

张佩华, 韦 颖, 李鹏善, 等. 苍耳在 PAHs 胁迫下的根系响应[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(11): 458–461.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.11.143

苍耳在 PAHs 胁迫下的根系响应

张佩华, 韦 颖, 李鹏善, 朱正杰, 安树青
(南京大学生命科学学院湿地生态研究所, 江苏南京 210046)

摘要:利用植物修复多环芳烃污染的土壤环境是一种新型经济环境友好的修复方式。苍耳作为一种适应性和抗逆性强的物种,其在修复受多环芳烃污染的土壤中的应用研究较少。通过盆栽试验研究苍耳根系在三类多环芳烃污染土壤中对污染物 PAHs 的响应,从不同浓度及类别 PAHs 下苍耳植株的生物量,根系形态结构总根长(RL)、根表面积(RS)、根体积(RV)、根尖数(RT),以及土壤多酚氧化酶(PPO)分析其对于多环芳烃耐受性的强弱,以期确定苍耳能否作为生态修复种。结果表明,在高浓度 PAHs 处理下的苍耳根系生长增大,在高环数多环芳烃 PYE 处理下,受抑制程度随浓度变化显著,表现在根长变短、表面积降低、体积减小以及根尖数减少。在不同 PAHs 处理下苍耳根际土壤 PPO 酶活性视具体的 PAHs 种类变化,二环 NAP 处理以及四环 PYE 处理下, PPO 酶活性数较三环 PHN 处理低,根际土中比非根际土中 PPO 酶活性高。因此,苍耳在三类多环芳烃(NAP、PHN、PYE)胁迫下,根系生长及根际微生物活动虽然会随着 PAHs 浓度升高受抑制,但对其无致命影响,并在低中浓度下表现出较好的抗逆性。可以将苍耳作为潜力植物种对 PAHs 污染土壤进行植物修复,并对其抗逆性开展进一步深入研究。

关键词:苍耳根系;多环芳烃;植物修复

中图分类号: Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)11-0458-04

多环芳烃类化合物 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是由 2 个或者 2 个以上的苯环以稠环形式连接的化合物,属于持久性有机污染物 (POPs)的大类。化石燃料燃烧、污水灌溉、油田开采等,造成中国土壤中 PAHs 等有机污染严重,影响农产品的安全并造成地下水次生污染,对人群健康也有危害^[1-2]。由于其具有慢性毒性,对生物具有致畸、致癌、致突变的“三致”作用,是环境污染研究中优先重点研究的对象^[3-4]。PAHs 也是我国土壤环境中多见的一类重要有机污染物,其污染呈加剧之势,污染浓度从 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 量级升至 mg/kg 量级,检出率从不到 20% 增至 80% 以上,导致我国主要农产品中 PAHs 检出率达 20% 左右^[5]。因此,修复土壤 PAHs 等持久性有机物污染已成为国内外保护土壤环境安全关注的热点问题之一。利用植物对 PAHs 污染的土壤进行修复是一种经济有效的修复技术。植物修复是指利用植物在生长过程中吸收、降解、钝化有机污染物的一种原位处理污染土壤的方法^[6]。植物修复有机物污染土壤包括以下 5 种基本类型,包括植物固定、根际降解(植物促进根际微生物修复)、根际过滤(污染物摄取)、植物降解(植物转化)、植物挥发^[7]。其中根际降解和根际过滤是植物根系直接接触有机污染物时涉及的植物生理过程。在用草本植物对 PAHs 多年污染土壤进行修复的研究中发现,PAHs 主要集中在根部,而茎和叶组织中未检测到 PAHs^[8]。在土壤非生物逆境胁迫条件下,植物最

先感受逆境胁迫的器官是根系,而植物可以通过改变根系的形态和分布,以适应环境胁迫^[9-10]。因此,根系作为直接接触污染物的植物器官,在降解吸收利用 PAHs 方面起着十分重要的作用。

苍耳(*Xanthium sibiricum* Patr),别称羊带归、疔疮草、野茄子、粘粘葵等,属于菊科植物苍耳属^[11],苍耳广泛分布在全国各地,适应性强、易于散布、适应各种环境,全国资源丰富^[12]。目前,对苍耳的研究大都局限在其药用价值和饲料应用等方面。在治理环境、发挥生态效应上报道较少,现有研究主要集中在其对盐分和重金属胁迫方面^[13-15]。

本试验采用苍耳作为研究对象,观察多种浓度下 PAHs(萘、菲、芘)对苍耳根系的形态结构、生物量以及土壤酶多酚氧化酶(PPO)的变化,分析苍耳根系如何响应 PAHs 的胁迫,以期为苍耳能否作为受 PAHs 污染土壤的修复种提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试剂

高纯度(高于 99%)的多环芳烃(萘 NAP,菲 PHN,芘 PYE)购自东京化成工业公司。基本性质见表 1。

表 1 多环芳烃的理化性质

| 化合物 | 缩写 | 简称 | 分子量 | WS | Hc | logKow |
|--------------|-----|----|-------|-------|------|--------|
| Naphthalene | NAP | 萘 | 128.2 | 31.7 | 43.0 | 3.36 |
| Phenanthrene | PHN | 菲 | 178.2 | 1.29 | 4.0 | 4.46 |
| Pyrene | PYE | 芘 | 202.3 | 0.135 | 1.1 | 4.88 |

注:WS 为水溶度(water solubility),是指在 25 ℃ 下的溶解度($\mu\text{g}/\text{mL}$);Hc 为亨利系数(Henry's constant, $\text{Pa} \cdot \text{m}^3/\text{mol}$);logKow 为辛醇-水分配系数^[16]。

收稿日期:2014-11-02

基金项目:国家科技重大专项(编号:2012ZX07204-004)。

作者简介:张佩华(1989—),男,江苏常州人,硕士研究生,主要从事湿地生态学研究。E-mail: peihua. hi@163. com。

通信作者:安树青,教授,主要从事湿地生态学研究。E-mail: anshq@nju. edu. cn。

1.2 材料

供试土壤采自河南省郑州市索须河河岸,位于 $34^{\circ}53'02.50''\text{N}$ 、 $113^{\circ}36'21.42''\text{E}$,取表层土(0~20 cm),土壤基本理化性质为 $\text{TN}=0.04\%$ 、 $\text{TOC}=1.08\%$ 、 pH 值为 7.8, PAHs 背景值为 0。室温风干 48 h 后,去除大颗粒杂物,过 2 mm 直径土筛。

苍耳种子采于河南省郑州市索须河沿岸位于 $34^{\circ}53'00.84''\text{N}$ 、 $113^{\circ}36'15.11''\text{E}$ 至 $34^{\circ}53'02.50''\text{N}$ 、 $113^{\circ}36'21.42''\text{E}$ 成熟植株上。

1.3 试验设计

将所需要添加的萘、菲、芘溶解于丙酮中,混合到风干土中,在通风橱中进行通风处理直到样品土壤中不再含有丙酮,得到 NAP 含量 72 mg/kg、PHN 含量 24 mg/kg、PYE 含量 64 mg/kg 的母土。然后将这些母土与风干土混合,按照如下设置梯度进行混合,得到以下浓度的试验土壤:NAP 含量 9、18、36 mg/kg; PHN 含量 3、6、12 mg/kg; PYE 含量 8、16、32 mg/kg。本试验浓度梯度参照付杰对淮河流域表层沉积物中 PAHs 的研究^[17]而设定,其中 L 表示低浓度、M 表示中浓度、H 表示高浓度。每种浓度处理,设置 3 类生物因素无菌组 NM(定期进行甲醛灭菌)、有菌组 NP(不种植植物)以及种植植物组 MP。每类生物因素组都有 NAP、PHN、PYE 3 种污染物的 3 个梯度处理。每个处理 3 个重复。试验设计见表 2。

表 2 试验设计

| PAHs (NAP, PHN, PYE) | 无菌组 (NM) | 有菌组 (NP) | 植物组 (MP) |
|-------------------------|-------------|-------------|-------------|
| L | 3 | 3 | 3 |
| M | 3 | 3 | 3 |
| H | 3 | 3 | 3 |

1.4 取样与测定

栽种植物的花盆高度 18 cm,宽度 14 cm,每培养盆放入 1 kg 的受试土壤(混合均匀的风干土),每隔 2 d 浇 1 次水,每次 300 mL 去离子水调节土壤含水量至最大持水量的 60%。放置在室外进行培养,1 月培养期结束后,对苍耳土壤进行取样。其中植株根系取样中,先对土壤进行充分的润湿,之后小心地将苍耳整株拔出,在遇到较多根系时,要轻轻抖落,将黏着在根系上的土壤抖掉,然后将整株苍耳以去离子水洗净后,从胚芽着生点用剪刀将植株分为地上和地下 2 部分,分别装入塑封袋中。将地下部分放入低温保温箱中进行保存,运送至实验室进行根系分析。地上部分带入实验室,擦拭干净后进行鲜质量称量,烘干后进行干质量称量。地下部分在根系分析之后也进行鲜质量、干质量的称量。

采用 RHIZO 2004b Operator 根系分析仪测量苍耳根系结构,测量后分别计算总根长(RL),根表面积(RS),根体积(RV)、根尖数(RT)指标。

土壤多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)是一种复合性酶,主要来源于土壤微生物、植物根系分泌物及动植物残体分解释放的酶。多酚氧化酶是土壤中重要的氧化还原酶,参与催化 PAHs 化合物降解的中间产物儿茶酚转化为苯醌的过程,减少降解过程中儿茶酚的积累,从而使降解过程顺利进行^[18]。土壤 PPO 酶采用比色法测定^[19]。

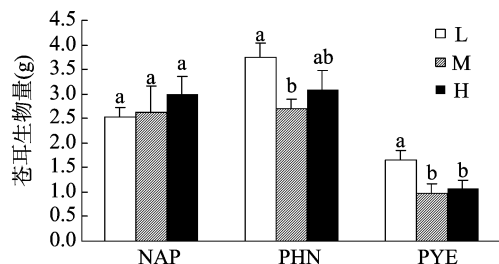
1.5 统计与分析

用 SPSS 19.0 统计软件进行数据统计分析。数据类型包括植株地上地下生物量、根长、根体积、根表面积、根尖数以及土壤多酚氧化酶活性。各组数据以污染物浓度为因子进行平均值及标准差计算、方差齐性检验以及二维方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度下 3 种污染物对苍耳生物量的影响

2.1.1 生物量 由图 1 可知,在 NAP 处理下,3 个浓度梯度中苍耳总生物量之间差异不显著;在 PHN 处理下,低浓度处理下的生物量要显著高于中浓度下的生物量,高浓度下的生物量则与低中浓度处理差异不显著;在 PYE 处理下,低浓度处理下的生物量要显著高于中、高浓度下的生物量,中、高浓度处理之间生物量差异不显著。



相同化合物标有小写、大写字母不同者分别表示不同浓度处理间差异显著($P<0.05$)、极显著($P<0.01$)。图2、图3、图4、图5、图6、图7、图8同

图1 不同 PAHs 浓度下苍耳生物量的变化

2.1.2 地上部分、地下部分生物量 NAP 组地上部分、地下部分生物量在 3 个浓度处理下差异不显著。PHN 组、PYE 组,低浓度下地上和地下生物量都要极显著高于中浓度处理,而高浓度处理与低中浓度处理下生物量差异不显著。不同处理条件下地上部分、地下部分生物量的变化差异与总生物量的变化差异表现一致(图 2)。

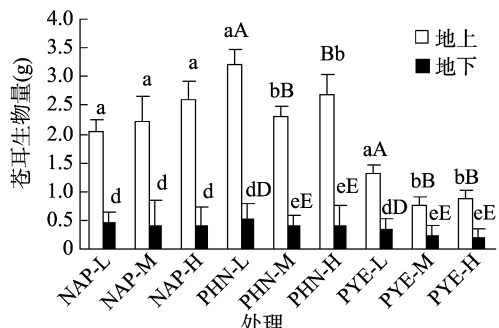


图2 不同 PAHs 浓度下地上和地下部分生物量的变化

2.1.3 地上部分、地下部分生物量比例 地上地下生物量占总生物量比例见表 3。从地上、地下生物量占总生物量比例变化上看,不同处理下地上部分所占比例随 PAHs 浓度升高有上升趋势,地下根系在接触高浓度 PAHs 时生长受到抑制从而影响根系生物量的积累,试验结果表明,苍耳在受 PAHs 胁迫下会选择性地增加地上部分的养分分配,提高地上部分对 PAHs 的耐受性。试验结果表明,二环的 NAP 相比三环 PHN 和四环 PYE 结构简单,容易被根际微生物降解作为碳源吸收利用,在高浓度时作为大量碳源促进了根际微生物的生长。而根际微生物能够改善根系生长环境,促进苍耳的生长。

表 3 不同 PAHs 浓度处理地上部分、地下部分生物量比例

| 类型 | 生物量比例(%) | |
|-------|----------|------|
| | 地上部分 | 地下部分 |
| NAP-L | 81 | 19 |
| NAP-M | 84 | 16 |
| NAP-H | 86 | 14 |
| PHN-L | 86 | 14 |
| PHN-M | 85 | 15 |
| PHN-H | 87 | 13 |
| PYE-L | 78 | 22 |
| PYE-M | 75 | 25 |
| PYE-H | 81 | 19 |

对于根系而言 NAP 浓度升高,直接接触抑制了根系的生长。但通过根与根际微生物的共同作用,改善了根际环境,促进地上生物量的积累,因此地下生物量的亏损可以通过地上部分的增加得到补偿。

而对于环数较多的 PHN(三环)、PYE(四环),更难被植物及微生物降解吸收。因而在低浓度时,少量的 PHN 和 PYE 易于被根际微生物分解利用,促进植物生长;中高浓度时,生物可利用性低,毒性高,对植物的生长产生明显的抑制作用。本研究结果与相关研究结果^[20-22]一致。

本试验中,PHN 和 PYE 处理的苍耳总生物量在高浓度下都要比中浓度下的高。是否因为在高浓度下,植物根际土壤中某一类微生物(高效降解 PHN、PYE 菌株)成为了优势种,与植物的共同作用下,提高了对 PHN 和 PYE 的生物可利用性,降解成低环数低毒有机物,作为碳源吸收,促进了植物生长,还需要进一步研究证实。

2.2 不同浓度下 3 种污染物对苍耳根系形态的影响

2.2.1 总根长 由图 3 可知,随着 NAP 或 PHN 浓度升高,苍耳的总根长有降低的趋势,但不同浓度处理的总根长之间差异不显著;在 PYE 处理下,中、高浓度处理下的苍耳总根长显著低于低浓度处理组。高浓度组苍耳总根长虽然低于中浓

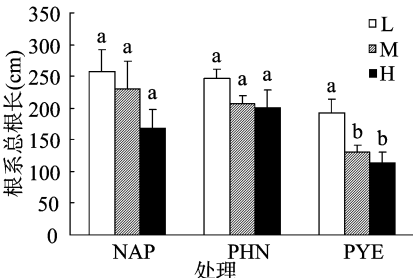


图3 不同 PAHs 浓度处理植物根系总根长的变化

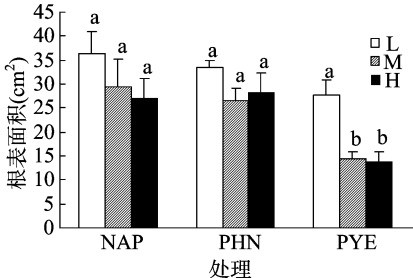


图4 不同 PAHs 浓度处理下植物根表面积的变化

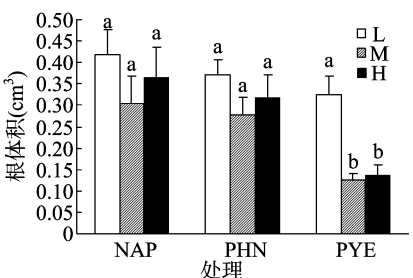


图5 不同 PAHs 浓度处理下植物根体积的变化

2.2.4 根尖数 由图 6 可知;随着 NAP、PHN 浓度升高,苍耳根系根尖数不断下降,其中高浓度下的植物根尖数要显著低于低、中浓度。在 PYE 处理下,苍耳根系的根尖数在低浓度和高浓度下均显著低于中浓度。根尖是根系生长最活跃的区域,也是根系接触土壤 PAHs 的前哨。在植物直接吸收土壤 PAHs 的过程中,根尖受到的 PAHs 的抑制,随其浓度升高而显著增加。这也是 PAHs 浓度过高时毒性增大的体现。由于植物对矿质离子的吸收主要是通过根尖进行离子交换和主动吸收^[24],因此根尖数的减少也降低了根系活力,对植物的生物量的积累也产生抑制。

度组,但差异不显著。3 类污染物的对比下,PYE 处理下的苍耳根系在 3 类处理物中是最短。因为 PYE 作为四环的 PAHs,是毒性较高的一个表现。研究结果表明,无论是环数低的 NAP 还是环数较高的 PHN 和 PYE,在浓度高的情况下,植物根系的生长都会受到伸长抑制。

2.2.2 根表面积 由图 4 可知,随着 NAP 或 PHN 浓度升高,苍耳的根表面积有降低趋势,但不同处理根表面积间差异不显著;PYE 中、高浓度处理下苍耳的根表面积要显著低于低浓度处理组,中、高浓度处理间差异不显著。从 3 组不同污染物的对比可以看出,PYE 组处理下苍耳根系根表面积,最低。

根系表面积是根系和土壤进行营养交换的界面,也与水分吸收密切相关^[23]。低浓度的 PAHs 在被植物和微生物共同作用降解后可以促进根表面积的增加,从而有利于植物从土壤中吸收更多的水分及矿质元素来维持自身的生长与代谢。试验结果表明,NAP、PHN、PYE 在高浓度情况下都会抑制植物根系的扩展,降低其根系表面积。

2.2.3 根体积 不同处理组根体积的变化见图 5。随着 NAP 或 PHN 浓度的升高,苍耳的根体积有先降再升的趋势,但各浓度处理的根体积之间差异不显著;在 PYE 处理下,随着浓度升高,苍耳根体积显著降低,中、高浓度处理间根体积差异不显著。在低浓度下,植物向根系输送的碳同化产物增加,促进根系生长,用以维持根系对矿质元素及水分的吸收;在高浓度下,则是因为四环的 PYE 毒性相对较高,对植物生长主要起抑制作用。在 3 类污染物处理下,苍耳根体积变化具有相似的趋势,即在低浓度下,其根体积相对增大。根系处于生长和营养物质储存状态下,根体积增大。结合上述苍耳根长、根表面积的变化趋势,在高浓度 PAHs 的处理下,苍耳根系虽然从伸长、扩展都受到了抑制,但是在逆境条件下,植物通过在根系积累营养物质,相对增大根体积,加强根系在逆境下的生活力,从而使植物更好地适应高浓度污染的环境。

2.3 不同类污染物浓度下苍耳根际土土壤酶活性的变化

从图 7 可以看出,无菌,有菌,以及菌和植物 3 类的土壤 PPO 值差异不显著,但在有生物因素即植物和微生物都存在的情况下,根际土壤中 PPO 活性增加,这从侧面证明在根际环境中,植物根系与微生物共同作用下对 PAHs 分解是活跃的。这在其他 2 类 PAHs 的处理结果上有同样的趋势。不同 PAHs 处理下,根际土中的 PPO 活性变化见图 8。

随着 NAP 浓度升高,根际土中的 PPO 活性有降低的趋势,但各浓度下的 PPO 活性差异不显著。而随着 PHN 和 PYE 浓度升高,根际土壤中的 PPO 活性有增加的趋势,但各

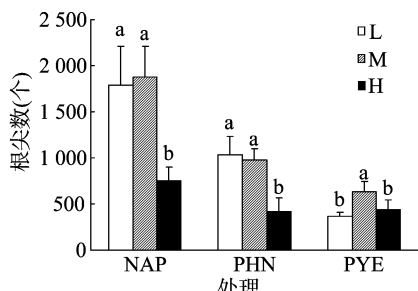


图6 不同 PAHs 浓度处理下植物根系根尖数的变化

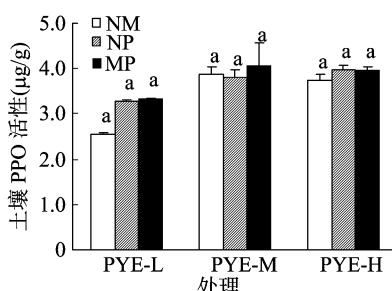


图7 不同浓度PYE处理下根际土壤PPO的变化

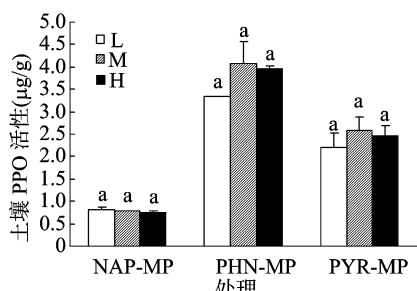


图8 不同 PAHs 浓度处理下根际土壤PPO活性变化

浓度下的 PPO 活性也没有显著差异。PHN 处理下苍耳根际土 PPO 活性比 NAP、PYE 处理高有以下原因: NAP 组由于环数低,易于降解,加之在物理化学作用下耗散的多,使得土壤中残余的 NAP 少,在试验后期,土壤微生物降解活动减少,分泌的酶减少。PYE 组根际土中 PPO 含量低与 PYE 化学性质有关,环数高,毒性大,抑制了根际微生物的活动,导致 PPO 含量较低。

3 结论与讨论

在试验周期内,苍耳(包括在 PYE 组高浓度下长势不好)完成了整个的生活史(发芽-开花-结果)。苍耳作为抗逆性强的物种,在逆境环境下,能够充分利用环境资源,增加地上生物量,完成生活史,可繁育下一代。本试验结果,NAP、PHN 处理组苍耳长势较好,其根系、根长、根表面积、根体积受 NAP、PHN 抑制较小。PYE 组苍耳根系形态随着浓度升高变化明显,表现在根长降低、根直径降低、体积减小、根尖数减小等。PYE 多环高毒,限制了苍耳的地下部分的生长,从而导致其地上部分矮小,总生物量低。在低环数,低毒的 PAHs 土壤的植物修复中,植物能够较好地吸收、降解这类 PAHs,在高环 PAHs 下较易受到抑制。在根际环境下,通过对根际土的 PPO 活性进行研究,结果显示 PYE 处理下根际土壤中 PPO 值低于 PHN 处理组,NAP 组最低。原因是 PYE 组根际微生物受 PYE 高浓度限制,而 NAP 组 PPO 活性低有可能是因为残留较少,降解过程停缓。在 PHN 组和 PYE 组,表现出了比较强的微生物活动。苍耳只在高浓度、高毒性的 PAHs 胁迫下才表现出生长受限制,表明在 PAHs 胁迫下其根际环境适应力强,微生物活动强烈,能够作为有潜力的生态修复种,对 PAHs 污染的土壤进行修复。

参考文献:

- [1] 林道辉,朱利中,高彦征. 土壤有机污染植物修复的机理及影响因素[J]. 应用生态学报,2003,14(10):1799-1803.
- [2] 陈宝梁. 表面活性剂在土壤有机污染修复中的作用及机理[D]. 杭州:浙江大学,2004.
- [3] Keith L H, Telliard W A. Priority pollutants are a perspective view[J]. Environmental Science & Technology,1979(13):416-423.
- [4] Wilson S C, Jones K C. Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): a review[J]. Environmental Pollution,1993,81(3):229-249.
- [5] Reilley K A, Banks M K, Schwab A P. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere[J]. Environ Qual,1996,25:212-218.

- [6] 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.
- [7] 彭胜巍,周启星. 持久性有机污染土壤的植物修复及其机理研究进展[J]. 生态学杂志,2008,27(3):469-475.
- [8] Qiu X, Leland T W, Shah S, et al. Field study: Grass remediation for clay soil contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons[M]. Washington D C: American Chemical Society,1997.
- [9] 田生科,李廷轩,彭红云,等. 铜胁迫对海州香薷和紫花香薷根系形态及铜富集的影响[J]. 水土保持学报,2005,19(3):97-100,183.
- [10] 李 锋,李木英,潘晓华,等. 不同水稻品种幼苗适应低磷胁迫的根系生理生化特性[J]. 中国水稻科学,2004,18(1):48-52.
- [11] 韩迎辰. 苍耳的药用价值[J]. 实用医药杂志,2005,22(3):262-263.
- [12] 吕益涛,侯海宫,苏耀海,等. 苍耳属植物的鉴别研究[J]. 中国中药杂志,2001,26(1):17-20.
- [13] 董林林,赵先贵,韦良焕. 曼陀罗和苍耳对污染土壤中镉的吸收与富集[J]. 生物技术,2009,19(2):29-32.
- [14] 聂俊华,刘秀梅,王庆仁. Pb(铅)富集植物品种的筛选[J]. 农业工程学报,2004,20(4):255-258.
- [15] 马 杰. 苍耳种子萌发对盐胁迫和不同温度的响应[J]. 重庆理工大学学报:自然科学,2012,26(12):54-58.
- [16] Mackay D, Shiu W Y. A critical review of Henry's law constants for chemicals of environmental interest[J]. Journal of Physical and Chemical Reference Data,1987,10:1175-1199.
- [17] 付 杰. 淮河流域表层沉积物中多环芳烃的研究与赤泥在染料废水处理中的应用[D]. 南京:南京大学,2011.
- [18] 张春桂,许华夏,姜晴楠. 污染土壤生物恢复技术[J]. 生态学杂志,1997,16(4):53-59.
- [19] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京:农业出版社,1986:323-328.
- [20] Maliszewska K B, Smreczak B. Ecotoxicological activity of soils polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): Effect on plants[J]. Environmental Technology,2000,21:1099-1110.
- [21] 于 凤,李钟玮,樊 萍. 石油对农作物影响的研究[J]. 油气田环境保护,1996,6(1):44-49.
- [22] 丁克强,骆永明,刘世亮,等. 黑麦草对非污染土壤修复的初步研究[J]. 土壤,2002,34(4):233-236.
- [23] Jackson R B, Mooney H A, Schulze E D. A global budget for fine root biomass, surface area, and nutrient contents[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1997,94(14):7362-7366.
- [24] 张晓磊,刘晓静,齐敏兴,等. 混合盐碱对紫花苜蓿苗期根系特征的影响[J]. 中国生态农业学报,2013,21(3):340-346.