

张开秀 杨芳 姜丹 等. 2012. 水培海马齿对海水菲污染修复作用的初步研究[J]. 环境科学学报, 32(3): 618-625

Zhang K X, Yang F, Jiang D, et al. 2012. A preliminary study on phytoremediation of phenanthrene by a marine halophyte *Sesuvium portulacastrum* Linn. in hydroponic cultures [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 32(3): 618-625

## 水培海马齿对海水菲污染修复作用的初步研究

张开秀<sup>1</sup> 杨芳<sup>1</sup> 姜丹<sup>3</sup> 林施泉<sup>1</sup> 黄凌风<sup>1,2,\*</sup>

1. 厦门大学海洋学系 厦门 361005

2. 福建省海洋环境科学联合重点实验室 厦门 361005

3. 中国科学院植物研究所光合作用与环境分子生理学重点实验室 北京 100093

收稿日期:2011-05-23

修回日期:2011-06-30

录用日期:2011-07-12

**摘要:**采用水培法研究了海洋滩涂耐盐植物海马齿(*Sesuvium portulacastrum* Linn.)对海水菲污染的修复作用.结果显示,实验4 d后,不种植海马齿的对照组、种植海马齿的抑菌组和不抑菌组海水中菲浓度分别从0.988、0.942和0.957 mg·L<sup>-1</sup>降至0.553、0.185和0.070 mg·L<sup>-1</sup>,降低了44.0%、80.4%和92.7%;与对照组相比,抑菌组(T<sub>1</sub>)和不抑菌组(T<sub>2</sub>)海水中菲的去除率分别提高了36.4%和48.7%,不抑菌组又比抑菌组高12.3%.利用差减法计算的结果显示,在与自然水体接近的不抑菌条件下,菲的非生物损失、海马齿的作用和微生物的作用,三者对海水中菲浓度降低(92.7%)的贡献分别为44.0%、36.4%和12.3%.海马齿植株内菲的积累量则仅占海水中菲减少量的2.6%.研究表明,水培海马齿可明显提高菲污染海水中菲的去除率,其中植物与微生物共同发挥着重要的作用,但植物积累不是海马齿修复海水菲污染的主要机制.

**关键词:**海马齿;菲;多环芳烃;植物修复;海水

文章编号:0253-2468(2012)03-618-08

中图分类号:X703

文献标识码:A

## A preliminary study on phytoremediation of phenanthrene by a marine halophyte *Sesuvium portulacastrum* Linn. in hydroponic cultures

ZHANG Kaixiu<sup>1</sup>, YANG Fang<sup>1</sup>, JIANG Dan<sup>3</sup>, LIN Shiquan<sup>1</sup>, HUANG Lingfeng<sup>1,2,\*</sup>

1. Department of Oceanography, Xiamen University, Xiamen 361005

2. Joint Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005

3. Key Laboratory of Photosynthesis and Environmental Molecular Physiology, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093

Received 23 May 2011;

received in revised form 30 June 2011;

accepted 12 July 2011

**Abstract:** Phytoremediation of phenanthrene by marine halophyte *Sesuvium portulacastrum* Linn. was studied through a hydroponic culture approach. The results showed that, after 4 days incubation, the concentration of phenanthrene in the culture medium of the unplanted control group (CK), the planted treatment group with sterilization (T<sub>1</sub>) and without sterilization (T<sub>2</sub>) reduced from 0.988, 0.942 and 0.957 mg·L<sup>-1</sup> to 0.553, 0.185 and 0.070 mg·L<sup>-1</sup>, respectively, i. e. the reduction rate was about 44.0%, 80.4% and 92.7% for CK, T<sub>1</sub> and T<sub>2</sub> respectively. Comparing with that of CK, the increase of phenanthrene removal rate was about 36.4% and 48.7% for T<sub>1</sub> and T<sub>2</sub> respectively, corresponding to a 12.3% higher for T<sub>2</sub> than T<sub>1</sub>. By subtraction method, the contribution of phenanthrene removal caused by abiotic loss and that through the agency of plant and microbes were calculated to be 44.0%, 36.4% and 12.3%. It should be noted that the non-sterile group was similar to that of natural waters. However, in such cases, the accumulation of phenanthrene inside the plant only accounted for 2.6%. It was suggested that the hydroponic *Sesuvium portulacastrum* Linn. could significantly enhance the removal of phenanthrene in seawater, where the plant and the associated microbes might play a major role in the removal processes. Results also suggested that phytoaccumulation mechanism was not as important as expected for *Sesuvium portulacastrum* Linn. in the remediation of phenanthrene.

**Keywords:** *Sesuvium portulacastrum* Linn.; phenanthrene; polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs); phytoremediation; seawater

基金项目: 国家高技术研究发展(863)计划(No. 2007AA091704); 厦门市科技计划项目(No. 3502Z20102004)

Supported by the National High-tech R&D Program of China(No. 2007AA091704) and the Science and Technology Program of Xiamen (No. 3502Z20102004)

作者简介: 张开秀(1986—),女, E-mail: zhangkaixiu@163.com; \* 通讯作者(责任作者) E-mail: huanglf@xmu.edu.cn

Biography: ZHANG Kaixiu(1986—), female, E-mail: zhangkaixiu@163.com; \* Corresponding author E-mail: huanglf@xmu.edu.cn

## 1 引言 (Introduction)

多环芳烃 ( Polycyclic aromatic hydrocarbons , PAHs) 是一类广泛存在于环境中的持久性有机污染物 ( Persistent organic pollutants , POPs) , 具有高毒性、半挥发性、生物累积性、持久性和可迁移性, 早在 20 世纪 80 年代初美国环保局就将 16 种 PAHs 列为优先考虑的环境污染物 ( Guo *et al.* , 2005) . 菲是一种常见的 PAHs , 由 3 个苯环成一定角度联结而成. 在土壤和水环境中的检出率较高, 常被用作研究 PAHs 生物降解的模式化合物 ( Hofman *et al.* , 2008) . 目前, 海洋环境中 PAHs 的污染现状已经引起了人们的普遍关注 ( 田蕴等, 2004) , 虽然海洋沉积物相中的 PAHs 含量要高于水相中 PAHs 的含量, 但富集于沉积物表面的 PAHs 可以通过扩散、再悬浮等过程再次进入水相. PAHs 可被水生生物吸收并在体内累积, 还可以通过食物链传递进入高营养阶的动物体和人体, 严重危害水域生态安全和人体健康, 因此, 海水中 PAHs 污染不容忽视.

植物修复 ( Phytoremediation) 是指利用植物及其根际微生物的代谢活动来吸收、积累或降解转化环境中的污染物以达到净化、修复环境的目的 ( Dieta *et al.* , 2001) . 研究显示, 通过种植植物去除环境中的 PAHs 是一种行之有效的措施 ( Gao *et al.* , 2004; Cheema *et al.* , 2010) , 但其修复机制还尚未十分明确. 海马齿 ( *Sesuvium portulacastrum* Linn. ) 又名滨水菜, 为番杏科 ( Aizoaceae) 海马齿属 ( *Sesuvium* L. ) 植物, 是生长在海边沙地或盐碱地的多年生匍匐性肉质草本植物, 在我国主要分布于福建、广东、海南、台湾及澎湖列岛的海岸 ( 唐昌林, 1996) , 浮床种植海马齿可在海水环境中正常生长. 当前利用浮床种植海马齿修复富营养化海水环境的技术已研发成功, 并已证实水培海马齿不仅对海水中 N、P 有很好的去除效果, 还对悬浮颗粒物有高效的吸附与促沉降能力 ( 张志英等, 2009) , 是一种极具开发潜力的修复植物 ( 范伟等, 2010) . 同时, 对海马齿耐盐、耐旱及耐重金属的生理机制也有了初步的研究 ( Ramani *et al.* , 2006; Slama *et al.* , 2007; Ghnaya *et al.* , 2007) , 但尚未发现有利用海马齿修复海水环境中 PAHs 污染的相关研究报道. 为了进一步开发海马齿植物修复的潜力, 了解海马齿对海水环境中 PAHs 的潜在修复能力及其可能机制, 本文选取菲作为 PAHs 的代表, 研究水培条件下海马齿对海

水中 PAHs 污染的修复作用, 并初步探讨其中的若干机理, 拟为今后利用海马齿修复海水环境中 PAHs 污染提供依据.

## 2 材料与方法 ( Materials and methods)

### 2.1 材料

实验用的高纯度菲购买于 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司, 纯度为 99.0% .

实验用海马齿植株为本实验室从西沙群岛引种并在温室中通过水培方法建立的植株, 培养用水为西海域海水. 单株平均鲜重为 ( 24.0 ± 0.5 ) g , 根系发育良好. 实验前在温室内用 Hoagland 营养液培养 1 个月以上, 温度为 20 ~ 26 °C , 盐度为 27‰ , 自然光照.

### 2.2 实验方法

由于天然海水的成分复杂易变, 会影响实验结果的稳定性, 并干扰研究者对海马齿对菲真实修复能力和修复机理的准确判断, 因此, 本研究采用人工海水 ( 每 4 L 超纯水中添加 128.5 g NaCl、28.5 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 和 0.672 g NaHCO<sub>3</sub> ) 配制 Hoagland 营养液 ( 不含 EDTA - Fe) 作为水培实验中海马齿的生长基质. 前期的研究表明, 该培养基能够满足海马齿的正常生长. 在配置好的 Hoagland 培养液中加入乙腈溶解的菲 ( 菲的设定浓度为 1 mg·L<sup>-1</sup> , 控制乙腈浓度 < 1‰ ) , 混匀后得实验用培养液. 取同一批预培养的海马齿植株, 剔除枯黄叶片并清洗后称重, 选择长势均匀、每株鲜重为 ( 24.0 ± 0.5 ) g 的植株, 在无菌海水中暂养 1 周. 抑菌处理是向培养液中加入氨苄青霉素和万古霉素混合液 ( Weinberger *et al.* , 1997) , 终浓度为 100 mg·L<sup>-1</sup> ( 预实验表明该抗生素浓度能抑制水相中微生物的繁殖但不影响植物的正常生长) .

取洁净的 500 mL 容量的玻璃培养瓶若干, 分别盛取培养液 500 mL , 分为 3 个处理组: 不种植海马齿的对照组 ( CK) 、种植海马齿的抑菌组 ( T<sub>1</sub> ) 与无抑菌组 ( T<sub>2</sub> ) , 每个处理 3 个重复. CK 组用于反映实验体系中菲的非生物损失, T<sub>1</sub> 组用于反映菲的非生物损失和植物本身在菲消除中的作用, 而 T<sub>2</sub> 组用于反映菲的非生物损失和植物 - 微生物系统在菲消除中的作用. 这样, 通过差减法可以区分菲的非生物损失、植物对菲的修复作用及微生物对菲的修复作用. T<sub>1</sub> 组和 T<sub>2</sub> 组每个培养瓶中栽培 1 株海马齿, 用聚氨酯泡沫固定植株, 使根系完全浸润在培养液

中. 培养瓶用黑布遮盖, 并包裹一层铝箔, 防止菲的光降解, 另用 Parafilm 封口膜包被培养瓶的瓶口, 减少菲的直接挥发. 将所有处理组移入光照培养箱中, 在温度(25 ± 1) °C、12 h 光照(3500 lx) 和 12 h 黑暗交替条件下培养. 实验开始后于 0、1、2、3 和 4 d 取样, 测定培养液中菲的残留浓度和细菌密度, 并测定实验初始和结束时植物生物量和样品中菲的含量.

### 2.3 主要分析指标和方法

海马齿生物量的测定: 植物样品采集后, 将根、茎和叶分离, 用蒸馏水淋洗, 滤纸吸干表面水分, 将植物样品在 60 °C 下烘干至恒重, 并在干燥器中冷却至室温, 然后用天平分别称取根、茎和叶的重量, 即为植物干重生物量.

植物样品中菲的测定: 新鲜的根、茎和叶分离后, 分别粉碎混匀, 称取 0.2 g 于 25 mL 玻璃离心管中, 加入 3 mL 蒸馏水和 10 mL 环己烷混匀, 3000 r·min<sup>-1</sup> 离心 3 min, 离心后收集上清液, 再于离心管中加入 10 mL 正己烷, 重复提取一次, 合并两次提取液, 45 °C 恒温水浴下将萃取液用氮气吹干, 之后加入乙腈定容至 1 mL, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后用 HPLC 测定菲的含量.

水样中菲的测定: 准确移取 2 mL 水样于 10 mL 比色管中, 加入 2 mL 乙腈(乙腈与水样体积比为 1:1), 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后用 HPLC 测定菲的含量.

HPLC 分析条件: 色谱柱为反向 C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈/水(85%:15%), 流速为 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温为 30 °C, 进样量为 10 μL, 荧光检测器的激发波长和发射波长分别为 239 nm 和 370 nm.

细菌密度测定: 采用 DAPI 染色的荧光显微计数法(郑天凌等, 2002), 测定前将孔径为 0.22 μm 的硝酸纤维滤膜用苏丹黑 B 染液(500 mg Sudan Black B 溶于 200 mL 2% 乙酸中) 染色 4 h 以上, 使之变黑. 取 1 mL 水样加入到 2 mL 灭菌的离心管中, 加入 40 μL 25% 戊二醛溶液固定, 再加入 20 μL DAPI 染液(浓度为 20 μg·mL<sup>-1</sup>), 避光染色 5 min 后, 在小于 0.07 atm(1 atm = 1.013 × 10<sup>5</sup> Pa) 的负压下过滤, 滤干后取滤膜制片, 荧光显微计数. 按式 (1) 计算水样中的细菌密度( $D$ ).

$$D = A \times S_1 / (S_2 \times V) \quad (1)$$

式中  $D$  为细菌密度 (cell·mL<sup>-1</sup>),  $A$  为 10 个视野的细菌平均数 (cell),  $S_1$  为视野面积 (cm<sup>2</sup>),  $S_2$  为滤膜的有效过滤面积 (cm<sup>2</sup>),  $V$  为过滤水样体积 (mL).

植物富集系数 (PCF) 测定 (Li *et al.*, 2005): PCF 用来反映供试植物对环境中的菲的富集能力, PCF 越大, 富集能力越强. PCF 还可以具体指代根、茎、叶的富集系数, 计算方法如式 (2) 所示.

$$PCF = C_{\text{plant}} / C_{\text{medium}} \quad (2)$$

式中  $C_{\text{plant}}$  为植物器官的菲含量 (mg·kg<sup>-1</sup>),  $C_{\text{medium}}$  为培养液中菲的平衡浓度 (mg·L<sup>-1</sup>).

### 2.4 数据分析

测量数据取 3 次重复的平均值, 数据用 Origin 8.1 和 SPSS 16.0 软件进行分析, 处理组间差异的显著性采用 LSD 法进行检验.

采用一级反应方程拟合培养液中菲浓度的下降过程, 并计算各处理组的一级反应速率常数 ( $K$  值) 和半衰期 ( $t_{1/2}$  值),  $K$  值越大表明培养液中菲浓度降低的速率越快,  $t_{1/2}$  值越大表明菲浓度降低所用的时间越短 (Gao *et al.*, 2006). 计算公式如下所示:

$$C_t = C_0 \times e^{-Kt} \quad (3)$$

$$t_{1/2} = \ln 2 / K \quad (4)$$

式中  $C_t$  为菲在某一时刻的浓度 (mg·L<sup>-1</sup>),  $C_0$  为菲的起始浓度 (mg·L<sup>-1</sup>),  $K$  为一级反应速率常数 (d<sup>-1</sup>),  $t_{1/2}$  为半衰期 (d).

## 3 结果分析 (Results and analysis)

### 3.1 海马齿生物量的变化

不同处理组海马齿根、茎和叶的生物量(以干重计) 如表 1 所示. 由表 1 可知, 实验初始海马齿的生物量为 4.09 g, 实验结束后 T<sub>1</sub> 组和 T<sub>2</sub> 组海马齿的生物量分别为 3.76 g 和 3.70 g, 两组之间海马齿生物量差异不显著 ( $p > 0.05$ ). 实验结束后生长于含菲培养液中的海马齿, 与实验初始时相比, 除生物量略有降低外, 未发现植物受到明显的毒害效应(如叶片枯黄、植株缩水及萎缩等现象). 预实验结果显示, 海马齿在实验设计的菲浓度下, 延长培养时间, 海马齿的生物量会逐渐增加. 因此, 推测实验中海马齿生物量的降低是其在菲的毒性胁迫下所产生的一种短暂生理调节响应.

表 1 实验前后海马齿的干重生物量  
Table 1 Dry weight biomass of *Sesuvium portulacastrum* Linn. with phenanthrene treatments

采样时间	处理组	生物量/g			总生物量/g
		茎	叶	根	
实验初始	T <sub>1</sub> T <sub>2</sub>	2.44 ± 0.32	1.16 ± 0.35	0.49 ± 0.03	4.09
实验结束	T <sub>1</sub>	2.38 ± 0.15	0.90 ± 0.14	0.47 ± 0.04	3.76
	T <sub>2</sub>	2.18 ± 0.29	1.14 ± 0.12	0.39 ± 0.07	3.70

注:表中数据为平均值 ± 标准差(SD),下同。

### 3.2 海马齿对菲的修复作用

实验期间各处理组培养液中菲浓度随时间的变化如图 1 所示。4 d 后,各处理组培养液中菲浓度下降均比较明显,其中,CK 组、T<sub>1</sub> 组和 T<sub>2</sub> 组的菲浓度分别从 0.988、0.942 和 0.957 mg·L<sup>-1</sup> 下降至 0.553、0.185 和 0.070 mg·L<sup>-1</sup>,分别减少了 44.0%、

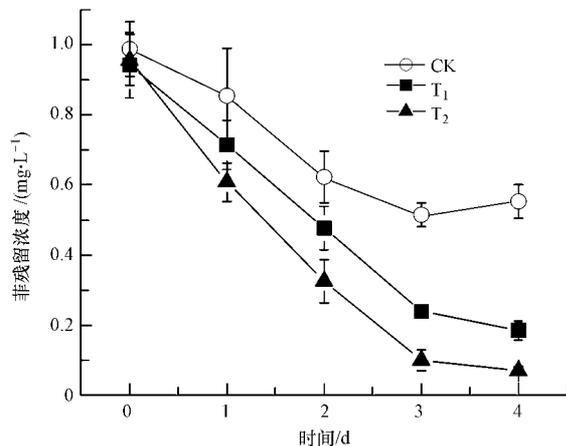


图 1 实验中各处理组培养液中菲浓度的变化

Fig. 1 Variation of phenanthrene concentrations in the culture medium of each treatment in the experiment

表 2 培养 4 d 后培养液中菲的残留浓度和菲的一级反应速率常数与半衰期

Table 2 Concentrations of phenanthrene after 4-day treatment and the first-order reaction constant and half-life period of phenanthrene in each treatment

处理组	初始浓度/(mg·L <sup>-1</sup> )	残留浓度/(mg·L <sup>-1</sup> )	下降率	K/d <sup>-1</sup>	t <sub>1/2</sub> /d
CK	0.988 ± 0.078	0.553 ± 0.049	44.0%	0.1905 ± 0.0185	3.64
T <sub>1</sub>	0.942 ± 0.094	0.185 ± 0.026	80.4%	0.4341 ± 0.0214	1.59
T <sub>2</sub>	0.957 ± 0.073	0.070 ± 0.013	92.7%	0.6400 ± 0.0424	1.08

### 3.3 海马齿对菲的富集作用

通过从环境中吸收污染物,将污染物从环境基质中转移并积累在植物体内,从而改善环境质量,是植物修复的重要原理之一。已有研究表明,一些植物可以吸收和积累 PAHs(高彦征等,2005;凌婉婷等,2006),本研究也对菲在海马齿体内的积累情况进行了测算。

80.4% 和 92.7% (表 2)。与 CK 组相比,T<sub>1</sub> 组和 T<sub>2</sub> 组培养液中菲浓度的下降值分别提高了 36.4% 和 48.7%,后者比前者高 12.3%。说明海马齿的存在对培养液中菲的去除有明显的促进作用,其中,不抑菌植物组(T<sub>2</sub>)的作用大于抑菌植物组(T<sub>1</sub>)的作用。CK 组在 0~3 d 内出现明显的下降现象,而实验中已经采取了减少菲的挥发和光解的措施,推测是由菲在培养容器的表面吸附所产生的。

用一级反应方程可以较好地拟合各处理组培养液中菲浓度随时间的变化,CK 组、T<sub>1</sub> 组和 T<sub>2</sub> 组的拟合方程的决定系数(R<sup>2</sup>)分别为 0.9160(p < 0.01)、0.9758(p < 0.01)和 0.9864(p < 0.01),一级反应速率常数(K)分别为 0.1905、0.4341 和 0.6400 d<sup>-1</sup>,菲的半衰期(t<sub>1/2</sub>)分别为 3.64、1.59 和 1.08 d(表 2)。与 CK 组比较,T<sub>1</sub> 组和 T<sub>2</sub> 组中菲浓度的下降速率分别提高了 127.87% 和 235.96%,而 T<sub>2</sub> 组又比 T<sub>1</sub> 组提高了 47.43%。相应地,T<sub>1</sub> 组和 T<sub>2</sub> 组半衰期较 CK 组分别缩短了 2.05 和 2.56 d。表明海马齿的存在加快了溶液中菲的去除,而细菌的参与能够进一步提高海马齿水培系统对海水中菲的去除效率。

实验初始时,测定海马齿体内根、茎和叶中菲的含量分别为 0.08、0.06 和 0.13 μg·g<sup>-1</sup>(表 3)。这主要因为海马齿在温室中是引入厦门西海域海水灌溉培养,而西海域海水中含有 PAHs,在长期的培养过程中植物本身对多环芳烃有一定的积累能力。如表 3 所示,海马齿植株对菲的积累作用明显,实验结束后 T<sub>1</sub> 组和 T<sub>2</sub> 组中海马齿体内菲的总量比实验

开始时分别增加了 7.11 和 13.12  $\mu\text{g}$ . 比较菲在海马齿根、茎、叶中的分布可以发现, 海马齿不同器官对菲的积累能力表现为: 根 > 叶 > 茎;  $T_1$  组和  $T_2$  组海马齿根中的菲含量远远高于茎和叶中菲的含量. 由公式 (2) 计算海马齿根、茎和叶对菲的富集系数, 其中  $T_1$  组海马齿茎、叶和根对菲的富集系数分别为

2.17、7.14 和 67.71;  $T_2$  组海马齿茎、叶和根对菲的富集系数分别为 6.77、18.55 和 310.28. 可见实验条件下与抑菌组 ( $T_1$  组) 相比, 不抑菌组 ( $T_2$  组) 海马齿对菲的富集能力更强, 同时根对菲的富集系数较茎和叶的要高出 1~2 个数量级.

表 3 海马齿不同器官中菲的含量和植株积累量

Table 3 Contents of phenanthrene in different organs of *Sesuvium portulacastrum* Linn.

采样时间	处理组	菲含量 / ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )			植株总积累量 / $\mu\text{g}$	新积累量 / $\mu\text{g}$
		茎	叶	根		
实验初始	$T_1, T_2$	0.06 $\pm$ 0.01	0.13 $\pm$ 0.09	0.08 $\pm$ 0.05	0.44 $\pm$ 0.18	—
实验结束	$T_1$	0.40 $\pm$ 0.37	1.32 $\pm$ 0.56	12.49 $\pm$ 4.52	7.55 $\pm$ 2.07	7.11
	$T_2$	0.47 $\pm$ 0.34	1.30 $\pm$ 0.75	21.73 $\pm$ 4.47	13.56 $\pm$ 1.76	13.12

研究指出, 有机污染物分配进入根的能力与  $K_{ow}$  (辛醇-水分配系数) 有关, Schnoor 等 (1995) 认为, 中等亲水性有机污染物 ( $\log K_{ow} = 0.5 \sim 3.0$ ) 最易被植物根系吸收而运输至植物组织中; 疏水性有机污染物 ( $\log K_{ow} > 3.0$ ) 由于被根表面强烈吸附而难以被植物吸收运输; 亲水性有机物 ( $\log K_{ow} < 0.5$ ) 难以渗透通过疏水性的细胞膜, 极少被运输至植物组织中. 本研究使用的菲的  $\log K_{ow}$  值为 4.46, 可以较好地解释海马齿根中的菲含量显著高于茎和叶的现象. 杨艳等 (2010) 在黑麦草吸收水中菲和芘的研究中也得到类似的结果. 茎、叶中菲的含量较低, 可能是菲从根向茎、叶传输的过程中, 由水相向植物有机相 (特别是脂肪) 的分配损失所致 (Zhu *et al.*, 2004), 另外, 也不能排除植物体本身存在一定的菲的代谢途径.

比较菲在抑菌组 ( $T_1$ ) 与不抑菌组 ( $T_2$ ) 的海马齿植株中的积累和分布可以发现, 抑菌与否对海马齿茎、叶中菲的含量没有显著的影响 ( $p > 0.05$ ), 但

对根部菲的含量影响较大. 经过 4 d 培养,  $T_2$  组根部的菲含量高达 21.73  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , 比  $T_1$  组的高 79.6%. 这可能与不抑菌组的海马齿根系附着了大量富集菲的微生物有关. 此时, 与  $T_1$  组相比,  $T_2$  组菲含量的高出部分可能主要储存在根际微生物体内, 具有根际过滤 (rhizofiltration) 的特征. 不过尚需进一步的研究加以证实.

### 3.4 海马齿对菲污染植物修复的可能机制

自然条件下, 海水中菲的消除途径可分为非生物损失和生物作用, 前者包括吸附、光解、挥发等过程, 后者则主要为微生物和植物的吸收、代谢和积累作用等. 根据本研究的实验设计, 可以近似地认为 CK 组、 $T_1$  组和  $T_2$  组的菲浓度降低是非生物损失、植物作用和植物-微生物联合作用的结果. 因此, 根据各处理组的实验结果, 通过差减法可以大体区分非生物、植物和微生物途径在菲消除 (即浓度降低) 中的作用, 结果见表 4.

表 4 各处理组菲消除的可能途径及其贡献

Table 4 Possible pathways of phenanthrene removal in culture media and their contributions

处理组	非生物损失贡献	植物作用贡献		微生物作用贡献	菲的去除率
		挥发、代谢等	积累		
CK	44.0%	—	—	—	44.0%
$T_1$	44.0%	35.0%	1.4%	—	80.4%
$T_2$	44.0%	33.8%	2.6%	12.3%	92.7%

注: “—”表示菲的某一消除途径在该处理组中不发挥作用.

由表 4 可见, 海水中菲的非生物损失所占比例较大 (44.0%), 是各处理组中菲去除的主要途径之一. 虽然非生物损失的主要途径包括吸附、光解、挥

发等, 但在本研究的实验过程中培养瓶的外壁始终用黑布遮盖, 并包裹一层铝箔, 所以可以排除由光解引起菲损失的可能性. 另外, 培养瓶的瓶口使用

Parafilm 封口膜包被,可以有效减少样品挥发和污染,所以菲的直接挥发损失所占比例应当也很小.因此,有理由推断实验中对照组菲的非生物损失可能主要由培养瓶瓶壁和瓶口固定植株的泡沫材料对菲的吸附作用所引起.从图 1 中 CK 组菲浓度随时间的变化也可以佐证此推断. CK 组培养液中菲的浓度在实验开始后的第 3 d 达到最低( $0.515 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ),第 4 d 时浓度有所回升,达到  $0.553 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,提高了 6.94%. 实验过程中 CK 组培养液中菲的浓度存在吸附与解吸过程的动态平衡,环境因素的影响也会促使培养液中菲浓度的波动,因此,第 4 d 时菲浓度略有升高亦属于正常状况,虽然本实验中没有直接测定菲的吸附,但以上推断还是符合逻辑和合理的.

从菲消除的生物途径来看,由表 4 可以发现,如果没有微生物的参与(即  $T_1$  组),单靠海马齿自身的作用对菲的消除能力是有限的(本实验中海马齿对菲去除的贡献为 36.4%),甚至低于非生物损失(本实验中非生物损失对菲去除的贡献为 44.0%).但是,如果有微生物(包括根际微生物和非根际微生物)的参与,则海马齿-微生物系统(即  $T_2$  组)对菲的消除作用(在本实验中的贡献为 48.7%)就超过了非生物损失(即 44.0%),其中,海马齿本身的作用(36.4%)高于微生物作用(12.3%).

海马齿自身对海水中菲的去除作用主要是通过吸附、吸收、代谢、挥发和积累等机制来完成的.本研究通过直接测定和比较实验开始和结束时海马齿植株的菲含量,计算出菲在海马齿植株的积累对海水中菲的去除贡献仅为 1.4% ( $T_1$  组)和 2.6% ( $T_2$  组),与海马齿植株对海水中菲去除的贡献(36.4%)相比有较大的差距.因此,可以推测植物降解(phytodegradation)和植物挥发(phytovolatilization)可能是海马齿消除吸收进入体内菲的重要途径.尽管本研究没有开展进一步的实验加以阐释,但有研究表明,菲等 PAHs 被植物吸收后,一部分可在植物体内被代谢(姜霞等 2001),Wild 等(2005)也曾经应用双光子激发电镜手段研究小麦和玉米对菲和蒽的吸收及菲和蒽在其体内的代谢作用,结果发现,菲和蒽在吸收后均被植物进一步代谢;还有一部分可能通过叶片表面挥发到空气中(Dieta *et al.*, 2001).但是,挥发到空气中的物质可能会造成对环境的二次污染问题,因此,在以后的研究中应进一步了解菲在海马齿体内的代谢及挥发产物.

在本实验中,虽然微生物对海水中菲去除的贡献仅占海马齿-微生物系统的贡献的 1/4 强,但从植物修复的角度来看,微生物(尤其是根际微生物)的作用是不容忽视的.图 2 反映了本研究培养实验期间各处理组的细菌密度变化情况,可以发现在没有添加抗生素的处理组( $T_2$  组),细菌密度在实验开始的 2 d 后即达到饱和,最高密度也已达  $10^6 \text{ cell}\cdot\text{mL}^{-1}$  数量级(相当于近岸海区细菌的密度水平),说明细菌的生长很快就被培养液中有限的营养物质所限制,难以发挥其真正的修复潜力.考虑到本研究培养实验所用的培养液为超纯水配制的人工海水中添加无机营养盐所形成的,并没有添加促进微生物生长的有机物和其他营养物质,微生物仅仅依靠海马齿根部提供的或释放到海水中的有机物就能发挥如此作用(12.3%).可以预见,天然海水中不仅含有无机营养物质,同时也存在一些有机质,而有机质存在下可以促进微生物的大量繁殖,则其对天然海水中菲污染的修复能力将会大大提高.

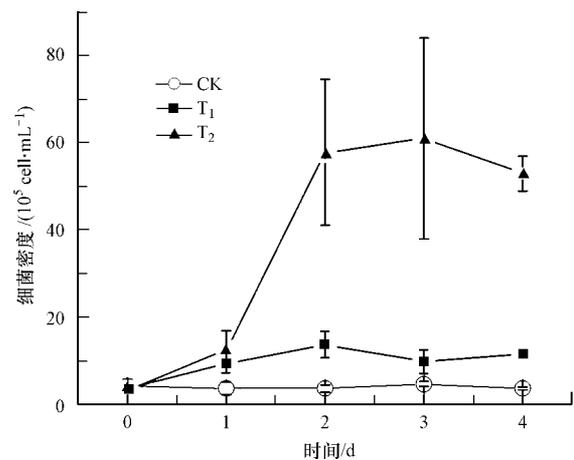


图 2 培养液中细菌密度的变化

Fig. 2 Variation of bacterial density in culture media during the experiment

综上所述,海马齿对海水菲污染的植物修复作用主要依靠植物和微生物的共同作用来完成,其中植物降解、植物挥发、根际过滤和微生物降解可能是其主要机制,而植物积累所发挥的作用十分有限.本研究结果与曹生宪等(2009)研究高羊茅对土壤中菲和蒽的修复作用,以及 Cheema 等(2010)研究 4 种植物对菲和蒽污染土壤的修复作用取得的结果较为一致.

#### 4 结论 (Conclusions)

1) 通过添加菲的水培实验发现,实验结束后,除海马齿生物量略有降低外,未发现植物受到明显的毒害效应(如叶片枯黄、植株缩水及萎缩等现象)。同时,实验 4 d 后,不种植海马齿的对照组、种植海马齿的抑菌组和不抑菌组海水中菲浓度分别降低了 44.0%、80.4% 和 92.7%。以上结果证实了海洋滩涂植物海马齿具有快速、高效地降低海水中菲浓度的能力,是一种可以用于治理海水环境中菲污染的修复植物。

2) 在本实验中植物和微生物的共同作用对海水中菲去除的贡献为 48.7%,其中,微生物(包括根际微生物和非根际微生物)的作用贡献为 12.3%,表明海马齿本身及其根系的关联微生物对菲污染环境的修复都发挥重要作用,但植物积累不是海马齿修复海水菲污染的主要机制,大多数菲可能通过植物代谢或植物挥发途径离开植株,具体的生理、生化机制还有待进一步的深入研究。

责任作者简介:黄凌风(1968—),男,教授,主要从事海洋生态学和恢复生态学研究。E-mail: huanglf@xmu.edu.cn.

#### 参考文献 (References):

- 曹生宪,魏世强,潘声旺. 2009. 高羊茅对土壤中菲和芘的修复作用研究[J]. 西南大学学报(自然科学版),31(5): 593-599
- Cao S X, Wei S Q, Pan S W. 2009. Study on the removal of phenanthrene and pyrene and remediation of the soil by Tall Fescue (*Festuca arundinacea*) [J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 31(5): 593-599 (in Chinese)
- Cheema S A, Khan M I, Shen C, et al. 2010. Degradation of phenanthrene and pyrene in spiked soils by single and combined plant cultivation[J]. Journal of Hazardous Materials, 177: 384-389
- Dieta A C, Schnoor J L. 2001. Advances in phytoremediation [J]. Environmental Health Perspectives, 19(1): 163-168
- 范伟,李文静,付桂,等. 2010. 一种兼具研究与应用开发价值的盐生植物——海马齿[J]. 热带亚热带植物学报,18(6): 689-695
- Fan W, Li W J, Fu G, et al. 2010. *Sesuvium portulacastrum* L., a promising halophyte in research and application [J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 18(6): 689-695 (in Chinese)
- Gao Y Z, Ling W T, Wong M H. 2006. Plant-accelerated dissipation of phenanthrene and pyrene from water in the presence of a nonionic-surfactant [J]. Chemosphere, 63: 1560-1567
- Gao Y Z, Zhu L Z. 2004. Plant uptake, accumulation and translocation of phenanthrene and pyrene in soils [J]. Chemosphere, 55(9): 1169-1178
- Ghnaya T, Nouairi I, Slama I, et al. 2007. Effects of Cd<sup>2+</sup> on K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> and N uptake in two halophytes *Sesuvium portulacastrum* and *Mesembryanthemum crystallinum*: consequences on growth [J]. Journal of Chemosphere, 67: 72-79
- Guo C L, Zhou H W, Wong Y S, et al. 2005. Isolation of PAH-degrading bacteria from mangrove sediments and their biodegradation potential [J]. Marine Pollution Bulletin, 51: 1054-1061
- Hofman J, Rhodes A, Semple K T. 2008. Fate and behaviour of phenanthrene in the natural soils [J]. Environmental Pollution, 152: 468-475
- 姜霞,区自清,应佩峰. 2001. <sup>14</sup>C-菲在“植物-火山石-营养液-空气”系统中的迁移和转化[J]. 应用生态学报,12: 451-454
- Jiang X, Qu Z Q, Ying P F. 2001. Transportation and transformation of <sup>14</sup>C-phenanthrene in closed chamber (nutrient solution-lava-plant-air) system [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 12(3): 451-454 (in Chinese)
- Li H, Sheng G Y, Chiou C T, et al. 2005. Relation of organic contaminant equilibrium sorption and kinetic uptake in plants [J]. Environmental Science Technology, 39: 4864-4870
- 凌婉婷,高彦征,李秋玲,等. 2006. 植物对水中菲和芘的吸收[J]. 生态学报,26(10): 3332-3339
- Ling W T, Gao Y Z, Li Q L, et al. 2006. Uptake of phenanthrene and pyrene by ryegrass from water [J]. Acta Ecologica Sinica, 26(10): 3332-3339 (in Chinese)
- Ramani B, Reeck T, Debez A, et al. 2006. *Astertripolium* L. and *Sesuvium portulacastrum* L.: two halophytes, two strategies to survive in saline habitats [J]. Plant Physiology Biochemistry, 44: 395-408
- Schnoor J L, Lich L A, McCutcheon S C, et al. 1995. Phytoremediation of organic and nutrient contaminants [J]. Environmental Science Technology, 29: 318-323
- Slama I, Ghnaya T, Hessini K, et al. 2007. Comparative study of the effects of mannitol and PEG osmotic stress on growth and solute accumulation in *Sesuvium portulacastrum* [J]. Environmental and Experimental Botany, 61(1): 10-17
- 唐昌林. 1996. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社. 30-32
- Tan C L. 1996. Flora of China [M]. Beijing: Science Press. 30-32 (in Chinese)
- 田蕴,郑天凌,王新红. 2004. 厦门西港表层海水中多环芳烃 (PAHs) 的含量、组成及来源 [J]. 环境科学学报,24(1): 50-55
- Tian Y, Zheng T L, Wang X H. 2004. Concentration, composition and origin of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water of Xiamen Harbor [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 24(1): 50-55 (in Chinese)
- Weinberger F, Hoppe H, Friedlander M. 1997. Bacterial induction and

- inhibition of a fast necrotic response in *Gracilaria conferta* (Rhodophyta) [J]. *Journal of Applied Phycology*, 9(3): 277-285
- Wild E, Dent J, Thomas G O, *et al.* 2005. Direct observation of organic contaminant uptake, storage, and metabolism within plant roots [J]. *Environment Science and Technology*, 39: 3695-3702
- 杨艳, 凌婉婷, 高彦征, 等. 2010. 几种多环芳烃的植物吸收作用及其对根系分泌物的影响 [J]. *环境科学学报*, 30(3): 593-599
- Yang Y, Ling W T, Gao Y Z, *et al.* 2010. Plant uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their impacts on root exudates [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 30(3): 593-599 (in Chinese)
- 张志英, 黄凌风, 姜丹, 等. 2009. 浮床种植海马齿对富营养化海水氮、磷移除能力的初步研究 [C]. 中国环境科学学会. 武汉: 50-55
- Zhang Z Y, Huang L F, Jiang D. *et al.* 2009. A preliminary study on nitrogen and phosphorous purification by *Sesuvium portulacastrum* Linn. floating bed for eutrophic sea water [C]. Chinese Society for Environmental Sciences. Wuhan: 50-55 (in Chinese)
- 郑天凌, 王斐, 徐美珠, 等. 2002. 台湾海峡海域细菌产量、生物量及其在微食物环中的作用 [J]. *海洋与湖沼*, 33(4): 415-423
- Zheng T L, Wang F, Xu M Z. *et al.* 2002. Bacterial production, biomass and role in microbial loop in Taiwan Strait [J]. *Oceanologia Etlimnologia Sinica*, 33(4): 415-423 (in Chinese)
- Zhu L Z, Gao Y Z. 2004. Prediction of phenanthrene uptake by plants with a partition-limited model [J]. *Environmental Pollution*, 131: 505-508