

蓝藻化感抑制作用研究进展

夏珊珊, 常学秀*, 吴 锋, 刘军燕

(云南大学生命科学学院, 昆明 650091)

摘要:在蓝藻水华的众多危害中, 对其他生物的化感抑制效应是一个重要的方面, 相关研究也越来越受到生态学及环境科学领域研究者的广泛关注。系统阐述了蓝藻化感抑制作用的现象、机理及条件, 总结和归纳了具有化感抑制效应的蓝藻种类、化感物质及其作用对象, 讨论了蓝藻化感抑制作用的生理生态机制、影响因素、研究方法及应用前景。在此基础上提出了该领域尚未解决的问题及今后的研究方向。

关键词:蓝藻; 化感抑制效应; 生理生态机制

文章编号: 1000-0933(2008)08-3927-10 中图分类号: Q143 文献标识码: A

Advance in researches on cyanobacterium allelopathic inhibition

XIA Shan-Shan, CHANG Xue-Xiu*, WU Feng, LIU Jun-Yan

College of Life Sciences, Yunnan University, Kunming 650091, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(8): 3927 ~ 3936.

Abstract: Allelopathic inhibition of cyanobacteria to other organisms is increasingly important among the multiple harmfulness of cyanobacterial bloom, and much attention has been drawn in ecology and environmental sciences in recent years. Many researches showed that the allelopathic inhibition has a wide variety of target organisms, including cyanobacterium and other algae, aquatic microorganisms, higher plants and animals. Over the past decades, the structure of pure allelopathic chemicals has been determined as phenol, alkaloid, peptide and terpenoid. The allelopathic inhibition of cyanobacterium to algae and aquatic microorganisms was mainly caused by inhibiting the photosynthesis. In some cases, inhibitory effects on the growth were tested in the presence of a proteinase. Temperature, nutrition condition, competition and genetic factor could also effect the allelopathic inhibition of cyanobacterium. By inhibiting the photosynthesis, cyanobacterium might be regarded as a nature herbicide. Although the previous studies about allelopathic inhibition of cyanobacterium well documented on the biochemical behavior of allelochemical and inducement of target organism to allelochemical, the release of allelochemical from cell and the immune mechanism of cyanobacteria to harmful allelochemical remained unclear and should be further emphasized. Several studies of the phenomenon, mechanism and condition of the allelopathic inhibition of cyanobacterium were also proposed in this paper.

Key Words: cyanobacterium; allelopathic inhibition; physio-ecological mechanism

化感作用(Allelopathy)现象在自然界中广泛存在, 是生物在进化过程中发展起来的一种对环境的适应性

基金项目: 国家重点基础研究发展规划课题资助项目(2002CB412306)

收稿日期: 2007-04-23; 修订日期: 2008-04-09

作者简介: 夏珊珊(1983~), 女, 四川人, 硕士生, 主要从事污染生态学研究. E-mail: susan333xia@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: changxx@126.com

Foundation item: The project was financially supported by National Basic Research Program of China(No. 2002CB412306)

Received date: 2007-04-23; **Accepted date:** 2008-04-09

Biography: XIA Shan-Shan, Master candidate, mainly engaged in pollution ecology. E-mail: susan333xia@163.com

现象,是生态系统中自然的化学调控机制。蓝藻是一类古老的能进行光合作用的原核生物,喜温暖、稳定、营养丰富的水环境^[1],在淡水和海水中均有分布。目前随着人类活动的增加导致一些湖泊、池塘及海洋的富营养化越来越严重,蓝藻水华发生越来越频繁,并由此产生一系列的生态和环境问题。水华的出现使水体透明度下降,大量蓝藻死亡后迅速分解,产生恶臭^[2],消耗水中的氧气^[3],使水生生态环境恶化。不仅如此,蓝藻还能分泌化感物质进入水环境,影响水生生物的生长和繁殖,从而改变水体生态系统的结构和功能^[4~6]。有学者认为,蓝藻的化感作用能增加其在水环境中的竞争能力,是蓝藻水华产生和维持的主要因素之一^[4, 7, 8]。

1 蓝藻的化感抑制作用及其对象

在漫长的生存历程中,蓝藻面临着竞争和捕食者,必需建立一系列的防御机制,而化感作用是最有力的武器之一。目前研究发现能产生化感物质的蓝藻主要包括微囊藻属(*Microcystis*)、鱼腥藻属(*Anabaena*)、颤藻属(*Oscillatoria*)、侧生藻属(*Fischerella*)和念珠藻属(*Nostoc*)^[9~12]的一些种。另外节球藻属(*Nodularia*)、伪枝藻属(*Scytonema*)、束丝藻属(*Aphanizomenon*)、眉藻属(*Calothrix*)等^[9, 13, 14]也能产生化感物质影响其它水生生物。蓝藻的化感物质的作用对象是多种多样,包括对同门生物的种内和种间作用、对绿藻门等其他藻类的影响、对水生微生物的影响、对高等水生植物以及水生动物的影响等。

1.1 蓝藻对同门生物的种内和种间化感抑制作用

蓝藻能对包括自身在内的蓝藻门生物产生化感作用。如在富营养化的水体中蓝藻能产生自体毒性物质,对同种其它个体或亲缘种的生长产生抑制作用^[15],从而有利于群体保持平衡。Ahmed 研究狭细颤藻(*Oscillatoria angustissima*)和墙壁眉藻(*Calothrix parietina*)的次生代谢物,发现狭细颤藻产生的次生物质能抑制与其生活在同一环境中的铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)和贺氏伪枝藻(*Scytonema hofmanni*)^[11]。Augusto 等用侧生藻(*Fischerella* sp.)产生的化感物质培养有产毒能力的微囊藻,发现微囊藻的生长受到了明显的抑制^[10]。Benjamin 等分析海洋中哈氏节球藻(*Nodularia harveyana*)的毒性,发现哈氏节球藻的丙酮提取液能强烈抑制多变鱼腥藻(*Anabaena variabilis*)、满门红鱼腥藻(*Anabaena azollae*)和钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)的生长^[14]。铜绿微囊藻也具有种间抑藻行为^[4],胡智泉等用不同浓度的铜绿微囊藻毒素(MC-RR)处理分离自滇池的水华束丝藻(*Aphanizomenon flos-aquae*),发现较高浓度的 MC-RR 对水华束丝藻表现出急性致死效应^[16]。

1.2 蓝藻对绿藻门及其它浮游藻类的化感抑制作用

蓝藻还能分泌化感物质抑制或者杀死除蓝藻门以外的其他浮游藻类,目前研究较多的是蓝藻对绿藻的抑制作用。Schlegel 等发现无论在自然条件下或实验室条件下,某些蓝藻都具有抑制绿藻的能力^[9],如眉藻和颤藻能抑制小球藻(*Chlorella fusca*)和斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)的生长^[11],微绿藻(*Nannochloris* sp.)在含有哈氏节球藻的水环境中生长受到一定的抑制^[14]。Sanna 等研究波罗的海中水华束丝藻、泡沫节球藻(*Nodularia spumigena*)和累氏鱼腥藻(*Anabaena lemmermannii*)对威氏海链藻(*Thalassiosira weissflogii*)、红细胞藻(*Rhodomonas* sp.)和小普林藻(*Prymnesium parvum*)的化感作用,发现这三种蓝藻能明显抑制红细胞藻的生长,威氏海链藻只受泡沫节球藻的抑制,而小普林藻不受影响^[8]。胡智泉等用微囊藻毒素处理细长聚球藻(*Synechococcus parvus*),发现毒素能显著抑制聚球藻的生长^[17]。Ikawa 等用抑藻圈试验证明了淡水蓝藻分泌的典型挥发性有机异味物质——Geosmin、 β -环柠檬醛和 β -紫罗酮等均对绿藻具有化感抑制作用^[18]。

蓝藻对其它浮游藻类的他感抑制作用表现出了蓝藻的侵略性以及抵御竞争者的能力,这将直接影响到蓝藻在群落中的优势程度,例如 Keating 等研究了富营养化湖泊中蓝藻及硅藻类(diatoms)的种间关系,发现化感作用是蓝藻抑制硅藻成为湖泊中优势种的主要原因^[19]。

1.3 蓝藻对水生微生物的化感抑制作用

蓝藻分泌的化感物质能抑制水中一些细菌及真菌的生长,特别是表面寄生菌。狭细颤藻和墙壁眉藻分泌的化感物质就能明显抑制芽孢杆菌属(*Bacillus*)、葡萄状球菌属(*Staphylococcus*)、埃希氏菌属(*Escherichia*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)的一些细菌生长,并且对曲霉菌属(*Aspergillus*)以及青霉菌属(*Penicillium*)的一些

真菌也有抑制作用^[11]。哈氏节球藻分泌的化感物质对埃希氏菌属、假单胞菌属、葡萄状球菌属以及沙门氏菌属(*Salmonella*)等革兰氏阴性菌无影响,但是对革兰氏阳性菌如肠球菌属(*Enterococcus*)、链球菌属(*Streptococcus*)的一些细菌具有显著的抑制作用^[14]。另外,有研究发现微囊藻毒素有利于自然水体中的细菌从 VIVIFORM(不形成孢子的革兰氏阴性菌,此类细菌处于“活的非可培养状态”)状态转变为可培养细胞^[20],但具体原因尚不清楚。

1.4 蓝藻对水生高等植物的化感抑制作用

藻类与水生植物同处于初级生产者的地位,面临着与水生植物进行营养、光和空间等生态资源的激烈竞争^[21],而化感作用是它们之间竞争的重要手段。长期以来国内外对蓝藻与水生高等植物之间化感作用的研究主要集中在水生植物的抑藻效应上。例如石菖蒲(*Acorus tatarinowii*)根系分泌物和水葫芦(*Eichhuornia crassipes*)产生的化感物质能抑制蓝藻生长^[22, 23];金鱼藻(*Ceratophyllum oryzetorum*)、水毛茛(*Ranunculus kaufmannii*)和哥伦比亚萍(*Azolla* sp.)等分泌物能抑制铜绿微囊藻的生长^[24]。蓝藻对水生植物的化感作用则较少受到关注,但已有一些研究结果揭示了该现象的存在,例如, Pflugmacher 等发现蓝藻毒素能够抑制金鱼藻、穗花狐尾藻(*Myriophyllum spicatum*),减少其光合放氧,并改变其色素组成^[25]。

1.5 蓝藻化感物质对水生动物的影响

蓝藻产生的化感物质还能影响水生动物的生长和发育。1994 年 5 月西太平洋关岛海滩附近水域产生蓝藻引发的赤潮,蓝藻毒素导致大量幼小的河豚死亡^[26]。Pittman 等研究了澳大利亚附近水域中海底丝状蓝藻引起的赤潮,发现赤潮期间,小型鱼、大型鱼和岩石上虾的平均密度、存活量和种类数量都大大减少,这一现象与蓝藻分泌的化感物质有关^[27]。另外,鱼腥藻水华消退期间释放的毒素能导致水中的鱼大量死亡^[7, 28]。在对动物有毒的蓝藻门生物中,最常见的是铜绿微囊藻,目前我国发现的大多数水华都以这种藻占优势。微囊藻产生的毒素能导致鱼、大型蚤和澳洲水泡螺等中毒死亡^[7, 29~32]。Höckelmann 等研究发现线虫对蓝藻生物膜产生的气味物质有趋化的现象^[33]。

2 蓝藻的化感物质

蓝藻的化感物质是蓝藻分泌到环境中的代谢物。目前已发现的蓝藻化感物质大多属于生物碱、脂肪酸、肽类、酮醇、萜类等,此外,还有一些蓝藻分泌物显示出对其他藻类或高等植物具有化感抑制作用,但其中的化感物质仍未被鉴定或命名(部分已鉴定的蓝藻化感物质见表 1)。

3 蓝藻化感抑制作用的生理生态机制

蓝藻化感物质对浮游藻类和水生高等植物的抑制主要是由于对其光合作用的抑制,导致其生长繁殖受影响。一些化感物质还能抑制浮游藻类、水生高等植物和水生动物细胞中蛋白磷酸酶的活性,造成细胞内活性氧胁迫,使细胞结构遭到破坏。另外,蓝藻的化感物质还能作用于动物的神经肌肉传递过程。其他微生物(如细菌)受抑制主要是由于蓝藻化感物质抑制细菌 RNA 聚合酶的活性。

3.1 抑制光合生物的光合作用

研究发现当蓝藻水华发生时,蓝藻分泌的化感物质能明显抑制其他藻或水生高等植物的光合作用。例如 Dhanajaya 等用铜绿微囊藻分泌的化感物质培养念珠藻和鱼腥藻,发现这两种蓝藻的光合作用均受到抑制,CO₂的吸收和 O₂的合成下降^[4];Schlegel 等发现“菲斯”藻能抑制鱼腥藻的光合作用^[9],其中光合作用过程中的光合电子传递、质子结合、色素合成、脂肪酸的合成、碳的同化等都可能成为化感物质的作用对象。如微囊藻毒素能显著抑制水华束丝藻和细长聚球藻叶绿素 a 和藻蓝蛋白的合成^[16, 17];“菲斯”藻毒素、蓝细菌素和蓝细菌素 LU-1,2 能破坏类囊体膜,使光系统 II 的电子传递受到抑制^[10, 36],其中“菲斯”藻毒素 A 能作用于光系统 II 中的 4 个位点:P680(反应中心)、Pheo(去镁叶绿素)、Q_A(与原初电子受体结合的质体醌)和 Q_B(与次级电子供体结合的质体醌)^[35],而蓝细菌素和蓝细菌素 LU-1,2 的作用位点仅在 Q_B,能抑制电子从 Q_A向 Q_B传递。另外 nostocyclamide 可能是电子传递的解偶联剂,能增加内囊体膜对 H⁺的透性,使膜内外 H⁺的浓度差减小甚至消失,光合磷酸化失去动力,ATP 无法合成^[62]。电子传递的受抑和解偶联影响 ATP 的合成,使植物

表 1 部分已鉴定的蓝藻化感物质
Table 1 Allelochemicals excreted by different Cyanobacterium

物质类别 Material types	蓝藻种属 Exudating cyanobacterium	物质名称 The names of substances	化感作用对象及机理 Allelopathic effects and mechanisemes	参考文献 References
含氮杂环	海绵念珠藻 <i>Nostoc spongiaeforme</i>	Nostocine A	抑制念珠藻, 两种鱼腥藻, 伪枝藻, 颤藻, 莱茵衣藻和两种小球藻生长, 棉球蚜虫拒食剂, 抑制稗草根伸长	[34]
酰胺基聚酮 化合物	“菲斯”藻 <i>Fischerella muscicola</i> “菲斯”藻 <i>Fischerella</i> sp.	Fischerellin A Fischerellin B	抑制鱼腥藻, 莱茵衣藻; 抑制微囊藻和聚球藻; 抑制光系统 II, 和真菌的电子传递	[10, 35 ~ 37]
生物碱	“菲斯”藻	12- <i>epi</i> -hapalindole E isonitrile; 12- <i>epi</i> -hapalindole F	抑制枯草杆菌 RNA 聚合酶和蛋白质合成, DNA 复制; 抑制大肠杆菌 RNA 聚合酶	[38, 39]
	泉生软管藻 <i>Hapalosiphon fontinalis</i>	Hapalindole A	抑制微囊藻和聚球藻	[10]
			细菌, 真菌	[40, 41]
吡啶菲啉	眉藻 <i>Calothrix</i> sp.	Calothrixin A	抑制枯草杆菌 RNA 聚合酶和蛋白质合成, DNA 复制; 抑制大肠杆菌 RNA 聚合酶	[38, 39]
脂肪酸	铜绿微囊藻 <i>Microcystis aeruginosa</i> 水华束丝藻 <i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	亚麻酸和亚油酸	抑制蛋白核小球藻生长	[42, 43]
	纤细席藻 <i>Phormidium tenue</i>	乳糖甘油二酯和双 半乳糖甘油二酯	引起纤细席藻自溶, 抑制红球藻生长	[44, 45]
	多变鱼腥藻 <i>Amabaena variabilis</i>	有机酸和酯类	抑制小单歧藻生长	[46]
	颤藻 <i>Oscillatoria</i> sp.	长链不饱和脂肪酸	抑制组囊藻的光系统 II, 电子传递链, 降低自然状态 下一种绿藻的种群密度	[47]
肽类	海绵念珠藻 <i>Nostoc spongiaeforme</i> var. <i>tenue</i> 锐氏颤藻 <i>Oscillatoria raoi</i>	Tenuocyclamides A-D Raocyclamide A (B)	抗枯草杆菌和金黄色葡萄球菌活性; 抑制海胆的胚胎 分裂	[48]
	念珠藻 <i>Nostoc</i> sp. 31	Nostocyclamide A Nostocyclamide M	抑制蕁花臂尾轮虫; 微绿藻、纤维藻、斜生栅藻鱼腥藻 的生长; 促进项圈藻, 聚球藻的光合放氧和呼吸耗氧	[50 ~ 52]
	微囊藻属 <i>Microcystis</i>	Microcystins	抑制日本浮萍生长; 抑制金鱼藻和穗花狐尾藻的生 长、光合产氧量减少并影响其色素组成; 苦草的生长 和发育	[25, 53, 54]
	铜绿微囊藻	Kasumigamide (四肽)	抑制 <i>Chlamydomonas neglecta</i> 生长	[55]
酚	海星念珠藻 <i>Nostoc linckia</i> <i>Oscillatoria late-virens</i>	Cyanobacterin LU-1, 2 未命名	阻碍聚球藻的细胞分裂和光依赖的产氧	[56, 57]
	灰色念珠藻 <i>Nostoc muscorum</i>	未命名	抑制铜绿微囊藻光系统 II 和光合电子传递	[58, 59]
芳香环 化合物	透明伪枝藻 <i>Scytonema hofmanni</i>	Cyanobacterin	抑制抗菌性枯草芽孢杆菌, 蜡状芽孢杆菌, 黑曲霉等 的生长	[60]
			抑制聚球藻 <i>Synechococcus</i> sp. 和浮萍、玉米、豆类等被 子植物的光合电子传递	[61]
酮醇	织线藻 (<i>Plectonoma</i> sp.) 和墙壁眉藻 (<i>Calothrix parietina</i>)	2-丁酮; 2-戊醇, 2, 3- 戊二酮; 2, 3-己二 酮; 羟基己酮等混合 及单一物质	秀丽隐杆线虫和淡水单宫伞线虫 (仅混合物) 吸引剂	[33]
萜类	微囊藻, 鱼腥藻, 颤藻等多 个属	Geosmin, β -环柠檬 醛, 香叶基丙酮, 紫 罗酮	抑制蛋白核小球藻生长	[18]
	眉藻、织线藻和墙壁眉藻 眉藻	紫罗酮 Geosmin	淡水单宫伞线虫驱除剂 秀丽隐杆线虫驱除剂	[33]

失去部分的同化力,阻碍碳的同化。另外,一些化感物质还会影响藻对 CO_2 的吸收^[4],降低其光合效能。

3.2 导致动植物细胞蛋白质的过度磷酸化

蓝藻的化感物质如微囊藻毒素和节球藻毒素能抑制蛋白磷酸酶的活性^[7,63,64]。Mason 等用从蓝藻中提取出的化感物质培养聚球藻,发现聚球藻细胞的细胞壁变得凹凸不平,细胞质流失、细胞器被破坏^[13],类似症状的胞器损伤在鱼类实验中也有报道^[65]。这是由于蓝藻化感物质抑制了蛋白磷酸酶或激活了蛋白激酶,使蛋白磷酸化与去磷酸化之间的正常调节失衡,导致蛋白质的过度磷酸化。细胞骨架如细胞间丝比其它蛋白质更容易磷酸化,导致细胞内细胞器重排^[66],另外还引起细胞膜泡、细胞萎缩、核染色质浓缩等一系列凋亡变化^[67]。

3.3 诱导活性氧产生,导致细胞内的过氧化胁迫

浮游藻类和水生高等植物在蓝藻化感作用的胁迫下,体内会产生较多的活性氧,破坏生物体内的蛋白质(酶)、核酸等生物大分子,诱发受体生物膜脂过氧化作用,使膜中不饱和脂肪酸的含量降低,膜脂由液晶态转变成凝胶态,引起膜流动性下降,质膜透性大大增加。因此,活性氧的产生被认为是微囊藻毒素引起动物肝损伤的一个重要机制。

3.4 抑制细菌 RNA 合成

在完整的杆状菌细胞中,侧生藻产生的 hapalindole 能够抑制细菌 RNA 的合成,并最终导致蛋白质合成受到抑制;眉藻产生的 calothrixin A 也能抑制细菌 RNA 的合成。Doan 等研究发现这两种物质对 RNA 合成的抑制机理主要是因为 RNA 聚合酶受到抑制造成的^[39],另外 calothrixin A 对 DNA 的复制也有抑制作用,但其机理目前报道甚少,有待于进一步的研究。

4 影响蓝藻化感抑制效应的因素

蓝藻的化感抑制效果主要受环境条件、受体生物的种类及生长状况等因素的共同影响。

4.1 环境因子

环境因素主要包括温度、光照、pH 值、营养条件等非生物因子和生物因子。例如 Ahmed 等发现狭细颤藻和墙壁眉藻在 25 ~ 30℃ 的环境中产生的化感物质较多^[11]。Utkilen 等发现光能是微囊藻毒素产生的一个重要制约因子^[68]。一般情况下,中性或者偏碱性的环境中蓝藻的生长状况较好,释放的化感物质相对较多,而酸性环境中蓝藻的化感物质容易失活,如 Keating 在 1978 年就发现蓝藻的化感物质在 pH 为 6.0 的环境中被钝化^[19]。营养条件对蓝藻释放化感物质的影响也很大,Lukae 等研究微囊藻在不同营养物质中的生长和毒素释放状况,发现磷对微囊藻毒素的产生有较明显的作用,降低铁、锌的浓度则会明显提高微囊藻毒素的产生^[69]。蓝藻的种内竞争、与其它藻类和高等水生植物的种间竞争,以及浮游动物的捕食压力均会影响其化感效应^[70]。当营养、光照或生活空间有限时,蓝藻分泌化感物质抑制其他藻种或水生植物的现象更加突出,以保障自身在竞争中取胜。而 Jang 等发现当铜绿微囊藻与大型蚤、蚤状蚤以及多刺裸腹蚤 3 种浮游动物共同培养时,其藻毒素的释放量明显增加^[71]。

4.2 蓝藻种类(或品系)及生长状况

蓝藻能否分泌化感物质首先是由遗传因素决定的。Meibner 等发现微囊藻毒素的合成是由毒素肽合成酶基因多基因控制,并由肽合成酶复合体合成^[72]。Otsuka 等通过对 *M. aeruginosa* PCC7806 的 DNA 序列顺序分析研究发现,这种产毒的微囊藻含有具同源性的肽合成酶基因保守序列,其中至少含有两个多肽合成酶基因,而微囊藻无毒株不具有这些基因^[73]。另外,蓝藻在不同的生长阶段其产生化感物质的能力存在较大差异,如 An 等发现化感物质的分泌量随着蓝藻细胞的老化而逐渐减少^[74]。

5 蓝藻化感抑制作用的研究方法

对蓝藻化感抑制作用现象的测定,目前一般采取向受体生物添加蓝藻培养液或已知的蓝藻分泌物、供试蓝藻与受体生物共同培养等。而对蓝藻化感物质的分离和鉴定主要采用溶剂提取-活性检测-物质鉴定法。

5.1 蓝藻化感抑制作用的测定

5.1.1 共培养

即将供试蓝藻和受体生物共同培养于一个体系中,具体做法有 2 种:(1)将供试蓝藻和受体生物共同培养于一只玻璃缸中(对照组不接种藻),定期测定受体生物的生长状况指标(如水生植物的种子萌发和幼苗生长,微生物的抑菌圈大小等),并计算其抑制率。为避免两者间的营养竞争抑制作用,定期向培养缸内添加培养液,以补偿消耗的养分。为尽量消除供试蓝藻对受体生物的遮光效应,从玻璃缸侧面供给光源。(2)将一个有机玻璃缸分成两部分,中间用 $0.45\ \mu\text{m}$ (或 $0.22\ \mu\text{m}$) 的玻璃纤维滤膜分隔,一部分培养供试蓝藻(对照组不接种藻),另一部分培养受体生物,定期测定受体生物的生长状况指标,并计算其抑制率。为避免两者间的营养竞争抑制作用,定期向培养缸内添加培养液,以补偿消耗的养分。该体系中受试的两种生物间不直接接触,但分泌的化感物质可以自由通过,且完全排除了光遮挡等其它因素的干扰^[75]。

5.1.2 添加法

即将供试蓝藻和受体生物分别培养,将供试蓝藻的分泌物添加到受体生物的培养体系中,具体做法有 2 种:(1)将生长过蓝藻的培养液用 $0.45\ \mu\text{m}$ (或 $0.22\ \mu\text{m}$) 的微孔滤膜过滤后,将滤液添加到受体生物的培养体系中(对照不添加藻滤液),定期测定受体生物的生长状况指标,并计算其抑制率。为消除受体生物的营养限制作用,定期向培养体系中添加培养液,以补偿消耗的养分。根据滤液添加的时间和次数,又可以分为一次初始添加法和多次连续添加法^[8]。(2)将已知的蓝藻分泌物添加到受体生物的培养体系中(对照不添加该物质),定期测定受体生物的生长状况指标,并计算其抑制率。为消除受体生物的营养限制作用,定期向培养体系中添加培养液,以补偿消耗的养分^[18]。

5.2 蓝藻化感物质的提取、分离和鉴定

蓝藻化感物质提取、分离和鉴定的基本流程与其它生物的化感研究相同,一般首先用不同有机溶剂分别提取蓝藻分泌物,去除有机溶剂后用 5.1 所述方法分别测定各提取物的化感抑制效应,对有效部分进一步采用柱层析及制备型色谱等手段^[42,43,55]进行分离提纯后,测定每个单一组分的化感抑制效果,对其中化感作用明显的未知结构组分用紫外、红外、核磁共振、质谱等方法进行结构鉴定,从而获得确定的化感抑制物质供后续研究或开发。

6 研究展望

目前对陆地生态系统的化感作用研究较多,而水体生态系统化感作用的研究相对薄弱。而且现有的很多研究都是基于实验室的模拟试验,由于实验室的种群密度与生境中的实际状况存在差异,大多数的实验室培养密度都大于生境中的密度,因此在实验室观察到的化感抑制效应在实际生境中不一定能观察到,这可能造成对蓝藻化感抑制效果的过高评价。另外,实验室研究时并不能完全模拟实际的生境,现实生境中可能存在更多的影响因素,因此实验的结果与实际存在一定的差异,因此,目前急需不断改进研究方法和手段。另一方面,目前对蓝藻化感抑制作用的许多生物学机制尚不清楚,而关于靶生物体对化感物质的诱导、化感物质从细胞中的释放以及蓝藻自身对有害化感物质的免疫机制等应是今后研究工作的重点。

在实践应用方面,蓝藻的化感物质也可能成为新型的药物用于农业和医药等行业,实现化害为利,如 Sabine 等发现蓝藻分泌的化感物质能抑制疱疹病毒 I 型及流感病毒 A 的活性^[3],其中铜绿微囊藻的提取液能完全抑制流感病毒 A 的复制且对宿主细胞无毒害,有可能利用它研制新的抗病毒药剂。蓝藻的一些化感物质还有可能被开发成为生化除草剂或抑藻剂等应用于农业或水体修复等领域。

References:

- [1] Vasconcelos V M, Pereira E. Cyanobacteria diversity and toxicity in a wastewater treatment plant(Portugal). *Water Research*, 2001, 35 (5): 1354—1357.
- [2] Song L R, Li L, Chen W, Gan N Q. Research progress on the off-flavours and secondary metabolites of algae in the aquatic environment. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, 28 (4): 434—439.

- [3] Sabine M, Susann K, Andrea N, Uta E. Biochemical and pharmacological investigations of selected cyanobacteria. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2001, 203: 327 — 334.
- [4] Dhananjaya P S, Tyagi M B, Arvind K, Thakur J K, Ashok K. Antialgal activity of a hepatotoxin-producing cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2001, 17: 15 — 22.
- [5] Daniela R F, Ulisses M A, Sonia M E, Fernando J M G, Mario J P. Microcystin -producing blooms-a serious global public health issue. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2004, 59: 151 — 163.
- [6] Xian Q M, Chen H D, Zou H X, Qu L J, Yin D Q. Research advances in allelopathy of aquatic macrophytes. *Chinese Journal of Ecology*, 2005, 24 (6): 664 — 669.
- [7] Codd G A. Cyanobacterial toxins: occurrence, properties and biological significance. *Water Science and Technology*, 1995, 32 (4): 149 — 156.
- [8] Sanna S, Giovana O F, Edna G. Allelopathic effects of the Baltic cyanobacteria *Nodularia spumigena*, *Aphanizomenon flos-aquae* and *Anabaena lemmermannii* on algal monocultures. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2004, 308: 85 — 101.
- [9] Schlegel I, Doan N T, Chazal N, Geoffrey D S. Antibiotic activity of new cyanobacterial isolates from Australia and Asia against green algae and cyanobacteria. *Journal of Applied Phycology*, 1999, 10: 471 — 479.
- [10] Augusto E, Edenilson R, Ralf D, David H M, Marli F F, Dohren H, Siu M T, Brett A N. Algicide production by the filamentous cyanobacterium *Fischerella* sp. CENA 19. *Journal of Applied Phycology*, 2004, 16: 237 — 243.
- [11] Ahmed A I. Antibiotic production by the cyanobacteria *Oscillatoria angustissima* and *Calothrix parietina*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 1999, 8: 33 — 37.
- [12] Bagchi S N, Marwah J B. Selection by means of acridine orange renders defect in algicide production and carrier-mediated release in a cyanobacterium, *Oscillatoria late-virens*. *Cytobiology*, 1997, 87: 181 — 188.
- [13] Mason C P, Edwards K R, Carlson R E, Pignatello J, Gleason F K, Wood J M. Isolation of chlorine-containing antibiotic from the freshwater cyanobacterium *Scytonema hofmanni*. *Science*, 1982, 215: 400 — 402.
- [14] Benjamin P, Elio P, Friedrich J. Toxicological analysis of the marine cyanobacterium *Nodularia harveyana*. *Journal of Applied Phycology*, 1999, 10: 527 — 530.
- [15] Wang H Y, Jiang Z P. Allelopathy and its use in environmental protection. *Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control*, 2002, 3 (6): 86 — 89.
- [16] Hu Z Q, Liu Y D, He G Y. Algae-lytic effect of microcystin-RR on *Aphanizomenon flos-aquae* isolated from Dianchi Lake. *J. Huazhong Univ. of Sci. & Tech. (Nature Science Edition)*, 2005, 33 (9): 128 — 131.
- [17] Hu Z Q, Liu Y D. The effect of microcystin on some physio-biochemical characteristics of *Synechococcus elongates*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, 28 (2): 155 — 158.
- [18] Ikawa M, John J S, James F H. Activity of cyanobacterial and algal odor compounds found in lakewaters on green alga *Chlorella pyrenoidosa* growth. *Hydrobiologia*, 2001, 443: 19 — 22.
- [19] Keating K I. Blue-green algal inhibition of diatom growth: transition from mesotrophic to eutrophic community structure. *Science*, 1978, 199: 971 — 973.
- [20] Han Q G, Hu Z L, Lei A P, Song L R, Liu Y D. The studies on the relationship between microcystin-LR and viviform state of bacterium in natural bodies of water. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, 29 (2): 199 — 202.
- [21] Song H L, Lu X W. The research and application of plant in purification and remediation for eutrophic water body. *Safety and Environmental Engineering*, 2004, 11 (3): 35 — 39.
- [22] Youngchul K, Wan K. Roles of water hyacinths and their roots for reducing algal concentration in the effluent from waste stabilization ponds. *Water Research*, 2000, 34 (13): 3285 — 3294.
- [23] Ye J X, He C Q, Chen S F. Allelopathic effect of *Acorus tatarinowii* on algae growth. *Acta Phytocologica Sinica*, 1999, 23 (4): 379 — 384.
- [24] Ma W M, Sun L, Qian Z P, Wang Q X. The effects of three advanced aquatic plants on the growth of *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Shanghai Teachers University(Natural Science)*, 2003, 32 (1): 101 — 102.
- [25] Pflugmacher S. Possible allelopathic effects of cyanotoxins, with reference to microcystin-LR, in aquatic ecosystems. *Environ. Toxicol.*, 2002, 17

- (4):407—413.
- [26] Dale G N, Valerie J P. Chemical defense of a marine cyanobacterial bloom. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1998, 225: 29—38.
- [27] Pittman S J, Pittman K M. Short-term consequences of a benthic cyanobacterial bloom (*Lyngbya majuscula* Gomont) for fish and penaeid prawns in Moreton Bay (Queensland, Australia). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2005, 63: 619—632.
- [28] Liu Y M, Liu Y D, Li D H, Shen Y W, Wang H Z. Bioassay for the toxicity of *Aphanizomenon flos-aquae* bloom from lake Dianchi. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, 28 (2): 216—218.
- [29] Li X Y, Liu Y D, Zhang B J. Toxic effects of microcystin on snail (*Bulinus australianus*). *Journal of Henan Normal University (Natural Science)*, 2005, 33 (4): 106—109.
- [30] Jin L N, Xu X Q. A review of the toxic effect of microcystin on fish. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, 27 (6): 644—647.
- [31] He J W, He Z R, Guo Q L. The toxicity of *Microcystis aeruginosa* to fishes and daphnia. *Journal of Lake Sciences*, 1997, 9 (1): 49—56.
- [32] Codd G A, Morrison L F, Metcalf J S. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2005, 203 (3): 264—272.
- [33] Höckelmann C, Moens T, Jüttner F. Odor compounds from cyanobacterial biofilms acting as attractants and repellents for free-living nematodes. *Limnol. Oceanogr.*, 2004, 49(5):1809—1819.
- [34] Hirata K, Yoshitomi S, Dwi S, Iwabe Q, Mahakhan A, Polchai J, Miyamoto K. Bioactives of Nostocine A produced by a freshwater cyanobacterium *Nostoc spongiaeforme* TISTR 8169. *J. Biosci. Bioeng.*, 2003, 95: 512—517.
- [35] Srivastava A, Juttner F, Strasser R J. Action of the allelochemical, fischerellin A, on photosystem II. *Biochemit Biophysiology Acta*, 1998, 1364: 326—336.
- [36] Hagmann L, Juttner F. Fischerellin A, a novel photosystem-II-inhibiting allelochemical of the cyanobacterium *Fischerella muscicola* with antifungal and herbicidal activity. *Tetrahedron Letters*, 1996, 37:6539—6542.
- [37] Papke U, Gross E M, Francke W. Isolation, identification and determination of the absolute configuration of fischerellin B: A new algicide from the freshwater cyanobacterium *Fischerella muscicola*. *Tetrahed. Lett.*, 1997, 38: 379—382.
- [38] Doan N T, Rickards R W, Rothschild J M, Smith G D. Allelopathic actions of the alkaloid 12-*epi*-hapalindole Eisonitrile and calothrixin A from cyanobacteria of the genera *Fischerella* and *Calothrix*. *J. Appl. Phycol.*, 2000, 12: 409—416.
- [39] Doan N T, Stewart P R, Smith G D. Inhibition of bacterial RNA polymerase by the cyanobacterial metabolites 12-*epi*-hapalindole Eisonitrile and calothrixin A. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2001, 196: 135—139.
- [40] Moore R E, Cheuk C, Pattern G M L. Hapalindoles: new alkaloids from the blue-green alga *Hapalosiphon fontinalis*. *J. America. Chemi. Soc.*, 1984, 106: 6456—6457.
- [41] Moore R E, Cheuk C, Yang X Q G, Patterson G M L, Bonjouklian R, Smitka T A, Mynderse J S, Foster R S, Jones N D, Swartzendruber J K and Deeter J B. Hapalindoles, antibacterial and antimycotic alkaloids from the cyanophyte *Hapalosiphon fontinalis*. *Journal of Organometallic Chemistry*, 1987, 52: 1036—1043.
- [42] Ikawa M, Sasner J J, Haney J F. Lipids of cyanobacterium *Aphanizomenon floc-aquae* and inhibition of *Chlorella* growth. *J. Chem. Ecol.*, 1994, 20: 2429—2436.
- [43] Ikawa M, Haney J F, Sasner J J. Inhibition of *Chlorella* growth by the lipids of cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Hydrobiologia*, 1996, 331: 167—170.
- [44] Murakami N, Morimoto T, Imamura H, Ueda T, Nagai S, Sakakibara J, Yamada N. Studies on glycolipids III. Glyceroglycolipids from an axenically cultured cyanobacterium *Phormidium tenue*. *Chem. Pharm. Bull (Tokyo)*, 1991, 39: 2277—2281.
- [45] Murakami N, Morimoto T, Ueda T, Nagai SI, Sakakibara J. Generation of lysoglyceroglycolipids in the cyanobacterium *Phormidium tenue*. *Phytochemistry*, 1992, 31: 2641—2644.
- [46] Liu S M, Li S H. Interaction of two population of the bluegreen algae in co-culture. *Acta Botanica Sinica*, 1991,33:110—117.
- [47] Chauhan V S, Marwah J B, Bagchi S. N. Effect of an antibiotic from *Oscillatoria* sp. on phytoplankters, higher plants and mice. *New Phytologist*, 1992, 120(2):251—257.

- [48] Banker R, Carmeli S. Tenuocyclamides A D, cyclic hexapeptides from the cyanobacterium *Nostoc spongiaeforme* var *tenu*. J. Nat. Prod., 1998, 61:1248—1251.
- [49] Admi V, Afek U, Carmeli S. Raocyclamides A and B, novel cyclic hexapeptides isolated from the cyanobacterium *Oscillatoria raoi*. J. Nat. Prod., 1996, 59: 396—399.
- [50] Todorova A K and Juttner F. Nostocyclamide: A new macrocyclic, thiazole-containing allelochemical from *Nostoc* sp. 31 (cyanobacteria). J. Org. Chem., 1996, 60: 7891—7895.
- [51] Juttner F. Nostocyclamide, a toxic decoupling agent of *Nostoc*. Abstract, IX Int. Symp. *Phototrophic Prokaryotes*. Vienna, Austria, 1997. 40.
- [52] Juttner F, Todorova A K, Walch N, Philipsborn W. Nostocyclamide M: a cyanobacterial cyclic peptide with allelopathic activity from *Nostoc* 31. *Phytochemistry*, 2001, 57: 613—619.
- [53] Jang M H, Ha K, Takamura N. Reciprocal allelopathic responses between toxic cyanobacteria (*Microcystis aeruginosa*) and duckweed (*Lemna japonica*). *Toxicon*, 2007, 49(5): 727—733.
- [54] Yin L Y, Huang G Q, Li D H, Hu Z Q, Liu Y D. The effect of microcystin on the growth and development of submergent macrophyte *Vallisneria spiralis* Hara. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, 28 (2): 147—150.
- [55] Ishida K, Murakami M. Kasumigamide, an antialgal peptide from the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. J. Org. Chem., 2000, 65: 5898—5900.
- [56] Gromov, B V, Vepritskiy A A, Titova N N, Mamkayeva K A, Alexandrova O V. Production of the antibiotic cyanobacterin LU-1 by *Nostoc linckia* CALU 892 (cyanobacterium). *Journal of Applied Phycology*, 1991, 3: 55—59.
- [57] Vepritskii A A, Gromov B V, Titova N N, Mamkaeva K A. Production of the antibiotic- algicide cyanobacterin LU-2 by the filamentous cyanobacterium *Nostoc* sp. *Mikrobiologiya*, 1990, 60: 21—25.
- [58] Bagchi S N, Chauhan V S, Marwah J B. Effect of an antibiotic from *Oscillatoria late-virens* on growth, photosynthesis, and toxicity of *Microcystis aeruginosa*. *Current Microbiology*, 1993, 26: 223—228.
- [59] Bagchi S N. Structure and site of action of an algicide from a cyanobacterium, *Oscillatoria late-virens*. J. Plant Physiol., 1995, 146(3): 372—374.
- [60] El-Sheekh M M, Osman M E H, Dyab M A. and Amer M S. Production and characterization of antimicrobial active substance from the cyanobacterium *Nostoc muscorum*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2006, 21: 42—50.
- [61] Gleason F K, Case D E. Activity of the natural algicide, cyanobacterin, on angiosperms. *Plant Physiol*, 1986, 80: 834—837.
- [62] Geoffrey D S, Nga T D. Cyanobacterial metabolites with bioactivity against photosynthesis in cyanobacteria, algae and higher plants. *Journal of Applied Phycology*, 1999, 11: 337—344.
- [63] Shena P P, Shia Q, Huaa Z C, Kongb F X, Wangc Z G, Zhuanga S X, Chena D C. Analysis of microcystins in cyanobacteria blooms and surface water samples from Meiliang Bay, Taihu Lake, China. *Environment International*, 2003, 29: 641—647.
- [64] Chen J P, Xu L H, Zhang Y Y. A study of inhibition of microcystins on protein phosphatase in fish tissue homogenate. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1998, 22 (1): 95—97.
- [65] Zhou B S, Xu L H, Zhang Y Y, Xu Y. The effect of microcystin-LR on the liver ultrastructure of grass carp *Ctenopharyngodon idellus*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1998, 22 (1): 90—92.
- [66] Wu J, Zhu H G. Study progress on algal toxins and their health effect. *Shanghai Environmental Sciences*, 1999, 18 (7): 331—334.
- [67] Shi W. The toxicological research on algae toxin. In: Jin T Y ed. *Modern toxicology*. Shanghai: Fudan University Press, 2004. 87—95.
- [68] Utkilen H, Gjølme N. Emerge the dominating controlling factor for microcystin production in *Microcystis aeruginosa*. *Compilation of abstracts, 4th International Conference on Toxic Cyanobacteria*, 1998, 63.
- [69] Lukae M, Aegerter R. Influence of trace metals on growth and toxin production of *Microcystis aeruginosa*. *Toxicon*, 1993, 31: 293—305.
- [70] Yang Z, Kong F X. Effects of zooplankton grazing on colony formation in algae: A review. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25 (8): 2083—2089.
- [71] Jang M H, Ha K, Joo G J, et al. Toxin production of cyanobacteria is increased by exposure to zooplankton. *Freshwater Biology*, 2003, 48: 1540—1550.
- [72] Meißner K, Dittmann E, Borner T. Toxic and non-toxic strains of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* contain sequences homologous to

synthetase genes. FEMS Microbiology Letters, 1996, 135: 295–303.

- [73] Otsuka S, Suda S, Li R. Phylogenetic relationships between toxic and non-toxic strains of the genus *Microcystis* based on 16S to 23S internal transcribed spacer sequence. FEMS Microbiology Letters, 1999, 172: 15–21.
- [74] An M, Liu D L, Johnson I R, Lovett J V. Mathematical modelling of allelopathy II. The dynamics of allelochemicals from living plants in the environment. Ecological Modelling, 2003, 161: 53–66.
- [75] Zhang W H, Zhou L F, Wu X G, Song L R. Allelopathic effect of *Acorus calamus* on *Microcystis aeruginosa*. China Environmental Science, 2006, 26(3): 355–358.

参考文献:

- [2] 宋立荣, 李林, 陈伟, 甘南琴. 水体异味及其藻源次生代谢产物研究进展. 水生生物学报, 2004, 28 (4): 434–439.
- [6] 鲜启鸣, 陈海东, 邹惠仙, 曲丽娟, 尹大强. 淡水水生植物化感作用研究进展. 生态学杂志, 2005, 24 (6): 664–669.
- [15] 王海燕, 蒋展鹏. 化感作用及其在环境保护中的应用. 环境污染治理技术与设备, 2002, 3 (6): 86–89.
- [16] 胡智泉, 刘永定, 何光源. 微囊藻毒素对滇池水华康丝藻的溶藻效应研究. 华中科技大学学报(自然科学版), 2005, 33 (9): 128–131.
- [17] 胡智泉, 刘永定. 微囊藻毒素对细长聚球藻生长及生理生化特性的影响. 水生生物学报, 2004, 28 (2): 155–158.
- [20] 韩庆国, 胡章立, 雷安平, 宋立荣, 刘永定. 微囊藻毒素与自然水体中细菌 VIVIFORM 状态的相关性. 水生生物学报, 2005, 29 (2): 199–202.
- [21] 宋海亮, 吕锡武. 利用植物控制水体富营养化的研究与实践. 安全与环境工程, 2004, 11 (3): 35–39.
- [23] 叶居新, 何池全, 陈少凤. 石菖蒲的克藻效应. 植物生态学报, 1999, 23 (4): 379–384.
- [24] 马为民, 孙莉, 钱志萍, 王全喜. 三种高等水生植物对铜绿微囊藻生长的影响. 上海师范大学学报(自然科学版), 2003, 32 (1): 101–102.
- [28] 刘永梅, 刘永定, 李敦海, 沈银武, 王海珍. 滇池束丝藻水华毒性生物检测. 水生生物学报, 2004, 28 (2): 216–218.
- [29] 李效宇, 刘永定, 张榜军. 微囊藻毒素对澳洲水泡螺的毒性效应. 河南师范大学学报(自然科学版), 2005, 33 (4): 106–109.
- [30] 金丽娜, 徐小清. 微囊藻毒素对鱼类毒性影响的研究进展. 水生生物学报, 2003, 27 (6): 644–647.
- [31] 何家苑, 何振荣, 郭琼林. 有毒铜绿微囊藻对鱼和蚤的毒性. 湖泊科学, 1997, 9 (1): 49–56.
- [46] 刘世枚, 黎尚豪. 两种蓝藻种群间的相互作用. 植物学报, 1991, 33: 110–117.
- [54] 尹黎燕, 黄家权, 李敦海, 胡智泉, 刘永定. 微囊藻毒素对沉水植物苦草生长发育的影响. 水生生物学报, 2004, 28 (2): 147–150.
- [64] 陈加平, 徐立红, 张雨元. 微囊藻毒素对鱼组织匀浆液蛋白磷酸酶活性抑制作用的研究. 水生生物学报, 1998, 22 (1): 95–97.
- [65] 周炳升, 徐立红, 张雨元, 徐盈. 微囊藻毒素 LR 对草鱼肝脏超微结构影响的研究. 水生生物学报, 1998, 22 (1): 90–92.
- [66] 吴静, 朱惠刚. 藻毒素与健康效应的研究进展. 上海环境科学, 1999, 18 (7): 331–334.
- [67] 施玮. 藻类毒素毒理学研究. 见: 金泰稟主编. 现代毒理学. 上海: 复旦大学出版社, 2004. 87–95.
- [70] 杨州, 孔繁翔. 浮游动物诱发藻类群体的形成. 生态学报, 2005, 25 (8): 2083–2089.
- [75] 张维昊, 周连凤, 吴小刚, 宋立荣. 菖蒲对铜绿微囊藻的化感作用. 中国环境科学, 2006, 26(3): 355–358.