

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2019.09.021

# 荷花及其种植水对巢湖蓝藻抑制作用的研究

朱传雪, 岳俊阳, 刘永胜

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230009)

**摘要:**通过连续测定田间和实验室条件下单位水体中蓝藻细胞的数量,文章研究了具有较高观赏价值和经济价值的水生植物荷花及其种植水对巢湖蓝藻的抑制作用。试验结果表明荷花活体及其不同部位的组织样品都能够显著抑制巢湖蓝藻的生长,并且其抑制效应类似。同时,荷花种植水也对蓝藻生长具有明显的抑制作用,表明水体中含有杀死蓝藻细胞的化感物质。而经过高压灭菌处理的荷花种植水对蓝藻的生长没有影响,说明此类化感物质具有热不稳定性,在高温加热后基本失去了活性。另外,通过测定蓝藻细胞内叶绿素 a 的质量浓度说明荷花分泌的化感物质破坏了蓝藻主要的光合作用系统。该研究为综合利用荷花生态防治巢湖蓝藻提供了基本的数据支持。

**关键词:**荷花;种植水;蓝藻;化感作用;巢湖

中图分类号:Q938

文献标识码:A

文章编号:1003-5060(2019)09-1274-05

## Inhibitory effect of lotus and its culture liquor on the growth of cyanobacteria in Chaohu Lake

ZHU Chuanxue, YUE Junyang, LIU Yongsheng

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

**Abstract:** The inhibitory effect of ornamental lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) and its culture liquor on the growth of cyanobacteria in Chaohu Lake was investigated by continuously measuring the cell concentration of cyanobacteria under both field and laboratory conditions. The results demonstrated that the living lotus as well as its different tissues could all notably inhibit the growth of cyanobacteria from Chaohu Lake with a similar inhibitory effect. Meanwhile, the liquor cultured with lotus could also inhibit the growth of cyanobacteria in significant measure, indicating some allelopathic substances in the water. However, these allelopathic substances had no effect on the growth of cyanobacteria after sterilization in the autoclave, which indicated that they had thermal instability. Furthermore, the capability of photosynthesis was almost lost after the treatment of allelopathic substances by measuring the content variation of chlorophyll a in cyanobacteria cells. The present study could provide data support for the comprehensive utilization of lotus in ecologically controlling cyanobacteria in Chaohu Lake.

**Key words:** lotus; culture liquor; cyanobacteria; allelopathy; Chaohu Lake

随着我国经济及城镇化的迅速发展,工业废水和城市生活污水大量排放,使得湖泊等水体环境富营养化程度加剧,从而导致水体中的藻类暴

发性增长,出现“水华”<sup>[1]</sup>。根据《中国水资源公报》报道,我国湖泊富营养化已经非常严重且呈恶化趋势。数据显示鄱阳湖、洞庭湖、太湖、巢湖和

收稿日期:2018-01-24

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31471157)

作者简介:朱传雪(1996-),女,安徽滁州人,合肥工业大学硕士生;

刘永胜(1964-),男,重庆市人,博士,合肥工业大学教授,博士生导师。

洪泽湖五大淡水湖全部处于富营养化状态,其中太湖和巢湖西半湖更达到了中度富营养状态<sup>[2]</sup>。

蓝藻水华的发生不仅造成湖泊水体功能下降和水质性缺水,而且部分有毒藻类释放的藻毒素会影响水体中植物和动物的正常生长,甚至可能通过食物链进入人体,从而影响人类的身心健康<sup>[3-4]</sup>。同时,频繁暴发的蓝藻水华还会直接或间接造成巨大的经济损失,严重制约了当地社会经济和生态环境的可持续发展<sup>[5]</sup>。因此,有效防治蓝藻水华的暴发是当前迫切需要解决的问题。

目前,常用于控制和治理湖泊藻类的技术主要有物理方法、化学方法和生物方法 3 大类<sup>[6-7]</sup>。其中,生物方法因其具有灵敏长效、环保友好、生态安全性好等优点,被认为是一种最具前景的预防治理途径,快速成长为该领域的研究热点。研究表明,高等水生植物能够吸收水体中大量积存的氮、磷等营养物质,使得其中营养盐的含量明显减少,可以从源头上降低湖泊水华发生的可能性<sup>[8]</sup>。另外,一些水生植物还能够通过释放化感物质,来抑制水体中藻类的生长和增殖,具有预防和治理湖泊水华发生的作用<sup>[9-13]</sup>。

本文选取了具有观赏价值的种植荷花太空莲品种作为研究对象,依托巢湖西岸 3 000 亩荷花种植基地,通过连续实地追踪测定荷花田间种植水体中蓝藻细胞的数量变化;同时在实验室设定控制实验,比较了荷花不同组织部位以及荷花种植水对巢湖蓝藻的抑制效果,旨在为观赏性水生植物荷花的生态价值和综合利用提供科学的依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 荷花的种植

本文用来进行抑藻实验的荷花为兼具观赏性的籽莲品种太空莲 36 号 (*Nelumbo nucifera* Gaertn.), 人工栽培于巢湖西岸三河木兰社区内(北纬 N31°34'46.49", 东经 E117°17'42.23"), 面积约 3 000 亩。采取的茎、叶、花、花粉均为健康无病害的组织部位。

#### 1.1.2 种植水的处理

荷花种植水取自巢湖西岸种植基地内多个不同的位置,经 0.22 μm 滤膜减压抽滤后冷藏待用。此外,取一部分过滤种植水进行高温高压处理,所使用方法为实验室高压蒸汽灭菌法。

### 1.1.3 蓝藻的搜集

蓝藻采集于巢湖西岸荷花种植基地隔岸的巢湖水体,包括环湖线上多个不同的地点。

## 1.2 方法

### 1.2.1 荷花种植水抑藻的田间试验

在巢湖蓝藻暴发时,打开排水闸,引入足量带有蓝藻水华的巢湖水到荷花田间,并在关闭排水闸后立即测定田间水体中蓝藻的数量。其后几天在同一时刻连续测定该水体中蓝藻的数量与水体的深度。所有测定都选取多个不同地点,最后统计每天单位水体中蓝藻的平均数量。

### 1.2.2 菌种的实验室培养

取 20 mL 带有蓝藻的巢湖水置于 50 mL 的离心管中,以 5 000 r/min 的转速离心 10 min,弃去上清液。然后,使用低浓度碳酸氢钠溶液洗涤后重复离心 3 次。最后,使用灭菌水稀释并划平板进行分离培养,挑选菌落形态一致,生长占优势的单个菌落进行富集培养与纯化分离。所有操作都在无菌条件下进行,所获菌种进行冷冻保藏。菌种纯化、培养和保存操作均使用无菌 BG11 培养基,设定温度为(25±1) °C,光照度为 2 200 lx,光暗比为 16 h/8 h。液体培养期间,每天手工摇动培养瓶 2 次。

### 1.2.3 荷花不同组织抑藻的实验室试验

分别取荷花茎、叶、花和花粉各 1 g,切碎后添加到含有等量蓝藻的 250 mL 培养瓶中。同时以不添加任何组织样品的蓝藻培养液作为对照组,起始细胞密度约为  $5.0 \times 10^5$  个/mL。试验中每种处理和对照组均设 3 个重复,间隔 24 h 进行一次细胞计数。

### 1.2.4 荷花种植水抑藻的实验室试验

分别用抽滤和高压灭菌的种植水配制 BG11 培养液于 250 mL 培养瓶中,然后接种适量蓝藻至起始细胞密度约为  $2.5 \times 10^5$  个/mL。同时以灭菌蒸馏水配制的蓝藻培养液作为对照组。试验中每个处理和对照组均设 3 个重复,每隔 24 h 进行细胞计数。

### 1.2.5 菌种细胞的计数

菌种细胞的数量采用 XB-K-25 型血球计数板,在 Olympus 显微镜下以显微镜视野法进行计数。自试验之日起每天定时采样并计数 3 次,取平均值。

### 1.2.6 叶绿素 a 质量浓度的测定

培养菌种细胞中的叶绿素 a 质量浓度采用比色法测定<sup>[14]</sup>。叶绿素 a 质量浓度的计算公式为:

$$\rho_a = 1395D_{665} - 6.88D_{649}$$

其中,  $D_{665}$ 、 $D_{649}$  分别为溶液在 665、649 nm 波长下的吸光度;  $\rho_a$  为叶绿素 a 的质量浓度。

### 1.2.7 统计分析

本文采用 Microsoft Excel 2013 软件对试验中所测数据进行统计分析和图表制作。所有处理均重复 3 次, 分析结果以(平均值±标准差)表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 种植荷花对田间水体中蓝藻生长的影响

种植荷花对田间水体环境中蓝藻数量的影响如图 1 所示。图 1 中, 位置 A 指田间引水入口处; 位置 B 指田间引水中间分支点; 位置 C 指边缘。

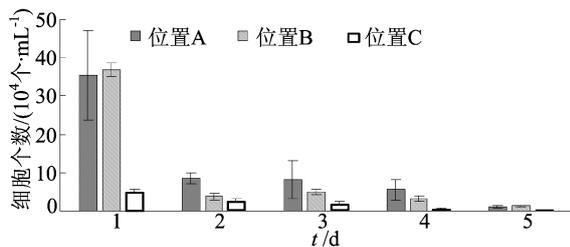


图 1 种植荷花对蓝藻生长的影响

由图 1 可以看出, 第 1 天引入暴发有蓝藻水华的巢湖水后, 荷花田间水体中蓝藻数量骤增, 在主要流经位置处蓝藻细胞的初始个数达到  $3.5 \times 10^5$  个/mL, 如位置 A (田间引水入口处) 和位置 B (田间引水中间分支点)。但因荷花种植面积较大, 不同取样点蓝藻细胞的数量还存在一定差别, 如边缘位置 C 的初始数量只有  $5.0 \times 10^4$  个/mL。然而, 从其后连续数天在 3 个位置处取样监测的数据中, 都可以很明显地观察到单位水体中蓝藻数量逐步减少, 尤其在第 1 天内其细胞数量下降最为显著。因此, 通过实地追踪荷花种植田间水体中蓝藻细胞的数量变化, 发现种植荷花对蓝藻的生长具有明显的抑制作用, 并且在所监测范围内对不同起始数量的蓝藻细胞都有抑制效果。

### 2.2 不同组织样品及种植水对蓝藻生长的影响

荷花不同组织样品对巢湖蓝藻生长的影响如图 2 所示。由图 2 可以看出, 与使用超纯水配置培养基的对照组相比较, 荷花茎、叶、花、花粉及其田间种植水对蓝藻的生长都具有明显的抑制作用。其中, 荷花不同组织部位的抑藻效果接近, 无显著区别, 说明具有抑藻作用的化感物质普遍存在于荷花的所有组织中。而田间种植水的抑藻作

用在最初 3 d 内与荷花组织的抑藻作用相似, 从第 4 天开始, 虽仍有较明显的抑藻作用, 但其效果逐步弱于荷花组织, 表现为蓝藻数量的缓慢上升。由此, 说明荷花组织中含有能够抑制蓝藻生长的化感物质, 并且会在荷花生长的过程中被分泌和释放到水体环境中。

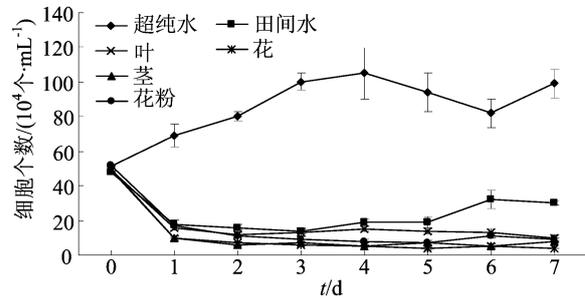


图 2 荷花不同组织样品及种植水对蓝藻生长的影响

### 2.3 不同处理后种植水对蓝藻生长的影响

荷花种植水分别经减压抽滤和高压灭菌 2 种方式处理后对巢湖蓝藻生长的影响如图 3 所示。

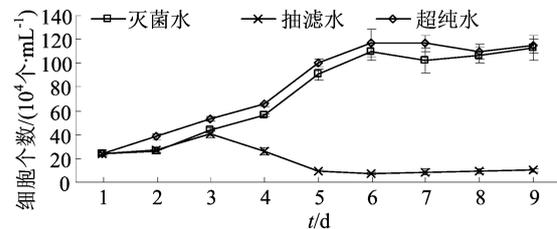


图 3 荷花种植水对蓝藻生长的影响

从图 3 可以看出, 与使用超纯水配置培养基的对照组相比较, 在使用抽滤水配置培养基的试验组中蓝藻细胞数量表现出总体下降的趋势, 并从第 4 天后一直维持在较低的数量水平, 说明抽滤水对蓝藻生长具有明显的抑制作用; 而使用高压灭菌水配置培养基的实验组中蓝藻细胞个数却仍然保持在快速增长的状态, 其变化趋势与对照组非常相似, 只是在试验开始时表现出对蓝藻生长的抑制作用, 说明分泌在水体中的化感物质在高压灭菌过程中几乎失去活性。

### 2.4 不同处理后种植水对蓝藻叶绿素的影响

荷花种植水分别经减压抽滤和高压灭菌 2 种方式处理后对巢湖蓝藻生长过程中细胞内叶绿素 a 质量浓度的影响如图 4 所示。

从图 4 可以看出, 与对照组相比较, 高压灭菌水实验组中蓝藻细胞内叶绿素 a 的质量浓度没有显著区别, 而抽滤水实验组中蓝藻细胞内叶绿素

a 质量浓度一直很低,说明此实验组中蓝藻细胞已经基本丧失了进行正常光合作用的能力。

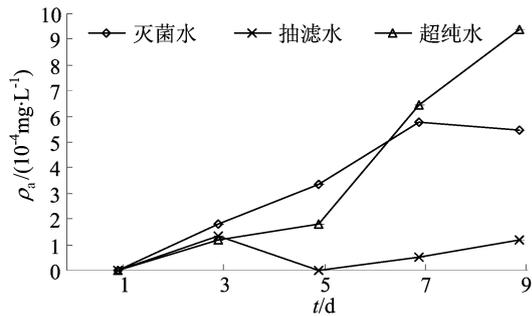


图 4 荷花种植水对蓝藻叶绿素质量浓度的影响

### 3 讨 论

通过田间和实验室试验表明,荷花组织及其种植水对不同细胞个数的巢湖蓝藻均产生了较明显的化感抑制作用。根据荷花多个不同组织的抑藻实验发现,具有抑藻作用的化感物质会在荷花生长过程中不断产生并能够释放到水体环境中。由于荷花在初始阶段表现出更明显的抑藻效果,而培养一段时间后,抑制作用变弱,说明水体中的化感物质消耗掉了,含量下降。由此可知,水体环境中化感物质的含量高于荷花每天释放到水体中的含量,表明此类化感物质具有一定的化学稳定性,并能够在水体环境中形成一定程度的积累。同时,荷花组织的抑藻作用比同样起始效果的种植水具有更长的持续时间,也充分说明了此类化感物质会在荷花生长过程中不断产生。

另外,经过减压灭菌处理后的荷花种植水仍然具有明显的抑藻作用,由此排除了水体中可能存在的其他微生物的干扰,说明水体中确实具有抑制蓝藻生长的化感物质。而经过高压灭菌处理后的荷花种植水几乎没有明显的抑藻效果,说明分泌在水体中的化感物质在高温高压条件下丧失了活性,具有热不稳定性。这与文献[15]研究结论相一致。许多研究表明,植物分泌的化感物质主要是其生长过程中合成的次生代谢产物,包括黄酮类、酚类、萜类、生物碱、有机酸等<sup>[16]</sup>。它们分子量小、结构简单,广泛分布于植物的各个组织部位,但在体外环境中是热不稳定的,在高温加热条件下极易分解。文献[17-18]在研究大麦秸秆抑制蓝藻作用时发现醌类物质的抑藻效应是酚类的 1 000 倍;文献[19]在研究金鱼藻的化感作用时认为其分泌的不稳定活性物质为含硫化合物;

文献[20]从浮叶眼子菜体内提取到多种具有抑藻作用的呋喃二萜类物质。本研究检测到荷花种植水中含有较高浓度的黄酮类物质,而对其具体成分的鉴定正在借助代谢组学进行分析。

蓝藻的生长需要光合作用提供必需的养料和能量,而叶绿素 a 则是其进行光合作用的主要色素。因此,测定叶绿素 a 的质量浓度可以作为蓝藻进行光合作用潜力的一种重要生理指标。在实验中,具有抑藻作用的荷花种植水同时造成了蓝藻细胞内叶绿素 a 质量浓度的下降,说明荷花分泌的化感物质导致了蓝藻细胞的破坏及其光合作用的丧失,其结果与抑藻效应相一致。

本文通过一系列实验充分说明了荷花在生长过程中会合成能够抑制蓝藻生长的化感物质,而且其产生的化感物质会持续分泌并积累在水体环境中,因此可以用来防治蓝藻的发生。同时,荷花具有极高的观赏价值,是园林造景中运用很广泛的水生植物,利用其来治理蓝藻,还能够创造美好的环境效果。

另外,本文选用的太空莲品种在结实时正好需要大量的 N、P 等元素,其所产生的莲子又具有较高的食用和经济价值。相比较其他抑藻植物可能引起的二次污染等问题,兼具观赏性的籽莲品种更具有生态环保意义。

### 4 结 论

试验结果表明荷花活体及其不同部位的组织对蓝藻的生长都具有较强的抑制作用,并且其抑制效应类似。荷花种植水对蓝藻生长也具有明显的抑制作用,表明水体中含有杀死蓝藻细胞的化感物质。抽滤处理后荷花种植水对蓝藻生长仍有抑制效应,而经高压灭菌处理后的种植水对蓝藻生长几乎没有抑制作用,说明水体中的化感物质具有热不稳定性。产生上述现象的原因主要是荷花生长过程中能够合成破坏蓝藻细胞结构的化感物质,并且该类化感物质会不断分泌到水体环境中,仍然具有抑制蓝藻生长的效应。

荷花作为多年生挺水植物,适应性强,喜温暖、湿润、阳光充足的环境,这与蓝藻生长的喜好习性极为相似;而在巢湖地区,荷花的生长周期又与巢湖蓝藻暴发的时间基本吻合。因此,在环巢湖周边引种荷花既能够经济有效地防治蓝藻生长,又具有较高的观赏价值,是一种生态环保的方法。

## [参 考 文 献]

- [1] 谢平. 论蓝藻水华的发生机制: 从生物进化、生物地球化学和生态学观点[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [2] 中华人民共和国水利部. 中国水资源公报 2007[M]. 北京: 中国水利水电出版社, 2011.
- [3] BL ÁHA L, BABICA P, MAR ŠÁHLEK B. Toxins produced in cyanobacterial water blooms—toxicity and risks[J]. *Interdiscip Toxicol*, 2009, 2(2): 36-41.
- [4] JOÃO G F, ANDERSEN J H, BORJA A, et al. Overview of eutrophication indicators to assess environmental status within the European Marine Strategy Framework Directive [J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2011, 93: 117-131.
- [5] JIANG D, HUANG L F, LIN Y Q, et al. Inhibitory effect of *Salicornia europaea* on the marine alga *Skeletonema costatum* [J]. *Science China (Life Science)*, 2012, 55(6): 551-558.
- [6] KIM H G. Mitigation and controls of HABs[M]//GRANÉ LI E, TUNVÉR J T. *Ecology of Harmful Algae*. Berlin: Spahyer, 2006: 327-338.
- [7] SENGCO M R. Prevention and control of *Karenia brevis* blooms[J]. *Harmful Algae*, 2009, 8(4): 623-628.
- [8] JAN ČULA D, MAR ŠÁLEK B. Critical review of actually available chemical compounds for prevention and management of cyanobacterial blooms [J]. *Chemosphere*, 2011, 85(9): 1415-1422.
- [9] PARK M, CHUNG I M, AHMAD A, et al. Growth inhibition of unicellular and colonial *Microcystis* strains (Cyanophyceae) by compounds isolated from rice (*Oryza sativa*) hulls[J]. *Aquatic Botany*, 2009, 90(4): 309-314.
- [10] SU W, HAGSTRÖM J A, JIA Y H, et al. Effects of rice straw on the cell viability, photosynthesis, and growth of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2013, 20(11): 8192-8201.
- [11] XIAO X, CHEN Y, LIANG X, et al. Effects of Tibetan hulless barley on bloom-forming cyanobacterium (*Microcystis aeruginosa*) measured by different physiological and morphologic parameters [J]. *Chemosphere*, 2010, 81(9): 1118-1123.
- [12] 汤仲恩, 种云霄, 朱文玲, 等. 几种观赏型沉水植物对富营养化蓝绿藻类的抑制作用 [J]. *生态环境*, 2007, 16(6): 1637-1642.
- [13] 高云霓, 刘碧云, 王静, 等. 苦草 (*Vallisneria spiralis*) 释放的酚酸类物质对铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 的化感作用 [J]. *湖泊科学*, 2011, 23(5): 761-766.
- [14] 邹琦. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 72-75.
- [15] 李磊, 侯文华. 荷花和睡莲种植水对铜绿微囊藻生长的抑制作用研究 [J]. *环境科学*, 2007, 28(10): 2180-2186.
- [16] 孟丽华, 刘义新. 利用植物化感作用抑制铜绿微囊藻的研究进展 [J]. *中国给水排水*, 2008, 24(20): 7-14.
- [17] PILLINGER J M, COOPER J A, RIDGE I, et al. Barley straw as an inhibitor of algal growth III: the role of fungal decomposition [J]. *Journal of Applied Phycology*, 1992, 4(4): 353-355.
- [18] PILLINGER J M, COOPER J A, RIDGE I. Role of phenolic compounds in the antialgal activity of barley straw [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1994, 20(7): 1557-1569.
- [19] WIUM-ANDERSEN S, ANTHONI U, HOUEN G. Elemental sulphur, a possible allelopathic compound from *Ceratophyllum demersum* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 22(11): 2613-2621.
- [20] DELLAGRECA M, FIORENTINO A, ISIDORIM, et al. Antialgal furano-diterpenes from *Potamogeton natans* L [J]. *Phytochemistry*, 2001, 58(2): 299-304.

(责任编辑 闫杏丽)