

沉水植物中挥发性物质对铜绿微囊藻的化感作用

鲜啟鸣,陈海东,邹惠仙,尹大强

(污染控制与资源化研究国家重点实验室,南京大学环境学院,南京 210093)

摘要:比较了两种淡水沉水植物金鱼藻和苦草中挥发性物质对铜绿微囊藻的化感抑制作用,在 100 mg/L 浓度下,新鲜植物挥发油的抑藻作用非常显著,两种植物抑藻活性相近,但是在干粉材料中金鱼藻挥发油的抑藻活性明显强于苦草,且挥发油浓度与抑藻活性呈正相关。不同植物之间以及新鲜植物和植物干粉之间挥发油的成分和相对含量差别较大,新鲜植物挥发油中含有 40 % 的邻苯二甲酸酯,而在干粉挥发油中 70 % 为脂肪族化合物和萜类物质。在新鲜植物挥发油中约占 20 % 的是不稳定的未知物,其化学结构和生物活性有待进一步研究。

关键词:沉水植物;挥发油;铜绿微囊藻;化感作用;气-质联用

文章编号:1000-0933(2006)11-3549-06 中图分类号:Q948 文献标识码:A

Allelopathic activity of Volatile substance from submerged macrophytes on *Microcystis aeruginosa*

XIAN Qi-Ming, CHEN Hai-Dong, ZOU Hui-Xian, YIN Da-Qiang (State Key Laboratory of Pollution and Resource Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China). Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(11): 3549~3554.

Abstract: Eutrophication has become a serious environmental pollution in aquatic ecosystem. The allelopathic potential of aquatic macrophytes against blue-green algae has received broad consideration. It has been reported that the growth of several submerged macrophytes could inhibit the growth of some deleterious alga, such as *Microcystis aeruginosa*, but many allelochemicals with antialgal effect are still unknown. This study compared inhibitory activity of volatile compounds from two submerged macrophytes, *Ceratophyllum demersum* and *Vallisneria spiralis* on *M. aeruginosa*. Essential oils of fresh and dry macrophytes were prepared using steam distillation procedure and extraction with diethyl ether. The components of the essential oils were analyzed by gas chromatography (GC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and identified by standard retention indices, standard mass spectrum and co-chromatography with pure compounds. The relative amount of the each compound was calculated with peak areas integrator. The amount (in weight %) of essential oils was ten times more in the dry macrophytes than in the fresh macrophytes. When the essential oils were at a concentration of 100 mg/L, the fresh macrophytes had similar antialgal activities between *C. demersum* and *V. spiralis* while stronger than dry macrophytes. However, essential oils from dry macrophytes *C. demersum* showed stronger antialgal activity than *V. spiralis*. There exists a positive correlation between the concentration of the essential oils and the inhibitory activity. The EC_{50} (effective concentration for 50 % inhibition of growth) was about 70 mg/L in the oil of dry *C. demersum*. The essential oils were composed of fatty compounds, terpenoids, phenolic compounds, phthalates, and some unknown compounds. The composition and relative amount of the essential oils were very different even though *C. demersum* and *V. spiralis* are two submerged macrophytes and usually coexist in aquatic environment. More than 40 % of the total amount was phthalates in the essential oils of fresh macrophytes, but approximate 70 % were fatty compounds and terpenoids in that of dry macrophytes. However, approximate 20 % of the essential oils of fresh macrophytes were unknown compounds which were unstable

基金项目:国家基础研究发展规划资助项目(2002CB412307)

收稿日期:2005-10-20; **修订日期:**2006-03-18

作者简介:鲜啟鸣(1966~),男,江苏金湖人,博士,主要从事污染生态化学和环境分析化学研究. E-mail: xianqm@nju.edu.cn

Foundation item: The project was financially supported by National Basic Research Program of China (No. 2002CB412307)

Received date: 2005-10-20; **Accepted date:** 2006-03-18

Biography: XIAN Qi-Ming, Ph. D., mainly engaged in pollutant ecological chemistry and environmental analysis chemistry. E-mail: xianqm@nju.edu.cn

and undetectable in dry macrophytes. Their chemical structures and bioactivities are in need of further study.

Key words: submerged macrophytes; essential oil; *Microcystis aeruginosa*; allelopathy; GC-MS

在淡水生态系统中,高等水生植物是水体保持良性运行的关键生态类群,其中沉水植物因其完全水生的特点使得它们对环境胁迫的反应最为敏感。沉水植物不仅能吸收水体中大量的营养物质,而且是水体的氧气泵,能增加水体的透明度。一些沉水植物还能释放化感物质抑制蓝绿藻的生长^[1~7]。人类的活动加剧了水体的污染和富营养化的发生,水生植物逐渐退化消亡,特别是沉水植物在一些湖泊中几乎消失殆尽,导致蓝藻水华周期性暴发,水华蓝藻容易产生对人体有害的藻毒素,增加制水成本,严重影响了水体的生态功能和饮用水源的安全。因此,控制水华藻类的生长和繁殖对工农业生产和人民的身体健康至关重要,恢复水生植物特别是具有抑藻作用的沉水植物是生态修复的重要手段^[8]。

化感物质可以通过淋溶、根分泌和挥发释放到周围环境中影响周围其他生物的生长^[9]。对于陆生植物的化感作用,挥发是化感物质非常重要的释放途径^[10,11]。Gross^[12]综述了水生自养生物的化感作用,认为沉水植物释放到环境中的化感物质很快被水稀释,并在水的媒介作用下到达靶标生物产生化感作用。研究发现金鱼藻中的化感活性物质超过一种,既有亲水性的也有憎水性的物质^[13]。但是,沉水植物中挥发性物质的化感作用至今未见文献报道。本文以对铜绿微囊藻具有生长抑制作用的金鱼藻和苦草为研究对象,研究其挥发性物质对铜绿微囊藻的化感作用,通过气-质联用(GC-MS)分析挥发性物质的成分。

1 材料与方法

1.1 植物材料

金鱼藻(*Ceratophyllum demersum* L.)、苦草(*Vallisneria spiralis* L.),新鲜植物(2004年4月份采自东太湖)去掉残片、洗净、剪碎,采用水蒸气蒸馏的方法提取挥发油,植物干粉由洗净的新鲜植物凉干后,粉碎,再提取挥发油。

实验藻采用铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa* Kütz.),实验前用 Hoagland(0.1 ×)^[14]营养液在 25 °C下驯化 1 周,光照强度 4000~6000 lx,光暗比 14 :10,直到藻的浓度达到 10⁵~10⁶ 个/ml。

1.2 化学品

试验所用无水乙醚(AR),无水硫酸钠(AR),二甲亚砜(DMSO, > 98 %),N,O-双(三甲基硅基)三氟乙酰胺(BSTFA, Supelco)。均为市售分析纯试剂。

1.3 实验方法

1.3.1 植物挥发油的提取 将洗净剪碎的新鲜植物材料 300g 放入 1000 ml 三口瓶中,水蒸气蒸馏,直至无油状物流出为止。流出液用 3 ×100ml 无水乙醚萃取,合并有机相,用无水硫酸钠干燥,回收乙醚。提取的挥发油保存在 2ml 具塞玻璃离心瓶中,在 4 °C下保存待用。植物干粉挥发油的提取采用 100g 植物干粉,其它步骤同新鲜植物材料。

1.3.2 挥发油的抑藻实验 植物释放的化感物质中很多水溶性较差,不能直接用于生物测试,一般需用少量有机溶剂溶解后再进行生物测试,常用的溶剂是二甲亚砜(DMSO),以前的研究证实 DMSO 在体积分数为 0.05 %时,对铜绿微囊藻的生长影响不大^[15]。因此在后面的抑藻实验中,DMSO 的浓度采用 0.05 %。

抑藻试验根据 US EPA 方法^[16]并作适当修改,10 mg 挥发油用 50 μl 二甲亚砜(DMSO)溶解,用 100 ml 经高压灭菌的藻类培养基稀释,然后接种经驯化的铜绿微囊藻,接种后藻的浓度达到 10⁵~10⁶ 个/ml,培养在光照培养箱中,温度(25 ±1) °C,时间 5 d。用血球计数板在显微镜下每隔 48 h 计数藻细胞的数量,每个实验重复两次。在某一浓度下的百分生长抑制速率($I_{\mu t}$)可根据下式计算:

$$I_{\mu t} = 100 \times (\mu_c - \mu_t) / \mu_c, \mu = (\ln N_n - \ln N_0) / (t_n - t_0)$$

式中, μ_c 是控制组平均生长速率, μ_t 是受试物在某一浓度下的平均生长速率, N_0 是在实验开始时(t_0)的藻细胞浓度个/ml, N_n 是在测量时间时(t_n)的藻细胞浓度个/ml。

1.3.3 挥发油的 GC-MS 分析 挥发油的衍生化:10mg 挥发油加入 0.1ml BSTFA 衍生化试剂,室温下反应 30min 后进行 GC-MS 分析。GC-MS 分析仪采用 HP 5890 GC-5971 MSD,色谱柱采用 HP-5 MS 柱(30 m ×0.25 mm ×0.25 μm),进样温度 250 °C,接口温度 280 °C。采用程序升温的方法:起始温度 40 °C,保持 3min,然后以每分钟升 6 °C直到 150 °C时,保持 1min,再以每分钟升 10 °C至 250 °C时保持 10min。载气为 He,进样量 0.1 μl,分流比 1:20,采用电子轰击源(EI),离子源温度 200 °C,离子化能量 70 eV,扫描范围:m/z 40~400 amu。

挥发油成分的定性根据质谱图与 Wiley7.0 标准质谱数据库对照,同时采用保留指数与文献值相对照^[17,18],以及用纯物质色谱共进样的方法来进行。相对含量依据面积归一化法计算。保留指数用正构烷烃 C₆~C₂₀通过下式计算:

$$RI_x = 100 \cdot n + 100 \cdot (t_x - t_n) / (t_{n+1} - t_n)$$

式中, RI_x 为 x 化合物的保留指数, n 为正构烷烃的碳数, t_x 为 x 化合物的保留时间, t_n, t_{n+1} 分别为正构烷烃 C_n, C_{n+1} 的保留时间。

2 结果与讨论

2.1 植物挥发性物质的抑藻作用

图 1 是金鱼藻、苦草挥发油对铜绿微囊藻的生长抑制曲线。在 100 mg/L 浓度下,新鲜的金鱼藻和苦草挥发油的抑藻活性基本相同(图 1 A),在 72h 后铜绿微囊藻基本死亡。但是对于干粉的挥发油,金鱼藻和苦草的抑藻活性相差一倍,金鱼藻的抑藻活性明显强于苦草(图 1 B)。对于金鱼藻,新鲜植物和干粉挥发油的抑藻活性相当,而苦草新鲜植物挥发油的抑藻活性明显强于干粉挥发油。

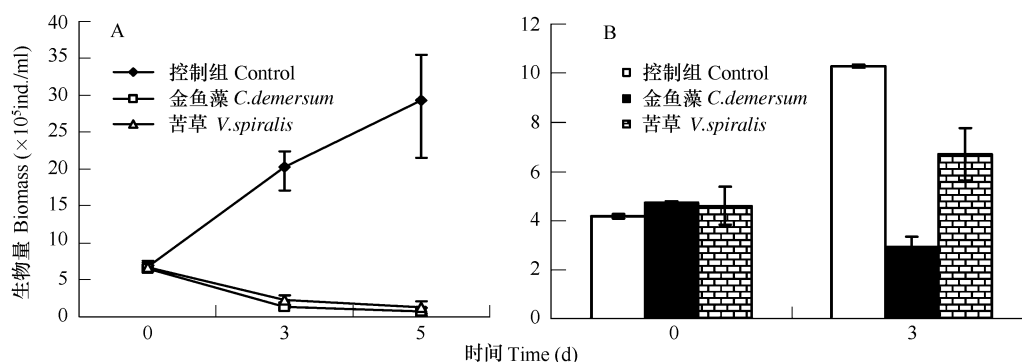


图 1 金鱼藻和苦草挥发油对铜绿微囊藻的抑制作用

Fig. 1 Inhibitory effects of the essential oils of *C. demersum* and *V. spiralis* on *M. aeruginosa*

A. 新鲜植物 fresh; B. 植物干粉 dry

图 2 是金鱼藻干粉挥发油在不同浓度时对铜绿微囊藻生长的影响。随着浓度的升高,藻类生长明显受到抑制,浓度和藻类生长百分抑制率基本成线性关系。在 70 mg/L 时,藻类生长抑制百分率达到 50%。物质的浓度对于化感作用的影响是非常显著的,许多的研究结果显示浓度与化感作用的关系有着“低促高抑”的现象^[19,20],因为在较低浓度下受试生物能利用测试物质促进其生长,只有达到一定阈值后,化感物质就会影响其生长和代谢而产生毒性。

2.2 沉水植物挥发性物质的含量和组成

新鲜植物中金鱼藻、苦草挥发油的含量分别是 0.0127 % (重量比)、0.0095 %。而在干粉挥发油中金鱼藻和苦草的含量分别为 0.15 % 和 0.10 %。挥发油的组

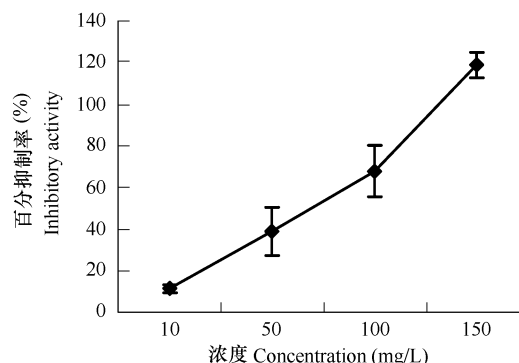


图 2 不同浓度金鱼藻干粉挥发油的抑藻活性

Fig. 2 The concentration of essential oil influences antialgal activity

成以及相对含量见表 1,主要成分是脂肪族化合物、萜类物质、酚类和邻苯二甲酸酯,干粉植物中脂肪族化合物的含量约占 50 %,明显高于新鲜植物。萜类物质在干粉挥发油中的含量都大于 15 %,在新鲜植物中的含量金鱼藻只有 6 %,而苦草只有 1 %不到。邻苯二甲酸酯在金鱼藻新鲜植物中的含量超过 40 %,而在干粉中不到 20 %,而在苦草中新鲜植物和干粉中的相对含量都小于 20 %。新鲜植物中未知物的含量都超过 16 %,而在干粉中未鉴定物质的含量只有不到 3 %。挥发油中相对含量超过 1 %的化合物列于表 2,金鱼藻和苦草新鲜植物和干粉挥发油的主要成分存在明显差异,虽然金鱼藻和苦草都是沉水植物,而且经常同时出现在水体中,但是它们属于不同的科,金鱼藻属于金鱼藻科而苦草属于水鳖科^[21]。

表 1 挥发油组成及相对含量(%)

Table 1 The composition and relative amount of the essential oils

成分 Component	金鱼藻 <i>C. demersum</i>		苦草 <i>V. spiralis</i>	
	新鲜 Fresh	干粉 Dry	新鲜 Fresh	干粉 Dry
脂肪族化合物 Fatty compounds	25.3 (22) ^a	50.9 (31)	33.4 (26)	47 (21)
烃/醇 Alkanes/ alcohols	12.1 (11)	7.7 (9)	11.6 (12)	2.1 (9)
醛/酮 Aldehydes/ Ketones	10.0 (4)	20.4 (20)	13.7 (10)	13.5 (8)
脂肪酸和酯 Fatty acids and esters	22.8 (7)	3.2 (2)	8.1 (4)	31.4 (4)
萜类 Terpenoids	5.9 (4)	15.8 (14)	0.8 (3)	19 (11)
酚类 Phenolic compounds	3.1 (2)	3.4 (1)	1.6 (2)	— ^b
邻苯二甲酸酯 Phthalates	44.1 (4)	16.4 (2)	16.6 (4)	19.6 (4)
未知物 Known compounds	16.4 (1)	2.4 (1)	22.5 (2)	1.1 (0)
总计 Total	94.8 (33)	88.9 (49)	77.9 (37)	86.7 (36)

a, 化合物的数量 the number of compounds; b, 含量 amount < 0.1

金鱼藻和苦草干粉挥发油中脂肪族化合物和萜类物质的相对含量约占总量的 70 %(表 1),很多脂肪族化合物和萜类物质是重要的日用化工原料以及香精的主要成分。《本草纲目》就记载了金鱼藻和苦草的功效作用^[22],金鱼藻具有止血功能,而苦草则能治疗妇女白带。但过去金鱼藻和苦草只是被用来堆肥,经济价值很低。对水生植物挥发油成分的分析鉴定为水生植物的资源化和综合利用提供了有益的思路。

虽然新鲜植物中金鱼藻和苦草挥发油的组成和含量差别较大,但是在相同浓度下对藻类生长的抑制效果基本相同,而干粉挥发油中两种植物的组成基本相近,但是其化感活性却相差很大。产生差异的原因可能是被测组分的化感活性是由被测组分中几种化感物质共同作用的结果,其中包含加和、协同和拮抗作用^[23,24],而不是某一种物质化感作用的结果。不同化感物质对挥发油化感作用的贡献是有差别的,但是这种差别在实验中很难进行定量测量,这也是化感研究的难点所在。要弄清不同物质对化感作用的贡献,找出主要的化感物质,除了对挥发油中所有化合物进行精确的定量定性分析外,还必须具有所有化合物的标准品,但在目前的研究水平上是很难达到的,而且还有很多物质通过 GC-MS 无法鉴定,需要用其它手段来分离鉴定,如液相制备得到纯物质再用波谱鉴定的方法等。

在金鱼藻和苦草挥发油中就存在 GC-MS 无法鉴定的化合物,而且占挥发油总量的 15 %以上。在金鱼藻新鲜植物中有一个未知物 1(保留时间 $t_R = 28.0$ min 相对含量 16.4 %),而在苦草新鲜植物挥发油中,除了具有与金鱼藻相同的未知物 1(相对含量 4.3 %)外还有另一个未知物 2(保留时间在 $t_R = 33.4$ min,相对含量 18.2 %),而在金鱼藻和苦草干粉植物中也有一个未知物 3(保留时间 $t_R = 24.4$ min,相对含量分别为 2.4 %和 1.1 %)。说明新鲜植物挥发油中的未知物较不稳定,在放置凉干后就发生了分解,新鲜植物挥发油在放置一段时间后未知物峰也基本消失也能证明这一点(图谱未列出)。在相同浓度下新鲜植物挥发油的抑藻活性明显强于干粉挥发油,因此未鉴定的组分有可能是具有抑藻活性的物质,未知物 1 和 2 的质谱图见图 3。未知物 1 中具有 m/z 113(100), m/z 55(>85)两个主要碎片,其它碎片的相对丰度都不到 10 %,分子离子峰强度很弱,因此很难判断。未知物 2 的分子离子峰为 m/z 294,且具有 m/z 155(100), 55(86), 67(78), 109(78), 41(71), 139(38), 69(32), 276(24)主要碎片。未知物 1 经硅烷化衍生化后,它们的保留时间没有发生变化,说明未知物的分子结构中不含羧基和羟基。而未知物 2 硅烷化后保留时间发生变化,且分子离子峰增加 72 个质量数,说明

未知物 2 中含有羧基或羟基。但要准确确定它们的结构必须分离得到纯物质,未知物的化学结构和化感活性还有待于进一步研究。

表 2 挥发油的主要成分(相对含量 > 1 %)

Table 2 Main composition in the oil essentials (relative amount more than 1 %)						
化合物 Compounds		保留指数 <i>RI</i>	<i>C. demersum</i>		<i>V. spiralis</i>	
			新鲜 Fresh	干粉 Dry	新鲜 Fresh	干粉 Dry
脂肪类化合物 Fatty compounds						
烃/醇 Alkanes/Alcohols						
1-己醇 1-Hexanol	831	<i>t</i> ^a		1.9	<i>t</i>	<i>t</i>
十七烷 heptadecane	1700	1		<i>t</i>	— ^b	<i>t</i>
二十四烷 tetracosane	2400	1.6		—	1.0	—
醛/酮 Aldehydes/ Ketones						
己醛 Hexanal	738	—		5.4	1.3	6.9
庚醛 Heptanal	860	—		1.7	—	<i>t</i>
十四醛 Tetradecanal	1613	2.5		<i>t</i>	1.5	—
十五醛 Pentadecanal	1717	—		3.3	—	<i>t</i>
十六醛 Hexadecanal	1768	6.4		—	3.1	—
6, 10, 14-三甲基-2-十五烷酮 6, 10, 14-Trimethyl-2-pentadecanone	1847	<i>t</i>		2.8	—	2.6
脂肪酸和脂 Fatty acids and esters						
2-甲基丙酸 2,2-二甲基-1-(2-羟基-1-异丙基) 丙基酯 2-Methylpropanoic acid 2, 2-dimethyl-1-(2-hydroxy-1-methylethyl) propyl ester	1365	—		7.6	—	3.3
2-甲基丙酸 3-羟基-2, 4, 4-三甲基戊基酯 2-Methylpropanoic acid-3-hydroxy-2, 4, 4-trimethylpentyl ester	1380	—		15.0	—	27.8
十六酸 Hexadecanoic acid	2018	<i>t</i>		—	2.2	—
萜类 Terpenoids						
2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮 4-Ketoisophorone	1152	—		<i>t</i>	—	2.3
β-柠檬醛 Cyclocitral	1224	1.2		<i>t</i>	<i>t</i>	<i>t</i>
α-紫罗兰酮 α-Ionone	1430	—		<i>t</i>	<i>t</i>	2.2
β-紫罗兰酮 β-Ionone	1482	2.9		—	1.7	—
5,6-环氧-β-紫罗兰酮 β-Ionone-5,6-epoxide	1488	—		7.6	—	9.8
二氢猕猴桃醇酸内酯 Dihydroactinidiolide	1538	—		3.7	—	3.0
β-细辛脑 β-Asarone	1631	—		3.0	—	—
酚类化合物 Phenolic compounds						
对苯二酚 1,4-Benzenediol	1241	2.5		—	1.2	—
邻苯二甲酸酯 Phthalates						
邻苯二甲酸二异丁酯 Diisobutyl Phthalate	1873	8.4		5.0	3.3	9.5
邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl Phthalate	1970	1.5		1.0	<i>t</i>	<i>t</i>
邻苯二甲酸二异辛酯 Di(2-ethylhexyl) Phthalate	2550	33.0		—	10.0	—
其它 Miscellaneous compounds						
甲苯 Toluene	703	—		6.8	—	7.6
2,6-二甲基环己醇 2,6-Dimethylcyclohexanol	1110	—		2.9	—	<i>t</i>
3-乙基-4-甲基-马来酰亚胺 3-Ethyl-4-methyl-1H-pyrrole-2,5-dione	1265	—		2.2	—	1.4
未知物 1 Unknown 1	1815	16.4		—	4.3	—
未知物 2 Unknown 2	2267	—		—	18.2	—
未知物 3 Unknown 3	1529	—		2.4	—	1.1

a, 0.1 < 含量 amount < 1; b, 含量 amount < 0.1

3 结论

- (1) 金鱼藻挥发油的化感活性稍强于苦草挥发油,新鲜植物挥发油对铜绿微囊藻的抑制作用明显强于干粉挥发油。
- (2) 挥发油的浓度与抑藻化感作用呈正相关。
- (3) 金鱼藻和苦草植物挥发油的组成和含量差别显著,新鲜植物挥发油中超过 40 %为邻苯二甲酸酯,还有近 20 %组分未能鉴定,而植物干粉挥发油中主要成分是脂肪族化合物和萜类物质。

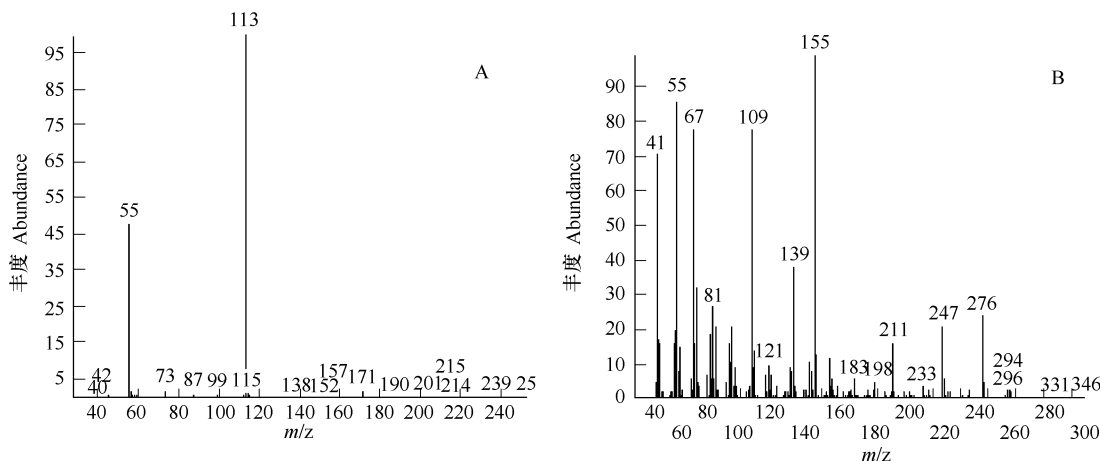


图3 未知物的质谱图(A. $t_R = 28.0$ min; B. $t_R = 33.4$ min)

Fig. 3 Mass spectrum of the unknown compounds (A. $t_R = 28.0$ min; B. $t_R = 33.4$ min)

References:

- [1] Gu L D, Chen J, Chen W H. Effect of liquor cultured *Vallisneria spiralis* on alage growth. *Journal of Shanghai Teachers University (Natural Science)*, 1994, 23(1): 62~68.
- [2] Yuan J F, Zhang Z S. Biochemical interference of aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum* on algae. *Acta Ecologica Sinica*, 1992, 13(1): 45~50.
- [3] Gross E M, Meyer H, Schilling G. Release and ecological impact of algicidal hydrolyzable polyphenols in *Myriophyllum spicatum*. *Phytochemistry*, 1996, 41: 133~138.
- [4] Oliver W, Walter Z, Elisabeth M. Influence of *Myriophyllum spicatum* derived tannins on gut microbiota of its herbivore *Acentria ephemerella*. *J. Chem. Ecol.*, 2002, 28: 2045~2056.
- [5] Ellen V D, Wouter J B. Impact of submerged macrophytes including charophytes on phyto- and zooplankton communities: allelopathy versus other mechanisms. *Aquat. Bot.*, 2002, 72: 261~274.
- [6] Xian Q M, Chen H D, Qu L J, et al. Allelopathic effects of four submerged macrophytes on *Microcystis aeruginosa*. *J. Lake Sci.*, 2005, 17(1): 69~74.
- [7] Mulderij G, Mboij W M, Smolders A J P, Van Donk E. Allelopathic inhibition of phytoplankton by exudates from *Stratiotes aloides*. *Aquat. Bot.*, 2005, 82(4): 284~296.
- [8] Jin X C. Control and management technology of lacustrine eutrophication. Beijing: Chemical Industry Press, 2001. 117.
- [9] Kong C H, Hu F. Allelopathy and Its Application. Beijing: Chinese Agricultural Press, 2001. 43.
- [10] Yu F L, Ma M H, Kong L S. Study on allelopathic effects of essential oil from *Artemisia ordosica*. *Acta Phytocologica Sinica*, 1999, 23(4): 345~350.
- [11] Kong C H, Huang S S, Hu F. Allelopathy of *Ageratum conyzoides* V. biological activities of the volatile oil from *ageratum* on fungi, insects and plants and its chemical constituents. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(4): 584~587.
- [12] Gross E M. Allelopathy of aquatic autotrophs. *Critical Rev. Plant Sci.*, 2003, 3-4: 313~339.
- [13] Gross E M, Erhard D, Ivanyi E. Allelopathic activity of *Ceratophyllum demersum* L. and *Najas marina* ssp. *intermedia* (Wolfgang) Casper. *Hydrobiologia*, 2003, 15: 583~589.
- [14] Reddy K R, Tucker J C. Productivity and nutrient uptake of water hyacinth *Eichhornia crassipes* I. Effect of nitrogen Source. *Economic Bot.*, 1983, 37: 237~247.
- [15] Xian Q M, Chen H D, Zou H X, et al. Allelopathic potential of aqueous extracts of submerged macrophytes with algal growth inhibition. *Allelopathy. J.*, 2005, 15(1): 95~104.
- [16] U. S. EPA. Algal, *Selenastrum capricornutum*, growth test Method 1003.0, In: Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluent and receiving waters to freshwater organisms. EPA 600/4-89/001. Cincinnati, Ohio., 1989.
- [17] Van Den D H, Kratz P D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr.*, 1963, 11: 463~471.
- [18] Adams R. Identification of Essential oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass spectroscopy. IL Carol Stream: Allured. 2001.
- [19] He C Q, Ye J X. Inhibitory effects of *Acorus tatarinowii* on algae growth. *Acta Ecologica Sinica*, 1999, 19(5): 754~758.
- [20] Nakai S, Hosomi M, Okada M, et al. Control of algal growth by macrophytes and macrophyte-extracted bioactive compounds, *Wat. Sci. Technol.*, 1996, 34: 227~235.
- [21] Cook C D K, Gut B J, Rix E M, et al. Water plants of the world. The Pitman Press, Bath, Avon, English, 1974. 177, 267.
- [22] Li S Z. Ben Cao Gang Mu (Vol. 1). Beijing: People's Sanitation Press, 1982. 1366, 1373.
- [23] Einhellig F A. Interactive effects of allelochemicals and environmental stress. In: *Phytochemical Ecology: Allelochemicals, Mycotoxins and Insect Pheromones and Allomones*, C. H. Chou and G. R. Waller eds. Academia Sinica Monograph Series No. 9. Taipei, China: Institute of Botany, 1989. 101~116.
- [24] Einhellig F A. Allelopathy: current status and future goals. In: *Allelopathy: Organisms, Processes, and Applications*. American Chemical Society, Washington, D C, 1995. 1~24.

参考文献:

- [1] 顾林娣, 陈坚, 陈卫华. 苦草种植水对藻类生长的影响. *上海师范大学学报(自然科学版)*, 1994, 23(1): 62~68.
- [2] 袁峰峰, 章宗涉. 金鱼藻对藻类的生化干预作用. *生态学报*, 1992, 13(1): 45~50.
- [6] 鲜欽鸣, 陈海东, 曲丽娟, 等. 四种沉水植物的克藻效应. *湖泊科学*, 2005, 17(1): 69~74.
- [8] 金相灿主编. 湖泊富营养化控制和管理技术. 北京: 化学工业出版社, 2001. 117.
- [9] 孔垂华, 胡飞. 植物化感作用及其应用. 北京: 中国农业出版社, 2001. 143~152.
- [10] 于凤兰, 马茂华, 孔令韶. 油蒿挥发油的化感作用研究. *植物生态学报*, 1999, 23(4): 345~350.
- [11] 孔垂华, 黄寿山, 胡飞. 胜红蓟化感作用的研究 V: 挥发油对真菌、昆虫和植物的生物活性及其化学成分. *生态学报*, 2001, 21(4): 584~587.
- [19] 何池全, 叶居新. 石菖蒲 (*Acorus tatarinowii*) 的克藻效应的研究. *生态学报*, 1999, 19(5): 754~758.
- [22] 李时珍. 本草纲目(上册). 北京: 人民卫生出版社, 1982. 1366, 1373.