## 生物质炭对邻苯二甲酸二丁酯污染土壤黄瓜幼苗生理特性的影响

李贞霞 $^{1,2}$ ,孙涌栋 $^{1,2}$ ,郑万通 $^{1}$ ,王倩文 $^{1}$ ,穆 娟 $^{1}$ ,柳维娟 $^{1,2}$ ,王广印 $^{1,2}$ ,李新峥 $^{1,2}$ 

(1.河南科技学院园艺园林学院,河南 新乡 453003;

2.河南省园艺植物资源利用与种质创新工程研究中心,河南 新乡 453003)

摘要:通过模拟试验,研究利用生物质炭改善邻苯二甲酸二丁酯(DBP)污染土壤对黄瓜幼苗生理特性的影响。试验设计 4 个生物质炭处理(CK、C 0.5%、C 1%、C 2%)和 3 个 DBP 浓度梯度(0.20.40 mg/kg)。结果表明:DBP 污染土壤施入生物质炭,在低含量(C 0.5%)时黄瓜幼苗细胞膜稳定性增强,较高含量(C 1%和 C 2%)时细胞膜稳定性与对照基本一致;生物质炭的施入显著增强了黄瓜幼苗 SOD 活性,降低了 CAT 活性和光合色素(叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a+b 和类胡萝卜素)含量,对 APX 活性影响规律性不显著,C 2%处理显著提高了 POD 活性。C 0.5%显著降低叶绿体荧光参数  $F_0$ 、 $F_m$ 与  $F_v/F_m$ 值;低含量(C 0.5%)时  $\Phi_{PSII}$ 降低,而在中高含量时(C 1%和 C 2%) $\Phi_{PSII}$ 与对照基本一致;C 0.5%且 DBP 含量 0 mg/kg 时, $q_P$ 最大;施入生物质炭对 NPQ 的影响以 C 1%最显著。灰色关联分析表明,生物质炭和 DBP 对黄瓜幼苗的影响首先从抗氧化酶活性上体现,然后叶绿素荧光系统做出相应的改变,最后影响到细胞膜的稳定性及光合色素含量的变化。研究结果为进一步研究生物质炭对设施作物生理特性影响、DBP 污染治理及生物质炭的合理应用提供科学依据。

关键词:生物质炭;邻苯二甲酸二丁酯(DBP);黄瓜;抗氧化酶;叶绿素荧光

中图分类号:S216 文献标识码:A 文章编号:1009-2242(2019)05-0243-08

DOI: 10.13870/j.cnki.stbcxb.2019.05.036

# Effects of Biochar on Physiological Characteristics of Cucumber Seedlings in Soils Contaminated with Dibutyl Phthalate (DBP)

LI Zhenxia<sup>1,2</sup>, SUN Yongdong<sup>1,2</sup>, ZHENG Wantong<sup>1</sup>, WANG Qianwen<sup>1</sup>,

MU Juan<sup>1</sup>, LIU Weijuan<sup>1</sup>, WANG Guangyin<sup>1,2</sup>, LI Xinzheng<sup>1,2</sup>

 $(1. College\ of\ Horticulture\ and\ Landscape\ ,\ Henan\ Institute\ of\ Science\ and\ Technology\ ,\ Xinxiang\ ,\ Henan\ 453003\ ;\ 2. Henan\ And Science\ and\ Technology\ ,\ Annion Anti-Annion Annion An$ 

Abstract: The effects of biochar on physiological characteristics of cucumber seedlings in DBP contaminated soil were studied through simulation experiments. Four biochar treatments (CK, C 0.5%, C 1% and C 2%) and three DBP concentration gradients (0,20 and 40 mg/kg) were designed. The results showed that when the biochar was applied to DBP contaminated soil, the stability of cell membrane was enhanced at low concentration (C 0.5%), and remained basically the same as that of CK at high concentration (C 1% and C 2%). The application of biochar significantly enhanced SOD activity in cucumber seedlings, reduced CAT activity and content of photosynthetic pigment (chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll a+b and carotenoid), but had no regular effect on APX activity, and C 2% treatment significantly increased POD activity. C 0.5% treatment significantly decreased  $F_0$ ,  $F_m$  and  $F_v/F_m$ .  $\Phi_{PSII}$  decreased at low concentration (C 0.5%), and remained basically the same as that of CK at high concentration (C 1% and C 2%). When the biochar was 0.5% (C 5%) and DBP was 0 mg/kg,  $q_P$  was the largest. The effect of applying biochar on NPQ was the most significant in C 1%. Grey correlation analysis showed that the effects of biochar and DBP on cucumber seedlings were firstly reflected in the activities of main antioxidant enzyme, then the chlorophyll fluorescence

收稿日期:2019-03-16

**资助项目:**河南省大宗蔬菜产业技术体系建设项目(S2010-03-G06);河南省大学生创新创业训练计划项目(201810467009);河南科技学院"百农英才"项目(252);国家重点研发计划项目(2016YFD0201000)

system changed accordingly, and finally the stability of cell membrane and the change of photosynthetic pig-

ments content were affected. The results could provide scientific basis for further research on biological characteristics of facility crops, DBP pollution control and reasonable application of biochar.

Keywords: biochar; dibutyl phthalate (DBP); cucumber; antioxidant enzyme; chlorophyll fluorescence

黄瓜(Cucumis sativus L.)是我国设施农业生产 中的主要蔬菜作物之一,在长期的设施栽培过程中, 因设施农田土壤连作障害、土壤污染等因素而造成黄 瓜产量降低、品质下降,严重影响黄瓜的经济效益和 食用安全[1]。邻苯二甲酸二丁酯(dibutyl phthalate, DBP)是邻苯二甲酸酯类(PAEs)中的一种,是广泛用 于农膜和塑料中的添加剂。DBP 是美国和我国都优 先控制的环境污染物,在我国农田土壤中普遍存 在[2],如我国著名的设施蔬菜产区山东寿光设施农田 中 DBP 含量在 2.27~20.54 mg/kg<sup>[3]</sup>,北京市某工业 污灌菜地的表层土壤 DBP 的含量为 59.8 mg/kg<sup>[4]</sup>, 已远远超过美国土壤 DBP 化合物控制标准(DBP 0.08 mg/kg)<sup>[5]</sup>。农田中 DBP 污染的存在,会促使蔬菜对 DBP 的富集吸收[6],进而危害人体健康。有研究[7] 表 明,我国大龄儿童 DBP 的摄入量是欧洲水平的 17 倍,摄 入量高的主要原因来自其对设施蔬菜的消费。目前人 们尝试了物理方法(沙滤、混凝和吸附等)、化学方法(化 学氧化、光化学氧化和光催化法)、生物方法(植物修 复和微生物修复)等方法去除土壤 DBP 污染。但近 几年因为生物质炭研究应用的崛起,利用生物质炭改 善设施农田得到了广泛的应用[8]。

生物质炭(Biochar)是指将生物质材料经过高温 厌氧热解而制成的含碳丰富的固体物质。自 20 世纪 末期生物质炭在亚马逊腹地被发现以来,生物质炭在 环境工程、环境管理、土壤管理、气候变化应对等领域 得到广泛的研究和应用,已成为近十年来农业可持续 发展研究的重要前沿领域。生物质炭能够改善土壤 理化性状[<sup>9]</sup>,修复污染土壤<sup>[10]</sup>,降低农田温室气体排 放<sup>[11]</sup>,增加作物产量<sup>[12]</sup>。但也有研究<sup>[13]</sup>指出,土壤 施加生物质炭可能具有双面性。生物质炭施入土壤 后,一方面会改变土壤理化性状、微生物类群等,另一 方面也会影响植物的生理生化特性。但目前生物质 炭对植物生理生化特性方面的研究很少,且对此类研 究长期被忽视<sup>[14]</sup>。

在利用生物质炭改善设施农田土壤过程中,生物质炭必然会遇到设施农田中普遍存在的 DBP 污染物。生物质炭可以吸附和固定 DBP 污染物,降低 DBP 的生物有效性[15],施用生物质炭可以显著降低植物各器官对 DBP 的富集[16]。但在 DBP 污染存在的情况下,施入生物质炭对植物生理特性影响的研究还鲜见报道。为此,本试验主要研究在 DBP 污染物

存在的前提下,生物质炭对黄瓜幼苗细胞膜稳定性、抗氧化酶活性及叶片光合荧光特性的影响,以期为研究生物质炭对设施作物生理特性影响、DBP污染治理及生物质炭的合理应用提供科学依据。

## 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

供试黄瓜品种为"津优1号",购自河南省新乡市 牧野种子经销部。DBP购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司,纯度大于99%。

供试土壤采自河南省信阳市浉河区荒地表层 10—20 cm 土壤,采后自然风干,过筛备用。土壤 pH 为 6.2,采用玻璃电极法(1:2.5 土水比)测定;土壤 碱解氮含量 112.03 mg/kg,采用扩散法测定;有机质 15.03 g/kg,采用油浴法测定;速效磷 55.48 mg/kg,采用氟化铵和盐酸提取比色法测定;速效钾 70.03 mg/kg,采用醋酸铵提取火焰光度法测定;以上测定方法均参考《土壤农化分析》[17]。

小麦( $Triticum\ aestivum\ L.$ )秸秆采自河南科技学院试验田;将秸秆室温自然风干,用粉碎机粉碎,过1 mm 筛,过筛后分别装入 50 mL 的陶瓷坩埚中,装满后压实,盖上盖子置于马弗炉于 500 ℃下进行厌氧热解,升温速率 20 ℃/min,热解过程持续 4 h,制成生物炭,待自然冷却后取出备用;生物质炭 pH 为 10.63,按炭:水为 1:5 搅拌过滤测定;生物炭元素成分采用Optima 2100 pv 电感耦合等离子发射光谱仪(PE 仪器有限公司,美国)测定,其有益元素 Ca、K、Mg、Na 含量分别为 1 182.81,2 002.34,434.38,77.85  $\mu g/g$ ,有害元素Pb、Zn、Cr含量分别为 0.13,5.46,0.58  $\mu g/g$ ;灰分含量 252.31 g/kg,采用直接灰化法;全氮含量为 10.89 g/kg,采用奈氏比色法[17]。

#### 1.2 试验方法

污染土壤制备:将一定量 DBP 溶于丙酮溶剂中, 配成总浓度为 10 g/L 的丙酮溶液,将 DBP 丙酮溶液 按设计的污染水平添加到供试土壤中,待丙酮彻底挥 发干净后,充分混匀备用。

试验于 2018 年 10—11 月在河南科技学院实验 楼顶楼温室进行。试验设置生物质碳含量 4 个处理, 分别为不添加生物质碳(CK);添加 0.5%(炭土百分 比)生物质炭(C 0.5%);添加 1%生物质炭(C 1%); 添加 2%生物质炭(C 2%)。每个处理设置 DBP 浓度 为 0,20,40 mg/kg3 个水平。称取 50 g 混合有 DBP 的土壤于育苗穴盘中放置 2 天,待丙酮彻底挥发后混入相应的生物质炭;黄瓜种子浸种后置于人工气候培养箱中 28 ℃下暗培养,露白后播种于土壤中,每个组合设置 5 个重复。每天 18:00 左右浇 1 次水,培养期间不施肥,培养 3 周后进行各项指标的测定。

#### 1.3 测定项目

细胞膜稳定系数:用相对电导率表示,取新鲜叶片 0.2 g,剪碎后放入试管,加 10 mL 去离子水,在室温下放置 3 h 使叶片充分吸水后测定溶液电导率  $(R_1)$ ;再放入恒温水浴锅中在 100 C 沸水浴中煮 20 min,用冷水冷却到室温后测定溶液电导率 $(R_2)$ ;细胞膜稳定系数(%)= $(1-R_1/R_2)\times 100\%$ 。

超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑还原法测定;过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定;过氧化氢酶(CAT)活性和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性采用紫外吸收法测定;叶绿素含量采用分光光度计比色法[18]测定。

叶绿素荧光参数的测定:采用 yaxin—1611G 叶绿素荧光经测定植株叶片的叶绿素荧光参数;暗适应 20 min 后,测定叶片的初始荧光( $F_o$ )、最大荧光产量 ( $F_m$ )、PS II 的最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、PS II 实际光化学量子产量( $\Phi_{PS II}$ )、光化学猝灭系数( $q_P$ )和非光化学猝灭系数(NPQ)。光化光强度为 280  $\mu$ mol/( $m^2 \times s$ ),饱和脉冲光强为 2 500  $\mu$ mol/( $m^2 \cdot s$ ),脉冲时间 1.0 s。

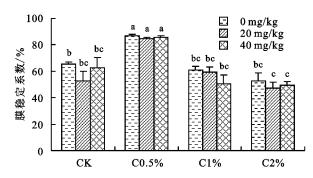
#### 1.4 数据处理

所有处理为完全随机区组设计,所有数据均采用 DPS 7.55 及 Microsoft Excel 2010 软件进行方差分析、相关分析、灰色关联度分析及作图,采用 Ducan 氏新复极差法进行多重比较(P<0.05)。

## 2 结果与分析

## 2.1 生物质炭对 DBP 污染土壤黄瓜幼苗细胞膜稳定性的影响

由图 1 可知, C 0.5%细胞膜稳定系数显著高于CK、C 1%和 C 2%。在 DBP 浓度为 0 mg/kg 时, C 0.5%细胞膜稳定系数分别比 CK、C 1%和 C 2%提高了 21.51%,26.07%,33.88%,而 CK、C 1%和 C 2%之间无显著差异(P>0.05);在 DBP 浓度为 20,40 mg/kg 时, 生物质炭各处理间 DBP 处理组合无显著差异(P>0.05)。说明 DBP 污染土壤施人生物质炭会显著影响黄瓜细胞膜稳定性,低含量生物质炭(C 0.5%)促使细胞膜稳定性增强,而高含量生物质炭(C 1%、C 2%)会维持细胞膜稳定性与对照基本一致;DBP 污染物对黄瓜细胞膜稳定性无显著影响。



注:不同小写字母表示各处理组合间差异显著(P<0.05);数据为平均值 $\pm$ 标准误。下同。

图 1 生物质炭对 DBP 污染土壤黄瓜幼苗 细胞膜稳定系数的影响

#### 2.2 生物质炭对 DBP 污染土壤黄瓜幼苗抗氧化酶 活性的影响

由图 2 可知,SOD 活性在 DBP 浓度为 0 mg/kg 时,随生物质炭量的增加呈上升趋势;其活性与土壤生物质炭含量呈正相关  $(r=0.972\ 0,P<0.05)$ ;在 DBP 浓度为 20,40 mg/kg 时,SOD 活性与土壤生物质炭含量也呈正相关,但相关系数不显著  $(r=0.924\ 5\ n)$   $r=0.898\ 8$ ,P>0.05);随 DBP 浓度的增大,SOD 活性也增大。说明 DBP 污染土壤施入生物质炭会促使 SOD 活性增强。

POD 活性在 DBP 浓度为 0 mg/kg 时,C 2%显著高于 CK、C 0.5%和 C 1%,说明 C 2%促使 POD 活性增强,而 C 0.5%和 C 1%与 CK 相比 POD 活性有降低趋势。DBP 浓度为 20,40 mg/kg 时,CK 中POD 活性随 DBP 浓度增大有降低趋势,但 C 0.5%中随 DBP 浓度增大 POD 活性升高,而 C 1%和 C 2%中二者无显著差异。说明 DBP 污染土壤施入生物质炭会显著影响 POD 活性;生物质炭含量在高含量(C 2%)有显著促进作用。

CAT活性在 DBP 浓度为 0 mg/kg 时,CK 显著高于其他处理,说明施用生物质炭显著降低了 CAT活性;DBP 浓度为 20,40 mg/kg 时,CAT 活性随DBP 浓度增大有降低趋势。说明 DBP 污染降低了CAT活性,施用生物质炭也降低 CAT 活性,二者的交互促使 CAT 活性维持规律的降低趋势。

APX 活性在 DBP 浓度为 0 mg/kg 时,C 1%显著低于其他处理;DBP 浓度为 20,40 mg/kg 时,CK 中 APX 活性显著降低,而施用生物质炭的处理中,APX 活性规律性不强。说明 DBP 污染降低 APX 活性,施用生物质炭会显著影响 APX 活性变化。

### 2.3 生物质炭对 DBP 污染土壤黄瓜幼苗光合色素 的影响

由图 3 可知,叶绿素 a 在 DBP 浓度为 0 mg/kg 时,随着土壤中生物质炭含量的增加呈降低趋势,说明施用生物质炭降低了黄瓜叶片叶绿素 a 含量。

DBP 浓度为 20,40 mg/kg 时,随着生物质炭的施入叶绿素 a 含量降低,且二者差异不显著;分析 DBP 浓度 20,40 mg/kg 与 0 mg/kg 呈显著相关(r=0.999 5

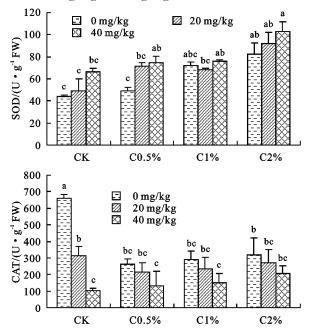
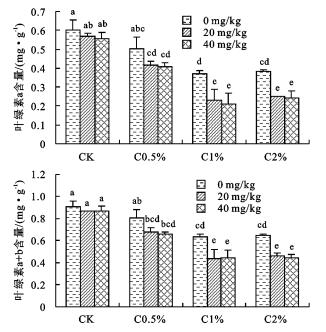


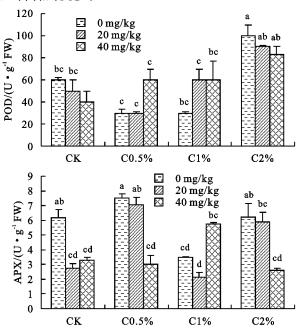
图 2 生物质炭对 DBP 污染土壤黄瓜幼苗抗氧化酶活性的影响

叶绿素 b 在 DBP 浓度为 0 mg/kg 时,随着生物质炭的增加,叶绿素 b 也呈降低趋势但差异不显著; DBP 浓度为 20,40 mg/kg 时,CK 中叶绿素 b 含量随浓度增大有轻微上升趋势,但其他生物质炭处理中叶绿素 b 含量有轻微降低趋势。说明 DBP 污染土壤施用生物质炭会降低叶绿素 b 含量。

叶绿素 a+b 在 DBP 浓度为 0 mg/kg 时,随着生物质炭的施入叶绿素 a+b 含量降低; DBP 浓度为 20,40 mg/kg 时,CK 中叶绿素 a+b 含量显著高于其他处理。分析 DBP 浓度 20,40 mg/kg 与 0 mg/kg



和 r=0.999 4, P<0.01)。说明生物质炭的施用降低了叶绿素 a 含量, 并与 DBP 污染共同作用促使叶绿素 a 降低的更多。



呈显著相关(r=0.997 8 和 r=0.993 2,P<0.01),这与叶绿素 a 的变化一致,说明生物质炭的施用降低了叶绿素 a+b 含量,并与 DBP 污染共同作用促使叶绿素 a+b 降低的更多。

类胡萝卜素在 DBP 浓度为 0 mg/kg 时,随生物质炭含量增加而显著降低; DBP 浓度为 20,40 mg/kg 时,CK 中 40 mg/kg 显著高于 20 mg/kg,但 C 0.5%与 C 1%中这种差异消失,而 C 2%中这种差异又呈现,说明生物质炭会抵消 DBP 对类胡萝卜素的促进作用,降低类胡萝卜素含量。

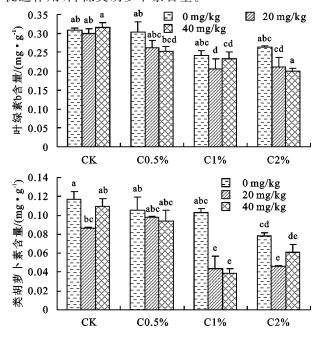


图 3 生物质炭对 DBP 污染土壤黄瓜幼苗光合色素含量的影响

#### 2.4 生物质炭对 DBP 污染土壤黄瓜幼苗叶绿体荧 光特性的影响

叶绿体荧光参数包含了十分丰富的光合作用信息,其特性与植物的营养和受胁迫程度密切相关,经常被用于评价光合机构的功能和环境胁迫的影响。初始荧光产量( $F_0$ )是 PSII 反应中心处于完全开放时的荧光产量,由图 4 可知, $F_0$ 在 DBP 0 mg/kg 时,C 0.5%和 C 1%显著降低,而 C 2%维持  $F_0$ 与对照差异不显著,说明  $F_0$ 变化受生物质炭施入量的影响。DBP 20,40 mg/kg 时,CK 中 DBP 20 mg/kg 时显著高于 0,40 mg/kg,C 0.5%和 C 1%中  $F_0$ 显著降低,而 C 2%时  $F_0$ 回升;说明生物质炭施入会改变 DBP对  $F_0$ 的影响,二者的协同作用在 C 0.5%和 C 1%表现  $F_0$ 降低,而 C 2%时  $F_0$ 维持与 CK 相似。

最大荧光产量( $F_m$ )是 PS II 反应中心处于完全 关闭时的荧光产量,由图 4 可知, $F_m$ 在 DBP 0 mg/kg 时,C 0.5%和 C 1%低于对照,而 C 2%又稍高于对 照,说明生物质炭对  $F_m$ 有低抑高促效应。DBP 20, 40 mg/kg 时,CK 中二者无显著差异,但二者显著高 于 C 0.5%、C 1%和 C 2%。说明 DBP 污染会促使  $F_m$ 升高,而土壤施入生物质炭会抵消 DBP 对  $F_m$ 的 促进作用,并显著降低  $F_m$ 。

PS II 最大光化学量子产量  $(F_v/F_m)$  是反映 PS II 反应中心内禀光能转换效率,或称为最大 PS II 的光能转换效率。由图 4 可知, $F_v/F_m$  在 DBP 0 mg/kg 时,C 0.5%低于对照,而 C 1%和 C 2%高于对照,且 C 1%显著高于 C 2%,说明 C 1%和 C 2%提高了黄瓜叶片 PSII反应中心内禀光能转换效率,而 C 0.5%降低了黄瓜叶片 PSII反应中心内禀光能转换效率。 $F_v/F_m$ 在 DBP 20,40 mg/kg 时,CK 中二者显著升高,而 C 0.5%、C 1%和 C 2%显著降低,以 C 0.5%  $F_v/F_m$ 最低。说明 DBP 污染可以促进  $F_v/F_m$ 升高,但 DBP 与生物质炭的交互又抑制了  $F_v/F_m$ 。

由图 4 可知,PSII 实际光化学量子效率( $\Phi_{PSII}$ )在DBP 0 mg/kg 时,C 0.5%显著降低,而 C 1%和 C 2%维持与对照差异不显著。DBP 20,40 mg/kg 时,CK 中二者与对照比显著降低且差异不显著,C 0.5%二者显著降低,C 1%中 DBP 20 mg/kg 与对照比升高而 DBP 40 mg/kg 与对照比降低,C 2%中二者与对照比显著升高。说明低含量生物质炭(C 0.5%)显著降低  $\Phi_{PSII}$ ,而 DBP 污染也显著降低  $\Phi_{PSII}$ ,DBP 污染土壤施入生物质炭在低含量(C 0.5%)时  $\Phi_{PSII}$ 降低,而在中高含量时(C 1%和 C 2%)时会维持  $\Phi_{PSII}$ 。

光化学猝灭系数 $(q_P)$ 是 PS II 天线色素吸收的光

能用于光化学电子传递的比率, $q_P$ 愈大,PS II 的电子传递活性愈大。由图 4 可知, $q_P$ 在 DBP 0 mg/kg时,C 0.5%显著高于其他处理;DBP 20,40 mg/kg时,除 C 0.5%外其他处理组合均不显著;说明低含量生物质炭(C 0.5%)对  $q_P$ 影响最显著,中高含量时(C 1%和 C 2%)时会维持  $q_P$ ,而 DBP 污染对  $q_P$ 无显著影响。

非光化学猝灭系数(NPQ)是 PS II 天线色素吸收的光能不能用于光合电子传递而以热能形式耗散掉的部分,是植物的一种自我保护机制。NPQ 在DBP 0 mg/kg 时,C 0.5%和 C 1%可以显著提高NPQ,而 C 2%维持 NPQ 与对照一致;NPQ 在 DBP 20 mg/kg 时,其变化趋势与 DBP 0 mg/kg 相同;NPQ 在 DBP 40 mg/kg 时,CK 中 NPQ 显著升高,C 0.5%和 C 1% 中 NPQ 降低但显著大于 0 mg/kg,而 C 2%维持 NPQ 与 0 mg/kg 相同。说明高浓度 DBP (40 mg/kg)促进了 NPQ 的升高,C 0.5%和 C 1%也促使 NPQ 的升高,C 2%维持 NPQ 对照一致;DBP 污染土壤施入生物质炭后,二者的交互促使高浓度 DBP(40 mg/kg)对 NPQ 的促进作用缓和,而低浓度 DBP(20 mg/kg)在生物质炭含量 C 0.5%和 C 1%对 NPQ 的促进作用提升。

## 2.5 生物质炭和 DBP 含量与黄瓜幼苗生理指标的 灰色关联度分析

由表 1 可知,与生物质炭关联系数在 0.74 以上的生理指标有 3 个,分别为 SOD、POD 和 CAT;与生物质炭关联系数在 0.63 以上的生理指标有 8 个,分别为  $F_0$ 、NPQ、APX、 $q_P$ 、 $\Phi_{PSII}$ 、 $F_v$ / $F_m$ 、叶绿素 a 和  $F_m$ ;与生物质炭关联系数在 0.54 以上的生理指标有 4 个,分别为膜稳定系数、叶绿素 b、叶绿素 a+b 和类 胡萝卜素。说明生物质炭对黄瓜幼苗的影响首先从抗氧化酶开始,然后叶绿素荧光系统做出相应的改变,最后影响到细胞膜的稳定性及光合色素的变化。

由表 1 可知,与 DBP 关联系数在 0.73 以上的指标有 2 个,分别为 POD 和 SOD;与 DBP 关联系数在 0.67 以上的指标有 7 个,分别为 NPQ、 $F_v/F_m$ 、 $F_o$ 、叶绿素 a、 $q_P$ 、 $F_m$ 和  $\Phi_{PSII}$ ;与 DBP 关联系数在 0.67 以下的指标有 6 个,分别为膜稳定系数、叶绿素 a+b、类胡萝卜素、叶绿素 b、CAT 和 APX。说明 DBP 污染对黄瓜幼苗的影响首先也从抗氧化酶开始,紧接着叶绿素荧光系统做出相应的改变,最后影响到细胞膜的稳定性及光合色素的变化。生物质炭和 DBP与黄瓜幼苗生理指标的关联度有微小差异,但总体趋势一致。

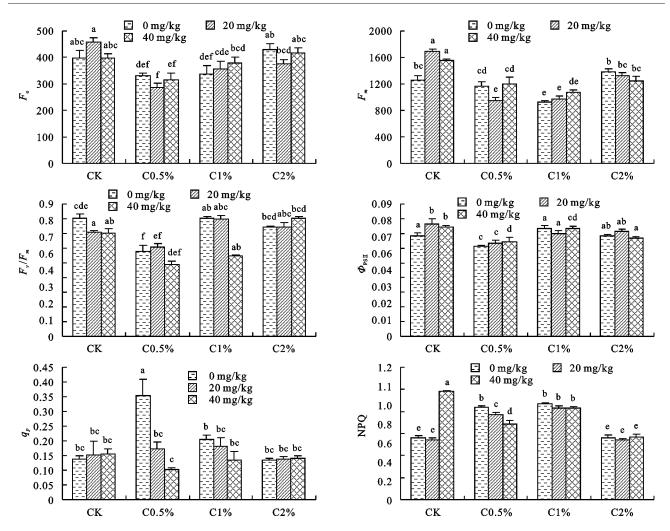


图 4 生物质炭对 DBP 污染土壤黄瓜幼苗叶绿素荧光特性的影响

表 1 生物质炭和 DBP 含量与黄瓜幼苗生理指标的 灰色关联度分析

N B N A N M					
生物质炭			DBP		
指标	关联系数	排序	指标	关联系数	排序
SOD	0.8243	1	POD	0.7383	1
POD	0.7954	2	SOD	0.7381	2
CAT	0.7410	3	NPQ	0.707	3
$F_{_{ m O}}$	0.6889	4	$F_v/F_m$	0.7066	4
NPQ	0.6692	5	$F_{0}$	0.6973	5
APX	0.6678	6	叶绿素 a	0.6876	6
$q_P$	0.6677	7	$q_P$	0.6783	7
$\Phi_{ m PSII}$	0.6623	8	$F_m$	0.6762	8
$F_v/F_m$	0.6430	9	$\Phi_{ m PSII}$	0.6723	9
叶绿素 a	0.6407	10	膜稳定系数	0.6536	10
$F_{m}$	0.6348	11	叶绿素 a+b	0.6402	11
膜稳定系数	0.5928	12	类胡萝卜素	0.6372	12
叶绿素 b	0.5764	13	叶绿素 b	0.6369	13
叶绿素 a+b	0.5662	14	CAT	0.6304	14
类胡萝卜素	0.5494	15	APX	0.5982	15

## 3 讨论

植物细胞膜对维持细胞的微环境和正常代谢起着重要作用,当植物受到逆境胁迫时,细胞膜系统常受到不同程度的伤害而随之丧失选择性,引起细胞内

电解质外渗。因此,电解质渗漏率常用作植物膜系统稳定与否的重要指标,其大小与植物抗逆境能力密切相关。本试验结果显示低含量生物质炭(C 0.5%)促使细胞膜稳定性增强,而高含量生物质炭(C 1%,C 2%)会维持细胞膜稳定性与对照保持基本一致;说明低含量生物质炭对 DBP 污染土壤中植物的积极效应大于高含量生物质炭,分析这种现象一方面可能与生物质炭的表面性质有关,生物质炭有丰富的孔隙和巨大的表面积及丰富的含氧官能团,使其能够很好地吸附有机污染物,减少植物对有机污染物的吸收[19];另一方面有研究[10]表明,在高施量条件下,生物质炭含有的多环芳烃容易使土壤中多环芳烃达到中度和重度污染,对植物种子萌发和嫩芽生长有副作用。说明利用生物质炭改善污染土壤及设施障害农田时,必须评估生物质炭对植物带来的环境风险。

叶绿素是植物进行光合作用的器官,本试验DBP 在试验浓度范围内对叶绿素影响与对照比差异不显著,这与 Zhang 等<sup>[18]</sup>研究 DBP 胁迫黄瓜幼苗叶绿素变化的结果有一致性;但施入生物质炭后显著降低了黄瓜叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a+b 和类胡萝卜素的含量;这与 Farhangiabriz 等<sup>[20]</sup>、王晓维等<sup>[21]</sup>

研究认为,生物质炭的施用可以降低盐和铜的胁迫, 提高叶绿素含量的结果不一致。造成这种现象的原 因可能与生物质炭的类型及 DBP 生物有效性有关, 樊诗亮[22]在研究生物质炭对土壤中 DBP 的生物有 效性时发现,与对照相比,添加毛竹炭显著降低了熟 化红壤和新垦红壤中 DBP 的含量,但添加 2%稻草 炭使新垦红壤中 DBP 的含量显著增加了 77.81%,说 明生物质炭种类及施用量不同对污染土壤中 DBP 的影响不同。孙海燕等[23]在研究辣椒根系分泌物时 发现,辣椒根系可以分泌 DBP,对植物造成自毒效 应。从而推测是否存在一种可能,就是 DBP 污染、生 物质炭施用和黄瓜根系分泌物共同作用致使根际 DBP 含量过高,从而影响光合色素的合成;本试验中 生物质炭对光合色素的影响还可能与生物质炭含有 的多环芳烃、重金属元素等有关;这些推测需要进一 步的试验证实。

本试验结果表明,DBP污染土壤施入生物质炭会增强 SOD活性,降低 CAT活性,显著影响 POD和 APX活性的变化。从王晓维等[21]研究生物质炭缓解铜胁迫结果看,生物质炭缓解铜胁迫后油菜苗 SOD活性降低,而添加生物质炭2%和5%,铜含量0mg/kg时,SOD活性显著增强;说明生物质炭促使油菜苗 SOD活性增强,这与本试验结论有一致性。CK中DBP对 SOD,POD和 APX活性的影响与 Zhang等[18]的研究结论具有一致性;但对 CAT的影响不一致,Zhang等[18]研究表明,各浓度 DBP(0~200 mg/L)对 CAT 无显著影响,而本试验随 DBP浓度增大 CAT 活性降低,分析原因可能与培养黄瓜幼苗所用基质有关,Zhang等[18]用的是营养液水培,影响因子较为单一,而本试验用土壤培养,土壤的环境要更复杂,这可能是与 Zhang等[18]研究结果不一致的主要原因。

本试验中 DBP 污染土壤施入生物质炭以 C 0.5%对叶绿体荧光参数影响最显著,其降低了  $F_0$ 、 $F_m$ 、 $F_v/F_m$ ;  $F_v$ 是  $F_m$ 与  $F_0$ 的差值, $F_v/F_m$ 在非胁迫条件下该参数的变化极小,不受物种和生长条件的影响,胁迫条件下该参数明显下降 [24];  $F_v/F_m$ 降低,说明低含量生物质炭(C 0.5%)使黄瓜叶片的内禀光能转换效率降低。植物在不受光抑制的情况下, $F_v/F_m$ 一般介于  $0.75\sim0.85$ ,而本试验除 CK 中 DBP 含量 20 mg/kg时  $F_v/F_m$ 大于 0.75,其余组合  $F_v/F_m$ 均小于 0.75,说明黄瓜叶片受到了光抑制,这种光抑制与土壤条件、生物质炭和 DBP 影响有关。当 C 0.5%时,内禀光能转换效率  $F_v/F_m$ 降低,其实际光能转换效率  $\Phi_{PSII}$  也随之降低,这与黄韡等 [25] 研究生物质炭对铝胁迫下常绿杨的荧光参数  $\Phi_{PSII}$  的结论不一致,黄韡等 [25] 研究认为随着生物质炭的施入,荧光参数  $\Phi_{PSII}$  会得到

显著改善,这种现象可能与 C 0.5%时土壤中 DBP 的 生物有效性有关。

综上所述,在 DBP 污染存在的前提下,土壤中施入生物质炭会显著影响黄瓜幼苗生理特性的改变,其改变量的大小与 DBP 污染物浓度和生物质炭种类和含量有关。

### 4 结论

- (1)DBP 污染土壤施人生物质炭会显著影响黄瓜细胞膜稳定性,低含量生物质炭(C 0.5%)促使细胞膜稳定性增强,而高含量生物质炭(C 1%,C 2%)会维持细胞膜稳定性与对照基本一致。
- (2)DBP 污染土壤施入生物质炭会显著提高 SOD活性,降低 CAT活性,对 APX活性影响规律性 不强,C 2%处理显著提高 POD活性。DBP 污染土 壤施用生物质炭显著降低了叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a+b 和类胡萝卜素含量。
- (3) C 0.5% 能显著降低  $F_0$ 、 $F_m$ 、 $F_v/F_m$ 和  $\Phi_{PSII}$  值; C 0.5%而 DBP 含量 0 mg/kg 时, $q_P$ 最大; NPQ 在 CK 处理而 DBP 40 mg/kg 时最大。
- (4)灰色关联分析表明,生物质炭和 DBP 对黄瓜 幼苗的影响首先从主要的抗氧化酶活性上体现,然后 叶绿素荧光系统才会做出相应的改变,最后影响到细 胞膜的稳定性及光合色素的变化。

#### 参考文献:

- [1] 吴凤芝,郭晓,刘守伟,等.夏季填闲对连作黄瓜根区土壤酶活性及土壤化学性状的影响[J].东北农业大学学报,2014,45(10);29-34.
- [2] 王凯荣,崔明明,史衍玺.农业土壤中邻苯二甲酸酯污染研究进展[J].应用生态学报,2013,24(9);2699-2708.
- [3] 王丽霞.保护地邻苯二甲酸酯污染的研究[D].山东 泰安:山东农业大学,2007.
- [4] 赵振华,许征帆.北京市大气飘尘和土壤样品中邻苯二甲酸酯的分离鉴定[1].环境化学,1982,6:461-466
- [5] 刘玲玲,姬亚芹,孙增荣.天津市郊区不同土地利用类型 土壤中邻苯二甲酸酯含量的调查[J].环境与健康杂志, 2010,27(8):690-692
- [6] 郑顺安,薛颖昊,李晓华,等.山东寿光设施菜地土壤一农产品邻苯二甲酸酯(PAEs)污染特征调查[J].农业环境科学学报,2016,35(3):492-499.
- [7] Zhang Y X, Huang B, Thomsen M, et al. One overlooked source from phthalate exposure-Oral intake of vegetables produced in plastic greenhouses in China [J]. Science of The Total Environment, 2018, 642;1127-1135.
- [8] 肖婧,王传杰,黄敏,等.生物质炭对设施大棚土壤性质与果蔬产量影响的整合分析[J].植物营养与肥料学报,2018,24(1):228-236.
- [9] Marleena H, Riitta K, Lauri J, et al. The effects of

- birch (Betula spp.) biochar and pyrolysis temperature on soil properties and plant growth [J]. Soil and Tillage Research, 2016, 163, 224-234.
- [10] 郭彦蓉,曾辉,刘阳生,等.生物质炭修复有机物污染土 壤的研究进展[J].土壤,2015,47(1):8-13.
- [11] 葛晓改,周本智,肖文发,等.生物质炭输入对土壤碳排 放的激发效应研究进展[J].生态环境学报,2016,25 (2),339-345.
- $\lceil 12 \rceil$ Manuel O, Jose A, Vidal J A, et al. Wheat growth and yield responses to biochar addition under Mediterranean climate conditions [J]. Biology and Fertility of Soils, 2014, 50(8): 1177-1187.
- [13] Mukherjee A, Lal R. The biochar dilemma [J]. Soil Research, 2014, 52(3): 217-230.
- [14] 刘铭龙,刘晓雨,潘根兴.生物质炭对植物表型及其相 关基因表达影响的研究进展[J].植物营养与肥料学 报,2017,23(3):789-798.
- [15] Kearns J P, Shimabuku K K, Mahoney R B, et al. Meeting multiple water quality objectives through treatment using locally generated char: Improving organoleptic properties and removing synthetic organic contaminants and disinfection by-products [J]. Journal of Water, Sanitation and Hygiene for Development, 2015,5(3):359-372.
- [16] 王建超,饶潇潇,周震峰.施用生物炭对花生产量及吸 收累积邻苯二甲酸酯的影响[J],华北农学报,2016,31

#### (上接第 242 页)

- $\lceil 14 \rceil$ Mason S, Hamon R, Zhang H, et al. Investigating chemical constraints to the measurement of phosphorus in soils using diffusive gradients in thin films (DGT) and resin methods [J]. Talanta, 2008, 74(4): 779-787.
- [15] 袁可能.植物营养元素的土壤化学[M].北京:科学出版 社,1983.
- [16] 全国土壤普查办公室.中国土壤普查技术[M].北京:中 国农业出版社,1990.
- [17] 李学敏,张劲苗.河北潮土磷素状态的研究[J].土壤通 报,1994,25(6):259-260.
- 王永壮,陈欣,史奕,等.低分子量有机酸对土壤磷活化 [18] 及其机制研究进展[J].生态学杂志,2018,37(7): 2189-2198.
- 滕泽栋,李敏,朱静,等.解磷微生物对土壤磷资源利用影 [19] 响的研究进展[J].土壤通报,2017,48(1):229-235.
- Zhu J, Li M, Whelan M. Phosphorus activators con-[20] tribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils: A review [J]. Science of The Total Environment, 2018, 612: 522-537.
- Wang J, Chu G X. Phosphate fertilizer form and appli-

- (增刊1):329-333.
- [17] 鲍士旦.土壤农化分析「M7.3版.北京:中国农业出版 社,2008:30-106.
- [18] Zhang Y, Du N, Wang L, et al. Physical and chemical indices of cucumber seedling leaves under dibutyl phthalate stress [J]. Environmental Science Pollution Research, 2015, 22:3477-3488.
- 张小凯,何丽芝,陆扣萍,等.生物质炭修复有机物污染 Γ197 土壤的研究进展[J].土壤,2013,45(6):970-977.
- [20] Salar F S, Shahram T. Effect of biochar on growth and ion contents of bean plant under saline condition [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018, 25(S1):11556-11564.
- 王晓维,徐健程,孙丹平,等.生物炭对铜胁迫下红壤地  $\lceil 21 \rceil$ 油菜苗期叶绿素和保护性酶活性的影响[J].农业环境 科学学报,2016,35(4):640-646.
- [22] 樊诗亮.生物质炭对土壤中邻苯二甲酸二丁酯(DBP)生 物有效性及微生物群落结构多样性的影响[D].杭州: 浙江农林大学,2015.
- [23] 孙海燕,王炎.辣椒根系分泌的潜力化感物质对生菜幼 苗抗氧化代谢的影响[J]. 植物生理学通讯, 2012, 48 (9):887-894.
- [24] 张守仁.叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论[J].植物 学通报,1999,16(4):444-448.
- [25] 黄韡,吴承祯,钱莲文.生物质炭对铝胁迫下常绿杨生 理特征的影响[J].莆田学院学报,2014,21(2):42-45.
  - cation strategy affect phosphorus mobility and transformation in a drip-irrigated calcareous soil [J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2015, 178(6): 914-922.
- [22] Kruse J, Abraham M, Amelung W, et al. Innovative methods in soil phosphorus research: A review [J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2015, 178 (1):43-88.
- Six L, Pypers P, Degryse F, et al. The performance of [23] DGT versus conventional soil phosphorus tests in tropical soils-An isotope dilution study [J]. Plant and Soil, 2012, 359(1/2): 267-279.
- $\lceil 24 \rceil$ Erel R, Annette B, Capowiez L, et al. Soil type determines how root and rhizosphere traits relate to phosphorus acquisition in field-grown maize genotypes [J]. Plant and Soil, 2017, 412:115-132.
- [25] Hou E Q, Chen C R, Kuang Y W, et al. A structural equation model analysis of phosphorus transformations in global unfertilized and uncultivated soils [J]. Global Biogeochemical Cycles, 2016, 30:1300-1309.