

高氯酸盐和铬复合污染对水稻生理特性的影响

陈桂葵^{1,2}, 杨杰峰^{1,2}, 黎华寿^{1,2,*}, 骆世明^{1,2}

(1. 华南农业大学农业部生态农业重点开放实验室, 广州 510642; 2. 广东省高等学校农业生态与农村环境重点实验室, 广州 510642)

摘要: 通过盆栽试验, 研究了不同浓度高氯酸盐(ClO_4^-)、六价铬(Cr^{6+})及其复合污染($\text{ClO}_4^- + \text{Cr}^{6+}$)胁迫条件下水稻叶片叶绿素荧光参数、叶绿素含量和水稻体内抗氧化酶活性及丙二醛含量的变化。结果表明, 随着 ClO_4^- 、 Cr^{6+} 和 $\text{ClO}_4^- + \text{Cr}^{6+}$ 处理浓度的升高, 水稻叶片叶绿素荧光参数 F_v/F_0 、 F_v/F_m 和叶绿素含量均明显下降, 且生长前期下降程度高于后期; ClO_4^- 、 Cr^{6+} 及 $\text{ClO}_4^- + \text{Cr}^{6+}$ 均可显著提高水稻体内 POD 酶(peroxidase)、CAT 酶(catalase)活性和 MDA (malondialdehyde) 含量, 且复合处理显著高于单一处理; 分蘖期水稻体内 SOD 酶(superoxide dismutase)活性随着污染物浓度的增加明显降低, 而在抽穗期其 SOD 酶活性升高。复合处理对水稻的损伤和毒害作用比单一处理更为严重, 其交互作用机理值得进一步研究。

关键词: 高氯酸盐; 铬(VI); 复合污染; 水稻; 抗氧化酶; 叶绿素; 丙二醛

Effect of the combined pollution of perchlorate and hexavalent chromium on physiological characteristics of rice

CHEN Guikui^{1,2}, YANG Jiefeng^{1,2}, LI Huashou^{1,2,*}, LUO Shiming^{1,2}

1 Key Laboratory of Ecological Agriculture of Ministry of Agriculture of the People's Republic of China, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

2 Key Laboratory of Agroecology and Rural Environment of Guangdong Regular Higher Education Institutions, Guangzhou 510642, China

Abstract: A pot experiment was conducted to study the stress effects of different concentration levels of perchlorate (ClO_4^-) and hexavalent chromium (Cr^{6+}) as well as their combination ($\text{ClO}_4^- + \text{Cr}^{6+}$) upon the changes of chlorophyll florescence parameters, antioxidant enzyme activity, and chlorophyll and malondialdehyde (MDA) contents of leaves of rice. Results showed that an increase in ClO_4^- , Cr^{6+} , and $\text{ClO}_4^- + \text{Cr}^{6+}$ concentrations decreased the chlorophyll florescence and chlorophyll contents of leaves significantly. Such a decrease was higher in the earlier than in the later growth stage of the rice. Both single treatment and combined treatment enhanced the peroxidase (POD) and catalase (CAT) activities and increased MDA contents in leaf. The activities of POD and CAT and the contents of MDA were higher for the $\text{ClO}_4^- + \text{Cr}^{6+}$ combined treatment than for the individual ClO_4^- or Cr^{6+} treatment. As the pollution of perchlorate and hexavalent chromium increased, the superoxide dismutase (SOD) activity decreased in the tillering phase but increased in the heading stage. Toxicity and injury of the $\text{ClO}_4^- + \text{Cr}^{6+}$ combined treatment were higher than that of individual ClO_4^- or Cr^{6+} treatment. Interaction mechanism of perchlorate and chromium pollution on rice were warranted for further study.

Key Words: perchlorate; hexavalent chromium; combined pollution; rice; antioxidant enzymes; chlorophyll; MDA

高氯酸盐是一种扩散速度快、稳定性高、难降解的无机污染物质^[1-2]。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^[3-5]。中国的

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30700099; 30370289)

收稿日期: 2009-06-15; **修订日期:** 2009-09-11

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lihuashou@scau.edu.cn

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]。

铬是农业土壤中最主要的重金属污染物,其来源广泛,包括大气降尘、畜禽粪便^[11]、城市污泥^[12]、污灌^[13-14]和化肥等途径。据调查,我国重金属污染的农田超过 0.2 亿 hm^2 , 占我国耕地的 1/5,其中铬的污染甚为严重^[15]。我国部分污灌区土壤存在明显的铬累积趋势^[16],稻田土壤中铬含量的升高最为明显^[17]。

水稻是中国乃至世界上最主要的粮食作物,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。国内(高)氯酸盐厂家污水和废渣中主要污染物为高氯酸盐和铬,工厂周边农田面临两者可能产生的复合污染,如南方某氯酸盐厂家曾出现过稻田污染纠纷现象^[18]。目前有关高氯酸盐与铬复合污染对水稻毒理效应的研究未见报道。本文通过研究高氯酸盐、铬及其复合污染对水稻叶片叶绿素荧光参数、叶绿素含量、抗氧化酶活性以及丙二醛含量等一系列生理指标的影响,探讨水稻在外源复合污染胁迫下的生理响应机理及其交互作用,从而为高氯酸盐和铬污染防治,以及水稻逆境生理、抗性育种提供理论依据。

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(30cm(直径)×35cm(高))装土 8kg(干重),其基本理化性质见下表 1。供试水稻为华南农业大学农学院提供的生产上普遍使用的常规水稻品种矮秀占,选用长势一致的 4 叶期秧苗,于 2007 年 4 月在华南农业大学农学院农场温室大棚内进行试验。

表 1 供试土壤的理化性质
Table 1 Physical and chemical properties of soil tested

有机质 /($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) Organic matter	含水量 /% Water content	pH	速效氮 /($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) Available N	速效钾 /($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) Available K	速效磷 /($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) Available P	ClO_4^- Perchlorate	Cr^{6+} Hexavalent chromium
26.73	15.74	6.62	105.7	111.5	17.62	未检出	未检出

1.2 主要药品和试剂

高氯酸钾($\text{KClO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$)(AR),重铬酸钾($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)(AR),其它试剂均为化学分析纯试剂。

1.3 试验设计

本试验采用二因素 4 水平的完全组合试验方案设计,土壤中 Cr^{6+} 的浓度分别为 0、0.2、0.5、1.0 $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ (分别用 Cr0、Cr0.2、Cr0.5、Cr1 表示), ClO_4^- 的浓度分别为 0、1、2、4 $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ (分别用 P0、P1、P2、P4 表示),共 16 个处理(表 2)。每个处理设 3 个重复,对照组用不含 Cr^{6+} 和 ClO_4^- 的清水均匀加入。

表 2 ClO_4^- 、 Cr^{6+} 处理的实验设计
Table 2 Experimental design of perchlorate and hexavalent chromium

Cr^{6+} /($\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$)	ClO_4^- /($\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$)			
	0	1	2	4
0	0	P1	P2	P4
0.2	Cr0.2	P1 + Cr0.2	P2 + Cr0.2	P4 + Cr0.2
0.5	Cr0.5	P1 + Cr0.5	P2 + Cr0.5	P4 + Cr0.5
1.0	Cr1.0	P1 + Cr1.0	P2 + Cr1.0	P4 + Cr1.0

水稻幼苗移栽 7d 后 1 次性加入对应浓度的污染物溶液。采用常规田间管理,在分蘖期和抽穗期分别施复合肥,每盆 5g。在分蘖期和抽穗期分别测试各种生理指标。

1.4 主要指标的测定方法

1.4.1 叶绿素荧光参数

选取生长一致的植株倒三叶直接用 OS-30P 型叶绿素荧光仪测定初始荧光 F_0 、可变荧光 F_v 和最大荧光 F_m 。通过对各种叶绿素荧光参数的分析,可以获得有关光能利用途径的信息。其中 F_v/F_m 值可代表光系统 II 光化学的最大效率或 PS II 原初光能转化效率; F_v/F_0 值的变化可以衡量光合机构是否受到损伤,表明反应中心的活性大小^[19]。

1.4.2 叶绿素含量

参照李合生的方法^[20]。

1.4.3 叶片抗氧化保护酶活性

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^[21]。

1.4.4 叶片丙二醛含量

采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定叶片丙二醛(MDA)含量^[21]。

1.5 统计分析

所得数据为平均数 $\pm$ 标准差(Mean $\pm$ SD),采用 Microsoft Excel 和 SPSS14.0 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。

为了比较不同污染物处理水平下对水稻各生理测试项目的作用强度,按以下方法计算其抑制率(R_i)或促进率(R_p):

当 $T \geq C$ 时,表示具有促进作用,其促进率 $R_p = (T/C - 1) \times 100$;

当 $T < C$ 时,表示具有抑制作用,其抑制率 $R_i = (1 - T/C) \times 100$;

式中, C 为对照值, T 为处理值。

2 结果与分析

2.1 对水稻叶片叶绿素荧光参数的影响

本试验结果(图 1)表明: ClO_4^- 或 Cr^{6+} 单一处理对水稻叶片叶绿素荧光 F_v/F_0 值和 F_v/F_m 值有一定的抑制作用。但只有当 ClO_4^- 浓度为 $4 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,对分蘖期的叶片 F_v/F_0 值有显著抑制作用(为对照的 74.8%),其他处理与对照组相比没有显著性差异。

ClO_4^- 与 Cr^{6+} 复合时,大多数处理对分蘖期水稻叶片叶绿素荧光参数 F_v/F_0 及 F_v/F_m 值有显著抑制作用,但对抽穗期水稻叶片叶绿素荧光参数的抑制作用不明显,说明随着水稻的生长, ClO_4^- 和 Cr^{6+} 复合污染对水稻的毒害作用明显减弱。

2.2 对水稻叶片叶绿素含量的影响

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。在环境胁迫过程中,重金属以及盐类等污染物可明显导致叶绿素含量的降低,这种叶绿素含量的减少可能包括叶绿素合成受阻或叶绿素降解^[22], Cr^{6+} 胁迫引起水稻细胞膜结构发生改变,叶绿体的完整结构遭到破坏,导致叶绿素含量减少^[23]。

研究结果表明 ClO_4^- 、 Cr^{6+} 单一污染及其复合污染对水稻叶片叶绿素含量都有显著的影响(表 3)。单一处理时,随着污染物浓度的升高,叶绿素含量越少,当 ClO_4^- 处理浓度为 $4 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,分蘖期叶绿素含量仅为对照的 31.70%,而到抽穗期回升为对照的 58.9%;当 Cr^{6+} 浓度为 $1 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,分蘖期叶绿素含量仅为对照的 59.5%,到抽穗期回升为对照的 75.1%。说明 ClO_4^- 或 Cr^{6+} 胁迫对水稻生长早期叶绿素含量的影响较后期明显。

复合污染物之间存在复杂的交互作用^[24-25]。根据 Bliss^[26] 提出的污染物间的交互作用类型:相加、拮抗

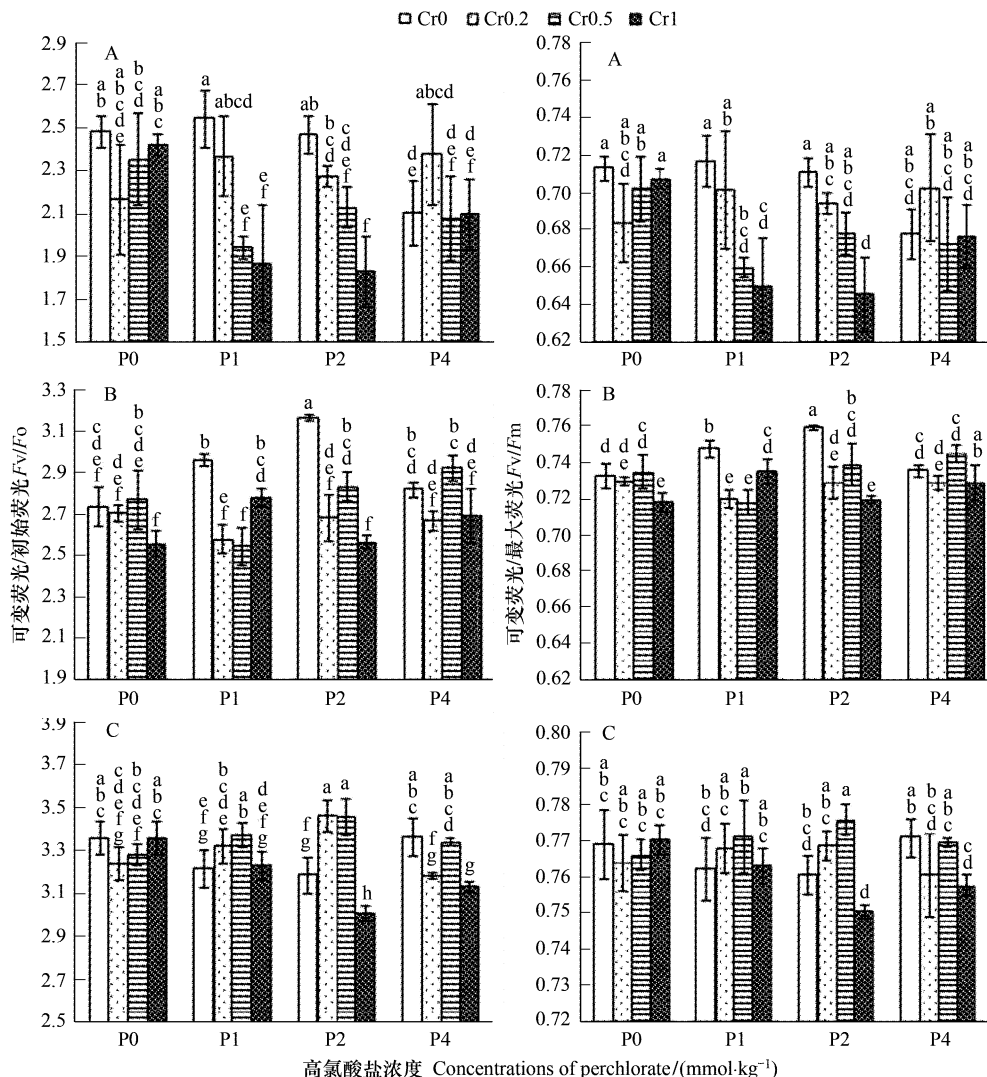


图1 ClO_4^- 、 Cr^{6+} 及其复合污染对水稻叶片叶绿素荧光参数的影响

Fig.1 Effect of the combined pollution of perchlorate and hexavalent chromium on chlorophyll fluorescence parameters of leaf of rice

A 为分蘖期;B 为抽穗早期;C 为抽穗后期; 图内同一小图中不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平上有显著差异

和协同作用,可以根据作用结果把本研究中 ClO_4^- 和 Cr^{6+} 的交互作用类型定义为:

- (1) 相加作用 ClO_4^- 和 Cr^{6+} 单一处理之和 = ClO_4^- 、 Cr^{6+} 复合污染;
- (2) 拮抗作用 ClO_4^- 和 Cr^{6+} 单一处理之和 > ClO_4^- 、 Cr^{6+} 复合污染;
- (3) 协同作用 ClO_4^- 和 Cr^{6+} 单一处理之和 < ClO_4^- 、 Cr^{6+} 复合污染。

通过计算不同浓度污染物处理对水稻叶片叶绿素含量抑制作用的强度,可以得出 $\text{ClO}_4^- + \text{Cr}^{6+}$ 复合处理之间的交互作用结果见表3(按抑制率计算)。结果表明复合处理时对叶绿素含量的影响具有交互效应,交互作用类型多表现为拮抗,但其复合抑制作用都显著大于其中任一污染物在同浓度条件下的单一污染影响,说明复合污染对水稻叶绿体的伤害比单一污染严重,这与前人的研究结果一致^[27-29]。同时, ClO_4^- 、 Cr^{6+} 在前期对叶绿素含量的降低程度明显大于后期,说明高 ClO_4^- 与 Cr^{6+} 对水稻的毒害作用随生育期的延长而有所缓解。

2.3 对水稻叶片 SOD 酶活性的影响

SOD 是防护氧自由基对细胞膜系统伤害的保护酶。在植物体内有氧代谢过程中产生的氧自由基可使脂质过氧化并且导致膜伤害,这被认为是组织衰老和种子变劣的原因。SOD 作为超载自由基清除剂,其活性高

低与植物抗性大小有一定的相关性。当外来胁迫(如盐害、重金属污染等)导致活性氧大量产生时,它能及时有效清除自由基,保护细胞免受氧化胁迫的伤害。但当活性氧的增加远远超过正常的歧化能力时,细胞内多种功能酶以及膜系统遭到破坏,生理代谢紊乱,SOD 活性反而受到抑制而下降^[22]。

表 3 不同污染处理对水稻叶绿素含量的影响及复合污染交互作用类型

Table 3 Effect of each treatment of pollutant on chlorophyll content of rice and type of interaction of combined treatment

处理 Treatment	叶绿素含量/(mg·g ⁻¹ FW) (Mean ± SD) Chlorophyll content		抑制率 R_i / % Inhibition rate		交互作用类型 Type of interaction	
	分蘖期 Tillering phase	抽穗期 Heading stage	分蘖期 Tillering phase	抽穗期 Heading stage	分蘖期 Tillering phase	抽穗期 Heading stage
0	52.182 ± 0.351a	43.429 ± 1.959abc				
Cr ⁶⁺	Cr0.2	50.909 ± 0.607b	45.716 ± 2.945a	2.4	-5.3	
	Cr0.5	40.580 ± 0.137c	44.223 ± 1.593ab	22.2	-1.8	
	Cr1	31.069 ± 0.470f	32.631 ± 1.139e	40.5	24.9	
ClO ₄ ⁻	P1	32.203 ± 0.117e	31.321 ± 1.472e	38.3	27.9	
	P2	27.615 ± 0.231h	28.101 ± 1.949f	47.1	35.3	
	P4	16.545 ± 0.079m	25.126 ± 0.673f	68.3	42.1	
ClO ₄ ⁻ + Cr ⁶⁺	P1 + Cr0.2	27.093 ± 0.359hi	40.550 ± 0.646c	48.1	6.6	协同
	P1 + Cr0.5	29.331 ± 0.128g	41.502 ± 1.475bc	43.8	4.4	拮抗
	P1 + Cr1	33.103 ± 0.526d	42.144 ± 1.267bc	36.6	3.0	拮抗
	P2 + Cr0.2	31.213 ± 0.543f	33.526 ± 1.930de	40.2	22.8	拮抗
	P2 + Cr0.5	26.979 ± 0.167i	27.800 ± 2.570f	48.3	36.0	拮抗
	P2 + Cr1	23.882 ± 0.080k	36.173 ± 1.369d	54.2	16.7	拮抗
	P4 + Cr0.2	20.678 ± 0.329l	31.577 ± 1.326e	60.4	27.3	拮抗
	P4 + Cr0.5	24.594 ± 0.195j	27.620 ± 1.635f	52.9	36.4	拮抗
	P4 + Cr1	27.359 ± 0.463hi	26.573 ± 1.179f	47.6	38.8	拮抗

表内同一列中不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平上有显著差异

从表 4 可知,ClO₄⁻ 或 Cr⁶⁺ 单一处理对分蘖期的水稻叶片 SOD 酶活性具有显著的抑制作用,到抽穗期反而使 SOD 酶活性上升。单一 Cr⁶⁺ 处理与对照相比有明显差异,但单一 ClO₄⁻ 处理除 P2 处理外,P1 和 P4 处理与对照之间没有显著性差异。Cr⁶⁺ 处理使前期的水稻叶片功能酶和膜系统受到不同程度的伤害,生理代谢紊乱,SOD 活性受到抑制而下降,随着水稻的生长,其抗性增强,从而使体内 SOD 活性上升。

ClO₄⁻ 和 Cr⁶⁺ 复合处理时,在分蘖期,随着污染物浓度的增加,SOD 活性明显降低,降低程度的顺序为复合处理 > Cr⁶⁺ 单一处理 > ClO₄⁻ 单一处理,说明 ClO₄⁻ 和 Cr⁶⁺ 复合处理对水稻叶片功能酶和膜系统的伤害大于单一处理,其交互作用类型(按抑制率计算)见表 4。

2.4 对水稻叶片 POD 酶活性的影响

POD 是植物抗氧化酶防护系统组成成分之一,其活性大小能反映植物抗氧化能力的强弱和植物受毒害的严重程度,能在一定范围内催化有毒物质的分解。本研究表明 ClO₄⁻、Cr⁶⁺ 单一及复合处理都可显著地提高水稻叶片中 POD 酶的活性(表 5)。单一 ClO₄⁻ 处理使分蘖期与抽穗期的水稻叶片 POD 酶活性明显升高,且随着 ClO₄⁻ 浓度的增加,POD 酶活性越大。单一 Cr⁶⁺ 处理使分蘖期水稻叶片 POD 酶活性明显上升,随着浓度的变化,POD 酶活性大小先升后降,在 Cr⁶⁺ 浓度为 0.5 mmol·kg⁻¹ 时达到最高,为对照的 197.3%;但在抽穗期 Cr⁶⁺ 浓度达 1 mmol·kg⁻¹ 时可显著提高 POD 酶活性,其他浓度处理与对照组无显著性差异。

ClO₄⁻ 和 Cr⁶⁺ 复合处理时,随着污染物浓度的变化,POD 酶活性大小随之变化,最高活性是对照的 279.9%;在抽穗期,POD 酶活性变化趋势与铬单一时相似,这表明,POD 酶活性大小主要受 Cr⁶⁺ 的影响。ClO₄⁻ 和 Cr⁶⁺ 复合处理时对 POD 酶活性的影响具有交互效应,在低浓度复合时交互作用类型多表现为协同,

而较高浓度复合时交互作用类型多表现为拮抗(表 5,按促进率计算)。

表 4 不同污染处理对水稻 SOD 酶活性的影响及复合污染交互作用类型

		SOD 酶活性 / (Unit·g ⁻¹ FW) (Mean ± SD)		抑制率 R _i /%		交互作用类型	
处理 Treatment		SOD activity		Inhibition rate		Type of interaction	
		分蘖期 Tillering phase	抽穗期 Heading stage	分蘖期 Tillering phase	抽穗期 Heading stage	分蘖期 Tillering phase	抽穗期 Heading stage
Cr ⁶⁺	0	383.323 ± 17.962a	182.127 ± 4.153ab				
	Cr0.2	343.196 ± 19.691bc	205.664 ± 4.404de	10.5	-12.9		
	Cr0.5	305.947 ± 13.089cde	203.636 ± 6.836 d	20.2	-11.8		
ClO ₄ ⁻	Cr1	320.508 ± 8.978bede	188.738 ± 2.764bc	16.4	-3.6		
	P1	338.624 ± 19.023bcd	183.978 ± 4.789ab	11.7	-1.0		
	P2	357.418 ± 20.895ab	187.152 ± 4.100 b	6.8	-2.8		
ClO ₄ ⁻	P4	315.090 ± 9.361cde	184.066 ± 9.679ab	17.8	-1.1		
ClO ₄ ⁻ + Cr ⁶⁺	P1 + Cr0.2	342.688 ± 21.180bc	203.372 ± 3.391 d	10.6	-11.7	拮抗	协同
	P1 + Cr0.5	302.730 ± 28.549 de	209.278 ± 8.860de	21.0	-14.9	拮抗	拮抗
	P1 + Cr1	289.185 ± 32.849ef	175.339 ± 9.197 a	24.6	3.7	拮抗	协同
	P2 + Cr0.2	308.995 ± 24.095cde	198.435 ± 2.300cd	19.4	-9.0	协同	协同
	P2 + Cr0.5	283.429 ± 15.052 ef	203.989 ± 4.668de	26.1	-12.0	拮抗	协同
	P2 + Cr1	200.127 ± 22.436 g	198.523 ± 5.049cd	47.8	-9.0	协同	拮抗
	P4 + Cr0.2	298.328 ± 6.863 e	208.309 ± 3.571de	22.2	-14.4	拮抗	拮抗
	P4 + Cr0.5	257.524 ± 21.279 f	241.366 ± 6.111 f	32.8	-32.5	拮抗	拮抗
	P4 + Cr1	252.783 ± 26.221 f	214.479 ± 4.573 e	34.1	-17.8	拮抗	拮抗

表内同一列中不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平有显著差异

表 5 不同污染处理对水稻 POD 酶活性的影响及复合污染交互作用类型

		POD 酶活性 / (Unit·g ⁻¹ FW) (Mean ± SD)		促进率 R _p /%		交互作用类型	
处理 Treatment		POD activity		Inhibition rate		Type of interaction	
		分蘖期 Tillering phase	抽穗期 Heading stage	分蘖期 Tillering phase	抽穗期 Heading stage	分蘖期 Tillering phase	抽穗期 Heading stage
Cr ⁶⁺	0	13109.333 ± 1560.253i	17808.000 ± 976.098ij				
	Cr0.2	16640.000 ± 1215.579h	18848.000 ± 1032.372ij	26.9	5.8		
	Cr0.5	25866.667 ± 1550.047cd	16085.333 ± 974.075 jk	97.3	9.7		
ClO ₄ ⁻	Cr1	19296.000 ± 2290.628fgh	14917.333 ± 794.434 k	47.2	16.2		
	P1	18400.000 ± 2379.432gh	27786.667 ± 1012.603de	40.4	56.0		
	P2	23392.000 ± 2574.919de	31450.667 ± 2652.351c	78.4	76.6		
ClO ₄ ⁻	P4	25778.667 ± 2872.371cd	37914.667 ± 1486.049a	96.6	112.9		
ClO ₄ ⁻ + Cr ⁶⁺	P1 + Cr0.2	36693.333 ± 1696.101a	30080.000 ± 1188.855cd	179.9	68.9	协同	协同
	P1 + Cr0.5	29418.667 ± 2400.071bc	26501.333 ± 2138.580ef	124.4	48.8	拮抗	协同
	P1 + Cr1	26176.000 ± 1923.197cd	22352.000 ± 1475.192gh	99.7	25.5	协同	拮抗
	P2 + Cr0.2	25770.667 ± 260.625cd	34858.667 ± 998.858 b	96.6	95.7	拮抗	协同
	P2 + Cr0.5	36416.000 ± 2829.287a	22778.667 ± 1240.834gh	177.8	27.9	协同	拮抗
	P2 + Cr1	21461.333 ± 981.275efg	20037.333 ± 1185.117hi	63.7	12.5	拮抗	拮抗
	P4 + Cr0.2	27794.667 ± 1425.580c	38810.667 ± 3030.568 a	112.0	117.9	拮抗	拮抗
	P4 + Cr0.5	31872.000 ± 1822.596b	30528.000 ± 2074.269cd	143.1	71.4	拮抗	拮抗
	P4 + Cr1	22549.333 ± 2140.016def	23946.667 ± 1609.916fg	72.0	34.5	拮抗	拮抗

表内同一列中不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平有显著差异

2.5 对水稻叶片 CAT 酶活性的影响

过氧化氢酶(CAT)是一种酶类清除剂,它可促使 H₂O₂分解为分子氧和水,清除体内的过氧化氢,从而使

细胞免于遭受 H_2O_2 的毒害,是生物防御体系的关键酶之一。本研究结果(表 6)表明 ClO_4^- 单一处理时,低浓度($1\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$)处理使叶片 CAT 酶活性升高,其活性是对照的 115.49%,高浓度($4\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$)使 CAT 酶活性降低,但与对照组比无显著性差异。 Cr^{6+} 单一处理后,叶片 CAT 活性随着浓度的上升而升高,与对照组比有显著性差异。

在 ClO_4^- 和 Cr^{6+} 复合处理时,CAT 活性均有不同程度的上升,其上升幅度大小不一,说明 ClO_4^- 和 Cr^{6+} 共存时存在交互作用(见表 6,按促进率计算),其类型多表现为拮抗,但在 Cr^{6+} 浓度低($0.2\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$)和高氯酸盐浓度较高(分别为 $2,4\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$)时则表现为协同作用。

表 6 不同污染处理对水稻分蘖期 CAT 酶活性的影响及复合污染交互作用类型

Table 6 Effect of each treatment of pollutant on CAT activity of rice in tillering phase and type of interaction of combined treatment

处理 Treatment		CAT 酶活性 /(Unit·g ⁻¹ FW) (Mean ± SD) CAT activity	促进率/% promotion rate	交互作用类型 Type of interaction
Cr^{6+}	0	41.307 ± 1.827fg		
	Cr0.2	45.867 ± 1.746cde	11.0	
	Cr0.5	49.031 ± 1.227bc	18.7	
	Cr1	51.093 ± 0.864b	23.7	
ClO_4^-	P1	47.707 ± 2.564bcd	15.5	
	P2	42.729 ± 1.959efg	3.4	
	P4	39.529 ± 0.907g	-4.3	
	P1 + Cr0.2	44.551 ± 2.808def	7.9	拮抗
$\text{ClO}_4^- + \text{Cr}^{6+}$	P1 + Cr0.5	49.387 ± 1.525bc	19.6	拮抗
	P1 + Cr1	55.040 ± 1.707a	33.2	拮抗
	P2 + Cr0.2	48.533 ± 2.359bc	17.5	协同
	P2 + Cr0.5	49.316 ± 2.867bc	19.4	拮抗
	P2 + Cr1	46.436 ± 2.105cd	12.4	拮抗
	P4 + Cr0.2	47.182 ± 1.495cd	14.2	协同
	P4 + Cr0.5	44.800 ± 2.053def	8.5	拮抗
	P4 + Cr1	49.138 ± 2.281bc	19.0	拮抗

表内同一列中不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平有显著差异

2.6 对水稻叶片 MDA 含量的影响

MDA 是膜的过氧化产物之一,其浓度表示脂质过氧化强度和膜系统伤害程度,被广泛用作衡量膜脂过氧化损伤的指标,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(表 7)表明 ClO_4^- 单一处理时,水稻叶片 MDA 含量与对照组比无显著性差异。单一 Cr^{6+} 处理条件下,MDA 含量随着处理浓度的增加先上升后下降,说明在重金属 Cr^{6+} 胁迫下,膜脂过氧化产物 MDA 的含量增加,会引起膜损伤。本研究结果表明随着 Cr^{6+} 处理浓度的增加,抗氧化酶活性呈上升趋势,且均比对照植株要高,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 Cr^{6+} 处理浓度的增加先升后降的原因。

ClO_4^- 和 Cr^{6+} 复合处理可显著提高水稻叶片中 MDA 含量,其变化趋势与 Cr^{6+} 单一处理时相似,先上升后下降。 ClO_4^- 和 Cr^{6+} 共存时的交互作用类型见表 7(按促进率计算)。

3 讨论

已有研究表明,环境胁迫如盐害、重金属污染等会引起植物体内活性氧自由基的过量累积和生物膜脂发生过氧化反应,从而损伤细胞的膜结构并造成细胞生理生化代谢的紊乱^[22-23,27-29]。本研究中,高氯酸盐、铬单一及复合处理均可显著提高水稻体内 POD 酶、CAT 酶活性和 MDA 含量,说明水稻体内保护酶活性发生了应激性的提高以清除、分解超氧阴离子,从而维护膜系统的稳定。本试验结果发现 ClO_4^- 、 Cr^{6+} 及其复合污染对水稻的毒害作用随水稻生育期的延长有所缓解。可能原因,一方面是水稻本身可通过保护酶系统对伤害有一定的适应和抵抗能力,另一方面是由于一次性进入土壤的高氯酸盐或(和)铬在土壤中发生降解和转化,使具

有毒性效应程度不一的离子态和生物可利用的毒性物质发生变化,从而导致污染效应的差异。环境中高氯酸根离子的降解主要是生化降解过程,其降解路径为 $\text{ClO}_4^- \rightarrow \text{ClO}_3^- \rightarrow \text{ClO}_2^- \rightarrow \text{Cl}^- + \text{O}_2$,而植物既可吸收累积高氯酸根也具有一定的还原降解能力,如 Aken 等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^- 离子^[30]。通常认为, Cr^{6+} 对植物的毒性要远远高于 Cr^{3+} , Cr^{3+} 更易被土壤粒子截留,而 Cr^{6+} 在土壤中易于迁移而被植物吸收和渗向地下水^[31]。本试验中一次性加入的 Cr^{6+} 也会在土壤中根系分泌物、土壤胶体等的作用下,通过沉淀减少土壤中 Cr^{6+} 的质量分数,从而减少进入根、茎中的 Cr^{6+} 离子数量。加上植株通过缓解氧化损伤,修复根细胞质膜的过滤和隔离功能,因而表现为随时间延长对水稻的毒害作用有所缓解。

表 7 不同污染处理对水稻分蘖期 MDA 含量的影响及复合污染交互作用类型

Table 7 Effect of each treatment of pollutant on MDA content of rice in tillering phase and type of interaction of combined treatment				
处理 Treatment		MDA 含量/($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$) (Mean $\pm$ SD) MDA content	促进率% Promotion rate	交互作用类型 Type of interaction
0		0.252 $\pm$ 0.022ef		
Cr^{6+}	Cr0.2	0.340 $\pm$ 0.028 ab	35.0	
	Cr0.5	0.374 $\pm$ 0.017 a	48.4	
	Cr1	0.252 $\pm$ 0.009 ef	-0.1	
ClO_4^-	P1	0.284 $\pm$ 0.038cdef	12.7	
	P2	0.247 $\pm$ 0.017f	-2.0	
	P4	0.248 $\pm$ 0.038f	-1.7	
$\text{ClO}_4^- + \text{Cr}^{6+}$	P1 + Cr0.2	0.282 $\pm$ 0.030cdef	12.1	拮抗
	P1 + Cr0.5	0.344 $\pm$ 0.014ab	36.5	拮抗
	P1 + Cr1	0.323 $\pm$ 0.012abed	28.3	协同
	P2 + Cr0.2	0.336 $\pm$ 0.023abc	33.4	协同
	P2 + Cr0.5	0.305 $\pm$ 0.040bcde	21.0	拮抗
	P2 + Cr1	0.272 $\pm$ 0.057def	7.9	协同
	P4 + Cr0.2	0.348 $\pm$ 0.030ab	38.3	协同
	P4 + Cr0.5	0.353 $\pm$ 0.019ab	40.2	拮抗
	P4 + Cr1	0.321 $\pm$ 0.033abed	27.5	协同

表内同一列中不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平有显著差异

复合污染较之单一污染来说,由于污染物的交互作用,其环境效应可能会产生变化。关于复合污染条件下污染物之间的交互作用类型,不同的研究者提出了不同的分类方法与判断标准。得到最广泛认可的是 1939 年 Bliss 提出的相加作用、拮抗作用和协同作用 3 种类型^[24,26],其基本涵义是:相加作用产生的毒性效应等于各污染物单独作用的毒性效应之和;拮抗作用的毒性效应小于各污染物单独作用的毒性之和;协同作用产生的毒性效应大于各污染物单独作用的毒性效应之和。实际上,即使同样的复合污染可对于不同的效应和指标来说可能都会表现出不同的结果,这同污染物(种类与剂量浓度)与具体生理生化指标的直接和间接作用方式各异有关,也与生物所处的微环境条件相关,所以说复合污染效应是复杂而具体的^[24-25]。本研究在分析评价高氯酸盐和铬复合污染对水稻生理指标影响的交互作用时采用了 Bliss 的方法。研究表明高氯酸盐与铬共存时的交互作用在不同浓度时的类型表现不同,但在高浓度时的交互作用都表现为拮抗作用,而在低浓度时对不同指标有不同表现,有些为拮抗而有些为协同,也说明了复合污染所导致的生态效应的复杂性。本实验中两种污染物都属于强氧化性质,当它们以不同浓度配比时,是否会加快或减弱其中一种的还原过程?有关其交互作用机理有待深入研究。

致谢:感谢欧阳颖博士(Dr. Y. Ouyang, Department of Water Resources, St. Johns River Water Management District, po Box 1429, Palatka, FL 32178-1429, USA)对本文写作的帮助。

References:

- [1] Urbansky E T. Perchlorate chemistry: implications for analysis and remediation. *Bioremediation Journal*, 1998, 2(2): 81-95.
- [2] 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. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 567(1): 108-113.
- [3] Coates J D, Achenbach L A. Microbial perchlorate reduction; rocket-fuelled metabolism. *Nature*, 2004, (2): 569-580.
- [4] Stokstad E. Perchlorate study suggests lower risk. *Science*, 2005, 307(5707): 191.
- [5] Stokstad E. Debate continues over safety of water spiked with rocket fuel. *Science*, 2005, 307(5709): 507.
- [6] Liu Y J, Mou S F. Determination of trace level haloacetic acids and perchlorate in drinking water by ion chromatography with direct injection. *Journal of Chromatography A*, 2003, 997(1/2): 225-235.
- [7] 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. *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. *Environment International*, 2007, 33(7): 955-962.
- [9] Cai X L, Xie Y F, Liu W L, Deng W. An overview of researches on environmental contamination by perchlorate and its remediation. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(11): 5592-5600.
- [10] Chen G K, Meng F J, Luo S M, Li H S. Research advance in environmental behavior and ecotoxicological effects of perchlorate. *Ecology and Environment*, 2008, 17(6): 2503-2510.
- [11] Nicholson F A, Smith S R, Alloway B J, Carlton-Smith C, Chambers B J. An inventory of heavy metals inputs to agricultural soils in England and Wales. *The Science of the Total Environment*, 2003, 311(1/3): 205-219.
- [12] Chen T B, Huang Q F, Gao D, Zeng Y Q, Wu J F. Heavy metal concentrations and their decreasing trends in sewage sludges of China. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2003, 23(5): 561-569.
- [13] Mapanda F, Mangwayana E N, Nyamangara J, Giller K E. The effect of long-term irrigation using wastewater on heavy metal contents of soils under vegetables in Harare, Zimbabwe. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 2005, 107(2/3): 151-165.
- [14] Muchuweti M, Birkett J W, Chinyanga E, Zvauya R, Scrimshaw M D, Lester J N. Heavy metal content of vegetables irrigated with mixtures of wastewater and sewage sludge in Zimbabwe: Implications for human health. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 2006, 112(1): 41-48.
- [15] Song B, Gao D, Chen T B, Huang Z C, Zheng Y M, Lei M, Zheng G D, Yang J, Liao X Y. A survey of chromium concentrations in vegetables and soils in Beijing and the potential risks to human health. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, 26(10): 1707-1715.
- [16] Chen H M, Chen Y X, Zhu Y Z. Heavy metal pollution in the soil-plant system. Beijing: Science Press, 1996: 71-81.
- [17] Zeng Y M, Chen T B, Zheng G D, Huang Z C, Luo J F. Chromium and nickel accumulations in soils under different land uses in Beijing municipality. *Resources Science*, 2005, 27(6): 162-166.
- [18] Li H S. The toxic effects of chlorates in agroecosystem and its controls. Doctoral Dissertation of South China Agricultural University, 2008: 78.
- [19] Yi Y J, Li F B, Liu J Y. Physiological response of chlorophyll fluorescence in moss *Plagiomnium cuspidatum* to mixture heavy metal solution. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(11): 5437-5444.
- [20] Li H S. Experimental principle and technology of plant physiology and biochemistry. Beijing: Higher Education Press, 2000: 135.
- [21] Chen J X, Wang X F. The experimental guide of plant physiology. Guangzhou: South China University of Technology Press, 2006: 68-81.
- [22] Zhang X Z. Research method of crop physiology. Beijing: Agricultural Press, 1992: 198-210.
- [23] Panda S K. Chromium-mediated oxidative stress and ultrastructural changes in root cells of developing rice seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(11): 1419-1428.
- [24] He Y T, Xiong X Z. Advance in the study on compounded pollutions. *Environmental Science*, 1994, 15(6): 79-83.
- [25] Zhou D M, Wang Y J, Cang L, Hao X Z, Chen H M. Advances in the research of combined pollution in soil and soil-plant systems. *Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control*, 2004, 5(10): 1-8.
- [26] Bliss C I. The toxicity of poisons applied jointly. *Annals of Applied Biology*, 1939, 26(3): 585-615.
- [27] Sun J, Tie B Q, Qian Z, Zhou H, Mao X Q, Yang S W, Zhao T. The combined eco-toxicological effect of Cd, Pb, Cu, Zn and As pollution on a hybrid rice seedling and the critical value. *Chinese Journal of Soil Science*, 2006, 37(5): 981-985.
- [28] Li Z Z, Wu J, Tang Y, Yang G. Effect of Pb, Zn and the ir interactions on the chlorophyll content and antioxidant enzyme systems of *Houttuynia cordata* Thunb. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(12): 5441-5446.
- [29] Dorothea S H, Hans D P, Peter S. The effect of ozone on the yellowing process of magnesium-deficient clonal Norway spruce grown under defined

conditions. *Journal of Plant Physiology*, 2005, 162(2): 195-206.

- [30] Aken B V, Schnoor J L. Evidence of perchlorate (ClO_4^-) reduction in plant tissues (Poplar Tree) using radio-labeled $^{36}\text{ClO}_4^-$. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(12): 2783-2788.
- [31] James B R, Bartlett R J. Behavior of chromium in soils. *Journal of Environmental Quality*, 1983, 12(2): 173-181.

参考文献:

- [7] 刘勇建, 牟世芬, 林爱武, 崔建华, 杜兵. 北京市饮用水中溴酸盐、卤代乙酸及高氯酸盐研究. *环境科学*, 2004, 25(2): 51-55.
- [9] 蔡贤雷, 谢寅峰, 刘伟龙, 邓伟. 高氯酸盐污染及修复的研究进展. *生态学报*, 2008, 28(11): 5592-5600.
- [10] 陈桂葵, 孟凡静, 骆世明, 黎华寿. 高氯酸盐环境行为与生态毒理研究进展. *生态环境*, 2008, 17(6): 2503-2510.
- [12] 陈同斌, 黄启飞, 高定, 郑玉琪, 吴吉夫. 中国城市污泥的重金属含量及其变化趋势. *环境科学学报*, 2003, 23(5): 561-569.
- [15] 宋波, 高定, 陈同斌, 黄泽春, 郑袁明, 雷梅, 郑国砥, 杨军, 廖晓勇. 北京市菜地土壤和蔬菜铬含量及其健康风险评估. *环境科学学报*, 2006, 26(10): 1707-1715.
- [16] 陈怀满, 陈英旭, 朱月珍. 土壤-植物系统中的重金属污染. 北京: 科学出版社, 1996: 71-81.
- [17] 郑袁明, 陈同斌, 郑国砥, 黄泽春, 罗金发. 北京市不同土地利用方式下土壤铬和镍的积累. *资源科学*, 2005, 27(6): 162-166.
- [18] 黎华寿. 氯酸盐的农业生态污染效应及其调控措施研究. 华南农业大学博士学位论文, 2008: 78.
- [19] 衣艳君, 李芳柏, 刘家尧. 尖叶走灯藓叶绿素荧光对复合重金属胁迫的响应. *生态学报*, 2008, 28(11): 5437-5444.
- [20] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000: 135.
- [21] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导. 广州: 华南理工大学出版社, 2006: 68-81.
- [22] 张宪政. 作物生理研究法. 北京: 农业出版社, 1992: 198-210.
- [24] 何勇田, 熊先哲. 复合污染研究进展. *环境科学*, 1994, 15(6): 79-83.
- [25] 周东美, 王玉军, 仓龙, 郝秀珍, 陈怀满. 土壤及土壤-植物系统中复合污染的研究进展. *环境污染治理技术与设备*, 2004, 5(10): 1-8.
- [27] 孙健, 铁柏清, 钱湛, 周浩, 毛晓茜, 杨余维, 赵婷. Cd、Pb、Cu、Zn、As 复合污染对杂交水稻苗的联合生理毒性效应及临界值. *土壤通报*, 2006, 37(5): 981-985.
- [28] 李铮铮, 伍钧, 唐亚, 杨刚. 铅、锌及其交互作用对鱼腥草叶绿素含量及抗氧化酶系统的影响. *生态学报*, 2007, 27(12): 5441-5446.