

外源脱落酸提高金鱼藻抗铜绿微囊藻胁迫能力的研究

李小路¹, 潘慧云¹, 徐洁¹, 鲜啟鸣¹, 高士祥¹, 尹大强², 邹惠仙¹

(1. 污染控制与资源化国家重点实验室, 南京大学环境学院, 江苏 南京 210093; 2. 长江水环境教育部重点实验室, 同济大学环境科学与工程学院, 上海 200092)

摘要:以高等沉水植物金鱼藻为试验材料, 采用光照培养箱, 研究了金鱼藻与铜绿微囊藻共生情况下外施脱落酸对金鱼藻的影响。共生情况下分别采用 0、0.5、1.0、2.5、5.0 mg·L⁻¹ 脱落酸进行处理, 以金鱼藻单独培养作对照, 培养 5 d 后测定金鱼藻生物量及各生理生化指标。结果表明, 铜绿微囊藻会对金鱼藻产生胁迫伤害, 使其生物量减少。而低浓度(≤1.0 mg·L⁻¹)脱落酸处理可以增加金鱼藻光合色素以及可溶性蛋白含量, 提高超氧化物歧化酶(SOD)及过氧化物酶(POD)活性, 并减少丙二醛(MDA)积累量, 减轻金鱼藻所受胁迫。高浓度脱落酸处理使金鱼藻光合色素含量降低, 但并不影响其生长。施用 0.5~1.0 mg·L⁻¹ 脱落酸对提高金鱼藻抗胁迫能力的效果最好。

关键词: 金鱼藻; 脱落酸; 铜绿微囊藻; 胁迫

中图分类号: X173 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)05-1980-05

Effects of Exogenous Absciscic Acid on the Tolerance of *Ceratophyllum demersum* to *Microcystis aeruginosa* Stress

LI Xiao-lu¹, PAN Hui-yun¹, XU Jie¹, XIAN Qi-ming¹, GAO Shi-xiang¹, YIN Da-qiang², ZOU Hui-xian¹

(1.State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of the Enviroment, Nanjing University, Nanjing 210093, China; 2.Key Laboratory of Yangtze River Water Environment, Ministry of Education, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: Effects of exogenous absciscic acid(ABA) on the biomass and some physio-biochemical indices such as chlorophyll, carotenoid, soluble protein, superoxide dismutase(SOD), peroxidase (POD) and malondialdehyde (MDA) in leaves of *Ceratophyllum demersum* with or without *Microcystis aeruginosa* stress were determined. *C. demersum* was treated with absciscic acid (0, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 mg·L⁻¹, respectively) while co-cultivated with *M. aeruginosa*, and *C. demersum* cultivated separately as control test. These physio-biochemical indices were assayed after five days' cultivation. Results showed that *M. aeruginosa* lessened activities of SOD and POD, facilitated MDA accumulation and led to loss of chlorophyll-a, chlorophyll-b, carotenoid and soluble protein in the leaves of *C. demersum*. Exogenous ABA of low concentration (≤1.0 mg·L⁻¹) enhanced activities of SOD and POD, reduced MDA accumulation, and increased the content of chlorophyll-a, chlorophyll-b, carotenoid and soluble protein in the leaves of *C. demersum*, and thus improved the ability of *C. demersum* to resist *M. aeruginosa* stress. Exogenous ABA of high concentration decreased the content of chlorophyll and carotenoid, but levels of soluble protein, SOD, POD and MDA were all similar with low concentration ABA treatment, and the growth of *C. demersum* was not influenced. Exogenous ABA could enhance the resistance of *C. demersum* against *M. aeruginosa* stress, and the most suitable concentration is in the range of 0.5~1.0 mg·L⁻¹.

Keywords: *Ceratophyllum demersum* ; absciscic acid ; *Microcystis aeruginosa* ; stress

富营养化导致湖泊水华频频爆发, 近年来, 水生植物的恢复成为控制湖泊富营养化的重要手段。金

收稿日期: 2007-12-08

基金项目: 国家重点基础研究发展规划资助项目(2002CB412307); 中国博士后科学基金(20070410338)

作者简介: 李小路(1983—), 男, 山东德州人, 硕士研究生, 主要从事水生植物退化机理的研究。E-mail: lixiaolu888@163.com

通讯作者: 鲜啟鸣 E-mail: xianqm@nju.edu.cn

藻是太湖中生物量较高的物种, 春夏两季均可正常生长, 生物量差异不大^[1]。而且, 金鱼藻对藻类具有化感抑制作用, 能有效杀除有害藻类^[2-4]。然而在天然水体中, 蓝藻对沉水植物也有一定的毒害作用, 可以使其生物量减少, 叶绿素含量降低^[5]。有研究表明, 金鱼藻与铜绿微囊藻共生情况下, 铜绿微囊藻对金鱼藻的生长具有抑制作用^[4]。

脱落酸(ABA)是由植物体叶黄质合成的类倍半萜化合物^[6]。作为一种“胁迫激素”,在植物寒害、盐害、干旱等胁迫-感知-反应过程中起重要作用^[7-9]。外施脱落酸可以提高植物对环境胁迫的抗性,有报道外施脱落酸可以增强水生植物对重金属胁迫的抗性^[10]。铜绿微囊藻是蓝藻水华的优势藻种,水华的频繁暴发加速了水生植物特别是沉水植物的退化和消亡。本文研究了在铜绿微囊藻的胁迫下沉水植物金鱼藻经脱落酸处理后各生理生化指标的变化,为缓解水华蓝藻对沉水植物的毒害提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

金鱼藻(*Ceratophyllum demersum*)采自南京江心洲水塘,在实验室用 0.1×Hoagland 营养液在 40 cm×40 cm 玻璃缸中培养。

铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)由南京大学环境生物教研室提供,试验前用 0.1×Hoagland 营养液进行驯化。光照培养箱温度 25 ℃,光照强度 4 000~6 000 lx,光暗比 12:12。Hoagland 营养液的配置参见文献[11]。

1.2 试验仪器与药品

LRH-250-GB 智能光照培养箱;Biofuge Stratos 全能台式冷冻离心机;752PC 型紫外可见分光光度计;千分之一电子天平;脱落酸(99%),由南京生兴生物工程公司提供。

1.3 试验设计

取大小、颜色一致的金鱼藻植株于 250 mL 烧杯中与 5×10⁵ 个·mL⁻¹ 浓度的铜绿微囊藻共生培养,并设置 5 个脱落酸处理浓度,分别为 0、0.5、1.0、2.5 和 5.0 mg·L⁻¹。金鱼藻单独培养做对照,不添加脱落酸。设置 3 组平行,在光照培养箱中培养,温度 25 ℃,光照强度 2 000 lx,光暗比 12:12。培养 5 d 后测定各组金鱼藻生物量以及各生理生化指标。

1.4 测定方法

叶绿素的测定参照文献[12],用分光光度法测定;可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法^[13]测定;

粗酶液的制备:称取金鱼藻叶片于研钵中,加入液氮研磨成浆,用磷酸缓冲液将其洗入 10 mL 离心管中,于 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,上清液即粗酶液。(注:磷酸缓冲液为 0.05 mol·L⁻¹,pH=7.0,使用前于 4 ℃冰箱中预冷。)

超氧化物歧化酶(SOD)采用氮蓝四唑(NBT)法

测定^[14];过氧化物酶(POD)采用愈创木酚法测定^[15];丙二醛(MDA)含量的测定采用 TBA 法^[16]。

1.5 数据分析

采用 Excell 进行数据分析,OriginPro7.5 做图,采用 SPSS (13.0) 进行显著性 *t* 检验,显著性水平为 0.05。

2 结果与讨论

2.1 外源 ABA 对铜绿微囊藻胁迫下金鱼藻生物量的影响

分别在试验前后测定各组金鱼藻鲜重,数据见表 1。经过 5 d 的培养,单独培养的金鱼藻鲜重增加 3.5%,而与铜绿微囊藻共生培养且未进行脱落酸处理的金鱼藻鲜重减少了 12.9%,部分叶片脱落。经脱落酸处理的金鱼藻生物量都有不同程度的增加,说明外施脱落酸减轻了铜绿微囊藻对金鱼藻的胁迫,避免了其生物量的减少。

表 1 外源脱落酸(ABA)对铜绿微囊藻胁迫下金鱼藻生物量的影响

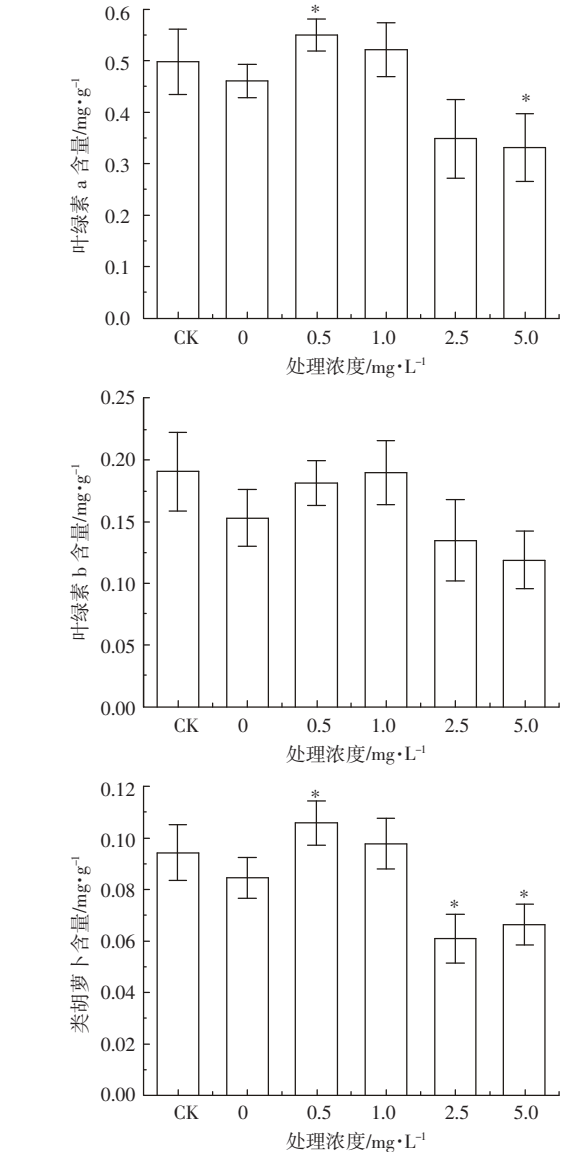
Table 1 Effect of exogenous abscisic acid (ABA) on biomass of <i>C. demersum</i> leaves under <i>M. aeruginosa</i> stress			
处理浓度/mg·L ⁻¹	金鱼藻鲜重/g		
	初始	结束	变化量
CK	1.083	1.121	0.083
0	1.107	0.964	-0.143
0.5	1.020	1.133	0.113
1.0	0.986	1.008	0.022
2.5	0.993	1.014	0.021
5.0	1.046	1.051	0.005

2.2 外源 ABA 对铜绿微囊藻胁迫下金鱼藻光合色素含量的影响

光合色素是在光合作用中参与吸收、传递光能或引起原初光化学反应的色素。高等植物的光合色素是叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素。光合色素的增加意味着植物进行光合作用的能力增强,抗胁迫能力增强。图 1 为外源 ABA 对铜绿微囊藻胁迫下金鱼藻的叶绿素 a、叶绿素 b 及类胡萝卜素含量的影响。在铜绿微囊藻的胁迫下,金鱼藻的叶绿素 a、b 及类胡萝卜素含量比单独培养的金鱼藻有所降低。低浓度(≤1.0 mg·L⁻¹)ABA 处理可以使金鱼藻叶绿素 a、b 及类胡萝卜素含量增加。处理浓度为 0.5 mg·L⁻¹ 时效果最明显,叶绿素 a 含量比 0 mg·L⁻¹ 对照组高出 19.4%,并且比单独培养的金鱼藻高出 10.4%。类胡萝卜素的含

量变化类似于叶绿素 a。叶绿素 b 含量变化没有叶绿素 a 明显,与单独培养的金鱼藻相比有所降低,但低浓度处理组仍高于 0 mg·L⁻¹ 对照组。而高浓度处理组的叶绿素 a、b 及类胡萝卜素都低于 0 mg·L⁻¹ 对照组。

金鱼藻可以通过释放抑藻化感物质使铜绿微囊藻死亡,但本试验中金鱼藻生物量比较少,而铜绿微囊藻的浓度高,所以共培养 5 d 后铜绿微囊藻并没有完全死亡。铜绿微囊藻在金鱼藻的胁迫下可能会应激



CK 为对照组,金鱼藻单独培养,不添加脱落酸。
其他处理组金鱼藻与铜绿微囊藻共生培养。
注:* 表示与 0 mg·L⁻¹ 对照组差异显著, $P<0.05$,下同。

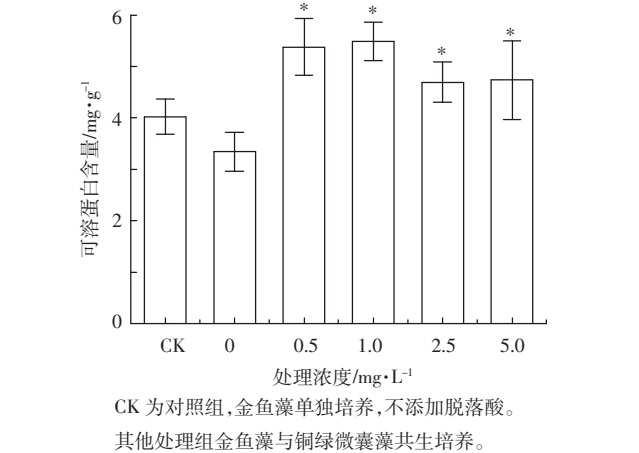
图 1 外源脱落酸(ABA)对铜绿微囊藻胁迫下金鱼藻叶绿素 a、叶绿素 b 及类胡萝卜素含量的影响

Figure 1 Effect of exogenous abscisic acid (ABA) on chlorophyll-a, chlorophyll-b and carotenoid of *C. demersum* leaves under *M. aeruginosa* stress

性的释放藻毒素,并且藻毒素会随着藻细胞的死亡和破裂释放到水中^[17,18],从而对金鱼藻产生毒害。金鱼藻光合色素含量的降低一方面可能是由于培养过程中铜绿微囊藻对营养的竞争,另一方面则可能是由于藻毒素的毒害作用,阻碍了光合色素的合成。低浓度(≤ 1.0 mg·L⁻¹)ABA 处理有效增加了金鱼藻的抗性,使其光合色素含量升高,从而更有效的捕获光能,进行光合作用。而高浓度 ABA 处理造成金鱼藻光合色素的分解,但并没有使金鱼藻生物量减少,金鱼藻仍可以正常生长。有研究表明外源脱落酸处理会促进苹果果皮叶绿素降解^[19],并且能使盾叶薯蓣叶片各色素含量降低^[20]。促使金鱼藻叶片光合色素分解的原因尚不清楚,还需进一步研究。

2.3 外源 ABA 对铜绿微囊藻胁迫下金鱼藻可溶性蛋白含量的影响

植物细胞中可溶性蛋白含量作为植物代谢和生理状态的一个重要指标,其变化反映细胞内蛋白质合成、变性、降解等多方面的动态。图 2 为外源 ABA 对铜绿微囊藻胁迫下金鱼藻可溶性蛋白含量的影响。与单独培养的金鱼藻相比,在铜绿微囊藻的胁迫下,0 mg·L⁻¹ 对照组金鱼藻可溶性蛋白含量降低 16.9%。这可能是由于微囊藻毒素影响了金鱼藻蛋白的合成。而经 ABA 处理的金鱼藻可溶性蛋白含量大幅增加,相比对照组变化显著。低浓度(≤ 1.0 mg·L⁻¹)处理的效果强于高浓度处理,0.5 和 1 mg·L⁻¹ 处理组可溶蛋白含量分别高出对照组 60.9%和 63.9%。结果表明外施脱落酸不但可以抑制金鱼藻可溶性蛋白的分解,而且



CK 为对照组,金鱼藻单独培养,不添加脱落酸。
其他处理组金鱼藻与铜绿微囊藻共生培养。

图 2 外源脱落酸(ABA)对铜绿微囊藻胁迫下金鱼藻可溶性蛋白含量的影响

Figure 2 Effect of exogenous abscisic acid (ABA) on soluble protein of *C. demersum* leaves under *M. aeruginosa* stress

可以刺激、促进蛋白质的合成。

2.4 外源 ABA 对铜绿微囊藻胁迫下金鱼藻抗氧化酶活性的影响

生物在进化过程中形成了一套完整的抵抗外界不良因素的抗氧化酶系统,过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)是植物体中非常重要的末端抗氧化酶,是植物抗逆性的重要生理指标。图 3、图 4 分别为外源 ABA 对铜绿微囊藻胁迫下金鱼藻 SOD 和 POD 活性的影响。ABA 处理可大幅提高金鱼藻 SOD 活性。 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组 SOD 活性比对照组提高一倍以上,效果最好。高浓度 ABA 处理效果次之,但 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组 SOD 活性仍比对照组提高了 61.2%。金鱼藻 POD 的变化规律与 SOD 有所不同,随着处理浓度的提高,POD 活性增加。

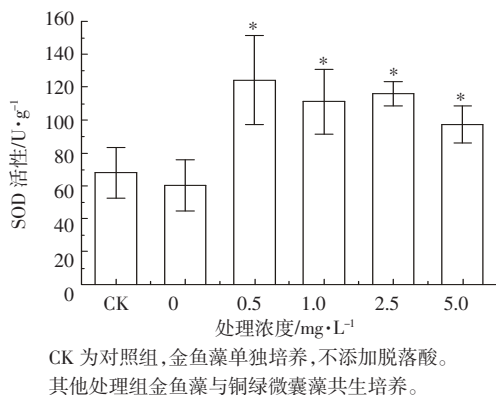


图 3 外源脱落酸(ABA)对铜绿微囊藻胁迫下金鱼藻 SOD 活性的影响

Figure 3 Effect of exogenous abscisic acid (ABA) on SOD activity of *C. demersum* leaves under *M. aeruginosa* stress

SOD、POD 等酶是细胞抵御活性氧伤害的重要保护酶系统,它们在清除超氧自由基、过氧化氢和过氧化物以及阻止或减少羟基自由基形成等方面起着重要作用^[21]。外施脱落酸对陆生植物抗氧化酶系统的影响报道较多。许兴等报道了脱落酸可以通过提高枸杞 SOD、POD 活性来延缓盐胁迫对膜的伤害,从而提高枸杞的耐盐性^[22]。李雪梅等报道了外施 ABA 处理可以通过提高小麦抗氧化酶活性增强对 UV-C 辐射胁迫的抗性^[23]。而脱落酸对水生植物的影响鲜见报道。金鱼藻处理组的 SOD 及 POD 活性明显升高,说明外施脱落酸可以增强铜绿微囊藻胁迫下金鱼藻抗氧化能力。

2.5 外源 ABA 对铜绿微囊藻胁迫下金鱼藻 MDA 含量的影响

丙二醛(MDA)是细胞膜脂质过氧化的产物,其

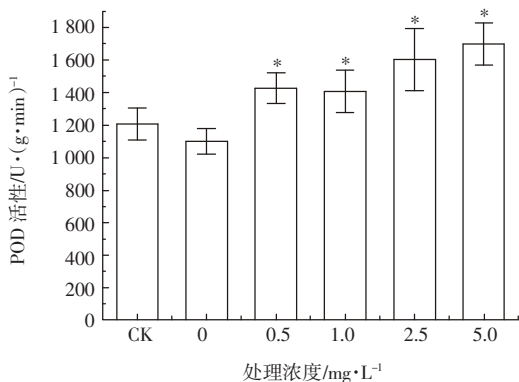


图 4 外源 ABA 对铜绿微囊藻胁迫下金鱼藻 POD 活性的影响

Figure 4 Effect of exogenous abscisic acid (ABA) on POD activity of *C. demersum* leaves under *M. aeruginosa* stress

形成和积累的量可以作为细胞膜受损伤程度的一种标志。图 5 为外源 ABA 对铜绿微囊藻胁迫下金鱼藻 MDA 含量的影响。在铜绿微囊藻的胁迫下, $0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 对照组金鱼藻的 MDA 含量相比单独培养的金鱼藻提高 37.2%,而外施 ABA 处理有效缓解了金鱼藻细胞膜脂质过氧化,使 MDA 积累量减少,均低于对照组。其中 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理效果最明显,与单独培养的金鱼藻 MDA 含量为同一水平。

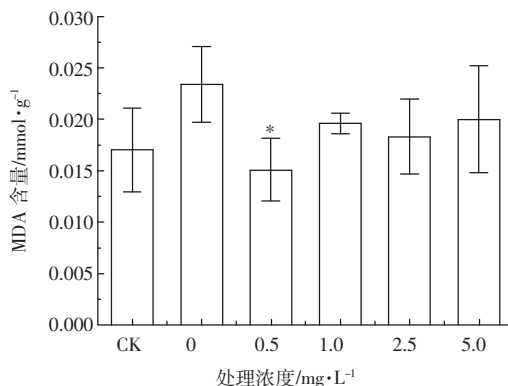


图 5 外源 ABA 对铜绿微囊藻胁迫下金鱼藻 MDA 含量的影响

Figure 5 Effect of exogenous abscisic acid (ABA) on MDA content of *C. demersum* leaves under *M. aeruginosa* stress

金鱼藻由于受到铜绿微囊藻的胁迫,细胞膜脂质过氧化,所以表现为 MDA 含量升高。而经过脱落酸处理,使金鱼藻 MDA 含量低于对照组,说明外施脱落酸有效减轻了金鱼藻过氧化程度,对其形成保护。

综 上,增加光合色素、蛋白质含量,提高抗氧化酶活性及减少 MDA 积累,无疑是脱落酸有效提高金鱼藻抗性的主要生理基础。

3 结 论

- (1)外施低浓度($\leq 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)脱落酸处理可提高金鱼藻抵抗铜绿微囊藻胁迫的能力,主要表现为使其光合色素以及可溶性蛋白含量增加,抗氧化酶(SOD、POD)活性升高以及丙二醛(MDA)含量降低;
- (2)高浓度脱落酸处理破坏了金鱼藻的光合色素,但能使可溶性蛋白含量增加、抗氧化酶活性升高、MDA 含量降低,金鱼藻依然可以生长。

参考文献:

[1] 雷泽湘,徐德兰,黄沛生,等.太湖沉水和浮叶植被及其水环境效应研究[J].生态环境,2006,15(2):239-243.

LEI Ze-xiang, XU De-lan, HUANG Pei-sheng, et al. Submersed and floating-leaved macrophytes in Taihu Lake and their water environment effect[J]. *Ecology and Environment*, 2006,15(2):239-243.

[2] Jasser, I. Influence of *Ceratophyllum demersum* on phytoplankton community in experimental conditions[J]. *Verh Internat Verein Limnol*, 1994,25: 2291-2295.

[3] 钱志萍,冯 燕,孙 莉,等.金鱼藻对铜绿微囊藻生长抑制作用研究[J].植物研究,2006,26(1):79-83.

QIAN Zhi-ping, FENG Yan, SUN Li, et al. Inhibitory effects of *Ceratophyllum oryzetorum* on the growth of *Microcystis aeruginosa*[J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2006,26(1): 79-83.

[4] 鲜啟鸣.沉水植物对铜绿微囊藻化感作用及化感物质的分析[D].南京:南京大学,2005.

XIAN Qi-ming. Allelopathic effects of submerged macrophytes on *Microcystis aeruginosa* and analysis of allelochemicals[D]. Nanjing: Nan-jing University,2005.

[5] 陈开宁,李文朝,吴庆龙,等.滇池蓝藻对沉水植物生长的影响[J].湖泊科学,2003,15(4):364-368.

CHEN Kai-ning, LI Wen-chao, WU Qing-long, et al. Impacts of cyanobacteria on the growth of submerged macrophytes, Dianchi Lake [J]. *Journal of Lake Sciences*,2003,15(4):364-368.

[6] Taylor B, Burbidge A, Thompson A J.Control of abscisic acid synthesis [J]. *Exp Bot*, 2000,51:1563-1574.

[7] Popovl P, Tsonev T D, Lazova G N, et al. Drought-and ABA-induced changes in photosynthesis of barley plants[J]. *Physiol Plant*, 1996,89: 97-103.

[8] Lee T M, Lur H S, Chu C. Role of abscisic acid in chilling tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. II. Modulation of free polyamine levels[J]. *Plant Science*, 1997, (16):1-10.

[9] Wu Y, Kuzma J, Marechal E, et al. Abscisic acid signaling through cyclic ADP-ribose in plants[J]. *Science*, 1997, 278:2126-2130.

[10] 张 慧,施国新,计汪栋,等.外源脱落酸(ABA)增强菹草抗镉(Cd²⁺)胁迫能力[J].生态与农村环境学报, 2007, 23(3):77-81.

ZHANG Hui, SHI Guo-xin, JI Wang-dong, et al. Effects of exogenous abscisic acid on tolerance of *Potamogeton crispus* to Cd²⁺ stress[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2007,23(3):77-81.

[11] Reddy K R, Tucker J C. Productivity and nutrient uptake of water hyacinth *Eichhornia crassipes* L. Effect of nitrogen source[J]. *Economic Bot*, 1983, 37: 237-247.

[12] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社, 2000.

LI He-sheng. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment[M]. Beijing: Higher Education Press,2000.

[13] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantity of protein dye binding[J].*Anal Biochem*,1976,72:248-254.

[14] Stewert R C, Bewley J D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes[J]. *Plant Physiology*, 1980, 65(3): 245-248.

[15] Chance B, Meaehly A C. Assay of catalases and peroxidases[J]. *Methods in Enzymology*, 1955,2:746-755.

[16] Heath R L, Parker L. Photoperitition in isolated chloroplasts kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1968,75(2): 189-198.

[17] Carmichael W W. The toxins of cyanobacteria[J]. *Scientific American*, 1994, 270:64-70.

[18] Dawson R M. The toxicology of microcystins[J]. *Toxicon*, 1998, 36: 953-962.

[19] 李 明,郝建军,于 洋,等.脱落酸(ABA)对苹果果实着色相关物质变化的影响[J]. 沈阳农业大学学报,2005,36(2):189-193.

LI Ming, HAO Jian-jun, YU Yang, et al. Effects of abscisic acid on the color of hanguang apple fruit[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2005,36(2):189-193.

[20] 尤 扬,叶永忠,张晓云,等.植物外源激素对盾叶薯蓣叶片叶绿素含量的影响[J]. 河南科学,2005,23(1):44-46.

YOU Yang, YE Yong-zhong, ZHANG Xiao-yun, et al. Effects of external hormone on chlorophyll content of *Dioscorea zingiberensis* leaves [J]. *Henan Science*, 2005,23(1):44-46.

[21] Gutterige J M. Superoxide dependent formation of hydroxy radicals and lipid peroxidation in the presence of iron salts[J]. *Biochem*,1982,206: 605-609.

[22] 许 兴,毛桂莲,李树华,等. NaCl 胁迫和外源 ABA 对枸杞愈伤组织膜脂过氧化及抗氧化酶活性的影响[J]. 西北植物学报, 2003,(5): 745-749.

XU Xing, MAO Gui-lian, LI Shu-hua, et al. Effect of salt stress and abscisic acid on membrane-lipid peroxidation and resistant-oxidation enzyme activities of *Lycium barbarum callus*[J]. *Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica*,2003, (5):745-749.

[23] 李雪梅,张利红,何兴元,等. 脱落酸对 UV-C 胁迫下小麦幼苗光合特性及抗氧化酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2006,17(5):822-826.

LI Xue-mei, ZHANG Li-hong, HE Xing-yuan, et al. Effects of abscisic acid on photosynthetic characteristics and antioxidant enzyme activities of wheat seedlings exposed to UV-C[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*,2006,17(5):822-826.