

多环芳烃对黑麦草体内过氧化物酶和多酚氧化酶的影响

卢晓丹, 高彦征, 凌婉婷, 赵扬辉, 刘紫寰

(南京农业大学资源与环境科学学院, 江苏 南京 210095)

摘要:以萘、菲和芘为供试多环芳烃(PAHs),采用水培试验方法,研究了PAHs污染下黑麦草(*Lolium multiflorum* Lam.)体内过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)的响应。结果表明,菲处理浓度为0~1.8 mg·L⁻¹,144 h后,黑麦草根和茎叶中POD、PPO活性均随菲处理浓度的增加先升高后降低;表明低菲污染可激发供试植物酶活性,高污染则对酶活有抑制作用。萘、菲或芘处理后,植物不同部位酶的表达存在差异,黑麦草根中POD活性整体上高于茎叶,而茎叶中PPO活性则高于根。黑麦草根或茎叶中POD、PPO对供试3种PAHs的敏感性响应顺序为萘<菲<芘,与污染物自身毒性强弱顺序一致。

关键词:多环芳烃;多酚氧化酶;过氧化物酶;植物代谢

中图分类号:X503.231 文献标识码:A 文章编号:1672-2043(2008)05-1969-05

Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on POD and PPO in *Lolium multiflorum* Lam.

LU Xiao-dan, GAO Yan-zheng, LING Wan-ting, ZHAO Yang-hui, LIU Zi-xuan

(College of Resource and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Understanding the relation of organic contaminants and enzyme in plants is important for risk assessment on polluted sites. However, there is still limited information on the impacts of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on enzyme of plants. In this paper, the activities of POD (peroxidase) and PPO (phenol oxidase) in ryegrass were evaluated under the effects of phenanthrene, pyrene and naphthalene as representatives of PAHs. Results showed that, the activities of tested enzymes firstly increased and then decreased with increasing the concentrations of phenanthrene from 0 to 1.8 mg·L⁻¹. Enzymes differed greatly in different parts of plants. For the same treatments with phenanthrene, pyrene or naphthalene, the POD in plant roots was generally higher than that in shoots. In contrast, the PPO in shoots was higher than that in roots. Additionally, the response sensitivities of the tested two enzymes in plants against the tested PAHs increased following the order of naphthalene < phenanthrene < pyrene, which is the same order as the toxicity of the three PAHs.

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons; PPO; POD; plant metabolism

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是由石油、煤等化石燃料及木材、烟草等有机物在不完全燃烧过程中产生的一类污染物。由于其具有致癌、致畸、致突变的“三致”作用和生物难降解性而倍受关注^[1,2]。目前,全球许多地方存在土壤的PAHs污染问题;据知,在我国污灌区土壤中苯并[a]芘的含量

可高达2 444~7 000 ng·g⁻¹^[3]。土壤污染后,多环芳烃可通过多种途径进入植物体内,影响农产品质量,并通过食物链进而危害人类健康。研究多环芳烃胁迫下植物的代谢状况对于评价土壤污染风险、保障农产品安全等有重要意义^[4]。

植物在PAHs胁迫下,会产生大量的活性氧自由基,这些自由基若不能及时被清除,则会引起氧化应激,进而可能产生脂质过氧化和酶失活等毒理效应^[5]。植物体内的抗氧化系统是决定植物细胞对氧化胁迫抗性的关键因素,它能清除体内的活性氧和膜脂过氧化所产生的有毒产物,以利于植物在逆境中的生存。其中,过氧化物酶(POD)是抗氧化系中酶促子系统的一种重要的保护酶,能清除机体内活性氧,有利于植

收稿日期:2007-10-24

基金项目:教育部新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-06-0491);国家自然科学基金(20777036, 20507009, 40701073);江苏省青年科技创新人才基金(BK2007580, BK2006518);植物营养与养分循环农业部重点实验室开放课题

作者简介:卢晓丹(1983—),女,辽宁凤城人,在读硕士研究生。

E-mail: yunuo_0009@163.com

通讯联系人:凌婉婷 E-mail: lingwanting@njau.edu.cn

物维持体内活性氧产生和淬灭的动态平衡,从而阻抑膜脂过氧化的进程^[6]。多酚氧化酶(如双加氧酶)作为PAHs降解途径中一类关键酶,能催化PAHs开环,生成较易降解的中间产物,在PAHs降解过程中起着关键作用^[7]。POD(peroxidase)和PPO(phenol oxidase)也是植保素、酚类物质合成的重要酶,因此这些酶活性的增加对植物的抗病、抗逆非常有利^[8]。

生物代谢中酶活性的变化也是一种能反应环境物理和化学变化的生物标记物,它可以对环境的变化提供早期预报。因此,越来越多的学者关注植株体内酶在逆境中的变化,试图用其来诊断环境污染状况^[9]。关于重金属对植物酶影响的研究已较深入^[6,10],一些学者则研究了病菌^[11,12]以及农药^[13]等对植物酶活性的影响,但有关多环芳烃类有机污染物对植物酶影响的报道却很少见。

本文以污染环境中检出率较高的萘、菲、芘为PAHs代表性污染物,以黑麦草为供试植物,采用水培体系,研究PAHs胁迫下植物根和茎叶中POD和PPO的变化规律,为探索PAHs污染的作物风险、保障农产品安全等提供基础依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

萘、菲、芘购自Aldrich Chemical Co.,纯度>98%。聚乙烯吡咯烷酮、愈创木酚、邻苯二酚、pH 5.0的醋酸缓冲液、pH 6.0磷酸缓冲溶液、pH 7.8磷酸缓冲溶液,以及配制营养液的各种试剂均为分析纯。主要仪器:722可见分光光度计,HH-4数显恒温水浴锅,KQ300DE医用数控超声波清洗器,低温冰箱。培养液选用经典的Hoagland营养液^[14]。

1.2 实验方法

向一系列含有0.9 L培养液的玻璃烧杯中加入萘、菲和芘的甲醇储备液(控制甲醇浓度<1%)^[15],定容至1.0 L后,分别制得含不同浓度萘、菲、芘的培养液;同时制备无PAHs培养液,用于对照处理。黑麦草经催芽、育苗后,于温室中以水培方式预培养至株高15 cm左右;选择生长态势较为一致的植株洗净根部后移入含上述培养液的玻璃烧杯中,每杯6株,烧杯外壁用黑塑料袋包裹,保持根系和溶液避光。温室中白天25~35℃,夜间15~25℃。实验中每个处理重复3次。分别于0、6、24、48、96、144、196 h采样。植物样品经蒸馏水充分淋洗后,用滤纸吸干表面水分,于-65℃下保存待分析。

1.3 主要分析指标及方法

1.3.1 多酚氧化酶(PPO)的提取与测定

PPO的提取及测定参考杨秀清等的方法^[16],略有改动。称取植株地上和地下部分各0.1 g,加PVP(聚乙烯吡咯烷酮)0.05 g,和pH 6.0磷酸缓冲溶液(PBS)10 mL,冰浴研磨,四层纱布过滤,静置,取上清液为提取液,以上操作均在4℃下进行。

依次向比色管中迅速加入0.01 mol·L⁻¹、pH 6.0的磷酸缓冲液2 mL,0.1 mol·L⁻¹邻苯二酚1.0 mL,0.2 mL粗酶液。反应介质摇匀,在420 nm波长下比色测定。酶液加入后开始计时,每20 s记录一次吸光度OD值,共记录5次80 s。重复3次,酶活性以每分钟OD值每增加0.01为一个活力单位。则PPO活性(U/g)=ΔA×D(0.01W×t),式中ΔA为反映时间内吸光度的变化,W为样品鲜重(g),t为反应时间,D为稀释倍数,即提取总酶液为反映系统内酶液体积的倍数。

1.3.2 过氧化物酶(POD)的提取与测定

POD的提取及测定参考郝再彬等的方法^[17],略有改动。称取地上和地下部分各0.1 g,加PVP(聚乙烯吡咯烷酮)0.05 g和pH 7.8磷酸缓冲溶液(PBS)10 mL,冰浴研磨,4层纱布过滤,静置,取上清液为提取液,以上操作均在4℃下进行。

依次向比色管中迅速加入0.1 mol·L⁻¹、pH 5.0的醋酸缓冲液2 mL,0.25%愈创木酚1.0 mL和质量分数为0.75%H₂O₂0.1 mL,0.2 mL粗酶液。摇匀后在37℃水浴中保温15 min,然后在470 nm波长下比色测定。酶液加入后开始计时,重复3次,酶活性以每分钟OD值每增加0.01为一个活力单位。

1.3.3 酶敏感性响应指数(R)

$R=(E-E_0)/Cw \times 100\%$ 。公式中R为酶敏感性响应指数(单位浓度的PAHs所导致的酶活性的增量);E为污染条件下植物酶含量;E₀为无污染对照的植物酶含量;Cw为PAHs的处理浓度(mg·L⁻¹)。

1.4 数据处理

利用Excel、SPSS统计软件对试验结果做统计和显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 多环芳烃对黑麦草POD的影响

总体来看,菲处理144 h,黑麦草体内POD活性随处理浓度的增大先升高后降低(图1)。说明在适度的菲胁迫下,植物可激发其自身的防御体系,诱导POD活性增大,以抵抗由于菲胁迫造成的氧自由基的

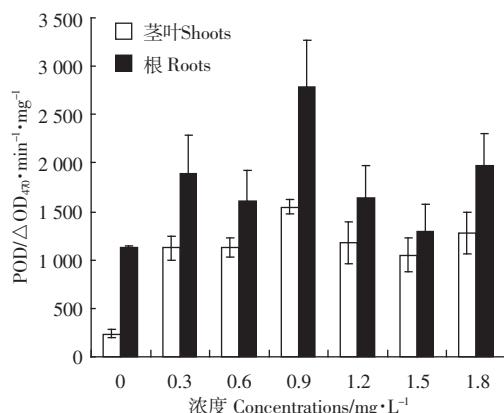


图 1 不同浓度菲对黑麦草体内 POD 的影响

Figure 1 Effects of different concentrations of Phenanthrene on the activities of POD in ryegrass

增加。但随着菲处理浓度增大至 $0.9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 黑麦草茎叶和根部的 POD 含量均出现最大值, 分别为 $1\,550.4 \Delta\text{OD}_{420}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ 和 $2\,783.8 \Delta\text{OD}_{420}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ (图 1), 显著高于空白对照 ($P<0.05$); 随后 POD 活性下降。不同菲浓度处理对植物 POD 活性的影响规律, 与李锋民等^[18]和李雪芹等^[19]关于其他外源物质对植物 POD 的研究结果相似。这是由于高污染下自由基的产生超过了 POD 的清除能力而会引起伤害, 使酶活降低, 也说明了酶活性有一个阈值, 对植物的保护作用有一定限度^[20]。

如图 2 所示, 菲处理浓度为 $1.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 黑麦草体内 POD 随处理时间整体上也呈现先升高后降低的变化趋势。黑麦草茎叶、根部的 POD 变化趋势基本相似, 均在处理后 48 h 达到最大值、随后下降, 196 h 时茎叶、根部的 POD 值分别比其最高值下降了 40.6% 和 11.1%, 差异显著 ($P<0.05$)。

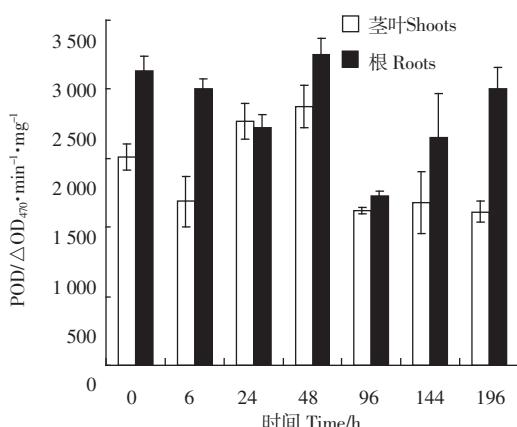


图 2 不同处理时间菲对黑麦草体内 POD 的影响

Figure 2 Effects of different time-treatments of Phenanthrene on the activities of POD in ryegrass

此外, 上述两图中, 各取样点根部的 POD 值一般大于其茎叶部分。可见与茎叶相比, 黑麦草根的 POD 活性较高, 在清除活性氧等抗氧化物质时更具优势。杨兵等^[10]研究了 Cu^{2+} 对鸭跖草茎叶和根部 POD 的影响时, 得出了相似的结论。

本文研究了萘和芘对黑麦草 POD 的影响。如表 1, 不同浓度萘或芘处理黑麦草 144 h 后, 植株 POD 相比于无 PAHs 对照均有不同程度升高。尤其芘胁迫下, 植株茎叶和根部 POD 均显著高于对照 ($P<0.05$), 诱导作用明显。所有处理中, 黑麦草根部 POD 含量也始终高于其茎叶部分, 与菲处理结果一致。

表 1 萘或芘处理对黑麦草 POD 的影响

Table 1 POD activities of ryegrass for naphthalene or pyrene treatments

多环芳烃种类	浓度/mg·L⁻¹	根 POD/△OD ₄₂₀ ·min⁻¹·mg⁻¹	茎叶 POD/△OD ₄₂₀ ·min⁻¹·mg⁻¹
无PAHs对照	0	1 128.2±8.1	235.6±38.6
萘	5	1 472.3±246.5	994.0±191.4
	20	1 394.7±70.1	1 049.3±209.0
	35	2 058.7±580.3	1 415.1±215.4
芘	0.05	2 695.6±981.9	828.2±138.2
	0.1	3 036.3±51.3	1 049.8±125.6
	0.15	2 098.4±393.0	1 176.6±84.5

2.2 多环芳烃对黑麦草 PPO 的影响

经 144 h 处理, 黑麦草体内 PPO 活性随菲浓度增大呈先升高后降低的趋势(图 3)。茎叶和根部 PPO 的活性分别在菲处理浓度为 $0.9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时达到峰值, 分别为 $1\,182.6 \Delta\text{OD}_{420}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ 和 $843.6 \Delta\text{OD}_{420}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$, 均显著高于无 PAHs 对照 ($P<0.05$), 而后下降。可见, 在低菲浓度处理下, 植株体内 PPO 活性受菲诱导上升, 当菲浓度继续增大时, 超过了 PPO 的防御范围后, 机体受损, 酶活也随之下降。这与邱栋梁等研究 Cu 对柑桔叶片 PPO 酶影响的结果较一致^[21]。

图 4 为菲处理浓度 $1.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 不同时间黑麦草 PPO 活性的变化。整体来看, 0~196 h, 茎叶部 PPO 活性先升高后下降, 24 h 时 PPO 值达最大值 $1\,269.7 \Delta\text{OD}_{420}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$; 然而根中 PPO 变化无明显趋势(图 4)。

另外, 由图 3、4 可见, 除个别点(菲处理浓度 $1.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 处理时间 96 h 和 196 h)外, 供试取样点茎叶的 PPO 值一般大于根部。表明受胁迫时, 黑麦草茎叶多酚氧化酶活性更高, 更利于多环芳烃的降解。

萘或芘污染后, 植物 PPO 活性受诱导均高于无

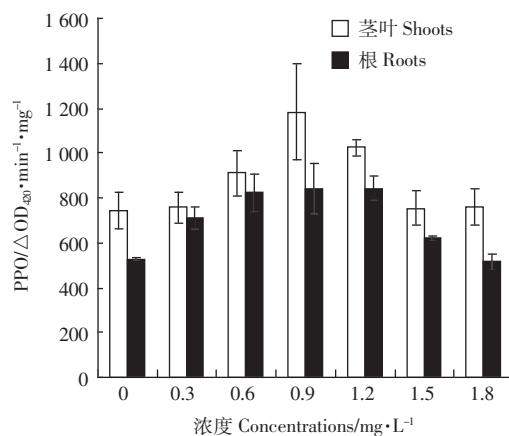


图3 不同浓度菲对黑麦草体内PPO的影响

Figure 3 Effects of different concentrations of Phenanthrene Phenanthrene on the activities of PPO in ryegrass

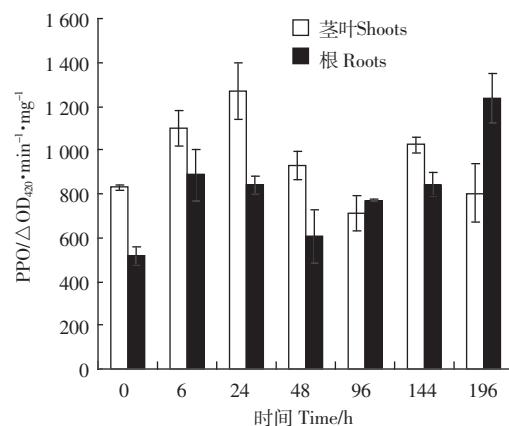


图4 不同处理时间菲对黑麦草体内PPO的影响

Figure 4 Effects of different time-treatments of on the activities of PPO in ryegrass

表2 萍或芘处理对黑麦草PPO的影响

Table 2 PPO activities of ryegrass for naphthalene or pyrene treatments

多环芳烃种类	浓度/mg·L⁻¹	根 PPO/△OD₄₂₀·min⁻¹·mg⁻¹	茎叶 PPO/△OD₄₂₀·min⁻¹·mg⁻¹
无PAHs对照	0	525.2±9.0	743.5±84.4
萘	5	839.9±265.3	910.8±196.4
	20	699.3±58.1	1 072.1±149.2
	35	724.1±121.6	1 722.4±290.6
芘	0.05	1 340.5±344.5	1 040.9±60.8
	0.1	746.3±194.1	793.2±45.7
	0.15	1 252.2±89.4	1 150.9±93.0

PAHs对照(表2)。萘处理下,植株茎叶PPO始终高于根部,与菲处理结果一致。而芘处理下,其茎叶中PPO却相对较低,推测其原因可能与不同PAHs在植物体内的传导能力有关。多酚氧化酶(如加氧酶)能被某些多环芳烃诱导而提高活性^[22,23],所以其活性高低与植

株体内PAHs浓度有关;凌婉婷等^[4]指出,与菲相比,芘更难由黑麦草根向茎叶传导,导致黑麦草茎叶中芘浓度相对更低;所以本试验下茎叶PPO活性对芘的响应也弱些。

2.3 酶对不同分子量PAHs污染的敏感性比较

比较了黑麦草不同部分两种酶对供试PAHs的响应差异。如表3,黑麦草体内POD、PPO对3种PAHs的敏感性顺序为萘<菲<芘,这与PAHs本身性质有关。萘、菲、芘分别为二环、三环和四环PAHs,毒理学试验表明其毒性随苯环数增加依次递增;植物酶对其敏感程度也依次增大。另外,黑麦草不同部位酶对PAHs的敏感性不同;芘处理差异最明显,其茎叶部分对芘污染的响应相对弱些,原因与其植物传导能力有关。一般认为,lgK_{ow}为1~2的有机污染物最有可能在植物体内迁移^[24];而lgK_{ow}>4.0的有机污染物多被根吸收积累并分布在根表皮,难以向地上部分迁移^[25]。而萘、菲和芘的lgK_{ow}分别为3.30、4.46和4.88,与前两者相比,芘的传导能力更差,更难将PAHs传导到茎叶,所以茎叶对芘污染的响应也相对弱些。

表3 植物酶对不同PAHs的敏感性响应指数(R)

Table 3 Sensibility index of enzymes under different species of PAHs

多环芳烃种类	R-根 POD	R-茎叶 POD	R-根 PPO	R-茎叶 PPO
萘	36.25	75.35	25.19	25.95
菲	1 029.61	1 300.58	297.20	177.03
芘	18 966.26	8 755.88	7 788.41	3 053.53

注:表中萘和芘均为3个浓度结果的平均值;菲为浓度系列结果的平均值。

3 结论

(1)菲处理浓度为0~1.8 mg·L⁻¹,144 h后,黑麦草根和茎叶中POD、PPO活性均随菲处理浓度的增加先升高后降低;表明,低菲污染(一般为菲处理浓度小于0.9 mg·L⁻¹)可激发植物供试酶活性,高污染则对酶活有抑制作用。

(2)萘、菲或芘处理后,黑麦草根中POD活性整体上高于茎叶,而茎叶中PPO活性则高于根;表明植物不同部位酶的表达存在差异,其相关生理功能有所不同。

(3)黑麦草根或茎叶中POD、PPO对供试3种PAHs的敏感性响应顺序为萘<菲<芘,与污染物自身毒性强弱顺序一致。

参考文献:

- [1] Thomas C V, Walter J W J. Sorption of hydrophobic compounds by sediment, soil and suspended solids[J]. *Water Resource*, 1983, 17(10): 1433–1441.
- [2] 朱利中, 松下秀鹤. 空气中多环芳烃的研究现状 [J]. 环境科学进展, 1997, 5(5): 18–29.
- ZHU Li-zhong, Hidetsuru Matsushita. Progress in research on polycyclic aromatic hydrocarbons in air[J]. *Advances in environmental science*, 1997, 5(5): 18–29.
- [3] 刘期松, 张春桂. 真菌产黄青霉(*penicillium chrysogenum*)对致癌物质苯并[a]芘的氧化[J]. 环境科学学报, 1983, 3(1): 36–43.
- LIU Qi-song, ZHANG Chun-gui. Oxidation of benzo(a)pyrene as a potent carcinogen by *penicillium chrysogenum*[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1983, 3(1): 36–43.
- [4] 凌婉婷, 高彦征, 李秋玲, 等. 植物对水中菲和芘的吸收 [J]. 生态学报, 2006, 26(10): 3331–3338.
- LING Wang-ting, GAO Yan-zheng, LI Qiu-ling, et al. Uptake of phenanthrene and pyrene by ryegrass from water[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(10): 3331–3338.
- [5] Winston G W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1991, 100 C: 173–176.
- [6] 严重玲, 洪业汤, 付舜珍, 等. Cd、Pb 胁迫对烟草叶片中活性氧清除系统的影响[J]. 生态学报, 1997, 17(5): 488–492.
- YAN Chong-ling, HONG Ye-tang, FU Shun-zhen, et al. Effect of Cd, Pb stress on scavenging system of activated oxygen in leaves of tobacco[J]. *Acta ecologica Sinica*, 1997, 17(5): 488–492.
- [7] Iwabuchi T, Harayama S. Biochemical and molecular characterization of 1-hydroxy2-naphthoate dioxygenase from *Nocardioidessp.* KP7[J]. *Biochemistry*, 1998, 273: 8332–8338.
- [8] Farkas G L, Stahmann A. On the nature of change in peroxidase isoenzymes in bean leave in tomato plants of south bean mosaic virus[J]. *Phytopathology*, 1996, 56: 669–677.
- [9] 王咏, 王春霞, 徐静波. 多环芳烃化合物对鲤鱼肝微粒体 EROD 的体外诱导[J]. 环境科学学报, 2000, 9(20): 176–180.
- WANG Yong, WANG Chun-xia, XU Jing-bo, et al. EROD induction of carp liver microsome by PAHs in in-vitro[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2000, 9(20): 176–180.
- [10] 杨兵, 廖斌, 邓冬梅, 等. Cu²⁺对两种生态型鸭跖草 Cu 积累和抗氧化酶的影响[J]. 中国环境科学, 2004, 24(1): 9–13.
- YANG Bing, LIAO Bin, DENG Dong-mei, et al. Effect of Cu²⁺ on Cu²⁺ accumulation and antioxidative enzymes of two ecotype of *Commelinacommunis*[J]. *China Environmental Science*, 2004, 24(1): 9–13.
- [11] 郭红莲, 程根武, 陈捷, 等. 玉米灰斑病抗性反应中酚类物质代谢作用的研究[J]. 植物病理学报, 2003, 33(4): 342–346.
- GUO Hong-lian, CHENG Gen-wu, CHEN Jie, et al. The function of phenolic metabolism in resistant mechanism of gray leaf spot of corn[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2003, 33(4): 342–346.
- [12] 高增贵, 陈捷, 刘军华, 等. 抗内生细菌 B20–2006 菌株对玉米主要防御酶系的影响[J]. 植物病理学报, 2007, 37(1): 102–104.
- GAO Zeng-gui, CHEN Jie, LIU Jun-hua, et al. Effect of antagonistic strain B20–006 of endophytic bacteria on major defensive enzymes in corn root[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2007, 37(1): 102–104.
- [13] 唐光辉, 田鹏鹏, 陈安良, 等. 两种农药树干注射对垂柳叶内 PPO 和 POD 活性及同工酶谱的影响[J]. 西北农林科技大学学报自然科学版, 2007, 35(4): 145–149.
- TANG Guang-hui, TIAN Peng-peng, CHEN An-liang, et al. Effects of two pesticides on PPO, POD activity and isozymes in weeping willow (*Salix babylonica* Linn) by trunk injection[J]. *Journal of Northwest A&F University* (Nature. Science. Edition), 2007, 35(4): 145–149.
- [14] Chapin F S, Moilanen L, Kielland K. Preferential use of organic nitrogen for growth by a non-mycorrhizal artic sedge[J]. *Nature*, 1993, 361: 150–153.
- [15] 高彦征, 朱利中, 胡晨剑, 等. Tween80 对植物吸收菲和芘的影响[J]. 环境科学学报, 2004, 24: 714–718.
- GAO Yan-zheng, ZHU Li-zhong, HU Chen-jian, et al. Effects of Tween 80 on plant uptake of phenanthrene and pyrene fromwater[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2004, 24: 714–718.
- [16] 杨秀清, 原海云, 焦晓光. 铜、锌元素对华北落叶松苗期酶活性影响[J]. 山西农业大学学报, 2001, 21(3): 277–280.
- YANG Xiu-qing, YUAN Hai-yun, JIAO Xiao-guang. The effect of nutrient elements of copper and zinc on ferment activity of *Larix Prinzipis-rupprechtii* seedlings[J]. *Shanxi Agriculture University*, 2001, 21(3): 277–280.
- [17] 郝再彬, 苍晶, 徐仲. 植物生理实验[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2004. 115–116.
- HAO Zai-bin, CANG Jing, XU Zhong. Experiments of plant physiology[M]. Haer-bin Industrial University Publishing Company, 2004. 115–116.
- [18] 李锋民, 胡洪营, 门玉洁, 等. 化感物质对小球藻抗氧化体系酶活性的影响[J]. 环境科学, 2006, 27(10): 2091–2094.
- LI Feng-min, HU Hong-ying, MEN Yu-jie, et al. Effects of EMA on activities of algal antioxidant enzymes[J]. *Environmental Science*, 2006, 27(10): 2091–2094.
- [19] 李雪芹, 徐礼根, 马建义. 扑草净和渗透剂 OT 对蛋白核小球藻的联合毒性[J]. 中国环境科学, 2005, 25(4): 432–436.
- LI Xue-qin, XU Li-gen, MA Jian-yi, et al. Combination toxicity of prometryne and permeating agent on *Chlorella pyrenoidosa*[J]. *China Environmental Science*, 2005, 25(4): 432–436.
- [20] 张金彪, 黄维南. 锌对植物的生理生态效应的研究进展[J]. 生态学报, 2000, 20(3): 514–523.
- ZHANG Jin-biao, HUANG Wei-nan. Advances on physiological and ecological effects of cadmium on plants[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2000, 20(3): 514–523.
- [21] 邱栋梁, 张国军, 余东, 等. Cu 胁迫对柑桔叶片膜透性及酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(3): 1008–1013.
- QIU Dong-liang, ZHANG Guo-jun, YU Dong, et al. Effects of copper stress on permeability of plasma membrane and activity of enzyme in citrus leaves[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(3): 1008–1013.
- [22] 巩宗强, 李培军, 王新, 等. 污染土壤中多环芳烃的共代谢降解过程[J]. 生态学杂志, 2000, 19(6): 40–45.
- GONG Zong-qiang, LI Pei-jun, WANG Xin. The process of cometabolic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the contaminated soils[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2000, 19(6): 40–45.
- [23] James E B, Douglas G C. Effects of co-occurring aromatic hydrocarbons on degradation of individual polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediment slurries[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1988, 54(7): 1649–1655.
- [24] Ryan J A, Bell R M, Davidson J M, et al. Plant uptake of nonionic organic chemicals from soils[J]. *Chemosphere*, 1988, 17: 2299–2323.
- [25] Schroll R, Bierling B, Cao G, et al. Uptake pathways of organic chemicals from soil by agricultural plants[J]. *Chemosphere*, 1994, 28: 297–303.