

Se 对小麦的生态毒理效应及临界指标研究

林匡飞¹, 徐小清², 金霞³, 姜达炳⁴, 项雅玲⁴

(1. 华东理工大学危险化学物质风险评价与控制研究中心, 上海, 200237; 2. 中国科学院水生生物研究所, 湖北 武汉 430072; 3. 中国科学院武汉植物研究所, 湖北 武汉 430072; 4. 农业部环境质检中心(武汉), 湖北 武汉 430070)

摘要: 采用土壤添加 Se 的盆栽试验方法, 研究了 Se 对小麦的生态毒理效应及临界指标。结果表明, 低浓度 Se (<8 mg · kg⁻¹) 对小麦根和地上生物量、叶绿素 a 含量、叶绿素 a/b 有促进作用, 并整体提高了作物抗氧化酶系统, 使 MDA 下降, SOD、CAT、GSH – Px 活性相应提高。而高浓度 Se (> 16 mg · kg⁻¹) 对小麦根和地上生物量、叶绿素 a 含量、叶绿素 a/b 有明显的抑制作用, 对抗氧化酶系统产生胁迫效应, 使 GSH – Px 明显上升, MDA 上升, SOD、CAT 酶活性明显下降, 对 POD 活性影响不明显。各项生理指标与土壤 Se 处理浓度之间相关分析表明, 土壤 Se 浓度与地上部干重相对百分率、根干重百分率、叶绿素 a/b、MDA、SOD、CAT 之间有显著相关性。比较胁迫效应 10% 值的临界指标 EC₁₀ 值表明, 作物地上部干重抑制率和根干重抑制率作为土壤临界值制定的依据更为可靠, 根干重的 EC₁₀ 为 30 mg · kg⁻¹。

关键词: 硒污染; 抗氧化酶系统; 生态毒理效应; 临界指标

中图分类号: X171. 5 文献标识码: A 文章编号: 1672 – 2043(2004)06 – 1082 – 04

Eco – toxicological Effects of Selenium Stress on Wheat (*Triticum aestivum* L.) and Its Critical Value

LIN Kuang-fei¹, XU Xiao-qing², JIN Xia³, JIANG Da-bing⁴, XIANG Ya-ling⁴

(1. Research Center of Risk Assessment and Management on Hazardous Chemicals, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; 2. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 3. Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 4. Agro – Environmental Monitoring Center of Wuhan, Minister of Agriculture, Wuhan 430070, China)

Abstract: The effects of selenium added to soil on the growth and scavenging system of activated oxygen of wheat (*Triticum aestivum* L.) were studied through pot experiment. It was found that wheat biomass, the content of chlorophyll a, chlorophyll a/b and the activities of antioxidative enzymes (SOD, POD, CAT, GSH – Px) increased obviously, with MDA content decreasing, at low levels of Se (<8 mg · kg⁻¹) added to soils; while, at high levels (> 16 mg · kg⁻¹) of Se added to soils, the biomass, the content of chlorophyll a and chlorophyll a/b were obviously inhibited, the activity of GSH – Px and MDA content increased, the activities of SOD and CAT decreased significantly, but the activity of POD showed no change. The concentration of Se in soil significantly was correlated to the physiological indexes (roots biomass, shoots biomass, chlorophyll a/b, content of MDA, the activities of SOD and CAT) . According to the pot experiment, the inhibition rate of roots biomass or shoots biomass “10% ” could be regarded as the critical value, and the critical content of Se in soil was estimated to be 30 mg · kg⁻¹.

Keywords: selenium pollution; antioxidative enzymes; eco – toxicological effect; critical value

Se 是典型的分散元素, 也是潜在的有风险的污染元素, 美国曾开展了粉煤灰 (Se 含量很高) 农用 Se 对生态污染的风险评价^[1]。随着人类的工业化以及一系列金属矿床和煤的开采, 硒已成为一个潜在的环境

污染元素。有文献报道低浓度 Se 有清除自由基, 抗衰老作用^[2]。国内外许多学者就 Se 对植物的生理、生化进行了一些研究^[2, 3]。本文主要通过土壤 Se 对代表作物小麦苗期生长、叶绿素含量及 SOD、CAT、POD、MDA 的影响进行了研究, 建立了 Se 对作物的生化影响及生态毒理数据库, 为土壤 – 植物系统中 Se 生态毒理效应的研究和湖北省恩施富 Se 资源开发应用中生态风险评价提供理论依据。

收稿日期: 2004 – 03 – 21

作者简介: 林匡飞 (1963—), 男, 博士, 副教授, 主要从事污染生态学和生态风险研究。E – mail: kflin@ecust.edu.cn

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验用土为黄棕壤土, 取自湖北省农科院试验田。供试土壤理化性状: pH 6.46, 有机质 $24.11 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全 N $1.06 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全 P $1.62 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全 K $15.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, CEC $11.23 \text{ cmol} (+1) \cdot \text{kg}^{-1}$, 碱解 N $85.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效 P $55.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效 K $151.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 有效 Si $142.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全 Se $0.104 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。供试小麦为中麦 2 号。试验用 Se 为分析纯亚硒酸钠。

1.2 试验设计

盆栽试验在湖北省农科院土肥所盆栽试验场进行, 试验设计每种设 9 个浓度, Se 处理为: CK、2、4、8、16、40、60、100、150 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 4 次重复。试验采用 $35 \text{ cm} \times 28 \text{ cm}$ 的塑料桶装土, 每盆装土 14 kg, 将亚硒酸钠 ($\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 配制成一定浓度的溶液, 均匀喷施在过 5 mm 筛的土中, 充分混匀, 然后装盆, 施复合肥 2.0 g, 肥料与土壤混合均匀。

1.3 分析与测试方法

1.3.1 生物量测定

将土培小麦连根小心取出, 轻轻除去根上土壤, 用水冲洗干净, 滤纸吸干, 然后用剪刀将根和地上部分分开, 再分别称重, 得根和地上部重。

1.3.2 叶绿素测定

分别取各处理组同一功能区的鲜叶 0.25 g, 研磨匀浆, 参照朱广廉 (1990) 的方法, 用 721A 型分光光度计分别测定 440、645、663 nm 处吸光值, 计算叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a + b 和类胡萝卜素含量。

1.3.3 生理指标的测定

超氧化物歧化酶 (SOD) 活性按 Giannoplitis 和 Ries 方法 (1977b), 酶活力单位用抑制氮蓝四唑 (NBT) 光化还原 50% 时所需酶量表示。过氧化酶 (CAT) 活性测定采用 X. H. 波钦诺克的方法, 活性单位用在 20°C 条件下 1 min 内 1 g 植物材料分解过氧化氢的微摩个数表示。过氧化物酶 (POD) 活性测定采用愈创木酚作底物, 加入 H_2O_2 后, 在波长 470 nm 处用 GBC-911A 紫外可见分光光度计进行时间扫描, 单位为 $\Delta A \cdot \text{g}^{-1} (\text{protein}) \cdot \text{min}^{-1}$ [4]。丙三醛 (MDA) 测定用 X. H. 波钦诺克方法, 按 $\Delta \text{Emol} (532 \sim 600 \text{ nm}) = 1.55 \times 10^5$ 换算, 单位为 $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} (\text{FW})$ 。GSH-Px 活性测定按 Paglia DE 法 (1967)。以酶单位 $\cdot \text{g}^{-1}$ 鲜重 ($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$) 表示酶活性。

2 结果与讨论

2.1 土壤 Se 污染对小麦生长的影响

从图 1 可见, 小麦拔节期调查表明, 低浓度 Se 对小麦有促进作用, 在土壤 Se 浓度 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以下, 均有增产效果。当土壤 Se 浓度达 $16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 小麦地上部分 (干重) 开始下降, 随着土壤 Se 浓度的进一步增高, 危害加重; 当土壤 Se 浓度达到 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 减产达 53.12%。土壤 Se 污染对小麦生长的影响 (图 1), 总体上看是根部毒害程度大于地上部。土壤 Se 浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以下, 对小麦根生长有促进作用。当土壤 Se 浓度大于 $16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 小麦开始受到危害, 随着土壤 Se 浓度的进一步增高, 危害加重; 当土壤 Se 浓度达到 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 小麦根抑制率达到 77.32%。

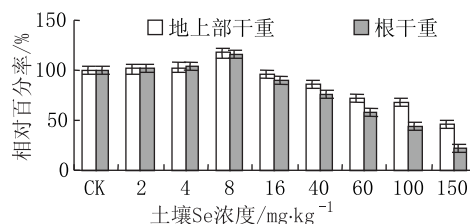


图 1 Se 对小麦根和地上部生物量影响

Figure 1 Effect of Se added to soil on the biomass of wheat roots and shoots

2.2 土壤 Se 污染对小麦苗期叶绿素含量的影响

低浓度 Se ($1 \sim 8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 范围内) 对小麦的叶绿素含量有促进作用 (图 2)。当土壤 Se 浓度大于 $16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 作物叶片中叶绿素 a 含量开始下降; 当土壤 Se 浓度为 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 小麦叶绿素 a 含量显著下降 ($P < 0.05$), 为对照的 85.85%。而叶绿素 b 的含量随着土壤 Se 浓度的增加只下降了很少, 与对照无显著差异。叶绿素总量与叶绿素 a 的含量基本一致, 随着土壤 Se 浓度的增加而下降。叶绿素 a/b 是叶绿素更为敏感的指标。

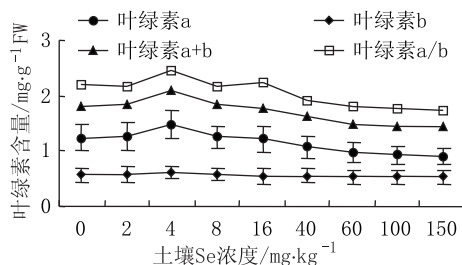


图 2 Se 对小麦叶绿素含量的影响

Figure 2 Effect of Se added to soil on chlorophyll content of wheat leaves

王永锐等^[3]的水培试验表明,水稻植株叶绿素含量随营养液中 Se 浓度上升而下降, Se $0.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 处理使植株明显失绿黄化。这与本研究结果基本一致。吴永尧等^[2]对水稻的水培试验证实,低浓度 Se ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下)增强了水稻线粒体呼吸速率和叶绿体电子传递速率,而在较高浓度 Se ($\geq 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 时则导致其速率降低,使叶绿体、线粒体的结构破坏加重。这也与本文结论较一致。

2.3 土壤 Se 污染对小麦叶细胞膜脂质过氧化水平的影响

在各实验浓度 Se 的胁迫下,作物叶细胞内丙二醛(MDA)的含量先下降(图 3),说明低浓度的 Se ($1 \sim 8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 对作物叶细胞膜有保护作用;当 Se 浓度大于 $16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,MDA 的含量开始上升;当土壤 Se 含量为 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,小麦叶细胞内(MDA)含量与对照相比,达到极显著差异 ($P < 0.01$),比对照增高 41.5%。当土壤 Se 浓度为 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,小麦叶细胞内 MDA 含量比对照增加 85.9%。吴永尧等^[2]曾用水稻水培试验研究了 Se 对水稻生理生化的影响,其用 MDA、 O_2^- 和 ESR 的研究显示,在一定 Se 浓度 ($< 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 水培 Se) 范围内,MDA 的含量、 O_2^- 的产生速率和自由基的生成量均随 Se 浓度的增加而降低,而大于 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,又会使自由基的生成量增加,促进过氧化作用,这也与本文结果比较一致。

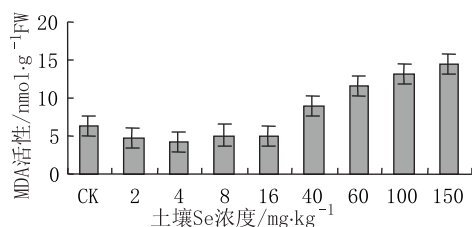


图 3 Se 对小麦叶片丙二醛(MDA)含量的影响

Figure 3 Effect of Se added to soil on MDA content of wheat leaves

2.4 土壤 Se 污染对小麦 SOD、CAT、POD 活性的影响

由图 4 可见,低浓度 Se ($1 \sim 16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 对 SOD、CAT 的活性有刺激作用,其中 $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,作用最为显著。当土壤 Se 的浓度为 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,SOD、CAT 的活性明显下降。当土壤 Se 的浓度为 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,小麦叶片 SOD 的活性比对照下降了 40.94%,CAT 的活性下降了 15.01%。Se 污染对小麦 POD 的活性影响不明显,基本无大的差异。这与薛泰麟等^[8]报道的 Se 对油菜 SOD 活性影响的研究结果基本一致。研究发现,虽然 CAT 与 GSH-Px 有共同的作

用底物 H_2O_2 ,但与 SOD 相比较,土壤 Se 污染对 SOD 的影响较大,而对 CAT 的影响较小。这可能由于 Se 污染使 GSH-Px 活性持续升高有关。薛泰麟等^[8]研究 Se 对油菜叶片抗氧化酶的影响时也发现了类似现象。陆长梅等^[9]也研究了 Hg、Cd 等重金属对莼菜 POD 活性的影响,都发现 POD 在清除体内活性氧方面有重要作用。本文研究发现,Se 污染对小麦 POD 活性的影响不明显,基本无大的差异。这可能与 Se 是 GSH 的组成成分,Se 胁迫下 GSH 持续升高有关。

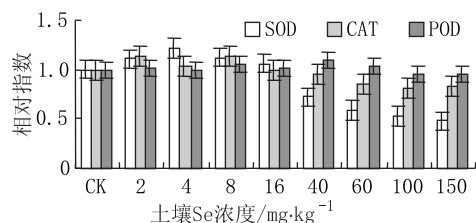


图 4 土壤 Se 污染对水稻叶片 SOD、CAT、POD 的影响

Figure 4 Effect of Se added to soil on the activities of SOD, CAT and POD in the leaves of rice

2.5 土壤 Se 污染对小麦谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的影响

由图 5 可以看出,经过 Se 处理的作物 GSH-Px 活性普遍高于对照,这是由于 Se 取代 S 成为 GSH 的组成成分,Se 的作用使作物 GSH 活性升高。在土壤 Se 浓度为 $1 \sim 60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 范围内时,作物 GSH-Px 的活性随着土壤 Se 浓度的升高而大幅度升高。当土壤 Se 浓度为 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (严重污染)时,小麦 GSH-Px 升高了 90.9%。GSH-Px 活性升高表明,在高等植物体内,GSH-Px 也主要是作用于脂质过氧化过程。而随着土壤 Se 浓度的进一步增加,当 Se 浓度大于 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,作物 GSH-Px 开始有所下降,但仍高于对照。说明 Se 污染超过极限 GSH-Px 活性反而受到影响。

薛泰麟等^[8]在大豆、油菜、小麦和玉米等叶片中检测出了 GSH-Px 的活性。本试验研究证明,当土壤

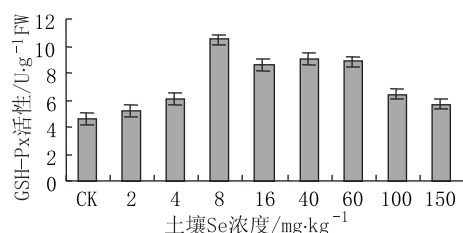


图 5 Se 对小麦叶片 GSH-Px 活性的影响

Figure 5 Effect of Se added to soil on the activity of GSH-Px in the leaves of wheat

Se 浓度较高 ($16 \sim 60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 时, Se 的毒害占主导地位。此时叶绿素 a 开始下降, 因适应性反应而 MDA 开始升高, SOD 和 CAT 开始下降, 但 GSH - Px 活性一直保持较大幅度的增加。由此可以证明, Se 强化了 GSH - Px 系统的活性来抵抗外界的伤害, 而当 Se 浓度为 $100 \sim 150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, GSH - Px 的活性有所下降, 但仍远远高于对照, 这可能由于 Se 污染超过了极限浓度。

2.6 土壤 Se 浓度与小麦生理指标的相关分析与临界指标

用作物苗期生理指标作为污染物临界指标制定依据的研究国内外开展较少, 国内有学者提出用 POD 作为鉴别环境污染对植物毒性及临界含量的指标^[9~11], 曾青等^[6]曾用 La 对油菜影响研究证实 POD 升高可作为 La 的临界指标。此外有学者提出叶绿素

含量和叶绿素 a/b 也是衡量叶片生长状况的重要指标^[6,7,11]。土壤 Se 处理浓度与作物生理生化指标相关分析表明 (表 1), 土壤 Se 浓度与叶绿素 b、POD、GSH - Px 无相关性, 而与地上部干重相对百分率、根干重相对百分率、叶绿素 a/b、SOD、CAT 有极显著的负相关 ($P < 0.01$), 与 MDA 有极显著的正相关 (表 1)。由此可见, 随着土壤 Se 污染的增加, 代表作物产量的生理指标 (地上部干重、根干重、叶绿素 a) 随之下降, 而代表逆境抗性的氧化酶系统 (SOD、CAT) 随之下降, MDA 随之上升。小麦各生理指标临界值大小顺序为: CAT> 叶绿素 a/b> 地上根干重> SOD> 根干重> MDA。以上表明, 小麦叶片 MDA 上升 10% 指标最为敏感, 此时土壤 Se 浓度为 $24 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 根干重抑制率 10% 时临界值为 $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, CAT 为最不敏感指标。

表 1 土壤 Se 浓度与小麦生理指标回归方程
Table 1 Relationships among the physiological indexes of wheat and Se concentration in soil

作物	生理指标 (Y)	回归方程	n	r	显著性	临界值
小麦	地上部干重	$Y = -0.40X + 105$	9	-0.95	* *	37
	根干重	$Y = -0.49X + 105$	9	-0.97	* *	30
	叶绿素 a/b	$Y = -0.004X + 2.2$	9	-0.86	* *	57
	MDA	$Y = -0.07X + 5.15$	9	0.95	* *	24
	SOD	$Y = -0.32X + 70$	9	-0.90	* *	36
	CAT	$Y = -0.84X + 450$	9	-0.85	* *	78

参考文献:

[1] Lohner T W, Robin J R, Willet V E, et al, Assessment of tolerant sunfish populations (Lepomis SP.) inhabiting selenium - laden coal ash effluents[J]. *Ecotoxicology and Environ Safty*, 2001. 50: 203 - 216.
[2] 吴永尧, 卢向阳, 彭振坤, 等. 硒在水稻中生理生化作用探讨[J]. 中国农业科学, 2000, 33(1): 100 - 103.
[3] 王永锐, 陈 平. 水稻对硒吸收、分布及硒与硅共施效应[J]. 植物生理学报, 1996, 22(4): 344 - 348.
[4] 汪 洪, 周 卫, 林 葆. 钙对镉胁迫下玉米生长及生理特性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2001, 7(1): 78 - 87.
[5] Vallee B I. Biochemical effects of mercury, cadmium and lead[J]. *Annu Rev Biochem*, 1972, 41: 91 - 98.

[6] 曾 青, 朱建国, 谢祖彬, 等. 红壤中 La 对油菜的剂量效应和临界浓度[J]. 环境科学, 2001, 22(4): 77 - 80.
[7] 雷虎兰, 高发奎, 杨晓辉. 灰钙土重金属污染对农作物生理生化作用的影响[J]. 农业环境保护, 1994, 13(1): 12 - 17.
[8] 薛泰麟, 侯少范, 谭见安, 等. 硒在高等植物体内的抗氧化作用[J]. 科学通报, 1987, 38(4): 355 - 358.
[9] 陆长梅, 施国新, 吴国荣, 等. Hg, Cd 对莼菜冬芽茎、叶绿素含量及活性氧清除系统的影响[J]. 湖泊科学, 1999, 11(4): 321 - 327.
[10] Shrift A. A selenium cycle in nature[J]. *Nature*, 1964, 201: 1304 - 1305.
[11] 吴家燕, 夏增禄, 巴 音. 土壤重金属污染的酶学诊断—紫色土中的镉、铜、铅、砷对水稻根系过氧化物酶的影响[J]. 环境科学学报, 1990, 10(1): 73 - 77.