

水稻幼苗对纳米氧化铜的吸收及根系形态生理特征响应

刘涛¹, 向垒^{1,2*}, 余忠雄¹, 莫测辉^{1*}, 李彦文^{1,2}, 赵海明^{1,2}, 蔡全英¹, 李慧¹ (1.暨南大学环境学院, 广东省高校水土环境毒性污染防治与生物修复重点实验室, 广东 广州 510632; 2.暨南大学生态学系, 广东 广州 510632)

摘要: 以纳米氧化铜 nano-CuO(10, 100mg/L)为研究对象,以微米氧化铜 micron-CuO(10, 100mg/L)及铜离子 Cu²⁺(1.4, 2.3mg/L)为对照,通过水培实验,探讨水稻对 nano-CuO 的吸收积累及其根系形态和生理特征响应。结果表明,各浓度(10, 100mg/L)nano-CuO 处理条件下,水稻根部及地上部铜含量(根 351~1444mg/kg dw;地上部 9~45mg/kg dw)总体高于 micron-CuO 处理(根 248~817mg/kg dw;地上部 1.57~1.60mg/kg dw)及 Cu²⁺处理(根 147~220mg/kg dw;地上部 14~26mg/kg dw),且在水稻幼苗根及茎透射电镜图片中均观察到 nano-CuO 的存在,指示水稻可通过纳米颗粒的形式吸收、转运 nano-CuO。Nano-CuO 在水稻根细胞中主要存在于核内体中,指示内吞作用是其进入根细胞的主要方式。Nano-CuO 对水稻幼苗根系有较强的毒性作用,对各根系形态指标的抑制率为 28%~74%,其中总根长、根体积和比表面积为最敏感;nano-CuO 的吸收积累及纳米效应是其水稻根系毒性的主要原因。低浓度 nano-CuO (10mg/L)胁迫时,水稻幼苗根系活力显著提高,总吸收面积和活跃吸收面积无显著差异;高浓度 nano-CuO (100mg/L)胁迫时,水稻幼苗根系活力和总吸收面积显著降低。

关键词: 纳米氧化铜; 水稻; 根系; 形态; 生理特征

中图分类号: X503.231 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2015)05-1480-07

Responses of morphological and physiological characteristics in rice (*Oryza sativa L.*) seedling roots to its uptake of CuO nanoparticles. LIU Tao¹, XIANG Lei^{1,2*}, YU Zhong-xiong¹, MO Ce-hui^{1*}, LI Yan-wen^{1,2}, ZHAO Hai-ming^{1,2}, CAI Quan-ying¹, LI Hui¹ (1.Key Laboratory of Water/Soil Toxic Pollutants Control and Bioremediation of Guangdong Higher Education Institutions, School of Environment, Jinan university, Guangzhou 510632, China; 2.Department of Environmental Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China). *China Environmental Science*, 2015,35(5): 1480~1486

Abstract: Responses of morphological and physiological characteristics in rice (*Oryza sativa L.*) seedling roots to its uptake of nano-CuO (10, 100mg/L) were investigated using hydroponic experiments by setting micron oxide copper (micron-CuO) and copper ions (Cu²⁺) as control. Results showed that total copper contents in roots and shoots (roots 351~1444mg/kg dw; shoots 351~1444mg/kg dw) of rice seedlings in nano-CuO treatments (10, 100mg/L) were higher than those in micron-CuO treatments (roots 248~817mg/kg dw; shoots 1.57~1.60mg/kg dw) and Cu²⁺ treatments (roots 147~220mg/kg dw; shoots 14~26mg/kg dw), and furthermore, nano-CuO was observed in TEM images of both root and stem cells, indicating rice seedling can uptake and transfer nano-CuO by the form of nano-CuO. A large amount of nano-CuOs observed in endosomes of rice seedling cells indicated that nano-CuO mainly relied on endocytic pathways to enter cell. The nano-CuO had toxic effects on rice seedling roots and the inhibitory rates on roots morphologies of nano-CuO ranged from 28% to 74%, and root length, root volume and root specific surface area were most sensitive indicators for nano-CuO toxicity. Both nano-CuO bioaccumulation in rice and nanoeffects resulted in toxicities of nano-CuO to rice seedling roots. Under low concentration of nano-CuO stresses (10mg/L), root activities of rice seedlings significantly improved but no significant differences were observed in its total roots absorbing area and actively absorbing area, compared with the control. Under high concentration of nano-CuO stresses (100mg/L), root activities and total roots absorbing area of rice seedlings significantly decreased, compared with control.

Key words: CuO nanoparticles; rice; roots; morphology; physiological characteristics

收稿日期: 2015-01-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(41173101,41301337);广东省高校高层次人才项目;东莞市科技计划项目(201210815000399);暨南大学优秀博士研究生攀登计划项目

* 责任作者, 莫测辉, 教授, tchmo@jnu.edu.cn; 向垒, 博士, wuxian622622@163.com

由于尺度(1~100nm)和结构方面的特点,工程纳米材料(ENPs)具有优越的导电性、反应活性以及光学特性等,被广泛应用于工业、农业和商业各领域^[1-4].大规模生产、使用,导致 ENPs 不断进入环境^[5-6],其潜在的环境安全风险已引发人们广泛关注^[7].植物是生态系统的重要组成部分,进入环境的 ENPs 可被其吸收、积累,并造成严重的毒害效应^[5,8].根系是植物吸收水分和矿质元素的重要器官^[9-10],也是植物暴露和吸收 ENPs 的主要通道^[5],其形态和生理指标特征决定了植物获取养分的能力^[10-11]以及受 ENPs 毒害的程度^[12].大量研究显示^[12-14],多数 ENPs 可严重抑制植物根系的生长,但具体对植物根系形态及生理指标影响的研究却鲜见报道^[15-17].

纳米氧化铜(nano-CuO)是一种重要的纳米金属材料,被作为涂覆材料、催化剂、润滑剂以及杀菌剂等广泛应用.水稻是我国主要粮食作物,也是评价污染物富集和毒性效应的模式生物^[18].但目前有关其吸收积累纳米金属材料及毒性效应的研究鲜见报道^[15].为此,本文以 nano-CuO 为研究对象,以微米氧化铜(micron-CuO)及铜离子(Cu^{2+})为对照,通过水培实验,探讨水稻对 nano-CuO 的吸收积累及其根系形态和生理特征响应,以期对 nano-CuO 的生态风险评估提供基础数据.

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

水稻品种为天优 3618(广泛种植于华南地区)发芽率为 95%,购自广东省农业科学院水稻研究所;纳米氧化铜(nano-CuO),纯度 $\geq 99.5\%$,购自 Sigma-Aldrich 公司,经场发射扫描电镜(JSM-6330F 型,日本株式会社)观察,其粒径在 20~70nm 之间(平均粒径 40nm),为椭球状;微米氧化铜(micron-CuO),分析纯,购自广州化学试剂厂,经场发射扫描电镜观察,其粒径在 1~8 μm 之间(平均粒径 2.6 μm),为块状、团聚体等.硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)、30% H_2O_2 、硝酸、甲烯蓝、氯化三苯基四氮唑(TTC)、乙酸乙酯、磷酸等均为分析纯,购自广州化学试剂厂.

1.2 实验方法

1.2.1 培养液制备 将一定量的 nano-CuO 或 micron-CuO 粉末分别加入 1/4 全营养液^[7](以 1mol/L 氢氧化钠调节 pH 值为 6.8)中,超声(100W, 40kHz)分散 30min,制得含 nano-CuO 及 micron-CuO(10, 100mg/L)的培养液备用.铜离子处理培养液(1.4, 2.3mg/L)由 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 溶于 1/4 全营养液制备.

1.2.2 水培实验 选取大小均匀且籽粒饱满的水稻种子,经 2% H_2O_2 浸泡(10min)消毒后,用去离子水冲洗 5 遍,置于恒温培养箱(PYX-300G-B 型,科力仪器)中避光发芽,待水稻幼苗根伸长至 40mm 左右时,移至 1/4 营养液中(pH 值为 6.8)培养,直至两叶一心时,移至不同浓度 nano-CuO (10, 100mg/L)、micron-CuO(10, 100mg/L)或 Cu^{2+} (1.4, 2.3mg/L)及对照(未加污染物)培养液中(共 7 个处理)开始水培实验.培养液盛放于培养桶中(高 14cm,上内径 17cm,底径 12cm),每桶培养液体积为 2L,种植 6 株水稻(用泡沫板固定),每浓度处理设置 3 个平行.为避免光照影响,培养桶外壁依次覆盖一层锡纸和一层牛皮纸.水培实验于 2013 年 10 月 20 日开始在暨南大学环境学院温室进行,温度控制为(25 \pm 5) $^\circ\text{C}$,每 3d 更换一次培养液(包括 nano-CuO、micron-CuO 及 Cu^{2+} 处理).水培 14d 后,收获水稻植株进行各项指标测定.

1.3 测定项目及方法

1.3.1 培养液中纳米氧化铜及微米氧化铜溶出 Cu^{2+} 的测定 分别取新鲜配制的 nano-CuO(10, 100mg/L)及 micron-CuO 培养溶液(100mg/L)置于暗处,于 0, 1, 3, 8, 16, 24, 72, 120h 取上层清液,离心(8000 转/min, 30min),过 0.22 μm 滤膜后,采用火焰原子吸收光度计(AA7000 型,日本岛津)测定其 Cu^{2+} 浓度^[7].

1.3.2 水稻体内铜含量测定 用去离子水多次冲洗水稻植株样品,之后将其切分为根系及地上部分,置于 105 $^\circ\text{C}$ 烘箱杀青(15min),并于 70 $^\circ\text{C}$ 下烘干至恒重;以硝酸(HNO_3)为消解剂,于微波消解仪(MARS 型,美国 CEM)消解后,用火焰原子吸收光度计测定其铜含量.

1.3.3 水稻根表吸附纳米氧化铜及微米氧化铜

的观察 水培结束后,取水稻根尖样品 1~2cm,置于载玻片制成根尖切片,用光学显微镜(CX31型,奥林巴斯)在 4 倍放大条件下观察水稻根表对 nano-CuO 及 micron-CuO 的吸附情况^[7].

1.3.4 水稻体内纳米氧化铜的观察 水培结束后,用双面刀片切取清洗干净的水稻根尖样品(1mm)、茎部样品(1mm×1mm),用 4%戊二醛(pH 7.2)于 4℃条件下固定 5h,再用 1%锇酸固定 2h,之后经磷酸缓冲液(pH 2)漂洗,乙醇梯度脱水,环氧树脂包埋,醋酸铀染色,超薄切片(70~100nm)后,置于镍网,用场发射透射电镜(JEM-2100F 型 TEM,日本电子)观察水稻体内的 nano-CuO^[5,7],并用 X 射线能谱仪(EDS)进行元素分析.

1.3.5 水稻根系形态指标测定 采用根系扫描仪(LA-4800 型,上海鑫态)采集水稻根系图像后,用根系图像分析软件 WinRHIZO (Regent instruments Inc, 加拿大)进行分析,以此获得水稻总根长、根表面积、根直径、根尖数及根体积等参数^[11].

1.3.6 水稻根系生理指标测定 采用甲烯蓝法测定水稻根系表面积、总吸收面积和活跃吸收面积,采用三苯基氯化四氮唑(TTC)还原法^[19]测定水稻根系活力.

1.4 数据处理

采用 Excel 2007 进行数据统计及图形绘制,采用 SPSS 17.0 进行显著性分析和相关性分析.数据结果表示为平均值±标准偏差(Mean±SD),差异显著水平为 $P < 0.05$.

2 结果与讨论

2.1 纳米氧化铜培养液中铜离子溶出量

纳米金属材料的生物毒性与其溶出金属离子密切相关^[20].为此,本文以 micron-CuO (100mg/L)为对照,考察了不同静置时间(0~240h)培养液(pH 6.8)中 nano-CuO(10, 100mg/L)的铜离子(Cu^{2+})溶出量.结果显示,静置 0~72h, nano-CuO 及 micron-CuO 处理的 Cu^{2+} 溶出量均随静置时间增加而显著增加(图 1);静置 72h 后,二者的 Cu^{2+} 溶出量逐渐达到平衡,100mg/L nano-CuO 溶出 2.3mg/L Cu^{2+} ,显著高于对应浓度

(100mg/L)micron-CuO(1.4mg/L, $P < 0.05$),后者 Cu^{2+} 溶出量与 10mg/L nano-CuO(1.3mg/L)处理相当.据此,以 1.4mg/L Cu^{2+} 对应 10mg/L nano-CuO 和 100mg/L micron-CuO 的 Cu^{2+} 溶出量,以 2.3mg/L Cu^{2+} 对应 100nano-CuO 的 Cu^{2+} 溶出量进行后续实验.

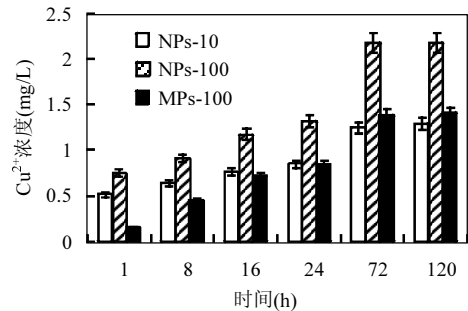


图1 不同静置时间培养液中 nano-CuO 溶出 Cu 的含量
Fig.1 Time-dependent dissolution of nano-CuO in nutrient solution

2.2 水稻根系对纳米氧化铜的吸附及吸收

由于粒径小,表面能大,纳米材料可通过机械粘附及根系分泌物包裹等方式吸附于植物根表^[21].从根尖切片可见,nano-CuO 及 micron-CuO 均可在水稻根表吸附,且前者吸附量明显高于后者(图 2).吸附于植物根表的纳米材料可被植物根系吸收,并向地上部转运^[22].由图 3 可见,各处理水稻根系铜含量均随其暴露浓度增加而显著提高($P < 0.05$),大小顺序为 nano-CuO(351~1444mg/kg dw) > micron-CuO(248~817mg/kg dw) > Cu^{2+} (147~220mg/kg dw).各处理水稻根系吸收铜后均可向地上部分转运,但转运能力及地上部分含量差异显著.就 nano-CuO 处理水稻而言,随暴露浓度的增加,其地上部分铜含量显著提高,在 9~45mg/kg 之间,转运系数(地上部与根部铜含量之比)则变化不大(0.026~0.031).Nano-CuO 对应 Cu^{2+} 处理在较低浓度下(1.4mg/L)高于 nano-CuO 处理(10mg/L)水稻地上部铜含量(14mg/kg dw),在较高浓度下(2.3mg/L 时铜含量为 26mg/kg dw)则低于 nano-CuO 处理;但铜离子处理的转运系数(0.095~0.118)远高于纳米氧化铜处理,指示两

种处理铜元素的转运方式不同,前者以 Cu^{2+} 方式转运,后者除可以 Cu^{2+} 转运外,还可能以 nano-CuO 颗粒形态直接转运.相比 nano-CuO 和 Cu^{2+} 处理,micron-CuO 处理水稻地上部分铜含量较

低,且随浓度变化不大,为 1.57~1.60mg/kg;其转运系数也较低,仅为 0.002~0.006,指示 micron-CuO 难以向水稻地上部分转运,这可能与其粒径较大有关.

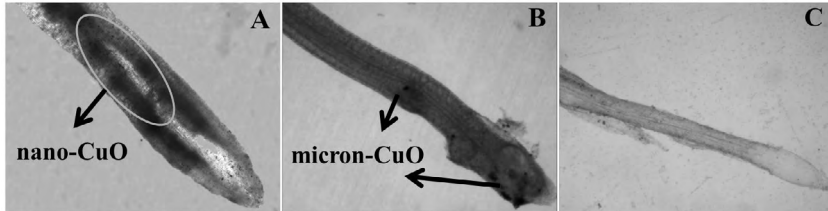


图 2 nano-CuO 及 micron-CuO 在水稻根表的吸附

Fig.2 The sorption of nano-CuO and micron-CuO in the root surface of rice

A-100mg/L nano-CuO,B-100mg/L micron-CuO,C-空白

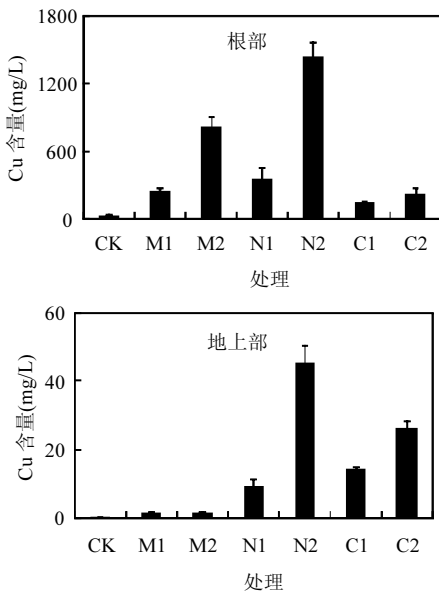


图 3 水稻根部及地上部铜含量

Fig.3 Copper contents in root/shoot of rice

CK-空白,M1、M2-10, 100mg/L micron-CuO,N1、N2-10, 100mg/L nano-CuO,C1、C2-1.4, 2.3mg/L Cu^{2+}

为进一步证实水稻根系对颗粒态 nano-CuO 的吸收、转运,取 100mg/L nano-CuO 处理水稻根尖及茎部样品分别制备透射电镜(TEM)切片观察.结果表明,水稻样品根部及茎部细胞质、细胞壁及细胞间隙中均可观察到“黑色颗粒状物质”,能谱分析显示这些颗粒物有较高的 Cu 元素峰和 O 元

素峰,指示其为 nano-CuO^[7](图 4).图 4 中较高的 Ni 元素峰和 C 元素峰分别是由于 TEM 切片观察时使用镍网支持膜以及植物组织背景元素造成的.根部及茎部同时存在 nano-CuO,指示其可被水稻根系以颗粒态形式向地上部转运.在根部及茎部细胞中,nano-CuO(20~120nm)主要以核内体(初级核内体及次级核内体)形式存在(图 4A,B).核内体为囊泡结构,是真核细胞内吞作用的主要运输载体^[7],其可分为初级核内体和次级核内体,前者主要以单囊泡形式存在,后者以密集空腔状囊泡存在^[23].物质以内吞作用进入细胞时,首先与初级核内体融合,之后初级核内体逐渐长成次级核内体,并与溶酶体结合释放内吞物质^[24].因此,大量 nano-CuO 颗粒被包裹存在于水稻根部及茎部初级核内体及次级核内体结构内,指示其主要通过内吞作用进入水稻根细胞和茎细胞.前人研究玉米对 nano-CuO 的吸收时也得到类似结果^[7].

2.3 纳米氧化铜对水稻根系形态及生理特征的影响

根系形态指标是反映植物生长情况的重要参数,也是植物胁迫响应的敏感指标^[11].与对照相比,nano-CuO(10, 100mg/L)显著影响水稻根系生长,并导致其形态指标参数显著变化,此变化随 nano-CuO 浓度增大而增大(表 1).各形态指标中,根尖个数(抑制率 58%~68%)和根尖分叉数(抑制

率 57%~74%)受 nano-CuO 抑制程度最大,其次为根体积(抑制率 31%~54%)和总根长(抑制率 31%~42%),根表面积所受抑制最小,抑制率在 24%~28%.与之不同,根直径和根比表面积受 nano-CuO 胁迫时显著增加,二者分别为对照的 1.1~1.6 倍(根比表面积)和 1.1~1.2 倍(根直径).研究表明,纳米材料可干扰植物根冠生长激素分布,破坏根伸长区微管正常排列,并扰乱根分生区细胞分裂^[25],从而显著抑制植物根系的生长和分叉.同时,由于根细胞分裂和纵向伸长受阻,导致其横向堆积,从而使得根直径显著增加^[7].因此,水稻幼苗根系受 nano-CuO 胁迫时,根尖数显著减少($P < 0.05$),根体积和根伸长显著萎缩($P < 0.05$),而根直径显著增大($P < 0.05$).另外,由于根表面积受 nano-CuO 抑制作用较少;而根体积受抑制作用较大,故根比表面积(二者之比)在 nano-CuO 胁迫下有所增加.相关性分析显示,水稻根系铜含量与其

各形态指标(除根表面积外)均存在显著相关关系($P < 0.05$),与根直径及根比表面积为正相关,与其他指标为负相关(表 1),指示吸收积累铜是 nano-CuO 导致水稻根系毒性的重要原因.值得注意的是,nano-CuO(10, 100mg/L)对水稻幼苗根系各指标的影响总体大于其对应浓度 micron-CuO(10, 100mg/L)和 Cu^{2+} (1.4, 2.3mg/L);其中总根长、根体积和比表面积是 nano-CuO 毒性的敏感指标,三者在 nano-CuO 胁迫下的毒性效应显著强于 micron-CuO 和 Cu^{2+} 胁迫的毒性效应, ($P < 0.05$).上述结果指示,除化学成分(CuO)及溶出离子(Cu^{2+})外,纳米效应可能也是 nano-CuO 对水稻幼苗根系毒性的重要原因.Nano-CuO 粒径小、比表面积较大,易被水稻幼苗根系吸附、吸收,且其表面存在缺陷,易形成电子-空穴对,诱导活性氧化物质(ROS)如 O^{2-} 、 $\cdot OH$ 等在水稻幼苗根系表面及体内产生^[26-27],从而产生纳米效应并致毒.

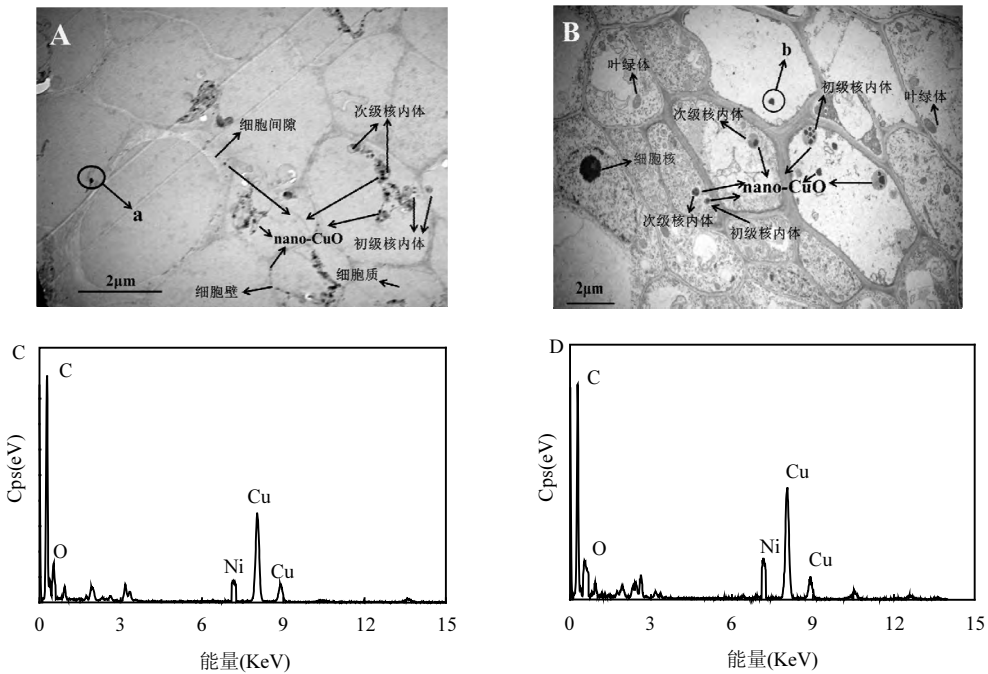


图 4 100mg/L nano-CuO 处理条件下水稻根部及茎部透射电镜图片和能谱

Fig.4 TEM images and energy-dispersive spectroscopy (EDS) spectra of root and stem of rice exposure to 100mg/L nano-CuO

A-根细胞,B-茎细胞,C-根细胞中 a 的 EDS 图谱,D-茎细胞中 b 的 EDS 图谱

表 1 水稻幼苗根系形态特征

Table 1 Morphological characteristics of rice seedling roots

指标	处理							
	CK	M1	M2	N1	N2	C1	C2	R2 ²⁾
总根长(cm)	672±18d ¹⁾	551±57c	429±5b	466±27b	390±4a	681±40d	528±8c	-0.909* ³⁾
根表面积(cm ²)	145±2c	126±4bc	101±2a	110±4ab	105±4ab	147±23c	120±24ab	-0.631
根直径(mm)	0.69±0.01ab	0.74±0.01b	0.75±0.01b	0.74±0.04b	0.86±0.04c	0.62±0.026a	0.66±0.07a	0.875*
根体积(cm ³)	2.51±0.02d	2.42±0.05d	1.89±0.06bc	1.73±0.15b	1.15±0.05a	2.34±0.02d	2.03±0.26c	-0.954*
根尖数(个)	1763±64d	622±98a	612±56a	745±33a	558±36a	1279±185c	981±141b	-0.967*
根尖分叉数(个)	1509±216d	705±61b	591±54b	649±41b	395±35a	1333±54d	1067±121c	-0.960*
比表面积(m ² /m ³)	58±4.8abc	52±3.9a	53±3.5ab	64±5.4c	91±6.4d	63±4.2bc	59±7.4abc	0.958*

注:CK-空白,M1、M2-10, 100mg/L micron-CuO,N1、N2-10, 100mg/L nano-CuO,C1、C2-1.4, 2.3mg/L Cu²⁺,¹⁾-同行含相同字母者差异不显著($P > 0.05$),²⁾-根系铜含量与nano-CuO对该指标影响间的相关系数,³⁾-显著相关($P < 0.05$)

2.4 纳米氧化铜对水稻根系生理指标的影响

根系生理指标是反映其吸收能力和代谢强度的重要参数,其在污染物胁迫下的特征响应是评价污染物毒性效应的重要指标^[11,19].水稻幼苗根系生理指标对 nano-CuO(10,100mg/L)及其对应 micron-CuO(10,100mg/L)和 Cu²⁺(1.4,2.3mg/L)的胁迫响应较为复杂(表 2).就根系活力而言,与空白相比,低浓度 nano-CuO(10mg/L)及 Cu²⁺(1.4mg/L)处理条件下显著增加($P < 0.05$),而高浓度 nano-CuO(100mg/L)处理条件下显著降低($P < 0.05$),其余处理条件下无显著变化;就总表面积而言,与空白相比,高浓度 micron-CuO 处理条件下显著提高($P < 0.05$),而高浓度 nano-CuO 处理条件下显著降低($P < 0.05$),其余处理条件下无显著变化;就活跃吸收面积而言,与空白相比, micron-

CuO 各浓度及低浓度 Cu²⁺处理条件下均显著提高($P < 0.05$),而其余处理条件下无显著变化;就活跃吸收面积比率而言,除高浓度 nano-CuO 较空白处理显著提高外($P < 0.05$),其余处理较空白处理差异不显著.上述结果表明,在低浓度 nano-CuO 或 micron-CuO 及 Cu²⁺胁迫下,水稻幼苗根系防御系统被激活,产生应激反应,并通过提高(或维持)根系活力、总吸收面积或活跃吸收面积,以加快自身新陈代谢,为防御系统抵御污染胁迫提供能量,并加快污染物在其体内的转运,从而缓解污染物胁迫造成的损害^[28].然而,高浓度 nano-CuO 胁迫下,水稻幼苗根系受到严重损伤,难以构建有效的防御机制抵御胁迫,从而严重影响其吸收、代谢能力,并使其根系活力和总吸收面积显著下降.

表 2 水稻幼苗根系生理特征

Table 2 Physiological characteristics of rice seedling roots

指标	处理						
	CK	M1	M2	N1	N2	C1	C2
根系活力[μg/(g·h)]	274±56b ¹⁾	287±27b	301±48b	373±45c	208±22a	400±39c	261±17ab
总吸收面积(cm ²)	17.1±1.6b	20.3±1.9bc	22.4±2.1c	18.2±1.7bc	13.2±1.2a	20.8±2.0bc	20.3±1.9bc
活跃吸收面积(cm ²)	6.9±0.3ab	8.3±0.8cd	8.8±0.8d	7.2±0.7abc	6.1±0.7a	8.8±0.8d	7.8±0.7bcd
活跃吸收面积比率(%)	40±3.8a	41±3.9a	39±3.7a	39±3.7a	46±1.3b	42±3.9a	39±3.6a

注:CK-空白,M1、M2-10, 100mg/L micron-CuO,N1、N2-10, 100mg/L nano-CuO,C1、C2-1.4, 2.3mg/L Cu²⁺,¹⁾-同行含相同字母者差异不显著($P > 0.05$)

3 结论

3.1 水稻幼苗根系可吸收、积累纳米氧化铜

(nano-CuO),并转运至地上部.

3.2 Nano-CuO 在水稻根细胞中主要存在于核内体中,指示内吞作用是其进入根细胞的主要

方式.

3.3 Nano-CuO 对水稻幼苗根系有较强的毒性作用,其敏感指标为总根长、根体积和比表面积.Nano-CuO 的吸收累积及纳米效应是其水稻根系毒性的主要原因.

参考文献:

- [1] 林道辉,冀 静,田小利,等.纳米材料的环境行为与生物毒性[J]. 科学通报, 2009,54(29):3590-3604.
- [2] Sereice R F. Nanomaterials show signs of toxicity [J]. Science, 2003,300(4):243.
- [3] Maenard A D. Safe handling of nanotechnology [J]. Nature, 2006, 444(16):267-269.
- [4] Zhang Y, Chen Y S, Westerhoff P, et al. Stability of commercial metal oxide nanoparticles in water [J]. Water Research, 2008, 42(8/9):2204-2212.
- [5] Lin D H, Xing B S. Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles [J]. Environmental Science and Technology, 2008, 42(15):5580-5585.
- [6] Rico C M, Majumdar S, Duarte-Gardea M, et al. Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011,59(3):3485-3498.
- [7] Wang Z Y, Xie X Y, Zhao J, et al. Xylem- and Phloem-Based Transport of CuO Nanoparticles in Maize (*Zea mays* L.) [J]. Environmental Science and Technology, 2012,46(3):4434-4441.
- [8] Ma Y H, Kuang L L, He X, et al. Effects of rare earth oxide nanoparticles on root elongation of plants [J]. Chemosphere, 2010,78(3):273-279.
- [9] 陈世宝,孙 聪,魏 威,等.根细胞壁及其组分差异对植物吸附、转运 Zn 的影响 [J]. 中国环境科学, 2012,32(9):1670-1676.
- [10] 刘晶晶,李 敏,曲 博,等.湿地挺水植物根系土壤中的磷形态变化与分析 [J]. 中国环境科学, 2013,33(11):2040-2046.
- [11] 曾巧云,莫测辉,蔡全英,等.两种基因型菜心根系形态和生理特性差异对其吸收累积 DEHP 影响的初步研究 [J]. 环境科学学报, 2010,30(6):1280-1285.
- [12] 向 垒,莫测辉,卢锡洪,等.纳米氧化铜对白菜种子发芽的毒害作用研究 [J]. 农业环境科学学报, 2011,30(9):1830-1835.
- [13] Lin D, Xing B. Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth [J]. Environmental Pollution, 2007, 150(1):243-250.
- [14] Zhang P, Ma Y H, Zhang Z Y, et al. Comparative toxicity of nanoparticulate/bulk Yb_2O_3 and $YbCl_3$ to cucumber (*Cucumis sativus*) [J]. Environmental Science and Technology, 2012,46(3): 1834-1841.
- [15] 王淑玲,张玉喜,刘汉柱,等.氧化铜纳米颗粒对水稻幼苗根系代谢毒性的研究 [J]. 环境科学, 2014,35(5):1969-1973.
- [16] 雷静静,冯 佳,谢树莲.纳米氧化银对 3 种绿藻的毒性效应 [J]. 中国环境科学, 2013,33(10):1842-1849.
- [17] 苑志华,汤晓琳,白炎青,等.纳米银对小球藻光合作用和呼吸作用的影响 [J]. 中国环境科学, 2013,33(8):1468-1473.
- [18] 周 航,周 歆,曾 敏,等.2 种组配改良剂对稻田土壤重金属有效性的效果 [J]. 中国环境科学, 2014,34(2):437-444.
- [19] 邹 琦.植物生理生化实验指导 [M]. 北京:中国农业出版社, 2000.
- [20] Heinlaan M, Ivask A, Blinova I, et al. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO_2 to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus* [J]. Chemosphere, 2008,71(7):1308-1316.
- [21] Dimkpa C O, Latta D E, McLean J E, et al. Fate of CuO and ZnO nano- and microparticles in the plant environment [J]. Environmental Science and Technology, 2013,47(3):4734-4742.
- [22] Zhou D M, Jin S Y, Li L Z, et al. Quantifying the adsorption and uptake of CuO nanoparticles by wheat root based on chemical extractions [J]. Journal of Environmental Sciences, 2011,23(11): 1852-1857.
- [23] Ira M. Endocytosis and molecular sorting [J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 1996,12(11):575-625.
- [24] Rink J, Chigo E, Kalaidzidis Y, et al. Rab conversion as a mechanism of progression from early to late endosomes [J]. Cell, 2005,122(5):735-749.
- [25] Liu Q, Zhao Y, Wan Y, et al. Study of the inhibitory effect of water-soluble fullerenes on plant growth at the cellular level [J]. ACS Nano, 2010,4(10):5743-5748.
- [26] Griffitt R J, Weil R, Hyndman K A, et al. Exposure to copper nanoparticles causes gill injury and acute lethality in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Environmental Science and Technology, 2007,41(23):8178-8186.
- [27] Asharani P V, Wu Y L, Gong Z Y, et al. Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models [J]. Nanotechnology, 2008, 19(25):102-225.
- [28] 金盛杨,王玉军,汪 鹏,等.纳米氧化铜对小麦根系生理生化行为的影响 [J]. 土壤, 2011,43(4):605-610.

作者简介: 刘 涛(1991-),男,江西上饶人,暨南大学环境学院硕士研究生,从事纳米金属材料安全性评价.发表论文 1 篇.