

刘玲, 洪婷婷, 胡倩男, 等. 微塑料与铅复合污染对水稻幼苗根系生长和氧化应激的影响[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(12): 2623–2633.

LIU L, HONG T T, HU Q N, et al. Effects of the combination of microplastics and lead pollution on growth and oxidative responses of rice seedlings' roots[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(12): 2623–2633.

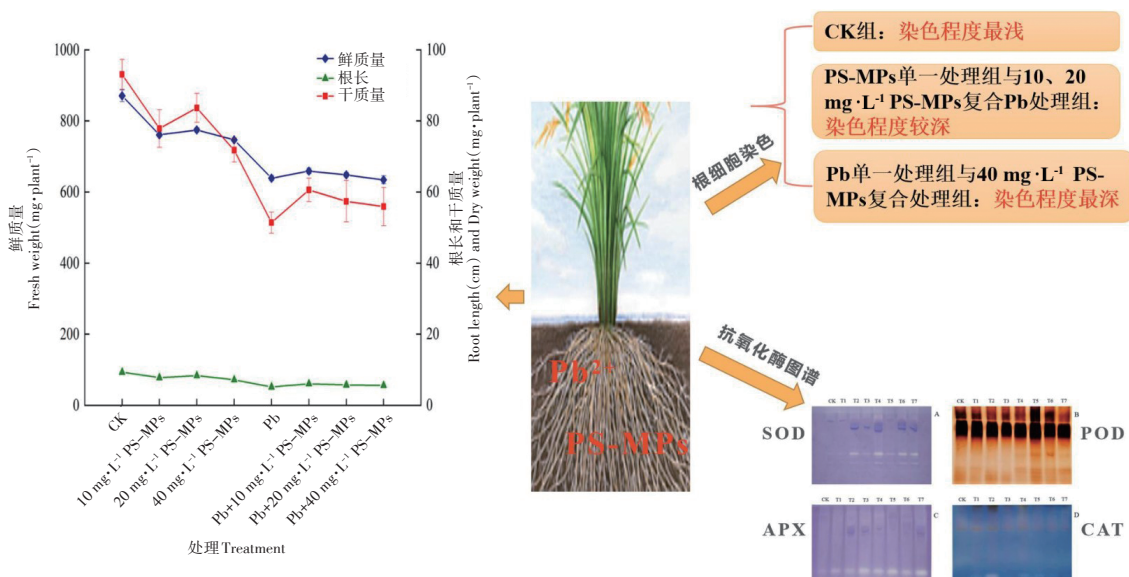


开放科学 OSID

微塑料与铅复合污染对水稻幼苗根系生长和氧化应激的影响

刘玲^{1,2}, 洪婷婷¹, 胡倩男¹, 谢瑞丽¹, 周颖¹, 王玲¹, 汪承润^{1*}

(1. 淮南师范学院生物工程学院, 安徽 淮南 232038; 2. 资源与环境生物技术安徽普通高校重点实验室, 安徽 淮南 232038)



摘要:为探讨聚苯乙烯微塑料(PS-MPs)、铅(Pb)及其复合污染对水稻幼苗根系生长和氧化应激的影响,研究了水稻幼苗分别暴露于10~40 mg·L⁻¹ PS-MPs、20 μmol·L⁻¹ Pb及其复合溶液后根长、根系生物量、氧化损伤、抗氧化酶活性和Pb含量的变化。结果表明,与空白对照比较,PS-MPs处理降低了水稻幼苗的鲜质量、干质量和根长,显著诱导了丙二醛(MDA)和超氧自由基(O₂[·])的产生以及根尖细胞坏死,还不同程度提高了根部超氧化物歧化酶(SOD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性。与Pb单一处理比较,10~20 mg·L⁻¹ PS-MPs+Pb减少了根部对Pb的吸收累积,增加了根长和鲜质量,降低了MDA和O₂[·]产物,减轻了根尖细胞的氧化损伤,而40 mg·L⁻¹ PS-MPs+Pb则增加了Pb含量,降低了根长和鲜质量,促进了MDA和O₂[·]的积累,并加剧了根尖细胞的坏死。另外,高浓度PS-MPs+Pb还降低了SOD和过氧化氢酶(CAT)活性,同时提高了愈创木酚过氧化物酶(POD)活性。研究表明,PS-MPs诱导了水稻幼苗根系的氧化损伤并抑制其生长;低浓度PS-MPs能够缓解Pb对水稻幼苗根系的氧化胁迫,而高浓度PS-MPs则可能与Pb产生了协同作用,加剧了Pb对水稻根系的氧化损伤。

关键词: 水稻; 聚苯乙烯微塑料; 铅; 氧化应激; 协同效应

中图分类号: X503.231

文献标志码: A

文章编号: 1672-2043(2021)12-2623-11

doi:10.11654/jaes.2021-0523

收稿日期: 2021-05-05 录用日期: 2021-08-06

作者简介: 刘玲(1967—), 女, 安徽淮南人, 博士, 副教授, 主要从事生态毒理和植物逆境生理研究。E-mail: 1103355742@qq.com

*通信作者: 汪承润 E-mail: chengrunwang@163.com

基金项目: 安徽省重大专项项目(18030701189)

Project supported: The Major Special Projects of Anhui Province, China(18030701189)

Effects of the combination of microplastics and lead pollution on growth and oxidative responses of rice seedlings' roots

LIU Ling^{1,2}, HONG Tingting¹, HU Qiannan¹, XIE Ruili¹, ZHOU Ying¹, WANG Ling¹, WANG Chengrun^{1*}

(1. School of Biological Engineering, Huainan Normal University, Huainan 232038, China; 2. Key Laboratory of Bioresource and Environmental Biotechnology of Anhui Higher Education Institutes, Huainan 232038, China)

Abstract: In order to investigate the effect of polystyrene microplastics (PS-MPs), lead (Pb), and their combination on the growth and oxidative responses of rice seedling roots, changes in root lengths, growth, oxidative damage, antioxidant enzyme activities, and Pb concentrations were examined in the roots of rice seedlings hydroponically cultured in 10~40 mg·L⁻¹ PS-MPs with 20 μmol·L⁻¹ Pb, and their combined solutions. The results showed that, in comparison to the control, the fresh weight, dry weight, and root length were decreased, whereas the products of malondialdehyde (MDA) and superoxide free radicals (O₂⁻·) and root tip necrosis were significantly increased under cultivation with PS-MPs. Meanwhile, the activities of superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) were differentially elevated in the roots following PS-MP treatment. Compared with Pb treatment alone, treatment with 10~20 mg·L⁻¹ PS-MPs+Pb resulted in a reduction of Pb accumulation, an increase in root length and fresh weight, and decrease in MDA and O₂⁻· products and alleviation of oxidative damage in the roots. However, 40 mg·L⁻¹ PS-MPs+Pb improved the Pb concentration, diminished the root length and fresh weight, and elevated MDA and O₂⁻· products and aggravated necrosis in the roots. Moreover, higher concentrations of PS-MPs, in combination with Pb, also led to a decline in SOD and catalase activities (CAT) but enhanced the guaiacol peroxidase (POD) activity in the roots. These results indicate that the tested PS-MPs cause oxidative stress and inhibit the growth of the rice seedling roots. PS-MPs at lower concentrations alleviate the Pb-induced oxidative stress, whereas at higher concentrations, it might produce a synergistic effect with Pb, thus aggravating the oxidative damage caused by Pb exposure in the roots of rice seedlings.

Keywords: rice; polystyrene microplastics; lead; oxidative response; synergistic effect

20世纪50年代以来,全球工业等领域实现了大规模生产,塑料产量迅速增加^[1]。然而,塑料再利用率低,多数被丢弃至环境中,因物理化学作用,较大塑料被降解成粒径小于5 mm的颗粒、碎片,形成微塑料(MPs)^[2]。近年来,MPs被认为是一种新型污染物^[3],其在海洋、河流、土壤等生态系统中皆已被发现^[4-6],MPs的大小^[7]、特性^[8]和丰度^[9]等已得到研究。据统计,大量的设施农业生产导致了土壤中MPs含量剧增,土壤生态系统中MPs已远超海洋^[10-11],MPs对土壤性质和土壤生物生长的影响引起了广泛关注。前人研究显示,MPs改变了农田的结构及性质,阻碍土壤中养分运输,进而对生物多样性产生一定负面影响^[12-14]。另外,由于MPs粒径小,易被滤食性动物^[15]、环节动物^[16-17]及鸟类^[18]误食,进一步通过食物链传递、富集到更高级生物体,引起机体器官堵塞或机械损伤及免疫系统功能受损甚至死亡^[19],影响动物的生长、繁殖等^[20],此外,MPs对植物也有一定损伤作用。LAGARDE等^[21]指出,MPs可与微藻、胞外多糖组成异质聚集体,推测这种异质聚集体是MPs垂直运输的重要途径,进而诱导微藻、衣藻毒性。SJOLLEMA等^[22]的研究表明,MPs可降低藻类的光合作用。MPs不仅对低等植物产生影响,当其对土壤功能产生扰动时,高等植物的生长生理特性可能也会随之受到影响。连加攀等^[23]的研究指出,MPs减少了小麦对营养元素

的吸收量,影响能量代谢的调节,降低了小麦的芽根生物量比。此外,李连祯等^[24]指出,MPs既可被植物根部吸收进入维管组织进而到达地上器官,又可通过土壤-植物系统对植物生长表现出毒性效应。JIANG等^[25]的研究显示,MPs在蚕豆根系中的大量积累很可能会阻止胞间连丝运输营养物质而对其造成氧化损伤。因此,MPs对农田生态系统中的生产者构成了潜在威胁。

农田土壤中的污染物除MPs外,还存在重金属等。Pb是当前土壤环境中污染情况较为严重的一类重金属,在以土壤为生存环境的部分农作物(蔬菜、茄子、小白菜)中含量超标^[26]。未处理的工业废水和污水处理厂的沉积物用于土壤灌溉、肥料可导致作物的生长环境中MPs大量存在^[27-28],所以Pb与MPs的共存不可避免。MPs具有高疏水性和较高的比表面积,易吸附有机及重金属污染物,已有大量研究证明MPs对Pb有吸附作用^[29-30],且不同浓度的MPs与Pb会产生协同或拮抗作用^[31]。目前,关于单一MPs在植物体内的迁移及其对植物生长、氧化应激的影响有一定的研究^[32-33],但是,不同浓度的MPs与重金属复合胁迫下作物生长及氧化应激能力变化的研究较少。因此,本研究利用主要粮食作物水稻作为供试材料,揭示其幼苗暴露于MPs单一或与Pb复合胁迫环境下生长生理特性的变化规律,并深入探究MPs与Pb产生效应的

机理,旨在为 MPs 生态风险评估提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试水稻为徽两优 9810,购于安徽荃银高科种业股份有限公司。聚苯乙烯荧光微球(Fluorescent polystyrene microspheres, PS-MPs)购自天津大鹅科技有限公司。用透射电子显微镜(TEM, Jeol 2100F, 日本 Jeol 公司)表征微塑料的形貌(图 1),粒径为 $(100\pm 4.47)\text{nm}$ 。

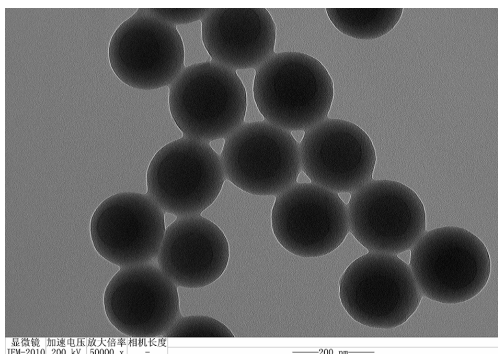


图 1 PS-MPs 的透射电镜(TEM)图

Figure 1 TEM image of PS-MPs

1.2 储备液制备

Pb^{2+} 母液:称量 $0.66\text{ g Pb}(\text{NO}_3)_2$,用去离子水溶解,定容至 100 mL ,制成 $20\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Pb 离子溶液。

PS-MPs 母液:量取 $10\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ PS-MPs 30 mL ,用适量的去离子水溶解,使用超声破碎仪(SCIENTZ JY92-II, 宁波新芝生物科技股份有限公司)振荡 3 min ,最后定容至 60 mL ,制成 $5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ PS-MPs 母液备用。

1.3 试验设计

选择大小均匀、无损伤、饱满的水稻种子,清水浸泡 24 h 后转移至恒温水浴锅($35\text{ }^\circ\text{C}$),待种子萌发后移至铺有潮湿纱布的托盘中,置于人工气候培养箱内(QHX-250 BS-III, 上海新苗医疗器械制造有限公司)培养,日温/夜温为 $30\text{ }^\circ\text{C}/25\text{ }^\circ\text{C}$,光照/黑暗为 $14\text{ h}/10\text{ h}$,相对湿度为 80% 。待幼苗长出 3 片真叶后,挑选长势良好且株高相近的植株定植于装有 $1/4$ Hoagland 营养液^[34]的培养盒($34.7\text{ cm}\times 24.8\text{ cm}\times 9.4\text{ cm}$),在人工气候室内进行处理和培养,日温/夜温为 $28\text{ }^\circ\text{C}/25\text{ }^\circ\text{C}$,光照/黑暗为 $15\text{ h}/9\text{ h}$,每盒 48 株。试验设置的 8 个处理:不添加 PS-MPs 和 Pb(CK)、 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PS-MPs(T1)、 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PS-MPs(T2)、 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PS-MPs(T3)、 $20\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Pb(T4)、 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PS-MPs+ 20

$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Pb(T5)、 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PS-MPs+ $20\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Pb(T6)、 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PS-MPs+ $20\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Pb(T7),每个处理重复 3 次。每周更换一次水稻处理液(优化 Hoagland 营养液+各处理试剂),每 2 d 用加氧泵通气,21 d 后测量各项生长生理指标。PS-MPs、Pb 浓度设定分别参照李连祯等^[24]、WANG 等^[34]的研究。

1.4 样品采集与处理

于每培养盒随机取出 10 株幼苗(每盒取样位置相同),用清水冲洗、擦干后剪去茎叶部分。

1.5 测定项目与方法

1.5.1 生长指标测定

用直尺(精确到 0.1 cm)测根长;运用分析天平(AX224ZH/E, 常州奥豪斯仪器有限公司,精确度为 0.001 g)测根鲜质量;将水稻根置于 $105\text{ }^\circ\text{C}$ 烘箱(上海福玛实验设备有限公司)中杀青 0.5 h 后在 $80\text{ }^\circ\text{C}$ 下烘干至恒质量,测干质量。

1.5.2 抗氧化酶活性测定

过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚比色法^[35]测定;超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法^[35]测定;抗坏血酸过氧化物酶(APX)和过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外吸收法^[36]测定。

1.5.3 抗氧化同工酶电泳图谱

利用聚丙烯酰胺凝胶技术进行电泳^[37],设置电泳仪(DYY-6D, 北京六一生物科技股份有限公司)的稳定电压为 135 V ,于冰浴中电泳 $3\sim 4\text{ h}$ 后,当指示染料下行至距胶板末端 $1\sim 2\text{ cm}$ 时停止电泳。采用氮蓝四唑法^[38]、乙酸-联苯胺法^[38]、淀粉法^[38]分别对 SOD、POD、CAT 泳带染色,APX 同工酶染色采用邵巍等^[39]的方法。

1.5.4 氧化损伤指标测定

丙二醛含量采用硫代巴比妥酸显色法^[40]测定;超氧自由基($\text{O}_2\cdot^-$)产生速率采用羟胺法^[41]测定;根细胞死亡检测采用伊文斯蓝染色法^[42],后用光学显微镜(OLYMPUS CX23, 奥林巴斯工业有限公司)观察并拍照。

1.5.5 样品消解和 Pb 含量测定

采用硝酸-高氯酸(4:1)消解水稻幼苗根系^[43]。利用石墨炉法检测(原子吸收光谱仪:novaAA 400P, 德国 Analytik Jen 公司),标准样为 GBW(E)080119,灰化、原子化温度分别为 300 、 $1400\text{ }^\circ\text{C}$ 。

1.6 数据处理

运用 Excel 2016、SPSS 17.0 软件进行数据统计和单因素方差分析,数据为平均值 $\pm$ 标准偏差,经 Duncan 法对各处理间的差异性进行多重比较,利用 Pho-

toshop 软件对同工酶图谱进行灰度分析。使用 Origin 2018 软件对统计结果做图。

2 结果与分析

2.1 PS-MPs 和 Pb 胁迫对水稻幼苗根系生长的影响

由表 1 可知,水稻幼苗经 10、20、40 mg·L⁻¹ PS-MPs 单一处理后,每株幼苗根系鲜质量、干质量显著低于对照,20 mg·L⁻¹ PS-MPs 处理幼苗的根长与对照差异较小($P>0.05$),40 mg·L⁻¹ PS-MPs 处理的 3 个生长指标皆是最低,表明 10~40 mg·L⁻¹ PS-MPs 对水稻幼苗的生长有一定的抑制作用,20 mg·L⁻¹ PS-MPs 抑制作用较低,而 40 mg·L⁻¹ PS-MPs 抑制作用最强。Pb 单一处理下,水稻幼苗鲜质量、干质量、根长较对照分别显著降低 26.6%、44.8%、36.7%;10、20 mg·L⁻¹ PS-MPs 复合 Pb 处理下,水稻幼苗根长与生物量(干质量与鲜质量)皆高于 Pb 单一处理,当 PS-MPs 质量浓度达 40 mg·L⁻¹ 时,鲜质量与根长低于 Pb 单一处理,可见低质量浓度(10、20 mg·L⁻¹)PS-MPs 减轻了 Pb 对水稻根系生长的抑制,高质量浓度 PS-MPs 则起到了加剧作用,产生低促高抑的现象。此外,PS-MPs 复合 Pb 处理生长指标均低于 PS-MPs 单一处理,表明 Pb 与 PS-MPs 的复合污染对水稻根系生长的抑制具有协同效应。

2.2 PS-MPs 和 Pb 胁迫对水稻幼苗根系 SOD、POD、APX、CAT 活性的影响

如图 2(A)所示,PS-MPs 单一处理水稻幼苗根系 SOD 活性均高于对照,并随着 PS-MPs 质量浓度的增加呈先上升后下降的趋势。10 mg·L⁻¹ PS-MPs 胁迫下,SOD 活性与对照处理接近,在 20 mg·L⁻¹ PS-MPs 处理水稻幼苗时,根系 SOD 活性显著增加,高达 7.3 U·mg⁻¹(以单位蛋白计,下同),是对照的 1.3 倍,而当

PS-MPs 质量浓度增加至 40 mg·L⁻¹ 时,酶活性又逐渐恢复至对照水平,说明 20 mg·L⁻¹ PS-MPs 较大程度提高了 SOD 活性;Pb 单一处理水稻幼苗根系 SOD 活性达到最大,为 8.3 U·mg⁻¹,是对照的 1.4 倍;PS-MPs 复合 Pb 各处理水稻根系 SOD 活性较 Pb 单一处理分别显著降低了 21.6%、9.1%、12.3%,可见二者复合污染中和了 Pb 单一污染所引起的 SOD 活性的增高,其中以低质量浓度(10 mg·L⁻¹)PS-MPs 最为显著。10、20 mg·L⁻¹ PS-MPs 复合处理与相应的 PS-MPs 单一处理相比无显著性差异,40 mg·L⁻¹ PS-MPs 复合处理 SOD 活性较该质量浓度 PS-MPs 单一处理则显著提高。

由图 2(B)可知,与对照相比,PS-MPs 单一处理 POD 活性整体下降,变化趋势与 SOD 活性相似,且各处理之间无显著差异;Pb 单一处理水稻幼苗根系 POD 活性降至最低,为 7.4 U·mg⁻¹,较对照显著降低 32.0%;10 mg·L⁻¹ PS-MPs 复合 Pb 处理使 POD 活性升至最高,为 11.4 U·mg⁻¹,是对照的 1.1 倍,与 10 mg·L⁻¹ PS-MPs 复合处理相比,20、40 mg·L⁻¹ PS-MPs 复合 Pb 处理抑制了水稻根系 POD 活性的升高,恢复至 Pb 单一处理水平。

图 2(C)表明,PS-MPs 单一处理 APX 活性呈先下降后上升的趋势,各质量浓度处理较对照相比均显著增高了 APX 活性,分别上升了 42.2%、23.1%、57.0%,且在 20 mg·L⁻¹ 时达到最低,为 9.3 U·mg⁻¹,是对照的 1.2 倍,40 mg·L⁻¹ 时达到最高,为 11.9 U·mg⁻¹,是对照的 1.6 倍;Pb 单一处理较对照显著提高了 42.2%;10、40 mg·L⁻¹ PS-MPs 复合处理 APX 活性较 Pb 单一处理分别显著上升 17.9%、28.4%,说明 10、40 mg·L⁻¹ PS-MPs 的存在升高了 APX 活性,而 20 mg·L⁻¹ PS-MPs 复合处理接近 Pb 单一处理水平。复合处理 APX 活性均高于对应的 PS-MPs 单一处理。

表 1 PS-MPs 和 Pb 单一及复合胁迫对水稻幼苗根系生长的影响

Table 1 Effects of PS-MPs single and combined with Pb on root growth of rice seedlings

处理 Treatment	鲜质量 Fresh weight/mg	干质量 Dry weight/mg	根长 Root length/cm
CK	871.2±16.5a	93.1±4.2a	14.7±0.9a
10 mg·L ⁻¹ PS-MPs	761.1±5.8bc	77.9±5.3bc	11.8±0.7cd
20 mg·L ⁻¹ PS-MPs	774.9±6.2b	83.7±4.1b	13.8±0.8ab
40 mg·L ⁻¹ PS-MPs	747.0±4.8c	71.8±3.4c	12.6±1.0bc
Pb	639.1±7.2e	51.4±3.0e	9.3±1.0ef
Pb+10 mg·L ⁻¹ PS-MPs	659.3±8.0d	60.6±3.3d	11.4±1.0cd
Pb+20 mg·L ⁻¹ PS-MPs	648.4±5.8de	57.4±5.8de	10.5±0.6de
Pb+40 mg·L ⁻¹ PS-MPs	634.3±11.1e	55.9±5.4de	8.2±1.0f

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Different lowercase letters in a column indicate significant differences among treatments ($P<0.05$). The same below.

图2(D)显示,10、20 mg·L⁻¹ PS-MPs单一处理的CAT活性分别较对照显著增高,20 mg·L⁻¹时达到最高,为25.0 U·mg⁻¹,是对照的2.2倍;Pb单一处理较对照显著增高84.8%;复合处理随PS-MPs质量浓度升高呈缓慢下降趋势,40 mg·L⁻¹ PS-MPs复合处理与Pb单一处理有显著差异,显示出高质量浓度PS-MPs抑制了Pb单一胁迫所引起的水稻根系CAT活性的升高,即高质量浓度PS-MPs和Pb的复合污染对CAT活性的影响也存在中和效应。

2.3 PS-MPs和Pb胁迫下水稻幼苗根系同工酶图谱及灰度分析

图3显示,4种抗氧化酶同工酶图谱在各处理下变化不尽相同。SOD同工酶图谱均显示3条酶带;POD同工酶图谱在单一Pb处理及复合处理中表达了3条酶带,其他处理只有2条酶带;APX同工酶图谱与CAT同工酶图谱均只出现了1条酶带。PS-MPs单一

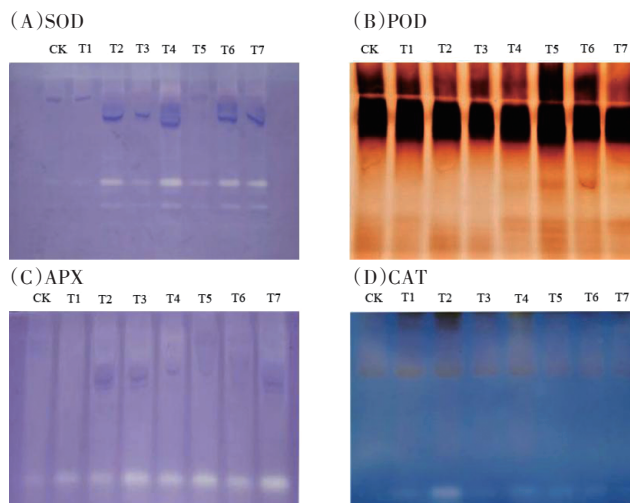
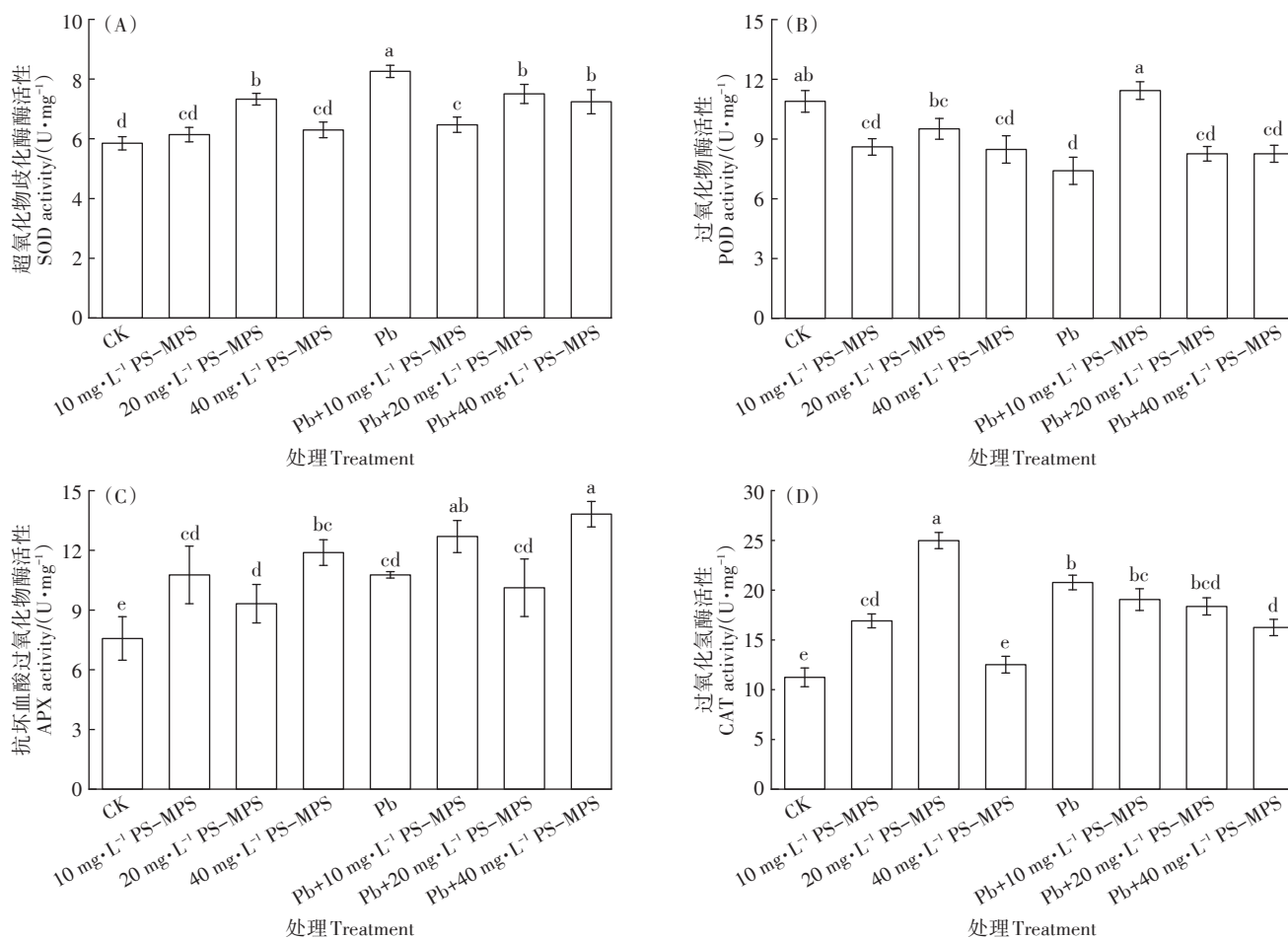


图3 根系SOD、POD、APX和CAT同工酶图谱

Figure 3 Isozyme patterns of SOD, POD, APX and CAT enzymes in root



不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同

Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P<0.05$). The same below

图2 根系SOD、POD、APX和CAT活性变化

Figure 2 Activities of SOD, POD, APX and CAT enzymes in root

处理较对照相比诱导了POD同工酶图谱带型光密度的减少、总灰度值的降低(图4);Pb单一及复合处理较对照处理均诱导了POD同工酶图谱带型数量的增多和带型光密度的变化。Pb单一处理的总灰度值降至最低;10 mg·L⁻¹ PS-MPs复合处理与Pb单一处理相比带型数量和带型光密度明显增加,且总灰度值升高,20、40 mg·L⁻¹ PS-MPs复合处理较对照诱导了带型光密度显著减少,总灰度值降低。各处理的同工酶带型光密度(图3)、同工酶图谱灰度分析(图4)与酶活性(图2)变化趋势基本一致。

2.4 PS-MPs和Pb胁迫对水稻幼苗根系氧化损伤的影响

如图5所示,3个PS-MPs单一处理水稻根系丙二醛含量与超氧自由基产生速率呈上升趋势,各处理MDA含量分别较对照显著增高26.0%、35.0%、41.2%,但处理间未达到显著水平,各处理超氧自由基产生速率分别较对照显著增高34.5%、41.9%、60.2%,表明水稻在PS-MPs单一胁迫下均受到严重损伤;Pb单一处理MDA含量与O₂·产生速率均升至

最高,为12.7 nmol·g⁻¹(以鲜质量计,下同)和5.7 nmol·min⁻¹·mg⁻¹,分别是对照的1.7、2.0倍;PS-MPs复合处理与Pb单一处理相比,MDA含量与O₂·产生速率有先降低再升高的趋势,复合处理中随着PS-MPs质量浓度增加,MDA含量与O₂·产生速率逐渐升高,至40 mg·L⁻¹时变化显著,分别达到13.2 nmol·g⁻¹、5.9 nmol·min⁻¹·mg⁻¹,是对照的1.8倍与2.1倍,超过Pb、PS-MPs单一处理水平,说明高质量浓度(40 mg·L⁻¹)PS-MPs复合Pb处理加重了水稻幼苗生活环境的胁迫程度,PS-MPs与Pb对幼苗根系损伤表现为协同性。

2.5 根细胞死亡检测

如图6所示,水稻幼苗根尖细胞染色在CK组最浅,细胞死亡较少,能够正常地进行细胞代谢活动。PS-MPs单一处理与10、20 mg·L⁻¹ PS-MPs复合Pb处理下幼苗根尖染色较深。Pb单一处理与40 mg·L⁻¹ PS-MPs复合处理下染色最深,即细胞死亡情况最为严重。而与Pb单一处理相比,PS-MPs与Pb联合处理水稻根尖染色由浅变深,可见,低质量浓度PS-MPs

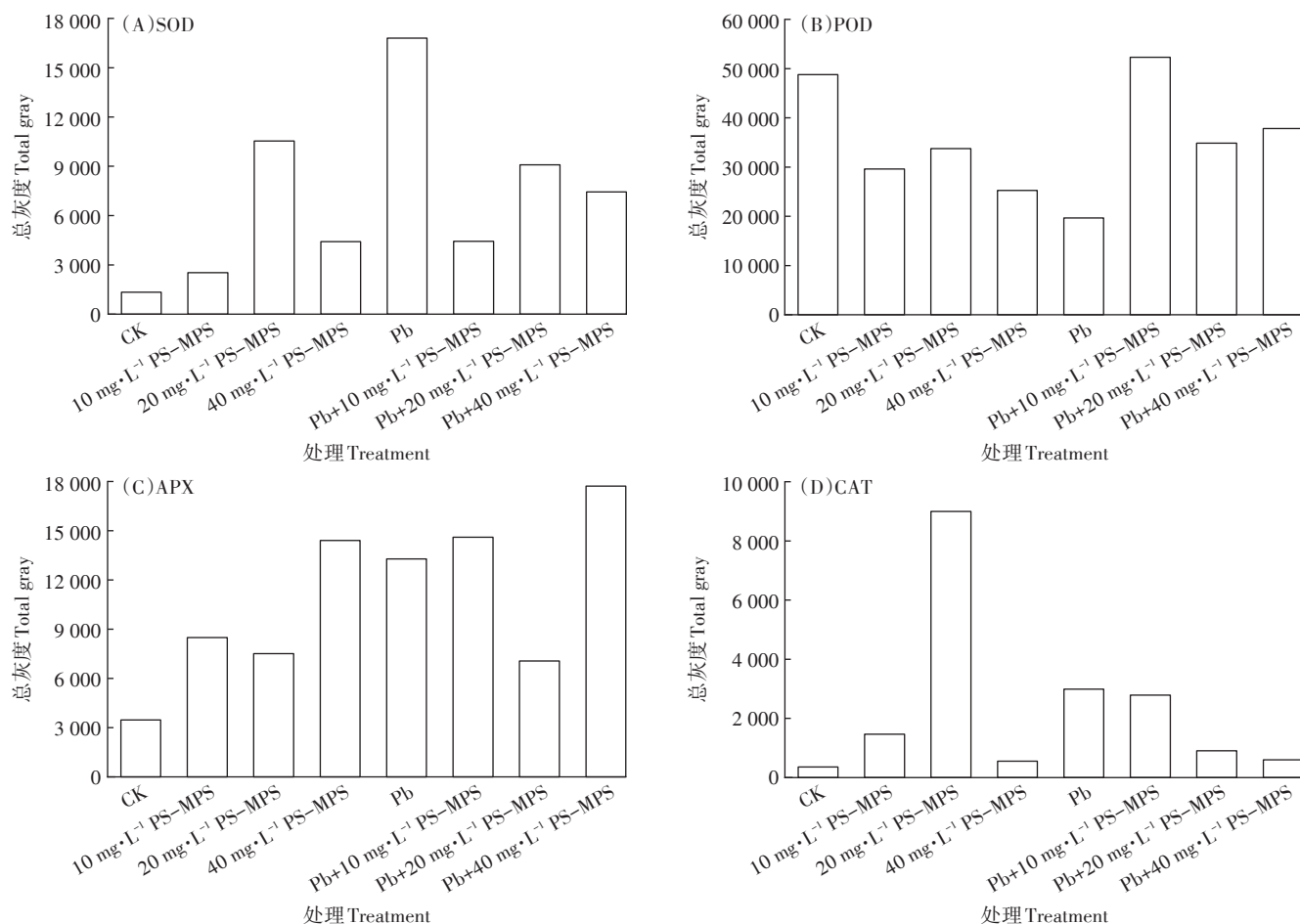


图4 根系SOD、POD、APX和CAT同工酶图谱灰度分析

Figure 4 Gray analysis of SOD, POD, APX and CAT isozyme pattern in root

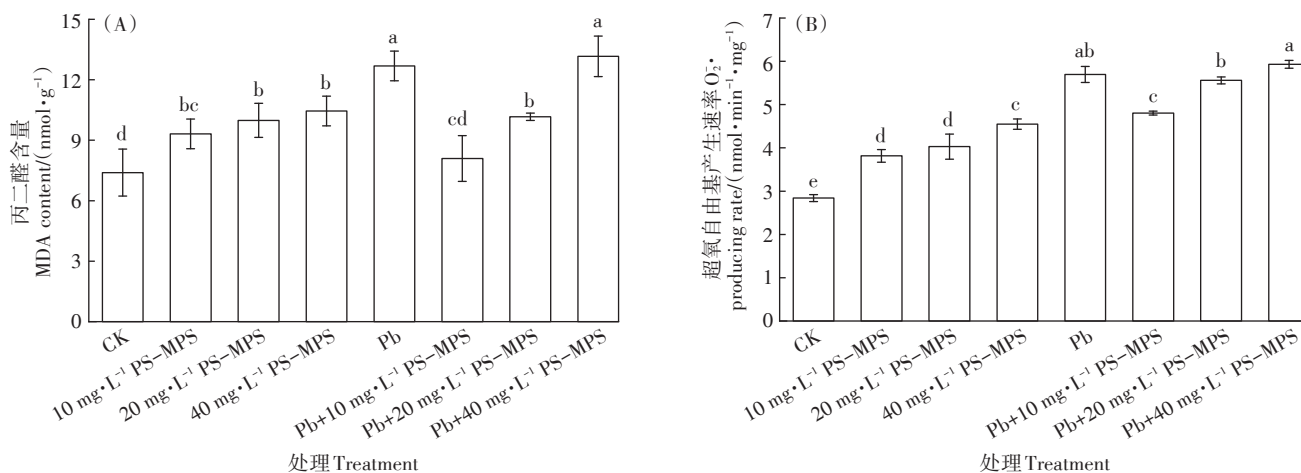


图5 MDA含量变化和超氧自由基产生速率

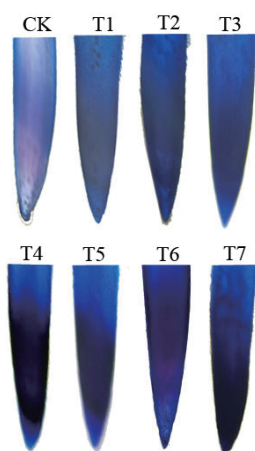
Figure 5 Changes of MDA contents and Changes of O₂^{·-} producing rate

图6 根细胞死亡染色

Figure 6 Cell death of root tip

减轻了Pb对水稻根系的损伤,高质量浓度的PS-MPs则加重了Pb对水稻根系的损伤。

2.6 PS-MPs和Pb胁迫对水稻幼苗根系Pb含量的影响

表2显示,PS-MPs复合Pb胁迫下,当PS-MPs质量浓度为10、20 mg·L⁻¹时,根中Pb含量均显著低于Pb处理,分别较Pb单一处理降低了23.2%、24.7%;在40 mg·L⁻¹ PS-MPs处理下,水稻根系的Pb含量增加到最大,为93.1 μg·g⁻¹,是Pb单一处理的1.1倍。可见,10、20 mg·L⁻¹ PS-MPs的存在降低了水稻根系中的Pb含量,而更高质量浓度(40 mg·L⁻¹)PS-MPs显著增加了Pb在水稻根系中的积累量。

3 讨论

3.1 PS-MPs和Pb胁迫对水稻根系生长的影响

已有研究表明MPs会对动物产生不可逆的生理

表2 PS-MPs复合Pb胁迫对水稻幼苗根系铅含量的影响

Table 2 Effects of PS-MPs combined with Pb on lead content in rice seedlings root

处理 Treatment	Pb 含量 Pb content/(μg·g ⁻¹)
CK	—
10 mg·L ⁻¹ PS-MPs	—
20 mg·L ⁻¹ PS-MPs	—
40 mg·L ⁻¹ PS-MPs	—
Pb	85.9±0.4b
Pb+10 mg·L ⁻¹ PS-MPs	66.0±2.7c
Pb+20 mg·L ⁻¹ PS-MPs	64.7±0.3c
Pb+40 mg·L ⁻¹ PS-MPs	93.1±2.5a

毒害,PAUL-PONT等^[44]指出其可直接诱导海洋贻贝组织、细胞和分子的毒性,影响动物体的生长繁殖。此外,MPs对植物的生长也有抑制作用。吴佳妮等^[45]研究了100 nm PS-NPs在0、50、100、200、500、1 000 mg·L⁻¹质量浓度梯度下对大豆幼苗生长的影响,发现在200 mg·L⁻¹时,其对幼苗产生的抑制作用最强,根系干质量较对照降低17.1%,根长降低20.0%。本研究使用的PS-MPs质量浓度(10、20、40 mg·L⁻¹)虽较低,但单一处理水稻幼苗后,也不同程度地抑制了水稻根系生长,表现为随着PS-MPs质量浓度的增高,根系干质量较对照分别降低了16.3%、10.1%、22.8%,根长分别降低了20.3%、6.7%、14.6%,且在中等浓度下(20 mg·L⁻¹)抑制作用最弱。推测MPs对植物生长的抑制效应除了与质量浓度有关^[46],还与其粒径、植物抗性等因素有关,尤其MPs粒径可能会影响生物体对MPs的吸收和吸附,小粒径(20、50 nm)的微塑料对植物生长影响更大,体现在微塑料对植物的附着力变

大和胞外聚合物的重排^[47]。水稻幼苗除了吸附 MPs, 也吸收重金属。水稻根部与 Pb 最先接触, 积累了较多 Pb 且不易转移, 成为对 Pb 污染最敏感部位^[48]。AKHTAR 等^[49]的研究显示, 高质量浓度 Pb (500 mg·L⁻¹) 胁迫对水稻根系生长具有明显的抑制作用, 其中根长、干质量及鲜质量较对照分别降低了 18.5%、21.1%、30.9%。

本研究发现在 20 μmol·L⁻¹ (4.1 mg·L⁻¹) Pb 处理下, 水稻 (徽两优 9810) 根系根长、干质量及鲜质量较对照均显著降低, 分别降低 26.6%、44.8%、36.7%, 表明 20 μmol·L⁻¹ Pb 较大程度地抑制了该水稻根系的生长, 推测是根部细胞被严重损伤^[50]。DONG 等^[51]的研究指出重金属与不同质量浓度的 PS-MPs 复合会对水稻产生不同的效应, 较低质量浓度 (40 mg·L⁻¹) PS-MPs 能有效减弱重金属对水稻生长的抑制, 从而较单一重金属处理促进了植物生长, 高质量浓度 (200 mg·L⁻¹) PS-MPs 则加重了重金属对水稻生长的毒害。本试验研究结果与前人结论基本一致, 10、20 mg·L⁻¹ PS-MPs 复合处理下水稻幼苗生长量高于单一 Pb 处理, 40 mg·L⁻¹ 下根长及鲜质量低于单一 Pb 处理, 表明低质量浓度 (10 mg·L⁻¹) PS-MPs 复合处理缓解了 Pb 对水稻幼苗根系生长的毒害, 高质量浓度 (40 mg·L⁻¹) PS-MPs 与 Pb 复合则加剧了毒害, 对水稻根系生长有明显的抑制作用, 主要可能是引起了细胞的氧化应激反应, 导致细胞内的 ROS 含量增加, 防御系统平衡被打破^[51]。

3.2 PS-MPs 和 Pb 胁迫对水稻根系氧化损伤的影响

植物在逆境胁迫下会通过各种途径产生超氧自由基 (O₂[·]), 其是活性氧 (ROS) 的一种形式, 有较强的氧化作用, 会引发植物一定的氧化损伤, 而丙二醛 (MDA) 含量与根细胞死亡在一定程度上会体现植物受损伤程度^[52]。本研究中所使用的 100 nm PS-MPs 较大程度地诱导了水稻根系 O₂[·] 的产生, 超出了机体清除 O₂[·] 的能力而导致膜脂过氧化严重, 表现出一定的氧化损伤作用, 表明植物经较小粒径 (100 nm) 的 PS-MPs 处理后会产较多活性氧。SJOLLEMA 等^[22]研究了 PS-MPs 对微藻的毒性效果, 指出 PS-MPs 对植物的毒性与其粒径和质量浓度密切相关, 粒径越小、质量浓度越高, 对植物的氧化损伤及毒性可能越强。BHATTACHARYA 等^[53]也指出纳米塑料吸附在微藻 (小球藻和球藻) 上会对光合作用产生负干扰, 并诱导 ROS 的产生。随着 PS-MPs 质量浓度增大, MDA 含量与 O₂[·] 产生速率均呈上升趋势, 这与吴艳梅^[54]对

微藻对 MPs 胁迫响应的研究结果相似, 即低质量浓度 (0~10 mg·L⁻¹) MPs 对 MDA 含量和 ROS 水平影响较小, 高质量浓度 (10~500 mg·L⁻¹) MPs 可显著增高 MDA 含量和 ROS 水平。可能是由于在高质量浓度处理下, 植物受到损伤过重, 不能被体内抗氧化酶完全中和。在 Pb 对水稻胁迫的研究中发现, Pb 含量在水稻植株的分布情况为: 根 > 叶 > 茎^[55], 笔者发现 Pb 处理较对照明显增加了根系中 MDA 含量并且加剧了根细胞死亡程度, 推测 Pb 毒性与 MDA 含量有相关性。ASHRAF 等^[56]发现水稻根系中 MDA 含量与 Pb 毒性呈显著或极显著正相关关系。DONG 等^[51]在探究 PS-MPs 与 As 复合对水稻根系的影响时, 表明 As 会对水稻根系造成严重的氧化损伤, 且低质量浓度 (40 mg·L⁻¹) PS-MPs 可减弱 As 对水稻根系的氧化损伤, 高质量浓度 (200 mg·L⁻¹) PS-MPs 则加强 As 对水稻根系的氧化损伤效应。本试验结果显示低质量浓度 (10 mg·L⁻¹) PS-MPs 可减轻 Pb 对水稻根系的氧化损伤, 即低质量浓度 PS-MPs 复合 Pb 处理的 MDA 含量、ROS 水平及水稻根系中 Pb 含量较 Pb 单一处理显著下降, 可能是由于低质量浓度 PS-MPs 与 Pb 在水稻根部上存在着竞争吸附关系, 导致 Pb 含量降低, 此时 ROS 作为植物体内一类重要信号分子, 参与调节植物的生长发育和逆境胁迫响应, 来减轻重金属对水稻根系的损伤^[51]; 相反, 高质量浓度 (40 mg·L⁻¹) PS-MPs 则增多了 Pb 在水稻根系中的积累量, 加重了损伤作用, 根细胞死亡染色明显加深, 更高质量浓度的 PS-MPs 的存在可能会增加重金属的可交换性, 并降低重金属的土壤保留率, 即减弱了“稀释效应”^[57], 且高质量浓度 PS-MPs 总的比表面积增大, 从而吸附并携带更多的重金属, 通过质外体途径输送到组织中, 出现大量的重金属积累, 超出细胞自修复能力, 过多的 ROS 则会对细胞产生毒害作用^[58]。

3.3 PS-MPs 和 Pb 胁迫对水稻根系抗氧化酶活性的影响

植物可通过体内的几种抗氧化酶活性来应对外界胁迫, 多种抗氧化酶通过协同作用使植物体内的自由基含量保持动态平衡的状态, 防止自由基过多对植物生长生理造成损伤, 从而缓解外界环境对植物的毒害效应, 但是当胁迫下 ROS 过量积累时会通过破坏抗氧化酶的表达系统和结构, 造成酶活性降低^[59-60]。ZHAO 等^[61]测定了水稻、大豆等作物在应对胁迫时的各项生理指标, 发现抗氧化酶活性等参数比其他生理指标 (如色素和总蛋白含量) 更敏感, 能作为有效检测

植物对胁迫响应的指标。本试验中单一PS-MPs处理除POD活性低于对照以外,其他酶活性均整体高于对照,说明水稻对胁迫有一定的耐受性,各PS-MPs处理下酶活性的短暂升高是机体为避免外界胁迫而产生的调节反应,酶活性降低则表示ROS大量消耗了抗氧化酶,且ROS积累超出酶调节能力的阈值^[62]。在低质量浓度($10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)PS-MPs胁迫条件下,水稻通过SOD、APX、CAT活性增加来中和产生的ROS,使机体免受MPs的毒害。张晨等^[63]探究PS-MPs对黑藻酶活性的影响时也发现,在低质量浓度($5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)PS-MPs胁迫条件下,黑藻会通过增高酶活性来使其生理生化作用免受PS-MPs的影响。而廖苑辰等^[62]研究了PS-MPs($0\sim 100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)处理小麦后抗氧化酶活性的变化,其中SOD活性始终低于对照,CAT活性呈先降低后升高的趋势,这与本研究结果不太一致,可能是植物种类与PS-MPs处理浓度不同所导致的^[64]。本试验测定的SOD、CAT、APX活性在单一Pb胁迫时较对照均显著增高,而POD活性较对照低。ASHRAF等^[56]在研究Pb胁迫对水稻生理影响时也发现水稻通过改变SOD、CAT、APX、POD活性来抵抗Pb胁迫。苑文珂^[31]研究重金属在大型溞体内的积累量的结果显示低质量浓度($0.01\sim 10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)PS-MPs能够减少重金属在大型溞体内的积累量,而高质量浓度($10\sim 1\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)PS-MPs导致重金属在大型溞体内较大幅度的积累,随着MPs质量浓度的增加,重金属和MPs的复合效应从拮抗作用转变为加成作用,显示低促高抑的效应。WANG等^[65]也表明一定质量浓度($1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的MPs与Pb的结合对微囊藻会显示协同作用。本研究中,低质量浓度($10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)PS-MPs复合Pb处理下4种酶表现不尽相同,其SOD、CAT活性较Pb处理降低,可能是由于低质量浓度PS-MPs减缓了水稻根系对Pb的吸收而减轻毒害,使SOD、CAT活性降低,而POD、APX活性升高可能是在过量消耗后因损伤减轻而逐渐恢复其活性。高质量浓度($40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)PS-MPs复合处理较低质量浓度复合处理相比有更大的危害,表现在酶活性显著上升或抗氧化酶遭到损伤而导致活性大幅下降。推测可能是由于高质量浓度PS-MPs吸附、运载大量Pb到水稻体内而造成重金属在水稻体内的大量积累^[31]。

4 结论

(1)PS-MPs或Pb单一污染对水稻根系生长、氧化应激均显示一定的危害性,且PS-MPs的质量浓度

与水稻根系的损伤有相关性。

(2) $20\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Pb对水稻根系生长、丙二醛和超氧自由基的产生及对POD、SOD活性的抑制作用均强于单一PS-MPs胁迫。

(3)低质量浓度PS-MPs($10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的存在占据Pb在根部的吸附位点进而减轻了Pb对水稻根系的毒性效应,表现为拮抗作用;高质量浓度PS-MPs($40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)将更多的重金属运输到水稻体内组织并积累而产生协同作用。

参考文献:

- [1] LIU Z Q, YU P, CAI M Q, et al. Polystyrene nanoplastic exposure induces immobilization, reproduction, and stress defense in the freshwater cladoceran *Daphnia pulex*[J]. *Chemosphere*, 2019, 215: 74–81.
- [2] LAW K L, THOMPSON R C. Oceans microplastics in the seas[J]. *Science*, 2014, 345(6193): 144–145.
- [3] DE SOUZA MACHADO A A, LAU C W, TILL J, et al. Impacts of microplastics on the soil biophysical environment[J]. *Environmental science & Technology*, 2018, 52(17): 9656–9665.
- [4] YANG H R, CHEN G L, WANG J. Microplastics in the marine environment: Sources, fates, impacts and microbial degradation[J]. *Toxics*, 2021, 9(2): 41–60.
- [5] ALIMI O S, FARNER BUDARZ J, HERNANDEZ L M, et al. Microplastics and nanoplastics in aquatic environments: Aggregation, deposition, and enhanced contaminant transport[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52: 1704–1724.
- [6] GUO J J, HUANG X P, XIANG L, et al. Source, migration and toxicology of microplastics in soil[J]. *Environment International*, 2020, 137: 105263.
- [7] LEE K W, SHIM W J, KWON O Y, et al. Size-dependent effects of micro polystyrene particles in the marine copepod *Tigriopus japonicus*[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(19): 11278–11283.
- [8] WANG J D, TAN Z, PENG J P, et al. The behaviors of microplastics in the marine environment[J]. *Marine Environmental Research*, 2016, 113: 7–17.
- [9] ZHANG G S, LIU Y F. The distribution of microplastics in soil aggregate fractions in southwestern China[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 642: 12–20.
- [10] DE SOUZA MACHADO A A, KLOAS W, ZARFL C, et al. Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems[J]. *Global Change Biology*, 2018, 24(4): 1405–1416.
- [11] BLÄSING M, AMELUNG W. Plastics in soil: Analytical methods and possible sources[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 612: 422–435.
- [12] LV W W, ZHOU W Z, LU S B, et al. Microplastic pollution in rice-fish co-culture system: A report of three farmland stations in Shanghai China[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 652: 1209–1218.
- [13] ZHU D, CHEN Q L, AN X L, et al. Exposure of soil collembolans to microplastics perturbs their gut microbiota and alters their isotopic composition[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2018, 124: 277–278.

- [14] ZHOU B Y, WANG J Q, ZHANG H B, et al. Microplastics in agricultural soils on the coastal plain of Hangzhou Bay, East China: Multiple sources other than plastic mulching film[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 388: 121814.
- [15] SADLER D E, BRUNNER F S, PLAISTOW S J. Temperature and clone-dependent effects of microplastics on immunity and life history in *Daphnia magna*[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 255: 113178–113187.
- [16] RODRIGUEZ-SELJO A, LOURENÇO J, Rocha-Santos T A P, et al. Histopathological and molecular effects of microplastics in *Eisenia andrei* Bouché[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 220: 495–503.
- [17] HUERTA LWANGA E, GERTSEN H, GOOREN H, et al. Microplastics in the terrestrial ecosystem: Implications for *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta, Lumbricidae)[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50: 2685–2691.
- [18] HUERTA LWANGA E, MENDOZA VEGA J, KU QUEJ V, et al. Field evidence for transfer of plastic debris along a terrestrial food chain[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 14071–14077.
- [19] 杨光蓉, 陈历睿, 林敦梅. 土壤微塑料污染现状、来源、环境命运及生态效应[J]. *中国环境科学*, 2021, 41(1): 353–365. YANG G R, CHEN L R, LIN D M. Status, sources, environmental fate and ecological consequences of microplastic pollution in soil[J]. *China Environmental Science*, 2021, 41(1): 353–365.
- [20] CHAE Y, KIM D, KIM S W, et al. Trophic transfer and individual impact of nano-sized polystyrene in a four-species freshwater food chain[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 1–11.
- [21] LAGARDE F, OLIVIER O, ZANELLA M, et al. Microplastic interactions with freshwater microalgae: Hetero-aggregation and changes in plastic density appear strongly dependent on polymer type[J]. *Environmental Pollution*, 2016, 215: 331–339.
- [22] SJOLLEMA S B, REDONDO-HASSELERHAR P, LESLIE H A, et al. Do plastic particles affect microalgal photosynthesis and growth? [J]. *Aquatic Toxicology*, 2016, 170: 259–261.
- [23] 连加攀, 沈玫玫, 刘维涛. 微塑料对小麦种子发芽及幼苗生长的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2019, 38(4): 737–745. LIAN J P, SHEN M M, LIU W T. Effects of microplastics on wheat seed germination and seedling growth[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(4): 737–745.
- [24] 李连祯, 周倩, 尹娜, 等. 食用蔬菜能吸收和积累微塑料[J]. *科学通报*, 2019, 64(9): 928–934. LI L Z, ZHOU Q, YIN N, et al. Uptake and accumulation of microplastics in an edible plant[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2019, 64(9): 928–934.
- [25] JIANG X F, CHEN H, LIAO Y C, et al. Ecotoxicity and genotoxicity of polystyrene microplastics on higher plant *Vicia faba*[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 250: 831–838.
- [26] 曹春, 张松, 张鹏, 等. 大宝山污灌区土壤-蔬菜系统重金属污染现状及其风险评估[J]. *农业环境科学学报*, 2020, 39(7): 1521–1531. CAO C, ZHANG S, ZHANG P, et al. Heavy metal contamination in soil-vegetable system and its healthy risks in an area irrigated with acid mine drainage in Dabaoshan, Guangdong, China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(7): 1521–1531.
- [27] NIZZETTO L, FUTTER M, LANGAAS S. Are agricultural soils dumps for microplastics of urban origin? [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50: 10777–10779.
- [28] WEITHMANN N, MÖLLER J N, LÖDER M G L, et al. Organic fertilizer as a vehicle for the entry of microplastic into the environment[J]. *Science Advances*, 2018, 4(4): 8060.
- [29] MASSOS A, TURNER A. Cadmium, lead and bromine in beached microplastics[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 227: 139–145.
- [30] 高丰蕾, 李景喜, 孙承君, 等. 微塑料富集金属铅元素的能力与特征分析[J]. *分析测试学报*, 2017, 36(8): 1018–1022. GAO F L, LI J X, SUN C J, et al. Analysis on ability and characteristics of microplastics to enrich metal lead[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2017, 36(8): 1018–1022.
- [31] 苑文珂. 聚苯乙烯微/纳米塑料对重金属的吸附行为及其对两种典型水生生物的生态毒性研究[D]. 北京: 中国科学院大学(中国科学院武汉植物园), 2020: 78–80. YUAN W K. Study on the adsorption behaviors of micro/nano-plastics for heavy metals and their ecotoxicity toward two typical aquatic[D]. Beijing: Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, 2020: 78–80.
- [32] NG E L, HUERTA LWANGA E, ELDRIDGE S M, et al. An overview of microplastic and nanoplastic pollution in agroecosystems[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 627: 1377–1388.
- [33] LIAN J P, WU J N, XIONG H X, et al. Impact of polystyrene nanoparticles (PSNPs) on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 385: 121620.
- [34] WANG C R, LIU H T, CHEN J Y, et al. Carboxylated multi-walled carbon nanotubes aggravated biochemical and subcellular damages in leaves of broad bean (*Vicia faba* L.) seedlings under combined stress of lead and cadmium[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 274: 404–412.
- [35] YOUNG T E, GALLIE D R, DEMASON D A. Ethylene-mediated programmed cell death during maize endosperm development of wild-type and Shrunken2 genotypes[J]. *Plant Physiology*, 1997, 115(2): 737–751.
- [36] GARCÍA-LIMONES C, HERVÁS A, NAVAS-CORTÉS J A, et al. Induction of an antioxidant enzyme system and other oxidative stress markers associated with compatible and incompatible interactions between chickpea (*Cicer arietinum* L.) and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2002, 61(6): 325–337.
- [37] 韩厅, 辛夏青, 魏小红. 外源 NO 对 PEG 胁迫下苜蓿幼苗抗氧化酶及同工酶的影响[J]. *分子植物育种*, 2019, 17(10): 3399–3405. HAN T, XIN X Q, WEI X H. Effects of exogenous NO on antioxidant enzymes and isozymes in alfalfa seedlings under PEG stress[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17(10): 3399–3405.
- [38] 张丽萍. 重金属胁迫对大麦 (*Hordeum vulgare*) 部分生理生化指标的影响[D]. 太原: 山西大学, 2005: 35–39. ZHANG L P. Effects of heavy metal stress on physiological and biochemical indexes in *Hordeum vulgare*[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2005: 35–39.
- [39] 邵巍, 赖钟雄, 赖呈纯, 等. 龙眼胚性培养物 APX 同工酶的分析方法建立及其在龙眼体胚发生过程中的变化[J]. *福建农林大学学报 (自然科学版)*, 2008, 37(2): 140–144. SHAO W, LAI Z X, LAI C C, et al. A method for analyzing APX isozymes from embryogenic cultures by polyacrylamide gelelectrophoresis and the changes of APX

- isozymes at the stages of somatic embryogenesis in longan[J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2008, 37(2):140-144.
- [40] TANG L L, CAI H, JI W, et al. Overexpression of GsZFP1 enhances salt and drought tolerance in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, 71:22-30.
- [41] 李小方, 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 五版. 北京:高等教育出版社, 2016:208-209. LI X F, ZHANG Z L. Experimental guidance of plant physiology[M]. 5th Edition. Beijing: Higher Education Press, 2016:208-209.
- [42] HUNG W C, HUANG D D, CHIEN P S, et al. Protein tyrosine dephosphorylation during copper-induced cell death in rice roots[J]. *Chemosphere*, 2007, 69(1):55-62.
- [43] 周劲松, 闫平, 张伟明, 等. 生物炭对水稻苗期生长、养分吸收及土壤矿质元素含量的影响[J]. 生态学杂志, 2016, 35(11):2952-2959. ZHOU J S, YAN P, ZHANG W M, et al. Effects of biochar on seedlings growth, nutrient absorption of japonica rice and mineral element contents of substrate soil[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2016, 35(11):2952-2959.
- [44] PAUL-PONT I, LACROIX C, GONZÁLEZ FERNÁNDEZ C, et al. Exposure of marine mussels *Mytilus* spp. to polystyrene microplastics: Toxicity and influence on fluoranthene bioaccumulation[J]. *Environmental Pollution*, 2016, 216:724-737.
- [45] 吴佳妮, 杨天志, 连加攀, 等. 聚苯乙烯纳米塑料(PSNPs)对大豆 (*Glycine max*) 种子发芽和幼苗生长的影响[J]. 环境科学学报, 2020, 40(12):4581-4589. WU J N, YANG T Z, LIAN J P, et al. Effects of polystyrene nanoplastics (PSNPs) on seed germination and seedling growth of soybean (*Glycine max*) [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2020, 40(12):4581-4589.
- [46] DONG Y M, GAO M L, QIU W W, et al. Effect of microplastics and arsenic on nutrients and microorganisms in rice rhizosphere soil[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 211:111899.
- [47] HAZEEM L J, YESILAY G, BOUODINA M, et al. Investigation of the toxic effects of different polystyrene micro- and nanoplastics on microalgae *Chlorella vulgaris* by analysis of cell viability, pigment content, oxidative stress and ultrastructural changes[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2020, 156:111278.
- [48] 王颖, 王春霞, 黄一格, 等. 重金属 Pb, Cd 胁迫对水稻生长特性的影响[J]. 吉林建筑大学学报, 2018, 35(6):61-64. WANG Y, WANG C X, HUANG Y G, et al. Effects of heavy metals Pb and Cd stress on the growth characteristics of rice[J]. *Journal of Jilin Jianzhu University*, 2018, 35(6):61-64.
- [49] AKHTAR N, KHAN S, MALOOK I, et al. Pb-induced changes in roots of two cultivated rice cultivars grown in lead-contaminated soil mediated by smoke[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24:21298-21310.
- [50] ASHRAF U, HUSSAIN S, ANJUN S A, et al. Alterations in growth, oxidative damage, and metal uptake of five aromatic rice cultivars under lead toxicity[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2017, 115:461-471.
- [51] DONG Y M, GAO M L, SONG Z G, et al. Microplastic particles increase arsenic toxicity to rice seedlings[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 259:113892.
- [52] AMADO L L, MONSERRAT J M. Oxidative stress generation by microcystins in aquatic animals: Why and how[J]. *Environment International*, 2010, 36(2):226-235.
- [53] BHATTACHARYA P, LIN S J, TURNER J P, et al. Physical adsorption of charged plastic nanoparticles affects algal photosynthesis[J]. *Journal of Physical Chemistry C*, 2010, 114:16556-16561.
- [54] 吴艳梅. 淡水微藻对水体微(纳米)塑料胁迫的响应研究[D]. 泉州:华侨大学, 2019:47-48. WU Y M. Study the response of freshwater microalgae to micro (nano) plastics in water stress[D]. Quanzhou: Overseas Chinese University, 2019:47-48.
- [55] RAO G S, ASHRAF U, HUANG S H, et al. Ultrasonic seed treatment improved physiological and yield traits of rice under lead toxicity[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2018, 25:33637-33644.
- [56] ASHRAF U, KANU A S, DENG Q Q, et al. Lead (Pb) toxicity, Physio-biochemical mechanisms, grain yield, quality, and Pb distribution proportions in scented rice[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8:00259.
- [57] WANG F Y, ZHANG X Q, ZHANG S Q, et al. Interactions of microplastics and cadmium on plant growth and arbuscular mycorrhizal fungal communities in an agricultural soil[J]. *Chemosphere*, 2020, 254.
- [58] LU K, QIAO R X, AN H, et al. Influence of microplastics on the accumulation and chronic toxic effects of cadmium in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Chemosphere*, 2018, 202:514-520.
- [59] GAO M L, LIU Y, SONG Z G. Effects of polyethylene microplastic on the phytotoxicity of di-n-butyl phthalate in lettuce[J]. *Chemosphere*, 2019, 237:124482.
- [60] LI X N, MA H Z, JIA P X, et al. Responses of seedling growth and antioxidant activity to excess iron and copper in *Triticum aestivum* L.[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2012, 86:47-53.
- [61] ZHAO Q, MA C X, WHITE J C, et al. Quantitative evaluation of multi-wall carbon nanotube uptake by terrestrial plants[J]. *Carbon*, 2017, 114:661-670.
- [62] 廖苑辰, 娜孜依古丽·加合甫别克, 李梅, 等. 微塑料对小麦生长及生理生化特性的影响[J]. 环境科学, 2019, 3:113-120. LIAO Y C, JAHITBEK N, LI M, et al. Effect of microplastics on the growth, physiological and biochemical characteristics of wheat[J]. *Environmental Science*, 2019, 3:113-120.
- [63] 张晨, 简敏菲, 陈宇蒙, 等. 聚苯乙烯微塑料对黑藻生长及生理生化特征的影响[J]. 应用生态学报, 2021, 32(1):317-325. ZHANG C, JIAN M F, CHEN Y M, et al. Effect of polystyrene microplastics (PS-MPs) on the growth, physiological and biochemical characteristics of *Hydrilla verticillata* [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2021, 32(1):317-325.
- [64] RILLIG M C, LEHMANN A, DE SOUZA MACHADO A A, et al. Microplastic effects on plants[J]. *New Phytologist*, 2019, 223(3):1066-1070.
- [65] WANG S, LI Q, HUANG S Z, et al. Single and combined effects of microplastics and lead on the freshwater algae *Microcystis aeruginosa* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 208:111664.