

秋茄 (*Kandelia candel*) 幼苗对菲和 荧蒽污染的生理生态效应

洪有为, 袁东星*

(厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室, 福建 厦门 361005)

摘要:通过盆栽实验, 研究了 5 种不同浓度的菲($1, 5, 10, 50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和荧蒽($2, 20, 40, 80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 对红树植物秋茄幼苗的生长量、叶片的叶绿素含量、光合作用和根系活力等生理生态指标的影响。结果表明: (1) 随着 PAHs 浓度增加和处理时间延长, 秋茄根受毒害越严重, 表现为肿大、变黑、腐烂。(2) 根系活力随着处理浓度的增加而增强, 随着处理时间的延长呈先增加后降低的趋势。(3) PAHs 浓度和处理时间对植株含水量和根冠比几乎无影响, 却明显降低了红树幼苗的根、茎、叶重, 因而总生长量较对照低, 干物质积累量减少。(4) 增加 PAHs 浓度和处理时间使叶气孔阻力增加, 细胞间隙 CO_2 浓度减少, 叶绿素 a、b 的含量减少, 从而降低了红树幼苗的净光合速率和蒸腾速率。如菲各浓度处理的第 6 周, 幼苗叶片净光合速率与第 3、9 周的状况存在着显著性差异; 而荧蒽各浓度处理的第 6 周, 幼苗叶片净光合速率与第 3 周的状况不存在着显著性差异, 到了第 9 周才对幼苗叶片净光合速率有明显影响。(5) 菲浓度处理对秋茄幼苗生长及光合作用的影响大于荧蒽, 说明荧蒽是一类更加稳定的化合物。总体来看, 秋茄幼苗对不同类型 PAHs 有不同的耐受性。

关键词: 红树植物; 多环芳烃; 光合作用; 生理生态

文章编号: 1000-0933(2009)01-0445-11 中图分类号: Q142, Q945.78, X171 文献标识码: A

Eco-physiological responses of *Kandelia candel* seedlings to phenanthrene (PHE) and fluoranthene (FLA) treatment

HONG You-Wei, YUAN Dong-Xing*

State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(1): 0445 ~ 0455.

Abstract: The mangrove ecosystem, an important intertidal estuarine wetland along the coastlines of tropical and subtropical regions, is exposed to anthropogenic contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from oil spills, ship traffic, urban runoff, wastewater and industrial discharge, as well as atmospheric deposition of vehicle exhaust and industrial stack emission. However, the eco-physiological toxicity of PAHs contaminated sediment to mangrove is a nearly untouched area of research. This study was conducted to determine the effect of PAHs contaminated sandy soil on mangrove specie *Kandelia candel*. *K. candel* seedlings were cultured with phenanthrene (PHE) or fluoranthene (FLA) contaminated sandy soil for determining the eco-physiological responses of *K. candel*. The influence of increasing concentrations of PHE ($0, 1, 5, 10, 50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and FLA ($0, 2, 20, 40, 80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) on total biomass, chlorophyll content, photosynthesis and root activity were investigated. Results were as follows: (1) After 9 weeks of exposure to PAHs, the roots of *K. candel* appeared swelling, and then turned black and rotten. The toxicity to the root at high concentration of PAHs was higher than at low concentration of PAHs. The percentage of rotten roots of contaminated seedlings was higher than the control, which indicated that PAHs inhibited the root growth of *K. candel*. (2) With increasing concentrations of PAHs, the root activity of *K. candel* seedlings increased at first and then decreased with the

基金项目: 福建省自然科学基金重点资助项目(D002-0002)

收稿日期: 2008-03-25; 修订日期: 2008-10-21

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yuandx@xmu.edu.cn

prolonging of culture time. (3) With the prolonging of culture time, water content and the root to shoot ratio of *K. candel* seedling showed no significant difference from the control group at various concentrations of PHE and FLA. However, the root biomass and above-ground biomass of *K. candel* seedlings decreased significantly in comparison to the control, with an increase of PAHs concentration in the sandy soil. (4) The chlorophyll a, b contents in the leaves of *K. candel* decreased moderately with increase of PAHs concentration in the sandy soil. Moreover, decrease in stomatal conductance reduced the input of CO₂, which may be one of the reasons for decreasing net photosynthetic rate of *K. candel* seedlings leaves. With the treatments of PHE at 6 weeks, the net photosynthetic rate of *K. candel* seedling leaves showed significant difference from 3 weeks' treatment but not the treatments of FLA. There are significant differences between 9 weeks' treatment and 3 weeks' treatment for both PHE and FLA. With increasing concentrations of PHE and FLA, decrease in the transpiration rate of *K. candel* seedling was observed. (5) The study clearly demonstrated that the growth and physiological function of mangrove species *K. candel* was adversely impacted by PAHs contaminated sandy soil. The effects of PHE and FLA on the growth of *K. candel* seedling were similar. However, the toxic effect of PHE on *K. candel* was more serious than that of FLA. The tolerance of *K. candel* to PHE and FLA depended on different physical and chemical properties of the PAHs.

Key Words: mangrove; PAHs; photosynthesis; eco-physiology

多环芳香烃(PAHs)是一类长久存在于环境中,具有强致毒性、致突变与致癌等特性的环境污染物,由于其低水溶解性、高稳定性和半挥发性,可通过大气和洋流进行远程迁移。PAHs严重威胁着生态系统功能、食物链安全和人类健康^[1]。PAHs作为石油烃的主要组分,对海洋生态环境产生的持久性危害尤为突出^[2]。菲(phenanthrene,PHE)和荧蒽(fluoranthene,FLA)分别是16种优控PAHs中3环和4环芳烃的代表性化合物,在红树林区水域和表层沉积物中含量较高^[3,4]。

红树林是生长于热带、亚热带陆海交汇的海湾河口潮间带的盐生木本植物群落,由于红树林湿地的高生产力、富含有机碳和腐殖质以及强的还原环境条件等特性,使得红树林生态系统成为PAHs迁移和贮存的重要场所,红树林污染生态也倍受关注^[5~9],但有关PAHs对红树植物的毒性效应研究少见报道。PAHs对植物的毒性,主要取决于植物种类、PAHs的理化性质和环境条件。本文通过盆栽实验研究了PAHs污染物菲和荧蒽对红树植物秋茄(*Kandelia candel*)的毒性效应,同时研究了在PAHs污染条件下秋茄的净光合速率、蒸腾速率、气孔导度和根系活力等生理生态特性,研究结果为探讨秋茄在PAHs污染的红树林湿地中的生长发育规律及耐受性提供科学依据和实践依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

供试植物秋茄幼苗采自福建九龙江口红树林自然保护区,秋茄为1年生幼苗,株高40cm,无分枝,有叶片3对;菲和荧蒽购自美国Fluka公司;丙酮(分析纯)购自上海凌峰化学试剂有限公司。

1.2 实验设计

试验设置对照组和5个不同浓度处理组,每个处理5盆幼苗,3个平行。荧蒽处理浓度分别为2、20、40、80 mg·kg⁻¹和100 mg·kg⁻¹,菲处理浓度分别为1、5、10、50 mg·kg⁻¹和100 mg·kg⁻¹,对照组不加PAHs。先将供实验用的砂土洗净灭菌,再将配制好的1000 mg·kg⁻¹荧蒽的丙酮溶液加入到砂土中,充分搅拌均匀,放置7d,为母体污染砂土;再将母体污染砂土按稀释比例500、50、25、12.5和10分别加入到预先称好的干净砂土中,充分搅拌,使荧蒽浓度达到上述5个试验处理浓度的要求。菲污染砂土的配制方法与荧蒽相同。向每个盆中加入自来水,使水面高过土样3 cm,期间每天搅动1次,平衡7 d后备用。同时采集砂土,冷冻干燥,研磨过60目筛,测定砂土中实际的PAHs浓度。在夏季,温室里进行盆栽试验,每盆两个营养杯,每杯干土重2.5 kg,种植4株红树幼苗;往盆里加入2.5 L Hoagland's营养液进行培养,每7 d更换1次营养液,每天补充散失的水分,在污染砂土处理后第3、6、9周分别采样测定。

1.3 指标测定方法

1.3.1 根系活力测定

采用 TTC 法^[10]测定,计算公式如下:

$$\text{TTC 还原强度} = \frac{\text{TTC 还原量}(\mu\text{g})}{\text{根重}(\text{g}) \times \text{时间}(\text{h})} \quad (1)$$

1.3.2 净光合速率和蒸腾速率的测定:

培养条件下秋茄幼苗光合特性参数,采用 LI-6400 (LI-COR 公司,美国)便携式光合作用测定仪进行测定。参数包括:净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)、细胞间隙 CO_2 浓度(C_i)等。测定过程中光强约为 $1550 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 大气温度(31 ± 1)℃, 大气 CO_2 浓度为 $(385 \pm 10) \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。根据现场实测的环境参数,光合作用测定仪的设置为:光照强度(Quantum flux)为 $1600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 叶室温度为 32°C , 流量为 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$, CO_2 浓度 $400 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$;选择完全展开的倒二对叶进行测定,测定叶面积为 6cm^2 ,各浓度 5 ~ 10 个重复。

1.3.3 叶绿素含量的^[11]测定:

取 0.04 g 叶片,3 个重复,分别加入 10ml 丙酮乙醇水(4.5:4.5:1)混合液置于 40°C 黑暗处浸提 12 h ,使叶组织变白后分别于 645 nm 和 663 nm 下在 722 分光光度计上测定吸光值,然后根据下列公式计算叶绿素含量:

$$\text{叶绿素 a} (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}) = (12.71A_{663} - 2.59A_{645}) V / 1000 W \quad (2)$$

$$\text{叶绿素 b} (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}) = (22.88A_{645} - 4.67A_{663}) V / 1000 W \quad (3)$$

式中, A_{663} 和 A_{645} 分别为叶绿素提取液在 663 nm 和 645 nm 处的吸光值; V 为提取液体积(ml); W 为叶片重(g)。

1.3.4 植株含水量及生长量测定

植株鲜样用蒸馏水洗净吸干后,称得鲜重, 110°C 杀青 20 min , 70°C 烘至恒重,称量得干重,计算植株含水量:

$$\text{植株含水量}(\%) = \frac{\text{鲜重} - \text{干重}}{\text{鲜重}} \times 100 \quad (4)$$

1.3.5 砂土中 PAHs 含量的 GC/MS 法^[4]测定

采集砂土,冷冻干燥,研磨过 60 目筛。用丙酮与正己烷体积分数为 1:1 的混合溶液进行微波萃取,萃取液经硅胶-氧化铝柱净化,最后浓缩、氮吹定容,GC / MS(Agilent 6890-5975B)分析测定。

1.3.6 统计分析

所得数据为平均数 ± 标准差(Mean ± SD),采用 SPSS13.0 进行方差分析,用 LSD 和 S-N-K 法进行污染时间和浓度处理的显著性检验($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 砂土中 PAHs 浓度的变化

测定污染砂土中 PAHs 的实际初始浓度及随时间变化浓度,结果列于表 1。从表 1 可以看出,实测 PAHs 浓度比理论值略低,在对照处理中未检出目标污染物;随着处理时间的延长,砂土中 PAHs 浓度逐渐降低。

2.2 PAHs 污染对红树幼苗根系活力及根形态的影响

如图 1 所示,在菲处理的第 3、6 周,根系活力随着菲浓度处理的增加而增强,特别是在第 6 周, 10 、 50 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理的根系活力有明显增大,比对照组分别增加了 116.8% 、 231.6% 和 244.3% ,这说明前 6 周对秋茄根系活力有一定的促进作用。处理 9 周后根系活力开始下降, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理比对照组分别下降了 32.7% 和 54.8% ;菲浓度越大,根部的腐烂现象越明显。第 13 周,根系受害更为严重,各处理的根系活力均降到较低水平,这是因为随着菲处理时间的延长,根细胞受到伤害增加而造成根系活力的下降。荧蒽处理的第 3 周,根系活力与对照相比无明显的变化;随着处理时间的延长,第 6 周的根系活力有明显的增大,

但不同处理之间差异不显著。第9周根系活力开始下降,第13周40、80、100 mg·kg⁻¹处理的根系活力比对照组分别下降了74.5%、82.3%和85.8%。与菲处理相似,随着荧蒽浓度的增加,幼苗根部的腐烂更加明显。

表1 砂土中PAHs的初始浓度及其随时间的变化趋势

Table 1 The initial concentrations and the changing trend of PAHs in the treated soils

污染物 PAHs	周 At weeks	各浓度处理(mg·kg ⁻¹)				
		Treatments with different concentrations				
菲 PHE	理论值	对照 CK	1	5	10	50
	实测值	0	0.93 ± 0.06	4.16 ± 0.73	9.62 ± 1.19	49.33 ± 3.54
	第3周	0	0.50 ± 0.06	2.45 ± 0.44	4.47 ± 0.74	33.92 ± 3.56
	第6周	0	0.14 ± 0.03	1.48 ± 0.25	1.57 ± 0.29	25.83 ± 2.55
	第9周	0	0.12 ± 0.03	1.90 ± 0.35	1.45 ± 0.37	13.73 ± 1.58
荧蒽 FLA	理论值	对照 CK	2	20	40	80
	实测值	0	1.78 ± 0.06	19.43 ± 1.68	35.48 ± 2.22	76.77 ± 5.46
	第3周	0	1.09 ± 0.32	12.50 ± 1.25	29.02 ± 3.05	72.62 ± 6.35
	第6周	0	0.75 ± 0.11	11.11 ± 1.23	25.74 ± 2.14	71.03 ± 7.55
	第9周	0	0.63 ± 0.13	8.24 ± 0.95	25.53 ± 2.16	62.33 ± 6.55
						100

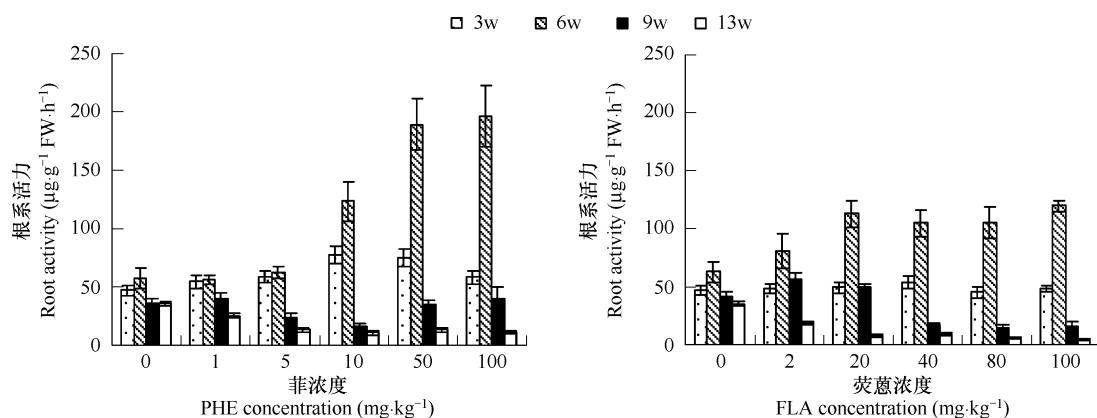


图1 菲和荧蒽处理对秋茄幼苗根系活力的影响

Fig. 1 Effects of PHE and FLA on the roots activities of *Kandelia candel* seedling

表2是菲和荧蒽处理第13周根肿大数量统计。根肿大是指红树幼苗出现直径0.5 cm以上的白色海绵质的异常增粗的根。从表2可以看出,第13周,根部都出现了肿大,并随着菲和荧蒽处理浓度的增加,根肿大的数目增多。

表2 菲和荧蒽处理13周时秋茄根肿大数量统计

Table 2 The number of swelling root of *Kandelia candel* seedling under the treatment of PHE and FLA after 13 weeks

污染物 PAHs	处理(mg·kg ⁻¹) Treatments	随机选取株数 The number of plants with random selection	根肿大数量/株 The number of swelling roots							
			No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8
PHE	对照 CK	7	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	7	1	1	1	0	0	0	0	3
	5	7	1	2	1	1	0	0	0	5
	10	8	1	2	1	2	1	0	0	7
	50	8	2	1	1	1	1	1	0	7
FLA	100	6	2	2	2	2	2	2	—	12
	2	7	1	1	0	0	0	0	—	2
	20	8	2	2	0	0	0	0	0	4
	40	8	1	2	3	1	1	0	0	8
	80	8	1	1	2	1	1	0	0	7
	100	8	1	1	2	2	1	1	0	8

2.3 PAHs 污染对秋茄幼苗叶片叶绿素含量的影响

菲对幼苗叶绿素 a、b 含量的影响如图 2。在菲处理条件下,叶绿素 a、b 含量随着处理时间的延长呈明显的下降趋势,处理第 9 周的叶绿素 a、b 含量与第 3、6 周的均存在显著性差异。对于 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 菲浓度处理,第 3 周的叶绿素 a 含量比对照组分别下降了 28.8% 和 29.8%,第 6 周的分别下降了 33.8% 和 50.5%,而到了第 9 周,比对照组分别下降了 55.7% 和 58.0%。

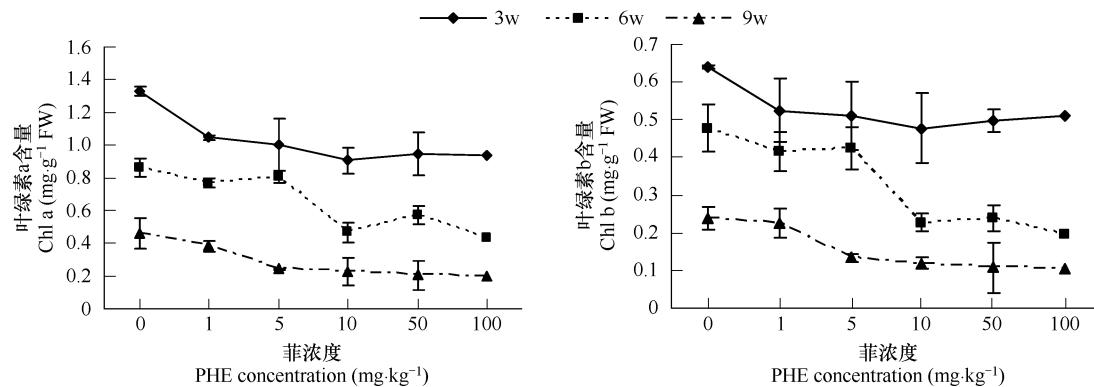


图 2 菲处理对秋茄叶片叶绿素 a、b 含量的影响

Fig. 2 Effects of PHE on the contents of Chl. a and Chl. b of *Kandelia candel* seedling

随着菲处理浓度的增加,叶绿素 a、b 含量也呈逐渐下降的趋势;1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 菲处理,叶绿素 a、b 含量与对照组比无显著性差异,而 10、50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度处理与对照组之间存在着显著性差异。第 6 周,1、10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 菲浓度处理下的叶绿素 b 含量分别为 0.41、0.22 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 0.19 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$,比对照组的 0.47 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 分别下降了 12.9%、52.4% 和 58.7%

图 3 显示了荧蒽处理对秋茄叶绿素 a、b 含量的影响。从叶绿素 a 含量来看,2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理与对照组比无显著性差异,而 40、80 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理与对照组间存在着显著性差异。对于 20、80 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 荧蒽浓度处理,第 3 周叶绿素 a 含量分别比对照组下降了 25.8%、35.5% 和 32.9%,而第 6 周的分别比对照组的下降了 37.2%、49.2% 和 76.4%。总的来说,荧蒽处理下幼苗叶绿素 a、b 含量的变化与菲处理有相似的规律性,即随着处理浓度的增加和时间的延长,叶片的叶绿素 a、b 含量呈逐渐下降的趋势。

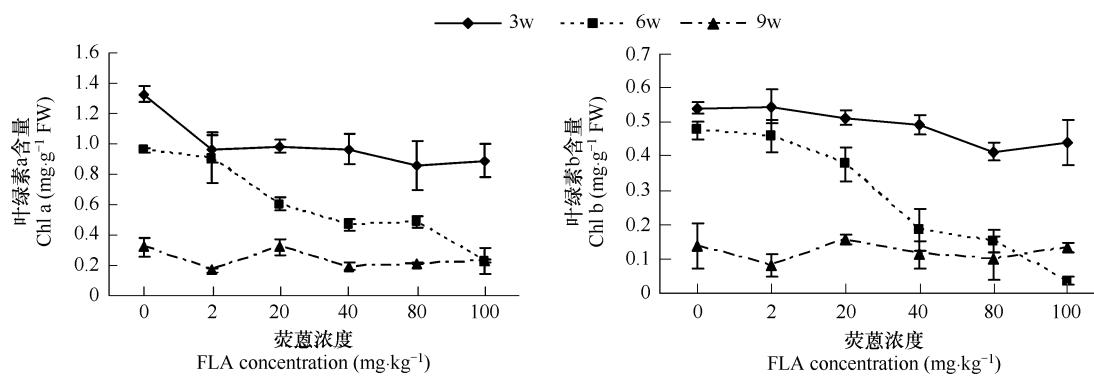


图 3 荧蒽处理对秋茄叶片叶绿素 a、b 含量的影响

Fig. 3 Effects of FLA on the contents of Chl. a and Chl. b of *Kandelia candel* seedling

2.4 PAHs 污染对秋茄幼苗净光合速率的影响

在不同菲和荧蒽浓度处理下,幼苗净光合速率与对照的百分比(即相对值,不同时间段对照的相对值均

为100%)按不同时间段进行方差分析,结果表明:菲处理第9周,幼苗净光合速率与第3、6周的存在着显著性差异;而荧蒽处理第6周,幼苗净光合速率与第3周的存在显著性差异,与第9周比无显著性差异。

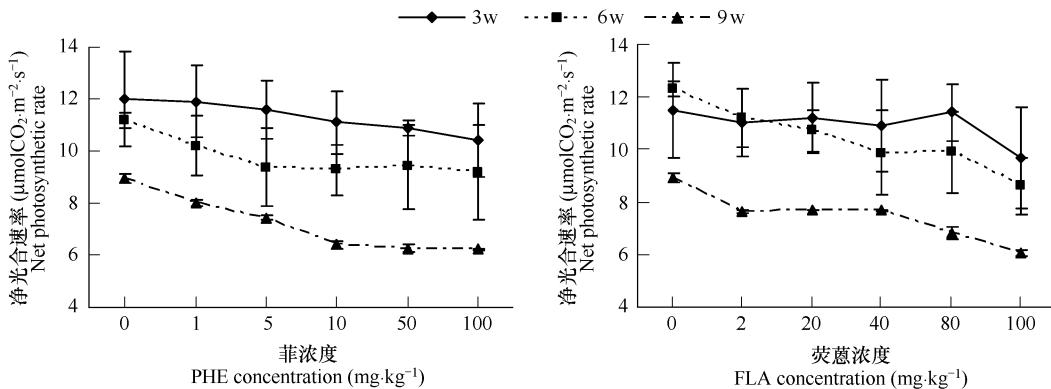


图4 菲和荧蒽处理对秋茄幼苗净光合速率的影响

Fig. 4 Effects of PHE and FLA on the net photosynthetic rate of *Kandelia candel* seedling

图4显示了菲和荧蒽处理对秋茄幼苗净光合速率的影响。在菲和荧蒽各浓度处理下,幼苗净光合速率与对照组的均存在显著性差异。在 $1, 5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 菲处理第3周,净光合效率比对照组分别下降了0.8%、3.3%和9.2%。在 $2, 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 荧蒽处理第6周,净光合效率比对照组分别下降了8.9%、13.0%和19.8%。因此,随着菲和荧蒽处理浓度的增加,幼苗净光合速率呈逐渐下降的趋势。

2.5 PAHs 污染对秋茄幼苗气孔导度的影响

图5表明幼苗气孔导度随污染物浓度的增加而明显下降,但随处理时间的延长变化不明显。在 $1, 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 菲处理第3周,气孔导度比对照分别下降了30.0%、35.0%和40.0%。而在 $2, 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 荧蒽处理第3周,气孔导度比对照分别下降了9.09%、14.55%和27.27%;第6周幼苗气孔导度与第3周的无显著性差异。经 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 菲和荧蒽处理第6周,幼苗气孔导度分别为 $0.07 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 和 $0.11 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,比对照的 $0.28 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 分别下降了73.6%和57.9%。这说明了菲对幼苗气孔导度的影响比荧蒽的大。概而言之,在菲和荧蒽处理下,幼苗气孔导度与对照组间均存在显著性差异;且在较高浓度处理下,幼苗气孔导度都明显小于低浓度处理。

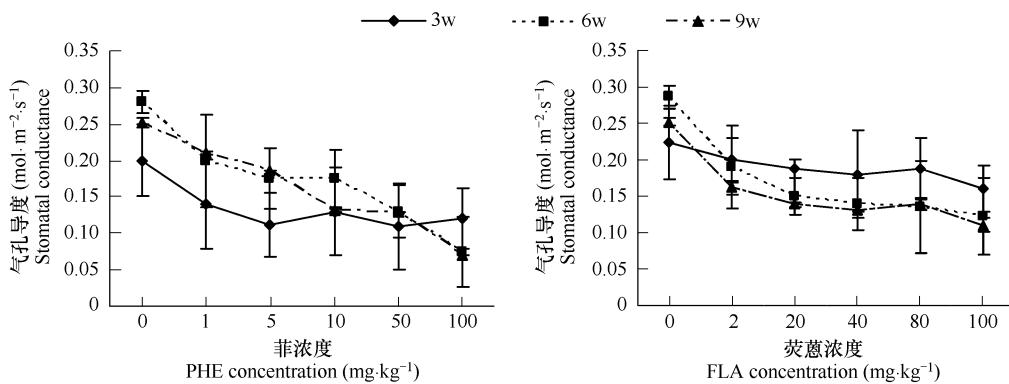


图5 菲和荧蒽处理对秋茄幼苗气孔导度的影响

Fig. 5 Effects of PHE and FLA on the stomatal conductance of *Kandelia candel* seedling

2.6 PAHs 污染对秋茄幼苗蒸腾速率的影响

如图6所示,幼苗蒸腾速率随菲和荧蒽处理时间的增加呈下降的趋势。处理第6周的蒸腾速率与第3周的存在显著性差异,而与第9周的差异不显著。 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 菲处理的第3、6和9周,蒸腾速率分别为 $2.94, 1.61 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 和 $1.26 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,比对照分别下降了35.9%、58.6%和54.2%。而 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 荧蒽

处理的第3、6和9周,蒸腾速率分别比对照下降了15.1%、43.9%和52.9%。

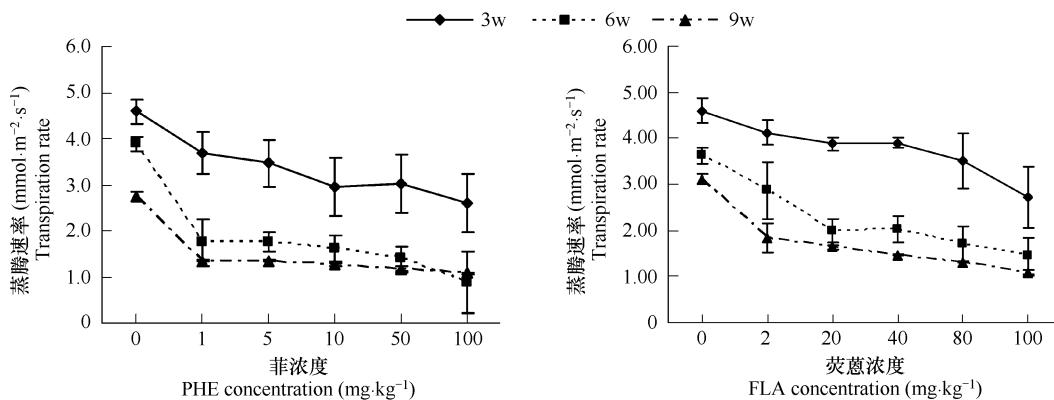


图6 菲和荧蒽处理对秋茄幼苗蒸腾速率的影响

Fig. 6 Effects of PHE and FLA on the transpiration rate of *Kandelia candel* seedling

在不同菲和荧蒽浓度处理下,叶片蒸腾速率均与对照的存在显著差异,特别是第3周,蒸腾速率随处理浓度的增加有明显的下降。例如,1、10 mg·kg⁻¹和100 mg·kg⁻¹菲浓度处理,叶片的蒸腾速率分别为3.69、2.94 mmol·m⁻²·s⁻¹和2.60 mmol·m⁻²·s⁻¹,比对照的4.59 mmol·m⁻²·s⁻¹分别下降了19.7%、35.9%和43.3%。到了第9周,叶片的蒸腾速率分别比对照的下降了50.9%、54.2%和60.7%。另外,荧蒽处理条件下叶片的蒸腾速率与菲处理有相似的规律性。

2.7 PAHs 污染对秋茄幼苗叶片细胞间隙 CO₂浓度的影响

PAHs 污染对幼苗叶片细胞间隙 CO₂浓度的影响如图7。在菲处理条件下,细胞间隙 CO₂浓度随处理时间的延长而降低,处理第9周与第3、6周的均存在显著性差异。对于5和10 mg·kg⁻¹菲浓度处理,第6周的叶片细胞间隙 CO₂浓度分别为262.0 μmol·mol⁻¹和229.0 μmol·mol⁻¹,比第3周的296.6 μmol·mol⁻¹和286.1 μmol·mol⁻¹分别下降了11.7%和19.9%,而第9周比第3周的分别下降了46.4%和50.4%。从荧蒽各浓度处理来看,第6、9周的叶片细胞间隙 CO₂浓度也与第3周的存在显著性差异。

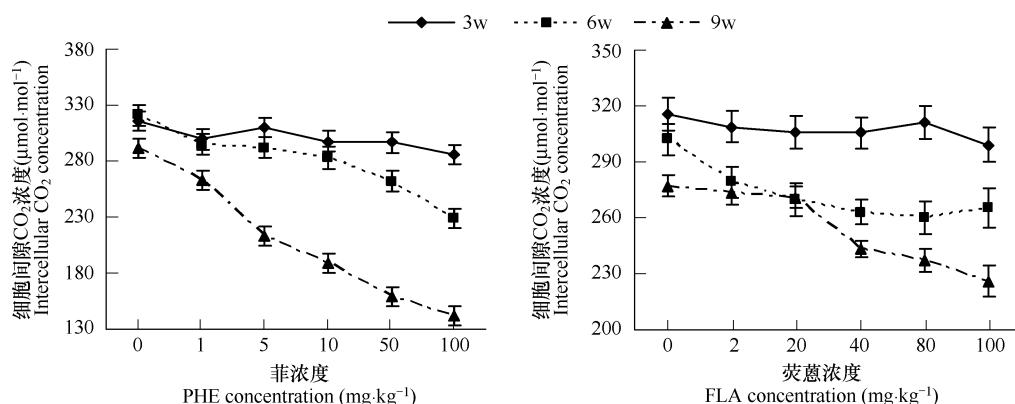


图7 菲和荧蒽处理对秋茄幼苗叶片细胞间隙 CO₂浓度的影响

Fig. 7 Effects of PHE and FLA on intercellular CO₂ concentration of *Kandelia candel* seedling

随着菲和荧蒽处理浓度的增加,叶片细胞间隙 CO₂浓度也呈下降的趋势。对于1、10 mg·kg⁻¹和100 mg·kg⁻¹菲浓度处理,第6周细胞间隙 CO₂浓度分别比对照下降了8.1%、11.8%和28.6%;而第9周分别比对照下降10.0%、35.3%和51.4%。总的来说,不同浓度菲处理下叶片细胞间隙 CO₂浓度均与对照存在显著性差异,而低浓度荧蒽处理与对照无显著性差异,只有40、80 mg·kg⁻¹和100 mg·kg⁻¹荧蒽浓度处理与对照有

显著性差异,这也说明了菲处理对秋茄幼苗叶片细胞间隙 CO_2 浓度的影响大于荧蒽处理。

2.8 PAHs 污染对秋茄幼苗生长量的影响

表3列出了秋茄幼苗根和地上部分生物量随菲处理时间和浓度的变化趋势,并由根、地上部分的鲜重和干重计算出植株含水量和根冠比。

由表3可以看出,随着菲浓度处理的升高,幼苗根系和地上部分的生长量呈现先升高后降低的趋势;低浓度处理反而刺激了植株根系和地上部分生长量的增加,高浓度处理对植株的生长造成不利的影响。如5、10、50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 菲浓度处理第9周,幼苗地上部分的生长量分别比对照减少1.09%、3.94%、10.84%和32.62%,而经1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 菲浓度处理的比对照增加了9.19%。另外,50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 菲浓度组的根系和地上部分的生长量与对照有显著性差异,而1、5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 菲浓度组的与对照无显著性差异。

表3 菲处理对秋茄幼苗单株生长量的影响

Table 3 Effect of different concentrations of PHE on the biomass of single *Kandelia candel* seedling

时间 Weeks	浓度 ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) Concentration	根生物量 Root biomass		地上部分生物量 Above-ground biomass		根冠比 Root-shoot ratio	植株含水量 (%) Water content
		鲜重(g) Fresh weight	干重(g) Dry weight	鲜重(g) Fresh weight	干重(g) Dry weight		
3	对照 CK	5.22 ± 0.16	0.64 ± 0.01	24.61 ± 0.86	5.56 ± 0.08	0.116 ± 0.02	79.2
	1	5.40 ± 0.16	0.86 ± 0.02	29.21 ± 1.02	7.98 ± 0.12	0.108 ± 0.02	74.5
	5	4.49 ± 0.13	0.68 ± 0.01	23.25 ± 0.81	5.72 ± 0.09	0.119 ± 0.02	76.9
	10	3.62 ± 0.11	0.60 ± 0.01	19.30 ± 0.61	4.60 ± 0.07	0.131 ± 0.03	77.3
	50	2.79 ± 0.08	0.46 ± 0.01	16.83 ± 0.59	3.88 ± 0.06	0.119 ± 0.02	77.9
	100	2.98 ± 0.09	0.45 ± 0.01	15.32 ± 0.57	3.72 ± 0.06	0.121 ± 0.02	77.2
6	对照 CK	5.06 ± 0.15	0.60 ± 0.01	19.78 ± 0.69	4.30 ± 0.06	0.137 ± 0.03	80.3
	1	7.02 ± 0.21	0.52 ± 0.01	22.27 ± 0.78	4.88 ± 0.07	0.106 ± 0.02	81.6
	5	7.03 ± 0.21	0.83 ± 0.02	23.10 ± 0.81	5.27 ± 0.08	0.158 ± 0.03	79.8
	10	6.78 ± 0.20	0.75 ± 0.02	21.54 ± 0.76	5.00 ± 0.08	0.151 ± 0.03	79.7
	50	6.51 ± 0.20	0.73 ± 0.02	22.65 ± 0.79	5.23 ± 0.08	0.139 ± 0.03	79.6
	100	5.47 ± 0.16	0.65 ± 0.01	20.37 ± 0.71	4.76 ± 0.07	0.137 ± 0.03	79.1
9	对照 CK	6.22 ± 0.19	0.72 ± 0.01	20.90 ± 0.73	4.59 ± 0.07	0.156 ± 0.03	80.5
	1	5.31 ± 0.16	0.71 ± 0.01	22.72 ± 0.80	5.01 ± 0.08	0.142 ± 0.03	79.6
	5	4.69 ± 0.14	0.63 ± 0.01	20.97 ± 0.73	4.53 ± 0.07	0.139 ± 0.03	79.9
	10	5.63 ± 0.17	1.01 ± 0.02	19.61 ± 0.69	4.40 ± 0.07	0.228 ± 0.05	78.6
	50	3.76 ± 0.11	0.47 ± 0.01	17.52 ± 0.61	4.09 ± 0.06	0.115 ± 0.02	78.6
	100	3.77 ± 0.11	0.50 ± 0.01	15.01 ± 0.53	3.09 ± 0.05	0.163 ± 0.03	80.9

由表4可见,幼苗根系和地上部分的生长量随荧蒽浓度处理的变化规律与菲处理的相似,呈先升后降的趋势。如40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 荧蒽浓度处理第6周,根系的生长量分别比对照减少8.82%和30.39%,而2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 荧蒽浓度处理的比对照增加6.96%。方差分析结果表明:2、20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 荧蒽浓度组的生长量与对照无显著性差异,而80 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 荧蒽浓度组的与对照存在显著性差异。

另外,无论是菲还是荧蒽处理,幼苗植株含水量和根冠比与对照无显著性差异,第6、9周的根系和地上部分的生长量与第3周的无显著性差异。

3 讨论

3.1 PAHs 污染对植物的毒性效应

菲和荧蒽分别是3环和4环的PAHs,荧蒽的水溶解度小于菲,它们的物理化学性质不同是毒性效应差异的主要原因。Henner等^[12]认为低分子量PAHs的植物性毒害强于高分子量的。宋玉芳等^[13]研究表明同样

浓度的芘对植物的毒害效应不及菲明显,毒性显然是受芘水溶解度低的限制。凌婉婷等^[14]通过水培体系研究了黑麦草对水中PAHs的吸收作用,也发现芘在黑麦草中的传导系数明显小于菲,即供试植物对芘的传导能力更弱。本研究与上述结果类似,随着培养时间的延长,菲浓度处理对秋茄幼苗生长及光合作用的影响大于荧蒽浓度处理,说明荧蒽是更加稳定的化合物,低溶解度和易与土壤中颗粒吸附的性质限制了荧蒽对植物的生理毒性作用。而菲的水溶解度相对高,使其更容易被植物根部吸收进入植物体,从而对幼苗植株的生长和光合作用产生更大的影响。

王雪峰等^[15]研究了4种不同剂量的原油处理对红树植物白骨壤(*Aricennia marina*)生理生态指标的影响,结果表明低剂量的原油处理有促进白骨壤生长的作用,高剂量的处理使植株生长受到明显抑制而且出现较多的个体死亡现象。本研究发现,随着菲和荧蒽处理浓度的增加,红树幼苗的净光合速率、蒸腾速率、气孔导度、细胞间隙CO₂浓度和叶绿素含量等生理生态指标均呈逐渐降低的趋势;低浓度的菲和荧蒽处理对根系活力、根系生长量和地上部分的生长量有一定的刺激作用,高浓度的处理对秋茄植株的生长造成不利的影响。

表4 荧蒽处理对秋茄幼苗单株生长量的影响

Table 4 Effect of different concentrations of FLA on the biomass of single *Kandelia candel* seedling

时间 Weeks	浓度 (mg·kg ⁻¹) Concentration	根生物量 Root biomass		地上部分生物量 Above-ground biomass		根冠比 Root-shoot ratio	植株含水量 (%) Water content
		鲜重(g) Fresh weight	干重(g) Dry weight	鲜重(g) Fresh weight	干重(g) Dry weight		
3	对照 CK	5.22 ± 0.16	0.64 ± 0.01	24.61 ± 0.86	5.56 ± 0.08	0.116 ± 0.02	79.2
	2	5.57 ± 0.17	0.66 ± 0.01	23.17 ± 0.81	5.60 ± 0.08	0.119 ± 0.02	78.2
	20	5.24 ± 0.16	0.74 ± 0.02	22.69 ± 0.79	5.47 ± 0.08	0.136 ± 0.03	77.7
	40	4.73 ± 0.14	0.66 ± 0.01	17.55 ± 0.61	4.16 ± 0.06	0.158 ± 0.03	78.4
	80	4.18 ± 0.13	0.61 ± 0.01	15.07 ± 0.53	3.88 ± 0.06	0.157 ± 0.03	76.7
	100	3.72 ± 0.11	0.59 ± 0.01	18.32 ± 0.64	4.39 ± 0.07	0.136 ± 0.03	77.4
6	对照 CK	5.06 ± 0.15	0.59 ± 0.01	19.78 ± 0.69	4.30 ± 0.06	0.137 ± 0.03	80.3
	2	6.48 ± 0.19	0.63 ± 0.02	20.49 ± 0.72	4.79 ± 0.07	0.165 ± 0.03	79.3
	20	5.05 ± 0.15	0.56 ± 0.01	19.07 ± 0.67	4.41 ± 0.07	0.126 ± 0.03	79.4
	40	4.62 ± 0.14	0.54 ± 0.01	19.19 ± 0.67	4.36 ± 0.07	0.123 ± 0.03	79.4
	80	4.04 ± 0.12	0.47 ± 0.01	16.93 ± 0.59	3.73 ± 0.06	0.125 ± 0.03	80.0
	100	4.54 ± 0.14	0.41 ± 0.02	17.59 ± 0.62	3.83 ± 0.06	0.212 ± 0.04	79.0
9	对照 CK	6.22 ± 0.19	0.72 ± 0.01	20.90 ± 0.73	4.58 ± 0.07	0.156 ± 0.03	80.5
	2	5.76 ± 0.11	0.50 ± 0.01	17.09 ± 0.59	3.75 ± 0.06	0.134 ± 0.03	79.6
	20	5.60 ± 0.11	0.48 ± 0.01	19.01 ± 0.67	4.08 ± 0.06	0.117 ± 0.02	79.8
	40	4.92 ± 0.15	0.61 ± 0.01	19.30 ± 0.68	4.09 ± 0.06	0.149 ± 0.03	80.6
	80	4.33 ± 0.13	0.58 ± 0.01	17.62 ± 0.62	4.18 ± 0.06	0.134 ± 0.03	78.4
	100	4.24 ± 0.15	0.58 ± 0.01	15.73 ± 0.55	3.44 ± 0.05	0.168 ± 0.03	80.6

3.2 PAHs 污染对红树幼苗根系和生长量的影响

根系是植物正常生长发育的重要器官,主要供应地上部生长所需的水分、矿物质等,从而影响地上部的生长和营养状况及产量水平。因此,根系活力大小反映了根系代谢能力强弱,直接影响植株生长和抗逆性。宋玉芳等^[13]研究表明,在菲污染胁迫下,高等植物表现出明显的根径变细、根长受抑制的特征。这很可能是由于有机污染导致土壤水分和养分传输受阻,进而造成植物生长的生理障碍。Ke等^[16]用盆栽实验研究芘处理后的秋茄(*Kandelia candel*)和木榄(*Bruguiera gymnorhiza*),与对照组相比发现,根的生物量明显低于对照组。Reilley等^[17]指出PAHs可能会使污染土壤为植株体生长发育提供的水和营养的能力下降,以致生物量下降,所以PAHs对植物的影响可能是间接的。本研究表明,随着PAHs浓度的增大和处理时间的延长,红树幼苗根系形态和根系活力的变化越明显,植株正常生长和新陈代谢的受阻越大。幼苗根系出现了肿大、变黑、腐烂的

现象,这是由于植物根系细胞受菲和荧蒽的刺激后,细胞内染色体倍增引起细胞异常增大造成的,受害越严重,形成根肿大的可能性越大。很多化学物质,如秋水仙碱或六六六等,刺激植物根部时,都可引发鸡爪状的肿瘤。

3.3 PAHs 污染对红树幼苗叶绿素含量和光合作用的影响

叶绿素(chlorophyll)是光合作用膜中的绿色色素,它是光合作用中捕获光的主要成分。叶片中叶绿素的含量必然影响植物光合作用效率,从而影响植物合成营养物质供自身生长需要的效率。因此,叶绿素含量常被用来作为植物抗性的指标,评价环境污染物对植物的影响^[18~20]。

Huang 等^[18]研究表明,当植物受逆境胁迫时,植物叶片中叶绿素的含量会降低,而叶绿素 a/b 值会升高。不过对于耐性较强的植物来说,叶绿素含量降低得比较缓慢,叶绿素 a / b 值升高得比较平稳。刘亚云等^[21]通过盆栽实验发现,在所设 PCBs 浓度范围内,秋茄幼苗叶片能保持相对正常的叶绿素水平和相对稳定的叶绿素 a / b 值,叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素 a + b 的含量虽然有所降低,但均为对照的 70% 以上;叶绿素 a / b 值有所升高,但均未超过对照的 15%。本研究发现,随着 PAHs 处理浓度的增加,叶绿素 a、b 含量呈逐渐下降的趋势;对于 1、5 mg·kg⁻¹ 菲浓度处理和 2、20 mg·kg⁻¹ 荧蒽浓度处理,叶绿素 a、b 含量与对照无显著性差异,而 10、50、100 mg·kg⁻¹ 菲浓度处理和 40、80、100 mg·kg⁻¹ 荧蒽浓度处理的叶绿素 a、b 含量与对照存在显著性差异;叶绿素 a / b 值升高得较平稳。

关于 PAHs 污染对红树植物光合作用影响的研究较少,而其他污染物如人工污水、盐、重金属、含油废水等对红树植物的影响已有相关报道^[22~26]。这些研究均发现低浓度污染物促进红树植物的生长,高浓度处理均不同程度地降低了植物光合作用的效率,抑制植物的正常生长。本研究发现,增加 PAHs 浓度和处理时间使叶气孔阻力增加,细胞间隙 CO₂ 浓度减少,叶绿素 a、b 的含量减少,从而降低了红树幼苗的净光合速率和蒸腾速率。

References:

- [1] Van der Oost R, Beyer J, Vermeulen N P E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2003, 13(2): 57—149.
- [2] Kalf D F, Crommentuijn T, Van de Plassche E J. Environmental quality objectives for 10 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1997, 36 (1): 89—97.
- [3] Tian Y, Zheng T L, Wang X H. PAHs contamination and PAHs-degrading bacteria in surface water of sea area to the west of Xiamen. *Journal of Tropical Oceanography*, 2003, 22(6): 15—21.
- [4] Zhang J, Cai L Z, Yuan D X. Distribution and sources of polynuclear aromatic hydrocarbons in mangrove surficial sediments of Deep Bay, China. *Marine Pollution Bulletin*, 2004, 49: 479—486.
- [5] Ke L, Wang W Q, Wong T W Y. Removal of pyrene from contaminated sediments by mangrove microcosms. *Chemosphere*, 2003, 51:25—34.
- [6] Ke L, Wong T W Y, Wong A H Y. Negative effects of humic acid addition on phytoremediation of pyrene-contaminated sediments by mangrove seedlings. *Chemosphere*, 2003, 52: 1581—1591.
- [7] Luan T G, Yu K S H, Zhong Y. Study of metabolites from the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by bacterial consortium enriched from mangrove sediments. *Chemosphere*, 2006, 65: 2289—2296.
- [8] Zhang F Q, Wang Y S, Lou Z P. Effect of heavy metal stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of two mangrove plant seedlings. *Chemosphere*, 2007, 67: 44—50.
- [9] Chang B V, Chang I T, Yuan S Y. Biodegradation of phenanthrene and pyrene from mangrove sediment in subtropical Taiwan. *Journal of Environmental Science And Health Part A-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 2008, 43(3): 233—238.
- [10] Chen C L. Measurement of plant root activity (TTC). In: Li H S. *Principle and technology of plant physiological and biochemical experiments*. Beijing: Higher Education Press, 2003, 119—120.
- [11] Shao X W, Zhang R Z, Tong S Y, et al. Effect of Saline-Alkali Soil from Songnen Plain on Chlorophyll Content in Rice. *Chinese Journal of Rice Science*, 2005, 19 (6): 570—572.
- [12] Henner P, Schiavon M, Druelle V, et al. Phytotoxicity of ancient gaswork soils: effect of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on plant germination. *Organic Geochemistry*, 1999, 30: 275—284.

- [13] Song Y F, Zhou Q X, Xu H X, et al. Eco-toxicological effects of phenanthrene, pyrene and 1, 2, 4-Trichlorobenzene in soils on the inhibition of root elongation of higher plants. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22 (11) : 1945 ~ 1950.
- [14] Lin W T, Gao Y Z, Li Q L. Uptake of phenanthrene and pyrene by ryegrass from water. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(10) : 3332 ~ 3338.
- [15] Wang X F, Chen G Z, Xu X L. Physi-ecological responses of *Avicennia marina* to oil treatment. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25 (5) : 1095 ~ 1100.
- [16] Ke L, Wang W Q, Wong T W Y, et al. Removal of pyrene from contaminated sediments by mangrove microcosms. *Chemosphere*, 2003, 51 : 25 ~ 34.
- [17] Reilley K A, Banks M K, Schwab A P. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *Journal of Environmental Quality*, 1996, 25 : 212 ~ 219.
- [18] Huang X D, El-Alawi Y, Penrose D M, et al. Responses of three grass species to creosote during phytoremediation. *Environmental Pollution*, 2004, 130 : 453 ~ 463.
- [19] Huang X D, McConkey B J, Babu S T, et al. Mechanisms of photoinduced toxicity of photomodified anthracene to plants: Inhibition of photosynthesis in the aquatic higher plants *Lemna gibba* (duck weed). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1997, 16 : 1707 ~ 1715.
- [20] Marwood C A, Solomon K R, Greenberg B W. Chlorophyll fluorescence as a bioindicator of effects on growth in aquatic macrophytes from mixtures of PAHs. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2001, 20 : 890 ~ 898.
- [21] Liu Y Y, Sun H B, Chen G Z, et al. Eco-physiological responses of *Kandelia candel* seedlings to polychlorinated-biphenyls (PCBs) treatment. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27 (2) : 746 ~ 754.
- [22] Chen G K, Chen G Z, Wong Y S. Effect of synthetic wastewater on *Avicennia marina* growing under simulated tidal conditions. *Marine Environmental Science*, 2003, 22 (3) : 39 ~ 43.
- [23] Long X H, Liu Z P, Jiang Y F, et al. Effects of seawater on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in *Helianthus* seedlings in different regions. *Journal of Plant Ecology*, 2006, 30(5) : 827 ~ 834.
- [24] Chen C P, Wang W Q, Lin P. Influences of salinity on the growth and some eco-physiological characteristics of mangrove species *Sonneratia apetala* seedlings. *Chinese Bulletin of Botany*, 2000, 17 (5) : 457 ~ 461.
- [25] Ke W S, Xiong Z T, Ke S S, et al. Effects of copper toxicity on photosynthesis and transpiration of three *Elsholtzia splendens* populations. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, (4) : 1368 ~ 1375.
- [26] Li M, Chen G Z. Effect of oil wastewater on some eco-physiological indexes of *Kandelia candel* seedlings. *Acta Ecologica Sinica*, 2000, 20 (3) : 528 ~ 532.

参考文献:

- [3] 田蕴, 郑天凌, 王新红, 等. 厦门西海域表层水中PAHs污染与PAHs降解菌分布的关系. *热带海洋学报*, 2003, 22(6) : 15 ~ 21.
- [10] 陈翠莲. 植物根系活力的测定 TTC 法. 李合生主编. *植物生理生化实验原理和技术*. 北京:高等教育出版社, 2003, 119 ~ 120.
- [11] 邵玺文, 张瑞珍, 童淑媛, 等. 松嫩平原盐碱土对水稻叶绿素含量的影响. *中国水稻科学*, 2005, 19 (6) : 570 ~ 572.
- [13] 宋玉芳, 周启星, 许华夏, 等. 菲、芘、1, 2, 4-三氯苯对土壤高等植物根伸长抑制的生态毒性效应. *生态学报*, 2002, 22 (11) : 1945 ~ 1950.
- [14] 凌婉婷, 高彦征, 李秋玲, 等. 植物对水中菲和芘的吸收. *生态学报*, 2006, 26(10) : 3332 ~ 3338.
- [15] 王雪峰, 陈桂珠, 许夏玲, 等. 白骨壤对石油污染的生理生态响应. *生态学报*, 2005, 25(5) : 1095 ~ 1100.
- [21] 刘亚云, 孙红斌, 陈桂珠, 等. 秋茄(*Kandelia candel*)幼苗对多氯联苯污染的生理生态响应. *生态学报*, 2007, 27 (2) : 746 ~ 754.
- [22] 陈桂葵, 陈桂珠, 黄玉山. 人工污水对白骨壤生长的影响. *海洋环境科学*, 2003, 22 (3) : 39 ~ 43.
- [23] 隆小华, 刘兆普, 蒋云芳, 等. 海水处理对不同产地菊芋幼苗光合作用及叶绿素荧光特性的影响. *植物生态学报*, 2006, 30(5) : 827 ~ 834.
- [24] 陈长平, 王文卿, 林鹏. 盐度对无瓣海桑幼苗的生长和某些生理生态特性的影响. *植物学通报*, 2000, 17(5) : 457 ~ 461.
- [25] 柯文山, 熊治廷, 柯世省, 等. 铜毒对海州香薷(*Elsholtzia splendens*)不同种群光合作用和蒸腾作用的影响. *生态学报*, 2007, (4) : 1368 ~ 1375.
- [26] 李攻, 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.