农业环境科学学报 2009,28(2):316-320
Journal of Agro-Environment Science

纳米 TiO_2 对油菜种子发芽与幼苗生长的影响

苏爱华, 林匡飞, 张　卫, 徐圣友, 杨莎莎, 张　梅, 章立勇

(华东理工大学国家环境保护化工过程环境风险评价与控制重点实验室, 上海 200237)

摘　要:通过纸床培养,研究在不同浸种时间下,不同浓度的 10 nm TiO_2 悬浮液对油菜种子发芽及幼苗生长的影响。结果表明:浸泡时间为 2 h 的各指标表现最显著,最适合作为纳米 TiO_2 对油菜种子发芽和幼苗生长影响的浸种时间。浸种 2 h 纳米 TiO_2 的发芽势、发芽率、发芽指数抑制率与纳米 TiO_2 浓度呈显著正相关,与浓度的对数作线性回归得出 IC_{20} 分别为 1 907、619.0、1 039 mg·L^{-1};总长、芽长、根长、总重、芽重、根重的激活率与纳米 TiO_2 的浓度呈显著正相关,通过线性回归方程得出总长、芽长、根长、总重、根重的 EC_{20} 分别为 99.77、404.5、55.46、6 918、2 187 mg·L^{-1}。对各指标影响的敏感性大小为:发芽率>发芽指数>发芽势,根长>芽长。因此,油菜发芽率与根长可以作为评价纳米 TiO_2 生态毒性效应的较敏感指标。

关键词:纳米 TiO_2;油菜;种子发芽;幼苗生长
中图分类号:X503.231　　**文献标志码**:A　　**文章编号**:1672-2043(2009)02-0316-05

Effect of Nano-TiO_2 on the Germination and Growth of Rape Seed

SU Ai-hua, LIN Kuang-fei, ZHANG Wei, XU Sheng-you, YANG Sha-sha, ZHANG Mei, ZHANG Li-yong
(State Environmental Protection Key Laboratory of Environmental Risk Assessment and Management on Chemical Process , East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

Abstract: The impact of various concentration of nano-TiO_2 suspension at different soaking time on the germination and growth of rape seed was investigated. The results showed that 2 hours of soaking time was significantly suitable for these assessments. There were positive correlations between the logarithm of the concentrations of nano-TiO_2 suspension and the inhibitory rate of seed germination, and the IC_{20} obtained from the regression equations were 1 907 mg·L^{-1}(germinability), 619.0 mg·L^{-1}(germination rate), and 1 039 mg·L^{-1}(germination index) respectively. On the other hand, there were also positive correlations between the logarithm of the concentrations of nano-TiO_2 suspension and the activation rate of the length and weight of root and bud, and the EC_{20} were 99.77 mg·L^{-1} (total length), 404.5 mg·L^{-1} (bud length), 55.46 mg·L^{-1} (root length), 6 918 mg·L^{-1}(total weight), 2 187 mg·L^{-1}(root weight). It could be concluded that the order of sensitivity among different indexes was germination rate>germination index>germinability, root length>bud length, suggesting that germination rate and root length could be as sensitive indexes for assessing eco-toxicity effectiveness of nano-TiO_2.

Keywords: nano-TiO_2; rape; seed germination; seedling growth

纳米技术被认为是下一次工业革命[1],已引起全球范围内的科技、工业和农业等发生革命性变化,而人工纳米材料(Manufactured nanomaterials, MNMs)正是这一新兴产业的基础[1]。MNMs 具有许多优良且奇异的物理或化学性质而在医药、工业、建筑、化妆品和环保等产业具有广泛的应用前景。然而其潜在的负面影响也已引起人们的广泛关注[2-3]。2000 年 11 月以来,Science、Nature 和 Environmental Science & Technology 等杂志已先后多次发表文章,探讨纳米技术的安全性和 MNMs 的生物效应以及对健康、环境的不利影响[5-7]。美国、欧盟和英国等分别设立研究基金支持有关纳米技术和 MNMs 对环境和健康风险评价的课题[8-10]。国内在 2004 年也召开了第一次以"纳米尺度物质的生物效应"为主题的第 243 次香山科学会议,

收稿日期:2008-09-22
基金项目:上海市科委纳米专项(0752nm025);上海市环境工程重点学科项目(B506)
作者简介:苏爱华(1982—),女,福建泉州人,在读硕士,主要从事纳米材料的生物学效应研究。E-mail:aihuasu@126.com
通讯作者:林匡飞　E-mail:kflin@ecust.edu.cn

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

国内这方面的研究已经起步。

由于纳米 TiO_2 在化妆品、印刷、杀菌陶瓷纤维、塑料、去污剂、涂料、面漆、织物、传感器等众多消费领域都有着广泛应用[11]，使得人们接触纳米 TiO_2 的机会也越来越多，对人体及其他生物体的潜在危害也就不言而喻。而国际上一些机构组织已先后将高等植物生长状况检测方法作为评价化学品生态风险的一项指标以检测目标化学品的生态毒性[12]。目前已建立的高等植物毒理试验方法有 3 种：根伸长试验、种子发芽试验和早期植物幼苗生长试验。应用种子发芽和根伸长抑制进行重金属生态毒性试验研究较多[13-17]，而研究纳米材料对种子发芽和根伸长影响在国内外还很少，Lin D 等[18]研究了多种纳米材料（MWCNT，Al_2O_3，ZnO，Al，Zn）对不同种子发芽率和根伸长抑制的影响，得出根伸长抑制率在不同纳米材料不同植物之间表现出极显著差异。Fengqing Gao[19]研究了纳米 TiO_2 对菠菜的生长有促进作用，它能显著提高菠菜的光吸收、光能转化成电能和活性化学能的效率。但是纳米 TiO_2 对其他植物种子发芽及根伸长是否也存在同样的现象，目前还未见有文献报道。因此，本文选择油菜作为实验的供试种子，采用纸床培养方式，研究了纳米 TiO_2 对油菜种子早期萌发和幼苗生长期间某些生理指标的影响，从而为纳米 TiO_2 的植物毒理研究奠定基础。

1　材料和方法

1.1　材料及主要仪器设备

供试种子为油菜种子，品种为甘蓝型汇油 50，由上海市农科院提供，锐钛型 10 nm TiO_2 由华东理工大学材料学院提供，尺度确定用动态光散射粒度散色仪测定，尺寸范围在（10±2）nm，0.5% NaClO（分析纯）。主要仪器：人工气候培养箱、数显水浴恒温振荡器、超声波清洗器、12 cm 培养皿及无灰定性滤纸。

1.2　实验方法

1.2.1 实验设计与测定

用蒸馏水将 10 nm TiO_2 配成浓度为 5 000 mg·L^{-1} 的母液，超声 1 h，使其成为均匀的悬浮液，再逐级稀释成 500、50、5 mg·L^{-1} 的处理液，以蒸馏水为对照。

取籽粒饱满、均匀的油菜种子，用 0.5%的 NaClO 溶液浸泡消毒 20 min，自来水冲洗 3 遍，蒸馏水冲洗 2 遍后，分别放入装有不同浓度处理液的三角锥形瓶中浸泡，并将锥形瓶放在数显水浴恒温振荡器上恒温振荡，分别在浸泡时间为 1、2、6、12 h 时取出种子，用蒸馏水冲洗干净。每个培养皿铺有两层滤纸，并加入 10 mL 经高压灭菌的蒸馏水，每个皿均匀摆放 50 粒种子，实验设置 4 个平行，于温度 20 ℃、湿度 85%的人工气候箱中无光照条件下培养 7 d，每天观察并记录种子的发芽数（以胚芽长度达到种子长度一半为种子萌发的判断标准）。培养到第 7 d 后，用镊子轻轻将萌发种子取出，滤纸吸干后，再用刻度尺和电子天平测其生理指标：总长、芽长、根长、总重、芽重、根重（鲜重，农作物种子检验规程–发芽试验，GB/T 3543.4—1995）。

1.2.2 数据计算及处理

发芽率(%)=7 d 发芽种子数/供试验种子数×100%；

发芽势（%）=3 d 发芽种子数/供试验种子数×100%；

发芽指数 $G_t=\Sigma(G_t/D_t)G_t$ 为 t 日的发芽数，D_t 相应的发芽天数，d；

活力指数 =发芽指数×总长

所有数据均取 4 次重复平均值，用 SPSS15.0 进行 LDS 方差分析，多重比较，图用 Excel 处理。

2　结果与讨论

2.1 纳米 TiO_2 对油菜种子萌发阶段的影响

由表 1 可知，不同纳米 TiO_2 浸泡时间对油菜种子早期萌发的各生理指标影响不同。浸泡 1、2 h 对发芽势、发芽率、发芽指数均影响显著，且随浓度升高而线性下降。浸泡 6、12 h 对各指标影响不显著。活力指数的影响都不显著。发芽指数与活力指数表现出的趋势不同，推测其原因可能是活力指数是通过发芽指数与总长之积得来，是综合指标，而发芽指数是衡量种子萌发的指标。

由图 1、图 2 可知，油菜种子在浸泡纳米 TiO_2 1、2 h 后，发芽势、发芽率和发芽指数抑制率都与浓度的对数有良好的线性相关，2 h 的线性关系总体上要比 1 h 好。抑制率随浓度升高而升高，当浓度达到 5 000 mg·L^{-1} 时，发芽势、发芽率和发芽指数抑制率分别达到 30.6%、18.4%，25.5%（1 h）和 22.4%、25.9%、24.4%（2 h）。

由表 2 可知，浸泡 1、2 h 后发芽势、发芽率、发芽指数抑制率与浓度的对数（lg$C$）作线性回归，从各回归方程的 r^2、P、F 值的大小可以看出，除了 1 h 的发芽势和发芽率外，其余都差异显著（P<0.05），且发芽指数的相关性要好于发芽势和发芽率。这与王兴明[20]研究

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 1 纳米 TiO_2 对油菜种子活力的影响

Table 1 Effect of nano-TiO_2 on the vigor of rape seeds

浸泡时间 /h	浓度 / mg·L^{-1}	发芽势 / %	发芽率 / %	发芽指数	活力指数
1	0	62b	87c	20.10b	297.90a
	5	57b	84bc	18.13ab	206.32a
	50	56b	76ab	17.31a	202.29a
	500	55b	73a	16.00a	185.67a
	5 000	43a	71a	14.98a	221.47a
2	0	58b	81b	16.91b	175.6a
	5	57b	76ab	16.67b	189.29a
	50	51ab	71ab	15.18ab	163.61a
	500	49ab	65ab	13.76ab	198.07a
	5 000	45a	60a	12.78a	165.83a
6	0	40a	67a	12.2a	138.10a
	5	50a	73a	14.43a	167.08a
	50	38a	64a	13.5a	139.49a
	500	42a	69a	13.62a	160.81a
	5 000	39a	69a	13.65a	151.46a
12	0	19a	78b	10.55a	104.36a
	5	16a	80b	9.53a	86.29a
	50	20a	76b	10.13a	109.44a
	500	22a	64a	8.96a	96.53a
	5 000	15a	63a	8.30a	78.89a

注 不同小写字母表示各处理间在 0.05 水平差异显著。

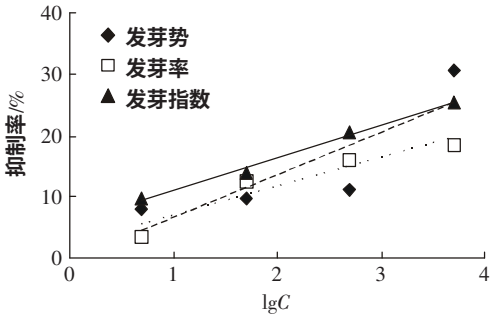

图 1 纳米 TiO_2 浸泡 1 h 对油菜种子萌发指标抑制率的影响

Figure 1 Effect of nano-TiO_2 on the inhibition rate of germination indexes of rape seed with 1 h soaking

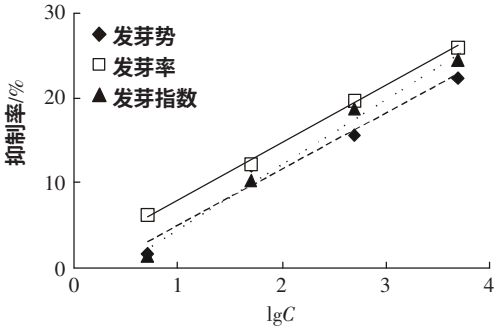

图 2 纳米 TiO_2 浸泡 2 h 对油菜种子萌发指标抑制率的影响

Figure 2 Effect of nano-TiO_2 on the inhibition rate of germination indexes of rape seed with 2 h soaking

的 Cd 对油菜种子发芽与幼苗生长的生态毒理的结论相符，这可能由于发芽指数不仅关注总发芽个数和总天数，而且把每天具体发芽个数和具体天数联合在一起研究有关。由回归方程求得各指标 IC_{20}，比较 2 h 的 IC_{20} 可得纳米 TiO_2 对油菜种子早期萌发的这 3 个生理指标的敏感性顺序为发芽率>发芽指数>发芽势。

2.2 纳米 TiO_2 对油菜种子幼苗生长的影响

由表 3 可知，在油菜幼苗生长过程中，当浸泡时间为 1 h 时，幼苗生长各指标均不表现出差异；浸泡时间为 2 h 时，总长、芽长、根长、根重均与纳米 TiO_2 浓度差异极显著，且均随着浓度的升高而升高，呈正相关，表现为单促作用。浸泡时间为 6 h，总长和根长表现出先降低后升高，呈一般显著性，而芽长表现不显著。总重、根重随着浓度的升高而降低，表现一般显著，芽重基本没变化。当浸泡时间为 12 h 时，除了总重和芽重，其余指标均为一般显著。各生理指标均随浸泡时间的延长而降低。

由图 3、图 4 可知，油菜种子浸泡纳米 TiO_2 2 h 后，其各生理指标的激活率与纳米 TiO_2 的浓度对数有良好的线性关系，激活率均随浓度的升高而升高，当纳米 TiO_2 浓度达到 5 000 mg·L^{-1} 时，总长、芽长、根

表 2 浸泡 1、2 h 各生理指标抑制率与 lg$C$ 之间的量化关系

Table 2 Relationships between inhibition rate of vigor indexes and log concentration of nano-TiO_2 with 1 h and 2 h soaking

生理指标	浸种时间 /h	回归方程	相关系数 r^2	预测效果的方差分析	IC_{20}
发芽势	1	y=6.935x- 0.339	0.718	F=5.094, P=0.153	
	2	y=6.552x- 1.483	0.963	F=51.57, P=0.019	1 901
发芽率	1	y=4.828x+2.023	0.900	F=18.00, P=0.051	
	2	y=6.667x+1.383	0.999	F=1 458, P=0.001	619.0
发芽指数	1	y=5.353x+5.611	0.993	F=286, P=0.003	487.0
	2	y=7.741x- 3.355	0.992	F=238, P=0.004	1 039

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 3 纳米 TiO_2 对油菜种子萌发过程中生理指标影响

Table 3 Effect of nano-TiO_2 on the physiological index of rape during germination process

时间/h	浓度/mg·L^{-1}	总长/cm	芽长/cm	根长/cm	总重/mg	芽重/mg	根重/mg
1	0	10.61a	4.17a	6.43a	53.09a	34.3a	18.78a
	5	10.69a	4.09a	6.6a	51.55a	33.67a	17.88a
	50	10.89a	4.12a	6.78a	55.83a	34.07a	21.76a
	500	11.10a	4.41a	6.7a	56.3a	35.4a	20.89a
	5 000	10.97a	4.29a	6.69a	56.05a	34.14a	21.91a
2	0	10.30aA	3.99aA	6.31aA	54.18a	36.42a	17.77aA
	5	11.37bAB	4.25aAB	7.13bAB	55.10a	37.37a	17.73 aA
	50	11.84bBC	4.62bB	7.23bAB	59.09ab	38.15a	18.95aAB
	500	12.97cC	4.72bBC	8.10cB	60.75ab	39.02a	19.73 aA
	5 000	13.98cC	5.12bBC	8.86cB	64.81b	42.54a	22.28bB
6	0	11.54b	4.41a	7.14b	56.52a	40.65a	15.86b
	5	11.57b	4.37a	7.20b	53.16a	37.32a	15.84b
	50	10.32a	4.55a	5.78a	52.86a	39.8a	13.06ab
	500	11.83b	4.53a	7.31b	54.24a	39.56a	14.68ab
	5 000	11.14ab	4.71a	6.44ab	48.55a	38.51a	10.04a
12	0	10.01ab	4.45ab	5.56ab	52.5a	39.34a	13.15b
	5	9.07a	3.89a	5.19a	44.99a	34.74a	10.25ab
	50	10.87b	4.62b	6.25b	51.67a	38.36a	13.31b
	500	10.41b	4.54b	5.88ab	44.3a	36.6a	7.70a
	5 000	9.56ab	4.24ab	5.33ab	44.13a	35.41a	8.72ab

注：不同小写字母表示各处理间在 0.05 水平差异显著，不同大写字母表示各处理间在 0.01 水平差异显著。

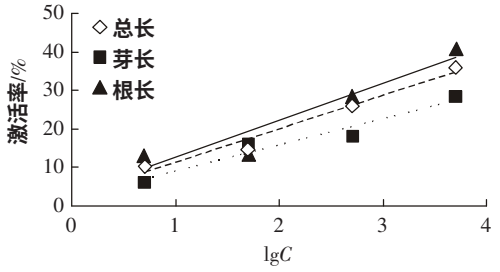

图 3 纳米 TiO_2 浸泡 2 h 对油菜种子根芽长激活率的影响

Figure 3 Effect of nano-TiO_2 on the activation rate of the length of root and bud of rape seed with 2 h soaking

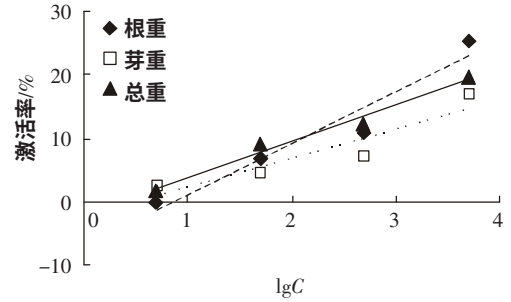

图 4 纳米 TiO_2 浸泡 2 h 对油菜种子根芽重激活率的影响

Figure 4 Effect of nano-TiO_2 on the activation rate of the weight of root and bud of rape seed with 2 h soaking

长、根重激活率分别达到 35.72%、28.32%、40.41%、25.37%。

由表 4 可知，对浸泡 2 h 的各生理指标的激活率与浓度的对数作线性回归并求出 r^2、P 值、F 值后发现，除了芽重外，其他指标均与浓度对数呈现显著线性相关（P<0.05），由回归方程求得 EC_{20} 可知，根长对纳米 TiO_2 最敏感，这与文献的报道相符[18]。但是纳米 TiO_2 对油菜种子发芽根芽伸长的影响具有促进作用，这一点与一般污染物质具有根本不同，但是与纳米 TiO_2 对菠菜种子发芽的影响具有相同的结论[19]。

从以上的分析可见，在浸泡时间为 2 h 时，纳米 TiO_2 对油菜种子萌发及幼苗生长的各个指标的影响最为显著，最适合作为纳米 TiO_2 对种子发芽影响实验的浸泡时间[17]。

3 结论

⑴ 不同纳米 TiO_2 浸泡时间对油菜种子萌发和幼苗生长影响不同。浸泡 2 h 的影响最为显著，最适合作为纳米 TiO_2 对油菜种子发芽影响实验的浸泡时间。

⑵ 浸泡纳米 TiO_2 2 h 的处理抑制了油菜种子早

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 4 浸泡 2 h 各生理指标激活率与 lg$C$ 之间的量化关系

Table 4 Relationships between inhibition rate of physiological indexes and log concentration of nano-TiO_2 with 2 h soaking

生理指标	回归方程	相关系数 r^2	预测效果的方差分析	EC_{20}
总长	y=8.699x+2.61	0.975	F=77.7, P=0.013	99.77
芽长	y=6.792x+2.288	0.957	F=44.6, P=0.022	404.5
根长	y=9.604x+2.96	0.926	F=24.88, P=0.038	55.46
总重	y=5.683x-1.876	0.977	F=84.655,P=0.012	6 918
芽重	y=4.498x-2.069	0.859	F=12.17,P=0.073	
根重	y=8.120x-7.159	0.938	F=30.33,P=0.031	2 187

期萌发,但对根芽伸长具有激活作用。发芽率、发芽指数、发芽势的 IC_{20} 分别为 1 901 、619.0 、1 039 mg·L^{-1}。总长、芽长、根长、总重、根重的 EC_{20} 分别为 99.77、404.5 、55.46 、6 918、2 187 mg·L^{-1},各指标对纳米 TiO_2 敏感性顺序为:发芽率>发芽指数>发芽势,根长>芽长,根重>芽重。

(3) 油菜种子萌发的发芽率和根长可以作为评价纳米 TiO_2 生态毒性效应的较敏感指标。

参考文献:

[1] Service R F. Is nanotechnology dangerous?[J]. *Science*, 2000, 290: 1526-1527.

[2] Dagani R. Nanomaterials: safe or unsafe?[J]. *Chemical and Engineering News*, 2003, 81 (17) : 30-33.

[3] Amato Ivan. Nano′s afety checkup [J]. *Technology Review*, 2004, 107 (1) :22-23.

[4] Igor Linkov, F Kyle Satterstrom, Lisa M Corey. Nanotoxicology and nanomedicine: making hard decisions[J]. *Nanomedicine*, 2008,4 (2) : 167-171.

[5] Vicki l Colvin. The potential environmental impact of engineered nanomaterials[J]. *Nature Biotechnology*, 2003, 21 (10) :1160-1170.

[6] Service R F. Nanomaterials show signs of toxicity[J]. *Science*,2003,300 (5617) :243.

[7] Yang K, Wang X L, Zhu L Z, et al. Competitive sorption of pyrene, phenanthrene, and naphthalene on multiwalled carbon nanotubes [J]. *Environ Sci Technol*, 2006a (40) :5804-5810.

[8] Jon Dobson. Toxicological aspects and applications of nanoparticles in paediatric respiratory disease[J]. *Paediatric Respiratory Reviews*, 2007,8 (1) : 62-66.

[9] Hans C Fischer, Warren C W .Nanotoxicity: the growing need for in vivo study[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2007,18 (6) :565-571.

[10] Soto K F, Carrasco A, Powell T G, et al. Biological effects of nanoparticulate materials[J]. *Mater Sci Eng*,2006 (26) : 1421-1427.

[11] 王 燕,康现江,穆淑梅. 纳米二氧化钛的毒理学研究进展[J]. 中国药理学和毒理学, 2008 (1) :77-80.
WANG Yan, KANG Xian-Jiang, MU Shu-Mei. Nanometer titanium dioxide and its toxicology progress[J]. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2008 (1) :77-80.

[12] International Organization for Standardization(ISO).Soil quality-determination of the effects of pollutants on soil flora[J]. *Partl :Method for the Measurement of Inhibition of Root Growth ,ISO*,1993,l1269-1.

[13] 林匡飞,徐小清,郑 利,等. Se 对小麦种子发芽与根伸长抑制的生态毒理效应[J]. 农业环境科学学报,2004,23 (5) :885-889.
LIN Kuang-fei, XU Xiao-qing, ZHENG Li,et al. Eco-toxicological effects of selenium on inhibition of seed germination and root elongation of wheat[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2004,23 (5) : 885-889.

[14] 李 威,周启星,华 涛. 铁盐絮凝剂与金属镉对小麦种子发芽与根伸长的毒性效应[J]. 农业环境科学学报,2008,27 (2) :420-424.
LI Wei, ZHOU Qi-xing, HUA Tao. Toxic effects of iron-based flocculants and cadmium on seed germination and root elongation of wheat [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008,27 (2) :420-424.

[15] 宋玉芳, 许华夏. 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.
SONG Yu-fang, XU Hua-xia. Eco-toxicological effects of heavy metals on the inhibition of seed germination and root elongation of Chinese cabbages in soils[J]. *Environmental Science*,2002,23 (1) :103-107.

[16] 宋玉芳,周启星,许华夏,等. 重金属对土壤中小麦种子发芽与根伸长抑制的生态毒性[J]. 应用生态学报, 2002,13 (4) :459-462.
SONG Yu-fang, ZHOU Qi-xing, XU Hua-xia, et al. Eco-toxicity of heavy metals on the inhibition of seed germination and root elongation of wheat in soil [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002,13 (4) : 459-462.

[17] 陶 玲,任 珺,祝广华,等. 重金属对植物种子萌发的影响研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2007,26 (增刊) :52-57.
TAO Ling,REN Jun,ZHU Guang-hua,et al. Advance on the effects of heavy metals on seed germination[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26 (supplement) :52-57.

[18] Lin D, Xing B. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth[J] . *Environ Pollut*, 2007,150 (2) :243-250.

[19] Fengqing Gao, Chao Liu, Chunxing Qu, et al. Was improvement of spinach growth by nano-TiO_2 treatment related to the changes of *Rubisco activase*[J]. *Biometals*, 2007,21 (2) :211-217.

[20] 王兴明, 李 晶, 涂俊芳, 等. Cd 对油菜种子萌发和幼苗生长的生态毒理[J]土壤通报,2006,37 (6) :1218-1223.
WANG Xing-ming, LI Jing, TU Jun-fang, et al. Eco-toxicity of Cd on the sead germination and seading growth of rape[J]. *Chinese Journal of Soil Science*,2006,37 (6) :1218-1223.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net