

754-758

第19卷第5期
1999年9月生态学报
ACTA ECOLOGICA SINICAVol. 19, No. 5
Sept, 1999石菖蒲(*Acorus tatarinowii*)克藻效应的研究何池全¹, 叶居新²

(1. 中国科学院长春地理研究所, 长春 130021; 2. 南昌大学生物科学工程系, 南昌 330047)

Q 948.717.2

摘要:石菖蒲(*Acorus tatarinowii*)抑制藻类的机制除了对光和矿质营养(N、P等)的竞争外,主要是由于石菖蒲根系向水体分泌的化学物质,能伤害和清除藻类(化感作用 allelopathic effect)。用培植石菖蒲的水培养藻类,可破坏藻类的叶绿素a,使其光合速率、细胞还原TTC能力显著下降;在荧光显微镜下可看到藻细胞从鲜红色变为淡蓝色,表明石菖蒲对藻类有显著的克制效果,可用于治理富营养化水体中的藻类繁生;通过根系分泌物的提取实验,显示该分泌物对同一受体产生浓度效应,它的浓度阈值为30~45ul/disc。

关键词:石菖蒲;化感;藻类;分泌物作用

Inhibitory effects of *Acorus tatarinowii* on algae growth

HE Chi-Quan¹, YE Ju-Xin² (1. Changchun Institute of Geography, Chinese Academy of Sciences Changchun 13021, China; 2. Department of Biological Science and Engineering, Nanchang University, Nanchang 330047)

Abstract: The inhibitory effect of *Acorus tatarinowii* on algae growth was studied, in addition to the competitions of light and mineral nutrients between *Acorus tatarinowii* and algae, the mechanism of this inhibitory effect is mainly due to the excretion of some organic substances from the root system and rhizome of *Acorus tatarinowii* which may injure and abate the algae cells (Allelopathic effect). When the algal cells were treated with cultured water of *Acorus tatarinowii*, chlorophyll a was found to be destroyed, and the photosynthetic rate of algae markedly decreased, under fluorescence microscope it was seen that algal cells turned from bright red to bluish green. The inhibitory of extract from fresh *Acorus tatarinowii* on algae was found to have an concentration effect, its threshold of concentration is 30~45ul/disc.

[Key words]: *Acorus tatarinowii*; allelopathy; algae; secreting effect

文章编号: 1000-0933(1999)05-0754-05 中图分类号: Q948.1 文献标识码: A

石菖蒲(*Acorus tatarinowii* Scott)系多年生草本挺水植物,属天南星科,菖蒲属。产于我国黄河以南各省区,印度东部、越南至泰国北部也有分布。常见于海拔20~2600m的密林、湿地或溪旁石上。鲜叶及根茎含挥发油0.5%~0.8%,油中主要成分为细辛醚。化感物质是植物之间传递信息的载体^[1]。我国研究始于80年代,已有如在林业方面,芒萁对周围其它植物的他感作用的报道^[2];农业方面,斑唇马先蒿对蚕豆、小麦种子萌发影响的工作^[3];水生生物方面,水葫芦对藻类的化感作用的报道^[4]等等。笔者就石菖蒲对藻类的化感作用作一些尝试。

1 材料与方法

(1)试验材料的采集 石菖蒲采自江西省南昌市郊区西山脚下太平乡清洁溪流中。藻类采自南昌大学校园游泳池及生物园内小池塘。滤过,驯养,取滤液镜检,发现有绿藻门(Chlorophyta)、硅藻门(Bacillariophyta)、蓝藻门(Cyanophyta)的15个属,32种藻类。其中主要为栅裂藻属(*Scenedesmus*)植物,在该属中种群数量较大者有3种:斜生栅藻(*S. obliquus*)、二形栅藻(*S. dimorphus*)、四尾栅藻(*S. quadricauda*);此外尚有小球藻(*Chlorella* spp.)和盘星藻(*Pediastrum* spp.)。雷氏衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)由中国科学

基金项目:江西省自然科学基金及南昌大学校基金的资助项目

本文承蒙赵魁义研究员、洪瑞川教授的指导、野外工作得到南昌大学92级段小兰、陈欣红、肖克刚的帮助,在此谨表谢忱

收稿日期:1997-08-20;修订日期:1998-10-20

院水生生物研究所藻类研究室提供。

(2)培养液及培养基的配制 培养石菖蒲和藻类的溶液为 1/10N 修改的 Hoagland 溶液^[5]; Bischoff and Bold 培养基(BBM)^[6]; 普通牛肉膏蛋白胨培养基

(3)石菖蒲的培养 于南面的实验室内临窗培养,室温 $25 \pm 3^\circ\text{C}$ 。湿度 70%~80%。直射及散射自然光照。将适应后的石菖蒲放入培养液中培养。

(4)藻类的培养 在 $\Phi 28 \times 15\text{cm}$ 玻璃缸内盛修改的 Hoagland 培养液,培养,温湿度同上。

(5)藻类浓度测定 培养液的 OD_{550} 表示,比色仪器为上海第三分析仪器厂 721 分光光度计;叶绿素 a 用比色法^[7];藻细胞还原力用 TTC 还原法^[8];用 OPTON(西德)型荧光显微镜检测藻细胞死亡情况^[9]。

2 试验设计与结果分析

2.1 光照和营养试验 先培养三缸藻类,当 OD_{550} 值达到 0.1 时,再分为 3 组:第 1 组为处理组,一半水面植石菖蒲,,另一半为敞开水面,二者之间用一层塑料窗纱阻隔,第 2 组处理同第 1 组,但定期定量向缸内连续滴加营养液,每天滴加量约为 100ml。第 3 组为对照组,不植石菖蒲,一半水面敞开,另一半模拟遮光,即在水里放一只 1000ml 的烧杯,烧杯内植石菖蒲。每天测定藻液的 OD_{550} 值,结果如图 1。

移植石菖蒲后,一般经过 2~3d,藻细胞开始下沉,水渐变清。同一缸内敞开区和覆盖区水样的 OD_{550} 值无显著差异。故以两个水样的 OD_{550} 值的平均值表示该实验缸的藻液浓度。

由图 1 可见,开始 1~2d 内,处理组藻类的增长速率比对照快,这可能是由于石菖蒲根系呼吸放出的 CO_2 ,促进藻类光合作用所致;2~3d 后处理组 OD_{550} 值开始下降,在 8d 内从 0.1 降至 0.01,敞开区和覆盖区的培养液同样变清。对照组则最高可升至 0.2,水面漂浮“水华”。对处理组和对照组的藻类密度值进行 F 检验,发现两者间差异显著。本实验证明石菖蒲对藻类有克制效应,并说明遮光作用并不是主要原因。

每 2 天测定 1 次藻液中铵态氮和总磷的变化(见图 2、图 3,铵氮用奈氏试剂比色法,总磷用钼蓝比色法),其结果表明:添加营养组的铵态氮、总磷营养水平始终接近或高于对照组,基本排除了因为石菖蒲对氮磷的吸收而造成营养差异这一因素,从图 2 可见,添加和不添加营养的处理组的克藻效果基本相同,而和对照组相比则显然不同。处理组和对照组的藻类密度值进行 F 检验,发现两者间差异显著。由此可见在排除石菖蒲与藻类对光和矿质营养竞争的条件下,石菖蒲仍有极为显著的抑藻作用。

2.2 石菖蒲培养用水的克藻试验 从培养过石菖蒲的玻璃缸中取水,经微孔滤膜($0.45\mu\text{m}$)过滤,盛滤液 150ml 于 300ml 锥形瓶中,加适量营养液后接藻种,使藻的起始浓度(OD_{550} 值)为 0.10;对照组用未培养石菖蒲的但已接藻种的养藻水,作同样处理,营养水平和接种藻量与培养水处理组相同。由于培养过程中藻类有沉淀现象,所以采取两种方式取水样(一为取样摇混,一为不摇混)测定 OD_{550} 变化(见图 4)。

结果表明,对照组藻类浓度上升,处理组则下降,处理组的沉淀现象比对照组明显。

叶绿素 a 含量测定 取 20ml 水样,加入 0.2ml MgCO_3 的悬浮液,离心,萃取,比色,通过计算得到:对照组叶绿素 a 含量为 $356\text{mg}/\text{m}^3$,而处理组则为 $87.2\text{mg}/\text{m}^3$ 。

藻细胞还原 TTC 能力测定 取 10ml 样品液,按常规方法^[8]处理,处理组的 TTC 还原成三苯基甲腈量为 $2.4 \times 10^{-4}\text{mg}/\text{ml}$,对照组量为 $1.27 \times 10^{-4}\text{mg}/\text{ml}$,对照组的藻细胞还原 TTC 的能力大于处理组。

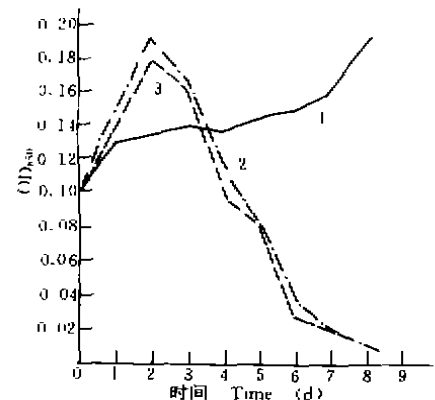


图 1 石菖蒲的克藻效应

Fig. 1 Inhibitory effect of *Acorus tatarinowii* on algae
1. 不添加营养,无石菖蒲 No supplementary nutrition No *Acorus tatarinowii*; 2. 不添加营养,有石菖蒲 No supplementary nutrition with *Acorus tatarinowii*; 3. 添加营养,有石菖蒲 Supplementary nutrition with *Acorus tatarinowii*

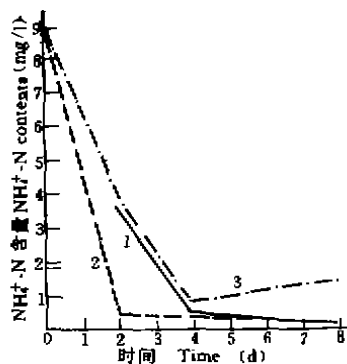
图2 光与营养实验中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的变化

Fig. 2 Changes in water $\text{NH}_4^+\text{-N}$ content during the light and mineral nutrients experiment

1. 对照 Control; 2. 处理, 不添加营养 Treatment, no supplement nutrition; 3. 处理, 添加营养 Treatment, supplement nutrition

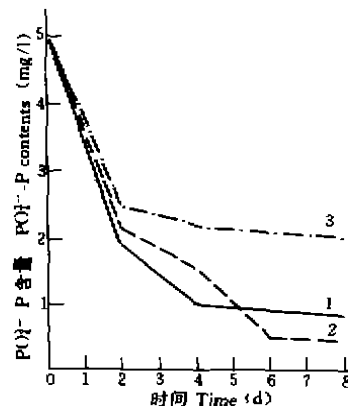
图3 光与营养实验中 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的变化

Fig. 3 Changes in water $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ content during the light and mineral nutrients experiment

1. 对照 Control; 2. 处理, 不添加营养 Treatment, no supplement nutrition; 3. 处理, 添加营养 Treatment, supplement nutrition

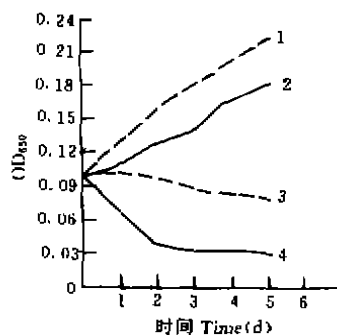


图4 石菖蒲培植水的克藻作用

Fig. 4 Allelopathic effect of cultured water of *Acorus tatarinowii* on algae

1. 对照, 摇混后测定 Control, after waving test; 2. 对照, 不摇混测定 Control, no waving test; 3. 培植水, 摇混后测定 Cultured water of *Acorus tatarinowii*, after waving test; 4. 培植水, 不摇混测定 Cultured water of *Acorus tatarinowii*, no waving test

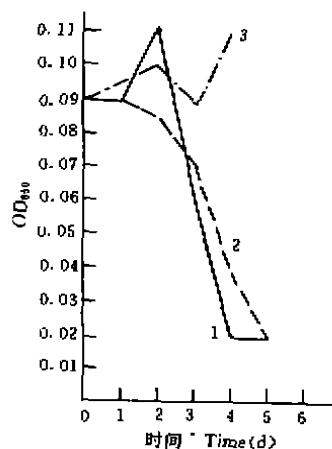


图5 整株和根及根状茎克藻效应的比较

Fig. 5 Comparison of inhibitory effect between the whole plant, the root and rhizoma of *Acorus tatarinowii*

1. 整株 The whole plant; 2. 根及根状茎 The root and rhizoma; 3. 对照 Control

测定结果表明:藻类受抑制的生理表现为叶绿素 a 受破坏,故使光合作用强度明显下降;藻细胞还原 TTC 的能力大大降低(三苯基甲腈形成量减少)。荧光显微镜下观察到处理组的藻细胞呈淡蓝绿色,表明接近或已经死亡。说明培养过石菖蒲的水中含有某些化合物,可对藻类起克制作用。

2.3 石菖蒲整株和根及根状茎克藻效应的比较 取大小、形态相似的两份石菖蒲,一份切除茎叶,仅留根及根状茎,另一份为完整的植株;分别移植于藻液中;另设无石菖蒲的对照组。根及根状茎处理组和对照组水面均模拟遮光。

用石菖蒲根及根状茎处理藻液,和整株植物一样,能使藻液的 OD_{650} 值下降,表明有克制藻类的作用,不过,其作用速率稍慢于整株植物。至于整株植物在 1~2d 左右出现的高峰期,可能与根系呼吸作用释放出的 CO_2 促进藻类的生长有关(见图 5)。这一结果表明,克制藻类的物质主要由根及根状茎释放。

2.4 抑藻效应中茎叶遮光作用和根系分泌物作用的相对贡献 自然条件下,若局部地段全为石菖蒲植株所覆盖,根区则处于接近黑暗的条件。若石菖蒲呈稀疏丛生状态,覆盖率较小,则根区处于相对弱光的条件。为探究这两种光照条件下,茎叶遮光作用和根系分泌物作用在石菖蒲抑藻效应中的相对贡献,笔者进行如下试验:在圆形玻璃缸($\varnothing 28\text{cm} \times 15\text{cm}$)中盛 3000ml 养有藻类的营养液,藻类的起始浓度(OD_{650})为 0.04,玻璃缸外用一层白纸包被,模拟根区的弱光条件,用不透光的搪瓷缸(形状、大小类似玻璃缸),模拟根区接近于黑暗条件,每种容器设 3 处理组:不植石菖蒲(对照);培养石菖蒲;不植石菖蒲,但水面模拟遮光。试验 7d 后,测定结果如表 1。

由表 1 可见,在根区为黑暗的条件下,相对于水面全部为石菖蒲覆盖时,茎叶的遮光作用对抑藻效应的贡献大于根及根状茎的分泌物的作用,在根区为弱光的条件下,相当于部分覆盖时,根及根状茎的分泌物的作用贡献大于茎叶遮光作用。说明茎叶的遮光作用和根及根状茎的分泌物的作用在抑藻过程中是同时起作用的,其相对贡献随覆盖面积的大小而异。

表 1 抑藻效应中茎叶遮光作用和根系分泌物作用的相对贡献

Table 1 Allelopathic effect for relation contribution of shading root and rhizoma secreting effects

	OD_{650}			遮光作用 Shading		分泌物作用 Secreting	
	对照 Control	植石菖蒲 With <i>Acorus</i> <i>tatarinowii</i>	模拟遮光 Shading no plant	抑制量 The quantity of inhibition	抑制率(%) The rate of inhibition	抑制量 The quantity of inhibition	抑制率(%) The rate of inhibition
搪瓷缸 ^①	0.10	0.01	0.02	0.08	80	0.01	10
玻璃缸 ^②	0.11	0.01	0.10	0.01	9	0.09	81

① Enamelware, ② Glassware

2.5 根系分泌物提取试验 取石菖蒲培养水 200ml,加等体积经纯化的乙醚提取分泌物两次,合并提取液,用无水 $CaCl_2$ 干燥,然后置于 40℃ 水浴中蒸发溶剂,再用无水乙醚定容至 100 μl 。用微量移液器均匀的设 5 个滴加量的提取液,即 0(空白对照)、15、30、45 和 75 $\mu\text{l}/\text{disc}$,滴加于直径为 11mm 的小圆滤纸片上,待溶剂挥发后,将滴加不同量提取物的 5 片滤纸片移置于一培养皿($\varnothing 60\text{mm} \times 15\text{mm}$)中的 5 枚 12mm,厚约 2.5mm 的 BBM 琼脂培养基小块上,再滴加 15 μl 衣藻液(OD_{650} 为 0.12),盖住培养皿,在温度 24~26℃,荧光灯(光强为 80 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$)每天照光 12h 的培养箱中培养,96h 后测定各滤纸上的藻细胞的叶绿素 a 量,与空白对照相比,得出克制率^[10],结果见表 2。

表 2 石菖蒲根系分泌物的克藻效应

Table 2 Allelopathy effects of root exudates from *Acorus tatarinowii*

项目 Item	不同浓度分泌物的克藻效应 Inhibitory effects of different concentration of root exudates from <i>Acorus tatarinowii</i> on algae				
	分泌物($\mu\text{l}/\text{disc}$) Amount of root exudates	0	15	30	45 75
抑制率(%) Rate of inhibition		0	-8.2	-2	+31 +86

注: + 表示抑制作用, - 表示促进作用

由表 2 可见,石菖蒲根系分泌物在较低浓度(30 $\mu\text{l}/\text{disc}$ 以下)抑制率为负值,即表现为促进作用;在较高浓度(45 $\mu\text{l}/\text{disc}$ 以上)抑制率为正值,表现出克制作用,说明根系分泌物对同一受体产生不同影响是浓度效应,分泌物在一定低浓度下可能表现为促进作用,而当浓度达到一定阈值后,则产生抑制作用。在前面 2.1 试验中,观察到在开始的 1~2d 内藻类密度达到最高值,笔者认为可能与此有关。

3 讨论与结论

在自然水域中,常见水生维管束植物生长之处,水体较清,藻类生长较少。起初人们将其归因于光和矿质营养的竞争,孙文浩等则首先考虑到化学分泌物对藻类种群的抑制问题^[11]。本研究所设计的石菖蒲克藻试验,处理组一半水面敞开,对照组除一半敞开外,另一半采用模拟遮光,如此可基本排除光竞争的影响因素;处理组水中养石菖蒲后,矿质养料被吸收而减少,但本研究证明,在短期试验中处理组的营养水平始终略高于对照组,这可证明营养的竞争亦不是藻类受抑制的主要原因。通过根系分泌物的提取试验及克藻效应试验,进一步证明了石菖蒲克藻效应是由于石菖蒲根系向水体分泌脂溶性的有机物质所致。但这种物质的纯化及理化性质分析还有待于进一步研究。通过整株植物和根及根状茎分泌物克藻作用的试验,说明此物质主要由根及根状茎所释放;通过茎叶的遮光作用同根及根状茎分泌物作用的相对贡献试验,说明石菖蒲抑制藻类生长的原因为遮光作用、对矿质营养的竞争、根及根状茎的分泌物三者的综合作用,但其抑藻贡献因具体的时空条件不同而不同。

在淡水水域生态系统中,富营养化水体可能会导致藻类的大量繁生,繁生的藻类会使水体溶解氧的含量逐渐减少,最后威胁到水生生物的生存,而造成水域沙漠^[12]。这些繁生的藻类可能大量附着在沉水植物体表和漂浮植物的根系上,并对高等植物的生长不利,其中包括藻类分泌物对高等植物的化感作用,而高等植物对此也必然有防卫或反击机制,本实验也证实了这一推论。通过本实验发现石菖蒲具有明显的克藻效应,因此,在藻类繁生的富营养化水体中培养一定量的石菖蒲,对于净化富营养化水体具有一定的效应^[11],石菖蒲的他感作用主要是通过根系的分泌物来实现的。因此,此分泌物的化学成分有得于深入研究,这些物质对于净化游泳池及其它娱乐用水,将比硫酸铜类的无机化合物更为安全可靠^[13,14],应用前景广阔。有关石菖蒲与其它生物(包括微生物)及其环境之间的化学关系亦有待深入研究。

参考文献:

- [1] Rice, El. Allelopathy. Second Academic Press Inc. Orlando Florida, 1984, 382.
- [2] 叶居新,洪瑞川,等. 芒萁植株浸出液对几种植物生长的影响. 植物生态学与地植物学学报, 1987, 11(3): 203~210.
- [3] 张宝琛,等. 斑唇马先蒿提取物生化相克作用的初步研究. 生态学报, 1981, 1(3): 227~230.
- [4] 孙文浩,余叔文. 相生相克效应及应用. 植物生理学通讯, 1992, 28(2): 81~87.
- [5] Reddy KR, Tucker J C. Productivity and nutrient uptake of water hyacinth *Eichhornia crassipes* L. Effect of nitrogen Source. *Econom Bot.* 1983, 37: 237~247.
- [6] Bold Wynne. Introduction to the Algae, Structure and Reproduction. 1987, 572~574.
- [7] 美国公共卫生协会等编. 宋仁元等译. 浮游藻类叶绿素测定. 水和废水标准检验法. 北京: 中国建筑工业出版社, 1985. 901~904.
- [8] Steponkus PL, Lanphear FO. Refinement of the triphenyl tetrazolium chloride method of determining cold injury. *Plant Physiol.* 1967, 42: 1423~1426.
- [9] 戈留诺娃 CB. 詹之吉等译. 水生生物学调查. 用发光显微镜检查法的使用技术, 巴甫洛夫斯基 EH, 基金 BN 编, 淡水生物研究法. 北京: 科学出版社, 1962. 246~254.
- [10] 孙文浩,等. 凤眼莲克藻化合物的生物检测. 植物生理学通讯, 1991, 27(6): 433~436.
- [11] 孙文浩,等. 城市富营养化水域的生物治理和凤眼莲抑制藻类生长的机理. 环境科学学报, 1989, 9(2): 188~195.
- [12] 叶居新. 二十一世纪大觉醒——地球,生态坐标上的孤舟,北京: 21 世纪出版社, 1993. 243~248.
- [13] 叶居新,何池全. 一种净化水体的植物——石菖蒲. 植物杂志, 1996, 30(2): 10~11.
- [14] 何池全,叶居新,等. 石菖蒲对富营养化水体的净化效应. 南昌大学学报(理科版), 1999, 23(1): 73~76.

(1)何池全,南昌大学硕士论文,1996.