

## 沉水态圆叶节节菜的化感抑藻作用

陈晶莹<sup>1</sup>, 周炜杰<sup>1</sup>, 林果<sup>1</sup>, 吴祥庭<sup>1</sup>, 肖继波<sup>1,2</sup>, 褚淑祎<sup>3</sup>

(1. 温州大学 生命与环境科学学院, 浙江 温州 325035; 2. 温州大学 三垟湿地生态环境研究院, 浙江 温州 325014; 3. 温州市农业科学研究院, 浙江 温州 325006)

**摘要:** 【目的】研究沉水态圆叶节节菜 *Rotala rotundifolia* 的化感抑藻效果及潜在抑藻机制, 可为圆叶节节菜在藻类水华治理工程应用中提供理论基础。【方法】以铜绿微囊藻 *Microcystis aeruginosa* 为代表性藻种, 采用超声辅助溶剂浸提方式, 研究水、乙醇和石油醚 3 种溶剂提取物的抑藻性能, 并从叶绿素 a (Chl a) 质量浓度、最大光化学效率 ( $F_v/F_m$ ) 及超氧化物歧化酶 (SOD) 活性等方面比较了圆叶节节菜与 6 种常见沉水植物的抑藻作用。【结果】圆叶节节菜 3 种溶剂提取物的抑藻能力从大到小依次为石油醚、乙醇、水, 石油醚提取物对铜绿微囊藻有显著的抑制作用 ( $P < 0.05$ ), 抑制率最高可达 99.9%; 量效分析表明: 圆叶节节菜石油醚提取物有低促高抑现象, 半最大效应质量浓度 ( $EC_{50}$ ) 为  $11.56 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  (第 5 天); 与常见的沉水植物抑藻效果相比, 圆叶节节菜和穗花狐尾藻 *Myriophyllum spicatum* 处理的 Chl a 质量浓度显著低于其他处理 ( $P < 0.05$ , 第 1 天); 所有植物处理的  $F_v/F_m$  均显著低于对照 ( $P < 0.05$ ); 圆叶节节菜和水盾草 *Cabomba caroliniana* 的 SOD 活性分别是对照的 1.48 和 1.53 倍, 穗花狐尾藻的 SOD 活性显著下降 ( $P < 0.05$ ), 而苦草 *Vallisneria natans*、金鱼藻 *Ceratophyllum demersum*、伊乐藻 *Elodea nuttallii* 和轮叶黑藻 *Hydrilla verticillata* 处理与对照无显著差异。【结论】沉水态圆叶节节菜石油醚提取物具有较强的抑藻效应, 表现为减少铜绿微囊藻细胞 Chl a 质量浓度、降低光化学效率及加剧氧化损伤等, 在微囊藻水华防控方面具有较强的应用潜力。图 5 表 1 参 35

**关键词:** 圆叶节节菜; 沉水植物; 铜绿微囊藻; 植物提取物; 抑藻

中图分类号: S718.3 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2023)04-0765-08

## Allelopathic and algal inhibition effects of submerged aquatic plant *Rotala rotundifolia*

CHEN Jingying<sup>1</sup>, ZHOU Weijie<sup>1</sup>, LIN Guo<sup>1</sup>, WU Xiangting<sup>1</sup>, XIAO Jibo<sup>1,2</sup>, CHU Shuyi<sup>3</sup>

(1. College of Life and Environmental Science, Wenzhou University, Wenzhou 325035, Zhejiang, China; 2. Academy of Sanyang Wetland, Wenzhou University, Wenzhou 325014, Zhejiang, China; 3. Wenzhou Academy of Agricultural Sciences, Wenzhou 325006, Zhejiang, China)

**Abstract:** [Objective] This study aims to investigate the allelopathic and potential algal inhibition mechanism of submerged *Rotala rotundifolia*, so as to provide a theoretical basis for the application of *R. rotundifolia* in algal bloom control engineering. [Method] Taking *Microcystis aeruginosa* as the representative algal species, the algal inhibition ability of water, ethanol and petroleum ether extracts of the plant was investigated using ultrasound-assisted solvent extraction technique. The inhibition effects of *R. rotundifolia* and six common submerged plants on *M. aeruginosa* were compared from the perspectives of chlorophyll a (Chl a) content, maximum photochemical efficiency ( $F_v/F_m$ ) and superoxide dismutase (SOD) activity. [Result] The algae inhibition ability of the three solvent extracts of *R. rotundifolia* in descending order was petroleum ether,

收稿日期: 2022-09-09; 修回日期: 2023-03-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (42007146); 温州市科技计划项目 (ZG2020024)

作者简介: 陈晶莹 (ORCID: 0009-0004-1073-8081), 从事水生生物学研究。E-mail: chenjy\_1998@163.com。通信作者: 褚淑祎 (ORCID: 0009-0001-6767-5278), 副教授, 从事水生态修复研究。E-mail: chusy1981@aliyun.com

ethanol, and water. The petroleum ether extract exhibited a significant inhibitory effect on *M. aeruginosa* ( $P < 0.05$ ) with an inhibition rate up to 99.9%. Quantitative analysis showed that the petroleum ether extract of *R. rotundifolia* presented low concentration promotion and high concentration inhibition, with a minimum median effect concentration ( $EC_{50}$ ) of  $11.56 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  (day 5). The contents of Chl a in *R. rotundifolia* and *Myriophyllum spicatum* treatments were significantly lower than those in other treatments ( $P < 0.05$ , day 1). The  $F_v/F_m$  of all plant treatments were significantly lower than that of the control ( $P < 0.05$ ). The SOD activities of *R. rotundifolia* and *Cabomba caroliniana* were 1.48 and 1.53 times higher than those of the control, respectively, while the SOD activity of *Myriophyllum spicatum* decreased significantly ( $P < 0.05$ ). The treatments of *Vallisneria natans*, *Ceratophyllum demersum*, *Elodea nuttallii*, and *Hydrilla verticillata* showed no significant difference from the control. [Conclusion] The petroleum ether extract of *R. rotundifolia* has a strong inhibitory effect on algal. It can reduce the Chl a content in *Microcystis aeruginosa* cells, decrease photosynthetic efficiency, and intensify the oxidative damage. It has strong application potential in the prevention and control of *Microcystis* algal blooms. [Ch, 5 fig. 1 tab. 35 ref.]

**Key words:** *Rotala rotundifolia*; submerged plant; *Microcystis aeruginosa*; plant extracts; algal inhibition

水体富营养化容易导致藻类暴发, 不仅破坏水域景观生态, 还会造成严重的生态失衡<sup>[1-2]</sup>。据《2021 中国生态环境状况公报》显示: 209 个国控重点湖泊(水库)中, 轻度富营养状态占 23.0%, 中度富营养状态占 4.3%<sup>[3]</sup>。以太湖为例, 2021 年 3—10 月, 卫星遥感监测到蓝藻水华现象 96 次, 平均发生面积为  $117 \text{ km}^2$ <sup>[4]</sup>。水华治理的方法主要有物理、化学和生物法, 其中水生生物控藻技术因成本较低且环境友好的特点已成为当前研究的重点和热点<sup>[5-6]</sup>。水生植物化感作用利用植物所释放的次生代谢产物(化感物质)影响周围藻类生长代谢, 从而达到抑藻的目的<sup>[7]</sup>。沉水植物整株浸没于水中, 其根、茎、叶不仅能够吸收水中氮、磷等营养物质, 而且可直接向水体中分泌化感物质抑制藻类等浮游生物的生长, 在藻类水华治理中具有明显的优势<sup>[8-9]</sup>。但大部分沉水植物生长季节性较强, 如伊乐藻 *Elodea nuttallii*、菹草 *Potamogeton crispus* 不耐高温, 穗花狐尾藻 *Myriophyllum spicatum*、金鱼藻 *Ceratophyllum demersum* 和苦草 *Vallisneria natans* 不能越冬, 因而不能稳定有效地发挥抑藻作用<sup>[10-12]</sup>。

圆叶节节菜 *Rotala rotundifolia* 为一种可挺水、浮水和沉水生长的水生植物, 它的沉水态为多年生草本植物, 温度适应范围广, 为  $4\text{--}30 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 圆叶节节菜对氮、磷去除效果大于 80%<sup>[13]</sup>, 在水生态系统恢复方面具有较强的应用潜力, 但其抑藻性能和作用机制尚不明了。鉴于此, 本研究采用超声辅助溶剂浸提圆叶节节菜化感活性物质, 研究其对铜绿微囊藻 *Microcystis aeruginosa* 的抑制性能和量效关系, 对比圆叶节节菜与 6 种常见沉水植物对铜绿微囊藻生长、光化学效率和抗氧化系统的化感作用, 分析圆叶节节菜的抑藻效能和作用机制, 以期为圆叶节节菜在藻类水华治理工程应用方面提供理论数据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

圆叶节节菜取自温州市仙岩风景区内池塘, 穗花狐尾藻、苦草、水盾草 *Cabomba caroliniana*、伊乐藻、金鱼藻和轮叶黑藻 *Hydrilla verticillata* 购自江苏宁高水生植物基地。铜绿微囊藻(编号 FACHB-905)来源于中国科学院水生生物研究所, 采用灭菌后的 BG-11 培养基于 QHX-250B 人工气候培养箱中扩大培养, 光照强度为  $3\ 000 \text{ lx}$ , 光照时间为  $12 \text{ h}(\text{光}):12 \text{ h}(\text{暗})$ <sup>[14]</sup>。

### 1.2 方 法

1.2.1 沉水植物提取物的制备 新鲜的植株体用自来水洗干净后, 自然晾干除去表面水分, 然后通过真空冷冻干燥进一步去除组织内水分, 得到的冻干组织磨碎后, 于  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  下保存备用。使用时, 称取  $2 \text{ g}$  冻干粉末加入一定溶剂中, 采用超声提取沉水植物有效成分, 主要参数为  $m(\text{料}):V(\text{液})=1:50$ , 时间为  $40 \text{ min}$ , 温度为  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , 重复 2 次。粗提液经双层粗纱布过滤后合并, 过  $0.45 \text{ }\mu\text{m}$  有机滤膜, 滤液经旋转蒸干除去原溶剂, 加入无水乙醇洗脱并定容至  $10 \text{ mL}$ 。用植物质量变化表示化感物质的相当量 ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 得到质量

浓度为  $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的植物提取物母液, 于  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  储存备用。

1.2.2 圆叶节节菜不同提取物的抑藻效果 选择水、乙醇 (体积分数 75%) 和石油醚 (沸点  $60\sim 90 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 等 3 种不同极性的溶剂, 按 1.2.1 提取方法制备圆叶节节菜提取物。将对数生长期的藻细胞转接至灭菌后的 BG-11 培养基中, 初始细胞密度约  $5.0 \times 10^9 \text{ 个} \cdot \text{L}^{-1}$ 。100 mL 锥形瓶中加入 50 mL 藻液, 设置提取物添加量 (质量分数) 为 0.25%、0.50%、0.75%、1.00%, 即每组分别加入 125、250、375、500  $\mu\text{L}$  的母液, 以不加提取物的处理为对照。每个处理设 3 个平行。分别于第 1 天、第 3 天、第 5 天取样 2 mL, 测定铜绿微囊藻的叶绿素 a (Chl a) 质量浓度。

1.2.3 圆叶节节菜石油醚提取物剂量对抑藻效果的影响 设置石油醚提取物的添加量 (质量分数) 为 0.05%、0.10%、0.20%、0.40%、0.80%, 即分别添加 25、50、100、200、400  $\mu\text{L}$  母液至 50 mL 藻液中, 以不加提取物的处理为对照, 每组处理重复 3 次, 分别于第 1 天、第 3 天、第 5 天取样 2 mL, 测定铜绿微囊藻的 Chl a 质量浓度。

1.2.4 不同沉水植物的抑藻效果对比 100 mL 锥形瓶中加入 50 mL 初始细胞密度为  $5.0 \times 10^9 \text{ 个} \cdot \text{L}^{-1}$  的藻液, 按 0.5% 的质量分数分别加入 250  $\mu\text{L}$  圆叶节节菜、穗花狐尾藻、苦草、水盾草、伊乐藻、金鱼藻和轮叶黑藻的石油醚提取物, 以不加提取物的处理为对照, 每组处理重复 3 次, 分别于第 1 天、第 3 天、第 5 天取样 2 mL, 测定铜绿微囊藻的 Chl a 质量浓度。分析处理 24 h 的最大光化学效率 ( $F_v/F_m$ ) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 活性。

### 1.3 测定方法

1.3.1 Chl a 和  $F_v/F_m$  测定 取 2 mL 藻液, 暗适应 15 min, 采用浮游植物分类荧光仪 (Phyto-PAM) 分析 Chl a 和  $F_v/F_m$  [15]。

1.3.2 SOD 活性测定 取 2 mL 藻液,  $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min 收集藻细胞, 加入预冷的生理盐水 (质量分数为 0.9%) 100  $\mu\text{L}$ , 使用高通量冷冻组织研磨仪破碎细胞,  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  下  $6 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$  速率震荡 30 s, 间隔 60 s, 循环 6 次, 即得到酶液。采用南京建成生物有限公司试剂盒的羟胺法测定 SOD 活性。

### 1.4 数据处理和统计分析

1.4.1 抑制率 各处理组对铜绿微囊藻生长抑制率 ( $I_R$ ) 计算公式为:  $I_R = (N_0 - N_s) / N_0 \times 100\%$ 。其中,  $N_0$  和  $N_s$  分别为对照组和实验组的 Chl a 质量浓度 ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )。

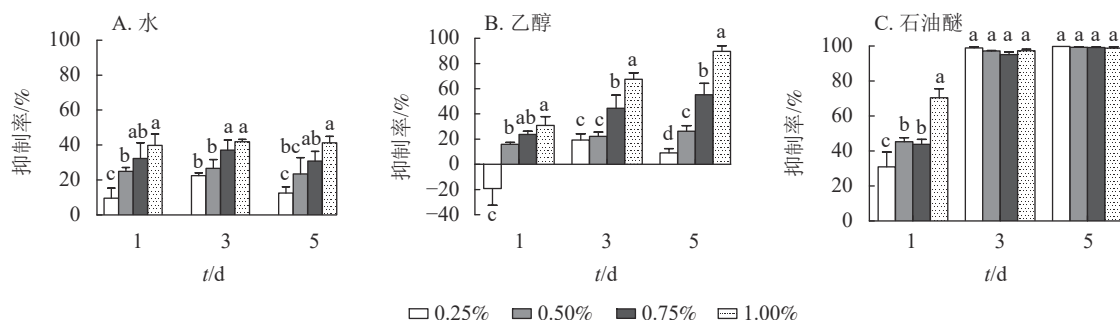
1.4.2 半最大效应质量浓度 采用 GraphPad Prism 8.0.2 进行逻辑回归 (Logistic regression) 分析, 根据提取物质量 (取对数) 和抑制率之间的关系曲线, 得出半最大效应质量浓度 ( $\text{EC}_{50}$ )。

1.4.3 统计分析 采用 SPSS 26.0 进行单因素方差分析, 显著性水平为 0.05, 数据为平均值  $\pm$  标准差。采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 圆叶节节菜不同溶剂提取物对铜绿微囊藻生长的影响

由图 1 可见: 3 种提取物处理下, 藻细胞的生长受到了不同程度的抑制, 并表现出剂量效应。圆叶节节菜的水提取物对铜绿微囊藻有一定的抑制效果 (图 1A), 各处理下抑制率均小于 50%, 且抑制率受



不同字母表示相同时间内不同质量分数处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图 1 圆叶节节菜 3 种提取物对铜绿微囊藻的抑制率

Figure 1 Inhibition rates of three solvent extracts from *R. rotundifolia* on *M. aeruginosa*

处理时间的影响较小,抑制率的阈值为9.7%~41.8%。由图1B所示:第1天,乙醇提取物的抑制率均低于30%,且提取物低质量分数(0.25%)处理下抑制率为负;第3天提取物高质量分数(1.00%)处理对铜绿微囊藻的抑制效果显著( $P<0.05$ ),抑制率达67.5%,其他处理下抑制率均小于50%;第5天提取物质量分数为0.75%和1.00%的处理有显著抑制效果( $P<0.05$ ),抑制率分别为55.2%和89.6%。如图1C所示:石油醚提取物对铜绿微囊藻具有显著的抑制作用( $P<0.05$ ),第1天提取物1.00%质量分数处理组抑制率达70.5%,第3天各处理组均有完全抑藻效果,且差异不显著,第5天各处理组抑制率基本不变。由此可见,圆叶节节菜水、乙醇和石油醚3种提取物的化感抑藻效应强度不同,抑藻能力由强到弱依次为石油醚、乙醇、水。

## 2.2 圆叶节节菜石油醚提取物的量效关系

进一步研究低质量分数处理下石油醚提取物对铜绿微囊藻抑制率的剂量-效应关系(图2)。第1天,各质量分数处理下,铜绿微囊藻的生长响应差异显著( $P<0.05$ ),质量分数为0.10%和0.20%的处理组,抑制率为负值。质量分数为0.80%的处理组抑制率较高(38.0%, $P<0.05$ )。第3天,各处理组对铜绿微囊藻增殖均有一定的抑制效果,且处理组质量分数越高,抑制率越高,出现明显剂量依赖关系;第5天,各处理组的抑制率显著上升( $P<0.05$ ),质量分数为0.40%和0.80%的高剂量组,抑制率高达97.8%和99.2%。将石油醚提取物质量分数(0.05%、0.10%、0.20%、0.40%和0.80%)转化为提取物质量浓度(5、10、20、40、80  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ),分别以各采样时间的提取物质量为横坐标,以抑制率为纵坐标,进行Logistic回归分析(表1),结果表明:圆叶节节菜石油醚提取物对铜绿微囊藻的半最大效应质量浓度随暴露时长的增加而降低,第3天和第5天均具有显著的剂量-效应关系,发挥效应所需的剂量质量浓度分别为23.15和11.56  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

## 2.3 圆叶节节菜与常见沉水植物抑藻作用对比

**2.3.1 对Chl a的影响** 本研究所采用的沉水植物提取物对铜绿微囊藻均有一定的抑制效果(图3)。第1天,相较于对照组,所有植物提取物处理对铜绿微囊藻的生长均有显著抑制作用( $P<0.05$ ),且圆叶节节菜和穗花狐尾藻处理铜绿微囊藻Chl a显著低于其他处理( $P<0.05$ ),说明这2种沉水植物抑藻响应时效较快。随着时间的增加,植物处理组Chl a均呈下降趋势,第5天,Chl a差异不显著,此时Chl a低于20  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。而对照组不受胁迫,Chl a随时间增加而升高,第5天Chl a高达1 013.89  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.3.2 对藻细胞 $F_v/F_m$ 的影响** 由图4可见:处理24 h,对照组 $F_v/F_m$ 稳定在较高水平,植物处理组的 $F_v/F_m$ 为0.02~0.06,为对照组的8.3%~13.9%,均显著低于对照组( $P<0.05$ ),但是处理组之间藻细胞的 $F_v/F_m$ 差异不显著。由此可见,铜绿微囊藻的光

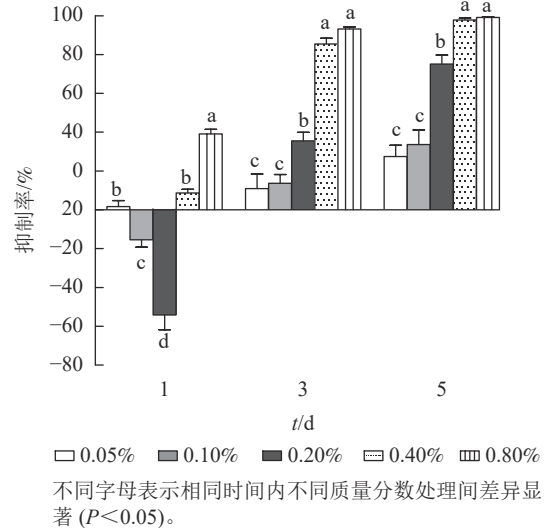


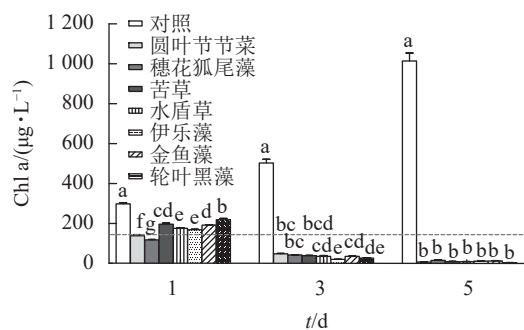
图2 不同时间下石油醚提取物对铜绿微囊藻抑制率的影响

Figure 2 Effect of petroleum ether extract concentration on inhibition rate of *M. aeruginosa* under different treatment times

表1 圆叶节节菜石油醚提取物抑藻的半有效剂量质量浓度

t/d	拟合方程	决定系数( $R^2$ )	$EC_{50}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$
1	$y=0.3288x-0.4679$	0.2084	87.54
3	$y=0.7845x-0.5432$	0.9069	23.15*
5	$y=0.6897x-0.2310$	0.9119	11.56*

说明:  $x$ 表示提取物质量(取对数);  $y$ 表示抑制率。\*表示差异显著( $P<0.05$ )。



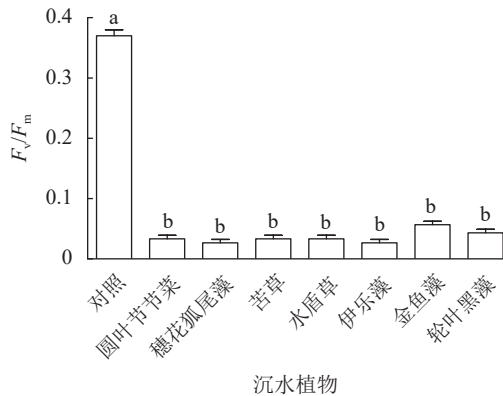
不同字母表示相同时间内不同植物处理间差异显著( $P<0.05$ ); 对照表示不添加提取物的处理组。

图3 不同沉水植物提取物对铜绿微囊藻叶绿素a(Chl a)质量浓度的影响

Figure 3 Effect of different submerged plant extracts on chlorophyll a (Chl a) content of *M. aeruginosa*

系统 PS II 对这几种沉水植物提取物的胁迫均较为敏感。

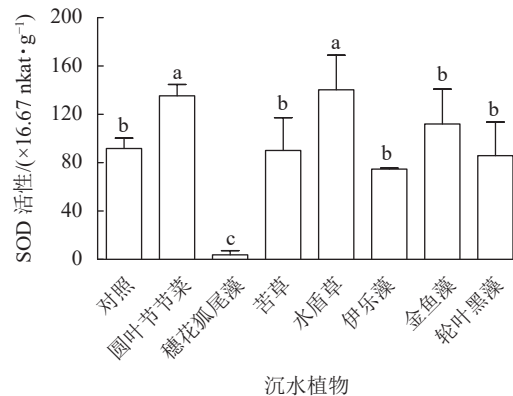
2.3.3 对藻细胞 SOD 活性的影响 从图 5 可见：圆叶节节菜和水盾草提取物处理组的胞内 SOD 活性分别是对照组的 1.48 和 1.53 倍，显著高于对照组和其他植物处理组 ( $P < 0.05$ )。穗花狐尾藻处理组的 SOD 活性显著低于对照组 ( $P < 0.05$ )，而苦草、金鱼藻、伊乐藻和轮叶黑藻提取物处理后藻细胞 SOD 活性与对照组无显著差异。



不同字母表示不同植物处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )；对照表示不添加提取物的处理组。

图 4 不同沉水植物提取物对铜绿微囊藻最大光化学效率 ( $F_v/F_m$ ) 的影响

Figure 4 Effect of different submerged plant extracts on maximum photochemical efficiency ( $F_v/F_m$ ) of *M. aeruginosa*



不同字母表示不同植物处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )；对照表示不添加提取物的处理组。

图 5 不同沉水植物提取物对铜绿微囊藻 SOD 活性的影响

Figure 5 Effect of different submerged plant extracts on SOD activity of *M. aeruginosa*

### 3 讨论与结论

植物抑制藻类生长主要归因于不同种类化感物质的胁迫，根据生物合成途径，已报道的植物化感物质可分为酚类、萜类、脂肪酸类和生物碱类等 4 种主要类型<sup>[16]</sup>。本研究中，圆叶节节菜水、乙醇和石油醚 3 种溶剂提取物对铜绿微囊藻的抑制效果差异显著，抑藻率从大到小依次为石油醚、乙醇、水。由此可见，非极性的石油醚提取物对铜绿微囊藻有较好的抑制效果。张胜娟<sup>[17]</sup>在研究槐叶萍 *Salvinia natans* 提取物对铜绿微囊藻抑制效应时，也得到了类似的结果，发现抑制作用由强到弱依次为乙酸乙酯、丙酮、乙醇、水，其中乙酸乙酯粗提物检测到不饱和脂肪酸类、酯类和芳香类化合物。但是高云霓等<sup>[18]</sup>采用正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮和甲醇这 5 种极性跨度较大的溶剂洗脱苦草分泌物的化感物质后，发现甲醇洗脱组分抑藻活性最强，最佳活性抑藻组分为咖啡酸、原儿茶酸、香草酸等 9 种酚酸类化感物质。说明不同种类植物的化感物质可能有较大的差异。溶剂的极性大小决定了植物组织内各种成分在不同溶剂中的溶解性，极性溶剂获得较多亲水性化感物质，非极性溶剂获得较多亲脂性化感物质<sup>[19]</sup>。本研究中，3 种提取液颜色差异明显，水、乙醇和石油醚提取液分别为棕黄色、深绿色和明黄色，后续研究将对这 3 种提取物的主要成分进行分析比较，研究其抑藻效能。不同极性溶剂提取物抑藻效应的作用方式不同，导致藻细胞受到胁迫时敏感性不一，从而影响起效时间和有效时长<sup>[20]</sup>。目前研究较多的亲水性化感物质组分为酚酸类，如阿魏酸、丙二酸可增加细胞膜通透性，导致细胞内容物外流和诱导脂质过氧化，从而造成藻细胞生长抑制或细胞坏死<sup>[21]</sup>；香草酸和肉桂酸可使 Chl a 和藻胆蛋白下降，破坏铜绿微囊藻细胞的捕光天线<sup>[22]</sup>。亲脂性化感物质的作用方式则是直接接触破坏脂溶性生物细胞膜进入细胞，在胞内溶解、吸收、分布和转运，从而影响一系列生理生化活动<sup>[23]</sup>。例如 2-甲基乙酸乙酯可能引起藻细胞质膜完整性改变，造成  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$  泄漏<sup>[24]</sup>；N-苯基-2-萘胺可能通过破坏细胞膜、增加超氧阴离子自由基  $O_2^-$  含量、降低 Chl a 等方式抑制铜绿微囊藻细胞的生长<sup>[25]</sup>。

本研究发现：第 3 天和第 5 天均具有显著的剂量-效应关系。而研究初期（第 1 天），2 个低质量分数（0.10% 和 0.20%）处理组抑制率出现负值，说明圆叶节节菜化感物质对藻细胞生长也符合低促高抑的 Hormesis 效应。这一效应也出现在了圆叶节节菜乙醇提取物对铜绿微囊藻作用的第 1 天，即低质量分数（0.25%）处理下抑制率为负。这与董颖娜等<sup>[26]</sup>的研究结果一致，分析原因认为可能低质量分数的化感物

质改变了藻细胞的通透性,减小了物质传输阻力,促进了藻细胞对营养盐的吸收和利用。

光合作用是藻类生长过程中最重要的生理过程之一。圆叶节节菜和其他沉水植物提取物处理后,铜绿微囊藻 Chl a 质量浓度均显著下降。穗花狐尾藻和圆叶节节菜响应最快,原因是不同植物源的化感物质活性不同,抑藻效果也不尽相同。随着处理时间的延长,各沉水植物提取物的抑藻效果无显著差异。张之浩等<sup>[27]</sup>的研究也得到了类似的结果,即苦草、轮叶黑藻、狐尾藻 *Myriophyllum verticillatum* 等常见沉水植物衍生的化感物质能显著降低富营养化水体中的 Chl a 质量浓度,对水体中浮游藻类的抑制效应较明显且稳定。 $F_v/F_m$  是衡量藻类 PS II 光合性能的主要参数,是表征藻类光合作用效率的重要指标<sup>[28]</sup>。PS II 是化学物质作用于藻类细胞的重要位点之一,孙东等<sup>[29]</sup>研究了天然植物成分原儿茶酸抑制米氏凯轮藻 *Karenia mikimotoi* 的生长机制,发现其阻碍了米氏凯轮藻的 PS II 电子传递和电子吸收途径。熊珍珠等<sup>[30]</sup>在调查水杨酸对刚毛藻 *Cladophora* 的抑制机制时,发现其  $F_v/F_m$  迅速下降,PS II 光合活性显著降低。本研究不同沉水植物化感物质处理 24 h 后,铜绿微囊藻细胞  $F_v/F_m$  均大幅降低,可见藻细胞 PS II 会受到各种沉水植物提取物的胁迫损伤,降低藻光合作用效率,使同化产物减少,从而抑制其生长。

藻细胞在正常代谢下,由于氧化磷酸化过程,细胞器会产生适量的活性氧 (ROS)。受到外界环境胁迫时,胞内 ROS 水平升高造成细胞损伤,但藻细胞的抗氧化系统也有自身的调节机制<sup>[31]</sup>。SOD 是植物抗氧化系统的首要防线,在清除 ROS 方面发挥着重要作用,其活性可直接反映生物体抵御不良环境的能力<sup>[32-33]</sup>。本研究中,圆叶节节菜与水盾草提取物处理 24 h 显著提高了铜绿微囊藻细胞的 SOD 活性,说明铜绿微囊藻抗氧化系统通过升高 SOD 活性以平衡 ROS 来减轻机体伤害。但穗花狐尾藻处理组的 SOD 活性显著低于对照组。赵文婧<sup>[34]</sup>采用穗花狐尾藻提取物处理铜绿微囊藻也观察到了这个现象,当提取物质量浓度为 5、10 和 20  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,铜绿微囊藻的 SOD 活性均先升高后降至显著低于对照。可能当 ROS 过高时,SOD 合成结构遭到破坏,活性氧不能被抗氧化酶及时清除,藻细胞大量死亡,抗氧化酶活性下降<sup>[35]</sup>。

综上所述,沉水态圆叶节节菜水、乙醇、石油醚提取物对铜绿微囊藻均有一定的抑制效应,其中以石油醚提取物效果最佳,并具有显著的剂量-效应关系。圆叶节节菜提取物和穗花狐尾藻提取物的抑藻能力相较其他沉水植物具有一定的快速响应优势。圆叶节节菜化感物质胁迫铜绿微囊藻细胞生长具有多方面的生理作用,可降低藻细胞 Chl a 质量浓度和  $F_v/F_m$ , 升高抗氧化酶 SOD 活性。

## 4 参考文献

- [1] REDDY V R, CUNHA D G F, KURIAN M. A water-energy-food nexus perspective on the challenge of eutrophication [J/OL]. *Water*, 2018, **10**(2): 101 [2022-08-01]. doi: 10.3390/w10020101.
- [2] HUISMAN J, CODD G A, PAERL H W, et al. Cyanobacterial blooms [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, **16**(8): 471 - 483.
- [3] 罗敏纳. 太湖流域浮游植物功能类群分布特征及水质生物学评价[D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学, 2022.  
LUO Minna. *Distribution Characteristics of Phytoplankton Functional Groups and Biological Evaluation of Water Quality in Taihu Basin* [D]. Harbin: Harbin Normal University, 2022.
- [4] 殷鹏, 张建华, 华萍, 等. 2021年太湖安全度夏水利措施效益分析[J]. *江苏水利*, 2022(7): 26 - 29.  
YIN Peng, ZHANG Jianhua, HUA Ping, et al. Benefit analysis of water conservancy measures for safe summer in Lake Taihu in 2021 [J]. *Journal of Jiangsu Water Resources*, 2022(7): 26 - 29.
- [5] 史小丽, 杨瑾晟, 陈开宁, 等. 湖泊蓝藻水华防控方法综述[J]. *湖泊科学*, 2022, **34**(2): 349 - 375.  
SHI Xiaoli, YANG Jinsheng, CHEN Kaining, et al. Review on control and mitigation strategies of lake cyanobacterial blooms [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2022, **34**(2): 349 - 375.
- [6] ZHU Xiaoqin, DAO Guohua, TAO Yi, et al. A review on control of harmful algal blooms by plant-derived allelochemicals[J/OL]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, **401**: 123403 [2022-08-01]. doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123403.
- [7] LI Benhang, YIN Yijun, KANG Longfei, et al. A review: application of allelochemicals in water ecological restoration-algal inhibition[J/OL]. *Chemosphere*, 2021, **267**: 128869 [2022-08-01]. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.128869.
- [8] PENG Xue, LIN Qingwei, LIU Biyun, et al. Effect of submerged plant coverage on phytoplankton community dynamics and

- photosynthetic activity in situ[J/OL]. *Journal of Environmental Management*, 2022, **301**: 113822[2022-08-01]. doi: 10.1016/j.jenvman.2021.113822.
- [9] VERHOFSTAD M J J M, ALIRANGUES N M M, REICHMAN E P, *et al.* Mass development of monospecific submerged macrophyte vegetation after the restoration of shallow lakes: roles of light, sediment nutrient levels, and propagule density [J]. *Aquatic Botany*, 2017, **141**: 29 – 38.
- [10] 汤鹏, 于鲁冀, 彭赵旭, 等. 水生植物化感作用抑藻研究进展[J]. 生物学杂志, 2021, **38**(4): 104 – 108.  
TANG Peng, YU Lujie, PENG Zhaoxu, *et al.* Research progresses on algae inhibition by allelopathy of aquatic plants [J]. *Chinese Journal of Biology*, 2021, **38**(4): 104 – 108.
- [11] 钱凯荣, 马增岭, 李仁辉, 等. 植物化感作用研究进展——以抑制铜绿微囊藻生长为例[J]. 生物技术通报, 2021, **37**(4): 177 – 193.  
QIAN Kairong, MA Zengling, LI Renhui, *et al.* Progress in the study of allelopathy in plants: a case study of inhibiting *Microcystis aeruginosa* growth [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2021, **37**(4): 177 – 193.
- [12] LIU Jixiang, CHANG Yajun, SUN Linhe, *et al.* Abundant allelochemicals and the inhibitory mechanism of the phenolic acids in water dropwort for the control of *Microcystis aeruginosa* blooms [J]. *Plants*, 2021, **10**(12): 2653 – 2653.
- [13] YANG Yunlong, ZHANG Xiaying, XIAO Jibo, *et al.* Nutrient removal by *Rotala rotundifolia*: a superior candidate for ecosystem remediation at low temperatures [J]. *Royal Society of Chemistry*, 2020, **10**(49): 29139 – 29146.
- [14] XUAN Huanglin, DAI Xianzhu, LI Jing, *et al.* A *Bacillus* sp. strain with antagonistic activity against *Fusarium graminearum* kills *Microcystis aeruginosa* selectively [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, **583**: 214 – 221.
- [15] 任秋芳, 阿依巧丽, 朱智, 等. 三峡水域季节及养分对铜绿微囊藻生长的影响——模拟乌江回水区水环境的研究[J]. 重庆师范大学学报(自然科学版), 2010, **27**(1): 42 – 46.  
REN Qiufang, A Yiqiaoli, ZHU Zhi, *et al.* The effects of season and nutrients on the growth of *Microcystis aeruginosa* in Three Gorges reservoir water area: a study under the simulated conditions of water environment of the water-back up area of Wujiang [J]. *Journal of Chongqing Normal University (Natural Science Edition)*, 2010, **27**(1): 42 – 46.
- [16] ZHU Qiuyin, WU Biyun, ZHAO Ling. Effect of algicidal compound *N*-acetylhistamine on physiological response and algal toxins in *Heterosigma akashiwo*[J/OL]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, **208**: 11423[2022-08-01]. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.11423.
- [17] 张胜娟. 槐叶萍对富营养盐的耐受性及其抑藻效应[D]. 芜湖: 安徽师范大学, 2015.  
ZHANG Shengjuan. *Inhibitory Effect of Salvinia natans (L.) All. on Algae and Its Tolerance to the Stress of Eutrophication* [D]. Wuhu: Anhui Normal University, 2015.
- [18] 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 Yunni, LIU Biyun, WANG Jing, *et al.* Allelopathic effects of phenolic compounds released by *Vallisneria spiralis* on *Microcystis aeruginosa* [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2011, **23**(5): 761 – 766.
- [19] NUR A Y, NURSYAFREENA A, ROSWANIRA A W. An overview of cosmeceutically relevant plant extracts and strategies for extraction of plant-based bioactive compounds [J]. *Food and Bioproducts Processing*, 2018, **112**: 69 – 85.
- [20] GROSS E M, ERHARD D, IVANYI E. Allelopathic activity of *Ceratophyllum demersum* L. and *Najas marina* ssp. *intermedia* (Wolfgang) Casper [J]. *Hydrobiologia*, 2003, **506**: 583 – 589.
- [21] 杨超慧, 王超, 欧阳萍, 等. 丙二酸对铜绿微囊藻的抑制效果[J]. 水资源保护, 2021, **37**(3): 121 – 126.  
YANG Chaohui, WANG Chao, OUYANG Ping, *et al.* Inhibitory effect of malonic acid on *Microcystis aeruginosa* [J]. *Journal of Water Resource and Protection*, 2021, **37**(3): 121 – 126.
- [22] 侯新星, 田如男. 有机酸对铜绿微囊藻生长及光合色素的影响[J]. 生物学杂志, 2021, **38**(4): 65 – 70.  
HOU Xinxing, TIAN Runan. Effects of organic acids on growth and photosynthetic pigment of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Chinese Journal of Biology*, 2021, **38**(4): 65 – 70.
- [23] 周佳宇, 戴传超, 陈晏, 等. 植物促生微生物挥发性物质的生态功能研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2013, **21**(2): 141 – 148.  
ZHOU Jiayu, DAI Chuanchao, CHEN Yan, *et al.* Ecological functions of volatiles produced by plant growth-promoting micro-organisms [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2013, **21**(2): 141 – 148.

- [24] LI Fengmin, HU Hongying. Isolation and characterization of a novel antialgal allelochemical from *Phragmites communis* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**(11): 6545 – 6553.
- [25] 柴天, 严辉智, 刘建福, 等. N-苯基-2-萘胺对铜绿微囊藻的化感作用[J]. 农村经济与科技, 2017, **28**(增刊1): 204 – 206.  
CHAI Tian, YAN Huizhi, LIU Jianfu, *et al.* Allelopathy of N-phenyl-2-naphthaline on *Microcystis aeruginosa* [J]. *Rural Economy Science Technology*, 2017, **28**(suppl 1): 204 – 206.
- [26] 董颖娜, 冯彬, 王冰璇, 等. 香蒲水浸提液对铜绿微囊藻的化感作用[J]. 生态学杂志, 2018, **37**(2): 498 – 505.  
DONG Yingna, FENG Bin, WANG Bingxuan, *et al.* Allelopathy of aqueous extract of cattail on *Microcystis aeruginosa* [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2018, **37**(2): 498 – 505.
- [27] 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 Zhihao, WU Xiaofu, LI Wei. 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.
- [28] LIU Na, ZHANG Han, ZHAO Jinfeng, *et al.* Mechanisms of cetyltrimethyl ammonium chloride-induced toxicity to photosystem II oxygen evolution complex of *Chlorella vulgaris* F1068 [J/OL]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, **383**: 121063 [2022-08-01]. doi: 10.1016/j.jhazmat.2019.121063.
- [29] 孙东, 陈琪, 朱博, 等. 海芒果果实水提物及其原儿茶酸对米氏凯伦藻光合系统 II 的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2021, **41**(3): 52 – 59.  
SUN Dong, CHEN Qi, ZHU Bo, *et al.* Effect of fruit water extract and protocatechuic acid from *Cerbera manghas* L. on photosynthetic system II in *Karenia mikimotoi* [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2021, **41**(3): 52 – 59.
- [30] 熊珍珍, 毕永红. 水杨酸对刚毛藻生长的抑制作用[J]. 生态毒理学报, 2021, **16**(6): 304 – 312.  
XIONG Zhenzhen, BI Yonghong. Growth inhibition of salicylic acid on *Cladophora oligoclona* [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2021, **16**(6): 304 – 312.
- [31] SIMONA D, CONCETTA, S, GIULIANA L R, *et al.* Metabolism regulation and redox state: insight into the role of superoxide dismutase 1 [J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, **21**(18): 6606 [2022-08-01]. doi: 10.3390/ijms21186606.
- [32] 马浩天, 张飞, 张宏江, 等. 两株淡水湖泊常见沉水植物共培养对斜生栅藻的抑制作用[J]. 生物学杂志, 2020, **37**(3): 72 – 75.  
MA Haotian, ZHANG Fei, ZHANG Hongjiang, *et al.* The inhibition effect of two common limnetic submerged macrophytes on *Scenedesmus obliquus* under co-culture condition [J]. *Chinese Journal of Biology*, 2020, **37**(3): 72 – 75.
- [33] 卢桂蓉, 王应军, 范子奇. 稀土元素La(III)对铜绿微囊藻生长和生理特性的影响[J]. 生态毒理学报, 2021, **16**(6): 256 – 267.  
LU Guirong, WANG Yingjun, FAN Ziqi. Effects of La(III) on the growth and physiological characteristics of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2021, **16**(6): 256 – 267.
- [34] 赵文婧. 三种沉水植物去除水体氮磷与化感抑藻效果比较研究[D]. 杭州: 杭州师范大学, 2020.  
ZHAO Wenjing. *Comparative Study on Nitrogen-Phosphorus Removal and Allelochemical Inhibition of Algae by Three Submerged Plants* [D]. Hangzhou: Hangzhou Normal University, 2020.
- [35] 贾惠雁, 陈永华, 陈明利, 等. 5种水生植物对铜绿微囊藻的抑制与生理影响研究[J]. 农业现代化研究, 2019, **40**(6): 1056 – 1064.  
JIA Huiyan, CHEN Yonghua, CHEN Mingli, *et al.* Allelopathic effect of five aquatic plants on *Microcystis aeruginosa* [J]. *Research of Agricultural Modernization*, 2019, **40**(6): 1056 – 1064.