

# 高氯酸盐对空心莲子草生长及叶绿素荧光参数的影响

谢寅峰<sup>1</sup>, 蔡贤雷<sup>1</sup>, 刘伟龙<sup>2</sup>, 邓伟<sup>2</sup>

(1. 南京林业大学森林资源与环境学院, 南京 210037; 2. 中国科学院水利部成都山地灾害与环境研究所, 成都 610041)

**摘要:** 高氯酸盐是一种新型的持久性污染物, 其对植物影响作用的研究国内外鲜见报道. 以空心莲子草为实验材料, 在水培及可控条件下, 探讨不同浓度(1、5、20、100、500 mg/L)  $\text{ClO}_4^-$  对空心莲子草生长及生理的影响. 结果表明, ①不同浓度的  $\text{ClO}_4^-$  处理均不同程度地抑制根、茎、叶生物量及单株相对生长量, 其中根生物量对照与各浓度处理之间均存在显著差异. 处理 40d 后, 各浓度(由低到高)处理的相对生长量分别为对照的 61.6%、60.8%、53.1%、20.4% 和 3.3%;  $\text{ClO}_4^-$  处理下根、茎、叶生物量的变异系数大小依次为: 叶 > 根 > 茎;  $\text{ClO}_4^-$  处理使根茎叶三者之间的生物量分配关系发生变化, 使茎的生物量分配系数增大, 而叶降低, 其中 100、500 mg/L  $\text{ClO}_4^-$  处理组与对照相比差异显著; ②不同浓度的  $\text{ClO}_4^-$  处理均使空心莲子草幼叶出现明显的伤害症状, 顶叶反卷、叶缘变黑、焦枯, 受害程度随处理浓度及时间的增加而加重; ③  $\text{ClO}_4^-$  处理使叶片 SPAD 值、 $F_v/F_m$ 、 $F'_v/F'_m$ 、 $\Phi_{\text{PSII}}$ 、ETR、ETR<sub>max</sub> 等荧光参数均出现不同程度的下降趋势, SPAD、 $\Phi_{\text{PSII}}$  等荧光参数可以作为反映受  $\text{ClO}_4^-$  胁迫影响的内在敏感生理指标. 以上结果说明高氯酸盐处理会导致空心莲子草光合系统的损伤及光化学效率的下降, 抑制其生长, 并使叶片产生明显伤害. 空心莲子草各器官对  $\text{ClO}_4^-$  的敏感程度以叶和根较高, 茎较低.

**关键词:** 高氯酸盐; 空心莲子草; 生长; 叶绿素荧光

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)08-2425-07

## Effects of Perchlorate on Growth and Chlorophyll Fluorescence Parameters of *Alternanthera philoxeroides*

XIE Yin-feng<sup>1</sup>, CAI Xian-lei<sup>1</sup>, LIU Wei-long<sup>2</sup>, DENG Wei<sup>2</sup>

(1. College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. Chengdu Institute of Mountain Hazards and Environment, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China)

**Abstract:** Perchlorate is a new emerging persistent pollutant, while no studies about its effects on plants have been reported both home and abroad. In order to explore the effects of perchlorate on growth and physiology of aquatic plant, *Alternanthera philoxeroides* were treated by 1/20 Hoagland nutrient solution with different concentrations (0, 1, 5, 20, 100, 500 mg/L) of  $\text{ClO}_4^-$  under the controlled conditions. The results showed as follow. ① Under perchlorate treatment, relative growth yield, dry weight of root, shoot and leaves were inhibited at different degrees, in which root biomass under different treatments showed significant difference to the control. After treatment for 40 d, relative growth yield of different treatments at concentration from 1 mg/L to 500 mg/L were about 61.6%, 60.8%, 53.1%, 20.4% and 3.3% separately of the control. And the order of variation coefficients of biomass in different organ were as follows: leaf > root biomass > stem; the relationship of biomass allocation in different organs of *Alternanthera philoxeroides* under perchlorate treatment changed, and the proportion of stem biomass increased, while leaf decreased, in which 100 and 500 mg/L  $\text{ClO}_4^-$  treatment showed significant difference to the control. ② Under perchlorate treatment, young leaves of *Alternanthera philoxeroides* presented injury symptoms (such as parietal roiling reversely, leaf edge getting black and withered etc), and the damaged degree of *Alternanthera philoxeroides* increased with the increase of treatment concentration and time. ③ Under perchlorate treatment, the relative chlorophyll content (SPAD value), primary maximal PS II efficiency ( $F_v/F_m$ ), efficiency of excitation capture by open PS II centre ( $F'_v/F'_m$ ), actual photochemical efficiency of PS II ( $\Phi_{\text{PSII}}$ ), electron transport rate (ETR), maximal electron transport rate (ETR<sub>max</sub>) and other indexes were inhibited at different degrees. SPAD and chlorophyll fluorescence parameters  $\Phi_{\text{PSII}}$  etc could be used as sensitive physiological indexes to reflect the effects of perchlorate stress. The results suggest that perchlorate treatment can damage the photosynthetic system and leaf, decrease photochemical efficiency, and inhibit growth of *Alternanthera philoxeroides*. Leaf and root show a higher sensitivity to perchlorate, while stem with a lower sensitivity.

**Key words:** perchlorate; *Alternanthera philoxeroides*; growth; chlorophyll fluorescence

高氯酸盐是一种新型的持久性污染物质, 在环境中具有扩散速度快、稳定性高、降解难的特点, 其对人体影响主要表现为  $\text{ClO}_4^-$  对甲状腺吸收碘的抑制, 从而造成对发育系统特别是对大脑发育的影响, 这一基本结论已经普遍为人们所接受<sup>[1]</sup>. 近年

来, 高氯酸盐的环境污染问题已引起了人们的高度

收稿日期: 2008-09-17; 修订日期: 2009-02-13

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2006CB403301)

作者简介: 谢寅峰(1966~), 男, 博士研究生, 副教授, 主要研究方向为植物生理生态学和环境生理学, E-mail: xxyff@njfu.com.cn

关注,并成为环境科学和分析化学的研究热点. Shi 等<sup>[2]</sup>对采自国内各省市下水道淤泥、水稻、北京大超市中出售的瓶装矿泉水和牛奶等样品进行了  $\text{ClO}_4^-$  检测,结果表明我国可能普遍存在不同程度的高氯酸盐污染. 目前,高氯酸盐污染的研究主要集中在  $\text{ClO}_4^-$  在环境中的迁移和转化<sup>[3-5]</sup>、 $\text{ClO}_4^-$  的动物毒理效应<sup>[6,7]</sup>、 $\text{ClO}_4^-$  的检测方法<sup>[8-12]</sup>、 $\text{ClO}_4^-$  的降解<sup>[13,14]</sup>等方面,但有关高氯酸盐对环境中植物影响的研究国内外至今未见报道.

空心莲子草[*Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb.], 俗称水花生,属苋科莲子草属,为广布性的挺水植物,适应力强,对盐胁迫<sup>[15]</sup>、重金属污染<sup>[16-20]</sup>等有一定的耐性,同时对垃圾污水具有较强的净化效果<sup>[21,22]</sup>,能够净化水体中的 N、P、Cl<sup>[23]</sup>,对蔡废水也有较强的适应能力<sup>[24]</sup>,比较适合作为生态毒理实验的研究材料<sup>[25]</sup>. 由于  $\text{ClO}_4^-$  对环境和人类的危害主要是通过水环境系统来实现的,因此,本研究以空心莲子草为实验材料,在水培及可控条件下通过生长及叶绿素荧光参数的测定,探讨高氯酸盐污染对水生植物生长及生理的影响,以期为进一步分析高氯酸盐可能的植物毒理作用提供基础,并为水环境中高氯酸盐污染的监测和防治提供参考.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及处理方法

空心莲子草采于南京林业大学树木园,11月中旬采集后置于水缸中,用自来水预培养3d后,剪取茎端部分,保留5个节,含顶端分生组织,移入250 mL锥形瓶中,用1/20 Hoagland<sup>[20]</sup>营养液于光照培养箱中进行水培育苗. 培养条件:温度 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ ,光照12 h/12 h(昼/夜),光强  $70 \mu\text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1}$ . 待空心莲子草长至21 d(根、叶均已长成),选取生长状况基本一致的植株作为实验材料.

选取长势、大小、叶色基本一致的空心莲子草,用高氯酸盐的主要污染物  $\text{KClO}_4$  (AR)作为处理盐类,1/20 Hoagland 营养液为培养液进行水培处理,共为6个处理组(含对照), $\text{ClO}_4^-$  浓度分别为0(CK)、1、5、20、100、500 mg/L,每个处理重复4次,每3d更换1次处理液,处理时间为40 d. 选取生长节位相同,大小、发育年龄和叶色基本一致的叶片进行定位标记(叶色通过叶绿素计测定),用于叶绿素相对含量及叶绿素荧光参数的跟踪测定.

### 1.2 测定方法

植株相对生长量参考邱念伟等<sup>[26]</sup>的方法进行计算. 叶片叶绿素相对含量用手持便携式叶绿素计 SPAD-502 (Minolta, Japan) 进行测量,选取第3节(由顶向基)叶片<sup>[27]</sup>为测定材料,每片叶选取30个不同位置进行测定,取其平均值作为该叶片的相对叶绿素含量.

利用美国 Li-6400R (Li-cor, USA) 便携式荧光-光合作用测量系统的 6400-40 荧光叶室进行荧光参数的测定. 叶片经过一夜暗适应后,于次日清晨测定暗适应最大荧光  $F_m$  及最小荧光  $F_0$ , 获得 PS II 潜在量子效率  $(F_v/F_m) = (F_m - F_0)/F_m$ ; 测完暗适应荧光的植株于光照培养箱中进行充分光活化后,再测定稳态荧光  $F_s$ 、光下最小荧光  $F'_0$ , 光下最大荧光  $F'_m$ , 按 PS II 实际光化学效率  $(\Phi_{\text{PSII}}) = (F'_m - F_s)/(F'_m - F'_0)$ 、PS II 光下最大量子效率  $(F'_v/F'_m) = (F'_m - F'_0)/F'_m$ 、电子传递速率  $(\text{ETR}) = \Phi_{\text{PSII}} \times \text{PAR} \times C$  (式中 PAR 为光合有效辐射的通量密度、系数  $C$  取 0.42) 等公式计算得  $\Phi_{\text{PSII}}$ 、 $F'_v/F'_m$ 、ETR. 电子传递速率(ETR)响应曲线于处理40 d后,选取对照、1、5 mg/L  $\text{ClO}_4^-$  处理组进行测定,测定时叶室温度为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ ,  $\text{CO}_2$  浓度为 $(400 \pm 5) \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ . 以上测定每个处理重复8次.

### 1.3 数据分析

利用 Excel 2003 及 SPSS 11.5 软件对数据进行图表处理、方差分析及 Duncan 多重对比.

## 2 结果与分析

### 2.1 $\text{ClO}_4^-$ 对空心莲子草生长的影响

由表1可知, $\text{ClO}_4^-$  处理40 d后,对空心莲子草生长产生明显影响,单株相对生长量及根、茎、叶干重均随处理浓度的升高而呈下降趋势,1、5、20、100、500 mg/L  $\text{ClO}_4^-$  处理相对生长量分别为对照的61.6%、60.8%、53.1%、20.4%和3.3%. 统计分析表明,1 mg/L  $\text{ClO}_4^-$  处理即对根干重产生显著影响( $p < 0.05$ ),20 mg/L及以上浓度处理对茎、叶干重及单株相对生长量均产生显著影响. 根、茎、叶干重的变异系数由大到小依次为:叶 > 根 > 茎.  $\text{ClO}_4^-$  处理还使根、茎、叶生物量的分配比例发生改变,随处理浓度的升高,茎生物量所占比率呈增大趋势,而叶的比率逐渐降低,至20 mg/L以上浓度处理后急剧下降,与对照产生显著差异( $p < 0.05$ ). 根生物量所占比率呈先降后升的趋势,5 mg/L  $\text{ClO}_4^-$  处理已比对照显著下降( $p < 0.05$ ),而高浓度下的增加应与叶生物

表 1 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 处理对空心莲子草生长指标的影响<sup>1)</sup>

| Table 1 Effects of perchlorate treatment days on growth indexes of <i>A. philoxeroides</i> |               |                            |                            |                            |               |               |               |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------|---------------|---------------|
| ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup> /mg·L <sup>-1</sup>                                          | 相对生长量         | 茎干重<br>/mg·株 <sup>-1</sup> | 根干重<br>/mg·株 <sup>-1</sup> | 叶干重<br>/mg·株 <sup>-1</sup> | 茎占全株<br>百分率/% | 根占全株<br>百分率/% | 叶占全株<br>百分率/% |
| 0(CK)                                                                                      | 2.45 ± 0.44a  | 565 ± 37a                  | 43 ± 4a                    | 207 ± 6a                   | 69.19c        | 5.25a         | 25.56a        |
| 1                                                                                          | 1.51 ± 0.21ab | 538 ± 56ab                 | 25 ± 5b                    | 151 ± 11ab                 | 75.00c        | 3.52ab        | 21.44a        |
| 5                                                                                          | 1.49 ± 0.28ab | 525 ± 45ab                 | 21 ± 3bc                   | 148 ± 9ab                  | 73.62c        | 3.01b         | 23.38a        |
| 20                                                                                         | 1.30 ± 0.38b  | 406 ± 66bc                 | 17 ± 3bcd                  | 124 ± 38b                  | 75.20c        | 3.20b         | 21.60a        |
| 100                                                                                        | 0.50 ± 0.14c  | 332 ± 19c                  | 15 ± 2cd                   | 40 ± 12c                   | 85.93b        | 3.86ab        | 10.22b        |
| 500                                                                                        | 0.08 ± 0.09c  | 189 ± 50d                  | 10 ± 2d                    | 0d                         | 93.98a        | 6.02ab        | 0.00c         |
| 平均值(Mean)                                                                                  | 1.22          | 426                        | 21.8                       | 112                        |               |               |               |
| 标准偏差(SD)                                                                                   | 0.85          | 146                        | 12                         | 79                         |               |               |               |
| 变异系数(CV/%)                                                                                 | 65.0          | 34.4                       | 53.5                       | 69.2                       |               |               |               |

1) 同列中不同小写字母表示差异显著( $p < 0.05$ ),下同

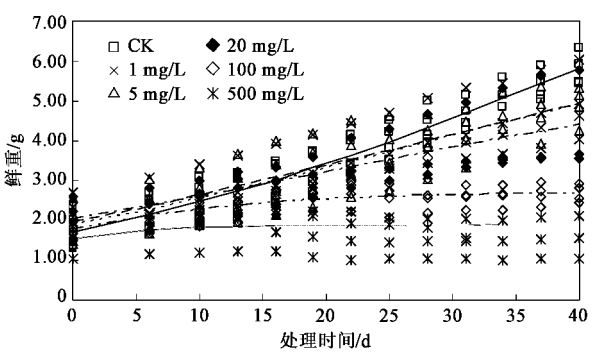
量的急剧下降有关.可见,ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 处理对空心莲子草根和叶生长的影响较大.

对对照及不同浓度 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 处理的空心莲子草植株的鲜重随处理时间的动态变化通过 logistic 方程拟合,其决定系数  $R^2$  在 0.937 ~ 0.999 之间,表明曲线拟合程度较高.由图 1 可知,对照鲜重的生长曲线呈逐渐上升的变化趋势,升幅最大,而不同浓度的 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 处理均使该生长趋势受到不同程度的抑制,抑制程度随着处理浓度的增高及时间的延长而加大,其中 1、5 mg/L ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 处理拟合曲线基本重合,与相对生长量测定结果(表 1)相符.1、5、20 mg/L ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 处理组分别在处理 18、15、14 d 之后生长受到较明显抑制,100 mg/L ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 处理组在处理 7 d 后进入生长延缓期,生长开始受抑制,而 500 mg/L ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 处理组在处理之初生长便受到抑制,其生长曲线基本呈一条直线,表明在此浓度下,生长已基本停止.

2.2 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 对空心莲子草叶绿素相对含量和叶绿素荧光参数的影响

2.2.1 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 对空心莲子草叶绿素相对含量的影响

由表 2 可知,与对照相比,各浓度的 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 处理均使 SPAD 值总体呈下降趋势,随着处理浓度和时间的增大,下降幅度逐渐增加,但在处理的初期(3 d)及低浓度处理(如 1 mg/L)时,与对照相比又呈现略有增加的现象,可能是空心莲子草对 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 胁迫的一种应激性反应.对照在处理后的 22d 左右,其 SPAD 值达到峰值,1、5 mg/L 处理组达到其 SPAD 值峰值的时间与对照组相近,20 mg/L 处理组 SPAD 值峰值出现在处理后 16 d 左右,100、500 mg/L 处理组 SPAD 值的峰值出现在处理后 3 d 左右,之后 SPAD 值开始下降.20 mg/L 处理组在整个处理期间,其 SPAD 值低于对照组,并随处理时间的延长,差距逐



ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 处理下空心莲子草的生长过程用 logistic 方程进行拟合,

$$\text{CK}(\text{—}): y = 11.2 / (1 + e^{1.71 - 0.045 \times t}), R^2 = 0.998;$$

$$1 \text{ mg/L}(\text{---}): y = 7.71 / (1 + e^{1.07 - 0.041 \times t}), R^2 = 0.999;$$

$$5 \text{ mg/L}(\text{---}): y = 7.57 / (1 + e^{1.11 - 0.043 \times t}), R^2 = 0.999;$$

$$20 \text{ mg/L}(\text{---}): y = 6.34 / (1 + e^{0.752 - 0.039 \times t}), R^2 = 0.996;$$

$$100 \text{ mg/L}(\text{---}): y = 2.71 / (1 + e^{-0.649 - 0.098 \times t}), R^2 = 0.937;$$

$$500 \text{ mg/L}(\text{---}): y = 1.91 / (1 + e^{-1.49 - 0.182 \times t}), R^2 = 0.967$$

图 1 ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 处理下空心莲子草生长中鲜重的动态变化

Fig.1 Dynamic changes in fresh weight of *A. philoxeroides* under perchlorate treatment

渐增大;此外,5 mg/L在处理 19 d 之后、1 mg/L在处理 31 d 之后,其 SPAD 值与对照相比其差值逐渐增大.可见,ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 处理浓度愈大,受影响的程度就愈大,时间愈早.多重对比表明,除了 1 mg/L 处理外,其余浓度处理均与对照差异显著(表 3).

此外,通过叶片外部观察发现,在处理 2 d 后,100、500 mg/L 处理组植株的顶端幼叶出现胁迫受害症状,到处理第 4d 时,顶叶反卷、焦枯、叶边缘变黑,到处理第 8 d 时,20 mg/L 的顶叶出现类似的胁迫症状,处理后第 20 d,5 mg/L 顶叶出现类似的胁迫症状,处理后第 25 d,1 mg/L 顶叶出现类似的胁迫症状;处理后 15 d 时,500 mg/L 处理组在第 2 ~ 3 节(顶端往下数)上的成熟叶片出现胁迫症状,表现为叶片

先端焦化、边缘失绿, 到处理后 20 d 左右时, 100 mg/L处理组成熟叶片出现类似胁迫症状, 到处理后 34 d 左右时, 20 mg/L处理成熟叶片出现明显的胁迫

症状. 空心莲子草植株经 500、100 mg/L  $\text{ClO}_4^-$  处理之后, 分别在处理后 25、34 d 时, 叶片完全枯落 (表 2).

表 2  $\text{ClO}_4^-$  对空心莲子草叶绿素相对含量 (SPAD) 的影响

| Table 2 Effects of perchlorate treatment on chlorophyll relative content of <i>A. philoxeroides</i> |                                              |          |          |          |          |          |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 时间/d                                                                                                | $\text{ClO}_4^-/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ |          |          |          |          |          |
|                                                                                                     | 0                                            | 1        | 5        | 20       | 100      | 500      |
| 0                                                                                                   | 47.0±1.1                                     | 46.2±1.1 | 47.6±1.1 | 46.0±1.1 | 47.1±1.5 | 47.3±0.8 |
| 3                                                                                                   | 47.8±0.7                                     | 48.4±1.1 | 48.8±2.2 | 47.3±0.8 | 48.4±1.2 | 49.0±0.7 |
| 6                                                                                                   | 48.9±1.4                                     | 49.3±0.9 | 48.9±2.2 | 47.2±1.9 | 46.1±1.3 | 46.5±0.7 |
| 10                                                                                                  | 51.7±1.3                                     | 51.5±1.3 | 51.2±2.6 | 49.0±1.1 | 47.1±1.1 | 46.2±1.0 |
| 13                                                                                                  | 52.8±1.3                                     | 51.6±1.1 | 52.9±2.2 | 50.4±1.0 | 47.8±1.6 | 46.7±1.1 |
| 16                                                                                                  | 53.3±1.6                                     | 52.6±1.1 | 52.7±2.3 | 51.7±1.5 | 48.0±1.4 | 45.0±1.1 |
| 19                                                                                                  | 53.2±1.7                                     | 53.1±1.0 | 53.7±2.4 | 48.3±1.0 | 46.0±1.3 | 38.5±2.4 |
| 22                                                                                                  | 53.2±2.0                                     | 54.3±0.9 | 53.1±1.8 | 49.5±1.1 | 44.2±0.7 | 34.7±2.9 |
| 25                                                                                                  | 52.3±1.8                                     | 54.0±1.3 | 51.7±1.7 | 49.2±1.1 | 43.5±1.0 | 无叶       |
| 28                                                                                                  | 52.3±1.5                                     | 54.3±1.8 | 52.2±2.0 | 47.5±0.5 | 41.5±3.3 | 无叶       |
| 31                                                                                                  | 51.9±1.8                                     | 52.9±1.4 | 51.5±1.8 | 44.2±2.4 | 32.9±6.5 | 无叶       |
| 34                                                                                                  | 48.7±1.9                                     | 48.5±0.7 | 46.6±2.2 | 44.2±0.8 | 无叶       | 无叶       |
| 37                                                                                                  | 52.9±2.4                                     | 52.3±0.7 | 48.3±2.0 | 46.6±0.8 | 无叶       | 无叶       |
| 40                                                                                                  | 51.5±1.8                                     | 50.2±0.9 | 46.4±2.7 | 44.5±0.4 | 无叶       | 无叶       |

表 3 不同处理之间叶绿素荧光参数及 SPAD 值的多重对比<sup>1)</sup>

| Table 3 Multi-comparison of chlorophyll fluorescence parameters and SPAD in different treatments |      |           |             |                      |     |  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-----------|-------------|----------------------|-----|--|
| $\text{ClO}_4^-$<br>/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$                                              | 变量   |           |             |                      |     |  |
|                                                                                                  | SPAD | $F_v/F_m$ | $F'_v/F'_m$ | $\Phi_{\text{PSII}}$ | ETR |  |
| 0 (CK)                                                                                           | a    | a         | a           | a                    | a   |  |
| 1                                                                                                | a    | a         | ab          | b                    | ab  |  |
| 5                                                                                                | b    | b         | a           | b                    | b   |  |
| 20                                                                                               | c    | c         | b           | b                    | b   |  |
| 100                                                                                              | d    | d         | c           | c                    | c   |  |
| 500                                                                                              | d    | e         | d           | d                    | d   |  |

1) SPAD: 叶绿素相对含量;  $F_v/F_m$ : PS II 潜在量子效率;  $F'_v/F'_m$ : PS II 光下潜在量子效率;  $\Phi_{\text{PSII}}$ : PS II 实际光化学效率; ETR: 电子传递速率, 下同

2.2.2  $\text{ClO}_4^-$  对空心莲子草  $F_v/F_m$ 、 $F'_v/F'_m$ 、 $\Phi_{\text{PSII}}$  和 ETR 的影响

图 2 显示了对照及不同浓度的  $\text{ClO}_4^-$  处理下, 荧光参数  $F_v/F_m$ 、 $F'_v/F'_m$ 、 $\Phi_{\text{PSII}}$  和 ETR 随时间的动态变化. 从中可知, 对照的  $F_v/F_m$  在处理过程中基本保持不变,  $F'_v/F'_m$ 、 $\Phi_{\text{PSII}}$  和 ETR 虽呈现一定的波动, 但总体也维持相对稳定. 与对照相比, 不同浓度的  $\text{ClO}_4^-$  处理组均使各荧光参数总体呈下降趋势, 下降程度随处理浓度的增大和时间的延长而增加. 但不同荧光参数受影响程度有所不同, 从处理 40 d 时的结果看, 1、5、20 mg/L 处理 (更高浓度处理已落叶) 的  $F_v/F_m$  分别为对照的 96.4%、94.1% 和 89.2%;  $F'_v/F'_m$  分别为 90.8%、90.5% 和 79.5%;

$\Phi_{\text{PSII}}$  为 85.2%、83.6% 和 74.1%; ETR 为 85.1%、84.0% 和 74.8%,  $F_v/F_m$  下降幅度较小, 而  $\Phi_{\text{PSII}}$  和 ETR 下降幅度较大. 从各参数的变化过程来看,  $F'_v/F'_m$ 、 $\Phi_{\text{PSII}}$  和 ETR 在处理的前期 (第 3 d) 均有一小幅升高的现象, 与 SPAD 值的变化相似, 可能是对  $\text{ClO}_4^-$  胁迫的一种应激性反应. 多重对比表明 (表 3), 各参数在 20 mg/L 及以上浓度  $\text{ClO}_4^-$  处理时与对照间均差异显著, 而  $\Phi_{\text{PSII}}$  在所有浓度的  $\text{ClO}_4^-$  处理时与对照间均差异显著.

2.2.3  $\text{ClO}_4^-$  对空心莲子草 ETR 光响应曲线的影响

对对照及 1、5 mg/L  $\text{ClO}_4^-$  处理组的电子传递速率光响应曲线采用 Platt 等<sup>[28]</sup> 的方程进行拟合, 其决定系数  $R^2$  分别为: 0.992、0.987 和 0.997, 表明曲线拟合程度较高. 由图 3 可知, 随着 PAR 的增加, 各处理 ETR 均呈现先迅速升高、至最大值后又缓慢下降的趋势, 各处理间曲线的初始斜率基本相同, 在低光强条件下, 如  $100\ \mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$  以下, 对照与 1、5 mg/L 处理组相比, ETR 略高, 随着光强增强, 不同处理之间 ETR 的差距增大. 对照、1、5 mg/L 处理组的最大电子传递速率  $\text{ETR}_{\text{max}}$  分别为: 41.76、37.21 和  $35.15\ \mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$ , 1、5 mg/L 处理分别降为对照的 89.1% 和 84.2%; 对照、1、5 mg/L 处理组的半饱和光强  $E_k$  分别为: 124.49、118.78 和  $106.53\ \mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$ , 1、5 mg/L 处理分别降为对照的 94.9% 和 85.6%. 可见,  $\text{ClO}_4^-$  处理使空心莲子草

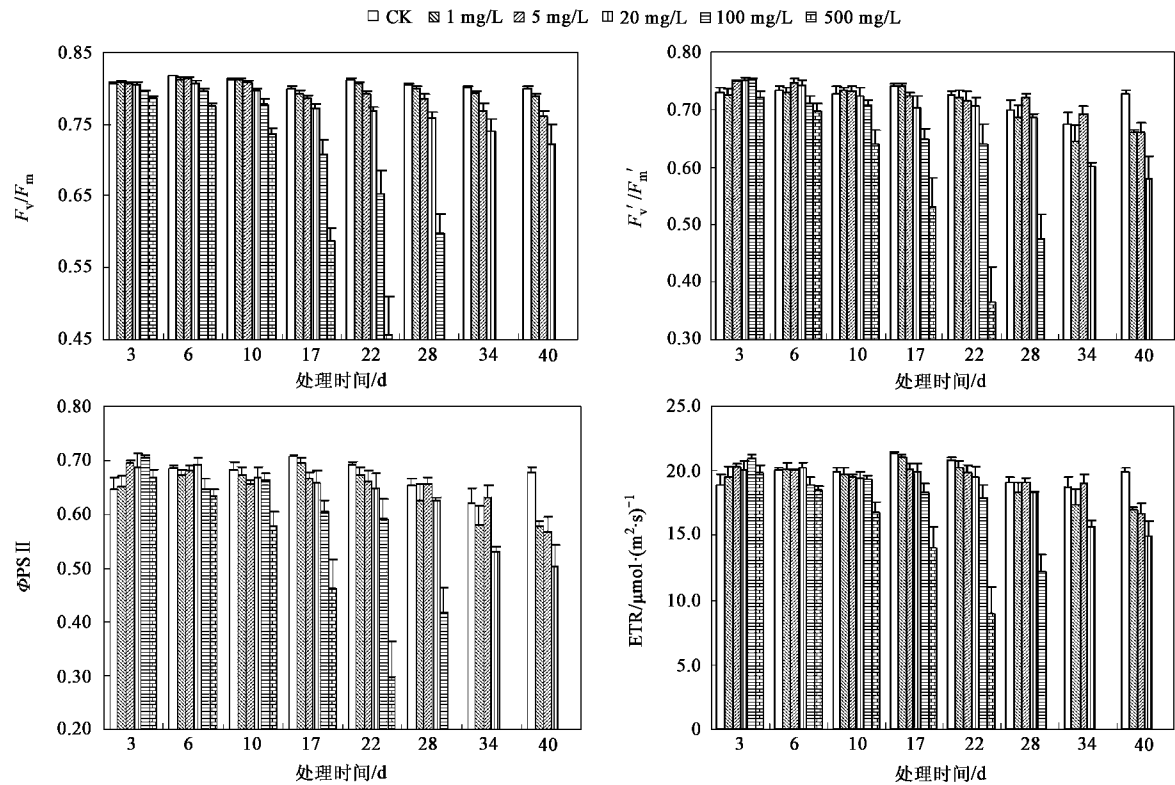


图 2  $\text{ClO}_4^-$  对空心莲子草  $F_v/F_m$ 、 $F_v'/F_m'$ 、 $\Phi_{PSII}$  和 ETR 的影响

Fig.2 Effects of perchlorate treatment on  $F_v/F_m$ ,  $F_v'/F_m'$ ,  $\Phi_{PSII}$  and ETR of *A. philoxeroides*

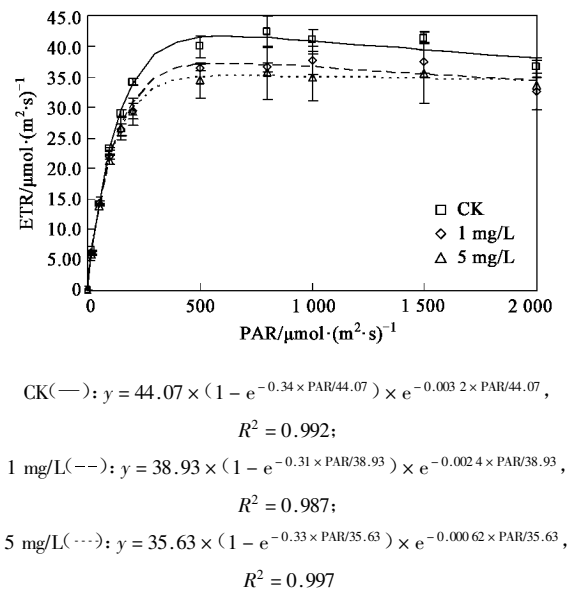


图 3  $\text{ClO}_4^-$  对空心莲子草电子传递速率光响应曲线的影响

Fig.3 Effects of perchlorate treatment on ETR light response curve of *A. philoxeroides*

$ETR_{\text{max}}$  和  $E_k$  降低,处理浓度愈高,下降幅度愈大.

3 讨论

通过各项生长指标的测定结果表明,各浓度的

$\text{ClO}_4^-$  处理均不同程度地抑制了空心莲子草的生长,抑制程度随处理浓度的增高及时间的延长而加重. 尽管低浓度(1、5 mg/L)处理对个体相对生长量和茎生物量等的影响不显著,但从叶片的外部观察发现即使低浓度处理下幼叶也能呈现明显受伤害症状,这可能是由于生长量为累积量的指标,  $\text{ClO}_4^-$  对幼叶等的伤害作用短时间内不易在生长量上呈现显著差异,同时也反映了  $\text{ClO}_4^-$  对空心莲子草的幼嫩组织可能产生毒害作用,进而导致生长受抑制. 此外,由于本试验在实验条件下,处理时间相对较短(40 d),如果处理时间延长或在实际条件下,将可能使空心莲子草生长产生显著影响的  $\text{ClO}_4^-$  浓度大为降低.

$\text{ClO}_4^-$  处理对空心莲子草各部分器官的影响程度是不同的. 首先,从各器官生物量的变异系数有所反映,变异系数是测量各性状受一定环境条件影响发生变异程度的指标<sup>[29]</sup>,对本试验而言,变异系数反映的是  $\text{ClO}_4^-$  处理对各器官生长量的影响程度,从测定数值:叶 > 根 > 茎,说明  $\text{ClO}_4^-$  对叶和根的生长影响较大;其次,从处理过程中根茎叶三者之间的生物量分配关系的动态变化(茎的比例上升、叶的比例下降)也说明叶受到影响较大,而茎所受影响最

小.此外,从试验期间对植株的外部观察也表明,不同浓度  $\text{ClO}_4^-$  处理均使幼叶出现明显伤害症状,如顶叶反卷、失绿、叶缘变黑、焦枯等,叶芽不能正常发育和分化,而根和茎未观察到明显的受害症状.说明叶(包括叶芽)尤其是幼嫩组织对  $\text{ClO}_4^-$  污染较为敏感,受伤害程度及生物量的损失最大,可以作为污染监测的敏感外观指标,  $\text{ClO}_4^-$  污染对叶组织的伤害作用还需从细胞结构上进一步研究.

叶绿素是植物光合作用过程中光能吸收和转换的基础,叶绿素含量的高低也是反映植物生长健康状况的重要指标.本试验所采用的手持便携式叶绿素计(SPAD-502)可以快速、非破坏性地跟踪测定叶片叶绿素的水平<sup>[30]</sup>.  $\text{ClO}_4^-$  处理导致空心莲子草叶片叶绿素含量的降低一方面可能是由于抑制了叶绿素的合成;另一方面,可能是导致了叶绿素的破坏和降解,从叶片的外部受害症状来看,后一原因可能是主要的.

叶绿素荧光动力学技术被称为研究植物光合功能快速、无损伤的探针,在测定植物光合作用过程中,与表观性的气体交换指标相比,叶绿素荧光参数更具有反映内在性的特点.其中,  $F_v/F_m$  是反映光系统 II (PS II) 光化学效率的稳定指标,没有遭受环境胁迫并经过充分暗适应的植物叶片,其大小一般在 0.80 左右,胁迫条件下该参数明显下降,表明 PS II 可能受到伤害<sup>[31]</sup>. 本实验结果表明,  $\text{ClO}_4^-$  处理可降低空心莲子草  $F_v/F_m$  (图 3),这说明  $\text{ClO}_4^-$  会对植物叶片光合器官造成伤害.  $F'_v/F'_m$  为 PS II 光下潜在量子效率,  $\Phi_{\text{PSII}}$  为作用光下 PS II 的实际光化学效率,反映了 PS II 反应中心在环境胁迫中有部分关闭情况下的实际原初光能捕获效率,也是实际的 PS II 反应中心进行光化学反应的效率<sup>[32]</sup>. ETR 反映了 PS II 电荷分离的相对速率,它与植物光合速率有很强的线性关系,是一个表征植物光合能力高低的变量<sup>[33]</sup>. 综合各参数的测定结果,表明  $\text{ClO}_4^-$  使空心莲子草对光能的利用效率下降,并降低其对强光的耐受性(图 3),PS II 及光合电子传递链可能遭到破坏. 从各参数的动态变化过程及统计分析比较来看,荧光参数比生长指标对  $\text{ClO}_4^-$  具有更强的敏感性,叶绿素含量及其荧光参数可以作为空心莲子草对  $\text{ClO}_4^-$  胁迫反应的敏感内在指标,尤其是  $\Phi_{\text{PSII}}$ 、SPAD 和 ETR 等.

本研究初步表明,  $\text{ClO}_4^-$  污染会使空心莲子草的生长受到较明显的抑制,并在外观上表现明显的叶

片伤害症状,  $\text{ClO}_4^-$  的作用与其降低光合功能、损伤光合器官有关,影响程度与  $\text{ClO}_4^-$  处理浓度及时间呈正相关. 由于本研究仅以空心莲子草一种试材并在有限的试验时间内进行,对其他植物的影响作用以及在更低浓度下长期的影响效应如何尚需进一步研究,此外,  $\text{ClO}_4^-$  对空心莲子草伤害作用的机制及其毒理效应也待进一步探讨.

## 4 结论

(1) 1 ~ 500 mg/L 的  $\text{ClO}_4^-$  处理均不同程度地抑制空心莲子草根、茎、叶生物量及单株相对生长量,其中根生物量对照与各浓度处理之间均存在显著差异. 处理 40 d 后,各浓度(由低到高)处理的相对生长量分别为对照的 61.6%、60.8%、53.1%、20.4% 和 3.3%;  $\text{ClO}_4^-$  处理下根、茎、叶生物量的变异系数大小依次为:叶 > 根 > 茎;  $\text{ClO}_4^-$  处理使根茎叶三者之间的生物量分配关系发生变化,使茎的生物量分配系数增大,而叶降低,其中 100、500 mg/L  $\text{ClO}_4^-$  处理组与对照相比差异显著. 空心莲子草各器官对  $\text{ClO}_4^-$  的敏感程度以叶和根较高,茎较低.

(2) 不同浓度的  $\text{ClO}_4^-$  处理均使空心莲子草幼叶出现明显的伤害症状,顶叶反卷、叶缘变黑、焦枯,受害程度与处理浓度和时间呈正相关.

(3) 不同浓度的  $\text{ClO}_4^-$  处理使叶片 SPAD 值、 $F_v/F_m$ 、 $F'_v/F'_m$ 、 $\Phi_{\text{PSII}}$ 、ETR、ETR<sub>max</sub> 等荧光参数均出现不同程度的下降趋势,下降幅度随处理时间及浓度的增加而增大,通过不同参数的动态变化及多重对比分析表明,SPAD 及  $\Phi_{\text{PSII}}$  等荧光参数可以作为反映空心莲子草受  $\text{ClO}_4^-$  胁迫影响的内在敏感生理指标. 以上结果说明高氯酸盐处理会导致空心莲子草光合系统的损伤及光化学效率的下降,抑制其生长,并使叶片产生明显伤害.

## 参考文献:

- [1] Andrea B K. Environmental perchlorate: Why it matters[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, **567**(1): 4-12.
- [2] Shi Y L, Zhang P, Wang Y W, *et al.* Perchlorate in sewage sludge, rice, bottled water and milk collected from different areas in China [J]. *Environment International*, 2007, **33**: 955-962.
- [3] Philip N S, Lu Y, Scott T M, *et al.* Perchlorate in water, soil, vegetation, and rodents collected from the Las Vegas Wash, Nevada, USA[J]. *Environmental Pollution*, 2004, **132**(1): 121-127.
- [4] Edward T U, Matthew L M, Kelly C A, *et al.* Perchlorate uptake by salt cedar (*Tamarix ramosissima*) in the Las Vegas Wash riparian ecosystem[J]. *Science of the Total Environment*, 2000, **256**(2-3):

- 227-232.
- [5] Kui T, Jones M W, Smith P N, *et al.* Accumulation of perchlorate in aquatic and terrestrial plants at a field scale [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2004, **33**(5): 1638-1646.
- [6] Helbing C C, Bailey C M, Ji L, *et al.* Identification of gene expression indicators for thyroid axis disruption in a *Xenopus laevis* metamorphosis screening assay: Part 1. Effects on the brain [J]. *Aquatic Toxicology*, 2007, **82**(4): 227-241.
- [7] Mukhi S, Torres L, Patiño R. Effects of larval-juvenile treatment with perchlorate and co-treatment with thyroxine on zebrafish sex ratios [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2007, **150**(3): 486-494.
- [8] 张萍, 史亚利, 蔡亚岐, 等. 改进的离子色谱法测定环境水样中的高氯酸盐[J]. *高等学校化学学报*, 2007, **28**(7): 1246-1250.
- [9] 张萍, 史亚利, 蔡亚岐, 等. 大体积进样离子色谱法测定环境水样中高氯酸根[J]. *分析化学*, 2006, **34**(11): 1575-1578.
- [10] 张萍, 史亚利, 王亚慧, 等. 离子色谱-质谱联用技术测定污泥样品中的痕量高氯酸盐[J]. *分析化学*, 2007, **35**(1): 131-134.
- [11] 史亚利, 刘肖, 张萍, 等. 离子色谱-质谱联用技术测定饮用水及环境水样中的痕量高氯酸盐[J]. *分析试验室*, 2007, **26**(4): 34-37.
- [12] Herbert P W, Pepich B V, Pohl C, *et al.* Selective method for the analysis of perchlorate in drinking waters at nanogram per liter levels, using two dimensional ion chromatography with suppressed conductivity detection [J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, **1155**(1): 15-21.
- [13] Wang D M, Huang C P, Chen J G, *et al.* Reduction of perchlorate in dilute aqueous solutions over monometallic nano-catalysts: Exemplified by tin[J]. *Separation and Purification Technology*, 2007, **58**(1): 129-137.
- [14] Zhong X, Zhao D Y, Pan G. Rapid and complete destruction of perchlorate in water and ion-exchange brine using stabilized zero-valent iron nanoparticles [J]. *Water Research*, 2007, **41**(15): 3497-3505.
- [15] 夏汉平, 刘世忠, 敖惠修. 香根草等 3 种植物的抗盐性比较[J]. *应用与环境生物学报*, 2000, **6**(1): 7-17.
- [16] 颜素珠, 梁东, 彭秀娟. 八种水生植物对污水中重金属——铜的抗性 & 净化能力的探讨[J]. *中国环境科学*, 1990, **10**(3): 166-170.
- [17] 周红卫, 施国新, 陈景耀, 等. 6-BA 对水花生抗氧化酶系  $Hg^{2+}$  毒害的缓解作用[J]. *生态学报*, 2003, **23**(2): 387-392.
- [18] 周红卫, 施国新, 徐勤松.  $Cd^{2+}$  污染水质对水花生根系抗氧化酶活性和超微结构的影响[J]. *植物生理学通讯*, 2003, **39**(3): 211-214.
- [19] 周红卫, 施国新, 徐勤松, 等.  $Cr^{6+}$  和  $Cr^{3+}$  对水花生几种生理生化指标的影响比较[J]. *农村生态环境*, 2002, **18**(4): 35-40.
- [20] Ding B Z, Shi G X, Xu Y, *et al.* Physiological responses of *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb leaves to cadmium stress [J]. *Environment Pollution*, 2007, **147**: 800-803.
- [21] 夏汉平, 王庆礼, 孔国辉. 垃圾污水的植物毒性和植物净化效果之研究[J]. *植物生态学报*, 1999, **23**(4): 289-301.
- [22] 贾凤芝, 谢平, 陈俊玲. 水花生对城市污水净化能力的研究[J]. *水处理技术*, 1998, **24**(5): 308-310.
- [23] 夏汉平. 香根草和水花生对垃圾污水中 N、P、Cl 的吸收效果[J]. *植物生态学报*, 2000, **24**(5): 613-616.
- [24] 刘建武, 林逢凯, 王郁. 水生植物净化生活污水净化能力研究[J]. *上海环境科学*, 2002, **21**(7): 412-415.
- [25] Naqiv S M, Rizvi S A. Accumulation of chromium and copper in three different soils and bioaccumulation in an aquatic plant, *Alternanthera philoxeroides* [J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2000, **65**: 55-61.
- [26] 邱念伟, 马宗琪, 王凤德, 等. 一种测定植物相对生长量的方法[J]. *山东科学*, 2007, **20**(2): 24-28.
- [27] 张彩云, 刘卫, 徐志防, 等. 入侵种喜旱莲子草和莲子草的营养生长和光合作用对温度的响应[J]. *热带亚热带植物学报*, 2006, **14**(4): 333-339.
- [28] Platt T, Gallegos C L, Harrison W G. Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton [J]. *J Mar Res*, 1980, **38**: 687-701.
- [29] 薛春善, 尹景本. 多元统计分析棉花品质性状的研究[J]. *安徽农业科学*, 2008, **36**(13): 5247-5248, 5534.
- [30] Manetas Y, Grammatikopoulos G, Kypris A. The use of the portable, non-destructive, SPAD-502 (Minolta) chlorophyll meter with leaves of varying trichome density and anthocyanin content [J]. *J Plant Physiol*, 1998, **153**: 513-516.
- [31] 许大全. 光合作用效率[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002. 29-36.
- [32] Carrasco R M, Rodriguez J S, Perez P. Changes in chlorophyll fluorescence during the course of photoperiod and in response to drought in *Casuarina equisetifolia* Forst. and Forst. [J]. *Photosynthetica*, 2002, **40**(3): 363-368.
- [33] Michal K, David K, Ladislav N. On the relation between the non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence and photosystem II light harvesting efficiency. A repetitive flash fluorescence induction study [J]. *Photosynthesis Research*, 2001, **68**: 141-152.