M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 1985.
- [6] 王宪泽. 生物化学实验技术原理和方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [7] Yasushi K, Yasunori K, Kyoji S. Acute toxicity of fatty acid to the freshwater green alga *Selenastrium capricornutum* [J]. Environ Toxicol, 2003, 18: 289 - 294.
- [8] Satoshi N, Yutaka I, Masaaki H. Algal growth inhibition effects and inducement modes by plant-producing phenols [J]. Water Res, 2001, 35 (7): 1855 - 1859.

作者简介:张楠 (1977 -), 女, 天津人, 博士研究生, 主要从事污水再生利用研究。

E - mail: tjnan@126. com

收稿日期: 2007 - 01 - 22