

张薛, 胡洪营, 门玉洁. 2007. 大麦秆提取液对铜绿微囊藻生长的影响研究 [J]. 环境科学学报, 27(12): 1984 - 1987

Zhang X, Hu H Y, MEN Y J, *et al* 2007. Inhibitory effect of extract from barley straw on the growth of *Microcystis aeruginosa* [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 27(12): 1984 - 1987

大麦秆提取液对铜绿微囊藻生长的影响研究

张薛, 胡洪营*, 门玉洁

清华大学环境科学与工程系 环境生物学研究所 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084

收稿日期: 2006-12-05 录用日期: 2007-09-19

摘要: 大麦秆提取液是无害、高效的抑藻剂。未过滤大麦秆提取液对铜绿微囊藻的生长有显著的抑制效果, 投加比例在 $10\text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上时, 抑制效果与大麦秆提取液投加浓度之间无明显相关关系, 6d 后的抑制率均在 95% 以上, 且培养液澄清透明; 而通过 $0.22\mu\text{m}$ 滤膜过滤后的大麦秆提取液对铜绿微囊藻的抑制效果不显著。在投加未过滤大麦秆提取液的培养液中发现大量原生动物, 推测原生动物的吞食作用是大麦秆提取液抑制铜绿微囊藻生长的主要原因之一。

关键词: 大麦秆提取液; 铜绿微囊藻; 原生动物; 抑藻作用

文章编号: 0253-2468(2007)12-1984-04 中图分类号: X172 文献标识码: A

Inhibitory effect of extract from barley straw on the growth of *Microcystis aeruginosa*

ZHANG Xue, HU Hongying*, MEN Yujie

Division of Environmental Biology, State Key Joint Lab of Environmental Simulation and Pollution Control, Tsinghua University, Beijing 100084

Received 5 December 2006; accepted 19 September 2007

Abstract: In recent years, the blue algal blooms occurred in the main lakes of our country more and more often, especially the species of *Microcystis aeruginosa*. Mostly reported, the barley straw extract is harmless and effective to control the growth of many nuisance algae. In this study, the growth of *Microcystis aeruginosa* was heavily inhibited by unfiltered barley straw extract, with an inhibition ratio of 95% at all concentrations higher than $10\text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ after 6 days, and the culture became clear water with no green color. But the barley straw extract lost its inhibitory effect after filtering through a $0.22\mu\text{m}$ filter. In the culture solution with unfiltered barley straw extract, many unknown protozoa were found suggesting that the protozoa may be one of the main causes for the inhibitory effect of barley straw extract.

Keywords: barley straw extract; *Microcystis aeruginosa*; protozoa; inhibitory effect

1 引言 (Introduction)

近年来 N、P 等营养物质大量排入水体, 引起了严重的水体富营养化和藻类的爆发性生长 (即水华), 对人体健康、生态和景观等各方面都造成了严重的危害。在物理、化学、生物等各种治理水华的方法中, 用植物浸提液来抑制藻类生长的方法, 因其具有来自自然、生态危险小、副作用少、效果好等优点而受到人们越来越多的关注 (胡洪营等, 2006)。众多研究表明, 水生植物、陆生植物以及某些大型

藻类均具有抑制藻类生长的作用 (Mulderij *et al*, 2006; Kömer *et al*, 2002; Nan *et al*, 2004; Hisashi, 2004)。Ball 等 (2001) 的研究指出, 腐败大麦秆的提取液在低浓度 (0.005%) 下, 能很好地抑制水华中常见微囊藻的生长, 同时大麦秆也是目前用于实际水体抑制藻类生长最为成功的植物 (李锋民等, 2004)。各国学者研究了其抑藻效果和机理, 结果不尽相同。本研究采用水华爆发时常见藻种——铜绿微囊藻作为受试藻种, 研究了大麦秆提取液对铜绿微囊藻生长的影响, 并对其抑藻机理进

基金项目: NSFC-JST 重大国际合作项目 (No. 50721140117)

Supported by the NSFC-JST joint project (No. 50721140117)

作者简介: 张薛 (1983—), 女, 博士生, Tel: 010 - 62778943, E-mail: zhangxue01@tsinghua.org.cn; * 通讯作者 (责任作者), Tel: 010 - 62794005, E-mail: hyhu@tsinghua.edu.cn

Biography: Zhang Xue (1983—), female, ph. D. Candidate, Tel: 010 - 62778943, E-mail: zhangxue01@tsinghua.org.cn; * **Corresponding author**, Tel: 010 - 62794005, E-mail: hyhu@tsinghua.edu.cn

行了分析.

2 材料和方法 (Materials and methods)

2.1 材料

铜绿微囊藻由武汉水生生物研究所淡水藻种库提供,编号为 315.大麦秆提取液为某公司提供.

2.2 铜绿微囊藻培养基组分

铜绿微囊藻的培养采用 BG11 培养基,其配方如表 1 所示.

表 1 BG11培养基成分			
Table 1 The composition of BG11 medium			
化学成分	浓度 / (mg·L ⁻¹)	化学成分	浓度 / (mg·L ⁻¹)
NaNO ₃	1500	Na ₂ EDTA	1
K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	40	H ₃ BO ₃	2.86
MgSO ₄ · 7H ₂ O	75	MnCl ₂ · 4H ₂ O	1.81
CaCl ₂ · 2H ₂ O	36	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.22
柠檬酸	6	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.079
柠檬酸亚铁铵	6	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.39
Na ₂ CO ₃	20	Co(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	0.049

2.3 实验方法

实验前采用 BG11 培养基,将铜绿微囊藻预培养 9~10d,使之处于对数增长期,作为藻种使用.在无菌条件下将大麦秆提取液(0、2、4、6mL)、藻种(5 mL)置于 500 mL 锥形瓶内,加入培养液使培养体系总体积为 200 mL,则所得各组培养液中大麦秆提取液浓度分别为 0、10、20、30mL·L⁻¹.人工气候箱培养条件:光暗比 14/10,温度 25℃,相对湿度 75%,光照强度为 40~60μmol·m⁻²·s⁻¹.用血球计数板在显微镜(10×40倍)下计藻数.

2.4 数据处理

大麦秆提取液对藻类的抑制率 (Inhibition Ratio) 公式为:

$$R = (1 - N/N_0) \times 100\% \tag{1}$$

式中,R——抑制率;N——加入提取液组藻密度;N₀——对照组藻密度.

3 实验结果 (Experimental results)

3.1 大麦秆提取液水质成分分析

对大麦秆提取液的一些基本水质指标进行检测,发现其 pH 为 7 左右,因投加浓度较低,实验中没有影响培养液的 pH 值;COD 约为 100mg·L⁻¹,说明其有机物含量较少;对常见重金属铬、铅、铜、汞、镉等进行检测,均无法检出.同时,对大麦秆提取液

进行镜检,没有发现原生动物.

3.2 大麦秆提取液对铜绿微囊藻生长的影响

本研究设计了 4 组实验,即投加大麦秆提取液的浓度分别为 0、10、20、30mL·L⁻¹,每组设 3 个平行样.本次实验中,大麦秆提取液不经过任何处理,直接根据设计浓度投入培养液中进行抑藻效果检测.

实验结果如图 1 和表 2 所示.在连续培养的 10d 中,加入大麦秆提取液的培养液始终保持透明清澈,而对照组的培养液逐渐变绿,表明大麦秆提取液对铜绿微囊藻的生长表现出较好的抑制效果,抑制效果与投加的大麦秆浓度没有显著的相关性,培养 6d 后各浓度下铜绿微囊藻的抑制率均达到 95% 以上,且在投加大麦秆的培养液中均发现有较多的原生动物存在,尤其是第 4d 观察时发现较多的原生动物且运动活跃,第 6d 观察时原生动物稍有减少.图 2 为加入大麦秆提取液后培养液中观察到的原生动物形态.

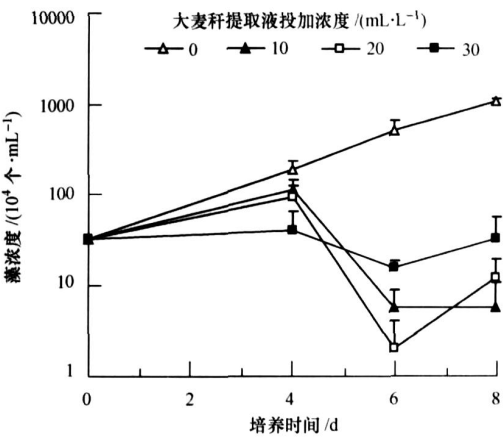


图 1 投加不同浓度大麦秆提取液的培养液中铜绿微囊藻的生长情况

Fig 1 Effects of barley straw extracts on the algal density of *M. aeruginosa*

表 2 大麦秆提取液对铜绿微囊藻生长的抑制率

Table 2 Effects of barley straw extracts on relative growth rates of *M. aeruginosa*

培养时间 /d	对照组	10mL·L ⁻¹ 大麦秆提取液	20mL·L ⁻¹ 大麦秆提取液	30mL·L ⁻¹ 大麦秆提取液
0	0	0	0	0
4	0	38.41%	49.09%	78.44%
6	0	98.89%	99.61%	97.07%
8	0	99.46%	98.89%	96.99%

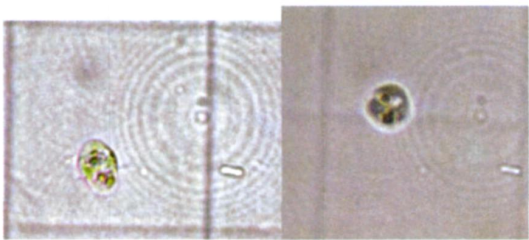


图 2 加入大麦秆提取液的培养液中出现的原生动物
Fig 2 Protozoa in the culture solution with barley straw extracts

为进一步验证大麦秆提取液对铜绿微囊藻生长的抑制作用,设计如下实验:向培养 10d 的铜绿微囊藻培养液(藻密度约为 1.59×10^7 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$)中,分别加入 3mL 大麦秆提取液和 10mL 上述实验中已产生抑制效果的铜绿微囊藻培养液(大麦秆提取液浓度为 $20\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 组,已有大量原生动物存在),即投加大麦秆提取液浓度分别为 $15\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$,放入人工气候箱中培养,24d 后的观察结果如图 3 所示.对照组中铜绿微囊藻仍为绿色,而加入大麦秆提取液的培养液均变的澄清透明,可见,此大麦秆提取液对高浓度铜绿藻的生长也有很强的抑制作用,即便在低浓度(相当于 $1\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$)下也有较好的作用.



图 3 培养 24d 后铜绿微囊藻的生长情况(从左到右大麦秆提取液浓度依次为 0、15、 $1\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$)

Fig 3 Growth of *Microcystis aeruginosa* after 24 days (the concentrations of barley straw extracts from left to right are 0, 15, $1\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$)

3.3 过滤对大麦秆提取液抑藻作用的影响

在 3.1 节的实验中,加入大麦秆提取液的培养液中出现原生动物,推测这是导致铜绿微囊藻密度下降的原因之一.本次实验中将大麦秆提取液通过 $0.22\mu\text{m}$ 的滤膜进行过滤,以去除其中的原生动物和细菌等微生物,同样将大麦秆提取液投加浓度设

计为 0、10、20、 $30\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$,进行铜绿微囊藻生长抑制实验,各浓度分别设 3 个平行样.实验结果如图 4 所示.从 5d 的观察结果可见,过滤后的大麦秆提取液对铜绿微囊藻生长无明显抑制效果.

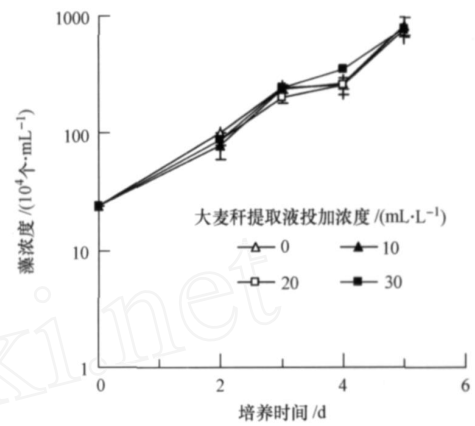


图 4 投加不同浓度过滤大麦秆提取液的培养液中铜绿微囊藻的生长情况

Fig 4 Effects of filtered barley straw extracts on the algal density of *M. aeruginosa*

为进一步确定过滤对大麦秆提取液抑制铜绿微囊藻生长作用的影响,将过滤和未过滤大麦秆提取液同时进行铜绿微囊藻生长抑制实验,大麦秆提取液投加浓度设为 $20\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$,每组 3 个平行样.培养 24d 后的实验结果见图 5.培养 8d 后用显微镜镜检发现,对照组中藻密度达到 3.55×10^6 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$, $20\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 过滤大麦秆提取液浓度下的藻密度为 2.75×10^6 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$,抑制率为 22%,而 $20\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 未



图 5 培养 24 天后铜绿微囊藻的生长情况(从左到右依次为对照、 $20\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 过滤大麦秆提取液、 $20\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 未过滤大麦秆提取液)

Fig 5 Growth of *M. aeruginosa* after 10 days (the concentrations of barley straw extracts from left to right are 0, 20 (filtered), $20\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$ (unfiltered))

过滤大麦秆提取液浓度下的藻密度为 7×10^4 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$, 抑制率达 98%, 并且此组中观察到原生动物, 其余两组中没有发现. 考虑到计数误差等原因, 可以认为过滤大麦秆提取液对铜绿微囊藻的生长无明显抑制效果, 而未过滤的大麦秆提取液能较好地抑制铜绿微囊藻的生长.

4 分析与讨论 (Analysis and discussion)

大麦秆提取液具有良好的抑藻效果, 其抑藻机理国内外很多学者均作了各方面的研究, 物理、化学和生物作用均有人提及 (吴为中等, 2005), 李锋民等 (2004) 将大麦秆控藻作用的机理总结为 4 个步骤, 最终是在阳光作用下, 腐殖质和溶解氧作用产生的过氧化氢起到抑藻作用.

本研究中, 由于大麦秆提取液中的重金属浓度不高, 其对铜绿微囊藻生长的抑制作用不会是重金属的毒害作用; 其通过 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤后抑制效果不显著, 也说明其水溶性物质的抑藻作用不显著; 在培养过程中, 培养液 pH 也没有明显变化, 不会影响铜绿微囊藻的正常生长; 实验组和对照组最显著的区别是实验组培养液中活跃的原生动物, 其抑制效果的出现很可能是原生动物对铜绿微囊藻的吞食作用. 赵英魁 (1997) 也获得了相似的结论, 他发现当大麦草含量相同时, 无脊椎动物数量越多, 藻类生长亦越困难. 徐敏等 (2002) 总结大麦秆抑藻机理时首先提及经典的生物控制理论, 即大麦秆的投入有利于水体中壮大浮游动物种群和增加其生物量, 借助浮游动物对水华藻类产生竞争压力和牧食压力. Ferrier 等 (2005) 研究也发现, 大麦秆对某些藻类的生长没有明显作用, 但可增加浮游生物的数量, 改变其生态系统结构. 大麦秆浸提的方法不同, 所得提取物的组成包括其中的化学物质和所滋生的细菌、原生动物等也会有较大差异, 对各种情况下所得提取液的抑藻机理进行研究, 其结果也会有所不同. 本研究所用大麦秆提取液抑制铜绿微囊藻生长的主要原因是原生动物的吞食作用.

5 结论 (Conclusions)

1) 未过滤大麦秆提取液对铜绿微囊藻的生长有显著的抑制效果, 且投加浓度在 $10 \text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上时, 抑制效果与大麦秆提取液投加浓度之间没有明显的相关关系, 6d 后的抑制率均在 95% 以上, 且培养液澄清透明, 而通过 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤后的大麦

秆提取液对铜绿微囊藻的抑制效果不显著.

2) 在投加未过滤大麦秆提取液的培养液中发现大量原生动物, 推测原生动物的吞食作用是大麦秆提取液抑制铜绿微囊藻生长的主要原因之一.

责任作者简介: 胡洪营 (1963—), 男, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事环境微生物学与环境生物技术、污水再生利用水质安全评价与保障技术研究等. Tel: (86) 010 - 62794005. E-mail: hyhu@tsinghua.edu.cn

References:

- Ball A S, Williams M, Vincent D, *et al* 2001. Algal growth control by a barley straw extract [J]. *Bioresource Technology*, 77(2): 177—181
- Ferrier M D, Sr B R B, Terlizzi D E, *et al* 2005. The effects of barley straw (*Hordeum vulgare*) on the growth of freshwater algae [J]. *Bioresource Technology*, 96(16): 1788—1795
- Hisashi K N. 2004. Allelopathic substance in rice root exudates: Rediscovery of momilactone B as an allelochemical [J]. *Journal of Plant Physiology*, 161(3): 271—276
- Hu H Y, Men Y J, Li F M. 2006. Review on phyto - allelochemicals and its application for harmful algae control [J]. *Ecology and environment*, 15(1): 153—157 (in Chinese)
- K mer S, Nicklisch A. 2002. Allelopathic growth inhibition of selected phytoplankton species by submerged macrophytes [J]. *Journal of Phycology*, 38(5): 862—871
- Li F M, Hu H Y. 2004. Mechanism of phyto - allelochemicals and its application for harmful algae control in nature water body [J]. *Water and Wastewater Engineering*, 30(2): 1—4 (in Chinese)
- Mulderij G, Smolders A J P, Donk E V. 2006. Allelopathic effect of the aquatic macrophyte, *Stratiotes aloides*, on natural phytoplankton [J]. *Freshwater Biology*, 51(3): 554—561
- Nan C R, Zhang H Z, Zhao G Q. 2004. Allelopathic interactions between the macroalga *Ulva pertusa* and eight microalgal species [J]. *Journal of Sea Research*, 52(4): 259—268
- Wu W Z, Rui K J, Liu Y. 2005. Review on algal control by barley-straw [J]. *Ecology and Environment*, 14(6): 972—975 (in Chinese)
- Xu M, Bi Y H, Zhao X F, *et al* 2002. The application of barley straw in controlling of algal bloom [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 26(6): 704—711 (in Chinese)
- Zhao Y K. 1997. Investigation of mechanism of inhibitory effect of rotting barley straw on algal growth [J]. *Journal of the Hebei Academy of Sciences*, (3): 19—24 (in Chinese)

中文参考文献:

- 胡洪营, 门玉洁, 李锋民. 2006. 植物化感作用抑制藻类生长的研究进展 [J]. *生态环境*, 15(1): 153—157
- 李锋民, 胡洪营. 2004. 植物化感作用控制天然水体中有害藻类的积累与应用 [J]. *给水排水*, 30(2): 1—4
- 吴为中等, 芮克俭, 刘永. 2005. 大麦秆控藻研究进展 [J]. *生态环境*, 14(6): 972—975
- 徐敏, 毕永红, 赵先富, 等. 2002. 大麦秆在控制水华藻类中应用 [J]. *水生生物学报*, 26(6): 704—711
- 赵英魁. 1997. 大麦草抑制淡水藻类生长的实验研究 [J]. *河北省科学院学报*, (3): 19—24