2014-10-25 DOI: 10.3724/SP.J.1145.2014.01037 http://www.cibj.com/
应用与环境生物学报 *Chin J Appl Environ Biol* 2014, **20**(5): 850-855

红树植物桐花树、秋茄的有机酸类根系分泌物组成及含量*

刘 玉[1,2**] 魏 洁[1,2] 黄雄飞[1,2] 彭逸生[1,2] 徐健荣[1,2]

[1]中山大学环境科学与工程学院 广州 510275
[2]广东省环境污染控制与修复技术重点实验室(中山大学) 广州 510275

摘 要 红树植物对其林内生物包括微藻起着化感控制作用,化感作用与其根系分泌物密切相关. 采用溶液培收集法收集桐花树(*Aegiceras corniculatum*, *Ac*)、秋茄(*Kandelia candel*, *Kc*)根泌物的水培液,用GC-MS和HPLC对其中的羧酸类的含量和组成进行定性和定量分析. 结果表明,桐花树根泌物中含有草酸、壬二酸、琥珀酸、己二酸、乙酰丙酸、苹果酸共6种多元羧酸以及月桂酸1种饱和脂肪酸;秋茄根泌物中含有草酸、壬二酸、己二酸、乙酰丙酸共4种多元羧酸、月桂酸以及氢化肉桂酸1种酚酸. 其中壬二酸、己二酸和乙酰丙酸在红树植物根泌物中为初次发现. 草酸、壬二酸含量相对最高. 桐花树、秋茄根泌物中草酸浓度分别为1.52 mg L^{-1}和2.39 mg L^{-1},壬二酸浓度分别为12.98 μg L^{-1}和10.60 μg L^{-1}. 羧酸含量定量分析对了解红树植物的化感作用具有重要意义. 表5 图2 参30

关键词 红树植物;桐花树;秋茄;根系分泌物;有机酸;壬二酸
CLC Q946.8 : Q948.1

Composition and contents of organic acids in root exudates of mangrove *Aegiceras corniculatum* and *Kandelia candel**

LIU Yu[1,2**], WEI Jie[1,2], HUANG Xiongfei[1,2], PENG Yisheng[1,2] & XU Jianrong[1,2]

[1]*School of Environmental Science and Engineering, Sun Yat-Sen University*, Guangzhou 510275, China
[2]*Guangdong Provincial Key Laboratory of Environmental Pollution Control and Remediation Technology (Sun Yat-sen University)*, Guangzhou 510275, China

Abstract Mangrove plants play an important allelopathic control effect on the forest organisms including microalgae. Such allelopathy is closely related with its root exudates (REs). Since the research about organic acids in REs is in its initial stage, this study was focused on the components and contents of carboxylic acids in organic acids. The root hydroponic liquids were collected by solution culture method for two mangrove plants *Aegiceras corniculatum* and *Kandelia candel*. The carboxylic acids were qualitatively analyzed by GC-MS and quantitatively by HPLC. In the end, oxalic acid, azelaic acid, succinic acid, levulinic acid, adipic acid, malic acid and lauric acid were identified in REs of *A. corniculatum*, while oxalic acid, azelaic acid, levulinic acid, adipic acid, a fatty acid, lauric acid and 3-phenylpropionic acid were identified in REs of *K. candel*. This study was the first to find in mangrove REs azelaic acid, levulinic acid and adipic acid. Oxalic acid and azelaic acid were the major acids with the highest contents, with the concentration of oxalic acid 1.52 mg L^{-1} and 2.39 mg L^{-1} respectively in *A. corniculatum* and *K. candel*, and the concentration of azelaic acid 12.98 μg $L^{-1}$and 10.60 μg L^{-1}, respectively, in *A. corniculatum* and *K. candel*. The quantitative analysis of organic acids in REs is important for understanding the allelopathy of mangrove plants.

Keywords mangrove plants; *Aegiceras corniculatum*; *Kandelia candel*; root exudates; organic acids; azelaic acid

红树植物的根系周期性或长期淹在水体里,是植物体与水环境(底质环境)相互影响的连接点,特殊的生长环境决定了根部在红树林生态效应中的重要地位,红树植物对其林内植物生长、微生态及根际微生物的生态效应与其根系代谢活动密不可分. 无瓣海桑(*Sonneratia apetala*)会抑制白骨壤(*Avicennia marina*)等4种乡土树种胚轴的萌发[1]. 红树植物对其它植物的作用及红树林有各种纯林的存在,应与其化感作用及其生态效应调节机制有关[2],而此化感作用应与其根系分泌物(简称“根泌物”)的组成成分及含量密切相关.

植物根泌物种类繁多,并且会因物种、生长阶段、营养状况、微生物种数、土壤状况、光照及温度、空气成分等因素的改变而出现很大的差异. 根据已发表的对多种植物的研

收稿日期 Received: 2014-01-16 接受日期 Accepted: 2014-04-02
*国家自然科学基金项目(41171416)和国家高技术研究发展计划(863计划, 2007AA091703)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (41171416) and the 863 Program of China (2007AA091703)
**通讯作者 Corresponding author (E-mail: eeslyu@mail.sysu.edu.cn)

究成果[3-5], 本研究将已被鉴定的根泌物成分可以综合分成八大类: 糖类、甾醇类、酶类、有机酸类、核苷酸和黄酮类、生长因子、无机物、其他(糖苷、皂苷、氢氰酸、荧光物质、生长调控物、植物抗毒素、麦根酸类植物铁载体等). 广义的有机酸是指分子结构中含有羧基(—COOH)的有机化合物, 在各类分泌物中, 以有机酸类的化合物种数最多, 组成最复杂, 分类杂乱, 因此, 本研究将有机酸类概括分为四大类, 包括脂肪酸、氨基酸、羧酸和酚酸.

有机酸如甲酸、乙酸、草酸、乳酸、苹果酸、琥珀酸、酒石酸、柠檬酸、马来酸、月桂酸及肉桂酸类物质等, 已被证实存在于植物根系分泌物中, 大部分为多元羧酸, 这部分有机酸在植物提高土壤养分有效性的适应机制中起到主要作用[6], 并在胁迫环境中作为调节植物抗性及修复的中坚力量[7-8], 在湿地植物中具有同样生态功能[9-10]. 但迄今为止, 只有少数报道涉及红树植物树皮中的有机酸. 卢豪良等对秋茄根泌物进行过低分子量有机酸的分离鉴定[11]. 由于根泌物中有机酸类分析相对较简单, 且根泌物对根系生态有很强的调控作用, 而红树植物根泌物的有机酸类研究目前基本上尚为起步阶段, 因此, 本研究重点针对红树植物根泌物的有机酸类, 且重点对羧酸类进行分析.

研究根泌物成分的一般步骤是: 收集根系分泌物→分离纯化根系分泌物→分析鉴定根系分泌物[12-14]. 本研究对多种方法进行预实验及优化, 最后采用溶液培收集法收集桐花树(*Aegiceras corniculatum*, *Ac*)、秋茄(*Kandelia candel*, *Kc*)根泌物的水培液, 经过衍生化预处理后用气相色谱–质谱联用仪(GC-MS)进行定性分析, 分离鉴定其中有机酸羧酸类的种类, 从已鉴定出的羧酸类中选择匹配率高、相对含量大的成分, 再用GC-MS和高效液相色谱仪(HPLC)进行定量分析, 测定其在桐花树和秋茄根泌物水培液中的含量. 本研究有助于了解红树植物的化感作用, 厘清红树林生态机制尤其对根系微生态的作用机制, 并且对选择合适的红树植物进行种植和沿海生态修复都具有指导意义.

1 材料与方法

1.1 收集根泌物

根泌物的收集有间歇性收集法和连续性收集系统法, 前者包含有溶液培收集法、土壤培养收集法和基质培收集法等, 方法各有利弊[13-15]. 本研究采用溶液培收集法, 该法是将供试植物用去离子水清洗后, 放入预先加入微生物抑制剂的蒸馏水或特定营养液中, 使之生长一段时间, 然后将植株移走, 收集溶液并过滤, 确定根系释放物质, 即为所收集的根泌物. 该法最为常用, 优点是操作简单、方便, 能反映根泌物的变化状况, 缺点是收集过程中不能严格控制无菌条件, 因此应采用尽量好的无菌条件和有效地缩短收集时间, 一般要求控制在6 h以内.

从深圳福田红树林自然保护区苗圃购得桐花树(*A. corniculatum*)和秋茄(*K. candel*)一年生幼树, 平均株高30 cm. 采用水培法种植, 人工海水中加入f/2培养基中大量元素储液作为培养液[16-17], 每7 d更换一次, 3个月后各挑选5棵健康植株用于根泌物分析实验. 在自然光照条件下收集根泌物6 h(10:00-16:00), 分别用50 mL超纯水淋洗根部, 共收集到桐花树根泌物水培液600 mL, 秋茄根泌物水培液400 mL.

1.2 根泌物水培液中有机酸的测定

参考以往对水溶液中有机酸的预处理及测定方法[18-19]进行分析.

1.2.1 **根泌物水培液的GC-MS预处理** 组成根泌物的化合物种类繁多, 因此收集后的根泌物要经过预处理才能对其组分进行定性、定量分析. 本研究分别采用了直接萃取法、吸附树脂法、调节水相pH后萃取法, 以乙酸(Acetic acid)、*L*-苹果酸(*L*-Malic acid)、柠檬酸(Citric acid)作为标准样品分别进行预实验, 但在GC-MS中均未检出标准样品的色谱峰. 因此本研究建立起将水样旋蒸、干燥, 再甲酯化、萃取、定容的预处理方法. 具体为: 根泌物水培液过3 μm滤膜抽滤除去杂质, 旋蒸, 烘箱干燥, H_2SO_4-CH_3OH溶液使甲酯化. CH_2Cl_2萃取3次(10 mL × 3), 萃取液通过无水Na_2SO_4的层析柱脱水, 用CH_2Cl_2定容至2-3 mL, 用0.22 μm有机相针头滤膜过滤, 贮藏于–20 ℃冰箱. 另取200 mL灭菌处理的高纯水在相同条件下进行预处理, 作为空白对照样, 以排除本底物质的干扰. 使用美国Thermo公司Thermo Trace DSQ四极杆气相色谱–质谱联用仪进行分析.

1.2.2 **根泌物水培液的HPLC预处理** 常用的根泌物分析鉴定技术主要有现代仪器分析方法和生物活性测定方法. 本研究采用HPLC来分析检测和确定各种微量有机酸成分和含量. 有机酸HPLC预处理方法为: 将收集到的根系水培液过3 μm滤膜抽滤除去杂质, 滤液在70 ℃、0.08 kPa负压条件下旋蒸至约1 mL, 用高纯水定容, 桐花树根系水培液定容至3 mL, 秋茄根系水培液定容至2 mL; 溶液分别过0.22 μm针头滤膜, 贮藏于4 ℃冰箱中待上机检测. 使用美国安捷伦公司Agilent 1100高效液相色谱仪进行分析与测定.

1.2.3 标准曲线制备 称取壬二酸二甲酯标样0.01 g溶于250 mL CH_2Cl_2中, 用CH_2Cl_2配制成含有壬二酸1、2、5、10、20、40 mg L^{-1}六个浓度梯度的标准溶液; 称取草酸标样0.1 g, 溶于100 mL超纯水中作为母液, 用超纯水配制成含有草酸10、20、40、100、500 mg L^{-1}五个浓度梯度的标准溶液. 分别过0.22 μm有机相针头滤膜, 待测.

1.2.4 GC/MS**检测条件** 色谱(GC)条件: 石英毛细管柱DB-5MS(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 进样口280 ℃; 进样量1.0 μL; 不分流; 载气为氦气(He), 流速1 mL/ min. 质谱(MS)条件: 电子轰击源(EI)电子能量70 eV, 扫描范围50-650 amu, 全扫描, 扫描速度0.4 s扫全程, 接口温度250 ℃, 离子源温度200 ℃, 溶剂延迟时间为3.0 min.

1.2.5 HPLC**检测条件** 流动相的制备: 流动相A, 配制25 mmol L^{-1}的KH_2PO_4溶液, 用磷酸调pH值至2.6, 过0.22 μm滤膜后经超声波脱气. 流动相B, CH_3OH(色谱纯), 过0.22 μm滤膜后经超声波脱气. 均贮藏于4 ℃冰箱中备用. 色谱条件: 选用Agilent 1100高效液相色谱及其色谱工作站. 色谱条件为: Zorbax eclipse XDB C8(150 mm × 4.6 mm)型色谱柱, 流动相为93%的25 mmol L^{-1} KH_2PO_4(pH 2.6) + 7%的CH_3OH混合液, 流速为0.8 mL min^{-1}, 进样量20 μL, 柱温25 ℃ ± 2 ℃, 检测波长210 nm.

1.3 数据处理

采用SPSS16.0和Microsoft Excel 2007软件分别对数据进行分析处理和作图, 数据差异性采用One-way ANOVA方法进行分析, 数据相关性采用Pearson相关分析方法进行分析.

2 结果与分析

2.1 桐花树根泌物有机酸组成成分

桐花树根泌物有机酸成分的GC-MS总离子流色谱图见图1.

扣除与空白对照样中相同的组分，通过计算机在NIST2002质谱数据库中对图中各色谱峰进行检索，结合人工辅助分析，在桐花树根泌物的水培液中，共检测出10种有机酸甲酯化组分，鉴定出其中8种，见表1.

鉴定出的有机酸甲酯化产物中有7种可以确定其有机酸原型，包括了6种多元羧酸[草酸（Oxalic acid）、壬二酸（Azelaic acid）、琥珀酸（Succinic acid）、己二酸（Adipic acid）、乙酰丙酸（Levulinic acid）、苹果酸（Malic acid]及1种饱和脂肪酸[月桂酸（Lauric acid）].

2.2 秋茄根系分泌物有机酸组成成分

秋茄根系分泌物有机酸成分的GC-MS总离子流色谱图见图2.

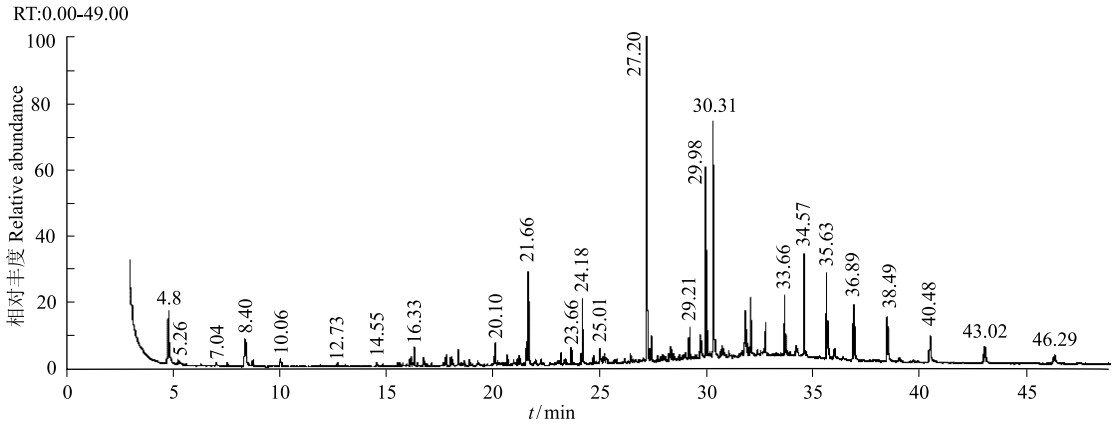

图1 桐花树根系分泌物有机酸成分总离子流色谱图.

Fig. 1 Total ion chromatogram of organic acids in root exudates of *Aegiceras corniculatum*.

表1 桐花树根泌物的有机酸组分（甲酯化）

Table 1 Organic acid methyl ester in root exudates of *A. corniculatum*

成分 Component	CAS号 CAS Number	保留时间 Rettime (*t*/min)	分子量 Molecular weight	配比度 Probably (*r*/%)	相对含量 Content (*w*/%)
草酸二甲酯 Dimethyl oxalate	553-90-2	4.80	118	94.74	4.53
壬二酸二甲酯 Azelaic acid, dimethylester	1732-10-1	24.18	216	95.78	3.23
月桂酸甲酯 Lauric acid, methylester	111-82-0	23.66	214	62.24	1
2-甲氧基富马酸二甲酯 2-Methoxy-2-butenedioic acid dimethylester	26579-97-5	16.33	174	86.18	0.93
琥珀酸二甲酯 Dimethyl succinate	106-65-0	10.06	146	90.17	0.63
己二酸二甲酯 Dimethyl adipate	627-93-0	16.15	174	90.99	0.48
乙酰丙酸甲酯 Methyl levulinate	624-45-3	8.76	130	90.77	0.42
苹果酸二甲酯 Malic acid, dimethylester	1587-15-1	12.73	162	63.78	0.25

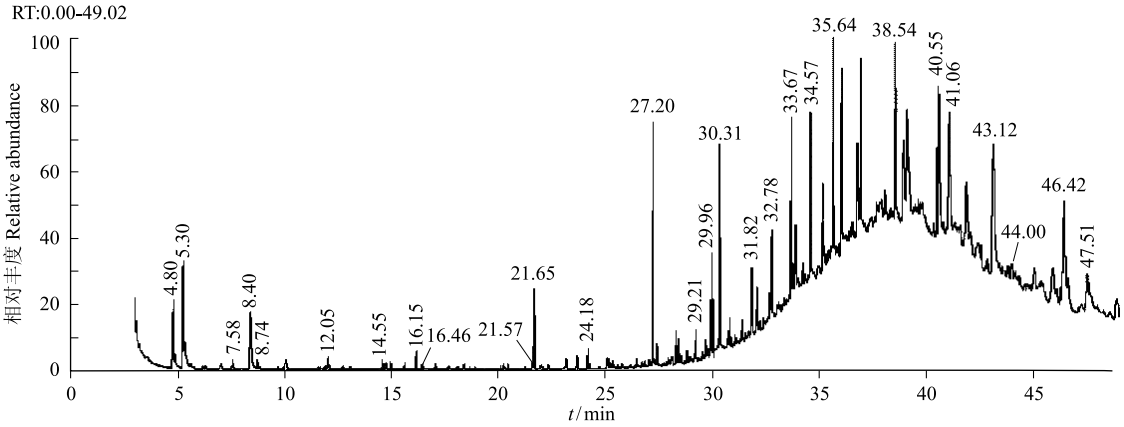

图2 秋茄根系分泌物有机酸成分总离子流色谱图.

Fig. 2 Total ion chromatogram of organic acids in root exudates of *Kandelia candel*.

表2 秋茄根系分泌物的有机酸组分(甲酯化)

Table 2 Organic acid methyl ester in root exudates of *K. candel*

成分 Component	CAS号 CAS Number	保留时间 Rettime (*t*/min)	分子量 Molecule weight	配比度 Probably (*r*/%)	相对含量 Content (*w*/%)
草酸二甲酯 Dimethyl oxalate	553-90-2	4.80	118	83.15	2.45
壬二酸二甲酯 Azelaic acid, dimethylester	1732-10-1	24.18	216	89.23	0.41
己二酸二甲酯 Dimethyl adipate	627-93-0	16.15	174	90.71	0.36
乙酰丙酸甲酯 Methyl levulinate	624-45-3	8.76	130	87.56	0.28
月桂酸甲酯 Lauric acid, methylester	111-82-0	23.66	214	72.97	0.28
Methyl 2-*O*-methyl-*α*-*D*-glucopyranosiduronic acid methylester	31506-20-4	12.73	236	53.24	0.11
氢化肉桂酸 3-Phenylpropionic acid methylester	103-25-3	17.06	164	82.53	0.11

表3 桐花树和秋茄根泌物中各有机酸成分的比较

Table 3 Comparison of organic acid components in *A. corniculatum* and *K. candel*

成分 Component	CAS号 CAS Number	桐花树根泌物百分率 Percentage of REs of *A. corniculatum* (*P*/%)	秋茄根泌物百分率 Percentage of REs of *K. candel* (*P*/%)
草酸 Oxalic acid	144-62-7	42.98	61.25
壬二酸 Azelaic acid	123-99-9	30.64	10.25
月桂酸 Lauric acid	143-07-7	9.49	7.00
琥珀酸 Succinic acid	110-15-6	5.98	-
己二酸 Adipic acid	124-04-9	4.55	9.00
乙酰丙酸 Levulinic acid	123-76-2	3.98	7.00
苹果酸 Malic acid	97-67-6	2.37	-
氢化肉桂酸 3-phenylpropionic acid	501-52-0	-	2.75

表4 草酸反相高效液相色谱的检测参数

Table 4 Parameters of oxalic acid by RPLC

成分 Component	保留时间 Rettime (*t*/min)	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	检测范围 Examination area (ρ/mg L^{-1})	加标回收率 Recovery (*r*/%)
草酸 Oxalic acid	1.033	y =13.275x + 131.74	0.9972	10-500	90.8

表5 壬二酸气相色谱–质谱的检测参数

Table 5 Parameters of azelaic acid by GC-MS

成分 Component	保留时间 Rettime (*t*/min)	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	检测范围 Examination area (ρ/mg L^{-1})	加标回收率 Recovery (*r*/%)
壬二酸 Azelaic acid	24.47	$y = 4.8\times10^6x–3.4\times10^6$	0.9951	1-40	104

在秋茄根系分泌物的水培液中鉴定出7种有机酸甲酯化组分, 见表2.

鉴定出的有机酸甲酯化产物中有6种可以确定其有机酸原型, 包括了4种多元羧酸(草酸、壬二酸、己二酸、乙酰丙酸)、1种饱和脂肪酸(月桂酸)和1种酚酸[氢化肉桂酸(3-phenylpropionic acid)].

2.3 各有机酸在总量中所占百分率

通过峰面积(包含本底物质和其他非甲酯化有机酸的色谱峰)归一化方法计算得出各有机酸组分在桐花树和秋茄根泌物水培液的有机酸总量中所占的百分率, 见表3.

从鉴定结果来看, 秋茄根泌物中没有检出琥珀酸和苹果酸, 新出现了氢化肉桂酸, 其他组分与桐花树大致相同. 桐花树根泌物有机酸成分中草酸和壬二酸的相对含量较大且配比度较高, 分别占检出有机酸总量的42.98%和30.64%. 秋茄根泌物中相对含量最大的两种组分也是草酸和壬二酸, 分别占有机酸总量的61.25%和10.25%.

2.4 草酸含量定量分析

对草酸10、20、40、100、500 mg L^{-1}五个浓度梯度的标准溶液进行HPLC分析. 以草酸浓度为横坐标, 以平行样的峰面积平均值为纵坐标, 进行线性回归分析. 结果如表4所示.

根据各组分的保留时间确定草酸的色谱峰, 由标准曲线的回归方程计算得到桐花树根泌物水培液中草酸浓度为1.52 mg L^{-1}, 秋茄根泌物水培液中草酸浓度为2.39 mg L^{-1}.

2.5 壬二酸含量定量分析

对壬二酸1、2、5、10、20、40 mg L^{-1}六个浓度梯度的标准溶液进行GC-MS分析, 每个梯度3次平行进样. 以壬二酸浓度为横坐标, 以平行样的峰面积平均值为纵坐标, 进行线性回归分析, 结果如表5所示.

根据各组分的保留时间确定壬二酸的色谱峰, 由标准曲线的回归方程计算得到桐花树根泌物水培液中壬二酸浓度为12.98 μg L^{-1}, 秋茄根泌物水培液中壬二酸浓度为10.60 μg L^{-1}.

4 讨论与结论

本研究从桐花树根系分泌物中鉴定出7种有机酸, 除了月桂酸属于饱和脂肪酸类外, 草酸、壬二酸、琥珀酸、己二酸、乙酰丙酸、苹果酸均属于多元羧酸. 在秋茄根系分泌物中鉴定出6种有机酸, 包括4种多元羧酸(草酸、壬二酸、己二

酸、乙酰丙酸）、1种饱和脂肪酸（月桂酸）和1种酚酸（氢化肉桂酸）. 与卢豪良对秋茄根泌物中有机酸的分离鉴定结果有所不同. 卢豪良从10种低分子量有机酸标准样品（甲酸、乙酸、丙二酸、丁酸、*L*-苹果酸、柠檬酸、乳酸、反丁烯二酸、顺丁烯二酸、酒石酸）中, 分离鉴定出秋茄根系分泌物中含有5种有机酸, 即甲酸、丁酸、*L*-苹果酸、柠檬酸、乳酸[11]. 结果不同可能源于具体树种、树龄及分泌能力不同, 标样选择不同或是预处理方法有异等多种原因.

一般在植物根泌物中均可检测到草酸的分泌且分泌量较大. 同样, 草酸是桐花树和秋茄的根泌物中含量最高的一种多元羧酸, 桐花树根泌物中草酸浓度为1.52 mg L^{-1}, 秋茄根泌物水培液中草酸浓度为2.39 mg L^{-1}. 过去很长一段时间人们对于草酸的认识停留在其只是生物体代谢过程中产生的副产物之一, 越来越多的研究结果表明草酸在植物对抗胁迫反应中有着重要意义. 植物根系分泌的草酸能提高土壤中难溶性养分的生物有效性[20-21], 草酸对多酚氧化酶具有抑制作用[22]并能影响向日葵中的抗氧化系统[23-24]. 有机酸能与重金属形成稳定的复合体, 将离子态的金属转变为低毒或无毒的合态形式, 减轻过量金属对植物和毒害效应[6]. 因此, 桐花树和秋茄根泌物中的草酸可能对红树植物抵抗胁迫及林内生物生长起着促进的作用.

桐花树和秋茄的根泌物中存在有壬二酸、己二酸、乙酰丙酸三种羧酸, 且配比度均在80%以上, 这3种羧酸未曾在其它任何植物根泌物中被检测出的报道, 因此, 这3种多元羧酸应为桐花树和秋茄中比较特殊的有机酸.

在桐花树和秋茄根泌物中均鉴定出1种饱和脂肪酸, 即月桂酸. 在以往对各类植物的研究中, 很少见月桂酸是根泌物的研究报道. 月桂酸在红树植物中的功能也有待进一步检验.

壬二酸又名杜鹃花酸, 是一种饱和直链二元羧酸, 易溶于醇和水, 对各种需氧菌和厌氧菌具有较强的抑制和杀灭作用, 机制是抑制微生物的蛋白质和酶的合成, pH低时, 具有较高抗菌活性. 壬二酸还具有抗增生和抗细胞毒素的作用, 机制是通过破坏线粒体呼吸和细胞DNA合成. 己二酸为二元羧酸, 对环境有危害, 易在大气化学和大气物理变化中形成酸雨. 乙酰丙酸是一种同时含羰基、*α*-氢和羧基的多官能团化合物, 易溶于水和醇、醚类有机溶剂, 农药中可制取植物激素等. 这3种羧酸对红树植物是否有特殊的生态功能还有待进一步试验.

桐花树根泌物中壬二酸浓度为12.98 μg L^{-1}, 是秋茄根泌物中壬二酸浓度（10.60 μg L^{-1}）的1.22倍. Huang研究发现桐花树对微小小环藻的抑制作用强于秋茄[25], 结合本研究的定量结果推测, 由于桐花树根泌物中具有生物毒性作用的壬二酸含量大于秋茄, 壬二酸能损害微藻的生长繁殖机能, 可能使得桐花树表现出明显抑藻效果. 壬二酸含量在桐花树和秋茄根泌物中均呈微克级, 符合化感物质“量微效强”的特征, 因此, 壬二酸有可能为桐花树和秋茄根泌物中的化感物质, 对此, 有必要进一步深入探讨壬二酸的生态效应及对红树林根区微生物的生态影响机理.

我国近岸海域因有机污染负荷过大导致赤潮频发, 不仅严重损害近岸海域生态环境健康, 更制约了沿海经济发展的可持续性. 王仁君等从鼠尾藻组织甲醇提取物的石油醚和乙酸乙酯相中检测到了10种不饱和脂肪酸, 其中有数种可在1 h内完全杀死亚历山大藻细胞和赤潮异弯藻细胞[26]. 共培养条件下菖蒲和铜绿微囊藻之间有相互化感作用[27]. 像其它多种湿地植物对根际微生物菌和藻作用相似[28-29], 较高浓度的正红树（*Rhizophora apiculata*）根系分泌物对赤潮藻中肋骨条藻（*Skeletonema costatum*）有一定的抑制作用, 正红树的化感作用也符合“低促高抑”的现象[30]. 总体而言, 红树植物是否有微藻抑制效应且其抑制机制是什么, 是否与红树植物根泌物有关及相关性大小, 是某种成分单独作用还是几种成分协同、拮抗或相互作用, 是否不同红树植物其根泌物生态效应不同, 均值得深入探讨. 今后应检测出根系分泌物中的其它成分, 结合有机酸鉴定结果研究各重要成分的混合效应, 并开展野外原位条件下的验证试验, 以期为研究整个红树林生态效应机制提供实践依据, 为预防和控制近岸海域水体富营养化提供技术支持.

参考文献 [References]

1 李玫, 廖宝文, 郑松发, 陈玉军. 无瓣海桑对乡土红树植物的化感作用[J]. 林业科学研究, 2004, **17** (5): 641-645 [Li M, Liao BW, Zheng SF, Chen YJ. Allelopathic effects of *Sonneratia apetala* aqueous extracts on growth performance of some indigenous mangroves [J]. *For Res*, 2004, **17** (5): 641-645]

2 Chen, LY, Peng SL, Chen BM, Li J, Pang JX. Effects of aqueous extracts of 5 mangrove spp. on cabbage germination and hypocotyls growth of *Kandelia candel* [J]. *Allelopathy J*, 2009, **23** (2): 469-476

3 王美娥, 周启星, 张利华. 污染物在根-土界面的化学行为与生态效应[J]. 应用生态学报, 2003, **14** (11): 2067-2071 [Wang ME, Zhou QX, Zhang LH. Chemical behavior and ecological effects of pollutants acting on root-soil interface [J]. *Chin Appl Ecol*, 2003, **14** (11): 2067-2071]

4 林文雄, 熊君, 周军建, 邱龙, 沈荔花, 李振方, 陈慧, 郝慧荣, 陈婷, 林瑞余, 何海斌, 梁义元. 化感植物根际生物学特征研究现状与展望[J]. 中国生态农业学报, 2007, **15** (4): 1-8 [Lin WX, Xiong J, Zhou JJ, Qiu L, Shen LH, Li ZF, Chen H, Hao HR, Chen T, Lin RY, He HB, Liang YY. Research status and its perspective on the properties of rhizosphere biology mediated by allelopathic plants [J]. *Chin Eco-Agric*, 2007, **15** (4): 1-8]

5 王延平, 王华田. 植物分泌的化感物质及其在土壤中的环境行为[J]. 土壤通报, 2010, **41** (2): 501-507 [Wang YP, Wang HT. Allelochemicals from roots exudation and its environment behavior in soil [J]. *Chin Soil Sci*, 2010, **41** (2): 501-507]

6 于敏, 王文国, 王胜华, 陈放. 外源柠檬酸对水稻铜毒害的缓解效应[J]. 应用与环境生物学报, 2010, **16** (5): 617-621 [Yu M, Wang WG, Wang SH, Chen F. Alleviative effect of exogenous citric acid on rice under copper toxicity [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2010, **16** (5): 617-621]

7 Bertin C, Yang X, Weston LA. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere [J]. *Plant Soil*, 2003, **256** (1): 67-83

8 张锡洲, 李延轩, 王永东. 植物生长环境与根系分泌物的关系[J]. 土壤通报, 2007, **38** (4): 785-789 [Zhang ZD, Li TX, Wang YD. Relationship between growth Environment and root exudates of plants: a review [J].

Chin Soil Sci, 2007, **38** (4): 785-789]

9 李稹, 黄娟, 姜磊, 徐文杰, 王其东, 陈曦. 人工湿地植物根系分泌物与根际微环境相关性的研究进展[J]. 安全与环境学报, 2012, **12** (5): 41-45 [Li Z, Huang J, Jiang L, Xu WJ, Wang QD, Chen X. Research advances in the relation between plant root exudates and rhizosphere micro-environment in the man-made wetlands [J]. *J Saf Environ*, 2012, **12** (5): 41-45]

10 游海林, 徐力刚, 姜加虎, 许加星, 邓建明, 王晓龙. 湿地植物根系生长动态及其环境响应性研究进展[J]. 长江流域资源与环境, 2013, **22** (S1): 52-58 [You HL, Xu LG, Jiang JH, Xu JX, Deng JM, Wang XL. Research progress of growth dynamics and environmental adaptability of roots of wetland plants [J]. *Resour Environ Yangtze Basin*, 2013, **22** (S1): 52-58]

11 卢豪良, 严重玲. 秋茄根系分泌低分子量有机酸及其对重金属生物有效性的影响[J]. 生态学报, 2007, **27** (10): 4173-4181 [Lu HL, Yan CL. Exudation of low-molecular-weight- organic-acids by *Kandelia candel* roots and implication on heavy metal bioavilability in mangrove sediments [J]. *Acta Ecol Sin*, 2007, **27** (10): 4173-4181]

12 阎飞, 杨振明, 韩丽梅. 植物化感作用及其作用物的研究方法[J]. 生态学报, 2000, **20** (4): 692-696 [Yan F, Yang ZM, Han LM. Review on research methods for allelopathy and allelochemicals in plants [J]. *Acta Ecol Sin*, 2000, **20** (4): 692-696]

13 郜红建, 常江, 张自立, 丁士明. 研究植物根系分泌物的方法[J]. 植物生理学通讯, 2003, **39** (1): 56-60 [Gao HJ, Chang J, Zhang ZL, Ding SM. Methods for investigating root exudates of plants [J]. *Plant Physiol J*, 2003, **39** (1): 56-60]

14 王占义, 潘宁, 罗茜, 沈宏. 一种新型根系分泌物收集装置与收集方法的介绍[J]. 土壤学报, 2010, 47 (4): 747-752 [Wang ZY, Pan N, Luo Q, Shen H. A new type of device and method for collecting plant root exudates [J]. *Acta Pedol Sin*, 2010, **47** (4): 747-752]

15 李汛, 段增强. 植物根系分泌物的研究方法[J]. 基因组学与应用生物学, 2013, **32** (4): 540-547 [Li X, Duan ZQ. Progress on the research methods for root exudates [J]. *Genom Appl Biol*, 2013, **32** (4): 540-547]

16 Lu HL, Yan C L, Liu JC. Low-molecular-weight organic acids exuded by Mangrove (*Kandelia candel* (L.) Druce) roots and their effect on cadmium species change in the rhizosphere [J]. *Environ Exp Bot*, 2007, **61**: 159-166

17 王文斌, 吴小平, 尹玉莲. 水培条件下橡胶树幼苗根系分泌物的GC-MS分析[J]. 热带作物学报, 2010, **31** (12): 2281-2286 [Wang WB, Wu XP, Yin YL. GC-MS analysis of rubber seedling root exudates with nutrient solution cultivation [J]. *Chin Trop Crops*, 2010, **31** (12): 2281-2286

18 Cawthray GR. An improved reversed-phase liquid chromatographic method for the analysis of low-molecular mass organic acids in plant root exudates [J]. *Chromatog A*, 2003, **1011** (1-2): 233-240

19 Mucha AP, Almeida CMR, Bordalo AA, Vasconcelos MTSD. LMWOA (low molecular weight organic acid) exudation by salt marsh plants: natural variation and response to Cu contamination [J]. *Estua Coastal Shelf Sci*, 2010, **88**: 63-67

20 Violante A, Gianfreda L. Competition in adsorption between phosphate and oxalate on an aluminum hydroxide montmorillonite complex [J]. *Soil Sci Soc Am J*, 1993, **57**: 1235-1241

21 章爱群, 贺立源, 赵会娥, 吴照辉, 郭再华, 李淑艳. 有机酸对不同磷源条件下土壤无机磷形态的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2009, **15** (4): 474-478 [Zhang AQ, He LY, Zhao HE, Wu ZH, Guo ZH, Li SY. Effect of organic acids on inorganic phosphorus transformation in soil with different phosphorus sources [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2009, **15** (4): 474-478]

22 Yoruk R, Marshall MR. A survey on the potential mode of inhibition for oxalic acid on polyphenol oxidase [J]. *J Food Sci*, 2003, **68** (8): 2479-2485

23 Malencic D, Vasic D, Popovic M, Devic D. Antioxidant systems in sunflower as affected by oxalic acid [J]. *Biol Plantarum*, 2004, **48** (2): 243-247

24 刘招龙, 张绍铃, 高富水. 外源水杨酸对梨叶片感染轮纹病菌后抗氧化酶活性及Ca^{2+}浓度的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2011, **17** (2): 215-218 [Liu ZL, Zhang SL, Gao FY. Effect of exogenous salicylic acid on antioxidant enzymes and Ca^{2+} density in pear leaves infected by *Physalosproa piricola* Nose [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2011, **17** (2): 215-218]

25 Huang QX, Liu Y, Zheng XW, Chen GQ. Phytoplankton community and the purification effect of mangrove in the mangrove plantation-aquaculture coupling systems in the Pearl River Estuary [J]. *Procedia Environ Sci*, 2012, **15**: 12-21

26 王仁君, 唐学玺, 孙俊华. 鼠尾藻提取物对亚历山大藻的化感效应[J]. 应用与环境生物学报, 2011, **17** (5): 694-699 [Wang RJ, Tang XX, Sun JH. Allelopathic effects of *Sargassum thunbergii* extracts on red tide microalga *Alexandrium tamarense* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2011, **17** (5): 694-699]

27 陈国元, 赵超. 共培养条件下菖蒲和铜绿微囊藻之间的化感作用[J]. 应用与环境生物学报, 2012, **18** (6): 1017-1021 [Chen GY, Zhao C. Mutual allelopathy of *Acorus calamus* and *Microcystis aeruginosa* in co-cultivation [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2012, **18** (6): 1017-1021]

28 Chen ZL, Yang WD, Liu JS, Xie J, Jiang TJ. Allelopathic effects of *Eichhornia crassipes* rootson *Alexandrium tamarense* [J]. *Acta Hydrob Sin*, 2005, **29** (3): 313-317

29 朱静平, 程凯. 3种水培植物根系分泌的有机酸对氮循环菌的影响[J]. 环境工程学报, 2011, **5** (9): 2139-2143 [Zhu JP, Chen K. Effect of organic acids exuded from hydroponic plants roots on nitrogen cycling bacteria [J]. *Chin J Environ Eng*, 2011, **5** (9): 2139-2143]

30 李春强, 刘志昕, 黎娟华, 廖文彬, 孙海彦, 赵平娟, 于晓玲, 彭明. 红树植物化感作用对中肋骨条藻生长的影响[J]. 热带作物学报, 2009, **30** (6): 862-867 [Li CQ, Liu ZX, Li JH, Liao WB, Sun HY, Zhao PJ, Yu XL, Peng M. Allelopathic effects of mangrove on the growth of *Skeletonema costatum* [J]. *Chin Trop Crops*, 2009, **30** (6): 862-867]