

水生植物释放的酚酸类化感物质抑藻研究进展

钱燕萍^{1,2}, 田如男^{2*}

(1. 南京晓庄学院环境科学学院, 南京 211171; 2. 南京林业大学风景园林学院, 南京 210037)

摘要: 修复富营养化水体是当今社会亟待解决的重大环境问题。利用水生植物释放的化感物质抑制水华藻类的生长是一种生态安全性好的抑藻手段。酚酸类化感物质作为目前已鉴定并应用的主要化感物质之一, 得到了学者广泛的关注与研究。本文归纳了不同生活型水生植物释放的酚酸种类, 并从选择性抑制、单一作用与联合作用、构效关系和有效抑藻剂量等角度出发, 阐述了酚酸类化感物质的抑藻特性; 从生理生化的角度总结了酚酸类化感物质可能的抑藻机制, 主要包括: 破坏藻细胞光合系统、破坏藻细胞膜及形态结构、产生活性氧对藻细胞造成氧化损伤、抑制藻细胞蛋白质合成、导致藻细胞程序性死亡等。未来可从酚酸类化感物质在水体和生物体中的降解特性及迁移转化规律、联合作用和持续作用、高效化感抑藻剂开发和抑藻机理等方向开展深入研究。

关键词: 酚酸; 化感物质; 化感作用; 抑藻效应; 抑藻机理

中图分类号: X52

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2022)04-0645-07

Research progress on algae inhibition of phenolic acid allelochemicals released by aquatic plants

QIAN Yanping^{1,2}, TIAN Runan²

(1. School of Environmental Science, Nanjing Xiaozhuang University, Nanjing 211171;

2. College of Landscape Architecture, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037)

Abstract: Repairing eutrophic water bodies is a major environmental problem that needs to be solved urgently in nowadays society. Using allelochemicals released by plants to inhibit the growth of algae is an ecologically safe means of algae inhibition. Phenolic acid, as one of the main allelochemicals identified and applied at present, has been widely concerned and studied. The types of phenolic acids released by aquatic plants were summarized in this paper. The algal inhibition characteristics of phenolic acid were described from the perspectives of selective inhibition, single and combined action, structure-activity relationship, and effective algal inhibition dose. The possible algal inhibition mechanisms of phenolic acid were introduced from the perspective of physiology and biochemistry, mainly including destroying the photosynthetic system of algal cells, destroying the membrane and morphological structure of algal cells, producing reactive oxygen species, inhibiting protein synthesis of algal cells and causing programmed cell death. In the future, the degradation and migration characteristics of allelochemicals, joint and continuous action of allelochemicals, high-efficiency allelochemical development, and algal inhibition mechanism of phenolic acid can be carried out in-depth research.

Key words: phenolic acid; allelochemicals; allelopathy; algal inhibition effect; algal inhibition mechanism

引起水华的主要藻种有微囊藻属、颤藻属、鱼腥藻属、节球藻属等。当氮、磷等营养物质过量排入水体时, 会加速水体中这些藻类的繁殖, 导致水华的发生, 从而进一步加剧水体富营养化程度, 严

重影响水体观赏价值和生态功能的有效发挥, 威胁人类生产和生命安全^[1]。近年来, 蓝藻暴发的频率和规模呈快速增长趋势, 已经成为亟待解决的世界性环境问题。国内外学者多使用物理方法、化学方

收稿日期: 2022-02-14

基金项目: 国家自然科学基金(31670698), 江苏省高等学校自然科学面上项目(19KJB220013)和江苏高校品牌专业建设工程项目(PPZY2015A063)共同资助。

作者简介: 钱燕萍, 博士, 讲师。E-mail: qianyanping705@163.com

* 通信作者: 田如男, 教授, 博士生导师。E-mail: tianrunan@njfu.edu.cn

法和生物方法开展蓝藻治理和水生态修复。物理方法主要包括机械清除、微滤法以及利用紫外线、超声波、物理吸附、絮凝等途径,该方法不会对水体产生二次污染,除藻效果较好,但是只适合小范围内应用,很难清除大面积水体中的有害藻类,且治理成本高。化学方法主要是指利用非氧化型和氧化型化学试剂抑制藻类生长:非氧化型化学试剂主要包括硫酸铝^[2]、硫酸铜^[3]等金属化合物;氧化型化学试剂主要包括卤素及其化合物、臭氧和高锰酸钾等氧化剂。化学方法抑藻有可能对水体中其他生物有毒害作用,导致二次污染并破坏水生生态系统。生物方法主要是指利用微生物、水生动物及水生植物抑制水体中有害藻类的暴发。利用水生植物释放的化感物质进行蓝藻治理是一种新兴的生物方法,具有生态友好、成本低廉、高效持久等优点,应用前景较好。近年来,随着植物天然产物分离与鉴定技术的进步,已从水生植物中分离并鉴定了多种次生代谢产物,其中酚酸类化感物质最常见。

酚酸类化合物是至少含有一个羟基直接连在苯环上的芳基化合物^[4],主要通过莽草酸途径和乙酸-丙二酸途径产生^[5],易与糖配体结合形成糖苷分子;另一方面苯羟基易与碱或金属形成盐类化合物,增加了酚酸类物质的水溶性^[6-7]。目前,酚酸类化感物质已被证明具有较强的抑藻活性,并且国内外学者围绕酚酸类化感物质的抑藻特性和抑藻机理展开了

一系列的研究^[8-11]。

本文概述了水生植物释放的酚酸类化感物质的种类,从选择抑制性、单一作用与联合作用、构效关系等方面总结了酚酸类化感物质的抑藻特性,从光合、氧化胁迫、细胞膜及形态结构、蛋白质合成、细胞程序性死亡等方面探讨了酚酸类化感物质的抑藻机理,并对酚酸类化感物质用于抑藻研究的前景进行了展望。

1 水生植物释放的酚酸类化感物质的种类

20世纪前,人类发现了植物化感现象,但是由于技术落后,对化感作用的认识停留在观察和记录阶段。在《本草纲目》中就提到了一些植物体内所含物质对生物具有有害和有利的双重性质。1832年,瑞士植物学家认为农作物的分泌物释放到土壤中,可能是导致作物病害问题的重要原因^[12]。直到20世纪后,随着技术的发展,气质联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)、核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)等大型分离和检测仪器应用于化感作用的研究中,越来越多的植物化感物质被提取、分离和鉴定。目前,学者从水生植物中分离并鉴定出多种酚酸类化感物质,对其抑藻效果开展了系列研究(表1)。

表 1 从水生植物检测到的酚酸类物质与供试藻类
Table 1 Phenolic acids detected from aquatic plants and tested algae

水生植物	检测到的酚酸类物质	供试藻类	参考文献
穗花狐尾藻(<i>Myriophyllum spicatum</i>)	鞣花酸、没食子酸、邻苯二酚酸、(+)-儿茶素	铜绿微囊藻 (<i>Microcystis aeruginosa</i>)	[13]
穗花狐尾藻	Tellimagrandin II	蓝藻	[14]
穗花狐尾藻	没食子酸、鞣花酸		[15]
黑藻(<i>Hydrilla verticillata</i>)、 苦草(<i>Vallisneria asiatica</i>)	香草酸、原儿茶酸、阿魏酸和咖啡酸	铜绿微囊藻	[16]
黑藻	顺式阿魏酸、对羟基苯甲酸、3-甲氧基-4-羟基 苯甲酸		[17]
苦草	苯甲酸、对羟基苯甲酸、对羟基苯乙酸、邻苯 二甲酸、对羟基苯丙酸、香草酸、原儿茶酸、 阿魏酸和咖啡酸	铜绿微囊藻	[18]
苦草	石炭酸、苯基丙烯酸、Iso-ferulic acid		[17]
马来眼子菜(<i>Potamogeton malaianus</i>)	苯甲酸、对羟基苯甲酸、对羟基苯丙烯酸、香 草酸、反式阿魏酸		[17]
伊乐藻(<i>Elodea nuttallii</i>)	苯甲酸、苯乙酸、对羟基苯甲酸、对羟基苯乙 酸等	铜绿微囊藻	[19]

注:空白表示未进行抑藻试验,下同。

2 酚酸类化感物质的抑藻特性

20世纪90年代以来,利用化感作用抑藻成为

控制藻类生长的新思路^[20-22]。随着人们对水华藻类危害认识的加深,研究者进一步致力于化感物质抑藻特性的研究。目前,主要从选择抑制性、单一作

用与联合作用、构效关系和有效抑藻剂量等方面开展了酚酸类化感物质抑藻特性的研究。

2.1 选择抑制性

化感物质一般只能抑制几种或者某一类藻的生长,表现出明显的选择抑制性,酚酸类化感物质的抑藻效应亦是如此。

酚酸对不同藻类的生长亦表现出不同的抑制效果。刘碧云等^[23]利用焦酚作用于 4 种藻类 192 h 后,结果表明相同浓度的焦酚对铜绿微囊藻生长的抑制效果最好,对水华鱼腥藻(*Anabaena flosaquae*)和蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)生长的抑制效果最差;高云霓等^[24]比较了焦酚对混合共培养体系和纯培养体系中铜绿微囊藻和雨生红球藻(*Haematococcus pluvialis*)生长的影响,结果表明在混合共培养体系中减弱了焦酚对铜绿微囊藻生长的抑制效应,却增强了焦酚对雨生红球藻生长的抑制效应。这些结果初步说明共存藻类会影响化感物质对目标藻株的抑制效应。

2.2 单一作用与联合作用

目前已有不少关于酚酸对藻类生长抑制效应的研究,但研究大多集中于单一化感物质对藻类的抑制效果。实际上,水生植物释放化感物质抑制藻类生长是一个复杂的过程,是通过释放多种化感物质进行联合作用,从而抑制藻类的生长。

化感物质联合作用的研究于 21 世纪才逐渐开展,研究对象主要包括酚酸类、脂肪酸类和其他类别的化感物质联合抑藻作用。研究表明,多种化感物质共同作用于有害藻类时,往往表现出协同、拮抗和加和等联合作用结果,比单一化感物质的抑藻模式更复杂^[25-26]。因此,研究化感物质抑藻的联合作用效果能模拟水生植物在实际水体中释放化感物质抑藻的真实情况,构建真实的化感作用模式。目前,主要通过相加指数法^[27](addition index, AI)和半致死剂量指数法^[28]对化感物质的联合抑藻效果展开评价,不同评价方法对联合抑藻效果的评价结果可能会存在一定差异。

2.2.1 酚酸类化感物质对藻类的单一作用与联合作用 Gao 等^[16]使用毒性指数(toxicity index, TI)模型评估黑藻和苦草释放的 4 种酚酸类化合物(香草酸、原儿茶酸、阿魏酸和咖啡酸)对铜绿微囊藻生长的联合作用时,观察到这 4 种不同混合比例的酚酸类化感物质对铜绿微囊藻的生长具有累加和协同的抑制作用,意味着水生植物可以释放酚酸类化感物质抑制铜绿微囊藻的生长,且多种化感物质的共同作用可能是水生植物抑制有害蓝藻暴发的重要化感作

用模式。张庭廷等^[29]通过半致死剂量指数法研究了酚酸类化感物质单一及复合作用下对两种藻类混合培养体系的影响,结果表明焦性没食子酸与水杨酸组合、焦性没食子酸与肉桂酸组合表现出协同抑藻作用,而水杨酸与肉桂酸组合表现为相加抑藻作用。未来可用酚酸类化感物质联合作用于藻类,通过不同种类化感物质协同抑藻,减少单一酚酸类物质的使用剂量和浓度,提高化感物质作用下的环境安全性。

2.2.2 酚酸类与其他类型化感物质对藻类的单一作用与联合作用 有学者研究了不同类型化感物质对藻类生长的联合效应。倪利晓等^[26]研究了酚酸(邻苯二酚、联苯三酚和没食子酸)和不饱和脂肪酸(亚油酸)对铜绿微囊藻生长的单一作用与联合作用,在得出各化感物质对铜绿微囊藻生长的半致死浓度基础上,通过等效浓度进行两两混合,用两种方法(相加指数法和半致死剂量指数法)对联合作用进行评价,结果表明邻苯二酚和联苯三酚、邻苯二酚和亚油酸这两种组合协同抑制铜绿微囊藻的生长,而其余二元混合物对铜绿微囊藻生长的联合作用表现为相加效应。Zuo 等^[30]研究发现化感物质(香豆素、对羟基苯甲酸、原儿茶酸,硬脂酸和对氨基苯磺酸)单独作用时具有强烈的藻类抑制作用,当 2 种或 3 种化感物质按特定比例混合时,化感物质具有协同抑藻作用;然而当 4 种或 5 种化感物质联合作用时对藻类抑制作用减弱,为拮抗作用。因此,通过直接添加化感物质来抑制藻类生长应考虑各种环境因素,如化感物质种类及混合比例、藻种类型等。

2.3 酚酸类化感物质结构与抑藻效果间的关系

苯丙烯酸衍生物比苯甲酸衍生物的酚酸类物质抑藻活性高;苯环上羟基取代基的数目越多,物质的抑藻活性越高;甲氧基则削弱了物质的抑藻能力。另外,羟基取代基的位置也影响物质的活性,3 种单羟基苯甲酸的抑藻活性由强到弱的顺序为:对位取代>邻位取代>间位取代。羟基数目的多少也影响物质的抑藻活性,苯甲酸系列衍生物中,苯甲酸抑藻活性最低,随着羟基数由 1 个增加到 3 个,物质的抑藻活性也显著增强。在同时有羧基取代的苯环上有 2 个羟基取代的物质比 1 个羟基取代的物质抑藻活性高^[6]。

2.4 酚酸类化感物质的有效抑藻剂量

酚酸类化感物质对不同藻类生长的抑制效果差异较大,具体见表 2。王红强等^[19]发现,同一种酚酸对铜绿微囊藻的产毒株和无毒株的半致死浓度也存在一定的差异,对羟基苯甲酸对铜绿微囊藻产毒

株的 72 h EC_{50} 为 $30.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 而对无毒株的 72 h EC_{50} 为 $36.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。没食子酸对铜绿微囊藻的 72 h EC_{50} 为 $5.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 而倪利晓等^[26]的研究结果为 $18.47 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。Gao 等^[31]发现咖啡酸对铜绿微囊藻的 72 h EC_{50} 为 $0.98 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 而其另一研究结果为 $4.58 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。因此, 酚酸类化感物质的有效抑藻剂量受多种因素的影响, 如藻种类型、藻细胞初始浓度等。

表 2 酚酸对浮游藻类生长的半致死浓度^[17-18, 25]

Table 2 EC_{50} of phenolic acids on the growth of algae^[17-18, 25]

酚酸种类	$EC_{50}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$		
	铜绿微囊藻		中肋骨条藻 <i>Skeletonema costatum</i>
	产毒株	无毒株	
原儿茶酸	14.34		153
香草酸	59.23		
咖啡酸	4.58		
阿魏酸	128.81		145
苯甲酸	69.3	68.1	
间羟基苯甲酸	47.4	47.7	
邻羟基苯甲酸	39.1	41.7	108
对羟基苯甲酸	30.5	36.3	
3,5-二羟基苯甲酸	24.9	28.1	
没食子酸	5.5	5.4	
联苯三酚	11.10		
邻苯二酚	2.10		
焦性没食子酸			

3 酚酸类化感物质的抑藻机理

目前, 学者主要从光合、氧化胁迫、细胞膜及形态结构、蛋白质合成、藻细胞程序性死亡等方面开展酚酸类化感物质抑制浮游藻类生长机理的研究。

3.1 破坏藻细胞光合系统

蓝藻是一类光合生物, 与高等植物一样, 可利用光能进行光合作用合成有机物质。其光合作用共 50 多个步骤, 包括吸收光能、电子传递、ATP 合成、 CO_2 固定等一系列过程^[32]。目前, 化感物质破坏藻细胞光合系统的研究主要集中在光合色素含量、电子传递和荧光参数等方面。

3.1.1 对藻细胞捕光系统中光合色素含量的影响

在光能捕获和传递过程中, 藻细胞的光合色素发挥着重要作用。叶绿素 a 除了参与光能的吸收与传递外, 位于光反应系统蛋白复合体上的叶绿素 a 可吸收从天线色素传递过来的能量, 以此促进光化学反应的进行。Zhu 等^[33]研究表明在狐尾藻分泌物焦性没食子酸和没食子酸胁迫下, 铜绿微囊藻叶绿素 a 含量显

著降低。

除了叶绿素外, 蓝藻的捕光系统中还包含类胡萝卜素、藻胆蛋白等天线分子, 可将捕获的光能高效地传递给叶绿素, 协助藻细胞进行光合作用。侯新星等^[34]发现在香草酸和肉桂酸作用下铜绿微囊藻细胞叶绿素 a 和藻胆蛋白含量下降, 且藻蓝蛋白与别藻蓝蛋白比藻红蛋白损伤程度更重, 藻胆蛋白各组分比例相应发生变化, 表明酚酸类化感物质可直接破坏铜绿微囊藻的捕光天线抑制藻类的生长。

3.1.2 对藻细胞光合电子传递链的影响 化感物质可以通过抑制光合系统的电子传递速率从而降低光能转化效率, 减弱甚至抑制光合作用, 从而抑制藻类的生长与繁殖。有研究表明, 酚酸类、酮类、萜类等部分化感物质是很强的电子受体, 通过夺取光系统 II (PS II) 电子传递链中的电子, 阻断电子传递链^[35]。Wang 等^[36]借助 Phyto-PAM 和 Clark 型氧电极发现在焦性没食子酸和没食子酸的作用下, 铜绿微囊藻细胞 PS II 中心的电子传递链活性显著下降, 电子传递受到抑制。Zhu 等^[33]发现在狐尾藻分泌物焦性没食子酸胁迫下, 铜绿微囊藻细胞 PS II 的活性受到抑制, 而呼吸作用和 PS I 活性升高。

3.1.3 对藻类叶绿素荧光的影响 植物或者能进行光合作用的藻类受到外界逆境胁迫 (如生长环境因子变化、化感物质作用等) 时, 叶绿素荧光参数会作出响应, 具有简单、快速、准确的特点^[37-38], 是指示植物或者藻类是否受环境胁迫的重要指标, 通过量化 PS II 对光能的吸收、传递、转化、耗散及分配, 从而表征植物或者藻类受到胁迫时的光合作用效率^[39-40]。

Wang 等^[36]利用流式细胞仪技术测定了几种酚酸和脂肪酸不同浓度作用下对铜绿微囊藻叶绿素 a 荧光的影响, 结果表明壬酸、没食子酸和焦性没食子酸在所有处理中均显著抑制了铜绿微囊藻叶绿素 a 荧光。

可见, 酚酸类化感物质主要通过降低藻类光合色素含量、破坏光合电子传递等方式进一步抑制藻细胞的生长。

3.2 破坏藻细胞膜形态及结构

细胞膜是细胞重要的结构与功能组成部分, 是细胞与外界环境进行物质与能量交换的重要屏障, 能维持相对稳定的细胞环境, 在细胞生长、分裂与分化的过程中发挥重要作用^[41]。细胞膜结构具有选择透过性, 如果膜结构受到破坏, 会影响细胞膜的功能。因此, 细胞膜完整性对维持藻细胞正常生理功能具有重要意义。研究表明在没食子酸、原儿茶

酸、咖啡酸和壬酸等化感物质作用下, *Pseudokirchneriella subcapitata* (一种绿藻) 细胞膜完整性和空间结构被显著破坏, 从而影响细胞膜的正常生理功能^[36]。

化感物质作为细胞生长环境的一种外来刺激, 其作用的初始位点是细胞膜, 能够影响细胞膜的结构, 也可能会降解细胞膜上的通道蛋白, 破坏膜结构的完整性^[42], 使细胞内物质大量渗出, 导致电导率增加^[43]。此外, 细胞内外的物质可以进行交换, 导致环境中各种物质进入细胞, 细胞内含物丢失, 加速了藻类的裂解。

3.3 产生活性氧对藻细胞造成氧化损伤

蓝藻具有最原始的抗氧化系统, 可以抵抗活性氧等外界刺激对藻细胞造成的不利影响。

有研究表明氧化损伤是酚酸类化感物质抑制蓝藻生长的主要作用机制^[44]。外界不良环境胁迫会破坏藻细胞膜的稳定性和完整性, 打破活性氧自由基产生与清除的动态平衡, 活性氧在藻细胞中累积导致细胞膜脂质过氧化, 增加细胞膜的通透性, 进而对细胞内的生物大分子产生破坏, 影响藻细胞的正常生长。在藻细胞活性氧的清除过程中, 抗氧化酶发挥着重要作用, 在一定程度上可清除多余的自由基, 抵抗外界对藻细胞的进一步损伤。

酚酸类化感物质对藻细胞抗氧化系统的影响已有报道。阿魏酸易氧化, 通过改变藻细胞膜通透性, 并伴随氧化过程中产生过量超氧阴离子自由基 ($O_2^{\cdot-}$), 干扰藻细胞代谢功能从而抑制藻细胞生长^[45]。Shao 等^[46]发现在邻苯三酚胁迫下, 铜绿微囊藻细胞超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和过氧化氢酶 (catalase, CAT) 活性增强, 丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平显著高于对照组, 说明氧化损伤是连苯三酚对铜绿微囊藻化感作用的重要机制。Lu 等^[47]发现焦性没食子酸可能参与了铜绿微囊藻细胞中无效的氧化还原循环, 细胞膜是焦性没食子酸诱导活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 产生的靶点之一, 而氧化损伤是焦性没食子酸对铜绿微囊藻产生毒性的重要机制; 当添加 ROS 的清除剂抗坏血酸时, 显著缓解了由焦性没食子酸诱导的铜绿微囊藻 DNA 链的断裂。

3.4 抑制蛋白质合成

蛋白质是生命体的结构和功能单位, 蛋白质合成包括 DNA 信息的转录、翻译、加工与修饰等, 任何环节受影响均可能导致蛋白质无法行使正常功能, 影响细胞生命活动^[41, 48]。

酚酸类化感物质除了会影响藻细胞蛋白质的含

量与组成, 还会影响藻细胞的基因表达, 阻止 DNA 翻译和转录来影响蛋白质的合成。Shao 等^[46]研究表明, 在邻苯三酚胁迫下, 铜绿微囊藻细胞 *grpE* 和 *recA* 的表达没有显著变化, 浓度为 $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, *psbA* 和 *mcyB* 的表达上调; 即使暴露于浓度为 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的连苯三酚下, *prx* 和 *fabZ* 的表达也被上调。然而目前酚酸类化感物质对藻类细胞蛋白质合成与基因表达的影响机制尚未明确, 还有待深入研究。

3.5 引起细胞程序性死亡

细胞程序性死亡是 (programmed cell death, PCD) 在细胞内基因表达、caspase 酶等作用引发的系列生化过程而导致的细胞“自杀性死亡”, 是一种不可逆的由基因控制的细胞自杀机制。目前, 已发现浮游藻类的 PCD 存在于蓝藻、绿藻和甲藻的部分种中^[49]。

通常认为 PCD 是被细胞内信号或环境胁迫所触发。到目前为止, 藻细胞内主要有 ROS/NO/ Ca^{2+} 3 种信号分子。ROS/NO/ Ca^{2+} 介导藻类细胞 PCD 的作用主要取决于其浓度。高浓度的 ROS/NO/ Ca^{2+} 对藻细胞具有损伤和破坏作用, 而低浓度的 ROS/NO/ Ca^{2+} 能够作为信号分子来减轻胁迫对细胞的压力^[50]。而环境胁迫因子主要包括营养、紫外线辐射、氧化胁迫、强光、黑暗等^[51-52], 这些因子主要通过影响细胞内 ROS 水平变化、caspase 酶原激活等引起藻细胞 PCD 的发生。

经历 PCD 的细胞表现出一系列典型特征, 包括染色质浓缩、半胱天冬酶激活和 DNA 断裂。浮游藻类 PCD 的特征包括细胞内 ROS 的产生、caspase-like 蛋白酶活性触发、染色质紧缩、核变化、DNA 片段化等^[6]。

Lu 等^[53]将沉水植物穗花狐尾藻分泌的化感物质焦性没食子酸作用于铜绿微囊藻, 研究了焦性没食子酸诱导铜绿微囊藻细胞死亡过程中发生的形态和生化变化机制, 结果表明在焦性没食子酸作用下, 藻细胞内观察到 ROS 的产生, caspase-3-(like) 酶活性显著升高, 同时观察到光合作用层破裂、类核解体 and DNA 断裂等, 气相色谱-质谱分析表明焦性没食子酸逐渐降解。因此, 焦性没食子酸自氧化过程中产生的 ROS 可能作为一种介体, 导致蓝藻中的 caspase-3-(like) 酶激活和随后的细胞程序性死亡。

作为浮游藻类面临的众多常见环境因子之一, 水生植物分泌的化感物质是否会引发浮游藻类细胞内信号分子浓度水平升高, 并以此导致 caspase 酶激活, 从而触发浮游藻类 PCD, 这个问题值得进一步研究和探讨, 对阐明化感物质抑藻机理及浮游藻

类的生态调控具有重要意义。

4 研究展望

目前,已从不同生活型的水生植物中分离并鉴定出多种酚酸类化感物质,并对没食子酸、原儿茶酸、香草酸、咖啡酸等开展了抑藻特性和抑藻机理研究。这些化感物质主要通过产生活性氧对藻细胞造成氧化损伤、破坏藻细胞光合系统、破坏藻细胞膜及形态结构等来抑制藻类的生长。利用酚酸类化感物质抑制藻类生长为治理富营养化水体提供了新思路。未来可从以下方面对酚酸类化感物质的抑藻效应和机理开展深入研究。

(1)目前大多数研究是基于实验室条件下开展的,排除了其他生物因素和非生物因素对试验结果的干扰,然而却无法模拟藻类真实的生长环境。因此,在实际水体中大范围利用酚酸类化感物质去除有害藻类时,需研究化感物质在水体和生物体中的降解特性和迁移转化规律,以追踪化感物质及其代谢产物是否在水体中和生物体中积累,避免对水生生态环境和生物造成有害影响。

(2)研究报道表明,几乎所有的水生植物向水体中释放的化感物质种类是多样的,且不同的藻受体、不同的环境条件、不同的化感物质种类和比例均可能产生不同的抑藻效果。因此,应从多方面研究化感物质对藻类的联合抑制作用,找出抑藻效率最高、抑藻效果最好的化感物质作用模式。

(3)与添加化感物质标准品不同,水生植物作为活体,可以向水体中源源不断地释放化感物质,持续影响藻类的生长。而目前的研究结果表明,在化感物质作用下能抑制藻类生长,然而超过一定时间后其抑藻效果会迅速减弱甚至促进藻类的生长。因此,找出酚酸类化感物质有效抑藻的作用浓度和作用周期,以此模拟水生植物持续释放化感物质的特性。在此基础上,进行高效化感抑藻剂的开发与应用,如缓释微球等。

(4)目前,对酚酸类化感物质抑藻的机理研究还不够深入,今后可以从微观角度,如分子与基因方向,进一步揭示化感物质的抑藻机理。

参考文献:

- [1] QIN B Q, GAO G, ZHU G W, et al. Lake eutrophication and its ecosystem response[J]. Chin Sci Bull, 2013, 58(9): 961-970.
- [2] VAN HULLEBUSCH E, DELUCHAT V, CHAZAL P M, et al. Environmental impact of two successive chemical treatments in a small shallow eutrophied lake: part I. Case of aluminium sulphate[J]. Environ Pollut, 2002, 120(3): 617-626.
- [3] HULLEBUSCH E V, DELUCHAT V, CHAZAL P M, et al. Environmental impact of two successive chemical treatments in a small shallow eutrophied lake: part II. Case of copper sulfate[J]. Environ Pollut, 2002, 120(3): 627-634.
- [4] INDERJIT. Plant phenolics in allelopathy[J]. Bot Rev, 1996, 62(2): 186-202.
- [5] MANDAL S M, CHAKRABORTY D, DEY S. Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses[J]. Plant Signal Behav, 2010, 5(4): 359-368.
- [6] 吴振斌. 大型水生植物对藻类的化感作用[M]. 北京: 科学出版社, 2016.
- [7] INDERJIT, DAKSHINI K M M, FOY C L. Principles and practices in plant ecology: allelochemical interactions[M]. Boca Raton, FL: CRC Press, 1999.
- [8] 高云霓, 付琴琴, 张方, 等. 焦酚对共培养铜绿微囊藻和雨生红球藻影响的初步研究[J]. 生态环境学报, 2019, 28(6): 1175-1182.
- [9] 赵楚, 钱燕萍, 田如男. 梭鱼草化感物质丁二酸、肉桂酸及香草酸对铜绿微囊藻生长的抑制效应[J]. 浙江农林大学学报, 2020, 37(6): 1105-1111.
- [10] LIU J X, CHANG Y J, SUN L H, et al. Abundant allelochemicals and the inhibitory mechanism of the phenolic acids in water dropwort for the control of *Microcystis aeruginosa* blooms[J]. Plants (Basel), 2021, 10(12): 2653.
- [11] LOURENÇÃO A, MECINA G F, CORDEIRO-ARAÚJO M K, et al. Characterization of allelochemicals from *Pistia stratiotes* extracts and their effects on the growth and physiology of *Microcystis aeruginosa*[J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2021, 28(40): 57248-57259.
- [12] HORSLEY S B. Allelopathy. second edition[J]. For Sci, 1985, 31(3): 799-800.
- [13] NAKAI S, INOUE Y, HOSOMI M, et al. Myriophyllum spicatum-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis aeruginosa*[J]. Water Res, 2000, 34(11): 3026-3032.
- [14] LEU E, KRIEGER-LISZKAY A, GOUSSIAS C, et al. Polyphenolic allelochemicals from the aquatic angiosperm *Myriophyllum spicatum* inhibit photosystem II[J]. Plant Physiol, 2002, 130(4): 2011-2018.
- [15] GROSS E M, SÜTFELD R. Polyphenols with algicidal activity in the submerged macrophyte *Myriophyllum spicatum* L.[J]. Acta Hort, 1994(381): 710-716.
- [16] GAO Y N, LIU B Y, XU D, et al. Phenolic compounds exuded from two submerged freshwater macrophytes and their allelopathic effects on *Microcystis aeruginosa*[J]. Pol J Environ Stud, 2011, 20(5): 1153-1159.
- [17] 黄新颖, 种云霄, 汤仲恩, 等. 3种沉水植物水培液中抑藻活性物质的分析[J]. 华南农业大学学报, 2010, 31(3): 19-23.
- [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.
- [19] 王红强, 朱慧杰, 张丽萍, 等. 伊乐藻中有机酸的GC-MS分析及其抑藻作用研究[J]. 环境科学与技术, 2011, 34(7): 23-26, 174.
- [20] JIN P F, WANG H N, HUANG W K, et al. The allelopathic effect and safety evaluation of 3, 4-Dihydroxyben-

- zalacetone on *Microcystis aeruginosa*[J]. Pestic Biochem Physiol, 2018, 147: 145-152.
- [21] CHEN Q, SUN D, FANG T, et al. In vitro allelopathic effects of compounds from *Cerbera manghas* L. on three *Dinophyta* species responsible for harmful common red tides[J]. Sci Total Environ, 2021, 754: 142253.
- [22] CHEN Q, ZHU B, SUN D, et al. The effect of protocatechuic acid on the phycosphere in harmful algal bloom species *Scrippsiella trochoidea*[J]. Aquat Toxicol, 2020, 227: 105591.
- [23] 刘碧云, 周培疆, 吴振斌, 等. 焦酚对蓝藻和绿藻生长、光合色素及微量元素的作用[J]. 武汉大学学报(理学版), 2008, 54(6): 719-724.
- [24] 高云霓, 付琴琴, 张方, 等. 焦酚对共培养铜绿微囊藻和雨生红球藻影响的初步研究[J]. 生态环境学报, 2019, 28(6): 1175-1182.
- [25] 孙颖颖, 董晓柯, 李光成, 等. 3 种酚酸对中肋骨条藻生长的抑制作用[J]. 环境科学与技术, 2015, 38(3): 26-30.
- [26] 倪利晓, 任高翔, 陈世金, 等. 酚酸和不饱和脂肪酸对铜绿微囊藻的联合作用[J]. 环境化学, 2011, 30(8): 1428-1432.
- [27] 修瑞琴, 许永香, 傅迎春, 等. 水生毒理联合效应相加指数法[J]. 环境化学, 1994, 13(3): 269-271.
- [28] 周启星. 复合污染生态学[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1995.
- [29] 张庭廷, 韩玉珍, 何宗祥, 等. 酚酸类物质对铜绿微囊藻以及蛋白核小球藻的抑藻作用[J]. 卫生研究, 2016, 45(3): 448-451, 457.
- [30] ZUO S P, ZHOU S B, YE L T, et al. Antialgal effects of five individual allelochemicals and their mixtures in low level pollution conditions[J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2016, 23(15): 15703-15711.
- [31] GAO Y N, LIU B, GE F J, et al. Joint effects of allelochemical nonanoic acid, *N*-phenyl-1-naphthylamine and caffeic acid on the growth of *Microcystis aeruginosa*[J]. Allelopathy J, 2015, 35(2): 249-258.
- [32] 韩博平, 韩志国, 付翔. 藻类光合作用机理与模型[M]. 北京: 科学出版社, 2003.
- [33] 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]. Aquat Toxicol, 2010, 98(2): 196-203.
- [34] 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.
- [35] KÖRNER S, NICKLISCH A. Allelopathic growth inhibition of selected phytoplankton species by submerged macrophytes[J]. J Phycol, 2002, 38(5): 862-871.
- [36] WANG J, ZHU J Y, GAO Y N, et al. Toxicity of allelochemicals released by submerged macrophytes on phytoplankton[J]. Allelopathy J, 2013, 31(1): 199-210.
- [37] FERNANDEZ-JARAMILLO A A, DUARTE-GALVAN C, CONTRERAS-MEDINA L M, et al. Instrumentation in developing chlorophyll fluorescence biosensing: a review[J]. Sensors (Basel), 2012, 12(9): 11853-11869.
- [38] RIZZA F, PAGANI D, STANCA A M, et al. Use of chlorophyll fluorescence to evaluate the cold acclimation and freezing tolerance of winter and spring oats[J]. Plant Breed, 2001, 120(5): 389-396.
- [39] SJOLLEMA S B, MARTÍNEZGARCÍA G, VAN DER GEEST H G, et al. Hazard and risk of herbicides for marine microalgae[J]. Environ Pollut, 2014, 187: 106-111.
- [40] HUANG S Z, ZHU J Y, ZHANG L, et al. Combined effects of allelopathic polyphenols on *Microcystis aeruginosa* and response of different chlorophyll fluorescence parameters[J]. Front Microbiol, 2020, 11: 614570.
- [41] 王金发. 细胞生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2003.
- [42] IGARASHI T, SATAKE M, YASUMOTO T. Pymnesin-2: A potent ichthyotoxic and hemolytic glycoside isolated from the red tide alga *Pymnesium parvum*[J]. J Am Chem Soc, 1996, 118(2): 479-480.
- [43] DAYAN F E, WATSON S B, GALINDO J C G, et al. Phytotoxicity of quassinoids: physiological responses and structural requirements[J]. Pestic Biochem Physiol, 1999, 65(1): 15-24.
- [44] HONDA T, TAKAHASHI H, SAKO Y, et al. Gene expression of *Microcystis aeruginosa* during infection of cyanomyovirus Ma-LMM01[J]. Fish Sci, 2014, 80(1): 83-91.
- [45] 郭亚丽, 傅海燕, 黄国和, 等. 阿魏酸和香豆素对铜绿微囊藻的化感作用[J]. 环境科学, 2013, 34(4): 1492-1497.
- [46] SHAO J H, WU Z X, YU G L, et al. Allelopathic mechanism of pyrogallol to *Microcystis aeruginosa* PCC7806 (Cyanobacteria): from views of gene expression and antioxidant system[J]. Chemosphere, 2009, 75(7): 924-928.
- [47] LU Z Y, ZHANG Y Y, GAO Y N, et al. Effects of pyrogallol on *Microcystis aeruginosa*: oxidative stress related toxicity[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2016, 132: 413-419.
- [48] 鲁志营, 高云霓, 刘碧云, 等. 水生植物化感抑藻作用机制研究进展[J]. 环境科学与技术, 2013, 36(7): 64-69, 75.
- [49] GORDEEVA A V, LABAS Y A, ZVYAGILSKAYA R A. Apoptosis in unicellular organisms: mechanisms and evolution[J]. Biochemistry (Mosc), 2004, 69(10): 1055-1066.
- [50] 黄素珍, 张璐, 彭雪, 等. 信号分子介导藻类细胞程序性死亡的研究进展[J]. 水生生物学报, 2020, 44(5): 1014-1019.
- [51] BOUCHARD J N, PURDIE D A. Effect of elevated temperature, darkness, and hydrogen peroxide treatment on oxidative stress and cell death in the bloom-forming toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*[J]. J Phycol, 2011, 47(6): 1316-1325.
- [52] DING Y, GAN N Q, LI J, et al. Hydrogen peroxide induces apoptotic-like cell death in *Microcystis aeruginosa* (Chroococcales, Cyanobacteria) in a dose-dependent manner[J]. Phycologia, 2012, 51(5): 567-575.
- [53] LU Z Y, SHA J, TIAN Y, et al. Polyphenolic allelochemical pyrogallol induces caspase-3(like)-dependent programmed cell death in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*[J]. Algal Res, 2017, 21: 148-155.