

乙草胺对小麦生理机能的影响与生物标记物识别

晁雷^{1,2}, 周启星^{1,3*}, 陈苏^{1,2}, 崔爽^{1,2}

(1. 中国科学院沈阳应用生态研究所陆地生态过程重点实验室, 沈阳 110016; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049; 3. 南开大学环境科学与工程学院, 天津 300071)

摘要: 对乙草胺胁迫下小麦幼苗叶片的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性、可溶性蛋白含量、丙二醛(MDA)以及叶片中叶绿素含量的变化进行了研究. 结果表明, 乙草胺处理小麦幼苗 1 d 后, 叶片 MDA 含量显著增加, 说明了乙草胺处理诱导有毒活性氧(AOS)生成, 但随着处理时间的延长, 不同浓度处理与对照的差异逐渐减小. 对小麦叶片中 POD 活性变化的研究表明, 在乙草胺胁迫的开始阶段, 植物有能力抵抗低浓度乙草胺污染所产生的氧化胁迫, 但是, 随着暴露时间的延长和污染物浓度的增加, 这种抵抗能力将会消失. 对小麦 SOD 活性的研究表明, 小麦叶片中 POD 酶活的上升可能与其它途径而不是 SOD 诱导产生的 H_2O_2 有关. 小麦叶片中 MDA 含量和 POD 活性不能作为土壤乙草胺污染的生物标记物. 小麦叶片中 SOD 酶活性有着作为乙草胺污染土壤生物标记物的潜力, 但还需要进一步研究. 小麦叶片叶绿素含量和可溶性蛋白含量可以作为乙草胺污染胁迫的生物标记物, 并且小麦幼苗叶片可溶性蛋白含量与土壤乙草胺浓度之间具有较好的剂量-效应关系.

关键词: 生态毒理; 抗氧化酶; 乙草胺; 生物标记物; 小麦(*Triticum aestivum* L.)

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2007)04-0866-06

Effects of Herbicide Acetochlor on Physiological Mechanisms in Wheat and Biomarkers Identification

CHAO Lei^{1,2}, ZHOU Qi-xing^{1,3}, CHEN Su^{1,2}, CUI Shuang^{1,2}

(1. Key Laboratory of Terrestrial Ecological Process, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; 2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: Changes of the activity of antioxidant enzymes including peroxidases (POD) and superoxide dismutases (SOD) and the contents of chlorophyll (CHL), malondialdehyde (MDA), and soluble proteins (SP) in wheat (*Triticum aestivum* L.) under the stress of acetochlor in soil were examined. The increased MDA level detected in the leaves of wheat after 1 day exposure of acetochlor indicated the presence of poisoning AOS. However, the difference of MDA levels in leaves of different concentrations of acetochlor decreased with the prolonged exposure. The data of POD could suggest that the plant had the capacity to counteract the oxidative stress caused by lower concentration of acetochlor, but the capacity would be lost with exposure time. It is indicated that the increase of POD activity in the leaves may be caused by H_2O_2 produced from sources other than SOD. The activity of POD and contents of MDA could not be considered as biomarkers of stress by acetochlor in soil. While the activity of SOD could be considered as biomarkers of stress by acetochlor in soil need farther research. But the contents of CHL and SP could be considered as biomarkers of stress by acetochlor in soil and there are dose-response relationships between the SP content in leaves and the concentration of acetochlor in soil.

Key words: ecotoxicological effect; antioxidant enzyme; acetochlor; biomarker; wheat (*Triticum aestivum* L.)

乙草胺自 1982 年发明以来, 一直在世界范围内广泛地应用于农田除草^[1,2]. 乙草胺也是我国东北地区应用最为广泛的 3 种除草剂之一^[3], 其在我国的年使用量高达 10^4 t^[4]. 乙草胺的长期和大量使用势必会造成其在土壤和水体中的大量残留^[5,6], 乙草胺及其代谢产物对环境污染问题引起人们越来越多关注^[7-11]. 当前对除草剂的研究主要集中在其对植物生长的影响和降解上, 对于除草剂对植物和植物-土壤系统生理机能所产生的不利影响和除草剂污染土壤的诊断的研究较少.

植物在暴露于外界不良环境中会导致植物体内

活性氧(active oxygen species, AOS)积累而引起氧化胁迫, 使植物组织受到伤害^[12,13]. AOS 能够破坏细胞膜脂、蛋白质、细胞色素以及核酸等, 使植物的生活力和生产力大幅下降, 生长发育异常, 甚至使某些植物种类死亡^[14]. 同时, 植物在进化过程中也形成

收稿日期: 2006-05-07; 修订日期: 2006-06-09

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2004CB418503); 国家杰出青年科学基金项目(20225722); 国家自然科学基金重点项目(20337010)

作者简介: 晁雷(1978~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为陆地生态系统污染生态学, E-mail: mailchaolei@yahoo.com.cn

* 通讯联系人, E-mail: zhouqixing2003@yahoo.com

了各种清除和降低 AOS 的保护机制, 抗氧化酶系统[包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等]就是其中之一^[15]. 本实验对乙草胺胁迫引起的小麦幼苗抗氧化酶活性、可溶性蛋白(SP)含量以及叶绿素和 MDA 含量的变化进行研究, 旨在探索乙草胺胁迫下的植物和植物-土壤系统的生理机制, 并且试图探索新的污染土壤诊断方法和发现能够指示土壤-植物系统乙草胺污染的生物标记物, 从而避免单纯地依靠化学方法对除草剂污染土壤进行诊断所产生的不全面性和不科学性^[16, 17].

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试小麦(*Triticum aestivum* L.)为辽春 14 号, 由辽宁省稻作研究所提供. 供试土壤为草甸壤, 取自中国科学院沈阳生态实验站(41°31'N, 123°41'E)休耕地的表层土壤(0~20 cm), 该地块 8a 内未施任何农用化学品.

为了模拟农田的实际情况, 乙草胺采用市售药品, 由大连瑞泽农药有限公司生产, 乙草胺的实际含量为 49%.

1.2 植物培养

用 3.0% 的次氯酸钠溶液浸泡小麦种子 5 min, 对种子进行灭菌, 之后用蒸馏水对种子进行反复冲洗. 将小麦种子放入光照培养箱中, 25℃催芽 72h, 发芽后在光照培养箱中用营养液进行培养, 光照培养箱内温度保持在 25℃, 并进行 12 h 光照, 12 h 黑暗的循环处理, 培养时间为 7 d. 另在 500 g 风干土中均匀拌入乙草胺^[18], 最终使土壤中的乙草胺含量分别为 0, 5, 15, 20 和 40 mg·kg⁻¹. 以上浓度分别对应于小麦根伸长抑制率的 0%, 27%, 41%, 51% 和 75%. 将在光照培养箱中水培 7 d 后的小麦幼苗移植到乙草胺不同浓度土壤中, 于处理后的 1, 2, 3, 4 d 分别取幼苗第 3 位叶片进行各项生理指标的测定.

1.3 叶绿素(CHL)和丙二醛(MDA)的测定

叶绿素(CHL)和丙二醛(MDA)的测定, 按照 Hegedüs 等^[19]提出的方法进行. 其中, CHL 的测定作以下改进: 取 0.1 g 小麦叶片加入 80% 丙酮溶液, 浸提 24 h 后分光光度计测定浸提液的吸光值, 单位为 mg/g.

1.4 酶液提取

取 0.1 g 新鲜叶片组织在预冷的磷酸盐(pH 7.8)中匀浆, 4℃下 13 000 r·min⁻¹离心 30 min, 上清液即为酶液提取液.

1.5 可溶性蛋白(SP)含量及酶活测定

根据 Bradford 的考马斯亮兰法测定 SP 含量^[20], 用牛血清蛋白作标准曲线, 单位: mg/g. SOD 活性根据 Wu 等的方法测定^[21], 以每单位时间内抑制光化还原 50% 的氮蓝四唑(NBT)为 1 个酶活力单位. POD 活性用愈创木酚法, 以每 min 光密度变化表示酶活性大小, 单位为 kU/g.

1.6 统计分析

所有的测定指标重复 4 次, 每个酶活测定 3 次重复. 所得数据进行乙草胺浓度和处理时间间隔的方差分析, 并计算标准差(SD).

2 结果与讨论

2.1 小麦叶片 MDA 浓度的变化

MDA 形成被认为是脂肪过氧化的总体指示. 由表 1 可知, 小麦叶片中 MDA 水平随着处理时间的变化而变化, 但是两者之间不具有显著的相关性($p > 0.05$). 叶片中 MDA 水平的峰值出现在处理 1 d 后, 土壤中乙草胺浓度为 40 mg·kg⁻¹时. 处理 1 d 后, 小麦叶片中 MDA 含量随着土壤中乙草胺浓度的增加而增加, 当土壤中乙草胺浓度为 5~40 mg·kg⁻¹时, 乙草胺浓度与 MDA 浓度之间具有显著的相关性($p < 0.05$). 处理 2~4 d 后, 土壤中乙草胺浓度为 5~40 mg·kg⁻¹时小麦叶片中 MDA 浓度与土壤中乙草胺浓度之间没有显著的相关性($p > 0.05$).

表 1 乙草胺处理下小麦幼苗叶片 MDA 浓度变化¹⁾/mol·g⁻¹
Table 1 Effects of acetochlor on the content of MDA in wheat seedlings /mol·g⁻¹

时间/d	乙草胺浓度/mg·kg ⁻¹				
	0	5	15	20	40
1	1.144 ± 0.266c	1.509 ± 0.009c	2.021 ± 0.148bc	2.221 ± 0.138b	2.921 ± 0.145a
2	1.443 ± 0.187c	2.443 ± 0.056a	2.507 ± 0.011a	1.845 ± 0.256b	1.945 ± 0.089b
3	1.487 ± 0.161b	1.508 ± 0.032b	1.836 ± 0.087a	1.878 ± 0.121a	1.589 ± 0.056b
4	1.556 ± 0.182a	1.714 ± 0.211a	1.489 ± 0.188a	1.593 ± 0.132a	1.567 ± 0.067a

1)表中数据为平均值±标准差, 显著性水平为 5%

MDA 的生成表明了氧化胁迫的存在.经过 1 d 处理后小麦叶中 MDA 含量显著增加表明乙草胺处理诱导了有毒 AOS 生成.而且小麦叶中 MDA 增加量随着土壤中乙草胺浓度的增加而增加,这与在重金属胁迫下植物体内 MDA 含量的变化相类似,在重金属胁迫下植物体内的 MDA 含量也始终高于对照值^[22,23],说明在开始阶段,乙草胺与重金属对植物正常的代谢过程影响机理可能是相同的.随着处理天数的增加,不同处理浓度的叶片 MDA 含量的差异性逐渐减小.在处理 4 d 后,各处理与对照之间没有显著差异($p > 0.05$),而且当土壤中乙草胺浓度为 $15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,小麦叶片中 MDA 浓度甚至低于对照.由于小麦叶片中 MDA 含量随着处理时间的延长,从高于对照转变为低于对照,并不能表现为特定的生物

信号^[24].所以小麦叶片中 MDA 含量不能作为乙草胺污染土壤的生物标记物.

2.2 小麦叶片 POD 活性的变化

POD 酶活性的改变如表 2 所示.经过乙草胺 1 d 处理, $5\sim 20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 乙草胺处理的小麦叶片中的 POD 活性变化并不显著($p > 0.05$),在 $5\sim 20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 乙草胺的几个处理之间没有显著性差异.经过 2 d 处理后,小麦叶片中 POD 酶活性明显高于对照,并且随着乙草胺浓度升高以及处理时间的延长出现不规律的波动.经过 $3\sim 4\text{ d}$ 处理后,各处理与对照间的差异减小.在处理 4 d 后, $15\sim 40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 乙草胺处理的小麦 POD 活性明显低于对照.在 $20\sim 40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 乙草胺处理的小麦 POD 活性都在处理的第 1 d 达到最大,之后随着处理时间的延长而减小.

表 2 乙草胺处理下小麦幼苗叶片 POD 活性变化¹⁾/kU·g⁻¹
Table 2 Effects of acetochlor on the activity of POD in wheat seedlings /kU·g⁻¹

时间/d	乙草胺浓度/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$				
	0	5	15	20	40
1	$0.090\pm 0.030\text{a}$	$0.074\pm 0.005\text{a}$	$0.074\pm 0.011\text{a}$	$0.107\pm 0.001\text{a}$	$0.168\pm 0.004\text{b}$
2	$0.089\pm 0.002\text{d}$	$0.128\pm 0.003\text{b}$	$0.143\pm 0.007\text{a}$	$0.107\pm 0.001\text{c}$	$0.109\pm 0.003\text{c}$
3	$0.083\pm 0.005\text{bc}$	$0.091\pm 0.004\text{a}$	$0.079\pm 0.002\text{cd}$	$0.086\pm 0.003\text{ab}$	$0.076\pm 0.003\text{d}$
4	$0.084\pm 0.009\text{b}$	$0.115\pm 0.002\text{a}$	$0.071\pm 0.005\text{c}$	$0.064\pm 0.002\text{c}$	$0.061\pm 0.002\text{c}$

1)表中数据为平均值±标准差,显著性水平为 5%

在众多的涉及清除 AOS 的酶中,愈创木酚过氧化物酶被认为是最重要的酶之一,因为它既作为胞内酶又可作为胞外酶来参与 H_2O_2 的分解^[14].本实验中在处理 1 d 后,随着乙草胺浓度的增加,植物体内 POD 活性也随之增加,这与在重金属的胁迫下植物体内 POD 活性变化规律相一致^[23,25].从本实验可知,在土壤中乙草胺浓度为 $5\sim 15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 范围内,小麦叶中 POD 的活性在处理 1 d 后低于对照值,而在处理 2 d 后又高于对照值.有研究认为 POD 酶活对重金属或其它化合物的反应与细胞内已有的或由胁迫诱导的巯基基团的浓度有关,因为这些基团的作用是抵抗氧化胁迫^[26].本实验也说明当乙草胺的浓度较低的时候(乙草胺浓度为 $5\sim 15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),植物有能力在胁迫产生的开始阶段抵消氧化胁迫.但是随着胁迫时间的延长和污染物浓度的增加这种抵抗胁迫的能力会随之消失.所获数据也证实了这一点,在 $20\sim 40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 乙草胺处理的小麦 POD 活性随着处理时间的延长而减小,说明植物正在逐渐的丧失这种抵抗胁迫的能力.MDA 是膜脂过氧化产

物,它的含量可以在一定程度上反映膜损伤程度的大小,一般来说活性氧清除能力的下降,将导致 MDA 含量的增加,但是在本实验中,MDA 含量虽然有波动但总体上呈下降趋势,这与其他人的研究相矛盾^[15,23].由于抗氧化酶系统还涉及到过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽-抗坏血酸循环中的各种酶和还原性谷胱甘肽(GSH)、抗坏血酸(AsA)、维生素 E、维生素 C 等抗氧化剂,它们均能在一定范围内及时清除过多的活性氧以维持机体内自由基代谢的动态平衡.所以这种矛盾的产生还需要通过对以上酶系的进一步研究来解释.实验结果还表明,随着乙草胺浓度的增加,POD 活性变化没有一定规律,因此小麦幼苗叶片的 POD 含量不适于作为土壤乙草胺污染的生物标记物.

2.3 小麦叶片 SOD 活性的变化

小麦 SOD 随土壤中乙草胺浓度的变化如表 3 所示,对于土壤中乙草胺的浓度为 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,经过 1 d 的处理,叶中的 SOD 活性比对照高,但增加的并不显著,经过 $2\sim 4\text{ d}$ 的处理后,叶片中 SOD 活性下降,且与对照有显著差异($p < 0.05$).对于土壤中

乙草胺的其它处理浓度,不论处理几天,叶片中 SOD 活性始终低于对照.经过乙草胺 1 d 处理,不同处理浓度小麦叶片中 SOD 活性与对照差相比差异并不显著.但随着处理时间的延长,不同处理浓度小麦叶片中 SOD 活性与对照差异开始变得显著,尤其是在处理的第 2 d,各处理浓度的 SOD 活性差异极显著 ($p < 0.01$).当土壤中乙草胺浓度为 $15 \sim 40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,在实验时间范围内,小麦叶片中 SOD 酶活性始

终低于对照,但不具有明显的剂量-效应关系,所以小麦叶片中 SOD 酶活性有着作为乙草胺污染土壤生物标记物的潜力.对于土壤中乙草胺的浓度为 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,经过 1 d 的处理,叶中的 SOD 活性比对照高的现象产生原因还需进一步研究.

SOD 酶是清除正常代谢过程以及氧化因子诱导产生的 $\text{O}_2^{\cdot -}$ 的首要酶,在防止有毒 AOS 积累时具有重要作用^[16]. SOD 酶活的增加导致植物体内 H_2O_2

表 3 乙草胺处理下小麦幼苗叶片 SOD 活性变化¹⁾/kU·g⁻¹
Table 3 Effects of acetochlor on the activity of SOD in wheat seedlings/kU·g⁻¹

时间/d	乙草胺浓度/mg·kg ⁻¹				
	0	5	15	20	40
1	2.140 ± 0.014ab	2.190 ± 0.071a	2.010 ± 0.042ab	2.015 ± 0.092ab	1.965 ± 0.021b
2	2.145 ± 0.021a	1.750 ± 0.028b	1.870 ± 0.027c	1.940 ± 0.014d	1.625 ± 0.021e
3	2.065 ± 0.022a	1.940 ± 0.014b	1.761 ± 0.028d	1.852 ± 0.014c	1.695 ± 0.007e
4	1.965 ± 0.008a	1.755 ± 0.049c	1.825 ± 0.035b	1.815 ± 0.021b	1.551 ± 0.042d

1)表中数据为平均值 ± 标准差,显著性水平为 5%

含量升高,因此,SOD 酶的诱导与清除 H_2O_2 的酶活升高一致.SOD 与 H_2O_2 清除酶之间的合作在植物抵抗环境胁迫时有重要作用.在实验中,小麦叶中 SOD 活性在受到乙草胺胁迫后大多有所降低,而且随着乙草胺胁迫时间的延长,抑制现象更明显.根据以上结果,SOD 酶产生的 H_2O_2 量应该较少,而 MDA 含量的上升表明氧化胁迫的存在,因此小麦叶片中 POD 酶活的上升可能与其它途径而不是 SOD 诱导产生的 H_2O_2 有关.

2.4 小麦叶片叶绿素浓度的变化

小麦叶绿素含量随乙草胺浓度与时间的变化如表 4 所示.当土壤中乙草胺浓度为 $15 \sim 40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,小麦叶片中叶绿素含量显著的低于对照值 ($p < 0.05$).然而随着土壤中乙草胺浓度的增加,各处理小麦叶片叶绿素含量并没有明显的变化.对不同测量时间的多重比较显示,当土壤中的乙草胺浓度为 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,小麦叶片中叶绿素的含量与对照没有显著的差异($p > 0.05$).

表 4 乙草胺处理下小麦幼苗叶片叶绿素含量变化¹⁾/mg·g⁻¹
Table 4 Effects of acetochlor on the content of chlorophyll in wheat seedlings /mg·g⁻¹

时间/d	乙草胺浓度/mg·kg ⁻¹				
	0	5	15	20	40
1	1.291 ± 0.211a	1.262 ± 0.063a	1.139 ± 0.046ab	1.088 ± 0.061ab	0.976 ± 0.071b
2	1.265 ± 0.079a	1.184 ± 0.012a	0.958 ± 0.077b	0.942 ± 0.042b	0.784 ± 0.082c
3	1.292 ± 0.052a	1.214 ± 0.112a	1.036 ± 0.131ab	0.879 ± 0.058ab	0.927 ± 0.157b
4	1.430 ± 0.231a	1.410 ± 0.041a	0.987 ± 0.112b	0.851 ± 0.096b	0.910 ± 0.159b

1)表中数据为平均值 ± 标准差,显著性水平为 5%

作为 1 种可见的现象,叶绿素含量的减少可以作为小麦受到土壤中的乙草胺胁迫后生长受到损伤的指示.与重金属对小麦的作用相类似^[19],高浓度的除草剂抑制了植物体内叶绿素的积累.当土壤中的乙草胺浓度为 $15 \sim 40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,小麦的叶绿素

含量显著下降.但是在同一测量时间内不同乙草胺处理浓度之间的叶绿素浓度差异并不显著,这说明叶绿素含量与土壤中的乙草胺含量之间并没有显著的剂量-效应关系.

2.5 小麦叶片可溶性蛋白浓度的变化

小麦幼苗叶片的 SP 含量在乙草胺处理后都呈现下降(表 5),在处理的 1 ~ 2 d 后,处理浓度与 SP 含量之间没有显著差异($p > 0.05$),但是在处理 3 ~ 4 d 后,SP 含量与处理浓度之间有显著差异($p < 0.05$),并且处理浓度与 SP 含量显著相关。

在重金属、化学物质等胁迫的条件下,植物体内可溶性蛋白的含量将会下降^[21,22]。本研究结果也说明在乙草胺胁迫下,小麦叶中可溶性蛋白含量有所下降,表明了叶片 SP 能够作为土壤乙草胺污染的生物标记物,并且小麦幼苗叶片可溶性蛋白含量与乙

表 5 乙草胺处理下小麦幼苗叶片 SP 浓度变化¹⁾/mg·g⁻¹
Table 5 Effects of acetochlor on the content of SP in wheat seedlings /mg·g⁻¹

时间/d	乙草胺浓度/mg·kg ⁻¹				
	0	5	15	20	40
1	10.559 ± 0.212a	7.578 ± 0.414bc	7.530 ± 0.354bc	7.817 ± 0.707b	6.910 ± 0.687c
2	9.425 ± 0.912a	6.977 ± 838b	6.529 ± 0.273b	6.481 ± 0.607b	6.181 ± 0.273b
3	9.959 ± 0.311a	7.254 ± 0.371b	6.854 ± 0.314c	6.617 ± 0.219d	6.249 ± 0.314e
4	10.283 ± 0.548a	7.692 ± 0.424b	6.741 ± 0.311c	6.302 ± 0.607cd	6.123 ± 0.318d

1)表中数据为平均值 ± 标准差,显著性水平为 5%

草胺浓度之间具有较好的剂量-效应关系。

3 结论

(1)乙草胺处理小麦幼苗 1 d 后,叶片 MDA 含量的显著增加表明了乙草胺处理诱导有毒 AOS 生成,但随着处理时间的延长,不同浓度处理与对照的差异逐渐减小,而且当土壤中的乙草胺浓度为 15 mg·kg⁻¹时,在处理 4 d 后,小麦叶片中 MDA 浓度甚至低于对照,说明叶片中 MDA 含量不能作为土壤乙草胺污染的生物标记物。

(2)对小麦叶片中 POD 活性变化的研究表明,在乙草胺胁迫的在开始阶段,植物有能力抵抗低浓度乙草胺污染所产生的氧化胁迫,但是,随着暴露时间的延长,这种抵抗能力将会消失,小麦叶片中 POD 活性不能作为土壤乙草胺污染的生物标记物。

(3)对小麦 SOD 活性的研究表明,小麦叶片中 POD 酶活的上升可能与其它途径而不是 SOD 诱导产生的 H₂O₂ 有关,小麦叶片中 SOD 酶活性有着作为乙草胺污染土壤生物标记物的潜力,但还需要进一步研究。

(4)高浓度的乙草胺可显著影响小麦叶片叶绿素的积累,作为可见症状之一,叶绿素含量的下降能够用来指示乙草胺对小麦幼苗生长和发育的危害。

(5)小麦叶片可溶性蛋白含量可以作为乙草胺污染胁迫的生物标记物,而且小麦幼苗叶片可溶性蛋白含量与乙草胺浓度之间具有较好的剂量-效应关系。

参考文献:

[1] Lolpin D W, Nations B K, Goolsby D A. Acetochlor in the hydrologic system in the Midwestern United States [J]. Environ. Sci. Technol., 1996, 30: 1459 ~ 1464.

[2] 朱九生,乔雄梧,王静,等. 乙草胺在土壤环境中的降解及其影响因子的研究[J]. 农业环境科学学报, 1998, 23(5): 1025 ~ 1029.

[3] Xiao H, Zhou Q X, Liang J D. Single and joint effects of acetochlor and urea on earthworm *Eisenia foelide* populations in phaozem[J]. Environ. Geochem. Health, 2004, 26: 277 ~ 283.

[4] 郑和辉,叶常明. 乙草胺和丁草胺在土壤中的移动性[J]. 环境科学, 2001, 22(5): 117 ~ 121.

[5] Boyd R A. Herbicides and herbicide degradates in shallow groundwater and the Cedar River near a municipal well field, Cedar Rapids, Iowa[J]. Sci. Total. Environ., 2000, 248: 241 ~ 253.

[6] Dagnac T, Jeannot R, Mouvet C, *et al.* Determination of oxanilic and sulfonic acid metabolites of acetochlor in soils by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry[J]. J. Chromatogr. A, 2002, 957: 69 ~ 77.

[7] Hill A B, Jefferies P R, Quistad G B, *et al.* Dialkylquinoneimine metabolites of chloroacetanilide herbicides induce sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes[J]. Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen., 1997, 395: 159 ~ 171.

[8] Ashby J, Tinwell H, Lefevre P A, *et al.* Evaluation of the mutagenicity of acetochlor to male rat germ cells [J]. Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen., 1997, 393: 263 ~ 281.

[9] Crump D, Werry K, Veldhoen N, *et al.* Exposure to the herbicide acetochlor alters thyroid hormone-dependent gene expression and metamorphosis in *Xenopus laevis*[J]. Environ. Health. Perspect., 2002, 110: 1199 ~ 120.

[10] 周启星,孙福红,郭观林,等. 乙草胺对东北黑土铅形态及生物有效性的影响[J]. 应用生态学报, 2004, 15(10): 1883 ~ 1886.

[11] Liu S Y, Chen Y P, Yu H Q, *et al.* Kinetics and mechanisms of radiation-induced degradation of acetochlor [J]. Chemosphere, 2005, 59: 13 ~ 19.

[12] Foyer C H, Lelandais M, Kunert K J. Photooxidative stress in plants [J]. Phsiol. Plant, 1994, 92: 696 ~ 717.

[13] Sanita di Toppi L, Gabbrielli R. Response to cadmium in higher plants [J]. Environ. Exp. Bot., 1999, 41: 105 ~ 113.

[14] Salin M L. Toxic oxygen species and protective systems of the chloroplast [J]. *Physiol. Plant*, 1987, **72**: 681 ~ 689.

[15] 吴建慧, 杨玲, 孙国荣. 低温胁迫下玉米幼苗叶片活性氧的产生及保护酶活性的变化[J]. *植物研究*, 2004, **24**(10): 456 ~ 459.

[16] 宋玉芳, 周启星, 宋雪英, 等. 土壤环境污染的生态毒理学诊断方法研究进展[J]. *生态科学*, 2002, **21**(2): 182 ~ 186.

[17] 周启星, 宋玉芳. 污染土壤修复原理与方法[M]. 北京: 科学出版社, 2004.

[18] 宋玉芳, 许华夏, 任丽萍, 等. 土壤重金属对白菜种子发芽与根伸长抑制的生态毒性效应[J]. *环境科学*, 2002, **23**(1): 103 ~ 107.

[19] Hegedűs A, Erdei S, Horváth G. Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedling under cadmium stress [J]. *Plant Sci.*, 2001, **160**: 1085 ~ 1093.

[20] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal. Biochem.*, 1976, **72**: 248 ~ 254.

[21] Wu X Y, Von Tiedemann A. Impact of fungicides on active oxygen species and antioxidant enzymes in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) exposed to ozone [J]. *Environ. Pollut.*, 2002, **116**: 37 ~ 47.

[22] 靳萍, 马剑敏, 杨柯金, 等. Hg²⁺ 对小麦种子萌发及幼苗生长的影响[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2002, **30**(4): 81 ~ 84.

[23] 庞欣, 王东红, 彭安. 铅胁迫对小麦幼苗抗氧化酶活性的影响[J]. *环境科学*, 2001, **22**(5): 108 ~ 111.

[24] 李培军, 熊先哲, 杨桂芬, 等. 动物生物标志物在土壤污染生态学研究中的应用[J]. *应用生态学报*, 2003, **14**(12): 2347 ~ 2350.

[25] Pereira G J G, Molina S M G. Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *Grotalaria* [J]. *Plant Soil*, 2002, **239**: 123 ~ 132.

[26] Sanita di Toppi L, Gabbriellini R. Response to cadmium in higher plants [J]. *Environ. Exp. Bot.*, 1999, **41**: 105 ~ 130.