

棉籽壳中除草活性物质提取及鉴定

张城嘉^{1,2}, 李祖任^{1,2}, 柏连阳^{*,1,2}

(1. 湖南农业大学 植物保护学院, 长沙 410128; 2. 湖南省农业科学院 湖南省农业生物技术研究所
杂草生物学及安全防控湖南省重点实验室, 长沙 410125)

摘要: 为了开发利用棉籽壳中的除草活性物质, 分别以无水乙醇、正丁醇、石油醚和乙酸乙酯为溶剂, 采用索氏提取法对棉籽壳中的活性物质进行了提取, 并对各溶剂粗提物进行了除草活性测定。结果发现: 用无水乙醇提取的粗提物对稗草生长的抑制活性最高, 经气相色谱-质谱(GC-MS)联用分析, 发现该粗提物中主要含有甘油、三环己基 3-烯-6-辛酮、4-乙烯基-2-甲氧基苯酚、(邻甲基苯酚)-2-溴-2-氯-乙酯、十四酸、十四酸乙酯、十六烷酸、辛酸异戊酯和亚油酸 9 种化合物。进一步的除草活性测定结果表明, 亚油酸、辛酸异戊酯、4-乙烯基-2-甲氧基苯酚和(邻甲基苯酚)-2-溴-2-氯-乙酯 4 种化合物对稗草表现出一定的除草活性, 其中亚油酸活性最强, 其 IC_{50} 值为 14.5 mg/L。

关键词: 棉籽壳; 提取与鉴定; 除草活性; 稗草; 气相色谱-质谱联用; 亚油酸

中图分类号: S482.1 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2019)02-0146-05

Extraction and identification of herbicidal active substances in cottonseed hulls

ZHANG Chengjia^{1,2}, LI Zuren^{1,2}, BAI Lianyang^{*,1,2}

(1. College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Hunan Provincial Key Laboratory for Biology and Control of Weeds, Hunan Agricultural Biotechnology Research Institute, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410125, China)

Abstract: In order to investigate the potential application of the herbicidal active substances in the cottonseed hull, the herbicidal active substances of the cotton husk was extracted by Soxhlet extraction using anhydrous ethanol, *n*-butanol, petroleum ether and ethyl acetate were selected. The activities of the crude extracts were determined. It was found that anhydrous ethanol was the best solvent for the extraction of the active ingredients from cottonseed hull which could inhibit *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv.. Based on the gas chromatography-mass spectrography(GC-MS)analysis, 9 main compounds in the ethanol extract of cottonseed hull were detected, including glycerol, tricyclohexyl 3-ene-6-octanone, 4-vinyl-2-methoxyphenol, (*o*-methylphenol) 2-bromo-2-chloroacetyl ester, myristic acid, ethyl myristate, palmitic acid, isoamyl octanoate and linoleic acid. Further herbicidal activity assays showed that linolenic acid, isoamyl octanoate, 4-vinyl-2-methoxyphenol, and myristic acid were the main components in cottonseed hull extract with certain herbicidal activities. Linoleic acid has the highest

收稿日期: 2019-01-31; 录用日期: 2019-03-15.

基金项目: 国家自然科学基金(31801754); 湖南省自然科学基金(2018JJ3289).

作者简介: 张城嘉, 男, 硕士研究生, E-mail: 531464470@qq.com; *柏连阳, 通信作者 (Author for correspondence), 男, 教授, 主要从事杂草防控研究, E-mail: bailianyang2005@aliyun.com

inhibitory effect against *E. crusgalli*, with the IC_{50} value for the inhibition of the growth of *E. crusgalli* was 14.5 mg/L.

Keywords: cottonseed hull; extraction and identification; herbicidal activity; *Echinochloa crusgalli*; gas chromatography-mass spectrography; linoleic acid

从植物性材料中发现和挖掘具有除草活性的物质, 不仅是有效创制和研究新农药的热点与前沿, 也是对植物资源的合理开发与利用^[1-2]。目前已在 30 多种植物中发现了具有除草活性的近百种化合物, 主要是酚醌类、生物碱类、肉桂酸类、萜烯类及氨基酸类等, 有些已成功开发成为除草剂^[3-6]。棉籽壳是棉花加工过程中产生的副产品, 由于其密度小, 不易运输和储存, 加之外壳坚硬, 纤维含量少, 纤维短, 也不适合做造纸原料^[7], 因此被视为废弃物, 大部分以焚烧的形式被处理掉。目前, 棉籽壳作为资源利用的途径主要有食用菌的培养基底料、发酵生产饲用复合酶和草酸等^[8-10]。有关于棉籽壳中的化学成分及药理作用等目前还鲜见报道^[11-12]。从植物性农副产品中探索 and 开发植物源除草前导化合物, 不仅是为植物源除草剂的开发提供新资源, 也是“变废为宝”的一个可行途径。笔者前期初步研究发现, 棉籽壳乙醇粗提物具有一定的除草活性^[13], 为进一步明确其活性成分, 采用茎叶喷雾法, 测定了棉籽壳中分别以无水乙醇、正丁醇、石油醚和乙酸乙酯为溶剂进行索氏提取的粗提物对稗草生长的抑制活性; 利用气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用技术鉴定了无水乙醇粗提物中的化学成分, 并进一步测定了各化学成分的除草活性, 旨在为寻找棉籽壳中可能作为除草剂的先导化合物提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 试验材料 棉籽壳, 2017 年购于江苏徐州棉壳有限公司。供试稗草 *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. 种子 2017 年采自湖南省农业科学院高桥科研试验基地水稻田, 由杂草生物学及安全防护湖南省重点实验室保存并提供。

1.1.2 试剂 无水乙醇 (含量 $\geq 99.7\%$)、石油醚 (60~90 °C) 及乙酸乙酯、正丁醇、丙酮、二甲亚砜, 均为分析纯试剂, 国药集团化学试剂有限公司。甘油、三环己基-3-烯-6-辛酮、4-乙基-2-甲氧基苯酚、(邻甲基苯酚)-2-溴-2 氯-乙酰酯、十四

酸、十四酸乙酯、十六烷酸、辛酸异戊酯和亚油酸标准品, 均为分析纯, 购于麦克林公司。试验用水为蒸馏水。30% 氰氟草酯水乳剂安徽远景作物保护有限公司)。

1.1.3 主要仪器 SHB-III 型循环水式多用真空泵 (河南省豫华仪器有限公司); Agilent 7890A/5975C 气相色谱-质谱联用仪 (美国安捷伦公司); RE-300 旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 试验方法

1.2.1 棉籽壳中活性成分的提取 将棉籽壳粉碎后过 300 目 (孔径 0.048 mm) 筛。准确称取过筛后的棉籽壳 50 g, 装入纤维素抽取套管, 采用索氏提取法, 分别以 250 mL 无水乙醇、石油醚、乙酸乙酯和正丁醇为溶剂抽提 12 h。抽滤, 滤渣再用等体积的溶剂提取, 重复 3 次。合并滤液, 旋转蒸发至膏状, 得到粗提物。

1.2.2 粗提物的除草活性测定 参考文献 [14] 方法。分别称取各溶剂粗提物, 用丙酮溶解后加入吐温-80, 设置粗提物的质量浓度分别为 1、2、4、8 和 16 g/L (稀释后丙酮体积分数不高于 2%, 吐温-80 体积分数为 0.8%)。以稗草为试验对象, 采用茎叶喷雾法, 在稗草三叶期时施药。设空白对照, 3 次重复。将处理后的稗草置于温室 [温度 $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 32%, 光照度 12 000 lx, 光周期 12 h (白天)/12 h (晚上)] 中培养。7 d 后测定稗草鲜重, 计算稗草生长抑制率。

1.2.3 无水乙醇粗提物中化学成分的鉴定 将无水乙醇粗提物用丙酮稀释, 采用 GC-MS 进行化学成分分析。检测条件: Rxi-50 色谱柱 (30 m $\times$ 0.25 mm id, 0.25 μm df)。起始温度为 60 °C, 保持 2.0 min; 然后以 10.0 °C/min 升温到 240 °C, 保持 2.0 min; 再以 20.0 °C/min 升温到 280 °C, 保持 6.0 min。不分流进样, 进样量 1.0 μL ; 载气为高纯氮气, 流速为 1.0 mL/min; EI 离子源, 温度为 250 °C, 电子能量为 70 eV, 扫描范围为 33~500 质谱质量单位。

样品经 GC-MS 分析后, 对总离子流图中的各峰进行质谱扫描, 得到质谱图, 经 NIST05、

NIST05s 以及 WILEY7 质谱数据库进行计算机检索, 结合人工谱图解析、文献核对及与标准品相对照, 鉴定其中的化学成分^[15-16]。

1.2.4 无水乙醇粗提液中主要化学成分的除草活性测定 将各化合物标准品分别用丙酮溶解, 加入吐温-80, 用水稀释成质量浓度分别为 5、10、20、40 和 80 mg/L 的药液(稀释后丙酮的体积分数不高于 2%, 吐温-80 的体积分数为 0.8%), 按照 1.2.2 节的方法以氰氟草酯为对照药剂测定各化合物的除草活性, 其测试质量浓度分别为 0.5、1、2、4 和 8 mg/L。

表 1 不同溶剂粗提物对稗草的除草活性

Table 1 Herbicidal activities of the extracts obtained using four organic solvents against <i>Echinochloa crusgalli</i>				
粗提物 Extract	回归方程 Regression equation	IC ₅₀ 值 IC ₅₀ value/(g/L)	95% 置信限 95% Confidence limit/(g/L)	相关系数 Correlation coefficient, <i>r</i>
无水乙醇粗提物 Ethanol extract	$y = 4.231\ 4 + 1.450\ 2x$	3.38	2.88~3.97	0.990\ 0
正丁醇粗提物 <i>n</i> -Butanol extract	$y = 4.274\ 6 + 0.880\ 4x$	6.66	4.96~8.95	0.973\ 3
石油醚粗提物 Petroleum ether extract	$y = 3.884\ 2 + 0.699\ 8x$	39.3	26.1~59.2	0.989\ 6
乙酸乙酯粗提物 Ethyl acetate extract	$y = 4.048\ 3 + 0.735\ 6x$	19.7	13.1~29.5	0.982\ 2

2.2 无水乙醇粗提物中的化学成分

结合图 1 和表 2, 经 NIST05、NIST05s 及 WILEY7 质谱库检索, 并与其标准品对照后可知, 无水乙醇粗提物中主要含有 9 种化学成分, 分别为甘油、三环己基-3-烯-6-辛酮、4-乙烯基-2-甲氧基苯酚、(邻甲基苯酚)-2-溴-2 氯-乙酰酯、十四酸、十四酸乙酯、十六烷酸、辛酸异戊酯和亚油酸。

1.3 数据处理

试验数据采用 DPS 7.05 软件进行统计分析, 求出其毒力回归方程, 计算抑制中浓度 (IC₅₀)、95% 置信限及相关系数。

2 结果与分析

2.1 不同溶剂粗提物对稗草的除草活性

由不同溶剂粗提物对稗草的 IC₅₀ 值(表 1) 可以看出, 供试各溶剂粗提物对稗草的抑制活性由高到低为: 无水乙醇粗提物 > 正丁醇粗提物 > 乙酸乙酯粗提物 > 石油醚粗提物。

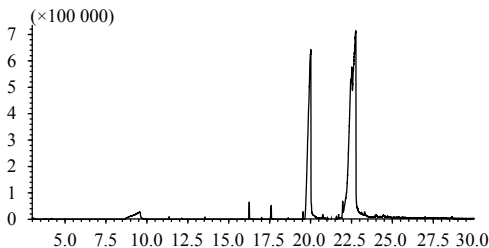


图 1 无水乙醇粗提物的气相色谱-质谱总离子流图

Fig. 1 The total ion chromatography of the ethanol extracts of cottonseed hulls from GC-MS chromatogram

表 2 棉籽壳无水乙醇粗提物主要化合物 GC-MS 联用鉴定结果

Table 2 Results of the GC-MS analysis of cottonseed hulls ethanol extracts					
峰号 Peaks	保留时间 Retention time/min	分子式 Molecular formula	相对分子质量 Molecular weight	相对含量(体积分数)/% Relative content(% <i>V</i>)	比对后化合物名称 Chemical compound after comparison
1	9.190	C ₃ H ₈ O ₃	92	1.77	甘油 glycerol
2	12.125	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	192	0.03	三环己基-3-烯-6-辛酮 tricyclohexyl 3-ene-6-octanone
3	13.545	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	0.05	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚 4-vinyl-2-methoxyphenol
4	16.246	C ₁₀ H ₈ BrClO ₃	290	0.15	(邻甲基苯酚)-2-溴-2 氯-乙酰酯 (<i>o</i> -methylphenol)-2-bromo-2-chloroacetyl ester
5	17.567	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	0.33	十四酸 tetradecanoic acid
6	19.531	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	0.07	十四酸乙酯 ethyl myristate
7	19.938	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	28.24	十六烷酸 hexadecanoic acid
8	20.731	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214	0.13	辛酸异戊酯 isoamyl octanate
9	22.675	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	69.23	亚油酸 linoleic acid

2.3 无水乙醇粗提物中主要化合物的除草活性

测定结果 (表 3) 表明: 甘油、三环己基-3-烯-6-辛酮、十四酸、十四酸乙酯和十六烷酸对稗草不具除草活性, 而亚油酸、辛酸异戊酯、4-乙烯

基-2-甲氧基苯酚和 (邻甲基苯酚)-2-溴-2 氯-乙 酰酯则表现出一定除草活性, 其中, 亚油酸的活性最好, IC₅₀ 值为 14.5 mg/L, 与对照药剂氰氟草酯的 IC₅₀ 值 (1.69 mg/L) 仅差一个数量级, 值得进一步研究。

表 3 无水乙醇粗提物中主要化合物对稗草的除草活性

化合物 Compound	回归方程 Regression equation	IC ₅₀ 值 IC ₅₀ value/(mg/L)	95% 置信限 95% Confidence limit/ (mg/L)	相关系数 Correlation coefficient, <i>r</i>
亚油酸 linoleic acid	$y = 3.269\ 6 + 1.491\ 5x$	14.5	12.9~16.2	0.995 5
辛酸异戊酯 isoamyl octanate	$y = 3.338\ 9 + 1.039\ 4x$	39.7	31.6~49.7	0.986 3
4-乙烯基-2-甲氧基苯酚 4-vinyl-2-methoxyphenol	$y = 3.378\ 9 + 0.900\ 5x$	63.1	46.1~86.5	0.983 4
(邻甲基苯酚)-2-溴-2氯-乙 酰酯 (<i>o</i> -methylphenol) -2-bromo-2-chloroacetyl ester	$y = 3.277\ 6 + 0.928\ 2x$	71.7	49.5~104	0.979 8
氰氟草酯 cyhalofop-butyl	$y = 4.686\ 6 + 1.371\ 7x$	1.69	1.51~1.89	0.995 2

3 讨论

从植物性农产品副产物中寻找除草化合物是新除草剂研究的一条重要途径, 又是资源再利用的新方法。在化学提取流程中, 选用何种溶剂能够最大限度地提取和分离出除草活性物质至关重要^[17]。本研究在前期工作的基础上, 选用了 4 种不同的有机溶剂对棉籽壳进行了提取, 并测定了各粗提物的除草活性。结果发现, 不同溶剂粗提物对稗草的抑制效果由高到低的顺序为: 无水乙醇粗提物 > 正丁醇粗提物 > 乙酸乙酯粗提物 > 石油醚粗提物。

采用 GC-MS 联用技术对棉籽壳无水乙醇粗提物的化学成分进行分析, 发现其中主要含有甘油、三环己基-3-烯-6-辛酮、4-乙烯基-2-甲氧基苯酚、(邻甲基苯酚)-2-溴-2 氯-乙 酰酯、十四酸、十四酸乙酯、十六烷酸、辛酸异戊酯和亚油酸等 9 种化合物, 主要为烃类衍生物、烃类、醇类、有机酸类以及酯类物质, 而这些成分大多已被前人从其他化感植物性材料中分析得到^[18-19]。

除草活性测定结果发现, 亚油酸对稗草的 IC₅₀ 值为 14.5 mg/L, 是 9 种主要成分中活性最强的化合物。亚油酸是一种 C₁₈ 的有机酸类化感物质, 有关其除草活性已有部分报道^[20]。Miyuki 等证实壬酸的除草作用与膜透性的改变和叶绿素从类囊体中移位所产生的自由基相关^[21]。李祖任等发现羊脂酸的除草机理可能与其抑制杂草的光合作用有关^[22]。张庭延等发现, 用亚油酸处理铜

绿微囊藻后, 铜绿微囊藻的叶绿素 a 含量下降, 细胞外液中电导率、OD₂₆₀ 值增加; 细胞 O₂⁻、MDA 产生量增多; SOD酶活力和比活力、谷胱甘肽-过氧化物酶 (GSH-Px) 酶活力在前 4 d 内应激性升高, SOD 同工酶的谱带在亚油酸浓度为 0.1 mg/L 时表达增强, 从而达到抑制铜绿微囊藻的生长^[23]。亚油酸抑制稗草的作用机制是否与膜透性的改变等有关, 以及亚油酸结构改造、剂型等除草剂产业化开发还有待进一步研究。

参考文献 (Reference):

[1] 滕春红, 陶波, 吕志超, 等. 植物源除草剂研究进展[J]. 农药, 2013, 52(9): 632-634.
TENG C H, TAO B, LYU Z C, et al. Review on research progress of botanical herbicides[J]. Agrochemicals, 2013, 52(9): 632-634.

[2] 单承莹, 马世宏, 张卫明. 我国植物源农药研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2011, 30(6): 14-18.
SHAN C Y, MA S H, ZHANG W M. Review on research and development of botanical pesticides in China[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2011, 30(6): 14-18.

[3] VYVYAN J R. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals[J]. Tetrahedron, 2002, 58(9): 1631-1646.

[4] JUN W, HUA S, CHEN H, et al. Allelochemicals extracted from *Eleocharis dulcis* and their inhibitory effects on *Microcystis aeruginosa*[J]. J Chem Eng Process Technol, 2018, 9(2).

[5] SAHA D, MARBLE S C, PEARSON B J. Allelopathic effects of common landscape and nursery mulch materials on weed control[J]. Front Plant Sci, 2018, 9: 733.

[6] 闫超, 陈敏, 周颖, 等. 石蝉草乙醇提取物除草活性初探[J]. 植物保护, 2018, 44(2): 199-203.
YAN C, CHEN M, ZHOU Y, et al. Herbicidal activity of the ethanol extracts from *Peperomia dindygulensis*[J]. Plant Prot, 2018, 44(2):

199-203.

[7] 郭全信. 把短纤维从棉籽壳中分离出的方法: CN1049201A[P/OL]. 1991-02-13. <http://www.pss-system.gov.cn/sipopublicsearch/patentsearch/showViewList-jumpToView.shtml>

GUO Q X. Method for separating short fibers from cottonseed hulls: CN1049201A[P/OL]. 1991-02-13. <http://www.pss-system.gov.cn/sipopublicsearch/patentsearch/showViewList-jumpToView.shtml>

[8] 韩美玲, 杜娟, 安琪, 等. 不同栽培基质对糙皮侧耳不同发酵方式下产漆酶活性的影响 [J]. 菌物学报, 2018, 37(8): 1100-1108.

HAN M L, DU J, AN Q, et al. Effects of different culture substrate on laccase activities of *Pleurotus ostreatus* under different fermentation conditions[J]. Mycosystema, 2018, 37(8): 1100-1108.

[9] 曾莹, 杨明, 曾灿伟, 等. 发酵棉籽壳生产饲用复合酶的初步研究 [J]. 中国油脂, 2007, 32(4): 62-64.

ZENG Y, YANG M, ZENG C W, et al. Production of feed compound enzymes from cottonseed husk by fermentation[J]. China Oils and Fats, 2007, 32(4): 62-64.

[10] 王俏. 棉籽壳水解-氧化-水解法制取草酸新工艺研究[J]. 中国油脂, 2004, 29(9): 31-33.

WANG Q. Preparation of oxalic acid from cottonseed hull by hydrolysis-oxidation-hydrolysis[J]. China Oils and Fats, 2004, 29(9): 31-33.

[11] 高为民. 棉籽壳与木糠不同配比栽培秀珍菇效益比较试验[J]. 现代农业科技, 2018(10): 54-55.

GAO W M. Comparative experiment on the benefits of different cultivation of cottonseed hulls and mudus[J]. Xiandai Nongye Keji, 2018(10): 54-55.

[12] RADCLIFFE J D, CZAJKA-NARINS D M, IMRHAN V. Fatty acid composition of serum, adipose tissue, and liver in rats fed diets containing corn oil or cottonseed oil[J]. Plant Foods Human Nutr, 2004, 59(2): 73-77.

[13] 张城嘉, 李祖任, 刘祥英. 15 种农副产物醇提物的除草活性生物测定 [J]. 湖南农业科学, 2018(6): 69-71.

ZHANG C J, LI Z R, LIU X Y. Herbicidal activities of 15 agricultural by-product ethanol extracts[J]. Hunan Agric Sci, 2018(6): 69-71.

[14] 郝双红, 魏艳, 张璟, 等. 中国粗榧枝叶提取物分离及其对反枝苋的除草活性 [J]. 农药学报, 2006, 8(1): 91-94.

HAO S H, WEI Y, ZHANG J, et al. Herbicidal activity of twig and needle extracts from *Cephalotaxus sinensis* against *Amaranthus retroflexus*[J]. Chin J Pestic Sci, 2006, 8(1): 91-94.

[15] CHOTSAENG N, LAOSINWATTANA C, CHAROENYING P. Herbicidal activities of some allelochemicals and their synergistic behaviors toward *Amaranthus tricolor* L[J]. Molecules, 2017, 22(11): E1841.

[16] KONG C H, ZHANG S Z, LI Y H, et al. Plant neighbor detection and allelochemical response are driven by root-secreted signaling chemicals[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 3867.

[17] BOONMEE S, KATO N H. Allelopathic activity of *Acacia concinna* pod extracts[J]. Emirates Journal of Food and Agriculture, 2017, 29(4): 250-255.

[18] 韩丽梅, 沈其荣, 鞠会艳, 等. 大豆地上部水浸液的化感作用及化感物质的鉴定 [J]. 生态学报, 2002, 22(9): 1425-1432.

HAN L M, SHEN Q R, JU H Y, et al. Allelopathy of the aqueous extracts of above ground parts of soybean and the identification of the allelochemicals[J]. Acta Ecologica Sinica, 2002, 22(9): 1425-1432.

[19] 唐成林, 罗夫来, 赵致, 等. 半夏植株腐解液对 8 种作物的化感作用及化感物质成分分析 [J]. 核农学报, 2018, 32(8): 1639-1648.

TANG C L, LUO F L, ZHAO Z, et al. The allelopathy of *Pinellia ternata* decomposed liquid on 8 crops and composition of allelochemicals[J]. J Nucl Agric Sci, 2018, 32(8): 1639-1648.

[20] 钱振官, 沈国辉, 李涛, 等. 植物源除草剂壬酸除草活性及其应用技术的研究 [J]. 上海农业学报, 2010, 26(2): 1-4.

QIAN Z G, SHEN G H, LI T, et al. Study on the herbicidal activity and applied technology of botanical pelargonic acid[J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2010, 26(2): 1-4.

[21] MIYUKI F, YASUKO T, TAKANE F, et al. Phytotoxic activity of middle-chain fatty acids I: effects on cell constituents[J]. Pest Biochem Physiol, 2004, 80(3): 143-150.

[22] 李祖任, 黄勤勤, 彭琼, 等. 植物源羊脂酸除草活性及其响应机制 [J]. 植物保护学报, 2018, 45(5): 1161-1167.

LI Z R, HUANG Q Q, PENG Q, et al. Herbicidal activity and response mechanism of botanical caprylic acid[J]. J Plant Prot, 2018, 45(5): 1161-1167.

[23] 张庭廷, 郑春艳, 何梅, 等. 亚油酸对铜绿微囊藻的抑制机理[J]. 中国环境科学, 2009, 29(4): 419-424.

ZHANG T T, ZHENG C Y, HE M, et al. The inhibitory mechanism of linoleic acid on *Microcystis aeruginosa*[J]. China Environ Sci, 2009, 29(4): 419-424.

(责任编辑: 金淑惠)