

DOI: 10.11766/trxb201506110191

人工纳米材料对植物-微生物影响的研究进展*

曹际玲^{1, 2} 冯有智¹ 林先贵^{1†}

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008)

(2 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要 随着纳米科技的快速发展和纳米产品的广泛使用, 人工纳米材料(ENMs)的环境生态效应研究逐渐成为国内外关注的热点。本文整合了ENMs的毒性机制, 综述了ENMs对植物和微生物影响方面的研究进展。此外, 鉴于植物与微生物之间存在的密切联系, 进一步概述了植物和微生物对ENMs生态效应的反馈作用, 揭示了植物和微生物的相互作用可影响ENMs对植物-微生物体系的生态效应。因此, 将植物-微生物以及土壤作为一个整体是全面评价ENMs生态效应的关键, 也是未来研究的发展方向。最后分析了目前研究中方法和技术等方面中存在的不足, 提出了以后研究中应关注的重点。

关键词 纳米材料; 植物; 土壤微生物; 生态效应; 反馈作用

中图分类号 X171.5 **文献标识码** A

纳米材料(Nanomaterials)是指结构单元尺寸在三维空间内至少有一维处于纳米尺度范围(1~100 nm)或由它们作为基本单元构成的材料。因其纳米粒径而具有强烈的小尺寸效应、量子尺寸效应、表面界面效应和宏观量子隧道效应, 在光学、热学、电学、磁学、力学以及化学方面显示出许多奇特的特性^[1]。目前, 根据其组成的不同, 人工纳米材料(Engineered nanomaterials, ENMs)主要分为碳、金属氧化物、零价金属、量子点和有机聚合物等5类。近年来, 随着纳米科技的快速发展, 这些ENMs在光电、生物医药、化妆品、能源及催化等人类生产和生活中的诸多领域得到了广泛应用。据报道, 目前纳米产品产量达1300 t, 预计到2020年前后将达到58 000 t^[2]。随着纳米产品的普及, ENMs经其生产、使用和废弃处理等过程不可避免地进入水体、土壤和大气等环境中。因此, 其潜在的环境生态效应已引起国内外的广泛关注^[3]。

近几年, 国内外大量文献报道了ENMs的环境生态效应^[4-6], 但多集中于水环境^[2, 7]。ENMs不仅随着在农业上的直接应用进入土壤, 还随着大气沉降、降水、灌溉等从大气和水环境进入土壤; 此外, 由于其在土壤中的迁移能力较小, 最终导致ENMs在土壤中的浓度要远高于大气和水体^[8]。例如, Gottschalk等^[8]通过模型预测发现土壤中纳米二氧化钛(TiO₂NPs)、纳米氧化锌(ZnONPs)、纳米银(AgNPs)和纳米碳管(CNTs)的浓度分别约为6.36 μg kg⁻¹、0.6 μg kg⁻¹、99.6 ng kg⁻¹和6.72 ng kg⁻¹; 而在水体中的浓度分别约为0.002 μg L⁻¹、0.001 μg L⁻¹、0.116 ng L⁻¹和0.001 ng L⁻¹; 在大气中的浓度分别约为0.0005 μg m⁻³、0.005 μg m⁻³、0.002 ng m⁻³和0.001 ng m⁻³。在土壤中, ENMs可进入生物体细胞, 释放金属离子, 产生活性氧, 吸附其他污染物等直接或间接对植物和微生物产生影响。近年来, 针对ENMs对植物和微生物影响的研究逐渐增多, 发现ENMs对植物和

* 国家自然科学基金项目(41371255, 41301267, 41271256)资助Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 41371255, 41301267, 41271256)

† 通讯作者Corresponding author, E-mail: xglin@issas.ac.cn

作者简介: 曹际玲(1986—), 女, 山东临沂人, 博士研究生, 主要从事环境微生物生态方向研究。E-mail: jlcao@issas.ac.cn

收稿日期: 2015-06-11; 收到修改稿日期: 2015-08-17

微生物均产生了不同程度的影响,但这些结果多基于单独对植物或微生物的研究。实际上,植物和微生物存在着密切联系,相互作用相互影响,构成植物-微生物的生态环境^[9]。已有研究发现由于微生物的参与,ENMs的植物生物效应发生了改变^[10-11]。因此,ENMs对植物-微生物的影响更值得重视。本文就植物-微生物对ENMs的响应和反馈进行归纳总结,并分析目前研究中存在的不足,对该领域日后应注重开展的研究方向进行展望。

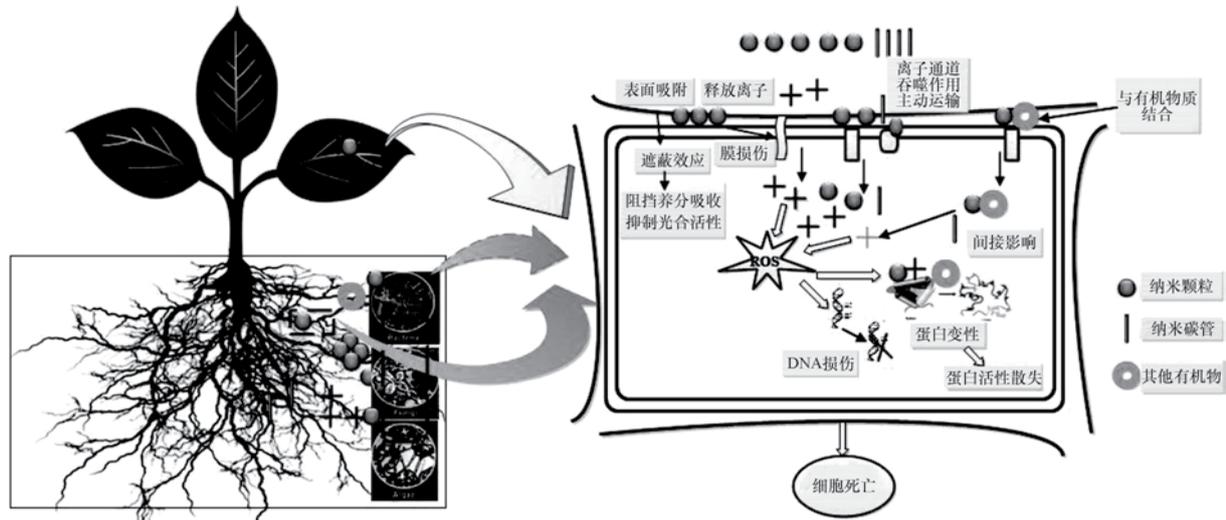


图1 ENMs对植物/微生物的影响机制

Fig.1 Mechanisms of ENMs affecting plant/soil microorganism ecosystems

显著的特征,当ENMs的粒径小于10 nm时,可直接通过细胞膜孔径、核膜孔径和离子通道等直接进入生物体细胞内;当ENMs的粒径大于10 nm时,其通过吞噬作用、主动运输等或者直接破坏细胞膜的完整性进入生物体内^[7]。2)通过吸附或者静电作用结合于生物体细胞膜表面,改变细胞膜的结构、产生遮蔽效应等。Yin等^[13]通过显微观察到AgNPs通过吸附在植物根系表面,经氧化溶解Ag穿过细胞膜进入细胞内,而后转运至植物其他部位,影响植物生长。Navarro等^[14]研究发现ENMs能够吸附于植物细胞表面,从而产生遮蔽效应,抑制植物的光合作用;此外,ENMs还可附着在细胞膜表面,堵塞离子通道,干扰营养物质的运输和离子交换^[15]。3)通过诱导产生活性氧,生物体细胞遭受氧化胁迫,导致膜脂质过氧化、线粒体损伤、蛋白质变性、DNA损伤等^[16]。4)通过释放金属离子对生物体产生影响。Dimkpa等^[17]发现纳米氧化铜(CuONPs)和ZnONPs可释放相应的金属

1 ENMs的生物毒性机制

ENMs进入土壤后,由于其纳米粒径可在细胞、亚细胞、蛋白和基因水平上对植物和微生物产生影响(图1)。

研究发现ENMs的生物毒性主要由其自身的性质决定^[12],可通过以下几种方式对生物体产生影响:1)进入生物体,破坏细胞膜的完整性,与生物大分子结合而对细胞产生影响。粒径是ENMs最

离子,引起氧化胁迫,进而抑制植物生长。5)因ENMs具有较高的比表面积和较强的吸附能力,通过吸附作用成为其他污染物(如重金属、农药等)的运输载体,改变它们的生物有效性,产生协同作用。Zhang等^[18]研究发现TiO₂NPs提高了镉的生物毒性。

总体而言,ENMs的毒性机制较复杂,其生态效应也往往不是单一机制引起的,而是上述多种方式导致的结果。因此,需要进一步的试验来明确ENMs的毒性机制网络。

2 ENMs对植物-微生物的影响

2.1 ENMs对植物的影响

植物是陆地生态系统的重要组成部分,ENMs的植物生物效应是揭示ENMs生态效应的基础。目前有大量文献报道了ENMs对植物的影响。按照Woodrow Wilson国际学者中心^[19]统计

发布的纳米技术消费品清单中最常见的ENMs：AgNPs、CNTs、ZnONPs、TiO₂NPs和纳米氧化铁（FeONPs）进行归纳总结。这些ENMs对植物影响的研究现状见表1。

ENMs对植物的影响主要表现为促进、抑制和

无显著影响等三类（表1）。研究发现这些ENMs的植物生物效应主要取决于ENMs的自身性质和受试植物的种类：1）不同种类的ENMs对植物的影响不同。单壁CNTs能够促进洋葱和黄瓜根系生长^[20]；AgNPs可通过破坏细胞膜，损伤根系，抑

表1 ENMs对植物的影响

Table 1 Influences of ENMs on plants

ENMs	粒径 Particle size (nm)	浓度 Concentration (ppm)	植物 Plant	基质 Growth media	效应 Observed effects	文献 Reference
Ag	100	500、1 000	胡瓜	水培	抑制根系生长，降低蒸腾速率和生物量	[27]
	< 100	100	洋葱	水培	破坏细胞膜、降低细胞分裂	[28]
	10	0.5、1.5、2.5、 3.5、5.0	小麦	沙子	抑制根系生长，抑制程度呈现剂量效应	[29]
	5、20	20、40、60、80、 100	亚麻、黑麦草、 大麦	土壤	作用较小	[26]
	10	100、1 000	西红柿	水培	降低生物量、叶绿素含量，Ag在西红柿体内累积	[21]
FeO	20	500	南瓜	水培	NPs进入植物体内，但无显著影响	[30]
	7	62、100、116	黄瓜、生菜	水培	作用较小	[31]
TiO ₂	5	2 500	菠菜	水培	促进光合作用	[32]
	40	91	小麦	土壤	降低生物量，NPs吸附于细胞壁	[33]
	27	50 ~ 4 000	黄瓜	水培	促进P、K养分吸收和根系生长，提高叶绿素含量	[34]
功能单壁纳米碳管 Functionalized carbon nanotubes		9、56、315、1 750	西红柿、黄瓜、 洋葱、莴苣、卷 心菜、胡萝卜	水培	抑制西红柿、黄瓜、洋葱根系生长，NPs在根系表面聚集，但植物未显著吸收NPs	[20]
非功能单壁 纳米碳管 Nonfunctionalized carbon nanotubes		56、315、1 750	西红柿、黄瓜、 洋葱、莴苣、卷 心菜、胡萝卜	水培	抑制莴苣根系生长，NPs在根系表面聚集，但植物未显著吸收NPs	[20]
多壁纳米碳管 Multiwalled carbon nanotubes		50、200 1 000	西红柿 胡瓜	土壤 水培	提高株高和花数，CNTs进入植物体内尤其花内 降低生物量	[35] [27]
Cu	50	1 000	胡瓜	水培	降低生物量	[27]
		1 000	胡瓜	水培	抑制根系生长	[27]
		0.013%	莴苣	水培	增加了根冠比	[36]
ZnO	5	45	小麦	土壤	降低生物量，NPs释放Zn ²⁺ 进入植物体内	[33]
	8	500、4 000	大豆	水培	促进（500）或抑制（4 000）植物生长，与进入植物体内Zn ²⁺ 含量相关	[37]
	19	1 000	黑麦草	水培	NPs进入根系，抑制幼苗生长	[38]

制黄瓜和洋葱生长^[21]。2) 同种ENMs对不同植物的影响不同, 即ENMs的植物生物效应具有物种差异性。单壁CNTs能够促进洋葱和南瓜根系生长, 但对甘蓝和胡萝卜根系生长无显著影响, 而对西红柿根系生长产生了抑制作用^[20]。Lee等研究发现CuONPs抑制了绿豆和小麦幼苗的生长速率, 绿豆幼苗的降幅大于小麦^[22]。3) 不同浓度的ENMs对植物的影响也不同, 即ENMs的植物生物效应具有剂量效应。一般较高浓度的ENMs才能显示出对植物的毒性^[23]。高浓度FeONPs会释放过量的铁元素, 通过对植物叶片细胞产生氧化应激而影响光合作用, 降低新陈代谢速率^[24]。但是, ENMs的毒性与剂量之间的关系颇为复杂, 因为其毒性与表面积密切相关, 在大剂量情况下, ENMs可能会凝聚成大的颗粒, 反而导致其生物有效性和毒性降低, 所以ENMs毒性与剂量之间的关系并不总是线性相关^[25]。4) 不同表面特征、粒径大小的ENMs对植物的影响不同。Canas等^[20]通过研究功能与非功能单壁CNTs对西红柿、洋葱、黄瓜、生菜等生长的影响, 发现功能与非功能单壁CNTs对植物的影响不同, 其中非功能单壁CNTs抑制了西红柿、洋葱和黄瓜的生长, 而功能单壁CNTs仅抑制了莴苣的生长, 并发现CNTs在植物根系表面累积但未发现植物对CNTs的显著吸收效应。Yin等^[13]研究发现AgNPs降低了黑麦草根系生物量和长度, 粒径为6 nm的AgNPs降幅大于粒径为25 nm的AgNPs, 并推断可能是由于AgNPs的植物毒性效应与其表面积有关。此外, 不同基质下ENMs的植物生物效应不同。El-Temsah和Joner^[26]发现土壤中AgNPs在20~100 mg kg⁻¹浓度范围内均对黑麦草生长表现出较小的影响; 而水培溶液中, AgNPs表现出抑制其根系生长、降低其生物量的作用^[21]。

从表1也可以看出, 目前针对ENMs的植物生物效应的研究表现出以下特点: 1) 多数研究局限在植物幼苗期。由于ENMs粒径的这一显著特征, 已有研究证实ENMs可以进入植物体内, 由根部转运至地上部, 乃至累积于果实内, 因而可能会通过食物链对其他生物甚至人类健康产生一定影响^[30]; 此外, Servin等^[34]通过傅里叶变换红外光谱法(FTIR)分析发现250~750 mg kg⁻¹的TiO₂NPs可改变黄瓜果实中脂质、氨基化合物和碳水化合物等的化学环境从而降低黄瓜的营养价值。因此, 需要增加针对ENMs对不同生育期的植物生长、果实及

籽粒品质等方面的研究。2) 目前研究ENMs的植物生物效应多与相应的离子态相比。如Yin等^[13]发现AgNPs对植物生长的抑制作用大于Ag⁺, 并推断AgNPs不仅通过释放离子, 还以AgNPs的形式直接抑制植物生长。由于ENMs是一种新型的潜在污染物, 评价其植物生物效应需要进一步系统全面的研究。3) 目前针对ENMs的植物生物效应的研究结论多源于水/沙培基质, 脱离土壤环境。研究发现虽然水培条件下南瓜可以富集FeONPs, 但在土壤环境中却没有吸收^[30]。4) 目前研究多是单一ENMs的植物生物效应, 自然环境中往往多种ENMs共存。Dimkpa等^[10]发现CuONPs抑制了大豆根系和地上部的生长, 但CuO: ZnONPs混合后CuONPs对大豆生长的抑制作用减小, 即CuONPs和ZnONPs在对植物生长的影响上存在抵消效应。

综合看来, 影响ENMs的植物生物效应的因素较多, 众多研究结果也并非一致。例如, El-Temsah和Joner^[26]发现AgNPs抑制了水培中黑麦草的生长, 而这种抑制作用却在土壤的黑麦草中消失。因此, 土壤对ENMs生物有效性的影响不可忽视。

2.2 ENMs对土壤微生物的影响

土壤微生物是指生活在土壤中的细菌、真菌、放线菌和藻类等微生物的总称。它们作为土壤生态系统的敏感生物指标, 驱动着土壤物质和能量循环, 对于农田生态系统的稳定和健康发挥着至关重要的作用。同时, 微生物对外界的干扰比较敏感, 因此, ENMs进入土壤后必将对微生物产生影响(表2)。

从表2的研究结果可以看出, 目前在ENMs的微生物生态效应研究中, 针对与植物生长相关的植物病原菌或有益微生物等功能微生物的研究多基于纯菌或者简单的沙培环境。随着ENMs生态效应研究的深入, 微生物相关研究从纯菌和简单的水环境微生物发展到复杂的自然土壤生态系统, 研究内容从单菌到群落, 从其多样性和功能上分别展开。研究发现: 1) 不同种类ENMs对土壤微生物的影响不同, 主要表现为抑制、促进和无显著影响。例如, Kumar等^[44]研究发现AgNPs显著抑制了细菌的生长。贺霖霖等^[45]研究发现多壁CNTs对土壤微生物表现出毒性效应, 降低了微生物生物量, 改变了微生物群落结构。Johansen等^[46]报道CNTs对土壤微生物量没有影响, 但可以抑制细菌的生长。2) 不同浓度的ENMs对土壤

表2 ENMs对土壤微生物的影响

Table 2 Influences of ENMs on soil microorganisms

ENMs	粒径 Particle size (nm)	浓度 Concentration (ppm)	微生物 Microorganisms	基质 Growth media	效应 Observed effects	文献 Reference
Cu	11 ~ 55	1 000	致病疫霉菌	培养基	抑制了致病疫霉菌生长	[39]
Ag	20	0.1、1.0	丛枝菌根真菌	沙培	提高了AMF感染率	[11]
		100	芽孢杆菌、荧光假单胞菌	培养基	抑制作用，与处理时间成反比	[40]
ZnO	10	30	恶性假单胞菌	培养基	抑制作用，影响其代谢功能	[41]
		100	芽孢杆菌、荧光假单胞菌	培养基	抑制作用，与处理时间成反比	[40]
		3、6、12	灰霉菌	培养基	减轻了葡萄、苹果、梨树的灰霉病症状	[42]
Fe	10	1.0	假单胞菌	培养基	抑制作用，影响其代谢功能	[41]
		3.2	丛枝菌根真菌	沙培	抑制了AMF的生态功能	[11]
TiO ₂	50	1 000	固氮菌、芽孢杆菌、荧光假单胞菌	培养基	抑制菌的生长	[43]

微生物的影响不同，即ENMs的微生物生态毒理具有剂量效应。Hänsch和Emmerling^[47]研究发现AgNPs显著降低了微生物生物量，且降幅与AgNPs的浓度呈正相关。3) 同种ENMs对不同微生物的影响不同，即ENMs的微生物效应具有物种差异性。Khodakovskaya等^[35]利用高通量技术研究了多壁CNTs对土壤微生物群落结构的影响，发现拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes)的丰度增加，变形菌门(Proteobacteria)和疣微菌门(Verrucomicrobia)的丰度降低。

综合看来，这些研究成果主要表现出以下特点：1) 多针对微生物区系进行研究，土壤环境中功能微生物的研究较少。2) 多针对土壤细菌群落多样性和功能的研究，而对土壤真菌的研究较少。3) 虽然ENMs对微生物影响的研究已广泛开展，但多数结论源于液体和平板的纯菌研究，脱离土壤环境。4) 目前研究多是单一ENMs的微生物生态效应，自然环境中往往多种ENMs共存，因而后续研究ENMs的复合效应是全面揭示ENMs对土壤微生物影响的必然趋向。

3 植物-微生物对ENMs生态效应的反馈

植物和微生物是生态系统的重要组成部分。众所周知，植物与微生物之间存在密切联系，相互作用相互影响^[9]。植物作为生态系统的生产者，

根系可分泌糖类、氨基酸及维生素等为土壤微生物提供能量物质，同时通过地下交易影响土壤微生物的种类、数量和分布^[48]；而土壤微生物作为生态系统的分解者，将土壤中的有机养分转化为无机养分，以利于植物吸收利用。在污染土壤中，微生物还可通过多种方式影响土壤中污染物的毒性，如通过自身或其代谢产物吸附重金属或通过氧化-还原作用改变重金属的价态进而改变重金属的活性，或者通过代谢活动对重金属进行溶解，从而改变污染物的植物毒性^[49]。ENMs作为一种新型的潜在污染物，研究发现微生物可改变ENMs的生物活性，影响ENMs的植物生物效应，而植物的变化也影响着ENMs的微生物生态效应(图2)。

植物-微生物对ENMs生态效应的反馈包括两层含义：微生物对ENMs产生反馈作用，影响ENMs的植物生物效应；反之，植物对ENMs产生反馈作用，ENMs的微生物生态效应发生改变。土壤微生物是土壤中的活性胶体，它们比表面积大，代谢活动旺盛。已有研究发现微生物能够通过自身或其代谢产物影响ENMs的活性，进而改变ENMs的植物生物效应。例如，Dimkpa等^[10]研究发现固氮菌(*Pseudomonas chlororaphis* O6, PcO6)缓解了CuONPs对大豆生长的抑制作用，并发现这种缓解作用是由于PcO6分泌的胞外聚合物与ENMs释放的金属离子结合或者引起ENMs聚合从而降低了ENMs的植物毒性^[50]。丛枝菌根真菌(Arbuscular

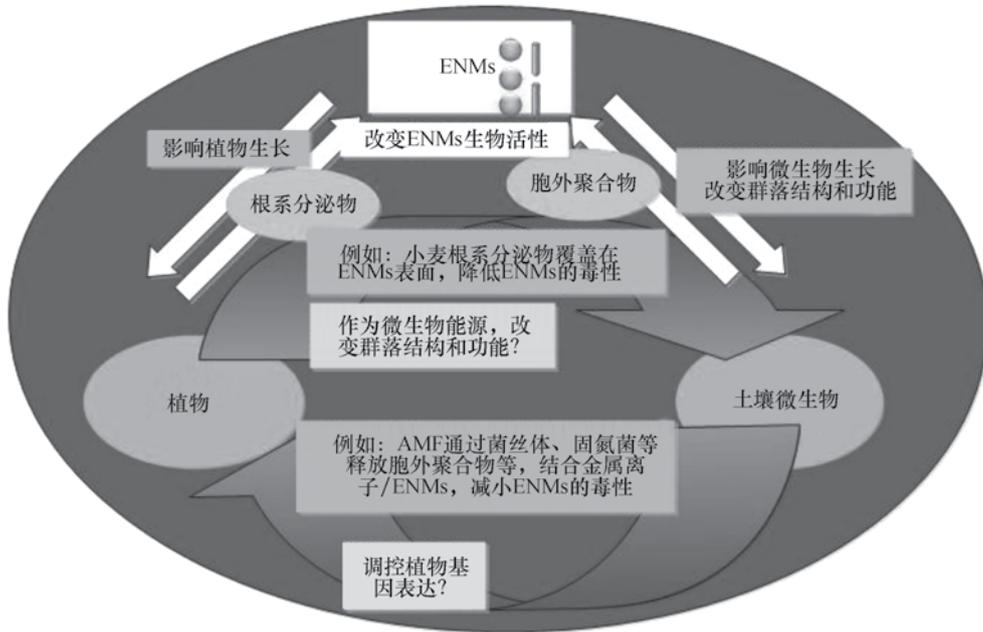


图2 植物-微生物对ENMs生态效应的反馈

Fig.2 Feedbacks from plant-microorganisms on eco-effect of ENMs

mycorrhizal fungi, AMF) 也被发现可影响ENMs的生态效应。AMF作为土壤生态系统中一类典型的共生微生物,通过侵染植物根系与陆地上90%的植物形成互惠共生体,即丛枝菌根。研究发现AMF的根内和根外菌丝均具有较高的吸附重金属能力^[51]。在ENMs处理下, Feng等^[11]将AMF添加至含有AgNPs的基质中研究AMF对ENMs的响应和反馈,结果发现AgNPs处理下AMF侵染率增加, AMF将Ag吸附在根外菌丝内,减少Ag在植物体内的累积量,进而减少AgNPs对植物生长的抑制作用,植物生物量降幅减小。王卫中等^[52]研究发现AMF通过将Zn固定在植物根部/根内菌丝,减少Zn向地上部的转运,从而缓解了ZnONPs对植物的毒害作用,减小了其生物量的下降幅度。AMF还能够帮助植物吸收更多的养分,王卫中等^[52]还发现AMF增加了ZnONPs处理下玉米对氮、磷、钾等养分的吸收,缓解ZnONPs的植物毒性。此外,研究发现土壤微生物可直接对污染土壤的植物进行调控。如AMF影响污染物生物效应的重要原因是其能对宿主植物进行分子调控。Burleigh等^[53]研究发现AMF改变了植物细胞膜Zn²⁺转运蛋白基因MtZIP2的表达,进而降低植物对重金属的吸收,减轻重金属的毒害。这表明微生物可能通过对植物进行分子调控而改变ENMs的植物生物效应,因此,进一步研究微生物对植物的分子调控作用将为揭示微生物改变ENMs

植物生物效应的机制提供理论依据。

植物在生长过程中,不仅从土壤中吸收养分,还向土壤释放多种物质,如有机酸类、蛋白质类、氨基酸类和糖类等。目前Kiers等^[48]研究发现植物根系与微生物之间存在复杂的地下交易关系,植物的根系分泌物可对ENMs的微生物生态效应产生影响。例如, Martineau等^[54]研究发现小麦的根系分泌物降低了CuONPs和ZnONPs对假单胞菌(*Pseudomonas putida*)的毒性效应,并发现这种缓解作用是由于根系分泌物覆盖在CuONPs和ZnONPs的颗粒表面,降低了其生物活性,间接影响了ENMs的生态效应。其次, Ge等^[55]研究发现大豆可能通过根系分泌物固定ZnONPs或隔离其释放的离子而改变ZnONPs的生物有效性,从而抑制ZnONPs对土壤细菌群落的影响。因此,研究植物参与下ENMs的微生物生态效应对于加深ENMs对生态系统影响的认知具有一定的意义,植物根系分泌物是研究这一方面的重要突破点。

总体而言,植物-微生物可改变ENMs生物活性对ENMs的生态效应产生反馈作用,但目前国内外针对植物-微生物对ENMs生态效应影响的研究尚少,在未来研究ENMs生态效应时不能忽略植物或微生物的作用,即将植物和微生物作为一个整体,以全面评价植物-微生物对ENMs的响应和反馈。

4 问题与展望

随着纳米科技的发展，纳米产品的普及给人们生活带来好处的同时，也对生态系统产生潜在的危害。近年来，ENMs对生态系统影响的研究在不断继续和深入，研究领域和研究方法也在不断拓展和丰富，目前该方面的研究已经取得了较多进展，研究发现ENMs对植物和微生物均产生了不同程度的影响，但目前研究多针对单一因素进行，如研究ENMs的植物生物效应多基于水/沙培基质，脱离土壤环境，忽略了土壤微生物的潜在作用；而ENMs的微生物生态效应结论多源于纯菌和简单的土壤环境，缺少植物的参与，忽略了植物（如根系分泌物）对ENMs生态效应的影响。实际上，不仅植物-微生物对ENMs的生态效应产生反馈，土壤也对ENMs生态效应产生影响。例如，Wijnhoven等^[56]发现土壤的黏土表面可以吸附AgNPs而降低AgNPs的生物毒性。Watson等^[57]研究了不同土壤pH下ZnONPs对小麦生长的影响，发现酸性土壤下ZnONPs抑制了小麦生长尤其是根系生长，并且抑制程度与ZnONPs的浓度呈正相关；而碱性土壤中ZnONPs对小麦的毒性效应减小。因而未来研究应将植物、微生物和土壤作为一个整体，才能更真实全面地评价ENMs的生态效应。

今后在土壤环境下开展ENMs对植物生长、土壤微生物群落结构和功能影响及影响机制等多方面研究的同时，还需要关注以下几个方面：1) 应用标记和影像示踪技术直接观察ENMs在植物和微生物体内的吸收、转运和累积情况，为揭示ENMs的毒性效应提供理论依据。例如，Klaine等^[2]利用荧光标记技术对ENMs进行荧光标记，结果发现纳米二氧化硅（SiO₂NPs）可嵌入细胞膜内，而AgNPs当粒径小于80 nm时可以进入细胞内。此外，应用于医学领域的能量过滤式透射电子显微镜和X线断层摄影术，可清晰地观察ENMs进入细胞的过程，而透射电子显微镜的分辨率则低很多^[58]，后续研究可以考虑用能量过滤式透射电子显微镜观察ENMs在植物和微生物体内的迁移过程。2) ENMs植物-微生物生态效应的动态变化。ENMs由于其粒径较小容易进入生物体内，在植物体内转运和累积，甚至进入植物果实，进而进一步影响到食物链的其他等级^[30]。因而研究ENMs对植物不同生育期的影响及相应生育期土壤微生物的变化，

可为完整的评价ENMs的生态效应提供理论依据。3) 不同品种植物和根际微生物对ENMs响应的差异。不同品种植物对重金属^[59]等逆境响应的差异已有较多报道，但ENMs对不同品种植物的影响及其根际微生物响应差异的研究尚少。开展不同品种植物及其根际微生物对ENMs的响应差异研究，可为植物耐性品种的选育及耐性机制的探讨提供理论依据。4) 利用分子生物学手段，研究ENMs的毒性机制和植物-微生物对ENMs生态效应的反馈机制。如已有研究发现AMF可反馈调节ENMs的植物生物效应^[11]，通过对已知的AMF介导的宿主基因（如Zn²⁺转运蛋白基因）的表达进行分析，以探索微生物对ENMs植物生物效应的调控机制。5) 田间自然条件下ENMs生态效应的评价。目前研究多基于盆栽试验条件下进行，田间环境下的研究较少，植物和微生物在生长过程中是受自然环境条件的综合影响，因此开展田间自然条件下ENMs生态效应的研究可为真实全面的评价ENMs的生态效应提供最可靠的依据。此外，在深入揭示ENMs生态效应的同时，还应该进一步尝试利用土壤微生物（如AMF、固氮菌等）或添加外源物质以缓解ENMs给生态系统带来的不良影响。例如，有机肥施用可能是有潜力的田间农业措施。已有研究发现施用有机肥带入的离子可影响土壤中重金属的行为^[60]，这表明施肥在控制或缓解ENMs的生态效应上具有一定的应用前景。

参考文献

- [1] Nel A, Xia T, Madler L, et al. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 2006, 311 (5761): 622—627
- [2] Klaine S J, Alvarez P J J, Batley G E, et al. Nanomaterials in the environment: Behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, 27 (9): 1825—1851
- [3] Brayner R, Ferrari-Iliou R, Brivois N, et al. Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. *Nano Letters*, 2006, 6 (4): 866—870
- [4] Qiu J N. Nano-safety studies urged in China. *Nature*, 2012, 489 (7416): 350—350
- [5] 章军, 杨军, 朱心强. 纳米材料的环境和生态毒理学研究进展. *生态毒理学报*, 2006, 1 (4): 350—356
- Zhang J, Yang J, Zhu X Q. The advancement of environmental and ecotoxicological research of

- nanomaterials (In Chinese). *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2006, 1 (4): 350—356
- [6] Ma X M, Geiser-Lee J, Deng Y, et al. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the Total Environment*, 2010, 408 (16): 3053—3061
- [7] 王震宇, 赵建, 李娜, 等. 人工纳米颗粒对水生生物的毒性效应及其机制研究进展. *环境科学*, 2010, 31 (6): 1409—1418
- Wang Z Y, Zhao J, Li N, et al. Review of ecotoxicity and mechanism of engineered nanoparticles to aquatic organisms (In Chinese). *Environmental Science*, 2010, 31 (6): 1409—1418
- [8] Gottschalk F, Sonderer T, Scholz R W, et al. Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for different regions. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43 (24): 9216—9222
- [9] 赵官成, 梁健, 淡静雅, 等. 土壤微生物与植物关系研究进展. *西南林业大学学报*, 2011, 31 (1): 83—88
- Zhao G C, Liang J, Dan J Y, et al. Review of studies on relationship between soil microbes and plants (In Chinese). *Journal of Southwest Forestry University*, 2011, 31 (1): 83—88
- [10] Dimkpa C O, McLean J E, Britt D W, et al. Nano-CuO and interaction with nano-ZnO or soil bacterium provide evidence for the interference of nanoparticles in metal nutrition of plants. *Ecotoxicology*, 2015, 24 (1): 119—129
- [11] Feng Y Z, Cui X C, He S Y, et al. The role of metal nanoparticles in influencing arbuscular mycorrhizal fungi effects on plant growth. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47 (16): 9496—9504
- [12] Keller A A, Wang H, Zhou D. Stability and aggregation of metal oxide nanoparticles in natural aqueous matrices. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44 (6): 1962—1967
- [13] Yin L Y, Cheng Y W, Espinasse B, et al. More than the ions: The effects of silver nanoparticles on *Lolium multiflorum*. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45 (6): 2360—2367
- [14] Navarro E, Baun A, Behra R, et al. Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. *Ecotoxicology*, 2008, 17 (5): 372—386
- [15] Pramanik S, Banerjee P, Sarkar A, et al. Size-dependent interaction of gold nanoparticles with transport protein: A spectroscopic study. *Journal of Luminescence*, 2008, 128: 1969—1974
- [16] Chakraborti T, Mondal M, Roychoudhury S, et al. Oxidant, mitochondria and calcium: An overview. *Cellular Signalling*, 1999, 11 (2): 77—85
- [17] Dimkpa C O, McLean J E, Latta D E, et al. CuO and ZnO nanoparticles: Phytotoxicity, metal speciation, and induction of oxidative stress in sand-grown wheat. *Journal of Nanoparticle Research*, 2012, 14 (9): 1125—1129
- [18] Zhang X, Sun H, Zhang Z, et al. Enhanced bioaccumulation of cadmium in carp in the presence of titanium dioxide nanoparticles. *Chemosphere*, 2007, 67 (1): 160—166
- [19] Woodrow Wilson International Center for Scholars. The nanotechnology consumer products inventory. 2009—09—11. http://pewnanotechproject.org/inventories/consumer/analysis_draft/
- [20] Canas J E, Long M Q, Nations S, et al. Effects of functionalized and nonfunctionalized single-walled carbon nanotubes on root elongation of select crop species. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, 27 (9): 1922—1931
- [21] Gardea-Torresdey J L, Rico C M, White J C. Trophic transfer, transformation, and impact of engineered nanomaterials in terrestrial environments. *Environmental Science & Technology*, 2012, 48 (5): 2526—2540
- [22] Lee W M, An Y J, Yoon H, et al. Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants mung bean (*Phaseolus radiatus*) and wheat (*Triticum aestivum*): Plant agar test for water-insoluble nanoparticles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, 27 (9): 1915—1921
- [23] Rico C M, Majumdar S, Duarte-Gardea M, et al. Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59 (8): 3485—3498
- [24] Răuciu M, Creangă D. Biocompatible magnetic fluid nanoparticles internalized in vegetal tissues. *Romanian Journal of Physics*, 2009, 54 (1/2): 115—124
- [25] Bernhardt E S, Colman B P, Hochella M F. An ecological perspective on nanomaterial impacts in the environment. *Journal of Environmental Quality*, 2010, 39 (6): 1954—1965
- [26] El-Temsah Y S, Joner E J. Impact of Fe and Ag nanoparticles on seed germination and differences in bioavailability during exposure in aqueous suspension and soil. *Environmental Toxicology*, 2012, 27: 42—49
- [27] Stampoulis D, Sinha S K, White J C. Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants. *Environmental*

- Science & Technology, 2009, 43 (24) : 9473—9479
- [28] Kumari M, Mukherjee A, Chandrasekaran N. Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. Science of the Total Environment, 2009, 407 (19) : 5243—5246
- [29] Dimkpa C O, McLean J E, Martineau N, et al. Silver nanoparticles disrupt wheat (*Triticum aestivum* L.) growth in a sand matrix. Environmental Science & Technology, 2013, 47 (2) : 1082—1090
- [30] Zhu H, Han J, Xiao J Q, et al. Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. Journal of Environmental Monitoring, 2008, 10 (6) : 713—717
- [31] Barrena R, Casals E, Colon J, et al. Evaluation of the ecotoxicity of model nanoparticles. Chemosphere, 2009, 75 (7) : 850—857
- [32] Yang F, Liu C, Gao F Q, et al. The improvement of spinach growth by nano-anatase TiO₂ treatment is related to nitrogen photoreduction. Biological Trace Element Research, 2007, 119 (1) : 77—88
- [33] Du W C, Sun Y Y, Ji R, et al. TiO₂ and ZnO nanoparticles negatively affect wheat growth and soil enzyme activities in agricultural soil. Journal of Environmental Monitoring, 2011, 13 (4) : 822—828
- [34] Servin A D, Castillo-Michel H, Hernandez-Viezcas J A, et al. Synchrotron micro-XRF and micro-XANES confirmation of the uptake and translocation of TiO₂ nanoparticles in cucumber (*Cucumis sativus*) Plants. Environmental Science & Technology, 2012, 46 (14) : 7637—7643
- [35] Khodakovskaya M V, Kim B S, Kim J N, et al. Carbon nanotubes as plant growth regulators: Effects on tomato growth, reproductive system, and soil microbial community. Small, 2013, 9 (1) : 115—123
- [36] Shah V, Belozeroval I. Influence of metal nanoparticles on the soil microbial community and germination of lettuce seeds. Water, Air, & Soil Pollution, 2009, 197 (1/4) : 143—148
- [37] Lopez-Moreno M L, de la Rosa G, Hernandez-Viezcas J A, et al. Evidence of the differential biotransformation and genotoxicity of ZnO and CeO₂ nanoparticles on soybean (*Glycine max*) Plants. Environmental Science & Technology, 2010, 44 (19) : 7315—7320
- [38] Lin D H, Xing B S. Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles. Environmental Science & Technology, 2008, 42 (15) : 5580—5585
- [39] Giannousi K, Avramidis I, Dendrinos-Samara C. Synthesis, characterization and evaluation of copper based nanoparticles as agrochemicals against *Phytophthora infestans*. Royal Society of Chemistry Advances, 2013, 44 (3) : 21743—21752
- [40] Dhas S P, Shiny P J, Khan S S, et al. Toxic behavior of silver and zinc oxide nanoparticles on environmental microorganisms. Journal of Basic Microbiology, 2013, 54 (9) : 916—927
- [41] Gajjar P, Pettee B, Britt D W, et al. Antimicrobial activities of commercial nanoparticles against an environmental soil microbe, *Pseudomonas putida* KT2440. Journal of Biological Engineering, 2009, 3, DOI: 10.1186/1754-1611-3-9
- [42] He L, Liu Y, Mustapha Z, et al. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. Microbiological Research, 2012, 166 (3) : 207—215
- [43] Karunakaran G, Suriyaprabha R, Manivasakan P, et al. Impact of nano and bulk ZrO₂, TiO₂ particles on soil nutrient contents and PGPR. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2013, 13 (1) : 678—685
- [44] Kumar N, Shah V, Walker V K. Perturbation of an arctic soil microbial community by metal nanoparticles. Journal of Hazardous Materials, 2011, 190 (1/3) : 816—822
- [45] 贺涔霖, 高飞, 卢晓霞, 等. 多壁碳纳米管对土壤微生物的生态毒理效应. 生态毒理学, 2012, 7 (2) : 155—161
- He C L, Gao F, Lu X X, et al. Ecotoxicological effects of multi-wall carbon nanotube on soil microorganisms (In Chinese). Asian Journal of Ecotoxicology, 2012, 7 (2) : 155—161
- [46] Johansen A, Pedersen A L, Jensen K A, et al. Effects of C (60) fullerene nanoparticles on soil bacteria and protozoans. Environmental Toxicology and Chemistry, 2008, 27 (9) : 1895—1903
- [47] Hänsch M, Emmerling C. Effects of silver nanoparticles on the microbiota and enzyme activity in soil. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2010, 173 (4) : 554—558
- [48] Kiers E T, Duhamel M, Beesetty Y, et al. Reciprocal rewards stabilize cooperation in the mycorrhizal symbiosis. Science, 2011, 333 (6044) : 880—882
- [49] 王新, 周启星. 重金属与土壤微生物的相互作用及污染土壤修复. 环境污染治理技术与设备, 2004, 5 (11) : 1—5
- Wang X, Zhou Q X. Interaction between heavy metals and soil microorganisms and remediation of contaminated soils (In Chinese). Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control, 2004, 5 (11) : 1—5
- [50] Ha J Y, Gelabert A, Spormann A M, et al. Role

- of extracellular polymeric substances in metal ion complexation on *Shewanella oneidensis*: Batch uptake, thermodynamic modeling, ATR-FTIR, and EXAFS study. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2010, 74 (1): 1—15
- [51] 陈保冬, 李晓林, 朱永官. 丛枝菌根真菌菌丝体吸附重金属的潜力及特征. *菌物学报*, 2005, 24 (2): 283—291
Chen B D, Li X L, Zhu Y G. Characters of metal adsorption by AM fungal mycelium (In Chinese). *Mycosystema*, 2005, 24 (2): 283—291
- [52] 王卫中, 王发园, 李帅, 等. 丛枝菌根影响纳米ZnO对玉米的生物效应. *环境科学*, 2014, 35 (8): 3135—3141
Wang W Z, Wang F Y, Li S, et al. Arbuscular mycorrhizal symbiosis influences the biological effects of nano-ZnO on maize (In Chinese). *Environmental Science*, 2014, 35 (8): 3135—3141
- [53] Burleigh S H, Kristensen B K, Bechmann I E. A plasma membrane zinc transporter from *Medicago truncatula* is up-regulated in roots by Zn fertilization, yet down-regulated by arbuscular mycorrhizal colonization. *Plant Molecular Biology*, 2003, 52 (5): 1077—1088
- [54] Martineau N, McLean J E, Dimkpa C O, et al. Components from wheat roots modify the bioactivity of ZnO and CuO nanoparticles in a soil bacterium. *Environmental Pollution*, 2014, 187: 65—72
- [55] Ge Y, Priester J H, van de Werfhorst L C, et al. Soybean plants modify metal oxide nanoparticle effects on soil bacterial communities. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48 (22): 13489—13496
- [56] Wijnhoven S W P, Peijnenburg W J G M, Herberts C A, et al. Nano-silver-A review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotechnology* 2009, 3 (2): 109—138
- [57] Watson J-L, Fang T, Dimkpa C O, et al. The phytotoxicity of ZnO nanoparticles on wheat varies with soil properties. *Biometals*, 2015, 28 (1): 101—112
- [58] Rortter A E, Gass M, Muller K, et al. Direct imaging of single walled carbon nanotubes in cells. *Nature Nanotechnology*, 2007, 2 (11): 713—717
- [59] 彭少麟, 杜卫兵, 李志安. 不同生态型植物对重金属的积累及耐性研究进展. *吉首大学学报 (自然科学版)*, 2004, 25 (4): 19—26
Peng S L, Du W B, Li Z A. A review of heavy metal accumulation and tolerance by plants of different ecotype (In Chinese). *Journal of Jishou University (Natural Science Edition)*, 2004, 25 (4): 19—26
- [60] 薛瑞玲, 黄懿梅, 麦诗荃. 施肥对Cd胁迫下小白菜生理生化特性和生物累积的影响. *农业环境科学学报*, 2010, 29 (增): 20—25
Xue R L, Huang Y M, Mai S Q. Effects of cadmium on physiological and biochemical characteristics and bio-accumulation of pakchoi in different fertilizing (In Chinese). *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29 (Suppl): 20—25

Review of Researches on Influences of Engineered Nanomaterials on Plant-microorganisms

CAO Jiling^{1, 2} FENG Youzhi¹ LIN Xiangui^{1†}

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Engineered nanomaterials (ENMs), a kind of intentionally produced materials formed of particles varying from 1 to 100 nm in particle size, possess unique physicochemical properties that are not shared by any of their corresponding bulk materials. Due to their unique physicochemical properties, ENMs are getting more and more extensive in application to a wide range of technical fields in human production and life. Hence, it has become inevitable for ENMs to get released into the environment. ENMs enter into farmlands with ENM-containing pesticides, fertilizers and slurries from wastewater treatment facilities, posing potential risks to agricultural ecosystems. Being the essential components of an agricultural ecosystem, plants and soil microorganisms play critical roles affecting fate and transport of ENMs in the environment though adsorption, uptake and bioaccumulation. Therefore, how they affect plants and microorganisms

ecologically attracts increasing attention from researchers the world over. Their researches may provide some valuable information to a better understanding of the consequences of introducing ENMs into ecosystems. Besides, as plants and microorganisms are closely related to each other, interact with each other and mutually influence each other, they form a plant-microorganism ecosystem. In this review, influences of ENMs on plants and microorganisms in the ecosystem are summarized. First, mechanisms of the potential ecotoxicities of ENMs and their relationships with the special properties of ENMs were collated and then researches of influences of ENMs on plants, soil microorganisms and plant-microorganism ecosystems were expounded. The review reveals that ENMs may have some impacts, varying in degree, on plant and microbes, and degree of the impact is related to kind of ENMs and species of the object and could be divided into three categories, negative, positive and insignificant. Moreover, researches have found plants and microbes may have some potentials to affect bioavailability of ENMs, which may serve as feedback to the ecological effect of ENMs on the plant-microorganism ecosystem. Recent studies on actual plant-microbe ecosystems found that ENMs affected functioning of arbuscular mycorrhizal fungi and azotobacters and excretion of iron chelator from soil microbes in the plant rhizosphere, thus altering eco-effect of ENMs, which suggests that to deem plants and soil microbes as an entity in the research may help the researchers go further in depth in studies on eco-effects of ENMs. Finally, the review lists out problems existing in the current researches with their pathways and techniques and focal points as well in ongoing researches.

Key words Nanomaterials; Plant; Soil Microorganisms; Toxicity; Feedback

(责任编辑：卢 萍)