

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20190705001

夏凡, 李翠, 陈传胜, 等. 黄菖蒲对阿特拉津胁迫的生理响应[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(5): 255-263

Xia F, Li C, Chen C S, et al. Physiological response of *Iris pseudacorus* to atrazine stress [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(5): 255-263 (in Chinese)

黄菖蒲对阿特拉津胁迫的生理响应

夏凡^{1,2}, 李翠¹, 陈传胜², 王庆海^{1,*}

1. 北京市农林科学院北京草业与环境研究发展中心, 北京 100097

2. 中南林业科技大学环境科学与工程学院, 长沙 410004

收稿日期: 2019-07-05 录用日期: 2019-08-31

摘要: 化学除草剂阿特拉津通过阻碍电子传递抑制植物光合作用, 其水体污染的生态毒性倍受关注。为揭示挺水植物对阿特拉津胁迫的生理响应规律, 采用水培试验模拟不同浓度阿特拉津胁迫, 测定黄菖蒲叶绿素荧光参数及叶片防御酶活性在抑菌和无抑菌条件下的变化, 分析二者间的相关性。结果表明, 不抑菌条件下, 胁迫浓度 $\leq 4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, POD 和 PPO 活性增强, 随着胁迫强度加大活性下降, 而 SOD 活性显著升高。PPO 活性与多个叶绿素荧光参数、MDA 含量显著相关。胁迫浓度 $\leq 1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 植物各叶绿素荧光参数均与对照组无显著差异; $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时仍可维持正常水平的叶绿素含量和光合效率。这表明, 阿特拉津胁迫下 3 种酶的协调作用提高了植物的适应能力, PPO 活性可反映植物光合作用受抑制程度及受氧化损伤程度。黄菖蒲对阿特拉津的耐受水平可达到 $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 微生物可以减轻阿特拉津的植物毒性, 这可能归因于其能够促进阿特拉津降解。

关键词: 阿特拉津; 黄菖蒲; 光合特性; 防御酶

文章编号: 1673-5897(2020)5-255-09 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Physiological Response of *Iris pseudacorus* to Atrazine Stress

Xia Fan^{1,2}, Li Cui¹, Chen Chuansheng², Wang Qinghai^{1,*}

1. Beijing Research and Development Center for Grass and Environment, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China

2. College of Environmental Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China

Received 5 July 2019 accepted 31 August 2019

Abstract: Atrazine inhibits plant photosynthesis by blocking the electron transfer in the photosystem II. Atrazine pollution in surface waters has become the subject of continuous concern due to its potential ecotoxicity. In order to detect the physiological response of the emergent plants to the atrazine stress, *Iris pseudacorus* was exposed to atrazine (0.5, 1, 2, 4 and $8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) for 3 weeks in a hydroponic system. The chlorophyll fluorescence parameters and defense enzyme activities of the leaves were determined under nature and sterile conditions. The correlations of the chlorophyll fluorescence parameters with defense enzyme activities were analyzed. The results showed that POD and PPO activities were enhanced at atrazine concentrations not exceeding $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, decreasing with increasing stress concentrations, while SOD activity increased significantly under such conditions. PPO activity was significantly correlated with several chlorophyll fluorescence parameters and MDA content. All of the tested chlorophyll

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目(5192004); 国家自然科学基金资助项目(31370540)

第一作者: 夏凡(1993—), 女, 硕士研究生, 研究方向为污染控制工程, E-mail: x729520318@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: wqh@grass-env.com

fluorescence parameters were not significantly different from the control at low atrazine concentrations ($\leq 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), and the plant can maintain normal levels of chlorophyll content and photosynthetic efficiency at $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ atrazine stress. These results suggested that the coordination of three enzymes increased the plant adaptability under atrazine stress, and PPO activity reflected the degree of photosynthesis inhibition and the degree of oxidative damage. The tolerance level of *Iris pseudacorus* to atrazine reached $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and microorganisms can alleviate the phytotoxicity of atrazine maybe due to its role in degrading atrazine.

Keywords: atrazine; *Iris pseudacorus*; photosynthetic characteristics; defense enzymes

阿特拉津是一种内吸传导型除草剂,常用于一年生禾本科杂草和阔叶杂草的防除。阿特拉津残留期及应用历史长和使用范围广,导致的环境问题日益突出^[1]。我国长江流域、黄河流域和松花江流域等重点流域地表水中阿特拉津的检出率为 100%^[2],曾为北京重要饮用水水源地的官厅水库,水体阿特拉津的检出量为 $206 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$,含量明显高于其他有机氯农药^[3]。即使在阿特拉津已禁用的德国,降雨、饮用水、地表水和地下水中仍能检出^[4]。阿特拉津通过阻止光系统 II (PS II) 的电子传递,抑制植物的光合作用^[5]。因此,水体阿特拉津污染会对水生植物造成胁迫,甚至可能导致敏感植物种类消亡。地表水除草剂污染被认为是继富营养化之后,又一个致使植物种群下降的重要因素^[6]。关于除草剂对植物生长和生理特性的影响已有大量研究报告。研究表明,阿特拉津对沉水植物菹草(*Potamogeton crispus*)和穗花狐尾藻(*Myriophyllum spicatum*)的生长具有显著抑制作用^[7];阿特拉津显著增加植物叶片中的活性氧(ROS)和丙二醛(MDA)含量,导致植物氧化损伤^[8];水葱(*Scirpus tabernaemontani*)在阿特拉津胁迫下,过氧化物酶(POD)活性升高以清除 ROS,减轻膜脂过氧化程度;但随着胁迫强度增加,POD 不断消耗最终导致其活性下降^[9];即使对阿特拉津具有一定耐受性的黄菖蒲(*Iris pseudacorus*),长时间胁迫也会使其光合效率显著下降^[10]。长期暴露于阿特拉津的大叶藻(*Zostera marina*),即使浓度较低($10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$),仍会导致其能量供应减少,碳氮代谢改变^[11]。

水生植物暴露于阿特拉津,会调控一系列生理生化过程应对胁迫,其中,防御酶和光合系统的响应尤为重要。植物在逆境条件下光合电子传递过程中光能转化和利用与 ROS 代谢之间有着密切联系^[12]。虽然,目前关于除草剂对植物生理特性的影响已大量研究报告,但较少涉及阿特拉津胁迫下不同防御酶间的协调作用,以及植物光合效率与防御酶活性

间的关系。黄菖蒲是多年生挺水植物,在水体污染物去除和生态景观建设中经常用到,且对阿特拉津有较强的耐受性^[13]。本试验以黄菖蒲为材料,研究抑菌和无抑菌条件下阿特拉津胁迫对植物光合特性和防御酶活性的影响,分析光合特性与防御酶活性间的相关性,以期阐明植物防御酶在应对胁迫过程中的调控作用,为揭示挺水植物对阿特拉津的耐受机理提供一定的理论依据。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 试验材料

供试植物黄菖蒲为北京市农林科学院温室育苗盘培养。挑选长势一致的幼苗(单株平均鲜重(4.5 ± 0.8) g),进行水培试验前清洗植物根部泥土,添加 1 L 10% Hoagland 营养液缓苗 1 周。将植物移入培养桶(直径 30 cm,高 26 cm)中,每个桶中放置 3 株植物,并添加 1 L 10% Hoagland 营养液。

1.2 试验设计

设置阿特拉津浓度和抑菌 2 个因素。有关文献报道,阿特拉津在环境中的最大检出量为 $100 \sim 200 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[14],为保证本试验各浓度阿特拉津对黄菖蒲保持较高的逆境胁迫,以便快速得到阿特拉津对植物生理毒性的相关数据,按倍数设置相关浓度梯度,依次为 0.1、0.5、1、2、4 和 $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,空白对照组不添加阿特拉津。微生物,特别是细菌,可以通过降解阿特拉津、改善植物根际环境提高植物在逆境条件下的抵御能力,促进植物生长^[15-16]。为分析细菌对植物应对阿特拉津胁迫的影响,添加氨苄青霉素($10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)作为抑菌处理,该浓度的氨苄青霉素可有效抑制细菌生长,但对植物生长无明显影响^[17];不添加氨苄青霉素作为无抑菌处理。共 14 个处理,每个处理 3 次重复,每个重复 3 株幼苗。所有处理均置于日光温室培养,培养温度 $21 \sim 35 \text{ } ^\circ\text{C}$,光强约为自然光强的 60%,培养 21 d 后取样。

1.3 生理指标的测定

胁迫处理 21 d 后,原位测定叶绿素荧光参数。

用便携式光合测定分析仪(LI-6400, Li-COR 公司, 美国)测定黄菖蒲由外向里第 2 叶的荧光参数,测定前先将叶片暗适应 20 min,照射检测光后测得初始荧光(F_0),照射饱和激发光后测得最大光能转化效率(F_v/F_m)、光化学淬灭系数(qP)、非光化学淬灭系数(qN)和电子传递速率(ETR),每个处理测定 9 个点。再将植物从营养液中取出,洗净擦干,带回实验室测定生理指标。叶片叶绿素含量的测定采用丙酮浸泡过夜法^[18]。防御酶选择植物在应对阿特拉津胁迫过程具有重要作用的超氧化物歧化酶(SOD)、POD 和多酚氧化酶(PPO)^[19-20],SOD 采用氮蓝四唑法,POD 采用愈创木酚比色法,PPO 用邻苯二酚法,MDA 含量采用硫代巴比妥酸法^[21]。

1.4 数据统计与分析

采用软件 SPSS 22.0 统计分析数据,通过多因素方差分析比较各项测试指标差异显著性,显著性水平设置为 $P<0.05$ 、 $P<0.01$;采用 Origin 8.5 作图。

2 结果与分析 (Results and analysis)

2.1 阿特拉津胁迫对黄菖蒲叶绿素含量的影响

随着阿特拉津胁迫浓度的增加,植物叶绿素含量(图 1(a))和叶绿素 a/b 值(图 1(b))均呈现下降趋势,叶绿素含量的降幅大于叶绿素 a/b 值下降幅度。抑菌条件下,当胁迫浓度 $\geq 2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,叶绿素含量显著下降,降幅超过 30%, $8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组降幅达

到 68%。与此同时,黄菖蒲表现出长势低矮、叶片枯黄等症状。无抑菌条件下,仅 $8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组叶绿素含量显著下降,各浓度处理组叶绿素 a/b 值与对照组均无显著差异;而抑菌条件下,最高剂量处理组($8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)显著降低,降幅为 37%。

2.2 阿特拉津胁迫对黄菖蒲叶绿素荧光参数的影响

不同浓度阿特拉津胁迫下黄菖蒲 F_0 变化如图 2(a)所示。无抑菌条件下,低浓度处理组($\leq 4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)与对照组无显著性差异,当胁迫浓度达到 $8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时显著降低,降幅为 17%。抑菌条件下, F_0 随胁迫浓度的升高呈现先降后升趋势, $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组 F_0 最低, $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组又上升。

随着阿特拉津胁迫浓度增大,黄菖蒲的 F_v/F_m 呈渐降趋势(图 2(b)),表现出明显的剂量-效应关系。无抑菌条件下,除最大浓度 $8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组显著降低,其余均与对照组相比无显著性差异。抑菌条件下, $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组 F_v/F_m 无显著影响;但当浓度 $\geq 0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, F_v/F_m 呈现显著下降。

无抑菌条件下各浓度处理组 qP 差异不显著(图 2(c))。抑菌条件下 $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组较对照组略上升,但差异不显著; $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组 qP 较对照组分别下降了 34% 和 57%,呈显著性差异。这表明,抑菌和高浓度共同作用对 qP 影响显著。

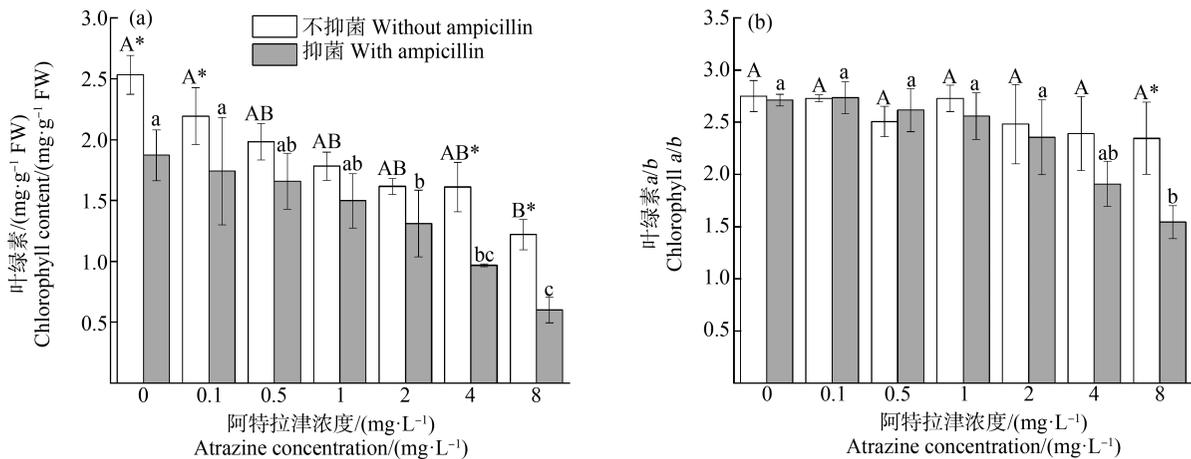


图 1 阿特拉津胁迫对黄菖蒲叶绿素含量 (a) 及叶绿素 a/b 值 (b) 的影响

注:不同大写字母表示不抑菌条件下各浓度之间差异显著,不同小写字母表示抑菌条件下各浓度之间差异显著($P<0.05$);

* 和 ** 分别表示同一浓度抑菌和无抑菌之间差异显著水平在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$;下同。

Fig. 1 Effects of atrazine on chlorophyll content (a) and chlorophyll a/b (b) in *Iris pseudacorus*

Note:Different uppercase and lowercase letters indicate significant differences among treatments with different concentrations under nature and sterile conditions ($P<0.05$), respectively; * and ** indicate significant differences between nature and sterile conditions at the same treatment concentration at 0.05 and 0.01 levels, respectively; the same below.

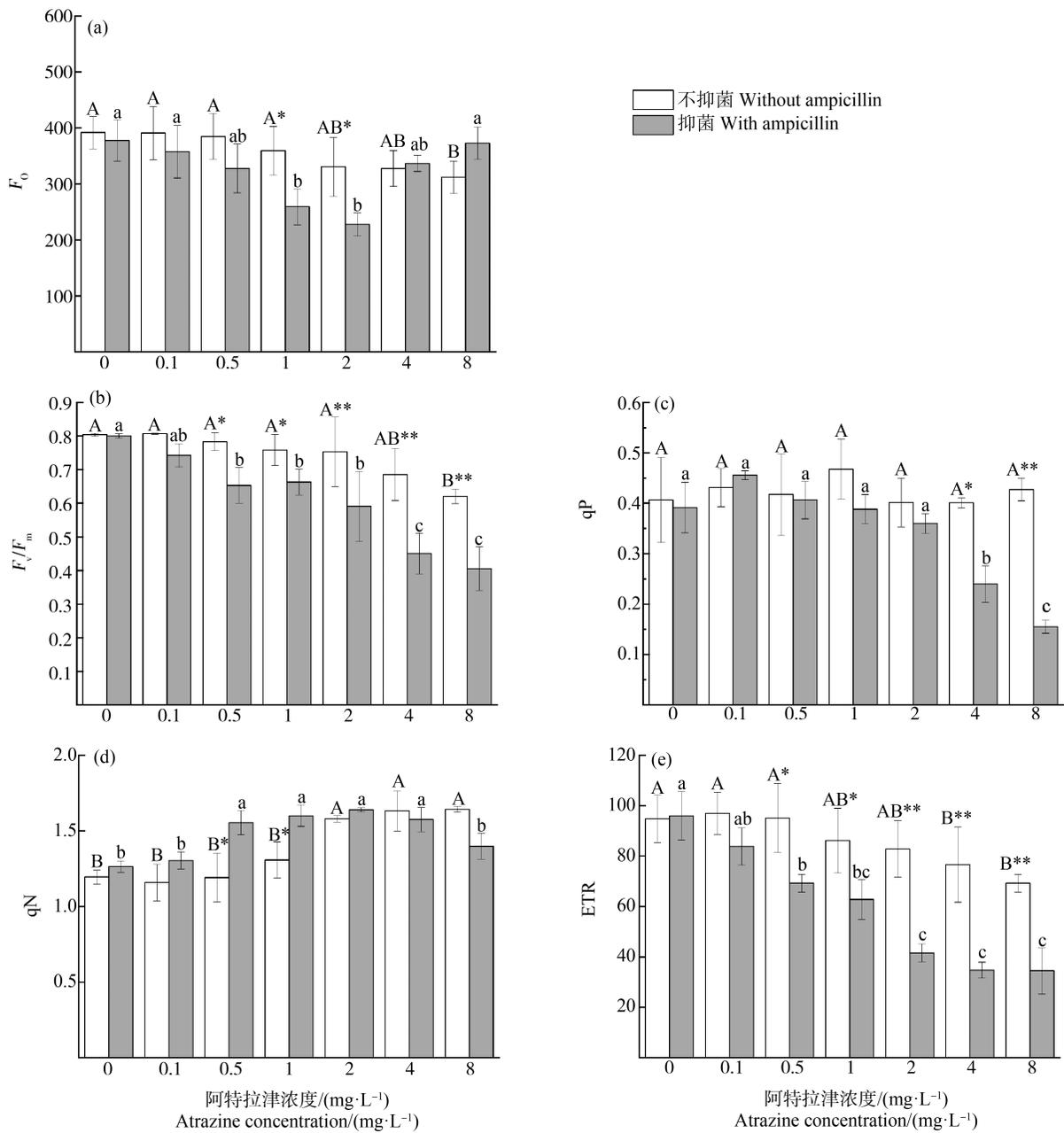


图2 阿特拉津胁迫对黄菖蒲叶绿素荧光参数的影响

注: F_0 、 F_v/F_m 、 qP 、 qN 和 ETR 分别表示初始荧光、最大光能转化效率、光化学淬灭系数、非光化学淬灭系数和电子传递速率。

Fig. 2 Effects of atrazine on chlorophyll fluorescence parameters of *Iris pseudacorus*

Note: F_0 stands for minimal fluorescence; F_v/F_m stands for maximal quantum yield of PS II; qP stands for photochemical quenching; qN stands for non-photochemical quenching; ETR stands for photosynthetic electron transport rate.

阿特拉津对黄菖蒲 qN 的影响如图 2(d)所示。无抑菌条件下 qN 随阿特拉津浓度的增加而升高, 0.1 ~ 1 $mg \cdot L^{-1}$ 处理组与对照组相比无显著性差异, 2 ~ 8 $mg \cdot L^{-1}$ 处理组较对照组显著增加。抑菌条件下随着阿特拉津浓度的升高, qN 呈现先升后降趋势, 在 2 $mg \cdot L^{-1}$ 处理组达到最大值, 而 4 ~ 8 $mg \cdot L^{-1}$ 处理组又降低, 表明此时植物 PS II 反应中心结构可

能已经受到了破坏。

阿特拉津对黄菖蒲 ETR 的影响如图 2(e)所示。无抑菌条件下, 0.1 ~ 2 $mg \cdot L^{-1}$ 处理组黄菖蒲 ETR 所受影响不明显, ETR 保持在 74 ~ 94 之间; 阿特拉津浓度增加至 4 $mg \cdot L^{-1}$, ETR 呈现显著降低, 4 $mg \cdot L^{-1}$ 和 8 $mg \cdot L^{-1}$ 处理组降幅分别达 17% 和 25%, 说明高浓度阿特拉津对黄菖蒲存在一定的抑制作用。

抑菌条件下随着阿特拉津浓度的升高,ETR 急剧下降。除 0.1 mg·L⁻¹ 处理组与对照组无显著差异外,其余各浓度处理组与对照组均差异显著。

2.3 阿特拉津胁迫对黄菖蒲叶片 MDA 含量的影响

随着阿特拉津浓度的升高,叶片 MDA 含量表现出明显的先升再降趋势(图 3(a))。无抑菌条件下,胁迫浓度 ≥ 0.5 mg·L⁻¹ 时显著增加,在 4 mg·L⁻¹ 处理组达到最大值,8 mg·L⁻¹ 处理组略微下降。抑菌条件下各胁迫浓度均显著增加,在 2 mg·L⁻¹ 处理组达到最大值,4 mg·L⁻¹ 和 8 mg·L⁻¹ 处理组又降低。

2.4 阿特拉津胁迫对黄菖蒲抗氧化酶活性的影响

无抑菌条件下,黄菖蒲叶片 SOD 活性随着阿特拉津浓度的增加呈现上升趋势,8 mg·L⁻¹ 处理组与对照组相比差异显著,其余浓度处理组无显著差异(图 3(b))。抑菌条件下 SOD 活性呈现先升后降趋势,4 mg·L⁻¹ 处理组 SOD 活性达最大,是对照组的 1.6 倍;8 mg·L⁻¹ 处理组 SOD 活性略降,但仍与 4 mg·L⁻¹ 处理组处于同一水平。

阿特拉津胁迫下,黄菖蒲叶片 POD 活性显著增

加,随阿特拉津浓度的增加呈现先升后降趋势(图 3(c))。无抑菌条件下,0.1 mg·L⁻¹ 处理组与对照组无显著差异,4 mg·L⁻¹ 处理组达到最大,是对照组的 3.84 倍;当阿特拉津浓度为 8 mg·L⁻¹ 时下降,但仍显著高于对照组。抑菌条件下,POD 活性在阿特拉津浓度为 0.5 mg·L⁻¹ 时达到峰值,是对照组的 2.62 倍;随着胁迫浓度进一步增加急剧下降,4 mg·L⁻¹ 和 8 mg·L⁻¹ 处理组与对照组相比无显著差异,抑菌处理条件下 POD 活性在胁迫浓度达到 4 mg·L⁻¹ 时已被抑制。

植物叶片 PPO 活性变化与 POD 类似,随阿特拉津的浓度的增加先升后降(图 3(d))。无抑菌条件下,当浓度达到 1 mg·L⁻¹ 时,PPO 活性与对照组开始呈现显著性差异,浓度为 4 mg·L⁻¹ 时最大,8 mg·L⁻¹ 时下降,但仍显著高于对照组。抑菌条件下阿特拉津浓度为 0.1 mg·L⁻¹ 时,PPO 活性已显著高于对照组;当浓度为 2 mg·L⁻¹ 时达到峰值,是对照组的 2.03 倍,其后 PPO 活性下降;当浓度为 8 mg·L⁻¹ 时,PPO 活性虽高于对照组,但二者差异不显著。

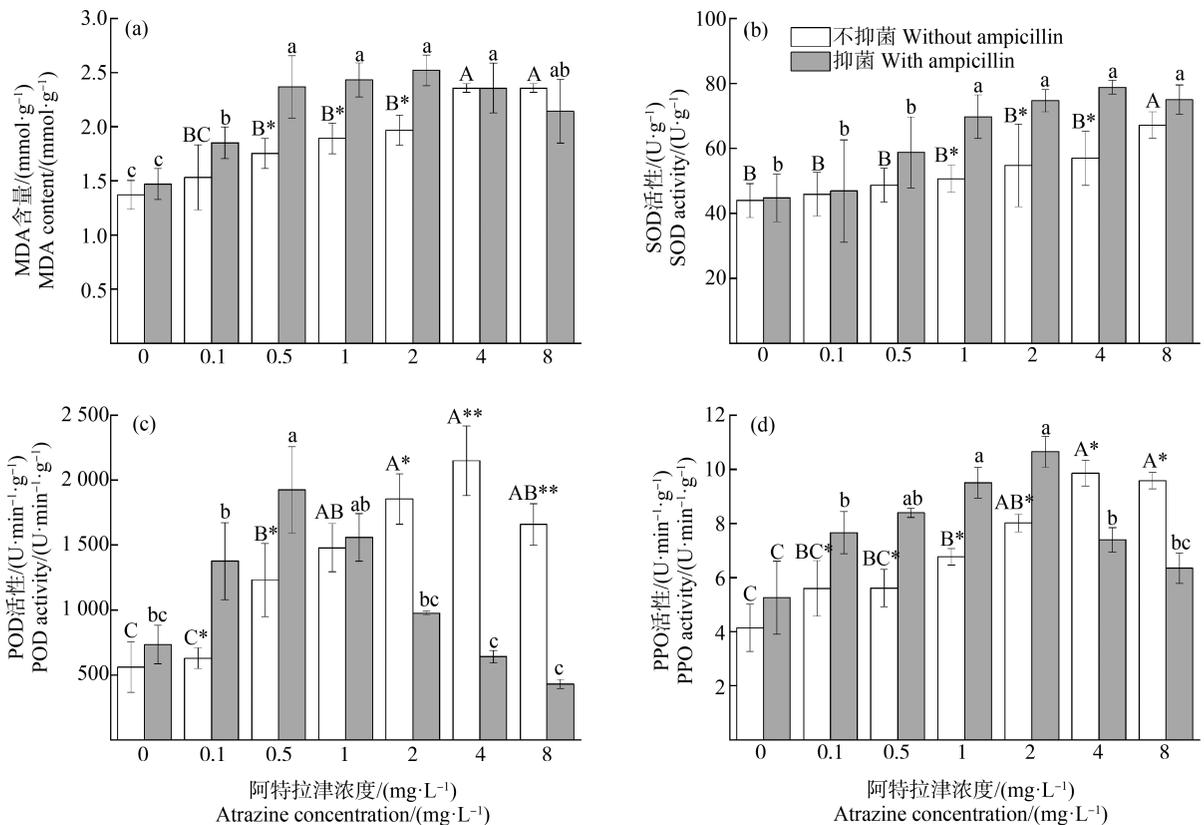


图 3 阿特拉津胁迫对黄菖蒲丙二醛(MDA)含量和抗氧化酶活性的影响

注:SOD 表示超氧化物歧化酶,POD 表示过氧化物酶,PPO 表示多酚氧化酶。

Fig. 3 Effects of atrazine on malondialdehyde (MDA) content and antioxidant enzyme activities of *Iris pseudacorus*

Note: SOD stands for superoxide dismutase; POD stands for peroxidase; PPO stands for polyphenol oxidase.

2.5 相关性分析

为了进一步研究抑菌和无抑菌条件下各因素之间的关系,进行相关性分析。由表1可知,无抑菌条件下,MDA含量与叶绿素 *a/b* 值、 F_v/F_m 和 ETR 呈显著负相关,与 qN 呈显著正相关。SOD 活性与 F_v/F_m 呈现显著负相关,POD 活性与 ETR 呈显著负相关,PPO 活性与叶绿素 *a/b* 值、 F_v/F_m 、qN 和 ETR 呈显著负相关,与 MDA 含量呈现显著正相关。抑菌条件下,MDA 含量与叶绿素含量、叶绿素 *a/b* 值、 F_v/F_m 、qP 和 ETR 呈显著负相关。SOD 活性与 qN 呈现显著正相关,PPO 活性与 F_o 呈显著负相关,与 qN 呈正相关关系。

3 讨论 (Discussion)

3.1 阿特拉津胁迫对黄菖蒲的毒性效应

随着阿特拉津浓度的增加,叶绿素含量下降,但叶绿素 *a/b* 值维持在正常水平。MDA 含量升高。王庆海等^[22]研究芦苇对阿特拉津的抗逆性时发现,胁迫1周后,0.5、1、2 和 4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组叶绿素 *a/b* 值显著降低,而胁迫2周后,各处理组与对照组差异不显著,这表明,在阿特拉津胁迫后期,叶绿素含量降低,植物通过调整叶绿素 *a/b* 值提高叶片光合能力,是植物对阿特拉津胁迫的一种适应性保护机制。MDA 是胁迫下膜脂过氧化物的最终产物,其含量

可以间接反映植物遭受胁迫毒害的程度。植物叶片中 MDA 积累越多,细胞膜受到的损伤越大^[23]。本试验中,MDA 含量在无抑菌条件下低浓度(0.1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)处理组与对照组处于同一水平;随着阿特拉津浓度的增加逐渐升高,这表明,阿特拉津对黄菖蒲具有明显的剂量毒性效应,但不同的是,抑菌处理组植物在高浓度胁迫下 MDA 含量下降,可能此时植物遭受除草剂胁迫已超过其耐受限度,植物衰败死亡。这说明,微生物可以在一定程度上减轻阿特拉津的植物毒性,这可能与微生物能够促进阿特拉津降解有关。

3.2 阿特拉津胁迫对植物光合特性的影响

叶绿素荧光常用于评价光合系统的效能和环境胁迫对光合系统的影响,具有反映植物“最真实内在”的特点^[24]。 F_o 反映 PS II 天线色素内的最初激子密度、天线色素之间以及天线色素到 PS II 反应中心的激发能传递机率的结构状态^[25]。 F_o 增加量越多,类囊体膜受损程度越严重^[26]。 F_v/F_m 代表 PS II 的最大光能转化效率和最大量子产量,非胁迫条件下变化极小,可作为反映胁迫程度的主要指标^[27]。本试验低浓度条件下植物受到的胁迫损伤较小;高浓度胁迫时,无抑菌处理组 F_o 显著降低, F_v/F_m 变化并不明显,植物只是发生了光抑制;而抑菌条件下, F_o 亦显著升高, F_v/F_m 明显降低,表明阿特拉津诱发

表1 抑菌和无抑菌条件下各指标之间的皮尔森相关系数

Table 1 Pearson correlation coefficients for these indicators under nature and sterile conditions

	叶绿素含量 Chlorophyll	叶绿素 <i>a/b</i> Chlorophyll <i>a/b</i>	F_o	F_v/F_m	qP	qN	ETR	MDA	SOD	POD	PPO
叶绿素含量 Chlorophyll	1	0.259	0.009	0.358	0.244	-0.463*	0.516*	-0.142	-0.194	0.057	-0.273
叶绿素 <i>a/b</i> Chlorophyll <i>a/b</i>	0.659**	1	0.234	0.563**	0.089	-0.756**	0.593**	-0.593**	-0.388	-0.350	-0.484*
F_o	0.149	0.512*	1	0.268	0.140	-0.298	0.129	-0.412	0.008	0.178	0.023
F_v/F_m	0.64**	0.724**	0.227	1	0.425	-0.689**	0.754**	-0.527*	-0.439*	0.016	-0.559**
qP	0.555**	0.869**	0.514*	0.506*	1	-0.187	0.636**	0.014	0.211	0.255	-0.158
qN	-0.134	-0.487*	-0.704**	-0.469*	-0.449*	1	0.826*	0.739**	-0.306	-0.326	-0.655**
ETR	0.734**	0.691**	0.081	0.641**	0.601**	-0.161	1	-0.459*	0.155	-0.498*	-0.526*
MDA	-0.654**	-0.543*	0.107	-0.495*	-0.551**	0.087	-0.783**	1	0.367	0.413	0.784*
SOD	0.231	-0.194	-0.113	-0.103	-0.158	0.461*	0.153	0.310	1	0.021	0.398
POD	0.388	0.381	-0.066	0.294	0.354	-0.023	0.278	0.187	-0.043	1	0.326
PPO	-0.241	0.198	-0.799**	-0.140	0.351	0.581**	-0.340	-0.114	-0.268	0.015	1

注:白色块为无抑菌情况,灰色块为抑菌情况;*和**表示相关显著性水平在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 。

Note: The white and gray blocks represent Pearson correlation coefficients under nature and sterile conditions, respectively; * and ** represent significant correlation at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

了氧化胁迫,此时植物的PS II反应中心结构可能已经受到了损害或失活,也可能是叶片类囊体膜受到损伤。这也进一步表明,微生物可以在一定程度上减轻阿特拉津的植物毒性,植物能维持较高的光化学转化效率。

qP和qN这两个参数可以综合反映叶片对激发能利用的情况^[28]。ETR是PS II反应中心在进行光合作用时电子传递的速率,它直接影响光合速率的大小。本试验条件下,阿特拉津胁迫浓度达到 $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,qP变小,qN显著增大,ETR显著下降,表明黄菖蒲PS II反应中心开放部分的比例降低,电子传递能力减弱,用于光合作用的能量减少,光能中用于非光化学反应的能量增加。qN增大表明植物将不能用于光化学电子传递的能量通过热量的形式耗散掉,这也是植物的一种自我保护机制^[29]。

3.3 阿特拉津胁迫对防御酶活性的影响

植物暴露于阿特拉津时,会激发SOD、POD和PPO等防御酶活性。本试验浓度范围内,POD和PPO活性随着胁迫浓度的增加先升后降,SOD活性则呈现持续增加趋势,表明POD和PPO对细胞的保护作用存在一个剂量阈值,当胁迫强度大于该阈值时,酶的保护作用减弱。此外,剂量阈值在无抑菌条件下高于抑菌条件,表明微生物可以减轻阿特拉津对黄菖蒲的胁迫,扩大了黄菖蒲对阿特拉津胁迫的耐受范围。当胁迫强度加大至 $8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,POD和PPO活性下降,SOD活性显著升高,体现了植物防御酶间的协调作用。

3.4 阿特拉津胁迫下防御酶系统与光合参数的关系

植物暴露于低浓度阿特拉津时,植物体内抗氧化系统启动应对胁迫,POD活性显著增加,可有效清除活性氧和维持植物体内活性氧的正常水平。本研究表明,阿特拉津浓度 $\leq 1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,植物在无抑菌条件下可通过自身的抗氧化系统清除活性氧,调节机体维持正常的光合作用。当胁迫浓度增至 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,PPO活性也显著增加,参与应对胁迫,但qN显著增加,植物的光能利用率下降。当胁迫浓度达到 $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,植物ETR也明显降低,POD和PPO活性达到最大,但 F_o 和 F_v/F_m 仍与对照组无显著差异,表明植物仍可维持正常水平的叶绿素浓度和PS II初始光能转化效率。当胁迫浓度达到 $8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,SOD活性显著增强,但POD和PPO活性显著下降,植物 F_o 升高, F_v/F_m 、qP和ETR显著降低,表明胁迫已超过植物可承受范围,PS II光化学中心

受损或失活。 $0.1\sim 1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内,植物叶绿素荧光参数与对照组无显著差异,而POD活性随胁迫浓度的增加显著升高,SOD和PPO活性变化却并不明显,表明POD活性可作为植物在低强度胁迫下的典型氧化应激指标。由于POD活性在试验浓度范围内先升后降,其与多数叶绿素荧光参数的相关性并不显著。PPO活性与 F_o 、叶绿素a/b值显著相关,表明其对保护植物叶绿体具有重要作用。PPO活性与 F_v/F_m 、MDA含量均呈显著负相关,其活性可以表征阿特拉津的胁迫强度。这些相关性体现了植物防御酶在应对阿特拉津胁迫过程中的分工与协作,也反映了植物的调控能力。

逆境胁迫下,植物根据损伤部位及程度,启动调节各抗氧化酶同时或不同时地发挥作用,以缓解氧化化伤害^[30]。本文仅选取了3种酶,并不能全面反映植物防御酶系统对阿特拉津胁迫的响应特征。为进一步揭示植物防御酶系统对阿特拉津胁迫的响应机制,今后应对典型防御酶活性变化规律进行系统研究。特别是基因敲除技术的应用,为比较评价单一酶参与应对胁迫的作用提供了可能。

综上所述,本研究结果表明,阿特拉津通过与叶绿体类囊体膜上的蛋白质结合阻断电子传递,多余的电子形成活性氧而使叶绿体受毒害,抑制植物光合作用。POD、SOD和PPO活性在不同阿特拉津胁迫强度下的变化,体现了植物防御酶在活性氧清除过程中的协调作用。PPO活性与多个叶绿素荧光参数、MDA含量呈现良好的线性关系,可以作为表征植物光合作用受抑制程度及受氧化损伤程度的指标。阿特拉津浓度 $\leq 4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,黄菖蒲仍能维持正常水平的叶绿素含量和叶绿体光合作用的光化学效率。微生物可能通过降解阿特拉津降低胁迫浓度来缓解阿特拉津对植物的毒害作用。

通讯作者简介:王庆海(1973—),男,博士,研究员,主要研究方向为植物生理生态学、退化生态系统恢复与重建。

参考文献(References):

- [1] 李清波,黄国宏,王颜红,等. BTEX的环境质量标准研究进展[J]. 应用生态学报, 2002, 13(5): 625-628
Li Q B, Huang G H, Wang Y H, et al. Environmental quality standard of BTEX [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2002, 13(5): 625-628 (in Chinese)
- [2] 徐雄,李春梅,孙静,等. 我国重点流域地表水中29种农药污染及其生态风险评价[J]. 生态毒理学, 2016,

- 11(2): 347-354
- Xu X, Li C M, Sun J, et al. Residue characteristics and ecological risk assessment of twenty-nine pesticides in surface water of major river-basin in China [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2016, 11(2): 347-354 (in Chinese)
- [3] 柳丽丽, 李剑, 李沫蕊, 等. 官厅水库水体有机氯农药残留特征及健康风险评估[J]. *北京师范大学学报: 自然科学版*, 2014, 50(6): 657-661
- Liu L L, Li J, Li M R, et al. Residue characteristics and health risk assessment of organochlorine pesticides in Beijing Guanting Reservoir [J]. *Journal of Beijing Normal University: Natural Science*, 2014, 50(6): 657-661 (in Chinese)
- [4] Hillebrand O, Nödler K, Geyer T, et al. Investigating the dynamics of two herbicides at a karst spring in Germany: Consequences for sustainable raw water management [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 482-483: 193-200
- [5] Rutherford A W, Krieger-Liszak A. Herbicide-induced oxidative stress in photosystem II [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2001, 26(11): 648-653
- [6] Knauert S, Singer H, Hollender J, et al. Phytotoxicity of atrazine, isoproturon, and diuron to submersed macrophytes in outdoor mesocosms [J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158(1): 167-174
- [7] 瞿梦洁, 朱锋, 李慧冬, 等. 沉水植物对阿特拉津胁迫的毒理响应[J]. *生态毒理学报*, 2018, 13(4): 209-216
- Qu M J, Zhu F, Li H D, et al. Toxicological responses of submersed macrophytes to atrazine exposure [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2018, 13(4): 209-216 (in Chinese)
- [8] Erinle K O, Jiang Z, Ma B, et al. Physiological and molecular responses of pearl millet seedling to atrazine stress [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2018, 20(4): 343-351
- [9] 王庆海, 张威, 却晓娥, 等. 水体阿特拉津残留对水葱生物量及生理特性的影响[J]. *植物生态学报*, 2011, 35(2): 223-231
- Wang Q H, Zhang W, Que X E, et al. Effects of atrazine residue in water on biomass and physiological characteristics of *Scirpus tabernaemontani* [J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2011, 35(2): 223-231 (in Chinese)
- [10] Wang Q, Que X, Li C, et al. Phytotoxicity of atrazine to emergent hydrophyte, *Iris pseudacorus* L. [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2014, 92(3): 300-305
- [11] Gao Y, Fang J, Li W, et al. Effects of atrazine on the physiology, sexual reproduction, and metabolism of eelgrass (*Zostera marina* L.) [J]. *Aquatic Botany*, 2019, 153: 8-14
- [12] 郭艳阳, 刘佳, 朱亚利, 等. 玉米叶片光合和抗氧化酶活性对于旱胁迫的响应[J]. *植物生理学报*, 2018, 54(12): 1839-1846
- Guo Y Y, Liu J, Zhu Y L, et al. Responses of photosynthetic and antioxidant enzyme activities in maize leaves to drought stress [J]. *Plant Physiology Journal*, 2018, 54(12): 1839-1846 (in Chinese)
- [13] 李翠, 温海峰, 郑瑞伦, 等. 阿特拉津胁迫对菖蒲的生理毒性效应[J]. *农业环境科学学报*, 2016, 35(10): 1895-1902
- Li C, Wen H F, Zheng R L, et al. Phytotoxicity of atrazine to *Acorus calamus* L. [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(10): 1895-1902 (in Chinese)
- [14] 吴奇, 宋福强. 土壤中阿特拉津生物降解的研究进展[J]. *土壤与作物*, 2017, 6(2): 153-160
- Wu Q, Song F Q. Research advances on biodegradation of atrazine in soil [J]. *Soils and Crops*, 2017, 6(2): 153-160 (in Chinese)
- [15] 刘虹, 张兰英, 刘娜, 等. 低温下固定化微生物降解水体中阿特拉津的效果[J]. *吉林大学学报: 地球科学版*, 2008, 38(6): 1027-1031
- Liu H, Zhang L Y, Liu N, et al. Effect of biodegradation of atrazine in the waterbody by immobilized microorganism in low temperature [J]. *Journal of Jilin University: Earth Science Edition*, 2008, 38(6): 1027-1031 (in Chinese)
- [16] Glick B R. Phytoremediation: Synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment [J]. *Biotechnology Advances*, 2003, 21(5): 383-393
- [17] Chapin F S, Moilanen L, Kielland K. Preferential use of organic nitrogen for growth by a non-mycorrhizal arctic sedge [J]. *Nature*, 1993, 361: 150-153
- [18] 沈伟其. 测定水稻叶片叶绿素含量的混合液提取法[J]. *植物生理学通讯*, 1988, 3(3): 62-64
- Shen W Q. Extraction of mixed solution for determination of chlorophyll content in rice leaf blade [J]. *Plant Physiology Communications*, 1988, 3(3): 62-64 (in Chinese)
- [19] 陈建军, 张坤, 李明锐, 等. 皇竹草对土壤阿特拉津的降解特性[J]. *生态与农村环境学报*, 2014, 30(6): 768-773
- Chen J J, Zhang K, Li M R, et al. Effect of *Pennisetum hybridum* degrading atrazine in soil [J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2014, 30(6): 768-773 (in Chinese)
- [20] 张坤, 李元, 祖艳群, 等. 皇竹草活性氧代谢对阿特拉

- 津胁迫的响应特征[J]. 西北植物学报, 2013, 33(12): 2479-2485
- Zhang K, Li Y, Zu Y Q, et al. Response characteristics of reactive oxygen metabolism in *Pennisetum hybridum* to atrazine stress [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2013, 33(12): 2479-2485 (in Chinese)
- [21] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 72-75
- [22] 王庆海, 李翠, 陈超, 等. 芦苇对阿特拉津胁迫的生理响应及其与耐受性的关系[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(10): 1968-1977
- Wang Q H, Li C, Chen C, et al. Physiological responses of *Phragmites australis* to atrazine exposure and their relevance for tolerance [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2017, 36(10): 1968-1977 (in Chinese)
- [23] 武永军, 何国强, 史艳茹, 等. 不同 pH 值缓冲液处理下蚕豆叶片相对含水量、脯氨酸及丙二醛含量的变化[J]. 干旱地区农业研究, 2009, 27(6): 169-172
- Wu Y J, He G Q, Shi Y R, et al. Change of relative water content, proline content and malondialdehyde content of *Vicia faba* leaves under different pH buffer treatments [J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2009, 27(6): 169-172 (in Chinese)
- [24] 周宇飞, 王德权, 陆樟镛, 等. 干旱胁迫对持绿性高粱光合特性和内源激素 ABA、CTK 含量的影响[J]. 中国农业科学, 2014(4): 655-663
- Zhou Y F, Wang D Q, Lu Z B, et al. Effects of drought stress on photosynthetic characteristics and endogenous hormone ABA and CTK contents in green stayed sorghum [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2014(4): 655-663 (in Chinese)
- [25] 卢从明, 张其德, 匡廷云. 水分胁迫对小麦光系统 II 的影响[J]. 植物学报, 1994, 36(2): 93-98
- Lu C M, Zhang Q D, Kuang T Y. The effects of water stress on photosystem II in wheat [J]. Acta Botanica Sinica, 1994, 36(2): 93-98 (in Chinese)
- [26] 陈建明, 俞晓平, 程家安. 叶绿素荧光动力学及其在植物抗逆生理研究中的应用[J]. 浙江农业学报, 2006, 18(1): 51-55
- Chen J M, Yu X P, Cheng J A. The application of chlorophyll fluorescence kinetics in the study of physiological responses of plants to environmental stresses [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2006, 18(1): 51-55 (in Chinese)
- [27] 葛江丽, 石雷, 谷卫彬, 等. 盐胁迫条件下甜高粱幼苗的光合特性及光系统 II 功能调节[J]. 作物学报, 2007, 33(8): 1272-1278
- Ge J L, Shi L, Gu W B, et al. Photosynthetic characteristics and the regulation of photosystem II function in salt-stressed sweet sorghum seedlings [J]. Acta Agronomica Sinica, 2007, 33(8): 1272-1278 (in Chinese)
- [28] 张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论[J]. 植物学通报, 1999, 16(4): 444-448
- Zhang S R. A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance [J]. Chinese Bulletin of Botany, 1999, 16(4): 444-448 (in Chinese)
- [29] 王可玢, 许春辉, 赵福洪, 等. 水分胁迫对小麦旗叶某些体内叶绿素 a 荧光参数的影响[J]. 生物物理学报, 1997, 13(2): 123-128
- Wang K F, Xu C H, Zhao F H, et al. The effects of water stress on some *in vivo* chlorophyll a fluorescence parameters of wheat flag leaves [J]. Acta Biophysica Sinica, 1997, 13(2): 123-128 (in Chinese)
- [30] 张腾国, 李巧丽, 刁志宏, 等. 盐及干旱胁迫对油菜抗氧化系统和 *RbohC*、*RbohF* 基因表达的影响[J]. 应用生态学报, 2019, 30(3): 969-978
- Zhang T G, Li Q L, Diao Z H, et al. Effects of salt and drought stresses on antioxidant system and *RbohC* and *RbohF* genes expression in *Brassica campestris* [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(3): 969-978 (in Chinese) ◆