

尹 干, 李慧明, 陈 健, 等. 外源一氧化氮对微囊藻毒素诱导青菜氧化胁迫的缓解[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(2): 253-259.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.02.005

## 外源一氧化氮对微囊藻毒素诱导青菜氧化胁迫的缓解

尹 干<sup>1</sup>, 李慧明<sup>2</sup>, 陈 健<sup>3,4,5</sup>, 薛延丰<sup>3,4,5</sup>, 石志琦<sup>1,3,4,5</sup>

(1. 南京师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210046; 2. 南京大学环境学院, 江苏 南京 210023; 3. 江苏省农业科学院食品质量安全与检测研究所, 江苏 南京 210014; 4. 江苏省食品质量安全重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 江苏 南京 210014; 5. 农业部农产品质量安全控制技术与标准重点实验室, 江苏 南京 210014)

**摘要:** 为了探讨一氧化氮(NO)参与调控微囊藻毒素(MC)诱导植物损伤的机理,以青菜(*Brassica rapa*)幼苗为材料,研究了外源NO对MC胁迫下青菜幼苗的生长、体内活性氧(ROS)累积、抗氧化酶活性及抗氧化物质含量的影响及可能的调控机制。结果显示:(1)外源NO供体硝普钠(SNP)预处理能够显著缓解MC对青菜幼苗生长的抑制效应;(2)SNP预处理能够显著降低MC诱导青菜幼苗ROS的过量产生;(3)SNP预处理能够分类调控MC对抗氧化酶(*SOD*、*POD*、*APX*、*CAT*)和抗氧化物质(AsA和GSH)的诱导效应。这些结果表明,外源NO能够通过特异性调控MC诱导青菜幼苗的氧化胁迫反应,进而缓解MC对植物的毒害效应。

**关键词:** 青菜; 微囊藻毒素; 氧化胁迫; 一氧化氮

**中图分类号:** S634.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2015)02-0253-07

## Alleviation of microcystin-induced oxidative stress by exogenous nitric oxide in *Brassica rapa*

YIN Gan<sup>1</sup>, LI Hui-ming<sup>2</sup>, CHEN Jian<sup>3,4,5</sup>, XUE Yan-feng<sup>3,4,5</sup>, SHI Zhi-qi<sup>1,3,4,5</sup>

(1. College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China; 2. School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210023, China; 3. Institute of Food Quality Safety and Detection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 4. Key Lab of Food Quality and Safety of Jiangsu Province-State Key Laboratory Breeding Base, Nanjing 210014, China; 5. Key Laboratory of Control Technology and Standard for Agro-product Safety and Quality, Ministry of Agriculture, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** To study the mechanism underlying nitric oxide (NO) involvement in the regulation of microcystin (MC) induced plant damage, the effects of exogenous NO on the growth of *Brassica rapa* seedlings, exposed to MC accumulation of reactive oxygen species (ROS), activity of several important anti-oxidative enzymes and content of antioxidant substances were measured under MC stress. The pre-treatment with NO donor SNP could significantly attenuate MC-induced growth stunt in *B. rapa* seedlings and reduce over-accumulation of reactive oxygen species (ROS). Pre-treatment with SNP could differentially regulate the increases in the activities of anti-oxidative enzymes (*SOD*, *POD*, *APX* and *CAT*), and the content of anti-oxidants (AsA and GSH) in *B. rapa*. In conclusion, exogenous NO could alleviate MC-induced injury by classified regulation of oxidative stress in *B. rapa*.

**Key words:** *Brassica rapa*; microcystin; oxidative stress; nitric oxide

收稿日期: 2014-09-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(21207054); 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(13)5052]

作者简介: 尹 干(1988-), 女, 安徽宿州人, 硕士研究生, 研究方向为微囊藻毒素的植物毒理学。(Tel) 15996211362; (E-mail) lglyf3421@163.com

通讯作者: 石志琦, (Tel) 025-84391863

近年来, 水体富营养化导致的蓝藻水华已成

为中国乃至全球不可忽视的环境威胁之一<sup>[1-2]</sup>。微囊藻毒素(Microcystin, MC)是由水华蓝藻分泌的一类多肽毒素。其中的 MC-LR 作为一种致肝癌毒素,其对人体和动物的毒理学研究已有众多报道<sup>[3]</sup>。采用发生蓝藻水华的水体作为灌溉水,可以使 MC 直接接触到农作物。虽然有证据表明 MC 胁迫可抑制蔬菜和粮食作物等多种农作物的生长<sup>[4-7]</sup>,但 MC 对植物的毒害机理研究相对滞后。相关研究结果显示,MC 胁迫可诱导植物体内活性氧(Reactive oxygen species, ROS)的过量累积,进而诱发植物的氧化损伤<sup>[8-9]</sup>。MC 诱导的 ROS 累积可作为触发信号,进一步导致植物体内抗氧化酶活性上升,如过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、过氧化氢酶(CAT)等<sup>[10-12]</sup>。虽然上述众多研究已经证实 MC 可诱导植物产生氧化胁迫反应,但相关的信号调控机理尚不明确。

一氧化氮(Nitric oxide, NO)是植物体内的一种关键信号分子。在各种生物胁迫与非生物胁迫条件下,NO 能够参与调控植物多种重要的内在生理代谢途径<sup>[13]</sup>。通过硝普钠(Sodium nitroprusside, SNP)提供外源 NO,可缓解多种环境胁迫因子(如:重金属、盐、干旱、冷冻等)对植物的伤害<sup>[14-17]</sup>。我们的前期研究结果显示,外源 NO 供体 SNP 处理能够显著缓解 MC 对水稻生长的抑制作用<sup>[18]</sup>。但 NO 通过何种途径参与调控 MC 诱导的植物胁迫反应尚无相关报道。另外,我们的前期研究结果还表明,MC 可诱导多种农作物(如青菜、油菜、白三叶草)产生氧化胁迫反应<sup>[19-21]</sup>。为了进一步明确 NO 参与调控 MC 诱导植物损伤的深入机理,本研究拟以大宗蔬菜作物青菜为材料,探讨外源 NO 是否并怎样调控 MC 诱导植物的氧化胁迫反应,以期 MC 诱导的植物毒理效应评估提供更多理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验材料为青菜(*Brassica rapa*)(绿领矮抗 1 号);干藻粉购自中国科学研究院武汉水生生物研究所,-20℃冷藏备用;藻毒素标准品 MC-LR 购自 Sigma-Aldrich 公司。

### 1.2 植物材料培养与处理

青菜种子用 1% NaClO 消毒 10 min,然后用蒸馏水洗净,用吸水纸吸干水分后,挑选均一、饱满的种子置于铺有 3 层湿润滤纸的培养皿(直径 15 cm)中,每皿 100 粒,设置 3 个重复。光照时间 12 h/d,温度(25±1)℃。发芽后 3 d,挑选生长良好的幼苗移入新的培养皿中,每皿 50 棵作为试验材料。试验共有 4 个处理:(1)蒸馏水对照;(2)MC (4 mg/L)处理 3 d;(3)SNP (0.4 mmol/L)预处理 1 d,然后加入 MC (4 mg/L)再处理 3 d;(4)SNP (0.4 mmol/L)预处理 1 d,然后加入蒸馏水再处理 3 d。处理结束后,取青菜幼苗地上部进行相关的生理生化指标测定。

### 1.3 微囊藻毒素的制备

参照 Chen 等<sup>[22]</sup>的方法从干藻粉中提取藻毒素。称取 0.2 g 干藻粉于 12 ml 80% 甲醇中,超声破碎藻细胞 1 h,离心去沉淀(12 000 r/min, 12 min, 4℃);取上清液旋转蒸干去甲醇,调 pH 2~4 并离心去除杂质蛋白质,过 0.2 mm 滤膜,调节 pH 至 7.0;121℃灭菌 15 min,用蒸馏水定容至 5 ml。将藻毒素粗提液过 Sep-Pak C<sub>18</sub>柱,用 LC/MS 法测定 MC-LR 和 MC-RR 的含量。液质联用仪为液相 HP1200,质谱 6410(Triple Quad)。经测定,干藻粉提取的藻毒素粗提液中 MC-LR 浓度为 10 mg/L。

### 1.4 测定方法

1.4.1 抗氧化酶活性测定 提取缓冲液为磷酸缓冲液(50.0 mmol/L, pH 7.0),其中含有 1.0 mmol/L EDTA 和 1% 可溶性 PVPP。称取 0.1 g 青菜幼苗地上部鲜样,加入 1.5 ml 预冷的提取缓冲液充分研磨,10 000 r/min,4℃离心 20 min,取上清液进行酶活性测定。以下酶活性测定参照 Zhou 等<sup>[23]</sup>和 Chen 等<sup>[24]</sup>提供的具体方法。

SOD 的活性用 NBT 光还原反应的抑制率表示。3 ml 反应体系包括:磷酸缓冲液(50.0 mmol/L, pH 7.8),13.0 mmol/L 蛋氨酸,2 μmol/L 核黄素,75 μmol/L NBT,0.1 mmol/L EDTA,30 μl 酶液。日光灯下反应 30 min 后,测定 560 nm 处吸光值。1 个 SOD 酶活性单位定义为能够抑制 50% NBT 光还原反应的酶量。

CAT 的活性用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的分解速率表示。50 μl 酶液加入到含有 0.1% 过氧化氢的磷酸缓冲液中(50

mmol/L, pH 7.0) 起始反应, 立即记录 240 nm 吸光值的变化, 以消光系数  $0.036 \text{ mmol}/(\text{L} \cdot \text{cm})$  计算酶活性。1 个 CAT 活性单位定义为, 在测定条件下 1 min 分解  $1 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  所需的酶量。

POD 的活性测定采用愈创木酚法。反应体系包括: 50 mmol/L 磷酸钾缓冲液 (pH 6.1), 1%  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 1% 愈创木酚和 10  $\mu\text{l}$  酶液, 记录 420 nm 吸光值的变化, 以消光系数  $26.6 \text{ mmol}/(\text{L} \cdot \text{cm})$  计算酶活性。1 个 POD 活性单位定义为, 在测定条件下 1 min 催化生成  $1 \mu\text{mol}$  产物所需的酶量。

APX 的活性用依赖于  $\text{H}_2\text{O}_2$  降解的抗坏血酸消耗速率表示。反应体系包括: 50 mmol/L 磷酸钠缓冲液 (pH 7.0), 0.5 mmol/L 抗坏血酸, 0.1 mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 10  $\mu\text{l}$  酶液, 记录 290 nm 吸光值的变化, 以消光系数为  $2.8 \text{ mmol}/(\text{L} \cdot \text{cm})$  计算酶活性。1 个 POD 活性单位定义为, 在测定条件下 1 min 催化消耗  $1 \mu\text{mol}$  底物所需的酶量。

酶液中蛋白质含量测定采用 Bradford 方法 (考马斯亮蓝 G250 染色法), 以牛血清白蛋白作为标准蛋白<sup>[25]</sup>。

1.4.2 POD 和 SOD 同工酶活性电泳 植物同工酶活性电泳参照 Zhou 等<sup>[23]</sup>的方法。称取青菜幼苗地上部 0.1 g, 加入 3 ml 预冷的 Tris-HCl (50.0 mmol/L, pH 6.8) 缓冲液, 冰浴研磨成浆, 10 000 r/min, 4  $^{\circ}\text{C}$  离心 20 min, 取上清液作为电泳上样液。采用不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 在 4  $^{\circ}\text{C}$  下进行, 5% 浓缩胶电压 80 V, 10% 分离胶电压 120 V。电泳完成后, 将胶取下进行同工酶活性染色。POD 同工酶采用联苯胺染色法, 将胶放入染色液 (2% 联苯胺 10 ml、抗坏血酸 35.2 mg、0.6% 过氧化氢 10 ml、去离子水 30 ml) 中显色后, 用去离子水漂洗 2 ~ 3 次, 观察并拍照。SOD 同工酶采用 NBT 染色法, 将胶放入染色液 (50.0 mmol/L 磷酸盐缓冲液 pH 7.8, 0.028 mol/L 四甲基乙二胺、22.8  $\mu\text{mol/L}$  核黄素) 中避光浸泡 20 min。然后将胶转入含 EDTA (0.1 mol/L) 的磷酸缓冲液 (pH 7.8, 50.0 mmol/L) 中光照显色。用去离子水漂洗 2 ~ 3 次, 观察并拍照。

1.4.3 抗坏血酸 (AsA) 和谷胱甘肽 (GSH) 含量测定 具体参照 Chen 等<sup>[24]</sup>的方法。称取 0.1 g 叶片鲜样, 加入 1 ml 预冷的 5% 偏磷酸冰浴研磨, 10 000 r/min 离心 10 min; 取 0.5 ml 上清液, 20 000 g, 4  $^{\circ}\text{C}$

离心 15 min, 取上清液测定。

总 AsA 含量测定反应体系包括: 0.30 ml 植物提取液、0.75 ml 磷酸缓冲液 (150.0 mmol/L, pH 7.4, 5 mmol/L EDTA)、0.50 ml DTT (10.0 mmol/L)。混匀后室温放置 10 min。然后依次加入 0.60 ml 10% 三氯乙酸 (TCA), 0.60 ml 44% 正磷酸, 0.60 ml 4%  $\alpha, \alpha'$ -联吡啶 (溶解于 70% 酒精中), 25  $\mu\text{l}$  10%  $\text{FeCl}_3$ 。充分混匀, 40  $^{\circ}\text{C}$  水浴加热 40 min 后, 测定 525 nm 吸光值。同时做 0 ~ 100  $\mu\text{mol/L}$  范围内的 AsA 标准曲线来计算样品中 AsA 含量。

GSH 含量测定的 3 ml 反应体系包括: 1 ml 植物提取液、0.2 mmol/L NADPH、磷酸缓冲液 (0.5 mol/L, pH 7.5)、5.0 mmol/L EDTA、0.6 mmol/L 二硫代双硝基苯甲酸 (DTNB)、以及 3 个单位谷胱甘肽还原酶 (GR)。加入 0.1 ml 的上述反应样品起始反应, 记录 412 nm 吸光值 1 min。采用同样方法做 0 ~ 50  $\mu\text{mol/L}$  范围内的 GSH 标准曲线来计算样品中 AsA 含量。

1.4.4 总活性氧 (ROS) 含量的荧光检测 植物体内 ROS 检测参照 Foreman 等<sup>[26]</sup>提供的荧光检测法。将青菜幼苗地上部用蒸馏水洗净后放入浓度为 1  $\mu\text{mol/L}$  的特异性荧光探针 DCFH-DA 中装载 20 min, 用蒸馏水洗净; 在荧光电子显微镜 (ECLIPSE, TE2000-S, Nikon) 下以 488 nm 为激发波长, 525 nm 为发射波长观察、拍照。通过计算绿色荧光密度表示 ROS 的相对含量。

## 1.5 统计方法

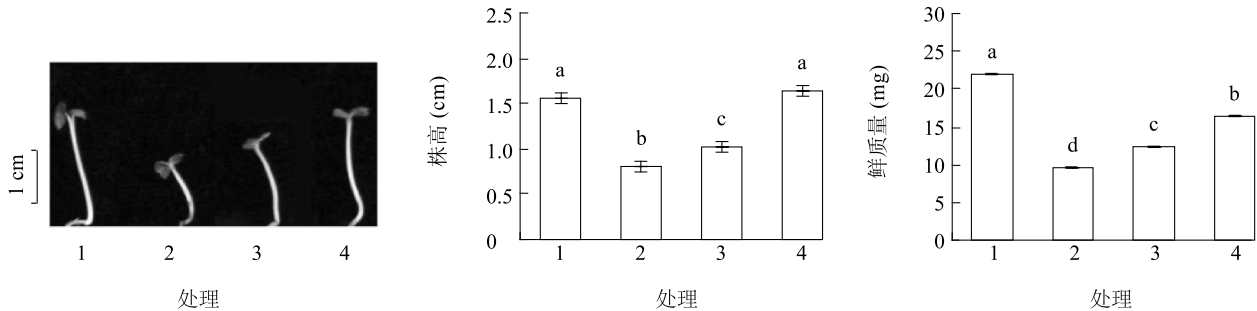
每个测定结果采用 3 次重复的平均值  $\pm$  标准差表示, 对试验数据进行单因素方差分析 (ANOVA)。

## 2 结果

### 2.1 外源 SNP 处理对 MC 抑制青菜幼苗生长的缓解效应

与对照相比, 含 4 mg/L MC-LR 的 MC 毒素提取物处理明显抑制青菜幼苗的生长, 包括矮化和黄化; 而采用 0.4 mmol/L SNP 预处理 + MC 处理后, 青菜幼苗的生长明显优于单独 MC 处理 (图 1)。MC 处理的青菜幼苗株高和鲜质量分别比对照下降了 48.1% 和 55.9%; 与单独 MC 处理相比, SNP 预处理 + MC 处理的株高和鲜质量分别增加了 26.2% 和 26.9%。这些结果说明: 提供外源 NO 能够显著缓解 MC 对青菜幼苗生长的抑制

效应。



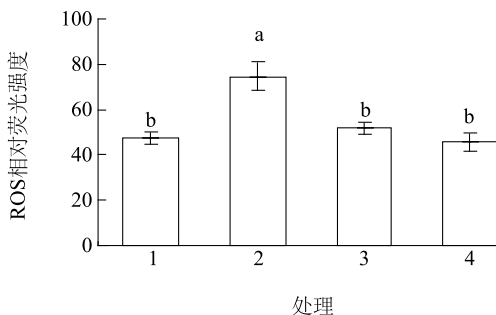
处理 1:蒸馏水对照;处理 2:4 mg/L MC 处理 3 d;处理 3:0.4 mmol/L SNP 预处理 1 d,然后加入 4 mg/L MC 处理 3 d;处理 4:0.4 mmol/L SNP 预处理 1 d,然后加入蒸馏水处理 3 d。不同小写字母表示处理间差异达 0.05 显著水平。

图 1 硝普钠 (SNP) 对微囊藻毒素 (MC) 胁迫下青菜幼苗生长的影响

Fig. 1 The effect of sodium nitroprusside (SNP) on the growth of *B. rapa* seedlings under microcystin (MC) stress

## 2.2 外源 SNP 处理对 MC 胁迫下青菜幼苗体内 ROS 累积的影响

采用特异性荧光探针原位检测青菜地上部总 ROS,结果显示:MC 处理能够显著诱导青菜幼苗体内 ROS 的过量累积。与对照相比,MC 处理后 ROS 的相对含量增加了 57.5%;而与 MC 单独处理相比较,SNP 预处理+MC 处理后的总 ROS 相对含量显著降低,几乎恢复到对照水平(图 2)。说明外源 NO 能够显著抑制 MC 诱导青菜体内 ROS 的累积。



处理 1~4 见图 1 注。不同小写字母表示处理间差异达 0.05 显著水平。

图 2 硝普钠 (SNP) 对微囊藻毒素 (MC) 胁迫下青菜幼苗体内活性氧 (ROS) 含量的影响

Fig. 2 The effect of SNP on reactive oxygen species (ROS) content in *B. rapa* seedlings under MC stress

## 2.3 外源 SNP 处理对 MC 胁迫下青菜幼苗体内抗氧化酶活性的影响

与对照相比,MC 处理诱导青菜幼苗体内抗氧化酶(SOD、POD、APX、CAT)活性显著上升(图 3)。

与单独 MC 处理相比,SNP 预处理+MC 处理后的 SOD、POD、APX 活性不同程度的显著下降,而 CAT 活性却不受 SNP 处理的影响(图 3)。进一步的 SOD 和 POD 同工酶活性电泳检测也得到了上述类似结果。在本研究条件下,青菜幼苗地上部 POD 和 SOD 在活性电泳中分别有 3 条和 4 条同工酶条带(图 4)。与单独 MC 处理相比,SNP 预处理+MC 处理后 POD 3 种同工酶活性(I、II、III)均大幅下降,而 SOD 的 I 和 II 2 种同工酶活性有所下降(图 4)。说明 MC 胁迫能够导致 4 种常见抗氧化酶(SOD、POD、APX、CAT)的活性上升,而在 MC 胁迫条件下,外源 NO 只参与调控其中的 3 种(SOD、POD、APX)。

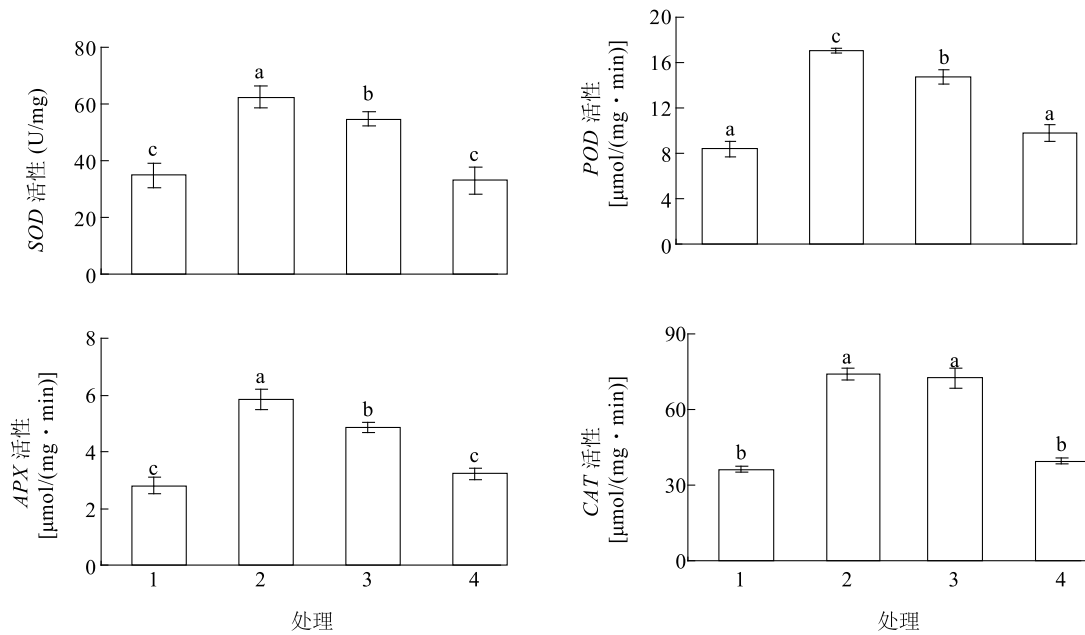
## 2.4 外源 SNP 处理对 MC 胁迫下青菜幼苗体内 AsA 和 GSH 含量的影响

MC 处理诱导青菜幼苗体内 GSH 含量大幅上升,比对照增加了近 4.6 倍;而与单独 MC 处理相比,SNP 预处理+MC 处理后 GSH 含量下降了 25.5%(图 5)。MC 处理诱导青菜幼苗体内 AsA 含量比对照增加了 24.2%,但与单独 MC 处理相比,SNP 预处理+MC 处理后的 AsA 含量并无显著变化(图 5)。说明在 MC 胁迫条件下,外源 NO 参与调控青菜幼苗体内 GSH 而非 AsA 的合成。

## 3 讨论

微囊藻毒素(MC)能够通过诱导氧化胁迫反应引起植物毒害反应,但深入的调控机理需要进一步研究。本研究结果表明:外源 NO 供体 SNP 预处理能够显著缓解 MC 对青菜幼苗株高和鲜重的抑制效

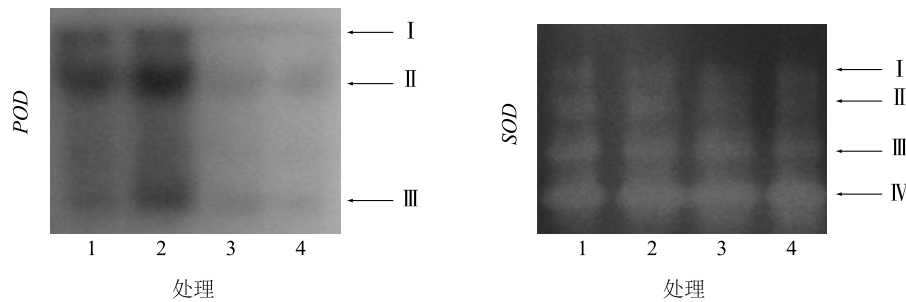




处理 1~4 见图 1 注。不同小写字母表示处理间差异达 0.05 显著水平。

图 3 硝普钠 (SNP) 对微囊藻毒素 (MC) 胁迫下青菜幼苗体内抗氧化酶活性的影响

Fig.3 The effect of SNP on the activity of anti-oxidative enzymes in *B. rapa* seedlings under MC stress



处理 1~4 见图 1 注。I~IV 为同工酶。

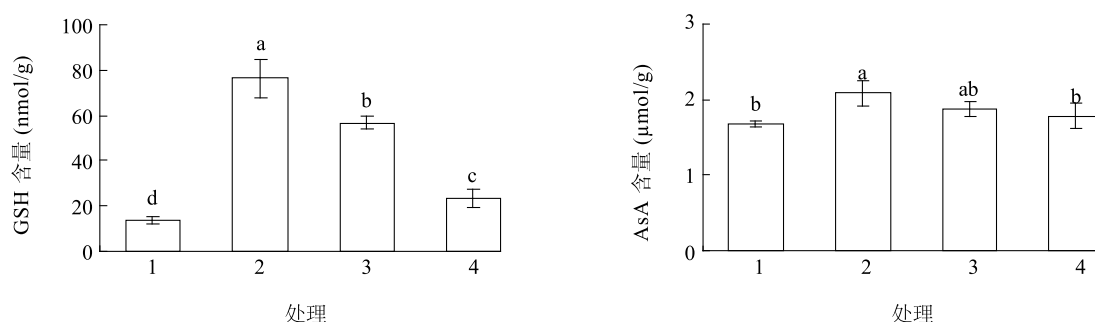
图 4 硝普钠 (SNP) 对微囊藻毒素 (MC) 胁迫下青菜幼苗体内 POD 和 SOD 同工酶活性的影响

Fig.4 The effect of SNP on the isoenzyme activities of POD and SOD in *B. rapa* seedlings under MC stress

应; SNP 预处理能够显著抑制 MC 诱发的青菜幼苗体内 ROS 过量累积; MC 诱发的青菜幼苗体内抗氧化酶 (SOD、POD、APX) 活性和抗氧化物质 GSH 含量的增加, 均可被 SNP 预处理有效缓解。说明外源 NO 能够通过缓解 MC 诱发的氧化胁迫反应, 进而缓解 MC 对青菜幼苗生长的抑制效应。

植物体内 ROS (主要包括超氧阴离子、过氧化氢等) 的过量累积可作为信号激发相应的酶抗氧化和非酶抗氧化系统。将超氧阴离子转化成过氧化氢功能的 SOD 首先被诱导, 紧接着过氧化氢可被

POD、APX、CAT 转换成无毒的水分子<sup>[27]</sup>。在本研究中, SNP 预处理显著降低了 MC 诱导的高水平 ROS 和 SOD, 说明外源 NO 在早期即介入了调控 MC 诱导青菜幼苗产生的氧化胁迫反应。在外界环境胁迫条件下, NADPH 氧化酶是植物体内产生超氧阴离子的主要来源之一<sup>[28]</sup>。NO 可通过直接对 NADPH 氧化酶蛋白质进行转录后修饰, 从而抑制超氧阴离子的产生<sup>[29]</sup>。本试验中 MC 胁迫条件下, NO 是否能够通过类似的方式抑制超氧阴离子的产生, 进而使 SOD 水平下降, 还需要进一步深入研究。



处理 1~4 见图 1 注。不同小写字母表示处理间差异达 0.05 显著水平。

图 5 硝普钠 (SNP) 对微囊藻毒素 (MC) 胁迫下青菜幼苗体内 GSH 和 AsA 含量的影响

Fig. 5 The effect of SNP on the contents of GSH and AsA in *B. rapa* seedlings under MC stress

在被过氧化氢诱导的 3 种主要抗氧化酶中, NO 参与调控其中 2 种, 即 *POD* 和 *APX*。易能等<sup>[20]</sup>和 Yin 等<sup>[30]</sup>研究发现, 油菜和烟草悬浮细胞体内 *POD* 活性随着 MC 处理时间的延长持续上升, 而 *CAT* 只有短暂上升。这说明在 MC 胁迫诱导产生过量 ROS 的条件下, *CAT* 可能并非过氧化氢的主要下游靶标。这也解释了在本研究条件下外源 NO 不参与调控 *CAT* 的可能原因。

在本研究中, 外源 NO 能够调控的抗氧化物质只有 GSH, 而非 AsA。有研究结果表明: MC 胁迫条件下, GSH 除了发挥抗氧化作用以外, 还能够作为第一解毒物质直接与 MC 结合, 从而降低 MC 的生物毒性<sup>[31]</sup>。本试验中外源 NO 能够显著降低 MC 胁迫诱导的高水平 GSH, 说明外源 NO 除了能够通过降低 ROS, 进而减少对 GSH 的诱导, 还极有可能通过调控青菜幼苗减少对 MC 的吸收, 从而起到了降低诱导高水平 GSH 的部分效果。当然, 外源 NO 是否并怎样调控植物对 MC 的吸收还需进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 赵慧慧, 朱光灿, 许丽娟, 等. 蓝藻自然降解特性研究[J]. 江苏农业学报, 2013, 29(2): 312-318.
- [2] 黄 炜. 蓝藻水华 Probit 短期预测模型[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(1): 337-342.
- [3] CAMPOS A, VASCONCELO V. Molecular mechanisms of microcystin toxicity in animal cells[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2010, 11: 268-287.
- [4] PEUTHERT A, PFLUGMACHER S. Influence of the cyanotoxin microcystin-LR on tocopherol in Alfalfa seedlings (*Medicago sativa*) [J]. Toxicon, 2010, 56: 411-417.
- [5] CHEN J, HAN F X, WANG F, et al. Accumulation and phytotoxicity of microcystin-LR in rice (*Oryza sativa*) [J]. Ecotoxicol-

ogy and Environmental Safety, 2012, 76: 193-199.

- [6] M-HAMVAS M, MÁTHÉ C, VASAS G, et al. Cylindrospermopsin and microcystin-LR alter the growth, development and peroxidase enzyme activity of white mustard (*Sinapis alba* L.) seedlings, a comparative analysis [J]. Acta Biologica Hungarica, 2011, 61: 35-48.
- [7] WANG Z, XIAO B, SONG L, et al. Effects of microcystin-LR, linear alkylbenzene sulfonate and their mixture on lettuce (*Lactuca sativa* L.) seeds and seedlings [J]. Ecotoxicology, 2010, 20: 803-814.
- [8] CHEN J, DAI J, ZHANG H, et al. Bioaccumulation of microcystin and its oxidative stress in the apple (*Malus pumila*) [J]. Ecotoxicology, 2010, 19: 796-803.
- [9] PEUTHERT A, CHAKRABARTI S, PFLUGMACHER S. Uptake of microcystins-LR and -LF (cyanobacterial toxins) in seedlings of several important agricultural plant species and the correlation with cellular damage (lipid peroxidation) [J]. Environmental Toxicology, 2007, 22: 436-442.
- [10] PFLUGMACHER S, HOFMANN J, HUBNER B. Effects on growth and physiological parameters in wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in soil and irrigated with cyanobacterial toxin contaminated water [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2007, 26: 2710-2716.
- [11] 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: 1973-1980.
- [12] JIANG J, GU X, SONG R, et al. Microcystin-LR induced oxidative stress and ultrastructural alterations in mesophyll cells of submerged macrophyte *Vallisneria spiralis* (Lour.) Hara [J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 190: 188-196.
- [13] MUR L A J, MANDON J, PERSIJN S, et al. Nitric oxide in plants: an assessment of the current state of knowledge [J]. AoB PLANTS, 2013, 5: 52.
- [14] TIAN Q Y, SUN D H, ZHAO G M, et al. Inhibition of nitric oxide synthase (NOS) underlies aluminum-induced inhibition of root

- elongation in *Hibiscus moscheutos* [J]. *New Phytologist*, 2007, 174:322-331.
- [15] LIU Y, WU R, WAN Q, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase plays a pivotal role in nitric oxide-involved defense against oxidative stress under salt stress in red kidney bean roots[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2007, 48(3):511-522.
- [16] NASIBI F, YAGHOUBI M M, KALANTARI K M. Effect of exogenous arginine on alleviation of oxidative damage in tomato plant underwater stress[J]. *Journal of Plant Interactions*, 2011, 6(4):291-296.
- [17] ZHAO M G, CHEN L, ZHANG L L, et al. Nitric reductase-dependent nitric oxide production is involved in cold acclimation and freezing tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2009, 151:755-767.
- [18] CHEN J, HAN F X, WANG F, et al. Accumulation and phytotoxicity of microcystin-LR in rice (*Oryza sativa*) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2012, 76:193-199.
- [19] 李慧明,薛延丰,易 能,等. 藻毒素对青菜生长的影响及其在幼苗体内的积累[J]. *江苏农业学报*, 2009, 25(3):680-684.
- [20] 易 能,薛延丰,李慧明,等. 微囊藻毒素对油菜幼苗生长及抗氧化酶活性的影响[J]. *西北植物学报*, 2009, 29(6):1207-1213.
- [21] 薛延丰,李慧明,易 能,等. 微囊藻毒素(MC-RR)对白三叶种子萌发及幼苗生理生化特性影响[J]. *草叶学报*, 2009, 18(6):180-185.
- [22] CHEN J, HU L B, ZHOU W, et al. Degradation of microcystin-LR and RR by a *Stenotrophomonas* sp. strain EMS isolated from Lake Taihu, China [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2010, 11:896-911.
- [23] ZHOU Z S, HUANG S Q, GUO K, et al. Metabolic adaptations to mercury-induced oxidative stress in roots of *Medicago sativa* L. [J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2007, 101:1-9.
- [24] CHEN J, SHIYAB S, HAN F X, et al. Bioaccumulation and physiological effects of mercury in *Pteris vittata* and *Nephrolepis exaltata* [J]. *Ecotoxicology*, 2009, 18:110-121.
- [25] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72:248-254.
- [26] FOREMAN J, DEMIDCHIK V, BOTHWELL J H, et al. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth [J]. *Nature*, 2003, 422:442-446.
- [27] APEL K, HIRT H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2004, 55:73-399.
- [28] SUZUKI N, MILLER G, MORALES J, et al. Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2011, 14:691-699.
- [29] YUN B W, FEECHAN A, YIN M, et al. S-nitrosylation of NADPH oxidase regulates cell death in plant immunity [J]. *Nature*, 2011, 478:264-268.
- [30] YIN L, HUANG J, HUANG W, et al. Microcystin-RR-induced accumulation of reactive oxygen species and alteration of antioxidant systems in tobacco BY-2 cells [J]. *Toxicon*, 2005, 46:507-512.
- [31] PLUGMACHER S, WIEGAND C, OBEREMM A, et al. Identification of an enzymatically formed glutathione conjugate of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR: the first step of detoxication [J]. *BBA-GEN Subjects*, 1998, 1425:527-533.

(责任编辑:张震林)