

菲、萘对小麦种子的生态毒性效应

李云玲¹, 魏海英^{2*}, 李子华², 陈俊升², 何林宸², 陈燕慧²

(1. 长治学院 生物科学与技术系, 山西 长治 046011; 2. 山西大学 环境与资源学院, 山西 太原 030006)

摘要: 采用生物培养试验, 测定了不同质量浓度的菲、萘对小麦种子萌发的生态毒性效应, 分析了小麦种子的发芽情况、根茎伸长和叶绿素含量的变化。结果表明, 菲、萘单一及复合处理对小麦种子发芽势、发芽率均有一定的抑制作用, 高质量浓度时抑制作用明显。统计分析表明, 菲单一及复合处理质量浓度与小麦发芽势的相关系数较高, r 分别为 0.95 和 0.98。菲、萘单一及复合处理对小麦幼苗根、茎伸长也具有一定的抑制作用, 特别是高质量浓度处理, 如菲、萘质量浓度为 0.2 g/L 时, 根伸长分别减少了 89% 和 86%, 高质量浓度复合处理(菲 0.05 g/L + 萘 0.2 g/L)减少了 87%。对根伸长的抑制作用为复合处理 > 萘处理 > 菲处理, 对茎伸长的抑制作用复合处理 > 菲处理 > 萘处理; 对叶绿素含量的影响为复合处理的抑制效应强于单一处理, 但对幼苗叶绿素 a 和 b 的影响基本一致。

关键词: 菲; 萘; 发芽情况; 根茎伸长; 叶绿素; 生态毒性

中图分类号: Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2012)07-0064-05

Eco-toxicology Effects of Phenanthrene and Naphthalene on Wheat Seed Germination

LI Yun-ling¹, WEI Hai-ying^{2*}, LI Zi-hua², CHEN Jun-sheng², HE Lin-chen², CHEN Yan-hui²

(1. Department of Biological Sciences and Biotechnology, Changzhi College, Changzhi 046011, China;

2. College of Environment and Resources, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: A biological incubation experiment was conducted to testify the inhibition effect of phenanthrene and naphthalene on rates of seed germination, root and stem elongation and content of chlorophyll for wheat. Results indicated that phenanthrene and naphthalene single and combined treatments had an inhibition effect on seed germinating potentiality and germination rate, especially in higher mass concentration treatments. Statistical analyses showed that correlation coefficient between the mass concentration of phenanthrene and naphthalene and seed germinating potentiality was greater, r was 0.95 and 0.98, respectively. Phenanthrene and naphthalene single and combined treatments had an inhibition effect on root and stem elongation, especially in the higher mass concentration treatments, for example, root elongation decreased 89% and 86% in the phenanthrene and naphthalene 0.2 g/L treatments, and decreased 87% in higher mass concentration combined treatment. The inhibition effects on root elongation were combined treatment > naphthalene treatment > phenanthrene treatment, combined treatment > phenanthrene treatment > naphthalene treatment for stem elongation; the contents of chlorophyll in combined treatments were more sensitive than single treatments, and the effects on chlorophyll a was basically in accordance with chlorophyll b.

Key words: phenanthrene; naphthalene; germination; root and stem elongation; chlorophyll; eco-toxicity

收稿日期: 2012-03-26

基金项目: 国家自然(青年)科学基金项目(41101297); 山西大学本科科研训练项目(2011090); 长治学院校级基金资助项目(20072003)

作者简介: 李云玲(1976-), 女, 山西长治人, 讲师, 硕士, 主要从事土壤生态及微生物学研究。

E-mail: liyunling0315@163.com

* 通讯作者: 魏海英(1976-), 女, 山西汾阳人, 副教授, 博士, 主要从事环境毒理学研究。E-mail: weihaiying@sxu.edu.cn

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, 简称 PAHs),是指 2 个以上苯环连在一起的化合物,如萘、蒽、菲、芘等。人类活动特别是石油、煤等化石燃料及木材、烟草等有机物不完全燃烧的产物是环境中 PAHs 的主要来源^[1]。PAHs 是发现最早且数量最多的致癌物^[2-4],目前每年排放到大气中的 PAHs 约几十万吨,对动植物的生长都有一定的影响。近年来,关于 PAHs 对植物生长发育的影响报道很多^[5-10],主要集中于 PAHs 对植物种子萌发、根数量的影响等方面,而关于多种 PAHs 复合处理对小麦影响的报道还不多见。丁克强等^[11]研究了苯并(a)芘对小麦种子萌发的影响,结果表明,土壤 PAHs 对小麦的发芽和根伸长具有一定的抑制作用,土壤污染物浓度和根伸长抑制率的相关性高于与发芽抑制率的相关性。苏君梅等^[12]研究了土壤中蒽、菲、芘对小麦种子的生态毒性效应,结果表明,3 种 PAHs 对小麦种子的发芽率几乎没有什么影响,而对小麦种子的发芽指数、根伸长抑制率、芽长及其根的数量均有不同程度的影响,具有一定的浓度剂量效应。万寅婧等^[13]采用生物培养的方法研究了芘、菲等 4 种 PAHs 对小麦的生态毒性,结果发现,苯环数目越少,溶解度越大,对小麦的发芽和根伸长抑制程度越大。以往的研究主要集中于某一种 PAHs 对小麦发芽率及幼苗生长发育的影响,而环境中往往是多种 PAHs 的混合物。因此,本研究选择污染环境中检出率较高的菲、萘作为 PAHs 的代表物,以小麦为供试对象,研究了菲、萘单一及复合污染对小麦种子萌发及幼苗生长的影响,从而为 PAHs 对农作物的生态毒性评价提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 种子发芽试验

挑选饱满无病害的小麦种子,先用 75%乙醇消毒 5 s,再用 0.2% KMnO₄ 浸泡 5 min,用蒸馏水冲洗 5 次,然后在铺有 2 层吸水滤纸的培养皿上进行不同质量浓度的菲、萘培养试验。试验包括菲、萘单一处理各 1 组,质量浓度(用 Hoagland 培养液配制)分别为 0、0.05、0.1、0.15、0.2 g/L。复合处理 1 组,包括菲 0.05 g/L+萘 0.05、0.1、0.15、0.2 g/L。每个处理 100 粒种子,重复 3 次。种子萌发后放置于可控培养箱中进行幼苗培养,培养温度 25℃,培养过程中每天更换滤纸。

每天观察小麦种子的萌发情况,并记录种子发芽个数,以幼根长相当于种子 1/2 长作为发芽标准,于播种后次日起统计发芽数,第 5 天计算发芽势(%),第 7 天计算发芽率(%),并测量根、茎伸长情况。

发芽势指种子在发芽初期规定的天数内正常发芽的种子数占供试种子数的百分比,本次试验为第 5 天;发芽率=(发芽种子数/总种子数)×100%;抑制率=(对照发芽数-处理发芽数)/对照发芽数×100%。

1.2 叶绿素含量测定

7 d 后收集幼苗,采用丙酮乙醇提取液法提取叶片叶绿素,在 645 nm 和 663 nm 波长下测定吸光值,计算叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量^[14]。

1.3 数据分析

经 Excel 2003 初步处理后,利用 SPSS 12.0 对数据进行统计分析。与对照相比, $P<0.05$ 为差异显著, $P<0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 菲、萘单一及复合处理对小麦种子萌发的影响

菲单一处理时,随着菲质量浓度的增加,其对小麦种子发芽势、发芽率的抑制作用逐渐增强,对小麦种子萌发的抑制率不断上升(图 1)。当菲的质量浓度为 0.05 g/L 时,发芽势、发芽率均为 62.5%,抑制率为 34.2%,当质量浓度进一步增加到 0.1 g/L 时,发芽势为 57.5%,显著低于对照(95%)。菲对小麦种子萌发的抑制率则随质量浓度的增加而升高,当菲质量浓度分别为 0.05、0.1、0.15 和 0.2 g/L 时抑制率分别为 34.2%、39.5%、46.1%、72.4%。相关性分析表明,菲质量浓度与小麦种子发芽率、发芽势呈显著负相关, r 分别为 0.93 和 0.95,与抑制率呈显著正相关($r=0.95$)。

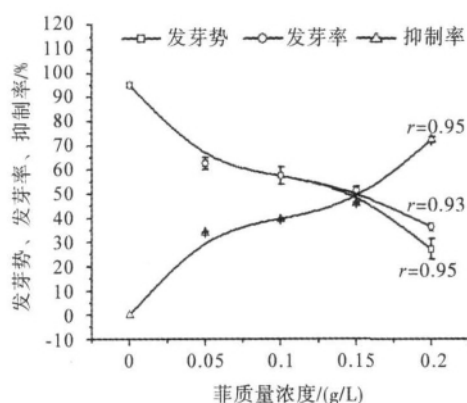


图 1 菲单一处理对小麦种子萌发的影响

萘对小麦种子发芽的抑制作用与菲相似(图 2),总体来看,随萘质量浓度的升高,发芽率、发芽势逐渐降低,抑制率逐渐升高。萘质量浓度为 0.05 g/L 时,发芽势为 61.25%,发芽率为 61.26%,抑制率为 30.3%;在质量浓度为 0.05~0.15 g/L 时,发芽率无太大差异,抑制作用变化不大。当萘质量浓度达到 0.2 g/L 时,发芽势和发芽率分别为 38.7% 和

41.3%,二者均明显下降,抑制率为56.7%,说明高质量浓度的萘溶液对种子发芽有显著抑制作用。比较菲、萘单一处理对小麦种子萌发的影响可以看出,相同质量浓度下菲的毒害效应强于萘。

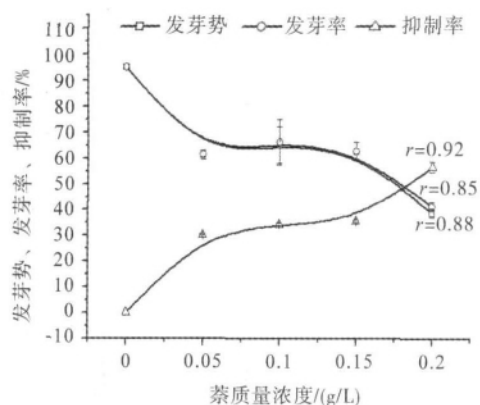


图2 萘单一处理对小麦种子萌发的影响

由表3可知,菲、萘复合处理对小麦种子发芽的抑制作用表现为,随着复合质量浓度的不断增大,种子的发芽势、发芽率均呈下降趋势,抑制率则不断上升。复合处理质量浓度为菲0.05 g/L + 萘0.05 g/L时,发芽势、发芽率均为63.75%;复合溶液质量浓度为菲0.05 g/L + 萘0.1 g/L时,发芽势、发芽率为48.75%;菲0.05 g/L + 萘0.15 g/L时,发芽势为33.75%,发芽率为43.75%;菲0.05 g/L + 萘0.2 g/L时,发芽势为31.25%,发芽率为33.75%;与对照相比,复合处理质量浓度均为0.05 g/L时抑制作用不明显,随着萘质量浓度的增加,发芽势与发芽率呈明显下降趋势,与此同时,抑制率则不断上升。相关性分析表明,复合处理质量浓度与小麦发芽势呈线性负相关($r_{\text{发芽势}} = 0.98$),且其相关性大于与发芽率的相关性。

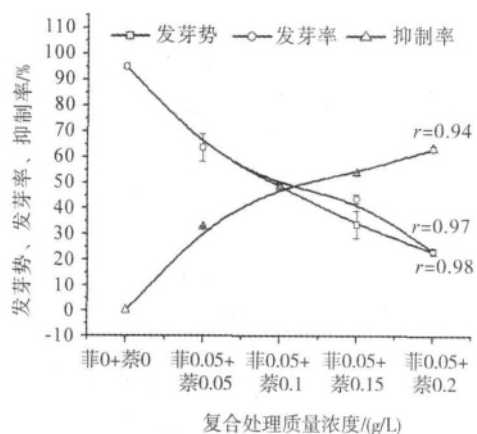
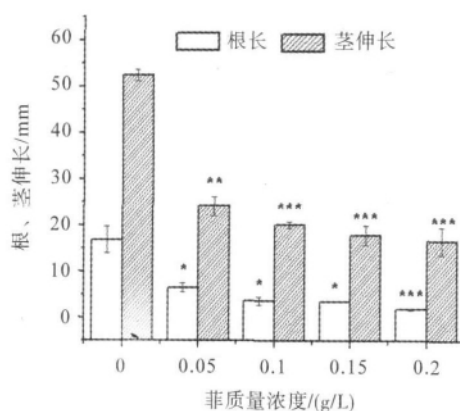


图3 菲、萘复合处理对小麦种子萌发的影响

2.2 菲、萘单一及复合处理对小麦种子根、茎伸长的影响

随着菲单一处理质量浓度的升高,小麦的根、茎

伸长均受到不同程度的抑制(图4),且抑制作用随着菲处理质量浓度的升高呈现上升趋势,在菲质量浓度分别为0.05、0.1、0.15、0.2 g/L时,小麦根长分别为6.5 mm、3.7 mm、3.5 mm、1.2 mm,与对照(16.8 mm)相比在低质量浓度下差异就达显著水平($P < 0.05$)。小麦的茎伸长随处理质量浓度的升高整体呈下降的趋势,菲质量浓度为0.05、0.1、0.15、0.2 g/L时,茎伸长分别为24.0 mm、17.9 mm、16.7 mm、13.3 mm,各处理与对照相比差异均具有统计学意义($P < 0.01$ 或0.001)。统计分析表明,菲对小麦茎伸长的抑制作用在质量浓度为0.2 g/L最强,与对照相比差异极显著($P < 0.001$)。



数据表示为平均值±标准差,*表示与对照差异显著($P < 0.05$);**表示与对照差异极显著($P < 0.01$);***表示与对照差异极显著($P < 0.001$)。下同

图4 菲单一处理对小麦根茎伸长的影响

由图5可知,萘单一处理中,随着萘处理质量浓度的升高,小麦根长不断下降。在萘质量浓度分别为0、0.05、0.1、0.15、0.2 g/L时,根长分别为16.8 mm、7.5 mm、7.3 mm、5.4 mm、2.5 mm,在0.05 g/L时,萘对小麦根伸长的抑制作用与对照相比差异达显著水平($P < 0.05$)。在不同的萘质量浓度下,茎伸长分别为31.1 mm、28.2 mm、24.5 mm和14.9 mm,在低质量浓度下与对照(52.5 mm)相比茎伸长差异就达极显著水平($P < 0.001$)。

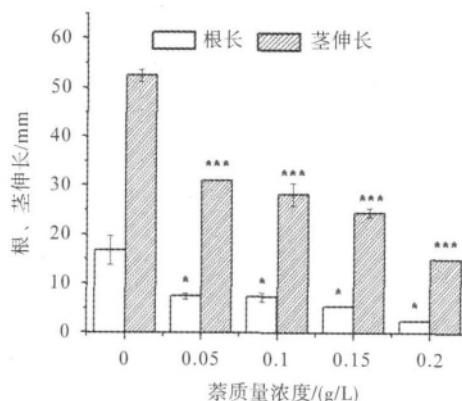


图5 萘单一处理对小麦根茎伸长的影响

菲、萘复合处理中,随着复合处理质量浓度的提高,根长不断降低,在复合处理质量浓度分别为菲 0.05 g/L + 萘 0.05、0.1、0.15、0.2 g/L 时,小麦幼根长分别为 7.1、4.6、2.1、1.8 mm,均显著低于对照(16.8 mm)($P<0.05$ 或 0.01)。在复合处理质量浓度为 0.05、0.1、0.15、0.2 g/L 时,茎伸长分别为 17.1、14.3、12.7、10.6 mm,低质量浓度处理与对照(52.5 mm)相比差异已达极显著水平($P<0.001$)(图 6)。

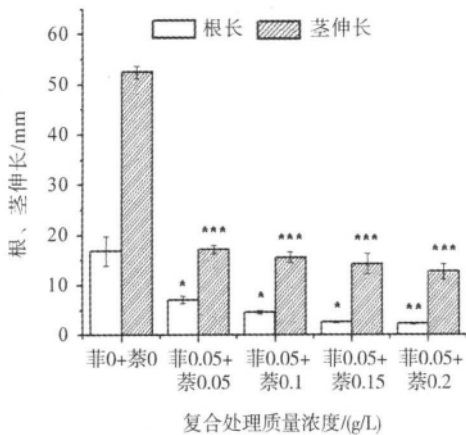


图 6 菲、萘复合处理对小麦根茎伸长的影响

2.3 PAHs 对小麦叶绿素含量的影响

叶绿素是植物进行光合作用的色素,叶绿素含量高低在一定程度上反映了光合作用水平,而叶绿素的含量和组成则是影响光合作用的物质基础^[8]。不同质量浓度的菲、萘单一及复合处理 7 d 后,所有处理组的叶绿素含量均低于对照,且随着菲、萘质量浓度的增加而降低,如表 1 所示。

由表 1 可知,菲、萘单一处理中,叶绿素含量随着质量浓度的增加而下降,但萘处理中叶绿素下降较菲处理多。叶绿素含量在高质量浓度菲(0.2 g/L)处理中,总叶绿素含量下降了 48.2%,叶绿素 a 和叶绿素 b 的比值在所有处理中保持在 3.00~3.50,差异不明显。相同质量浓度萘处理中,总叶绿素含量降低了 46.0%,在所有处理中叶绿素 a 和叶绿素 b 的比值为 1.88~3.12,变化比较大。

由表 1 可以看出,在菲、萘复合处理中,小麦幼苗叶绿素在低质量浓度处理组合下就迅速下降,在菲 0.05 g/L + 萘 0.05 g/L 处理中,总叶绿素含量降低了 31.7%,当质量浓度为菲 0.05 g/L + 萘 0.2 g/L 时,总叶绿素含量下降了 68.3%,在复合处理萘质量浓度为 0.05~0.15 g/L 时,叶绿素 a 和叶绿素 b 的比值基本一致,为 3.27~3.46,到高质量浓度即萘为 0.2 g/L 时,降低至 2.67。菲、萘高质量浓度复合处理对小麦幼苗总叶绿素含量的影响比单

一处理显著。

表 1 菲、萘处理下小麦幼苗叶绿素含量

处理	质量浓度/(g/L)	叶绿素 a/(mg/g)	叶绿素 b/(mg/g)	叶绿素 a/b
菲	0(CK)	1.07±0.02	0.32±0.003	3.34±0.81
	0.05	0.99±0.02	0.32±0.003	3.09±0.63
	0.1	0.87±0.01	0.29±0.005	3.00±0.57
	0.15	0.73±0.02	0.22±0.002	3.32±0.79
	0.2	0.56±0.01	0.16±0.003	3.50±0.92
萘	0(CK)	1.07±0.02	0.32±0.003	3.34±0.81
	0.05	0.95±0.02	0.30±0.007	3.12±0.74
	0.1	0.77±0.01	0.25±0.001	3.08±0.58
	0.15	0.52±0.01	0.25±0.005	2.08±0.43
	0.2	0.49±0.01	0.26±0.006	1.88±0.25
菲 0.05+萘	0(CK)	1.07±0.02	0.32±0.003	3.34±0.81
	0.05	0.73±0.02	0.22±0.005	3.32±0.81
	0.1	0.52±0.01	0.15±0.003	3.46±0.82
	0.15	0.49±0.01	0.15±0.003	3.27±0.79
	0.2	0.32±0.01	0.12±0.002	2.67±0.37

3 结论与讨论

种子发芽和根茎伸长抑制试验是被广泛采用的高等植物毒性试验方法,通过在污染条件下观察植物的发芽情况、根系发育状况等指标的变化程度对污染进行诊断^[15],是一种评价生态环境毒性的优选方法,小麦种子是普通推荐的供试材料之一^[16]。

发芽率、发芽势是衡量种子活力高低的指标之一。本试验中,通过种子萌发试验结果可知,菲、萘单一及复合处理对小麦发芽势、发芽率都有一定的影响,呈一定的质量浓度效应关系。在菲、萘单一处理中,低质量浓度处理(菲、萘<0.15 g/L)对小麦种子萌发的影响变化不明显,高质量浓度处理时对种子萌发有显著的抑制作用。而在菲、萘复合处理中,萘质量浓度为 0.1 g/L 时,小麦发芽势、发芽率显著降低。总体来看,对小麦种子萌发的影响表现为复合处理>菲单一处理>萘单一处理,其中,菲单一和菲、萘复合处理质量浓度与发芽势的相关性强于发芽率,发芽势可作为评价 PAHs 对种子毒性效应的重要指标。

本试验中,不同质量浓度的菲萘单一及复合处理对小麦的根茎伸长均有一定的影响,呈现一定的质量浓度效应关系。对茎伸长的抑制作用强弱依次为复合处理>菲处理>萘处理,而对根伸长的抑制作用强弱则为复合处理>萘处理>菲处理。由于种子发芽过程由胚来供应各种养分,从而降低了种子

发芽对污染物的敏感性,部分掩盖了污染物对种子的毒害效应,只有当污染物达到一定浓度时才表现出其毒性作用^[11]。因此,茎伸长可以作为评价菲、萘毒性大小的一个指标。

叶绿素是光合作用的关键色素,植物体内叶绿素含量的高低直接影响光合作用的强弱,也直接反映光合效率及植物同化能力的大小^[17]。很多研究表明,叶绿素是对外界环境胁迫最敏感的物质之一。从本试验的结果来看,菲、萘单一及复合处理降低了小麦幼苗叶绿素的含量,且呈现一定的质量浓度效应关系。Reilley 等^[17]认为,PAHs 使得植物包括叶绿素在内的色素降低可能是 PAHs 阻碍了植物根系从被污染的根际吸收养分和水分的能力,导致了色素合成能力下降。总体来看,本研究中复合处理的抑制效应强于单一处理,但对叶绿素 a 和 b 的影响基本一致。

关于 PAHs 对植物种子萌发的抑制机制尚不明确,在今后的研究中,将结合现代分子生物学与基因工程方面的研究成果,探明 PAHs 对植物种子萌发的毒理机制,为 PAHs 污染的生态毒性提供新的理论证据。

参考文献:

- [1] 李丽,钟鸣,周启星等. 苦草芽孢杆菌对多环芳烃的降解能力研究[J]. 河南农业科学,2007(4):62-65.
- [2] Aas E, Beyer J, Jonsson G, et al. Evidence of uptake biotransformation and DNA binding of polyaromatic hydrocarbons in Atlantic cod and cormorant wrasse caught in the vicinity of an aluminium works [J]. Mar Environ Res, 2001, 52(3): 213-229.
- [3] Thomas C V, Walter J. Sorption of hydrophobic compounds by sediment, soil and suspended solids [J]. Water Resour, 1983, 17(10): 1433-1441.
- [4] 朱利中,松下秀鹤. 空气中多环芳烃的研究现状 [J]. 环境污染治理技术与设备, 1997, 5(5): 18-29.
- [5] Ren L, Huang X D, McConkey B J, et al. Photoinduced toxicity of three polycyclic aromatic hydrocarbons (fluoranthene, pyrene, and naphthalene) to the duckweed *Lemna gibba* L. G-3 [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 1994, 28(2): 160-171.
- [6] Ren L, Zeiler L F, Dixon D G et al. Photoinduced effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on *Brassica napus* (Canola) during germination and early seedling development [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 1996, 33(1): 73-80.
- [7] Baek K H, Kim H S, Oh H M. Effects of crude oil, oil components, and bioremediation on plant growth [J]. J Environ Sci Health-Part A, 2004, 39(9): 2465-2472.
- [8] Henner P, Schiavon M, Druelle V, et al. Phytotoxicity of ancient gaswork soils: Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons PAHs on plant germination [J]. Organ Geochem, 1999, 30(8): 275-284.
- [9] Alkio M, Tabuchi T M, Wang X, et al. Stress responses to polycyclic aromatic hydrocarbons in *Arabidopsis* include growth inhibition and hypersensitive response-like symptoms [J]. J Experim Bot, 2005, 56(10): 2983-2994.
- [10] 尹颖,孙媛媛,贾海霞,等. 菲在苦草中的富集及氧化胁迫效应 [J]. 应用与环境生物学报, 2007, 13(5): 652-656.
- [11] 丁克强,骆永明,刘世亮. 多环芳烃对土壤中小麦发育的生态毒性效应 [J]. 南京工程学院学报, 2008, 6(2): 52-55.
- [12] 苏君梅,王丹丹,张琦. 土壤中蒽、菲、芘对小麦种子的生态毒性效应 [J]. 山西化工, 2008, 28(1): 13-15.
- [13] 万寅婧,占新,周立祥. 土壤中芘、菲、萘、苯对小麦的生态毒性影响 [J]. 中国环境科学, 2005, 25(5): 563-566.
- [14] 张宪政. 植物叶绿素含量测定 [J]. 辽宁农业科学, 1986(3): 26-28.
- [15] Gong P, Wilke B M, Strozzi E, et al. Evaluation and refinement of a continuous seed germination and early seedling growth test for the use in the ecotoxicological assessment of soils [J]. Chemosphere, 2001, 44(3): 491-500.
- [16] Wang X D, Sun C, Gao S X, et al. Validation of germination rate and root elongation as indicator to assess phytotoxicity with *Cucumis sativus* [J]. Chemosphere, 2001, 44(8): 1711-1721.
- [17] 王鑫,郭平毅,原向阳,等. 2 甲 4 氯对罂粟叶绿素含量及光合作用的影响 [J]. 山西农业科学, 2009, 37(7): 48-50.
- [18] Ma B, He Y, Chen H H, et al. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the rhizosphere [J]. Environ Poll, 2010, 158(3): 855-861.