

# Inhibitory Effect of Salt Marsh Halophyte *Salicornia Europaea* on *Prorocentrum Donghaiense*

## 滩涂盐生植物盐角草对东海原甲藻生长的抑制效应

姜丹<sup>1,2</sup> 黄凌风<sup>3</sup> 张可<sup>3</sup> 董鸣<sup>2</sup> 王慧中<sup>2</sup> 匡廷云<sup>1,2</sup> 李银心<sup>1</sup>

(1 中国科学院植物研究所 植物分子生理学重点实验室, 北京 100093;

2 杭州师范大学 生命与环境科学学院, 生态系统保护与恢复杭州市重点实验室, 浙江 杭州 310036;

3 厦门大学 海洋与环境学院, 滨海湿地生态系统教育部重点实验室, 福建 厦门 361005)

JIANG Dan<sup>1,2</sup> HUANG Ling-Feng<sup>3</sup> ZHANG Ke<sup>3</sup> DONG Ming<sup>2</sup> WANG Hui-Zhong<sup>2</sup> KUANG Ting-Yun<sup>1,2</sup> LI Yin-Xin<sup>1</sup>

(1 Key Laboratory of Plant Molecular Physiology, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093;

2 Key Laboratory of Hangzhou City for Ecosystem Protection and Restoration, College of Life and Environmental Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036; 3 Key Laboratory of Coastal and Wetland Ecosystems, Xiamen University, Xiamen 361005)

**摘要** 利用植物抑制藻类生长是目前海洋赤潮治理的有效生态手段之一。以东海原甲藻为材料, 研究了滩涂盐生植物盐角草对东海原甲藻生长的抑制效应。结果显示: 盐角草过滤培养液和 4 种根的有机相提取物 (甲醇相、正丁醇相、氯仿相和石油醚相) 能显著抑制东海原甲藻的生长, 改变细胞大小。其中, 石油醚相和正丁醇相提取物还能影响藻细胞 Chl *a* 含量。有机相提取物中以甲醇相提取物的抑制效果最强, 对盐角草甲醇相提取物进行 GC-MS 分析, 得到 27 种化合物, 含量最高的 3 个组分为 5-羟甲基-2-呋喃甲醛、棕榈酸和 4-乙烯基-2-甲氧基-苯酚。研究表明: 滩涂盐生植物盐角草能够抑制东海原甲藻的生长, 具备开发新型赤潮生物抑藻剂的潜力, 有望应用于海洋赤潮的防治。

**关键词** 培养过滤液; 浓度效应; 抑制作用; 甲醇相提取物; 东海原甲藻; 盐角草



**Abstract** Phytoremediation, as one of the mechanisms for controlling marine algal blooms, is becoming an ecologically sustainable approach in recent years. In this work, we investigated the inhibitory effect of salt marsh halophyte *Salicornia europaea* on *Prorocentrum donghaiense*. Growth of *P. donghaiense* was not inhibited by the water extracts of *S. europaea* root, but the culture filtrate of *S. europaea* and four organic extracts. The inhibitory of organic extracts was dose-dependent, and *P. donghaiense* was most sensitive to the methanol extract. GC-MS analysis of the methanol extract revealed 27 lipophilic compounds, in which 2-furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)-, n-hexadecanoic acid and 2-methoxy-4-vinylphenol were the most abundant components. Together, our results suggested that salt marsh halophyte *S. europaea* might be applied as a new type material to control the growth of *P. donghaiense*.

**Key words** Culture filtrate, Dose-dependent, Inhibitory effects, Methanol extract, *Prorocentrum donghaiense*, *Salicornia europaea*

doi:10.3969/j.issn.1673-3290.2014.01.11

赤潮是国际社会共同关注、急需解决的海洋环境问题之一 (Glibert et al, 2001)。自上世纪90年代以来,我国赤潮的发生呈现出“大范围、高频率、多种类、快节奏”的特点。根据国家海洋局资料显示,近年来东海原甲藻 *Prorocentrum donghaiense* Lu 已成为我国沿海常见的有害赤潮生物 (周名江等, 2006), 特别是在长江口与浙江北部沿岸水域春季常常形成数百至数千万平方公里的特大规模赤潮, 给当地的经济造成了巨大的损失, 并威胁到海洋生态系统的稳定和人类健康, 引起了各级政府及学者的高度重视。因此, 探索经济有效、对环境友好的赤潮防治方法对于海洋生态保护、沿海经济的可持续发展具有重要意义。近年来利用植物之间的拮抗作用治理赤潮藻已逐渐成为研究热点, 研究发现大型海藻能分泌抑制赤潮生物的化学物质, 主要有江蓠属、紫菜属、石莼属、海带属、角藻属、麒麟菜属和浒苔属等 (Wang et al, 2009; 黄姿等, 2008), 其中一些具有生物活性的化学物质已经被成功地提取和纯化 (Mac í as et al, 2008)。但关于高等植物应用到海洋赤潮治理的报道还很少, 近年来备受关注的海洋滩涂植物, 特别是滩涂盐生植物以其耐盐性、耐污性和对营养盐吸收的高效性, 逐渐被应用到海水富营养化的治理中, 并预期在防治近海赤潮方面体现出应用前景 (Jiang et al, 2012)。

盐角草 *Salicornia europaea* 是地球上迄今为止报道过的最耐盐的高等植物之一 (赵可夫等, 1999), 可作为重要的耐盐基因供体及研究耐盐机理的目标植物。关于盐角草耐盐的生理特征和机制研究目前已有不少报道 (Ushakova et

al, 2005), Ozawa 等 (2007) 还发现盐角草能耐受和积累重金属。尽管盐角草在盐碱地环境改良和海水灌溉等方面发挥了重要的作用, 但对于盐角草在海洋生态化学等方面的作用还鲜为人知。本文以典型赤潮藻——东海原甲藻为研究对象, 探讨盐角草对赤潮藻生长的影响及其可能存在的抑藻物质, 以期为我国近海东海原甲藻赤潮的生物治理提供科学依据。

## 1 实验材料与方 法

### 1.1 实验材料

盐角草幼苗和植株: 挑选饱满的盐角草种子 (江苏晶隆海洋产业发展有限公司) 播种于蛭石发芽床中, 待长出第一片真叶时改用厦门西海域海水培养, 其盐度为 28 ~ 33 psu (practical salinity unit)。

实验所用东海原甲藻无菌株由厦门大学海洋生态实验室提供 (编号为 XMDP0701)。藻种无菌培养于 f/2 培养液中, 培养温度为 20℃, 光强为 70  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ , 光周期为 12 h : 12 h。培养液的 pH 值和盐度分别调至 8.0±0.2 和 30 psu。每天定时晃动培养瓶 2 次, 以防止藻附壁生长。

实验海水: 厦门西海域海水经醋酸纤维滤膜 (0.22  $\mu\text{m}$ ) 过滤以除去微藻和颗粒物, 用 f/2 营养液加富, 海水 pH 值和盐度分别调至 8.0±0.2 和 30 psu, 高压灭菌后冷却备用。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 盐角草过滤培养液对藻生长的抑制实验** 将新鲜的盐角草植株种植于 f/2 培养液中, 使种植密度达到每升培养液中有 10、30 和 60 g 植物鲜重 (FW), 即密度分别为 10、30 和 60 g FW/L。在培养过程中, 每隔 5 d 添加 f/4 营

养液和无菌蒸馏水以维持水中营养盐和培养液体积恒定。30 d 后, 移去盐角草, 然后将培养液用高压灭菌过的滤膜 (Whatman GF/F, 0.65  $\mu\text{m}$  和醋酸纤维滤膜, 0.22  $\mu\text{m}$ ) 过滤, 并且用 f/2 营养液重新加富, 调整 pH 值和盐度至 8.0±0.2 和 30 psu。将东海原甲藻立即接种于盐角草过滤培养液中。培养于经过高压灭菌的 f/2 培养液中的藻作为对照。东海原甲藻的初始接种密度为 7.00 × 10<sup>3</sup> cells/mL。培养条件同 1.1, 每组实验设 3 个平行样, 观察藻细胞数量变化, 并用 Multisizer™ 3 颗粒计数器 (Beckman Coulter) 分析测定细胞大小。

### 1.2.2 盐角草根系提取物的制备

实验开始前先将盐角草新鲜根系冷冻干燥并研磨成粉, 经 200 目筛绢过滤备用。实验分别用蒸馏水和 4 种具有不同极性的有机溶剂 (极性从高到低: 甲醇 (methanol) > 正丁醇 (butanol) > 氯仿 (chloroform) > 石油醚 (petroleum ether)) 抽提根粉末。取 20 g 根粉末与 100 mL 石油醚混合, 用超声波萃取 1 h, 并放置在 20℃ 的黑暗环境中抽提 24 h, 收集抽提液, 用同样方法再抽提 2 次直至抽提液为无色, 合并 3 次抽提所得的抽提液, 经 Whatman GF/F (0.65  $\mu\text{m}$ ) 过滤后在旋转蒸发器上减压蒸干, 得到石油醚相提取物; 残余粉末依次经氯仿、正丁醇、甲醇和水用同样方法进行抽提、过滤并蒸干得到各自提取物。取各组分提取物少量分别用石油醚、丙酮和水溶解, 进行毒性鉴定。质量浓度以 g/L 表示 (即每升溶剂中含有多少克干重提取物)。实验时, 助溶剂体积浓度 ≤ 0.1% (预实验表明该浓度范围内对东海原甲藻的生长没有影响)。

**1.2.3 根系提取物对东海原甲藻生长的抑制实验** 实验采用 100 mL 的三角烧瓶, 内含 40 mL 新鲜 f/2 培养液。取处于指数生长期的东海原甲藻立即接种于培养液中, 藻的初始细胞密度分别为  $3 \times 10^3$  cells/mL。

根据预实验结果, 确定各种提取物对东海原甲藻生长的适宜实验浓度。培养条件同 1.1。每组实验设 3 个平行样, 每隔 1 d 或 2 d 观察藻的细胞密度变化。取处于指数生长期的细胞, 分别测定各种处理组中藻细胞大小和 Chl *a* 浓度。藻细胞大小用颗粒计数器 Multisizer™ 3(Beckman Coulter) 分析, Chl *a* 浓度的测定参照 Jiang 等 (2012)。

**1.2.4 甲醇相提取物 GC-MS 分析** 实验用 GC-MS 分析仪进行测定。所用 GC-MS 分析仪为美国瓦里安 (VARIAN) 公司 CP-3800/320-MS 气相色谱-串联质谱联用仪, 配有 COMBI PAL 自动进样器、PAI System 顶空分析自动控制系统。

**色谱条件:** 色谱柱为 DB-5MS 毛细管色谱柱 (60 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 载气: 高纯氦气 (纯度 ≥ 99.999%), 载气流速为 1.5 mL/min; 进样口温度 260℃; 程序升温条件: 初始温度为 60℃, 保留 1 min, 以 5℃/min 升温至 280℃ 并保持 20 min; 瞬间不分流; 进样量 1 μL。

**质谱条件:** 电子轰击离子源 (EI); 电子轰击能量: 70 eV; 离子源与传输线温度分别为 230℃ 和 280℃; 质量扫描方式为全部扫描, 质量扫描范围为 50 ~ 820 m/z; 质谱数据运用 NIST 2002 质谱数据库进行图谱检索。

### 1.3 数据处理与统计分析

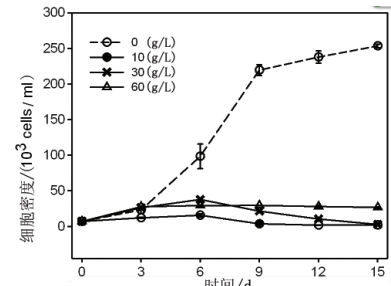
实验结束后, 根据测定得到的 Chl *a* 质量浓度, 分别计算单个细胞以及单位藻体积 Chl *a* 含量。在实验结束后, 根据藻在不同处理组中最大种群密度和比生长速率 ( $\mu$ ) (Eppley, 1972) 决定盐角草对藻的抑制作用。同时, 根据实验期间各个处理组中藻的比生长率, 计算盐角草提取物对藻生长的抑制率 (IR) (Faust et al, 2001)。然后分别用直线型 (Linear)、指数型 (Exponential)、Sigmoidal 型 (Boltzmann 和 Logistic) 以及多项式模型 (Polynomial) 进行标准化, 根据拟合度最高的模型计算不同提取物和过滤培养液对藻的半抑制浓度 ( $IC_{50}$ )。

利用 OriginPro 8.0 对实验数据作图; 采用 SPSS17.0 中的方差分析 (ANOVA) 检验各个处理下实验组与对照组的差异显著性, 并用 Tukey's 检测 ( $p < 0.05$ ) 对各个处理组间进行多重比较。

## 2 结果与分析

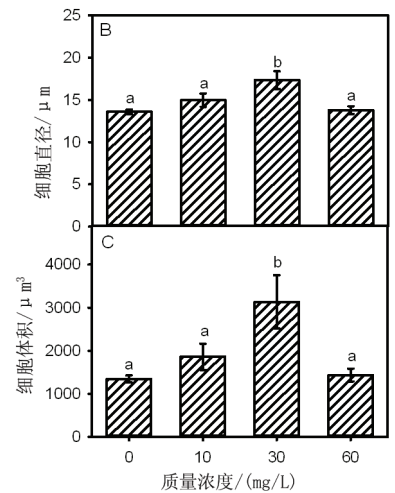
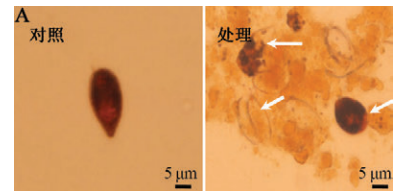
### 2.1 盐角草过滤培养液对东海原甲藻生长的抑制作用

为了检测盐角草是否能影响东海原甲藻的生长, 我们对盐角草的过滤培养液进行了毒性鉴定。与对照组相比, 在实验浓度范围内, 培养过滤液显著抑制东海原甲藻的生长, 其细胞密度不足对照组的 1/10 (图 1)。同时, 在培养过滤液的作用下, 发生藻细胞丛生、粘团和细胞内容物外溢等现象 (图 2A)。在培养过滤液浓度为 30 g FW/L 时, 藻细胞大小发生明显的变化, 其细



图中数据为平均值 ( $n=6$ ) ± 标准误差

图 1 东海原甲藻在不同浓度盐角草过滤培养液中的生长曲线



图中数据为平均值 ( $n=50$ ) ± 标准误差。标有相同字母的数据表示差异不显著 ( $P < 0.05$ )

图 2 不同浓度盐角草过滤培养液对东海原甲藻细胞形态和大小的影响

胞直径与体积分别是对照组的 1.33 和 2.33 倍 (图 2 B 和 C)。

### 2.2 盐角草根的提取物对东海原甲藻生长的影响

实验结果显示, 4 种有机相提取物对东海原甲藻的生长均具有一定的抑制作用, 且随着提取物浓

表 1 盐角草根系有机相提取物对东海原甲藻比生长速率的  $IC_{50}$  值

有机相提取物	$IC_{50}$		
	以提取物干重计算 / (mg/L)	提取物占根干重比例 / %	以根干重计算 / (g/L)
甲醇相	15.18	0.77	1.97
正丁醇相	11.99	0.29	4.02
氯仿相	14.12	0.69	2.04
石油醚相	91.22	0.11	85.17

度的升高,其抑制作用增强。如表1所示,根据拟合回归方程得出,甲醇相提取物对藻生长的抑制作用最强,其IC<sub>50</sub>为1.97 g/L,其次是氯仿相提取物,石油醚相提取物的抑制效果最弱。在各种提取物作用下,随着提取物浓度升高,藻细胞直径变长,体积变大(表2)。同时,与对照组相比,石油醚相和正丁醇相提取物能够影响单个藻细胞的Chl a含量,其中单个藻细胞的Chl a含量随石油醚相提取物质量浓度升高而增加,而在正丁醇相提取物作用下,Chl a含量出现先升后降的现象。

与有机相提取物不同,在实验浓度下,盐角草根的水提取物对东海原甲藻生长的抑制作用不明显,藻细胞大小也没有发生明显变化(表2)。

### 2.3 盐角草根的甲醇相提取物GC-MS分析结果

根据表1结果,每克根干重中甲醇相提取物对藻生长的抑制作用最大,因此,选取甲醇相提取物进行初步的成分分析。通过GC-MS分析,从盐角草根甲醇提取物中得到27种化合物(表3)。由表3可知,在这些化合物中,主要成分为酚酸类、萜类、脂肪酸及其衍生物和杂环类化合物等。其中,甲醇提取物中相对含量最高的3个组分是2-furancarboxaldehyde,5-(hydroxymethyl)-(5-羟甲基-2-呋喃甲醛)、n-hexadecanoic acid(棕榈酸)和2-methoxy-4-vinylphenol(4-乙烯基-2-甲氧基-苯酚),其含量分别是22.93%、21.23%和8.89%。

## 3 讨论

### 3.1 盐角草过滤培养液的抑制作用

相对于陆生生物赖以生存的土

表2 盐角草根系提取物对东海原甲藻细胞生长的影响

	质量浓度 / (mg/L)	细胞直径 / μm	细胞体积 / μm <sup>3</sup>	单个藻细胞 Chl a 含量 / (× 10 <sup>-12</sup> g/cell)
石油醚相	0.00	12.3±0.02	920.29±3.58	1.54±0.07
	5.00	12.4±0.03	946.98±7.77	1.65±0.07
	10.00	12.56±0.02	983.34±5.00	2.02±0.01*
	15.00	12.75±0.04*	1112.11±10.21*	2.11±0.03*
	30.00	13.76±0.33**	1420.18±105.58**	2.19±0.03*
氯仿相	0.00	12.43±0.05	1039.36±14.50	2.36±0.02
	1.00	12.05±0.05	945.09±11.64	2.12±0.08
	5.00	12.3±0.07	998.39±11.65	2.27±0.11
	10.00	12.93±0.15*	1166.79±39.91*	2.83±0.02
	20.00	12.69±0.07*	1100.70±18.86*	2.61±0.03
正丁醇相	0.00	12.12±0.01	908.54±33.93	1.41±0.15
	2.50	12.05±0.10	951.32±26.28	1.33±0.01
	7.50	12.25±0.01	1000.07±2.77	2.86±0.76**
	15.00	12.97±0.10*	1290.41±38.71*	0.89±0.01
	30.00	13.66±0.51**	1554.33±202.04**	0.45±0.23
甲醇相	0.00	12.1±0.12	953.95±29.53	2.52±0.03
	1.00	12.28±0.04*	994.73±10.63	2.43±0.19
	5.00	12.48±0.24*	1046.25±62.72	2.59±0.08
	7.50	12.80±0.16**	1127.67±43.42*	2.70±0.10
	15.00	13.36±0.07**	1276.39±19.91**	2.16±0.44
水相	0.00	12.81±0.22	1140.49±57.63	-
	25.00	12.58±0.24	1086.67±64.72	-
	50.00	13.45±0.26	1334.45±73.94	-
	100.00	13.06±0.21	1198.76±55.65	-
	200.00	12.49±0.25	1073.13±64.93	-

注:表中数据为平均值(n=6或50)±标准误差。\*表示P<0.05,\*\*表示P<0.01

壤和空气,水生生态系统中植物生活的基质是水。水的流动性造成植物所释放的抑藻物质不断被稀释,这就要求植物必须通过特殊的机制,释放并维持其抑藻物质的有效浓度,从而保持对其他生物的作用(Mac í as, 2008)。Nakai等(1999)报道了大型水生植物穗花狐尾藻*Myriophyllum spicatum*在抑制蓝藻生长时,需要连续分泌一些不稳定的抑制物质;当一次性添加穗花狐尾藻的过滤培养液时,铜绿微囊藻*Microcystis aeruginosa*的生长不能被显著抑制,而连续添加穗花狐尾藻过滤培养液对铜绿微囊藻的生长具有明显的抑制效果。van Donk等(2002)则发现粗糙轮藻*Chara aspera*对栅藻*Scenedesmus acutus*的生长抑制只有两者共培养时才有效,而粗糙轮藻的过滤培养液不存在抑制现象。另外几种大型海藻球状轮藻*Chara globularis*、

伊乐藻*Elodea canadensis*、穗花狐尾藻和马来眼子菜*Potamogeton malaianus*,也只有与*S. obliquus*共培养时才能抑制*S. obliquus*的生长,其过滤培养液均没有抑制效果(Lürling et al, 2006; Wu et al, 2007)。

在我们的实验中,盐角草过滤培养液能够持续抑制东海原甲藻的生长,这说明盐角草通过根系可能向外分泌了具有生物活性的抑藻物质,而且这些抑藻物质活性较稳定,不易降解。相反,一些研究表明即使没有连续添加植物过滤培养液,如*Ulva pertusa*和*Stratiotes aloides*仍能显著抑制藻的生长,说明这些植物的分泌物性质比较稳定,不易降解(Mulderij et al, 2005)。我们认为植物在分泌化学物质抑制赤潮藻生长的过程中,可能存在两种策略:一是植物所分泌的抑藻物质性质比较稳定,不易降

表3 盐角草根的甲醇相提取物GC-MS初步分析

峰号	出峰时间/min	化合物名称	相对分子质量	分子式	相对含量/%
1	5.96	1-[(1-Oxo-2-propenyl)oxy]-2,5-pyrrolidinedione	169	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>4</sub>	3.30
2	6.54	Butanoic acid	88	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	2.74
3	8.34	2-Cyclopentene-1,4-dione	96	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	3.23
4	9.02	2(5H)-Furanone	84	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	3.60
5	9.41	1,2-Cyclopentanedione	98	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	3.93
6	10.30	Pyrazole-4-carboxaldehyde,1-methyl-	110	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O	0.88
7	12.10	2-Cyclopenten-1-one,2-hydroxy-3methyl-	112	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	1.48
8	13.03	2,4,5-Tridroxypyrimidine	128	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.91
9	13.77	Furyl hydroxymethyl ketone	126	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	1.92
10	13.88	Phenol,2-methoxy-	124	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	1.54
11	14.27	Trifluoroacetyl-di-t-butylphosphine	242	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> F <sub>3</sub> OP	2.93
12	15.04	Valeric acid,4-nitrophenyl ester	223	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>4</sub>	0.77
13	18.09	2-Furancarboxaldehyde,5-(hydroxymethyl)-	126	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	22.93
14	18.57	Benzeneacetic acid	136	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	2.89
15	18.93	1,2-Benzenediol,3-methyl-	124	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	0.90
16	19.93	Indole	117	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> N	0.55
17	20.33	2-Methoxy-4-vinylphenol	150	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	8.90
18	31.41	Myo-Inositol,4-C-methyl-	194	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	1.67
19	32.39	Pentadecanoic acid	242	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	1.90
20	32.85	2-Propenoic acid,3-[4-(acetyloxy)-3-methoxyphenyl]-,methyl ester	250	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	4.81
21	34.02	9-Hexadecenoic acid,methyl ester,(Z)-	268	C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	0.76
22	35.22	n-Hexadecanoic acid	256	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	21.23
23	38.41	4-Cyclohexylidene-n-butanol	154	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	1.86
24	38.93	Octadecanoic acid	284	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	0.71
25	42.39	9-Octadecenamide,(Z)-	281	C <sub>18</sub> H <sub>35</sub> NO	2.26
26	43.23	Phenol,2-2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-	340	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	0.52
27	44.76	Hexadecenoic acid,2-hydroxy-1-	330	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	0.88

解；二是当抑藻物质性质不稳定时，植物体连续分泌抑藻物质是抑制赤潮藻生长的关键。

### 3.2 盐角草抑藻物质化学组成

目前研究已报道的植物抑藻物质主要为植物次生代谢产物，包括有机酸、简单不饱和脂肪酸、长链脂肪酸、多酚、芳香族化合物以及黄酮等 (Mac í as et al, 2008)。冈村枝管藻 *Cladosiphon okamuranus* 的甲醇提取物中鉴定出十八碳四烯酸 (6Z, 9Z, 12Z, 15Z- octadecatetraenoic acid)，这种脂肪酸在质量浓度为 5 mg/L 时就能抑制赤潮异弯藻 *Heterosigma akashiwo* 等藻的生长 (Kakisawa et al, 1988)。戴树桂等 (1997) 研究宽叶香蒲 *Typha latifolia*、窄叶香蒲 *T. minima* 和长苞香蒲 *T. angustata* 的花粉混合物时发现，其乙酸乙酯、丙酮以及乙醚提取物对 *S. obliquus*、小球藻 *Chlorella*

*sp.* 有良好的抑制效果，以乙酸乙酯提取物效果最佳，抑藻效果与硫酸铜相当，主要的克生物质为棕榈酸、胆固醇和油酸酯等。Nakai 等 (2000; 2005) 用甲醇和氯仿等溶剂从穗花狐尾藻浸提液中分离得到了多种酸性物质，包括焦桔酸、没食子酸和 (+)-儿茶素在内的酚酸类物质，以及正壬酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸和油酸等脂肪酸类物质，发现这些物质都能够抑制铜绿微囊藻的生长。

本实验结果还显示，盐角草根系有机相提取物对东海原甲藻的抑制作用明显强于水提物，而且各种有机相提取物的毒性也不同，说明东海原甲藻对不同极性提取物的敏感性不同，同时也表明盐角草根系中具有生物活性的抑藻物质主要是非极性和弱极性的，这与之前的研究结果相一致 (Gross, 2003)。从盐角草根系甲醇相提取物的组成可以

看出，相对含量较高的物质中都含有不饱和双键，其中酚酸和脂肪酸类及其衍生物是其主要成分。有研究表明，含有不饱和双键的化合物往往表现出一系列的生理活性，认为不饱和双键是活性中心 (赖普辉等, 2008)。这些含量较高的成分可能对东海原甲藻的生长具有一定的生理活性，而具体是哪一种化合物或者哪几种化合物或者以什么比例组合，分离和分析盐角草分泌物的成分，将是下一步工作的重点内容。

### 3.3 盐角草抑藻作用机理初探

我们发现在盐角草过滤培养液与有机相提取物作用下，东海原甲藻细胞体积增大、容易聚团甚至出现裂解。我们推测盐角草中某些脂溶性物质可能影响细胞间的连接，参与细胞渗透调节功能 (Gross, 2003)。Nagayama 等 (2003) 从褐藻黑昆布 *Ecklonia kurome* 中提取得到间苯三酚单宁，研究表明间苯

三酚单宁与藻细胞膜上的通道蛋白相互作用,会破坏藻细胞渗透压调节功能,使藻细胞失去活动能力,并使细胞变圆、膨胀,最终破裂。雷光英等(2010)的研究也显示,在龙须菜的作用下,赤潮异弯藻的细胞形态发生变化,显微镜下可明显观察到细胞色素体改变以及内含物溶解,可能是龙须菜所分泌的物质使藻细胞通透性降低,致使细胞分解死亡。此外,我们还发现,在盐角草各种有机相提取物的作用下,藻细胞内 Chl *a* 浓度发生了变化,影响藻的光合作用。在一定浓度下,藻通过对光合作用中能量的投入,提高 Chl *a* 浓度 (Asaeda et al, 2004)。在淡水生态系统中关于水生植物抑藻作用的研究已经证实抑藻物质能够影响藻光合作用、蛋白质合成等生理指标 (Gross, 2003)。本研究只是初步探讨了盐角草对东海原甲藻的抑制作用,其作用机制还有待进一步研究。

综上所述,利用盐角草过滤培养液以及根系有机相提取物能够抑制东海原甲藻的生长。盐角草有望作为一种新型的近海植物修复材料,为东海原甲藻赤潮的防治提供可能。

### 参考文献

戴树桂,赵凡,金朝晖,等.1997.香蒲植物提取物的抑藻作用及其分离鉴定[J].环境化学,16(3):268-271  
 黄安,朱白婢,孙建波,等.2008.赤潮的生物防治及其研究进展[J].安徽农业通报,14(15):82-84  
 赖普辉,田光辉,高艳妮,等.2008.钮子茎中石油醚提取物成分的GC-MS分析[J].安徽农业科学,36(23):10026-10027  
 雷光英,杨宇峰,李宵.2010.龙须菜对赤潮异弯藻和海洋原甲藻的生长抑制效应[J].海洋环境科学,29(1):27-31  
 赵可夫,李法曾.1999.中国盐生植物[M].北京:科学出版社  
 周名江,朱明远.2006.我国近海有害赤潮发生的生态学、海洋学机制及预测防治研究进展[J].地球科学进展,

21(7):673-679  
 Asaeda T, Sultana M, Manatunge J, et al. 2004. The effect of epiphytic algae on the growth and production of *Potamogeton perfoliatus* L. in two light conditions[J]. Environmental and Experimental Botany, 52(3): 225-238  
 Eppley R W. 1972. Temperature and phytoplankton growth in the sea[J]. Fishery Bulletin, 70(4): 1063-1085  
 Faust M, Altenburger R, Backhaus T, et al. 2001. Predicting the joint algal toxicity of multi-component s-triazine mixtures at low-effect concentrations of individual toxicants[J]. Aquatic Toxicology, 56(1): 13-32  
 Glibert P M, Pitcher G.2001. Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms: Science Plan, in Global ecology and oceanography of harmful algal blooms, GEOHAB, Editor 2001, IOC/SCOR: Paris:87  
 Gross E M. 2003. Allelopathy of aquatic autotrophs[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 22(3): 313-339  
 Jiang D, Huang L, Lin Y, et al. 2012. Inhibitory effect of *Salicornia europaea* on the marine alga *Skeletonema costatum*[J].Science China Life Sciences, 55(6): 551-558  
 Kakisawa H, Asari F, Kusumi T, et al. 1988. An allelopathic fatty acid from the brown alga *Cladophora okamuranus*[J]. Phytochemistry, 27(3): 731-735  
 Lüring M, van Geest G, Scheffer M. 2006. Importance of nutrient competition and allelopathic effects in suppression of the green alga *Scenedesmus obliquus* by the macrophytes *Chara*, *Elodea* and *Myriophyllum*[J]. Hydrobiologia, 556(1): 209-220  
 Macías F A, Galindo J L G, García-Díaz M D, et al. 2008. Allelopathic agents from aquatic ecosystems: potential biopesticides models[J]. Phytochemistry Reviews, 7(1): 155-178  
 Mulderij G, Mooij W M, Smolders A J P, et al. 2005. Allelopathic inhibition of phytoplankton by exudates from *Stratiotes aloides*[J]. Aquatic Botany, 82(4): 284-296  
 Nagayama K, Shibata T, Fujimoto K, et al. 2003. Algicidal effect of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome* on red tide microalgae[J]. Aquaculture, 218(1-4): 601-611  
 Nakai S, Inoue Y, Hosomi M, et al. 1999. Growth inhibition of blue-green algae by allelopathic effects of macrophytes[J]. Water Science and Technology, 39(8): 47-53  
 Nakai S, Inoue Y, Hosomi M, et al. 2000. Myriophyllum spicatum-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis aeruginosa*[J].Water Research, 34(11): 3026-3032  
 Nakai S, Yamada S, Hosomi M. 2005. Anti-cyanobacterial fatty acids released from *Myriophyllum spicatum*[J]. Hydrobiologia, 543(1): 71-78  
 Ozawa T, Miura M, Fujii S. 2007. Heavy metal accumulation and tolerance in a halophyte species *Salicornia europaea*, in The 48th Annual Meeting of the Japanese Society of Plant Physiologists (JSPP)2007[C].Matsuyama (Japan): Oxford Univ Press Ehime University. S242-S242  
 Ushakova S A, Kovaleva N P, Gribovskaya T V, et al. 2005. Effect of NaCl concentration on productivity and mineral composition of *Salicornia europaea* as a potential crop for utilization NaCl in LSS[J]. Advances in Space Research, 36(7): 1349-1353  
 van Donk E, van de Bund W J. 2002. Impact of submerged macrophytes including charophytes on phyto- and zooplankton communities: allelopathy versus other mechanisms[J]. Aquatic Botany, 72(3-4): 261-274  
 Wang Y, Zhou B, Tang X. 2009. Effects of two species of macroalgae-*Ulva pertusa* and *Gracilaria lemaneiformis* on growth of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae)[J]. Journal of Applied Phycology, 21(4): 375-385  
 Wu Z, Deng P, Wu X, et al. 2007. Allelopathic effects of the submerged macrophyte *Potamogeton malaianus* on *Scenedesmus obliquus*[J]. Hydrobiologia, 592(1): 465-474

收稿日期: 2013-11-15

基金项目: 国家“863”计划项目(2007AA091704), 浙江省重点科技创新团队项目(2010R50039), 杭州市科技计划项目(20120433B19&20130533B11)

作者简介: 姜丹(1984-), 女, 助理研究员, 从事浮游植物功能生态学研究。E-mail: jiangd\_hnu@163.com

通讯作者: 黄凌风(1968-), 男, 教授、硕士生导师, 从事海洋生态学与恢复生态学研究。E-mail: huanglf@xmu.edu.cn