DOI:10.19789/j.1004-9398.2016.02.012

金鱼藻在有机磷农药乐果污染水体的抗逆性

刘 洋 陈永娟
(首都师范大学资源环境与旅游学院,北京 100048)

摘 要

金鱼藻(*Ceratophyllum demersum L*)是一种能提高湖泊自净能力和改善水质的多年水生草本植物,在促进富营养化湖泊的自我修复方面有着重要的意义. 本文主要研究有机磷农药乐果对金鱼藻生长代谢的影响. 在室内模拟条件下,设置不同浓度的乐果,监测金鱼藻的生长、可溶性蛋白(*WSP*)的含量及脯氨酸(Proline,Pro)的活性. 结果表明,当乐果浓度低于 15.0 mg/kg 时,对金鱼藻主要表现刺激生长作用;而当浓度超过 30.0 mg/kg 时,主要表现出抑制作用. 低浓度乐果污染的水体中金鱼藻的代谢能力强,生长力旺盛;金鱼藻在有高浓度乐果污染水体中脯氨酸的活性受到强烈诱导,抗逆性较高;抗逆性随着乐果浓度的增加呈现上升的趋势,表明金鱼藻能够适应有机磷农药污染环境,对水体中的氮磷营养物具有潜在净化作用.

关键词: 有机磷,农药,金鱼藻,生长抑制.
中图分类号: S482.3

金鱼藻(*Ceratophyllum demersum L*),是以营养繁殖为主,强分支能力的高体型植物,是悬浮于水中的多年水生草本植物[1-3],是淡水湖泊广泛分布耐营养盐的沉水植物,在我国南北方湖泊河流中均有分布. 金鱼藻是优良的喂猪饲料和食草性鱼类饵料,并且其抗污染能力极强[4-6]. 研究表明金鱼藻能有效的吸收水体中含氮有机物和可溶性磷,能够有效的净化污染的水体[7],并且在氮磷含量较高的水体中,金鱼藻对氮磷有一定的去除能力[8],表明金鱼藻对富营养化水体营养源具有良好的竞争吸收和较高的水质净化作用[9,10]. 因此,金鱼藻在水体生态修复技术上有着较高的应用价值,对提高湖泊自净能力和改善水质方面有着重要的意义.

乐果是一种用途较广、用量较大的杀虫剂,具有潜在的致畸、致突变和致癌的危害,可通过食物链的富集转移到人体,对人体产生伤害[11],已被列入我国的优先污染物黑名单[12]. 研究发现除草剂能减少水生植物蛋白质的合成[13],从而影响水生植物正常的生长代谢能力,进一步影响其对受污水体的净化能力. 研究表明低浓度有毒有害物质具有一定的刺激金鱼藻生长的作用[14,15]. 谢荣等[16]研究表明海水中的有机磷农药对海洋微藻会产生一定的毒性作用;陈虹等[17]研究了镉对金鱼藻的生长和抗氧化酶活性的影响作用,结果表明低浓度的镉对金鱼藻的生长有促进作用,高浓度具有抑制作用;王振中[18]等研究了有机磷农药对土壤动物的毒性作用,结果显示了有机磷农药对土壤动物蚯蚓有致死作用. 目前关于河流中有机磷农药对金鱼藻的毒性作用的研究存在不足.

本文以金鱼藻为研究对象,运用室内模拟分析的研究方法探讨有机磷农药乐果对金鱼藻的生长、可溶性蛋白含量、脯氨酸活性的影响,从而为进一步揭示金鱼藻在有机磷农药污染水体中的生长状况及其对污染环境的抗性作用,为进一步研究金鱼藻对受污水体及富营养化河流的水质净化作用机理的研究提供参考依据.

1 材料与方法

1.1 研究区域概况

沂河发源于山东省沂源县鲁山,流经沂源、沂水、沂南、临沂、蒙阴、平邑、费县、郯城、曲阜等县全部或大部,在郯城县吴道口村南出境入江苏省,全长 574 km. 沂河流域目前地表水的开发利用率达到 74%. 1999~2006 这 7 年流域供水总量由 10 332 万 m^3 增加

收稿日期:2015-06-15

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

到 14 607 万 m^3,2006 年工业污水排放量为 4 697 万 t,但污水处理率只有 57%[19]. 本文选取曲阜段小沂河作为研究区域,小沂河位于山东省曲阜市,是泗河左岸支流,全长 58 km,流域面积622 km^2,多年平均年径流量 1.26 亿 m^3[20]. 小沂河是曲阜市的主要纳污河流,主要接纳曲阜市境内的工业废水和城区排放的生活污水,也是周围农田的主要灌溉河流. 小沂河水体溶解氧浓度低,可生化降解性差,河道水质一直处于劣Ⅴ类,小沂河水质与污染状况直接影响到人们的生命安全和生活质量[21]. 据调查,在 2006 年小沂河水体中的铅、镉含量超过国家地表水Ⅴ类标准[22],存在严重的重金属污染. 后来在小沂河两岸建立了污水处理厂,水质情况稍微得到改善,加之干旱的原因,在曲阜城乡之间小沂河大量底泥裸露,生长出大量繁茂的植物,水位线低近乎出现断流的危险[23]. 本文主要讨论河流中有机磷农药的污染对水生植物的生长代谢的影响.

1.2 实验材料

金鱼藻(*Ceratophyllum demersum L*),采于曲阜市小沂河. 将采回的金鱼藻置于事先曝气的自来水中,并放置在能照射阳光的实验室内,对其进行驯化培养两周. 每三天更换一次水. 定期观察金鱼藻的生长状况,及时清除死亡的金鱼藻,直到其长出新鲜的嫩芽,对金鱼藻叶茎上附着的杂物进行仔细清洗避免其对实验结果产生干扰. 控制驯化过程中的水温、pH、室内温度,光照等因素. 选择已长出嫩芽并且长势较好的金鱼藻进行实验研究.

1.3 实验方法

本实验所用营养液为 Hoagland 营养液,营养液主要配方为:(1)微量元素:H_3BO_3 6.2 mg/L,KI 0.83 mg/L,$MnSO_4$ 22.3 mg/L,$ZnSO_4$ 8.6 mg/L,$Na_2MO_4 \cdot 2H_2O$ 0.25 mg/L,$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.025 mg/L,$CaCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.025 mg/L;(2)大量元素:$Ca(NO_3)_2$ 945 mg/L,KNO_3 506 mg/L,KH_2PO_4 136 mg/L,$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 493 mg/L,NH_4NO_3 80 mg/L,Fe-EDTA 溶液 2.5 ml/L.

根据所选取金鱼藻的重量、生长状况、完整程度、嫩叶的新鲜度及颜色基本一致的原则,将金鱼藻平均分成 6 份,分别放入 6 个容量为 2L 的大烧杯中进行培养,烧杯中均加入 1L 的 *Hoagland* 营养液. 将配置好浓度梯度的乐果(0.0 mg/kg,3.7 mg/kg,7.5 mg/kg,15.0 mg/kg、30.0 mg/kg,60.0 mg/kg)分别放入 6 个烧杯中并对其进行编号(1~6 号),同时记录各个编号中的农药浓度.

蛋白质含量的变化反映了水生植物的生长代谢能力的强弱,在农药毒害的环境中,水生植物可能通过改变蛋白质合成模式来适应改变了的环境[24]. 脯氨酸(proline,Pro)在抗逆性中的作用主要有两点:一是作为渗透调节物质,用于保持细胞质与环境的渗透平衡,防止水分散失;二是保持膜结构的完整性[25]. 所以,当植物遭受逆境胁迫时,其体内积累的脯氨酸有利于提高植物的抗胁迫能力. 这些植物通过体内脯氨酸的积累,提高其渗透调节能力,保持植物原生质与环境之间的渗透平衡,防止植物水分的散失,以抵御环境胁迫,保证其在环境恶劣情况下能得以生存[26]. 采用考马斯亮蓝 G-250 测定蛋白质含量[27]. 脯氨酸的含量采用磺基水杨酸法进行测定[28]. 烧杯中的样品每隔三天分别测定金鱼藻的可溶性蛋白质以及脯氨酸的含量.

2 结果与讨论

2.1 有机磷农药乐果对金鱼藻生长的影响

通过对 6 个烧杯内金鱼藻的 2 周生长状况观察可以得到,4d 后在 0.0、3.7、7.5、15.0 mg/kg 浓度有机磷农药的培养下金鱼藻能够长出嫩芽并且颜色呈现鲜绿色,而在 30.0、60.0 mg/kg 浓度有机磷农药的培养下,金鱼藻呈现枯黄,并且其死亡率分别为 73.2% 和 86.4%,高于前四组的死亡率. 随着时间的推移,6 个烧杯内的金鱼藻都会出现不同程度的枯黄,尤其是有机磷农药浓度为 60.0 mg/kg 的烧杯内,金鱼藻的枯黄率达到 88.3%,远远高于其他低浓度乐果培养下金鱼藻的枯黄率,随着乐果浓度的增加,金鱼藻的生长率呈现出下降的趋势. 这与王珺等[29]的相关研究结果相似,即抑藻效果随着磷浓度的增加而增强[30].

2.2 有机磷农药乐果对金鱼藻可溶性蛋白的影响

表 1 金鱼藻的可溶性蛋白含量变化

时间/d	有机磷浓度 /mg·kg^{-1}					
	0	3.7	7.5	15	30	60
0	50.437	43.583	40.126	45.431	47.043	49.329
3	47.128	45.644	59.003	52.175	43.120	46.386
6	33.472	45.941	35.699	49.058	24.269	53.956

通过对比蛋白质在不同乐果浓度梯度和时间尺度下的变化量. 可以从图 1 可得随着金鱼藻在水体中生长时间的延长,乐果浓度为 3.7 mg/kg 的蛋白质含量平缓上升;浓度为 30 mg/kg 的蛋白质含量明显下降;乐果浓度为 7.5 mg/kg 和 15 mg/kg 的蛋白

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

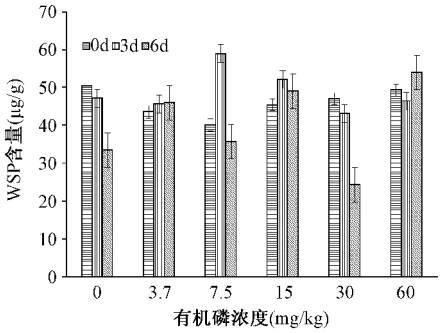


图 1　金鱼藻蛋白质含量变化

质含量呈先上升后下降的趋势且 7.5 mg/kg 上升的更显著,而 15 mg/kg 第 6 天蛋白质的含量高于第一天的含量,浓度为 60 mg/kg 则呈现先下降后上升的趋势,且第 6 天的含量高于第一天的含量. 开始时乐果浓度较大对金鱼藻产生毒性作用,随着时间的推移乐果对金鱼藻的损害达到饱和状态. 不同浓度乐果培养下可溶性蛋白的日变化量明显不同,具有刺激效应的乐果浓度处理金鱼藻,其相对增长速率显著低于对照组,产生这一现象可能是因为开始阶段金鱼藻对刺激效应的负补偿作用所导致,这是生物体在刺激环境下生长趋向于恢复稳态的结果[31]. 与魏凤琴和李钦[32]所研究的甲胺磷、辛硫磷等农药对坛紫菜叶状体可溶性蛋白含量的影响结果相近,即培养初始阶段植物并未启动自身的保护机制来维持细胞正常的代谢功能,随着时间的推移其开始启动自身的保护机制使蛋白质含量上升,并增加细胞的渗透浓度和功能蛋白的含量从而细胞维持正常的生长代谢. 这是因为环境因子变化或环境胁迫都会影响细胞内的可溶性蛋白[33]. 因此,在低浓度有机磷的毒性作用下金鱼藻可溶性蛋白的含量会增多,同时对污染水体的抵抗能力加强,这是由于高质量分数的可溶性蛋白能使细胞维持较低的渗透势,从而抵抗水分胁迫带来的伤害[34],水分胁迫可以诱导一些与适应水分胁迫有关的基因表达,引起蛋白质合成的变化并产生水分胁迫诱导蛋白,促使金鱼藻的生长代谢能力正常. 但是随着磷浓度的逐渐增加金鱼藻可溶性蛋白质的含量减少,抵抗水分胁迫的能力减弱,金鱼藻的生长代谢能力受到抑制,吸收水体中有机磷的能力受到抑制水体水质被破坏.

2.3　有机磷农药乐果对金鱼藻脯氨酸含量的影响

通过对比不同浓度和不同时间下脯氨酸的含量,由图 2 可见随着生长期的变化金鱼藻体内脯氨酸含量明显的积累. 同时,随着乐果浓度的增加金鱼藻体内的脯氨酸的含量也呈现明显上升的趋势,并且随着时间的推移,乐果浓度越高,上升的趋势越显著,第六天脯氨酸的含量最多且含量增加最为显著. 空白对照组中金鱼藻体内脯氨酸的含量最低,脯氨酸随时间推移上升最平缓. 在逆境下脯氨酸积累主要原因有 3 个方面: 一是脯氨酸合成加强; 二是脯氨酸氧化作用受抑; 三是蛋白质合成减弱,也抑制了脯氨酸参与蛋白质合成过程[28]. 随着生长时间的延长,金鱼藻叶片内脯氨酸的含量呈现上升的趋势,低浓度乐果培养下的金鱼藻体内脯氨酸的增长量较为平缓,而高浓度的增长量较为明显. 每个阶段脯氨酸含量增长值变化的大小可以反映出植物抗逆性的大小,增量越大植物抗逆性越强[35]. 说明随着金鱼藻在有机磷农药污染水体中暴露时间的延长,其体内逐渐积累一定量的脯氨酸,积累的脯氨酸有利于提高金鱼藻抗胁迫的能力. 因此,通过植物体内脯氨酸含量的积累,能提高其渗透调节能力,从而有效地保持植物原生质与受污水体之间的渗透平衡,防止植物水分的散失,进而抵御不良环境的胁迫,使金鱼藻能够在受有机磷农药严重污染的水体中得以生存,并进一步对受污水体起到净化作用. 这与曲爱军等[36]研究以农药作为胁迫因子促使大叶黄杨脯氨酸含量明显增加的结果相近即大叶黄杨脯氨酸含量的增加延缓了植物细胞发生的水分亏缺,从而使大叶黄杨适应受胁迫的环境.

表 2　金鱼藻的脯氨酸含量变化

时间/d	有机磷浓度 /mg·kg^{-1}					
	0	3.7	7.5	15	30	60
3	0.133	0.163	0.168	0.186	0.198	0.26
6	0.139	0.2	0.219	0.234	0.347	0.424

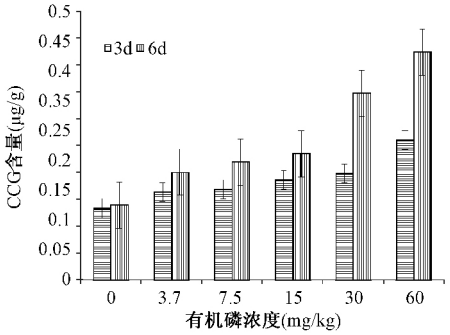


图 2　金鱼藻脯氨酸含量变化

3　结　论

(1) 低浓度的乐果对金鱼藻生长有刺激作用,高浓度有抑制作用.

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

(2)可溶性蛋白含量变化呈不平稳的状态,低浓度乐果污染的水体金鱼藻的代谢能力强生长力旺盛,对水体的净化能力越强.高浓度乐果污染的水体中金鱼藻对水分威胁抵抗能力降低,生长代谢能力降低对水体净化能力减弱.

(3)金鱼藻在高浓度有乐果污染水体中的抗逆性高,能够生存和适应受污染了得环境.其抗逆性随着乐果浓度的增加呈现上升的趋势,其对有机磷农药污染水体具有潜在的净化作用.

参 考 文 献

[1] 中国科学院武汉植物研究所. 中国水生维管束植物图谱[M]. 武汉: 湖北人民出版社, 1983.

[2] 刁正俗. 中国水生杂草[M]. 重庆出版社, 1990.

[3] 颜素珠. 中国水生高等植物图说[M]. 北京: 科学出版社, 1983.

[4] 常福辰, 施国新, 吴国荣, 等. 汞、镉复合污染对金鱼藻的影响及其抗性机制的探讨[J]. 广西植物, 2002(5): 453 – 457.

[5] 姚曼菲, 谭杨. 金鱼藻叶表的形态及其对悬浮物的吸附[J]. 现代农业科学, 2009(4): 153 – 154.

[6] 顾庆龙, 陈刚, 谢田. 金鱼藻营养器官的形态解剖学研究[J]. 中国野生植物资源, 2005(6): 41 – 44.

[7] 王丹, 张银龙, 庞博. 金鱼藻对不同程度污染水体的水质净化效果[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2010(4): 83 – 86.

[8] 熊剑, 黄建团, 聂雷, 等. 不同营养条件对金鱼藻净化作用及其生理生态的影响[J]. 水生生物学报, 2013(6): 1066 – 1072.

[9] 刘俊, 张清东, 马芸莹, 等. 金鱼藻对富营养化水体营养源的净化作用. 西南农业学报, 2012,25(1): 257 – 260.

[10] 丁玲, 沈耀良, 王正兴, 等. 三种沉水植物净化受污水体的比较研究[J]. 苏州科技学院学报(工程技术版), 2007(2): 44 – 48.

[11] 李一卓. 乐果检测方法的研究进展[J]. 贵州农业科学, 2012(8): 138 – 140.

[12] 邓晓, 李勤奋, 侯宪文, 等. 土壤中乐果与微生物的相互作用研究[J]. 生态环境, 2008(6): 2276 – 2280.

[13] EI-sheekh M M, Kotkat H M, Hammouda D H E. Effect of atrazine herbicide on growth, photosynthesis, protein synthesis and fatty acid composion in the unicellular green algae Chorella kessleri[J]. Ecotoxicol and Environ Safety, 1994,29(3): 349 – 359.

[14] Gong Y, Chou H N, Tu C, et al. Effects of arsenate on the growth and microcystin production of Microcystis aeruginosa isolated from Taiwan as influenced by extracellular phosphate[J]. J Appl Phycol, 2009, 21(2): 225 – 231.

[15] Li F M, Hu H Y. Isolation and characterization of a novelantialgal allelochemical from Phragmites communis[J]. Appl Environ Microb, 2005, 71(11): 6545 – 6553.

[16] 谢荣, 唐学玺, 李永祺. 有机磷农药和重金属对海洋微藻的联合毒性研究[J]. 海洋环境科学, 1999(2): 16 – 20.

[17] 陈虹, 张颖, 方元平, 等. 镉对金鱼藻植株生长和抗氧化酶活性的影响[J]. 湖北农业科学, 2012(5): 977 – 980.

[18] 王振中, 张友梅, 李忠武, 等. 有机磷农药对土壤动物毒性的影响研究[J]. 应用生态学报, 2002(12): 1663 – 1666.

[19] 薛丽芳, 谭海樵. 沂河流域水文特征变化及其驱动因素[J]. 地理科学进展, 2011(11): 1354 – 1360.

[20] 编纂委员会中国河湖大典. 中国河湖大典·淮河卷[M][北京: 中国水利水电出版社, 2010:165.

[21] 赵振乾, 刘阳, 孙春意, 等. 沂河山东段水体中重金属的分布与污染评价[J]. 安徽农业科学, 2014(8): 2429 – 2431.

[22] 宋春霞, 彭元成, 苏金铃. 火焰原子吸收分光光度法测大沂河水体的重金属含量[J]. 广东微量元素科学, 2006(3): 46 – 49.

[23] 彭文博, 于霞. 曲阜市大沂河水体重金属污染及健康风险评价[J]. 水污染及处理, 2013(1): 1 – 6.

[24] Shen G. Study on ecotoxicology for pesticides to algae II: toxic mechanism, accumulation and degradation[J]. Advances in Environ Sci, 1999, 7(6): 131 – 140.

[25] 张清智, 陈振德, 王文娇, 等. 毒死蜱胁迫对小白菜抗氧化酶活性和相关生理指标的影响[J]. 生态学报, 2008,

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

28(9): 4524 – 4530.

[26] 刘旻霞，马建祖. 6 种植物在逆境胁迫下脯氨酸的累积特点研究 [J]. 草业科学，2010(4): 134 – 138.

[27] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害 [J]. 植物生理学通讯，1991(2): 84 – 90.

[28] 王忠主编. 植物生理学 [M]. 北京: 中国农业出版社，2000.

[29] Wang J，Gu Y，Zhu Z，et al. Physiological responses of Ceratophyllum demersum under different nutritional conditions [J]. Chinese Journal of Applied Ecology，2005，16(2): 337 – 340.

[30] Jørgensen S E，De Bernardi R. The use of structural dynamic models to explain the success and failure of biomanipulation [J]. Hydrobiologia，1998，379(1 – 3): 147 – 158.

[31] Stebbing A R D. A theory or growth hormesis [J]. Mutation Research，1998，403(1 – 2): 249 – 258.

[32] 魏凤琴，李钦，陈纪新，等. 甲胺磷、辛硫磷对坛紫菜叶状体的生理效应 [J]. 水产学报，2004，28(2): 221 – 224.

[33] Ludlow M M，Muchow R C. A critrcal evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments [J]. Adv Agron，1990，43: 107 – 153.

[34] 李海英，彭红春，牛东玲，等. 生物措施对柴达木盆地弃耕盐碱地效应分析 [J]. 草地学报，2002(1): 63 – 68.

[35] 黄蕾，翟建平，聂荣，等. 5 种水生植物去污抗逆能力的试验研究 [J]. 环境科学研究，2005(3): 33 – 38.

[36] 曲爱军，郭丽红，孙绪艮，等. 农药胁迫对大叶黄杨 SOD 和脯氨酸含量的影响 [J]. 农药，2006(1): 35 – 37.

Organophosphorus Pesticide Dimethoate Experimental Study on Toxicity of Hornwort

Liu Yang　Chen Yongjuan

(College of Resource Environment and Tourism，Capital Normal University，Beijing　100048)

Abstract

Hornwort (*Ceratophyllum demersum L*) is one of the self-cleaning perennial herbaceous aquatic plants that can significantly improve self-purification capacity of eutrophic lakes and promote the quality of water. However，the presence of organic phosphorus pesticide has significantly inhibited their growth. Therefore，this article studies the influence of dimethoate on the growth of hornwort(Ceratophyllum demersum L) by setting different concentrations of dimethoatein the laboratory to monitor the growth status of hornwort and the content of soluble(*WSP*) and the activity of proline (Proline，Pro). The results show that the growth of hornwort was stimulated when concentration of dimethoate was below 15.0 mg/kg，was inhibited when concentrations of dimethoate were over 30.0 mg/kg. The WPS was inhibited in the first three days and the activity was recovered in the sixth day. The growth of metabolism of Hornwort was more extensive and faster in the low concentrations of dimethoate polluted water. However，the activity of proline was highly induced and resistance inverse of Hornwort was more significant in high concentrations of dimethoate polluted water. Resistance inverse of Hornwort showed an upward trend with increasing concentrations of dimethoate and can adapt polluted environment. Therefore hornwort in water area that was polluted by organophosphorus can purify the water and therefore promote the water quality.

Key words: organophosphorus，pesticides，hornwort，growth inhibition.

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net