

易 能, 薛延丰, 石志琦, 等. 微囊藻毒素对水稻种子萌发和幼苗生长的胁迫作用[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(4): 729-735.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2016.04.003

微囊藻毒素对水稻种子萌发和幼苗生长的胁迫作用

易 能¹, 薛延丰², 石志琦², 陈 健²

(1. 江苏省农业科学院农业资源与环境研究所, 江苏 南京 210014; 2. 江苏省农业科学院食品质量与安全检测研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 为了明确微囊藻毒素污染的农用灌溉水对水稻生长的潜在威胁, 研究了微囊藻毒素 MC-LR 对水稻种子萌发和水稻幼苗生长的影响。结果显示: 低浓度 MC-LR (0.05~1.00 $\mu\text{g/ml}$) 对水稻种子萌发无显著影响, 高浓度 MC-LR (5.00 $\mu\text{g/ml}$) 则显著抑制种子萌发 ($P<0.05$); 水稻种子淀粉酶活性随着 MC-LR 处理浓度的升高而逐渐降低 ($P<0.05$); 随着 MC-LR 处理浓度的升高, MC-LR 在水稻幼苗体内的累计量逐渐升高, 但生物富集系数逐渐降低, 水稻幼苗地下部分的 MC-LR 累积量高于地上部; MC-LR 处理显著抑制水稻幼苗的生长 ($P<0.05$), 且水稻幼苗的长势与其体内累积的 MC-LR 量呈显著负相关 ($P<0.05$); 0.05 $\mu\text{g/ml}$ 的 MC-LR 处理不影响水稻幼苗体内 MDA 含量和抗氧化酶 (*SOD*、*CAT*、*POD*) 的活性, 而 0.10~5.00 $\mu\text{g/ml}$ 的 MC-LR 处理则导致上述生化指标的显著上升。表明, MC-LR 胁迫能够抑制水稻种子萌发, 并在水稻幼苗体内显著累积, 诱导氧化损伤, 抑制幼苗生长。

关键词: 微囊藻毒素; 水稻; 淀粉酶; 氧化损伤; 生物富集系数

中图分类号: X524 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2016)04-0729-07

Inhibitory effect of microcystins on seed germination and seedling growth of rice

YI Neng¹, XUE Yan-feng², SHI Zhi-qi², CHEN Jian²

(1. Institute of Agricultural Resources and Environment, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Institute of Food Quality Safety and Detection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: To investigate the potential risk of microcystin-contaminated water on the growth of rice, the effect of MC-LR on seed germination and seedling growth of rice was investigated. MC-LR at low concentration (0.05-1.00 $\mu\text{g/ml}$) exhibited no influence on the germination of rice seed while MC-LR at high concentration (5.00 $\mu\text{g/ml}$) significantly inhibited the germination ($P<0.05$). Treatment with MC-LR significantly inhibited the activity of amylase in rice seed in a dose-dependent manner ($P<0.05$). The increase in MC-LR concentration resulted in the increase in MC-LR concentration in rice seedlings but the decrease in bioconcentration factor of MC-LR in rice seedlings. The roots accumulated more MC-LR

than shoots. Treatment with MC-LR remarkably inhibited the growth of rice seedlings ($P<0.05$), and a significantly negative correlation was found between MC-LR concentration in seedlings and the growth of seedlings ($P<0.05$). The oxidative indices, such as MDA concentration and the activities of antioxidative enzymes (*SOD*, *CAT*, and *POD*), were not affected by MC-LR at low concentra-

收稿日期: 2015-11-10

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: 易 能 (1984-), 女, 湖南邵阳人, 博士, 副研究员, 主要从事水体系面源污染治理的基础研究。(E-mail) yineng5288ys@163.com

通讯作者: 陈 健, (E-mail) dreamchenjian@163.com

tion (0.05 $\mu\text{g/ml}$). However, MC-LR at 0.10-5.00 $\mu\text{g/ml}$ significantly induced the increase in the oxidative indices. Taken together, MC-LR stress inhibited seed germination and seedling growth of rice by decreasing the activity of amylase in rice seed and inducing oxidative injury in rice seedling.

Key words: microcystin (MC-LR); rice; amylase; oxidative injury; bioconcentration factor

中国水体富营养化程度日益加剧,著名的三湖(太湖、巢湖、滇池)蓝藻水华爆发的频率和面积呈逐年上升趋势。例如,夏季太湖蓝藻水华面积高达太湖总面积的2/5^[1]。蓝藻水华不仅造成季节性水环境污染^[2],更为严峻的问题是蓝藻能够分泌微囊藻毒素(Microcystin, MC)^[3]。微囊藻毒素是一类由7个氨基酸组成的环状多肽化合物毒素。氨基酸组成的差异造成微囊藻毒素存在多种异构体,其中MC-LR是普遍存在、被研究最多、且毒性最强的一种。微囊藻毒素被世界卫生组织定义为与肝炎病毒、黄曲霉毒素并列的三大致肝癌因子^[4]。作为广泛存在于富营养化湖泊及其灌溉流域中的污染物,微囊藻毒素可通过动植物吸收进入食物链,进而造成食品安全风险^[5-6]。国内外的研究表明,微囊藻毒素能够在多种植物中积累并抑制植物生长^[7-14]。Peuthert等^[13]用MC-LR处理11种农作物幼苗,发现MC-LR对植物的毒性作用可能与其诱导的氧化损伤有关。

微囊藻毒素污染严重的太湖及其分支流域是江苏和浙江两省农用灌溉水的重要来源。而采用藻毒素污染的富营养化水体作为农用灌溉水,造成微囊藻毒素在农作物中积累,已成为不可忽视的安全隐患。依赖于长三角湖区(太湖、巢湖)水体进行浇灌的稻作区是中国南方水稻产区的重要组成部分,水稻根系在生长过程中极有可能长期浸泡于富营养化的灌溉水中,由此引发的安全风险急需引起重视。本试验以水稻这一主粮作物为材料,拟研究微囊藻毒素处理对种子萌发和幼苗生长的影响,探讨MC-LR在水稻幼苗体内的累计量与其诱发的毒理效应(生长和氧化损伤)之间的相关性,旨在为蓝藻水华地区农作物的安全生产风险评估提供部分理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

供试水稻品种为86优8号(由江苏丰庆种业有限公司生产);野外微囊藻干藻粉购于中国科学院

水生生物研究所;MC-LR标准品购于Sigma-Aldrich公司;生理生化测定相关试剂和试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 试验方法

1.2.1 微囊藻毒素的制备与MC-LR含量测定 称取0.2 g干藻粉加入到80%的甲醇中,超声1 h破碎藻细胞,离心去沉淀(12 000 r/min, 12 min, 4 $^{\circ}\text{C}$),上清液旋转蒸干去甲醇,调节pH到2.0~4.0并离心(12 000 r/min, 12 min, 4 $^{\circ}\text{C}$)去除杂质蛋白,过0.2 μm 滤膜,调节pH=7.0, 121 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌15 min,用蒸馏水定容。将毒素粗提液过Sep-Pak C18柱,操作步骤如下:5 ml 甲醇润洗,5 ml 单蒸水润洗,上样,2 ml 单蒸水洗脱,2 ml 20%甲醇洗脱,最后用2 ml 70%甲醇洗脱收集MCs。用LC/MS法测定MC-LR含量。液质联用仪型号:液相HP1200,质谱6410, Triple Quad。LC/MS液质条件参考Chen等^[15]的方法。经测定干藻粉提取的微囊藻毒素粗提液中的MC-LR的浓度为8.00 $\mu\text{g/ml}$ 。

1.2.2 水稻幼苗中MC-LR的提取与含量测定 将稀释后的不同浓度(0 $\mu\text{g/ml}$ 、0.05 $\mu\text{g/ml}$ 、0.10 $\mu\text{g/ml}$ 、0.50 $\mu\text{g/ml}$ 、1.00 $\mu\text{g/ml}$ 、5.00 $\mu\text{g/ml}$)的MC-LR处理14 d后,分别称取0.5~1.0 g水稻根和茎叶样品,用蒸馏水洗涤3次,并用滤纸吸干表面水分,加入2 ml 80%甲醇研磨后超声破碎,离心(12 000 r/min, 12 min, 4 $^{\circ}\text{C}$)后取上清液,后续处理与测定方法参照1.2.1。以单位鲜质量根或茎叶组织内累积的MC-LR浓度与MC-LR处理浓度之比计算MC-LR在水稻幼苗体内的富集系数^[13]。

1.2.3 水稻种子发芽试验和幼苗处理 发芽试验方法参考GB/T 3543.4-1995《农作物种子检验规程》进行。水稻种子用0.3%的 H_2O_2 消毒后用蒸馏水洗净,挑选均一、饱满的种子用相应浓度的MC-LR浸种12 h,置于铺3层滤纸的培养皿(直径15 cm)中,每皿100粒,设置3个重复。MC-LR处理浓度分别为:0 $\mu\text{g/ml}$ 、0.05 $\mu\text{g/ml}$ 、0.10 $\mu\text{g/ml}$ 、0.50 $\mu\text{g/ml}$ 、1.00 $\mu\text{g/ml}$ 、5.00 $\mu\text{g/ml}$ 。温度(27 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 。光照度300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光周期12 h。各处理每

天更换 20 ml MC-LR 处理液,使滤纸完全浸湿,以保持 MC-LR 浓度恒定。处理 14 d 后,取样用于生理生化等指标测定。根据发芽试验期间的记录,计算各项发芽指标:发芽势(GE)=前 3 d 发芽种子数/种子总数 $\times 100\%$;发芽率(GP)=第 7 d 发芽种子数/种子总数 $\times 100\%$ 。处理 14 d 后,每皿随机选取 10 棵生长较为一致的幼苗测量根长、株高、鲜质量,称鲜质量后烘干至恒质量,然后称其干质量。水稻组织样品经蒸馏水洗涤 3 次,吸干表面水分后按照方法 1.2.2 测定其中的 MC-LR 含量。

1.2.4 水稻种子淀粉酶活性的测定 采用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)法测定不同浓度 MC-LR 处理 7 d 后种子总淀粉酶和 α -淀粉酶活性。称取 1 g 萌发水稻种子,分 3 次共加入 6 ml 蒸馏水研磨,室温放置 15~20 min,期间搅拌 5 次。3 000 r/min 离心 10 min,取上清液定容至 100 ml。取 1 ml 淀粉酶提取液 70 °C 水浴 15 min,冷却后加入 2 ml DNS (0.01 g/ml),40 °C 水浴 10 min。然后加入 1 ml 淀粉溶液(1%),40 °C 水浴 5 min。冷却后蒸馏水定容至 20 ml,测定 540 nm 吸光值。以梯度稀释的麦芽糖制作标准曲线,用以计算总淀粉酶和 α -淀粉酶活力。 β -淀粉酶活性根据淀粉酶和 α -淀粉酶活性的差值计算而得^[16]。

1.2.5 水稻幼苗体内丙二醛(MDA)含量和抗氧化酶活力测定 MDA 含量测定参照 McCord 等^[17]的方法,称取处理后水稻幼苗样品 1.0 g 至研钵中,加入少量石英砂和 5 ml 10%三氯乙酸(TCA)2 ml,研磨至匀浆,再加 8 ml 10%三氯乙酸进一步研磨,转入到 15 ml 的离心管中,以 4 000 r/min 离心 10 min,上清液为丙二醛提取液。以蒸馏水为对照,取 2 ml 上清液加入 2 ml 0.6%硫代巴比妥酸(TBA)溶液。摇匀,在沸水浴中反应 15 min,迅速冷却后再离心。分别在 532 nm、600 nm 和 450 nm 波长下测定吸光值 A_{532} 、 A_{600} 、 A_{450} ,根据以下公式计算 MDA 含量:MDA 含量 ($\mu\text{mol/g}$, FW) = $[6.45 \times (A_{532} - A_{600}) - 0.56A_{450}] \times V / (1\,000 \times W)$ 。W 表示水稻幼苗鲜质量。

抗氧化酶活性测定参照 Xue 等^[18]和 Chen 等^[19]的方法。称取处理后水稻幼苗样品 1.0 g,加入 5 ml 预冷的 0.05 mol/L pH=7.8 的磷酸缓冲液(内含 1% 聚乙烯吡咯烷酮),冰浴研磨,4 °C 下 10 000 r/min 离心 20 min,上清液即为粗酶液。超

氧化物歧化酶(SOD)测定采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法测定,3 ml 反应体系包括:磷酸缓冲液(50 mmol/L, pH 7.8),13.0 mmol/L 蛋氨酸,2 $\mu\text{mol/L}$ 核黄素,75 $\mu\text{mol/L}$ 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,抑制 NBT 光化还原的 50% 为一个 SOD 活性单位(U)。过氧化物酶(POD)测定采用愈创木酚法,1.5 ml 反应体系包括磷酸缓冲液(100.0 mmol/L, pH 7.8),7.2 mmol/L 愈创木酚,1% (质量体积比)过氧化氢,20~30 μl 酶液。加入酶液开始反应,立即记录 470 nm 吸光值,以每分钟内 A_{470} 变化 0.01 作为一个 POD 活性单位(U)。过氧化氢酶(CAT)采用过氧化氢法测定,50 μl 酶液加入到含有 0.1% (质量体积比)过氧化氢的磷酸缓冲液中(50 mmol/L, pH 7.0)开始反应,立即记录 240 nm 处吸光值的变化,以每分钟内 A_{240} 变化 0.01 为一个 CAT 活性单位(U)。测定并计算所有酶活性然后除以相应样品中的蛋白含量得出比活力。酶液中的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^[20]。

1.3 数据统计分析

结果采用 3 次重复的平均值 \pm 标准差表示,首先采用 SPSS 2.0 对试验数据进行单因素方差分析(ANOVA),然后进行 F 检验检测不同处理之间在 $P < 0.05$ 水平的差异显著性。采用 Excel 中的“CORREL”程序和回归检验来分析两组变量之间的相关性,相关系数 r 值位于 -1.00~-0.80 或 0.80~1.00,且 $P < 0.05$,则表示两组变量之间为显著负相关或显著正相关。

2 结果

2.1 微囊藻毒素处理对水稻种子萌发和幼苗生长的影响

由表 1 可知,用浓度为 0.05~1.00 $\mu\text{g/ml}$ 的 MC-LR 处理后,水稻种子发芽率、发芽势与对照组差异不显著,说明低浓度 MC-LR 对水稻种子萌发无显著影响;而高浓度 MC-LR (5.00 $\mu\text{g/ml}$) 处理显著抑制了水稻种子的发芽率和发芽势。水稻幼苗的长势受 MC-LR 处理影响严重,随着 MC-LR 处理浓度的增加,水稻幼苗的株高、根长、鲜质量逐渐显著降低(表 1)。1.00 $\mu\text{g/ml}$ 的 MC-LR 处理后,水稻幼苗的株高、根长、鲜质量分别比对照下降了

19.20%、6.64%、11.82%，差异显著；而 5.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 MC-LR 处理后，水稻株高、根长、鲜质量分别比对照下降了 34.39%、56.64%、43.37%，差异显著。

0.05~1.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 MC-LR 处理对水稻幼苗干质量无显著影响，高浓度 (5.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$) MC-LR 处理的水稻幼苗干质量比对照下降了 46.67%。

表 1 不同浓度 MC-LR 处理对水稻种子萌发和幼苗生长的影响

Table 1 The effect of MC-LR treatment with different concentrations on seed germination seedling growth of rice

MC-LR 浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	发芽率 (%)	发芽势 (%)	株高 (cm)	根长 (cm)	鲜质量 (mg)	干质量 (mg)
0	94.24 \pm 0.52a	37.88 \pm 3.78a	5.38 \pm 1.64ab	5.72 \pm 1.17a	41.20 \pm 5.21a	6.00 \pm 0.60a
0.05	92.73 \pm 0.91a	35.15 \pm 2.62a	5.90 \pm 1.29a	6.62 \pm 1.48a	46.73 \pm 5.14a	7.93 \pm 1.51a
0.10	92.42 \pm 1.89a	37.58 \pm 1.38a	5.62 \pm 0.63abc	6.27 \pm 1.22ab	41.33 \pm 6.53ab	6.87 \pm 1.03a
0.50	93.94 \pm 0.52a	30.91 \pm 2.72a	4.96 \pm 0.13c	6.45 \pm 0.38ab	37.67 \pm 1.72b	6.80 \pm 0.60a
1.00	90.91 \pm 1.57a	30.61 \pm 7.29a	4.35 \pm 0.07c	5.34 \pm 0.08b	36.33 \pm 4.39b	6.13 \pm 0.58a
5.00	72.12 \pm 4.57b	6.97 \pm 2.77b	3.53 \pm 0.27c	2.48 \pm 0.29c	23.33 \pm 2.58c	3.20 \pm 0.20b

同一列数据后不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平差异显著。

2.2 微囊藻毒素在水稻幼苗生长中的累积

如表 2 所示，单位鲜质量水稻茎叶和根中 MC-LR 含量都随着 MC-LR 处理浓度的增加而增加，茎叶中 MC-LR 含量显著低于根中 MC-LR 含量。当 MC-LR 处理浓度为 0.05~0.50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时，茎叶中 MC-LR 累积量差异不显著，而在 1.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 5.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 MC-LR 处理浓度下茎叶中藻毒素累积量急剧上升，显著高于其他 MC-LR 浓度处理。在水稻幼苗根中，低浓度 MC-LR (0.05~0.10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 处理的微囊藻毒素累积量均在 1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$, FW 以下，而当 MC-LR 处理浓度为 0.50

$\mu\text{g}/\text{ml}$ 、1.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、5.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时，MC-LR 累积量达到了 3.91 $\mu\text{g}/\text{kg}$, FW、6.09 $\mu\text{g}/\text{kg}$, FW、15.54 $\mu\text{g}/\text{kg}$, FW，显著高于低浓度处理的累积量。生物富集系数的变化趋势则与单位鲜质量水稻中 MC-LR 累积量相反，随着 MC-LR 处理浓度的增加而降低 (表 2)。其中，各处理茎叶 MC-LR 生物富集系数差异不显著；根对 MC-LR 的生物富集系数在 MC-LR 处理浓度为 1.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 5.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时分别为 6.09 和 3.11，显著低于 MC-LR 浓度为 0.05~0.50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时的生物富集系数。

表 2 MC-LR 在水稻幼苗体内累积量和生物富集系数

Table 2 The accumulation of MC-LR in rice seedlings and its bioconcentration factor (BCF)

MC-LR 浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	MC-LR 累积量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$, FW)		MC-LR 生物富集系数	
	茎叶	根	茎叶	根
0	0	0	0	0
0.05	0.06 \pm 0.02c	0.42 \pm 0.05d	1.28 \pm 0.46a	8.47 \pm 1.00a
0.10	0.12 \pm 0.02c	0.84 \pm 0.02d	1.15 \pm 0.15a	8.43 \pm 0.16a
0.50	0.36 \pm 0.10c	3.91 \pm 0.93c	0.71 \pm 0.20ab	7.82 \pm 1.86a
1.00	0.83 \pm 0.08b	6.09 \pm 0.70b	0.83 \pm 0.08ab	6.09 \pm 0.70b
5.00	3.40 \pm 0.35a	15.54 \pm 1.97a	0.68 \pm 0.07ab	3.11 \pm 0.40c

同一列数据后不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平差异显著。

相关性分析显示，水稻幼苗茎叶 MC-LR 的累积量与幼苗株高显著负相关 ($r = -0.8400^*$, $P = 0.0360$)

(图 1A)；幼苗根中 MC-LR 的累积量与幼苗根长亦显著负相关 ($r = -0.9300^*$, $P = 0.0070$) (图 1B)。

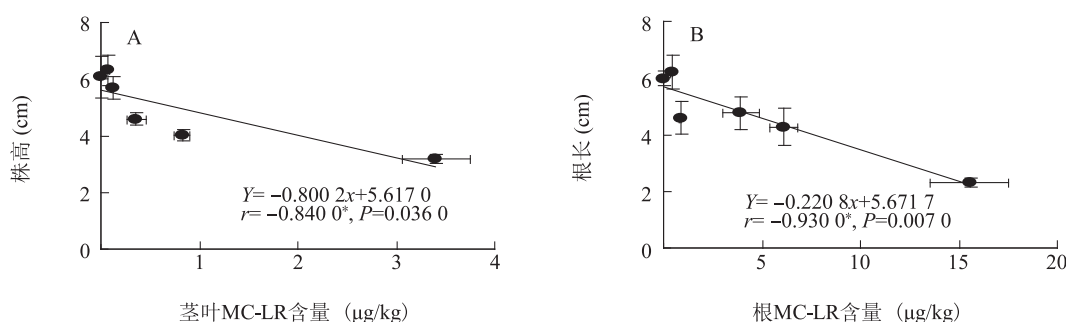


图1 水稻幼苗体内 MC-LR 累积量与水稻幼苗长势之间的相关性

Fig.1 The correlation between MC-LR concentration in rice seedlings and the growth of rice seedlings

2.3 微囊藻毒素处理对水稻种子萌发时淀粉酶活性的影响

低浓度 MC-LR ($0.05 \mu\text{g/ml}$) 处理后,水稻种子淀粉酶活性较未处理组略有上升,但随着 MC-LR 处理浓度的增加,淀粉酶活性逐渐下降。当 MC-LR 处理浓度达到 $5.00 \mu\text{g/ml}$ 时,总淀粉酶、 α -淀粉酶、 β -淀粉酶活性分别比各自对照显著下降了 40.80%、28.04%、60.96% (图 2)。

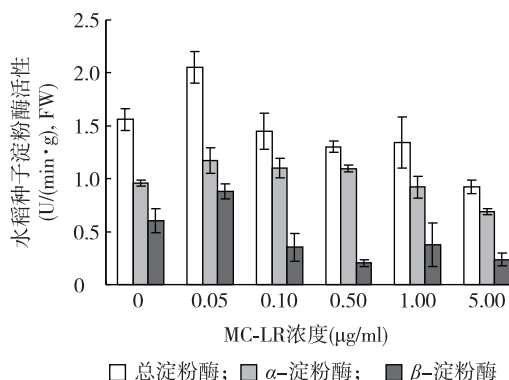


图2 MC-LR 处理对水稻种子淀粉酶活性的影响

Fig.2 The effect of MC-LR treatment on the activity of amylase in rice seeds

2.4 微囊藻毒素处理对水稻幼苗 MDA 含量及抗氧化酶活性的影响

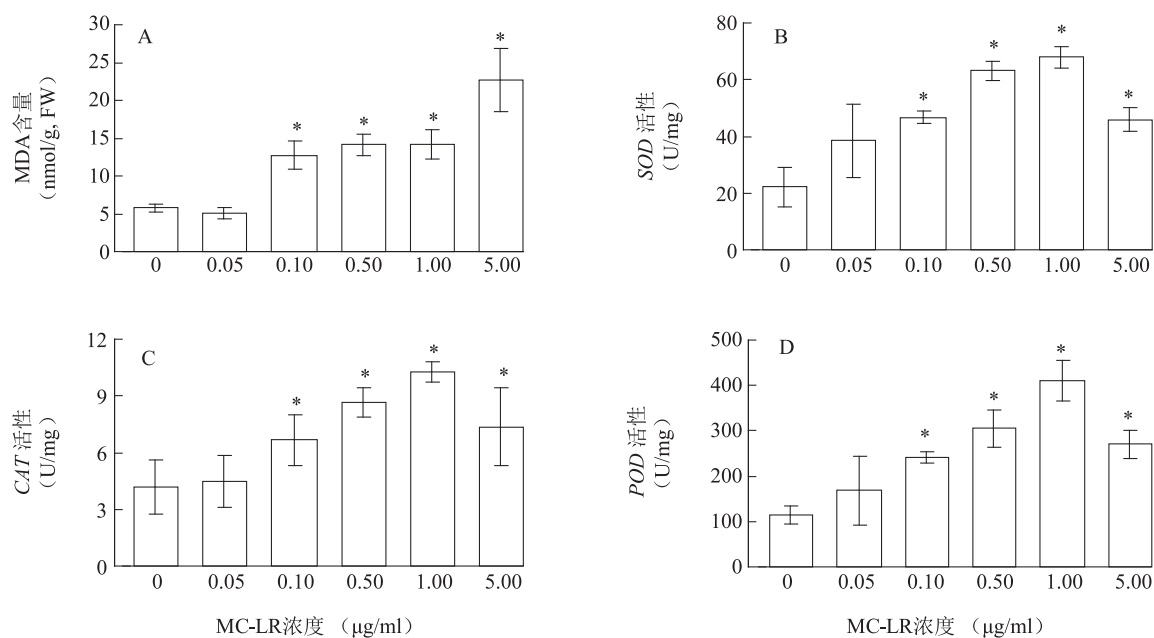
MDA 含量是植物细胞氧化损伤的典型指标。在本研究中, $0.05 \mu\text{g/ml}$ 的 MC-LR 处理对水稻幼苗体内 MDA 含量无显著影响 (图 3A);随着 MC-LR 处理浓度的升高,MDA 含量显著上升。当 MC-LR 处理浓度为 $5.00 \mu\text{g/ml}$ 时,水稻幼苗中的 MDA 含量达到最大值,为对照的 3.94 倍 (图 3A)。 $0.05 \mu\text{g/ml}$ 的 MC-LR 处理对水稻幼苗 3 种抗氧化酶

(*SOD*、*CAT*、*POD*) 活性影响不显著 (图 3B、图 3C、图 3D);随着 MC-LR 处理浓度的升高,3 种酶的活性逐渐上升,在 $1.00 \mu\text{g/ml}$ 的 MC-LR 处理下达到峰值,*SOD*、*CAT*、*POD* 活性分别比各自对照显著增加了 107.28% (图 3B)、76.05% (图 3C)、136.22% (图 3D)。MC-LR 的处理浓度继续升高至 $5.00 \mu\text{g/ml}$ 时,3 种酶的活力开始下降,但仍显著高于各自对照。

3 讨论

将微囊藻毒素污染的水体作为稻田灌溉水,其潜在风险需要进一步研究。本研究结果显示:高浓度 MC-LR 处理能够抑制水稻种子萌发,可能与淀粉酶活性下降有关;MC-LR 能够在水稻幼苗内显著累积,且累积量与水稻幼苗的生长显著负相关;MC-LR 处理能够诱导水稻幼苗体内 MDA 含量和抗氧化酶 (*SOD*、*CAT*、*POD*) 活性的显著升高。这些结果表明:MC-LR 对水稻种子和幼苗都具有明显的毒害效应,MC-LR 能够在水稻幼苗体内有效累积并诱发氧化损伤。

种子萌发是作物生长发育的起点,也最容易受到环境胁迫。我们的前期研究结果显示青菜种子的发芽率和发芽势对 MC-LR 较为敏感^[10],而本研究结果表明水稻种子对 MC-LR 胁迫不敏感,只有在高浓度 ($5.00 \mu\text{g/ml}$) 处理时发芽才受影响。这说明不同农作物种子对 MC-LR 胁迫的耐受力不同。在种子萌发过程中,种子内淀粉酶催化淀粉水解,为作物幼苗的形态建成和生长发育提供主要的物质和能量来源^[21]。因此,淀粉酶活力的大小是种子萌发的重要指标。在本研究中,高浓度 MC-LR 显著抑制



* 表示处理与对照在 0.05 水平差异显著。

图 3 MC-LR 处理对水稻幼苗 MDA 含量和抗氧化酶活性的影响

Fig.3 The effect of MC-LR treatment on MDA concentration and the activities of antioxidative enzymes in rice seedlings

水稻种子淀粉酶活性,这很可能是其影响水稻种子萌发的重要原因之一。有研究显示,种子内的 β -淀粉酶在响应外界环境胁迫方面发挥重要作用^[16]。在本研究中,高浓度 MC-LR 胁迫下, β -淀粉酶活性的下降程度大于 α -淀粉酶,也说明 β -淀粉酶对 MC-LR 胁迫的响应更为敏感。

MC-LR 在水稻幼苗体内的累积量与幼苗的长势显著负相关,说明累积到幼苗体内的 MC-LR 诱发了毒性反应。生物富集系数随着 MC-LR 处理浓度的增加显著下降,这主要是由于高浓度 MC-LR 严重抑制了水稻幼苗生长,引起了代谢紊乱,从而影响了水稻幼苗对 MC-LR 的吸收效率。虽然水稻幼苗地下部对 MC-LR 的累积量显著高于地上部,但地上部仍累积了相当量的 MC-LR。这说明吸收到水稻幼苗根中 MC-LR 能够被进一步转运到地上部,这与 MC-LR 在其他作物中的吸收和累积规律类似^[7-11]。王妮敏等^[22]的研究结果表明,1.00~3.00 µg/ml 的 MC-LR 处理能够通过诱发氧化胁迫反应对水稻根系造成不可逆伤害。我们的研究结果显示,0.10~1.00 µg/ml 的 MC-LR 处理即可诱导水稻幼苗 MDA 含量的显著上升,从而发生脂质过氧化反应。外界环境胁迫经常通过诱导植物细胞产生过量活性氧,

进而引起包括脂质过氧化反应在内的氧化胁迫反应;同时植物细胞中的抗氧化酶系统亦会启动来响应氧化胁迫反应^[23-24]。本研究结果显示:3 种典型的抗氧化酶 (SOD、CAT、POD) 活性随着 MC-LR 处理浓度的增加而逐渐升高。这也说明虽然累积到幼苗地上部的 MC-LR 少于地下部,但仍足以引起氧化胁迫反应。然而高浓度 MC-LR (5.00 µg/ml) 处理的抗氧化酶活性较峰值稍微有所下降,原因可能在于此浓度 MC-LR 处理下 MDA 含量达到峰值,诱发了严重的脂质过氧化反应和膜受损,植物生理稳态受到严重影响。目前,关于 MC-LR 诱导植物产生氧化胁迫反应的机理尚不明晰。在水生动物研究中已经阐明 MC-LR 主要通过引起过磷酸化反应对抗氧化酶进行转录后修饰,进而影响酶的活性,导致氧化胁迫反应的产生^[25]。那么,MC-LR 是否通过类似的作用机制来诱发植物细胞的氧化胁迫反应还需要进一步的深入研究。

参考文献:

- [1] DUAN H, MA R, XU X, et al. Two-decade reconstruction of algal blooms in China's Lake Taihu[J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43:3522-3528.
- [2] MAO X W, XU F, XU B, et al. Changes of water quality and eu-

- trophication in Taihu Lake [J]. Water Resources Protection, 2009, 25:48-51.
- [3] XIAO F G, ZHAO X L, TANG J, et al. Determination of microcystin-LR in water from Lake Tai, China[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2009, 82:230-233.
- [4] CAMPOS A, VASCONCELOS V. Molecular mechanisms of microcystin toxicity in animal cells[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2010, 11:268-287.
- [5] 胡乐琴,吴春燕,杨秀文,等. 微囊藻毒素 ELISA 检测方法的建立与评估[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(9): 340-343.
- [6] DITTMANN E, WIEGAND C. Cyanobacterial toxins occurrence, biosynthesis and impact on human affairs[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2006, 50:7-17.
- [7] MOHAMED Z A, SHEHRI A M. Microcystins in groundwater wells and their accumulation in vegetable plants irrigated with contaminated waters in Saudi Arabia[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 172:310-315.
- [8] 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, 43:393-400.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] WANG Z, XIAO B, SONG L, et al. Effects of microcystin-LR, linear alkyl benzene sulfonate and their mixture on lettuce (*Lactuca sativa* L.) seeds and seedlings[J]. Ecotoxicology, 2011, 20:803-814.
- [12] CRUSH J R, BRIGGS L R, SPROSEN J M, et al. Effect of irrigation with lake water containing microcystin on the content and growth of ryegrass, clover, rape, and lettuce[J]. Environmental Toxicology, 2008, 23:246-252.
- [13] 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.
- [14] JÄRVENPÄÄ S, LUNDBERG-NINISTÖ C, SPOOF L, et al. Effects of microcystins on broccoli and mustard, and analysis of accumulated toxin by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Toxicon, 2007, 49:865-874.
- [15] 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.
- [16] ZHANG H, TAN Z Q, HU L Y, et al. Hydrogen sulfide alleviates aluminum toxicity in germinating wheat seedlings[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2010, 52(6): 556-567.
- [17] MCCORD J M, FRIDOVICH I. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte (hemocytin) [J]. Journal of Biological Chemistry, 1969, 244(22): 6049-6055.
- [18] XUE Y F, LIU L, LIU Z P, et al. Protective role of Ca against NaCl toxicity in *Jerusalem artichoke* by up-regulation of antioxidant enzymes[J]. Pedosphere, 2008, 18(6): 766-774.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] NURATA T, AKAZAWA T, FUKUCHI S. Enzymic mechanism of starch breakdown in germinating rice seeds I. an analytical study [J]. Plant Physiology, 1968, 43(12): 1899-1905.
- [22] 王妮敏,邓 珂,邹 华,等. 微囊藻毒素对水稻根系生长和抗氧化系统的影响[J]. 环境科学, 2014(4): 1468-1472.
- [23] GILL S S, TUTEJA N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48: 909-930.
- [24] 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.
- [25] AMADO L L, MONSERRAT J M. Oxidative stress generation by microcystins in aquatic animals: why and how[J]. Environmental International, 2010, 36: 226-235.

(责任编辑:陈海霞)