

硝磺草酮对微囊藻和四尾栅藻光合作用及竞争的影响

倪妍, 王金保*, 赖劲虎, 王毛兰

(南昌大学环境与化学工程学院 鄱阳湖环境与资源利用教育部重点实验室, 南昌 330047)

摘要:采用纯培养和混合培养方法,结合调制叶绿素荧光测定技术,研究了硝磺草酮对微囊藻和四尾栅藻光合作用及种间竞争的影响。结果表明:0.5~10 mg·L⁻¹ 硝磺草酮降低了微囊藻和四尾栅藻的最大光化学量子产量(F_v/F_m)和快速光曲线(RLCs)拟合参数(I_k 、 α 、 ETR_{max}),降低幅度与硝磺草酮浓度正相关;处理 14 d 时, F_v/F_m 、 I_k 、 α 、 ETR_{max} 水平均达到暴露以来最小值,表明微囊藻和四尾栅藻在硝磺草酮处理期间未表现出恢复趋势。对比 2 种藻荧光参数变幅可知,硝磺草酮对四尾栅藻各荧光参数影响大于微囊藻,表明四尾栅藻的敏感性高于微囊藻。混合培养实验结果显示对照组微囊藻同四尾栅藻相比处于竞争劣势,而 5、10 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处理时,微囊藻在与四尾栅藻的种间竞争中逐渐占据优势,且在微囊藻与四尾栅藻初始接种体积比为 1:3 的混合培养体系中表现出最强的竞争力。较高浓度的硝磺草酮可使微囊藻由原劣势地位转为逐渐占据竞争优势,故硝磺草酮对水体中蓝藻水华的爆发具有潜在的促进作用。

关键词:硝磺草酮;竞争;光合作用;四尾栅藻;微囊藻

中图分类号:X171.5 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2014)12-2436-08 doi:10.11654/jaes.2014.12.022

Effects of Mesotrione on Photosynthesis and Species Competition in *Microcystis* sp. and *Scenedesmus quadricauda*

NI Yan, WAN Jin-bao*, LAI Jin-hu, WANG Mao-lan

(Key Laboratory of Poyang Lake Environment and Resource Utilization, Ministry of Education, Institute of Environmental and Chemical Engineering, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: Mesotrione (2-[4-methylsulfonyl-2-nitrobenzoyl]-1,3-cyclohexanedione) belongs to the triketone family and has been widely utilized to control a wide range of annual grasses and broad-leaved weeds in maize production. It has been detected in the aquatic environments and may have negative impacts on aquatic organisms. In the present study, mono-culture and mixed-culture experiments were carried out to investigate the effects of mesotrione on the photosynthesis and species competition of *Microcystis* sp. and *Scenedesmus quadricauda*. Mesotrione at 0.5~10 mg·L⁻¹ decreased the F_v/F_m , I_k , α and ETR_{max} in both *Microcystis* sp. and *S. quadricauda*, with significant correlation found between such decreases and mesotrione concentrations. On the 14th day of exposure, all fluorescence parameters reduced to the minimum values at 10 mg·L⁻¹. Mesotrione had greater effects on the fluorescence parameters in *S. quadricauda* than in *Microcystis* sp. Under control conditions, *S. quadricauda* was dominant over *Microcystis* sp. However, exposure to 5 mg·L⁻¹ and 10 mg·L⁻¹ mesotrione enhanced the competition of *Microcystis* sp. The strongest competitive ability was observed in mixed culture of 1:3 (*Microcystis* sp.:*S. quadricauda*) ratio. Therefore, mesotrione has the potential to promote cyanobacteria bloom.

Keywords: mesotrione; competition; photosynthesis; *Scenedesmus quadricauda*; *Microcystis* sp.

蓝藻是一类具有伪空泡、容易形成高生物量的单细胞原核生物。随着人类经济社会的快速发展,大量

生活、工业污水及农业生产中的化肥、农药通过各种途径进入水体,为蓝藻提供了充足的营养物质,促使蓝藻大量生长繁殖、形成蓝藻水华^[1-2]。研究表明,影响蓝藻水华发生的因素不仅有营养盐、温度、pH 值、辐射等非生物因素,还有浮游动物捕食和藻类种间竞争等生物因素^[3-4]。近年来研究发现,除草剂会进一步强化或减弱藻类的种间竞争,从而影响水华的发生。Lüring 等^[5]探讨了赛克津(Metribuzin)对斜生栅藻

收稿日期:2014-06-13

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划重点项目(2007BAB23C02);南昌大学鄱阳湖环境与资源利用教育部重点实验室开放基金(Z04999);南昌大学校基金(Z04861);江西省教育厅科技落地计划项目;江西省科技计划项目(20121BBF60052)

作者简介:倪妍(1985—),女,博士生,主要从事农药环境毒理方面的研究。E-mail:niyanedu@gmail.com

*通信作者:王金保 E-mail:jbwang@ncu.edu.cn

(*Scenedesmus obliquus*) 和铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 竞争的影响,发现 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 赛克津处理下,斜生栅藻的优势度下降,铜绿微囊藻成为主优势藻种。Ma 等^[6]和 Brook 等^[7]在农药对藻类种间竞争的影响研究中发现拟除虫菊酯(Pyrethroids)和苯噻草酮(Metamitron)使水华鱼腥藻(*Anabaena flos-aquae*)、水华微囊藻(*Microcystis flos-aquae*)和铜绿微囊藻在与其他藻类竞争中表现出更强的竞争力。研究^[8-9]认为,除草剂是藻类竞争及群落演变的影响因素之一,因此研究除草剂对水体藻类竞争的影响对完善蓝藻水华发生的原因具有重要意义。

硝磺草酮(Mesotrione)是一类抑制对羟基苯基丙酮酸双氧化酶(HPPD)、使杂草产生白化症状的三酮类除草剂,主要用于防治玉米地中阔叶杂草及禾本科杂草^[10]。硝磺草酮在水中的溶解度为 $0.16 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (20°C),在土壤中的降解半衰期为 3~32 d,吸附常数 K_d 为 $0.12 \sim 5.0 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$,这种物理化学特性使其在土壤中的移动性较强,较容易污染地表水和地下水。硝磺草酮进入水环境后,在自然光照射下比较稳定,降解半衰期长达 84 d^[11]。较长的半衰期使残留在水体中的硝磺草酮对非靶标生物产生潜在危害,如降低黑麦草(*Lolium perenne* L.)的光化学效率,降低梨形四膜虫(*Tetrahymena pyriformis*)的非特异性酯酶活性和费氏弧菌(*Vibrio fischeri*)的新陈代谢活性^[12-14]。

叶绿素荧光是原位检测植物光系统 II (PS II) 反应中心活性与功能的良好探针,其变化可以在一定程度上反映环境胁迫对藻类光合作用的影响^[15]。基于叶绿素荧光,Schreiber 等^[16]于 1986 年首次提出调制叶绿素荧光技术(脉冲振幅调制,Pulse Amplitude Modulation,简称 PAM 技术),并在饱和脉冲方法(Saturation Pulse Method)发展后得到快速的推广和应用^[17-18]。本研究利用浮游植物荧光仪(PHYTO-PAM),结合纯培养和混合培养方法,选取蓝藻水华典型有害藻种微囊藻(*Microcystis* sp.)和常见绿藻四尾栅藻(*Scenedesmus quadricauda*),初步探讨了硝磺草酮对微囊藻和四尾栅藻光合作用及种间竞争行为的影响,以期对蓝藻水华发生机理和防治研究提供基础数据和科学依据。

1 材料与方法

1.1 藻种及除草剂

供试藻种微囊藻(蓝藻纲,色球藻科,FACHB-562)和四尾栅藻(绿藻纲,栅藻科,FACHB-1297)购自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库。供试藻种

均于 BG-11^[19-20]培养液(pH 7.1)中扩大培养数周,在无菌条件下反复转接 3 次以上,待达到同步培养后取对数生长期的藻细胞用于实验处理。硝磺草酮标准品(分子式 $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{NO}_5$, 相对分子质量 339.3, CAS No. 104206-82-8, 纯度 99.0%)购自德国 Dr.Ehrenstorfer, 取适量硝磺草酮配制成 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 母液。为确定硝磺草酮溶解完全,用高效液相色谱(HPLC, Agilent 1260, USA)进行定量分析。实验条件为:流动相 0.5%磷酸-乙腈(V:V 2:3), $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量 $5 \mu\text{L}$, 柱温 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$, 检测波长 254 nm。

1.2 叶绿素荧光参数的测定

采用浮游植物荧光仪(PHYTO-PAM, Walz, 德国)测定微囊藻和四尾栅藻的叶绿素 a 浓度、最大光化学量子产量(F_v/F_m)和快速光曲线(Rapid Light Curves, RLCs)。测定前先将藻液暗适应 10 min, 部分藻液用 $0.2 \mu\text{m}$ 微孔过滤器过滤, 滤液用于背景荧光扣除^[21]。另一部分藻液照射光频为 32 Hz 的测量光后, 因最小荧光(F_0)与叶绿素 a 浓度在一定范围内成正比, 校正后测得叶绿素 a 浓度^[22-23]。为避免校正过程中可能产生的误差, 叶绿素 a 浓度用相对含量(每天测得的叶绿素 a 浓度与接种时叶绿素 a 浓度的比值)表示。藻液照射测量光后得 F_0 , 照射饱和脉冲光后得 F_m 和 F_v/F_m 。打开快速光曲线模式, 在光强为 $16 \sim 512 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 下, 间隔 20 s, 进行 RLCs 拟合参数 I_k 、 α 、 ETR_{max} 的测定, 数据由 PhytoWin 1.46 软件自动计算给出。

1.3 竞争试验

试验设置微囊藻(M)和四尾栅藻(S)纯培养组 100%M 和 100%S 及混合培养组 75%S+25%M、50%S+50%M 和 25%S+75%M。以 BG-11 培养液作为稀释液, 将硝磺草酮母液配制成终浓度分别为 0、0.5、5.0、10.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 所需硝磺草酮溶液。将用于试验处理的微囊藻和四尾栅藻按体积比分别接种于含 200 mL 上述浓度硝磺草酮溶液的 500 mL 锥形瓶中, 初始藻细胞量为 $10^7 \mu\text{m}^3 \cdot \text{mL}^{-1}$ 。接种后在温度 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、光强 $80 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、光暗比 12 h:12 h 的条件下培养, 每天振摇 3 次并随机更换锥形瓶位置, 使培养物光照均匀。在硝磺草酮处理第 2、7、14 d 测定叶绿素荧光参数, 处理第 0、1、2、3、4、5、7、9、11、14 d 用浮游植物计数框在奥林巴斯 BX41 显微镜下测定细胞密度。

1.4 竞争抑制参数的计算

采用 Logistic 方程拟合纯培养组四尾栅藻和微

囊藻的种群增长过程,得 r_s, r_m 。再以 Logistic 方程二阶导数等于 0 时的时间 t 值为抑制起始点^[24],采用 Lotka–Volterra 竞争模型^[25]计算竞争抑制参数:

$$(N_{S,m}-N_{S,m-1})/(t_m-t_{m-1})=r_s N_{S,m-1}(K_S-N_{S,m-1}-\beta N_{M,m-1})/K_S$$
$$(N_{M,m}-N_{M,m-1})/(t_m-t_{m-1})=r_M N_{M,m-1}(K_M-N_{M,m-1}-\gamma N_{S,m-1})/K_M$$

式中: $N_{S,m}, N_{M,m}$ 分别为时间 t_m 时混合培养中四尾栅藻和微囊藻的细胞密度; $N_{S,m-1}, N_{M,m-1}$ 分别为时间 t_{m-1} 时混合培养中四尾栅藻和微囊藻的细胞密度; r_s, r_m 分别为纯培养中四尾栅藻和微囊藻的种群增长率; K_S, K_M 分别为纯培养中四尾栅藻和微囊藻的最大环境容量; β, γ 分别为混合培养中微囊藻对四尾栅藻和四尾栅藻对微囊藻的竞争抑制参数。

1.5 数据分析

各处理组与对照组均设置 3 次重复,数据为 3 次独立试验的平均值±标准差(Mean±SD),采用 SPSS 软件(IBM SPSS Statistics 19)进行单因素方差(ANOVA)分析,LSD 检验, $P<0.05$ 为差异显著。采用 SigmaPlot 10.0 软件作图。

2 结果与分析

2.1 硝磺草酮对微囊藻和四尾栅藻荧光参数的影响

表 1 显示不同浓度的硝磺草酮对微囊藻和四尾栅藻荧光参数的影响。硝磺草酮胁迫下,微囊藻和四尾栅藻的 F_v/F_m 值均显著降低($P<0.05$),且随着浓度和时间的增加,降低幅度增大。5 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处

理 2、7、14 d 时,微囊藻的 F_v/F_m 值与对照组相比分别下降了 6.7%、8.9%和 31.1%;四尾栅藻分别下降了 7.6%、15.2%和 46.2%。10 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处理时,微囊藻和四尾栅藻的 F_v/F_m 值分别下降了 6.7%、15.6%、37.8%和 7.6%、21.2%、52.3%。

5、10 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处理微囊藻和四尾栅藻 2、7、14 d 时,2 种藻的 RLCs 拟合参数 I_k, α, ETR_{max} 均显著降低($P<0.05$),且随着时间的延长降低幅度增大。5 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处理 14 d 时,微囊藻的 I_k, α, ETR_{max} 与对照组相比分别下降了 23.2%、20.00%、36.1%,四尾栅藻分别下降了 41.2%、22.6%、53.6%;10 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处理时,2 种藻的 I_k, α, ETR_{max} 下降幅度大于 5 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处理。对比 2 种藻荧光参数变幅可知,微囊藻 I_k, α, ETR_{max} 下降幅度和显著性水平均不及四尾栅藻,表明硝磺草酮对四尾栅藻光合作用的抑制更强。

2.2 硝磺草酮处理下微囊藻和四尾栅藻的叶绿素 a 相对含量

PHYTO–PAM 具有 470、520、645、665 nm 4 种不同波长的光源,经常用于水样中蓝藻、绿藻、硅/甲藻的分类及叶绿素 a 浓度的测定^[26–27]。未暴露在硝磺草酮下,纯培养组和混合培养组中四尾栅藻的叶绿素 a 相对含量均随时间呈指数增加,混合培养组其叶绿素 a 相对含量增加幅度低于纯培养组(图 1A)。混合培养组中四尾栅藻叶绿素 a 相对含量增加幅度呈 75%

表 1 不同浓度硝磺草酮处理下纯培养组微囊藻和四尾栅藻的荧光参数

Table 1 Photosynthetic parameters of *Microcystis* sp. and *Scenedesmus quadricauda* in pure culture under mesotriene exposure

硝磺草酮 Mesotrione/ mg·L ⁻¹	时间 Time/d	微囊藻 <i>Microcystis</i> sp.				四尾栅藻 <i>Scenedesmus quadricauda</i>			
		RLCs 参数 Parameters of RLCs				RLCs 参数 Parameters of RLCs			
		F_v/F_m	$I_k/$ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	$\alpha/$ $\text{e}^{-}\cdot\text{photon}^{-1}$	$ETR_{max}/$ $\mu\text{mol}\cdot\text{e}^{-}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	F_v/F_m	$I_k/$ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	$\alpha/$ $\text{e}^{-}\cdot\text{photon}^{-1}$	$ETR_{max}/$ $\mu\text{mol}\cdot\text{e}^{-}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
0	2	0.45±0.006	85.20±0.35	0.21±0.001	17.37±0.35	0.66±0.006	119.35±5.30	0.31±0.002	37.00±1.81
	7	0.45±0.003	84.72±0.24	0.21±0.002	17.27±0.26	0.66±0.002	120.14±1.52	0.31±0.001	37.26±1.47
	14	0.45±0.004	85.13±0.31	0.20±0.012	16.38±0.43	0.65±0.005	119.42±1.87	0.31±0.002	37.05±1.33
0.5	2	0.44±0.003*	78.67±3.42	0.20±0.013	16.20±0.30	0.64±0.001*	112.97±1.04	0.30±0.001*	33.6±1.75
	7	0.44±0.005*	77.25±0.16*	0.20±0.011	15.52±0.31	0.63±0.003*	110.31±2.78*	0.30±0.001*	32.09±1.21*
	14	0.43±0.010*	76.84±1.25*	0.19±0.003	14.99±0.27	0.61±0.004*	109.22±1.49*	0.29±0.003*	31.63±1.13*
5	2	0.42±0.006*	77.67±8.18	0.19±0.006	14.73±0.45*	0.61±0.003*	84.23±0.96*	0.29±0.002*	24.77±0.32*
	7	0.41±0.003*	70.35±3.27*	0.17±0.010*	11.96±0.21*	0.56±0.010*	77.38±1.42*	0.26±0.003*	20.45±0.63*
	14	0.31±0.002*	65.41±1.32*	0.16±0.004*	10.46±0.19*	0.35±0.007*	70.21±2.01*	0.24±0.001*	17.19±1.25*
10	2	0.42±0.001*	69.13±5.05*	0.19±0.008	13.20±0.87*	0.61±0.001*	79.07±2.72*	0.29±0.001*	22.93±1.01*
	7	0.38±0.003*	64.56±1.78*	0.16±0.011*	10.39±0.19*	0.52±0.004*	74.13±3.45*	0.24±0.002*	18.13±1.27*
	14	0.28±0.004*	59.88±2.31*	0.14±0.002*	8.45±0.22*	0.31±0.010*	68.94±1.17*	0.21±0.001*	14.82±0.73*

注:表中数据为平均值±标准差($n=3$)。* 为显著性差异($P<0.05$)。
Note: Values are means ± standard deviation ($n=3$). * is significantly different at $P<0.05$.

S+25%M 组>50%S+50%M 组>25%S+75%M 组趋势,表明微囊藻在混合培养体系中所占比例越多,其对四尾栅藻生长的抑制作用越强。5、10 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处理时,四尾栅藻叶绿素 a 相对含量显著低于对照(图 1B、图 1C),表明 5、10 mg·L⁻¹ 硝磺草酮对四尾栅藻生长有明显的抑制作用。

未暴露在硝磺草酮下,纯培养组中微囊藻的叶绿素 a 相对含量呈指数增加,而混合培养组中其叶绿素 a 相对含量很低(图 2A)。5、10 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处理时,

纯培养组中微囊藻叶绿素 a 相对含量与对照组相比有所降低,而混合培养组中其叶绿素 a 相对含量有所升高(图 2B、图 2C)。0.5 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处理组中 2 种藻的叶绿素 a 相对含量与对照组相似,数据未单独列出。

2.3 硝磺草酮处理下微囊藻和四尾栅藻的生长率

基于细胞密度,以微囊藻和四尾栅藻的比增长率作为藻类在某一条件下生长率的估计值(图 3)。5、10 mg·L⁻¹ 硝磺草酮抑制了四尾栅藻的生长,比增长率显著低于对照组 ($P<0.05$),0.5 mg·L⁻¹ 硝磺草酮对四尾

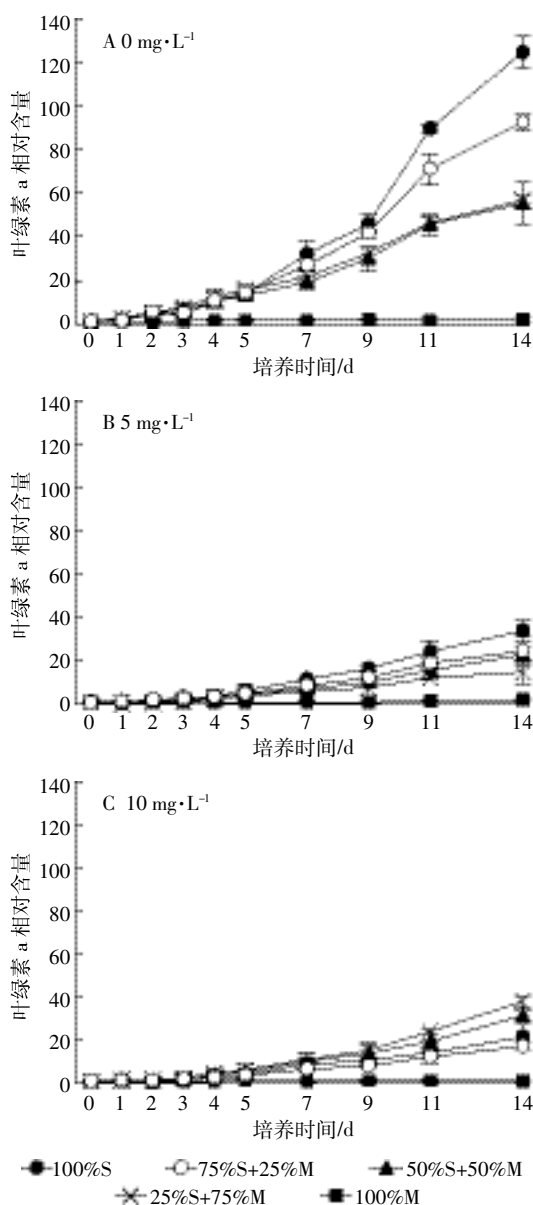


图 1 硝磺草酮处理下纯培养组及混合培养组中四尾栅藻的叶绿素 a 相对含量

Figure 1 Relative concentrations of chlorophyll a in *Scenedesmus quadricauda* in mono-culture and mixed-culture under mesotrione exposure

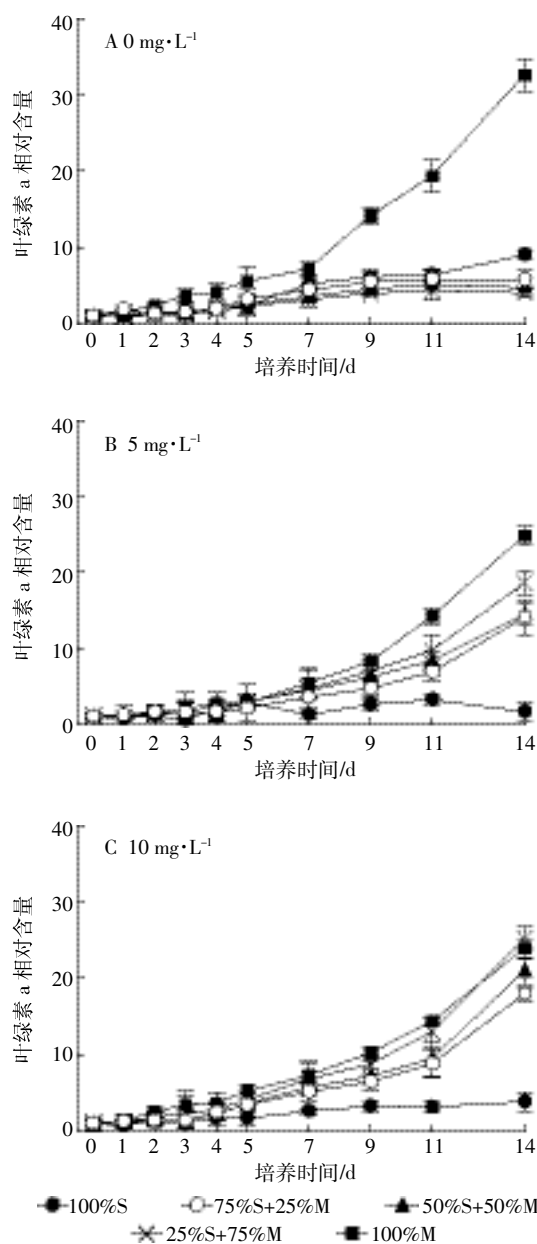


图 2 硝磺草酮处理下纯培养组及混合培养组中微囊藻的叶绿素 a 相对含量

Figure 2 Relative concentrations of chlorophyll a in *Microcystis* sp. in mono-culture and mixed culture under mesotrione exposure

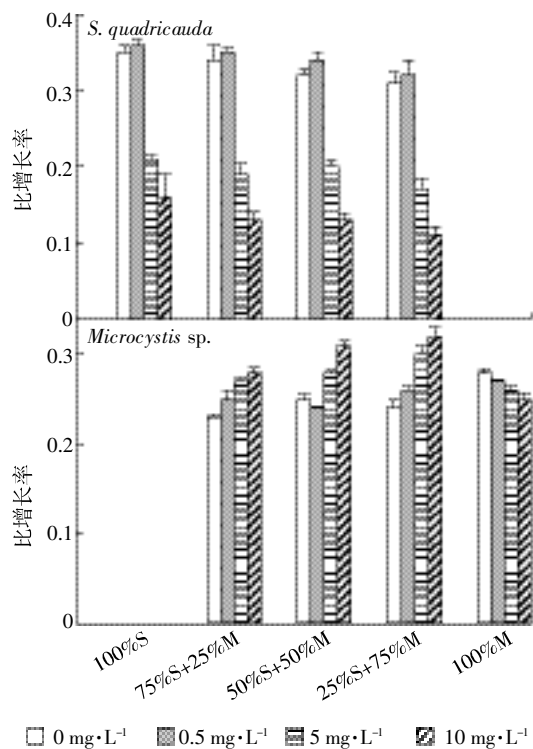


图 3 硝磺草酮处理下纯培养组及混合培养组中四尾栅藻和微囊藻的比增长率

Figure 3 Growth rates of *Scenedesmus quadricauda* and *Microcystis* sp. in mono-culture and mixed culture under mesotrione exposure

栅藻生长的影响不显著。混合培养组中四尾栅藻的比增长率低于纯培养组,表明四尾栅藻的生长受到微囊藻抑制。与对照相比,微囊藻的比增长率在 0.5 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处理下变化不显著,混合培养组中微囊藻比增长率低于纯培养组。5、10 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处理时,纯培养组中微囊藻的比增长率显著低于对照组 ($P<0.05$),而混合培养组中微囊藻的比增长率高于对照组。0.5 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处理时,四尾栅藻的生长占优势,比增长率高于微囊藻。随着硝磺草酮浓度进一步增加,四尾栅藻的比增长率逐渐降低,微囊藻的比增长率增加,微囊藻逐渐占优势。

2.4 硝磺草酮对微囊藻和四尾栅藻竞争的影响

表 2 显示混合培养组中不同硝磺草酮浓度下四

尾栅藻和微囊藻的竞争结果。所有处理组中,抑制参数 β 、 γ 均大于零,表明四尾栅藻和微囊藻的关系是相互抑制;对照组微囊藻对四尾栅藻的竞争抑制参数 β 小于四尾栅藻对微囊藻的抑制参数 γ 。5、10 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处理时, β 大于 γ ,且 β/γ 比值随着硝磺草酮浓度的增加而增大,表明对照组四尾栅藻对微囊藻的抑制作用更强;5、10 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处理组微囊藻对四尾栅藻的抑制作用更强,且随硝磺草酮浓度增加,这种抑制强度差异更明显。抑制参数 β 总体呈 25%M+75%S 组>50%M+50%S 组>75%M+25%S 组趋势,表明四尾栅藻在混合培养体系中所占的比例越高,微囊藻对四尾栅藻的抑制作用越强。

3 讨论

叶绿素荧光作为研究光合作用的良好探针,不仅能反映光能吸收、激发能传递、光化学反应、电子传递和 ATP 合成等光反应过程,而且与 Calvin 循环等暗反应过程有关,因此在环境胁迫对藻类光合作用影响的研究中被广泛应用^[17, 28-29]。在叶绿素荧光参数中,最大光化学量子产量(F/F_m)反映所有 PS II 反应均处于开放状态时的量子产量,在正常生理状态下比较稳定,是研究环境胁迫对光合作用影响的重要指标^[30]。硝磺草酮降低四尾栅藻和微囊藻的 F/F_m 值,表明硝磺草酮降低 2 种藻 PS II 原初光能转化效率以及潜在活性,破坏叶绿体 PS II 光化学活性,使光合电子传递受阻,从而影响光合作用的正常进行^[31]。

快速光曲线(RLCs)是相对电子传递速率随光合有效辐射的变化曲线,与光合作用放氧和 CO₂ 吸收有良好的线性关系,在一定光强范围内可反映植物的光合能力^[32]。其拟合参数(ETR_{max} 、 α 、 I_k)直接反映植物对强光的耐受能力,间接反映植物天线色素的相对变化,是研究藻类光合状态的有效指标^[31]。其中 ETR_{max} 为潜在最大光合速率,反映藻类光合能力的高低。 α 表示 RLCs 的初始斜率,反映藻对光强的利用能力,其数值越高表明光合效率越高。 $I_k=ETR_{max}/\alpha$,反映藻类耐受光强的能力。5、10 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处理微囊

表 2 硝磺草酮处理下微囊藻和四尾栅藻之间的竞争抑制参数

Table 2 Parameters for competitive inhibition of *Microcystis* sp.(M) and *Scenedesmus quadricauda*(S) under mesotrione exposure

混合培养组 Mixed culture	0 mg·L ⁻¹ 硝磺草酮 Mesotrione		5 mg·L ⁻¹ 硝磺草酮 Mesotrione		10 mg·L ⁻¹ 硝磺草酮 Mesotrione	
	β	γ	β	γ	β	γ
25%M+75%S	1.17	1.72	2.54	1.29	4.79	0.58
50%M+50%S	0.54	0.64	2.19	1.52	3.88	1.35
75%M+25%S	0.34	0.35	2.07	1.66	3.32	2.53

藻和四尾栅藻 2、7、14 d 时,2 种藻的 $ETR_{\max}$ 、 α 和 I_k 均降低,其中: $ETR_{\max}$ 降低表明 5、10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝磺草酮导致微囊藻和四尾栅藻叶绿素合成受阻,光能的吸收、传递及转化受限,从而影响藻细胞内的电子传递过程,最终降低藻的光合能力; α 和 I_k 降低表明硝磺草酮降低微囊藻和四尾栅藻细胞捕捉光能的效率,减弱其耐受光强的能力。 $ETR_{\max}$ 、 α 、 I_k 的降低可能与硝磺草酮降低了藻细胞 PS II 反应中心活性或 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶活性有关^[33]。硝磺草酮对微囊藻和四尾栅藻光合作用的抑制与已有研究结果相似,Dewez 等^[34]和 Bi 等^[35]研究了异丙隆(Isoproturon)对藻类光合作用的影响,发现异丙隆降低了斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)和莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)PS II 的活性。Deblois 等^[36]研究阿特拉津(Atrazine)对藻的影响发现,阿特拉津阻碍了镰形纤维藻(*Ankistrodesmus falcatus*)、衣藻(*Chlamydomonas snowii*)、水华微囊藻和水华束丝藻(*Aphanizomenon flos-aquae*)的电子转移、初级生产和光调控进程。对比 2 种藻荧光参数变幅可知,硝磺草酮对四尾栅藻各荧光参数影响大于微囊藻,表明硝磺草酮胁迫下四尾栅藻受硝磺草酮损伤程度远大于微囊藻。这种不同藻种在硝磺草酮胁迫下的敏感性差异可能会使藻类群落中的敏感种逐渐被抗性种替代,使抗性种成为群落的优势种。硝磺草酮处理微囊藻和四尾栅藻 14 d, F_v/F_m 、 I_k 、 α 、 $ETR_{\max}$ 水平均达到暴露以来最小值,表明微囊藻和四尾栅藻在硝磺草酮处理期间未表现出恢复趋势。推测其原因可能是微囊藻和四尾栅藻受硝磺草酮胁迫严重,自身应激反应缓慢,使光合作用不能及时恢复。已有研究表明微囊藻和四尾栅藻对硝磺草酮有一定的吸附能力,但在短期内不能将其分解代谢,因此硝磺草酮对 2 种藻的胁迫期较长^[18]。

一般而言,藻类种间的相互抑制主要通过对营养盐、光照等资源的竞争及分泌克生物质来实现^[37-38]。比较 2 种藻在纯培养组和混合培养组中比增长率的差异和抑制参数 β 、 γ 发现,在排除了光照、温度、营养竞争和浮游动物捕食这些影响因素后,混合培养组微囊藻和四尾栅藻的生长状况均不如纯培养组,表明微囊藻和四尾栅藻之间存在相互竞争和相互抑制。对照组四尾栅藻对微囊藻的抑制作用大于微囊藻对四尾栅藻的抑制作用,5、10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝磺草酮处理时,微囊藻对四尾栅藻的抑制作用更大。这可能与硝磺草酮改变了微囊藻和四尾栅藻的化感效应有关。Inderjit 等^[39]认为藻类的化感作用主要表现为影响共存藻、藻自身、

其他共存微生物和高营养级生物的生长。研究发现,很多藻类可以通过化感作用促进或抑制共存藻的生长,使自身成为更高级的竞争者在环境中繁殖。如微囊藻通过分泌毒素抑制硅藻生长^[40],微小原甲藻(*Prorocentrum minimum*)通过产生高分子量的多糖组分来抑制中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)生长^[41],锥形斯克里普藻(*Scrippsiella trochoidea*)在与东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)混合培养体系中依靠化感作用来获取竞争优势^[42]。通过化感作用来进行种间竞争是浮游植物群落发展及演变的一个基本原因。本研究硝磺草酮对藻类之间化感效应的改变,可能进一步影响藻类群落的组成、演替和平衡。

藻类的体积在浮游植物群落的结构、组成及演替中起重要作用,其对营养物质的吸收利用能力是决定它能否在群落中占据优势的重要因素^[43]。通常具有高表面积/体积比的藻类更容易获取营养物质,并充分吸收利于自身生长。目前,国内关于藻类种间竞争的研究大多设置接种密度比例,忽略了表面积/体积比对竞争的影响。本研究供试藻种四尾栅藻和微囊藻的细胞体积分别为 115.68 μm^3 和 35.5 μm^3 ,设置四尾栅藻和微囊藻的不同体积比 3:1、1:1 和 1:3 为初始接种体积进行实验,发现对照组微囊藻对四尾栅藻的竞争抑制参数 β 小于四尾栅藻对微囊藻的抑制参数 γ ,而 5、10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝磺草酮处理时 β 大于 γ ,且 β/γ 比值随着硝磺草酮浓度的增加而增大。这表明四尾栅藻原本在微囊藻和四尾栅藻的种间竞争中占据优势,5、10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝磺草酮处理使微囊藻对四尾栅藻的抑制逐渐增强,使微囊藻成为优秀竞争者。抑制参数 β 总体呈 25%M+75%S 组>50%M+50%S 组>75%M+25%S 组趋势,表明随着四尾栅藻在比例中所占份额的增加,微囊藻对四尾栅藻的抑制增强。产生这一结果的原因可能是微囊藻具有更大的比表面积,较容易吸收更多的营养和接受光照,使更利于自身生长,从而在竞争中占优势^[44]。尽管藻类存在种间竞争和排斥,环境变化依然是天然水体中藻类演替的主要因子^[45],残留在水体中的硝磺草酮会进一步强化或减弱微囊藻和四尾栅藻的种间竞争抑制。

4 结论

0.5~10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝磺草酮降低了微囊藻和四尾栅藻的最大光化学量子产量(F_v/F_m)和快速光曲线(RLCs)拟合参数(I_k 、 α 、 $ETR_{\max}$),降低幅度与硝磺草酮浓度正相关。处理 14 d 时, F_v/F_m 、 I_k 、 α 、 $ETR_{\max}$ 水平均达到暴

露以来最小值,表明微囊藻和四尾栅藻在硝磺草酮处理期间未表现出恢复趋势。对比2种藻荧光参数变幅可知,硝磺草酮对四尾栅藻各荧光参数影响大于微囊藻,表明四尾栅藻的敏感性高于微囊藻。

混合培养实验结果显示对照组微囊藻同四尾栅藻相比处于竞争劣势,5、10 mg·L⁻¹ 硝磺草酮处理时,微囊藻在与四尾栅藻的种间竞争中逐渐占据优势,且在微囊藻与四尾栅藻初始接种体积比为1:3的混合培养体系中表现出最强的竞争力。较高浓度的硝磺草酮使微囊藻由原劣势地位转为逐渐占据竞争优势,硝磺草酮对水体中蓝藻水华的爆发具有潜在的促进作用。

参考文献:

- [1] Conley D J, Paerl H W, Howarth R W, et al. Controlling eutrophication: Nitrogen and phosphorus[J]. *Science*, 2009, 323(5917): 1014–1015.
- [2] Smith V H, Schindler D W. Eutrophication science: Where do we go from here?[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2009, 24(4): 201–207.
- [3] 孔繁翔, 高 光. 大型浅水富营养化湖泊中蓝藻水华形成机理的思考[J]. *生态学报*, 2005, 25(3): 589–595.
KONG Fan-xiang, GAO Guang. Hypothesis on cyanobacteria bloom-forming mechanism in large shallow eutrophic lakes[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(3): 589–595.
- [4] Zeng J, Wang W X. Temperature and irradiance influences on cadmium and zinc uptake and toxicity in a freshwater cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 190(1): 922–929.
- [5] Lüring M, Roessink I. On the way to cyanobacterial blooms: Impact of the herbicide metribuzin on the competition between a green alga (*Scenedesmus*) and a cyanobacterium (*Microcystis*) [J]. *Chemosphere*, 2006, 65(4): 618–626.
- [6] Ma J. Differential sensitivity of three cyanobacterial and five green algal species to organotin and pyrethroids pesticides[J]. *Science of the Total Environment*, 2005, 341(1): 109–117.
- [7] Brock T, Crum S J H, Deneer J W, et al. Comparing aquatic risk assessment methods for the photosynthesis-inhibiting herbicides metribuzin and metatriton[J]. *Environmental Pollution*, 2004, 130(3): 403–426.
- [8] Prado R, Rioboo C, Herrero C, et al. The herbicide paraquat induces alterations in the elemental and biochemical composition of non-target microalgal species[J]. *Chemosphere*, 2009, 76(10): 1440–1444.
- [9] Hela D G, Lambropoulou D A, Konstantinou I K, et al. Environmental monitoring and ecological risk assessment for pesticide contamination and effects in Lake Pamvotis, Northwestern Greece[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005, 24(6): 1548–1556.
- [10] Mitchell G, Bartlett D W, Fraser T E M, et al. Mesotrione: A new selective herbicide for use in maize[J]. *Pest Management Science*, 2001, 57(2): 120–128.
- [11] Ter Halle A, Richard C. Simulated solar light irradiation of mesotrione in natural waters[J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(12): 3842–3847.
- [12] Abou-Waly H, Abou-Setta M M, Nigg H N, et al. Growth response of freshwater algae, *Anabaena flos-aquae* and *Selenastrum capricornutum* to atrazine and hexazinone herbicides[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1991, 46(2): 223–229.
- [13] McCurdy J D, McElroy J S, Kopsell D A, et al. Effects of mesotrione on perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) carotenoid concentrations under varying environmental conditions[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(19): 9133–9139.
- [14] Bonnet J L, Bonnemoy F, Dusser M, et al. Toxicity assessment of the herbicides sulcotrione and mesotrione toward two reference environmental Microorganisms: *Tetrahymena pyriformis* and *Vibrio fischeri*[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008, 55(4): 576–583.
- [15] Czyżyło-Mysza I, Tyrka M, Marcińska I, et al. Quantitative trait loci for leaf chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll and carotenoid contents in relation to biomass and yield in bread wheat and their chromosome deletion bin assignments[J]. *Molecular Breeding*, 2013, 32(1): 189–210.
- [16] Schreiber U, Schliwa U, Bilger W. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer[J]. *Photosynthesis Research*, 1986, 10(1–2): 51–62.
- [17] Herlory O, Bonzom J M, Gilbin R. Sensitivity evaluation of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* to uranium by pulse amplitude modulated (PAM) fluorometry[J]. *Aquatic Toxicology*, 2013, 140: 288–294.
- [18] Ni Y, Lai J H, Wan J B, et al. Photosynthetic responses and accumulation of mesotrione in two freshwater algae[J]. *Environmental Science Processes & Impacts*, 2014, 16(10): 2288–2294.
- [19] Kim D G, La H J, Ahn C Y, et al. Harvest of *Scenedesmus* sp. with bioflocculant and reuse of culture medium for subsequent high-density cultures[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(3): 3163–3168.
- [20] Rippka R, Deruelles J, Waterbury J B, et al. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria[J]. *Journal of General Microbiology*, 1979, 111(1): 1–61.
- [21] Körner S, Nicklisch A. Allelopathic growth inhibition of selected phytoplankton species by submerged macrophytes[J]. *Journal of Phycology*, 2002, 38(5): 862–871.
- [22] Schreiber U, Bilger W. Progress in chlorophyll fluorescence research: Major developments during the past years in retrospect[J]. *Progress in Botany*, 1993, 54: 151–173.
- [23] Jakob T, Schreiber U, Kirchesch V, et al. Estimation of chlorophyll content and daily primary production of the major algal groups by means of multiwavelength-excitation PAM chlorophyll fluorometry: Performance and methodological limits[J]. *Photosynthesis Research*, 2005, 83(3): 343–361.
- [24] 陈德辉, 刘永定, 袁峻峰, 等. 微囊藻和栅藻共培养实验及其竞争参数的计算[J]. *生态学报*, 1999, 19(6): 908–913.
CHEN De-hui, LIU Yong-ding, YUAN Jun-feng, et al. Experiments of mixed culture and calculation of competitive parameters between *Microcystis* (Cyanobacteria) and *Scenedesmus* (Green algae)[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 1999, 19(6): 908–913.

- [25] Volterra V. Fluctuations in the abundance of a species considered mathematically[J]. *Nature*, 1926, 118:558–560.
- [26] Sjollesma S B, van Beusekom S A M, van der Geest H G, et al. Laboratory algal bioassays using PAM fluorometry: Effects of test conditions on the determination of herbicide and field sample toxicity[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2014, 33(5): 1017–1022.
- [27] Muller R, Schreiber U, Escher B I, et al. Rapid exposure assessment of PSII herbicides in surface water using a novel chlorophyll a fluorescence imaging assay[J]. *Science of the Total Environment*, 2008, 401(1): 51–59.
- [28] Knauer S, Escher B, Singer H, et al. Mixture toxicity of three photosystem II inhibitors (atrazine, isoproturon, and diuron) toward photosynthesis of freshwater phytoplankton studied in outdoor mesocosms[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(17): 6424–6430.
- [29] Navarro E, Piccapietra F, Wagner B, et al. Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(23): 8959–8964.
- [30] McMinn A, Hegseth E N. Quantum yield and photosynthetic parameters of marine microalgae from the Southern Arctic Ocean, Svalbard[J]. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 2004, 84(19): 865–871.
- [31] Maxwell K, Johnson G N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51(345): 659–668.
- [32] Ralph P J, Gademann R. Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity[J]. *Aquatic Botany*, 2005, 82(3): 222–237.
- [33] Serôdio J, Vieira S, Cruz S, et al. Short-term variability in the photosynthetic activity of microphytobenthos as detected by measuring rapid light curves using variable fluorescence[J]. *Marine Biology*, 2005, 146(5): 903–914.
- [34] Dewez D, Didur O, Vincent-Héroux J, et al. Validation of photosynthetic-fluorescence parameters as biomarkers for isoproturon toxic effect on alga *Scenedesmus obliquus*[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 151(1): 93–100.
- [35] Bi Y F, Miao S S, Lu Y C, et al. Phytotoxicity, bioaccumulation and degradation of isoproturon in green algae[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 243: 242–249.
- [36] Deblois C P, Dufresne K, Juneau P. Response to variable light intensity in photoacclimated algae and cyanobacteria exposed to atrazine[J]. *Aquatic Toxicology*, 2013, 126: 77–84.
- [37] 潘克厚, 王金凤, 朱葆华. 海洋微藻间竞争研究进展[J]. *海洋科学*, 2007, 31(5): 58–62.
- PAN Ke-hou, WANG Jin-feng, ZHU Bao-hua. Progress on study of competition among marine microalgae[J]. *Marine Sciences*, 2007, 31(5): 58–62.
- [38] Keating K I. Blue-green algal inhibition of diatom growth; Transition from mesotrophic to eutrophic community structure[J]. *Science*, 1978, 199(4332): 971–973.
- [39] Inderjit D K M M, Dakshini K M M. Algal allelopathy[J]. *Botanical Review*, 1994, 60(2): 182–196.
- [40] Keating K I. Allelopathic influence on blue-green bloom sequence in a eutrophic lake[J]. *Science*, 1977, 196(4292): 885–887.
- [41] Tameishi M, Yamasaki Y, Nagasoe S, et al. Allelopathic effects of the dinophyte *Prorocentrum minimum* on the growth of the bacillariophyte *Skeletonema costatum*[J]. *Harmful Algae*, 2009, 8(3): 421–429.
- [42] Wang Y, Tang X. Interactions between *Prorocentrum donghaiense* Lu and *Scrippsiella trochoidea* (Stein) Loeblich III under laboratory culture[J]. *Harmful Algae*, 2008, 7(1): 65–75.
- [43] Armstrong R A. A hybrid spectral representation of phytoplankton growth and zooplankton response: The “control rod” model of plankton interaction[J]. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 2003, 50(22): 2895–2916.
- [44] Van der Westhuizen A J, Eloff J N. Effect of temperature and light on the toxicity and growth of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* (UV-006)[J]. *Planta*, 1985, 163(1): 55–59.
- [45] 孟顺龙, 裘丽萍, 胡庚东, 等. 氮磷比对两种蓝藻生长及竞争的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2012, 31(7): 1438–1444.
- MENG Shun-long, QIU Li-ping, HU Geng-dong, et al. Effect of nitrogen and phosphorus ratios on growth and competition of two blue-green algae[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(7): 1438–1444.