

人工合成纳米 TiO_2 和 MWCNTs 对玉米生长及其抗氧化系统的影响

王震宇¹, 于晓莉¹, 高冬梅¹, 封文强¹, 邢宝山^{1, 2}, 李锋民^{1*}

(1. 中国海洋大学环境科学与工程学院, 青岛 266100; 2. Department of Plant, Soil and Insect Sciences, University of Massachusetts, Amherst MA 01003, USA)

摘要 通过营养液培养试验,研究了纳米金红石相 TiO_2 和多壁碳纳米管(multiwalled carbon nanotubes, MWCNTs)2 种人工合成纳米材料悬浮液对玉米幼苗生物量、根系形态、抗氧化酶活性和脂质过氧化的影响. 结果表明,在纳米材料悬浮液培养 9 d 后,纳米金红石相 TiO_2 对玉米生长有显著抑制作用($p < 0.05$), 50、100、200 mg/L 浓度处理的植株根系干物质质量分别比对照低 40.31%、48.06%、62.02% ; 而 MWCNTs 对植物生长的抑制不明显. 在 2 种纳米材料处理下,植物组织中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性和过氧化物酶(POD)活性均显著升高($p < 0.05$). 纳米金红石相 TiO_2 处理使玉米植株体内脂质过氧化产物 MDA 含量增多,而 MWCNTs 处理下 MDA 含量减少但无显著性变化. 说明纳米金红石相 TiO_2 的植物毒性比 MWCNTs 大,2 种纳米材料都能引起植株产生氧化应激,仅纳米 TiO_2 造成氧化损伤,这可能与 2 种纳米材料的化学组成和形状不同有关.

关键词 纳米材料; 抗氧化酶活性; 脂质过氧化; 植物毒性; 玉米

中图分类号 :X173 **文献标识码** :A **文章编号** :0250-3301(2010)02-0480-08

Effect of Nano-rutile TiO_2 and Multiwalled Carbon Nanotubes on the Growth of Maize (*Zea mays* L.) Seedlings and the Relevant Antioxidant Response

WANG Zhen-yu¹, YU Xiao-li¹, GAO Dong-mei¹, FENG Wen-qiang¹, XING Bao-shan^{1, 2}, LI Feng-min¹

(1. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2. Department of Plant, Soil and Insect Sciences, University of Massachusetts, Amherst MA 01003, USA)

Abstract The effects of nano-rutile TiO_2 and multiwalled carbon nanotubes on the growth and antioxidant enzymes of maize (*Zea mays* L.) seedlings were investigated under hydroponic conditions. Nano-rutile TiO_2 (≥ 50 mg/L) significantly decreased root and shoot growth ($p < 0.05$) after 9 days, while MWCNTs did not influence the biomass obviously. Under two stress conditions, the antioxidant system was activated respectively. Compared to the control, superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) were up-regulated ($p < 0.05$). Lipid peroxidation in terms of malondialdehyde (MDA) content was enhanced by TiO_2 exposure, whereas, MWCNTs did not cause oxidative damages in maize seedlings. The results indicated that the phytotoxicity of nano-rutile TiO_2 was much higher than that of MWCNTs, and oxidative stress induced by nanoparticles(NPs) exposure might play a role in the phytotoxicity of NPs. The remarkable effect of nano-rutile TiO_2 is probably attributed to particle composition and shape.

Key words nanoparticle; antioxidant enzyme activity; lipid peroxidation; phytotoxicity; maize

随着纳米技术的飞速发展,纳米材料被广泛应用于涂料、陶瓷、化妆品^[1,2]、环境修复、抗菌除毒以及医药学^[3,4]等领域.然而,已有大量报道指出,一些纳米材料对环境和人体健康均会带来一定的负面影响.由于纳米材料比表面积大,粒子表面的原子数多,周围缺少相邻原子,存在许多空键,故有很强的吸附能力和很高的化学活性^[5],更容易与有机体作用而产生细胞或组织损伤;另外,植物是自然界的生产者,纳米材料可能通过食物链逐级高位富集,导致高级生物的毒性效应^[5].因此,研究纳米材料对于植物的毒性效应具有重大的科学意义.

目前,纳米材料植物毒性的研究逐渐引起关

注.已有一些报道研究了纳米材料的生物可利用性、生物积累、在植物体的吸收转运^[6-8]以及对植物发芽率、根伸长和新陈代谢^[9-13]等生长情况的影响.然而,关于纳米材料对植物生长的影响机制研究较少.本研究通过分析纳米 TiO_2 和 MWCNTs 这 2 种人工合成纳米材料对玉米幼苗生物量、根系形态、抗氧化酶活性以及脂质过氧化的影响,探讨了

收稿日期 2009-02-06 ;修订日期 2009-09-07

基金项目 :教育部长江学者讲座教授计划项目;教育部新世纪优秀人才计划项目(NCET-06-0599);“ 十一五 ”国家科技支撑计划项目(2006BAC01A13)

作者简介 :王震宇(1969 ~),男,博士,教授,主要研究方向为污染环境的生物修复, E-mail : wang0628@ouc.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail : lfm01@ouc.edu.cn

纳米材料对高等植物生长的影响机制.

1 材料与方法

1.1 材料

纳米金红石相 TiO₂(浙江弘晟材料科技股份有限公司, 舟山), 纯度 > 98% , 平均粒径为 50 nm , 比表面积为(30 ± 10) m²/g ; MWCNTs(深圳市纳米港有限公司, 深圳), 纯度 > 95% , 平均粒径 10 ~ 20 nm , 长度 5 ~ 15 μm , 比表面积为 40 ~ 300 m²/g.

玉米为渝单 8 号, 购于青岛市种子站, 平均发芽率 > 90% .

1.2 试验处理

将籽粒饱满、大小均匀的玉米种子用 10% H₂O₂ 浸种 10 min 后用蒸馏水冲洗, 置于夹板中避光室温下发芽, 选取长势一致的移入营养液中, 营养液组成 为 : 0.75 mmol/L K₂SO₄ , 2 mmol/L Ca(NO₃)₂ , 0.1 mmol/L KCl , 0.25 mmol/L KH₂PO₄ , 0.65 mmol/L MgSO₄ · 7H₂O , 0.01 mmol/L H₃BO₃ , 0.001 mmol/L MnSO₄ · H₂O , 0.001 mmol/L ZnSO₄ · 7H₂O , 1 × 10⁻⁴ mmol/L CuSO₄ · 5H₂O , 5 × 10⁻⁵ mmol/L (NH₄)₆Mo₇O₂₄ , 0.1 mmol/L Fe-EDTA , pH 6^[14]. 待植物长至两叶一心时, 在营养液中加入不同浓度(50、100、200 mg/L)的纳米材料, 以不含纳米材料的营养液处理作为对照, 每个处理设 3 个重复. 每 3 d 更换一次营养液, 并保持连续曝气. 温度为 23℃ /17℃ (12 h/12 h), 光照强度为 16 500 lx , 相对湿度为 60% ~ 70% .

1.3 测定方法

1.3.1 生物量及根系形态测定

将幼苗取出用蒸馏水洗净并吸干水分, 分别

称其根和地上部的鲜重, 105℃ 杀青 15 min 后, 65℃ 烘干至恒重, 称其干重.

利用根系分析软件(WinRHIZO Pro. 2005b , 加拿大)分析根长、根表面积、根体积和根尖数等根系形态参数.

1.3.2 纳米 TiO₂ 悬浮液金属离子浓度的测定

纳米 TiO₂ 悬浮液 4 000 r/min 离心 20 min , 上清液过 0.45 μm 滤膜, 用 ICP-OES(inductively coupled plasma-optical emission spectrometer , 天津市检验检疫局)测定滤液中钛离子浓度.

1.3.3 丙二醛及抗氧化酶活性测定

超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑(NBT)光还原法^[15], 过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性的测定参照 Cakmak 等的方法^[16], 丙二醛(MDA)含量测定用硫代巴比妥酸(TBA)反应法^[17].

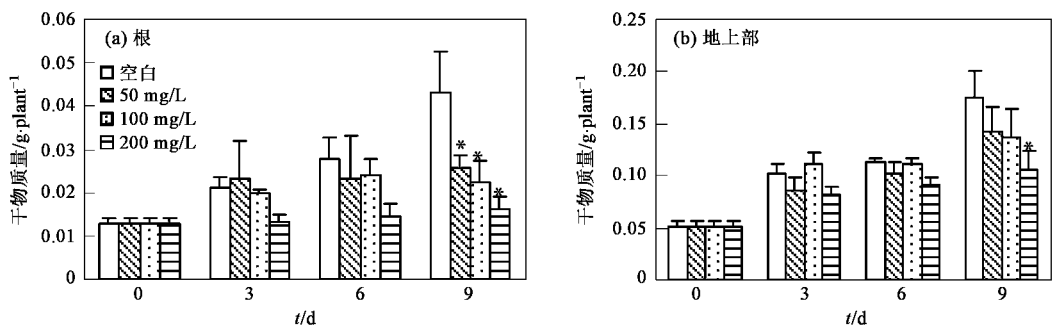
1.4 统计分析

实验数据统计分析采用 SPSS12.0 软件, 用 ANOVA(analysis of variance , LSD 检验法)进行方差分析.

2 结果与分析

2.1 纳米 TiO₂ 和 MWCNTs 对玉米幼苗生物量的影响

如图 1 所示, 在纳米 TiO₂ 处理下, 培养 9 d 后玉米幼苗的生长受到明显抑制, 表现为植株叶片发黄、植株矮缩. 各浓度处理植株根系的生物量均显著低于对照(*p* < 0.05), 50、100、200 mg/L 纳米 TiO₂ 处理的植株根系干物质量分别比对照低 40.31%、48.06%、62.02% , 地上部干物质量与对照相比, 仅 200 mg/L 浓度处理的有显著性差异, 比



* 表示该浓度与对照相比存在显著性差异(*p* < 0.05),下同

图 1 纳米 TiO₂ 对玉米根和地上部干物质量的影响

Fig. 1 Effects of nano-TiO₂ on the dry weight increase of maize root and shoot

对照低 38.93%。另外,对照和 50、100、200 mg/L 各浓度处理的根冠比分别为:0.25 和 0.18、0.16、0.15,表明纳米 TiO₂ 对根生长的抑制作用比对地上部的抑制作用更为明显,这可能是由于根系首先接触到纳米材料,导致根的毒性效应比地上部要大^[10]。

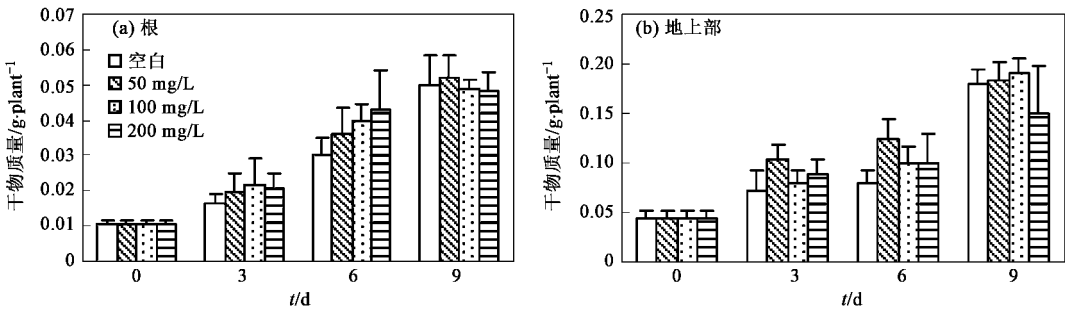


图 2 MWCNTs 对玉米根和地上部干物质量的影响

Fig. 2 Effects of MWCNTs on the dry weight increase of maize root and shoot

2.2 纳米 TiO₂ 和 MWCNTs 对玉米幼苗根系形态的影响

随着纳米 TiO₂ 浓度的增加,玉米幼苗根系的根长、根表面积、根体积和根尖数也均呈下降的趋势(表 1)。处理 9 d 后,50 mg/L TiO₂ 处理的幼苗根系的根长、根表面积、根体积、根尖数分别是对照处理的 61.29%、65.28%、67.28%、76.20%;而纳米 TiO₂ 处理浓度增至 200 mg/L 时,幼苗根系的根长、根表面积、根体积、根尖数分别是对照的

59.46%、59.69%、58.99%、67.12%。表明纳米 TiO₂ 对根系生长产生了显著的抑制作用,且随着纳米材料浓度的增加,抑制作用愈加明显。

MWCNTs 处理 9 d 对玉米的生物量没有显著的影响,但根长、根表面积、根体积和根尖数均呈下降趋势(表 2)。

2.3 纳米 TiO₂ 和 MWCNTs 对玉米幼苗抗氧化酶活性的影响

2.3.1 SOD 酶活性

表 1 纳米 TiO₂ 对玉米幼苗根形态的影响¹⁾

Table 1 Effects of nano-TiO₂ on root system of maize

TiO ₂ 处理 /mg · L ⁻¹	根系形态状况			
	根长/cm	根表面积/cm ²	根体积/cm ³	根尖数
0	642.79 ± 45.69a	107.10 ± 11.21a	1.447 ± 0.398a	1 060 ± 108.55a
50	393.99 ± 22.61b	69.92 ± 2.26b	0.973 ± 0.023b	808 ± 50.56ab
100	395.77 ± 114.29b	63.27 ± 15.59b	0.807 ± 0.167b	793 ± 186.75ab
200	382.21 ± 51.61b	63.93 ± 3.55b	0.853 ± 0.035b	711 ± 192.77b

1) 同列相同字母表示处理间在 5% 水平差异不显著,下同

表 2 MWCNTs 对玉米幼苗根形态的影响

Table 2 Effects of MWCNTs on root system of maize

MWCNTs 处理 /mg · L ⁻¹	根系形态状况			
	根长/cm	根表面积/cm ²	根体积/cm ³	根尖数
0	410.43 ± 95.81a	69.41 ± 15.62a	1.067 ± 0.507a	680 ± 244a
50	406.58 ± 109.39a	61.65 ± 6.30a	0.750 ± 0.225a	739 ± 334a
100	431.99 ± 108.47a	64.39 ± 24.19a	0.797 ± 0.425a	625 ± 138a
200	324.34 ± 123.27a	46.23 ± 19.42a	0.760 ± 0.070a	525 ± 289a

在纳米材料接触生物体时,细胞会生成大量活性氧。SOD 酶是最先与 O₂^{·-} 作用的酶,且在歧化

O₂^{·-} 生成 H₂O₂ 和 O₂ 的过程中发挥重要的作用,因此,SOD 酶活性的诱导表明植株根内产生大量

O₂^{·-} ,使植物体处于氧化应激态. 在纳米材料 TiO₂ 处理 9 d 后 ,50、100、200 mg/L 浓度处理使根系中 SOD 酶活性分别比对照提高了 31.95%、46.11%、45.53% ;叶片中 SOD 酶活性变化规律与根类似 ,

但无显著性差异. MWCNTs 处理 9d 后 ,SOD 酶活性升高 ,其中 100 mg/L 处理根系和叶片中 SOD 酶活性分别比对照提高了 94.79% 和 73.76% (图 3).

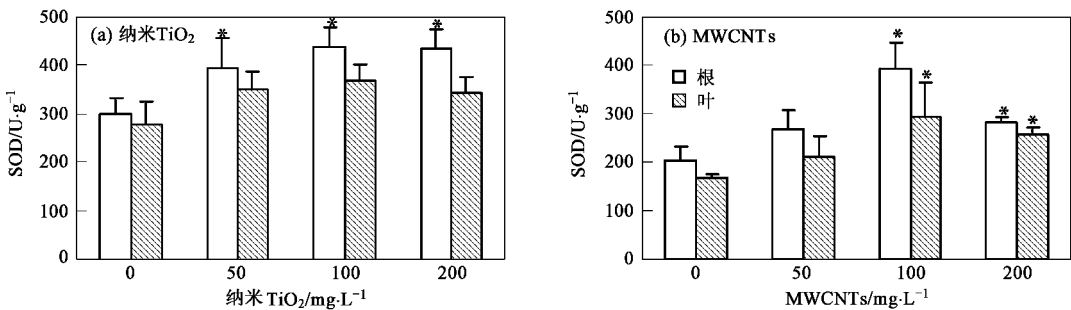


图 3 纳米 TiO₂ 和 MWCNTs 处理 9 d 后对玉米根和叶片中 SOD 酶活性的影响
Fig. 3 SOD activity in the root and leaf 9d after exposed to TiO₂ NPs and MWCNTs

2.3.2 POD 和 CAT 酶活性

POD 和 CAT 酶能够清除植物体内产生的 H₂O₂ ,防止膜脂质过氧化作用. 因此 ,POD 和 CAT 酶活性的诱导表明植株根内产生大量 H₂O₂ ,使植物体处于氧化应激态. 如图 4 所示 ,根系和叶片中 POD 酶活性差异很大 ,根系中 POD 酶活性是叶片中的约 10 倍 ,说明根系对 POD 酶的诱导作用比叶片强烈. 与对照相比 ,各个处理浓度(50、100、200 mg/L)纳米 TiO₂ 处理使根系中 POD 酶活性均显著

性升高(*p* < 0.05) ,分别比对照提高了 48.76%、69.47%、82.30% ;而较低浓度(50、100 mg/L) TiO₂ 处理的叶片组织中 POD 酶活性没有显著变化(*p* < 0.05) ,仅最高浓度(200 mg/L)TiO₂ 处理比对照提高了 65.04% . 不同浓度(50、100、200 mg/L) MWCNTs 处理的玉米根系和叶片中的 POD 酶活性均显著性升高(*p* < 0.05) ,其中根系中 POD 酶活性分别是对照的 1.77、2.37、2.41 倍 ,而叶片中 POD 酶活性是对照的 2.39、1.76、2.15 倍.

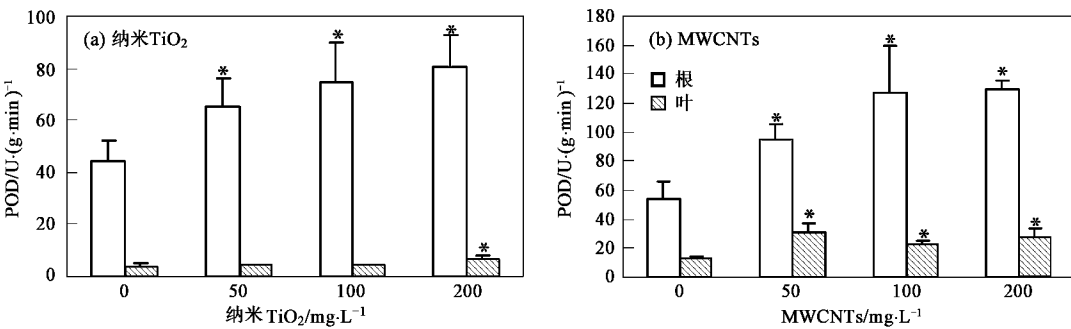


图 4 纳米 TiO₂ 和 MWCNTs 处理 9 d 后对玉米根和叶片中 POD 酶活性的影响
Fig. 4 POD activity in the root and leaf 9d after exposed to TiO₂ NPs and MWCNTs

从图 5 可以看出 ,较低浓度 TiO₂(50、100 mg/L)和 MWCNTs(50 mg/L)处理使植株根系和叶片中的 CAT 酶活性略有增大 ,说明低浓度纳米材料对植物组织中 CAT 酶没有明显激活作用. 高浓度(200 mg/L)纳米 TiO₂ 处理能显著诱导 CAT 酶活性上升 ,根系和叶片中 CAT 酶活性分别是对照的 2.72 和 1.99 倍 ;100 mg/L MWCNTs 处理根系和叶片中 CAT 酶活性分别是对照的 1.63 和 1.76 倍 ,

200 mg/L MWCNTs 处理的叶片中 CAT 酶活性是对照的 2.80 倍 ,而此浓度下根系中 CAT 酶活性与对照相比没有显著差异(*p* < 0.05).

2.4 纳米 TiO₂ 和 MWCNTs 对玉米幼苗脂质过氧化的影响

当大量的活性氧在植物体内堆积 ,就会导致氧化损伤 ,而丙二醛(MDA)是膜脂质过氧化作用的主要产物之一 ,其含量可表示膜脂质过氧化作用的程

度. 在纳米 TiO₂ 处理 9 d 后, 玉米叶片出现失绿变黄现象, 且随着纳米 TiO₂ 浓度的增加, 叶片失绿变黄现象越加明显, 这可能是氧化损伤的结果^[11]. 测定玉米植株根系及叶片 MDA 的含量发现, 与对照相比, 高浓度(200 mg/L)纳米 TiO₂ 胁迫下玉米根和叶片的 MDA 显著增加($p < 0.05$), 分别是对照的 1.38 倍和 2.53 倍, 而低浓度(50 mg/L)的纳米

TiO₂ 处理下, 根系和叶片中 MDA 含量的变化不明显[图 6(a)].

MWCNTs 处理下玉米叶片无失绿现象, 且植株根系和叶片中的 MDA 含量与对照相比呈现逐渐下降的趋势[图 6(b)], 这与抗氧化酶的激活有关^[18]. 抗氧化酶酶活性升高可清除过量的活性氧, 脂质过氧化程度随之略微降低.

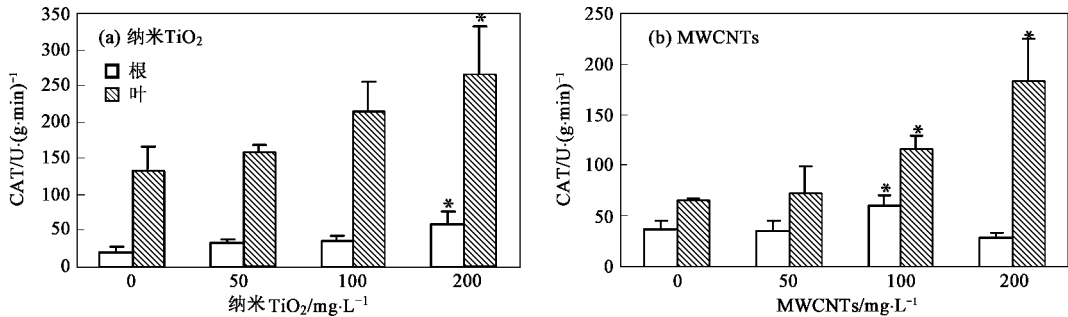


图 5 纳米 TiO₂ 和 MWCNTs 处理 9 d 后对玉米根和叶片中 CAT 酶活性的影响
Fig. 5 CAT activity in the root and leaf 9 d after exposed to TiO₂ NPs and MWCNTs

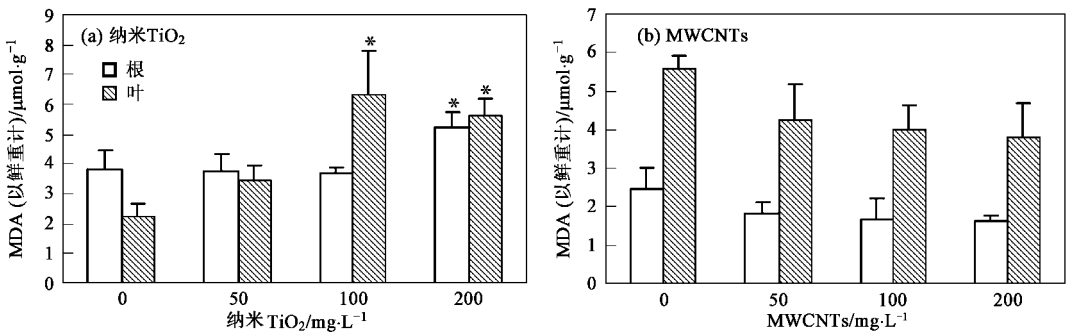


图 6 纳米 TiO₂ 和 MWCNTs 处理 9 d 后对玉米根和叶片中 MDA 含量的影响
Fig. 6 MDA content in the root and leaf of corn 9 d after exposed to TiO₂ and MWCNTs

3 讨论

随着纳米 TiO₂ 浓度增加, 根系和地上部生物量均显著下降(图 1), 且根冠比减小, 说明纳米 TiO₂ 对根系的抑制作用要大于对地上部的抑制作用. Shah 等^[13] 也发现金属纳米材料能使莴苣冠根比增大. 同时, 纳米 TiO₂ 处理也会使植株根系的根长、根表面积、根体积和根尖数明显降低, 且随浓度增加抑制作用逐渐增大; 而 MWCNTs 对生物量(图 2)和根形态(表 2)均没有显著性影响, 这与 Lin 等^[10] 报道的 MWCNTs 对植物发芽率和根系伸长的影响结果相似. 虽然无显著性影响, 但随着纳米材料浓度升高, 根长、根表面积、根体积和根尖数均有下降趋势. 如果加大 MWCNTs 胁迫时间或

者增大 MWCNTs 浓度, 抑制性作用可能产生.

研究金属或金属氧化物的植物毒性, 必须考虑到金属离子本身的毒性. Murashov^[19] 指出, Yang 等^[9] 在研究纳米氧化铝对植物根伸长的影响时, 没有考虑到氧化铝能够解析出铝离子抑制根系的生长. 本试验用 ICP-OES 测定了纳米 TiO₂ 悬浮液中钛离子浓度, 结果几乎未检出钛离子, 说明纳米 TiO₂ 的植物毒性与纳米材料自身的纳米特性有关, 而不是解析出的钛离子而造成的离子毒性. 目前, 大量研究表明纳米材料的毒性机制可能是纳米材料引起氧化胁迫和脂质过氧化, 从而导致 DNA 损伤, 细胞膜破坏和细胞死亡^[18, 20-24].

氧化胁迫是纳米材料生物毒性在文献中普遍被认可的机制, 很多不同种类的纳米材料在生物体内

和生物体外都能产生活性氧。而对于氧化胁迫,植物体会产生响应机制——氧化应激, SOD、POD 和 CAT 酶活性升高。SOD 酶是含金属辅基的酶,它催化 O_2^- 形成 H_2O_2 。许多研究表明, O_2^- 可以激活机体本身存在的 SOD 酶或者通过诱导酶蛋白编码基因的表达而合成新的 SOD 酶^[25]。纳米 TiO_2 处理 9d 后,植株根系中 SOD 酶活性比对照有了显著性提高,提高了植物清除 O_2^- 的能力;叶片中 SOD 酶活性变化不明显,导致过量的 O_2^- 在叶片中堆积,无法去除,这可能是叶片中脂质过氧化程度比根系中高的主要原因。MWCNTs 处理可以诱导 SOD 酶活性的升高,提高了植物抗氧化的能力(图 3)。SOD 酶与 O_2^- 作用生成 H_2O_2 和 O_2 , POD 酶和 CAT 酶又可继续分解 H_2O_2 , 从而降低植株体内 H_2O_2 的浓度,起到保护机体免受活性氧物质伤害的作用。不同浓度(50、100、200 mg/L)纳米 TiO_2 处理下,根系 POD 酶活性均有显著性升高($p < 0.05$),而较低浓度(50、100 mg/L) TiO_2 处理的叶片组织中 POD 酶活性没有显著变化($p < 0.05$)。说明根系组织中的 POD 酶活性比叶片组织中的能够更好地抵御氧化损伤[图 4(a)]。不同浓度的 MWCNTs 处理使植株根系和叶组织中的 POD 酶活性显著性升高($p < 0.05$),起到保护机体免受活性氧物质伤害的作用[图 4(b)]。随着处理浓度增大, CAT 酶活性不断上升。而 200 mg/L MWCNTs 处理玉米叶中 CAT 酶活性开始下降(图 5)。许多研究证明,随着处理浓度增大,生物体内 CAT 酶活性下降^[26]。200 mg/L 时玉米叶片中 CAT 酶活性下降,这可能是因为在高浓度下活性氧已开始积累,并且随着含量的增多,开始攻击酶蛋白使 CAT 受到抑制,但还不足以使植物产生中毒性反应,结合上述 SOD(图 3)和 POD(图 4)的分析,这可能是由于别的抗氧化防御机制参与作用^[27]。

当植物遭受比较严重的胁迫时,大量的活性氧超过了抗氧化系统的清除能力,活性氧将直接攻击蛋白质、DNA 和脂类等多种生物大分子,引起体内脂质过氧化物含量积累的增加,导致机体损伤。本试验结果表明,纳米材料可以引起植物产生氧化损伤。低浓度(50 mg/L)纳米 TiO_2 处理能够通过抗氧化系统有效促进植物体内活性氧的清除,而高浓度(200 mg/L)纳米 TiO_2 会导致脂质过氧化,根系和叶片中 MDA 含量均显著升高[图 6(a)]。说明在较高浓度的纳米 TiO_2 胁迫下,植物细胞为了自我保护抗氧化酶活性升高,但不足以应付纳米 TiO_2 的

毒性作用,没有降低脂质过氧化作用,出现了活性氧的积累,产生的 MDA 增多而导致氧化胁迫^[28]。有报道纳米 TiO_2 在光照或单独作用条件下,均能产生自由基并导致氧化损伤^[22, 29, 30]。另外, C_{60} 暴露引起机体组织的氧化应激可能是水环境中 C_{60} 的制毒机制^[18, 27]。氧化胁迫也是单壁碳纳米管(singlewalled carbon nanotubes, SWCNTs)细胞毒性研究中广泛存在的现象^[31, 32],被认为是细胞毒性的主要原因^[33]。本实验结果也说明纳米 TiO_2 和 MWCNTs 均引起玉米植株氧化应激,且纳米 TiO_2 导致脂质过氧化,而 MWCNTs 没有引起脂质过氧化,因此氧化胁迫是纳米材料植物毒性的可能机制之一。本研究发现纳米 TiO_2 使玉米叶片出现失绿变黄现象,这可能是脂质过氧化引起的反应。叶片作为主要的光合作用器官,代谢活动活跃,纳米颗粒导致玉米叶片过氧化损伤会影响光合系统,进而影响叶绿素的产生,降低新陈代谢的速率^[11]。而 MWCNTs 处理不但没有造成脂质过氧化,还减少了玉米体内 MDA 含量[图 6(b)],这是高等植物对 MWCNTs 处理的应激反应, MWCNTs 处理增强了植物抗氧化酶的活性,降低了体内 H_2O_2 、 O_2^- 、 $\cdot\text{OH}$ 等有害物质的积累,减轻了脂质过氧化作用^[34]。

2 种纳米材料的毒性效应的差异可能与不同化学组成引起的不同纳米表面特性有关。纳米材料表面创造了不连续的晶面,增大了结构损伤也破坏了电子构型,改变了表面特性。形成特殊的“表面基团”作为活性位点,“表面基团”使纳米材料具有催化活性或惰性^[35]。纳米材料表面的电子供体和受体活性位点与分子氧相互作用产生 O_2^- , 由于具有催化性的 TiO_2 比 MWCNTs 具有更大的化学活性, TiO_2 表面的电子俘获形成更多的 O_2^- , 导致活性氧积聚和氧化胁迫。MWCNTs 的毒性比纳米 TiO_2 的毒性低也可能与纳米材料的形状有关,纳米 TiO_2 是平均粒径在 50 nm 左右的球型颗粒,可能进入植物细胞^[36];而 MWCNTs 长度在 5 ~ 15 μm 左右,进入植物体的概率要小,因此与 MWCNTs 相比,纳米 TiO_2 更容易进入植物体而产生毒害。关于纳米材料在植物细胞内作用的文献很少,主要是因为植物具有细胞壁和凯氏带。在幼嫩的根中,内皮层尚未形成凯氏带之前,纳米材料可能经质外体到达导管;另外,纳米材料可能通过小孔或破坏的细胞而不用通过细胞膜进入木质部。基于这一植物生理特性,有学者假设纳米材料颗粒能够进入根皮层的非原生质体并通过凯氏带进入木质部^[37]。目前,关于纳米

材料进入植物体途径的研究很少,大部分都只是假说. 研究表明一些纳米材料能够进入植物体^[6-8,12],然而目前的研究大多仅限于现象的观察,其具体机制没有得到证实,需要进一步研究. 同时,纳米 TiO₂ 能否进入植物体仍需在以后的研究中进一步证实.

本研究对纳米材料的植物毒性进行了初步探讨,发现纳米材料在一定条件下抑制植物生长. 但是并不是所有的纳米材料都具有植物毒性,某些纳米材料在较低培养浓度和较短培养时间条件下毒性不明显,甚至可以促进植物生长. 例如,纳米 TiO₂ (≤ 100 mg/L)对柳树没有明显的急性毒性^[38]; 0. 25% ~ 4% 纳米 TiO₂ 浸泡种子或喷洒到叶片上可以促进菠菜的生长,促进 Rubisco 羧化酶的活性,并促进硝酸盐的吸附以及无机氮到有机氮的转变^[36,39]; 以 TiO₂ 和 SiO₂ 为主要成分的纳米材料可以促进大豆的萌发生长,防止种子长霉,提高根系活力、叶片硝酸还原酶活性以及抗氧化酶系活性,增强植物吸收水、肥与利用氮肥的能力^[40]. 不同研究所得结论的差异可能与试验采用的植物种类、暴露浓度、暴露时间以及暴露方式等条件不同有关,因此,不同纳米材料对不同植物生长的影响及其影响机制仍需进行进一步的深入研究.

4 结 论

(1)纳米金红石相 TiO₂ 能显著抑制玉米幼苗植株的生长,且随着纳米 TiO₂ 浓度的增大,植株生物量呈下降趋势;而 MWCNTs 对植株生长的抑制效应不明显.

(2)纳米金红石相 TiO₂ 和 MWCNTs 处理均使植物体内 SOD 酶、CAT 酶以及 POD 酶活性升高. 纳米金红石相 TiO₂ 处理使脂质过氧化水平升高,而 MWCNTs 处理则使脂质过氧化水平降低. 这可能与纳米材料的化学组成和形状有关,与 MWCNTs 相比,TiO₂ 具有更大的化学活性且更容易进入植物体,产生更大的毒性.

参考文献 :

[1] Allen N S , Edge M , Sandoval G , *et al.* Photocatalytic coatings for environmental applications[J]. Photochem Photobiol , 2005 , **81**(2) : 279-290.

[2] Wolf R , Matz H , Orion E , *et al.* Sunscreens-the ultimate cosmetic[J]. Acta Dermatovenol Croat , 2003 , **11**(3) : 158-162.

[3] Cai R , Kubota Y , Shuin T , *et al.* Induction of cytotoxicity by

photoexcited TiO₂ particles [J]. Cancer Res , 1992 , **52** : 2346-2348.

[4] Srinivasan C. Toxicity of carbon nanotubes-some recent studies [J]. Curr Sci , 2008 , **95**(3) : 307-308.

[5] 白茹,王雯,金星龙,等. 纳米材料生物安全性研究进展 [J]. 环境与健康杂志,2007 ,**24**(1) : 59-61.

[6] Lee W M , An Y J , Yoon H. Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plant mung bean (*Phaseolus radiatus*) and wheat (*Triticum aestivum*) : plant agar test for water-insoluble nanoparticles[J]. Environ Toxicol Chem , 2008 , **27**(9) : 1915-1921.

[7] Lin D H , Xing B S. Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles[J]. Environ Sci Technol , 2008 , **42** (15) : 5580-5585.

[8] Zhu H , Han J , John Q , *et al.* Uptake , translocation , and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants[J]. J Environ Monit , 2008 , **10**(6) : 713-717.

[9] Yang L , Watts D J. Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles[J]. Toxicol Lett , 2005 , **158** : 122-132.

[10] Lin D H , Xing B S. Phytotoxicity of nanoparticles : Inhibition of seed germination and root growth [J]. Environ Pollut , 2007 , **150** : 243-250.

[11] Racuciu M , Creanga D E. TMA-OH coated magnetic nanoparticles internalized in vegetal tissue[J]. Rom Journ Phys , 2007 , **52**(3-4) : 395-402.

[12] Doshi R , Braidaa W , Christodoulatos C , *et al.* Nano-aluminum : transport through sand columns and environmental effects on plants and soil communities[J]. Environ Res , 2008 , **106** : 296-303.

[13] Shah V , Belozeroval I. Influence of metal nanoparticles on the soil microbial community and germination of lettuce seeds[J]. Water Air Soil Pollut , 2009 , **197** : 143-148.

[14] Gao X P , Zou C Q , Wang L J , *et al.* Silicon Decreases transpiration rate and conductance from stomata of maize plant [J]. J Plant Nutri , 2006 , **29** : 1637-1647.

[15] Beauchamp C , Fridovich I. Superoxide dismutase : improved assays and an assay applicable to acrylamide gels[J]. Anal Biochem , 1971 , **44** : 276-287.

[16] Cakmak I , Strboe D , Marschner H. Activities of hydrogen peroxide scavenging enzymes in germinating wheat seeds[J]. J Exp Bot , 1993 , **44**(1) : 127-132.

[17] Buege J A , Aust S D. Microsomal lipid peroxidation [J]. Methods Enzymol , 1978 , **52** : 302-310.

[18] Oberdörster E. Manufactured nanomaterials (Fullerenes , C₆₀) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass [J]. Environ Health Perspect , 2004 , **112**(10) : 1058-1062.

[19] Murashov V. Comments on ‘ Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles ’ by Yang L , Watts D J. Toxicology Letters , 2005 , **158** , 122-132 [J]. Toxicol Lett , 2006 , **164** : 185-187.

[20] Hsin Y , Chen C , Huang S , *et al.* The apoptotic effect of

nanosilver is mediated by a ROS-and JNK-dependent mechanism involving the mitochondrial pathway in NIH3T3 cells[J]. *Toxicol Lett* ,2008 , **179** :130-139.

[21] Li N ,Xia T ,Nel A E. The role of oxidative stress in ambient particulate matter-induced lung diseases and its implications in the toxicity of engineered nanoparticles[J]. *Free Radical Biol Med* ,2008 , **44** :1689-1699.

[22] Reeves J F ,Davies S J ,Dodd N J F , *et al.* Hydroxyl radicals (·OH) are associated with titanium dioxide (TiO₂) nanoparticle induced cytotoxicity and oxidative DNA damage in fish cells[J]. *Mutat Res* ,2008 , **640** :113-122.

[23] Sayes C M ,Gobin A M ,Ausman K D , *et al.* Nano-C₆₀ cytotoxicity is due to lipid peroxidation[J]. *Biomaterials* ,2005 , **26** :7587-7595.

[24] Xia T ,Kovochich M ,Brant J , *et al.* Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm[J]. *Nano Lett* , 2006 , **6** :1794-1807.

[25] 林仁漳 ,杜文超 ,王晓蓉 ,等. 土壤外源 Cd 胁迫对小麦幼苗生长自由基代谢及抗氧化酶活性的影响[J]. *农业环境科学学报* ,2008 , **27**(1) 23-29.

[26] Zhu X S ,Zhu L ,Lang Y P , *et al.* Oxidative stress and growth inhibition in the freshwater fish carassius auratus induced by chronic exposure to sublethal fullerene aggregates[J]. *Environ Toxicol Chem* ,2008 , **27**(9) :1979-1985.

[27] 朱小山 ,朱琳 ,郎宇鹏 ,等. 人工纳米材料富勒烯(C₆₀)低剂量长期暴露对鲫鱼的氧化伤害[J]. *环境科学* ,2008 , **29** (4) 855-861.

[28] Afaq F ,Abidi P ,Matin R , *et al.* Cytotoxicity , pro-oxidant effects and antioxidant depletion in rat lung alveolar macrophages exposed to ultrafine titanium dioxide[J]. *J Appl Toxicol* ,1998 , **18** :307-312.

[29] Wang J X ,Zhang X Z ,Chen Y S , *et al.* Toxicity assessment of manufactured nanomaterials using the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Chemosphere* , 2008 , **73** : 1121-1128.

[30] Dick C A J ,Brown D M ,Donaldson K , *et al.* The role of free radicals in the toxic and inflammatory effects of four different ultrafine particle types[J]. *Inhal Toxicol* ,2003 , **15** 39-52.

[31] Yang S T ,Wang X ,Jia G , *et al.* Long-term accumulation and low toxicity of single-walled carbon nanotubes in intravenously exposed mice[J]. *Toxicol Lett* ,2008 , **181** :182-189.

[32] Pulskamp K ,Diabate S ,Krug H F. Carbon nanotubes show no sign of acute toxicity but induce intracellular reactive oxygen species in dependence on contaminants[J]. *Toxicol Lett* ,2007 , **168** 58-74.

[33] Lewinski N ,Colvin V ,Drezek R. Cytotoxicity of nanoparticles [J]. *Small* ,2008 , **4** 26-49.

[34] Blickley T M ,Green P M. Toxicity of aqueous fullerene in adult and larval *Fundulus heteroclitus*[J]. *Environ Toxicol Chem* , 2008 , **27**(9) :1964-1971.

[35] Yang H ,Liu C ,Yang D F , *et al.* Comparative study of cytotoxicity , oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials : the role of particle size , shape and composition[J]. *J Appl Toxicol* ,2009 , **29** :69-78.

[36] Zheng L ,Hong F S ,Lu S P , *et al.* Effect of nano-TiO₂ on strength of naturally aged seeds and growth of spinach[J]. *Biol Trace Elem Res* ,2004 , **104** 83-91.

[37] Nowack B ,Buchel T D. Occurrence , behavior and effects of nanoparticles in the environment[J]. *Environ Pollut* , 2007 , **150** 5-22.

[38] Seeger E M ,Baun A ,Kästner M , *et al.* Insignificant acute toxicity of TiO₂ nanoparticles to willow trees [J]. *Soils Sediments* ,2009 , **9** 46-53.

[39] Gao F Q ,Liu C ,Qu C X *et al.* Was improvement of spinach growth by nano-TiO₂ treatment related to the changes of Rubisco activase[J]. *Biomaterials* ,2008 , **21** 211-217.

[40] 陆长梅 ,张超英 ,温俊强 ,等. 纳米材料促进大豆萌芽、生长的影响及其机理研究[J]. *大豆科学* ,2002 , **21**(3) : 168-172.