

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20230120001

陈子旭, 张逸霄, 李小燕, 等. 草甘膦农药对西藏土壤蓝藻 *Loriellopsis cavernicola* 的光合作用抑制机制研究[J]. 生态毒理学报, 2023, 18(6): 293-301
Chen Z X, Zhang Y X, Li X Y, et al. Inhibition mechanism of glyphosate agrichemical on photosynthesis in Xizang soil cyanobacterium *Loriellopsis cavernicola* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2023, 18(6): 293-301 (in Chinese)

草甘膦农药对西藏土壤蓝藻 *Loriellopsis cavernicola* 的光合作用抑制机制研究

陈子旭^{1,2}, 张逸霄^{1,3}, 李小燕¹, 吴新国², 陈兰洲², 王高鸿^{1,3}, 彭婷婷^{1,*}

1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072

2. 武汉大学资源环境学院, 武汉 430079

3. 西藏大学理学院, 拉萨 850000

收稿日期: 2023-01-20

录用日期: 2023-02-26

摘要: 西藏自治区除草剂平均使用量高于全国平均水平, 但有关除草剂对土壤藻类的影响鲜有研究。以西藏土壤结皮蓝藻 *Loriellopsis cavernicola* 为材料, 综合分析光合作用活性、光合色素含量、叶绿素荧光和抗氧化系统活性, 研究了草甘膦农药对蓝藻光合作用的抑制作用。结果发现: (1) 低浓度的草甘膦农药 ($5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 对蓝藻光合作用活性影响不明显, 而高浓度草甘膦农药 ($20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 则显著抑制; (2) 高浓度草甘膦农药对光合系统的抑制表现在最大光化学效率降低和电子传递效率下降; (3) 草甘膦农药会引起蓝藻细胞内活性氧含量上升、膜脂过氧化升高和光合色素含量降低现象。本研究结果表明, 草甘膦农药对土壤蓝藻 *Loriellopsis cavernicola* 光合系统电子传递链产生抑制作用, 造成活性氧泄漏、膜脂过氧化, 同时引起光合色素降解, 继而进一步破坏光合系统结构, 造成藻类光合作用效率降低。由于蓝藻是土壤微生态系统的重要生产者, 因此减少除草剂有利于保护西藏土壤环境和维持土壤微生态健康。

关键词: 草甘膦农药; 西藏土壤蓝藻; 光合活性; 叶绿素荧光; 抗氧化系统

文章编号: 1673-5897(2023)6-293-09 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Inhibition Mechanism of Glyphosate Agrichemical on Photosynthesis in Xizang Soil Cyanobacterium *Loriellopsis cavernicola*

Chen Zixu^{1,2}, Zhang Yixiao^{1,3}, Li Xiaoyan¹, Wu Xinguo², Chen Lanzhou², Wang Gaohong^{1,3}, Peng Tingting^{1,*}

1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China

2. School of Resource & Environmental Science, Wuhan University, Wuhan 430079, China

3. School of Science, Tibet University, Lasha 850000, China

Received 20 January 2023

accepted 26 February 2023

Abstract: The average herbicide used in the Xizang Autonomous Region is higher than the national average of China, but there is limited information about the effect of herbicide on Xizang soil cyanobacteria. In this study, a Xizang soil cyanobacterium *Loriellopsis cavernicola* was used as material to investigate the inhibition effect of

基金项目: 载人航天工程项目 (YYWT-0801-EXP-09); 中国科学院先导 A 项目 (XDA17010502)

第一作者: 陈子旭 (1998—), 女, 学士, 硕士研究生, 研究方向为藻类生态毒理学, E-mail: chen_zixu@whu.edu.cn

* 通信作者 (Corresponding author), E-mail: pengtingting@ihb.ac.cn

glyphosate agrichemical on cyanobacterial photosynthesis through the analysis of photosynthetic activity, photosynthetic pigments contents, chlorophyll fluorescence, and antioxidant system activity. The results showed that: (1) low concentration ($5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) of glyphosate agrichemical didn't affect photosynthesis obviously, while high concentration ($20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) inhibited photosynthesis significantly; (2) the inhibition of the high concentration of glyphosate agrichemical on photosynthesis was manifested by the decrease in the maximum photochemical efficiency and electron transport efficiency; (3) glyphosate agrichemical caused high ROS content and lipid peroxidation, but low photosynthetic pigment content. The results indicated that the glyphosate agrichemical can influence photosynthetic electron transport chain, increase ROS leakage and membrane peroxidation, and degrade photosynthetic pigments, which will then destroy the structure of photosystem, and reduce photosynthesis activity in cyanobacterium. Since cyanobacterium is an essential producer of the soil micro-ecosystem, reducing the glyphosate agrichemical could protect the Xizang soil environment and maintain soil micro-ecosystems health.

Keywords: agrichemical glyphosate; Xizang soil cyanobacterium; photosynthetic activity; chlorophyll fluorescence; antioxidant system

西藏自治区由于地处高原、环境恶劣、生态环境极其脆弱,容易受到外部因素的影响,因此研究和保护西藏自治区的生态环境一直受到国家的重视^[1]。近年来,随着西藏自治区农业的发展和劳动力成本的上升,越来越多的农田采取除草剂进行农田杂草的防治^[2]。与全国范围内其他地区相比,西藏自治区农田杂草具有危害面积广、防治难度大和危害程度重等特点,因此全区农药年用量达 0.098 万 t,其中除草剂占 46.48%,高于全国平均值 8.9%^[3],同时由于西藏高寒的气候条件,使得除草剂降解更加困难,因此潜在的危害性更大^[4]。在除草剂中,草甘膦是应用最广^[5-6]、使用量最大的农药品种之一^[6]。草甘膦等除草剂会随着降雨最终流到土壤中,虽然土壤中草药甘膦的化学行为比较复杂,但其半衰期为 4~19 d^[6],因此短期内草甘膦有可能会对土壤生态系统的初级生产者产生影响,进一步可能影响其生态系统的健康和稳定性。但目前尚未见开展草甘膦对西藏土壤特有物种影响的研究。藻类作为生态系统最主要的初级生产者,对于生态系统的健康和稳定起着重要作用,而丝状土壤蓝藻是极端环境土壤、荒漠土壤、东北黑土等不同环境下广泛存在的类群^[7],尤其存在于高等植物根际区域^[8-9],另外通过异形胞的固氮作用和光合作用营养细胞光合固碳作用,蓝藻可以增加土壤肥力和改善土壤微环境^[10-11],同时蓝藻通过分泌细胞外聚合物(EPS)来改善土壤团聚体的稳定性,提高土壤颗粒中的矿物螯合能力和保水能力,可形成结皮并截留灰尘,而蓝藻结皮的形成与发育显著促进了土壤酶活性的增加,加快土壤酶活性的恢复速率,起到防止土壤侵蚀和改善土

壤活性的作用^[12-13],但有关土壤藻类的研究很少,因此以土壤蓝藻为对象的研究,在土壤生态学研究及保护领域具有重要的科学意义和应用价值。本研究采用西藏土壤中分离的 *Loriellopsis cavernicola* 作为代表物种,利用叶绿素荧光动力学曲线方法,研究草甘膦农药对土壤蓝藻的影响。叶绿素荧光动力学曲线(OJIP test)方法是近年来兴起的光合作用研究重要技术,并被广泛应用在环境胁迫、生态毒理和生态适应等各个方面^[14]。叶绿素荧光动力学曲线由于可以详细记录从 O 点到 P 点的荧光变化过程^[15],并充分反映光合作用过程变化的详细信息,因此成为生物学家越来越重要的研究工具^[16-19]。在藻类的胁迫生理学研究方面,快速叶绿素荧光动力学曲线方法用于研究塑化剂对栅藻的毒性效应^[20]、普通小球藻对不同除草剂胁迫反应^[21]、水华藻类对紫外胁迫和除草剂的胁迫响应^[22]等各个方面,获得光合电子传递系统在不同胁迫下变化情况,为分析不同胁迫因子抑制光合作用的靶点提供了重要信息。本研究就是利用快速叶绿素荧光动力学曲线技术并结合生理学测定,对草甘膦农药影响 *Loriellopsis cavernicola* 的光合作用的生物学机制进行深入研究,为评价西藏土壤环境健康和生态稳定性服务,同时也会为西藏土壤生态环境保护提供指导。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 藻类培养及处理

实验藻种 *Loriellopsis cavernicola* 来自武汉大学资源与环境科学学院,原种采集于西藏山南地区的土壤结皮。实验室使用 BG11 培养基,置于 25 ℃、

光照强度 $35 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、光照 12 h 和黑暗 12 h 的条件下液体培养^[23]。草甘膦农药购买于山东奥坤作物科学股份有限公司,草甘膦铵盐含量为 33%,有效成分草甘膦含量为 30%。

毒性实验设计如下:取对数生长期(第 5 天)藻类 20 mL,加入草甘膦农药,使有效草甘膦的终浓度分别为 0、5、10、15 和 $20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,再置于 25°C 和光照强度 $35 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 下进行草甘膦农药处理,在不同处理时间(1、3、6、12 h)点,分别取样 1 mL,测定光合作用活性,而色素含量、蛋白质含量、抗氧化系统活性和叶绿素荧光动力学测定采取处理时间为 3 h 的不同浓度处理样品进行实验^[22, 24-25]。草甘膦推荐的田间使用量为每公顷 $0.34\sim 4.48 \text{ kg}$ 有效成分,使用时溶于 $187\sim 561 \text{ L}\cdot\text{hm}^{-2}$ 水中,因此草甘膦浓度在 $3.59\sim 141.76 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间,而常用的草甘膦浓度为 $20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[26],另外前期研究中发现引起藻类发生反应的草甘膦浓度为 $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右。本次实验处理浓度依据上述结果确定。

1.2 快速叶绿素荧光诱导曲线的测定

利用连续激发式荧光仪(Handy PEA, Hansatech, 英国)测定快速叶绿素荧光诱导动力学曲线。当向暗适应 10 min 的样品照射 $3000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的红光时,快速叶绿素荧光曲线被诱导。初始记录速度为 100 kHz,能够捕捉到从 O-P 上升过程中更多的荧光变化信息,所有瞬时荧光从 10 μs 到最长 300 s 都能被按时记录。利用配套的 OJIP-test 软件进行曲线分析,获得相关参数^[22]。

1.3 光合色素含量的测定

叶绿素 a(Chl a)和胡萝卜素含量测定参照 Garcia-Pichel 和 Castenholz 方法^[27];藻蓝蛋白含量测定参照 Bennett 和 Bogorad 方法^[28]。

1.4 活性氧(ROS)含量的测定

取实验结束后藻液 1 mL,离心收集后使用 PBS 重悬冲洗 2 次,最终使藻细胞重悬于 1 mL PBS 缓冲液中待用。使用碧云天公司活性氧检测试剂盒(S0033)测定各组细胞内 ROS 含量,向上述重悬液中加入用 PBS 缓冲液稀释的 DCFH-DA,使终浓度为 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,在 37°C 细胞培养箱内孵育 20 min,每隔 3~5 min 颠倒混匀一下,使探针和细胞充分接触。孵育完成后再次使用 PBS 缓冲液离心重悬冲洗细胞 2 次。使用多功能酶标仪(Filter Max F5, Molecular Devices, 美国)在 488 nm 激发波长,测量 525 nm 发射波长下发射光强度。之后用多通道移

液器将测定完的藻细胞转移至透明的 96 孔板,在 680 nm 波长下测定每孔的细胞密度^[23]。

1.5 丙二醛(MDA)含量测定

藻细胞内 MDA 的提取采用南京建成生物工程研究所开发的试剂盒^[23]。根据说明书,将处理后的小球藻先用 PBS 清洗 2~3 遍,去除上清液。之后加入提取液 0.5 mL,混匀 2 min,放入细胞研磨仪中研磨 2 min 破碎细胞制成悬浮液,取样 0.1 mL 于 1.5 mL 离心管备用。

1.6 抗氧化酶 SOD 活性测定

取实验藻液,在 4°C 、 $8000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速下离心 10 min,去除上清液。加入预冷的 $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ pH=7.8 的 PSB 1 mL,放入研磨仪中研磨 2 min,直至细胞全部破碎为止。之后在 4°C 、 $10000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速下,离心 20 min,得到的上清液即为实验样品的酶溶液。SOD 活性测定使用南京建成生物工程研究所开发的试剂盒^[23]。

1.7 数据分析

实验采取 3 个以上的重复,实验 3 次以上,所得结果用 Origin 8.0 进行数据处理,数据分析采用 one-way analysis of variance (ANOVA),结果为多次实验结果的平均值($n\geq 3$)。

2 结果 (Results)

2.1 草甘膦农药对蓝藻 *Loriellopsis cavernicola* 的光合活性的影响

光合生物的光合作用活性用叶绿素荧光 F_v/F_m 比值来表示,其中 F_v 是可变荧光强度, F_m 是最大荧光强度,其比值反映最大光合作用活性及潜力。蓝藻 *Loriellopsis cavernicola* 作为光合生物,其光合活性(最大光化学效率 F_v/F_m)会受到除草剂的影响。如图 1 所示,不同浓度草甘膦农药对蓝藻 *Loriellopsis cavernicola* 光合活性的影响程度存在差异。与对照样品相比,低浓度草甘膦农药($5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)对蓝藻的光合活性几乎没有影响,甚至处理早期对藻类光合活性还有一定程度的促进作用,后期又出现轻微抑制作用。中浓度草甘膦农药($10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $15 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)对蓝藻的光合活性有明显的抑制作用,且随着浓度和处理时间其抑制作用增强。高浓度草甘膦农药($20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)对蓝藻光合活性抑制作用最大,甚至在处理 1 h 蓝藻光合活性就降低了 75%,而处理 3 h 后完全抑制了蓝藻的光合作用。

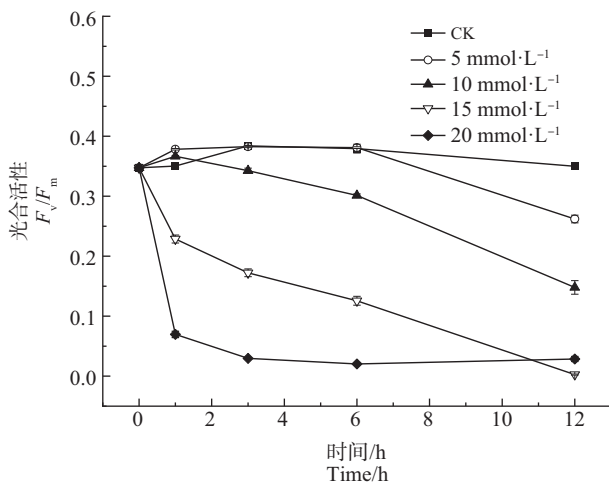


图1 草甘膦农药对蓝藻光合作用活性 (F_v/F_m) 的影响

Fig. 1 Effects of agrichemical glyphosate on photosynthesis activity (F_v/F_m) in cyanobacterium *Loriellopsis cavernicola*

2.2 草甘膦农药降低蓝藻 *Loriellopsis cavernicola* 光合色素含量

叶绿素 *a* 作为光合系统的中心色素,对光合作用光反应过程的运行起到重要作用。如图2所示,低浓度草甘膦农药($5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)对蓝藻的叶绿素 *a* 含量几乎没有影响,其与对照相比没有显著性差异。中浓度草甘膦农药($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)对蓝藻的叶绿素 *a* 含量有显著降低作用,且随着浓度升高其降低作用增强。高浓度草甘膦农药($20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)对蓝藻叶绿素 *a* 含量降低作用最大,其叶绿素 *a* 含量只有对照样品的43%。

胡萝卜素作为光合系统的辅助色素,可以起到辅助光吸收和耗散多余光能量的作用。如图3所示,不同浓度的草甘膦农药降低了蓝藻胡萝卜素的含量, $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度草甘膦农药对蓝藻的胡萝卜素含量几乎没有影响,而中浓度草甘膦农药($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)处理下蓝藻的胡萝卜素含量有明显降低;高浓度草甘膦农药($20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)处理下蓝藻的胡萝卜素含量只有对照样品的45%。

藻蓝蛋白作为藻类光合系统的捕光色素系统,对光合作用也起到重要作用。如图2所示,低浓度草甘膦农药($5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)对蓝藻的藻蓝蛋白含量几乎没有影响,其与对照没有显著性差异。而高于 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的草甘膦农药对蓝藻的藻蓝蛋白含量有显著降低作用,与对照相比,10、15 和 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 草甘膦农药对藻细胞藻蓝蛋白含量分别降低了21%、27%和32%。

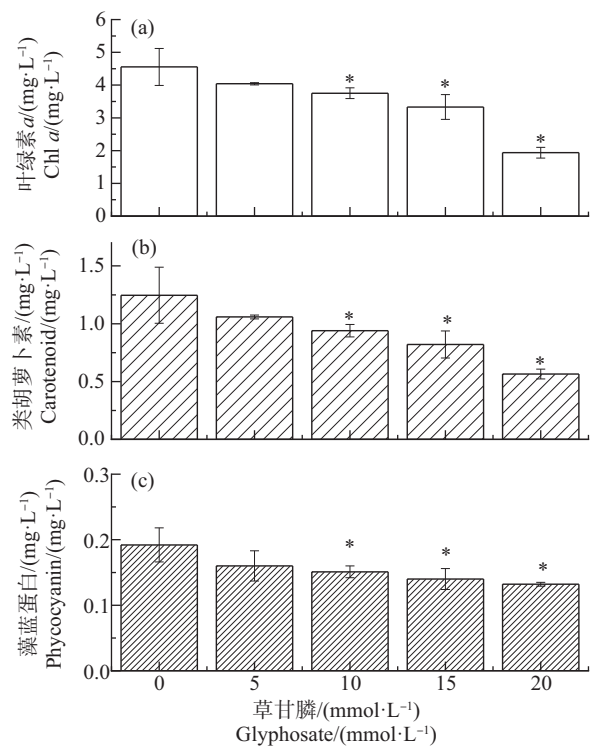


图2 草甘膦农药对蓝藻光合色素含量的影响

Fig. 2 Effects of agrichemical glyphosate on photosynthetic pigments of cyanobacterium *Loriellopsis cavernicola*

2.3 不同浓度的草甘膦农药对蓝藻 *Loriellopsis cavernicola* 光合快速叶绿素荧光诱导曲线的影响

草甘膦农药对蓝藻 *Loriellopsis cavernicola* 光合快速叶绿素荧光诱导曲线有着明显影响,由图3所示,不同浓度草甘膦农药处理组的荧光强度值均低于对照组,低中浓度草甘膦农药处理组($5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)O、J、I、P 相形状保持正常,而中高浓度处理组($15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)对光合活性(PS II 最大光化学效率)抑制明显,其诱导曲线缺乏中间 J 和 I 相,直接进入 P 阶段,表明其光合电子传递损伤严重。

为了进一步研究草甘膦农药对蓝藻 *Loriellopsis cavernicola* 光合电子传递系统的影响,对不同浓度草甘膦农药处理下蓝藻快速叶绿素荧光诱导曲线的参数进行了深入研究。如表1所示,低中浓度草甘膦农药($5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)对蓝藻 *Loriellopsis cavernicola* 的光合电子传递系统相关参数影响不显著,对一些参数甚至有一定促进作用,而中高浓度($15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)对电子传递抑制作用明显。具体讲,反映电子传递和光化学效率的各个参数,如单位反应中心捕获的用于还原 Q_A 的能量

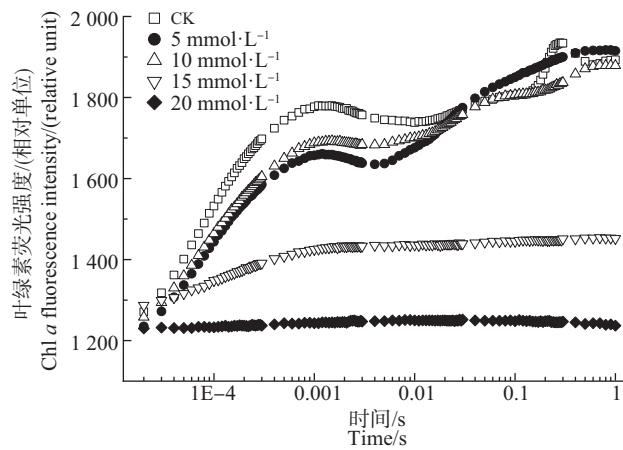


图 3 草甘膦农药处理下蓝藻的叶绿素 *a* 荧光诱导动力学曲线

Fig. 3 Chl *a* fluorescence transients in cyanobacterium *Loriellopsis cavernicola* in response to agrichemical glyphosate

(TR_o/RC)、单位反应中心用于电子传递的能量(ET_o/RC)、PS II 最大光化学效率(φP_o)和 PS II 反应中心吸收光能用于电子传递的量子产额(φE_o)等都随着草甘膦农药浓度升高出现了显著降低,表明草甘膦农药会引起光合作用电子传递链受阻和光合作用光化学效率降低;而反映耗散能量和反应中心能量累积的参数,如单位反应中心热耗散掉的能量(DI_o/RC)、用于热耗散的量子比率(φD_o)和单位反应中心吸收的能量(ABS/RC)等都随着草甘膦农药浓度升高出现了显著升高,表明吸收能量用于热耗散的比例明显提高。

表 1 不同浓度草甘膦农药对蓝藻 *Loriellopsis cavernicola* 叶绿素荧光参数的影响

Table 1 The parameters of chlorophyll fluorescence induction kinetics under different concentrations of agrichemical glyphosate in cyanobacterium *Loriellopsis cavernicola*

光合指标 Parameters	CK	5 mmol·L ⁻¹	10 mmol·L ⁻¹	15 mmol·L ⁻¹	20 mmol·L ⁻¹
TR_o/RC	2.759±0.027	2.773±0.038	2.602±0.028*	2.268±0.076*	1.869±0.318*
ET_o/RC	0.816±0.079	1.134±0.018*	0.807±0.029	0.343±0.058*	0.395±0.218*
DI_o/RC	5.023±0.463	4.913±0.267	5.876±0.186*	18.841±1.784*	143.192±37.176*
ABS/RC	7.782±0.483	7.686±0.286	8.478±0.165	21.109±1.737*	145.061±37.426*
φP_o	0.355±0.018	0.361±0.011	0.307±0.009*	0.108±0.012*	0.013±0.002*
φE_o	0.106±0.015	0.148±0.006*	0.095±0.005	0.017±0.004*	0.003±0.001*
φD_o	0.645±0.018	0.639±0.011	0.693±0.009*	0.892±0.012*	0.987±0.002*

注:与对照组相比,* $P<0.05$; TR_o/RC 为单位反应中心捕获的用于还原 Q_A 的能量, ET_o/RC 为单位反应中心用于电子传递的能量, DI_o/RC 为单位反应中心热耗散掉的能量, ABS/RC 为单位反应中心吸收的能量, φP_o 为 PS II 最大光化学效率, φE_o 为 PS II 反应中心吸收光能用于电子传递的量子产额, φD_o 为用于热耗散的量子比率。

Note: Compared with the control, * $P<0.05$; TR_o/RC means trapping per active reaction centers, ET_o/RC means electron transport per active reaction centers, DI_o/RC means dissipation per active reaction centers, ABS/RC means absorption per active reaction centers, φP_o means maximum quantum yield of PS II, φE_o means probability that an absorbed photon will move an electron into the electron transport chain beyond Q_A , φD_o means quantum ratio used for heat dissipation.

2.4 草甘膦农药对蓝藻 *Loriellopsis cavernicola* 抗氧化系统的影响

草甘膦农药对蓝藻 *Loriellopsis cavernicola* 抗氧化系统也产生了显著影响。如图 4(a)所示,在草甘膦农药处理下,蓝藻细胞内活性氧(ROS)的产量明显上升,5 mmol·L⁻¹ 草甘膦农药处理组与对照组比较没有显著性差异,但 10 mmol·L⁻¹ 处理组达到对照组的 1.5 倍,15 mmol·L⁻¹ 处理组达到对照组的 3 倍,20 mmol·L⁻¹ 处理组达到对照组的 6 倍。同时草甘膦农药处理也会引起蓝藻细胞膜脂过氧化水平(MDA 含量)提高,10 mmol·L⁻¹ 以上浓度的处理组都显著升高(图 4(b))。另外草甘膦农药处理都降低了蓝藻细胞抗氧化酶 SOD 活性,所有草甘膦农药处理组都显著性低于对照(图 4(c))。

3 讨论 (Discussion)

快速叶绿素荧光诱导曲线因为含有极其丰富的光合作用电子传递相关信息,成为研究和探测胁迫环境和污染物对光合作用过程影响的强大工具^[29]。藻类由于是单细胞生物,其光合作用系统对胁迫和污染物非常敏感,因此在遭受胁迫和污染物处理时,其叶绿素荧光及电子传递速率和利用效率等参数会发生变化,可以用 OJIP-test 对电子传递的各个过程进行比较深入的分析^[19, 30],以评价胁迫或污染物对光合作用的抑制程度和作用位点,在环境生态学和胁迫生理学领域有着重要的科学价值^[31]。

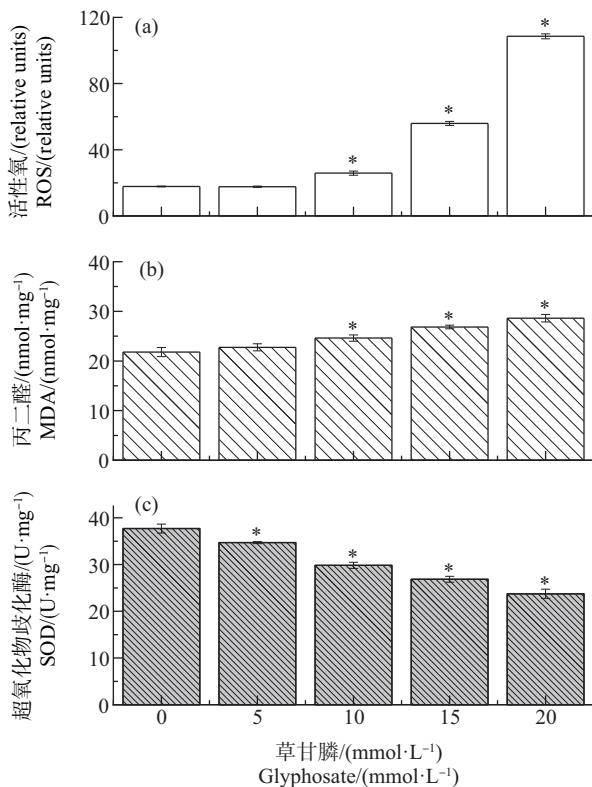


图4 不同浓度草甘膦农药对蓝藻抗氧化系统的影响

Fig. 4 Effects of different concentration of agrichemical glyphosate on antioxidant systems of cyanobacterium *Loriellopsis cavernicola*

在本研究中发现,草甘膦农药对西藏结皮蓝藻 *Loriellopsis cavernicola* 的光合作用系统产生影响,表现出低浓度略微促进,而高浓度抑制的特点,符合污染物对生物活性抑制的一般规律,表现在蓝藻光合作用活性(F_v/F_m)大小与草甘膦农药浓度呈一定的剂量-效应关系^[32-34]。利用 OJIP-test 方法分析快速叶绿素荧光诱导曲线相关参数,发现草甘膦农药对蓝藻光合系统的电子传递产生抑制,表现在 TR_0/RC 、 ET_0/RC 、 φp_0 和 φE_0 等参数都随着草甘膦农药浓度升高而显著降低。 TR_0/RC 反映了单位反应中心捕获的用于还原 Q_A 的能量,可以发现草甘膦农药处理下,该参数显著下降,表明草甘膦农药对电子传递链的原初电子受体(Pheo)到 Q_A 过程有抑制作用。 ET_0/RC 反映了单位反应中心捕获的用于电子传递的能量,结果显示,草甘膦农药对其也有明显抑制作用,表明用于电子传递的能量减少。同时 φE_0 反映用于电子传递的量子产额,在草甘膦农药处理下也出现了降低,反映出电子传递受阻。另外 φp_0 反映出最大光化学效率,实验结果显示草甘膦农药

处理会显著降低藻类的 φp_0 值,表明草甘膦农药处理严重影响藻类的光化学合成过程,使得其效率低下。有关草甘膦农药影响藻类光合作用电子传递可以从另一个角度分析,如光合系统热耗散相关参数(DI_0/RC 、 φD_0 和 ABS/RC)。 DI_0/RC 反映单位反应中心耗散掉的能量,结果表明 DI_0/RC 随着草甘膦农药浓度升高出现了显著升高,表明大量累积的能量由于不能正常发生电子传递而推动光化学反应,因此用于热耗散的能量大增。 φD_0 反映用于热耗散的量子比率,在草甘膦农药处理下也出现显著性增加,也显示热耗散能量比例明显提高。 ABS/RC 反映了单位反应中心吸收的光能,本研究发现,在草甘膦农药处理下, ABS/RC 出现大幅度增加,这反映了电子传递受阻情况下,除了一部分以热量耗散外,反应中心同时累积了大量能量,而这些能量也会造成叶绿素 *a*、藻蓝蛋白和胡萝卜素降解,引起细胞内叶绿素 *a*、藻蓝蛋白和胡萝卜素含量降低,有学者在前期研究中发现,草甘膦农药处理也会引起光合色素含量的下降^[35],这个结果与本研究结果一致。另外草甘膦农药也影响细胞代谢过程,主要表现在草甘膦农药对蛋白质合成的抑制作用^[5],由于色素分子合成需要蛋白质参与,草甘膦农药也降低了色素的合成过程,使得细胞内被降解的光合色素无法得到重新合成和及时补充,因此也降低了细胞内的光合色素含量。这些结果都说明草甘膦农药对蓝藻光合作用的抑制作用不但表现在干扰光合作用电子传递,而且还降低了光合色素含量。在土壤藻类及其他藻类中也发现类似现象,如除草剂、UV 和盐胁迫都会引起光合作用电子传递效率降低^[22, 36-37],同时也发现其热耗散能量的比例明显上升,同时造成光合色素含量的下降^[35, 37]。另外塑化剂邻苯二甲酸酯(DEHP)还会提高栅藻吸收光能后热耗散部分的能量占吸收能量的消耗比例^[20]。因此,各种逆境一般会造成藻类光合作用电子传递链受阻,表现在电子传递效率降低,光化学合成效率变小,而热耗散能量比例增大,多余的能量可以与光合色素结合得到一定的淬灭,但仍然有一部分能量从光合电子传递链泄漏而导致 ROS 增加,在本研究中,我们确实发现了草甘膦农药诱导 ROS 的积累,并随除草剂浓度增加而积累程度增加。另外,我们也发现草甘膦农药处理显著降低了 SOD 活性,并且 SOD 活性降低的幅度与加入草甘膦农药的浓度有明显的剂量-效应关系。这个结果与在其他土壤藻类,如伪枝藻(*Scytonema*

javanicum)中的结果类似,表明草甘膦农药抑制了SOD的合成^[22, 38]。由于SOD是清除藻细胞内ROS的主要酶类,它的活性降低,一方面可能导致短时间内产生的ROS无法清除,造成ROS累积,此外也会导致细胞的进一步氧化损伤,而本研究确实发现了草甘膦农药诱导的蓝藻细胞膜脂过氧化水平升高现象。由于藻类的光合系统主要是内囊体膜系统,而草甘膦农药处理造成膜脂过氧化,会影响膜系统的流动性,同时草甘膦农药也降低了光合色素含量,而光合色素尤其是叶绿素 a 是光合作用反应中心色素,其含量降低也会对光合作用效率产生一定的影响,因此草甘膦农药引发藻类光合系统多种损伤,最终破坏光合系统的活性,造成藻类光合能力降低。

总之,本研究发现除草剂草甘膦农药使西藏土壤藻类 *Loriellopsis cavernicola* 光系统II的最大光化学效率大幅度下降,其主要干扰光合作用电子传递链,同时也会引起氧自由基泄露造成细胞膜脂过氧化水平升高和光合色素降解,继而会引起藻类光合系统结构破坏及光合作用活性降低。由于土壤藻类是土壤生态系统主要的生产者,因此这些抑制作用有可能影响土壤微生态系统健康,从而对相对脆弱的高原土壤环境健康和可持续发展产生长远作用,因此降低除草剂使用是进一步保护高原土壤环境健康的重要措施。

通信作者简介:彭婷婷(1985—),女,学士,实验师,主要研究方向为藻类生态毒理学。

参考文献(References):

- [1] 安慰. 浅谈西藏生态环境特点与工业发展的环保对策[J]. 节能与环保, 2019(5): 24-25
An W. A brief talk on the characteristics of Tibet's ecological environment and the environmental protection measures for industrial development [J]. Energy Conservation & Environmental Protection, 2019(5): 24-25 (in Chinese)
- [2] 安玉琴, 李文启. 西藏产业结构变迁对环境污染影响的实证研究[J]. 西藏大学学报(社会科学版), 2019, 34(3): 175-182
An Y Q, Li W Q. An empirical study on the effect of industrial structure change on environmental pollution in Tibet [J]. Journal of Tibet University, 2019, 34(3): 175-182 (in Chinese)
- [3] 普琼. 西藏自治区农田草害发生与防治的现状、问题及对策[J]. 西藏科技, 2018(1): 9-12
Pu Q. Present situation, problems and countermeasures of occurrence and control of weeds in farmland in Tibet Autonomous Region [J]. Tibet Science and Technology, 2018(1): 9-12 (in Chinese)
- [4] 罗德伟. 西藏地区农村环境保护存在问题及对策: 以山南市琼结县为例[J]. 环境与可持续发展, 2016, 41(5): 198-200
Luo D W. In Tibet rural environmental problems and countermeasures: A case study of Qiongjie County Shannan City [J]. Environment and Sustainable Development, 2016, 41(5): 198-200 (in Chinese)
- [5] Bai S H, Ogbourne S M. Glyphosate: Environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(19): 18988-19001
- [6] Baylis A D. Why glyphosate is a global herbicide: Strengths, weaknesses and prospects [J]. Pest Management Science, 2000, 56(4): 299-308
- [7] 周伊薇, 冯世伟, 张定煌, 等. 固氮蓝藻在环境保护中的应用研究进展[J]. 生态与农村环境学报, 2018, 34(3): 193-200
Zhou Y W, Feng S W, Zhang D H, et al. Progress in research on application of diazotrophic cyanobacteria in environmental protection [J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2018, 34(3): 193-200 (in Chinese)
- [8] Lamprinou V, Hernández-Mariné M, Canals T, et al. Morphology and molecular evaluation of *Iphinoe spelaeobios* gen. nov., sp. nov. and *Loriellopsis cavernicola* gen. nov., sp. nov., two stigonematalean cyanobacteria from Greek and Spanish caves [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2011, 61 (Pt 12): 2907-2915
- [9] Smith H D, Baqué M, Duncan A G, et al. Comparative analysis of cyanobacteria inhabiting rocks with different light transmittance in the Mojave Desert: A Mars terrestrial analogue [J]. International Journal of Astrobiology, 2014, 13(3): 271-277
- [10] 高江力. 荒漠植物根际土壤细菌对不同干旱条件和沙丘类型的响应机制[D]. 兰州: 兰州大学, 2019: 9-12
Gao J L. Response mechanism of rhizosphere soil bacteria of desert plants to different drought conditions and dune types [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2019: 9-12 (in Chinese)
- [11] 刘株秀. 东北黑土区大豆连作土壤微生物群落变化的分子解析[D]. 北京: 中国科学院大学, 2020: 5-7
Liu Z X. Molecular analysis of the changes of soil microbial communities in continuous cropping of soybean in the black soil of northeast China [D]. Beijing: University

- of Chinese Academy of Sciences, 2020: 5-7 (in Chinese)
- [12] 邓杰文, 石杨, 李斌, 等. 微生物在沙化土壤修复中的应用研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2022, 28(5): 1367-1374
- Deng J W, Shi Y, Li B, et al. Research progress on the application of microorganisms in sandy land remediation [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2022, 28(5): 1367-1374 (in Chinese)
- [13] 许文文, 赵燕翘, 王楠, 等. 人工蓝藻结皮对沙区表层土壤酶活性及其恢复速率的影响[J]. 生态学报, 2023, 43(7): 2856-2864
- Xu W W, Zhao Y Q, Wang N, et al. Effects of artificial cyanobacterial crusts on enzyme activities and recovery rate of surface soil in sandy areas [J]. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(7): 2856-2864 (in Chinese)
- [14] Appenroth K J, Stöckel J, Srivastava A, et al. Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrhiza* as probed by OJIP chlorophyll *a* fluorescence measurements [J]. Environmental Pollution, 2001, 115(1): 49-64
- [15] Strasser R J, Srivastava A, Govindjee. Polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transient in plants and cyanobacteria [J]. Photochemistry and Photobiology, 1995, 61(1): 32-42
- [16] Strasser R J, Tsimilli-Michael M, Srivastava A. Analysis of the Chlorophyll *a* Fluorescence Transient [M]//Chlorophyll *a* Fluorescence. Dordrecht: Springer Netherlands, 2004: 321-362
- [17] Wang G H, Chen L Z, Hao Z J, et al. Effects of salinity stress on the photosynthesis of *Wolffia arrhiza* as probed by the OJIP test [J]. Fresenius Environmental Bulletin, 2011, 20(2A): 432-438
- [18] Xiao W, Wang H, Liu W, et al. Action of alamethicin in photosystem II probed by the fast chlorophyll fluorescence rise kinetics and the JIP-test [J]. Photosynthetica, 2020, 58(2): 358-368
- [19] Ye C P, Liao H P, Yang Y F. Allelopathic inhibition of photosynthesis in the red tide-causing marine alga, *Scripsiella trochoidea* (Pyrrophyta), by the dried macroalga, *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta) [J]. Journal of Sea Research, 2014, 90: 10-15
- [20] 刘常青, 谢慕, 赵剑, 等. 叶绿素荧光动力学检测塑化剂对尖细栅藻的毒性效应[J]. 水生生物学报, 2016, 40(3): 552-556
- Liu C Q, Xie M, Zhao J, et al. Use of chlorophyll fluorescence transits to analysis DEHP on the toxicological effects of *Scenedesmus acuminatus* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2016, 40(3): 552-556 (in Chinese)
- [21] 谷梦园, 殷高方, 甘婷婷, 等. 基于 OJIP 曲线差异性特征的水体综合毒性表征参数构建[J]. 光学学报, 2022, 42(18): 34-40
- Gu M Y, Yin G F, Gan T T, et al. Characterization parameter construction for comprehensive toxicity of water based on differential features of OJIP curve [J]. Acta Optica Sinica, 2022, 42(18): 34-40 (in Chinese)
- [22] Chen L Z, Xie M, Bi Y H, et al. The combined effects of UV-B radiation and herbicides on photosynthesis, antioxidant enzymes and DNA damage in two bloom-forming cyanobacteria [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2012, 80: 224-230
- [23] Ye T, Wang B, Li C Y, et al. Exposure of cyanobacterium *Nostoc* sp. to the mars-like stratosphere environment [J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B, Biology, 2021, 224: 112307
- [24] 李永祥, 冯春刚, 童德云. 草甘膦使用中存在的问题及正确使用方法[J]. 植物医生, 2014, 27(6): 44-46
- [25] Pang T, Liu J G, Liu Q, et al. Impacts of glyphosate on photosynthetic behaviors in *Kappaphycus alvarezii* and *Neosiphonia savatieri* detected by JIP-test [J]. Journal of Applied Phycology, 2012, 24(3): 467-473
- [26] Carlisle S M, Trevors J T. Glyphosate in the environment [J]. Water, Air, and Soil Pollution, 1988, 39(3): 409-420
- [27] Garcia-Pichel F, Castenholz R W. Characterization and biological implications of scytonemin, a cyanobacterial sheath pigment [J]. Journal of Phycology, 1991, 27(3): 395-409
- [28] Bennett A, Bogorad L. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga [J]. The Journal of Cell Biology, 1973, 58(2): 419-435
- [29] Lu C M, Qiu N W, Wang B S, et al. Salinity treatment shows no effects on photosystem II photochemistry, but increases the resistance of photosystem II to heat stress in halophyte *Suaeda salsa* [J]. Journal of Experimental Botany, 2003, 54(383): 851-860
- [30] 包素红. 龙须菜和裂片石莼干粉对两种赤潮微藻的光合生理影响机制探究[D]. 广州: 暨南大学, 2019: 14-16
- Bao S H. Photosynthetic influencing mechanism of macroalgae *Gracilaria lemaneiformis* and *Ulva fasciata* powders on the two HABs [D]. Guangzhou: Jinan University, 2019: 14-16 (in Chinese)
- [31] 李鹏民, 高辉远, Reto J. Strasser. 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 31(6): 559-566
- Li P M, Gao H Y, Strasser R. Application of the fast chlorophyll fluorescence induction dynamics analysis in photosynthesis study [J]. Acta Photophysiological Sinica,

- 2005, 31(6): 559-566 (in Chinese)
- [32] 潘文静, 王钰亮, 刘洋, 等. 草甘膦对铜绿微囊藻生长和叶绿素荧光诱导动力学的影响[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2018, 46(4): 89-94
- Pan W J, Wang Y L, Liu Y, et al. Effects of glyphosate on the growth and chlorophyll fluorescence induction dynamics of *Microcystis aeruginosa* PCC 7806 [J]. Journal of Henan Normal University (Natural Science Edition), 2018, 46(4): 89-94 (in Chinese)
- [33] 张哲, 王江涛, 谭丽菊. 草甘膦对旋链角毛藻和盐生杜氏藻的毒性兴奋效应[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(5): 685-691
- Zhang Z, Wang J T, Tan L J. Stimulation effect of glyphosate on *Chaetoceros curvisetus* and *Dunallelia salina* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2010, 5(5): 685-691 (in Chinese)
- [34] 孟秀柔, 宋青梅, 王飞, 等. 草铵膦和草甘膦在水环境中的行为和毒性效应研究进展[J]. 生态毒理学报, 2021, 16(3): 144-154
- Meng X R, Song Q M, Wang F, et al. Research progress on behavior and toxic effects of glufosinate and glyphosate in water environments [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2021, 16(3): 144-154 (in Chinese)
- [35] 高瑾, 熊六凤, 阮记明, 等. 草甘膦的水环境行为及其对水生生物毒性的研究进展[J]. 生态毒理学报, 2022, 17(3): 422-433
- Gao J, Xiong L F, Ruan J M, et al. Advances of aquatic environmental behaviors and toxicity of glyphosate to aquatic organisms [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2022, 17(3): 422-433 (in Chinese)
- [36] Zhu Q H, Wu L, Li X G, et al. Effects of ambient temperature on the redistribution efficiency of nutrients by desert cyanobacteria: *Scytonema javanicum* [J]. The Science of the Total Environment, 2020, 737: 139733
- [37] Hu J L, Jin L, Wang X J, et al. Response of photosynthetic systems to salinity stress in the desert cyanobacterium *Scytonema javanicum* [J]. Advances in Space Research, 2014, 53(1): 30-36
- [38] Wang G H, Deng S Q, Li C, et al. Damage to DNA caused by UV-B radiation in the desert cyanobacterium *Scytonema javanicum* and the effects of exogenous chemicals on the process [J]. Chemosphere, 2012, 88(4): 413-417
- ◆