

小麦生长周期的甲基汞器官分布

杨天骏¹, 胡歆笛¹, 张巍², 王学军^{1*}

(1.北京大学城市与环境学院, 地表过程分析与模拟教育部重点实验室, 北京 100871; 2.中国人民大学环境学院, 北京 100872)

摘要:通过温室模拟, 动态监测了小麦生长周期中各器官中甲基汞的浓度及总量分布的变化, 探讨了小麦生长周期中, 甲基汞是否在子实中富集及其过程。研究表明, 甲基汞从土壤中经根系吸收进入小麦体内并逐步向地上部分转运。小麦生长过程中, 土壤和小麦根部的甲基汞浓度随着小麦生长变化不明显, 茎、叶中甲基汞浓度先上升后稳定, 子实中甲基汞浓度不断上升。茎、叶在小麦生长过程中向子实输送甲基汞, 甲基汞富集于小麦子实之中。研究证实了在属于陆生植物的小麦子实中存在甲基汞的富集现象。

关键词:甲基汞; 小麦生长周期; 器官分布; 生物富集

中图分类号: X503.231 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2013)03-0445-05 doi:10.11654/jaes.2013.03.006

Methylmercury Organ Distribution in Wheat (*Triticum aestivum* L.) During the Growing Season

YANG Tian-jun¹, HU Xin-di¹, ZHANG Wei², WANG Xue-jun^{1*}

(1. Laboratory of Earth Surface Processes, College of Urban and Environmental Sciences, Peking University, Beijing 100871, China; 2. School of Environment and Natural Resources, Renmin University of China, Beijing 100872, China)

Abstract: To investigate the process of methylmercury (MeHg) accumulation in wheat seeds, a green-house study was designed, and the MeHg levels and MeHg transfer in specific organs of wheat plants during a full wheat growing season was investigated. The results suggested that MeHg in soil was first absorbed by roots and then transferred gradually to the above-ground organs. During the full wheat growing season, the MeHg level increased in the seeds, and it remained constant in the stems and leaves after a period of increase. The MeHg levels remained constant in soil and the roots during the growing season. In the flowering stage, the majority of MeHg in the wheat accumulated in the stems and leaves. MeHg was transferred to seeds from stems and leaves and eventually accumulated in its edible parts. At the end of the filling stage, about half of the MeHg accumulated in the seeds of the wheat. This study supports that MeHg accumulation in seeds exists in wheat and probably other terrestrial plants, although the accumulation mechanism of wheat for MeHg is different from aquatic plants like rice.

Keywords: methylmercury; wheat growing season; organ distribution; bioaccumulation

汞作为一种全球性污染物, 由于其特殊的生物地球化学性质和高毒性使得其备受关注。不同形态的汞及其化合物的化学性质和毒性各异, 甲基汞 (Methylmercury, MeHg) 作为有机汞化合物中的一类, 具有很高的生物累积效应和神经毒性, 因此在以往的研究中最受关注。传统意义上认为人体暴露 MeHg 的主要途径是通过食用受污染的鱼类和水产

品^[1], 因此过去对于水生动物性食物链体系中 Hg 和 MeHg 的迁移富集的研究较多。而最近有研究表明, 在贵州省一些地区, 当地居民暴露 MeHg 的途径却很特殊, 主要通过食用受污染的稻米^[2]。此前的一些研究通过现场采样的方式对于无机汞和 MeHg 在水稻各器官中的分布进行了静态的采样分析或者动态的全周期跟踪采样证明了这一结论, MeHg 会从根茎叶等营养器官中迁出并进入子实中富集^[3-4], 这一现象表明 MeHg 可能通过水生植物性食物链富集。但水稻作为水生植物, 具有其特殊性, 这一传输过程是否普遍存在于植物性食物链还有待研究。水稻灌浆期淹水深度大, 厌氧环境使硫酸盐还原菌 (Sulfate Reducing Bac-

收稿日期: 2013-01-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (41130535)

作者简介: 杨天骏 (1990—), 男, 江苏南通人, 硕士研究生, 主要从事重金属在环境中的迁移转化过程及削减成本研究。

E-mail: tjyang@pku.edu.cn

* 通信作者: 王学军 E-mail: xjwang@urban.pku.edu.cn

terial,SRB)活动显著,土壤中 MeHg 浓度出现显著上升^[4],因此子实中 MeHg 的上升不能完全由器官间的传递机制来解释。而小麦(*Triticum aestivum* L.)作为陆生作物的代表,其种植土壤的 MeHg 浓度在植物整个生长周期中相对恒定。另外,小麦是一种世界范围内的重要粮食作物,近年来,随着工业发展,我国农田的重金属污染情况日趋严重,小麦子实中 Hg、Pb、Cu 含量呈显著增加趋势^[5]。因此,对于小麦-土壤这一典型的陆生植物性食物链中的 MeHg 迁移传输开展研究具有很重要的意义。

本研究选取了小麦作为研究对象,重点关注小麦从返青到彻底成熟的生长阶段。将刚返青的小麦移栽后进行温室培养,培养所使用的土壤添加了氯化汞标液和 MeHg 标液,设计了空白、低、中、高四个浓度梯度。移栽当天设为第 0 d,此后在不同的生长阶段分别进行了 3 次采样,然后按器官分别进行 MeHg 的测定,动态检测不同生长周期中 MeHg 的浓度,以探究小麦植株的生长周期内营养器官 MeHg 的浓度差别和富集过程。

1 材料与方法

1.1 实验材料

栽培小麦所用的土壤取自北京市大兴区庞各庄苗圃路附近农田(39°38'N,116°20'E),土壤类型为褐土,总有机质含量为 1.537%,土壤 pH 值为 8.3±0.1。栽培所用的小麦(*Triticum aestivum* L.)来自中国农业大学。土壤加汞处理所用的 MeHg 标准液浓度为 86.2 μg·g⁻¹,由中国计量科学研究院提供。

1.2 实验设计

土壤采集之后自然风干约一周,过 2 mm×2 mm 的筛后装盆,每盆装土 5 kg,进行加汞肥处理。在不同的 MeHg 设计浓度下分别设置 3 个平行,加汞完毕后加膜放置约 2 周,待其达到平衡且适合移栽的状态,进行移栽。土壤的初始设计浓度如表 1 所示,在最后分析中使用的土壤 MeHg 浓度数据则来自所采小麦的根系附近土壤的实际测定值。土壤中施加了底肥,肥料类型为复合肥料,施加水平为 N150 mg·kg⁻¹、P₂O₅ 100 mg·kg⁻¹、K₂O 120 mg·kg⁻¹。

小麦的温室培养期自 2012 年 3 月至 2012 年 5

表 1 土壤的 MeHg 设计浓度

Table 1 Designed MeHg concentrations in soils

项目	空白组	低浓度组	中浓度组	高浓度组
MeHg/μg·kg ⁻¹	0	0.5	1	2

月,在小麦越冬后刚刚返青时,选取约 250 株冬小麦进行整体移栽。移栽过程中小心清除了根系上原本附着的土壤,然后分别均匀栽入经汞处理的土壤之中,每盆移栽 15 株左右。温室内恒温在 25℃左右,湿度 40%~60%,光照时间与自然情况相同。每周视小麦的生长状况和土壤的干湿情况浇水,其频度为 2~3 次/周,浇水量恒定在 500 mL,在扬花完全后又进行了一次施肥操作,施肥量为底肥的一半左右。其间不再进行加汞操作。

温室培养阶段总计 60 d,于移栽后第 38 d、第 47 d 和第 60 d 进行了 3 次采样,分别对应小麦生长阶段中的拔节完成扬花初期、扬花完全、灌浆结束这三个主要生理阶段。每次采样时从每个盆中采 3~4 株小麦,在采集过程中将其根系完整移出,同时采集其根系附近土壤,然后清洗小麦、分装后带回,进行 MeHg 浓度测定。

1.3 测定方法

实验测定的土壤和小麦样品在采集后,冷干 72 h,用研磨仪(德国 Retsch,MM400)研磨成粉,所有研磨罐均用超纯水洗净,避免样品交叉污染。实验使用所有玻璃器皿(移液管、烧杯、离心管、容量瓶等)均用 30%硝酸浸泡 48 h,使用前用去离子水和超纯水分别清洗三次。

样品中 MeHg 的测定使用 DMA-80 直接测汞仪(意大利 Milestone),依据美国 EPA-7473 固态和液态样品中汞的分析方法^[6],基于高温分解(Thermal Decomposition)-汞齐化捕集(Amalgamation)-原子吸收光谱法(Atomic Absorption Spectrophotometry)测定。对于 MeHg 的萃取过程基于 Maggia 的三步萃取方法^[7]。

称取干燥土壤样品 1.5 g,称取植物样品 0.5 g 左右,置于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 氢溴酸(48%水溶液)振荡水解 20 min;在 4500 r·min⁻¹ 转速下离心 15 min,提取上清液,置于 50 mL 离心管中,加入 20 mL 甲苯,振荡萃取 45 min。然后在 4500 r·min⁻¹ 转速下离心 15 min,移取萃取后的甲苯溶液 15 mL,加入 L-半胱氨酸溶液 1 mL,振荡反萃取 45 min;在 4500 r·min⁻¹ 转速下离心 15 min,取 L-半胱氨酸溶液待测,进样体积为 400 μL。

选择河口沉积物标准物质(ERM-CC580)来检验 MeHg 分析方法的准确性和敏感度,其测定值在标准值范围之内,检出限(LOQ)为 0.0905 ng·g⁻¹。

1.4 统计分析方法

应用 Excel2010 和 SPSS18.0 对实验数据进行统

计分析,采用 Origin8.5 进行绘图。

2 结果与讨论

2.1 土壤和小麦各器官中的 MeHg 浓度

对三次采样所得的土壤及小麦各器官中的 MeHg 浓度进行测定,从显著性检验的结果来看,土壤作为小麦中 MeHg 的主要来源^[8],加汞组和空白组之间的 MeHg 浓度存在显著差异($P<0.05$),但是与预设的处理浓度存在一定的差异。对小麦中各个器官的 MeHg 浓度进行统计分析,发现在灌浆结束时,根和子实中的 MeHg 浓度在加汞处理组与空白组之间存在显著差异($P<0.05$),而茎和叶的 MeHg 浓度始终没有显著差异。因此从浓度来看,土壤中的 MeHg 对根和子实的影响相对较大,而对茎、叶中的 MeHg 浓度并未观测到非常显著的影响。

对单次采样的土壤及小麦各器官中的 MeHg 浓度进行分析,可以发现土壤中 MeHg 在根部出现了非常显著的富集,根部的浓度远远高于土壤和植物其他部位的 MeHg 浓度;而茎、叶、子实部分的 MeHg 浓度较低且较为接近。这些数据支持 MeHg 的根茎屏障理论,即 MeHg 在植物的生长过程中同样存在一定的传输屏障,MeHg 主要在根部浓度较高^[8]。

从动态角度来看,土壤和植物各器官中 MeHg 浓度随生长时间的变化如图 1 所示,可以看到小麦的整个生长周期中,土壤中 MeHg 浓度变动不大。在此情况下,茎、叶中的浓度在灌浆期前上升,之后则基本保持不变。而子实中的 MeHg 浓度则不断升高,体现出 MeHg 随着小麦的生长在不断向子实中迁移。已有研究表明,在水稻生长后期,MeHg 在子实中出现了明显的富集,而茎、叶中 MeHg 浓度下降,根部基本保持不变^[4]。在本研究中,小麦生长后期子实中出现了与水稻类似的 MeHg 浓度不断上升的现象,但茎、叶中 MeHg 的浓度并未发现明显的下降,可见两者的富集过程有一定的区别。

2.2 小麦中 MeHg 总量的器官分布

在讨论了土壤和小麦各器官的 MeHg 浓度后,本研究也对小麦各个阶段各器官的生物量进行了统计。对每次采样的加汞组和空白组进行方差分析后可以发现,在经过较低强度的加汞处理后,虽然 MeHg 均在小麦根部出现了较高浓度,但由于根茎屏障的存在,这对小麦后续生长的影响并不是很大,根部对 MeHg 体现出较强的耐受性,最终所有实验组的小麦均能正常生长,完成拔节、扬花、灌浆至完全成熟的生

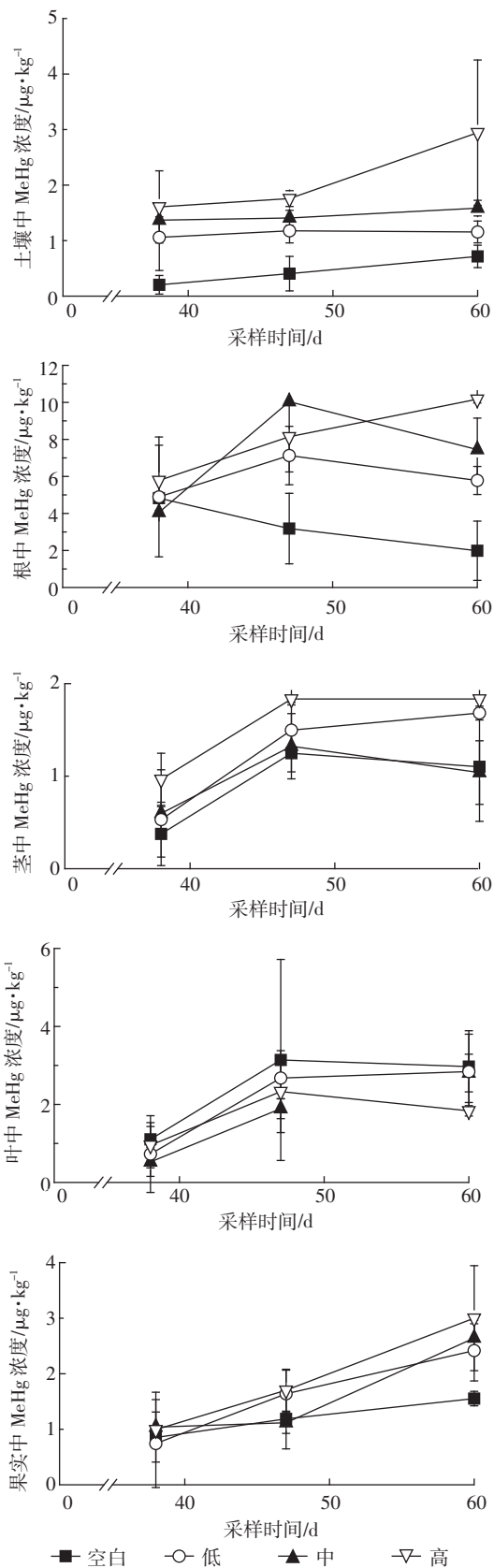


图 1 土壤和小麦各器官 MeHg 浓度的时间变化图

Figure 1 Time plot of MeHg concentrations in soils and wheat organs

长周期。

在小麦的整个生长过程中,小麦根部的生物量变动不大,而茎、叶则随着小麦的生长,生物量出现了下降,子实的生物量则稳步上升,到最终成熟。结合小麦中各器官的 MeHg 浓度和各器官的生物量,得到了小麦中 MeHg 总量的器官分布,如图 2 所示。

从每株小麦的 MeHg 总量来看,三次采样(拔节结束扬花初期、扬花完成、灌浆期结束)的 MeHg 总量逐渐上升,说明虽然根茎之间存在一定的传输屏障,但小麦还是可以缓慢地吸收土壤中的 MeHg。

小麦根部 MeHg 总量变化没有特别明显的规律,且变化幅度较小。小麦的茎、叶部位中的 MeHg 总量存在明显的先上升再下降的过程,这是生物量变化和 MeHg 浓度变化综合作用的结果。由上文可知,随着小麦的生长,其茎、叶的生物量逐渐下降,但 MeHg 的浓度在前期上升,所以在前两次采样中茎、叶部位中的 MeHg 总量上升;其后由于子实的进一步生长,茎、叶中 MeHg 浓度没有明显变化,而生物量则下降,因此茎、叶中的 MeHg 总量在小麦生长的后期出现了下降。有研究指出在水稻的灌浆时期,MeHg 在水稻的子实中高度富集,并伴有在植物体各营养器官将 MeHg 输送到子实中的现象^[4],与小麦的研究结果相

吻合。

小麦子实与植株整体中的 MeHg 类似,也是总量明显上升,MeHg 随着小麦的逐渐成熟,在本身浓度上升和生物量上升的共同作用下,出现了一定的富集效果,到灌浆结束时约占小麦中总 MeHg 含量的一半,即 MeHg 总体向子实富集。

以往的研究表明,植物吸收了重金属元素后,体内的金属结合蛋白会与之络合形成复合物,然后进行转运代谢。目前在植物中发现了两种主要的重金属结合蛋白,即金属硫蛋白(Metlothionein, MT)和植物络合素(Phytochelatins, PC)。MT 是一类由基因编码的低相对分子质量的富含半胱氨酸的多肽,可通过半胱氨酸残基上的巯基与汞结合形成无毒或低毒络合物,从而清除汞对植物体的毒害作用;而 PC 是一类酶促合成的低相对分子质量的富含半胱氨酸的多肽,多种重金属离子可诱导其合成。Hg²⁺可以与 PC 形成复合物^[10]。通常毒性重金属在体内与 MT、PC 等重金属结合蛋白络合成复合物后,随着这些蛋白一起被转运,最终在植物体内的某些器官中沉积,并通过这些组织细胞内的液泡膜上的转运蛋白的跨液泡膜作用进入液泡并长期富集^[11]。以上是植物吸收重金属后的普遍反应,在小麦中,生物化学的证据已经表明这样的规

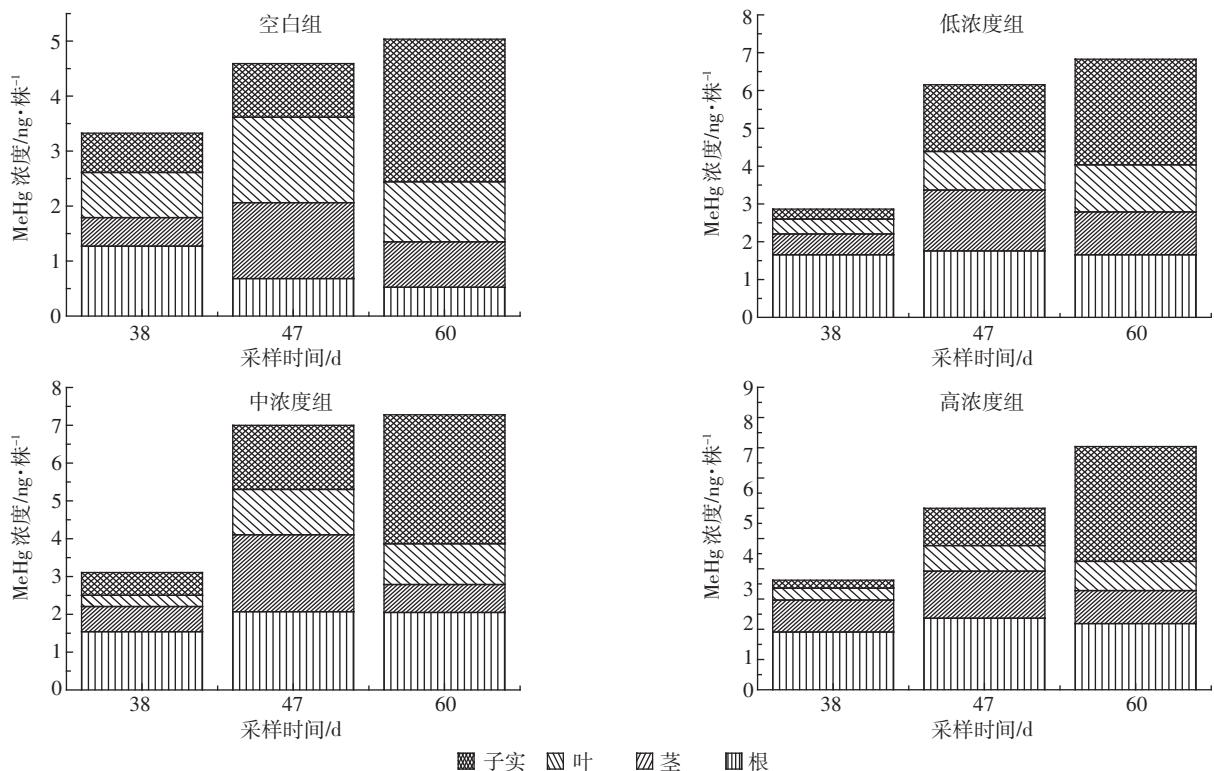


图2 四个浓度组小麦中 MeHg 总量的器官分布

Figure 2 MeHg mass in the organs of wheat plants collected during the full growing season

律同样存在。1987年 Lane 等从小麦胚胎中发现 Ec 蛋白,并证明其氨基酸序列与动物 MT 一致,从而证明植物体内含有 MT^[12],而在这之前人们认为 MT 只存在于动物中并与汞的吸收分配有关。

在植物子实形成期,植物所有的器官都会为了子实生长而贡献营养物质,随着小麦植株生长,扬花期结束后以叶片为代表的营养器官开始衰老,光合功能渐趋微弱,并将细胞内含物降解输出至其他新生部位。子实在成熟时,不仅调运营养体当时的同化产物,甚至会动员营养体长期积累的细胞内含物使之降解并向子实集中^[13]。这就解释了 MeHg 随蛋白质合成从营养器官向子实中转运并最终在其中富集的现象。

总体上看,在小麦的生长周期中,MeHg 在浓度和总量上出现了向子实部位富集的现象,茎、叶部的 MeHg 总量先上升后下降,子实部位的 MeHg 在最多的时候可以占整株植物 MeHg 总量的 50%。之前的研究报道了 MeHg 在水稻子实中高度的富集,并伴有在水稻灌浆时期植物体各营养器官都将 MeHg 输送到子实中的现象^[4],本研究的结果支持这一现象,在属于陆生植物的小麦中也同样存在。

3 结论

本研究试图通过对小麦生长周期中 MeHg 器官分布的研究,了解陆生植物体系中 MeHg 的迁移归趋过程,主要结论有以下几点:

(1)在小麦的整个生长周期中,根部 MeHg 浓度远高于其他器官,但变动不大;茎、叶部分的 MeHg 浓度先上升后稳定;子实部分的 MeHg 浓度不断上升,显示 MeHg 在不断富集。

(2)在加入较低浓度的 MeHg 之后,对小麦的生长并未产生显著影响。小麦全植株的 MeHg 浓度在整个生长过程中不断上升,根部 MeHg 总量较为稳定,茎、叶部位 MeHg 总量先上升后下降,而子实部位 MeHg 总量不断上升,到灌浆结束时约占小麦中总 MeHg 含量的一半,体现出 MeHg 随着蛋白质的合成与蛋白质结合,由营养器官向子实中输入最终在其中富集。

致谢:感谢中国农业大学资源与环境学院的陈范骏老师、于福同老师、农大西区温室的陈师傅、王师傅提供的场地和技

术支持。

参考文献:

- [1] EPA, UEPAU. Mercury study report to congress, Vol. 7: Characterization of human health and wildlife risks from mercury exposure in the United States, 1997.
- [2] Feng X, Li P, Qiu G, et al. Human exposure to methylmercury through rice intake in mercury mining areas, Guizhou Province, China[J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, 42(1): 326–332.
- [3] Zhang H, Feng X, Larssen T, et al. Bioaccumulation of methylmercury versus inorganic mercury in rice (*Oryza sativa* L.) grain[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(12): 4499–4504.
- [4] Meng B, Feng X, Qiu G, et al. The process of methylmercury accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(7): 2711–2717.
- [5] 杨 军, 陈同斌, 郑袁明, 等. 北京市凉风灌区小麦重金属含量的动态变化及健康风险分析[J]. *环境科学学报*, 2005, 25(12): 1661–1668.
YANG Jun, CHEN Tong-bin, ZHENG Yuan-ming, et al. Dynamic of heavy metals in wheat grains collected from the Liangfeng Irrigated Area, Beijing and a discussion of availability and human health risks[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2005, 25(12): 1661–1668.
- [6] EPA. Mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation, and atomic absorption spectrophotometry[S]. US EPA Method 7473(SW-846), 1998.
- [7] Maggia C, Berducci M T, Bianchi J, et al. Methylmercury determination in marinesediment and organisms by Direct Mercury Analyser[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 614(1–2): 32–36.
- [8] Meng B, Feng X, Qiu G, et al. Distribution patterns of inorganic mercury and methylmercury in tissues of rice (*Oryza sativa* L.) plants and possible bioaccumulation pathways[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(8): 4951–4958.
- [9] Ullrich S M, Tanton T W, Abdrashitova S A. Mercury in the aquatic environment: A review of factors affecting methylation[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2001, 31(3): 241–293.
- [10] 郑柄松, 朱 诚, 金松恒. 高级植物生理学[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2011: 243–255.
ZHENG Bing-song, ZHU Cheng, JIN Song-heng. Advanced plant physiology[M]. Hangzhou: Zhejiang University Press, 2011: 243–255.
- [11] 陈晓亚, 汤章程. 植物生理与分子生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2007: 552–567.
CHEN Xiao-ya, TANG Zhang-cheng. Plant physiology and molecular biology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2007: 552–567.
- [12] Lane B, Kajioka R, Kennedy T. The wheat-germ Ec protein is a zinc-containing metallothionein[J]. *Biochemistry and Cell Biology*, 1987, 65(11): 1001–1005.
- [13] Li Z W, Xiong J, Qi X H, et al. Differential expression and function analysis of proteins in flag leaves of rice during grain filling[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2009, 35(1): 132–139.