DOI: 10.3724/SP.J.1035.2010.00361

伊乐藻生物碱的 GC-MS 分析及其对铜绿微囊藻的化感作用

王红强[1,2,3] 成水平[1] 张胜花[1,2] 王 静[1,2] 胡陈艳[1,2] 葛芳杰[1,2] 吴振斌[1]

(1. 中国科学院水生生物研究所, 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072;
2. 中国科学院研究生院, 北京 100049; 3. 河南城建学院环境与市政工程系, 平顶山 467044)

摘要: 藻类暴发性生长是水体富营养化带来的环境问题之一, 利用植物化感作用抑制藻类生长作为一种新型的生物抑藻技术在近年来开始受到研究者的重视, 并取得了一定的研究成果。文章采用 GC-MS 联用技术鉴定出伊乐藻中的 9 种生物碱成分, 还研究了其总生物碱对铜绿微囊藻的化感作用。结果发现添加总生物碱的处理组中铜绿微囊藻生物量均受到了抑制, 在总生物碱的浓度为 62.0 mg/L 时, 3d 后铜绿微囊藻的抑制率为 44.0%, 表明伊乐藻总生物碱对铜绿微囊藻的生物量增长具有明显的抑制作用。该结论为通过沉水植物恢复富营养化水体提供了重要依据。

关键词: 化感作用; 生物碱; 伊乐藻; 铜绿微囊藻
中图分类号: X173 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2010)02-0361-06

当前, 水体富营养化已经成为全球性的环境问题, 几乎所有的湖泊和城市景观水体都存在着不同程度的富营养化[1]。富营养化会造成藻类暴发性生长, 藻类大量生长产生的水华又会造成水体缺氧, 某些藻类还会产生对人体有害的藻毒素。目前已经确认的微囊藻毒素种类已达 60 余种[2]。蓝藻水华死亡分解时能够释放大量毒素到水体中, 引起野生动物及家畜中毒死亡。而且通过饮用水源的污染可能引起人类原发性肝癌的增加[3], 已经严重影响了水体的生态功能和饮用水源的安全。因此, 控制水华藻类的生长和繁殖对工农业生产和人民的身体健康至关重要。

传统的除藻技术一般可分为化学技术、物理技术和生物技术。目前常用的化学技术是通过向池塘投放化学药剂(例如硫酸铜和有机农药等)来控制水体中藻类的繁殖。该方法虽能起到一定的控藻效果, 但残留的杀藻剂易造成二次环境污染。物理及生物技术则存在着操作时间长、难度大、见效慢、费用高等缺点, 推广受到限制[4]。而利用植物化感作用抑制藻类生长具有安全和快速高效的优点, 对湖泊富营养化治理具有重要意义。

沉水植物不仅能吸收水体中大量的营养物质, 增加水体的透明度, 改善水质, 近年研究发现一些沉水植物还能释放化感物质抑制蓝绿藻的生长[5—12], 对有毒藻类的生长具有明显的抑制作用[13,14]。Rice[15]将化感物质分为 15 类, 目前普遍的化感物质分类主要是 4 类: 酚类、萜类、糖和糖苷类、生物碱和非蛋白氨基酸[16]。王立新等[17,18]研究了黑藻对铜绿微囊藻的化感作用。李新宇等[19]研究了大籽蒿花中生物碱类化感物质对羊草根茎节器官分化的影响。Thanh, *et al.*[20]还发现侧生藻(*Fischerella* sp.)可分泌生物碱类化感物质 12-*epi*-hapalindole E isonitrile, 不仅可以作用于蓝、绿藻, 还可作用于 G^+菌、G^-菌、真菌和哺乳动物细胞。Augusto, *et al.* [21]报道了侧生藻(*Fischerella* sp.)中的另一种生物碱类化感物质 12-*epi*-hapalindole F, 可以抑制微囊藻和聚球藻的生长。Richard, *et al.* [22,23]报道了泉生软管藻(*Hapalosiphon fontinalis*)中的生物碱 Hapalindole A

收稿日期: 2008-08-25; 修订日期: 2009-06-30
基金项目: 国家“十五”科技攻关项目(2002AA60121); 国家“973”计划(2002CB412309); 湖北省科技攻关重大课题(2006AA305A03)资助
作者简介: 王红强(1977—), 男, 河南义马人; 博士; 主要从事水生态恢复研究。E-mail: wanghq77@yahoo.com.cn
通讯作者: 吴振斌, E-mail: wuzb@ihb.ac.cn

对细菌和真菌的抑制作用。也有许多其他生物碱如莨菪胺、莨菪碱、咖啡因、茶碱、可可碱、鬼臼毒素、长春花碱和秋水仙碱都被报道具有化感潜力[16]。生物碱不仅具有化感作用，还是很多药用植物的有效成分，有镇痛、解痉、抗菌、抗癌、抗心律失常等作用，至今从自然界中分离出约数千种生物碱，近百种用于临床[24]。利用植物化感作用抑制有害藻类已有报道[17,18,25]，但有关沉水植物生物碱类物质对藻类抑制作用的研究，尚未见报道。

伊乐藻(*Elodea nuttallii*)是种子植物门被子植物亚门单子叶植物纲水鳖科植物，多年生沉水植物，往往被选做湖泊水生植物恢复的先锋种。本文研究了伊乐藻中生物碱的化学成分及其总生物碱对铜绿微囊藻的化感作用，为利用伊乐藻化感作用控制富营养化水体藻类暴发提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

伊乐藻(*Elodea nuttallii*)采自湖北洪湖。实验所用藻种为产毒铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*) FACHB942 来自中国科学院水生生物研究所藻种保藏中心，保存在 BG11 培养基中[26]，培养条件为 25℃，光暗比为 12h∶12h，照度为 2500 lx，实验前在该条件下培养 4d，直至藻浓度达到 10^5—10^6 个/mL。

1.2 方法

化学成分的提取　伊乐藻洗净、晾干、粉碎，分别用乙醇提取 5 次，抽滤，减压蒸馏得黑色浸膏。室温下，浸膏用 0.5 mol/L 的盐酸提取 3 次(15、10、8 倍量)，过滤，合并酸提取液，氯仿提取 3 次，除去叶绿素等杂质。再加浓氨水调节至 pH 10，氯仿提取多次，合并氯仿提取液，无水硫酸钠干燥，减压回收溶剂，低温干燥，取得棕黄色总生物碱 60.1 mg。在 4℃下保存待用。总生物碱用碘化汞钾试剂检测时，生物碱沉淀反应现象明显。

GC-MS 分析　气质分析采用 6890N-5973inert 气质联用仪。GC 条件：色谱柱 HP-5MS (30 m×0. 25 mm×0.25 μm)，载气为高纯 He，进样口温度 250℃，不分流进样模式，进样量 1μL，柱流速 1 mL/min，程序升温，起始温度 60℃，保持 1min，以 4 ℃/min 升到 260℃，保持 20min。

MS 条件：EI 离子源，电子能量 70 eV，离子源温度 230℃，四极杆温度 150℃，质量扫描范围 50—450 amu。样品各组分的质谱数据，参照 NIST02 标准谱库，鉴定各组分的化学结构。

抑藻实验　植物释放的亲脂性化感物质一般需用少量的有机溶剂助溶后再进行生物测试，常用溶剂为二甲亚砜(DMSO)，已有报道证实 DMSO 在体积分数为 0.05%时，对铜绿微囊藻的生长影响不大[27]。因此在后面的抑藻实验中，DMSO 的浓度采用 0.03% 。

抑藻试验根据 US EPA 方法[28]，取适量的伊乐藻总生物碱用二甲亚砜(DMSO)溶解，用适量的经高压灭菌的藻类培养基稀释，然后接种经培养 4d 的铜绿微囊藻，在温度 25℃，光照强度 2500 lx，光暗比 12h∶12h 条件下培养。用血球记数板在显微镜下计数接种后第 3、第 5、第 7 天时藻细胞的数量，每个实验 5 个平行。在某一浓度下的百分生长抑制速率($I_\mu t$)可根据下式计算:

$$I_\mu t = 100 \times (\mu_c - \mu_t)/\mu_c, \quad \mu = (\ln N_n - \ln N_0)/(t_n - t_0)$$

式中，μ_c 是对照组平均生长速率，μ_t 是受试物在某一浓度下的平均生长速率，N_0 是在实验开始时(t_0)的藻细胞浓度个/mL，N_n 是在测量时间时(t_n)的藻细胞浓度个/mL。

数据统计　对照组与处理组藻细胞浓度的比较采用 *t* 检验。

2 结果与讨论

伊乐藻总生物碱经气质联用仪分析，从中鉴定出 9 种生物碱成分(表 1)。

表 1　伊乐藻总生物碱 **GC-MS** 分析结果

Tab. 1　The analytical results of alkaloid from *Elodea nuttallii* by GC-MS

保留时间 Rent time (min)	化合物 Compounds	分子量 Molecular weight
13.18	2-乙基吡嗪	108.14
14.82	2-乙基-5-甲基吡嗪	122.17
15.63	吲哚	117.15
17.02	烟碱	162.23
17.82	5-甲基噻唑	99.15
20.21	7-甲基喹啉	143.19
29.59	2,4-二甲氧基嘧啶	140.14
30.89	9H-吡啶并[3,4-b]吲哚	168.20
31.64	1,2,3,4-四氢吩嗪	184.24

图 1 是伊乐藻生物碱对铜绿微囊藻的生长抑制柱状图。处理组与对照组相比均有非常显著性差

异(P＜0.01)。在 62.0 mg/L 的伊乐藻生物碱作用下，铜绿微囊藻均受到明显的抑制作用。第 3 天时伊乐藻中生物碱对铜绿微囊藻的抑制率为 44.0%。烟碱、吲哚等生物碱对藻类的化感作用未见报道，但有关于抗病虫作用的研究。例如，烟碱用作杀虫剂、除草剂、植物生长调节剂的复配成分，扩大了原有农药的使用范围，是一种高效、低毒、广谱的“绿色”农药，符合绿色食品生产的要求，含硫酸烟碱的溶液可防治大田作物生产中蚜虫等作物害虫[29]。又如冬麦产生的吲哚生物碱具有抗蚜虫作用[30]。化感物质作为除草、抗病虫剂是一种无公害绿色农药，完全符合未来社会对农药的各项要求，因此具有广阔的开发前景[31]。

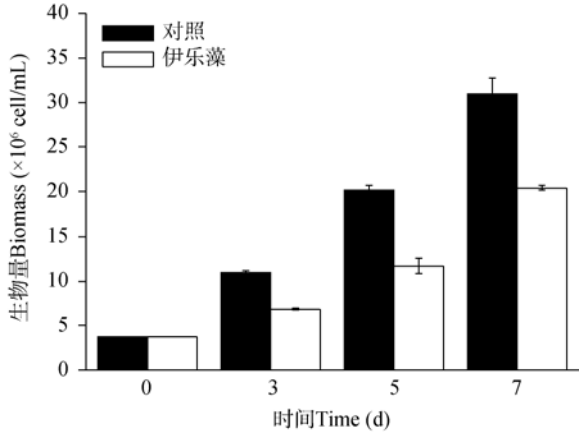

图 1　伊乐藻生物碱对铜绿微囊藻的抑制作用

Fig. 1　Inhibitory effects of alkaloids of *Elodea nuttallii* on *Microcystis aeruginosa*

近年来，利用植物分泌化感物质抑制藻类生长引起了人们的广泛关注，并已成功用于浅水池塘、水库淡水藻类水华的控制。王立新等[17,18]采用共培养和养殖水的方法研究了伊乐藻的同科植物黑藻对铜绿微囊藻的化感作用。结果表明，黑藻对铜绿微囊藻的生长有明显的抑制作用，表现为藻细胞生长量显著降低，细胞超微结构进行性损伤直至细胞解体，藻体叶绿素 *a* 含量和光合速率急剧下降，呼吸速率、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性均呈现先升高后降低的趋势，脂质过氧化产物(Malondialdehyde, MDA)的积累量与膜的损伤程度相一致。鲜啓鸣等[27]采用 GC-MS 分析了黑藻、金鱼藻和苦草水浸提液中有机酸的成分，并报道了几种有机酸对铜绿微囊藻的化感作用。黑藻等水生植物不仅能抑制铜绿微囊藻等单细胞藻类的生长，破坏细胞结构，还能吸收水体中的 N、P 等营养成分，从而降低水体富营养化程度，更为水中的浮游生物提供良好的生长环境和充足的食物，促进了水体生态环境的良性发展。李锋民等[32]已经报道了生物化感作用在水处理中的应用，并预测了生物化感作用在藻类控制、废水脱氮等领域的应用前景，认为化感作用的机理及在农林、环境保护领域的应用是今后研究的重点。

化感作用的机制复杂,包括以下几个方面: (1)对细胞膜的破坏。化感物质能降低细胞膜的完整性[33]，增加离子的渗出。(2)影响细胞分裂和亚显微结构。化感物质通过影响受体植物细胞分裂来抑制其生长发育。Liu, *et al*.通过电镜观察指出，大麦根所释放的生物碱能引起白芥根尖细胞壁损伤，液泡数量和体积的增大以及细胞器结构的损坏[34]。(3)影响植物激素的水平。植物激素水平受化感物质的影响较大，它可降低植物激素的生理活性或使其失去活性以抑制植物正常的生理过程。(4)影响对矿物离子的吸收及生物体内的水分平衡。(5)影响酶的活力。(6)影响植物的呼吸作用和光合作用。许多研究表明，化感物质可引起叶片中叶绿素含量的降低[35]。(7)影响蛋白质合成。研究发现阿魏酸和肉桂酸能抑制蛋白质的合成，许多酚类和生物碱也有抑制蛋白质合成的作用[36]。综上所述，植物化感作用首先对膜产生伤害，通过细胞膜上的靶位点[37]，将化感物质胁迫的信息传送到细胞内，从而对激素、离子吸收等产生影响。而激素、离子吸收以及水分状况等变化必然引起植物细胞分裂、光合作用等的变化，从而对植物的生长产生抑制作用[35]。

3　小　结

本文从被用做湖泊水生植物恢复先锋种的沉水植物-伊乐藻中提取了总生物碱，并对其化学成分和化感作用进行了研究。结果表明，在 62.0 mg/L 的伊乐藻生物碱作用下，铜绿微囊藻受到明显的抑制作用。

植物生物碱不仅能抑制铜绿微囊藻等有害藻类的生长，还具有不污染环境，对人畜、农作物和生态环境相对安全等特点，对富营养化湖泊的生态治理以及水生植被恢复的生态工程具有现实的理论指导意义。

致谢:

贺锋博士、梁威博士、张丽萍硕士、张甬元、

刘保元等先生对本研究提出许多指导意见,在此谨表谢意。

参考文献:

[1] Li X P. Lake eutrophication research and control in USA [J]. *Nature Magazine*, 2002, **24**(2): 63—68

[2] Haider S, Naithani V, Viswanathan P N, *et al*. Cyanobacterial toxins: a growing environmental concern [J]. *Chemosphere*, 2003, **52**(1): 1—21

[3] Carmichael W W. Toxic microcystis and the environment [A]. In: Watanabe M F, Harada K, Carmichael W W, Fujiki H (Eds.), Toxic microcystis [C]. Boca Raton, FL: CRC Press. 1996, 1—11

[4] Ma X Y, Chen J Z. Allelopathy and control of *microcystis aeruginosa* in aquaculture ponds [J]. *Reservoir Fisheries*, 2006, **26**(6): 75—76 [马晓燕, 陈家长. 化感作用与养殖池塘中铜绿微囊藻的防治. 水利渔业, 2006, **26**(6): 75—76]

[5] Gu L D, Chen J, Chen W H. Effect of liquor cultured *Vallisneria spiralis* on alage growth [J]. *Journal of Shanghai Teachers University* (Natural Science), 1994, **23**(1): 62—68 [顾林娣, 陈坚, 陈卫华, 等.苦草种植水对藻类生长的影响. 上海师范大学学报(自然科学版), 1994, **23**(1): 62—68]

[6] Yuan J F, Zhang Z S. Biochemical interference of aquatic macrophyte *ceratophyllum demersum* on algae [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 1993, **13**(1): 45—50 [袁峻峰, 章宗涉. 金鱼藻对藻类的生化干预作用. 生态学报, 1993, **13**(1): 45—50]

[7] Gross E M, Meyer H, Schilling G. Release and ecological impact of algicidal hydrolyzable polyphenols in *Myriophyllum spicatum* [J]. *Phytochemistry*, 1996, **41**(1): 133—138

[8] Oliver W, Walter Z, Elisabeth M. Influence of *Myriophyllum spicatum* derived tannins on gut microbiota of its herbivore *Acentria ephemerella* [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2002, **28**(10): 2045—2056

[9] Ellen V D, Wouter J B. Impact of submerged macrophytes including charophytes on phyto- and zooplankton communities: allelopathy versus other mechanisms [J]. *Aquatic Botany*, 2002, **72**: 261—274

[10] Xian Q M, Chen H D, Zou H X, *et al*. Allelopathic effects of four submerged macrophytes on *Microcystis aeruginosa* [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2005, **17**(1): 75—80 [鲜启鸣, 陈海东, 邹惠仙, 等. 四种沉水植物的克藻效应. 湖泊科学, 2005, **17**(1): 75—80]

[11] Mulderij G, Mooij W M, Smolders A J P, *et al*. Allelopathic inhibition of phytoplankton by exudates from *Stratiotes aloides* [J]. *Aquatic Botany*, 2005, **82**(4): 284—296

[12] He F, Wu Z B, Qiu D R. Allelopathic effects between aquatic plant (*Potamogeton crispus*) and algae (*Scenedesmus obliquus*) in the enclosures at Donghu Lake [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2002, **26**(4): 421—424 [贺锋, 吴振斌, 邱东茹. 东湖围隔中菹草与藻类生化他感作用的初步研究. 水生生物学报, 2002, **26**(4): 421—424]

[13] Nakai S, Inoue Y, Hosomi M, *et al*. Growth inhibition of blue-green algae by alelopathic effects of macrophytes [J]. *Water Science and Technology*, 1999, **39**(8): 47—53

[14] Jasser I. The influence of macrophytes on a phytoplankton community in experimental conditions [J]. *Hydrobiologia*, 1995, **306**: 21—32

[15] Rice E L. Allelopathy [M]. Orlando Florida: Academic Press. 1984, 309—315

[16] Lin J, Yin Q Y, Yang B Z, *et al*. Review on allelopathy of plants [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2007, **23**(1): 68—72 [林娟, 殷全玉, 杨丙钊, 等. 植物化感作用研究进展. 中国农学通报, 2007, **23**(1): 68—72]

[17] Wang L X, Wu G R, Wang J A, *et al*. The inhibition of *Hydrilla verticillata* on *Microcystis aeruginosa* [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2004, **16**(4): 337—342 [王立新, 吴国荣, 王建安, 等.黑藻(*Hydrilla verticillata*)对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)抑制作用. 湖泊科学, 2004, **16**(4): 337—342]

[18] Wang L X, Zhang L, Zhang Y X, *et al*. The inhibition of *Hydrilla verticillata* culture water on *Microcystis aeruginosa* and its mechanism [J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2006, **32**(6): 672—678 [王立新, 张玲, 张余霞, 等. 黑藻(*Hydrilla verticillata*)养殖水对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)抑制效应及其机制. 植物生理与分子生物学学报, 2006, **32**(6): 672—678]

[19] Li X Y, Piao S J, Tang H P, *et al*. Effect of alkaloid from *Artemisia sieversiana* flower on the apparatus division of rhizome knot of *Leymus chinensis* [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2004, **23**(2): 50—54 [李新宇, 朴顺姬, 唐海萍, 等. 大籽蒿花中生物碱类化感物质对羊草根茎节器官分化的影响. 生态学杂志, 2004, **23**(2): 50—54]

[20] Thanh D N, Rickards R W, Rothschild J M, *et al*. Allelopathic actions of the alkaloid 12-*epi*-hapalindole Eisonitrile and calothrixin A from cyanobacteria of the genera *Fischerella* and *Calothrix* [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2000, **12**(3—5): 409—416

[21] Augusto E, Edenilson R, Ralf D, *et al.* Algicide production by the filamentous cyanobacterium *Fischerella* sp. CENA 19 [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2004, **16**(3): 237—243

[22] Moore R E, Cheuk C, Patterson G M L. Hapalindoles: new alkaloids from the blue-green alga *Hapalosiphon fontinalis* [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1984, **106**(21): 6456—6457

[23] Moore R E, Cheuk C, Yang X Q G, *et al.* Hapalindoles, antibacterial and antimycotic alkaloids from the cyanophyte *Hapalosiphon fontinalis* [J]. *Journal of Organomentallic Chemistry*, 1987, **52**: 1036—1043

[24] Xu R B, Wang F, Liu W W, *et al*. Studies on extracting technology of alkaloids from *Capsella bursa - pastoris* (L) [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2006, **32**(8):

135—138 [许瑞波, 王芳, 刘玮炜, 等. 荠菜总生物碱的酸碱提取工艺研究. 食品与发酵工业, 2006, **32**(8): 135—138]

[25] Chen Z L, Yang W D, Liu J S. Allelopathic effects of *Eichhornia crassipes* roots on *Alexandrium tamarense* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, **29**(3): 313—317 [陈芝兰, 杨维东, 刘洁生. 凤眼莲根系分泌物对塔玛亚历山大藻的化感作用. 水生生物学报, 2005, **29**(3): 313—317]

[26] Rippka R, Deruelles J, Waterbury B, *et al*. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria [J]. *Journal of General Microbiology*, 1979, **111**: 1—61

[27] Xian Q M, Chen H D, Qu L J, *et al*. Allelopathic potential of aqueous extracts of submerged macrophytes against algal growth [J]. *Allelopathy Journal*, 2005, **15**(1): 95—104

[28] US EPA (1989) Algal, *Selenastrum capricornutum*, growth test Method 1003 0, In: *Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluent and Receiving Waters to Freshwater Organisms* EPA 600/4-89/001. Cincinnati, Ohio, USA

[29] Xue X P, Chen Y, Wang M S, *et al*. Research status of nicotine [J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2008, **36**(10): 4121—4122, 4143 [薛小平, 陈懿, 王茂胜, 等. 烟碱的研究现状. 安徽农业科学, 2008, **36**(10): 4121—4122, 4143]

[30] Zhang J Y, Xu Y L, Li F P, *et al*. Development of plant allelopathy [J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2007, **35**(21): 6357—6358, 6409 [张俊英, 许永利, 李富平, 等. 植物化感作用研究进展. 安徽农业科学, 2007, **35**(21): 6357—6358, 6409]

[31] Luo X. Mechanism of allelopathy and application of it in exploiting new pesticides [J]. *Journal of Chuzhou University*, 2007, **9**(3): 58—61 [罗侠. 化感作用的机制及化感物质的开发应用. 滁州学院学报, 2007, **9**(3): 58—61]

[32] Li F M, Hu H Y. Application of allelopathy in water treatment [J]. *China Water and Wastewater*, 2003, **19**(7): 38—40 [李锋民, 胡洪营. 生物化感作用在水处理中的应用. 中国给水排水, 2003, **19**(7): 38—40]

[33] Li F M, Hu H Y. Mechanism of phyto-allelochemicals and its application for harmful algae control in nature water body [J]. *Water and Wastewater Engineering*, 2004, **30**(2): 1—4 [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, **30**(2): 1—4]

[34] Liu D L, Lovett J V. Biologically active secondary metabolites of barley. Ⅱ. Phytotoxicity of barley allelochemicals [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1993, **19**(10): 2231—2244

[35] Li S T, Zhou J M, Wang H Y, *et al*. Allelopathic Mechanism of Plants [J]. *Rural Eco-Environment*, 2001, **17**(4): 52—55 [李寿田, 周健民, 王火焰, 等.植物化感作用机理的研究进展. 农村生态环境, 2001, **17**(4): 52—55]

[36] He H Q, Lin W X. Preliminary studies on allelopathic potential in rice [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2001, **9**(2): 47—79 [何华勤, 林文雄. 水稻化感作用潜力研究初报. 中国生态农业学报, 2001, **9**(2): 47—79]

[37] Chen P K, Leather G R. Plant growth regulatory activities of artenisinin and its related compounds [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1990, **16**(6): 1867—1876

ANALYSIS OF ALKALOID FROM *ELODEA NUTTALLII* BY GC-MS AND ITS ALLELOPATHIC ACTIVITY ON *MICROCYSTIN AERUGINOSA*

WANG Hong-Qiang[1,2,3], CHENG Shui-Ping[1], ZHANG Sheng-Hua[1,2], WANG Jing[1,2],HU Chen-Yan[1,2], GE Fang-Jie[1,2] and WU Zhen-Bin[1]

(1. *State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan* 430072, *China*; 2. *Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100049, *China*; 3. *Department of Environmental and municipal Engineering, He'nan University of Urban Construction, Pingdingshan* 467044, *China*)

Abstract: Eutrophication leads a mass of algae, and algae bloom directly influence the ecological function of water bodies and the safety of drinking water. It is very important to control the growth and reproduction of blooming algae for fishery, industrial and agricultural production as well as for the health of humans. Although some methods have been proposed to control harmful algal growth, only a few are applicable due to high cost, secondary pollution, or impracticability. The commonly used algicides, such as copper (Cu^{2+}) and organic herbicide, can inhibit the entire phytoplankton community and cause subsequent water quality deterioration that may stress or kill aquatic animals. Furthermore, copper might accumulate in the bodies of aquatic predators, and herbicides might be toxic to all the living species in the water body. Therefore, it is necessary to explore an effective and secure new method to control the growth of harmful algae. Submerged macrophytes can reduce harmful algae blooms to maintain clear water in natural and experimental aquatic ecosystems. Using allelochemicals, which were produced by some macrophytes, to inhibit the growth of some harmful algae has been reported, but the allelopathic effects of alkaloids from submerged macrophytes were not found. In this study, the alkaloids of *Elodea nuttallii* were extracted by ethanol and then fractionated with some chemical reagent. The alkaloids compounds were analyzed by gas chromatography- mass spectrometry (GC-MS). Mass fragments of the components were compared to the mass fragmentation data contained in the NIST 02. 9 alkaloids were identified from *Elodea nuttallii* by GC-MS, and the allelopathic effects of the alkaloids were also explored by bioassay of *Microcystin aeruginosa*. The alkaloids from *Elodea nuttallii* inhibited obviously to the growth of *M. aeruginosa* with the inhibition rate of 44.0% for three days, when the concentration of alkaloids were 62.0 mg/L. The alkaloids were a complicated mixture, which further purification was a challenging job. The detailed components of alkaloids were not clear now, but the result of bioassay showed that there were active constituents in alkaloids which provide a useful information for further study of the allelochemical in submerged macrophytes.

Key words: Allelopathic activity; Alkaloid; *Elodea nuttallii*; *Microcystin aeruginosa*