

高氯酸盐对水稻生理生态的影响及其在稻田系统中的分布规律

陈桂葵, 骆世明, 杜宁宁, 贺鸿志, 陈 健, 黄秀飞, 黎华寿 *

(华南农业大学农学院, 广州 510642)

摘 要: 本文通过盆栽试验在水稻整个生育期每周两次定量灌溉含有高氯酸盐的水, 研究了 3 种浓度的高氯酸盐对水稻生长、生理指标的影响以及高氯酸盐在水稻-土壤系统中的分布规律。结果表明, 持续分次加入 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的高氯酸盐对水稻的株高和分蘖数没有不利的影响。 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度处理组的 SOD、POD 酶活性与对照组相比无显著性差异, 而 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度处理组的 SOD、POD 酶活性明显高于对照组和 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度处理组; $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度处理组的 CAT 酶活性与对照组相比也无显著差异, 而 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度处理组的 CAT 酶活性明显低于对照组和 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度处理组;MDA 含量随着污染物处理浓度的增加先上升后下降, 两种浓度的高氯酸盐处理组与对照组相比都有显著性差异;高氯酸盐对水稻合成蛋白质有显著的促进作用, 对水稻叶绿素含量的影响不显著。水稻叶片是高氯酸盐积累的主要器官, 其 ClO_4^- 含量明显高于根、茎和谷, 而且随着环境中高氯酸盐浓度的增加, 水稻吸收并进入各部位的量也增加。水稻的根、茎、叶和谷中都不同程度地检测出 ClO_4^- 及其中间代谢产物 ClO_3^- 的存在, 但土壤中则未检测出 ClO_4^- 和 ClO_3^- , 说明加入的 ClO_4^- 很少被土壤吸附并能很快被植物吸收或微生物降解。本实验中水稻各部位所含的氯酸盐都很少甚至未检出, 说明中间代谢产物氯酸盐在水稻中相对容易被分解代谢。水稻品种不同, 吸收积累高氯酸盐的量也存在差异, 其中桂农占的籽粒积累高氯酸盐的量比其他品种多。

关键词: 高氯酸盐; 水稻; 生长; 生理生态特性; 分布

中图分类号: X503.23 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2011)11-2137-08

Effect of Perchlorate on Rice Eco-physiological Characteristics and It's Distribution in the Paddy Field System

CHEN Gui-kui, LUO Shi-ming, DU Ning-ning, HE Hong-zhi, CHEN Jian, HUANG Xiu-fei, LI Hua-shou

(College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: A rice culture pot experiment was conducted to study the effects of different concentrations of perchlorate in irrigation water on the growth and physiological activities of rice. The distribution of the added perchlorate in the soil-rice system was also studied. The results show that there were no significant effects on plant height and tiller number of rice with 0.1 and $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ perchlorate in irrigation water. There were no significant differences of peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) activities between $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ perchlorate in irrigation water and the control. However, $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ perchlorate in irrigation water could increase POD and SOD activities in leaf. The catalase (CAT) activities in the $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ treatment were significantly lower than in the control and in the $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ treatment. However, there were not significant differences in CAT activities between the $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ treatment and the control. Malondialdehyde (MDA) content in rice increased significantly with the increase of concentrations of pollutant. Perchlorate could promot protein synthesis in rice significantly, and it's influence on chlorophyll content of rice was not significant. Concentrations of perchlorate in rice leaves were significantly higher than in root, stem or grain. It indicated that rice leaves was the main organ for perchlorate accumulation. The higher the concentration of perchlorate in irrigation water, the more perchlorate was absorbed by rice and entered into rice. Perchlorate and it's intermediate metabolites chlorate could be detected in the root, stem, leaf or grain in all 4 varieties of rice in this experiment, but could not be detected in soil during harvest time. It indicated that added perchlorate in irrigation water had been absorbed by plants or degraded by microorganism in soil. In this experiment, the amount of

收稿日期: 2011-05-14

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30700099) 资助

作者简介: 陈桂葵 (1972—), 女, 副教授, 主要从事污染生态、农业生态学研究。E-mail: guikuichen@scau.edu.cn

* 通讯作者: 黎华寿 E-mail: lihuashou@scau.edu.cn

chlorate detected was either in a very small amount or not able to be detected at all in different plant parts. It indicated that intermediate metabolite of chlorate is relatively easy to be catabolized. There was significant different among different varieties of rice in absorption and accumulation of perchlorate. The concentration of perchlorate in grain from variety Gui Nong was the highest among the 4 varieties.

Keywords: perchlorate; rice; eco-physiological characteristics; distribution

较低浓度的高氯酸盐可干扰甲状腺的正常功能, 从而影响人体正常的新陈代谢, 阻碍人体正常的生长和发育, 其环境污染问题已引起了人们高度关注, 在 Nature 和 Science 等权威刊物上都先后报道了高氯酸盐的毒害作用和环境污染问题^[1-3]。高氯酸盐具有高溶解低吸附性, 通过水源灌溉、生物累积等传递给人类, 现已发现在土壤、草料、植物、牛奶、食品和人的尿液中均有高氯酸盐的存在^[4-5]。中国的环境中也存在高氯酸盐的污染, 在自来水厂、污水淤泥、水稻、瓶装饮用水和牛奶中均能检测出^[6-8]。目前关于高氯酸盐毒理方面的研究主要是动物毒理^[9], 而植物毒理方面的研究至今尚未见报道, 对于一个完整的生态系统而言, 植物也是非常重要的一部分, 因此, 要想全面了解高氯酸盐的生态毒理作用, 有必要开展相关的研究^[10]。

水稻是世界上最主要的粮食作物之一, 高水溶性、低吸附性和高流动扩散性的高氯酸盐可通过灌溉用水进入农田, 从而对粮食安全构成潜在的威胁。因此研究高氯酸盐随着灌溉用水进入稻田后对水稻的影响及其在稻田系统中的分配、迁移和转化规律具有重要的现实意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用华南农业大学农学院农场水稻土作为盆栽基质, 土样风干过筛后并充分混匀, 每盆[30 cm(直径)×35 cm(高)]装土 8 kg(干重)。供试水稻种子由广东省农科院水稻所黄庆研究员提供, 共 4 个品种, 分别为博优 998、天优 998、粤晶丝苗 2 号和桂农占。

1.2 试验方法

每个水稻品种设对照(不加高氯酸盐)、0.1 mg·L⁻¹ 高氯酸钠处理组(以 ClO₄⁻ 计算浓度)和 50 mg·L⁻¹ 高氯酸钠处理组 3 个处理, 另设不种植物的 3 个处理, 每个处理设 3 个重复, 一共 45 盆。每盆种植 3 穴, 每穴 3 株。待水稻幼苗长至 3 叶 1 芯时选择长势一致的幼苗进行移栽种植。移栽前每个盆各加 5 g 复合肥。试验地点位于华南农业大学农学院楼顶大棚内。

待水稻幼苗返青、生长正常后, 开始进行高氯酸盐处理。每周 2 次(逢周三和周日)定时地将含有上述

浓度的高氯酸钠溶液均匀排灌到试验盆中, 每次排放量为每盆 1.0 L(约盆高 1.0 cm), 其余时间用自来水浇灌, 持续整个生育期。

1.3 分析测定方法

1.3.1 各种生理指标的测定方法

在水稻分蘖期对各种生理指标进行测定。抗氧化保护酶活性的测定参照陈建勋等所编实验指导书, 用氮蓝四唑(NBT)还原法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性, 以抑制光化还原 50% 为 1 个酶活性单位; 用愈创木酚法测定过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性, 以单位鲜质量每分钟吸光度的变化值表示酶活性大小^[11]。参照李合生的方法, 采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定丙二醛(MDA)含量^[12]。蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝法 G-250 法^[11]。叶绿素含量的测定采用丙酮乙醇等量混合法^[11-12]。

1.3.2 高氯酸盐及其代谢产物的测定方法

植物样品前处理: 分别采集不同处理组的水稻各器官样品, 低温干燥、粉碎、混合均匀后过 40 目筛。称 2.0 g 样品放入 50 mL 的锥形瓶中, 加入适量(30~50 mL)去离子水, 在超声频率 300W 条件下用细胞粉碎机处理 5 min, 室温下放入摇床以 200 r·min⁻¹ 速度萃取 2 h。混合液以 6 000 r·min⁻¹ 速度离心 25 min, 吸取表面溶液用 0.45 μm 纤维素膜过滤以去除固体类物质, 过 SPE(ENVI-18)以滤去有机物。滤液冷藏待检测。

土壤样品前处理: 试验结束后对各盆栽土壤分为上下层取样, 上层指土壤 15 cm 以上部分, 下层指土壤 30 cm 以下部分, 各样品低温干燥、粉碎、混合均匀后过筛备用。分别称取土壤样品 2 g, 置于 50 mL 锥形瓶中, 加入 30 mL 去离子水, 用振荡仪振荡 2 h, 静置后将上清液转移到离心管中, 在 4 ℃, 8 000 r·min⁻¹ 条件下离心 25 min, 离心后取上清液用 0.45 μm 纤维素膜过滤以去除固体类物质, 过 SPE(ENVI-18)以滤去有机物。滤液冷藏待测。

含量测定: Cl⁻、ClO₃⁻、ClO₄⁻ 等离子都是用离子色谱仪 ICS900 来进行检测的。离子色谱条件为: IonPac AS22 型阴离子分析柱, IonPac AG22 型保护柱, 4.8 mmol·L⁻¹ 碳酸钠与 1.0 mmol·L⁻¹ 碳酸氢钠混合淋洗

液, 以 $1.5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 的流速等浓度淋洗, ClO_4^- 的保留时间约 17 min (图 1)。

1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 和 SPSS13.0 进行计算和统计分析, 并用 Duncan 检验法对显著性差异 ($P<0.05$) 进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 高氯酸盐对水稻生长的影响

各处理组不同品种水稻的株高和分蘖数见表 1。表 1 的结果表明, 与对照相比, 高氯酸盐对分蘖期粳晶丝苗 2 号和桂农占的株高有明显促进生长的作用,

对其他品种水稻无显著影响。对抽穗期所有栽培稻都有显著的促进作用, 说明随着高氯酸钠的不断添加, 对水稻生长的促进作用越来越明显。

水稻的分蘖情况不仅直接反映水稻的长势, 还影响水稻的产量。博优 998 和桂农占的分蘖数与对照组相比无显著性差异; 天优 998 在低浓度时表现为促进作用, 而在高浓度时与对照组比无显著差异; 粳晶丝苗 2 号在低浓度时没有显著差异, 在高浓度时显著高于对照和低浓度处理组。

2.2 高氯酸盐对水稻生理特性的影响

本实验选择常规稻粳晶丝苗 2 号作为研究对象, 分别测定各项生理指标, 研究高氯酸盐对水稻生理特

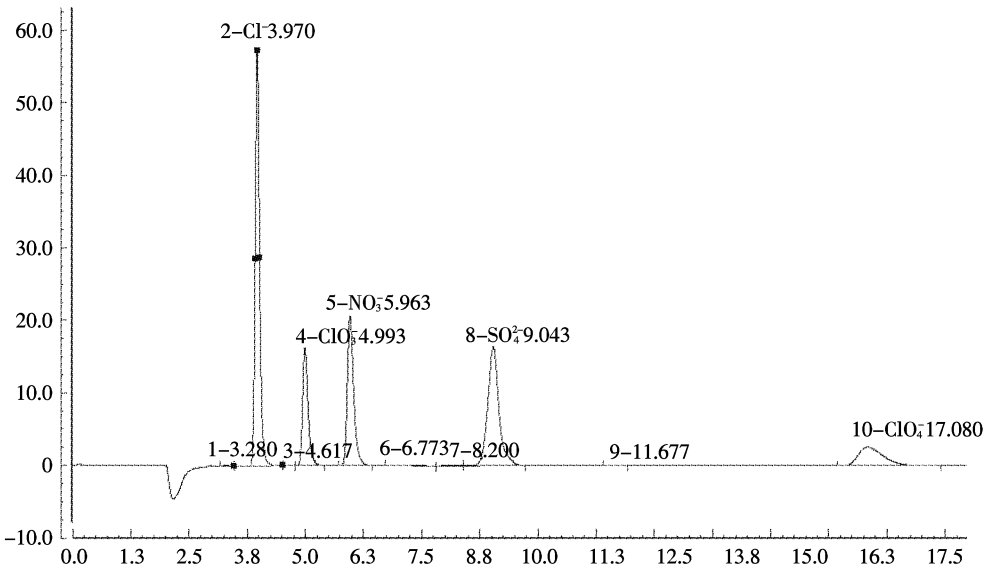


图 1 浓度为 $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Cl^- 、 ClO_3^- 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 ClO_4^- 标准溶液的离子色谱图
Figure 1 The chromatogram of $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cl^- 、 ClO_3^- 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 ClO_4^- standard

表 1 不同浓度高氯酸盐处理下的水稻株高 (cm) 和分蘖数 (个)

Table 1 Plant height and tiller number of rice in different concentration of perchlorate (cm)

水稻品种 Varieties of rice	处理浓度 Treatment concentration/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	分蘖期株高 Plant height at tillering stage/cm	抽穗期株高 Plant height at heading stage/cm	分蘖数 Tiller number/个
博优 998	0	$60.34\pm 1.22\text{a}$	$65.56\pm 1.68\text{b}$	$9.58\pm 1.23\text{a}$
	0.1	$58.94\pm 0.84\text{a}$	$72.83\pm 0.92\text{a}$	$7.83\pm 1.00\text{a}$
	50	$60.67\pm 0.24\text{a}$	$67.11\pm 1.63\text{b}$	$6.61\pm 0.40\text{a}$
天优 998	0	$67.77\pm 1.21\text{a}$	$68.30\pm 1.20\text{b}$	$4.22\pm 0.36\text{b}$
	0.1	$69.72\pm 0.30\text{a}$	$72.11\pm 0.77\text{a}$	$6.08\pm 0.47\text{a}$
	50	$67.89\pm 1.31\text{a}$	$75.56\pm 1.12\text{a}$	$4.83\pm 0.50\text{ab}$
粳晶丝苗 2 号	0	$66.33\pm 0.38\text{b}$	$67.67\pm 1.20\text{b}$	$3.56\pm 0.15\text{b}$
	0.1	$71.46\pm 2.04\text{a}$	$72.06\pm 0.78\text{a}$	$4.06\pm 0.20\text{b}$
	50	$65.89\pm 0.72\text{b}$	$70.00\pm 0.88\text{ab}$	$5.39\pm 0.24\text{a}$
桂农占	0	$61.73\pm 1.17\text{b}$	$63.20\pm 1.74\text{c}$	$4.50\pm 0.44\text{a}$
	0.1	$68.28\pm 0.99\text{a}$	$71.00\pm 0.83\text{b}$	$5.17\pm 0.51\text{a}$
	50	$71.28\pm 1.99\text{a}$	$76.67\pm 2.12\text{a}$	$6.00\pm 0.92\text{a}$

性的影响。

2.2.1 对水稻抗氧化酶系活性的影响

抗氧化保护酶系统是植物体内控制活性氧平衡重要物质之一,主要有 SOD、POD、CAT 等。不同浓度的高氯酸盐处理下,水稻叶片中各种抗氧化酶的活性变化情况见表 2。

表 2 不同高氯酸盐处理浓度下水稻叶片 SOD、POD 和 CAT 活性变化($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)

Table 2 Effect of each treatment of pollutant on SOD, POD and CAT activity of rice

高氯酸盐处理浓度 Treatment concentration of perchlorate/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	SOD	POD	CAT
0	462.22±47.86b	234.91±10.65b	301.34±8.45a
0.1	467.46±69.47b	250.89±11.13ab	295.95±9.02a
50	700.37±28.93a	350.51±45.76a	279.19±7.57b

由表 2 可看出 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度处理组的 SOD、POD 和 CAT 酶活性与对照组相比无显著差异, $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度处理组的 SOD 和 POD 酶活性明显高于对照组和 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度处理组, 而 CAT 酶活性显著降低。

2.2.2 对水稻叶片膜脂过氧化产物 MDA 含量的影响

植物体内的膜脂过氧化现象是由于体内过剩活性氧自由基造成的, MDA 是膜脂氧化的主要产物之一, 其含量水平通常可反映植物遭受氧化胁迫的水平, 为膜脂氧化的指标之一, 是活性氧是否毒害作用的表现。MDA 含量增加说明膜脂过氧化加剧, 表现出膜透性增加。本研究结果(图 2)表明两种浓度的高氯酸盐处理组与对照组相比都有显著性差异。MDA 含量随着处理浓度的增加先上升后下降, 说明在污染胁迫下, 膜脂过氧化产物 MDA 的含量增加, 会引起膜损伤。本研究结果表明, 在高浓度高氯酸盐处理条件下, 水稻体内抗氧化酶活性显著上升, 从而对水稻细胞内由于胁迫而产生的活性氧起到了清除作用, 这可能是造成 MDA 含量随处理浓度的增加先升后降的原因。

2.2.3 对水稻叶片中蛋白质含量的影响

蛋白质是衡量植物生长情况的重要指标之一, 植物体内很多活性酶主要是由蛋白质组成的, 通过测定水稻叶片的蛋白质含量, 对在高氯酸盐胁迫下水稻生理反应的研究有一定的参考价值。本研究结果(图 3)表明, 两种浓度的高氯酸盐处理条件下的水稻叶片中蛋白质的含量与对照相比都有显著的增加。

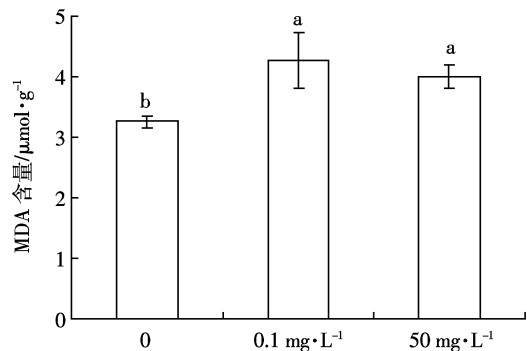


图 2 不同浓度高氯酸盐处理对水稻叶片 MDA 含量的影响

Figure 2 Effect of each treatment of pollutant on MDA content of the rice leaf

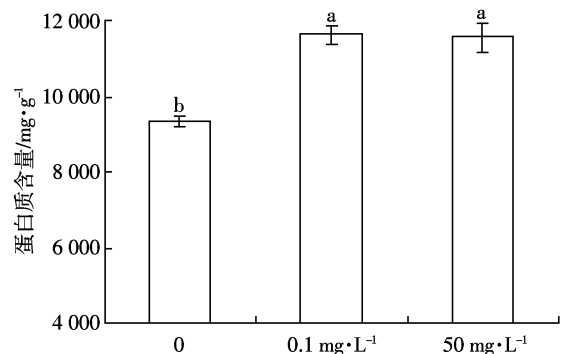


图 3 不同浓度高氯酸盐处理对水稻叶片蛋白质含量的影响

Figure 3 Effect of each treatment of pollutant on protein content in rice leaf

2.2.4 对水稻叶片中叶绿素含量的影响

叶绿素是光合作用的物质基础, 其含量高低将直接影响光合作用的强弱及物质合成速率的高低。本试验结果(图 4)表明在不同高氯酸盐浓度处理下, 水稻叶片叶绿素含量之间差异不显著, 说明高氯酸盐对水稻叶片中的叶绿素含量没有造成明显的影响。

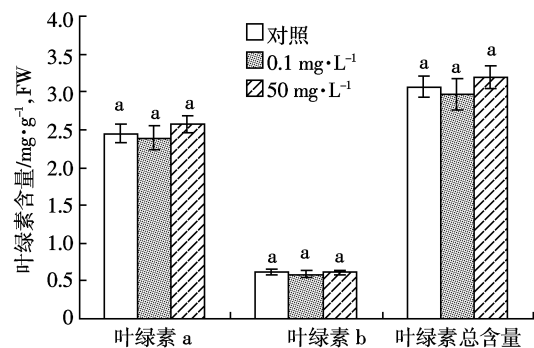


图 4 不同高氯酸盐浓度处理对水稻叶绿素含量的影响

Figure 4 Effect of each treatment of pollutant on chlorophyll content in rice leaf

2.3 高氯酸盐及其代谢产物在水稻不同部位的分布

各品种水稻根、茎、叶和谷中高氯酸盐的含量见表 3,高氯酸盐的次生代谢物及其代谢产物 Cl^- 和 ClO_3^- 的含量见表 4。

从表 3 结果可看出即使是在同一部位,由于水稻品种不同, ClO_4^- 的含量也存在显著性差异,总体来看,桂农占和天优 998 两个品种各器官中的高氯酸盐含

量比粤晶丝苗 2 号和博优 998 高,其中两种浓度处理条件下的桂农占谷中的 ClO_4^- 含量均显著高于其他 3 个品种,说明桂农占的籽粒积累高氯酸盐的能力比其他品种强。从各部位 ClO_4^- 含量比较来看,水稻叶片中的 ClO_4^- 含量明显高于根、茎和谷,说明水稻叶片是高氯酸盐累积的主要器官,而且随着环境中高氯酸盐浓度的增加,水稻吸收并进入各部位的量也增加。

表 3 不同处理水稻各器官中高氯酸盐的含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
Table 3 Treatment content of perchlorate in rice organs($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

ClO ₄ ⁻ 浓度 Treatment concentration of perchlorate/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	水稻器官 Organ of rice	水稻品种 Varieties of rice			
		博优 998	天优 998	粤晶丝苗 2 号	桂农占
0.1	根	1.77±0.26b	0.74±0.30b	1.74±0.23b	7.47±1.42a
	茎	0.02±0.01d	8.79±0.72a	1.90±0.26c	4.43±0.31b
	叶	65.20±6.47c	174.75±16.84a	61.24±7.59c	105.27±13.73b
	谷	0.04±0.01c	0.75±0.12b	0.18±0.15c	1.31±0.16a
50	根	8.74±1.38b	12.83±4.85ab	18.36±4.79ab	23.18±2.39a
	茎	4.31±1.16b	15.79±5.48ab	11.24±5.34ab	22.61±1.63a
	叶	197.59±8.79c	495.24±20.26a	209.19±32.70c	382.99±15.90b
	谷	52.83±4.30c	75.02±7.20ab	67.19±3.38bc	97.30±4.08a

注:表中小写字母的不同表示同浓度同部位之间 ClO_4^- 含量(即同一行数据比较)存在显著性差异。

表 4 不同处理水稻各器官中高氯酸盐次生代谢物 Cl^- ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 和 ClO_3^- ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 的含量
Table 4 Content of the secondary metabolites Cl^- ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and ClO_3^- ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) of perchlorate in rice organs

名称 Item	水稻器官 Organ of rice	ClO ₄ ⁻ 处理浓度 Treatment concentration of perchlorate/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	水稻品种 Varieties of rice			
			博优 998	天优 998	粤晶丝苗 2 号	桂农占
Cl ⁻ / $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	根	0	2.55±0.13def	2.54±0.19ef	2.11±0.20ef	2.09±0.07ef
		0.1	4.84±1.05bc	4.39±0.84cd	1.70±0.04f	5.03±1.00bc
		50	6.39±0.82ab	3.83±0.83cde	4.48±0.34bcd	6.97±0.10a
	茎	0	2.56±0.34e	2.23±0.03e	2.21±0.01e	6.93±1.00bc
		0.1	2.23±0.12e	5.20±0.56d	5.73±0.08cd	11.48±0.46a
		50	2.60±0.14e	6.23±0.23bcd	7.38±0.29b	11.60±0.29a
	叶	0	5.35±0.62f	7.28±1.23ef	7.84±1.09ef	7.49±1.03ef
		0.1	9.19±0.39de	10.77±1.08cd	12.64±1.90c	18.59±0.32a
		50	9.19±0.35de	12.88±0.25c	15.63±0.47b	16.90±0.27ab
	谷	0	2.35±0.41e	2.85±0.16e	4.92±0.44bc	4.03±0.47cd
		0.1	3.09±0.05de	5.74±0.36b	8.54±0.56a	9.22±0.36a
		50	3.24±0.10de	5.18±0.20b	9.59±0.08a	8.93±0.52a
ClO ₃ ⁻ / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	根	0.1	nd	nd	nd	nd
		50	0.24±0.01bc	nd	0.42±0.09b	1.26±0.15a
	茎	0.1	0.95±0.10c	0.30±0.04c	2.38±0.96b	3.74±0.74a
		50	0.32±0.06c	0.19±0.04c	0.63±0.08c	0.41±0.17c
	叶	0.1	0.40±0.11	nd	nd	nd
		50	nd	nd	nd	nd
	谷	0.1	0.17±0.06	nd	nd	nd
		50	nd	nd	nd	nd

注:表中小写字母的不同表示水稻相同部位之间各离子含量存在显著性差异;nd 表示未检出。

从表4可看出,各品种水稻不同部位氯离子含量不同,其中叶片中最高,处于 $5.35\sim 18.59\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间。从相同部位不同浓度处理组的比较来看,各品种 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组叶片都显著高于对照组,这有可能是叶片中积累了较多的高氯酸根降解所致。从不同品种的比较来看,对照组各品种体内氯离子浓度没有显著性差异,而两个 ClO_4^- 浓度处理组桂农占体内氯离子浓度比其他品种高,说明高氯酸盐影响条件下桂农占体内的氯离子含量也相应增加了。

水稻各部位所含的中间产物氯酸盐含量都很少甚至未检出,说明中间代谢产物氯酸盐在水稻中相对容易被分解代谢。

2.4 高氯酸盐及其代谢产物在土壤中的残留

经检测,污灌前土壤中 Cl^- 含量为 $42.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,污灌后种植不同品种水稻以及不种植物的上、下层土壤中都未检出 ClO_3^- 和 ClO_4^- ,只检出 Cl^- 的存在,其结果见表5。说明加入盆栽系统中的 ClO_4^- 很少被水稻土壤吸附而蓄积或很快就被植物吸收移走或为微生物降解了,由表5可看出,除不种植物的两个处理组外,下层土壤中的 Cl^- 含量比相应的上层土壤高。污灌后各处理组土壤中的 Cl^- 含量要远远高于污灌前的 $42.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,其主要原因可能是由于浇灌的自来水中含有的 Cl^- 所致,另一原因是污染物 ClO_4^- 的降解。据检测,本试验所用自来水中 Cl^- 含量约为 $10.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,但

由于整个生育期所浇灌的自来水的量我们没有精确记录也就无法计算其带入的总量。我们在整个生育期共浇灌了33次污染物,每次1 L,即 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组共添加了 $3.3\text{ mg}\text{ ClO}_4^-$ (即 0.033 mmol), $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组共添加了 $1\text{ 650 mg}\text{ ClO}_4^-$ (即 16.582 mmol)。由于 ClO_4^- 已完全降解为 Cl^- ,因此两处理组理论上由于外源 ClO_4^- 降解得到的 Cl^- 分别为 0.033 mmol 、 16.582 mmol 即 1.177 mg 、 588.693 mg 。

3 讨论

3.1 高氯酸盐对水稻生长、生理特性的影响

株高、分蘖数是反应植株生长的有效指标。水稻的株高主要受品种本身的基因型决定,但同一品种,受环境影响的变化也较大。杨杰锋等^[13]研究发现高氯酸盐对水稻幼苗株高有抑制作用,且抑制作用呈现出明显的浓度-效应关系和时间-效应关系,浓度越高,处理时间越长,抑制率越高。而本实验结果表明,土壤中加入不同浓度的高氯酸盐之后,对水稻正常的生长活动没有显著不利影响。这原因可能有:一方面是由于杨杰锋等的研究采用的是沙培,而本研究采用的是土培,土壤对污染物有缓冲作用;另一方面可能是因为本研究中污染物 ClO_4^- 是分次加入的,土壤中高氯酸盐降解菌慢慢被驯化富集而使后面加入的 ClO_4^- 很快被降解成为 Cl^- ,对水稻没有造成明显的毒害作用。

表5 不同 ClO_4^- 浓度处理组土壤中 Cl^- 的含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

Table 5 Content of chloride ions in the soil of different treatment group($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

ClO_4^- 处理浓度 Treatment concentration of perchlorate/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	水稻品种 Varieties of rice	土壤中 Cl^- 的含量 Content of chloride ions in the soil	
		上层 Upper soil	下层 Lower soil
0	不种植物	$328.11\pm 60.90\text{b}$	$402.14\pm 48.12\text{ab}$
	博优 998	$277.72\pm 19.55\text{bcd}$	$292.42\pm 61.35\text{abcd}$
	天优 998	$269.71\pm 7.56\text{bcd}$	$311.82\pm 52.31\text{abcd}$
	粤晶丝苗 2 号	$234.58\pm 26.97\text{bcde}$	$253.26\pm 65.55\text{bcd}$
	桂农占	$105.36\pm 5.47\text{f}$	$135.02\pm 22.40\text{d}$
0.1	不种植物	$313.29\pm 9.98\text{bc}$	$137.18\pm 16.04\text{d}$
	博优 998	$212.26\pm 20.98\text{cdef}$	$212.01\pm 19.02\text{cd}$
	天优 998	$175.22\pm 8.83\text{def}$	$363.47\pm 50.07\text{abc}$
	粤晶丝苗 2 号	$143.11\pm 12.45\text{ef}$	$426.58\pm 78.98\text{ab}$
	桂农占	$105.06\pm 6.91\text{f}$	$143.91\pm 22.26\text{d}$
50	不种植物	$567.73\pm 38.72\text{a}$	$462.72\pm 47.86\text{a}$
	博优 998	$205.05\pm 21.54\text{cdef}$	$308.51\pm 69.50\text{abcd}$
	天优 998	$251.08\pm 53.74\text{bcde}$	$286.78\pm 79.43\text{bcd}$
	粤晶丝苗 2 号	$158.27\pm 16.28\text{ef}$	$353.85\pm 67.33\text{abc}$
	桂农占	$238.24\pm 42.52\text{bcde}$	$273.65\pm 60.48\text{bcd}$

注:表中小写字母的不同表示同层土壤不同处理之间 Cl^- 含量(即同一列数据比较)存在显著性差异。

此外,由于高氯酸盐是每周2次分次的中低浓度加入,可能已诱导水稻抗氧化酶活性提高去不断防御高氯酸盐的氧化损害,并提高植株体内还原降解高氯酸盐的能力。

活性氧是生物代谢过程中产生的自由基,具有很强的毒害作用。正常条件下,植物体内活性氧的产生和清除处于相对平衡状态,植物在逆境胁迫下会增加体内抗氧化酶活性来保持平衡。但如果活性氧自由基的产生速度超过了植物最大清除能力,就会引起伤害,导致酶活性的下降。清除自由基的任务主要由SOD、POD和CAT等酶系统和抗氧化物质来完成。本实验结果表明,粤晶丝苗2号水稻叶片的抗氧化酶对高氯酸盐胁迫产生不同的变化。其中SOD、POD酶只有在高浓度时才明显高于对照组活性,低浓度时差异不显著。这符合植物在逆境胁迫下的自卫反应,表明植物受到高氯酸盐的氧化伤害,产生过多的活性氧,机体需要提高自身酶活性来维持动态平衡。CAT酶在 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 于对照组无显著差异,在 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组显著下降。Shah等^[14]报道水稻在Cd胁迫下CAT活性显著下降,认为Cd引起的CAT活性下降可能与酶合成的抑制或酶亚单位组装上的改变有关,并且 H_2O_2 过多累积可能抑制了CAT的活性。柯庆明^[15]的研究表明,水稻在重金属Cd的处理下,其体内的MDA含量增加。本实验结果表明,杂交稻粤晶丝苗2号低浓度组与高浓度组MDA含量明显高于对照组,并随着浓度的增加,MDA含量先升后降,这与前人^[13,15]的实验结果相似。

3.2 高氯酸盐在水稻-土壤系统中的分布规律

本实验中,各品种水稻的叶片均能有效积累高氯酸盐,尤其在 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的高氯酸盐浓度污染下更为明显,如在天优998中,叶片中仅高氯酸根含量就已经达到 $495.237\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,而谷中高氯酸根含量也达到了 $75.019\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,茎和根中高氯酸根含量分别为 $15.789\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $12.827\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,这与前人关于其他植物吸收高氯酸盐的研究结果相符合。如Sanchez等^[16]发现用有高氯酸盐污染的河水灌溉的柠檬叶子中高氯酸根的含量高达 $1835\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,果实中也有 $128\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,根、茎干、枝条中则低于 $30\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,果浆中为 $0\sim 38\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

植物不但可吸收累积高氯酸根,而且具有一定的还原降解能力,如Aken等^[17]使用放射性同位素标记的方法,证明树木组织中高氯酸根可被部分还原为 ClO_3^- 、 ClO_2^- 和 Cl^- 。本实验也证明水稻组织不仅能有效

吸收累积高氯酸盐,而且具有相当高的还原降解能力,降解过程中会出现 ClO_3^- ,在本实验中表现为水稻各部位测定到的 ClO_3^- 含量较低,但是更多的 ClO_3^- 会被继续降解为 Cl^- ,说明中间代谢产物氯酸盐在水稻中相对容易被分解代谢。

3.3 高氯酸盐在水稻品种间代谢与积累等效应的差异

本实验结果表明,高氯酸盐在水稻体内的代谢与积累存在着品种间的差异,水稻品种不同,对高氯酸盐的吸收、累积的量也不同。在本试验中,桂农占和天优998两个品种各器官中的高氯酸盐含量比粤晶丝苗2号和博优998高,其中桂农占谷中的 ClO_4^- 含量均显著高于其他3个品种,说明桂农占的籽粒积累高氯酸盐的能力比其他品种强。目前,已有大量研究表明,水稻品种不同对土壤重金属Cd、Pb、Hg、As、Zn等的吸收和积累差异很大,国内学者也筛选出了一些对重金属高抗性低累积的品种^[15,18-19]。一般而言,重金属积累在水稻器官中的相对迁移性较小,其吸收积累的主要部位是根系,但低吸收水稻品种吸收积累重金属的机理并不尽一致,其吸收分配的差异机理还有待更详细地研究。对于本研究中的高氯酸盐来说,其主要积累部位是叶片,那么造成水稻积累高氯酸盐的品种差异的原因主要是吸收还是代谢?受哪些性状所影响?如何减少水稻吸收高氯酸盐等问题值得更进一步地深入研究。

4 结论

(1)持续分次加入 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 或 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的高氯酸盐对水稻的株高和分蘖数没有不利的影响。

(2)高氯酸盐对水稻不同生理指标有不同的影响: $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度处理组的SOD、POD酶活性与对照组相比无显著性差异,而 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度处理组的SOD、POD酶活性明显高于对照组和 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度处理组; $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度处理组的CAT酶活性与对照组相比也无显著差异,而 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度处理组的CAT酶活性明显低于对照组和 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度处理组;MDA含量随着污染物处理浓度的增加先上升后下降,两种浓度的高氯酸盐处理组与对照组相比都有显著性差异。高氯酸盐对水稻合成蛋白质有显著地促进作用, $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度处理组间差异不明显。污染物对水稻叶绿素含量的影响不显著。

(3)水稻叶片中的 ClO_4^- 含量明显高于根、茎和谷,说明水稻叶片是高氯酸盐积累的主要器官,而且随着环境中高氯酸盐浓度的增加,水稻吸收并进入各

部位的量也增加。

(4)水稻的根、茎、叶和谷中都不同程度地检测出有 ClO_4^- 和中间代谢产物 ClO_3^- 的存在,但土壤中则未检测出 ClO_4^- 和 ClO_3^- ,说明加入的 ClO_4^- 已很快被植物吸收或微生物降解。

(5)本实验中水稻各部位所含的氯酸盐都很少甚至未检出,说明中间代谢产物氯酸盐在水稻中相对容易被分解代谢。

(6)水稻品种不同,吸收积累高氯酸盐的量也存在差异,其中桂农占的籽粒积累高氯酸盐的量比其他品种多。

参考文献:

- [1] Coates J D, Achenbach L A. Microbial perchlorate reduction: rocket-fuelled metabolism[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2004, 2(7):569–580.
- [2] Stokstad E. Perchlorate study suggests lower risk[J]. *Science*, 2005, 307(5707):191.
- [3] Stokstad E. Debate continues over safety of water spiked with rocket fuel[J]. *Science*, 2005, 307(5709):507.
- [4] Kirk A B. Environmental perchlorate: Why it matters. *Anal Chim Acta*, 2006, 567:4–12.
- [5] Stetson S J, Wanty R B, Helsel D R, Kalkhoff S J, Macalady D. Stability of low levels of perchlorate in drinking water and natural water samples[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 567(1):108–113.
- [6] Liu Y J, Mou S F. Determination of trace level haloacetic acids and perchlorate in drinking water by ion chromatography with direct injection[J]. *Journal of Chromatography A*, 2003, 997(1–2):225–235.
- [7] 刘勇建, 牟世芬, 林爱武, 等. 北京市饮用水中溴酸盐、卤代乙酸及高氯酸盐研究[J]. *环境科学*, 2004, 25(2):51–55.
Liu Y J, Mou S F, Lin A W, Cui J H, Du B. Investigation of bromate, haloacetic acids and perchlorate in Beijing's drinking water[J]. *Environmental Science*, 2004, 25(2):51–55.
- [8] Shi Y L, Zhang P, Wang Y W, Shi J B, Cai Y Q, Mou S F, Jiang G B. Perchlorate in sewage sludge, rice, bottled water and milk collected from different areas in China[J]. *Environment International*, 2007, 33(7):955–962.
- [9] 蔡贤雷, 谢寅峰, 刘伟龙, 等. 高氯酸盐污染及修复的研究进展[J]. *生态学报*, 2008, 28(11):5592–5600.
Cai X L, Xie Y F, Liu W L, Deng W. An overview of researches on environmental contamination by perchlorate and its remediation[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(11):5592–5600.
- [10] 陈桂葵, 孟凡静, 骆世明, 等. 高氯酸盐环境行为与生态毒理研究进展[J]. *生态环境*, 2008, 17(6):2503–2510.
Chen G K, Meng F J, Luo S M, et al. Research advance in environmental behavior and ecotoxicological effects of perchlorate[J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(6):2503–2510.
- [11] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州:华南理工大学出版社, 2006:68–81.
Chen J X, Wang X F. The experimental guide of plant physiology. Guangzhou: South China University of Technology Press, 2006:68–81.
- [12] 李合生主编. 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 H S, Sun Q, Zhao S J, et al. Experimental principle and technology of plant physiology and biochemistry[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.
- [13] 杨杰锋, 陈桂葵, 黎华寿. 高氯酸盐与铬复合污染对水稻幼苗生长的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(2):223–228.
Yang J F, Chen G K, Li H S. Effect of the combined pollution of perchlorate and hexavalent chromium on rice seedling growth[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(2):223–228.
- [14] Shah K, Kumar R G, Verma S, et al. 2001. Effects of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzyme inhibition in growing rice seedling[J]. *Plant Science*, 161:1135–1535.
- [15] 柯庆明. 水稻对镉累积的遗传生态学特性研究 [D]. 福建农林大学博士论文, 2006.
KE Qing-ming. The properties of genetic ecology on cadmium accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) [D]. Doctor's academic dissertation of Fujian Agriculture and Forestry University, 2006.
- [16] Sanchez C A, Krieger R I, Khandaker N R, et al. Accumulation and perchlorate exposure potential of lettuce produced in the Lower Colorado River Region[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53:5479–5486.
- [17] Aken B V, Schnoor J L. Evidence of perchlorate (ClO_4^-) reduction in plant tissues (Poplar Tree) using radio-labeled $^{36}\text{ClO}_4^-$ [J]. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(12):2783–2788.
- [18] 刘建国. 水稻品种对土壤重金属镉铅吸收分配的差异及其机理[D]. 扬州大学博士学位论文, 2004.
LIU Jian-guo. Variations among rice cultivars in the uptake and translocation of cadmium and lead from soil, and the mechanisms[D]. Doctor's academic dissertation of Yangzhou University, 2004.
- [19] 冯文强, 涂仕华, 秦鱼生, 等. 水稻不同基因型对铅镉吸收能力差异的研究[J]. *农业环境科学学报*, 2008, 27(2):447–451.
Feng W Q, Tu S H, Qin Y S, et al. Uptake capacity of different rice genotypes for lead and cadmium from soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(2):447–451.