

引用格式:

闫琼, 邵继海, 陈杰锋, 冯焯. 对苯二酚对类珠藻的生物毒性[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2023, 49(5): 624–630.

YAN Q, SHAO J H, CHEN J F, FENG Y. Bio-toxicity of urease inhibitor hydroquinone on *Aliinostoc*[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2023, 49(5): 624–630.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



对苯二酚对类珠藻的生物毒性

闫琼, 邵继海*, 陈杰锋, 冯焯

(湖南农业大学环境生态学院, 湖南 长沙 410128)

摘要: 以从酸化稻田中分离的固氮蓝藻类珠藻(*Aliinostoc* sp. YYLX235)为研究对象, 将类珠藻于脲酶抑制剂对苯二酚最终质量浓度分别为 0.0、2.5、5.0、10.0 mg/L 的培养液中培养, 培养 2、6 d 时分别对该藻株的生长、光合作用、固氮酶活性、抗氧化酶活性和氧化损伤特征等进行分析, 探究对苯二酚对农田类珠藻的生物毒性。结果表明: 2.5 mg/L 对苯二酚处理, 短时间(2 d)内对类珠藻的生长和藻胆蛋白具有刺激效应, 但随着处理时间的延长, 刺激效应转变为抑制效应; 对苯二酚处理对藻细胞内叶绿素 a 和类胡萝卜素含量的影响不明显; 对苯二酚处理下类珠藻的光合系统 II 电子传递效率表现敏感, 造成光合系统 II 反应中心电子供体侧受损, 短时间(2 d)内 5.0 mg/L 对苯二酚处理的光合系统 II 最大光化学效率仅为对照的 79.1%; 对苯二酚处理条件下类珠藻细胞内的过氧化氢酶(CAT)活性升高, 6 d 时 10.0 mg/L 对苯二酚处理的 CAT 活性是对照的 9.96 倍, 但是藻细胞的脂质氧化程度并未因对苯二酚处理而加剧; 对苯二酚对类珠藻固氮酶活性具有显著的抑制效应。

关键词: 类珠藻; 固氮蓝藻; 对苯二酚; 光合作用; 抗氧化酶; 固氮酶

中图分类号: X171.5; Q945.78

文献标志码: A

文章编号: 1007–1032(2023)05–0624–07

Bio-toxicity of hydroquinone on *Aliinostoc*

YAN Qiong, SHAO Jihai*, CHEN Jiefeng, FENG Ye

(College of Environment & Ecology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

Abstract: In order to elucidate the biotoxicity of the urease inhibitor hydroquinone to the nitrogen-fixing cyanobacterium, *Aliinostoc* sp. YYLX235, which was isolated from an acidified rice paddy field, the effects of hydroquinone (0.0, 2.5, 5.0, 10.0 mg/L) on the growth, photosynthesis, nitrogen fixing enzyme activity, antioxidant enzyme activity and oxidative damage characteristics of *Aliinostoc* sp. YYLX235 were investigated on 2, 6 d. The results of concentration gradient toxicology tests showed that 2.5 mg/L hydroquinone had stimulating effects on the growth and phycobilin protein of *Aliinostoc* sp. YYLX235 at the 2 d, but the stimulatory effect shifted to an inhibitory effect as the treatment time increased. Hydroquinone showed no significant effects on the contents of chlorophyll *a* and carotenoids in the cells of *Aliinostoc* sp. YYLX235. The electron transfer efficiency of photosystem II (PS II) of *Aliinostoc* sp. YYLX235 was sensitive to hydroquinone stress. The electron donating side of PS II was severely damaged by hydroquinone, the maximum quantum yield of primary photochemistry of 5.0 mg/L hydroquinone treatment at 2 d was only 79.1% of that of the control. The activity of catalase(CAT) in the cells of *Aliinostoc* sp. YYLX235 was promoted by hydroquinone. The CAT activity of 10.0 mg/L hydroquinone treatment was 9.96 times that of the control at 6 d, while no oxidative damage on lipids was observed under hydroquinone stress. The activity of nitrogen fixation of *Aliinostoc* sp. YYLX235 was significantly inhibited by hydroquinone.

Keywords: *Aliinostoc* sp.; diazotrophic cyanobacteria; hydroquinone; photosynthesis; antioxidative enzyme; nitrogenase

收稿日期: 2022–06–08

修回日期: 2023–10–20

基金项目: 国家自然科学基金项目(32071647)

作者简介: 闫琼(1997—), 女, 湖南岳阳人, 硕士研究生, 主要从事农业环境微生物学研究, 907162133@qq.com; *通信作者, 邵继海, 博士, 教授, 主要从事蓝藻生理生态研究, shao@hunau.net

尿素是目前广泛使用的化学氮肥之一。尿素使用面临的问题是水解速度太快,导致氮肥流失、利用率不高^[1]。此外,尿素快速水解会引起铵态氮在土壤中累积,过量的铵态氮在土壤中发生硝化反应,引起农田土壤酸化,耕地质量降低^[2-3]。对苯二酚(氢醌)是一种常见的脲酶抑制剂,可延缓尿素向铵态氮的水解转化,进而提高尿素利用效率^[4-5]。此外,对苯二酚还常与硝化抑制剂联合使用,减少氮肥流失和遏制氮肥对土壤的酸化效应^[6]。

从作用分子机理来看,对苯二酚可以和脲酶上的巯基结合,导致脲酶反应中心失活^[7],进而抑制脲酶活性,对细胞产生生物毒性。毒理学的研究显示,对苯二酚对许多水生微生物,如枝角类、桡足类和微藻均具有较强的急性毒性^[8]。对苯二酚对大型溞的48 h的 EC_{50} 仅为0.15 mg/L^[9]。除水生微生物外,对苯二酚对动物也具有毒性,能引起动物血肿,并具有较强的致癌性^[10-11]。可见,作为脲酶抑制剂,对苯二酚的生态毒性和生态风险亟待深入研究。

固氮蓝藻是陆地生态系统氮素输入的重要微生物类群^[12]。在稻田生态系统中,每季水稻固氮蓝藻向稻田输入的氮素量最高可达60 kg/hm²,合理地使用固氮蓝藻,能减少稻田50%左右的氮肥使用量^[13]。接种固氮蓝藻可以使水稻增产10%~30%^[14]。HU等^[15]研究发现,施加类珠藻能显著降低水稻籽粒中镉的含量,减少农作物对重金属的吸收和积累。对苯二酚和固氮蓝藻分别在农田氮肥保持和氮素输入方面具有重要的作用。本研究中,以类珠藻为材料,从生长、光合作用、氧化损伤和抗氧化酶活性、固氮能力等方面探讨类珠藻对脲酶抑制剂对苯二酚胁迫的生理响应,探究对苯二酚的农田生态毒性,旨在为合理利用对苯二酚提高尿素利用效率和农田生物固氮提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试类珠藻(*Aliinostoc* sp. YYLX235)分离自湖南省岳阳市临湘酸化稻田。藻株用 BG-11 培养基光照培养,光照度为 2400 lx,光照与黑暗各 12 h,培养温度为(25±1) °C。对苯二酚购自 Macklin, 纯度

≥98%。

1.2 对苯二酚抑藻试验设计

将 91 mL 无菌 BG-11 培养基加入到 250 mL 锥形瓶中,分别加入 4.00 mL 用无菌蒸馏水现配制并经过滤除菌的 62.5、125.0、250.0 mg/L 的对苯二酚母液(3种处理),对照处理加入 4.00 mL 无菌蒸馏水,最后各加入 5 mL 对数培养期的类珠藻培养液,使其终体积为 100 mL,对苯二酚的最终质量浓度分别为 0.0、2.5、5.0、10.0 mg/L,各处理类珠藻细胞起始密度约为 1.36×10⁶/mL。每个处理 3 个重复。将各处理光照培养,培养条件同 1.1。培养 2、6 d 时取样分析。

1.3 测定方法

1.3.1 类珠藻的细胞密度和光合色素含量及抗氧化指标的测定

采用浮游植物计数框在显微镜下测定类珠藻的细胞密度。利用 6 d 时对苯二酚的使用剂量和其对类珠藻的抑制率进行回归分析,计算 6 d 时对苯二酚对类珠藻的 EC_{50} 。

取 4 mL 藻液于 10 mL 离心管中,4 °C、8000 r/min 离心 10 min,弃上清液,收集藻细胞。向收集了藻细胞的离心管中加入 4 mL 95%的乙醇,于 4 °C 低温环境中避光浸提藻细胞内的叶绿素 a 和类胡萝卜素,24 h 后取出,再次离心并收集上清液,用分光光度计于 665、649、470 nm 处测定吸光度,参照李合生^[16]所述方法计算藻细胞内叶绿素 a 和类胡萝卜素的含量。

按上述方法收集藻细胞,加入 5 mL 磷酸缓冲液(0.05 mol/L、pH 6.8)重悬,将重悬后的藻细胞转移至陶瓷研钵中,加入少许石英砂并在液氮环境中研磨破碎藻细胞,4 °C、8000 r/min 离心 10 min,收集上清液。运用分光光度计分别测定上清液在 620、650、565 nm 处的吸光度,并按林燊等^[17]所述方法计算藻蓝蛋白(PC)和别藻蓝蛋白(APC)含量,两者构成蓝藻中藻胆蛋白的主要成分,此处以两者含量和为藻胆蛋白含量。采用氮蓝四唑光还原法和钼酸铵比色法分别测定上清液中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性。采用考马斯亮蓝法

和硫代巴比妥酸法分别测定上清液中可溶性蛋白含量和丙二醛(MDA)含量。

1.3.2 类珠藻叶绿素光诱导荧光测定(JIP-test)

运用藻类叶绿素荧光测定仪(AquaPen-C AP-C 100)测定类珠藻叶绿素光诱导荧光多相瞬态上升动力学特征,并绘制类珠藻 OJIP 动力学曲线^[18]。取样 2 mL,荧光测定前将所有样品置于黑暗处进行暗适应 15 min,荧光测定的光化光照度为 2.4×10^5 lx,荧光瞬时上升曲线的记录时间为 $5 \times 10^{-5} \sim 1$ s。参照 CHRISTEN 等^[19]所述方法,分析叶绿素光诱导荧光动力学参数:光合系统 II 最大光化学效率(ϕ_{P0})、捕获的激子将电子传递到电子传递链中超过电子受体 Q_A 的其他电子受体的概率(ψ_0)、用于电子传递的量子产额(ϕ_{E0})、热耗散量子比率(ϕ_{D0})、光合放氧复合体电子传递效率、光合系统 II 综合效能(PI_{abs})。

1.3.3 类珠藻固氮活性的测定

于 120 mL 的培养瓶中加入 5 mL 藻液,以带硅胶塞的螺帽密封,抽出 10% 的气体,注入等体积的乙炔,继续培养 5 h,而后抽取 800 μ L 气样,使用安捷伦 GC-9A 型气相色谱仪测定生成的乙烯的量。气相色谱柱为安捷伦 CP7518(CP-Al₂O₃/KCl, 50 m \times 0.53 mm, i.d. 10.00 μ m),检测器为 FID。气相

色谱仪的工作条件设定如下:检测室温度 120 $^{\circ}$ C,柱温 70 $^{\circ}$ C,氮气流速为 40 mL/min,氢气流速为 50 mL/min,空气流速为 500 mL/min。以单位藻细胞在单位时间内产生乙烯的量表示固氮活性。

1.4 数据统计分析

运用 SPSS 13.1 对试验数据进行单因素方差分析,选用 LSD 进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 对苯二酚对类珠藻生长的影响

从表 1 可知,2 d 时,2.5 mg/L 对苯二酚对类珠藻的生长具有刺激作用,其藻细胞密度显著高于其他处理的,比对照的高 30.6%;5.0、10.0 mg/L 对苯二酚处理的类珠藻细胞密度与对照组的差异无统计学意义。从 2 d 到 6 d,对照组类珠藻按正常的速率生长,而对苯二酚处理的类珠藻的细胞密度均下降。6 d 时,2.5、5.0、10.0 mg/L 对苯二酚处理的类珠藻藻细胞密度均显著低于对照的,分别低 30.3%、35.2%、47.9%,但是不同质量浓度对苯二酚处理间的差异均无统计学意义。6 d 时对苯二酚对类珠藻的 EC_{50} 为 12.88 mg/L。

表 1 对苯二酚处理的类珠藻的细胞密度和光合色素含量

Table 1 Cell densities and photosynthetic pigment contents of *Aliinostoc* sp. YYLX235 treated with hydroquinone

培养时间/d	对苯二酚质量浓度/(mg L ⁻¹)	细胞密度/($\times 10^6$ mL ⁻¹)	单个细胞叶绿素 a 质量/ng	单个细胞类胡萝卜素质量/ng	PC+APC 含量/(\(\mug mg ⁻¹)	PC 与 APC 含量的比值/%
2	0.0	2.32b	1.19	0.30	0.07b	1.96ab
	2.5	3.03a	0.86	0.21	0.09a	1.33b
	5.0	2.51b	1.06	0.23	0.09a	1.75ab
	10.0	2.18b	1.20	0.29	0.08a	2.42a
6	0.0	3.07a	1.88ab	0.51	0.08a	2.23b
	2.5	2.14b	2.09a	0.59	0.09a	4.44b
	5.0	1.99b	1.73b	0.47	0.08ab	7.81a
	10.0	1.60b	2.05ab	0.57	0.04b	3.17b

同列不同字母示同一时间组内的差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 对苯二酚对类珠藻光合色素含量的影响

从表 1 可知,与对照相比,对苯二酚处理对类珠藻细胞内叶绿素 a 和类胡萝卜素的含量无显著影响;2 d 时,2.5、5.0、10.0 mg/L 对苯二酚对类珠藻

细胞内藻胆蛋白(PC+APC)含量具有显著的刺激作用,对类珠藻细胞内 PC 和 APC 含量的比值影响不大;6 d 时,对苯二酚对类珠藻细胞内藻胆蛋白含量的刺激作用消失,2.5、5.0 mg/L 对苯二酚对类珠

藻细胞内藻胆蛋白含量没有显著的影响，但 PC 和 APC 含量的比值分别为对照的 1.99 倍和 3.50 倍，而 10.0 mg/L 对苯二酚处理显著降低细胞内的藻胆蛋白含量，但对 PC 和 APC 含量的比值影响不大。

2.3 对苯二酚对类珠藻叶绿素荧光动力学特征的影响

从图 1 可以看出，2、6 d 时，所有处理类珠藻叶绿素荧光瞬态动力学特征均呈现典型的 OIIP 曲线特征；2 d 时，荧光动力学瞬态上升曲线斜率 (dV/dt_0) 随对苯二酚质量浓度的增加而增加，6 d 时，

各处理组动力学 dV/dt_0 差异不明显。从表 2 可以看出，与对照相比，2 d 时，对苯二酚处理能降低能量分配比率参数 ϕ_{P_0} 、 ϕ_{E_0} 和 PI_{abs} 值，5.0 mg/L 对苯二酚处理的 ϕ_{P_0} 仅为对照的 79.1%，对苯二酚质量浓度越高，抑制效应越明显，对 ψ_0 和光合放氧复合体电子传递效率也具有抑制效应，且随着对苯二酚浓度增加，抑制效应越强，而 ϕ_{D_0} 随着对苯二酚质量浓度升高逐渐增强；6 d 时，2.5 mg/L 对苯二酚处理的 PI_{abs} 值显著增加，而 10.0 mg/L 对苯二酚处理的 ϕ_{P_0} 显著降低， ψ_0 显著增加。

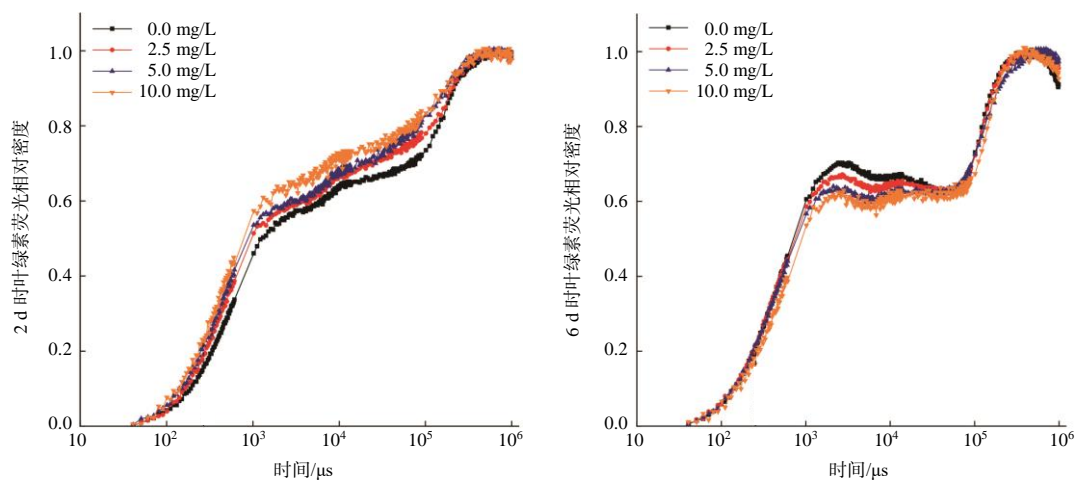


图 1 对苯二酚处理的类珠藻叶绿素荧光瞬态动力学特征

Fig.1 Chlorophyll fluorescence transients of *Aliinostoc* sp. YYLX235 treated with hydroquinone

表 2 对苯二酚处理的类珠藻叶绿素荧光瞬态动力学参数变化特征

Table 2 Variations of the parameters deviated from chlorophyll fluorescence transients of *Aliinostoc* sp. YYLX235 treated with hydroquinone

培养时间/d	对苯二酚质量浓度/ (mg L ⁻¹)	ϕ_{P_0}	ϕ_{E_0}	ψ_0	ϕ_{D_0}	PI_{abs}	光合放氧复合体 电子传递效率
2	0.0	0.43a	0.20a	0.46a	0.57c	0.20a	1.00a
	2.5	0.40a	0.17ab	0.43ab	0.60c	0.13b	0.95b
	5.0	0.34b	0.14bc	0.42ab	0.66b	0.08bc	0.92bc
	10.0	0.28c	0.11c	0.41b	0.73a	0.04c	0.88c
6	0.0	0.36ab	0.11	0.32b	0.64bc	0.07b	1.00
	2.5	0.39a	0.13	0.34ab	0.61c	0.09a	0.96
	5.0	0.33bc	0.12	0.38ab	0.67ab	0.07b	0.97
	10.0	0.30c	0.12	0.41a	0.70a	0.06b	1.00

同列不同字母示同一时间组内的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.4 对苯二酚对类珠藻固氮活性的影响

从表 3 可知，2 d 时，对苯二酚处理的类珠藻固氮活性均显著低于对照的；但在 2.5~10.0 mg/L 的浓度范围内，固氮活性随对苯二酚浓度的增加而增加。6 d 时，2.5 mg/L 对苯二酚处理的固氮活性与

对照的差异无统计学意义，而 5.0、10.0 mg/L 对苯二酚处理的固氮活性仍显著低于对照的。

2.5 对苯二酚处理下类珠藻细胞内抗氧化酶活性和 MDA 含量变化特征

从表 3 可知，2.5~10.0 mg/L 对苯二酚对藻细胞

内的 SOD 活性没有显著影响; 5.0、10.0 mg/L 对苯二酚可显著提高藻细胞内的 CAT 活性, 2 d 时, 5.0、10.0 mg/L 对苯二酚处理 CAT 活性分别为对照的 4.92 倍和 5.83 倍, 6 d 时所有处理细胞内的 CAT 活性较 2 d 时同一处理的均有所下降, 但 5.0、10.0 mg/L 对苯二酚处理的 CAT 活性与对照的差距进一步扩大, 分别为对照的 7.51 倍和 9.96 倍; 2 d 时,

2.5~10.0 mg/L 对苯二酚处理的类珠藻 MDA 含量均显著低于对照的, 其中, 2.5 mg/L 对苯二酚处理的含量最低, 仅为对照的 36.4%, 3 组对苯二酚处理的类珠藻 MDA 含量随对苯二酚处理浓度的增加而显著递增, 6 d 时, 各处理的 MDA 含量间的差异均无统计学意义。

表 3 对苯二酚处理的类珠藻的固氮活性和抗氧化酶活性及丙二醛含量

Table 3 Nitrogen fixation activity, antioxidant enzyme activity and malondialdehyde content of *Aliinostoc* sp. YYLX235 treated with hydroquinone

培养时间/d	对苯二酚质量浓度/ (mg L ⁻¹)	单个细胞固氮活性 (C ₂ H ₂ 产量)/(ng h ⁻¹)	CAT 活性/ (U mg ⁻¹)	单个细胞 MDA 量/ pmol	SOD 活性/ (U mg ⁻¹)
2	0.0	26.14a	3.54b	0.33a	13.76
	2.5	11.15c	8.38b	0.12d	14.47
	5.0	12.74c	17.40a	0.21c	17.47
	10.0	18.09b	20.64a	0.26b	19.30
6	0.0	54.73a	1.50b	0.16	10.78
	2.5	55.69a	3.51b	0.23	12.57
	5.0	46.95b	11.27a	0.10	14.27
	10.0	47.79b	14.94a	0.10	16.20

同列不同字母示同一时间组内的差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 结论与讨论

对苯二酚具有较强的生物毒性。BÄHRIS 等^[20]的研究显示, 对苯二酚对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)具有极强的生物毒性, 其 24、48 h 的生长 EC₅₀ 分别为 0.96、0.49 mg/L; 对苯二酚对不同种类微藻的毒性差异较大, 对苯二酚对蓝藻门中的集胞藻(*Synechocystis* sp.)的毒性是其对铜绿微囊藻的毒性的 8.46%。本研究中; 10.0 mg/L 的对苯二酚对类珠藻的生长没有明显的抑制作用, 可见类珠藻对对苯二酚的耐受能力强于铜绿微囊藻; 6 d 时, 2.5 mg/L 对苯二酚即可显著抑制类珠藻的生长, 此时对苯二酚对类珠藻的 EC₅₀ 为 12.88 mg/L, 这也进一步表明类珠藻对对苯二酚有较强的耐受性。

丁惠君等^[21]的研究结果显示, 当对苯二酚浓度为 0.2 mg/L 时, 铜绿微囊藻的叶绿素 a 含量已无法检测到。本研究中, 所有对苯二酚处理的类珠藻细胞内的叶绿素 a 与类胡萝卜素含量并未出现下降现象, 光合色素含量的变化特性再次表明类珠藻对对苯二酚的耐受能力强于铜绿微囊藻; 2 d 的对苯二

酚处理能增加蓝藻藻胆蛋白的含量, 这可能与藻细胞的应激效应有关^[22]; 随着处理时间的延长, 6 d 时, 10.0 mg/L 对苯二酚处理显著降低了类珠藻藻胆蛋白含量, 尽管 2.5、5 mg/L 对苯二酚处理的类珠藻藻胆蛋白含量没有显著影响, 但是却显著改变了 PC 和 APC 含量的比值, PC 所占比例增加, 而 APC 所占比例降低。APC 的捕光效率高于 PC 的^[23], 尽管对苯二酚处理没有降低类珠藻藻胆蛋白的含量, 却提高了 PC 的相对比率, 从而导致了类珠藻捕光效率降低。

本研究中, 即使是 2.5 mg/L 对苯二酚处理 2 d 也能显著降低类珠藻光合系统 II 的综合性能, 由此推测 2.5 mg/L 对苯二酚可能已造成了类珠藻光合系统 II 的损伤。荧光参数 ϕ_{P0} 、 ψ_0 、光合放氧复合体电子传递效率分别反映光合系统 II 反应中心电子供体侧、受体侧及光合放氧复合体的性能^[23]。荧光参数分析结果表明, 对苯二酚处理可造成光合系统 II 反应中心电子供体侧和受体侧受损, 其中电子供体侧表现更为敏感。光合系统 II 电子传递受损导致部分电子回流, 使得对苯二酚还原速率(dV/dt_0)增

加。对比对苯二酚处理下类珠藻叶绿素荧光参数、生长和光合色素含量的变化特征可以发现,类珠藻叶绿素荧光参数比生长和光合色素含量变化特征更灵敏。

KULASOORIYA 等^[24]的研究结果显示,微生物的固氮活性对环境因子胁迫响应灵敏。本研究的结果也显示,固氮活性对对苯二酚处理的响应比生长和光合色素含量的灵敏。生物固氮需要消耗大量的生物能,细胞每固定 1 分子的氮气需要消耗 16 分子的 ATP^[25]。当细胞受到胁迫时,细胞需要更多的生物能来应对胁迫,导致分配给固氮作用的能量份额会降低,进而降低细胞的固氮活性^[26]。此外,对苯二酚处理条件下类珠藻光合作用效率显著降低。光合作用产能降低可能是对苯二酚处理条件下其固氮活性降低的另一个原因。

光合系统中,受到光活化的高能电子若不通过光合作用电子传递的方式淬灭,则会转化为氧自由基,这是光合微生物细胞内源性氧自由基的主要来源之一^[23]。SOD 和 CAT 是细胞内主要的抗氧化酶,当细胞受到氧化胁迫后,细胞内的抗氧化酶活性往往会上升^[27]。对苯二酚处理条件下类珠藻光合系统的电子传递效率降低,表明有更高比例的高能电子转化为内源性氧自由基,这可能是对苯二酚处理条件下类珠藻细胞内 CAT 活性升高的原因之一。从对苯二酚的化学结构来看,对苯二酚本身是一种还原剂,但是对苯二酚也可以在金属离子的诱导下发生自氧化,产生氧自由基^[28-29]。可见,对苯二酚对细胞氧化和抗氧化系统具有复杂的作用效应,它既可以充当还原剂缓解氧化胁迫,也可以自氧化成自由基对细胞造成氧化损伤^[8]。本研究的结果显示,尽管对苯二酚处理后类珠藻细胞内 CAT 活性升高,但是细胞内脂质氧化产物 MDA 含量却显著低于对照。据此可以推测,对苯二酚处理可能没有导致细胞质膜受到氧化性损伤。此外,由于对苯二酚本身的化学性质不稳定,其在类珠藻培养体系中的浓度会随培养时间的延长而衰减,这可能是 2 d 时对苯二酚对类珠藻光合系统 II 电子传递效率和固氮酶活性的抑制强度远高于 6 d 的原因。

参考文献:

- [1] MODOLO L V, DA-SILVA C J, BRANDÃO D S, et al. A minireview on what we have learned about urease inhibitors of agricultural interest since mid-2000s[J]. *Journal of Advanced Research*, 2018, 13: 29–37.
- [2] GUO J H, LIU X J, ZHANG Y, et al. Significant acidification in major Chinese croplands[J]. *Science*, 2010, 327: 1008–1010.
- [3] ZHU Q C, LIU X J, HAO T X, et al. Cropland acidification increases risk of yield losses and food insecurity in China[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 256: 113145.
- [4] 隽英华, 陈振华, 张玉兰, 等. 脲酶抑制剂氢醌对土壤脲酶动力学行为的调控效应[J]. *中国土壤与肥料*, 2015(4): 53–58.
- [5] 李玉, 王茂莹, 张倩, 等. 包膜脲酶抑制剂增效尿素对小麦生长的影响及其机理研究[J]. *水土保持学报*, 2020, 34(2): 283–289.
- [6] 赖睿特, 杨涵博, 张克强, 等. 硝化/脲酶抑制剂及生物质炭对养殖肥液灌溉土壤氮素转化的影响[J]. *农业资源与环境学报*, 2020, 37(4): 537–543.
- [7] MAZZEI L, CIANCI M, MUSIANI F, et al. Inactivation of urease by 1,4-benzoquinone: chemistry at the protein surface[J]. *Dalton Transactions*, 2016, 45(13): 5455–5459.
- [8] ENGUITA F J, LEITÃO A L. Hydroquinone: environmental pollution, toxicity, and microbial answers[J]. *BioMed Research International*, 2013, 2013: 542168.
- [9] GUERRAR. Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents[J]. *Chemosphere*, 2001, 44(8): 1737–1747.
- [10] MCGREGOR. Hydroquinone: an evaluation of the human risks from its carcinogenic and mutagenic properties[J]. *Critical Reviews in Toxicology*, 2007, 37(10): 887–914.
- [11] LIU L H, LING X X, WU M H, et al. Rb silencing mediated by the down-regulation of MeCP₂ is involved in cell transformation induced by long-term exposure to hydroquinone[J]. *Molecular Carcinogenesis*, 2017, 56(2): 651–663.
- [12] BELLENGER J P, DARNAJIOUX R, ZHANG X, et al. Biological nitrogen fixation by alternative nitrogenases in terrestrial ecosystems: a review[J]. *Biogeochemistry*, 2020, 149(1): 53–73.
- [13] ABINANDAN S, SUBASHCHANDRABOSE S R, VENKATESWARLU K, et al. Soil microalgae and cyanobacteria: the biotechnological potential in the maintenance of soil fertility and health[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2019, 39(8): 981–998.
- [14] 沈银武, 黎尚豪. 固氮蓝藻培养和应用的展望[J]. *水生生物学报*, 1993, 17(4): 357–364.

- [15] HU T, CHEN A W, JIANG Y X, et al. Application of a newly recorded diazotrophic cyanobacterium in acidified and Cd contaminated paddy soil: Promotes rice yield and decreases Cd accumulation[J]. *The Science of the Total Environment*, 2022, 814: 152630.
- [16] 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.
- [17] 林桑, 彭欣, 吴忠兴, 等. 我国水华蓝藻的新类群: 阿氏浮丝藻(*Planktothrix agardhii*)生理特性[J]. *湖泊科学*, 2008, 20(4): 437-442.
- [18] 王钰亮, 刘洋, 潘文静, 等. 蓝藻水华新种: 螺旋浮丝藻(*Planktothrix spiroides*)的生理特征研究[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2016, 44(6): 130-134.
- [19] CHRISTEN D, SCHÖNMANN S, JERMINI M, et al. Characterization and early detection of grapevine(*Vitis vinifera*) stress responses to esca disease by in situ chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, 60: 504-514.
- [20] BÄHRS H, PUTSCHEW A, STEINBERG C E W. Toxicity of hydroquinone to different freshwater phototrophs is influenced by time of exposure and pH [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, 20(1): 146-154.
- [21] 丁惠君, 张维昊, 周伟斌, 等. 两种酚酸类化感物质对铜绿微囊藻生长的影响[J]. 2007, 30(7): 1-3.
- [22] SHAO J H, LIU D M, GONG D X, et al. Inhibitory effects of sanguinarine against the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* NIES-843 and possible mechanisms of action[J]. *Aquatic Toxicology*, 2013, 142: 257-263.
- [23] LIN Y Q, CHEN A W, HE Y X, et al. Responses of *Microcystis aeruginosa*(Cyanobacteria) to sanguinarine stress: morphological and physiological characteristics associated with competitive advantage[J]. *Phycologia*, 2019, 58(3): 260-268.
- [24] KULASOORIYA S A, MAGANA-ARACHCHI D N. Nitrogen fixing cyanobacteria: their diversity, ecology and utilisation with special reference to rice cultivation[J]. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 2016, 44 (2): 111-128.
- [25] 晁爱敏, 于海燕, 肖鹏, 等. 杭州湘湖拉氏拟柱孢藻(*Cylindrospermopsis raciborskii*)藻株的分离及其特征研究[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2021, 49(4): 106-113.
- [26] HONG H Z, SHEN R, ZHANG F T, et al. The complex effects of ocean acidification on the prominent N₂-fixing cyanobacterium *Trichodesmium*[J]. *Science*, 2017, 356: 527-531.
- [27] CHAKRABORTY S, TIWARI B, SINGH S S, et al. Differential physiological, oxidative and antioxidative responses of cyanobacterium *Anabaena sphaerica* to attenuate malathion pesticide toxicity[J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2017, 11: 56-63.
- [28] NORTH M, TANDON V J, THOMAS R, et al. Genome-wide functional profiling reveals genes required for tolerance to benzene metabolites in yeast[J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e24205.
- [29] PEROTTI E B R. Impact of hydroquinone used as a redox effector model on potential denitrification, microbial activity and redox condition of a cultivable soil[J]. *Revista Argentina de Microbiología*, 2015, 47(3): 212-218.

责任编辑: 邹慧玲

英文编辑: 柳正