

# 绞股蓝提取液对蛋白核小球藻的化感效应及影响机理研究

徐成龙<sup>1,2</sup>, 张饮江<sup>1,2\*</sup>, 卢家磊<sup>1</sup>, 程梦雨<sup>1</sup>, 张家威<sup>1</sup>

(1 上海海洋大学 海洋生态与环境学院, 上海 201306; 2 水域环境生态上海高校工程研究中心, 上海 201306)

**摘要:**以中草药植物绞股蓝 [*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino] 为化感供体材料, 研究其不同浓度的提取液 (0、5、10、25、50 g/L) 对蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidesa*) 生长及生理生化特征的化感效应。结果表明: (1) 绞股蓝提取液对蛋白核小球藻生长均具有抑制作用, 其抑制作用随提取液质量浓度增大和培养时间延长均呈增强趋势, 且 25 g/L 绞股蓝提取液培养 15 d 时的抑制率达到最大 (79.41%)。 (2) 各浓度绞股蓝处理组蛋白核小球藻细胞内的叶绿素 a 含量均低于对照组, 且随着提取液浓度升高以及处理时间延长叶绿素 a 含量较对照的降低量越多, 表明蛋白核小球藻光合作用受到的影响也越大。 (3) 绞股蓝处理组蛋白核小球藻细胞的膜透性 (吸光度 OD<sub>264</sub>) 显著高于对照, 且膜透性随着提取液浓度增大而增强; 高浓度提取液处理下, 藻细胞内部的可溶性蛋白质 (OD<sub>280</sub>) 及核酸 (OD<sub>260</sub>) 含量均显著高于对照, 且随着处理时间延长, 细胞膜透性增大, 细胞内部的可溶性蛋白质及核酸向胞外渗透增多。研究发现, 绞股蓝提取液能够抑制蛋白核小球藻生长, 并随着提取液质量浓度增大而增强; 绞股蓝提取液能促进藻细胞叶绿素分解、增加细胞膜透性, 引起可溶性蛋白质和核酸向胞外渗透量升高, 导致藻细胞结构受损, 代谢功能紊乱, 从而达到化感抑制作用。

**关键词:**绞股蓝, 蛋白核小球藻, 化感效应, 抑藻机理

中图分类号: Q945.79

文献标志码: A

## Allelopathic Effect and Mechanism of *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino Extract on *Chlorella pyrenoidesa*

XU Chenglong<sup>1,2</sup>, ZHANG Yinjiang<sup>1,2\*</sup>, LU Jialei<sup>1</sup>, CHENG Mengyu<sup>1</sup>, ZHANG Jiawei<sup>1</sup>

(1 College of Marine Ecology and Environment, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2 Engineering Research Center for Water Environment Ecology in Shanghai, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** The growth and physiology of *Chlorella pyrenoidesa* were studied by using different concentrations of *G. pentaphyllum* extract (0, 5, 10, 25, 50 g/L). The results showed that: (1) *G. pentaphyllum* extract could inhibit the growth of *C. pyrenoidesa*, with the increasing concentration and the prolonging time of cultivate, the inhibition increased. And the inhibition rate reached the maximum that was 79.41% when *C. pyrenoidesa* was cultured for 15 days with 25 g/L of *G. pentaphyllum* extract. (2) Chlorophyll a content in the cells of each concentration treatment group was lower than that of control group. With the increase of extraction concentration and the extension of treatment time, chlorophyll a content decreased

收稿日期: 2019-02-26; 修改稿收到日期: 2019-05-13

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2013ZX07101014-004); 上海高校智库内涵建设计划 (A1-2053-18-0001); 大学生创新创业训练计划项目 (S201810264056, S201910264062)

作者简介: 徐成龙 (1994-), 男, 硕士, 主要从事水域环境生态修复与水污染治理。E-mail: 18621090361@163.com

\* 通信作者: 张饮江, 教授, 主要从事水域环境生态修复研究。E-mail: yjzhang@shou.edu.cn

more than that of control group. This result indicated that the photosynthetic effect of *C. pyrenoidesa* was affected. (3) The cell membrane permeability (absorbance  $OD_{264}$ ) of the treatment groups was significantly higher than that of control group, which meant the cell membrane permeability increased with the increase of the concentration of the extract. At high concentration, both  $OD_{260}$  and  $OD_{280}$  were significantly higher than that of control group. And the cell membrane permeability was increased with the extension time, and more soluble proteins and nucleic acid were infiltrate out of the cells. The experimental results indicated that inhibition was enhanced with the increase of the concentration, and its mechanism of action was to promote chlorophyll decomposition and increase cell membrane permeability as well as promote soluble protein and nucleic acid exosmosis. So the structure of algal cells damaged and metabolic disorders happened, thus allelopathic inhibition was achieved.

**Key words:** *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino; *Chlorella pyrenoidesa*; allelochemical; algae-inhibitory mechanism

水资源是人类赖以生存的重要资源,随着人类社会经济发展,水体富营养化程度加剧、藻类爆发严重威胁水环境安全,水资源短缺和水环境污染问题越来越受到人们高度关注<sup>[1-2]</sup>。化感作用指某种植物(或微生物)通过自身产生、并释放到周围环境中的化学物质,对另一种植物(或微生物)生长产生直接或间接相互排斥或促进,作用机理在于破坏植物(或微生物)的光合作用、改变抗氧化酶活性和损害细胞膜结构等来抑制生长和发育<sup>[3-6]</sup>。Hasler 等<sup>[7]</sup>首次发现水生植物对藻类化感作用,此后各国学者深入研究化感作用物质及作用机理,李锋民等<sup>[8]</sup>从芦苇中分离并鉴定出化感物质 2-甲基乙酰乙酸乙酯,对藻类抑制作用具有高效性和选择性;Qian 等<sup>[9]</sup>研究发现化感物质 N-苯基-2-萘胺,不仅改变小球藻细胞生理状态和亚细胞结构,且降低基因 *psaB* 和 *psbC* 转录度;Shao 等<sup>[10]</sup>在基因表达水平上研究了化感物质邻苯三酚对铜绿微囊藻的抑制作用,从基因表达、分子和遗传机制等微观角度对抑藻机理深入研究提供了方向,利用化感作用控制有害藻类爆发成为一种较有前景的生态抑藻方法。

研究表明,一些陆生中草药植物具有较好的化感效应,例如黄连、槟榔、乌梅、黄芩、黄柏、罗汉果和甘草等<sup>[11-12]</sup>。中草药植物绞股蓝 [*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino] 属葫芦科绞股蓝属 (*Gynostemma*) 多年生草质藤木,在医药和保健领域发挥着重要作用,实验证明,发挥药理学作用的主要成分包括皂苷类、黄酮类、多糖类、氨基酸、维生素和微量元素等<sup>[13]</sup>。研究发现,绞股蓝总皂苷能够抑制和杀伤白血病、肝癌、肺癌和宫颈癌等多种癌细胞<sup>[14-16]</sup>,在抗疲劳、抗衰老、抗肿瘤和提高人体免疫能力等方面具有显著效果<sup>[17]</sup>。郎志芳等<sup>[18]</sup>研究绞股蓝总皂苷对糖尿病肾病大鼠皮质基因表达谱具有

明显响应,对防治糖尿病肾病具有多效性、多途径和多靶点特点,改善糖尿病症状和免疫机能;高苗等<sup>[19]</sup>采用不同质量浓度绞股蓝总皂苷处理宫颈癌 HeLa 细胞,对 HeLa 细胞具有凋亡诱导和生长抑制作用。绞股蓝在药理学上表现出多种抑制作用,成为近几年研究热点,笔者查阅资料发现用于危藻细胞的抑制研究较少,本实验利用绞股蓝具有化学成分丰富,药理活性广,疗效确切,不良反应轻微,较好的生态安全性和环境友好型特点,制备绞股蓝提取液,研究应用于抑藻的可行性,为绞股蓝进一步开发利用提供科学依据,具有一定学术价值和实践意义。

淡水水华优势藻随季节变化而变化,春、秋季以绿藻(如小球藻)为主,夏季以蓝藻(如微囊属藻)为主,小球藻属绿藻门一类能进行光合自养生长的典型单细胞微藻<sup>[20]</sup>,易于培养、生长迅速且检测方法成熟,常被用于实验研究<sup>[21-22]</sup>。因此,本实验以绞股蓝为化感供体材料,研究不同质量浓度提取液对绿藻门蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidesa*) 生长抑制,以及提取液应用于抑藻的可行性,并通过绞股蓝化感作用对藻种生理生化指标的影响,深入探究化感抑藻作用机理,为其在藻类频发水体实行高效、安全的实际应用提供科技支撑。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

绞股蓝材料采自福建省龙岩市三明市本草翼方中草药种植基地,将采集的绞股蓝用自来水反复冲洗干净,再用纯水清洗 3 次,用于提取液制备。蛋白核小球藻购自广东省广州市光大藻种产品基地藻种库,培养基选用 BG-11 装入灭菌后的 250 mL 三角烧瓶中,无菌条件下接种蛋白核小球藻,置于型号

LRH-250-G 智能光照培养箱中进行扩大培养,培养条件为:温度(25±2)℃,光照强度 4 000 lx,光暗比 12 h : 12 h,每天定时摇晃,培养至对数生长期作为供试藻种。

## 1.2 绞股蓝提取液制备

将备用的绞股蓝样品剪成 1~2 cm 的小段,100℃恒温干燥箱中烘干 2 h,经植物粉碎机粉碎后,准确称取干粉 20 g 于 150 mL 三角烧瓶中,加入 100 mL 的纯水浸提 48 h,每隔 12 h 搅拌 5 min,粗提液经两层纱布过滤 3 次,4℃冰箱密封储备;实验前将滤液用 0.22 μm 微孔滤膜减压抽滤,以消除其他微生物的影响,用植物的质量变化来表示化感物质的相当量(g/L),得到浓度为 200 g/L 的绞股蓝提取液母液<sup>[23-24]</sup>。

## 1.3 处理及指标测定

将蛋白核小球藻接种到 250 mL 三角烧瓶中, BG-11 培养基培养,加入绞股蓝提取液和一定量的纯水,设置 5 个处理组,使提取液浓度分别为 0、5、10、25、50 g/L,体系总体积为 200 mL,初始蛋白核小球藻细胞密度为  $1 \times 10^6$  cells/L,每个实验组设置 3 个平行重复。实验持续 15 d,分别在 0、1 d、3 d、6 d、9 d、12 d、15 d 测定蛋白核小球藻细胞密度,藻细胞内叶绿素 a 含量变化,细胞膜透性以及可溶性蛋白质和核酸含量变化。

**1.3.1 藻细胞密度和抑制率计算** 计数前,将蛋白核小球藻培养液轻轻摇匀,取 0.1 mL 用鲁哥氏碘液固定的藻液,应用血球计数板计数法测定藻细胞

浓度及其抑制率<sup>[25-26]</sup>。

$$IR = \frac{N_0 - N_s}{N_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中,IR 为藻细胞生长抑制率, $N_0$  为对照组藻细胞密度, $N_s$  为处理组藻细胞密度。

**1.3.2 藻细胞生理指标** 藻细胞内叶绿素 a 含量采用乙醇加热法测定<sup>[27-28]</sup>;细胞膜透性采用紫外吸收法<sup>[29]</sup>,测定 264nm 处的吸光度值,以非电解质外渗率表征藻细胞膜的透性,用  $OD_{264nm} \cdot mL^{-1} \cdot h^{-1}$  表示<sup>[30]</sup>;可溶性蛋白质及核酸含量通过测定  $OD_{280}$  ( $OD_{280}$  值用以反映可溶性蛋白质相对含量的变化<sup>[31]</sup>)和  $OD_{260}$  ( $OD_{260}$  值用以反映核酸及核苷酸相对含量的变化<sup>[32]</sup>)表示。

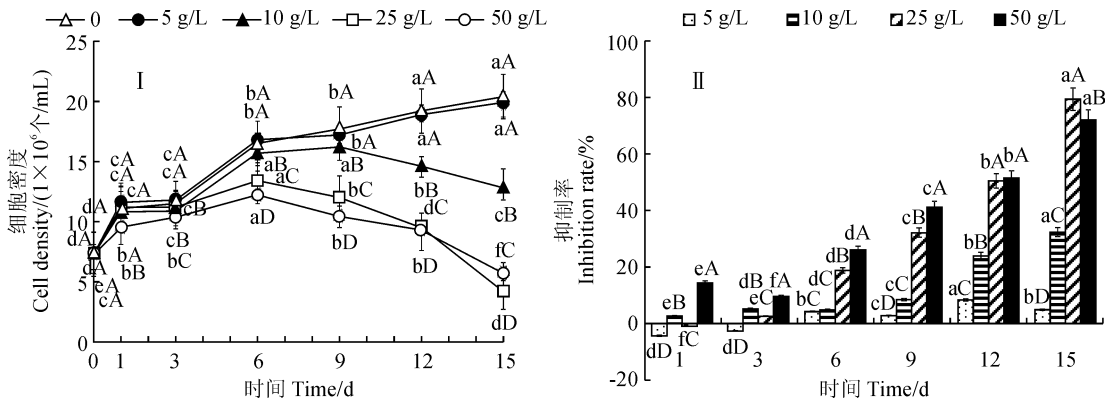
## 1.4 数据统计与分析

实验所有样品均平行测定 3 次,结果取其均值。利用 Excel 2007 进行数据整理和制图,SPSS 17.0 软件进行统计分析,对照组与处理组之间采用单因素方差分析进行差异显著性比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 绞股蓝提取液对蛋白核小球藻生长的影响

不同质量浓度绞股蓝提取液持续处理 15 d 后的调查结果(图 1)显示,对照组(0 g/L)蛋白核小球藻在实验期间生长良好;在提取液质量浓度为 5 g/L 时,蛋白核小球藻的生长在前期表现出促进现象,藻细胞密度不同程度高于对照,在实验结束时藻细胞密度略低于对照组,但处理组与对照组始终无显



不同小写字母表示同一处理不同时间之间差异显著( $P < 0.05$ ),不同大写字母表示同一时间不同处理之间差异显著( $P < 0.05$ );下同

图 1 不同质量浓度提取液处理下小球藻的生长抑制曲线与抑制率

Different lowercase letters indicated significant differences between the same concentration at different time points ( $P < 0.05$ ), Different uppercase letters indicated significant differences between different concentrations at the same time point ( $P < 0.05$ ).

The same as below

Fig. 1 Growth curve and growth inhibition rate of algae under extraction solution with different mass concentrations

著性差异;在提取液质量浓度为 10 和 25 g/L 时,藻细胞密度随着培养时间的延长先增加后降低,但始终低于对照组,且在培养 3 d 以后与对照差异达到显著水平,培养 15 d 后抑制率分别达到 32.35% 和 79.41%;在提取液质量浓度为 50 g/L 时,蛋白核小球藻细胞密度在实验前 6 d 逐渐增加,随后开始下降,但始终显著低于同期对照,且在处理 1 d 时就与对照差异显著,培养 15 d 后达到最大抑制率为 72.06%。

实验结果表明,绞股蓝提取液对蛋白核小球藻的化感作用前期表现低促高抑现象,原因可能是低浓度的提取液改变了藻细胞膜通透性,使藻细胞更易吸收溶液中营养成分,从而对其生长起到一定促进作用<sup>[33]</sup>。但提取液浓度 $\geq 10$  g/L 时,各浓度绞股蓝提取液对蛋白核小球藻的生长均有明显的抑制作用,且抑制效果随质量浓度和处理时间增加而增强。

### 2.2 绞股蓝提取液对蛋白核小球藻叶绿素含量的影响

藻细胞中叶绿素含量往往与藻细胞的生长状况及其光合作用密切相关。如图 2 所示,添加绞股蓝提取液的处理组藻细胞内叶绿素 a 含量均不同程度低于对照组,且降幅随提取液质量浓度的增加而减少;5、10、25、50 g/L 处理组藻细胞内叶绿素 a 含量在处理 15 d 时分别为对照组的 95.0%、67.6%、30.4% 和 32.61% ( $P < 0.05$ )。同时,随着处理时间的延长,处理组藻细胞内叶绿素 a 含量与同期对照差异越大。其中,5 g/L 处理组藻细胞内叶绿素 a 含量在整个实验过程中呈现上升趋势,说明低浓度的绞股蓝提取液还不足以使得藻细胞受损;10、25、50 g/L 的处理组藻细胞内叶绿素 a 含量在实验过

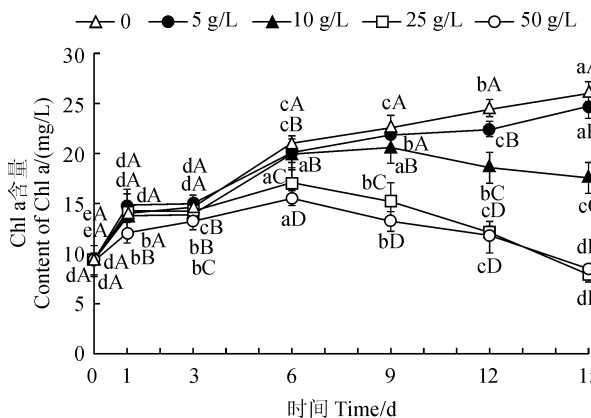


图 2 不同质量浓度提取液处理下小球藻的叶绿素 a 含量  
Fig. 2 The Chl a content in algae with different mass concentrations of extraction solution

程中呈现先上升后下降的趋势,原因在于藻细胞具有自我修复和适应外部环境的功能,初始阶段达不到破坏藻细胞自身防御系统的程度,随着实验的进行以及化感物质浓度的增大,对藻细胞的伤害逐渐加剧,从而破坏细胞自身修复功能,使其迅速趋于死亡,这与实验过程中观察到藻液逐渐由深绿色变成淡黄色的表现相符。可见,在实验过程中 25 g/L 的绞股蓝提取液处理已经对蛋白核小球藻叶绿素 a 含量的影响非常明显,此结果与实验过程此处理组蛋白核小球藻光合作用受到明显抑制的现象吻合。

### 2.3 绞股蓝提取液对蛋白核小球藻细胞膜透性的影响

绞股蓝提取液对蛋白核小球藻细胞膜透性的影响如图 3 所示。其中,对照组和 5 g/L 提取液处理组蛋白核小球藻细胞膜透性于处理期间均在小范围波动,基本保持稳定,且处理结束时 5 g/L 提取液处理下蛋白核小球藻的细胞膜透性与对照组相比无显著变化 ( $P > 0.05$ );高质量浓度(10、25、50 g/L)提取液处理组的细胞膜透性随时间增加呈现不断波动增大的趋势,实验结束时细胞膜透性分别是对照的 8.75、12.14 和 11.51 倍,且处理结束时 3 处理组蛋白核小球藻的细胞膜透性与对照组差异均达到极显著水平 ( $P < 0.01$ )。可见,一定浓度的绞股蓝提取液可以明显增大蛋白核小球藻细胞膜的透性,能够破坏其细胞膜结构,改变膜的通透性,从而显著影响藻细胞的生长,且处理浓度越大、时间越长影响越明显。

### 2.4 绞股蓝提取液对蛋白核小球藻可溶性蛋白质及核酸含量的影响

图 4, I 显示,在整个实验过程中,对照组藻细

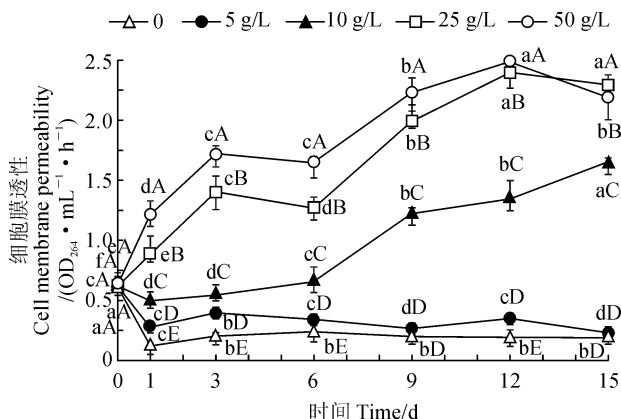


图 3 不同质量浓度提取液处理下小球藻的细胞膜透性  
Fig. 3 The cell membrane permeability in algae with different mass concentrations of extraction solution

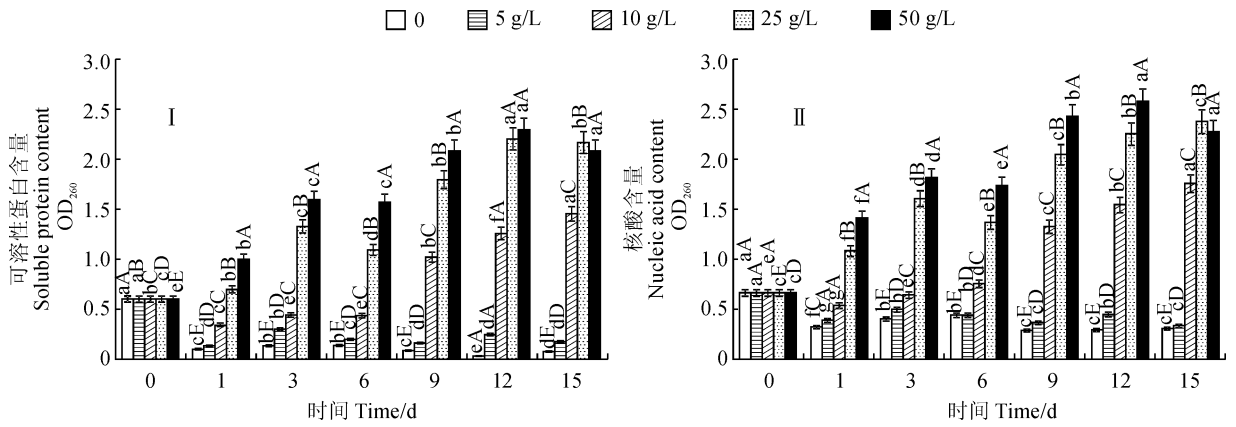


图4 不同质量浓度提取液处理下小球藻的可溶性蛋白及核酸含量

Fig. 4 The soluble protein and nucleic acid contents in algae with different mass concentrations of extraction solution

胞可溶性蛋白质含量呈下降趋势,而处理组藻细胞中可溶性蛋白质含量除 5 g/L 组外均呈现明显上升趋势,且均与对照组差异极显著( $P < 0.01$ )。说明藻细胞受到绞股蓝提取液胁迫后结构严重受损,细胞膜损伤通透性增大,且随处理时间的延长细胞内部蛋白质向胞外渗透增多,导致细胞代谢功能紊乱,直至死亡。同时,如图 4, II 所示,整个实验过程中各组藻细胞核酸含量变化与其可溶性蛋白含量变化基本一致,处理组蛋白核小球藻核酸含量除 5 g/L 组外均极显著高于同期对照组( $P < 0.01$ ),且提取液浓度越高藻细胞核酸含量越高。说明绞股蓝提取液使得蛋白核小球藻细胞膜通透性明显改变,但高剂量组(25、50 g/L)的蛋白核小球藻核酸含量在第 15 天时出现了下降,表现为与细胞损伤程度呈反比,这可能是后期细胞密度降低以及残余细胞合成核酸能力下降所致。

### 3 讨论

实验结果表明,绞股蓝提取液能够抑制蛋白核小球藻生长,抑制作用随提取液质量浓度增大而增强,最大抑制率可达 79.41%;在提取液质量浓度大于 10 g/L 时,随着浓度增加,绞股蓝提取液中的化感物质引起蛋白核小球藻细胞叶绿素 a 含量显著下降,表明绞股蓝通过促进叶绿素 a 分解或阻碍叶绿素 a 合成导致光合活性降低,细胞代谢生长缓慢,影响藻细胞光合作用;在提取液质量浓度大于 10 g/L

时,随着浓度增加,蛋白核小球藻藻细胞受到胁迫,细胞膜透性增加,造成膜功能损伤,细胞结构严重破坏,细胞内部的可溶性蛋白质向胞外渗透增加,核酸含量升高,导致细胞代谢功能紊乱,藻细胞生长受到抑制,细胞大量死亡,达到化感抑制作用。

根据实验结果可知,绞股蓝提取液对藻细胞生长的抑制作用,与冯彬等<sup>[23]</sup>研究香蒲浸提液对藻细胞生长所表现出来的抑制效应一致。在一定浸提液浓度范围内,香蒲能有效抑制藻类生长,低于或高于一定浓度,都会影响抑制效果,同样的绞股蓝抑藻效果也随提取液浓度变化而变化,都提示这种抑制作用与抑藻物质在水中积累有密切关系。本实验结果已经表明,在提取液质量浓度为 25 g/L 时最大抑制率达到 79.41%,同李锋民等<sup>[22]</sup>报告的芦苇等 7 种大型水生植物及芦苇浸出液对蛋白核小球藻在 10 g/L 时发生 97.6% 抑制率具有一定差距,但绞股蓝提取液对蛋白核小球藻生长抑制作用,与蛋白核小球藻光合活性、细胞代谢功能和结构损伤相互印证,进一步明确藻细胞抑制效应的主导作用是绞股蓝提取液向水中释放的某些物质。更具体地说,今后将通过优化提取液浓度,选择针对性强的蓝藻浮游藻类作为抑制对象,结合其他技术手段进一步分离和分析绞股蓝提取液的成分,研究是哪一种或哪几种物质产生抑藻效应,最终进一步地开发安全、高效的杀藻剂。

## 参考文献:

- [1] LI L, GAO N. Y, DENG Y, *et al.* Characterization of intracellular & extracellular algae organic matters (AOM) of *Microcystis aeruginosa* and formation of AOM-associated disinfection byproducts and odors & taste compounds[J]. *Water Research*, 2012, **46**(4): 1 233-1 240.
- [2] 封志明,杨艳昭,游 珍. 中国人口分布的水资源限制性 with 限制制度研究[J]. 自然资源学报, 2014, **29**(10): 1 637-1 648.  
FENG Z M, YANG Y Z, YOU Z. Research on the water resources restriction on population distribution in China[J]. *Journal of Natural Resources*, 2014, **29**(10): 1 637-1 648.
- [3] WANG J, LIU Q, FENG J, *et al.* Photosynthesis inhibition of pyrogallol against the bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* TY001[J]. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2016, **25**(6): 2 601-2 608.
- [4] 周立红. 基于化感作用的环境友好型抑藻剂的研究[D]. 福建厦门:厦门大学, 2008.
- [5] 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[J]. 生态环境, 2006, **15**(1): 153-157.  
HU H Y, MEN Y J, LI F M. Research progress on phyto-allelopathic algae control[J]. *Ecology and Environment*, 2006, **15**(1): 153-157.
- [6] 金相灿. 湖泊富营养化调查规范[M]. 北京:中国环境科学出版社, 1990.
- [7] 李凌燕,杜桂森. 水生高等植物化感抑藻作用研究[J]. 世界科技研究与发展, 2010, **32**(4): 505-508.  
LI L Y, DU G S. Researches on the allelopathic effects of macrophytes on the algae[J]. *World Sci-Tech R & D*, 2010, **32**(4): 505-508.
- [8] 李锋民,胡洪营,种云霄,等. 2-甲基乙酰乙酸酯对藻细胞膜和亚显微结构的影响[J]. 环境科学, 2007, (7): 1 535-1 538.  
LI F M, HU H Y, ZHONG Y X, *et al.* Effects of allelochemical EMA isolated from *Phragmites communis* on algal cell membrane lipid and ultrastructure[J]. *Environmental Science*, 2007, (7): 1 535-1 538.
- [9] QIAN H F, XU X Y. Allelochemical stress causes oxidative damage and inhibition of photosynthesis in *Chlorella vulgaris* [J]. *Chemosphere*, 2009, **75**(3): 368-375.
- [10] SHAO J H, WU Z X. Allelopathic mechanism of pyrogallol to *Microcystis aeruginosa* PCC7806 (Cyanobacteria): From views of gene expression and antioxidant system[J]. *Chemosphere*, 2009, **75**(7): 924-928.
- [11] 张爱华,郜玉钢,许永华,等. 我国药用植物化感作用研究进展[J]. 中草药, 2011, **42**(10): 1 885-1 890.  
ZHANG A H, GAO Y G, XU Y H, *et al.* Advances in studies on allelopathy of medicinal plants in China[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2011, **42**(10): 1 885-1 890.
- [12] LI F M, HU H Y. Isolation and effects on green alga *Chlorella pyrenoidosa* of algal-inhibiting allelochemicals in the Macrophyte, *Phragmites communis* Tris[J]. *Environment Science*, 2004, **25**(5): 89-92.
- [13] BAO F X, TAO L X, ZHANG H Y. Research progress on pharmacological effects of *Gynostemma pentaphyllum* active ingredients[J]. *Chinese Journal of New Drugs & Clinical Remedies*, 2018, **37**(1): 11-17.
- [14] 杨 靓,王 攀,成晓霞,等. 绞股蓝总皂苷对小鼠白血病 L1210 细胞抑制作用初探[J]. 中药材, 2010, **33**(10): 1 588-1 592.  
YANG L, WANG P, CHENG X X, *et al.* Suppressive effect of gypenosides on murine leukemia L1210 cell lines[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2010, **33**(10): 1 588-1 592.
- [15] LU K W, TSAI M L, CHEN J C, *et al.* Gypenosides inhibited invasion and migration of human tongue cancer SCC4 cells through down-regulation of NF-kappaB and matrix metalloproteinase-9 [J]. *Anticancer Research*, 2008, **28**(2): 1 093-1 099.
- [16] WANG P, GAO L, LI W X, *et al.* Neuroprotective effect of gypenosides against oxidative injury in the substantia nigra of a mouse model of Parkinson's disease[J]. *Journal of International Medical Research*, 2010, **38**(3): 1 084-1 092.
- [17] 范冬冬,匡艳辉,向世颢,等. 绞股蓝化学成分及其药理活性研究进展[J]. 中国药理学杂志, 2017, **52**(5): 342-352.  
FAN D D, KUANG Y H, XIANG S X, *et al.* Research progress in chemical constituents and pharmacological activities of *Gynostemma pentaphyllum* [J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2017, **52**(5): 342-352.
- [18] 郎志芳,王洪伟,李 妹,等. 绞股蓝总皂苷对糖尿病肾病大鼠肾皮质基因表达谱的影响研究[J]. 糖尿病新世界, 2018, **21**(21): 169-170.  
LANG Z F, WANG H W, LI S, *et al.* Effect of gypenosides on gene expression profile of renal cortex in diabetic nephropathy rats[J]. *Diabetes New World*, 2018, **21**(21): 169-170.
- [19] 高 苗,刘娟娟,王 栋. 绞股蓝总皂苷对宫颈癌 HeLa 细胞的生长抑制作用及可能的分子机制[J]. 肿瘤, 2013, **33**(10): 868-872.  
GAO M, LIU J J, WANG D. The anti-proliferation effect of gypenosides on cervical cancer HeLa cells and its molecular mechanism[J]. *Tumor*, 2013, **33**(10): 868-872.
- [20] 赵 艳,汪 成. 低氮胁迫对蛋白核小球藻生化组分和絮凝性能的影响[J/OL]. 植物营养与肥料学报: 1-10[2019-04-12]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3996.S.20190309.1613.002.html>.  
ZHAO Y, WANG C. Effects of low nitrogen stress on the biochemical components and flocculation property of *Chlorella pyrenoidosa* [J/OL]. *Journal of Plant Nutrition and*

- Fertilizers;1-10 [2019-04-12]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3996.S.20190309.1613.002.html>.
- [21] RAMOS E U, VAES W H J, MAYER P, *et al.* Algal growth inhibition of *Chlorella pyrenoidosa* by polar narcotic pollutants: Toxic cell concentrations and QSAR modeling [J]. *Aquatic Toxicology*, 1999, 46:1-10.
- [22] 李锋民,胡洪营. 大型水生植物浸出液对藻类的化感抑制作用[J]. 中国给水排水, 2004,(11): 18-21.  
LI F M, HU H Y. Allelopathy and inhibitory effect of extracts from macrophytes on algae growth[J]. *China Water & Wastewater*, 2004,(11): 18-21.
- [23] 冯 彬. 香蒲耐营养盐的生理机制及其对两种水华藻类的化感作用研究[D]. 杭州:浙江农林大学, 2017.
- [24] 王赛君,吴 湘,王奕棉,等. 水生入侵植物对常见水华的抑藻效应及其影响机理 [J]. 海洋与湖沼, 2017, 48(4): 798-805.  
WANG S J, WU X, WANG Y M, *et al.* Inhibitory effect of invasive aquatic plants on common algae bloom species and the underlying physiological mechanisms[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2017, 48(4): 798-805.
- [25] 周绪申,孟宪智,王 迎,等. 两种计数板在藻类定量中的比较研究[J]. 水利技术监督, 2016, 24(4): 59-61.  
ZHOU X S, MENG X Z, WANG Y, *et al.* Comparative study of two kinds of counting plates in algae quantification [J]. *Technical Supervision in Water Resources*, 2016, 24(4): 59-61.
- [26] 陈 坤,张前前,史海燕,等. 浮游植物计数方法比较研究 [J]. 海洋环境科学, 2007, 26(4): 383-385.  
CHEN K, ZHANG Q Q, SHI H Y, *et al.* Calibration of phytoplankton numeration according to Utermöhl method [J]. *Marine Environment Science*, 2007, 26(4): 383-385.
- [27] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术(第二版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006, 134-136.
- [28] 中华人民共和国水利部. SL 88-2012 水质叶绿素的测定-分光光度法[S]. 北京: 中国水利水电出版社, 2012.
- [29] 谢 田,徐中际. 测定细胞膜透性的紫外吸收法[J]. 植物生理学通讯, 1986, (1): 45-46.  
XIE T, XU Z J. Ultraviolet absorption method for determination of cell membrane permeability[J]. *Plant Physiology Communications*, 1986, (1), 45-46.
- [30] 王立新,张 玲,张余霞,等. 黑藻(*Hydrilla verticillata*)养殖水对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)的抑制效应及其机制[J]. 植物生理与分子生物学报, 2006, 32(6): 672-678.  
WANG L X, ZHANG L, ZHANG Y X, *et al.* The inhibitory effect of *Hydrilla verticillata* culture water on *Microcystis aeruginosa* and its mechanism [J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2006, 32(6), 672-678.
- [31] 刘 璐,闫 浩,夏文彤,等. 镉对铜绿微囊藻和斜生栅藻的毒性效应[J]. 中国环境科学, 2014, 34(2): 478-484.  
LIU L, YAN H, XIA W T, *et al.* Toxic effect of cadmium on *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus obliquus*[J]. *China Environmental Science*, 2014, 34(2), 478-484.
- [32] Sun X X, Choi J K, Kimd E K. A preliminary study on the mechanism of harmful algal bloom mitigation by use of sphorolipid treatment[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2004, 304: 35-49.
- [33] 冯 彬,郭 明,赵 爽,等. 香蒲水浸提液对铜绿微囊藻及水华鱼腥藻的化感作用[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(1): 252-257.  
FENG B, GUO M, ZHAO S, *et al.* Allelopathic effects of aqueous extract of *Typha angustifolia* on *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena flos-aquae*[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2018, 46(1): 252-257.

(编辑:裴阿卫)