

植物源溶藻化合物研究进展

过七根, 李汉全, 张炳火*

九江学院药学与生命科学学院, 九江 332000

摘要: 由于硫酸铜等传统杀藻剂在环境中残留期长、选择性差、容易造成二次污染等, 因此其应用受到限制。天然产物和以天然产物为基础的化合物由于其环境友好, 对有害藻类选择性强, 因此在有害藻华防治方面受到越来越多的关注。植物是天然溶藻化合物的重要来源之一。近几十年来, 从植物代谢产物中发现了各种类型的溶藻化合物, 诸如甘油糖脂类、酚类、生物碱和萜类等, 从这些天然产物中可能筛选到对有害藻华选择性好、溶藻活性强的杀藻剂。本文对植物源各类溶藻化合物研究概况进行综述, 以促进植物源杀藻剂的研究。

关键词: 植物源; 溶藻化合物; 有害藻华

中图分类号: Q946.8

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.7.026

Research Progress of Phytogetic Algicidal Compounds

GUO Qi-gen, LI Han-quan, ZHANG Bing-huo*

College of Pharmacy and Life Science, Jiujiang University, Jiujiang 332000, China

Abstract: The usefulness of traditional algaecides such as copper sulfate is limited because of persistence in the environment, lack of selectivity towards toxic cyanobacteria and secondary pollution. Natural and natural-based compounds received increasing attention because of their environmental-friendly and high selectivity to harmful algal species. Plants are one of the important sources of algicidal compounds. In decades, various algicidal compounds, such as glycerolipids, phenols, alkaloids and terpenoids, etc., were found in the metabolites of plants, and algaecides with characteristics of high selectivity to harmful algal bloom and strong algicidal activity would be probably screened from these natural compounds. This paper reviewed the progress of phytogetic algicidal compounds to promote the research of phytogetic algaecides.

Key words: phytogetic; algicidal compound; cyanobacterial bloom

1878年有害蓝藻水华首次被科学文献报道^[1], 此后, 蓝藻水华爆发频率越来越高, 危害也越来越大, 特别是20世纪60年代以后^[2,3]。水华蓝藻能够产生肝毒素、神经毒素、细胞毒素、引起炎症的物质、皮肤毒素、刺激性物质和肠胃毒素等各种毒素^[4], 以及高浓度的致畸剂维甲酸类物质^[5], 这些物质对人类、动物和环境健康具有巨大威胁。虽然严格限制营养物质输入是长久解决蓝藻水华问题的最有效方法, 但由于受经济限制, 目前世界绝大部分地区无法做到这一点, 因此蓝藻水华的短期防治必不可少^[6,7]。

长期以来, 主要是使用化学药品防治蓝藻水华^[6,8], 其中 CuSO_4 是最常用的化学杀藻剂, 自1904

年就被用来控制藻类^[9], 其他还有铝盐、铁盐、生石灰、熟石灰、光敏剂和除草剂等各种化学药剂^[6]。传统化学杀藻剂控制水华虽然快速高效^[10], 但选择性差, 抑制整个浮游生物, 导致重金属富集, 毒害水生动物^[8,11]。因此, 长期使用这些化学杀藻剂会造成水体二次污染, 对水体生态系统具有潜在危害^[12]。

天然产物及衍生物选择性强、残留期短、环境友好, 作为合成杀藻剂的潜在替代品, 近年来日益受到关注^[6,11,13,14]。植物作为天然产物的重要来源之一, 能够产生许多酚类、生物碱等各种具有溶藻活性的天然产物, 其中不乏溶藻活性很强的化合物, 特别是水生植物产生的溶藻化合物是一种很有希望的控制水华的资源^[15,16], 而且有些植物资源广泛分布, 利用这些植物研制高效环保的天然杀藻剂具有较大的潜力。因此, 本文对植物源天然溶藻化合物进行综述, 为植物源天然杀藻剂的研制提供参考。

收稿日期: 2016-12-06 接受日期: 2017-05-02

基金项目: 国家自然科学基金(31060010); 江西省科技支撑计划(20111BBG700124); 江西省环保厅科技项目(JXH-BKJ2013-14); 江西省教育厅科技项目(GJJ151080); 九江学院重点项目(201511)

* 通信作者 Tel: 86-792-8565939; E-mail: binghuozh@126.com

1 不饱和脂肪酸

许多水生植物或湿地植物产生众多的多不饱和脂肪酸,这些脂肪酸对很多藻类的生长具有较好的抑制作用。Aliotta 等^[17]从宽叶香蒲(*Typha latifolia* L.)的乙醚提取物中分离到3个脂肪酸,分别为 α -亚麻酸(α -linolenic acid, **1**)、亚油酸(linoleic acid, **2**) (图1)和一个未确定的C_{18,2},这些化合物对 *Synechococcus leopoliensis* T625、*Anabaena flosaquae* T1444、*Porphyrosiphon notarisii* T 1816、*Scytonema hoffmanni* T2349 等多种蓝藻和其他藻类具有抑制作用,其中 α -亚麻酸(1.0 μ M)对这些蓝藻抑制活性与CuSO₄(1.0 μ M)相近。杨善元等^[18]发现,凤眼莲(*Eichhornia crassipes*)根系分泌的亚油酸也具有一定的抑藻活性。Nakai 等^[19]研究了狐尾藻(*Myriophyllum spicatum*)中抑藻脂肪酸类物质,其中壬酸(nonanoic acid, **3**)、顺式-6-十八烯酸(cis-6-octadecenoic acid, **4**)和顺式-9-十八烯酸(cis-9-octadecenoic acid, **5**) (图1)对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*) NIES-87(10⁴ ~ 10⁵/mL)的生长具有很强的抑制作用,EC₅₀分别为0.5 ± 0.3、3.3 ± 0.4和1.6 ± 0.4 mg/L,在5 mg/L的浓度内具有剂量效应,作者认为碳链长度、不饱和程度和双键的位置等可能影响脂肪酸的抑藻活性。Techer 等^[20]研究也说明壬酸对

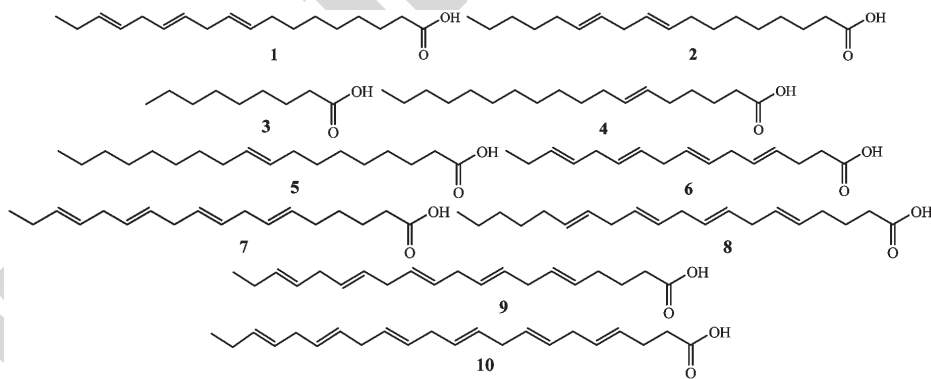


图1 溶藻脂肪酸

Fig. 1 Algicidal fatty acids

2 甘油糖脂类化合物

脂肪酸与甘油的反应产物也具有溶藻活性。杨善元等^[18]从凤眼莲根系中分离到亚油酸甘油酯(图2),该化合物对藻类具有较强的抑藻作用。Hirao 等^[23]从褐藻叶状铁钉菜(*Ishige sinicola*)的甲醇提取物中分离到5个化合物:花生四烯酸(**11**)、Octa-

水华蓝藻具有溶藻活性,且其对其它水生生物没有生态毒性。

Alamsjah 等^[21,22]研究发现,绿藻裂片石莼(*Ulva fasciata*)和孔石莼(*U. pertusa*)中含有高浓度的hexadeca-4,7,10,13-tetraenoic acid (HDTA, **6**)、 α -亚麻酸和 octadeca-6,9,12,15-tetraenoic acid (ODTA, **7**) (图1),并比较了碳原子数为16~22的16种不同脂肪酸的溶藻活性,发现这三种多不饱和脂肪酸、花生四烯酸(C20:4; arachidonic, **8**)、二十碳五烯酸(C20:5; eicosapentaenoic, **9**)和二十二碳六烯酸(C22:6; docosahexaenoic, **10**)等6种多不饱和脂肪酸具有很强的溶藻活性,对赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*)和海洋卡盾藻(*Chattonella marina*)的4 h半致死剂量[LC₅₀(4h)]分别不到5和8 μ g/mL,其中HDTA、 α -亚麻酸和ODTA对针胞藻纲(*Raphidophyceae*)、甲藻纲(*Dinophyceae*)、绿枝藻纲(*Prasinophyceae*)、石莼纲(*Ulvophyceae*)、硅藻纲(*Bacillariophyceae*)和真眼点藻纲(*Eustigmatophyceae*)等中的十多种藻细胞具有抑制作用,在5~25 μ g/mL的浓度下导致30%~70%以上的藻细胞死亡,研究还认为,在碳原子数相同的情况下,溶藻活性随不饱和度的增加而增加,但饱和度相同的情况下,溶藻活性与碳原子数没有相关性。

deca-6Z,9Z,12Z,15Z-tetraenoic acid (ODTA) (**12**)、亚油酸(**13**)、油酸(**14**)和1-O-palmitoyl-3-O-(6-sulfo- α -D-quinovopyranosyl)-sn-glycerol (**15**)的 α -甘油单脂(α -monoglycerides) (图2),其中化合物**15**是一个含硫的硫脂(sulfolipid)。用这些化合物处理微藻类的细胞,30 min内藻细胞膨胀,最终裂解死亡,20 μ g/mL的浓度下,它们对赤潮异弯藻、米氏凯伦藻

(*Karenia mikimotoi*)、链状亚历山大藻(*Alexandrium catenella*)和海洋卡盾藻的致死效率为15%~93.8%,特别是化合物15对这四种赤潮藻的致死率分别达到84%、93%、76.7%和93.8%,且这些甘油酯类化合物与它们对应的脂肪酸的溶藻活性在同一个水平上,通常认为不饱和脂肪酸的抑藻效率随着饱和度的减少而降低,但来自叶状铁钉菜的 α -甘油酯的这种趋势并不明显。

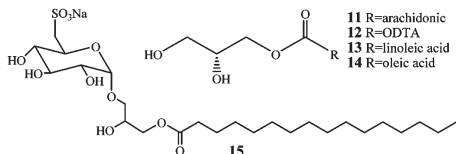


图2 溶藻甘油酯类化合物

Fig. 2 Algicidal glycerolipids

3 酚类物质

酚类物质是植物产生的一类重要的化合物,是目前研究最多的植物抑藻化合物。Kessler^[24]对黑胡桃(*Juglans nigra* L.)中常见的酚类化合物胡桃醌(juglone, 16)(图3)的抑藻活性进行了研究,发现在浓度为 10^{-3} M时,胡桃醌对锐新月藻(*Closterium acerosum*)、实球藻(*Pandorina morum*)、*Micrasterias thomasiana*、*Spirogyra grevilleana*和*Eudorina californica*等5种藻均有显著抑制作用(83%~89%), 10^{-4} M时对锐新月藻、实球藻和*S. grevilleana*有显著抑制作用,在 10^{-5} M时对5种藻均无显著抑制作用。然而,胡桃醌对鱼类毒性更强,在 $2.4 \sim 7.8 \times 10^{-8}$ M时就能杀死各种鱼类^[25],因此不可能用于藻华防治。Leu等^[26]研究表明,狐尾藻可产生和释放抑制藻类生长的多酚类物质,其中 β -1,2,3-tri-*O*-galloyl-4,6-(*S*)-hexahydroxydiphenyl-D-glucose (tellimagrandin II, 特马里素 II, 17)(图3)是主要的活性物质,这些酚类物质对光合作用中心 SPI 没有影响,其作用位点在光合作用中心 SP II,能够抑制未受损伤的蓝藻细胞和其他光能自养生物 O_2 的产生与释放,这些酚类物质与除草剂如3-(3,4-二氯苯基)-1,1-二甲基脲[3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea]作用位点不同,前者导致B-band的产生,后者导致Q-band的产生(放氧复合体处于 S_2 或 S_3 态的锰簇与半醌 Q_B 在约30℃左右复合时产生B-band;在除草剂存在的情况下,放氧复合体处于 S_2 态的锰簇与醌 Q_A 受体在约0℃左右复合时产生Q-band^[27]),另外,

tellimagrandin II还是微藻类胞外酶的有效抑制剂,因此,tellimagrandin II至少有2种作用方式抑制藻类生长,即抑制藻细胞的胞外酶活性和抑制光合作用中心 SP II。研究表明,许多陆地植物如榛子^[28]也含有特马里素 II。Park等^[29]研究了橡树提取物,发现这些提取物对铜绿微囊藻 UTEX2388 具有抑制作用,其中酚类化合物鞣酸(tannic acid, 18)(图3)是抑藻活性物质,但该化合物溶藻活性较弱,在17 mg/L浓度下不能抑制铜绿微囊藻的生长,甚至在1.7~8.5 mg/L的浓度下反而使藻细胞生长量增加了150%。Techer等^[20]研究发现,没食子酸(gallic acid, 19)(图3)对水华蓝藻的抑制作用强于壬酸,且其对其它水生生物也没有生态毒性。Nakai等^[30]研究了植物产生的多种酚类化合物(图3):对香豆酸(*p*-coumaric acid, 20)、咖啡酸(caffeic acid, 21)、阿魏酸(ferulic acid, 22)、原儿茶酸(proto catechuic acid, 23)、芥子酸(sinapic acid, 24)、丁香酸(syringic acid, 25)、香草酸(vanillic acid, 26)、邻苯二酚(catechol, 27)、对苯二酚(hydroquinone, 28)、苯酚(phenol, 29)、间苯二酚(resorcinol, 30)、羟基氢醌(hydroxy hydroquinone, 31)、焦枳酸(pyrogallol, 32)、没食子酸和间苯三酚(phloroglucinol, 33)等酚类化合物对铜绿微囊藻的抑制作用,其中咖啡酸、芥子酸、原儿茶酸、没食子酸、丁香酸、邻苯二酚、对苯二酚、焦枳酸、羟基氢醌和间苯三酚的对铜绿微囊藻的 EC_{50} 值分别为1.5、4.9、3.0、1.0、1.8、0.3、0.3、0.7、1.5和5.5 mg/L,而香草酸的 $EC_{50} > 10$ mg/L,其它酚类化合物均未检测到对铜绿微囊藻的抑制活性,这些结果表明,具有邻位或对位酚羟基的多酚类化合物比具有间位酚羟基的多酚类化合物抑藻活性更强,而甲氧基(-OCH₃)取代酚羟基(-OH)或苯环上的氢原子往往导致活性降低;自氧化实验表明,自氧化速率常数越大的多酚类化合物往往对铜绿微囊藻的 EC_{50} 值越小,多酚类化合物在自氧化时产生自由基,因此,自氧化产生自由基,再由自由基抑藻,是多酚类化合物抑藻机制之一。

类黄酮是天然多酚类化合物,许多水生植物能够产生这类化合物,并将之释放到水环境中。Huang等^[31]研究了分离自肉果草(*Lancea tibetica*)的5,4'-dihydroxyflavone(DHF, 34)、以及分离自伊乐藻(*Elodea*)的芹黄素(apigenin, 35)和木犀草素(luteolin, 36)对铜绿微囊藻的影响,发现木犀草素影响藻细胞的光合作用,而DHF和芹黄素则破坏藻

细胞膜的完整性,增加膜通透性,使膜去极化,影响细胞形态。Huang 等^[32]通过包埋,使 DHF 在水中

持续释放,从而使其抑藻时间由包埋前的最多 10 d 延长到 30 d 以上。

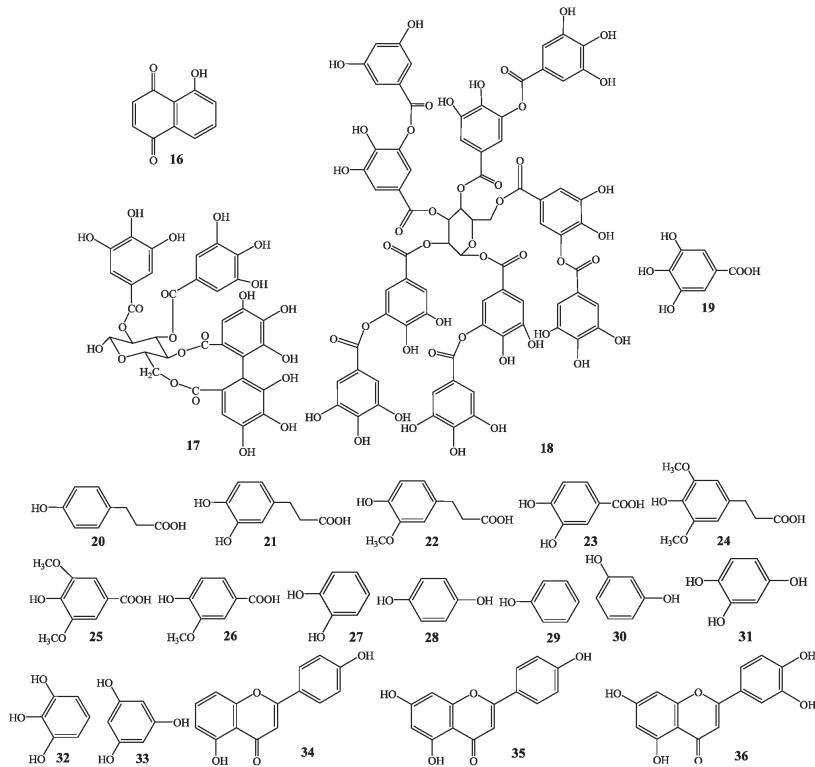


图 3 酚类溶藻化合物

Fig. 3 Algicidal phenolic compounds

4 生物碱

许多植物产生的生物碱对藻细胞可能具有一定的抑制作用,例如,芦竹、大麦和藜草等许多高等植物均能产的芦竹碱($C_{11}H_{14}N_2$)。Hong 等^[16]研究了芦竹碱(gramine, **37**) (图 4)对铜绿微囊藻的抑制作用,结果表明,随着原始藻细胞浓度由 5×10^4 增加到 5×10^5 /mL,其 $EC_{50(3d)}$ 也由 0.5 mg/L 增加到 2.1 mg/L,该吲哚生物碱能够使藻细胞产生大量活性氧,导致藻细胞脂质过氧化严重,丙二醛含量显著增加,加入芦竹碱后超氧化物歧化酶(SOD)活性一直在降低,过氧化氢酶(CAT)活性开始增加,但 60 h 后降低,抗坏血酸(AsA)和还原型谷胱甘肽(GSH)的含量开始增加,但 40 h 后只有 GSH 仍然在增加,这些结果可能表明,SOD 活性始终降低可能在芦竹碱抑制铜绿微囊藻的生长中具有重要作用。在植物中由脱羧酶催化色氨酸脱去羧基形成色胺(tryptamine, **38**)^[33]。色胺(图 4)具有较强的溶藻活性,对束丝藻(*Aphanizomenon*)、微囊藻(*Microcys-*

tis)、鱼腥藻(*Anabaena*)和念珠藻(*Nostoc*)等多个属的水华蓝藻均有很好的抑制活性^[34,35],且其作用是不可逆的,对绿藻也有抑制作用,但这种抑制作用可逆^[34]。Tryptoline(图 4, **39**)是色胺的代谢产物^[36],该化合物与色胺类似,对多种水华蓝藻均有抑制活性,但其活性更强,在试验的 8 株水华蓝藻中,对其中 5 株藻的活性显著或极显著高于同浓度的硫酸铜,3 株藻与硫酸铜相当;而色胺只对其中 3 株藻活性显著或极显著强于同浓度的硫酸铜,2 株藻显著或极显著低于硫酸铜,3 株藻与硫酸铜相当^[35]。王红强等^[37]利用 GC-MS 从伊乐藻(*Elodea nuttallii*)提取物中鉴定了包括吲哚和烟碱在内的 9 种生物碱成分,实验表明,在总生物碱浓度为 62.0 mg/L 时,3 d 后对铜绿微囊藻的抑制率为 44.0%,但到底是何种生物碱具有活性,尚不清楚。黄连素(berberine, **40**) (图 4)是一种重要的生物碱,可从黄连、黄柏、三颗针等植物中提取,Zhang 等^[38]研究黄连素的抑藻作用发现,铜绿微囊藻细胞的丙二醛和超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)含量均随着黄连素的浓度和处理时间

的增加而增加,低浓度时黄连素上调 SOD 酶的活性,高浓度时黄连素抑制 SOD 酶活性,在 0.10% 的黄连素存在时,SOD 酶活性开始增加,随后降低,黄

连素还会增加藻细胞中谷胱甘肽的含量,因此,作者认为,黄连素诱导的氧化损伤是黄连素抑制藻细胞生长的部分原因。

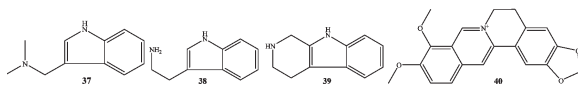


图 4 具有溶藻活性的生物碱

Fig. 4 Algicidal alkaloids

5 萜类化合物

Cangiano 等^[39]从水生植物川蔓藻(*Ruppia maritima*)分离到 7 个 *ent*-半日花烷型二萜(*ent*-labdane-diterpene)(图 5,41~47)、从浮叶眼子菜(*Potamogeton natans*)中分离到 13 个 *ent*-半日花烷型二萜(图 5,48~60),这些化合物多数对羊角月牙藻(*Selenastrum capricornutum*)抑制活性较好,特别是化合物 41、43、45、49 和 53(表 1),这些化合物构效关系分析表明,其中呋喃基对它们的活性很重要,与化合物 41 的六元环直接相连的自由羟基对其活性也很重要,其乙酰化导致大大活性降低,化合物 59 和 60 的葡糖基化(glycosylation)导致活性大大降低;毒性试验表明,其中部分化合物对一些水生动物,如轮虫、水蚤和甲壳纲无甲目动物具有毒性,其半致死浓度为 0.84~157.8 $\mu\text{mol/L}$,特别是化合物 41 对甲壳纲动物 *Thamnocephalus platyurus*,42、43 和 53 对萼花臂尾轮虫(*Brachionus calyciflorus*),48 和 51 对大型溞(*Daphnia magna*)和 *T. platyurus* 都具有较强的毒性,其半致死浓度在 0.84~23.56 $\mu\text{mol/L}$ 。Waridel 等^[40]从水生植物龙须眼子菜(*Potamogeton pectina-*

tus)中分到 6 个 *ent*-半日花烷型二萜(图 5,61~66),其中 61、62、65 和 66 为新化合物,而化合物 61~65 对 *Raphidocelis subcapitata* 具有显著的抑制活性,特别是化合物 64,72 h 的 IC_{50} 仅为 6.1 $\mu\text{mol/L}$,但新化合物中只有 61 的活性较好,72 h 的 IC_{50} 为 18.2 $\mu\text{mol/L}$ 。Waridel 等^[41]还从眼子菜属植物中分离到了 2 个新的 *ent*-半日花烷型糖苷类化合物和 1 个呋喃-*ent*-半日花烷(furano-*ent*-labdane)(图 5,67~69),其中 69 为已知化合物,对 *R. subcapitata* 具有一定的抑制作用(IC_{50} = 33.9 $\mu\text{mol/L}$),但远弱于其差向异构体化合物 63(IC_{50} = 17.2 $\mu\text{mol/L}$);2 个新化合物没有抑藻活性,这可能是葡糖基化导致其丧失活性。

6 其它抑藻化合物

植物还能够产生具有抑藻活性的其它类型化合物。Dellagrecia 等^[42]从湿地植物灯心草属植物(*Juncus acutus*)的根茎中分离到一个不常见的化合物 9,10-dihydrophenanthrenoid(图 6,70),该化合物对羊角月牙藻的 IC_{50} 为 10.3 $\mu\text{mol/L}$ 。Xian 等^[43]发现,大型沉水植物旋叶苦草(*Vallisneria spiralis*)的乙

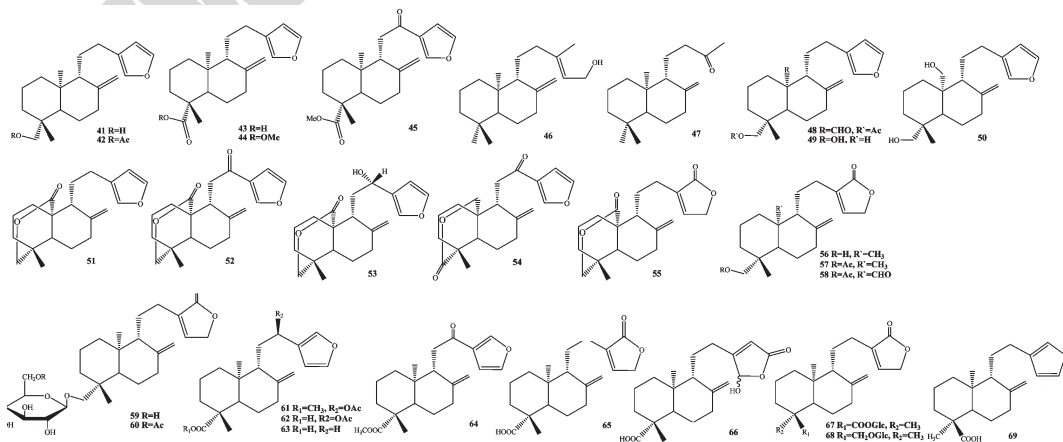


图 5 萜类溶藻化合物

Fig. 5 Algicidal terpenoids

表 1 二萜类化合物对羊角月牙藻半抑制浓度

Table 1 The IC₅₀ of diterpenes on *Selenastrum capricornutum*

化合物 Compounds	半抑制浓度 IC ₅₀ (μmol/L)	化合物 Compounds	半抑制浓度 IC ₅₀ (μmol/L)
41	0.8(0.43 ~ 1.41)	52	60.89(57.8 ~ 62.8)
42	13.62(10.95 ~ 16.96)	53	4.40(3.11 ~ 6.21)
43	7.57(6.90 ~ 8.33)	55	44.16(25.11 ~ 61.9)
45	1.45(1.07 ~ 2.0)	56	217.13(200.4 ~ 221.8)
48	58.27(37.94 ~ 89.49)	57	696.25(680.7 ~ 703.4)
49	2.84(1.11 ~ 3.02)	59	80.54(68.52 ~ 94.70)
50	18.45(13.73 ~ 24.81)	60	53.70(34.27 ~ 61.91)
51	28.58(23.85 ~ 36.63)		

醇(95%)提取物具有溶藻活性,特别是提取物的氯仿和乙酸乙酯萃取部分活性较强,在 66 mg/L 的浓度下对铜绿微囊藻的抑制作用分别为 $91.6 \pm 10.5\%$ 和 $65.2 \pm 7.2\%$,并从这两个部分中分离到 7 个溶藻化合物(图 6, **71** ~ **76**),包括一个叶绿素光氧化的副产物 2-ethyl-3-methylmaleimide (**71**),五个 β -胡萝卜素的衍生物:二氢猕猴桃内酯(dihydroactinidiolide, **72**)、4-氧- β -紫罗酮(4-oxo- β -ionone, **73**)、3-羟基-5,6-环氧- β -紫罗酮(3-hydroxy-5,6-epoxy- β -ionone, **74**)、耳壳藻内酯(loliolide, **75**)和 6-羟基-3-氧- α -紫罗酮(6-hydroxy-3-oxo- α -ionone, **76**),以及一个分子式为 C₁₆H₁₉NO₄ 的未知物质,但作者未对这些化合物作进一步抑藻活性研究。

Li 等^[44]从芦苇(*Phragmites communis*)中分离到一个化感物质 2-甲基乙酰乙酸乙酯(ethyl-2-methylacetoacetate, EMA, **77**) (图 6),该化合物对蛋白核小球藻和铜绿微囊藻的 EC₅₀ 分别为 0.49 和 0.65 mg/L,导致 SOD 和过氧化物酶(POD)活性下降,细胞膜的不饱和脂肪酸增加,因而使质膜完整性受到影响,原生质体中的 K⁺ 严重渗漏。Hong 等^[45]研究了 EMA 对铜绿微囊藻生理生化的影响。EMA 浓度为 4 mg/L 时,7 d 后对铜绿微囊藻(5×10^4 /mL)的抑制率为 97.4%;EMA 处理 2 h 后酯酶活性没有显著变化,但是 24 ~ 48 h 之间发生显著变化($P < 0.05$);浓度超过 0.5 mg/L 时,4 h 后总脱氢酶活性极显著降低($P < 0.01$),但 40 h 后其活性显著增加($P < 0.05$);EMA 导致藻细胞的活性氧浓度极大增加,在浓度为 4 mg/L 时,2 h 后活性氧的浓度为对照组的 1.91 倍;脂质过氧化程度依赖于 EMA 的浓度

和作用时间,在浓度为 4 mg/L 时,40 h 后丙二醛(MDA)含量为对照组的 3.5 倍。这些研究表明,EMA 导致藻细胞产生大量活性氧,这些活性氧引起的氧化性伤害可能是 EMA 抑制藻细胞生长的一个重要因素。Hong 等^[46]系统研究了 EMA 对铜绿微囊藻抗氧化系统的影响,结果表明,藻细胞接触 EMA 后,SOD 活性一直下降,不管 EMA 的浓度是高还是低,SOD 活性始终比对照组低,而且浓度越高,酶失活越严重;在低浓度下(< 0.5 mg/L)时,60 h 后 CAT 的活性依然在增加,高浓度(≥ 0.5 mg/L)时,16 h 开始增加,48 h 后活性最大,60 h 后活性开始下降;低浓度下(≤ 0.5 mg/L)时,4 h 后 AsA 和 GSH 的浓度在增加,一直到 60 h 后依然在增加,但是高浓度(> 0.5 mg/L)时,48 h 后浓度最高,60 h 后急剧下降。Meepagala 等^[47]从 *Ruta graveolens* 根的乙酸乙酯提取物中分离到一个抑藻活性很强的化合物:芸香日酮环氧化物(rutacidone epoxide, **78**) (图 6),对蓝藻 *Oscillatoria perornata* 和绿藻羊角月牙藻的 IC₅₀ 分别为 9×10^{-3} μmol/L 和 173×10^{-3} μmol/L,但其类似物却活性很差;由于该化合物对沙门氏菌(*Salmonella tryphimurium*)具有直接诱变活性^[48],对哺乳动物的一些细胞系也有细胞毒性,虽然其浓度远高于抑藻浓度,但这限制了其应用^[47]。Kim 等^[49]从 *Polygonatum odoratum* var. *pluriflorum* 分离到一个溶藻化合物 L-2-azetidincarboxylic acid (图 6, **79**),该化合物对绿藻的抑制作用很弱,但对 *Anabaena affinis* 和铜绿微囊藻等蓝藻、多环旋沟藻的抑制作用很强,在浓度分别为 6.3 和 1.6 μmol/L 时对两种蓝藻的抑制率达到 92%,在 6.3 和 12.5

μM 时对多环旋沟藻的抑制率分别达到 86.9% 和 100%。

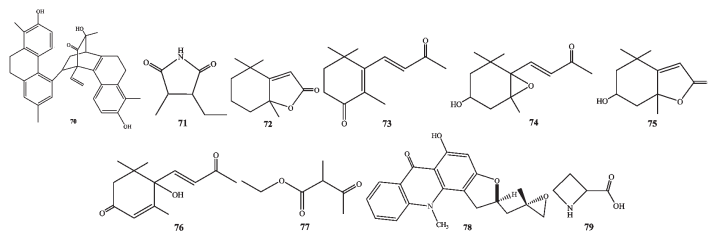


图 6 其它溶藻化合物

Fig. 6 Otheralgalicidal compounds

7 秸秆的抑藻活性

大量研究表明,大麦、水稻和小麦等秸秆具有良好的抑藻活性。Newman 等^[50]研究表明,大麦只是抑藻而不是杀藻,在实验室和野外均具有较好抑藻效果,当 1 m^3 加入 2.57 g 的干大麦秸秆时,铜绿微囊藻 CCAP1450/6 生长抑制率可达 95%,如果用没有大麦的培养基重新培养受大麦抑制的藻细胞,则其再生长速率与未受大麦抑制的藻细胞没有显著差异。Ball 等^[51]研究表明,1% (w/v) 大麦秸秆加入湖水中,28 d 后其叶绿素 a 含量依然为原始值 $40\ \mu\text{g/L}$,但是对照组却增加到原来的 10 倍,达到 $400\ \mu\text{g/L}$,而同样条件的小麦秸秆组叶绿素 a 含量则达到 $1160\ \mu\text{g/L}$,研究还表明,新鲜大麦秸秆提取物似乎具有促进藻细胞生长的作用,而腐烂分解的大麦秸秆提取物在 0.005% 的浓度下,与对照组相比,叶绿素 a 的去除率依然达到近 90%,因此,作者认为,大麦秸秆的腐烂分解产生的物质与其抑藻活性有关。Schrader 等^[52]研究表明,大麦在分解过程中产生了大量酚类化合物,如阿魏酸和芥子酸,它们分别在 $1\ \mu\text{mol/L}$ 和 $10\ \mu\text{mol/L}$ 的浓度下对 *Oscillatoria cf. chalybea* 有抑制作用,最低完全抑制浓度分别为 $1000\ \mu\text{mol/L}$ 和 $100\ \mu\text{mol/L}$,但阿魏酸对另外一种蓝藻 *Anabaena sp. Lp691* 却没有毒性;酚类化合物在碱性和氧气充足的条件下,容易氧化成醌类等氧化性酚(图 7),醌类对这两种蓝藻选择毒性更强,作者研究表明,蒽醌(anthraquinone, **80**)、2,3-二氯萘醌(2,3-dichloronaphthoquinone, **81**)、2-甲基萘醌(2-methylantraquinone, **82**)、1,4-萘醌(1,4-naphthoquinone, **83**)、9,10-菲醌(9,10-phenanthrenequinone, **84**)和胡桃醌在 $0.1\ \mu\text{mol}$ 的浓度下即显示对 *O. chalybea* 抑制作用,其中蒽醌和 2,3-二氯萘醌的最低完全抑制浓度为 $0.1\ \mu\text{mol}$,2-甲基萘醌、9,10-菲醌和

胡桃醌最低完全抑制浓度为 $1\ \mu\text{mol}$,1,4-萘醌最低完全抑制浓度为 $10\ \mu\text{mol}$,对 *Anabaena sp. LP 691* 选择毒性最强的是 9,10-菲醌,最低完全抑制浓度为 $10\ \mu\text{mol}$ 。但 9,10-菲醌对铜绿微囊藻 CCAP1450/6 的半抑制浓度仅为 $0.12\ \mu\text{mol/L}$ ^[53],2,3-二氯萘醌在浓度仅为 $2.0\ \mu\text{g/L}$ ($0.01\ \mu\text{mol/L}$)时就能完全杀死铜绿微囊藻^[54]。因此,醌类化合物对不同藻类的毒性变化很大。由于醌类化合物对鱼类潜在的直接毒性,因此不是用来控制特定蓝藻的可选方法。张薛等^[55]研究了大麦提取液对铜绿微囊藻 FACHB-315 的抑藻活性,发现提取液未过滤时抑制率很高,但提取液如果用 $0.22\ \mu\text{m}$ 的滤膜过滤,则抑制效果不显著,因此认为,原生动物的牧食可能是大麦秸秆提取物抑制藻细胞的主要原因之一。大麦不同浸泡条件可能会导致其中酚类等化合物浓度和原生动物数量不同,因此其抑藻试验会出现不同结果。

冯菁等^[56]研究了稻草秸秆浸泡液对铜绿微囊藻 FACHB-905 的抑制效果,认为稻草本身就含有抑藻物质,另外,厌氧浸泡提取液抑藻主要是化学物质抑藻,而好氧浸泡抑藻则主要是生物作用抑藻。向丽等^[57]研究了水稻秸秆不同部位的浸泡液对铜绿微囊藻的抑制活性,结果表明,稻根浸出液 > 稻穗浸出液 > 稻秆浸出液。张余霞等^[58]研究表明,稻草秸秆浸泡提取液会使微囊藻的生物量降低,叶绿素 a 含量和光合速率急剧下降,并影响藻细胞的呼吸速率和 SOD 酶活性,活性物质可被乙醚和乙酸乙酯萃取。苏文等^[59]研究表明,稻草秸秆浸泡提取液影响铜绿微囊藻的酯酶活性,对其生长表现为抑制而非致死作用。Park 等^[60]发现,稻草甲醇提取物对铜绿微囊藻的抑制作用,远强于其中的单体酚类化合物,不同酚类化合物混合后对铜绿微囊藻的抑制作用,要远强于终浓度相同的单体酚类化合物,因此,作者认为稻草提取物的抑藻活性来自提取物中各种多酚

类化合物的协同作用。稻谷壳中也含有抑藻化合物, Park 等^[12]从中分离到 9 个化合物, 部分化合物(图 7)对铜绿微囊藻具有抑制活性, 在浓度为 1000 $\mu\text{g/L}$ 时, 10 d 后 orizaterpenoid (**85**)、dicyclohexanyl orizane (**86**) 和 1-三十四烷醇(1-tetratriacontanol, **87**) 对铜绿微囊藻单细胞株抑制率在 26-32%, 而三十一烷(hentriacontane, **88**) 和 β -谷甾醇- β -D-葡萄糖苷(β -sitosterol- β -D-glucoside, **89**) 对铜绿微囊藻单细胞株的抑制率在 40% 以上, 均弱于其粗提物; 但 dicyclohexanyl orizane 和 β -谷甾醇- β -D-葡萄糖苷对铜绿微囊藻群体株的抑制活性很强, 在 100 $\mu\text{g/L}$ 的浓度下, 10 d 后的抑藻率分别为 80% 和 66%, 远高于同浓度的粗提物 25%。刘涛等^[61]研究了大麦、水稻和小麦对铜绿微囊藻的抑制作用, 发现其抑藻活性为大麦 > 水稻 > 小麦, 运用气相色谱-质谱联用分析表明, 大麦秸秆浸出液中主要为脂肪酸、苯甲酸、奈酚、咖啡酸、芥子酸、吩嗪类色素和酚类衍生物等, 水稻秸秆浸出液中含有大量醇类、酮类和醛类物质, 这些物质中许多为文献报道的具有抑制藻类生长的化合物。总之, 目前多数文献认为, 大麦及稻草等秸秆在腐烂分解过程中产生的酚类等各种生理活性物质是其抑制藻类生长的最主要原因。

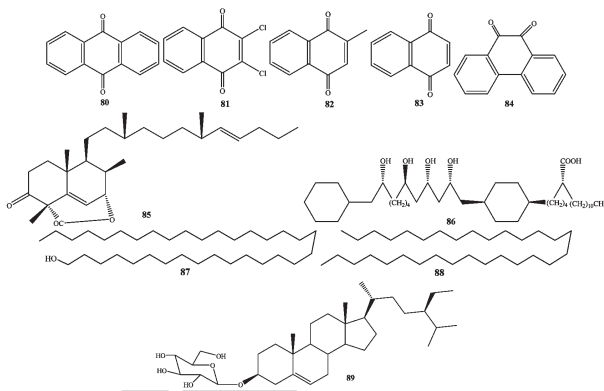


图 7 秸秆的溶藻活性物质

Fig. 7 Algicidal compounds from straw

8 总结与展望

近几十年来, 虽然国内外开展大量植物源溶藻化合物的研究, 但目前还存在许多问题, 概括如下: (1) 植物源的溶藻化合物虽然丰富多样, 但目前研究主要集中在酚类等少数几类物质上, 因此要扩大研究范围, 开展系统筛选工作, 获取更多关于植物源溶藻化合物的信息; (2) 虽然有大量关于植物源溶

藻物质的研究, 但多数还是在溶藻活性成分的提取与初步鉴定、溶藻效率和范围、及其对藻细胞抗氧化系统的影响等层面上, 而它们的作用机理、野外应用和生态毒性研究相对很少。因此要开展作用机制、构效关系、野外应用和生态毒性等更深层次的研究, 才可能筛选到高效低毒的溶藻化合物, 为人工合成提供先导化合物和思路; (3) 将化合物直接加入水中, 会造成化合物在短时间内浓度过高和控藻时间短等问题^[32], 如阿魏酸在野外水环境中 48 h 内就完全降解, 虽然 2 个月内使用 6 次, 依然无法控制蓝藻水华^[62], 因此需要研究如何让这些天然溶藻化合物在水中长时间持续释放, 以延长其控藻时间; (4) 由于有害藻华防治策略总是依赖于其经济成本, 因此, 如何从植物中廉价获取高纯度溶藻化合物, 是利用植物源天然产物控制水华必须解决的又一个难题。

参考文献

- Francis G. Poisonous Australian lake. *Nature*, 1878, 18: 11-12.
- Carmichael W. Chapter 4: a world overview-one-hundred-twenty-seven years of research on toxic Cyanobacteria - where do we go from here? In: Hudnell, H. K. (Ed.). *Adv Exp Med Biol*, 2008, 105-125.
- Azevedo SM, et al. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil. *Toxicology*, 2002, 181-182: 441-446.
- Codd GA, et al. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicol Appl Pharm*, 2005, 203: 264-272.
- Wu XQ, et al. Cyanobacteria blooms produce teratogenic retinoic acids. *P Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 9477-9482.
- Jancula D, et al. Critical review of actually available chemical compounds for prevention and management of cyanobacterial blooms. *Chemosphere*, 2011, 85: 1415-1422.
- Zhou SQ, et al. Effects of different algaecides on the photosynthetic capacity, cell integrity and microcystin-LR release of *Microcystis aeruginosa*. *Sci Total Environ*, 2013, 463-464: 111-119.
- Jancula D, et al. Algicidal activity of phthalocyanines-screening of 31 compounds. *Environ Toxicol*, 2008, 23: 218-223.
- Moore GT, et al. Copper as an algicide and disinfectant in water supplies. US: Washington. 1905.
- Ryu HY, et al. Experimental chemical treatments for the control of dinoflagellate, *Cochlodinium polykrikoides* in the land-based culture of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *J*

- Aquacul*, 1998, 11: 285-294.
- 11 Park MH, *et al.* Growth inhibition of unicellular and colonial *Microcystis* strains (*Cyanophyceae*) by compounds isolated from rice (*Oryza sativa*) hulls. *Aquat Bot*, 2009, 90: 309-314.
- 12 Jeong JH, *et al.* Algicidal activity of the seaweed *Corallina pilulifera* against red tide microalgae. *J Appl Phycol*, 2000, 12: 37-43.
- 13 Schrader KK. Natural algicides for the control of cyanobacterial-related off-flavor in catfish aquaculture. *Acs Sym Ser*, 2003, 848: 195-208.
- 14 Mizuno CS, *et al.* Algicidal activity of stilbene analogues. *J Agric Food Chem*, 2008, 56: 9140-9145.
- 15 Nakai S, *et al.* Growth inhibition of blue-green algae by allelopathic effects of macrophytes. *Water Sci Technol*, 1999, 39: 47-53.
- 16 Hong Y, Hu HY, Xie X, *et al.* Gramine-induced growth inhibition, oxidative damage and antioxidant responses in freshwater cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Aquat Toxicol*, 2009, 91: 262-269.
- 17 Aliotta G, *et al.* In vitro algal growth inhibition by phytotoxins of *Typha latifolia* L. *J Chem Ecol*, 1990, 16: 2637-2646.
- 18 Yang SY (杨善元), *et al.* Isolation and identification of anti-algal compounds from root system of water hyacinth. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), 1992, 18: 399-402.
- 19 Nakai S, *et al.* Anti-cyanobacterial fatty acids released from *Myriophyllum spicatum*. *Hydrobiologia*, 2005, 543: 71-78.
- 20 Techer D, *et al.* Allelopathic potential and ecotoxicity evaluation of gallic and nonanoic acids to prevent cyanobacterial growth in lentic systems: A preliminary mesocosm study. *Sci Total Environ*, 2016, 547: 157-165.
- 21 Alamsjah MA, *et al.* Isolation and structure determination of algicidal compounds from *Ulva fasciata*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2005, 69: 2186-2192.
- 22 Alamsjah MA, *et al.* Algicidal activity of polyunsaturated fatty acids derived from *Ulva fasciata* and *U. pertusa* (*Ulvaceae*, *Chlorophyta*) on phytoplankton. *J Appl Phycol*, 2008, 20: 713-720.
- 23 Hirao S, *et al.* Algicidal activity of glycerolipids from brown alga *Ishige sinicola* toward red tide microalgae. *Biosci Biotech Bioch*, 2012, 76: 1-3.
- 24 Kessler CT. Effect of juglone on freshwater algal growth. *J Chem Ecol*, 1989, 15: 2127-2134.
- 25 Marking LL. Juglone (5-hydroxy-1, 4-naphthoquinone) as a fish toxicant. *T Am Fish Soc*, 1970, 99: 510-514.
- 26 Leu E, *et al.* Polyphenolic allelochemicals from the aquatic angiosperm *Myriophyllum spicatum* inhibit photosystem II. *Plant Physiol*, 2002, 130: 2011-2018.
- 27 Rutherford AW, *et al.* Thermoluminescence as a probe of photosystem II photochemistry: the origin of the flash-induced glow peaks. *Biochim Biophys Acta*, 1982, 682: 457-465.
- 28 Wang L (王立), *et al.* Studies on components in leaves of *Corylus heterophylla* (II). *Chin Tradit Herbal Drugs* (中草药), 2004, 35: 606-608.
- 29 Park MH, *et al.* Screening of seventeen oak extracts for the growth inhibition of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* Kütz. em. Elenkin. *B Environ Contam Tox*, 2006, 77: 9-14.
- 30 Nakai S, *et al.* Algal growth inhibition effects and inducement modes by plant-producing phenols. *Water Res*, 2001, 35: 1855-1859.
- 31 Huang HM, *et al.* Effects of natural flavonoids on photosynthetic activity and cell integrity in *Microcystis aeruginosa*. *Toxins*, 2015, 7: 66-80.
- 32 Huang HM, *et al.* Continuous-release beads of natural allelochemicals for the long-term control of cyanobacterial growth: Preparation, release dynamics and inhibitory effects. *Water Res*, 2016, 95: 113-123.
- 33 Stevens LH, *et al.* Subcellular localization of tryptophan decarboxylase, strictosidine synthase and strictosidine glucosidase in suspension cultured cells of *Catharanthus roseus* and *Tabernaemontana divaricata*. *Plant Cell Rep*, 1993, 12: 563-576.
- 34 Churro C, *et al.* Effects of tryptamine on growth, ultrastructure, and oxidative stress of cyanobacteria and microalgae cultures. *Hydrobiologia*, 2010, 649: 195-206.
- 35 Zhang BH, *et al.* Algicidal activity of *Streptomyces eurocidicus* JXJ-0089 metabolites and their effects on *Microcystis* physiology. *Appl Environ Microb*, 2016, 82: 5132-5143.
- 36 Rommelspacher H, *et al.* Inhibition of the reuptake of serotonin by tryptoline. *N-S Arch Pharmacol*, 1976, 292: 93-95.
- 37 Wang HQ (王红强), *et al.* Analysis of alkaloid from *Eloдея nuttallii* by GC-MS and its allelopathic activity on *Microcystis aeruginosa*. *Acta Hydrobiol Sin* (水生生物学报), 2010, 34: 361-365.
- 38 Zhang SL, *et al.* Oxidative damage and antioxidant responses in *Microcystis aeruginosa* exposed to the allelochemical berberine isolated from golden thread. *J Plant Physiol*, 2011, 168: 639-643.
- 39 Cangiano T, *et al.* Effect of ent-labdane diterpenes from *Potamogetonaceae* on *Selenastrum capricornutum* and other aquatic organisms. *J Chem Ecol*, 2002, 28: 1091-1102.
- 40 Waridel P, *et al.* ent-Labdane diterpenes from the aquatic plant *Potamogeton pectinatus*. *Phytochemistry*, 2003, 64: 1309-1317.

- 41 Waridel P, *et al.* ent-Labdane glycosides from the aquatic plant *Potamogeton lucens* and analytical evaluation of the lipophilic constituents of various *Potamogeton* species. *Phytochemistry*, 2004, 65: 945-954.
- 42 Dellagrecia M, *et al.* A new dimeric 9,10-dihydrophenanthrenoid from the rhizome of *Juncus acutus*. *Tetrahedr Lett*, 2002, 43: 2573-2575.
- 43 Xian QM, *et al.* Isolation and identification of anti-algal compounds from the leaves of *Vallisneriaspiralis* L. by activity-guided fractionation. *Environ Sci Pollut R*, 2006, 13: 233-237.
- 44 Li FM, *et al.* Isolation and characterization of a novel anti-algal allelochemical from *Phragmites communis*. *Appl Environ Microb*, 2005, 71: 6545-6553.
- 45 Hong Y, *et al.* Physiological and biochemical effects of allelochemical ethyl 2-methyl acetoacetate (EMA) on cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Ecotox Environ Safe*, 2008, 71: 527-534.
- 46 Hong Y, *et al.* Responses of enzymatic antioxidants and non-enzymatic antioxidants in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to the allelochemical ethyl 2-methyl acetoacetate (EMA) isolated from reed (*Phragmites communis*). *J Plant Physiol*, 2008, 165: 1264-1273.
- 47 Meepagala KM, *et al.* Algicidal and antifungal compounds from the roots of *Ruta graveolens* and synthesis of their analogs. *Phytochemistry*, 2005, 66: 2689-2695.
- 48 Paulini H, *et al.* Mutagenicity testing of rutacridone epoxide and rutacridone, alkaloids in *Ruta graveolens* L., using the *Salmonella*/microsome assay. *Mutagenesis*, 1989, 4: 45-50.
- 49 Kim JS, *et al.* Biological activity of L-2-azetidinecarboxylic acid, isolated from *Polygonatum odoratum* var. *pluriflorum*, against several algae. *Aquat Bot*, 2006, 85: 1-6.
- 50 Newman J, *et al.* Control of *Microcystis aeruginosa* by decomposing barley straw. *J Aquat Plant Manage*, 1993, 31: 203-206.
- 51 Ball AS, *et al.* Algal growth control by a barley straw extract. *Biores Technol*, 2001, 77: 177-181.
- 52 Schrader KK, *et al.* Selective growth inhibition of the musty-odor producing cyanobacterium *Oscillatoria cf. chalybea* by natural compounds. *B Environ Contam Tox*, 1998, 60: 651-658.
- 53 Pillinger JM, *et al.* Role of phenolic compounds in the anti-algal activity of barley straw. *J Chem Ecol*, 1994, 20: 1557-1569.
- 54 Fitzgerald GP, *et al.* Studies on chemicals with selective toxicity to blue-green algae. *Sewage and Industrial Wastes*, 1952, 24: 888-896.
- 55 Zhang X (张薛), *et al.* Inhibitory effect of extract from barley straw on the growth of *Microcystis aeruginosa*. *Acta Sci Circumstantiae* (环境科学学报), 2007, 27: 1984-1987.
- 56 Feng J (冯菁), *et al.* Mechanisms of algal inhibition by rice straw extract. *Environ Sci* (环境科学), 2008, 29: 3376-3381.
- 57 Xiang L (向丽), *et al.* Study on inhibitory effects of rice straw on *Microcystis aeruginosa* growth. *Chinese J Environ Eng* (环境工程学报), 2011, 5: 279-283.
- 58 Zhang YX (张余霞), *et al.* The inhibition of aqueous extract from *Oryza sativa* straw on growth of *Microcystis aeruginosa*. *J Lake Sci* (湖泊科学), 2007, 19: 479-484.
- 59 Su W (苏文), *et al.* Effects of the rice straw on *Microcystis aeruginosa* analyzed by different physiological parameters. *Environ Sci* (环境科学), 2013, 34: 150-155.
- 60 Park MH, *et al.* Growth inhibition of bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* by rice straw extract. *Lett Appl Microbiol*, 2006, 43: 307-312.
- 61 Liu T (刘涛), *et al.* Inhibition effects of different straws on *Microcystis aeruginosa*. *Chin J Environ Eng* (环境工程学报), 2012, 6: 1154-1160.
- 62 Schrader KK, *et al.* Evaluation of ferulic acid for controlling the musty-odor cyanobacterium, *Oscillatoria perornata*, in aquaculture ponds. *J Appl Aquacul*, 2000, 10(1): 1-16.