

张之浩,李威,吴晓芙.水体原位修复中沉水植物化感物质的分离与鉴定[J].环境工程技术学报,2021,11(6):1164-1172.

ZHANG Z H, LI W, WU X F. Allelochemicals isolation and identification of submerged macrophyte in *in-situ* remediation [J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2021, 11(6): 1164-1172.

水体原位修复中沉水植物化感物质的分离与鉴定

张之浩^{1,2}, 李威¹, 吴晓芙²

1.长沙环境保护职业技术学院

2.中南林业科技大学生命科学与技术学院

摘要 水体中蓝绿藻的大量生长是引起水体富营养化的重要原因,故而在原位生态修复中抑制蓝绿藻的生长至关重要。藻类的生长可被沉水植物分泌的某些化感物质所抑制,对沉水植物分泌的化感物质进行定性定量的研究,探明其作用机理对富营养化水体的生态治理具有一定的理论指导与实践意义。选取我国南方地区常见的狐尾藻(*Myriophyllum verticillatum*)、苦草(*Vallisneria natans*)、伊乐藻(*Elodea canadensis*)、轮叶黑藻(*Hydrilla verticillata*)和金鱼藻(*Ceratophyllum demersum*) 5种沉水植物,通过对其水培液做GC-MS分析,鉴定了沉水植物次生代谢物的种类,并对其潜在的抑藻效应进行探究。结果显示:水培液中共检测出56种化合物,其中检出最多的为有机酸类物质;狐尾藻、苦草、伊乐藻和黑藻分泌的有机酸类物质含量高于其他检出物质,而金鱼藻的水培液检出物中酮和酯类物质含量较高。研究推测,狐尾藻水培液中检测鉴定出的琥珀酸、柠檬酸和苯酚为主要的化感物质,苦草水培液中的乳酸、癸酸、壬二酸、硬脂酸、月桂酸和苯酚起主要的抑藻作用;伊乐藻水培液中的主要化感物质为壬二酸、对羟基苯甲酸和棕榈酸,黑藻和金鱼藻水培液中起抑藻作用的物质为壬酸、阿魏酸和癸酸、油酸、乙酸丁酯和邻苯二甲酸二异丁酯。

关键词 污染水体;原位修复;沉水植物;抑藻;化感物质

中图分类号:X703 文章编号:1674-991X(2021)06-1164-09 doi:10.12153/j.issn.1674-991X.20210090

Allelochemicals isolation and identification of submerged macrophyte in *in-situ* remediation

ZHANG Zhihao^{1,2}, LI Wei¹, WU Xiaofu²

1.Changsha Environmental Protection College

2.College of Life Science and Technology, Central South University of Forestry and Technology

Abstract The large growth of blue-green algae in water is an important cause of water eutrophication, so it is very important to inhibit the growth of blue-green algae in the application of *in-situ* ecological restoration. The growth of algae can be inhibited by some allelochemicals secreted by submerged plants. Qualitative and quantitative studies on allelopathic substances secreted by submerged plants and clarifying the action mechanism of allelopathic substances should have certain theoretical guidance and practical significance for ecological management of eutrophic water bodies. Five submerged plants, including *Myriophyllum verticillatum*, *Vallisneria natans*, *Elodea canadensis*, *Hydrilla verticillata*, and *Ceratophyllum demersum*, which were common in southern China, were selected and their hydroponic solution was analyzed by GC-MS. The species of secondary metabolites secreted by submerged plants were identified and their potential allelopathic effects were investigated. The results showed that a total of 56 compounds were detected in the hydroponic solution of 5 submerged plants, of which the most detected were organic acids. The contents of organic acids secreted by *Myriophyllum verticillatum*, *Vallisneria natans*, *Elodea canadensis* and *Hydrilla verticillata* were the highest, while the contents of ketones and esters were high in the hydroponic

收稿日期:2021-03-25

基金项目:湖南省自然科学基金项目(2019JJ70012)

作者简介:张之浩(1983—),男,副教授,博士,主要从事水生态环境修复研究,zachary77@163.com

solution of *Ceratophyllum demersum*. It was speculated that the main allelochemicals detected in the hydroponic solution of *Myriophyllum verticillatum* were succinic acid, citric acid and phenol; lactic acid, citric acid, sebacic acid, stearic acid, lauric acid, and phenol in the hydroponic solution of *Vallisneria spiralis* played the main role of algae inhibition. The main allelochemicals were azelaic acid, p-hydroxybenzoic acid, and palmitic acid in the hydroponic solution of *Elodea canadensis*; nonanoic acid, ferulic acid, capric acid, oleic acid, butyl acetate and diisobutyl phthalate were the substances that played the role of decontamination and algae inhibition in the hydroponic solution of *Hydrilla verticillata* and *Ceratophyllum demersum*.

Key words polluted water; *in-situ* remediation; submerged macrophytes; alga inhibition; allelochemicals

无需转移水体而直接在原位进行生态治理的原位生态修复技术,因其高效益低成本的优势而得以在污染水体修复的众多方法中备受关注^[1]。其中富营养化水体治理是污水原位生态修复的关键环节^[2-5]。富营养化水体中优势藻类如蓝绿藻的爆发增长是造成污染进一步加剧的原因^[6-7],而沉水植物在生长过程中可以通过释放一些化感物质直接或间接影响藻类的生长^[8-11],沉水植物的根、茎、叶均能吸收和富集水体中的营养元素,在通过根部释放氧气增加水中含氧量的同时改善好氧生物的生长环境进而影响污染物的生物降解过程,达到水质净化、水环境改善、系统稳定性得以提升的效应^[12-14]。

目前的研究多集中于探明挺水植物在污染水体原位生态修复中的功效与机理^[15],而聚焦于沉水植物抑藻效应的研究较少,已有的报道也多仅限于关注单一沉水植物的抑藻作用与机理研究。由于实际水体中污染情况复杂多样、不具统一性,且污染水体中优势藻类种类较多,加之沉水植物的生长易受外界环境因素的影响^[16],故沉水植物的抑藻作用也因植物种类的不同而有所差异。此外,化感物质的抑藻周期有限,故而在实际水体修复中应用单一沉水植物对藻类进行抑制的效果不佳,难以进行持续且稳定的水体修复。1949年Hasler等^[17]首次发现水生植物的抑藻现象,此后便引发了植物抑藻作用的研究热潮。当前的研究普遍认为抑藻作用是由植物分泌的化感物质实现的,研究者也顺利从狐尾藻、金鱼藻、凤眼莲、芦苇、苦草等水生植物的水培液中提取出多种化感抑藻物质,并证实了其抑藻作用^[18-19]。作为植物的分泌产物,化感物质是联系生物与环境的纽带,植物化感物质对周围环境的影响是环境生态领域的研究热点,在相关研究中已有不少化感物质被分离提纯出来^[20]。

笔者选取狐尾藻、苦草、黑藻、金鱼藻和伊乐藻5种沉水植物,通过对各沉水植物的水培液进行物质结构的鉴定分析,对各水培液中化感抑藻物质

进行定性、定量分析,进而探明不同种类化感物质抑藻的作用机理,以期为后续研发高效抑藻剂进而加强污染水体原位生态修复的效果提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 沉水植物水培液样本

在5个半径30 cm,深40 cm的干净水缸中加入15 L Hoagland(0.25×)营养液,选取根、茎、叶完整且叶色正常,长势较好的狐尾藻、苦草、伊乐藻、黑藻和金鱼藻5种沉水植物各150 g(鲜质量)放入水缸中,各沉水植物的生物量为10 g/L。将水缸放置在阳光棚(15~25 °C)中进行为期10 d的沉水植物培养。沉水植物在培养前需用蒸馏水反复冲洗以去除植株上的附着物,每次冲洗时间至少达10 min^[21]。

1.2 水培液的浓缩提取

选用循环水式真空泵(上海予华)及玻璃纤维膜对5种沉水植物的水培液(各10 L)进行抽滤,调节滤液pH为2~3,将滤液过waters Oasia HLB固相萃取小柱(500 mg,6 cm,GILSON固相萃取仪,使用前需用甲醇和水进行活化),每个小柱富集1 L水后用甲醇溶液进行洗脱,合并所有洗脱液于旋转蒸发器蒸至近干,再用250 mL超纯水进行溶解,用2 mol/L NaOH调节溶液pH到12。配置50 mL的正己烷和乙酸乙酯(体积比为1:1)萃取试剂,合并萃取液,用无水硫酸钠干燥后再于旋转蒸发器蒸至近1 mL,经滤膜过滤后备用。

1.3 GC-MS测定与数据处理

采用GC-MS(岛津GC-MS QP2010plus串联质谱仪)来同步检出提取液中存在的包括有机酸类、醇类、酚类、醛类和酯类等物质种类和含量,毛细管色谱柱为HP-5ms(60 m×0.25 mm×0.25 mm),用全扫描模式进行定性分析,载气为氦气,流速为1.0 mL/min,不分流进样,进样量1 μL。色谱分析条件如下:进样口温度280 °C,初始温度60 °C(1 min),

以 8 °C/min 升至 280 °C, 保持 10 min。MS 条件如下: EI 离子源, 温度 230 °C, 四级杆温度 150 °C, 电子能量 70 eV, 质谱扫描范围 50 ~ 450 amu。选用其内置的 GC-MS 再解析程序对数据进行分析处理, 样品各组分采用峰面积归一法定量, 参照 NIST05 及 NIST05s 标准谱库鉴定各组分的化学结构。

2 结果与分析

2.1 狐尾藻水培液中化感物质的测定

狐尾藻水培液检出成分色谱图及检出成分信息

表 1 狐尾藻水培液的正己烷乙酸乙酯提取液中的主要成分

Table 1 Major components of n-hexane and ethyl acetate extracts of *Myriophyllum verticillatum* hydroponic solution

类别	化合物	分子式	CAS 登记号	停留时间	含量占比/%	匹配度/%
有机酸类	乙酰丙酸	C ₅ H ₈ O ₃	110-15-6	3.321	0.45	95
	琥珀酸	C ₄ H ₆ O ₄	123-76-2	4.103	2.36	89
	2-乙基己酸	C ₈ H ₁₆ O	149-57-5	13.426	0.41	97
	己二酸	C ₆ H ₁₀ O ₄	124-04-9	23.973	0.87	81
	柠檬酸	C ₆ H ₈ O ₇	77-92-9	26.057	0.37	83
	癸二酸	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	111-20-6	31.820	0.25	96
	总计					4.71
醇和酚类	α-甲基苯乙醇	C ₁₀ H ₁₄ O	52089-32-4	4.221	0.56	92
	2-乙基己醇	C ₈ H ₁₈ O	104-76-7	13.109	0.43	98
	2,2-二甲基辛醇	C ₁₀ H ₂₂ O	2370-14-1	16.501	0.36	97
	苯酚	C ₆ H ₆ O	108-95-2	27.345	0.39	81
	2,4-二叔丁基苯酚	C ₁₄ H ₂₂ O	96-76-4	31.659	0.32	80
	总计					2.06
酮和酯类	环己酮	C ₆ H ₁₀ O	108-94-1	7.352	0.42	88
	2-羟乙基甲酸酯	C ₃ H ₆ O ₃	628-35-3	11.660	1.13	81
	邻苯二甲酸-1-丁酯-2-异丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	17851-53-5	32.907	0.46	82
	己二酸二辛酯	C ₂₂ H ₄₂ O ₄	103-23-1	34.967	0.20	84
	邻苯二甲酸二正辛酯	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	117-84-0	35.033	0.44	81
总计					2.65	

2.2 苦草水培液中化感物质的检测

苦草水培液检出成分色谱图及检出成分信息如表 2 所示。由表 2 可见, 共有 18 种有机化合物的匹配度超过 70%。其中鉴定出的有机酸类物质有 10 种, 含量占比为 2.66%; 醇和酚类物质有 5 种, 含量占比为 1.02%; 酮和酯类物质有 3 种, 含量占比为 0.70%。其中匹配度在 90% 及以上的有琥珀酸(96%)、乳酸(94%)、2-甲基-2,4-戊二醇(94%)和 1-己酮(97%)。检出含量占比较大的有机酸类为癸酸(0.6%)、乌头酸(0.46%), 醇类为 2-乙基己醇(0.31%), 酯类为邻苯二甲酸二异辛酯(0.32%)。

如表 1 所示。由表 1 可见, 狐尾藻水培液共有 16 种有机化合物的匹配度超过 70%, 其中鉴定出的有机酸类物质有 6 种, 含量占比为 4.71%; 醇和酚类物质共 5 种, 含量占比为 2.06%; 酮和酯类物质有 5 种, 含量占比为 2.65%。其中匹配度在 90% 及以上的有乙酰丙酸(95%)、2-乙基己酸(97%)、癸二酸(96%)、α-甲基苯乙醇(92%)、2-乙基己醇(98%)和 2,2-二甲基辛醇(97%)。检出含量占比较大的有机酸类为琥珀酸(2.36%), 醇和酚类为 α-甲基苯乙醇(0.56%), 酮和酯类为 2-羟乙基甲酸酯(1.13%)。

2.3 伊乐藻水培液中化感物质的测定

伊乐藻水培液检出成分色谱图及检出成分信息如表 3 所示。由表 3 可见, 共有 12 种有机化合物的匹配度超过 70%。其中鉴定出的有机酸类物质有 8 种, 含量占比为 3.64%; 酚类物质有 1 种, 含量占比为 0.13%; 酯类物质有 3 种, 含量占比为 1.19%。其中匹配度在 90% 及以上的有甲基丁二酸酐(92%)、对羟基苯甲酸(93%)、2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚)(91%)和邻苯二甲酸单(2-乙基己基)酯(99%)。检出含量占比较大的有机酸类为三乙基乙酸(0.75%)、壬二酸(0.73%)和反式阿

表 2 苦草水培液的正己烷乙酸乙酯提取液 GC-MS 分析主要成分

Table 2 Major components of n-hexane and ethyl acetate extracts of *Vallisneria natans* hydroponic solution

类型	化合物	分子式	CAS 登记号	停留时间	含量占比/%	匹配度/%
有机酸类	琥珀酸	C ₄ H ₆ O ₄	110-15-6	4.102	0.22	96
	乳酸	C ₃ H ₆ O ₃	50-21-5	7.350	0.18	94
	己酸	C ₆ H ₁₂ O ₂	142-62-1	7.718	0.44	87
	乌头酸	C ₆ H ₆ O ₆	499-12-7	8.569	0.46	73
	2-乙基丁酸	C ₆ H ₁₂ O ₂	88-09-5	10.532	0.16	85
	癸酸	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	334-48-5	23.969	0.60	81
	壬二酸	C ₉ H ₁₆ O ₄	123-99-9	28.019	0.15	72
	十五酸	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	1002-84-2	34.966	0.20	73
	硬脂酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	57-11-4	35.042	0.12	87
	月桂酸	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	143-07-7	31.657	0.13	84
总计					2.66	
醇和酚类	2-甲基-2,4-戊二醇	C ₆ H ₁₄ O ₂	5683-44-3	2.971	0.14	94
	2-乙基己醇	C ₈ H ₁₈ O	104-76-7	13.108	0.31	81
	己基癸醇	C ₁₆ H ₃₄ O	2425-77-6	26.052	0.18	72
	苯酚	C ₆ H ₆ O	108-95-2	27.339	0.21	83
	2,5-二叔丁基酚	C ₁₄ H ₂₂ O	5875-45-6	32.907	0.18	75
	总计					1.02
酮和酯类	1-己酮	C ₆ H ₁₀ O	1629-60-3	7.189	0.20	97
	14-甲基十五烷酸甲酯	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	5129-60-2	31.819	0.18	79
	邻苯二甲酸二异辛酯	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	27554-26-3	39.386	0.32	88
总计					0.70	

表 3 伊乐藻水培液的正己烷乙酸乙酯提取液 GC-MS 分析主要成分

Table 3 Major components of n-hexane and ethyl acetate extracts of *Elodea Canadensis* hydroponic solution

类型	化合物	分子式	CAS 登记号	停留时间	含量占比/%	匹配度/%
有机酸类	2-羟基乙酸	C ₂ H ₄ O ₃	79-14-1	4.226	0.30	87
	三乙基乙酸	C ₈ H ₁₆ O ₂	813-58-1	22.862	0.75	86
	对羟基苯乙酸	C ₈ H ₈ O ₃	156-38-7	27.845	0.48	80
	壬二酸	C ₉ H ₁₆ O ₄	123-99-9	27.992	0.73	84
	甲基丁二酸酐	C ₅ H ₆ O ₃	4100-80-5	5.096	0.15	92
	对羟基苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₃	99-96-7	31.805	0.27	93
	反式阿魏酸	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	537-98-4	35.220	0.71	88
	棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	57-10-3	35.403	0.25	76
总计					3.64	
酚类	2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚)	C ₂₃ H ₃₂ O ₂	119-47-1	42.979	0.13	91
	总计					0.13
酯类	丁酸丁酯	C ₈ H ₁₆ O ₂	109-21-7	7.359	0.14	73
	邻苯二甲酸单(2-乙基己基)酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	4376-20-9	39.832	0.83	82
	邻苯二甲酸单(2-乙基己基)酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	4376-20-9	43.455	0.22	99
总计					1.19	

魏酸(0.71%),酯类为邻苯二甲酸单(2-乙基己基)酯(0.83%)。

2.4 黑藻水培液中化感物质的测定

黑藻水培液检出成分色谱图及检出成分信息如

表 4 所示。由表 4 可见,共有 13 种有机化合物的匹配度超过 70%。其中鉴定出的有机酸类物质有 10 种,含量占比为 7.14%;醇类物质有 2 种,含量占比为 2.7%;酯类物质有 1 种,含量占比为 0.68%。其中

匹配度在 90% 及以上的有乙酰丙酸 (91%)、壬酸 (97%) 和苯甲酸 (92%)，检出含量占比较大的有机酸类为反式乌头酸 (1.21%) 和甲基丁二酸酐 (1.09%)，醇类为苯乙醇 (1.77%)。

表 4 黑藻水培液的正己烷乙酸乙酯提取液 GC-MS 分析主要成分

Table 4 Major components of n-hexane and ethyl acetate extracts of *Hydrilla verticillata* hydroponic solution

类型	化合物	分子式	CAS 登记号	停留时间	含量占比/%	匹配度/%
有机酸类	乙酰丙酸	C ₅ H ₈ O ₃	110-15-6	3.318	0.74	91
	甲基丁二酸酐	C ₅ H ₆ O ₃	4100-80-5	5.085	1.09	79
	反式乌头酸	C ₆ H ₆ O ₆	4023-65-8	7.343	1.21	86
	辛酸	C ₈ H ₁₆ O ₂	124-07-2	23.965	0.81	73
	壬酸	C ₉ H ₁₈ O ₂	112-05-0	28.016	0.67	97
	苯甲酸	C ₇ H ₆ O	265-85-0	31.814	0.72	92
	阿魏酸	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	1135-24-6	35.390	0.68	74
	肉豆蔻酸	C ₁₃ (13C)H ₂₈ O ₂	7857677-52-8	36.069	0.53	80
	邻苯二甲酸	C ₈ H ₆ O ₄	88-99-3	36.580	0.58	83
	癸二酸	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	111-20-6	39.868	0.11	81
	总计				7.14	
醇类	苯乙醇	C ₈ H ₁₀ O	60-12-8	4.099	1.77	76
	α-甲基苯乙醇	C ₁₀ H ₁₄ O	52089-32-4	4.216	0.93	82
	总计				2.70	
酯类	2-羟乙基甲酸酯	C ₃ H ₆ O ₃	628-35-3	11.637	0.68	89
	总计				0.68	

2.5 金鱼藻水培液中化感物质的测定

金鱼藻水培液检出成分色谱图及检出成分信息如表 5 所示。由表 5 可见，共有 15 种有机化合物的

匹配度超过 70%。其中鉴定出的有机酸类物质有 5 种，含量占比为 1.51%；烃类物质有 1 种，含量占比为 0.21%；醇类物质有 4 种，含量占比为 2.15%；

表 5 金鱼藻水培液的正己烷乙酸乙酯提取液 GC-MS 分析主要成分

Table 5 Major components of n-hexane and ethyl acetate extracts of *Ceratophyllum demersum* hydroponic solution

类别	化合物	分子式	CAS 登记号	停留时间	含量占比/%	匹配度/%
有机酸类	甲基丁二酸酐	C ₅ H ₆ O ₃	4100-80-5	5.094	0.23	86
	三乙酰乙酸	C ₈ H ₁₆ O ₂	813-58-1	19.429	0.14	74
	癸酸	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	334-48-5	28.027	0.44	79
	对羟基苯乙酸	C ₈ H ₈ O ₃	156-38-7	31.825	0.43	77
	油酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	112-80-1	35.401	0.27	84
	总计				1.51	
烃类	乙基苯	C ₈ H ₁₀	100-41-4	4.107	0.21	81
	总计				0.21	
醇类	正丁醇	C ₄ H ₁₀ O	71-36-3	4.295	0.61	95
	α-甲基苯乙醇	C ₁₀ H ₁₄ O	52089-32-4	4.328	0.70	88
	2-乙基己醇	C ₈ H ₁₈ O	104-76-7	13.113	0.07	93
	己基癸醇	C ₁₆ H ₃₄ O	2425-77-6	23.974	0.56	85
	总计				2.15	
酮和酯类	环己酮	C ₆ H ₁₀ O	108-94-1	7.356	1.33	97
	乙酸丁酯	C ₆ H ₁₂ O ₂	123-86-4	3.323	1.57	83
	2-羟乙基甲酸酯	C ₃ H ₆ O ₃	628-35-3	11.659	5.24	98
	邻苯二甲酸二异丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	84-69-5	41.466	0.14	96
	己二酸二(2-乙基己)酯	C ₂₂ H ₄₂ O ₄	103-23-1	45.99	1.51	91
	总计				9.79	

酮和酯类物质有 5 种,含量占比为 9.79%。其中匹配度在 90% 及以上的有正丁醇(95%)、2-乙基己醇(93%)、环己酮(97%)、2-羟乙基甲酸酯(98%)、邻苯二甲酸二异丁酯(96%)和己二酸二(2-乙基己)酯(91%)。检出含量占比较大的有机酸类为癸酸(0.44%)和对羟基苯乙酸(0.43%),醇类为 α -甲基苯乙醇(0.70%),酯类为 2-羟乙基甲酸酯(5.24%)。

3 讨论

3.1 5 种沉水植物水培液的成分比较分析

在 5 种沉水植物的水培液中共检出 56 种化合物,主要为有机酸类、酯类、醇类化合物及少量酚类、酮类物质。其中按各水培液中检出的化合物数量排序,表现为苦草(18)>狐尾藻(16)>金鱼藻(15)>黑藻(13)>伊乐藻(12)。狐尾藻、苦草、伊乐藻和黑藻分泌的有机酸类物质含量占比高于其他检出物质,而金鱼藻的水培液检出物中酮和酯类物质含量占比较高。

3.2 5 种沉水植物化感抑藻效果分析

笔者在之前的研究中^[3,21]将 5 种沉水植物种植于自然环境的富营养化水体中(优势藻类为绿藻和硅藻),对比研究了狐尾藻、苦草、黑藻、金鱼藻和伊乐藻的化感抑藻效应,相关趋势如图 1、图 2 所示。由图 1 可见,在狐尾藻、苦草、黑藻和金鱼藻 4 种沉水植物的种植水中,浮游藻类的叶绿素 a 浓度随培养时间的增加呈逐步降低的趋势,且浓度均低于对照组,表明由沉水植物释放出的化感物质可进入藻细胞内降解叶绿素 a,进而导致浮游藻类的光合过程受阻,从而抑制浮游藻类的生长。从浮游藻类的

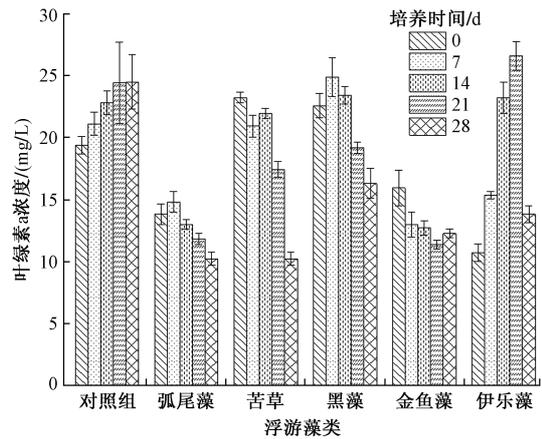


图 1 各处理下浮游藻类叶绿素 a 浓度

Fig.1 Chlorophyll a contents of phytoplankton under each treatment

抑制率来看[图 2(a)],除伊乐藻外,其余 4 种沉水植物对水中浮游藻类均有较明显的抑制作用,从抑制率的不同可证实由沉水植物分泌的次生代谢产物的种类和数量因植物种类的不同而存在差异。而由浮游藻类的相对生长速率曲线[图 2(b)]的动态变化分析可得,金鱼藻处理下的浮游藻类的相对生长速率曲线变化波动较大,观察到浮游藻类的相对生长速率先随时间增加呈下降趋势,随后出现了上升的现象。

3.3 5 种沉水植物化感抑藻物质分析

通过对 5 种沉水植物水培液成分进行鉴定和分析,发现各沉水植物所分泌化感物质的主要成分和可能的抑藻机理如表 6 所示。

已有多个研究证实了有机酸类物质具有抑藻效应,亦已证明碳原子数为 2~22 的饱和及不饱和脂肪酸均能抑制蓝藻和绿藻活性^[22],刘晓宇等^[23]

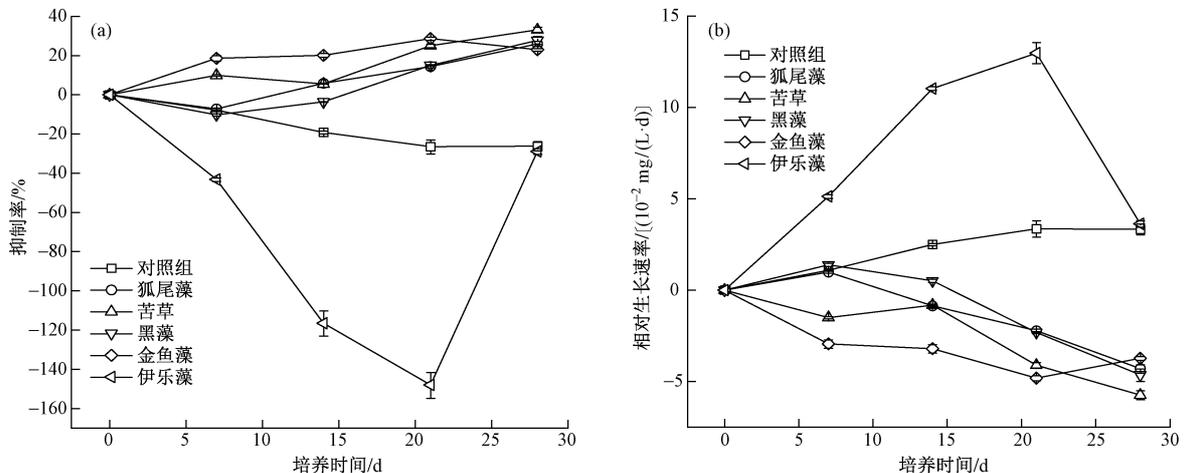


图 2 各处理下浮游藻类生长的抑制率和相对生长速率

Fig.2 Inhibiting rate and relative growth rate of phytoplankton under each treatment

表 6 5 种沉水植物可能的化感物质及抑藻机理

Table 6 Possible allelochemicals and algal inhibition mechanisms of 5 submerged macrophytes

项目	狐尾藻	苦草	伊乐藻	黑藻	金鱼藻
可能的化感物质	2,2-二甲基辛醇 苯酚 2,4-二叔丁基苯酚	琥珀酸 苯酚 邻苯二甲酸	2-羟基乙酸 对羟基苯甲酸 棕榈酸	乙酰丙酸	α -甲基苯乙醇 2-羟乙基甲酸酯 己二酸二酯
可能的抑藻机理	破坏细胞抗氧化酶系统	破坏藻细胞 SOD、POD 活性,促进叶绿素分解	破坏藻类细胞膜和干扰光合作用	破坏线粒体,抑制细胞分裂	破坏藻胆蛋白,促使膜脂质过氧化

从美人蕉叶片中鉴定出了 32 种有机酸组分,并通过试验验证了其对铜绿微囊藻的抑制作用,且不同浓度的有机酸组分对铜绿微囊藻的生长呈现出的“低促高抑”现象。张庭廷等^[24]探究了 17 种不同脂肪酸类物质对产毒铜绿微囊藻、蛋白核小球藻和斜生栅藻的抑藻作用,结果表明各脂肪酸对这 3 种藻类均呈现出不同程度的抑藻效应,且脂肪酸类物质的抑制作用与其物质结构相关。而该作者的另一研究^[25]发现,加入对羟基苯甲酸会使铜绿微囊藻细胞膜出现肿胀现象,随着处理时间的增长细胞最终破碎溶解,进而抑制了铜绿微囊藻的生长。结合本研究中 5 种沉水植物水培液中鉴定出的有机酸物质进行推测,即琥珀酸、柠檬酸、乳酸、癸酸、壬酸、壬二酸、硬脂酸、月桂酸、对羟基苯甲酸、棕榈酸、阿魏酸、油酸具有一定的化感抑藻作用。虽有研究证实阿魏酸、顺式阿魏酸和顺式乌头酸具有抑藻效应,但鲜有文献对反式阿魏酸和反式乌头酸的抑藻效应进行探究,且顺反异构体的化学生理活性存在差异,故反式阿魏酸和反式乌头酸是否存在抑藻效应仍需进一步探明。检出的其他有机酸物质如乙酰丙酸和 2-乙基己酸的抑藻能力也有待进一步的研究。

王立新等^[26]发现用不同有机溶剂对黑藻养殖水进行萃取提纯得到的组分对铜绿微囊藻的抑制作用程度有所差异,其中乙醚提取物对藻类的抑制作用大于乙酸乙酯提取物,而石油醚提取物近乎无抑藻作用。进一步的研究发现,乙醚提取物对铜绿微囊藻的抑制率随提取物浓度的升高而增大。此外,对乙醚提取物进行 GC-MS 分析共鉴定出 9 种组分,其中 3 种酯类化合物(邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸二异辛酯、邻苯二甲酸丁脂 2-甲基丙酯)的含量占到总提取物的 60% 以上。刘光涛等^[27]研究了凤眼莲根系分泌的 5 种明确具有抑藻效应的化感物质对铜绿微囊藻和斜生栅藻的抑制作用,探究了化感物质种类、剂量和不同的藻类培养方式下抑藻作用的差异。发现低剂量的亚油酸甘油酯在藻类混合培养情况下对藻类的生长具有促进作用,而高剂量

时则表现出明显的抑制倾向,当培养液中亚油酸甘油酯浓度为 10 mg/L 时,起初等比例培养的铜绿微囊藻和斜生栅藻的相对密度发生了改变,即斜生栅藻在混合培养液中的占比有所增加。张楠等^[28]探究了棕榈酸、琥珀酸和乙酸丁酯分析纯溶剂的不同组合方式对蛋白核小球藻的抑制作用,发现 3 种物质组合应用情况下抑藻效应最佳。结合本研究的检测结果分析水培液中鉴定出的邻苯二甲酸二异丁酯和乙酸丁酯对抑藻作用具有一定的贡献。

张玲^[29]在研究时发现采用乙醚萃取盐京九号水稻(*Oryza sativa* L. Yanjing 9)的水稻水培液和水稻秸秆水浸液,对铜绿微囊藻的抑藻效果最佳,通过分离乙醚萃取液中的组分可鉴定出含有机酸类物质、碱性物质和中性物质及酚类物质等。高为等^[30]以苯酚为例研究了酚类、醇类物质对斜生栅藻生长的影响,发现藻浓度随苯酚浓度增大而减小,即藻类细胞受到的抑制作用随苯酚浓度的增大而加强。本研究中检测鉴定出的少量醇类和酚类物质可能也具备化感抑藻效应。

已有研究表明,植物的抑藻现象可能是受其分泌的多种化感物质的联合作用导致的。高云霓等^[31]在苦草分泌物中检测鉴定出 9 种酚酸,并对其其中 6 种酚酸混合后应用的抑藻效应进行了研究,发现抑藻作用随混合的酚酸种类增多而加强。张庭廷等^[32]研究结果也表明,对羟基苯甲酸和阿魏酸的联用对水花鱼腥藻和蛋白核小球藻的抑制均具有协同效应。本研究也在各沉水植物的不同水培液中检测鉴定出了多类化感物质,因而推测不同沉水植物分泌的多种化感物质之间的相互作用造成了最终的抑藻现象。

4 结论

(1) 共有 56 种化合物在水培液中被检出,其中检出最多的是有机酸类物质。共检出 30 种有机酸物质,含量占比为 0.11%~2.36%;其中,酯类物质 12 种,含量占比为 0.14%~5.24%;醇类物质 7 种,

含量占比为 0.07%~1.77%;酚类物质 4 种,含量占比为 0.13%~0.39%;酮类和乙基苯类物质 3 种,含量占比为 0.2%~1.33%。

(2) 推测狐尾藻水培液中检测鉴定出的琥珀酸、柠檬酸和苯酚为主要的化感物质,苦草水培液中的乳酸、癸酸、壬二酸、硬脂酸、月桂酸和苯酚发挥主要的抑藻作用,伊乐藻水培液中的主要化感物质为壬二酸、对羟基苯甲酸和棕榈酸,黑藻和金鱼藻水培液中发挥抑藻作用的物质为壬酸、阿魏酸和癸酸、油酸、乙酸丁酯和邻苯二甲酸二异丁酯。

(3) 狐尾藻、苦草、伊乐藻和黑藻 4 种沉水植物的水培液中有机酸类物质的含量占比高于其他检出物质,推测有机酸类物质是起主要抑藻作用的化感物质。而金鱼藻中酯类物质的含量占比为 8.49%,酯类物质在金鱼藻抑藻现象中可能发挥主要作用,有机酸类物质影响次之。沉水植物对藻类的抑制作用可能是多种化感物质联合作用的结果,但其相互作用机理仍待进一步的研究。

参考文献

- [1] 张之浩,吴晓芙,李威.沉水植物在富营养化水体原位生态修复中的功能[J].中南林业科技大学学报,2018,38(3):115-121.
ZHANG Z H, WU X F, LI W. Functions of submerged macrophytes in *in situ* ecological restoration of eutrophic waters [J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 2018, 38(3): 115-121.
- [2] 曹开银,丁海涛,邓超,等.湿地水生植物对富营养化水体的净化效果研究[J].生物学杂志,2019,36(1):39-42.
CAO K Y, DING H T, DENG C, et al. Purification effects of wetland aquatic plants on eutrophic water [J]. Journal of Biology, 2019, 36(1): 39-42.
- [3] 张之浩,李威,吴晓芙.6种沉水植物对富营养化水体化感抑藻效果研究[J].湘潭大学自然科学学报,2017,39(2):55-60.
ZHANG Z H, LI W, WU X F. Allelopathic effect of six submerged macrophytes on algae growth in eutrophied water [J]. Natural Science Journal of Xiangtan University, 2017, 39(2): 55-60.
- [4] LI W, ZHANG Z H, ASHRAF M A. Allelopathic effects of various aquatic plants in eutrophic water areas [J]. Journal of Coastal Research, 2018, 82(Suppl 1): 137.
- [5] IBRAHIM M, AL-FIFI Z. Mechanism of pollution control for aquatic plant water hyacinth [J]. The Open Spectroscopy Journal, 2010, 4(1): 10-15.
- [6] 党二莎,龙超,张楠.大鹏湾近岸海域水质状况与富营养化水平[J].环境工程技术学报,2020,10(4):623-630.
DANG E S, LONG C, ZHANG N. Study on water quality and eutrophication level in the coastal area of Dapeng Bay [J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2020, 10(4): 623-630.
- [7] 赵建国,李洪波,刘存歧,等.永定河怀来段水体富营养化评价[J].环境工程技术学报,2018,8(3):248-256.
ZHAO J G, LI H B, LIU C Q, et al. Evaluation of eutrophication of water body in Huailai section of Yongding River [J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2018, 8(3): 248-256.
- [8] 闵奋力,左进城,刘碧云,等.穗状狐尾藻与不同生长期苦草种间竞争研究[J].植物科学学报,2016,34(1):47-55.
MIN F L, ZUO J C, LIU B Y, et al. Competition between *Myriophyllum spicatum* L. and *Vallisneria natans* (Lour.) Hara at different growth stages [J]. Plant Science Journal, 2016, 34(1): 47-55.
- [9] 钱燕萍,赵楚,田如男.水生植物对藻类的化感作用研究进展[J].生物学杂志,2018,35(6):95-97.
QIAN Y P, ZHAO C, TIAN R N. Research advances in inhibitory effects on phytoplankton mediated by aquatic plants [J]. Journal of Biology, 2018, 35(6): 95-97.
- [10] ZHU J Y, LIU B Y, WANG J, et al. Study on the mechanism of allelopathic influence on cyanobacteria and chlorophytes by submerged macrophyte (*Myriophyllum spicatum*) and its secretion [J]. Aquatic Toxicology, 2010, 98(2): 196-203.
- [11] SYED S, AHMED Z I, AL-HAQ M I, et al. The possible role of organic acids as allelochemicals in *Tamarindus indica* L. leaves [J]. Acta Agriculturae Scandinavica (Section B Soil & Plant Science), 2014, 64(6): 511-517.
- [12] 朱小琴,刀国华,陶益,等.典型植物化感物质对铜绿微囊藻生长的抑制效果评价[J].中国环境科学,2020,40(5):2230-2237.
ZHU X Q, DAO G H, TAO Y, et al. Evaluation of growth inhibition of typical plant-derived allelochemicals on *Microcystis aeruginosa* [J]. China Environmental Science, 2020, 40(5): 2230-2237.
- [13] ZHOU L, FU Z S, CHEN G F, et al. Research advance in allelopathy effect and mechanism of terrestrial plants in inhibition of *Microcystis aeruginosa* [J]. Journal of Applied Ecology, 2018, 29(5): 1715-1724.
- [14] 林运通,崔理华,范远红,等.5种湿地沉水植物对模拟污水厂尾水的深度处理[J].环境工程学报,2016,10(12):6914-6922.
LIN Y T, CUI L H, FAN Y H, et al. Advanced treatment of simulated tail water of wastewater treatment plant by five submerged plants in wetlands [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2016, 10(12): 6914-6922.
- [15] 杨皓然.湖南省常见水生植物的耐污与去污能力比较研究[D].长沙:中南林业科技大学,2016.
- [16] 陈永华,吴晓芙,陈明利,等.人工湿地污水处理系统冬季植物的筛选与评价[J].环境科学,2010,31(8):1789-1794.
CHEN Y H, WU X F, CHEN M L, et al. Selection of winter plant species for wetlands constructed as sewage treatment systems and evaluation of their wastewater purification potentials [J]. Environmental Science, 2010, 31(8): 1789-1794.
- [17] HASLER A D, JONES E. Demonstration of the antagonistic action of large aquatic plants on algae and rotifers [J]. Ecology, 1949, 30

- (3):359-364.
- [18] 段书惠.植物化感物质抑藻及机理的研究[D].天津:天津科技大学,2018.
- [19] 吴旻,赵群芬.3种沉水植物在不同污染水体中的生长及其对水质的影响[J].生物学杂志,2015,32(4):43-47.
WU M, ZHAO Q F. The growth of three submerged plants in different polluted water and its impact on water quality [J]. Journal of Biology, 2015, 32(4):43-47.
- [20] ZHANG T T, ZHENG C Y, HU W, et al. The allelopathy and allelopathic mechanism of phenolic acids on toxic *Microcystis aeruginosa* [J]. Journal of Applied Phycology, 2010, 22(1):71-77.
- [21] 张之浩.富营养化水体原位生态修复中沉水植物的功能研究[D].长沙:中南林业科技大学,2018.
- [22] JIN Z H, ZHUANG Y Y, DAI S G, et al. Isolation and identification of extracts of *Eichhornia crassipes* and their allelopathic effects on algae [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2003, 71(5):1048-1052.
- [23] 刘晓宇,傅海燕,黄国和,等.美人蕉有机酸组分对铜绿微囊藻的化感作用[J].环境工程学报,2015,9(12):5769-5774.
LIU X Y, FU H Y, HUANG G H, et al. Allelopathic effect of organic acids from *Canna indica* on *Microcystis aeruginosa* [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2015, 9(12):5769-5774.
- [24] 张庭廷,郑春艳,何梅,等.脂肪酸类物质的抑藻效应及其构效关系[J].中国环境科学,2009,29(3):274-279.
ZHANG T T, ZHENG C Y, HE M, et al. Inhibition on algae of fatty acids and the structure-effect relationship [J]. China Environmental Science, 2009, 29(3):274-279.
- [25] 张庭廷,何梅,吴安平,等.对羟基苯甲酸对铜绿微囊藻的化感效应以及对鲤鱼的毒性作用[J].环境科学学报,2008,28(9):1887-1893.
ZHANG T T, HE M, WU A P, et al. Allelopathic inhibition of *p*-hydroxybenzoic acid on *Microcystis aeruginosa* Kuetz with no toxicological effects on *Cyprinus carpio* Linnaeus [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2008, 28(9):1887-1893.
- [26] 王立新,张玲,张余霞,等.黑藻(*Hydrilla verticillata*)养殖水对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)的抑制效应及其机制[J].植物生理与分子生物学学报,2006,32(6):672-678.
WANG L X, ZHANG L, ZHANG Y X, et al. The inhibitory effect of *Hydrilla verticillata* culture water on *Microcystis aeruginosa* and its mechanism [J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2006, 32(6):672-678.
- [27] 刘光涛,周长芳,孙利芳,等.凤眼莲化感物质对铜绿微囊藻、斜生栅藻生长及细胞数相对比例的影响[J].环境科学学报,2011,31(10):2303-2311.
LIU G T, ZHOU C F, SUN L F, et al. Effects of *Eichhornia crassipes* allelochemicals on the growth of two mono- and co-cultured algae *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus obliquus* [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2011, 31(10):2303-2311.
- [28] 张楠,孙长虹,季民.3种克藻物质对蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)的组合抑制效应[J].城市环境与城市生态,2012(1):39-41.
ZHANG N, SUN C H, JI M. Combined-effect tests of three kinds of allelopathic chemical against *Chlorella pyrenoidosa* [J]. Urban Environment & Urban Ecology, 2012(1):39-41.
- [29] 张玲.盐京九号水稻(*Oryza sativa* L. Yanjing 9)抑制铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)生长作用及其机制的研究[D].南京:南京师范大学,2008.
- [30] 高为,沈云,程鑫.酚类、醇类抑制斜生栅藻生长的毒性效应[J].江苏环境科技,2001,14(3):7-8.
GAO W, SHEN Y, CHENG X. Toxic effect of restrain growth of inclined grate algae by phenol and alcohol [J]. Jiangsu Environmental Science and Technology, 2001, 14(3):7-8.
- [31] 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.
GAO Y N, LIU B Y, WANG J, et al. Allelopathic effects of phenolic compounds released by *Vallisneria spiralis* on *Microcystis aeruginosa* [J]. Journal of Lake Sciences, 2011, 23(5):761-766.
- [32] 张庭廷,吴安平,何梅,等.酚酸类物质对水华藻类的化感作用及其机理[J].中国环境科学,2007,27(4):472-476.
ZHANG T T, WU A P, HE M, et al. The allelopathy and its mechanism of phenolic acids on water-bloom algae [J]. China Environmental Science, 2007, 27(4):472-476. ⊗