

网络出版时间:2021-03-12 13:38 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2021.09.015
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20210311.1546.014.html

微囊藻毒素-LR 慢性暴露对水雍菜光合生理的影响

陈国元,廖腾芳,李青松

(厦门理工学院 环境科学与工程学院, 福建 厦门 361024)

【摘要】【目的】研究环境相关浓度微囊藻毒素-LR(MC-LR)慢性胁迫对水雍菜(*Ipomoea aquatica*)叶片光合系统的影响,为阐明低质量浓度 MC-LR 慢性暴露对水雍菜生长的影响机制提供理论依据。【方法】以含不同质量浓度(0(CK),1,10,30 $\mu\text{g/L}$)MC-LR 的营养液培养水雍菜 30 d,通过小雍菜叶片叶绿素 SPAD 值、叶绿素荧光参数、 H_2O_2 含量、1,5-二磷酸核酮糖羧化酶(Rubisco)及 Rubisco 活化酶(RCA)活性的变化,分析 MC-LR 慢性暴露对水雍菜叶片光合生理的影响。【结果】MC-LR 慢性暴露 30 d 后,与对照组相比,1 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组水雍菜叶片的光合参数均无显著变化;10 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组中,Rubisco 及 RCA 活性显著降低, H_2O_2 含量和非光化学淬灭系数(q_N)显著上升,而叶绿素 SPAD 值、光系统 II (PS II)最大量子产量(F_v/F_m)和 PS II 有效量子产量($\Phi\text{PS II}$)无显著变化;30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组中, H_2O_2 含量显著上升,而叶绿素 SPAD 值、 F_v/F_m 、 $\Phi\text{PS II}$ 、光化学淬灭系数(q_P)及 Rubisco、RCA 活性均显著降低。【结论】1 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 暴露对水雍菜叶片光合生理无显著影响;10 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 暴露下,叶片通过增加热耗散来保护光合机构,但 MC-LR 对光合酶活性产生抑制从而对叶片光合活性产生影响;30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 暴露会抑制叶片光合系统对光能的转化效率、降低了叶片的光合酶活性,从而对水雍菜的光合能力产生不良影响。

【关键词】 微囊藻毒素;慢性暴露;水雍菜;光合系统

【中图分类号】 S645.91

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2021)09-0129-08

Effects of chronic exposure to microcystin-LR on photosynthetic physiology of *Ipomoea aquatica*

CHEN Guoyuan, LIAO Tengfang, LI Qingsong

(College of Environment Science and Engineering, Xiamen University of Technology, Xiamen, Fujian 361024, China)

Abstract: 【Objective】The chronic effects of microcystin-LR (MC-LR) at environmental relevant concentrations on photosynthesis of *Ipomoea aquatica* were studied to elucidate mechanism of low concentrations MC-LR exposure on growth of *Ipomoea aquatica*. 【Method】After incubation for 30 days in nutrient solution containing MC-LR at different concentrations (0 (CK), 1, 10, 30 $\mu\text{g/L}$), the changes in chlorophyll SPAD values, chlorophyll fluorescence parameters, H_2O_2 contents, Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase (Rubisco) and Rubisco activase (RCA) activities were analyzed to investigate the effects of MC-LR on photosynthesis of *Ipomoea aquatica*. 【Result】After exposure to 1 $\mu\text{g/L}$ MC-LR for 30 days, there was no significant changes in photosynthetic parameters in leaves. After exposure to 10 $\mu\text{g/L}$ MC-LR activities of Rubisco and RCA decreased significantly, contents of H_2O_2 and q_N increased significantly, while SPAD values of chlorophyll, F_v/F_m and $\Phi\text{PS II}$ had insignificant changes. After exposure to 30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR, contents of H_2O_2 increased significantly, while SPAD values of chlorophyll, F_v/F_m , $\Phi\text{PS II}$ and q_P , and activities of Rubisco and RCA decreased significantly. 【Conclusion】Exposure to 1 $\mu\text{g/L}$ MC-LR had no significant effect on photosynthetic physiological characteristics in leaves of *Ipomoea aquatica*. After exposure to 10 $\mu\text{g/L}$ MC-LR, leaves

【收稿日期】 2020-09-09

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(51878582);厦门理工学院科研攀登计划项目(XPDKT19026)

【作者简介】 陈国元(1980—),男,湖北襄阳人,副研究员,主要从事污染水体生态修复研究。E-mail:chengy@xmut.edu.cn

protected photosynthetic apparatus by increasing heat dissipation, but MC-LR inhibited activities of photosynthetic enzymes and affected photosynthetic activity of *Ipomoea aquatica*. Exposure to 30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR inhibited transformation of light energy in photosynthetic system and decreased activities of photosynthetic enzymes, which had a negative effect on photosynthetic capacity of *Ipomoea aquatica*.

Key words: microcystin; chronic exposure; *Ipomoea aquatica*; photosynthetic system

近几十年来,水体富营养化已成为全球主要的环境问题之一。但从资源的角度看,富营养化水体也是一种不可多得的农业资源。如何在有效治理水体富营养化的同时,合理利用这些富营养化水体资源进行农业生产,是迫切需要研究解决的问题。水生植物不仅可以吸收水中的氮和磷,抑制藻类生长^[1-2],还可以提高水体的自净能力,种植水生植物可以作为富营养化水体修复的主要生物调控措施^[3]。水生蔬菜是水生植物的重要组成部分,其可以通过采摘避免茎叶腐烂,从而有效降低水体中的营养盐。已有研究证明,种植水生蔬菜不仅对富营养化水体中的氮、磷具有良好的去除效果^[4],同时部分水生蔬菜体内含有的大量抑藻活性物质,可以对有害藻类产生化感抑制^[5-6]。另外,水生蔬菜作为食材具有很高的营养价值和可观的经济价值。因此,在富营养化水体中种植水生蔬菜可以实现从单纯的治理污水变为利用污水。但是水体富营养化过程中往往伴随着藻类水华,其中以微囊藻水华发生频率最高^[7]。水华微囊藻中的优势种类通常具有产毒能力^[8],因此微囊藻毒素(MCs)在富营养化水体中最为常见^[9]。目前,已经鉴定出 100 多种 MCs 异构体^[10],其中 LR 型(MC-LR)是一种毒性较强,且广泛分布于自然水体中的变体类型^[11-12]。水体中存在的 MC-LR 可诱导植物形态、生理生化反应发生改变,具体表现为植株鲜质量、叶片长度、叶面积、根系长度、根系活力、氮代谢及抗氧化系统等方面的变化^[13-14]。目前,自然水体中检测到的溶解态 MC-LR 质量浓度大部分低于 30 $\mu\text{g/L}$ ^[9,11-12]。大量研究表明,MC-LR 对植物的影响(促进、抑制或无显著影响)与其暴露的质量浓度、时间及植物种类密切相关^[14-17]。因此,在富营养化水体中种植水生蔬菜,必需了解其在相应质量浓度 MCs 慢性暴露情况下的生长及生理变化,才能确定其是否适合在含有 MCs 的富营养化水体中生长。光合作用是植物生长发育的基础,也是植物生长发育的关键驱动力^[18]。研究植物光合作用与环境因子的关系,有助于了解植物在外界胁迫下的生长机制。因此,研究环境相关质量浓度 MCs 暴露条件下水生蔬菜的光合生理特性,

可以揭示水生蔬菜在生理、形态及生物化学方面对 MCs 胁迫的响应,对于富营养化水体中水生蔬菜的种植具有重要指导意义。

水雍菜(*Ipomoea aquatica*)为旋花科番薯属一年或多年蔓生草本植物,其茎叶含有丰富的营养物质,既可食用又有一定的药用功效。水雍菜经济价值高,适应性强,栽培范围广泛。已有研究表明,水雍菜浮床具有很好的氮磷去除效果,并具有很好的水质改善效果^[19-20]。因此,水雍菜可以作为富营养化水体植物修复的候选水生蔬菜品种,但尚未见其在 MC-LR 暴露条件下光合生理响应的有关研究报道。为此,本试验研究环境相关质量浓度(0~30 $\mu\text{g/L}$)MC-LR 暴露对水雍菜光合生理特性的影响,以期揭示 MC-LR 对水雍菜光合反应系统的影响机制,为富营养化水体中水雍菜的种植提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

水雍菜苗购至湖南佳禾特菜果蔬有限公司,分别选择株高(约 15 cm)一致、生长良好的水雍菜苗,自来水冲洗干净后再用蒸馏水清洗,最后将其在山崎牌通用型无土栽培蔬菜营养液(上海芽芽绿化有限公司产品)中预培养 1 周,选取生长良好的植株用于后续试验。MC-LR(Calbiochem,德国),纯度 $\geq 95\%$,购于上海恒远生物科技有限公司。

1.2 试验方法

培养液的配制:根据产品说明,先将山崎牌通用型无土栽培蔬菜营养液按照 1:300 稀释,然后分别添加 MC-LR 溶液,使 MC-LR 质量浓度分别为 0, 1, 10 和 30 $\mu\text{g/L}$ 。

试验设计:将生长良好的水雍菜苗植入一系列内装 200 mL 含不同质量浓度 MC-LR 培养液的 250 mL 广口锥形瓶内,锥形瓶底层铺有厚度 5 cm、粒径 4 mm 的玻璃珠,加入对植物生长无显著影响的微生物抑制剂 $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NaN}_3\text{O}_4\text{S}$ (MERCK) 100 mg/L。以 MC-LR 质量浓度为 0 $\mu\text{g/L}$ 的培养组为对照组。每个锥形瓶内植入 1 株水雍菜苗,对照组及每个处理组均设置 3 个平行试验。试验于 MGC-450BPY-2

智能型光照培养箱中进行,条件为:恒温光照((25±1)℃,3 000 lx),12 L/12 D。为防止烂根,每天上午 09:00 和下午 16:00 各曝气 2 h,每 3 d 换 1 次培养液。培养 30 d 后原位测定叶片叶绿素 SPAD 值及叶绿素荧光参数,并采样测定叶片中 H₂O₂ 含量及 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶(Rubisco)、Rubisco 活化酶(RCA)的活性。

1.3 测定方法

1.3.1 叶绿素 SPAD 值及叶绿素荧光参数的测定 选取水雍菜苗顶部完全展开的叶片,使用 SPAD-502 叶绿素仪(日本柯尼卡美能达公司)测定叶绿素 SPAD 值。叶绿素荧光参数使用 Yaxin-1161G 叶绿素荧光仪(北京雅欣理仪科技有限公司)测定。测量前将叶片用黑色不透明塑料袋包裹,暗适应处理 20 min 后采用脉冲瞬态荧光动力学模式测量,参数设置为:饱和脉冲强度 3 000 μmol/(m²·s),光化光强度 1 000 μmol/(m²·s),测量总时长 100 s,远红光时长 10 s,测量完毕直接在荧光仪上读出光系统Ⅱ(PSⅡ)最大量子产量(F_v/F_m)、PSⅡ有效量子产量($\Phi PSⅡ$)、光化学淬灭系数(qP)和非光化学淬灭系数(qN)。

1.3.2 H₂O₂ 含量的测定 叶片经去离子水洗涤 3 次后,用吸水纸吸干剪碎。称取 0.1 g 叶片组织,加入 2 mL 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.0),4℃下研磨成浆,过滤后 6 000 g 离心 25 min,得上清液^[21],然后采用植物过氧化氢(H₂O₂)酶联免疫分析试剂盒(上海恒远生物科技有限公司),在 SpectraMax M2 多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司)上测定 H₂O₂ 含量,检测范围为 40~1 600 μg/L。

1.3.3 Rubisco 和 RCA 活性的测定 称取 0.2 g 叶片组织,加入 5 mL 预冷到 4℃的提取缓冲液(100 mmol/L Tris-HCl(pH 7.8),20 mmol/L KCl

和 1 mmol/L EDTA),20 000 g 离心 15 min,上清液即为粗酶液^[22],然后用植物 Rubp 羧化酶(Rubisco)酶联免疫分析试剂盒(上海恒远生物科技有限公司)测定 Rubisco 活性,检测范围为 12~400 IU/L。

称取 0.2 g 叶片组织,加入 600 μL 预冷到 4℃的提取缓冲液(50 mmol/L Tricine 缓冲液(pH 7.0),100 mmol/L MgCl₂,10 mmol/L NaHCO₃,1 mmol/L EDTA,1 mmol/L ATP,10 mmol/L DTT,1 mmol/L PMSF,2 mmol/L Benzamide,0.01 mmol/L Leupeptin),20 000 g 离心 20 min,上清液即为粗酶液^[23],然后用植物 Rubisco 活化酶(RCA)酶联免疫分析试剂盒(上海恒远生物科技有限公司)测定 RCA 活性,检测范围为 1~40 U/L。

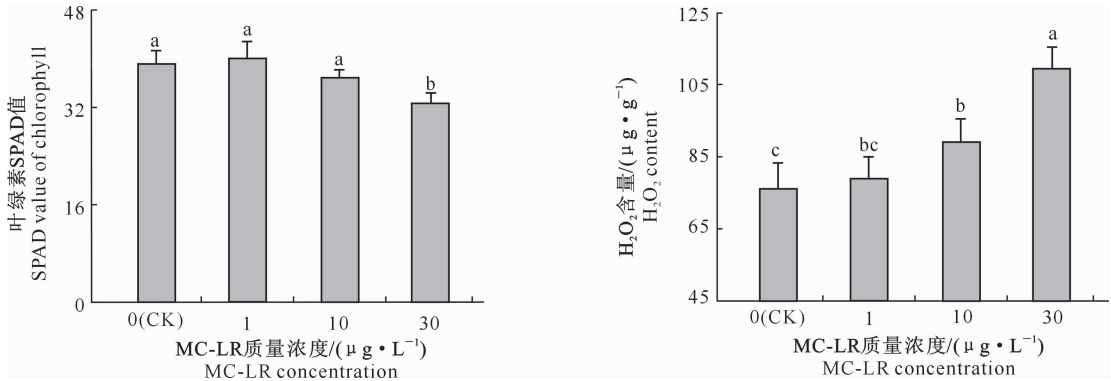
1.4 数据统计与处理

运用 SPSS 10.0 软件及 Sigmaplot 10.0 软件对试验数据进行统计分析和作图。首先利用 ANOVA 分析不同处理对水雍菜叶片光合系统各项指标的影响,然后采用最小显著性差异法(LSD)比较不同处理的差异显著性($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 低质量浓度 MC-LR 慢性暴露对水雍菜叶片叶绿素 SPAD 值及 H₂O₂ 含量的影响

由图 1 可知,1 μg/L MC-LR 处理组中水雍菜叶片的叶绿素 SPAD 值较对照组上升了 2.21%,10 μg/L MC-LR 处理组中叶片的叶绿素 SPAD 值较对照组降低了 5.63%,但二者均与对照组差异不显著($P>0.05$),而 30 μg/L MC-LR 处理组中叶片的叶绿素 SPAD 值较对照降低了 16.55%,与对照存在显著差异($P<0.05$)。



图柱上标不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)。下同
Different lowercase letters indicate significant difference among different treatments ($P<0.05$). The same below

图 1 MC-LR 慢性暴露条件下水雍菜叶片的叶绿素 SPAD 值及 H₂O₂ 含量的变化

Fig. 1 Chlorophyll SPAD value and H₂O₂ content in leaves of *Ipomoea aquatica* after chronic exposure to MC-LR

由图 1 还可知,1 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组中水雍菜叶片的 H_2O_2 含量较对照组上升了 3.72%,但与对照组差异不显著($P>0.05$);10 和 30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组中叶片的 H_2O_2 含量较对照组分别上升了 17.13%和 43.80%,且与对照组的差异均达到了显著水平($P<0.05$)。

2.2 低质量浓度 MC-LR 慢性暴露对水雍菜叶片叶绿素荧光参数的影响

叶绿素荧光参数的变化与光合作用过程密切相关。由图 2 可知,1 和 10 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组中水雍菜叶片的叶绿素光系统 II (PS II) 最大量子产量

(F_v/F_m) 值较对照组分别上升了 2.61%和降低了 5.22%,但与对照组差异均不显著($P>0.05$),而 30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组中水雍菜叶片的 F_v/F_m 值较对照组降低了 16.53%,差异达到了显著水平($P<0.05$)。PS II 有效量子产量($\Phi\text{PS II}$)的变化趋势与 F_v/F_m 类似,具体表现为,1 和 10 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组中水雍菜叶片的 $\Phi\text{PS II}$ 值较对照组分别上升了 2.05%和降低了 7.13%,但与对照组差异均不显著($P>0.05$),而 30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组中叶片的 $\Phi\text{PS II}$ 值较对照组显著降低了 21.93%($P<0.05$)。

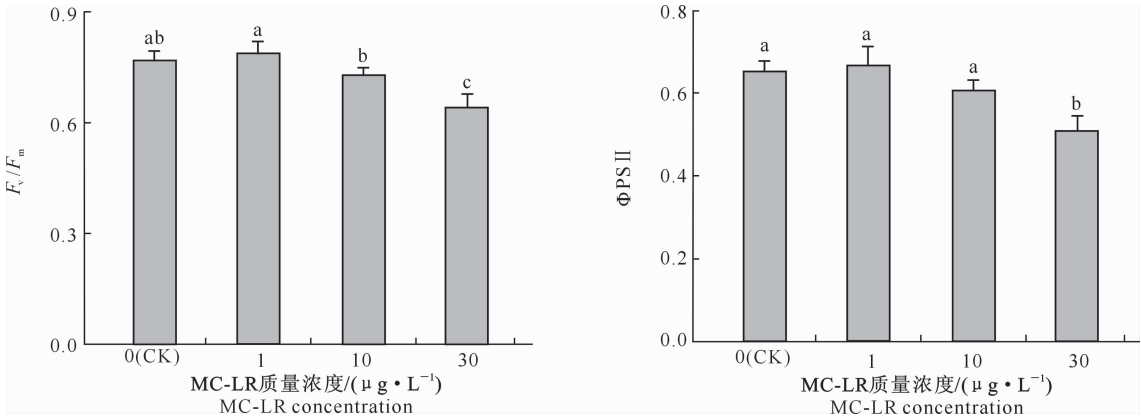


图 2 MC-LR 慢性暴露条件下水雍菜叶片 F_v/F_m 和 $\Phi\text{PS II}$ 的变化
Fig. 2 F_v/F_m 和 $\Phi\text{PS II}$ in leaves of *Ipomoea aquatica* after chronic exposure to MC-LR

由图 3 可知,1 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组中水雍菜叶片的 qP 值较对照组上升了 3.15%,但与对照组差异不显著($P>0.05$);10 和 30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理

组中叶片的 qP 值较对照组分别下降了 12.04%和 27.23%,且与对照组差异均达到了显著水平($P<0.05$)。

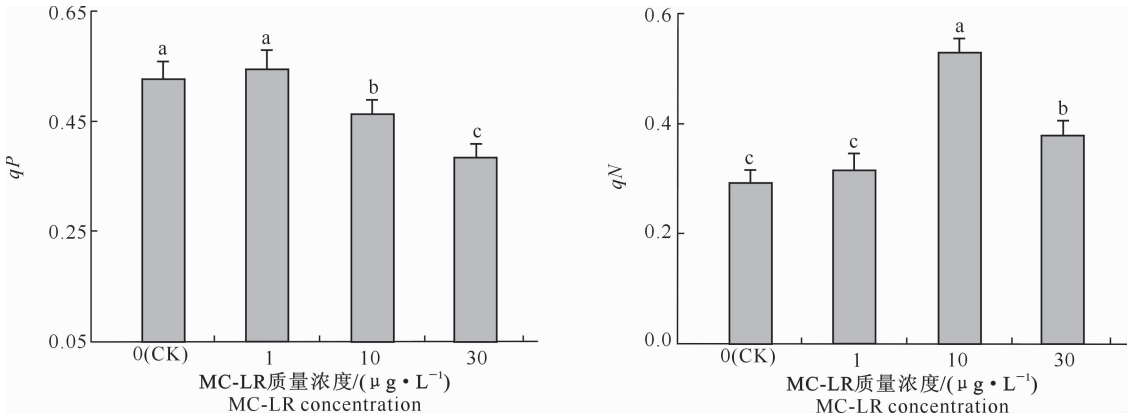


图 3 MC-LR 慢性暴露条件下水雍菜叶片 qP 和 qN 的变化
Fig. 3 qP and qN in leaves of *Ipomoea aquatica* after chronic exposure to MC-LR

由图 3 还可知,1 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组中水雍菜叶片的 qN 值较对照组上升了 7.98%,但与对照组差异不显著($P>0.05$);10 和 30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组叶片的 qN 值较对照组分别上升了 80.70%和

29.56%,且二者与对照组差异均达到了显著水平($P<0.05$);30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组叶片的 qN 值较 10 $\mu\text{g/L}$ 处理组下降 28.30%,且二者之间存在显著差异($P<0.05$)。

2.3 低质量浓度 MC-LR 慢性暴露对水雍菜叶片 Rubisco 和 RCA 活性的影响

由图 4 可知,1 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组中水雍菜叶片的 Rubisco 活性较对照组上升了 2.97%,但与对照组差异不显著($P>0.05$),10 和 30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组中水雍菜叶片的 Rubisco 活性较对照组

均显著降低($P<0.05$),降幅分别为 17.62%和 35.25%。1 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组中水雍菜叶片的 RCA 活性较对照组上升了 3.88%,但与对照组差异并不显著($P>0.05$),而 10 和 30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组中叶片的 RCA 活性分别较对照组显著降低了 14.35%和 32.04%($P<0.05$)。

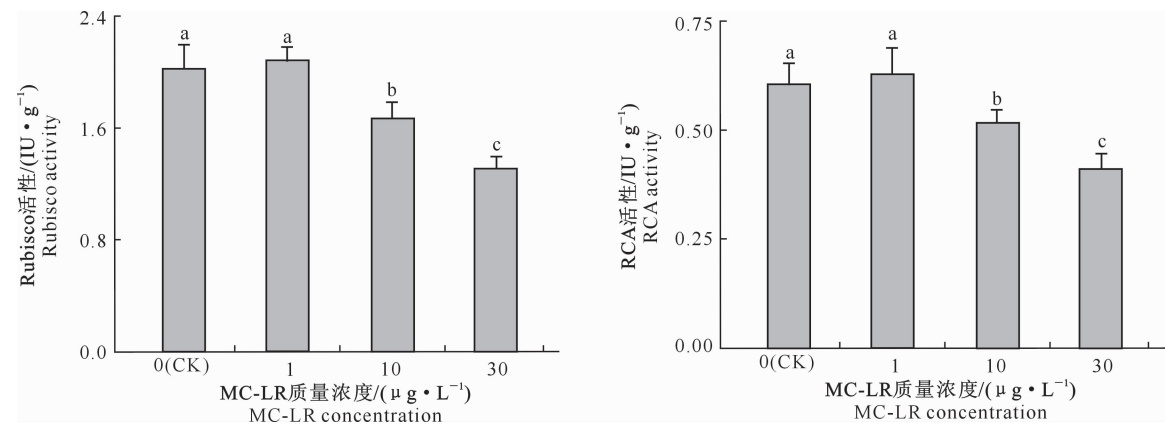


图 4 MC-LR 慢性暴露条件下水雍菜叶片 Rubisco 和 RCA 活性的变化

Fig. 4 Rubisco and RCA activities in leaves of *Ipomoea aquatica* after chronic exposure to MC-LR

3 讨 论

3.1 低质量浓度 MC-LR 慢性暴露对水雍菜叶片叶绿素含量的影响

植物叶绿素能够捕获光能并将其转化为化学能,是植物光合作用的主要物质基础,其含量是衡量植物光合能力的关键参数,也是衡量植物对逆境胁迫适应性的一个重要指标^[24-25]。叶片叶绿素 SPAD 值与叶绿素含量之间存在极显著的正相关性,其可以表征叶片中叶绿素的相对含量^[26-28]。本研究中,30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组水雍菜叶片的叶绿素 SPAD 值显著低于对照组($P<0.05$),说明 30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 慢性暴露 30 d 后可以显著降低水雍菜叶片的叶绿素含量。已有研究指出,植物体内的叶绿素含量处于叶绿素合成与降解的动态平衡中^[29],而植物体内叶绿素的合成是一个非常复杂的过程,容易受到外界不良环境条件的影响^[30]。植物在受到外界环境胁迫时,其体内会产生过量的活性氧(ROS),从而促进叶绿素降解^[31]。大量研究表明,一定水平的 MC-LR 暴露会诱导植物产生氧化应激反应,导致其体内产生大量 ROS^[14,32], H_2O_2 即是植物体内主要的 ROS 之一。本研究发现,30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组水雍菜叶片的 H_2O_2 含量较对照组上升了 43.80%,表明 30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 慢性暴露引起了水

雍菜严重的氧化应激反应,从而破坏了叶绿素合成与降解的动态平衡,叶绿素降解速率高于合成速率,导致叶片叶绿素含量显著下降。

3.2 低质量浓度 MC-LR 慢性暴露对水雍菜叶片光合荧光参数的影响

叶绿素光合荧光参数可以反映光合过程中光能的吸收和转化、能量的传递与分配及光系统 II (PS II) 反应中心的活性情况等^[33-34]。光合荧光参数对环境胁迫非常敏感,可以用其变化来评估植物的光合生理状态^[35]。在植物的光合荧光参数中, F_v/F_m 表示 PS II 反应中心处于开放状态时的最大光化学效率,可以用于评估 PS II 的最大光能转化效率。 F_v/F_m 值是研究外界环境因子对植物光合作用影响的重要指标,植物在受到外界胁迫时, F_v/F_m 变化幅度很大,因此很多学者以 F_v/F_m 来评估植物的光合活性^[16,36]。本研究表明,MC-LR 对水雍菜叶片 F_v/F_m 的影响具有剂量效应,这与时玥等^[37]、王余等^[38]的研究结果一致。时玥等^[37]研究表明,1 和 10 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 暴露 21 d 对水稻叶片的 F_v/F_m 值无显著影响,而 500 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 暴露会导致水稻叶片的 F_v/F_m 极显著下降;王余等^[38]研究表明,1 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 暴露 7 d 对水稻叶片的 F_v/F_m 无显著影响,而 100 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 暴露会导致水稻叶片的 F_v/F_m 显著下降。但 Machado 等^[16]的研究却表明,

微囊藻提取液(内含 10 和 50 $\mu\text{g/L}$ MC-LR)作用 14 d,野胡萝卜(*Daucus carota*)叶片的 F_v/F_m 显著上升;作用 28 d,10 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组叶片的 F_v/F_m 仍然显著高于对照组,而 50 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组叶片的 F_v/F_m 与对照组无显著性差异。Corbel 等^[39]研究表明,蓝藻提取液(内含 5~100 $\mu\text{g/L}$ MC-LR)灌溉培养 90 d 后,番茄叶片的 F_v/F_m 未出现显著变化。以上结果说明,MC-LR 对植物的影响与暴露剂量、暴露时间及植物种类有关。有研究表明,当植物受到环境胁迫而 PS II 反应中心受到损伤时, F_v/F_m 会显著下降^[40],其值降低是植物受抑制的特征之一^[41]。因此,30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 慢性胁迫对水雍菜叶片的 PS II 反应中心造成了一定损伤,PS II 活性下降,导致其光能转化效率降低,从而导致水雍菜的生长受到抑制。

$\Phi\text{PS II}$ 表示 PS II 反应中心部分关闭情况下的实际光化学效率,可以评估 PS II 天线系统吸收的能量用于光合作用的比例。PS II 反应中心的实际光化学效率是植物光合作用的关键限制因子, $\Phi\text{PS II}$ 值越高表明 PS II 的光合效率越高^[42]。本研究表明,30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组水雍菜叶片的 $\Phi\text{PS II}$ 显著降低,表明 30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 胁迫对水雍菜的实际光化学效率有显著抑制作用,限制了水雍菜光合机构将所捕获的光能以更高的速度和效率转化为化学能,阻碍了为碳同化提供充足能量,从而限制了光合效率。

植物生长过程中,叶片叶绿素吸收的光能可以通过光合电子传递、叶绿素荧光发射和热耗散 3 种途径来消耗^[24]。在光合荧光参数中,光化学淬灭系数 qP 反映了 PS II 开放反应中心所占的比例,即将 PS II 天线色素捕获的光子能量用于光化学电子传递的份额;非光化学淬灭参数 qN 是指天线色素吸收的光能中不能用于电子传递而以热的形式耗散掉的光能部分^[43]。当积累在 PS II 反应中心的光能过剩时,植物会通过提高 qN 及时耗散能量,热耗散是植物保护 PS II 而抵抗逆境的重要机制^[44]。本研究表明,与对照相比,10 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组水雍菜叶片的 qP 值显著下降, qN 值显著上升,说明在 10 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 胁迫下,水雍菜 PS II 开放反应中心所占比例和参与 CO_2 固定的电子数减少,叶片光合过程中的光化学淬灭受到一定程度的抑制,水雍菜 PS II 将吸收过剩的能量通过热耗散的形式进行释放,以保护自身组织免受过剩光能的损害。30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组水雍菜叶片的 qP 和 qN 值均显著低

于 10 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组,说明在 30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 胁迫下,水雍菜叶片光合机构损伤严重,叶片中参与光化学反应的能量显著降低,同时其热耗散能力减弱。

3.3 低质量浓度 MC-LR 慢性暴露对水雍菜叶片光合酶活性的影响

Rubisco 是光合作用的关键酶,其活性影响植物的光合能力,并决定植物的光合速率^[45]。有研究表明,Rubisco 蛋白占植物叶片中溶解性蛋白(SP)的 30% 以上,SP 含量与 Rubisco 蛋白含量及其活性之间有密切关系^[46]。MC-LR 暴露对植物叶片氮循环及蛋白质含量有显著影响^[13,32]。Jiang 等^[32]研究发现,1~10 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 作用 14 d 后苦草叶片的 SP 含量下降。Chen 等^[13]研究发现,9.9~29.8 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 作用 30 d 后,菖蒲幼苗叶片的氮代谢受到抑制,SP 含量显著降低,MC-LR 质量浓度越高,抑制程度越严重。大量研究表明,植物叶片中的叶绿素含量与蛋白质含量呈显著正相关^[27-28]。因此 30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组水雍菜叶片叶绿素含量的显著降低也表明了其蛋白含量有所下降,从而减弱了叶片的 Rubisco 活性。另外,Rubisco 活性不仅受 Rubisco 蛋白含量的影响,而且与 Rubisco 活化状态密切相关。而 Rubisco 活化状态受到 RCA 活性的影响。RCA 是一种叶绿体酶,通过碳同化反应参与 Rubisco 的分离和活化^[47]。RCA 通过构象变化去除 Rubisco 活性位点紧密结合的抑制剂,从而保持分子在光合作用期间的活性^[48]。Scales 等^[49]研究表明,氧化还原状态是影响 RCA 活性的因素之一。Kumar 等^[50]研究发现,小麦体内的总抗氧化能力与叶片 RCA 活性呈显著正相关。本研究中,10 和 30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 处理组水雍菜叶片的 H_2O_2 含量显著上升,说明水雍菜处于一定程度的氧化胁迫中,RCA 活性受到抑制,从而导致 Rubisco 活性下降。

综上所述,在本试验设置的质量浓度范围内,MC-LR 慢性暴露 30 d 后对水雍菜叶片光合生理特性的影响呈现出明显的剂量效应。具体表现为,1 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 对水雍菜叶片叶绿素荧光参数及 Rubisco、RCA 活性均无显著影响;10 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 对水雍菜产生了一定程度的氧化胁迫, H_2O_2 含量升高,水雍菜通过提高热耗散能力来保护其光合系统,但是 Rubisco 和 RCA 受到抑制,其活性显著下降;30 $\mu\text{g/L}$ MC-LR 对水雍菜产生了严重的氧化胁迫, H_2O_2 含量显著上升,而叶片光合系统对光能的吸收和转化、能量的传递与分配及 PS II 反应中心的

活性和光合酶活性都受到严重抑制。

[参考文献]

- [1] West M, Fenner N, Gough R, et al. Evaluation of algal bloom mitigation and nutrient removal in floating constructed wetlands with different macrophyte species [J]. *Ecological Engineering*, 2017, 108(B): 581-588.
- [2] Wang H P, Liu F, Luo P, et al. Allelopathic effects of *Myriophyllum aquaticum* on two cyanobacteria of *Anabaena flos-aquae* and *Microcystis aeruginosa* [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2017, 98(4): 556-561.
- [3] Achal V, Mukherjee A. Ecological wisdom inspired restoration engineering [M]. Singapore: Springer, 2019: 181-195.
- [4] 张梦梦, 邢宇, 蔡霞, 等. 蔬菜浮床对城市富营养化景观水体的净化效果研究 [J]. *浙江海洋大学学报(自然科学版)*, 2018, 37(2): 178-184.
Zhang M M, Xing Y, Cai X, et al. Purification of floating vegetable bed on city landscape eutrophication water [J]. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science Edition)*, 2018, 37(2): 178-184.
- [5] 戴立洲, 成小英, 俞珊, 等. 豆瓣菜有机提取物对铜绿微囊藻的抑制及成分初步分离 [J]. *环境科学学报*, 2015, 35(12): 4159-4168.
Dai L Z, Cheng X Y, Yu S, et al. Inhibitory effects of organic solvent extract from *Nasturtium officinale* on *Microcystis aeruginosa* associated with isolation of the allelochemical ingredients [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2015, 35(12): 4159-4168.
- [6] 戴利洲, 成小英. 豆瓣菜对铜绿微囊藻生长及生理特性的抑制影响 [J]. *安全与环境学报*, 2016, 16(3): 378-383.
Dai L Z, Cheng X Y. Inhibitory effect of *Nasturtium officinale* on the growth and physiological characteristics of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Journal of Safety and Environment*, 2016, 16(3): 378-383.
- [7] Ni W, Zhang J Y, Luo Y. Microcystin accumulation in bighead carp (*Aristichthys nobilis*) during a *Microcystis*-dominated bloom and risk assessment of the dietary intake in a fish pond in China [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24(10): 8894-8902.
- [8] Ait Hammou H, Latour D, Samoudi S, et al. Occurrence of the first toxic *Microcystis* bloom in a recent Moroccan reservoir [J]. *Water Resource*, 2018, 45(3): 409-417.
- [9] Zhang L, Liu J T, Zhang D W, et al. Seasonal and spatial variations of microcystins in Poyang Lake, the largest freshwater lake in China [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(7): 6300-6307.
- [10] Puddick J, Prinsep M R, Wood S A, et al. Further characterization of glycine-containing microcystins from the McMurdo Dry Valleys of Antarctica [J]. *Toxins*, 2015, 7(2): 493-515.
- [11] Major Y, Kifle D, Spoof L, et al. Cyanobacteria and microcystins in Koka reservoir (Ethiopia) [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(27): 26861-26873.
- [12] Hu X B, Zhang R F, Ye J Y, et al. Monitoring and research of microcystins and environmental factors in a typical artificial freshwater aquaculture pond [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(6): 5921-5933.
- [13] Chen G Y, Li Q S, Bai M X, et al. Nitrogen metabolism in *Acorus calamus* L. leaves induced changes in response to microcystin-LR at environmentally relevant concentrations [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2019, 103(2): 280-285.
- [14] Wang N Y, Wang C. Effects of microcystin-LR on the tissue growth and physiological responses of the aquatic plant *Iris pseudacorus* L. [J]. *Aquatic Toxicology*, 2018, 200: 197-205.
- [15] Freitas M, Azevedo J, Pinto E, et al. Effects of microcystin-LR, cylindrospermopsin and a microcystin-LR/cylindrospermopsin mixture on growth, oxidative stress and mineral content in lettuce plants (*Lactuca sativa* L.) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, 116: 59-67.
- [16] Machado J, Azevedo J, Freitas M, et al. Analysis of the use of microcystin-contaminated water in the growth and nutritional quality of the root-vegetable, *Daucus carota* [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24(1): 752-764.
- [17] Pflugmacher S, Aulhorn M, Grimm B. Influence of a cyanobacterial crude extract containing microcystin-LR on the physiology and antioxidative defence systems of different spinach variants [J]. *New Phytologist*, 2007, 175(3): 482-489.
- [18] Chia T F, He J. Photosynthetic capacity in oncidium (*Orchidaceae*) plants after virus eradication [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 1999, 42(1): 11-16.
- [19] 李海燕, 邓少鸿, 邓日检, 等. 浮床栽培空心菜生物量和营养物质的累积特性 [J]. *汕头大学学报(自然科学版)*, 2017, 32(2): 3-9.
Li H Y, Deng S H, Deng R J, et al. Characteristics of *Ipomoea aquatica* biomass and nutrient accumulation in the floating-beds [J]. *Journal of Shantou University (Natural Science Edition)*, 2017, 32(2): 3-9.
- [20] 陈红兵, 翁沁玉, 卢进登, 等. 人工浮床栽培蕹菜对不同总氮(TN)浓度水体的净化效果研究 [J]. *湖北大学学报(自然科学版)*, 2016, 38(5): 440-444.
Chen H B, Weng Q Y, Lu J D, et al. Purification effect on water with different concentrations of TN by artificial floating bed cultivation of *Ipomoea aquatica* [J]. *Journal of Hubei University (Natural Science Edition)*, 2016, 38(5): 440-444.
- [21] Wutipraditkul N, Wongwan P, Buaboocha T. Alleviation of salt-induced oxidative stress in rice seedlings by proline and/or glycinebetaine [J]. *Biologia Plantarum*, 2015, 59(3): 547-553.
- [22] 中国科学院上海植物生理研究所, 现代植物生理学实验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 113-115.
Shanghai Institute of Plant Physiology, Chinese Academy of Sciences. *Experimental guide of modern plant physiology* [M]. Beijing: Science Press, 1999: 113-115.
- [23] Kumar R R, Goswami S, Dubey K, et al. RuBisCo activase: a catalytic chaperone involved in modulating the RuBisCo activi-

- ty and heat stress-tolerance in wheat [J]. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 2019, 28(1): 63-75.
- [24] 包先明, 范成新, 史刚荣. 不同底质改良处理对三种挺水植物光合特性的影响 [J]. 湖泊科学, 2011, 23(4): 541-548.
- Bao X M, Fan C X, Shi G R. Effects of different sediment materials on photosynthetic characters of three emergent plant species [J]. Journal of Lake Sciences, 2011, 23(4): 541-548.
- [25] Ohmiya A, Hirashima M, Yagi M, et al. Identification of genes associated with chlorophyll accumulation in flower petals [J]. Public Library of Science One, 2014, 9(12): e113738.
- [26] 李 辉, 白 丹, 张 卓, 等. 羊草叶片 SPAD 值与叶绿素含量的相关分析 [J]. 中国农学通报, 2012, 28(2): 27-30.
- Li H, Bai D, Zhang Z, et al. Correlation analysis between SPAD value and chlorophyll content of leaf of *Leymus chinensis* [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(2): 27-30.
- [27] 刘井良, 王丽华, 李杰勤, 等. 10 个黑麦草品种叶片 SPAD 值、叶绿素含量和蛋白质含量的相关性研究 [J]. 中国农学通报, 2012, 28(27): 83-86.
- Liu J L, Wang L H, Li J Q, et al. The correlation of SPAD, chlorophyll content and protein content in 10 ryegrass varieties [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(27): 83-86.
- [28] 李杰勤, 王丽华, 詹秋文, 等. 2 个黑麦草品种 SPAD 值和叶绿素及粗蛋白含量的相关性研究 [J]. 草业科学, 2010, 27(10): 39-42.
- Li J Q, Wang L H, Zhan Q W, et al. The correlation study of SPAD value, chlorophyll content and crude protein content in two varieties of *Lolium perenne* [J]. Pratacultural Science, 2010, 27(10): 39-42.
- [29] Jacob-Wilk D, Holland D, Goldschmidt E E, et al. Chlorophyll breakdown by chlorophyllase: isolation and functional expression of the Chlase1 gene from ethylene-treated citrus fruit and its regulation during development [J]. Plant Journal, 1999, 20(6): 653-661.
- [30] Pattanayak G K, Biswal A K, Reddy V S, et al. Light-dependent regulation of chlorophyll b biosynthesis in chlorophyll idea oxygenase over expressing tobacco plants [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2005, 326(2): 466-471.
- [31] Shioi Y, Tatsumi Y, Shimokawa K. Enzymatic degradation of chlorophyll in *Chenopodium album* [J]. Plant and Cell Physiology, 1991, 32(1): 87-93.
- [32] Jiang J L, Gu X Y, Song R, et al. Microcystin-LR induced oxidative stress and ultrastructural alterations in mesophyll cells of submerged macrophyte *Vallisneria natans* (Lour.) hara [J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 190(1/2/3): 188-196.
- [33] Maxwell K, Johnson G N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide [J]. Journal of Experimental Botany, 2000, 51(345): 659-668.
- [34] 耿东梅, 单立山, 李 毅, 等. 土壤水分胁迫对红砂幼苗叶绿素荧光和抗氧化酶活性的影响 [J]. 植物学报, 2014, 49(3): 282-291.
- Geng D M, Shan L S, Li Y, et al. Effect of soil water stress on chlorophyll fluorescence and antioxidant enzyme activity in *Reaumuria soongorica* seedlings [J]. Chinese Bulletin of Botany, 2014, 49(3): 282-291.
- [35] Baker N R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo* [J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59: 89-113.
- [36] Lahrouni M, Oufdou K, El Khalloufi F, et al. Physiological and biochemical defense reactions of *Vicia faba* L. ; *Rhizobium symbiosis* face to chronic exposure to cyanobacterial bloom extract containing microcystins [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2013, 20(8): 5405-5415.
- [37] 时 玥, 姜锦林, 邓正栋. 微囊藻毒素-LR 和铜绿微囊藻裂解液对水稻光合作用的影响 [J]. 中国环境科学, 2017, 37(11): 4284-4293.
- Shi Y, Jiang J L, Deng Z D. Effects of pure MC-LR and *Microcystis aeruginosa* crude extracts on photosynthesis of *Oryza sativa* L. [J]. China Environmental Science, 2017, 37(11): 4284-4293.
- [38] 王 余, 朱雯倩, 王妮敏, 等. 微囊藻毒素对水稻幼苗生长与叶绿素荧光的影响 [J]. 环境科学学报, 2015, 35(2): 602-607.
- Wang Y, Zhu W Q, Wang W M, et al. Effects of microcystins on growth and chlorophyll fluorescence in rice seedlings [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2015, 35(2): 602-607.
- [39] Corbel S, Bouaicha N, Nélieu S, et al. Soil irrigation with water and toxic cyanobacterial microcystins accelerates tomato development [J]. Environmental Chemistry Letters, 2015, 13(4): 447-452.
- [40] Dawson S, Dennison W. Effects of ultraviolet and photosynthetically active radiation on five seagrass species [J]. Marine Biology, 1996, 125(4): 629-638.
- [41] Demmig B, Björkman O. Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence and photon yield of O₂ evolution in leaves of higher plants [J]. Planta, 1987, 171(2): 171-184.
- [42] 陈国元, 李青松, 谢青尧, 等. 共培养条件下黄菖蒲和狭叶香蒲对铜绿微囊藻光合系统的影响 [J]. 环境工程学报, 2015, 9(9): 4145-4152.
- Chen G Y, Li Q S, Xie P Y, et al. Effect of *Iris pseudacorus* L. and *Typha angustifolia* L. on photosynthesis of *Microcystis aeruginosa* in co-cultivation [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2015, 9(9): 4145-4152.
- [43] 欧 媛, 韩睿明, 李 强, 等. 城市河道黑臭底泥对挺水植物光合荧光特性的影响 [J]. 湖泊科学, 2015, 27(4): 643-648.
- Ou Y, Han R M, Li Q, et al. Impact of black odor sediment on photosynthetic fluorescence of three emergent plant species [J]. Journal of Lake Sciences, 2015, 27(4): 643-648.
- [44] Ögren E. Prediction of photoinhibition of photosynthesis from measurements of fluorescence quenching components [J]. Planta, 1991, 184(4): 538-544.

- 变化与采前落果的关系[J]. 植物生理学报, 2019, 55(8): 1267-1275.
- Zhang S W, Liang S M, Zheng X L, et al. The relationship between changes of endogenous hormones and pre-harvest fruit dropping of Chinese bayberry during fruit development [J]. Plant Physiology Journal, 2019, 55(8): 1267-1275.
- [15] 冯军仁, 田晓萍, 钱万建, 等. 欧洲李良种“红西梅”采前落果防治试验研究 [J]. 林业科技通讯, 2018(8): 18-21.
- Feng J R, Tian X P, Qian W J, et al. Study on the control of pre harvest fruit drop of European plum variety “Hongximei” [J]. Forest Management, 2018(8): 18-21.
- [16] 孙万霞, 潘晓芳. 杀菌剂防治对隆安县板栗果实病害及采前落果的影响 [J]. 广东农业科学, 2019, 46(1): 79-83.
- Sun W X, Pan X F. Effects of fungicides on fruit diseases and pre-harvest fruit drops of chestnuts in Longan County [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2019, 46(1): 79-83.
- [17] 金建芳, 熊彩珍, 余意, 等. 不同果袋和疏果方式对桃品种赤月采前落果及品质的影响 [J]. 浙江农业科学, 2015, 56(7): 1015-1017.
- Jin J F, Xiong C Z, Yu Y, et al. Effects of different fruit bags and fruit thinning methods on pre harvest fruit drop and quality of peach variety ‘Chiyue’ [J]. Zhejiang Agricultural Science, 2015, 56(7): 1015-1017.
- [18] 木合塔尔·扎热, 哈地尔·依沙克, 马合木提·阿不来提, 等. 采前灌溉对骏枣落果、裂果及果实品质的影响 [J]. 干旱地区农业研究, 2017, 35(4): 110-114.
- Muhtar Z, Kadir E, Mahmut A, et al. Effect of preharvest irrigation on fruit drop, fruit crack and fruit quality of Junzao [J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2017, 35(4): 110-114.
- [19] Hassan K, Kazem A, Mohamad J M, et al. Effect of Ca, Zn and B spray application on preharvest fruit drop, sugar and nutrient contents and some of quantitative and qualitative fruit characteristics of some Asian pear (*Pyrus serotina* Rehd.) cultivars [J]. Iranian Journal of Horticultural Science, 2013, 44: 149-159.
- [20] 张学英, 张上隆, 叶正文, 等. 不同颜色果袋对李果实着色及花色素苷合成的影响因素分析 [J]. 果树学报, 2007, 24(5): 605-610.
- Zhang X Y, Zhang S L, Ye Z W, et al. Influences of bagging on pigmentation development of plum and analysis of factors related with anthocyanin synthesis [J]. Journal of Fruit Science, 2007, 24(5): 605-610.
- [21] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 39-49.
- Bao S D. Soil agrochemical analysis [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2002: 39-49.
- [22] 于志伟, 袁静宇. 食品营养分析与检测 [M]. 北京: 海洋出版社, 2014: 96-141.
- Yu Z W, Yuan J Y. Food nutrition analysis and detection [M]. Beijing: Ocean Press, 2014: 96-141.
- [23] 宋纯鹏. 植物衰老生物学 [M]. 北京: 北京大学出版社, 1998: 143.
- Song C P. Biology of plant senescence [M]. Beijing: Peking University Press, 1998: 143.
- [24] Arseneault M H, Cline J. AVG, NAA, boron and magnesium influence preharvest fruit drop and fruit quality of ‘Honeycrisp’ apples [J]. Canadian Journal of Plant Science, 2017, 98(3): 741-752.
- [25] Tang L, Chhajed S, Vashisth T. Preharvest fruit drop in Huanglongbing-affected ‘Valencia’ sweet orange [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2019, 144: 107-117.
- [26] 潘瑞炽, 董愚得. 植物生理学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2001: 180-207.
- Pan R C, Dong Y D. Plant physiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2001: 180-207.
- (上接第136页)
- [45] Liu Z X, Bie Z L, Huang Y, et al. Rootstocks improve cucumber photosynthesis through nitrogen metabolism regulation under salt stress [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2013, 35(7): 2259-2267.
- [46] Pal M, Rao L S, Jain V, et al. Effects of elevated CO₂ and nitrogen on wheat growth and photosynthesis [J]. Biologia Plantarum, 2005, 49(3): 467-470.
- [47] Yin Z, Zhang Z, Deng D, et al. Characterization of Rubisco activase genes in maize; an α -isoform gene functions alongside a β -isoform gene [J]. Plant Physiology, 2014, 164(4): 2096-2106.
- [48] Perdomo J A, Capó-Baucà S, Carmo-Silva E, et al. Rubisco and Rubisco activase play an important role in the biochemical limitations of photosynthesis in rice, wheat, and maize under high temperature and water deficit [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 490-499.
- [49] Scales J C, Parry M A, Salvucci M E. A non-radioactive method for measuring Rubisco activase activity in the presence of variable ATP:ADP ratios, including modifications for measuring the activity and activation state of Rubisco [J]. Photosynthesis Research, 2014, 119(3): 355-365.
- [50] Kumar R R, Goswami S, Dubey K, et al. RuBisCo activase-a catalytic chaperone involved in modulating the RuBisCo activity and heat stress-tolerance in wheat [J]. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 2019, 28(1): 63-75.