

桉木粉对塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarensense*)的抑制作用及其化学基础研究

杨维东^{1,2}, 刘玉荣¹, 刘洁生^{1,2*}, 刘政¹

(1. 暨南大学生物工程学系, 广州 510632; 2. 暨南大学赤潮与水环境研究中心, 广州 510632)

摘要:探讨了托里桉(*Eucalyptus torelliana*)、尾叶桉(*Eucalyptus urophylla*)、窿缘桉(*Eucalyptus exserta*)等3种桉木粉对塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarensense*)生长的影响,并对其抑制赤潮藻类生长的化学基础进行了研究,以期为新除藻剂的筛选提供参考和依据。结果表明,不同桉木粉对塔玛亚历山大藻生长的抑制作用不同,托里桉木粉的抑藻作用明显强于尾叶桉和窿缘桉。灭菌与非灭菌托里桉木粉对塔玛亚历山大藻生长的抑制作用差别不大,表明细菌等微生物并非木粉抑藻的主要原因。不同溶剂粗提物对塔玛亚历山大藻生长的抑制作用不同,丙酮-水粗提物的抑藻活性明显强于乙酸乙酯、甲醇和水粗提物。进一步将丙酮-水粗提物分成A、B、C和D等4个组分,比较不同组分的抑藻活性。结果显示,丙酮-水粗提物中D组分的抑藻作用最强。该组分浓度为3 mg/L时,3 d时对塔玛亚历山大藻的去除率可达81.06%。GC-MS分析表明,D组分中含有4-羟基-3,5,6-三甲基-4-(3-氧代-1-丁烯基)-2-环己烯酮和5,6,7,7a-四氢-4,4,7a-三甲基-2(4H)-苯并呋喃酮等酮类物质。这些结果表明,托里桉木粉可显著抑制赤潮藻的生长,其中存在的酮类化感物质可能是其抑制藻类生长的主要原因。

关键词:赤潮; 塔玛亚历山大藻; 托里桉

中图分类号:X524 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2008)08-2296-06

Inhibitory Effects and Chemical Basis of *Eucalyptus orelliana* Wood Meals on the Growth of *Alexandrium tamarensense*

YANG Wei-dong^{1,2}, LIU Yu-rong¹, LIU Jie-sheng^{1,2}, LIU Zheng¹

(1. Department of Biotechnology, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. Research Center of Harmful Algae Blooms and Aquatic Environmental Science, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: To provide information on the screen of newly and efficient algaecides in controlling harmful algal blooms (HABs), the effects of wood meals from *Eucalyptus torelliana*, *Eucalyptus urophylla*, *Eucalyptus exserta* on the growth of *Alexandrium tamarensense* were observed and the chemical basis of the antialgal effect was discussed. The results show that the inhibitory activities of the three wood meals are different, and *E. torelliana* wood meals have the highest inhibitory activity. There are little differences in antialgal action between asepsis and rude wood meals, suggesting that some antialgal compounds from wood meals may be responsible for the inhibition and that microorganisms from wood meals have little effect on the inhibition. The acetone-water extract from *E. torelliana* wood meals is shown to have stronger inhibition on *A. tamarensense* than that from ethyl acetate, water and methanol extracts. The acetone-water extract from *E. torelliana* wood meals was further divided into extract A, B, C and D and the inhibitory activities were compared. The extract D is shown to have highest inhibitory activity. 3 mg/L of the extract appears 81% inhibition rate to *A. tamarensense* in the 3rd day. GC-MS show that extract D contains mostly ketones such as 4-hydroxy-3,5,6-trimethyl-4-(3-oxo-1-butenyl)-2-cyclohexen-1-one and 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-2(4H)-benzofuranone. These results suggest that wood meals from *E. torelliana* had certain inhibitory effect on *A. tamarensense*, and that ketones may be responsible for the inhibition.

Key words: harmful algal bloom(HAB); *Alexandrium tamarensense*; *Eucalyptus torelliana*

塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarensense*)是一种分布广泛的有害赤潮甲藻,可产生麻痹性贝毒(paralytic shellfish poisoning, PSP),对水产养殖和人类健康构成很大威胁^[1]。近年来,我国近海水域污染日趋严重,赤潮频发,塔玛亚历山大藻出现的频率和规模也不断增加,塔玛亚历山大藻赤潮的治理已成当务之急。

尽管人们已就赤潮的治理提出多种方法,但能真正用于实际治理的寥寥无几。化感物质源于自然,

利用化感物质治理藻类污染因兼具化学法快捷、生物法相对安全的优点,近年来颇受人们关注^[2,3],已成为筛选和发现新除藻剂的重要途径^[4]。马来眼子菜、石龙尾、满江红、水浮莲、石菖蒲、江蓠、石莼、龙

收稿日期:2007-08-14; 修订日期:2007-09-08

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973)项目(2001CB409710); 广东省科技计划项目(2004B20501007)

作者简介:杨维东(1967~),男,博士,教授,主要研究方向为环境生物分子与毒理学, E-mail: tywd@jnu.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: tjsliu@jnu.edu.cn

须菜等对淡水藻类生长的抑制作用已见报道^[5]; 大麦秸治理藻类水华更是受到西方国家的广泛关注和青睐^[6], 并已引起赤潮界的高度关注^[7]. Terlizzi 等^[7]研究发现, 高盐情况下麦杆浸泡液可选择性抑制赤潮藻的生长. 高洁等^[8]研究发现, 小麦秆、稻秆可有效抑制球形棕囊藻的生长, 抑藻化学物质可能是其抑藻的主要原因. Yang 等^[3, 9]等发现, 杉木粉、杉木浸出液和杉木精油均具有很强的抑藻作用; Pillinger 等^[10]指出, 腐烂的榆木(elm)和小无花果(sycamore)可抑制藻类的生长; Park 等^[11]发现, 17 种韩国橡木中有 12 种可显著抑制蓝细菌 *Microcystis aeruginosa* 的生长, 丹宁酸(tannin)可能是橡木抑制藻类生长的主要原因.

桉树(*Eucalyptus*)属桃金娘科(*Myrtaceae*)桉属(*Eucalyptus*), 是世界著名的三大速生树种之一, 具有适应性强、培育周期短、木材产量高、用途广泛等优点, 已广泛用于人造板、细木工板、造纸制浆、食用菌、家具等诸多领域. 许多研究发现, 尾叶桉、窿缘桉等桉树具有化感作用^[12, 13]. 那么桉树木粉是否也像榆木、小无花果和橡木一样, 能否有效抑制赤潮藻类生长, 目前国内外均鲜见报道. 本研究考查了托里桉(*Eucalyptus torelliana*)、尾叶桉(*Eucalyptus urophylla*)、窿缘桉(*Eucalyptus exserta*)等 3 种常见桉木粉对塔玛亚历山大藻生长的影响, 并就其抑藻原因和抑藻化学成分进行了初步分析, 以期为筛选和研发新的除藻剂提供参考, 为赤潮治理的研究提供新思路.

1 材料与方法

1.1 材料

托里桉(*E. torelliana*)、尾叶桉(*E. urophylla*)、窿缘桉(*E. exserta*)木粉取自华南农业大学植物园, 烘箱 40℃ 干燥过夜后备用.

塔玛亚历山大藻(*A. tamarensense*)由暨南大学理工学院江天久研究员提供.

1.2 藻的培养

藻的培养采用 K 培养基, 所用培养液由人工海水加营养盐配置而成, 并经 0.22 μm 微孔滤膜除菌. 实验前将保存藻种转移到三角瓶中, 置于温度为(22 ± 1)℃, 光照强度为 4 000 lx, 光暗比为 12 h:12 h 的 Xutemp 智能人工气候培养箱中, 待藻细胞生长至对数生长期时用于实验.

1.2 抑藻实验

1.2.1 不同桉木粉的抑藻作用比较

取托里桉、尾叶桉、窿缘桉木粉各 0.1 g, 分别加

入到 100 mL 藻密度为 2.46×10^6 个/L 的塔玛亚历山大藻培养液中, 置于人工气候培养箱中培养. 对照组不加木粉, 3 份平行实验. 倒置显微镜下观察、计数, 计算抑制率.

$$\text{抑制率}(\%) =$$

$$\frac{(\text{对照组藻密度} - \text{实验组藻密度})}{\text{对照组藻密度}} \times 100\%$$

1.2.2 不同用量托里桉木粉对塔玛亚历山大藻生长的影响

取托里桉木粉 0.05、0.1 和 0.15 g 分别加入到 100 mL 的 2.44×10^6 个/L 塔玛亚历山大藻培养液中, 置人工气候培养箱中培养. 对照组不加木粉, 3 份平行实验. 倒置显微镜下观察、计数.

1.2.3 灭菌、未灭菌木粉抑藻作用比较

取灭菌和未灭菌托里桉木粉 0.1 g 分别加入到 100 mL 藻密度为 2.44×10^6 个/L 的塔玛亚历山大藻的培养液中培养. 观察、计数, 计算抑制率.

1.3 托里桉木粉抑藻活性成分的分析

1.3.1 托里桉木粉不同溶剂粗提物抑藻作用比较

取 10 g 木粉分别加至 200 mL 丙酮-水(8:2)、甲醇、蒸馏水和乙酸乙酯中, 密封瓶口后置摇床振荡 48 h. 过滤, 除去溶剂后, 前 3 组用蒸馏水溶解、定容至 10 mL, 乙酸乙酯组用 10 mL 乙醇溶解. 取上述溶液各 50 μL 分别加至 100 mL 藻密度为 2.46×10^6 个/L 的塔玛亚历山大藻培养液中培养. 观察、计数, 计算抑制率.

1.3.2 托里桉木粉抑藻活性成分的分离

托里桉木粉抑藻活性成分的分离参考李锋民等^[14]的方法. 取 0.65 kg 烘干的托里桉木粉加至丙酮-水(8:2)溶液振荡 48 h, 除去滤液中的丙酮, 浓缩得 1 L 滤液, 即得粗提物. 进一步按图 1 所示步骤进行抑藻活性成分的分离, 得 A、B、C、D 等 4 个组分. 分别取上述组分各 1 g 溶于 10 mL 乙醇, 按 1.2.1 所示方法比较不同组分的抑藻活性, 对抑藻活性成分最强的组分进行 GC-MS 分析. 色谱条件如下, 色谱柱: Hp-FFAP, 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm; 柱温 80 ~ 220℃, 升温速度 10 ℃/min; 柱前压: 50 kPa; 离子源温度: 230℃; 连接线温度: 280℃; 扫描范围: 29.0 ~ 550.0 u. 用面积归一法计算粗提物各成分含量.

2 结果与分析

2.1 不同木粉对塔玛亚历山大藻生长的影响

图 2 为加入不同桉木粉后塔玛亚历山大藻的生长曲线. 可以看出, 加入桉木粉后, 实验各组藻密度

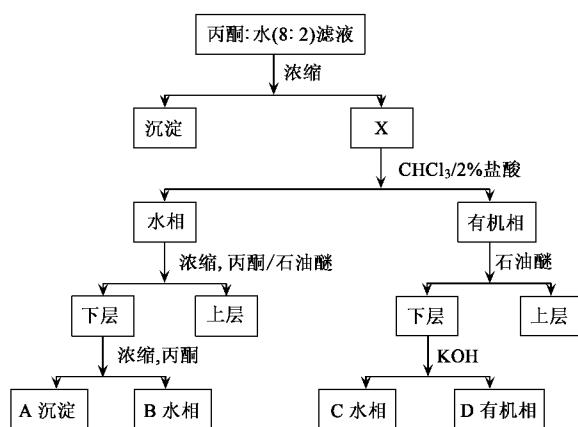


图 1 托里桉木粉抑藻活性成分的提取分离流程

Fig. 1 Isolation process of antialgal substances in wood meals from *Eucalyptus torelliana*

明显低于对照组,其中托里桉木粉组最低.这一结果表明,3种桉木粉对塔玛亚历山大藻的生长均有抑制作用,其中以托里桉木粉的抑制作用最强.显微镜下观察发现,对照组中多数藻细胞2个或4个连在一起;加入窿缘桉和尾叶桉木粉的实验组中有少数细胞2个或4个连在一起;托里桉木粉实验组中,细胞均单个存在,藻细胞有脱壳、破裂现象,大部分细胞停止游动.

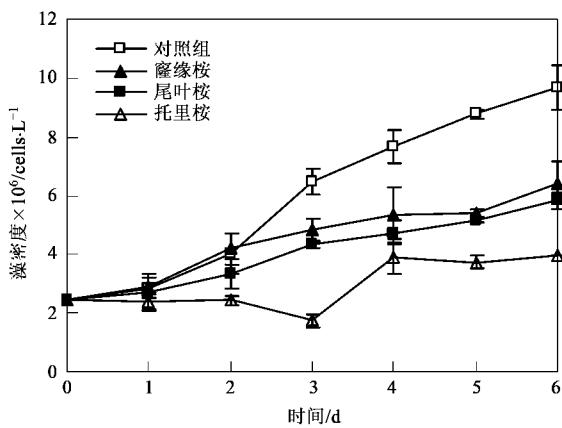


图 2 不同桉木粉对塔玛亚历山大藻的去除作用

Fig. 2 Effect of various eucalyptus wood meals on the growth of *Alexandrium tamarense*

2.2 不同用量托里桉木粉对塔玛亚历山大藻生长的影响

图3为加入不同剂量托里桉木粉后塔玛亚历山大藻的生长曲线.从中可以看出,实验剂量范围内,加入托里桉木粉后,实验各组藻密度持续减小,而对照组则于第2 d进入对数增长期.藻密度的大小与加入木粉的量有关,0.5 g/L组藻密度明显高于1 g/L

和1.5 g/L组藻密度,1 g/L和1.5 g/L组藻密度基本相当.

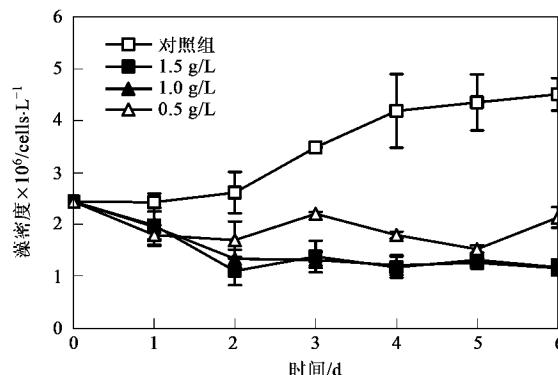


图 3 托里桉木粉对塔玛亚历山大藻的抑制作用

Fig. 3 Inhibition of wood meals from *Eucalyptus torelliana* on *Alexandrium tamarense*

2.3 灭菌、非灭菌的托里桉木粉对塔玛亚历山大藻生长的抑制作用比较

图4为灭菌、非灭菌的托里桉木粉对塔玛亚历山大藻生长的影响.从中可以看出,加入灭菌与非灭菌托里桉木粉后,塔玛亚历山大藻细胞密度均显著降低,灭菌与非灭菌组之间藻密度虽有一定差异,但差异不大,表明细菌等微生物并非桉木粉抑藻的主要原因.显微镜下观察发现,加入木粉6 h后,藻细胞大部分下沉到培养瓶底部,表明木粉对藻细胞有一定沉降作用,这与Yang等^[3]有关杉木粉抑制藻类生长的结果相似.

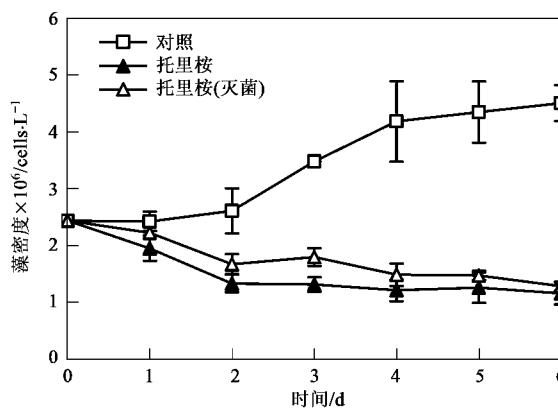


图 4 灭菌、未灭菌托里桉对塔玛亚历山大藻的抑制作用

Fig. 4 Inhibition of asepsis wood meals and rude wood meals from *Eucalyptus torelliana* on *Alexandrium tamarense*

2.4 托里桉木粉的不同溶剂粗提物对塔玛亚历山大藻生长的影响

分别用水、丙酮-水、甲醇和乙酸乙酯等溶剂浸

泡托里桉木粉,所得粗提物对塔玛亚历山大藻生长的影响如图 5 所示。可以看出,加入溶剂粗提物(相当 0.5 g/L 托里桉木粉)后,实验各组藻密度均有一定增长,但均明显低于对照组,其中丙酮-水粗提物藻密度最低。结果表明,实验所得 4 种溶剂粗提物对塔玛亚历山大藻生长均有一定的抑制作用,丙酮-水粗提物抑制作用最强。

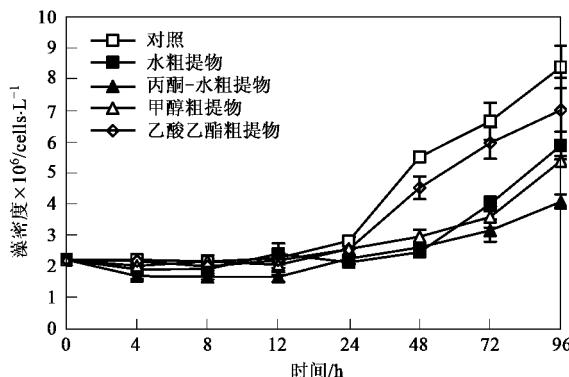


图 5 不同溶剂粗提物对塔玛亚历山大藻的去除作用

Fig.5 Effects of different solvent extracts from *Eucalyptus torelliana* wood meals on *Alexandrium tamarense*

2.5 托里桉丙酮-水粗提物中不同组分的抑藻作用比较

进一步对托里桉丙酮-水粗提物进行分离得 A、B、C、D 等 4 个组分,各组分对塔玛亚历山大藻的抑制作用如图 6 所示。从中可见,加入 A、B、C、D 等 4 个组分后,实验各组藻密度均显著低于对照组,加入 D 组分藻密度持续减小,表明 A、B、C、D 等 4 个组分均能抑制塔玛亚历山大藻的生长,D 组分的抑制作用最强。

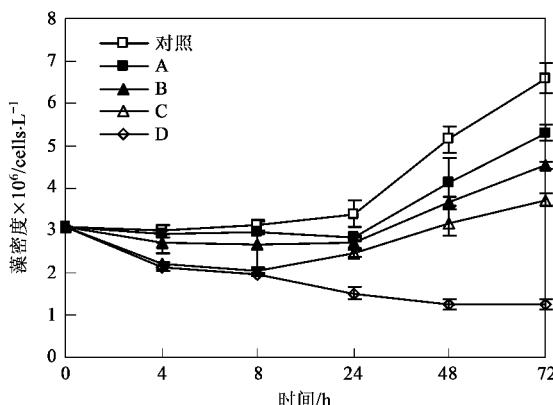


图 6 托里桉丙酮-水粗提物中不同组分对塔玛亚历山大藻的抑制作用

Fig.6 Effects of different ingredient from acetone-water extracts of *Eucalyptus torelliana* wood meals on *Alexandrium tamarense*

2.6 托里桉丙酮-水粗提物中 D 组分的 GC-MS 分析结果

对托里桉丙酮-水粗提物中 D 组分进行 GC-MS 分析,经计算机检索,共鉴定出 5 个化学成分,结果见图 7 和表 1。

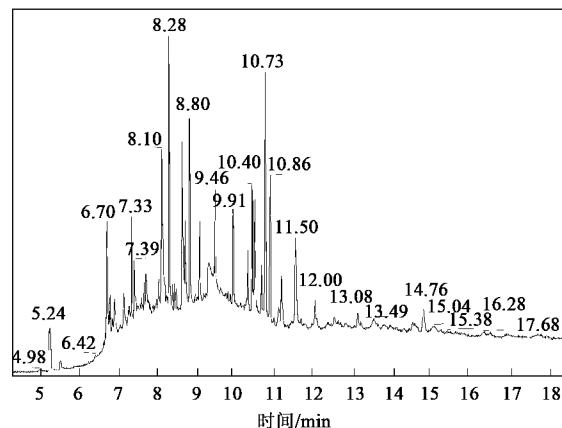


图 7 托里桉丙酮-水粗提物中 D 组分的 GC-MS 图

Fig.7 GC-MS of D species from acetone-water extract of *E. torelliana* wood meals

表 1 托里桉丙酮-水提取物中 D 组分的 GC-MS 鉴定结果

Table 1 Identified components of D species from acetone-water extract of *E. torelliana* wood meals by GC-MS

成分	含量/%
4-羟基-3,5,6-三甲基-4-(3-氧代-1-丁烯基)-2-环己烯酮	8.88
1,7,7-三甲基-二环[2.2.1]庚烷-2-酮	1.75
4-(6,7,7-三甲基-2,3-二氧杂二环[2.2.2]辛烯-5-烯基)-3-戊烯-2-酮	5.71
5,6,7,7a-四氢-4,4,7a-三甲基-2(4H)-苯并呋喃酮	2.94
2,2,7,7-四甲基三环[6.2.1.0(1,6)]十一碳-4-烯-3-酮	2.94

从表 1、图 7 中可知,D 组分主要含 4-羟基-3,5,6-三甲基-4-(3-氧代-1-丁烯基)-2-环己烯酮等酮类化合物。

3 讨论

桉树,俗称杨草果树,是世界著名的三大速生树种之一,是中国南方生长最快的树种,在中国云南、广西、广东、海南等省都有大面积种植。由于其速生、木材性质好、适应性广等特点,作为造纸、建筑、造船、芳香油的原料林以及水土保持和荒山绿化的优良树种已得到广泛应用。研究表明,桉树的根、茎、叶含多种化感物质,对自身和其他植物有明显的化感作用。但其对藻类是否也存在抑制作用,其化感物质的主要成分是何物尚鲜见报道。本研究发现,托里桉

木粉、尾叶桉木粉、窿缘桉木粉对塔玛亚历山大藻均有明显的抑制作用,其中托里桉木粉对塔玛亚历山大藻的敏感性最强。当托里桉木粉的剂量为0.5 g/L时,塔玛亚历山大藻的生长即被明显抑制。灭菌与未灭菌托里桉木粉对塔玛亚历山大藻的抑制作用无明显差别,表明托里桉木粉抑藻的主要原因来自木粉中的抑藻活性物质。进一步的研究发现,水、丙酮-水、甲醇和乙酸乙酯等溶剂粗提物均有一定抑藻活性,但不同溶剂粗提物的抑制作用不同,其中以丙酮-水(8:2)粗提物的抑制作用最强。根据溶剂极性的大小,可以推测托里桉木粉中抑藻物质的极性较强。

迄今为止所发现的化感物质几乎都是植物次生代谢物,分子量较小,结构简单,主要分为水溶性有机物、直链醇、脂肪族醛和酮,包括简单不饱和内脂、长链脂肪酸和多炔、醌类、苯甲酸及其衍生物、肉桂酸及其衍生物、香豆素类、类黄酮类、单宁、内萜、氨基酸和多肽、生物碱和氰醇、硫化物和芥子油苷、嘌呤和核苷等14类,其中低分子量有机酸、酚类和内萜类化合物最为常见^[15]。虽然已有不少有关桉树化感作用的研究,但有关桉树化感物质的报道鲜见。研究发现^[16],桉树化感物质以单萜和倍半萜为主,如蒎烯、均烯、非兰烯和桉树脑等,也可能存在阿魏酸、香豆酸、咖啡酸、巨桉酚和没食子酸等酚酸类物质。为进一步明确托里桉木粉中的抑藻化学成分,分离出高活性抑藻物质,笔者采用李锋民等^[5]方法,进一步对托里桉丙酮-水粗提物进行了分离和抑藻作用比较。结果发现,托里桉丙酮-水粗提物中D组分对塔玛亚历山大藻的抑制作用很强,超出一般水生植物中提取的化感物质的作用^[17,18]。3 mg/L时,去除率高达81.06%。表明这种方法可用于桉木中抑藻活性成分的分离。

GC-MS分析结果显示,D组分主要含4-羟基-3,5,6-三甲基-4-(3-氧代-1-丁烯基)-2-环己烯酮、5,6,7,7a-四氢-4,4,7a-三甲基-2(4H)-苯并呋喃酮、4-(6,7,7-三甲基-2,3-二氧杂二环[2.2.2]辛烯-5-烯基)-3-戊烯-2-酮和2,2,7,7-四甲基三环[6.2.1.0(1,6)]十一碳-4-烯-3-酮等酮类化合物。研究表明,环己烯酮是水稻中重要的化感物质,对稻田常见的稗草和异型莎草有一定抑制作用^[19];环己烯酮被认为是理想的替换传统除草剂的产品,有很好的开发利用前景^[20]。苯并呋喃酮是一类重要的自由基捕捉剂,具有抗真菌等生理活性。可以推测,D组分中的这些酮类化合物可能具有抑藻作用,在桉木粉抑制藻类生长中发挥重要作用。

值得指出的是,由于受所选有机溶剂的种类、特性以及GC-MS标准图谱等的局限,本研究仅在抑藻作用最强的丙酮-水粗提物D组分中鉴定出5种化合物。桉木中很可能还存在其他类型的抑藻物质如萜类、酚酸类以及长链脂肪酸等,这些物质在桉木抑藻效应中的作用如何,是否与环己烯酮类等物质存在协同效应,有待于进一步的研究。

4 结论

(1)托里桉木粉、尾叶桉木粉、窿缘桉木粉对塔玛亚历山大藻的生长均有明显的抑制作用,其中托里桉木粉对塔玛亚历山大藻的抑制作用最强。

(2)灭菌与未灭菌托里桉木粉对塔玛亚历山大藻的抑制作用无明显差别,提示托里桉木粉的抑藻作用主要与木粉中存在的抑藻活性成分有关。

(3)4-羟基-3,5,6-三甲基-4-(3-氧代-1-丁烯基)-2-环己烯酮、5,6,7,7a-四氢-4,4,7a-三甲基-2(4H)-苯并呋喃酮、4-(6,7,7-三甲基-2,3-二氧杂二环[2.2.2]辛烯-5-烯基)-3-戊烯-2-酮和2,2,7,7-四甲基三环[6.2.1.0(1,6)]十一碳-4-烯-3-酮等酮类物质可能是托里桉木粉抑制藻类生长的成分。

参考文献:

- [1] Leong S C Y, Murata A, Nagashima Y, et al. Variability in toxicity of the dinoflagellate *Alexandrium tamarensis* in response to different nitrogen sources and concentrations[J]. Toxicon, 2004, **43**(4): 407-415.
- [2] 刘洁生,陈芝兰,杨维东,等.凤眼莲根系丙酮提取物抑制赤潮藻类生长的机制研究[J].环境科学学报,2006, **26**(5): 815-820.
- [3] Yang W D, Zhang X L, Liu J S, et al. Inhibitory effect and sinking behaviour of wood meals from China fir on *Alexandrium tamarensis* in cultures[J]. Acta Hydrobiol Sin, 2005, **29**(2): 211-219.
- [4] Nagayama K, Shibata T, Fujimoto K, et al. Algicidal effect of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome* on red tide microalgae[J]. Aquaculture, 2003, **218**(1-4): 601-611.
- [5] 李锋民,胡洪营,门玉洁,等.化感物质对小球藻抗氧化体系酶活性的影响[J].环境科学,2006, **27**(10): 2091-2094.
- [6] 徐敏,毕永红,赵先富,等.大麦杆在控制水华藻类中的应用[J].水生生物学报,2002, **26**(6): 704-711.
- [7] Terlizzi D E, Ferrier M D, Armbrester E A, et al. Inhibition of dinoflagellate growth by extracts of barley straw (*Hordeum vulgare*) [J]. J Appl Phycol, 2002, **14**(4): 275-280.
- [8] 高洁,杨维东,刘洁生,等.利用小麦秸控制赤潮生物生长的研究[J].海洋环境科学,2005, **24**(1): 5-8.
- [9] 张信连,杨维东,刘洁生,等.杉木粉对塔玛亚历山大藻生长的影响[J].海洋环境科学,2005, **24**(2): 23-25.
- [10] Pillinger J M, Gilmour I, Ridge I. Comparison of antialgal activity of

- brown-rotted and white-rotted wood and *in situ* analysis of lignin[J]. J Chem Ecol, 1995, **21**(8): 1113-1125.
- [11] Park M H, Hwang S J, Ahn C Y, et al. Screening of seventeen oak extracts for the growth inhibition of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* Kütz em Elenkin[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2006, **77**(1): 9-14.
- [12] 曾任森, 李蓬为. 窿缘桉和尾叶桉的化感作用研究[J]. 华南农业大学学报, 1997, **18**(1): 6-10.
- [13] Chou C H, Yaw L K. Allelopathic research of subtropic vegetation in Taiwan[J]. J Chem Ecol, 1986, **12**(6): 1431-1447.
- [14] 李锋民, 胡洪营. 芦苇抑藻化感物质的分离及其抑制蛋白核小球藻效果研究[J]. 环境科学, 2004, **25**(5): 89-92.
- [15] Rice E L. Allelopathy [M]. (2nd edt). London: Academic Press, 1984. 1-2.
- [16] 刘小香, 谢龙莲, 陈秋波, 等. 桉树化感作用研究进展[J]. 热带农业科学, 2004, **24**(2): 54-61.
- [17] Nakai S, Inoue Y, Hosomi M, et al. *Myrophillum spicatum* released allelopathic polyphenoles inhibiting growth of blue-green algae *Chlorella pyrenoidosa*[J]. Water Res, 2000, **34**(11): 3026-3032.
- [18] 杨善元, 俞子文, 孙文浩, 等. 凤眼莲根系中抑藻物质分离与鉴定[J]. 植物生理学报, 1992, **18**(4): 399-402.
- [19] 孔垂华, 徐效华, 梁文举. 水稻化感品种根分泌物中非酚酸类化感物质的鉴定与抑草活性[J]. 生态学报, 2004, **24**(7): 1317-1322.
- [20] 徐尚成. 环己二酮类除草剂及其合成化学[J]. 农药, 1990, **29**(4): 31-34.