

大藻在水中氟化物胁迫下的微观变化

肖雄昕¹, 张云^{2*}, 宋大刚^{3*}

(1. 四川建筑职业技术学院, 四川 德阳 618000; 2. 西昌学院资源与环境学院, 四川 西昌 615000; 3. 农业农村部成都沼气科学研究所, 四川 成都 610041)

摘要: 水体氟污染在世界范围内都极为普遍, 而中国因为几十年来工业的迅速发展, 工业排放氟废水导致污染问题更为紧迫, 亟待解决。为探讨植物修复技术在治理水中氟化物的应用潜力, 实验选取了大藻 (*Pistia Stratiotes*) 研究供试植物在受到不同浓度的氟胁迫下生理和细胞微观结构发生的变化。结果表明: 与对照组相比 0~60 mgF·L⁻¹ 胁迫下大藻母、子植株根尖、茎、叶片细胞未见明显异常胞; 在 20~60 mgF·L⁻¹ 胁迫时大藻母株叶绿体数量呈递减变化; 在 40~60 mgF·L⁻¹ 胁迫时, 叶片气孔关闭, 最终导致植株生长迟缓, 甚至停止。说明了供试植物对水中氟化物的耐受程度, 为含氟废水的治理提供借鉴和参考。

关键词: 克隆植物; 细胞; 大藻; 氟化物

中图分类号: X703 文献标志码: A 文章编号: 1000-1166(2023)02-0045-05

DOI: 10.20022/j.cnki.1000-1166.2023020045

Evaluation on the Utilization Potential of *Pistia Stratiotes* for Fluoride Treatment in Water / XIAO Xiongxin¹, ZHANG Yun^{2*}, SONG Dagang^{3*} / (1. Sichuan College of Architectural Technology, Deyang 618000, China; 2. College of Resource and Environment, Xichang University, Xichang 615000, China; 3. Biogas Institute of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Chengdu 610041, China)

Abstract: Water fluorine pollution is very common all over the world. Because of the rapid development of industry over the past few decades in China, the problem of industrial discharge of fluorine wastewater pollution is more urgent and need to be solved. To explore the utilization potentiality of phytoremediation in treating fluoride in water, *P. Stratiotes* were selected in this research to study the changes in physiological and cellular microstructures under different concentrations of fluorine stress. Under 0~60 mgF·L⁻¹ stress, cells in root tip, stem and leaf of *P. Stratiotes* looked normal, but the quantities of chloroplasts in mother plant of *P. Stratiotes* decreased in 20~60 mgF·L⁻¹ and air holes in leaves were closed. In such a growing environment, eventually, the growth of plants became sluggish, or even stopped growing in 40~60 mgF·L⁻¹. The essay illustrates the tolerance of fluoride in water and provides reference for the treatment of fluoride wastewater.

Key words: clone plants; cell; *P. Stratiotes*; fluoride stress

在世界范围内, 水中的氟化物污染是一个严重的环境问题。大多数受影响的国家位于地球的热带地区。我国正位于全球三个众所周知的高氟化物带之一^[2], 且国内大部分地区的地下水深受氟化物的影响。部分地区的地表水中氟化物污染问题的其中一个原因是含氟化物的岩石形成矿物(萤石、磷灰石), 而这些矿物在岩石圈环境中又经风化和淋滤进入水体环境^[3]。与地表水相比, 环境中地下水一般受到的氟污染更为严重。而地下水也越来越多

地被开发作为饮用水, 甚至已经深入到中层地下水, 所以我们更要重视氟污染带来的危害^[4]。含氟化物的羽状物会与地下水混合并传播, 而不科学地抽取地下水使得这一问题对环境的威胁程度进一步加深。虽然氟化物污染主要常见于地下水, 但也存在各种工业设施排放含氟废水造成污染的情况。并且这种工业排放产生的污染问题随着我国经济社会的发展而日益紧迫, 常见的排氟工厂有: 磷肥厂, 生产铝、铁、玻璃和陶瓷的工厂等^[5]。

收稿日期: 2022-05-18 修回日期: 2023-03-05

项目来源: 国家自然科学基金(E08042); 西昌学院两高项目基金(LGLZ201906); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(1610012020007_03104)。

作者简介: 肖雄昕(2001-)男, 四川西昌人, 主要从事废水处理研究等工作, E-mail: 1179328770@qq.com

通信作者: 张云, E-mail: 495570814@qq.com; 宋大刚, E-mail: 1171385782@qq.com

水体氟污染问题亟待解决,一般去除氟污染物传统方法有:离子交换、吸附、电凝、化学凝聚、沉淀和膜吸附等。然而,所有这些单元操作都是因地制宜的,并不固定存在一种最合适的治理手段^[6]。在这种背景下,植物修复技术作为一种具有成本效益和合适长期应用的替代方案,倍受人们的关注。不仅如此,传统的污染物修复方法成本为每 m^3 60~6000元,而植物修复每 m^3 却只需0.3元^[7]。在过去一段时间,有关植物修复技术的科学研究正在如火如荼地进行^[8]。一些早期研究也讨论了氟对叶绿素、总蛋白的不利影响^[9],与对照组相比,氟胁迫下的植物生长受到了显著影响。然而,很少有研究人员开展使用水生克隆植物去除氟化物的研究工作。此外,植物修复技术对于含氟废水的治理效果关键取决于所选择植物在所需修复环境中的生长及富集污染物的有效性^[10-11]。有鉴于此,我们进行了此项调查,以探讨一些水中生长的匍匐茎型克隆性植物,如大藻(*Pistia Stratiotes*)等对水环境中氟化物的潜在衰减能力。匍匐茎型克隆性植物指的是茎匍匐在地面上的克隆植物,例如狗牙根(*Cynodactylon*)、白三叶(*Trifolium repens*)、欧活血丹(*Glechoma hederacea*)、蛇莓(*Duchesnea indica*)等。因其强大的繁殖能力及对特殊环境的适合性,在环境污染治理中逐渐引起了人们的重视^[12]。这些克隆植物由母株长出一条横走茎,有分节,不管是水面漂浮或是在水中,在底部平卧、匍匐,甚而在泥中穿行,几乎在每一节上都可能生根,长出一个新植株。横走茎不仅可以无限生长,而且新植株也可长出新的横走茎^[13-14]。我们的研究选取“密集型”代表植物大藻^[15]进行了氟胁迫实验,并观察他们的微观结构变化。

植物细胞的微观变化间接反映了植物的耐污力,这也是植物能够达到湿地备选植物标准的重要条件之一^[16]。本研究通过对两种不同生长类型的克隆植物在不同水中氟浓度胁迫下的微观变化,旨在为含氟废水处理提供借鉴和参考。

1 材料与方法

试验植物取自西昌市邛海湿地,用水冲洗植物样品,之后用去离子水进行漂洗。在自然光照条件下进行室内静态试验,先在水中培养驯化7d,选择生长情况良好,根系发达、健康无损且大小相近的植物。大藻留取一子株,去除多余子株。供试植物分

别均匀移植在不同塑料盆(直径25.3cm,高15.1cm)中培育,每盆加入纯水5L,大藻的生物量为每盆102~146g。与大藻母株相连的单个子株则另置于装有纯水的烧杯中培育。试验过程中室内空气温度为 27°C ~ 30°C ,水温变化范围为 23°C ~ 27°C 。

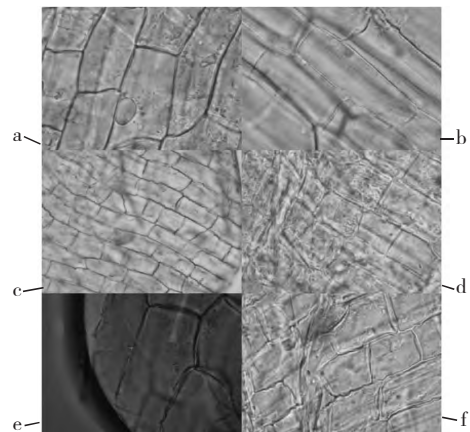
实验方法参考陈金发^[17]等关于大藻对氟化物去除的研究。每隔12h进行植物性状的观察并记录,设定处理周期为8d。处理后,分别取大藻母株和子株的根尖、叶片进行切片,在光学显微镜(O-LYMPUS CX31)下观察植物的细胞、导管和气孔的变化。个别细胞较小的采用目镜10倍、100倍油镜进行观察,其余微观照片均在目镜10倍、物镜40倍下进行观察。

2 结果与分析

2.1 植物形态变化

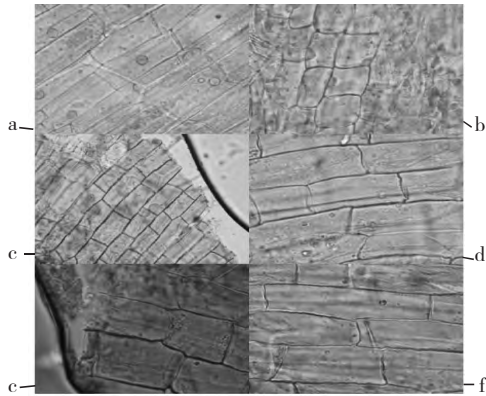
大藻在氟化物胁迫8d后,与对照组相比, $5\text{mgF}\cdot\text{L}^{-1}$ 的植物生长正常; $10\text{mgF}\cdot\text{L}^{-1}$ 的植株生长变缓,有新根和叶生长现象,但新生根、叶与对照组比较数量较少,新叶边缘颜色变浅; $20\text{mgF}\cdot\text{L}^{-1}$ 的植株生长明显变缓,有新根和叶生长现象,数量稀少,有老叶脱落新叶,边缘颜色变浅明显; $40\text{mgF}\cdot\text{L}^{-1}$ 的植株生长速度不明显,生长速度慢,少量老叶变黄脱落,新叶卷曲未见伸展; $60\text{mgF}\cdot\text{L}^{-1}$ 的植株生长停止,新生根与叶稀少,新生根尖明显变细,老叶与茎有枯萎现象,部分老叶变黄脱落,新叶停止生长。

在大藻的气生部分和根中观察到氟胁迫引起的形态变化。尤其在 $10\text{mgF}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上时,最明显的毒性迹象是叶片失绿和坏死,这些特征通常是敏感物



注: a 为对照组; b 为 $5\text{mgF}\cdot\text{L}^{-1}$; c 为 $10\text{mgF}\cdot\text{L}^{-1}$; d 为 $20\text{mgF}\cdot\text{L}^{-1}$; e 为 $40\text{mgF}\cdot\text{L}^{-1}$; f 为 $60\text{mgF}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

图1 不同浓度氟化物胁迫8d后的大藻母株根尖细胞



注: a 为对照组; b 为 $5 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; c 为 $10 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; d 为 $20 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; e 为 $40 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; f 为 $60 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

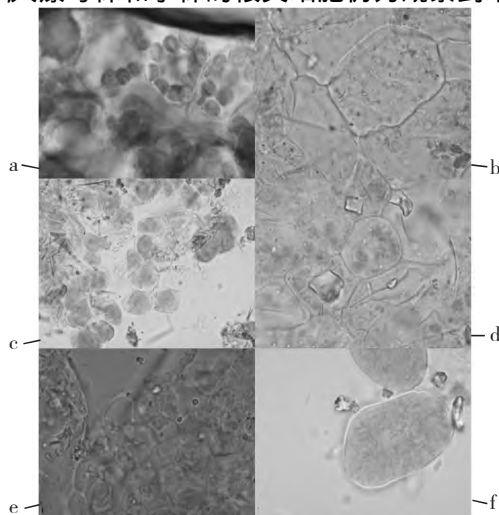
图2 不同浓度氟化物胁迫 8 d 后的大藻子株根尖细胞

种氟化物毒性的第一个迹象^[18]。氟化物还可能对微量营养素的转运产生破坏性影响。因此,黄化症状可能是氟化物诱导的营养缺乏的结果。

2.2 植物根尖、茎节、叶片微观结构变化

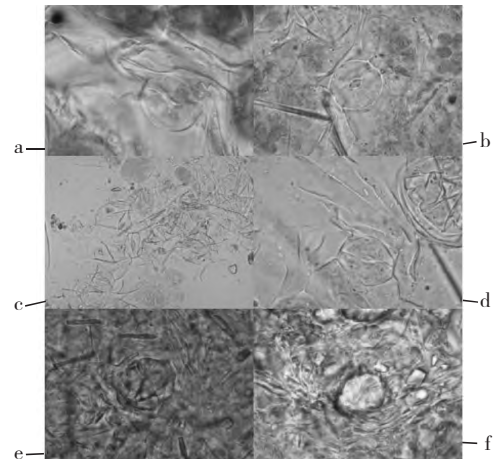
2.2.1 大藻母株根尖细胞变化

大藻根系的皮质有 3 层细胞,然后是两层皮质实质放射板,分隔细胞间腔。中柱鞘有 3 层细胞,外部由包围根中柱的内胚层包围。中间木质部、在中柱内呈环状排列的圆形结构以及构成维管束的一些其他结构分散在中柱内,平均数量为 13 个。皮质实质有 6 个细胞排列成 1 行。与对照组相比,在氟化物处理中大藻母株和子株根尖细胞未观察到任何解剖损伤与细胞形状变化(见图 1、图 2)。在高氟胁迫下,大藻母株和子株的根尖细胞仍为观察到细胞



注: a 为对照组; b 为 $5 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; c 为 $10 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; d 为 $20 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; e 为 $40 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; f 为 $60 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

图3 不同浓度氟化物胁迫 8 d 后的大藻母株叶片细胞



注: a 为对照组; b 为 $5 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; c 为 $10 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; d 为 $20 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; e 为 $40 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; f 为 $60 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

图4 不同浓度氟化物胁迫 8 d 后的大藻母株叶片气孔

间隙,保持有紧密排列的组织。氟化物处理未对根尖组织产生明显损害,这可能对于评估大藻的植物指示剂潜力或者对污染物的耐受性十分重要。

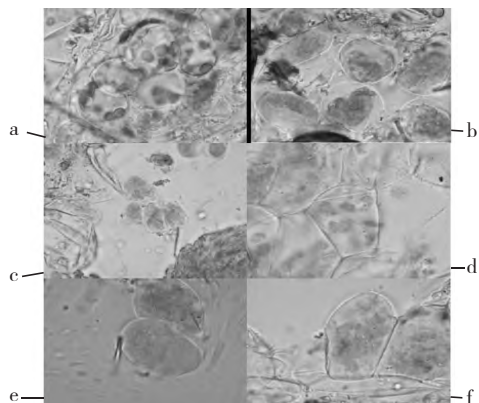
2.2.2 大藻母株叶片组织变化

由图 3、4 可知,与对照组相比,在低浓度氟处理下,大藻母株叶片的叶绿体数量和保卫细胞形成的气孔几乎没有变化。但随着溶液中氟浓度的增加,在 $20 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,细胞内的叶绿体开始减少;在 $40 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,保卫细胞形态发生变化,呈脱水状态,疑似功能异常,叶片气孔关闭;在 $60 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,大藻母株叶片细胞间观察到疑似未降解的化学物质。叶绿体的减少可能是淀粉粒过度积累和叶绿体膜受损所导致的。叶绿体中淀粉粒的积累通常是由于非生物胁迫导致淀粉酶活性降低,从而减缓淀粉水解和移位^[19]。此外,氟诱导的呼吸抑制通过阻碍淀粉在呼吸过程的消耗,从而成为淀粉粒积累的一个因素。气孔孔径变小乃至关闭限制了蒸腾作用,此结果与那些证明气孔孔径减小可以防止水分胁迫的结果一致。光合机构的损害以及气孔关闭对植物的光合作用产生了十分不利的影响^[20]。光合作用的减少,导致了植物生长迟缓^[21]。随着氟浓度增加,叶绿体数量减少、气孔关闭,叶片失绿、枯萎,叶片的生理症状和微观结构水平上观察的变化保持一致。而这一变化最终导致植物生长迟缓,甚至停止。

2.2.3 大藻子株叶片组织变化

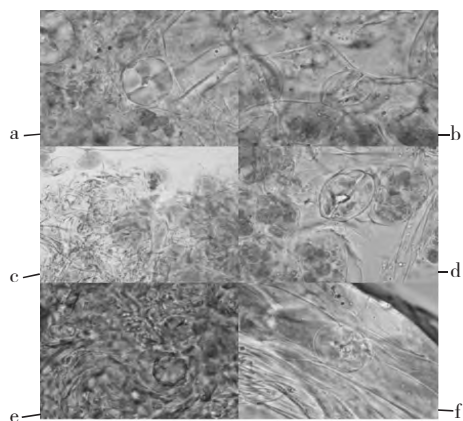
与此同时,如图 5、6 所示,无论大藻母株暴露在何种浓度的氟胁迫下,子株的叶片细胞解剖损伤和形状都几乎没有变化,叶绿体数量没有明显减少。

但在 $40 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上时,子株的上表皮气孔出现了和母株相似的变化,保卫细胞出现异常,气孔关闭。



注: a 为对照组; b 为 $5 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; c 为 $10 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; d 为 $20 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; e 为 $40 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; f 为 $60 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

图5 不同浓度氟化物胁迫8 d后的大藻子株叶片细胞



注: a 为对照组; b 为 $5 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; c 为 $10 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; d 为 $20 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; e 为 $40 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$; f 为 $60 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

图6 不同浓度氟化物胁迫8 d后的大藻子株叶片上表皮气孔

这可能是由于母株和子株之间的茎节传输一定程度上抑制了氟向子株的转移。但当母株暴露在高氟环境下时,表现出严重的水分胁迫症状。子株的水分通过该通道转移向母株,因此也受到一定的水分胁迫,导致气孔关闭。

3 讨论

环境胁迫对植物的影响是由植物个体细胞在结果和功能水平上的反应所决定。李春雷^[22]等发现大部分的氟(约60%)分布在细胞壁中,细胞壁固定了大部分的氟,阻止了氟进入细胞内部;随着氟浓度的增加,叶绿体膜会发生断裂、甚至溶解等。此外植物中氟含量会引起明显的新陈代谢紊乱,特别是在叶绿素色素的合成与转移上,这点尤为正确。因为

氟最为人知的能力是与诸如 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 等离子形成稳定盐从而导致二者的缺乏^[23]。这也是大藻母株内叶绿体数量随水中氟浓度的增加而出现减少变化的原因。大藻母株表现出的特征符合氟化物毒性敏感物种,具有一定敏感型指示剂的潜力。在氟处理后,大藻叶片细胞先于根尖细胞出现明显损伤。与此类似,陈金发^[17]等研究中发现氟处理后大藻叶中氟积累比根系高。这可能是由于未能有效限制氟向叶片转移,从而造成大藻叶片解剖特征和光合机构的损害。这说明大藻不具有高耐氟性植物的重要防御机制,即氟在大藻子株根部积累固存,限制氟向叶片转移,避免对光合作用产生负面影响。我们的研究表明,大藻对高氟胁迫的反应是气孔关闭,叶绿体数量减少,这与 Islam 等和 Li 等研究结果一致^[24-25]。气孔关闭可能是防止水分胁迫,叶绿体减少可能是氟诱导的叶绿体膜受损。子株在氟胁迫下无明显异常,说明大藻母株与子株相连的茎节传输时,可能存在一种防御机制,抑制氟通过传输通道向子株转移,对其产生明显损伤。大藻由于根系难以对氟进行有效积累,不能像茶树等作为高耐氟性植物用于高浓度地区的植物修复。但是由于叶片对氟的敏感表现,大藻拥有作为生物指示剂的潜力,并且具有密集型生长以及母株中氟积累对子株无明显影响的优秀特点,可以用于对低浓度地区的植物修复。

4 结论

供试植物的微观变化如下: $0 \sim 60 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$ 胁迫下大藻母、子植株根尖、茎、叶片细胞未见明显异常;在 $20 \sim 60 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$ 胁迫时大藻母株叶绿体数量呈递减变化;在 $40 \sim 60 \text{ mgF} \cdot \text{L}^{-1}$ 胁迫时,叶片气孔关闭。

大藻在氟胁迫下细胞微观结构容易遭受破坏,并且符合生理症状变化。从二者的形态、解剖和生理变化中看出,根系未能对氟进行有效积累并抑制其向叶的转移,表现出较低的氟耐受性。大藻难以在高浓度氟污染环境的植物修复中起到效果,因为其微观结构受到氟胁迫的强烈影响,但在氟污染的水生环境中具有很高的生物指示潜力,可以作为一种氟污染指示剂。

参考文献:

- [1] Chakrabarti S, Patra P K, Mondal B. Uptake of fluoride by two paddy (*Oryza sativa* L.) varieties treated with flu-

- oride-contaminated water [J]. *Paddy and Water Environment*, 2013, 11(1-4): 619-623.
- [2] Yadav K K, Kumar S, Pham Q B, et al. Fluoride contamination, health problems and remediation methods in Asian groundwater: A comprehensive review [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 182: 109362.
- [3] Mukherjee I, Singh U K. Groundwater fluoride contamination, probable release, and containment mechanisms: a review on Indian context [J]. *Environ Geochem Health*, 2018, 40(6): 2259-301.
- [4] 张伟, 郝春明, 林冬健, 等. 安徽省宿临矿区高氟中层地下水氟分布及成因研究 [J]. *环境污染与防治*, 2021, 43(345): 1022-1027.
- [5] Santos Diaz M D S, Zamora Pedraza C. Fluoride Removal from Water by Plant Species that are Tolerant and Highly Tolerant to Hydrogen Fluoride [J]. *Fluoride*, 2010, 43(2): 150-156.
- [6] Meenakshi, Maheshwari R C. Fluoride in drinking water and its removal [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2006, 137(1): 456-463.
- [7] Zhou, J, Gao, et al. Removal of Fluoride from Water by Five Submerged Plants [J]. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 2012, 89, 395-399.
- [8] Brindha K, Rajesh R, Murugan R, et al. Fluoride contamination in groundwater in parts of Nalgonda District, Andhra Pradesh, India [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2011, 172(1-4): 481-492.
- [9] S Ayoob, et al. Fluoride in Drinking Water: A Review on the Status and Stress Effects [J]. *Critical Reviews in Environmental Science Technology*, 2006, 36(6): 433-487.
- [10] Lasat M. M. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanism [J]. *J Environ Qual* 2002, 31(1): 109-120.
- [11] 王兴利, 吴晓晨, 王晨野, 等. 水生植物生态修复重金属污染水体研究进展 [J]. *环境污染与防治*, 2020, 326(01): 107-112.
- [12] 徐寸发, 闻学政, 张迎颖, 等. 漂浮植物组合生态处理污水处理厂尾水的效果及植物生理响应 [J]. *环境污染与防治*, 2019, 11: 014.
- [13] 李天煜, 李洪敬, 谢素霞. 水生维管植物克隆繁殖方式的多样性 [J]. *广西植物*, 2000, 20(3): 233-238.
- [14] Song Minghua, Dong Ming. Clonal plants and plant species diversity in wetland ecosystems in China [J]. *Journal of Vegetation Science*, 2002, 13: 237-244.
- [15] 杜琿, 陈晓德, 范庭兴. 匍匐茎克隆植物可倒插繁殖研究 [J]. *北方园艺*, 2015, 4: 26-30.
- [16] Chen J F, Nie Q S, Zhang Y, et al. Eco-physiological characteristics and livestock wastewater cleaning effect of *Pistia Stratiotes* [J]. *water science and technology*. 2014, 69(12): 2510-251.
- [17] 陈金发. 大藻对水中氟化物的去除及机理研究 [J]. *科学技术与工程*, 2016, 23: 88-92.
- [18] Newman M N W. Effects of Atmospheric Fluoride on the Respiration Rate of Bush Bean and *Gladiolus* Leaves. [J]. *Plant Physiology*, 1957, 32(2): 121-124.
- [19] Karbassi P, Garrard L A, West S H. Reversal of Low Temperature Effects on a Tropical Plant by Gibberellic Acid [J]. *Crop Science*, 1971, 11(5): 755-757.
- [20] Banerjee A, Roychoudhury A. Fluorine: a biohazardous agent for plants and phytoremediation strategies for its removal from the environment [J]. *Biologia Plantarum*, 2019, 63(48): 104-112.
- [21] Cai H, Dong Y, Li Y, et al. Physiological and cellular responses to fluoride stress in tea (*Camellia sinensis*) leaves [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2016, 38(6): 1-11.
- [22] 李春雷. 氟对茶树幼苗生理生化的影响及其作用机制研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.
- [23] Ohde S, Kitano Y. Incorporation of fluoride into Ca-Mg carbonate [J]. *Geochemical Journal*, 1980, 14(6): 321-324.
- [24] Islam E, D Liu, Li T, et al. Effect of Pb toxicity on leaf growth, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi* [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2007, 154(1-3): 914-926.
- [25] Li C, Zheng Y, Zhou J, et al. Changes of leaf antioxidant system, photosynthesis and ultrastructure in tea plant under the stress of fluorine [J]. *Biologia Plantarum*, 2011, 55(3): 563-566.