

低浓度微囊藻毒素 MC-LR 对梭鱼草幼苗根系 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 吸收特性的影响

陈国元^①, 廖杰, 何彩庆, 李振东, 吴洪凯

(厦门理工学院环境科学与工程学院, 福建 厦门 361024)

摘要: 运用营养液培养法和常规耗竭法, 对低浓度(2 和 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)微囊藻毒素 MC-LR 分别处理 6 和 12 d 后梭鱼草(*Pontederia cordata* Linn.) 幼苗根系对不同浓度 NH_4^+ (0.05 ~ 1.50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 H_2PO_4^- (0.01 ~ 0.50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的吸收速率和吸收动力学参数的变化进行了研究。结果显示: 随培养液中 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 浓度的提高, 各处理组幼苗根系的 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 吸收速率均逐渐增大, 但增幅则因 MC-LR 处理浓度和处理时间而异。经 2 和 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 短期(6 d)处理后, 幼苗根系的 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 吸收速率总体上均显著高于 CK(对照, 0 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR)组; 经长期(12 d)处理后, 2 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理组幼苗根系的 H_2PO_4^- 和较高浓度 NH_4^+ 吸收速率均显著高于 CK 组, 而 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理组幼苗根系的 NH_4^+ 吸收速率降低, 但其较高浓度 H_2PO_4^- 吸收速率仍显著高于 CK 组。梭鱼草幼苗根系的 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 吸收速率与底物浓度的函数关系均符合双倒数曲线, 拟合关系均在 $\alpha=0.001$ 水平上显著, 但最大吸收速率(V_{\max})和表观米氏常数(K_m)变化规律不同。经 2 和 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理 6 和 12 d 后, 幼苗根系 NH_4^+ 吸收的 V_{\max} 和 K_m 值均高于 CK 组; 经 2 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理 6 和 12 d 后, 幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收的 V_{\max} 值高于 CK 组, K_m 值低于 CK 组; 经 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理 6 d 后幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收的 V_{\max} 值高于 CK 组, K_m 值与 CK 组无差异, 但经 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理 12 d 后幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收的 V_{\max} 值略高于 CK 组, K_m 值明显高于 CK 组。说明随处理时间延长, 经 2 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理后幼苗根系的 NH_4^+ 吸收潜力提高、 NH_4^+ 亲和力略有降低, 而 H_2PO_4^- 吸收潜力略有降低, H_2PO_4^- 亲和力略有提高; 经 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理后幼苗根系的 NH_4^+ 吸收潜力略有提高、 NH_4^+ 亲和力降低, 而 H_2PO_4^- 吸收潜力和亲和力均降低。综合分析结果表明: 2 和 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理均能够提升梭鱼草幼苗根系的 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 吸收潜力, 其中, 2 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理对其根系的 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 吸收均具有明显的促进作用, 而 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 短期处理对其根系的 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 吸收也具有一定的促进作用。

关键词: 微囊藻毒素 MC-LR; 梭鱼草; 根系; 吸收特性; NH_4^+ ; H_2PO_4^-

中图分类号: Q945.78; Q945.1; X524 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2018)03-0033-08

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2018.03.05

Effects of low concentrations of microcystin MC-LR on NH_4^+ and H_2PO_4^- absorption characteristics of root of *Pontederia cordata* seedling CHEN Guoyuan^①, LIAO Jie, HE Caiqing, LI Zhendong, WU Hongkai (College of Environment Science and Engineering, Xiamen University of Technology, Xiamen 361024, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2018, 27(3): 33-40

Abstract: Changes in absorption rate and absorption kinetic parameters of root of *Pontederia cordata* Linn. seedling to different concentrations of NH_4^+ (0.05-1.50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) and H_2PO_4^- (0.01-0.50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) after low concentrations (2 and 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) of microcystin MC-LR treatment for 6 and 12 d, respectively were studied by using nutrient solution culture method and routine exhaustion method.

收稿日期: 2017-12-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51309197); 福建省自然科学基金资助项目(2017J01491); 厦门市科技计划项目(3502Z20150051)

作者简介: 陈国元(1980—), 男, 湖北襄阳人, 博士, 副研究员, 主要从事污染水体生态修复方面的研究。

^①通信作者 E-mail: chengy@xmut.edu.cn

The results show that with increasing of concentrations of NH_4^+ and H_2PO_4^- in nutrient solution, NH_4^+ and H_2PO_4^- absorption rates of root of seedling of each treatment group increase gradually, but their amplifications are dependent on concentration and time of MC-LR treatment. After 2 and 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR treatment for short-term (6 d), NH_4^+ and H_2PO_4^- absorption rates of root of seedling are significantly higher than those of CK (the control, 0 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR) group in general. After treatment for long-term (12 d), absorption rates of H_2PO_4^- and NH_4^+ in higher concentration of root of seedling of 2 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR treatment group are significantly higher than those of CK group, while NH_4^+ absorption rate of root of seedling of 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR treatment group decreases, but its absorption rate of H_2PO_4^- in higher concentration is still significantly higher than that of CK group. The functional relationships of NH_4^+ and H_2PO_4^- absorption rates of root of *P. cordata* seedling with substrate concentrations are according with reciprocal curve, and fitting relationships are significant at $\alpha=0.001$ level, but change regulations of the maximum absorption rate (V_{\max}) and apparent Michaelis-Menten constant (K_m) are different. After 2 and 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR treatment for 6 and 12 d, V_{\max} and K_m values of NH_4^+ absorption rate of root of seedling are higher than those of CK group. After 2 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR treatment for 6 and 12 d, V_{\max} value of H_2PO_4^- absorption of root of seedling is higher than that of CK group, while K_m value is lower than that of CK group. After 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR treatment for 6 d, V_{\max} value of H_2PO_4^- absorption of root of seedling is higher than that of CK group, while there is no difference in K_m value with that of CK group, however, after 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR treatment for 12 d, V_{\max} value of H_2PO_4^- absorption of root of seedling is slightly higher than that of CK group, while K_m value is obviously higher than that of CK group. It is suggested that with extending of treatment time, NH_4^+ absorption potential of root of seedling increases and NH_4^+ affinity decreases slightly, while H_2PO_4^- absorption potential decreases slightly and H_2PO_4^- affinity increases slightly after 2 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR treatment. After 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR treatment, NH_4^+ absorption potential of root of seedling increases slightly, NH_4^+ affinity decreases, while H_2PO_4^- absorption potential and affinity decrease. The result of comprehensive analysis shows that 2 and 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR treatments can enhance absorption potential of NH_4^+ and H_2PO_4^- of root of *P. cordata* seedling, in which, 2 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR treatment has an obvious promotion effect on absorption of NH_4^+ and H_2PO_4^- of its root, while 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR treatment for short-term also has a certain promotion effect on absorption of NH_4^+ and H_2PO_4^- of its root.

Key words: microcystin MC-LR; *Pontederia cordata* Linn.; root; absorption characteristics; NH_4^+ ; H_2PO_4^-

梭鱼草 (*Pontederia cordata* Linn.) 隶属于雨久花科 (Pontederiaceae) 梭鱼草属 (*Pontederia* Linn.), 为多年生挺水或湿生草本植物, 该种不仅具有一定的化感抑藻特性^[1], 还对富营养化水体中的氮、磷有明显的去除效果, 常作为湿地植物和浮床植物^[2-3], 在富营养化水体的微囊藻水华防治上具有较为广阔的应用前景。

富营养化水体中的微囊藻在生长过程中及死亡后均可释放微囊藻毒素 (MCs), MCs 是微囊藻的次级代谢产物之一, 目前已发现 80 多种类似物^[4], 其中, 微囊藻毒素 MC-LR 的毒性很强^[5], 也最常见^[6-8]; 在自然水体中, MC-LR 的质量浓度一般较低 (0 ~ 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)^[6-7], 且低浓度的 MC-LR 对植物的生长和生理特性具有一定的影响^[9-11]。养分吸收特性是衡量植物根系吸收能力和生长状况的指标之一, 对于确

定富营养化水体修复植物具有重要参考意义; 而吸收动力学不仅是探讨植物根系吸收特性的有效方法^[12], 也是比较不同环境条件下植物养分吸收特性差异的有效研究手段之一。研究低浓度 MC-LR 对梭鱼草根吸收动力学特性的影响, 不仅可以揭示富营养化水体中梭鱼草根对养分的吸收、转运和利用能力, 而且对于明确梭鱼草在富营养化水体和水华防治中的作用具有重要意义。

NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 是植物吸收利用的主要无机氮源和磷源^[13-15], 作者以酶促反应动力学理论为基础, 研究了经低浓度 (2 和 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) MC-LR 处理后梭鱼草幼苗根系 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 吸收特性的变化, 并比较了不同处理时间对梭鱼草幼苗根系 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 吸收动力学特性的影响, 以期对评价梭鱼草对富营养化水体的净化效应提供基础研究数据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试梭鱼草购自福建省龙海市兴涛花木专业合作社,选择生长良好、株高基本一致的幼苗,依次用自来水和蒸馏水洗净,备用。

主要仪器和试剂:V-1100D 分光光度计(上海美谱达仪器有限公司),DZF-6050 真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。微囊藻毒素 MC-LR 纯度大于等于 95%,购自上海安谱实验科技股份有限公司; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和 NaH_2PO_4 均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。

1.2 方法

1.2.1 预培养和 MC-LR 处理 将 12 株梭鱼草幼苗分别插入 12 孔泡沫板中并用海绵填充、固定,共 144 株幼苗;将泡沫板分别放入 12 个装有 1.5 L 1/4 Hoagland 营养液 (pH 6.5) 的 5 L 烧杯中,置于温度 $(25\pm 1)^\circ\text{C}$ 、光照度 3 000 lx、光照时间 $12\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 的培养箱中进行预培养,6 d 后更换 1 次营养液。

MC-LR 处理共设置 CK(对照)、T1 和 T2 3 组,MC-LR 的终浓度分别为 0、2 和 $10\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,每组设 4 个重复(即每组 48 株幼苗)。处理时,分别在 T1 和 T2 组的 1/4 Hoagland 营养液中加入纯 MC-LR,使处理液中 MC-LR 浓度达到各自设定的终浓度,而对照组仅用 1/4 Hoagland 营养液作为处理液;将各组幼苗分为 2 批(每批 24 株),分别处理 6 和 12 d,其中 1 批处理至第 6 天时更换 1 次相应的处理液;处理期间的培养条件同上。

1.2.2 吸收实验 采用常规耗竭法^[13]测定梭鱼草幼苗根系对 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 的吸收速率。 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 培养液分别用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和 NaH_2PO_4 以及去离子水配制。 NH_4^+ 浓度梯度为 0.05、0.10、0.25、0.50、0.75、1.00、1.25 和 $1.50\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$; H_2PO_4^- 浓度梯度为 0.01、0.02、0.05、0.10、0.20、0.30、0.40 和 $0.50\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。培养前后 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 的浓度分别采用纳氏试剂光度法^{[16]279-281}和钼锑抗分光光度法^{[16]246-248}测定。

在 MC-LR 处理的第 6 天和第 12 天分别从各处理组中取出幼苗,用去离子水冲洗干净,转入 $0.1\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{CaSO}_4$ 溶液中预培养 48 h,使幼苗达到饥

饿状态后分别转入上述 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 培养液中,每个 NH_4^+ 或 H_2PO_4^- 浓度处理 3 株幼苗,视为 3 个重复;吸收 4 h 后取出,分别剪下各单株的根系,于 60°C 烘干至恒质量,用精度 $0.0001\ \text{g}$ 的电子分析天平分别称量各单株的根系干质量。根据培养前后 NH_4^+ 或 H_2PO_4^- 浓度的变化和根系干质量计算梭鱼草幼苗根系 NH_4^+ 或 H_2PO_4^- 的吸收速率。

1.3 数据处理和分析

梭鱼草幼苗根系 NH_4^+ 或 H_2PO_4^- 的单株吸收速率(V_i)根据公式“ $V_i = [0.4(S - S_i)]/4W$ ”进行计算。式中, V_i 为 NH_4^+ 或 H_2PO_4^- 的吸收速率, S 为底物(NH_4^+ 或 H_2PO_4^-)的初始浓度, S_i 为吸收结束时的底物浓度, W 为梭鱼草单株根系干质量。结果以 3 个重复的平均值(V)计。

采用 Michaelis-Menten 方程^[17]计算梭鱼草幼苗根系的 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 吸收动力学参数,计算公式为 $V = (V_{\max} \cdot S)/(K_m + S)$ 。式中, V 为平均吸收速率, V_{\max} 为最大吸收速率, S 为底物浓度, K_m 为表观米氏常数。 V_{\max} 表示梭鱼草根对底物的吸收潜力, V_{\max} 值越大,吸收潜力越大; K_m 表示梭鱼草根对底物的亲和力, K_m 值越小,亲和力越大。采用双倒数作图法确定 K_m 和 V_{\max} 值,并用线性模型检验回归方程的拟合显著性。

运用 SPSS 10.0 软件及 SigmaPlot 10.0 软件对数据进行统计分析和作图。采用配对 t 检验进行差异显著性分析,并采用方差分析(ANOVA)对线性模型进行检验,从而确定回归方程的拟合显著性。

2 结果和分析

2.1 低浓度 MC-LR 处理对梭鱼草幼苗根系 NH_4^+ 吸收特性的影响

2.1.1 对 NH_4^+ 吸收速率的影响 用不同浓度微囊藻毒素 MC-LR 分别处理 6 和 12 d 后梭鱼草幼苗根系 NH_4^+ 吸收速率的变化见图 1。结果表明:随培养液中 NH_4^+ 浓度的提高,各处理组幼苗根系的 NH_4^+ 吸收速率均逐渐增大,但增幅则因 MC-LR 处理浓度和处理时间而异。

由图 1-A 可知:MC-LR 处理 6 d 后,在培养液中 NH_4^+ 浓度大于或等于 $0.50\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,T1 ($2\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\text{MC-LR}$)和 T2 ($10\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\text{MC-LR}$)组幼

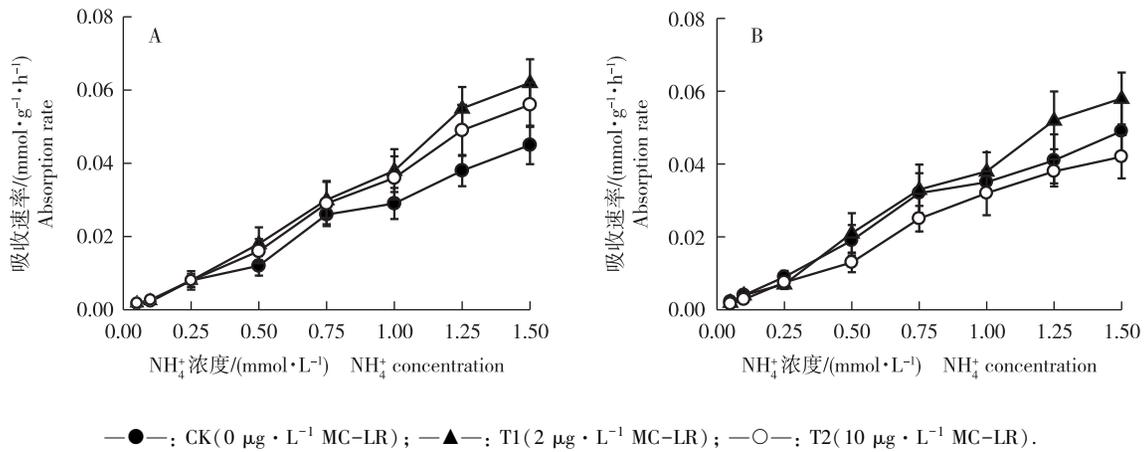


图1 不同浓度微囊藻毒素 MC-LR 处理后梭鱼草幼苗根系 NH_4^+ 吸收速率的变化
 Fig. 1 Change in NH_4^+ absorption rate of root of *Pontederia cordata* Linn. seedling after different concentrations of microcystin MC-LR treatment

苗根系的 NH_4^+ 吸收速率均显著 ($P < 0.05$) 高于 CK (对照, $0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR) 组; 在培养液中 NH_4^+ 浓度小于或等于 $0.75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, T1 与 T2 组间幼苗根系的 NH_4^+ 吸收速率无显著差异; 在培养液中 NH_4^+ 浓度大于或等于 $1.00 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, T1 组幼苗根系的 NH_4^+ 吸收速率显著高于 T2 组。

由图 1-B 可知: MC-LR 处理 12 d 后, 在培养液中 NH_4^+ 浓度大于或等于 $1.00 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, T1 组幼苗根系的 NH_4^+ 吸收速率显著高于 CK 组; 在培养液中 NH_4^+ 浓度大于或等于 $0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, T2 组幼苗根系的 NH_4^+ 吸收速率显著低于 CK 组; 在培养液中 NH_4^+ 浓度小于或等于 $0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, T1 与 T2 组间幼苗根系的 NH_4^+ 吸收速率无显著差异; 在培养液中 NH_4^+ 浓度大于或等于 $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, T1 组幼苗根系的 NH_4^+ 吸收速率显著高于 T2 组。

配对 t 检验结果表明: 在 T1 组中, MC-LR 处理 6 和 12 d 后幼苗根系的 NH_4^+ 吸收速率无显著差异; 而在 T2 组中, 在培养液中 NH_4^+ 浓度大于或等于 $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, MC-LR 处理 12 d 后幼苗根系的 NH_4^+ 吸收速率显著低于处理 6 d 后幼苗根系。说明经 $2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理后幼苗根系的 NH_4^+ 吸收速率保持稳定; 而用 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理超过 6 d 后, 幼苗根系的 NH_4^+ 吸收速率则降低。

由上述实验结果可见, 低浓度 (2 和 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) MC-LR 短期 (6 d) 处理可以促进梭鱼草幼苗根系的

NH_4^+ 吸收, 随处理时间延长, 在培养液中 NH_4^+ 浓度较高时, $2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理对其根系的 NH_4^+ 吸收仍具有明显的促进作用, 而 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理则对其根系的 NH_4^+ 吸收表现出一定的抑制作用, 导致 NH_4^+ 吸收速率降低。

2.1.2 对 NH_4^+ 吸收动力学参数的影响 用不同浓度 MC-LR 分别处理 6 和 12 d 后梭鱼草幼苗根系的 NH_4^+ 吸收动力学参数见表 1。梭鱼草幼苗根系的 NH_4^+ 吸收速率对底物浓度的函数关系符合双倒数曲线, 拟合关系均在 $\alpha = 0.001$ 水平上显著。

由表 1 可见: MC-LR 处理 6 d 后, T1 和 T2 组幼苗根系 NH_4^+ 吸收的最大吸收速率 (V_{\max}) 和表观米氏常数 (K_m) 均高于 CK 组, 其中, T2 组幼苗根系 NH_4^+ 吸收的 V_{\max} 和 K_m 值均略低于 T1 组。说明低浓度 (2 和 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) MC-LR 短期 (6 d) 处理可导致幼苗根系 NH_4^+ 吸收潜力提高, NH_4^+ 亲和力有一定程度降低, MC-LR 浓度越低, 此效应越明显。

由表 1 还可见: MC-LR 处理 12 d 后, T1 和 T2 组幼苗根系 NH_4^+ 吸收的 V_{\max} 和 K_m 值也均高于 CK 组。其中, T1 组幼苗根系 NH_4^+ 吸收的 V_{\max} 值较处理 6 d 后的幼苗根系提高了 23.4%, 而 K_m 值仅提高了 2.4%; T2 组幼苗根系 NH_4^+ 吸收的 K_m 值则较处理 6 d 后的幼苗根系提高了 15.4%, 而 V_{\max} 值仅提高了 6.0%。另外, 与 T1 组相比, T2 组幼苗根系 NH_4^+ 吸收的 V_{\max} 值较低, K_m 值较高。说明经 $2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR

表 1 不同浓度微囊藻毒素 MC-LR 处理后梭鱼草幼苗根系的 NH_4^+ 吸收动力学参数¹⁾

Table 1 Kinetic parameters of NH_4^+ absorption of root of *Pontederia cordata* Linn. seedling after different concentrations of microcystin MC-LR treatment¹⁾

处理时间/d Treatment time	处理组 Treatment group	MC-LR 浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ Concentration of MC-LR	方程 Equation	R^2	$V_{\max}/(\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1})$	$K_m/(\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$
6	CK	0	$V=0.091S/(3.035+S)$	0.958***	0.091	3.035
	T1	2	$V=0.154S/(4.623+S)$	0.950***	0.154	4.623
	T2	10	$V=0.150S/(4.374+S)$	0.976***	0.150	4.374
12	CK	0	$V=0.117S/(2.658+S)$	0.997***	0.117	2.658
	T1	2	$V=0.190S/(4.733+S)$	0.992***	0.190	4.733
	T2	10	$V=0.159S/(5.047+S)$	0.995***	0.159	5.047

¹⁾ V : 平均吸收速率 Average absorption rate; S : 底物浓度 Substrate concentration; V_{\max} : 最大吸收速率 The maximum absorption rate; K_m : 表观米氏常数 Apparent Michaelis-Menten constant. ***: $\alpha=0.001$.

处理,随处理时间延长,幼苗根系的 NH_4^+ 吸收潜力提高,而 NH_4^+ 亲和力略有降低;经 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理,随处理时间延长,幼苗根系的 NH_4^+ 亲和力降低,而 NH_4^+ 吸收潜力略有提高。

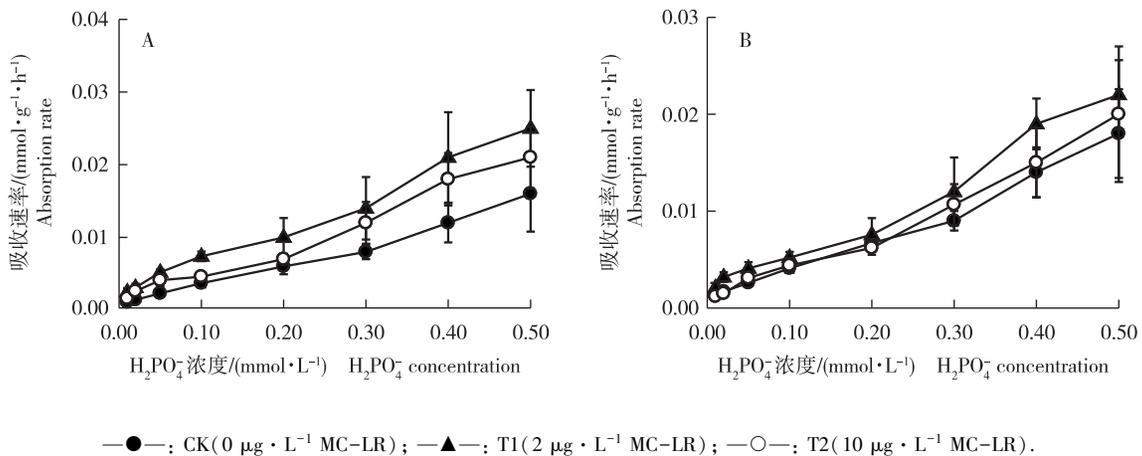
2.2 低浓度 MC-LR 处理对梭鱼草幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收特性的影响

2.2.1 对 H_2PO_4^- 吸收速率的影响 用不同浓度微囊藻毒素 MC-LR 分别处理 6 和 12 d 后梭鱼草幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收速率的变化见图 2。结果表明:随培养液中 H_2PO_4^- 浓度的提高,各处理组幼苗根系的 H_2PO_4^- 吸收速率均逐渐增大,但增幅则因 MC-LR 浓度和处理时间而异。

由图 2-A 可知:MC-LR 处理 6 d 后,T1 ($2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR)和 T2($10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR)组幼

苗根系的 H_2PO_4^- 吸收速率均显著 ($P<0.05$) 高于 CK (对照, $0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR)组;在培养液中 H_2PO_4^- 浓度小于或等于 $0.05 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,T1 与 T2 组间幼苗根系的 H_2PO_4^- 吸收速率无显著差异;在培养液中 H_2PO_4^- 浓度大于或等于 $0.10 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,T1 组幼苗根系的 H_2PO_4^- 吸收速率显著高于 T2 组。

由图 2-B 可知:MC-LR 处理 12 d 后,T1 组幼苗根系的 H_2PO_4^- 吸收速率显著高于 CK 组;在培养液中 H_2PO_4^- 浓度大于或等于 $0.30 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,T1 组幼苗根系的 H_2PO_4^- 吸收速率显著高于 T2 组,且二者幼苗根系的 H_2PO_4^- 吸收速率均显著高于 CK 组;在培养液中 H_2PO_4^- 浓度小于或等于 $0.20 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,T1、T2 和 CK 组间幼苗根系的 H_2PO_4^- 吸收速率均无显著差异。



A: 处理 6 d 后 After treatment for 6 d; B: 处理 12 d 后 After treatment for 12 d.

图 2 不同浓度微囊藻毒素 MC-LR 处理后梭鱼草幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收速率的变化
Fig. 2 Change in H_2PO_4^- absorption rate of root of *Pontederia cordata* Linn. seedling after different concentrations of microcystin MC-LR treatment

配对 t 检验结果表明:在 T1 和 T2 组中,MC-LR 处理 12 d 后幼苗根系的 H_2PO_4^- 吸收速率均显著低于处理 6 d 后的幼苗根系。说明随处理时间延长, $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理对幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收的抑制作用大于 $2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理。

由上述实验结果可见:低浓度(2 和 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) MC-LR 短期(6 d)处理可以促进梭鱼草幼苗根系的 H_2PO_4^- 吸收;随处理时间延长, $2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理对其根系的 H_2PO_4^- 吸收仍具有明显的促进作用,而 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理仅在培养液中 H_2PO_4^- 浓度较高时才对其根系的 H_2PO_4^- 吸收具有明显的促进作用。说明 $2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理对幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收的促进效应强于 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理。

2.2.2 对 H_2PO_4^- 吸收动力学参数的影响 用不同浓度 MC-LR 分别处理 6 和 12 d 后梭鱼草幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收的动力学参数见表 2。梭鱼草幼苗根系的 H_2PO_4^- 吸收速率对底物浓度的函数关系符合双倒数曲线,拟合关系均在 $\alpha=0.001$ 水平上显著。

由表 2 可知:MC-LR 处理 6 d 后,T1 组幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收的最大吸收速率(V_{\max})高于 CK 组,而表观米氏常数(K_m)低于 CK 组;T2 组幼苗根系 H_2PO_4^-

吸收的 V_{\max} 值高于 CK 组,而 K_m 值与 CK 组无差异。说明 $2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 短期(6 d)处理可使幼苗根系的 H_2PO_4^- 吸收潜力和亲和力均提高,而 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 短期处理也可使幼苗根系的 H_2PO_4^- 吸收潜力提高,但对 H_2PO_4^- 亲和力无明显影响。T1 组幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收的 V_{\max} 值高于 T2 组,而 K_m 值小于 T2 组。说明 $2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理对幼苗根系的 H_2PO_4^- 吸收潜力和亲和力具有更明显的促进效应。

由表 2 还可知:MC-LR 处理 12 d 后,T1 组幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收的 V_{\max} 值高于 CK 组,而 K_m 值明显小于 CK 组;T2 组幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收的 V_{\max} 值略高于 CK 组,而 K_m 值明显高于 CK 组。T1 组幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收的 V_{\max} 和 K_m 值均略低于处理 6 d 后的幼苗;其中,T2 组幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收的 K_m 值较处理 6 d 后的幼苗根系提高了 19.7%,而 V_{\max} 值则降低了 18.2%。此外,与 T1 组相比,T2 组幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收的 V_{\max} 值较低,而 K_m 值较高。说明经 $2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理,随处理时间延长,幼苗根系的 H_2PO_4^- 吸收潜力略有降低,而 H_2PO_4^- 亲和力略有提高;经 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理,随处理时间延长,幼苗根系的 H_2PO_4^- 吸收潜力和亲和力均降低。

表 2 不同浓度微囊藻毒素 MC-LR 处理后梭鱼草幼苗根系 H_2PO_4^- 吸收的动力学参数¹⁾

Table 2 Kinetic parameters of H_2PO_4^- absorption of root of *Pontederia cordata* Linn. seedling after different concentrations of microcystin MC-LR treatment¹⁾

处理时间/d Treatment time	处理组 Treatment group	MC-LR 浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ Concentration of MC-LR	方程 Equation	R^2	$V_{\max}/(\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1})$	$K_m/(\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$
6	CK	0	$V=0.007S/(0.061+S)$	0.909***	0.007	0.061
	T1	2	$V=0.013S/(0.048+S)$	0.905***	0.013	0.048
	T2	10	$V=0.011S/(0.061+S)$	0.948***	0.011	0.061
12	CK	0	$V=0.008S/(0.058+S)$	0.906***	0.008	0.058
	T1	2	$V=0.011S/(0.045+S)$	0.901***	0.011	0.045
	T2	10	$V=0.009S/(0.073+S)$	0.923***	0.009	0.073

¹⁾ V : 平均吸收速率 Average absorption rate; S : 底物浓度 Substrate concentration; V_{\max} : 最大吸收速率 The maximum absorption rate; K_m : 表观米氏常数 Apparent Michaelis-Menten constant. ***: $\alpha=0.001$.

3 讨论和结论

植物对养分的吸收和转运与其根系形态、根系有机的分泌以及营养物质的跨膜转运和体内转运等密切相关^[18-19]。微囊藻毒素(MCs)即使是在微量的情况下也会影响植物的个体生长、根系活力、根系长度、某些关键酶活性以及叶片光合作用等生理生化特

性^[20-23],从而导致植物养分吸收特性改变。本研究认为,经低浓度(2 和 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) MC-LR 处理后,梭鱼草幼苗根系 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 的亲和力、吸收速率及吸收潜力均有所变化。 $2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理可使梭鱼草幼苗根系的 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 吸收速率和吸收潜力提高,且处理时间越长,其 NH_4^+ 吸收潜力越大,说明 $2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理对梭鱼草幼苗根系的 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 吸收具有刺激效应。这种现象也存在

于其他植物中^[24-25],被认为是一种类似于类激素作用的“低剂量效应”^[26],例如,用 $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MCs 处理 7 d 均可使水稻 (*Oryza sativa* Linn.) 种子的芽长、过氧化物酶活性和呼吸速率增加^[24],水稻幼苗叶片的叶绿素含量及 PS II 光化学活性升高^[25]; $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理可显著促进莴苣 (*Lactuca sativa* Linn.) 叶片生长^[27];低浓度 MCs 可显著促进欧洲油菜 (*Brassica napus* Linn.) 和小白菜 (*B. chinensis* Linn.) 的生长^[28]。另外,低浓度 MCs 处理也影响植物根系生长^[29],而根系的生长状况和活力水平直接影响植物的养分吸收^[18],例如:当水稻根系处于生长旺盛、活力水平高的状态时其磷吸收速率较高^[18];用 $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MCs 处理 7 d 可促进水稻根系生长,提升根系活力^[22]。据此推断, $2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理可提升梭鱼草幼苗根系的生长和活力水平,从而促进其根系的营养吸收,但这一结论有待更多实验数据证实。

在本研究中, $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 短期(6 d)处理可使梭鱼草根系 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 的吸收速率和吸收潜力提高,但导致 NH_4^+ 亲和力降低;随处理时间延长(12 d),其根系的 NH_4^+ 吸收速率和亲和力降低, NH_4^+ 吸收潜力略有提高,且其根系的 H_2PO_4^- 吸收速率、亲和力和吸收潜力均降低,这可能与长时间 MCs 处理对植物根系产生危害作用以及 MCs 能抑制植物的蛋白磷酸酶活性有关^[11,30]。相关研究结果^[31-32]表明:MCs 对植物生长的抑制作用强度取决于 MCs 浓度及处理时间;Chen 等^[33-34]认为,MC-LR 可通过抑制根的伸长、根冠的形成对水稻根系形态产生影响,且 MCs 对水稻主根伸长有明显的抑制作用;尹黎燕等^[30]的研究结果表明: $0.0001 \sim 10.0000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-RR 对苦草 [*Vallisneria spiralis* (Lour.) Hara] 种子不定根的形成和生长以及根毛的生长都有一定的抑制效应,且随 MC-RR 浓度提高,抑制效应也随之增强;此外, $0.1 \sim 10.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理 21 d 对水稻根长也有影响^[10],这些研究结果均表明 MCs 对植物根系的生长有抑制效应。另外,植物对磷的吸收和转运需要磷转运蛋白的协助,未被磷酸化的 PHT1 磷转运蛋白在 PHF1 蛋白的协助下,从内质网转移至细胞膜上,进行磷的吸收和转运^[35];而 MCs 对植物蛋白磷酸酶活性具有一定抑制作用^[11],用 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 分别处理 15 和 34 d 后水稻根系的蛋白磷酸酶活性显著低于对照组^[11]。蛋白磷酸酶活性的降低会扰乱细胞内蛋白质代谢过程中磷酸化-去磷酸化

的平衡,促使细胞内多种蛋白质过磷酸化^[36],而磷酸化后的 PHT1 磷转运蛋白无法与 PHF1 蛋白结合,使 PHT1 磷转运蛋白从内质网向质膜的运输受阻,细胞膜上的 PHT1 磷转运蛋白减少,导致植物对 H_2PO_4^- 的吸收潜力降低。这也是低浓度 MC-LR 处理导致梭鱼草幼苗根系的 H_2PO_4^- 吸收速率、亲和力和吸收潜力降低的原因之一。

综上所述, $2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 处理对梭鱼草幼苗根系的 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 吸收具有明显的促进作用,而 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MC-LR 短期处理对其根系的 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 吸收也有一定的促进作用,但随处理时间延长,其根系的 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 亲和力均降低,且 H_2PO_4^- 吸收潜力也有一定程度降低,导致这一现象的原因与 MCs 对植物根系生长及细胞内蛋白磷酸酶活性的抑制作用有关,而 MC-LR 对梭鱼草根系养分吸收的影响机制有待更深入的研究和探讨。

本研究运用营养液培养法进行 MC-LR 处理,梭鱼草幼苗根系 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 吸收的动力学参数是在可控条件下获得,与实际的污染水体有一定差距,研究结果只能在一定程度上反映低浓度 MC-LR 对梭鱼草根系 NH_4^+ 和 H_2PO_4^- 吸收特性的影响。同时,本研究使用的 MC-LR 为化学制剂,纯度在 95% 以上,而自然水体中藻类水华的组成较复杂,各类微囊藻毒素均会对梭鱼草根系的吸收特性产生影响,因此,对于评价梭鱼草在富营养化水体生态修复中的实际作用,本研究结果只能作为参考依据之一。

参考文献:

- [1] 田如男,孙欣欣,魏勇,等.水生花卉对铜绿微囊藻、斜生栅藻和小球藻生长的影响[J].生态学杂志,2011,30(12):2732-2738.
- [2] 李真,罗锦洪,黄民生,等.以蜂巢石为基质的垂直流人工湿地对黑臭水体除磷中试研究[J].华东师范大学学报(自然科学版),2011(1):126-134.
- [3] 李丽,杨扬,杨凤娟,等.污染水体条件下生态浮床的植物生长特性与作用[J].安全与环境学报,2011,11(3):14-19.
- [4] SPOOF L, NEFFLING M-R, MERILUOTO J. Fast separation of microcystins and nodularins on narrow-bore reversed-phase columns coupled to a conventional HPLC system[J]. Toxicon, 2010, 55: 954-964.
- [5] WU J, SHAO S, ZHOU F, et al. Reproductive toxicity on female mice induced by microcystin-LR[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2014, 37: 1-6.
- [6] 万翔,邵义萍,王瑞,等.洱海水华期间饮用水源区产毒微囊藻和微囊藻毒素-LR 的分布特征[J].环境科学学报,2017,

- 37(6): 2040-2047.
- [7] 魏代春, 苏婧, 陈学民, 等. 阳澄湖和溇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): 2322-2328.
- [8] LINS R P M, BARBOSA L G, MINILLO A, et al. Cyanobacteria in a eutrophicated reservoir in a semi-arid region in Brazil: dominance and microcystin events of blooms[J]. Brazilian Journal of Botany, 2016, 39: 583-591.
- [9] 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: 107-121.
- [10] 张慧, 姜锦林, 张宇峰, 等. 微囊藻毒素-LR和铜绿微囊藻裂解液对营养生长期水稻生理生化效应[J]. 中国环境科学, 2017, 37(8): 3134-3141.
- [11] 张敏敏, 姜锦林, 周军英, 等. 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[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(12): 2296-2302.
- [12] 张亚丽, 董园园, 沈其荣, 等. 不同水稻品种对铵态氮和硝态氮吸收特性的研究[J]. 土壤学报, 2004, 41(6): 918-923.
- [13] 陈国元, 李国新, 唐凯. 黄菖蒲和狭叶香蒲根系对氮磷的吸收动力学[J]. 环境工程学报, 2013, 7(12): 4638-4642.
- [14] 金春华, 陆开宏, 胡智勇, 等. 粉绿狐尾藻和凤眼莲对不同形态氮吸收动力学研究[J]. 水生生物学报, 2011, 35(1): 75-79.
- [15] 孙传范, 肖凯, 韩胜芳, 等. 植物吸收和转运磷素的分子机理研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2011, 13(2): 17-24.
- [16] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 246-281.
- [17] MICHAELIS L, MENTEN M L. Die kinetik der invertinwirkung[J]. Biochemische Zeitschrift, 1913, 49: 333-369.
- [18] 林文雄, 石秋梅, 郭玉春, 等. 水稻磷效率差异的生理生化特性[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(6): 578-583.
- [19] 周志高, 汪金舫, 周健民. 植物磷营养高效的分子生物学研究进展[J]. 植物学通报, 2005, 22(1): 82-91.
- [20] 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: 752-764.
- [21] LIANG C, WANG W. Response and recovery of rice (*Oryza sativa*) seedlings to irrigation with microcystin-contaminated water[J]. Environmental Earth Sciences, 2015, 73: 4573-4580.
- [22] 王妮敏, 邓琦, 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, 35(4): 1468-1472.
- [23] CORDEIRO-ARAÚJO M K, CHIA M A, HEREMAN T C, et al. Selective membrane permeability and peroxidase activity response of lettuce and arugula irrigated with cyanobacterial contaminated water[J]. Environmental Earth Sciences, 2015, 74: 1547-1553.
- [24] 陈丹, 张鑫, 王余, 等. 微囊藻毒素对水稻种子萌发的影响[J]. 环境科学与技术, 2015, 38(1): 11-14.
- [25] 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.
- [26] CALABRESE E J. Hormesis: changing view of the dose-response, a personal account of the history and current status[J]. Mutation Research-Reviews in Mutation Research, 2002, 511: 181-189.
- [27] 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.
- [28] LIU B, GONG Y, XIAO B, et al. A laboratory study on risk assessment of microcystin-RR in cropland [J]. Journal of Environmental Management, 2008, 86: 566-574.
- [29] 李慧明, 干晓宇, 邓蕾, 等. 微囊藻毒素(MC-LR)在黑麦草幼苗体内的积累及其生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(1): 49-53.
- [30] 尹黎燕, 黄家权, 李敦海, 等. 微囊藻毒素对沉水植物苦草生长发育的影响[J]. 水生生物学报, 2004, 28(2): 147-150.
- [31] MÁTHÉ C, BEYER D, ERDÓDI F, et al. Microcystin-LR induces abnormal root development by altering microtubule organization in tissue-cultured common reed (*Phragmites australis*) plantlets[J]. Aquatic Toxicology, 2009, 92: 122-130.
- [32] 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, 2011, 20: 803-814.
- [33] 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.
- [34] 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.
- [35] BAYLE V, ARRIGHI J-F, CREFF A, et al. *Arabidopsis thaliana* high-affinity phosphate transporters exhibit multiple levels of posttranslational regulation [J]. The Plant Cell, 2011, 23: 1523-1535.
- [36] 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.

(责任编辑: 郭严冬)