

白骨壤对石油污染的生理生态响应

王雪峰*, 陈桂珠**, 许夏玲*

(中山大学环境科学研究所, 广州 510275)

摘要:研究了 4 种不同剂量的石油处理对红树植物白骨壤的叶片叶绿素含量、过氧化氢酶活性、游离脯氨酸含量、含水量、相对电导率、根系活力与生物量、茎高和茎径生长量、存活率、萌发幼苗数、幼苗高度等生理生态指标的影响, 结果表明 150 mg 剂量的伊朗轻质原油处理对白骨壤没有不利影响, 300mg、600mg 剂量的伊朗轻质原油处理有促进白骨壤生长的作用, 1200mg 剂量的伊朗轻质原油处理植株生长受到明显抑制而且出现较多的个体死亡现象。白骨壤对石油污染有较强的耐受性和适应性, 但大剂量能引起植株死亡。

关键词:石油处理; 白骨壤; 生理生态; 影响

文章编号:1000-0933(2005)05-1095-06 **中图分类号:**Q142, Q945, Q948, X171 **文献标识码:**A

Physi-ecological responses of *Avicennia marina* to oil treatment

WANG Xue-Feng, CHEN Gui-Zhu, XU Xia-Ling (Institute of Environmental Science, Zhongshan University, Guangzhou 510275). *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(6): 1095~1100.

Abstract: *Avicennia marina* simulated wetland system was set up in a greenhouse, consisting of one-year-old *Avicennia marina*-soil-water system. The Iran light crude oil with four various doses: 150mg (I), 300mg (II), 600mg (III), 1200m (IV) and water (CL) (I) have been discharged into wetlands twice a week for one year. The main achievements were described as follows:

Treatment of oil dose of 150mg caused no harmful impact on nutrition and growth of *Avicennia marina* as well as bourgeon and growth of seedlings. Treatment of oil dose of 300mg and 600mg promoted significantly breed and growth of *Avicennia marina*. Oil Treatment of 1200mg dose restrained the breed and growth of *Avicennia marina* and the death rate was near 30%.

Oil treatment of 150mg dose had little effect on the physi-ecological indexes, such as vigor of root system, water content, catalase activity, free prolin content, chlorophyll content, net photosynthetic rate of *Avicennia marina*. Oil treatment of 300mg and 600mg caused some changes on relative electric conductivity and free prolin content of leaves at initial stage. But the value of them gradually came back to the level of CL afterwards. Oil treatment of 300mg and 600mg dose made the chlorophyll content of leaves higher than that of CL, whereas vigor of root system, water content of leaves and catalase activity of leaves showed no obvious changes compared with those of CL. When treated with the dose of 1200mg, the physi-ecological values above-mentioned had significant or very significant changes.

At last, the conclusion was that oil treatment of 150mg dose for one year had no harmful impact on *Avicennia marina*. And 300mg and 600mg oil treatment can stimulated growth of these *Avicennia marina*. But the dose group of 1200mg can inhibited significantly growth of *Avicennia marina*, and many individuals died. In view of above study, it can be said that *Avicennia marina* had a strong resistance to oil.

Key words: oil treatment; *Avicennia marina*; physi-ecological indexes; effect

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39470151)

收稿日期:2004-04-08; **修订日期:**2005-01-11

作者简介:王雪峰(1972~), 男, 安徽人, 硕士, 工程师, 主要从事生态规划研究。E-mail: wxf1989@sina.com

* 现在上海市徐汇区环境监察支队工作

** 通讯作者 Author for correspondes.

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 39470151)

Received date: 2004-04-08; **Accepted date:** 2005-01-11

Biography: WANG Xue-Feng, Master, mainly engaged in ecological planning. E-mail: wxf1989@sina.com

近年来,由于环境污染和生境破坏,尤其是海洋石油开采和油轮溢油事件频繁发生,生长在热带、亚热带近岸海域的红树林首当其冲受到较大影响,红树林湿地迅速减少。关于石油污染华南红树林植物三大优势种之一秋茄的影响已有报道^[1],本文继续研究模拟湿地环境下石油处理对华南红树林三大优势种之一的白骨壤的生理生态指标的影响,找出白骨壤对石油污染的耐受程度,为保护和恢复红树林湿地寻找科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为当年生白骨壤人工育种幼苗,于1999年8月23日从湛江红树林育苗基地运回,种植于中山大学校内玻璃网室中的试验盆内(0.75m×0.5m×0.4m),每盆均匀种植15株。试验用底泥为湛江红树林林下底泥(每盆干重100kg),试验用油为伊朗轻质原油。

1.2 试验设计

试验设1个对照组(代号CL I)和4个不同剂量处理组即150mg(II)、300mg(III)、600mg(IV)和1200mg(V),每组3盆平行。

白骨壤幼苗移植成活生长正常后,于1999年12月13日开始用石油处理,伊朗轻质原油直接加入试验盆中,用自来水冲淋混合均匀,水面保持相同高度。施油频率为每周2次,石油处理持续1年(死亡率统计到65周),于2000年12月中旬结束,共加入原油104次,每次施加剂量分别为150、300、600、1200mg。本文所提的试验期指石油处理期。

1.3 试验方法

取试验前、石油处理3个月、6个月、9个月及12个月的各组植株相应部位的成熟叶片测定各生理生化指标。

①叶绿素a、b含量及总叶绿素含量用分光光度法^[2];②过氧化氢酶活性用KMnO₄滴定法^[3];③游离脯氨酸含量用酸性茚三酮法^[4];④总含水量用鲜重干重法^[5];自由水含量用阿贝氏折射仪法^[2];束缚水含量=总含水量%-自由水%;⑤相对电导率用电导仪法^[5]。⑥根系活力测定:取试验前后各组植物相应部位的根用 α -萘胺氧化法测定^[2];⑦植株茎高、茎径生长量测定及生物量统计,石油处理前,选取同期运回种植的白骨壤21株作标准木,逐株测定茎高、茎径(基径)和总生物量(B, g干重)其之间存在的关系式: $\lg B_T = 0.5777 \lg(D_2H) + 0.0121$,相关系数 $r = 0.9335 (p < 0.001)$ 。油污处理开始后每月定期测量每株的茎高与茎径生长量,并作为原始数据利用以上关系式统计每月生物量增量。

2 结果与分析

2.1 对叶绿素含量的影响

测得白骨壤叶片叶绿素含量见图1。由图1可知油污处理3个月时,1200mg处理组的叶绿素a、叶绿素b和叶绿素总量显著低于对照组,其它各组叶绿素a、叶绿素b以及总叶绿素与对照组无显著差异。处理6个月时,150mg石油处理组叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素含量稍高于对照组,但并不显著;300mg和600mg剂量处理组的叶绿素a和总叶绿素显著高于对照组,而且300mg处理组叶绿素a和总叶绿素含量最高;而1200mg剂量处理组叶绿素a和总叶绿素极显著低于对照组,叶绿素b低于对照组,但不显著。处理9个月和1a时,150mg、300mg和600mg剂量处理组叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素含量显著或极显著高于对照组,且随处理剂量的增大,叶绿素含量也增大;而1200mg处理组叶绿素a、b以及总叶绿素含量与对照组相比差别不大,但1200mg剂量石油处理组叶绿素a与b比值在处理1a中都高于对照组,这说明1200mg剂量的石油处理对叶绿素b造成的破坏比叶绿素a大。

2.2 对叶片过氧化氢酶活性的影响

油处理期过氧化氢酶活性测定结果见图2。

试验1a中,1200mg处理组的过氧化氢酶活性一直显著或极显著低于对照组,这可能是由于植株因分解有毒物质而消耗了更多的酶,是过氧化氢酶活性下降的原因,而其它各组与对照

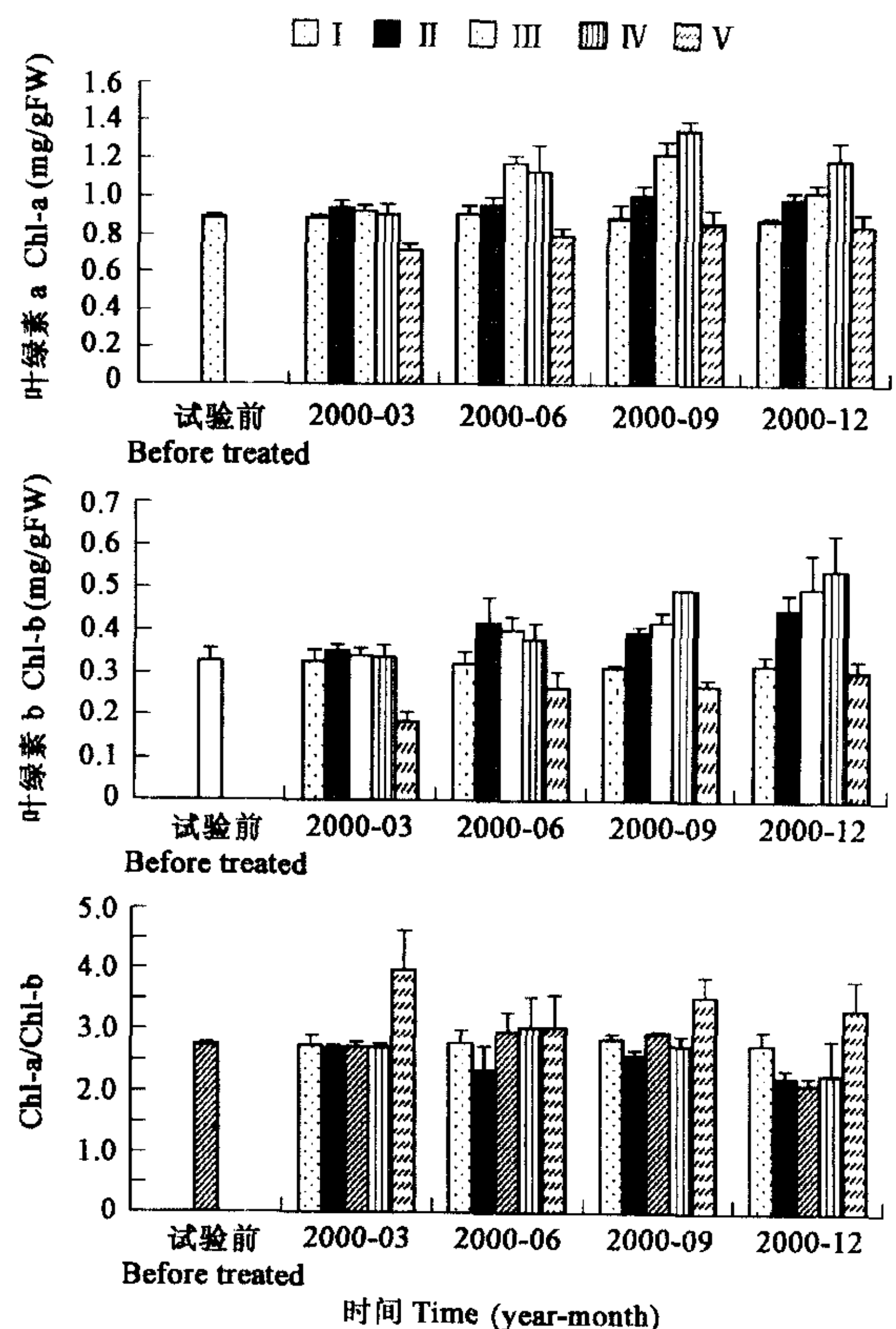


图1 白骨壤叶绿素含量

Fig. 1 Chlorophyll content of *Avicennia marina* leaves

组相比在 1a 中皆无显著差异。

2.3 对叶片游离脯氨酸的影响

石油处理各个时期所测得的白骨壤叶片游离脯氨酸含量见表 1。

由表 1 可看出,150mg 和 300mg 剂量处理组的叶片游离脯氨酸含量仅在试验 3 个月时显著高于对照组,3 个月后与对照组相比,差异均不显著,600mg 剂量处理组在处理 3 个月和 6 个月时显著高于对照组,6 个月后虽高于对照组,但并不显著,这表明 150mg、300mg 和 600mg 剂量处理组经过一段对油逆境的适应,游离脯氨酸含量逐渐恢复到对照组水平;1200mg 处理组始终显著或极显著高于对照组,这说明大剂量石油处理对白骨壤游离脯氨酸的含量影响较大。

表 1 白骨壤叶片游离脯氨酸含量($\mu\text{g/g}$ FW)

Table 1 Contents of free proline of *Avicennia marina* leaves

处理时间 Treatment time	油污处理 Oil treatment									
	I		II		III		IV		V	
	CL	(%)	150 (mg)	(%)	300 (mg)	(%)	600 (mg)	(%)	1200 (mg)	%
石油处理前 ^①			22.731 ± 2.758							
处理 3 个月 ^②	25.57 ± 2.947	100	$31.10 \pm 0.690^*$	122	$39.72 \pm 6.699^*$	155	$39.94 \pm 5.329^*$	156	$44.25 \pm 1.380^{**}$	173
处理 6 月 ^③	24.43 ± 2.459	100	26.88 ± 5.126	110	28.51 ± 2.187	117	$37.73 \pm 5.428^*$	154	$6.60 \pm 6.354^{**}$	191
处理 9 个月 ^④	28.18 ± 3.002	100	29.96 ± 3.008	106	31.18 ± 3.285	111	36.30 ± 4.837	129	$44.97 \pm 7.909^*$	160
处理 12 个月 ^⑤	31.63 ± 2.038	100	31.74 ± 3.407	100	34.41 ± 5.171	109	35.07 ± 2.503	111	$46.75 \pm 5.594^*$	148

①Before oil treatment; ②For three months; ③For six months; ④For nine months; ⑤For one year; Mean $\pm$ SD ($n=3$); * $p<0.05$, ** $p<0.01$

2.4 对叶片含水量的影响

自由水与束缚水含量是植物抗性生理的一个指标^[2]。由图 3 可知,石油处理 3 个月时,植物总含水量除 1200mg 处理组显著低于对照组外,其他各组与对照组相比差异不大;各处理组自由水含量都显著低于对照组;束缚水含量都高于对照组;各处理组束缚水与自由水比值也都高于对照组。这说明,在油处理初期,植物对油很敏感,植物通过降低自由水含量、增大束缚水含量来增强其抗性。

150、300mg 和 600mg 剂量处理组在石油处理 6 个月时已开始适应油逆境,而 1200mg 剂量石油处理对植物水分含量仍有较大影响。处理 9 个月时,600mg 各石油处理组总含水量及自由水含量有随着石油处理剂量增大而有上升的趋势,且 600mg 处理组总含水量和自由水含量显著高于对照组;而 1200mg 处理组总含水量和自由水含量仍显著或极显著低于对照组;而束缚水以及束缚水和自由水之比仍显著或极显著高于对照组。处理 1a 后,1200mg 处理组的自由水含量仍显著低于对照组,束缚水与自由水之比仍高于对照组。其它各组与对照组皆无显著差异。

2.5 对叶片电导率的影响

本文测得叶片相对电导率结果见图 4。图 4 表明,处理 3 个月时,各石油处理组的叶片相对电导率都极显著高于对照组。6 个月时,仅 600mg 和 1200mg 处理组高于对照组,说明 150mg 和 300mg 处理组已适应油逆境。但 9 个月时,除 150mg 处理组外,其它各组又显著或极显著高于对照组,这可能是高温和油逆境双重胁迫的结果。12 个月时,仅 1200mg 处理组极显著高于对照组。以上说明随着试验时间延长,白骨壤对 600mg 及其以下剂量

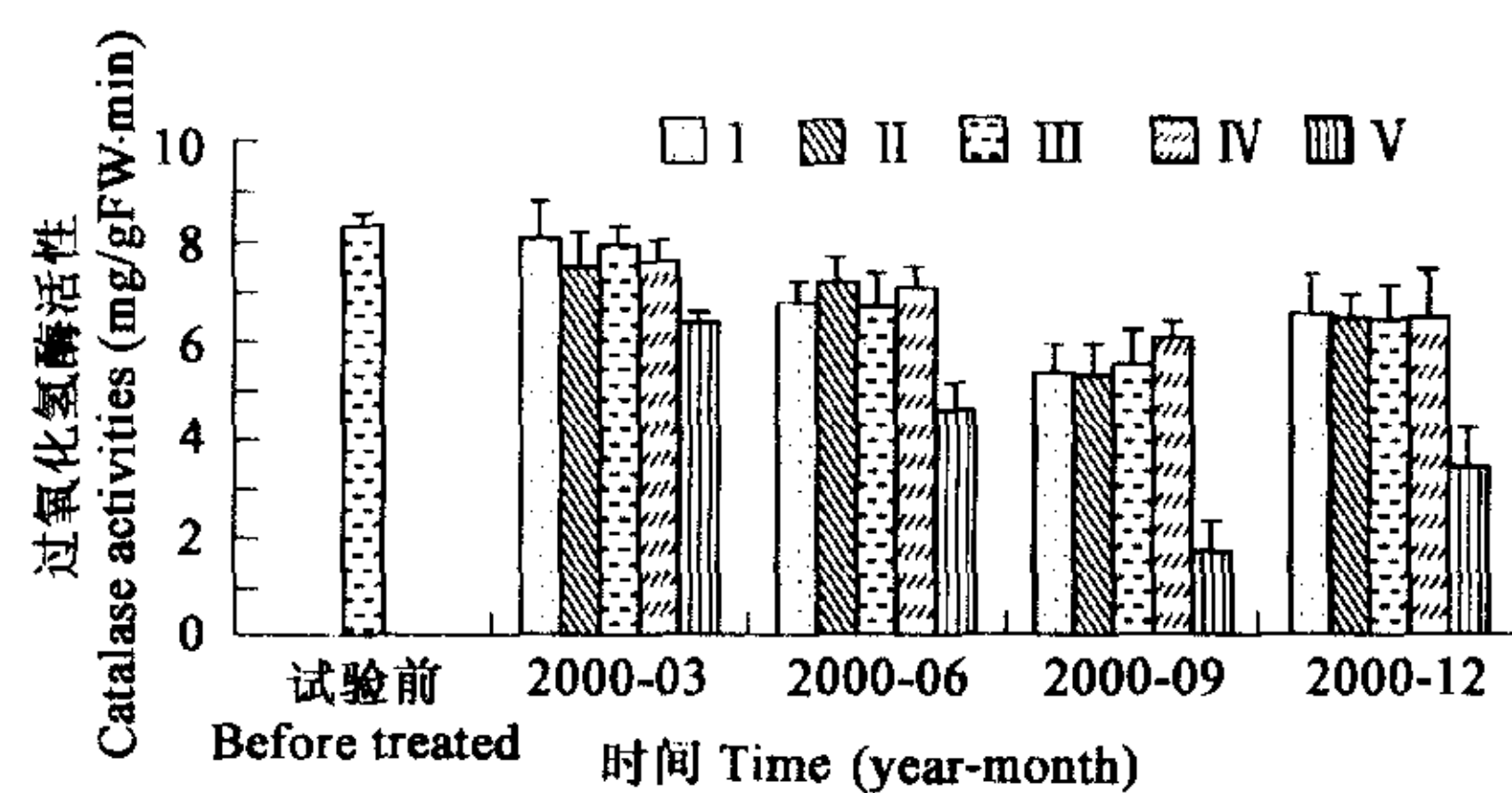


图 2 白骨壤叶片过氧化氢酶活性($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{min}^{-1}$)

Fig. 2 Catalase activities of *Avicennia marina* leaves

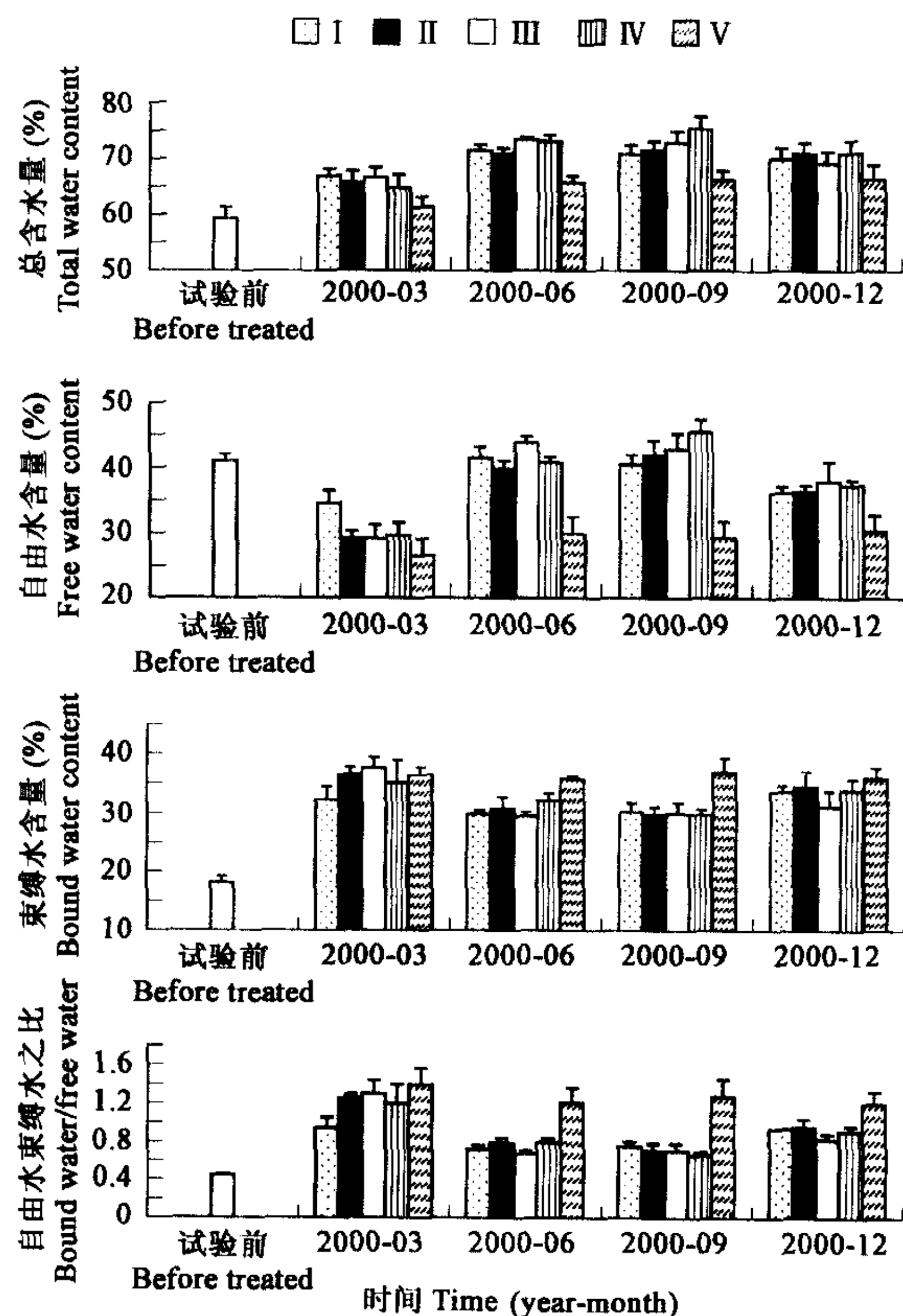


图 3 白骨壤叶片含水量

Fig. 3 Water content of *Avicennia marina* leaves

石油处理逐渐适应,只有 1200mg 剂量石油处理对白骨壤的细胞膜伤害一直较大。

2.6 对根系活力的影响

白骨壤石油处理前后根系活力的测定结果见表 2:

从表 2 可见处理 1a 后,除最大剂量组 1200mg 处理组极显著低于对照组外,其它皆无显著性差异。这说明这些剂量的伊朗轻质原油处理未对白骨壤根系活力造成影响。

2.7 对白骨壤存活率的影响

油处理对白骨壤存活率影响见图 5。由图 5 可见 1200mg 剂量石油处理组植株死亡率明显高于对照组和其它各组,处理到 58 周时 1200mg 组死亡率接近 30%,说明 1200mg 剂量还未达到半致死剂量。150mg 处理组死亡率比对照组稍高,但死亡时间多在 1a 中最冷时,原因待查。而其它石油处理组死亡率与对照组无明显差别。

表 2 白骨壤的根系活力(μg α 萘胺/(g DW · h))
Table 2 Vigors of root system of *Avicennia marina*

石油处理前 Before oil treated	试验 1a 后 After a year trial				
	I CL	II 150mg	III 300mg	IV 600mg	V 1200mg
8.50±1.91	11.25±1.36	10.43±2.04	12.95±2.18	14.46±3.39	5.59±0.68**

Means±SD(n=3), ** p<0.01

2.8 对白骨壤生长指标的影响

油处理对白骨壤生长指标影响见表 3。从表 3 可知,150mg、300mg、600mg 剂量处理组茎高、茎径、生物量高于对照组,1200mg 剂量处理组显著低于对照组。这说明适当剂量的石油处理可刺激白骨壤的生长,而高剂量(1200mg)的石油处理则抑制白骨壤的生长。Barker 认为石油中的环烷酸具有促进光合作用和增加蛋白质氮的作用,从而促进植物生长^[6]。

2.9 对白骨壤果实萌发幼苗的影响

表 4 为各组植株果实成熟后自然掉落试验盆湿地中的萌发苗数目和茎高数据(2000 年 12 月 13 日测)。

由表 4 可知,150mg 剂量石油处理未对白骨壤的果实萌发和幼苗生长造成显著影响,300mg、600mg 剂量石油处理对白骨壤的果实萌发和幼苗生长有促进作用,而 1200mg 剂量石油处理对白骨壤的果实萌发和幼苗生长有显著的抑制作用。

表 3 油污处理 12 个月后各试验组个体生物量、茎高以及茎径的月均增量
Table 3 Monthly increment of total Biomass, Stem height and Stem diameter treated for one year

油污处理 Oil treatment	生物量(g) Biomass increment	(%)	茎高(cm) Stem height increment	(%)	茎径(mm) Stem diameter increment	(%)
I	0.209±0.116	100	0.589±0.143	100	0.019±0.008	100
II	0.212±0.132	101	0.733±0.260*	124	0.017±0.006	89.5
III	0.320±0.185*	153	0.848±0.365*	144	0.020±0.007	105
IV	0.323±0.174*	155	0.875±0.361*	149	0.022±0.008	116
V	0.124±0.098*	59.3	0.388±0.184	65.9	0.011±0.005**	57.9

Mean±SD(n=45), * p<0.05, ** p<0.01

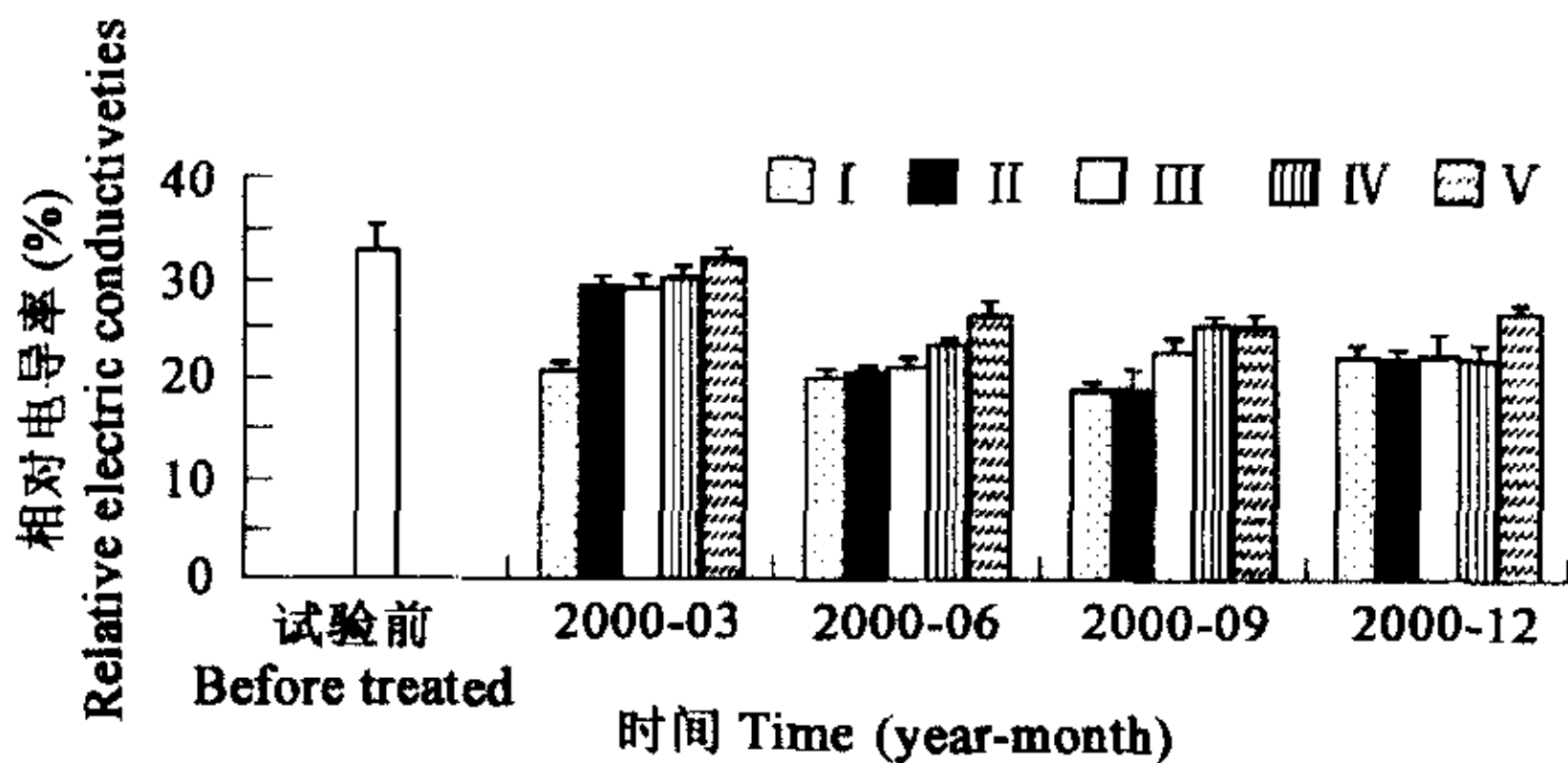


图 4 叶片相对电导率(%)

Fig. 4 Relative electric conductivities of leaves

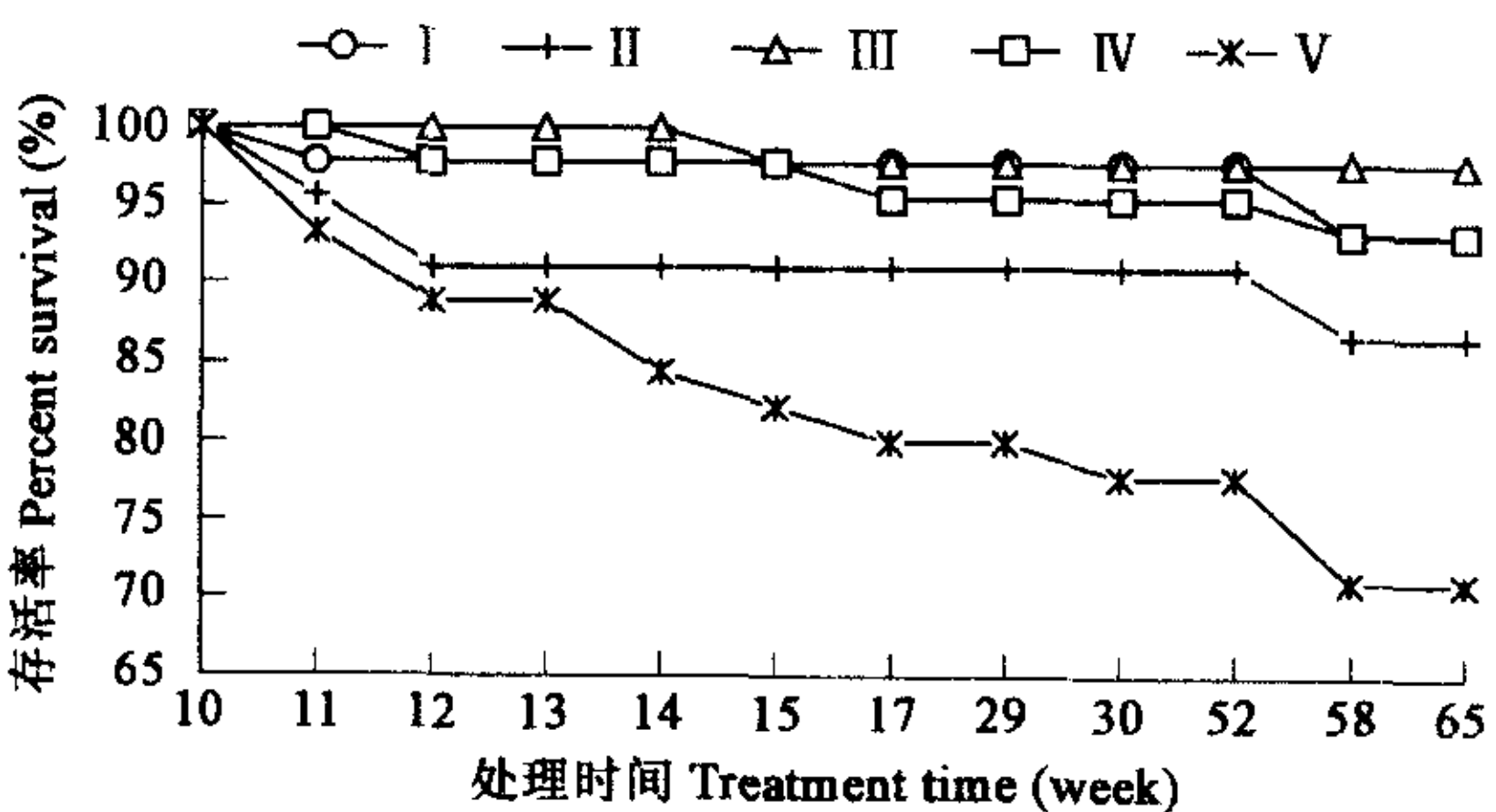


图 5 各试验组白骨壤的存活率(%)

Fig. 5 Percent survival of *Avicennia marina*

3 讨论

不同的油污染对红树植物茎的生长产生的影响不同,Proffitt 的研究发现油污染会对红树植物茎生长产生不利影响^[7],Getter 曾指出低浓度的油能刺激亮叶白骨壤(*Avicennia germinans*)和大红树生长^[8]。本研究结果和 Getter 的研究较一致,低中浓度的石油(150mg、300mg、600mg 处理组)处理对白骨壤有激发效应,可刺激叶绿素的合成,从而使白骨壤生长加速;而

1200mg 剂量处理前期对叶绿素造成较大破坏,后期白骨壤逐渐适应油污环境,叶绿素含量逐渐恢复。这与试验期间观察到的现象相一致,150mg 及 300mg、600mg 处理组比对照组枝叶繁茂、叶色深绿,而 1200mg 处理组叶色较淡。

表 4 各组白骨壤果实萌发幼苗情况比较
Table 4 Comparison of *Avicennia marina* young tree of each treatment

项目 Item	I CL	Ⅱ 150mg	Ⅲ 300mg	Ⅳ 600mg	V 1200mg
幼苗数量 Number of young tree	71	57	67	92	28
(%)	100	80.3	94.4	130	39.4
平均茎高 Stem height(cm)(%)	11.39±5.79	10.61±7.03	14.90±7.11 [*]	12.92±6.93	7.98±4.87 ^{**}
(%)	100	93.2	131	113	69.3

* * $p<0.01$

过氧化氢酶普遍存在于植物组织中,它可保护植物体免受过氧化氢积聚危害,其活性的高低亦可反映植物抗性的强弱,酶活性降低是植物对逆境的一种适应性表现^[9]。试验 1a 中,1200mg 处理组的过氧化氢酶活性一直显著或极显著低于对照组,这可能是由于植株因分解有毒物质而消耗了更多的酶,是过氧化氢酶活性下降的原因,而其它各组与对照组相比在 1a 中皆无显著差异。

生长在逆境中的植物,体内常积累游离的脯氨酸,而游离脯氨酸积累的量又往往和逆境强度和植物对逆境的抵抗力有关^[4]。植物体内脯氨酸含量可作为鉴定植物相对抗性的指标^[10]。Malallah 认为土壤中碳氢化合物的含量影响脯氨酸在植物体内的积累^[11]。所以本文测得中低剂量处理组经过一段对油逆境的适应,游离脯氨酸逐渐恢复到对照水平;而大剂量石油处理对白骨壤游离脯氨酸含量影响较大,始终高于对照组,是因为大剂量的石油污染导致大量游离脯氨酸积累的结果。

细胞内电解质外渗,膜结构破坏的程度与油处理的浓度、持续的时间有关,与植物的种类也有关^[12]。王焕校认为细胞外渗液的电导率与污染物质含量呈正相关^[13],S A 格拉特的研究认为陆源植物包括盐碱滩植被要比海藻更容易受到石油伤害,因为石油能迅速渗入植物组织中^[14]。植物叶片外渗液电导率的变化,在一定程度上反映了植物叶片受害后的生理变化,与植物的伤害程度和抗性强弱有密切关系^[15]。本试验结果显示大剂量石油处理对白骨壤细胞膜伤害较大。

综观白骨壤的生理生态指标,植物叶片含水量的指标最有代表性意义,可作为评价石油污染的主要指标。

模拟湿地环境与白骨壤自然生境相类似,能较好的定量反映出石油污染对白骨壤生理生态的影响,但模拟生境与白骨壤自然生境还有较大的差别,特别是本试验未能模拟潮汐环境,所以今后还要进一步加强在自然生境下石油对白骨壤影响的研究。

4 结论

(1)150 mg 剂量石油处理对白骨壤的根系活力、叶片含水量、叶片 过氧化氢酶活性、叶片游离脯氨酸、叶片叶绿素含量等生理生态指标影响较小。而 300 mg、600mg 剂量处理组处理初期对叶片相对电导率、叶片游离脯氨酸含量有一定影响,但处理一段时间后逐渐恢复至与对照组相近的水平;叶片的叶绿素含量高于对照组;根系活力、叶片含水量、叶片过氧化氢酶活性等指标与对照组差异不大。1200 mg 剂量处理组植株的上述生理生态指标均受到了显著或极显著不利影响。

(2)150 mg 剂量处理组白骨壤的茎高、茎径、生物量年均增长量与对照组比差异不大。300mg 和 600mg 剂量处理组的茎高、茎径、生物量年均增长量高于对照组。1200 mg 剂量处理组的茎高、茎径、生物量年均增长量显著低于对照组。这说明 150 mg 剂量的伊朗轻质原油对白骨壤的营养生长造成正效应不够突出;300mg 和 600mg 剂量的伊朗轻质原油处理刺激白骨壤营养生长的正效应明显;而 1200mg 剂量的伊朗轻质原油处理则抑制白骨壤营养生长,产生了负效应。

(3)150 mg 剂量的伊朗轻质原油处理未对白骨壤的生殖生长造成影响。300mg 和 600mg 剂量的伊朗轻质原油处理可以刺激白骨壤的生殖生长。而 1200mg 剂量的伊朗轻质原油处理则抑制白骨壤的生殖生长。

(4)白骨壤对石油污染有较强的耐受性和适应性,但大剂量处理能引起植株死亡。与李玫等^[1]的试验相对照,从各项生理生态指标来看,白骨壤对石油的耐受性比秋茄高。

References:

[1] Li M, Chen G Z. Effect of oil wastewater treatment on some eco-physiological indexes of *Kandelia candel* seedlings. *Acta Ecologica Sinica*, 2000, **20**(3):528~532.

[2] Zhang Z L. *Plant physiology experiment direct* (The second edition). Beijing: Higher Education Press, 1990. 11~91.

[3] Huang X L, Chen R Z. *Seeds physiology experiment notebook*. Beijing. Agriculture Press, 1990. 122~124.

[4] Zhu G L, Deng X W, Zuo W N. Mensuration of free proline contents in plant. *Plant Physiology News Report*, 1983, (1)35~37.

[5] Zhu G L, Zhang H W, Zhang A Q. *Plant physiology experiment*. Beijing: Peking University Press, 1990. 251~254.

[6] Baker J M. The effect of oils on plants. *Environmentpollution*, 1970, **1**:27~44.

- [7] Proffitt C E, *et al.* Effects of oil on mangrove seedlings grown under different environmental conditions. *Marine Pollution Bulletin*, 1995, **30**(12):788~795.
- [8] Getter C D, Scott G I & Michel J. The effects of oil spills on mangrove forests; a comparison of five oil spill sites in the Gulf of Mexico and the Caribbean Sea. In: *Proceedings of the 1981 Oil Spill Conference*. Amer. Petrol. Inst., Washington DC, USA, 1981.
- [9] Liu Z Q, Zhang S C. *Plant resistance physiology*. Beijing: China Agriculture Press, 1994. 245.
- [10] Tang Z C. Free proline accumulate of plants at adversity condition and probable significance. *Plant Physiology News Report*, 1984, (1): 15~21.
- [11] Malallah G, *et al.* Vicia faba as a bioindicator of oil pollution. *Environmental Pollution*, 1996, **92**(2): 213~217.
- [12] Diwan A P & Arora D K. Recent advances in environmental ecology. *Annual Publications Pvt. Ltd.*, 1995, **5**:241~252.
- [13] Wang H X. *Pollute ecology*. Second editions. Beijing: Higher Education Press, 2002.
- [14] Great S A. *Ocean pollute distinguish and administer*. Ocean Press, 1988. 132.
- [15] Pang S Q. *Plant adversity physiology foundation*. Haerbin: Northeast Forestry University Press, 1990. 103.

参考文献:

- [1] 李玫, 陈桂珠. 含油废水对秋茄幼苗的几个生理生态指标的影响, *生态学报*, 2000, **20**(3):528~532.
- [2] 张志良主编, *植物生理学实验指导*. 第2版. 北京: 高等教育出版社, 1990. 11~91.
- [3] 黄学林, 陈润政. *种子生理学实验手册*. 北京: 农业出版社, 1990. 122~124.
- [4] 朱广廉, 邓兴旺, 左卫能. 植物体内游离脯氨酸的测定. *植物生理学通讯*, 1983, (1):35~37.
- [5] 朱广廉, 钟海文, 张爱琴. *植物生理学实验*. 北京: 北京大学出版社, 1990. 251~254.
- [9] 刘祖祺, 张石诚. *植物抗性生理学*. 北京: 中国农业出版社, 1994. 245.
- [10] 汤章诚. 逆境条件下植物脯氨酸的累积及其可能的意义. *植物生理学通讯*, 1984, (1):15~21.
- [13] 王焕校主编. *污染生态学*. 第2版. 北京: 高等教育出版社, 2002.
- [14] 格拉特 S A. *海洋污染鉴别与治理*. 北京: 海洋出版社, 1988. 132.
- [15] 庞士铨. *植物逆境生理学基础*. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 1990. 103.