

稀土金属离子对蚕豆根尖微核率及 对蚕豆早期生长发育的影响^{*}

孔志明 王永兴 吴庆龙 钟 远 王晓蓉

(土壤控制与资源化研究国家重点实验室, 南京大学环境科学与工程系, $y\tau avZx$)

摘 要 应用蚕豆初生根尖细胞微核技术研究 $\partial\xi^{*+}$ 、 $s1^{*+}$ 、 ζ^{*+} 、 $\tau\rho^{*+}$ 等稀土金属离子的诱变性, 发现稀土金属离子在达到一定剂量时均可引起蚕豆根尖细胞微核率的升高, 与对照组相比差异显著 $\phi I w\mu B$ 、 $\phi I w\mu xp$ 。在早期生长试验中, 应用 $\Delta\rho$ 生长的蚕豆幼苗干重表征蚕豆的早期生长情况, 比较蚕豆的发芽率及幼苗干重, 反映稀土金属离子对蚕豆早期生长发育的毒性。结果表明 s 稀土金属离子在高浓度时对蚕豆的发芽率有一定影响, 其中以 $s1^{*+}$ 、 ζ^{*+} 、 $\tau\rho^{*+}$ 更为明显; 从蚕豆幼苗干重可以看出, 稀土离子在低浓度时对蚕豆早期生长具有刺激作用, 并具最适浓度, 在高浓度时均具有抑制作用, 且随着浓度的升高, 抑制作用增强。

关键词 稀土金属离子 蚕豆 微核 发芽率 幼苗干重

稀土农用是科技工作者经过多年努力取得的具有我国特色的科研成果, 但由于稀土农用向环境中大量引入一种尚未证明是否必需的元素, 由此造成的环境和生态效应及人类健康的影响, 已引起国内外各界的广泛关注。蚕豆根尖细胞微核技术是一种利用植物系统进行土壤检测的短期致突变试验方法, 目前已成为我国水环境检测的规范性方法之一。种子萌发及早期生长抑制试验已列入《国家环保局化学品测试准则》。本试验采用蚕豆初生根尖细胞微核技术研究 $\partial\xi^{*+}$ 、 $s1^{*+}$ 、 ζ^{*+} 、 $\tau\rho^{*+}$ 等稀土金属离子的诱变性, 并应用 $\Delta\rho$ 生长的蚕豆幼苗干重表征蚕豆早期生长情况, 比较蚕豆的发芽率及幼苗干重, 反映稀土元素对蚕豆早期生长发育的影响。

x 材料与方法

xw 试验用蚕豆

当年生松滋青皮豆 $o0\chi\tau\xi\tau\xi o\xi p H$ 华中师范大学生命科学学院提供。

xy 试验方法

xyw 蚕豆根尖细胞微核试验

按照国家环保局《环境监测技术规范》的方法进行 ^{$\theta x\kappa$} 。

oxp 分别称取 $\partial\xi o\partial\phi_z p_z u\Phi_y\phi$ 、 $\zeta_y\phi_z$ 、 $\tau\rho_z\phi_z$ 、 $s1\text{ } \Pi_z s\Pi B\Pi_z$ 配成所需浓度的稀土母液, $\zeta_y\phi_z$ 、 $\tau\rho_y\phi_z$ 先用浓硝酸溶解后再稀释至所需浓度。蚕豆根尖染毒前将稀土母液稀释至所需染毒浓度, 并用 $x130v\partial\partial\xi\phi\Phi$ 溶液调节 $\Phi K\Delta$, 在低浓度时均可成功, 高浓度时 Φ 高时因稀土元素水解易产生白色沉淀, 此时调 Φ 至稀土溶液不产生白色沉淀为止, 记录此时的 Φ 值, 一般在 $B-\Delta$ 之间。

oyp 选择大小均匀的松滋青皮豆 $wB\%$ 的 $\partial\xi\Pi\phi$ 溶液消毒 $yw1\chi^2$, 蒸馏水冲洗数次。然后按常规法对蚕豆进行水培、催芽, 待种子初生根长至 $y-z\pi1$ 时, 放入盛有待测稀土溶液的培养皿中, 浸泡根尖, 每一处理选择至少 B 粒根尖生长良好, 根长一致的种子, 用蒸馏水(或自来水)处理作阴性对照。染毒 $\Gamma\phi$ 后, 将根尖修复培养 $yy-yA\phi$, 用卡诺氏固定液固定 $yA\phi$, $B130v\partial\Phi\Pi$ 水解使

^{*} 国家自然科学基金资助项目 ϕ 编号为 $yZT\Delta\Delta ad\Gamma p$
收稿日期 $xZZ\Delta-uE-yz$

根软化, $T\sigma_{90} \nu \sigma^2$ 染色, 并压片观察。

$o z p$ 镜检时每一处理观察 B 个根尖, 每个根尖计数 $x \tau a a v$ 个间期细胞, 计算微核率 $\epsilon \Pi \vartheta T o \% p$, 与空白阴性组作统计分析^[8] 检验 p 。

$x u y u y$ 蚕豆种子萌发及早期生长抑制试验
 $o x p$ 稀土受试液浓度与 Φ 的设定同上述根尖细胞微核试验。

$o y p$ 将新配制的稀土溶液 $y B \vdash \vartheta$ 加入玻璃培养皿中, 稀土溶液以刚没至蚕豆种子为宜。挑选大小均匀的松滋青皮豆 $w u B \% \vartheta \xi \Pi \phi$ 溶液消毒 $y \tau v \vdash \chi^2$, 蒸馏水冲洗数次后, 将蚕豆置于培养皿中, 每皿 E 粒蚕豆种子, 每个浓度处理组作三个平行皿, 共 $y A$ 粒蚕豆。放置蚕豆种子时, 应保持种子胚根末端和生长方向呈一直线, 盖好玻璃培养皿, 并用胶布封住, 置 $y B \text{ } ^\circ C$ 恒温箱培养 $\Delta \rho$ 。培养期间每天观察蚕豆的发芽情况, 并作记录。待蚕豆幼苗长至 $\Delta \rho$ 后, 用蒸馏水冲洗数次, 自胚根处剪下幼苗, 用滤纸吸干包裹, 于 $x \tau \omega \text{ } ^\circ C$ 烘干 $z \varphi$, 然后置称量皿中准确称其干重^[9-10]。

y 结果与讨论

$y u \omega$ 稀土金属离子对蚕豆根尖细胞微核率的影响

稀土金属离子 $\vartheta \xi^{z+}$ 、 $s \vdash^{z+}$ 、 ζ^{z+} 、 $\Upsilon \rho^{z+}$ 不同浓度处理蚕豆根尖细胞后的微核千分率列在表 x 。从表 x 中可以看出, 各种稀土离子在达到一定剂量时都可引起 $\epsilon \Pi \vartheta T$ 升高, 与阴性处理组 (自来水) 比较, 差异显著 (ϕ

$I w u u B s \phi I w u x p$ 。不同稀土不同浓度, 其致突变性的程度不同。致突变性作用最强的是重稀土组 ζ^{z+} 和 $\Upsilon \rho^{z+}$, 中稀土 $s \vdash^{z+}$ 次之, 轻稀土 $\vartheta \xi^{z+}$ 相对最弱, 此结果与黄丽玫等人应用蚕豆根尖微核研究的结果相类似^[9,10]。我国农业主要以轻稀土作微肥, 使农作物增产, 但施于农作物上的稀土被吸收并富集于根茎叶及果实中。长期食用含稀土的粮食蔬菜等, 或通过食物链食用含稀土的家畜、家禽、鱼和小生物等, 也会在体内累积稀土, 对机体产生损伤。本研究也表明轻稀土在达到一定浓度后, 同样具有致突变性。考虑到稀土的累积问题, 稀土微肥及饲料的使用应慎重。

由试验可看出, 稀土离子 $\vartheta \xi^{z+}$ 、 $s \vdash^{z+}$ 、 ζ^{z+} 、 $\Upsilon \rho^{z+}$ 对蚕豆根尖细胞的 $\epsilon \Pi \vartheta T$ 的影响不呈正相关。低浓度时, 随浓度的升高, $\epsilon \Pi \vartheta T$ 逐渐增大, 在达到 x 个最大值后, 随着处理浓度的升高, $\epsilon \Pi \vartheta T$ 反而呈现下降的趋势。而且蚕豆根尖染毒处理时可以观察到 $\vartheta \xi^{z+}$ 、 $s \vdash^{z+}$ 在 $x \vdash \vdash \vdash \vartheta \vartheta$ 以后, ζ^{z+} 、 $\Upsilon \rho^{z+}$ 在 $w u B \vdash \vdash \vdash \vartheta \vartheta$ 以后, 蚕豆根尖变黑软化, 并随浓度增大, 发黑的程度加深, 有腐烂感。染色制片时, 有的发黑根尖变硬无法软化制片, 即使可以制片, 在镜下可见细胞萎缩, 核变小或变形, 纤维组织增多, 使细胞分辨困难。已有的生理生化研究表明, 小剂量与大剂量的同一金属离子对同一生理过程具有极其相反的生理表现^[9,10]。微核试验是一种以染色体断裂及纺锤丝损伤等为测试终点的监测方法, 有毒物质造成的微核形成, 作用时

表 x 不同浓度稀土处理后蚕豆根尖细胞的微核率

$\varrho \Sigma$ 浓度 $\vartheta \vdash \vdash \vdash \vartheta \vartheta$	微核千分率 $\epsilon \Pi \vartheta \% p$			
	$\vartheta \xi^{z+}$	$s \vdash^{z+}$	ζ^{z+}	$\Upsilon \rho^{z+}$
$w u y y B$	$y u a x \pm x u a v$	$y u d \Upsilon \pm x u \Delta v$	$z u y y \pm x u z$	$y u d \Delta \pm u u E z$
$w u y B$	$y u \tau w \pm u u B \Delta$	$z u d B \pm x u d A$	$A u \Delta y \pm x u \Delta \Delta^*$	$z u d Z \pm u u Z y^*$
$w u B$	$B u a v \pm x u d B^*$	$A u a A \pm x u a v^*$	$E u B \pm y u a \epsilon^{**}$	$E u d Z \pm y u \Delta v^*$
$x u v$	$B u Z A \pm x u \Delta A^{**}$	$\Delta u \epsilon x \pm x u d B^{**}$	$\Gamma u \Delta \pm x u B E^{**}$	$E u \Delta v \pm u u d T^{**}$
$y u v$	$A u y y \pm x u d A^*$	$\Gamma u \Delta \pm x u y A^{**}$	$B u \Delta \pm x u \Delta \epsilon^*$	$\Gamma u y v \pm x u \Delta E^{**}$
$A u v$	$z u d x \pm x u \epsilon B^*$	$A u B E \pm u u \Delta \epsilon^*$	$A u \epsilon \epsilon \pm x u \epsilon B^*$	$B u a v \pm x u y y^*$
阴性对照	$y u \epsilon z \pm u u u d \Gamma$			

* $\phi I w u u B \vartheta$ * $\phi I w u x p$

间是细胞分裂期间的 $P\vartheta \Xi$ 和染色体复制合成过程中 ^{$\theta\Gamma^{\kappa}$} 。一般的说, 没有细胞的分裂活动, 毒性物质就没有作用于 $P\vartheta \Xi$ 等遗传物质的机会, 难以表明这种物质的遗传毒性, 即使毒性很强的遗传毒物, 也无法以微核的形式表现出来。研究结果证明, 在大剂量的稀土元素作用下, 按理应该具有较高的诱变性能, 但高浓度稀土金属离子抑制蚕豆根尖生长的情况可看出, 细胞分裂降低, 蚕豆根尖细胞同时出现较低的 $\epsilon \Pi\vartheta T$ 水平, 而且随着稀土处理浓度的提高, $\epsilon \Pi\vartheta T$ 呈下降趋势。 $\gamma_3\rho_3_2\xi_{230}$ 等人在利用洋葱检测不同化学诱变剂时, 发现低的细胞分裂生长水平下不能正确反映染色体畸变的应用水平 ^{$\theta\Delta\kappa$} 。段昌群、王焕校等人应用蚕豆根尖细胞微核技术研究 ϕo^y+ 、 $\Pi\rho^y+$ 、 Φv^y+ 、 η_2^y+ 等的诱变性时也曾发现类似规律 ^{$\theta E\kappa$} 。因此, 我们认为微核试验作为一种常规的环境污染监测手段和环境诱变剂的生物监测指标, 首选被监测毒物或污染物不能严重地阻碍细胞的生长分裂, 否则不能正确反映被检测目标的遗传毒性水平。因此进一步研究低剂量稀土处理对蚕豆根尖细胞微核产生的影响十分必要。

$y\iota y$ 稀土金属离子对蚕豆种子萌芽及早期生长的影响

经过 $\Delta\rho$ 培养的蚕豆发芽率列于表 y 。由表 y 看出, 第 $x\rho$ 随稀土金属离子浓度的升高, 发芽率逐渐降低。第 $y\rho$ 每一浓度组的发芽率都高于第 $x\rho$, 但最高浓度的发芽率仍最低。第 $z\rho$, 除了 s_1^{z+} 、 ζ^{z+} 、 $\Upsilon\rho^{z+}$ 最高浓度组发芽率低于 $\pi\alpha v\%$ 以外, 其它浓度组都为 $\pi\alpha v\%$, 自此到培养结束, 蚕豆的发芽率没有变化。蚕豆的萌发率表示为蚕豆早期生长情况的一种指示指标, 在第 $x\rho$ 轻稀土 $\partial\xi^{z+}$ 、 s_1^{z+} 在低浓度时与对照组比较无明显差异, s_1^{z+} 在 $x\iota\Gamma_{1130v\vartheta}$ 浓度时甚至表现出刺激发芽率升高的作用, 较高浓度时 $\partial\xi^{z+}$ 、 s_1^{z+} 都表现出抑制发芽的作用; 而重稀土 ζ^{z+} 和 $\Upsilon\rho^{z+}$ 各不同浓度都表现为抑制作用, 随浓度

升高, 发芽率逐渐降低。在第 $y\rho$, $\partial\xi^{z+}$ 、 s_1^{z+} 各浓度的抑制作用不明显, 而 ζ^{z+} 、 $\Upsilon\rho^{z+}$ 高浓度时仍呈现抑制作用。第 $z-\Delta\rho$ 中除 $\partial\xi^{z+}$ 在 $x\Gamma_{1130v\vartheta}$ 时全部萌发外, s_1^{z+} 、 $\Upsilon\rho^{z+}$ 、 ζ^{z+} 组中均有未萌发坏死的种子, 而对照 w 组及其它浓度组的发芽率均为 $\pi\alpha v\%$, 表明是 s_1^{z+} 、 ζ^{z+} 、 $\Upsilon\rho^{z+}$ 的毒性作用结果。

$\Delta\rho$ 培养结束后称取蚕豆幼苗的干重, 以空白对照 w 组的干重为 $\pi\alpha v\%$, 以其它不同浓度组的幼苗干重相对 w 组干重的百分比代表不同浓度稀土对蚕豆早期生长的相对毒性强弱, 得到表 z 。由表 z 看出, $\partial\xi^{z+}$ 、 s_1^{z+} 、 ζ^{z+} 、 $\Upsilon\rho^{z+}$ 在低浓度时均具有刺激生长的作用, 并具有最适生长浓度, $\partial\xi^{z+}$ 、 s_1^{z+} 均为 $A_{1130v\vartheta}$, $\Upsilon\rho^{z+}$ 为 $x\iota y_{1130v\vartheta}$, ζ^{z+} 为 $z_{1130v\vartheta}$ 。在高浓度时, $\partial\xi^{z+}$ 、 s_1^{z+} 、 ζ^{z+} 、 $\Upsilon\rho^{z+}$ 均具有抑制作用, 且随浓度升高, 抑制作用增强。不同稀土元素的抑制作用阈浓度不同, $\partial\xi^{z+}$ 、 s_1^{z+} 均为 $xy_{1130v\vartheta}$, $\Upsilon\rho^{z+}$ 为 $\Gamma_{1130v\vartheta}$, ζ^{z+} 为 $Z_{1130v\vartheta}$, 显然重稀土元素

表 y 稀土元素对蚕豆发芽率的影响

浓度 $\vartheta_{1130}/\vartheta\rho$	发 芽 率 $\% \rho$			
	$x\rho$	$y\rho$	$z\rho-\Delta\rho$	
$\partial\xi^{z+}$	$x\iota\Gamma$	$\Gamma\Gamma\iota\Gamma\Delta$	$\pi\alpha v$	$\pi\alpha v$
	A	$\Gamma y\iota B$	$\pi\alpha v$	$\pi\alpha v$
	E	$y w\iota E z$	$\pi\alpha v$	$\pi\alpha v$
	xy	$x\Gamma\iota\Gamma\Delta$	$Z B\iota E z$	$\pi\alpha v$
	$x\Gamma$	$x\Gamma\iota\Gamma\Delta$	$Z B\iota E z$	$\pi\alpha v$
s_1^{z+}	$x\iota\Gamma$	$\Delta Z w\Delta$	$\pi\alpha v$	$\pi\alpha v$
	A	$B v$	$\pi\alpha v$	$\pi\alpha v$
	E	$A B\iota E z$	$\pi\alpha v$	$\pi\alpha v$
	xy	$z\Delta\iota B$	$Z B\iota E z$	$\pi\alpha v$
	$x\Gamma$	$y w\iota E z$	$Z x\iota\Gamma\Delta$	$Z B\iota E z$
$\Upsilon\rho^{z+}$	$x\iota y$	$B A w\Delta$	$\pi\alpha v$	$\pi\alpha v$
	z	$A B\iota E z$	$\pi\alpha v$	$\pi\alpha v$
	Γ	$y\iota B$	$\pi\alpha v$	$\pi\alpha v$
	Z	$A w\Delta$	$Z x\iota\Gamma\Delta$	$\pi\alpha v$
	xy	$A w\Delta$	$\Gamma\Gamma\iota\Gamma\Delta$	$Z x\iota\Gamma\Delta$
ζ^{z+}	$x\iota y$	$B v$	$\pi\alpha v$	$\pi\alpha v$
	z	$A B\iota E z$	$\pi\alpha v$	$\pi\alpha v$
	Γ	$y B$	$Z B\iota E z$	$\pi\alpha v$
	Z	$y w\iota E z$	$Z x\iota\Gamma\Delta$	$\pi\alpha v$
	xy	$A w\Delta$	$E\Delta\iota B$	$Z x\iota\Gamma\Delta$
w 组	w	$\Gamma\Gamma\iota\Gamma\Delta$	$\pi\alpha v$	$\pi\alpha v$

表2 不同浓度稀土元素处理Δρ 后蚕豆幼苗干重

ρ Σ	浓度 _{0.130} /∂ρ	幼苗干重 ₁₀₀	相对干重 ₁₀₀ %	ρ Σ	浓度 _{0.130} /∂ρ	幼苗干重 ₁₀₀	相对干重 ₁₀₀ %
ω组		$xxu\Delta\pm Au\Delta$	xaw	ω组		$xxu\Delta\pm Au\Delta$	xaw
∂ξ ^{z+}	$xu\Gamma$	$xy\gamma\Gamma\pm xuAB$	$xxu\Gamma E$	ξ ^{z+}	$xu\gamma$	$xxZu\Delta\gamma\pm Zuaw$	$xu\Delta uBv$
	A	$xByu\Delta\pm xu\Gamma E\Delta$	$x\Delta uB$	z		$x\Gamma u\Delta\pm xu\Delta Z$	$xxxu\Delta$
	E	$xy\Delta u\Gamma\pm xBuaw$	$xxAuEx$	Γ		$xy\Delta uB\Delta\pm AuZE$	$xxAuBB$
	xy	$xu\Gamma uEB\pm \Delta u\gamma$	$ZBuZA$	Z		$Z\Gamma u\Gamma\pm Au\Gamma$	$E\Gamma uAy$
	xΓ	$\Delta\Gamma u\Gamma\pm xu\Delta v$	$\Gamma EuZy$	xy		$\Gamma yuEx\pm Zu\Delta y$	$B\Gamma u\Delta v$
s ^{1z+}	$xu\Gamma$	$xxZu\Gamma E\pm Au\gamma B$	$xu\Delta u\gamma$	Υρ ^{z+}	$xu\gamma$	$xx\Gamma u\Delta\pm xu\Delta$	$xy\gamma u\Delta$
	A	$xyuaw\pm xu\Delta$	$xuZuBA$	z		$xxEu\Delta\pm xu\Delta$	$xu\Gamma u\Delta$
	E	$xxu\Delta E\pm xuAB$	$xuAuAy$	Γ		$Z\Delta E\pm AuB$	$E\Delta uEy$
	xy	$ZAu\Delta\pm \Gamma u\Delta$	$EBuB$	Z		$\Delta\Gamma u\Delta\pm BuB$	ΓEuZ
	xΓ	$\Gamma Bu\gamma\pm Bu\Delta$	$BEuB\Gamma$	xy		$\Gamma u\gamma\Gamma\pm BuB$	$Bu\Delta$

ξ、Υρ 对蚕豆早期生长的毒性要大于轻稀土 ∂ξ 和 s¹。张在德等人用稀土处理大麦,在一定浓度范围内稀土能够促进大麦种子发芽,并促进大麦幼苗生长,促进根系发达,并能促进幼苗对 ∂φ_z⁻ 和 Ω⁺ 的吸收,若浓度过高,则表现出抑制效应^[25]。宁加贡指出在小麦的发芽试验中,一定浓度范围的轻重中单一稀土均能激发种子活力,使发芽率明显提高,但浓度过高时,发芽率则降低。一般认为,在种子萌发过程中,稀土的主要促进作用是使淀粉酶活性提高。一定浓度的稀土还能够提高根系的活力,促进植株对营养物质的吸收功能,水稻喷施一定浓度稀土后,秧苗干重增加 γz uy %^[26]。一定浓度范围下,稀土元素对植物生长的促进作用主要是由于稀土能够增加土壤磷酸酶的活化作用,促进作物利用磷素的有效性以及对磷素的吸收,同时也促进了对 ∂、Ω 的连应吸收^[27];还由于稀土离子与 Iξ^{y+} 相似,能够与膜磷脂结合,调节钙的代谢,并且由于电荷密度比 Iξ^{y+} 高,能够取代 Iξ^{y+} 参与与 Iξ^{y+} 有关的许多生理过程,调节许多生物大分子如酶、核酸的活性及功能。在高剂量条件下,稀土离子则成为 Iξ^{y+} 的拮抗剂,干扰细胞内部的正常生理活动,从而表现为抑制效应。

2 结 论

zu 蚕豆根尖细胞微核分析表明,稀土在达到一定浓度后均能使蚕豆根尖细胞微核率显

著增加 ρ φ I wuB, φ I wuwxp, 此后随浓度的升高,由于稀土对蚕豆根尖的损害作用,微核率反而呈下降趋势。考虑到稀土的累积作用,提示稀土达到一定浓度同样具有致突变性,值得重视。
zu uy 蚕豆在稀土溶液中染毒培养 Δρ 后,发芽率在 s^{1z+}、ξ^{z+}、Υρ^{z+} 最高浓度受到轻微抑制,蚕豆早期生长试验表明低浓度时稀土能够刺激蚕豆幼苗生长,高浓度时则表现抑制作用,而且随浓度升高,抑制作用增强。

参 考 文 献

x 国家环保局编 u 环境监测技术规范(水环境分册), xZETAB—ΔE
y 国家环保局化学品测试准则 u 北京:化学工业出版社, xZuVxuΔ—yyB
z Υσξρ Σ δ σ ξ u Σ² ξ³ α³ γπ Πφσ, s xZx QuH BuΔ—ByB
A 黄丽玫等 u 中国环境科学 xZTQuΔ Ap HyΓ—yB
B ρσσ ρ σ ξ u ε⁹⁸ ρσ s xZEAQuVZ—xy
Γ Tξ² ωσ P T σ ξ u Oρπφσ, ξ² φφ² ξ³ π³ s xZEDθ zΓHyB—yE
Δ Tσσ σφφ Ψρσ τσσ σ u IQu, ξ² ε⁹⁸ ξ³ σ² s Δ³ ρ³ H φσ³ u³ φσ³ s xZETHzw—zE
E 段昌群 s 王焕校 u 植物学报 xZBQuΔ xp HA—yA
Z 张在德等 u 稀土 xZuQu xy HyΓ—yZ
xu 宁加贡 u 稀土 xZuQu xp Hx—yB
xx 王常华 u 中国稀土学报 xZETQu xp Ix
xy 常 江 u 植物生理学通讯 xZx QuΔ xp HΔ

作者简介

孔志明,副教授,硕士生导师,主要从事环境毒理学与遗传毒理学的教学与科研工作。曾去日本进修遗传毒理学一年。近年来在国内外核心杂志发表论文 Bu 余篇,其中国外学术杂志近 xu 篇。