

野艾蒿及其有机提取物对铜绿微囊藻生长的抑制作用

徐芙清, 何伟, 郑星, 张维昊*, 蔡伟伟, 唐倩

(武汉大学资源与环境科学学院, 湖北 武汉 430079)

摘要:通过植物与藻共培养实验,比较3种常见陆生菊科植物野艾蒿(*Artemisia lavandulaefolia*)、小白酒草(*Conyza canadensis*)、杭白菊(*Chrysanthemum morifolium*)的抑藻能力。结果表明野艾蒿和小白酒草能够适应水培,野艾蒿和杭白菊(后期为残体)抑藻能力较强,10d后对起始藻浓度为 2×10^6 cells/ml的铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)生长的抑制率分别为93.3%和90.8%,对 4×10^6 cells/ml铜绿微囊藻抑制率分别为89.3%和79.2%。利用3种极性不同的有机溶剂(乙醇、正己烷、乙酸乙酯)提取野艾蒿干粉中的抑藻活性物质并进行生物检测,结果显示挥发溶剂后3种提取物都有较强抑藻能力,其中乙酸乙酯提取物抑藻能力最强,用线性拟合得到0.83g/L提取物72h后抑藻率达100%。研究表明,陆生菊科植物具有抑藻效果,野艾蒿具有应用于水体富营养化的治理和开发新型抑藻剂的潜力。

关键词:野艾蒿; 生物抑藻; 富营养化

Inhibitive effects on *Microcystis aeruginosa* by *Artemisia lavandulaefolia* and its three organic solvents extracts

XU Fuqing, HE Wei, ZHENG Xing, ZHANG Weihao*, CAI Weiwei, TANG Qian

School of Resource and Environmental Science, Wuhan University, Wuhan 430079, China

Abstract: the inhibitive effects of three terrestrial Compositae plants, *Artemisia lavandulaefolia*, *Conyza Canadensis* and *Chrysanthemum morifolium* on the blue algae were compared by co-cultivation with *Microcystis aeruginosa*. Results showed that *Artemisia lavandulaefolia* and *Conyza canadensis* accommodate to water cultivation, *Artemisia lavandulaefolia* and *Chrysanthemum morifolium* (rotted during the last three days) had the most inhibitive potential, with the inhibition ratios to algae (inoculation concentration 2.0×10^6 cells/ml) is 93.3% and 90.8% respectively, to algae (inoculation concentration 4.0×10^6 cells/ml) is 89.3% and 79.2% on the 10th day. The active compounds from dry powder of *Artemisia lavandulaefolia* were extracted by three kinds of organic solvents with different polarities and all the three extracts (solvents removed) had significant inhibitive effect. Among them, ethyl acetate extract was the strongest, with 0.83g/L extract that will reach up to 100% inhibition ratio by calculation. Result showed that *A. lavandulaefolia*, which grew well in the aquatic environment, might have a great potential to be applied to treat algae bloom and control the eutrophication of water.

Key Words: *Artemisia lavandulaefolia*; algae bio-control; eutrophication

水体富营养化导致藻类等浮游植物异常繁殖形成“水华”,其中铜绿微囊藻水华爆发率高且释放藻毒素,严重威胁到其他水生生物的生存环境,影响人类健康^[1-2]。目前,化感及生态化学方法修复富营养化水体是一种经济而安全的方法^[3-4],相关研究受到国内外的普遍关注^[5-6],越来越多的水生植物被应用于水体修复中,如美人蕉、菖蒲等^[7]。此外,很多陆生植物也有较强的化感作用^[8],且生物量大,便于收割,并能够大量吸收水体中的氮磷元素,可有效解决富营养化问题,并且通过浮岛,抑藻植物不会被高浓度藻类遮挡光线而影响

基金项目:国家自然科学基金资助项目(20877060);淡水生态与生物技术国家重点实验室开放课题资助项目(2005FB06);武汉大学长江中游地区水环境研究与数据共享平台资助项目(WERDSPMYR-0606)

收稿日期:2008-11-26; 修订日期:2009-06-26

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhwhhj@163.com

生长^[9],因此相对利用水生植物化感抑藻有独特的优势。现有研究一般是利用陆生植物的残体向水体释放化感物质^[10],而将活体植物直接用于抑藻,还是一种较新的尝试。

陆生植物中的菊科是被子植物中种类最多的一科,其中至少有 39 个属存在化感作用^[11]。化感物质作为潜在高效安全的除草剂和杀虫剂^[12-13],其性质和机理已有一定研究^[11-14]。植物水培技术的成熟^[15-16]和人工浮岛的广泛应用^[17-18],为将菊科植物应用于富营养水体修复提供了可靠基础。

本文以铜绿微囊藻为研究对象,选择了 3 种常见并具有明显气味的、有分泌化感物质潜力的菊科植物进行筛选抑藻,拟将其应用于人工浮岛和湿地。并对植物化感物质进行初步研究,为开发高效、专一的除藻剂,治理富营养化水体提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与装置

3 种菊科植物分别为野艾蒿、小白酒草、杭白菊。采集整株,尽量减少根系损伤。清洗并去除枯叶和部分花,使各植株重量相近,在稀释 4 倍的 BG11 培养液中适应性培养 3—4d^[19]。

铜绿微囊藻(*Microcystic aeruginosa*)由中国科学院水生生物研究所淡水藻种库提供,采用 BG11 培养液,恒温光照((25 ± 1)℃, 2000lx),明暗比为 16h/8h,进行扩大培养 7d,使之处于对数增长长期(藻浓度 500 × 10⁴ cells/ml)。

微环境模拟箱^[19],0.45μm 的微孔滤膜,洁净纱布。

野艾蒿干粉的制备:野艾蒿洗净、晾干、剪碎后 50℃ 恒温烘干,密封保存于样品袋中。

3 种有机浸提液的制备:称取 10g 野艾蒿干粉用滤纸包好,索氏提取器提取 3h,提取溶剂按极性由大到小分别为 150ml 乙醇、正己烷、乙酸乙酯,提取温度 78℃、60℃、77℃。

1.2 共培养实验

称取待测植物(100 ± 10g)用棉线扎成一束。装置大厢种植菊科植物,小厢培养铜绿微囊藻^[19],自然光照培养,(25 ± 5)℃,培养液均为 BG11。4 个小厢中分别接入浓度为 2 × 10⁶ cells/ml 和 4 × 10⁶ cells/ml 的藻种各 280ml,每个浓度各 2 厢,作为平行,培养箱中培养液总体积为 4000 ml。为了避免营养因素对化感作用的影响,培养液中投加了充分的营养盐。每个浓度设 2 个对照于 250ml 锥形瓶中,同条件培养。每 24h 测定藻液的光密度,并在实验结束时测定培养液中的总氮和总磷,取藻进行镜检。

藻密度测定采用分光光度法^[20]和细胞计数法。共培养结束后测定培养液中总氮(TN)和总磷(TP),TN 采用过硫酸钾氧化-紫外分光光度法;TP 采用钼锑抗分光光度法。

1.3 野艾蒿 3 种有机浸提液抑藻实验

分别取 3 种有机浸提液 1、2、5、10ml 于洁净的 100ml 锥形瓶中挥干溶剂,以二甲基亚砜助溶,后加入 BG11 培养基,在紫外光下照射 1h 杀菌。以不含提取液和助溶剂的培养液为空白,相应的 10ml 溶剂挥干并加助溶剂做为对照组。接种适量的藻种,使接种体系中的藻细胞浓度约为 2.0 × 10⁶ cells/ml,藻光密度约为 0.1,最终体系 60ml。每个浓度设 2 个平行,对照组设 3 个平行。

72h 后采用细胞计数法测定细胞浓度并观察拍照。各提取物的浓度测定采用差减法,即取 5ml 提取液称重(记为 W₁,mg),溶剂挥发后再称重(记为 W₂,mg),则提取物浓度为(W₁ - W₂)/5 g/L。

1.4 抑藻作用评价

抑制率可以通过修改过的方程及平均抑藻指数来计算:

$$IR_t = \frac{C_t^c - C_t^e}{C_t^c} \quad (1)$$

式中,IR_t为 t 时处理组与对照组之间的抑藻率,C_{te}为处理组 t 时的藻细胞浓度,C_{tc}为 t 时对照组藻细胞的浓度。

2 结果与讨论

2.1 野艾蒿、小白酒草、杭白菊 3 种植物对铜绿微囊藻的抑制作用

3 种植物适应水生环境的能力不同。经过 4d 的培养,杭白菊逐渐枯萎变黄,根茎叶开始腐烂并发出特殊气味;野艾蒿和小白酒草生长良好。初始接入浓度为 2.0×10^6 cells/ml 时(图 1a),野艾蒿,小白酒草和杭白菊对铜绿微囊藻生长均有抑制作用。从第 2 天起,其藻密度就一直低于对照组。野艾蒿和杭白菊的抑制效果较明显,生长曲线趋平,培养 4d 后藻开始变黄、絮沉,增长缓慢,镜检发现藻大量聚集,边缘模糊,即将死亡,而对照组则无此现象。9d 后藻细胞的数量显著下降,此时培养箱中的培养液已接近无色,藻基本消亡,两种植物抑藻率分别为 93.3% 和 90.8%。小白酒草的抑制效果较差,藻类一直处于生长状态,仅略低于对照组,10d 后的抑藻率为 17.1%。将初始接入浓度提高为 4.0×10^6 cells/ml 时(图 1b),野艾蒿抑藻能力仍最强,杭白菊次之,小白酒草略有抑制效果。10d 后的抑制率分别为 89.3%, 75.2%, 4.9%。高接入浓度组的抑制率低于低接入浓度组。

野艾蒿组开始缓慢增长,第 9 天后迅速下降,可能与分泌的化感物质积累有关,也可能是植物进一步适应了水生环境。杭白菊 7d 后抑制效果好于野艾蒿,但最终抑藻率低于野艾蒿,可能是由于植物死亡并停止分泌化感物质,当体内积累的化感物质释放殆尽后,抑制效果逐渐减弱。

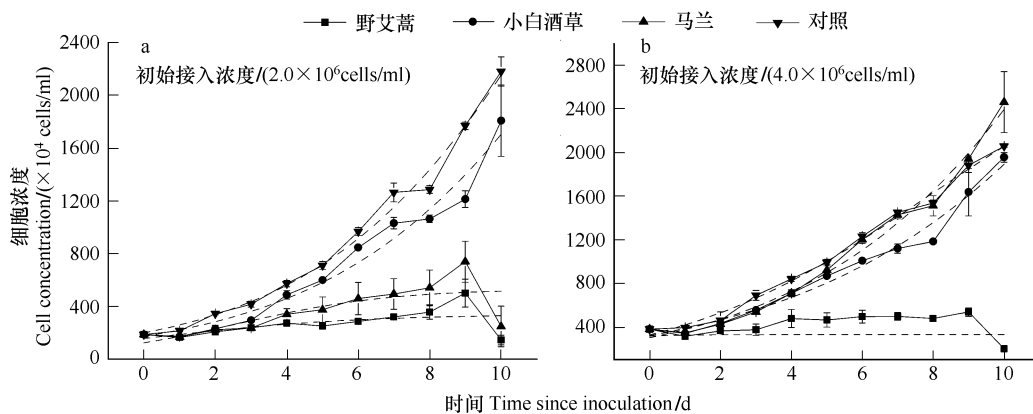


图 1 野艾蒿、杭白菊和小白酒草 3 种植物共培养下藻增长曲线

Fig.1 The algae growth curves of three plants during 10 days

2.2 空间、原生动物、营养盐等因素对 3 种菊科植物化感作用的影响

自然环境中原生动物对藻类数量有较大影响。本研究采用 $0.45 \mu\text{m}$ 混合纤维微孔滤膜,只允许营养物和抑制物质通过,排除了原生动物的影响。实验组的生长空间要大于对照组,因此空间因素也不是研究中抑制藻类生长的主导因素。

当总磷浓度超过 0.1 mg/L (如果磷是限制因素)或总氮浓度超过 0.3 mg/L (如果氮是限制因素)时,藻类会过量繁殖,而从实验后各培养箱中 TN、TP 的浓度看(图 2),即便是最低的 TN 值也是这一限度 50 倍,而 TP 最低值是限度的 24 倍,因此培养液仍为富营养状态,不会导致藻类消退。但不能排除营养盐浓度及氮磷比变化的影响。

野艾蒿和杭白菊总磷比对照有所升高,可能与部分坏死的叶片和根茎分解有关,也可能是由于死亡藻细胞的释放。小白酒草磷浓度很低而仍然生长旺盛,也说明磷不是限制因子。许海等研究了初始氮浓度设置为 $0\text{—}32.00 \text{ mg/L}$ 时氮浓度对铜绿微囊藻最大生物量的影响。结果表明初始 $\rho(\text{氮})$ 高于 2.00 mg/L 后,各处理组间差异不显著^[21]。说明当氮浓度高于 2.00 mg/L 时,多余的氮对微囊藻增长影响不大。

本文对照组的氮磷比为 $45.7:1$,野艾蒿组为 $6.5:1$,杭白菊组为 $4.2:1$,小白酒草组为 $193.8:1$ 。Redfield 定律认为,藻类细胞组成的原子比率 $\text{C:N:P} = 106:16:1$,如果氮磷比超过 $16:1$,磷被认为是限制性因素;当氮磷比小于 $10:1$ 时,氮通常被考虑为限制性因素^[22]。然而现有的很多研究认为当外部营养源超过藻类生长所需

的条件时,Redfield 定律就失去了其应用范围^[23]。由于藻类对氮、磷吸收率的不同,氮磷比对藻类生长的影响并不表现在一个确定值上,也不能用该比例来确定一个特定水环境中影响藻类生长的限制性因素,而应结合氮、磷质量浓度与氮磷比进行综合考虑^[22]。目前关于铜绿微囊藻生长的最适氮磷比还没有定论,研究结果从 16:1^[23] 29:1^[24] 到 40:1 不等^[25]。大量对氮磷比的研究表明在氮磷都过量时氮磷比对藻生长影响并不像在贫营养湖泊中那样显著。综上,氮磷比变化应该不是抑制效果差异的主要原因,但由于现有研究仍未有统一结论,因此不能排除其影响。

研究发现几种陆生植物除营养盐的能力较强,若应用于浮岛,可能有助于通过去除营养盐从根本上治理富营养化水体。3 种植物在水中生长的能力和去除氮磷的能力差别较大,因此要讨论其去除氮磷的效果还需要更多的重复试验,并测试更多植物种类。而后续的提取物生物检测实验也证明了抑藻物质的存在。

2.3 野艾蒿 3 种有机提取物对铜绿微囊藻的抑制作用

如图 3,72h 后各控制组生长略低于相应对照组,乙酸乙酯和正己烷提取物的高浓度实验组(浓度 5ml/60ml 和浓度 10ml/60ml)已经看不到绿色,水体较为清澈。乙醇提取物高浓度实验组为虽仍有绿色,但这是提取物本身的颜色,镜检表明其中已无藻细胞。

72h 的藻细胞浓度计数后如图 3。溶剂的残留物和助溶剂对藻生长仍有一定影响,因此以实验组抑藻率减去控制组抑藻率得到的矫正后抑藻率来正确评价抑藻效果。由于难以测出抑藻率恰好为 100% 时提取物浓度,本文采取线性拟合的方式,根据已有浓度的对数和抑藻率之间的关系推算抑藻率为 100% 时所对应的提取物质量浓度,记为 C_{100} ,其拟合结果见表 1。

由于同体积提取液中抑藻物质质量不同,通过挥干溶剂后的差减法得出乙醇、乙酸乙酯、正己烷提取物浓度

分别为 31.7g/L,7.6g/L,9.6g/L,用以评价抑藻率为 100% 时何种提取物所需浓度最低。结果表明乙酸乙酯提取物浓度最低,因而抑藻效果最好。由于乙酸乙酯极性介于乙醇(强极性)和正己烷(无极性)之间,因此推测有效抑藻组分可能是一种或一系列中等极性的物质。有研究表明,野艾蒿等蒿属植物的化感物质成分多为萜类物质、青蒿酸、香豆酸、黄酮、甾醇、香甾醇、蒿酮、异蒿酮、桉油精、挥发油^[11]。后续研究可进一步进行其水提液或培养水的生物检测和成分分析。

3 结论与建议

3.1 研究表明陆生菊科植物具有一定抑藻能力。在排除了空间和原生动物的影响后,3 种菊科植物中野艾蒿抑藻作用最强,10d 后对两种浓度的铜绿微囊藻生长的抑制率分别为 93.3% 和 89.3%,杭白菊抑制作用也较强,小白酒草抑藻作用较弱。

3.2 有机提取物的抑藻实验证明野艾蒿含有一定抑藻物质。其 3 种有机提取物对藻类的生长都有明显抑制作用,其中乙酸乙酯提取物抑藻效果最好,因此推测有效抑藻组分可能是一种或一系列中等极性的物质。后

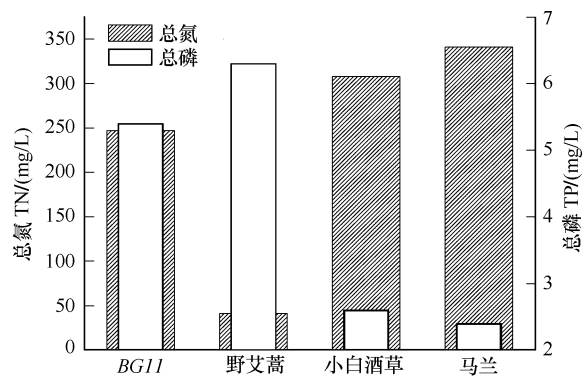


图2 共培养 10d 后各组总氮总磷浓度

Fig. 2 TN and TP concentrations in the culture medium after 10 days' co-cultivation

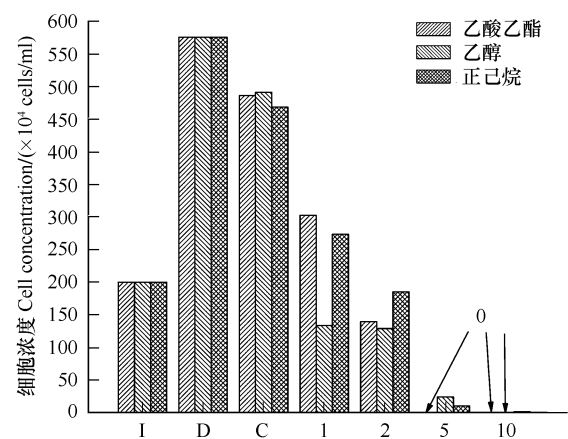


图3 3 种有机提取物作用下铜绿微囊藻 72h 后的浓度

Fig. 3 Inhibition of the three organic solvents on algae after 72h

其中 I、D、C 分别为对照组初始接入浓度,对照组 72h 后浓度,及控制组 72h 后浓度

续研究可进一步分析抑藻物质的成分和抑藻作用的机理。

表 1 3 种有机物抑藻率及 C_{100} 值

Table 1 Inhibition ratios and predicted C_{100} values of the three organic solvents

提取剂 Solvents	体积 Volume /ml	有机提取物浓度 Concentration of extract $C/(g/L)$	抑藻率 Inhibition ratio $IR_{72}/\%$	矫正后抑藻率 Inhibition ratio after correction $IR'_{72}/\%$	C_{100} /(g/L)	拟合公式 Fitting formula
乙醇 Alcohol	0	0	15	—	4.50	$IR'_{72} = 0.0299 * \ln C$
	1	0.53	77	73		$-2.337, r = 0.957,$
	2	1.06	78	74		$t = 4.66 > t_{0.05(2)},$
	5	2.64	96	95		相关性显著
	10	5.28	100	100		
乙酸乙酯 Ethyl acetate	0	0	16	—	0.83	$IR'_{72} = 0.0139 * \ln C$
	1	0.13	47	38		$-1.4698, r = 0.941,$
	2	0.25	76	71		$t = 3.92 > t_{0.05(2)},$
	5	0.63	100	100		相关性显著
	10	1.27	100	100		
正己烷 n-hexane	0	0	19	—	1.18	$IR'_{72} = 0.0149 * \ln C -$
	1	0.16	52	42		$1.4179, r = 0.968,$
	2	0.32	68	61		$t = 5.41 > t_{0.05(2)},$
	5	0.8	98	98		相关性显著
	10	1.6	100	100		

* $t_{0.05(2)} = 2.92$, 考虑到本文研究为种群被抑制作用, 其置信度要求满足 $\alpha = 0.05$ 即可

3.3 很多菊科植物可能含有抑藻物质, 具有开发抑藻剂的潜力, 其中部分植物可较好地适应水生栽培, 释放抑藻物质并大量去除水中氮磷营养盐, 因此有应用生物浮床和人工湿地修复富营养化水体的潜力。

References:

- [1] Su X F. The reason and control of the lake eutrophication. Public Science, 2007, (20):13-17.
- [2] Zhang W H, Zhang X H, Zhang G M. Variation of microcystins in a lake for water supply. Environmental Science and Health, 2003, 38(12): 2857-2865.
- [3] Zhang W H, Zhang X H, Xiao B D. Progress on restoration techniques for inland aquatic environment. Shanghai Environmental Sciences, 2003, 22(11):811-816.
- [4] Yang M, Wu X G, Zhang W H, Fang T. Application of aquatic plant in ecological restoration of eutrophic water. Environmental Science & Technology, 2007, (07):98-102.
- [5] Zhuang Y Y, Zhao F, Dai S G, Jin Z H. Algal growth inhibition by phytotoxins. Advances in Environmental Science, 1995, 6(3):44-49.
- [6] Hu H Y, Men Y J, Li F M. Research progress on phyto-allelopathic algae control. Ecology and Environment, 2006, (01):153-157.
- [7] Ding H J, Peng Q, Zhang W H, Wu X G, Zhou L F, Fang T. Inhibition Effect of Wetland Plants on Microcystis aeruginosa. Environmental Science & Technology, 2007, (4):7-10.
- [8] Li H R, Ze S Z, Liu H P, Jin P. Allelopathy and its application in forest management. Journal of West China Forestry Science, 2006, (1):121-124.
- [9] Li F M, Hu H Y. Mechanism of phyto-allelochemicals and its application for harmful algae control in nature water body. Water & Wastewater Engineering, 2004, (2):1-4.
- [10] Kong C H, Wang P, Zhang C X, Zhang M X, Hu F. Herbicidal potential of allelochemicals from Lantana camara against Eichhornia crassipes and the alga Microcystis aeruginosa. Weed Research, 2006. 46: 290-295.
- [11] Zhou K, Guo W M, Xu Y C. Advances of research on allelopathic potential in compositae. Acta Ecologica Sinica, 2004, (8):1776-1784.
- [12] Dayan F E, Romagni J G, Duke S O. Investigating the mode of action of natural phytotoxins. Journal of Chemical Ecology, 2000, 26(9):2079-2094.
- [13] Macias F A, Molinillo JMG, Galindo JCG, Varela RM, Simonet, AM. The use of allelopathic studies in the search for natural herbicides. Journal of Crop Production, 2001, 4(2):237-255.

- [14] Sun H Q, He Z D, Zheng Y X, Han J G. Early report studies on superoxide dismutase and peroxide isozyme of dendranthema morifolium. Journal of Handan Agricultural College, 2005, (01): 5-9.
- [15] Li F H. The history and status in soilless culture advances. System Sciences and Comprehensive Studies In Agriculture, 1999, (04): 313-314.
- [16] Liu Y, He S X. A study on soilless culture technique of chrysanthemum. Journal of Agriculture Science, 1999, (03): 62-65.
- [17] Li Y J, Jin X C, Nian Y G, Hu S R, Hu X Z. Artificial floating island technology and its applied research. Technology of Water Treatment, 2007, (10): 49-51, 77.
- [18] Tang L S, Chen J, Huang Z. The development of artificial floating-island. Journal of Yangtze River Scientific Research Institute, 2008, (1): 21-24, 39.
- [19] Zhang W H, Xu F Q, He W, Zheng X, Yang C. Inhibitive effects of three compositae plants on *Microcystis aeruginosa*. Front. Environ. Sci. Engin. China, 2009, 3(1): 48-55.
- [20] Hu X W, Dong Y Y, Zhang X P, Ye F B. The measurement of *Anabaena flos-aquae* with visible spectrophotography. Journal of Huazhong Agricultural, 2002, 21(3): 296-297.
- [21] Xu H, Yang L Z, Liu Z P. Dynamics Study on the Effect of Nitrogen on the Growth of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus obliquus*. Research of Environmental Sciences, 2008, 21(1): 69-73.
- [22] Shi X L, Wang F P, Jiang L J, Yang L Y, Kong Z M, Gao G, Qin B Q. Effect of Light Period Length on the Movement of Exogenous Phosphorus within Simulative Aqueous Eco-systems. Chinese Journal of Environmental Science, 2003, 24(1): 40-45.
- [23] Feng M W, Wu Y H, Feng S X, Wu Y Y. Effect of different N/P ratios on algal growth. Ecology and Environment, 2008, 17(5): 1759-1763.
- [24] Zheng S F, Yang S W, Jin X C. Dynamic studies on the effect of nutrients on the growth of *Microcystis aeruginosa*, Environmental Science, 2005, 26(2): 152-156.
- [25] Zou D, Xiao L, Yang L Y, Ma Z, Wan Y Q. Effects of N/P ratio on phosphorus metabolism of *Microcystis aeruginosa* and *adhesive Pseudomonas*. Environmental Chemistry, 2005, 24(6): 647-650.
- [26] Li R X, Zhu M Y, Chen S, Lü R H, Li B H. Responses of phytoplankton on phosphate enrichment in mesocosms. Acta Ecologica Sinica, 2001, 21(4): 603-607.

参考文献:

- [1] 苏晓峰. 湖泊富营养化原因及其防治. 大众科学(科学研究与实践), 2007, (20): 13.
- [3] 张维昊, 张锡辉, 肖邦定. 内陆水环境修复技术进展. 上海环境科学, 2003, 22(11): 811-816.
- [4] 杨旻, 吴小刚, 张维昊, 方涛. 富营养化水体生态修复中水生植物的应用研究. 环境科学与技术, 2007, (07): 98-102.
- [5] 庄源益, 赵凡, 戴树桂, 金朝辉. 高等水生植物对藻类生长的克制效应. 环境科学进展, 1995, 6(3): 44-49.
- [6] 胡洪营, 门玉洁, 李锋民. 植物化感作用抑制藻类生长的研究进展. 生态环境, 2006, (01): 153-157.
- [7] 丁惠君, 彭祺, 张维昊, 吴小刚, 周连凤, 方涛. 三种湿生植物对微囊藻的化感作用初步分析. 环境科学与技术, 2007, (4): 7-10.
- [8] 李浩然, 泽桑梓, 刘宏屏, 严金平. 植物的化感作用及其在林业经营中的运用. 西部林业科学, 2006, (1): 121-124.
- [9] 李锋民, 胡洪营. 植物化感作用控制天然水体中有害藻类的机理与应用. 给水排水, 2004, (2): 1-4.
- [10] 孔垂华. 植物与其它有机体的化学作用-潜在的有害生物控制途径. 中国农业科学, 2007, 40(4): 712-720.
- [11] 周凯, 郭维明, 徐迎春. 菊科植物化感作用研究进展. 生态学报, 2004, (8): 1776-1784.
- [14] 孙焕顷, 贺字典, 郑云翔, 韩九皋. 几种菊科植物 SOD 和 POD 同工酶的比较(简报). 邯郸农业高等专科学校学报, 2005, (01): 5-9.
- [15] 李富恒. 无土栽培技术研究的历史、现状与进展. 农业系统科学与综合研究, 1999, (04): 313-314.
- [16] 刘云, 何书萱. 菊花无土栽培技术研究. 山西农业科学, 1999, (03): 62-65.
- [17] 李英杰, 金相灿, 年跃刚, 胡社荣, 胡小贞. 人工浮岛技术及其应用. 水处理技术, 2007, (10): 49-51, 77.
- [18] 唐林森, 陈进, 黄苗. 人工生物浮岛在富营养化水体治理中的应用. 长江科学院院报, 2008, (1): 21-24, 39.
- [19] 张维昊, 徐美清, 何伟, 郑星, 杨晨. 三种菊科植物对铜绿微囊藻的抑制作用. 中国环境科学前沿, 2009, 3(1): 48-55.
- [20] 胡先文, 董元彦, 张新萍, 叶发兵. 可见分光光度法测定水华鱼腥藻. 华中农业大学学报, 2002, 21(3): 296-297.
- [21] 许海, 杨林章, 刘兆普. 铜绿微囊藻和斜生栅藻生长的氮营养动力学特征. 环境科学研究, 2008, 21(1): 69-73.
- [22] 史小丽, 王凤平, 蒋丽娟, 杨柳燕, 孔志明, 高光, 秦伯强. 扰动对外源性磷在模拟水生态系统中迁移的影响. 中国环境科学, 2002, 22(6): 537-541.
- [23] 丰茂武, 吴云海, 冯仕训, 吴云影. 不同氮磷比对藻类生长的影响. 生态环境, 2008, 17(5): 1759-1763.
- [24] 郑朔方, 杨苏文, 金相灿. 铜绿微囊藻生长的营养动力学. 环境科学, 2005, 26(2): 152-156.
- [25] 邹迪, 肖琳, 杨柳燕, 马喆, 王玉秋. 不同氮磷比对铜绿微囊藻及附生假单胞菌磷代谢的影响. 环境化学, 2005, 24(6): 647-650.
- [26] 李瑞香, 朱明远, 陈尚, 吕瑞华, 李宝华. 围隔生态系内浮游植物对富磷的响应. 生态学报, 2001, 21(4): 603-607.