

doi: 10.7541/2013.141

芦苇秆浸出液抑藻的最佳环境条件研究

于淑池 邓红英 姜燕 汪晓莹 李晶玮 童轶璇 韩志萍 赵明星

(湖州师范学院生命科学学院, 湖州 313000)

摘要: 应用全面正交设计试验方案, 研究了三种主要环境因子温度、pH、氮磷比及其互作对芦苇秆浸出液抑制铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)生长的影响。结果表明: 芦苇秆浸出液使藻细胞出现聚集现象, 对铜绿微囊藻细胞密度和叶绿素 *a* 的含量变化的影响均与这三个环境因子及其互作显著相关, 温度是影响抑藻的主效环境因子, 其次是 pH 和氮磷比, 温度与 pH 以及温度与氮磷比之间也存在一定的交互作用, pH 与氮磷比之间无显著差异。具体表现为, 低温组(10℃)抑藻效果显著, 随着温度升高抑藻效果逐渐减弱, pH 和氮磷比对抑藻效果的影响都与温度水平密切相关, 所有的低温组(10℃)及大部分中温组(18℃)的温度、pH、氮磷比各水平均与高温组(25℃)之间存在显著差异($P < 0.05$)。经过方差综合分析, 芦苇秆浸出液抑藻的最佳环境条件为: 温度为 10℃, pH 为 9, 氮磷比为 2, 在此条件下连续培养 7d 后, 藻细胞密度下降到原来的 40.48%, 叶绿素 *a* 下降到原来的 51.26%, 故推测芦苇秆应用于控制水华的发生及水体蓝藻污染的恢复具有良好应用前景。

关键词: 温度; pH; 氮磷比; 铜绿微囊藻; 抑制; 芦苇秆浸出液

中图分类号: X173 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2013)06-1051-08

农作物秸秆控藻的研究始于19世纪80年代, 国外研究较多的是大麦秆抑藻^[1, 2]。我国学者也开展了稻草、麦秆等的抑藻实验研究^[3, 4]。芦苇(*Phragmites australis*)中提取的化感物质抑藻的研究已有报道: 李锋民等^[5, 6]、门玉洁等^[7]通过乙醇提取法从芦苇中得到2-甲基乙酰乙酸乙酯(EMA), 对铜绿微囊藻和蛋白核小球藻具有选择抑藻作用; 郭欢^[8]用水提取法得到芦苇中活性物质对铜绿微囊藻有明显的抑制作用。李锋民等^[9]研究芦苇不同部位的水提取液均对蛋白核小球藻的产生抑制作用。关于芦苇秸秆的控藻环境条件研究还未见报道。

芦苇与大麦等作物不同, 为野生生长, 生物量大, 根系庞大, 而且一次种植, 可多年生长。利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^[10]。吴敏等^[11]认为水华暴发是藻类与营养盐、水温、光照强度、pH、盐度以及水动力学条件等环境影响因子共同作用的结果, 因此

解决水华问题应通过改变或控制优势藻类生长所需的动力条件, 进而防治出现藻类疯长现象的发生。本课题组前期已经确定了芦苇秆具有明显的抑藻作用, 但关于芦苇抑藻与环境条件有无关联, 还未展开相关研究, 因此本研究通过室内静态模拟, 对影响抑藻的主要环境因子温度、pH和氮磷比展开了研究, 并测定在不同环境条件下藻细胞的受损状况, 如受损后藻细胞形态改变、密度、叶绿素*a*含量等相关生理指标的变化, 最终得出芦苇抑制铜绿微囊藻最佳环境条件。为芦苇秆应用于控制水华的发生及水体蓝藻污染的恢复提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)由湖州师范学院生命科学学院张易祥老师提供。采用 BG-11 培养基, 培养条件为温度 25℃, 光暗比为 12h : 12h, 光照为 2200 lx。

收稿日期: 2012-11-08; 修订日期: 2013-08-01

基金项目: 十二五重大水专项子课题(2011ZX07101-012-008); 浙江省湖州市 2011 年自然科学基金(2011YZ05)资助

通信作者: 于淑池(1966—)女, 河北人; 硕士, 副教授; 研究方向为环境污染与修复。E-mail: yushuchi@126.com

芦苇采自湖州师范学院校园周边。采集植株地上部分,于 60℃烘箱干燥后,用剪刀剪成 2—3 cm 小段,蒸馏水浸泡(40 g/L)15d 后,经 0.45 μm 滤膜过滤 2 次,滤液即为芦苇秆浸出液,收集后于 4℃冰箱备用。

1.2 方法

选取温度(A)、pH(B)和氮磷比(C)三个因素,每个因素三个水平(表1),采用 3×3×3 正交试验设计,借助 L₂₇(3³)正交表安排这三种环境因子不同水平的 27 个组合。每组三个重复。

表 1 正交试验设计
Tab. 1 Orthogonal experimental design

因素 Factor	水平 Level		
	1	2	3
温度 Temperature (A)	10	18	25
pH (B)	9	10	11
N/P (C)	2	8	16

在超净室内无菌条件下活化培养铜绿微囊藻藻种。选取对数期生长的铜绿微囊藻细胞液,起始藻密度约为 4×10^{11} cell/m³ 左右,于 500 mL 三角瓶,添加藻液 75 mL,芦苇秆浸出液 50 mL,培养基 275 mL,每组实验连续培养 12d。每天采用 XB-K-25 型血球计数板测定铜绿微囊藻细胞密度,通过公式求得抑制率^[10]。公式为 $IR = (1 - N/N_0) \times 100\%$, 式中 IR—抑制率; N—加入浸出液组藻密度; N₀—初始藻密度。采用分光光度法测定叶绿素 a 含量^[12]。

1.3 数据分析

应用 Excel 2003 软件进行数据处理和作图,应用 SPSS 17.0 软件处理实验数据,通过单因子方差分析(One-way ANOVA)检查差异的显著性。

2 结果

2.1 不同环境因子对芦苇秆浸出液抑藻的影响

不同环境因子对铜绿微囊藻细胞密度的影响不同温度、pH 和氮磷比全面正交试验,形成 27 个处理组,连续处理 12d 后,藻密度变化的平均值如图 1 所示。其中处理组前 9 组是低温组(10℃),中间 9 组是中温组(18℃),最后 9 组是高温组(25℃),低温组和中温组的藻细胞密度都较低,高温组整体偏高。由图 1 可知处理组 24 (A3B2C3) (温度为 25℃、pH 为 10、氮磷比为 16)铜绿微囊藻细胞密度平均值达到最大值为 66.83×10^{11} cell/m³, 而处理组 7 (A1B3C1) (温度为 10℃、pH 为 11、氮磷比为 2)铜绿微囊藻细胞密度

平均值为最小 12.33×10^{11} cell/m³。处理组 13 (A2B2C1) (温度为 18℃、pH 为 10、氮磷比为 2)次之。

温度因素的显著性分析结果显示:除了第 18 组(中温组)与第 19、第 20 组(高温组)之间无显著差异外,所有的低温组与高温组之间以及中温组与高温组之间均存在显著差异($P < 0.05$),抑制最强的第 7 组除与第 13 组之间无显著差异外,与其余 25 组均存在显著差异($P < 0.05$)。

pH 的显著性分析结果与温度水平密切相关,高温组(25℃)的 pH 三个水平(9、10、11)均与低温组(10℃)三个水平之间存在显著差异($P < 0.05$),初始 pH 为 9 时,三个温度水平之间对抑藻均具有显著影响,但高温时抑藻效果稍差,低温最好;当初始 pH 为 10 及 11 时,同样与温度关系密切,三个温度水平之间对抑藻均具有显著影响,但 pH 为 10 时高温组抑藻效果最差。另外, pH 三个水平之间也存在显著差异,除了最高 pH 11 的 18 组(中温)与 pH 9 的 19、20 组(高温组)以及 pH 9 处理组 11(中温组 A2B1C2)与 pH 11 的 16、17(中温组)无显著差异外,其余各相应温度组的 pH 9 和 pH 11 之间均存在显著差异($P < 0.05$)。

氮磷比的显著性分析结果也与温度水平密切相关,除了最高氮磷比 16 的 18 组(中温组)除外,高温组(25℃)的氮磷比三个水平(2、8、16)均与低温组(10℃)以及中温组(18℃)的三个水平之间存在显著差异($P < 0.05$)。pH 与氮磷比之间无显著差异。

按照抑制率公式,根据 12d 后藻密度值与初始藻密度值,计算得到 27 组的抑制率如图 2。在三因素三水平正交试验中,各组合微囊藻的抑制率与藻密度值都呈负相关,不同环境因子组合对芦苇秆浸出液抑藻有差异,抑制效果为 10℃ > 18℃ > 25℃。处理组 7(温度为 10℃、pH 为 11、氮磷比为 2)的抑制率最强为 83.61%,处理组 13(温度为 18℃、pH 为 10、氮磷比为 2)次之,抑制率为 79.86%。抑制效果最弱的是处理组 24(温度为 25℃、pH 为 10、氮磷比为 16)为 11.18%。温度是抑制铜绿微囊藻生长的主效因子,尤其在低温条件下(10℃),尽管 pH、氮磷比条件符合,铜绿微囊藻的生长仍然受到抑制。

同时在实验观察中发现,芦苇秆浸出液使铜绿微囊藻出现聚集现象(图 3),说明不利的外界环境条件能改变铜绿微囊藻的生长形态。

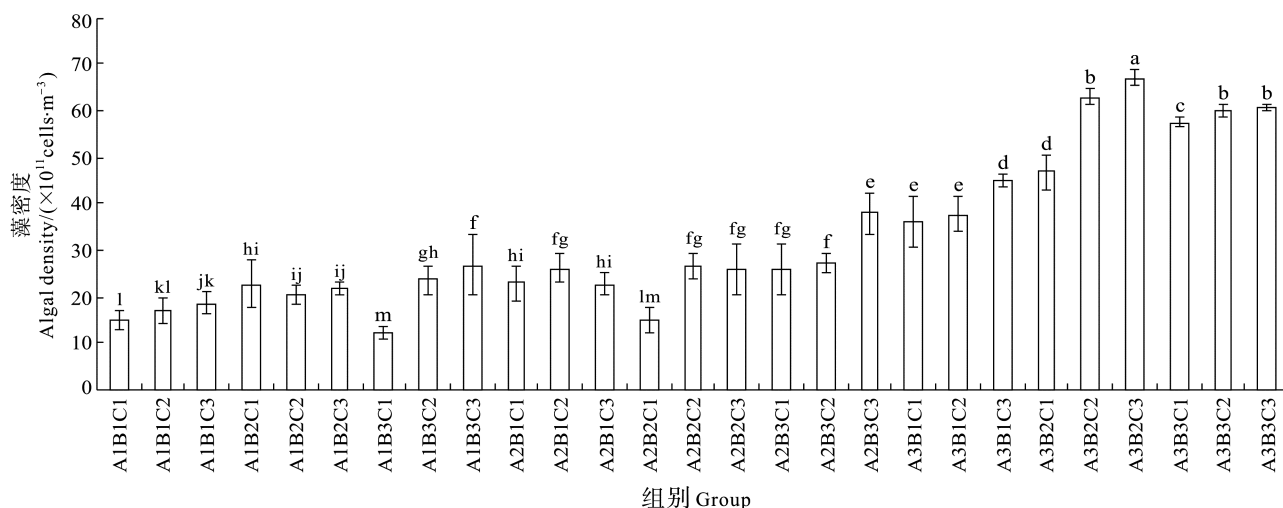


图 1 不同环境因子对铜绿微囊藻细胞密度的影响(平均值±标准误)

Fig. 1 The impact of environmental factors on *Microcystis aeruginosa* cell density (Mean ± SE)

小写字母代表 $P < 0.05$ 水平下的差异显著性分析, 不同处理之间标有相同字母表示差异不显著, 标有不同字母的表示差异显著

The lowercase represents the significant analysis under $P < 0.05$. Same letters are used in some different cases to show that the differences are not distinct and different letters are used to show that the differences are distinct

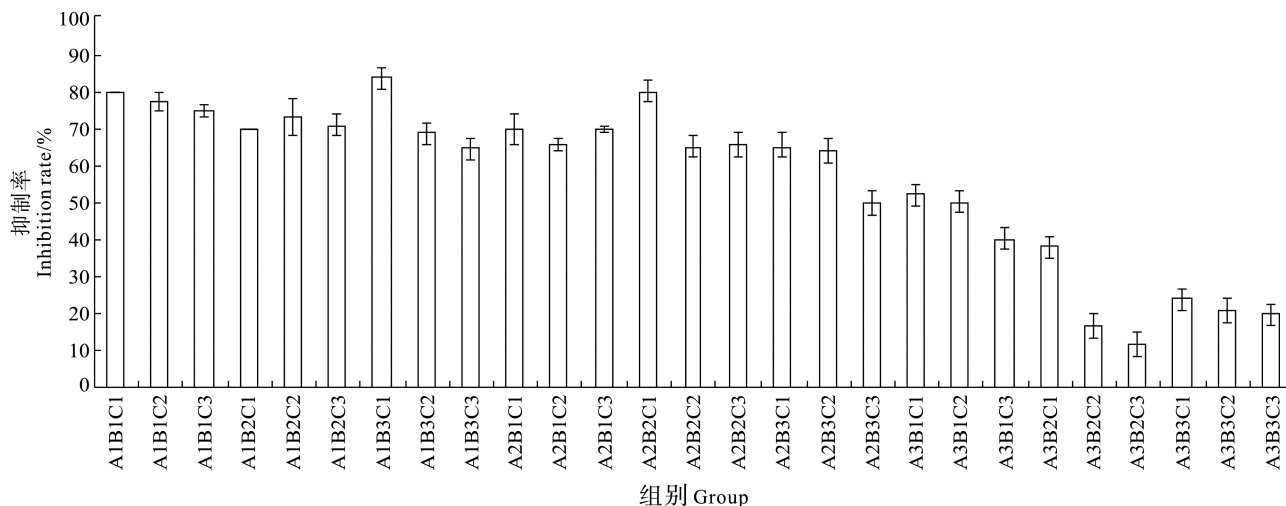


图 2 三因素不同水平组合的微囊藻抑制率变化情况(平均值±标准误)

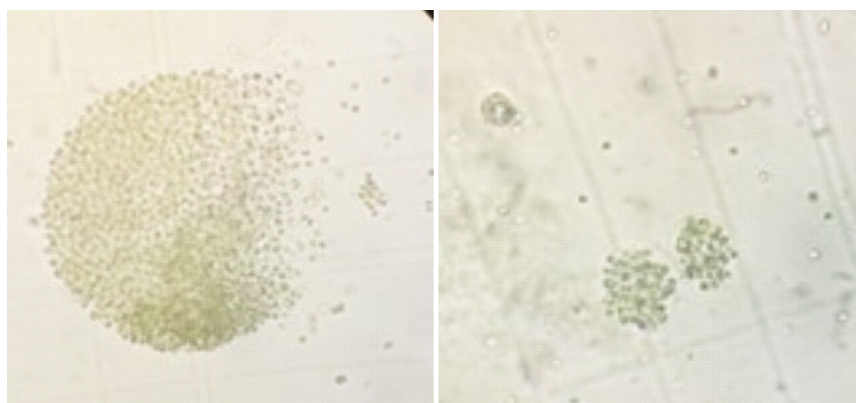
Fig. 2 Effects of different environmental factors on *M. aeruginosa* inhibitory changes (Mean ± SE)

图 3 铜绿微囊藻的聚集现象(16×40)

Fig. 3 The aggregation of *M. aeruginosa* (16×40)

不同环境因子对铜绿微囊藻叶绿素 *a* 含量的影响 27 个处理组铜绿微囊藻培养 12d 后, 叶绿素 *a* 含量变化如图 4 所示, 27 组的变化情况基本与藻密度值变化规律一致。其中处理组 24 即 A3B2C3(温度为 25℃、pH 为 10、氮磷比为 16)铜绿微囊藻叶绿素 *a* 含量的平均值达到最大值 133 mg/m³, 而处理组 9 即 A1B3C3 (温度为 10℃、pH 为 11、氮磷比为 16) 铜绿微囊藻叶绿素 *a* 的平均值为最小 22.7 mg/m³。

温度因素的显著性分析结果显示: 所有的高温组(25℃)均与低温组(10℃)之间存在显著差异($P<0.05$); 除了第 17、第 18 组(中温组)与第 25 至第 27 组(高温组)无显著差异外, 中温组与高温组之间均存在显著差异($P<0.05$); 第 15 至第 18 组(中温组)与所有低温组均存在显著差异($P<0.05$)。

pH 的显著性分析结果与温度水平密切相关, 高温组(25℃)的 pH 三个水平(9、10、11)均与低温组(10℃)三个水平之间存在显著差异($P<0.05$), pH 9、pH 11 各自的高温处理组与中温处理组之间均存在显著差异($P<0.05$)。

氮磷比的显著性分析结果也与温度水平密切相关, 高温组(25℃)的氮磷比三个水平(2、8、16)均与

低温组(10℃)的三个水平之间存在显著差异($P<0.05$)。除了最高氮磷比 16 的第 18 组(中温组)与 27 组以及最高氮磷比 16 的 25 组与氮磷比 8 的 17 和 26 组之间无显著差异外, 其余高温组(25℃)的氮磷比三个水平(2、8、16)均与中温组(18℃)的三个水平之间存在显著差异($P<0.05$)。pH 与氮磷比之间无显著差异。

2.2 不同环境因子对芦苇抑藻影响的方差分析

不同环境因子对芦苇秆浸出液抑藻的方差分析见表 2。温度对芦苇秆浸出液抑制铜绿微囊藻的生长有极显著影响, 其次是 pH 和氮磷比。温度与 pH 和温度与氮磷比交互对抑藻都存在显著影响。pH 与氮磷比之间无交互作用。

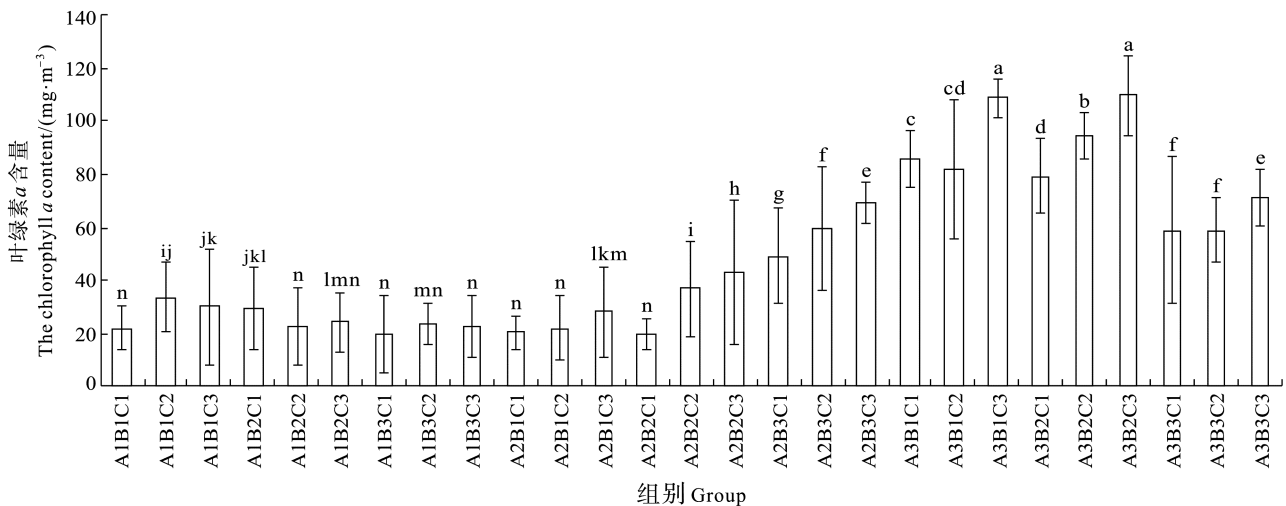


图 4 不同环境因子对铜绿微囊藻叶绿素 a 含量的影响(平均值±标准误)

Fig. 4 The impact of environmental factors on *M. aeruginosa* chlorophyll a pigment content (Mean ± SE)

小写字母代表 $P<0.05$ 水平下的差异显著性分析, 不同处理之间标有相同字母表示差异不显著, 标有不同字母的表示差异显著

The lowercase represents the significant analysis under $P<0.05$. Same letters are used in some different cases to show that the differences are not distinct and different letters are used to show that the differences are distinct

表 2 不同环境因子对芦苇秆浸出液抑藻影响的方差分析

Tab. 2 Variance analysis to inhibitory effects of different environmental factors on Reed stalks leaching solution

因素 Factor	藻细胞密度 <i>M. aeruginosa</i> cell density		叶绿素 a 含量 Chlorophyll a content	
	F 值	SS%	F 值	SS%
温度 Temperature	104.157**	5495.809	211.992**	0.016
pH	9.274**	489.350	2.570	0.000
N/P	5.568*	293.81	14.448**	0.001
温度 Temperature×pH	3.922*	413.907	28.957**	0.004
温度 Temperature×N/P	0.181	19.048	3.884*	0.001
pH×N/P	0.468	49.358	0.401	0.001

注: SS% 离均差平方和除以总平方和; * $P<0.05$; ** $P<0.01$

Note: SS%. Deviation from average's sum of squares divided by the total sum of squares; * $P<0.05$, ** $P<0.01$

根据藻细胞密度的方差分析, 温度和 pH 对芦苇秆浸出液抑藻的影响极显著, 氮磷比影响显著, 温度和 pH 的交互作用对芦苇秆浸出液抑藻的影响显著。方差分析认为: 温度 10℃、pH 9、氮磷比 2 为抑藻最佳条件。

根据叶绿素 a 含量的方差分析, 温度、氮磷比、温度和 pH 的交互对芦苇秆浸出液抑藻的影响极显著, 温度和氮磷比的交互作用影响显著, pH 影响不显著。方差分析认为: 温度 10℃、pH 11、氮磷比 2 为抑藻最佳条件。

综合藻细胞密度和叶绿素 a 含量的方差分析的结果, 温度为 10℃、氮磷比为 2 都一致, 而藻细胞密度方差分析认为 pH 为 9 最佳, 叶绿素 a 含量的方差分

析认为是pH为11最好, 因为pH对藻细胞密度的影响极显著, 对叶绿素 a 含量影响不显著, 因此得到芦苇秆浸出液抑藻的最佳条件为: 温度为10℃、pH为9、氮磷比为2。在此条件下, 进行验证试验, 每天测定铜绿微囊藻的藻细胞密度、叶绿素 a 含量, 连续测定7d, 数据见表3。

表 3 正交验证试验数据分析
Tab. 3 Data analysis to orthogonal verification experiment

参数测定 Parametric measurement 时间 Time (d)	藻细胞密度 Algae cell density 1×10^{11} cells/m ³	叶绿素 a Chlorophyll a (mg/m ³)
1	21.00±0.5774 ^{cC}	46.12±0.1105 ^{cC}
2	25.50±0.3819 ^{bB}	48.37±0.2014 ^{bB}
3	28.50±0.2887 ^{aA}	51.84±0.02763 ^{bB}
4	30.00±1.0000 ^{aA}	55.25±0.2901 ^{aA}
5	18.00±0.5774 ^{fF}	38.41±0.1604 ^{fF}
6	11.25±0.6292 ^{eE}	30.59±0.0213 ^{eE}
7	8.50±1.0104 ^{dD}	23.64±0.0107 ^{dD}

注: 小写字母和大写字母分别代表 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平下的差异显著性分析, 不同处理之间标有相同字母表示差异不显著, 标有不同字母的表示差异显著

Note: The lowercase and capital letters represent the significant analysis under $P<0.05$ and $P<0.01$ respectively. Same letters are used in some different cases to show that the differences are not distinct and different letters are used to show that the differences are distinct

从表3可以看出, 藻细胞密度、叶绿素 a 变化趋势基本一致, 前4天都逐渐上升, 从第5天开始下降, 到第7天, 藻细胞数为 $(8.50 \pm 1.0104) \times 10^{11}$ cells/m³, 下降到原来的40.48%, 叶绿素 a 为 (23.64 ± 0.0107) mg/m³, 下降到原来的51.26%。藻密度变化的显著性分析认为, 在 $P<0.01$ 和 $P<0.05$ 水平, 除了第3和第4天没有显著差异, 其余均有显著或极显著差异。叶绿素 a 变化的显著性分析认为, 在 $P<0.01$ 和 $P<0.05$ 水平, 第2和第3天没有显著差异, 其余都有显著或极显著差异。在最佳抑藻条件下, 芦苇秆浸出液对铜绿微囊藻有很强的抑制作用。

3 讨论

利用大麦秸秆直接投放到水体中抑藻是目前为止最为成功的化感抑藻的应用实例^[13]。我国学者也对稻秆进行抑藻作用的研究, 但效果没有大麦秆好^[4, 14]。目前利用水生植物的化感作用控制水体中藻类生长的方式主要有3种^[9]: (1) 将水生植物栽培至待处理水体, 利用活体植物释放的化感物质抑制藻类。(2) 将死亡干燥的植物体放入待处理水体, 利

用其腐败释放的化感物质抑制藻类。(3) 将从植物中提取的化感物质施入水体抑制藻类。在这3种方式中, 利用活体植物栽培抑制藻类需要较长周期; 将化感物质从植物中提取出来直接施入水体固然快捷, 如李锋民等^[5, 6]、门玉洁等^[7]通过乙醇提取法从芦苇中得到2-甲基乙酰乙酸乙酯(EMA), 抑藻效果显著, 但提取成本太高, 不利于应用推广; 利用芦苇秸秆腐败释放的化感物质抑制藻类, 可以快速抑制藻类的生长, 是一种低成本、易操作的控藻方法^[15], 具有良好的应用前景。芦苇与小麦等作物不同, 可多年生长。干体收割下来进行抑藻, 更大程度对芦苇进行了再利用。

藻类是靠光合作用生长, 叶绿素 a 是所有藻类的主要光合色素, 可将叶绿素 a 作为藻类光合作用潜力的一项指标, 通过测定藻类叶绿素 a 含量即可了解铜绿微囊藻的生长情况。铜绿微囊藻是蓝藻水华的优势藻种, 叶绿体是光合作用的场所, 有些化感物质通过破坏藻类的叶绿素, 减少藻类的同化产物, 从而抑制藻类的生长。藻体中的叶绿素 a 含量往往与藻细胞的生长状态密切相关^[16]。从图1、图4看出, 藻细胞密度的变化趋势与叶绿素 a 含量变化基本一致。图3也显示藻细胞出现聚集现象。本研究表明芦苇化感物质抑藻与温度、pH、氮磷比等环境因子密切相关, 温度是芦苇秆浸出液抑制铜绿微囊藻生长的主效环境因子, 其次是pH和氮磷比。温度与pH以及温度与氮磷比之间也存在一定的交互作用。方差综合分析结果显示, 芦苇化感物质抑藻的最佳环境条件为: 温度为10℃, pH为9, 氮磷比为2。在此条件下, 抑藻效果显著。

徐怡等^[17]认为温度为11℃、17℃、23℃三个温度组, 分别代表了千岛湖冬季、春秋季节和夏季的环境水温, 因此本研究将温度设定为10℃、18℃、25℃三个水平, 来探究不同季节水温变化对芦苇秆浸出液抑藻的影响。芦苇浸出液最佳抑藻温度为低温(10℃), 此时pH和氮磷比对藻细胞抑制不显著, 藻处于不适宜环境中, 温度成为首要的限制因子, 即使其他环境因子如氮磷比、pH(9.0)已达到正常环境下的适宜水平, 铜绿微囊藻细胞的增殖仍然受到抑制。同时水温较低, 铜绿微囊藻处于休眠状态, 不利于吸收光和营养物质, 因而加速了细胞的衰亡^[18]。薛凌展等^[19]指出低温(15℃)显著抑制铜绿微囊藻的生长, 袁丽娜等^[18]研究表明在低温时, 铜绿微囊

藻利用营养盐的能力下降,氮、磷都不再是重要的限制因子。因此芦苇浸出液在低温时的抑藻作用最强,与温度因素的制约和芦苇浸出液本身对铜绿微囊藻的协同抑制作用相关。在中温18℃条件下,藻细胞密度大都处于较低水平,芦苇浸出液的抑藻效果稍低于10℃。有报道^[20]指出25℃最适合铜绿微囊藻的生长。郭胜娟等^[21]也认为:在我国微囊藻水华暴发通常发生在夏季,水温通常在20—30℃,本实验中10℃与25℃之间差异极显著($P < 0.01$),18℃与25℃之间差异显著($P < 0.05$)。25℃芦苇秆浸出液对铜绿微囊藻的抑制作用不明显,因此也表明在夏季水温达到25℃左右时,芦苇不能有效抑制藻类的生长、繁殖,不是投放芦苇的最佳季节。韩志萍等^[22]2008—2011年对太湖蓝藻暴发进行检测,结果蓝藻暴发时间是在夏季的5—6月份和秋季的9—10月份,蓝藻暴发时的密度 $(1—3) \times 10^7$ 个/L,本研究的初始藻密度为 4×10^{11} cell/ m^3 左右(相当于 4×10^8 cell/L),高于蓝藻暴发时的初始密度值,更加显示出芦苇秸秆浸出液的抑藻效果。

温度极显著影响芦苇浸出液对微囊藻的抑制作用(表2),温度升高藻密度和叶绿素 a 随之上升,抑制率随之下降,10℃、18℃与25℃温度水平效应之间存在显著差异($P < 0.05$),10℃与18℃之间差异较小。

我国大部分湖泊的pH呈碱性,在湖泊富营养化的发展过程中,湖水pH呈现随藻类生长而显著增高的趋势^[23],陈建中等^[13]的研究表明铜绿微囊藻生长最适pH为8—9,蓝藻偏好较高的pH。袁丽娜等^[18]研究认为一定范围内(7.0—11),较高的pH仍能促进藻细胞增殖。因此本实验设定pH三个水平分别为9、10、11。水体pH对芦苇浸出液抑制藻细胞密度也具有极显著影响,同时温度与pH的交互作用对抑藻具有显著或极显著影响(表2),不同pH对抑藻效果影响与温度直接相关,高温时抑藻效果稍差,低温较好;另外,pH三个水平之间也存在显著差异。但对藻细胞密度抑制作用最强的第7组是pH为11与低温组和低氮磷比的组合(图1),以及叶绿素 a 的平均值最小的是处理组9,温度为10℃、pH为11、氮磷比为16(图4),这可能是因为pH过高会抑制藻的生长,对微囊藻的光合作用产生抑制作用^[18]。通过方差综合分析得出最佳抑藻的pH是9,pH 9属于适合微囊藻生长的范围,第1组(A1B1C1)即是pH 9与低温组和低氮磷比的组合,它对藻细胞密度抑制作用,与最

强的第7组之间具有显著差异,但与次强的13组之间无显著差异(图1),在此条件下芦苇抑藻作用最强,更显示出芦苇抑藻的良好应用前景。

侯延鹏^[24]的实验表明,适宜铜绿微囊藻生长的氮磷比范围较宽,为5:1—21.4:1,刘玉生等^[25]在探讨氮磷比对滇池微囊藻生长的影响中发现,氮磷比适宜范围为5—10。本实验设定氮磷比为2、8、16三个比值。根据方差分析,氮磷比对芦苇浸出液抑制藻也具有显著或极显著影响,同时温度与氮磷比的交互作用对抑藻具有显著影响(表2)。不同氮磷比对抑藻效果影响也直接取决于温度的高低,由图1、图4显著性分析可知,除个别组外,高温组(25℃)的氮磷比三个水平(2、8、16)均与低温组(10℃)以及中温组(18℃)的三个水平之间存在显著差异($P < 0.05$)。即在高温条件下氮磷比对抑藻的影响较小,更有利于促进藻的生长,不同氮磷比之间抑藻效果差异不大,其中氮磷比为2抑制作用最强(图1)。Pick, *et al.*^[26]报道,氮磷质量比从9.6降低到5,藻类总生物量随之减少,更进一步说明低密度的氮磷比不利于藻类的生长。不同氮磷比可诱导铜绿微囊藻的化感抗性形成,对藻类细胞的生长速度造成影响,甚至对细胞内物质的合成积累也有影响^[27]。崔力拓等^[28]研究认为TN、TP随着营养盐初始浓度增加反而会逐渐限制藻的生长,叶良涛等^[29]认为氮、磷可诱导铜绿微囊藻的化感抗性形成,但随着氮、磷质量浓度的升高,铜绿微囊藻的化感抗性逐渐减弱,与本研究结果较为一致。

微囊藻水华多发生在夏秋季,如果在冬春季节大面积向湖泊中撒入芦苇秸秆,利用秸秆持续释放的抑藻物质进行控藻,具有简便、经济、易操作等优点。在夏季来临时,把腐烂的秸秆打捞回来,进一步发酵生产动物饲料或沤制粪肥,就可以实现对芦苇的全面利用。本研究可为探索切实可行的富营养化水体的生态治理方法提供科学依据。

参考文献:

- [1] Ball A S, Williams M, Vincent D, *et al.* Algal growth control by a barley straw extract [J]. *Bioresource Technology*, 2001, 77(2): 177—181
- [2] Ferrier M D, Sr B R B, Terlizzi D E, *et al.* The effects of barley straw (*Hordeum vulga*. Bire) on the growth of freshwater algae [J]. *Bioresource Technology*, 2005, 96(16): 1788—1795
- [3] Zou H, Xiang L, Zhou S J, *et al.* Research and applications

- of crop strawin controlling of algal bloom [J]. *Shanghai Environmental Science*, 2010, **29**(3): 122—126 [邹华, 向丽, 周思佳, 等. 农作物秸秆控制藻华的研究与应用. 上海环境科学, 2010, **29**(3): 122—126]
- [4] Liu T, Yang W J, Wang R J. Inhibition effects of different straws on *Microcystis aeruginosa* [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2012, **6**(4): 1154—1160 [刘涛, 杨文杰, 王茹静. 作物秸秆对铜绿微囊藻的抑制作用. 环境工程学报, 2012, **6**(4): 1154—1160]
- [5] Li F M, Hu H Y, Chong Y X, *et al.* Effects of Allelochemical isolated from *Phragmites communis* on algal membrane permeability [J]. *Environmental Science*, 2007, **28**(11): 245—250 [李锋民, 胡洪营, 种云霄, 等. 芦苇化感物质对藻类细胞膜选择透性的影响. 环境科学, 2007, **28**(11): 245—250]
- [6] Li F M, Hu H Y, Chong Y X, *et al.* Influence of EMA isolated from *Phragmites communis* on physiological characters of *Microcystis aeruginosa* [J]. *China Environmental Science*, 2007, **27**(3): 377—381 [李锋民, 胡洪营, 种云霄, 等. 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, 2007, **27**(3): 377—381]
- [7] Men Y J, Hu H Y. Effects of allelochemical EMA from reed on the production and release of cyanotoxins in *Microcystis aeruginosa* [J]. *Environmental Science*, 2007, **28**(9): 2057—2062 [门玉洁, 胡洪营. 芦苇化感物质 EMA 对铜绿微囊藻生长及毒素产生和释放的影响. 环境科学, 2007, **28**(9): 2057—2062]
- [8] Guo H. A research on inhibitory effect of active substances in reed upon poisonous algae [J]. *Modern Cultural Sciences and Technology*, 2009, **9**: 234—235 [郭欢. 芦苇中活性物质对有毒藻类抑制作用的研究. 现代农业科技, 2009, **9**: 234—235]
- [9] Li F M, Hu H Y. Isolation and effects on green alga *Chlorella pyrenoidosa* of algal-inhibiting allelochemicals in the macrophyte, *Phragmites communis* Tris. [J]. *Environmental Science*, 2004, **25**(5): 89—92 [李锋民, 胡洪营. 芦苇抑藻化感物质的分离及其抑制蛋白核小球藻效果研究. 环境科学, 2004, **25**(5): 89—92]
- [10] Zhang X, Hu H Y, Men Y J, *et al.* Inhibitory effect of extract from barley straw on the growth of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2007, **27**(12): 1984—1987 [张薛, 胡洪营, 门玉洁, 等. 大麦秆提取液对铜绿微囊藻生长的影响研究. 环境科学学报, 2007, **27**(12): 1984—1987]
- [11] Wu M, Lin L, Huang Z. Environmental factors affecting freshwater algae growth a case study on *Microcystis aeruginosa* [J]. *Journal of Yangtze River Scientific Research Institute*, 2012, **29**(10): 41—47 [吴敏, 林莉, 黄茁. 淡水藻类生长的环境影响因子分析—以铜绿微囊藻为例. 长江科学院院报, 2012, **29**(10): 41—47]
- [12] Han G C, Gu F, Zhang Z, *et al.* Discussing about chlorophyll a determination method in fresh water [J]. *Environmental Monitoring in China*, 2005, **21**(1): 55—57 [韩桂春, 谷丰, 张忠, 等. 淡水中叶绿素 a 测定方法的探讨. 中国环境监测, 2005, **21**(1): 55—57]
- [13] Huang Z Q, Liao L P, Wang S L. Allelopathy of phenolics from decomposing stump-roots, in replant Chinese for woodland [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2000, **26**(9): 2211—2219
- [14] Xiang L. A Research on inhibitory effect of rice Straw upon *Microcystis aeruginosa* and its mechanism [D]. Wuxi: Jiangnan University. 2010 [向丽. 稻麦秸秆对铜绿微囊藻生长的抑制作用及其机理研究. 无锡: 江南大学. 2010]
- [15] Nakai S, Inoue Y, Hosomi M, *et al.* Growth inhibition of blue-green algae by alleopthic effects of macrophytes [J]. *Water Science and Technology*, 1999, **39**(8): 47—53
- [16] Wang L, Wang G X, Tang X Y. Inhibitory Effect of *Nymphoides peltatum* on *Microcystis aeruginosa* and Its Mechanism [J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2010, **26**(3): 257—263 [汪丽, 王国祥, 唐晓燕. 荇菜 (*Nymphoides peltatum*) 对铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 生长的抑制效应及其机制. 生态与农村环境学报, 2010, **26**(3): 257—263]
- [17] Xu Y, Hu Z J, Liu Q G, *et al.* The influence of temperature and *Chlorella vulgaris* cultivated under different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth and reproduction of *Daphnia hyaline* [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2011, **20**(5): 712—718 [徐怡, 胡忠军, 刘其根, 等. 温度和不同氮磷浓度培养的小球藻对透明溞生长和繁殖的影响. 上海海洋大学学报, 2011, **20**(5): 712—718]
- [18] Yuan L N, Song W, Xiao L, *et al.* The overall orthogonal design study of multifactor interaction on the growth of *Microcystis aeruginosa* in the presence of adnascent *Pseudomonas* sp. [J]. *Journal of Nanjing University (Natural Sciences)*, 2008, **44**(4): 408—414 [袁丽娜, 宋炜, 肖琳, 等. 多环境因素全面正交作用对铜绿微囊藻生长的效应研究. 南京大学学报(自然科学), 2008, **44**(4): 408—414]
- [19] Xue L Z, Chen X C. Interactive effects of temperature and phosphorus on the growth of and *Microcystis aeruginosa* and *Chlorella vulgaris* [J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2011, **17**(13): 23—41 [薛凌展, 陈小晨. 温度和磷交互作用对铜绿微囊藻和小球藻生长的影响. 安徽农学通报, 2011, **17**(13): 23—41]
- [20] Wu H Y, Su J, Shi W. Study on growth and toxin production of *Microcystis aeruginosa* strain under different conditions [J]. *Journal of Environmental Health*, 2006, **23**(4): 304—307 [吴和岩, 苏瑾, 施玮. 铜绿微囊藻的生长及产毒条件研究. 环境与健康杂志, 2006, **23**(4): 304—307]
- [21] Guo S J, Gang N Q, Zheng L L, *et al.* Effects of environmental factors on the growth and ingestion characteristics of chrysophycean *Poteroiochromonas* sp. [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, **30**(1): 1—8 [郭胜娟, 甘南琴, 郑凌凌, 等. 环境因子对金藻生长和噬藻速率的影响]

- 响. 水生生物学报, 2010, **30**(1): 1—8]
- [22] Han Z P, Shao C G, Zhang Y X, *et al.* The annual variation of blue algae biomass and nitrogen levels and their correlation at different inlet areas of south Taihu Lake [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, **36**(6): 922—929 [韩志萍, 邵朝纲, 张易祥, 等. 南太湖入湖口蓝藻生物量与氮营养因子的年变化特征以及相关研究. 水产学报, 2012, **36**(6): 922—929]
- [23] Yu D H. Control of Nitrogen Pollution of Chinese Lakes and Existing Problems [C]. China's Lake Eutrophication and the Prevention and Control of International Academic Seminar on Experts. Beijing: SEPA. 2000, 207—214 [余德辉. 中国湖泊富营养化防治状况及存在的问题. 中国湖泊富营养化及其防治国际学术研讨会专家论文集. 北京: 国家环境保护总局. 2000, 207—214]
- [24] Hou Y P. A research on the impact of nutrition, illumination and temperature on the growth, over-winter and recovery of *Microcystis aeruginosa* [D]. Nanchang: Nanchang University. 2008 [侯延鹏. 营养元素及光照、温度对铜绿微囊藻生长、越冬及复苏的影响研究. 南昌: 南昌大学. 2008]
- [25] Liu Y S, Han M, Liang Z B, *et al.* Influence of light intensity, temperature and nutrients on the growth of *Microcystis* in water of Dianchi Lake [J]. *Research of Environmental Sciences*, 1995, **8**(6): 7—11 [刘玉生, 韩梅, 梁占彬, 等. 光照、温度和营养盐对滇池微囊藻生长的影响. 环境科学研究, 1995, **8**(6): 7—11]
- [26] Pick F R. Species-specific phytoplankton responses to nutrient enrichment in limnetic enclosures [J]. *Archiv fuer Hydrobiologie*, 1998, **32**: 177—187
- [27] Zou D, Xiao L, Yang L Y, *et al.* Effects of N/P ratio on Phosphorus metabolism of *Microcystis aeruginosa* and adhesive *pseudomonas* sp [J]. *Environmental Chemistry*, 2005, **24**(6): 647—650 [邹迪, 肖琳, 杨柳燕, 等. 不同氮磷比对铜绿微囊藻及附生假单胞菌磷代谢的影响. 环境化学, 2005, **24**(6): 647—650]
- [28] Cui L T, Li Z W. Effects of component of the nutrient salts nitrogen and phosphorus on growth of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Hebei Fisheries*, 2006, **149**(5): 12—14, 53 [崔力拓, 李志伟. 氮、磷营养盐组成对铜绿微囊藻生长的影响. 河北渔业, 2006, **149**(5): 12—14, 53]
- [29] Ye L T, Qian J Z, Zuo S P, *et al.* Inductive effects of nitrogen and phosphorus on allelopathic resistance of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Journal of Northeast A & F University*, 2011, **39**(6): 122—134 [叶良涛, 钱家忠, 左胜鹏, 等. 氮磷对铜绿微囊藻化感抗性的诱导效应. 西北农林科技大学学报, 2011, **39**(6): 122—134]

A RESEARCH ON OPTIMUM CONDITIONS FOR ALGAL INHIBITION BY REED EXTRACT

YU Shu-Chi, DENG Hong-Ying, JIANG Yan, WANG Xiao-Ying, LI Jing-Wei, TONG Yi-Xuan,
HAN Zhi-Ping and ZHAO Ming-Xing

(College of Life Sciences, Huzhou Teachers College, Huzhou 313000, China)

Abstract: Orthogonal experiment design was taken for the research of the interactions among temperature, pH and N/P ratio and their inhibitory effects on *Microcystis aeruginosa*. The results showed that reed extract led to gathering in algae cells, and its effects on algae cells and the density of *Microcystis aeruginosa* cells and the variation of amount of chlorophyll a were both relative to the three above-mentioned factors. Temperature was the major factor affecting the inhibitory effect, and then were pH and N/P ratio. There were also interactions between temperature and N/P ratio. But there was no distinct difference between pH and N/P ratio. The specific phenomena were that the low temperature group (10 °C) showed the most distinctive inhibitory effect, the inhibitory effect declined with the temperature rose, and the pH and N/P ratio were both closely connected with the temperature in their inhibitory effects. Levels of temperatures of all low temperature groups (10 °C) and temperatures, pH and N/P ratio of most medium temperature groups (18 °C) were distinctly different from those of the high temperature groups (25 °C) ($P < 0.05$). According to various analysis the best condition for reed extract's inhibitory effect on *M. aeruginosa* was at 10 °C, pH value equals 9 and N/P ratio equals 2. Seven days after continuous cultivating under such environment, the density of algae cells decreased to 40.48%, and the chlorophyll a content decreased to 51.26%. This result showed that reed stalk lixivium was effective to reduce the chance of algal bloom happening and helpful in recovering from blue-green algae pollution.

Key words: Temperature; pH; N/P ratio; *Microcystis aeruginosa*; Inhibition; Reed extract