

# 环境相关浓度 MC-LR 作用对营养生长期水稻生长和抗氧化酶活性的影响

张敏敏<sup>1,2</sup>, 姜锦林<sup>2\*</sup>, 周军英<sup>2\*</sup>, 单正军<sup>2</sup>, 卜元卿<sup>2</sup>, 续卫利<sup>2</sup>

(1.南京信息工程大学环境科学与工程学院, 南京 210044; 2.环境保护部南京环境科学研究所, 南京 210042)

**摘要:**以水稻为受试生物,考察暴露浓度为 0、0.1、1、10、50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的 MC-LR 分别水培暴露 7、15、20、34 d 对水稻生长和根部部分酶活性的影响,考察指标包括水稻的株高、根长、鲜重、光合作用系统以及根系中过氧化物酶、谷胱甘肽酶、蛋白磷酸酶和丙二醛活性。34 d 实验结束后,相比对照组,0.1、1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下水稻根长分别增加了 6.94% 和 6.06%,而 50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下水稻根长显著减少了 8.71%。MC-LR 暴露能显著诱导水稻抗氧化系统部分关键指标(如 POD 和 GSH),并且随着暴露时间的延长,诱导作用更加明显。0.1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 暴露 20、34 d 后,相对于对照组 POD 分别抑制了 58.51% 和 8.09%。50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 暴露 34 d 后,POD、GSH 和 PP 分别降低了 38.52%、45.86% 和 52.51%。上述结果表明长期暴露在环境相关浓度下的 MC-LR 可能会对陆生植物产生毒性效应。

**关键词:** MC-LR; 水稻; 生长; 光合作用; 酶活性

中图分类号: X503.231 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2014)12-2296-07 doi:10.11654/jaes.2014.12.003

## Effects of Microcystin-LR at Environmental Relevant Concentrations on Growth and Antioxidant Enzymes of *Oryza sativa* L. at Vegetative Stage

ZHANG Min-min<sup>1,2</sup>, JIANG Jin-lin<sup>2\*</sup>, ZHOU Jun-ying<sup>2\*</sup>, SHAN Zheng-jun<sup>2</sup>, BU Yuan-qing<sup>2</sup>, XU Wei-li<sup>2</sup>

(1.Nanjing University of Information Science & Technology, College of Environmental Science and Engineering, Nanjing 210044, China; 2.Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection, Nanjing 210042, China)

**Abstract:** In recent years, the worldwide occurrence of cyanobacterial blooms is of great ecological concern because many genera of bloom-forming cyanobacteria are known to produce microcystins. Toxic effects of microcystin-LR (MC-LR) on mammals, birds, and aquatic organisms have been widely investigated, but its phytotoxic effects and mechanisms in terrestrial plants remain unclear. In the present study, we examined the growth and development and enzyme activities, including plant height, root length, aboveground biomass, photosynthesis, and root peroxidase (POD), glutathione (GSH), protein phosphatase (PP) and malondialdehyde (MDA) in rice plants (*Oryza sativa* L.) exposed to 0, 0.1, 1, 10, 50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  of MC-LR for 7, 15, 20, and 34 days. Results showed that the root length of rice increased by 6.94% and 6.06% under the exposure of 0.1 and 1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR, respectively, but reduced significantly by 8.71% under the exposure of 50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR, compared with the control over the 34 days of the experiment. MC-LR significantly induced the activities of some key indicators in the antioxidant system of rice, such as POD and GSH. The longer exposure time, the more remarkable induction was observed. However, POD was significantly inhibited by 58.51% and 8.09% by 0.1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR in 20 and 34 days of the experiment, respectively. Applying 50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR significantly inhibited POD, GSH, and PP by 38.52%, 45.86%, and 52.51%, respectively, after 34 days of the exposure. These results show that MC-LR has toxic effects on terrestrial plants under long time exposure to environmental relevant concentrations.

**Keywords:** microcystin-LR; rice; growth; photosynthesis; enzymatic; activity

收稿日期: 2014-06-26

基金项目: 国家自然科学基金专项基金(31340017); 国家自然科学基金青年基金(21407056)

作者简介: 张敏敏(1990—), 女, 硕士生。E-mail: 347734508@qq.com

\* 通信作者: 姜锦林 E-mail: jjl@nies.org 周军英 E-mail: zhjynies@163.com

水体富营养化加剧而引起的有害蓝藻水华频繁发生已经成为国内外普遍关注的环境问题<sup>[1]</sup>。目前淡水水体中危害最大、影响范围最广、持续时间最长的当属蓝藻水华,由于这类水华发生普遍且多数有毒,受到人们广泛关注<sup>[2-3]</sup>。微囊藻毒素(Microcystins,简称 MCs)是由水华蓝藻如微囊藻、鱼腥藻和念珠藻等产生的一种具有生物活性的环状七肽,它能特异性抑制动物和植物细胞内的蛋白磷酸酶 1 和 2A<sup>[4-6]</sup>,进而造成一系列毒性效应。迄今已发现 90 多种微囊藻毒素的同分异构体,其中毒性最强、危害最大的是 MC-LR、MC-YR 和 MC-RR<sup>[7]</sup>。因此,世界各国和相关组织都制定了相应的标准严格限制藻毒素含量<sup>[8]</sup>。我国已颁布施行的生活饮用水水质卫生规范和地表水环境质量标准中微囊藻毒素 MC-LR 最大含量为 0.001 mg·L<sup>-1</sup>,且其中包含一系列微囊藻毒素的检测项目<sup>[9]</sup>。

目前关于微囊藻毒素的毒性和致毒机理的研究主要集中在动物以及对人类健康影响上,有关微囊藻毒素对于陆生植物生长和生理方面影响的研究相对较少,尤其是对自然环境中低浓度微囊藻毒素对陆生植物的毒性特点尚不清楚,由此引发的微囊藻毒素在食物链中的安全风险也没有明确研究<sup>[10-13]</sup>。Chen 等<sup>[14]</sup>发现滇池水华蓝藻粗提物能抑制水稻和油菜幼苗生长发育,其对油菜的发芽率和苗高抑制效果更加显著,并引起受试植株氧化应激反应,能在植株内积累。Azevedo 等<sup>[15]</sup>采用 *M. aeruginosa* 粗提物灌溉水稻幼苗,该粗提物中包含接近环境浓度的 MC-LR,结果显示实验组的植物生物量、叶绿素荧光和酶活性都与对照组没有明显差异。水稻是世界主要粮食作物之一,有关环境相关浓度 MC-LR 对营养生长期水稻生理生化的影响以及致毒机理的研究报道还不够深入。大多数富营养化湖泊水体中溶解态 MCs 浓度范围在 0.1~10 μg·L<sup>-1</sup>,而细胞内的毒素则会高出几个数量级<sup>[16]</sup>。目前,太湖地区 MC-LR 浓度动态测量值分布在 0.05~2 μg·L<sup>-1</sup><sup>[17]</sup>,滇池马村湾和海东湾两地微囊藻毒素平均含量为 0.2 μg·L<sup>-1</sup><sup>[18]</sup>,漏湖水体 MC-LR 浓度最高可达 3.36 μg·L<sup>-1</sup><sup>[19]</sup>。参照大多数富营养化湖泊中的微囊藻毒素浓度值,本试验研究不同环境相关浓度的 MC-LR 对水稻幼苗生长、光合作用及抗氧化酶活性的影响,以期模拟实际环境中水稻遭受 MC-LR 胁迫所产生的一系列生理生化变化,对进一步阐明 MC-LR 对陆生植物的毒害作用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

LI-6400 XT 便携式光合作用测定仪;Tecan Infinite M200 型多功能酶标仪;MB100-4P 型微孔板恒温振荡器;UVmini-1240 紫外可见分光光度计;Sigma 2-16 高速冷冻离心机。

纯微囊藻毒素 MC-LR,纯度 ≥95%(HPLC),购自台湾藻研有限公司(Taiwan Algal Science Inc),-4 ℃ 冷藏备用;三羟甲基氨基甲烷(Tris)购自美国 Sigma。其他试剂均采用分析纯,购自国内公司。所有溶液均用 Milli-Q 水配制。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 实验水稻及暴露处理

水稻品种为日本晴(*Oryza sativa* L.)。选取健壮饱满的稻种 1000 粒,分成四份于 28 ℃ 下浸种 24 h,用完全湿润的三层纱布盖在种子上,并用锡箔纸将器皿包裹不透光,使种子处于黑暗湿润的环境中,于恒温培养箱 25 ℃ 催芽,催芽过程保证种子始终处于湿润状态。待水稻发芽后幼苗转移入国际水稻研究所常规营养液(含 40 mg·L<sup>-1</sup> Na<sup>+</sup>, 10 mg·L<sup>-1</sup> P<sup>5+</sup>, 40 mg·L<sup>-1</sup> K<sup>+</sup>, 40 mg·L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup>, 40 mg·L<sup>-1</sup> Mg<sup>2+</sup>, 0.5 mg·L<sup>-1</sup> Mn<sup>2+</sup>, 0.05 mg·L<sup>-1</sup> Mo<sup>6+</sup>, 0.2 mg·L<sup>-1</sup> B<sup>3+</sup>, 0.01 mg·L<sup>-1</sup> Zn<sup>2+</sup>, 0.01 Cu<sup>2+</sup>, 2 mg·L<sup>-1</sup> Fe<sup>3+</sup>)中继续培养。

待植株幼苗在营养液中培养至第 5 d,挑选生长良好的植株,超纯水清洗干净,进行暴露实验。MC-LR 暴露浓度分别为 0.1、1、10、50 μg·L<sup>-1</sup> 四组,同时设置一个空白对照组,每组 9 个平行,分别暴露 7、15、20、34 d。暴露期间,隔 1 d 更换新的营养液和 MC-LR,初期采用 100 mL 稀释的营养液,随着水稻植株的生长,逐步降低稀释倍数,并增加营养液至 200 mL,确保水稻生长所需营养。暴露期结束后,即刻测定生物量,采取新鲜叶片及根部液氮速冻后分装,存放于-80 ℃ 冰箱。

#### 1.2.2 水稻株高、根长和鲜重测定

实验进行到第 7、15、20、34 d 时,随机挑取 10 株生长状况较均一的幼苗测量其株高、根长和鲜重。

#### 1.2.3 水稻根系抗氧化系统指标测定

粗酶液提取方法:准确称取约 0.2 g 冻存的根,立即于液氮下研磨成粉末,加入 2 mL 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸缓冲溶液(pH 7.3)。提取液在 12 000 r·min<sup>-1</sup> 下离心 20 min,上清液分装并储存在-80 ℃ 冰箱待测。所有操作均在 0~4 ℃ 下进行。

蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝法,以纯牛血清白蛋白作为标准。考马斯亮蓝试剂含 0.01% (W/V) 考马斯亮蓝 G-250、47% (W/V) 乙醇、8.5% (W/V)  $H_3PO_4$ 。POD 酶活性的测定采用建成科技公司生产的测试盒,利用过氧化物酶(POD)催化过氧化氢反应的原理,通过测定 420 nm 处吸光度的变化得出酶活性。

#### 1.2.4 水稻根系谷胱甘肽含量测定

粗酶液提取方法:准确称取约 0.2 g 冻存的根,立即于液氮下研磨成粉末,加入 2 mL  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸缓冲溶液(含  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDTA,  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  PMSF,  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  抗坏血酸,0.3% Triton-X100 和 4% 聚乙烯吡咯烷酮 PVP, pH 7.8)。提取液在  $12000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  下离心 20 min,上清液分装并储存在  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱待测。所有操作均在  $0\sim 4 \text{ }^\circ\text{C}$  下进行。

GSH 酶活性的测定采用建成科技公司生产的测试盒,通过还原性谷胱甘肽(GSH)与二硫代二硝基苯甲酸(DTNB)反应生成一种黄色化合物,在 405 nm 下进行比色定量测定还原性谷胱甘肽(GSH)含量。

#### 1.2.5 水稻根系脂质过氧化水平测定

粗酶液提取方法同 1.2.4。

MDA 酶活性的测定采用建成科技公司生产的测试盒,利用过氧化脂质降解产物中的丙二醛(MDA)与硫代巴比妥酸(TBA)缩合,形成红色产物,在 532 nm 处有最大吸收峰。此法为 TBA 法。

#### 1.2.6 水稻根系蛋白磷酸酶含量测定

粗酶液提取方法同 1.2.4。

蛋白磷酸酶(PP)含量测定:200  $\mu\text{L}$  反应体系中包含  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Tris-HCl,  $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  PNPP,  $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{MnCl}_2$ ,  $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{MgCl}_2$ , pH 8.1。反应由 10  $\mu\text{L}$  粗酶液加入开始,用酶标仪于  $28 \text{ }^\circ\text{C}$ 、410 nm 下以 3 min 为间隔,测定 21 min 内吸光值变化,即以产物 PNP 的生成速率来定义蛋白磷酸酶活性。

## 2 结果与分析

### 2.1 MC-LR 对水稻幼苗生长的影响

图 1 显示不同浓度 MC-LR 分别暴露 7、15、20、34 d 对水稻株高的影响。1  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  MC-LR 暴露 20 d 后水稻株高相对于对照组显著减小,暴露 34 d 时水稻株高极显著减小( $P < 0.01$ )。MC-LR 作用 7、15、20、34 d 后,10、50  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下水稻株高相对于对照组都极显著减小( $P < 0.01$ )。

图 2 显示不同浓度 MC-LR 分别暴露 7、15、20、34 d 对水稻根长的影响。MC-LR 暴露 34 d 时,0.1、1  $\mu\text{g} \cdot$

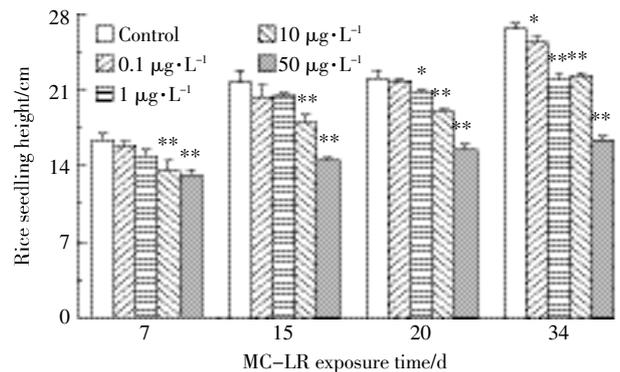


图 1 不同浓度 MC-LR 暴露 7、15、20、34 d 对水稻株高的影响  
Figure 1 Height of rice seedling exposed to various concentrations of MC-LR for different days

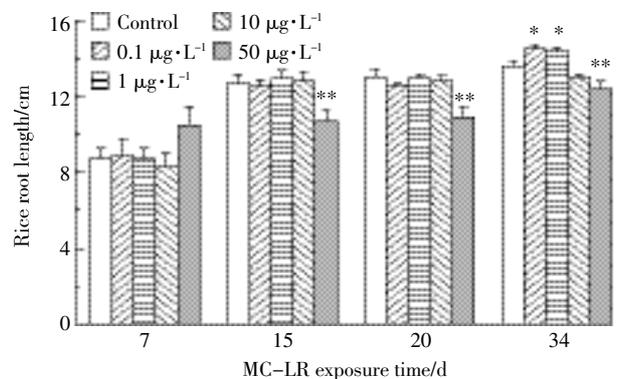


图 2 不同浓度 MC-LR 暴露 7、15、20、34 d 对水稻根长的影响  
Figure 2 Root length of rice plants exposed to various concentrations of MC-LR for different days

$\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下水稻根长显著增加,分别达到对照组的 106.94% 和 106.05%,而 50  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下水稻根长极显著减小( $P < 0.01$ )。50  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  MC-LR 对水稻根长抑制作用在 15、20 d 这两个时间点也出现极显著影响( $P < 0.01$ )。

图 3 显示不同浓度 MC-LR 分别暴露 7、15、20、

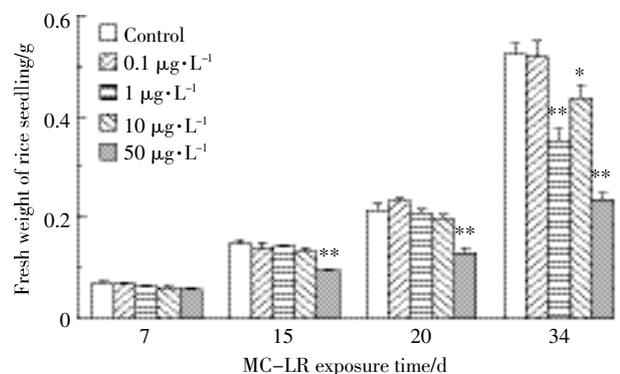


图 3 不同浓度 MC-LR 暴露 7、15、20、34 d 对水稻鲜重的影响  
Figure 3 Fresh weight of rice seedling exposed to various concentrations of MC-LR for different days

34 d 对水稻鲜重的影响。暴露 34 d 时,1、10、50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下水稻鲜重相对于对照组都显著减小 ( $P<0.05$ )。经过 15、20 d 暴露后,50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下水稻鲜重相对于对照组都极显著减小 ( $P<0.01$ )。

## 2.2 MC-LR 暴露对水稻光合作用的影响

图 4 显示不同浓度 MC-LR 分别暴露 7、15、20、29、34 d 对水稻净光合速率的影响。MC-LR 处理 20 d 后,各实验组的净光合速率呈整体上升,0.1、1、10、50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下净光合速率显著增加 ( $P<0.05$ )。暴露 34 d 时,50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下净光合速率极显著下降 ( $P<0.01$ )。

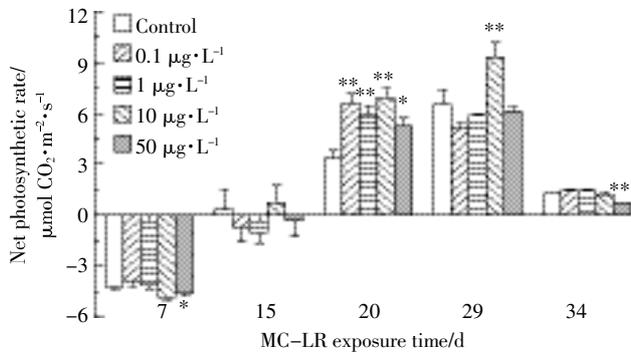


图 4 不同浓度 MC-LR 暴露 7、15、20、29、34 d 对水稻净光合速率的影响

Figure 4 Net photosynthetic rates of rice plants exposed to various concentrations of MC-LR for different days

图 5 显示不同浓度 MC-LR 分别暴露 7、15、20、29、34 d 对水稻蒸腾速率的影响。MC-LR 暴露 7、15、20、29、34 d 后,实验组水稻叶片蒸腾速率相对于对照组整体上升。暴露 15、20 d 时,0.1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用

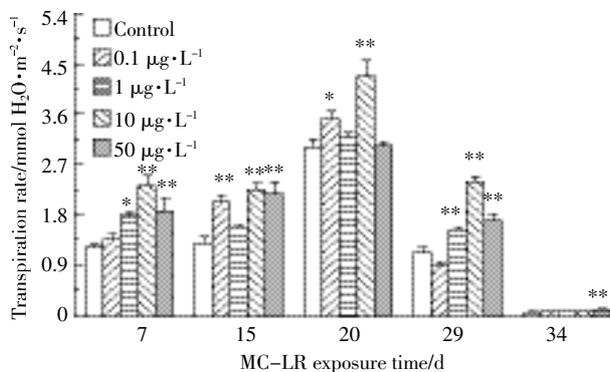


图 5 不同浓度 MC-LR 暴露 7、15、20、29、34 d 对水稻蒸腾速率的影响

Figure 5 Transpiration rates of rice plants exposed to various concentrations of MC-LR for different days

下蒸腾速率显著增加 ( $P<0.05$ )。暴露 7、29 d 时,1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下蒸腾速率显著增加 ( $P<0.05$ )。暴露 15、20、29 d 时,10  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下蒸腾速率极显著增加 ( $P<0.01$ )。暴露 7、15、29、34 d 时,50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下蒸腾速率极显著增加 ( $P<0.01$ )。水稻从移植到幼穗分化为分蘖期,这个过程约经 30 d (因品种、植期和育秧方式不同而有变化),分蘖期的主要特征是所有的近根叶在这一时期长出,出叶数占总叶片数 3/4 左右,因此单片叶片的净光合速率和蒸腾速率较之前会有大幅下降。图 4、图 5 中实验后期各组别中净光合速率和蒸腾速率大幅度下降也是这个原因。

图 6 显示不同浓度 MC-LR 分别暴露 7、15、20、29、34 d 对水稻叶绿素荧光的影响。MC-LR 暴露 15、20、34 d,叶绿素荧光强度并没有出现显著性的变化。暴露 7 d 时,1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下叶绿素荧光极显著下降 ( $P<0.01$ )。暴露 29 d 时,0.1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下叶绿素荧光显著下降 ( $P<0.05$ )。

## 2.3 MC-LR 暴露对水稻根中过氧化物酶活性的影响

图 7 显示不同浓度 MC-LR 分别暴露 15、20、34 d 对根系中过氧化物酶 POD 水平的影响。MC-LR 作用 15 d,0.1、1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下过氧化物酶极显著增加 ( $P<0.01$ )。暴露 34 d 时,0.1、10、50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下过氧化物酶显著减少,而 1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下过氧化物酶却极显著增加 ( $P<0.01$ )。

## 2.4 MC-LR 暴露对水稻根中谷胱甘肽含量的影响

图 8 显示不同浓度 MC-LR 分别暴露 7、15、20、34 d 对根系中谷胱甘肽 GSH 水平的影响。MC-LR 暴露 7、15 d 时,水稻根系中 GSH 水平并没有出现显著

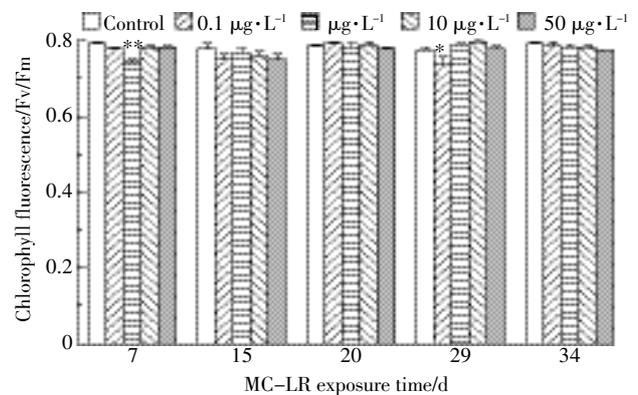


图 6 不同浓度 MC-LR 暴露 7、15、20、29、34 d 对水稻叶绿素荧光的影响

Figure 6 Chlorophyll fluorescence of rice plants exposed to various concentrations of MC-LR for different days

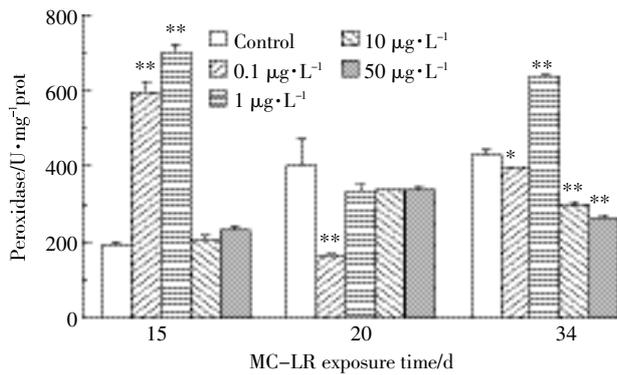


图7 不同浓度 MC-LR 暴露 15、20、34 d 对水稻根系中过氧化物酶 POD 水平的影响

Figure 7 Peroxidase activity in root of rice plants exposed to various concentrations of MC-LR for different days

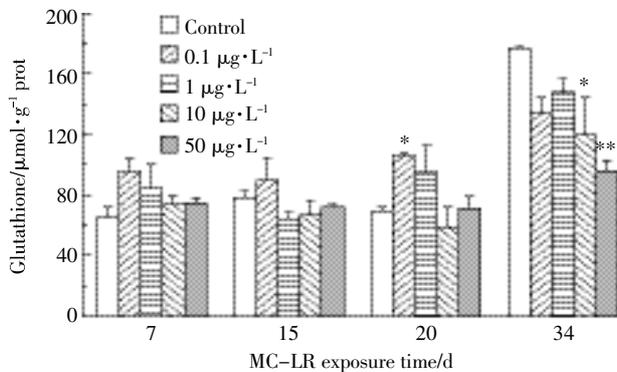


图8 不同浓度 MC-LR 暴露 7、15、20、34 d 对水稻根系中谷胱甘肽 GSH 水平的影响

Figure 8 Glutathione in root of rice plants exposed to various concentrations of MC-LR for different days

性的变化,表明 15 d 的暴露并不能使水稻根系中 GSH 发生改变。暴露 34 d 时,10、50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下根系中 GSH 水平显著降低( $P<0.05$ )。

### 2.5 MC-LR 暴露对水稻根中丙二醛含量的影响

图 9 显示不同浓度 MC-LR 分别暴露 7、15、20、34 d 对根系中丙二醛 MDA 水平的影响。MC-LR 暴露 7、15 d,10  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下水稻根系中 MDA 水平显著降低( $P<0.05$ )。

### 2.6 MC-LR 暴露对水稻根中蛋白磷酸酶活性的影响

图 10 显示不同浓度 MC-LR 分别暴露 7、15、20、34 d 对根系中蛋白磷酸酶活性水平的影响。0.1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用 7 d 后水稻根系中蛋白磷酸酶活性极显著增加,而暴露达到 34 d 时水稻根系中蛋白磷酸酶活性却显著降低( $P<0.05$ )。暴露 7、34 d 时,10  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下水稻根系中蛋白磷酸酶活性显著降低( $P<0.05$ )。MC-LR 暴露 7、15、20、34 d 时,50  $\mu\text{g}\cdot$

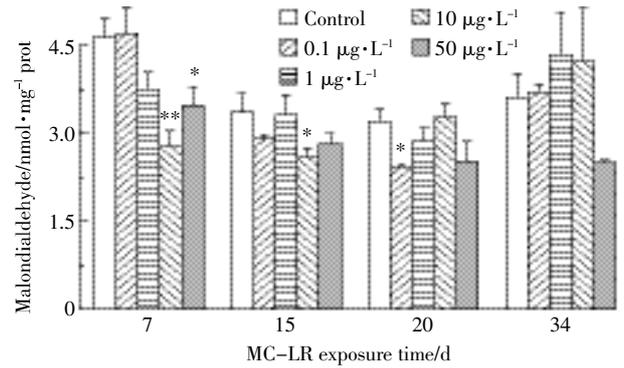


图9 不同浓度 MC-LR 暴露 7、15、20、34 d 对水稻根系中丙二醛 MDA 水平的影响

Figure 9 Malondialdehyde content in root of rice plants exposed to various concentrations of MC-LR for different days

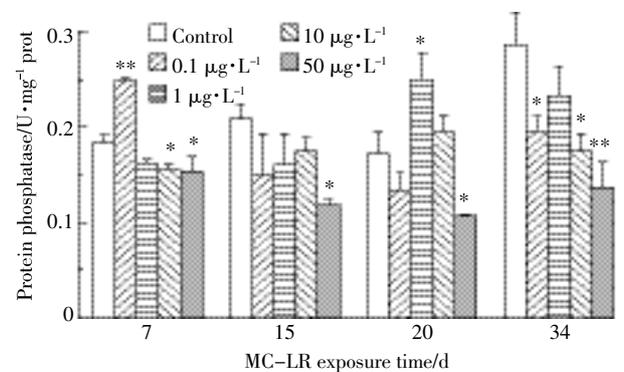


图10 不同浓度 MC-LR 暴露 7、15、20、34 d 对水稻根系中蛋白磷酸酶活性的影响

Figure 10 Protein phosphatase in root of rice plants exposed to various concentrations of MC-LR for different days

$\text{L}^{-1}$  MC-LR 作用下水稻根系中蛋白磷酸活性都显著降低( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

近几年,学者们越来越关注蓝藻毒素对陆生植物的影响,含有包括微囊藻毒素在内的各种蓝藻衍生污染物的灌溉水通常不经任何处理直接用于浇灌农作物和植物,致使蓝藻毒素通过食物链污染威胁人类健康并造成潜在的经济损失。Prieto 等<sup>[20]</sup>将生长 20 d 的水稻暴露于含有 50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 和 2.5  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  柱孢藻毒素 (Cylindrospermopsin, CYN) 的蓝藻细胞提取物中 48 h,结果显示植物各器官的鲜重和干重都没有发生变化,而叶片和根系中谷胱甘肽巯基转移酶 (Glutathione s-transferase, GST) 活性都显著增加。Chen 等<sup>[21]</sup>用 0.024~3  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的 MC-LR 处理水稻和油菜幼苗 10 d,结果显示微囊藻毒素对油菜和水稻生

长发育都有抑制作用,低浓度微囊藻毒素处理大幅度提高水稻幼苗体内超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性,高浓度微囊藻毒素处理过的水稻幼苗中 SOD 活性只有些许增长,但对 POD 活性没有显著影响。

经过不同浓度 MC-LR 暴露 7、15、20、34 d 时,水稻株高、根长和鲜重存在不同程度的下降。暴露 7 d 和 15 d 时,水稻株高没有显著变化,但 34 d 时各浓度组水稻株高都显著下降,且随着浓度的升高抑制作用更加明显。值得注意的是,0.1、1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 浓度组水稻经过 34 d 暴露,其根长显著增加,说明低浓度 MC-LR 可以刺激水稻根系伸长。如图 4~图 6 所示,各浓度组暴露 20 d 时水稻净光合速率显著升高,不同时期不同浓度 MC-LR 作用下水稻蒸腾速率也明显增加,但是不同浓度 MC-LR 对不同时间点水稻叶绿素荧光的影响不大,因此 MC-LR 对水稻光合作用的影响主要通过净光合速率和蒸腾速率这两个因子来反馈。

植物代谢期间生成活性氧(Reactive oxygen species, ROS),正常情况下 ROS 可以通过植物体内的抗氧化系统进行清除来维持正常生理生化活动,但当植物遭受逆境胁迫时,将产生过量的 ROS 而造成过氧化损伤,从而损伤细胞结构与功能。POD 和 GSH 是清除活性氧抗氧化保护酶防御系统的主要成员,大量研究表明环境胁迫改变这些酶的活性和数量<sup>[22-24]</sup>。丙二醛(MDA)是植物组织在逆境下遭受氧化胁迫发生膜脂过氧化的产物,反映细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱<sup>[25-26]</sup>。本研究中,经 7 d 10、50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 处理后水稻根系中 MDA 含量显著下降,可能与胞内膜结构损伤以及 ROS 水平的变化密切相关。吸收的 MC-LR 可以通过对蛋白磷酸酶的抑制扰乱胞内磷酸化-去磷酸化的平衡,直接或间接地以一种不确定的方式导致 ROS 产生。MC-LR 对水稻根系中蛋白磷酸酶的抑制作用较早出现,并且随着浓度的升高抑制作用更加明显。水稻中 POD 的活性受微囊藻毒素浓度和暴露时间影响,0.1、1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 处理 15 d 时 POD 显著增加,在 34 d 时 1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 处理后仍旧显著增加,但在 34 d 0.1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 处理下的 POD 却显著减少。同时当 MC-LR 浓度为 1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  处理 34 d 时,水稻株高、根长和鲜重与对照组相比显著降低。50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  MC-LR 处理 34 d 时水稻 POD 和 GSH 都显著下降,并且水稻鲜重和根长也显著降低。从已有研究来看,环境浓度相关的 MC-LR (0.1~10  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )已经能对水稻多个生物标志物产生显

著性影响,其中多个抗氧化酶活性都受到干扰,可能会对水稻幼苗生长产生一定的抑制作用。需要注意的是,在野外真实条件下,水稻所处的暴露方式与本研究略有不同,会同时受到溶解态微囊藻毒素和蓝藻细胞的共同作用,微囊藻毒素属于细胞内毒素,在蓝藻衰老死亡过程中藻细胞会破裂释放大量毒素进入水体<sup>[27]</sup>,而且许多植物可能会分泌一些物质来遏制藻类生长。因此,在多种环境因素和植株生长的共同影响下,水稻根系可能会暴露在远高于富营养化湖泊水体的微囊藻毒素浓度下,由此带来的风险不容小觑。

## 4 结论

对环境相关浓度的 MC-LR 水培暴露对营养生长期水稻的生长和抗氧化酶活性进行研究发现,MC-LR 能显著抑制水稻根系生长,进一步诱导抗氧化酶活性。MC-LR 首先抑制水稻根系中蛋白磷酸酶活性从而导致 ROS 含量提高,进而影响水稻根系中抗氧化酶 POD 和 GSH 的活性。但是就已有研究数据来看,MC-LR 对水稻确切的调控机制依旧不明确,微囊藻毒素暴露对植物根系毒性作用是最初步的,之后微囊藻毒素如何通过根系转运进入植株,进而对叶片光合作用和营养生长造成影响,都还需要进一步研究。在暴露途径上,微囊藻毒素对植株影响也是多样化的,如含微囊藻毒素的湖水、新鲜藻液以及蓝藻发酵沼渣等,它们对不同农作物不同生长期生长状况的影响,还需要进一步研究和探讨。

## 参考文献:

- [1] Hallegraff G M. A review of harmful algal bloom and their apparent global increase[J]. *Phycologia*, 1993, 32(2):79
- [2] 何家苑,何振荣,俞家禄,等. 东湖铜绿微囊藻毒素的分离与鉴定[J]. *海洋与湖沼*, 1988, 19(5):424-430.  
HE Jia-wan, HE Zhen-rong, YU Jia-lu, et al. Isolation and identification of toxin contained in microcystis aeruginosa from Donghu Lake[J]. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 1998, 19(5):424-430.
- [3] 李仁辉,何振荣,何家苑,等. 中国新记录蓝藻-绿色微囊藻及其毒性的初步研究[J]. *水生生物学报*, 1993, 17(3):282-284.  
LI Ren-hui, HE Zhen-rong, HE Jia-wan, et al. Preliminary study on a Chinese new record of blue-green algae-microcystis viridis and its toxicity[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1993, 17(3):282-284.
- [4] MacKintosh C, Beattie K A, Klumpp S, et al. Cyanobacterial microcystin-LR is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A from both mammals and higher plants[J]. *FEBS Letters*, 1990, 264:187-192.
- [5] Hastie C J, Borthwick E B, Morrison L F, et al. Inhibition of several protein phosphatases by a non-covalently interacting microcystin and a nov-

- el cyanobacterial peptide, nostocyclin[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1726: 187-193.
- [6] Kurki-Helaso K, Meriluoto J. Microcystin uptake inhibits growth and protein phosphatase activity in Mustard(*Sinapis alba* L.) seedlings[J]. *Toxicon*, 1998, 36: 1921-1921.
- [7] Juliana S M, Pimentel A G. Estimating toxic cyanobacteria in a Brazilian reservoir by quantitative real-time PCR, based on the microcystin synthetase D gene [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2013, 25 (5): 1545-1554.
- [8] Azevedo C C, Azevedo J, Osório H, et al. Early physiological and biochemical responses of rice seedlings to low concentration of microcystin-LR[J]. *Ecotoxicology*, 2014, 23(2): 107-121.
- [9] 盛建武, 何苗, 施汉昌, 等. 水环境中微囊藻毒素检测技术研究进展[J]. *环境污染与防治*, 2006, 28: 132-136.
- SHENG Jian-wu, HE Miao, SHI Han-chang, et al. Review on detection technologies of microcystins in aquatic environment[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2006, 28: 132-136.
- [10] Dawson R M. The toxicology of microcystins[J]. *Toxicon*, 1998, 36: 953-962.
- [11] Yoshitla T, Makita Y, Nagata S, et al. Acute oral toxicity of microcystin-LR, A cyanobacterial hepatotoxin in mice[J]. *Natural Toxins*, 1997, 5: 91-95.
- [12] Li X Y, Lu Y D, Song L R, et al. Responses of antioxidant systems in the hepatocytes of common carp(*Cyprinus carpio* L.) to the toxicity of microcystin-LR[J]. *Toxicon*, 2003, 42: 85-89.
- [13] Jiang J L, Gu X Y, Song R, et al. Time-dependent oxidative stress and histopathological alterations in *Cyprinus carpio* L. exposed to microcystin-LR[J]. *Ecotoxicology*, 2011, 20: 1000-1009.
- [14] Chen J, Song L, Dai J, et al. Effects of microcystins on the growth and the activity of superoxide dismutase and peroxidase of rape(*Brassica napus* L.) and rice(*Oryza sativa* L.)[J]. *Toxicon*, 2004, 43(4): 393-400.
- [15] Azevedo C C, Azevedo J, Osório H, et al. Early physiological and biochemical responses of rice seedlings to low concentration of microcystin-LR[J]. *Ecotoxicology*, 2013: 1-15.
- [16] Lahti K, Rapala J, Fardig M, et al. Persistence of cyanobacterial hepatotoxin, microcystin-LR in particulate material and dissolved in lake water[J]. *Water Research*, 1997, 31: 1005-1012.
- [17] Niu W M, He E Q, Wu Q G, et al. Use of fluorescent europium chelates as labels for detection of microcystin-LR in Taihu Lake, China [J]. *Journal of Rare Earths*, 2012, 30(9): 941-947.
- [18] 潘晓洁, 常锋毅, 沈银武, 等. 滇池水体中微囊藻毒素含量变化与环境因子的相关性研究[J]. *湖泊科学*, 2006, 18(6): 572-578.
- PAN Xiao-jie, CHANG Feng-yi, SHEN Yin-wu, et al. The correlation between the variation of microcystin content and environment factors in Dianchi Lake[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2006, 18(6): 572-578.
- [19] 魏代春, 苏婧, 陈学民, 等. 阳澄湖和滬湖微囊藻毒素分布及其与富营养化因子的关系[J]. *环境工程学报*, 2014, 8(6): 2322-2329.
- WEI Dai-chun, SU Jing, CHEN Xue-ming, et al. Distribution of microcystins and its relationship with eutrophication factors in Yangcheng Lake and Gehu Lake[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2014, 8(6): 2322-2329.
- [20] Prieto A, Campos A, Cameán A, et al. Effects on growth and oxidative stress status of rice plants(*Oryza sativa*) exposed to two extracts of toxin-producing cyanobacteria(*Aphanizomenon ovalisporum* and *Microcystis aeruginosa*) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2011, 74(7): 1973-1980.
- [21] Chen J, Song L, Dai J, et al. Effects of microcystins on the growth and the activity of superoxide dismutase and peroxidase of rape(*Brassica napus* L.) and rice(*Oryza sativa* L.) [J]. *Toxicon*, 2004, 43(4): 393-400.
- [22] 李合生. 现代植物生理学[M]. 二版. 北京: 高等教育出版社, 2006: 334.
- LI He-sheng. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment[M]. The second edition, Beijing: Higher Education Press, 2006: 334.
- [23] Gueta-Dahan Y, Yaniv Z, Zilinskas B A, et al. Salt and oxidative stress: similar and specific responses and their relation to salt tolerance in citrus[J]. *Planta*, 1997, 203(4): 460-469.
- [24] Fridovich I. Biological effects of the superoxide radical[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1986, 247(1): 1-11.
- [25] Becana M. Reactive oxygen species and antioxidants in legume nodules[J]. *Physiologia Plantarum*, 2000, 109: 372-381.
- [26] Kanazawa S. Changes in antioxidative in cucumber cotyledons during natural senescence: Comparison with those during dark-induced senescence[J]. *Physiologia Plantarum*, 2000, 109: 2311-2316.
- [27] 柳丽丽, 钟儒刚, 曾毅. 微囊藻毒素及其毒性研究进展[J]. *卫生研究*, 2006, 35(2): 247-250.
- LIU Li-li, ZHONG Ru-gang, ZENG Yi. Advances in study on microcystins and their toxicology[J]. *Journal of Hygiene Research*, 35(2): 247-250.