doi:10.3799/dqkx.2012.013

大亚湾马尾藻细胞中 Cu、Pb、As 的 生物地球化学特征与环境意义

苗 莉,颜 文*,钟立峰,徐维海,颜 彬

中国科学院南海海洋研究所,中国科学院边缘海地质重点实验室,广东广州 510301

摘要:为了全面理解大亚湾海域环境典型重金属污染水平以及潜在的生态危害,以海水一沉积物一马尾藻为系统研究对象, 分析重金属污染元素 Cu、Pb、As 在大亚湾表层沉积物、海水、马尾藻以及细胞超微结构中的地球化学和生物地球化学特征,结 果表明,沉积物和海水中 Cu、Pb、As 的平均含量均未超过国家一类质量标准,部分站位因外源输入含量较高.生物富集系数表 明,马尾藻对重金属吸收大小顺序为 As>Pb>Cu,且表现出对砷较强的富集吸收能力.透射电子显微镜下,大亚湾重金属元 素生物地球化学效应主要表现为马尾藻细胞超微结构异常和变形,并出现大量黑色电子致高密度体.能谱分析表明,Cu、Pb、 As 等重金属元素以电子致高密度体的形式淀积在马尾藻细胞的内部组织结构中,对细胞超微结构有损伤诱变作用,为大亚湾 生态环境提供早期预警信号.

关键词: 生物地球化学;重金属;马尾藻;大亚湾.

中图分类号: X55 **文章编号:** 1000-2383(2012)01-0139-06

收稿日期: 2010—12—21

Biogeochemical Characteristics and Its Environmental Significance of Heavy Metals in the *Sargassum* Cells in Daya Bay, China

MIAO Li, YAN Wen*, ZHONG Li-feng, XU Wei-hai, YAN Bin

CAS Key Laboratory of Marginal Sea Geology, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China

Abstract: In order to make a comprehensive analysis of the heavy metals pollution and potential ecological risk in Daya bay, China, this paper focuses on seawater-sediment-Sargassum system as research object and analyzes the geochemical and biogeochemical characteristics for Cu, Pb and As in the seawater, surface sediment, Sargassum and cells of Sargassum. The results show that the concentrations of Cu, Pb and As are lower than the values of grade I national standards for sediment, but some are of high-value in some sampling sites because of the source of input. The biological absorption coefficients indicate that the accumulation ability of heavy metals for Sargassum is arranged from high to low, as follows: As>Pb>Cu and Sargassum exhibits high abilities of accumulation of As. The study of the ultrastructure using transmission electron microscope reveals that the cell structures of Sargassum are anomalous and aberrant and there are lots of relatively high electron-density substance diffuse in the cell structures induce irreversible damage to the cell. The results provide the forepart warning information for ecological environment of Daya bay.

Key words: biogeochemistry; heavy metals; Sargassum; Daya bay.

大亚湾位于我国南海北部,西南邻香港,西邻大 鹏湾,东接红海湾,面积约 600 km²,是我国海洋生 产力最丰富的海域之一,其生态环境状况历来受到 人们的关注.自 20 世纪 80 年代以来,大亚湾地区的 工业生产活动迅速发展,城市化运动方兴未艾,人口 密度剧增,特别是一些特大型项目如正运行的大亚

基金项目:中国科学院、国家外国专家局创新团队国际合作伙伴计划(No. KZCX2-YW-T001);国家自然科学青年基金(Nos. 41106104, 40802087);广东省"908"成果集成项目(No. GD908-JC-07);中科院南海海洋研究所青年人才领域前沿项目(No. SQ200807). 作者简介:苗莉(1980-),女,助理研究员,博士,主要从事海洋环境和生物地球化学研究.*通讯作者:颜文,E-mail: wyan@scsio.ac. cn

湾核电站、岭澳核电站以及正在大幅增资扩产的石 化项目,将会或已经给大亚湾生态环境带来深刻影 响和变化(王肇鼎等,2003; Wang et al., 2008a, 2008b);金属元素(Cd、Co、Cr、Cu、Fe、Mn、Pu、Sr、 Zn)输入通量自 20 世纪 80 年代以来发生了显著的 变化,海域底质重金属含量总体呈上升趋势,生物群 落组成明显小型化,生态系统正经历着快速退化过 程(郑庆华等,1992;李学杰,2003;王友绍等,2004; Chen et al., 2010; Yu et al., 2010). 目前,几乎还 没有开展有关海洋生物细胞组织对大亚湾重金属环 境做出何种反应,以及重金属是否已经入侵并破坏 生物细胞组织结构从而造成生理生态的变化甚至遗 传变异类似的研究,所以,同时从元素的地球化学和 生物细胞学角度入手,研究大亚湾海域典型重金属 元素的生物地球化学效应,全面理解大亚湾海域环 境典型重金属污染水平以及潜在生态危害,为揭示 和判断典型重金属污染物的分布和富集以及环境污 染状况提供依据,有助于进一步了解重金属元素污 染对大亚湾生态系统和生物资源的影响.

1 材料与方法

1.1 样品采集

调查大亚湾沿岸主要工矿企业、城镇、旅游景点 等的工业和生活污水排放点的位置、排放强度、方 式、沿岸主要河流(径流)的入口点等,确定采样的具 体站位(图 1). 采集海水(表层、底层)、表层沉积物、马 尾藻样品. 水样(10 L)用玻璃瓶保存,经0.7 µm玻璃 滤膜过滤悬浮物,加1:1 硝酸至 pH小于2,在低于 4℃的温度下保存样品. 底质(沉积物)由 Grab 采样 器采集,并装入聚乙烯袋,在低于4℃下冷藏保存样 品. 马尾藻确保新鲜状态,并装入聚乙烯袋在低于 4℃温度下冷藏保存.

1.2 实验方法

沉积物、马尾藻样品自然风干,去除杂质,在刚 玉和玛瑙机械碎样机上研磨、混合,碾磨成粒径小于 100 目的粉末样. 准确称取 40 mg 样品于 Teflon 溶 样罐中,加2mL HNO₃和0.5mL HF 封盖,静置 2 h后,在 150 ℃电热板上溶样 24 h,加 0.25 mL HClO₄ 于 150 ℃ 电热板上蒸至近干. 加 1 mL HNO₃和1 mL H₂O 密闭于 120 ℃ 电热板回溶 12 h,用高纯水定容至 40 g,电感耦合等离子体质谱 测试 Cu、Pb. 海水在超净实验室内用 2% 硝酸将样 品稀释 15 倍,采用 Akagi(1985)处理方法,电感耦 合等离子体质谱测试 Cu、Pb. 另取样品, As 的测定 参阅国家标准 GB/T17134-1997 采用二乙基二硫代 氨基甲酸银分光光度法进行 As 的测定. 样品分析 过程中加入国家标准沉积物样品(GBW07314、 GBW07315、GBW07316)、海水标准物质 (GBW080040)、生物样品标准物质(GBW08517-海 带、GBW08571-黄鱼、GBW010016-茶叶),其测定值 和标准值见表1,各元素分析测定在误差标准之内,



Fig. 1 Location of sampling sites in Daya bay, China

Table 1	Values of determin	nation and standa	ard for reference	materials
标准物质	测定值与标准值	Cu	Pb	As
GBW07314	测试值	34.10	25.60	10.70
GBW07314	标准值	31 ± 4	25 ± 4	10.3 \pm 1.2
GBW07315	测试值	330.00	33.40	7.50
GBW07315	标准值	357 ± 20	37 ± 4	7.1 \pm 0.6
GBW07316	测试值	220.00	19.50	5.00
GBW07316	标准值	231 ± 10	22 ± 5	4.6±0.5
GBW08517	测试值	5.28	1.47	14.81
GBW08517	标准值	5.01±0.32	1.41±0.12	13.9 \pm 2.4
GBW08571	测试值	7.23	1.99	6.27
GBW08571	标准值	7.7 ± 0.9	1.96 ± 0.09	6.1±1.1
GBW010016	测试值	19.46	1.61	0.10
GBW010016	标准值	18.6 \pm 0.7	1.5±0.2	0.09 ± 0.01
$GBW080040(\mu g/kg)$	测试值	5.26	10.60	3.56
GBW080040(µg/kg)	标准值	5.0 ± 0.4	10.0 ± 0.6	—

	衣工	你小/庄	初则以的	化阻-	一小小庄旧	[(114	g/ Kg J	
Fable 1	Values	of deter	mination	and s	standard	for	reference	materi

并用平行样和流程空白进行质量控制,各样品相对标准偏差(RSD)均小于5%,实验在中国科学院海洋研究所海洋地质与环境重点实验室完成.

取马尾藻新鲜根、叶部位,用4%戊二醛和1% 锇酸双重固定,磷酸缓冲溶液冲洗6次,酒精(50%、 70%、80%、90%、100%)系列脱水,环氧丙烷过滤2 次,812树脂按3:1、1:1和1:3梯度渗透,纯包 埋剂包埋过夜,45℃、60℃梯度聚合,切片,染色,于 TECNAI12型透射电镜(荷兰产)下观察细胞超微 结构,X射线能谱仪(EDS)联用测定细胞内元素的 质量百分比(wt%)和原子百分比(At%),实验在华 南农业大学生命科学院完成.

2 结果与讨论

2.1 表层沉积物和海水中重金属 Cu、Pb、As 的含 量与分布特征

大亚湾表层沉积物重金属元素平均含量和变化 范围见表 2,其中 Cu、Pb、As 的质量分数变化范围 分别为 5.50~53.16 mg/kg、24.15~47.04 mg/kg、 4.36~14.05 mg/kg,平均质量分数分别为 19.44、 33.99、9.85 mg/kg,含量大小顺序为:Pb>Cu> As,均低于国家海洋沉积物一类质量标准 (GB18668-2002).其中,Pb平均含量高于全国海岸 带背景值,而 S3 站点 Cu含量高于国家海洋沉积物 一类质量标准,含量为 53.16 mg/kg.与其他站点比 较,大亚湾核电站、岭澳核电站以及南海石化基地附 近海域沉积物中 Cu、Pb、As 的含量均较高,其中 S3 站点出现最大值,湾外海域偏低,这说明 Cu、Pb、As 很可能具有相同的污染来源,核电站及其配套工程 的运行和建设是大亚湾重金属污染的重要来源.与 1988年调查结果相比,表层沉积物中 Cu、As 含量 有所增大,Pb含量稍微降低;与1999年调查结果相 比,Cu和As含量稍微增大,Pb变化不大.自20世 纪80年代以来,大亚湾重金属元素输入通量发生了 变化,其中Cu、As的含量有着一定程度的积累,与 大亚湾地区开始大规模开发和建设的年代吻合,海 域底质重金属含量总体呈上升趋势,近10a来沉积 物中Pb的含量有所控制,但Cu、As含量仍偏高.

大亚湾海域表层水和底层水重金属含量差别不 大,平均含量低于国家海水一级标准,其中 H1、S3、 S12 站点底层水中 Cu 以及 H1、S4 站点表层水中 Pb 的含量超过国家海水一级标准值,与其他站点相 差较大,说明可能有外源输入的影响,其他站点元素 含量变化幅度相对较小.

2.2 马尾藻中重金属 Cu、Pb、As 含量及其富集

马尾藻中 Cu、Pb、As 含量变化范围分别为 3.06~4.81 mg/kg、2.36~18.41 mg/kg、50.16~ 261.73 mg/kg,平均含量分别为 3.94、7.74、 122.29 mg/kg.马尾藻中重金属元素的含量均高于 海水中重金属元素的含量,且马尾藻中 As 的含量 高于表层沉积物.马尾藻重金属元素 Cu、Pb、As 浓 度大小顺序为:As>Pb>Cu,与其生存的海水和沉 积物中各重金属浓度的大小排列顺序不一致,说明 马尾藻对重金属的累积受多种因素制约.气候和人 为活动等外界条件对藻类的化学元素有着直接或间 接的影响,但植物本身对元素所具有的选择性吸收 能力,是决定其元素含量特征的首要因素.以重金属

Table 2 Contents	of Cu, 1 b, As in surface se	annent, seaw	ater and Sargassu	<i>m</i> III Daya Day, Clillia
研究对象	取值	Cu	Pb	As
沉积物	变化范围(mg/kg)	5.50~53.16	24.15~47.04	4.36~14.05
沉积物	平均值(mg/kg)	19.44±8.42	33.99 ± 7.09	9.85±2.13
沉积物	国家沉积物一类标准(mg/kg)	35	60	20
沉积物	1988 年(mg/kg)	18.00	40.40	8.90(郑庆华等,1992)
沉积物	1999 年(mg/kg)	11.00	34.50	5.94(李学杰,2003)
沉积物	全国海岸带背景值(mg/kg)	30	25	15
海水,表层水	变化范围(μg/kg)	1.51~3.55	0.36~1.33	1.36~2.72
海水,表层水	平均值(µg/kg)	2.47 \pm 0.36	0.72 ± 0.04	2.10 ± 0.27
海水,底层水	变化范围(μg/kg)	2.19~5.55	0.25~0.64	2.35~3.99
海水,底层水	平均值(µg/kg)	3.11±0.35	0.46±0.05	2.88 ± 0.37
海水	国家海水一级标准(µg/kg)	$\leqslant 5$	$\leqslant 1$	≪20
马尾藻	变化范围(mg/kg)	3.06~4.81	2.36~18.41	50.16~261.73
马尾藻	平均值(mg/kg)	3.94 ± 1.12	7.74 ± 4.10	122.29 ± 32.60

表 2 大亚湾表层沉积物、海水、马尾藻中重金属 Cu、Pb、As 含量

Table 2 Contents of Cu, Pb, As in surface sediment, seawater and Sargassum in Daya bay, China

注:参照国家海水水质标准 UCD 551463,GB 3097-1997 和海洋沉积物质量标准 GB18668-2002.





在马尾藻体内的浓度与表层海水中浓度的比值,计 算重金属在沉积物和马尾藻中的富集系数,表征马 尾藻对重金属元素的吸收富集能力.重金属 Cu、 Pb、As 在马尾藻中的生物富集系数分别为:1.6× 10³、10.8×10³和58.2×10³,马尾藻对各重金属元 素的吸收富集能力依次为:As>Pb>Cu,表现出对 As 的超富集能力.

2.3 马尾藻细胞超微结构特征

化学分析测定的数值只能提供现有的重金属总浓度,不能说明其中生物可以利用的活性部分对生物具有的潜在威胁,在达到仪器检测被发觉之前重金属可能已对生物产生毒害效应,甚至显示出明显的症状(Waldichuk, 1985).大亚湾马尾藻细胞超微

结构在透射电子显微镜下变异现象极为明显.其主 要表现为马尾藻根、叶细胞超微结构遭受破坏.根表 皮部分细胞已呈空泡化,在空泡化细胞内或者细胞 壁上出现絮状黑色电子密度体(图 2a);细胞壁出现 裂隙或者断裂现象,甚至质壁分离,整个细胞萎缩瓦 解(图 2b).叶细胞内叶绿体变形,嗜锇体增多变大, 基粒片层排列紊乱,核仁膨大,核质空泡,部分出现 明显的质壁分离,细胞质中细胞器已溶解变形,无法 辨识其结构(图 2c,2d).另一大特征表现为细胞中出 现大量电子致高密度体,这些黑色颗粒状物质或沿细 胞壁、细胞体膜及体膜边缘淀积,使膜性结构变得粗 糙或者局部破坏,或呈细点状分散分布于液泡中(图 2e,2f,2g,2h).



Fig. 3 Chemical analysis of the ultrastructure of the Sargassum cell by energy-dispersive X-ray spectroscopy

2.4 马尾藻细胞电子致高密度体物质的成分特征

大亚湾马尾藻细胞出现的黑色电子密度体物质 (图 2f,2g,2h 中 A、B、C 区)的微区能谱分析结果见 图 3a,3b,3c,除含由 Ni 网引起的 Ni 和样品固定过 程中由固定剂锇酸引起的 Os、U 外,主要含有常规 的 C、O 以及重金属元素 Cu、Pb、As、Hg 等,其中 Cu 的含量较高,重量百分比含量范围 29%~42%. 这同大亚湾重金属元素地球化学异常的元素组成一 致,说明重金属 Cu、Pb、As 等元素的地球化学组成同 细胞超微结构的异常存在着密切的关系,表现形式是 重金属元素 Cu、Pb 等在细胞中含量较高,以电子致 高密度体的形式淀积在细胞内部组织中,使得细胞产 生变异效应,对马尾藻的生理结构造成伤害.

高价态重金属离子具有很强的氧化还原电势, 可氧化细胞膜的不饱和脂肪酸产生氧自由基,并通 过链式反应破坏膜结构.叶绿体的破坏与重金属沉 积于类囊体上并与膜上蛋白体结合进而破坏叶绿体 酶系统阻碍叶绿体的合成有关,叶绿体基粒整齐片 层结构的丧失是细胞进入衰老期最早、最明显的现 象.电镜观察中细胞内的嗜锇颗粒和电子密集物也 明显增多,细胞核异染色质化程度加深,说明在这一 时期细胞膜系统已经崩溃,细胞的生理活性随着其 衰老程度的加深呈下降趋势,细胞已经进入死亡阶 段.重金属的胁迫可严重破坏植物体内的抗氧化酶 系统,尤其超氧化物歧化酶(SOD)的活性,必将使在 植物体内高度积累的活性氧自由基启动并加剧膜的 过氧化作用,从而破坏膜的通透性,导致空泡化等致 死性损伤(彭鸣等,1991).核结构的畸变和破坏与植 物受重金属环境的胁迫后核膜特性和细胞渗透性受 到破坏有关(杨丹慧,1991;李元等,1992);叶绿体、 细胞核等是具有重要生理功能的细胞器,其结构受 到严重损伤,必将导致细胞生理功能紊乱,从而使细 胞死亡.因此,大亚湾海域重金属元素对马尾藻细胞 的超微结构有损伤诱变作用.

同时,前人认为植物细胞壁的果胶质成分为结 合重金属离子提供了大量的离子交换位点,细胞壁 具有很强的积累阳离子的能力,是重金属进入细胞 的第一道屏障(Poulter *et al.*, 1985).本实验结果 中马尾藻多处细胞壁损伤证实了前人的观点,也为 重金属导致细胞壁边缘物质松散的现象提供了更直 接的证据(张义贤,1997).

3 结论

本文从元素地球化学到细胞结构的微观层面探 讨大亚湾重金属元素 Cu、Pb、As 在沉积物一海水一 马尾藻一细胞超微结构系统中的含量与分布特征. 结果表明大亚湾海域表层沉积物和海水中重金属元 素 Cu、Pb、As 的平均含量小于国家质量一类标准, 大亚湾核电站、岭澳核电站以及南海石化基地附近 海域 Cu、Pb、As 的含量均较高,这与核电站、石化基 地及其配套工程的运行和建设有关. 马尾藻中 Cu、 Pb、As含量范围分别为 3.06~4.81 mg/kg、2.36~ 18.41 mg/kg、50.16~261.73 mg/kg,平均含量为 3.94、7.74、122.29 mg/kg,表现出对 As 的超富集 能力:大亚湾海域 Cu、Pb、As 的生物地球化学异常 在细胞学水平上表现为 Cu、Pb、As 在细胞中的含量 相对较高,并以电子致高密度体的形式淀积在马尾 藻细胞内部组织中,使马尾藻细胞的膜结构和非膜 结构损伤,细胞结构产生变异效应.重金属在大亚湾 马尾藻细胞超微结构中分布和生物地球化学异常,

表明大亚湾重金属元素对环境有着潜在的生态危害,是大亚湾重金属元素潜在的生态危害的早期预警与生物信号,为传统的监测手段和生物地球化学效应提供了新的思路和数据资料.

References

- Akagi, T., Fuwa, K., Haraguchi, H., 1985. Simultaneous multi-element determination of trace metals in sea water by inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry after coprecipitation with gallium. *Analytica Chimica Acta*, 177: 139 – 151. doi: 10. 1016/S0003 – 2670(00)88444-5
- Chen, T., Yu, K., Li, S., et al., 2010. Heavy metal pollution recorded in Porites corals from Daya bay, northern South China Sea. *Marine Environmental Research*, 70(3-4):318 -326. doi:10.1016/j. marenvres. 2010.06.004
- Li, X. J., 2003. Distribution of heavy metals in substrate of the Daya bay, Guangdong and assessment of the quality of the seafloor environment. *Geology of China*, 30(4): 429-435 (in Chinese with English abstract).
- Li, Y., Wang, H. X., Wu, Y. S., 1992. Effects of cadmium and iron on the some phy-siological indicators in leaves of tobacco. *Acta Ecologica Sinica*, 12(2):147-154 (in Chinese with English abstract).
- Peng, M., Wang, H. X., Wu, Y. S., 1991. Ultrastructural changes induced by cadmium and lead in corn seedling cell. *China Environmental Science*, 11(6):426-431 (in Chinese with English abstract).
- Poulter, A., Collin, H. A., Thurman, D. A., et al., 1985. The role of cell wall in the mechanism of lead and zinc tolerance in Anthoxonthum odoratum L. *Plant Science*, 42(1): 61 – 66. doi: 10. 1016/0168 – 9452(85) 90029-9
- Waldichuk, M., 1985. Biological availability of metal to marine organisms. Marine Pollution Bulletin, 16(1):7-11. doi:10.1016/0025-326X(88)90596-6
- Wang, Y., Lou, Z., Sun, C., et al., 2008b. Ecological environment changes in Daya bay, China, from 1982 to 2004. Marine Pollution Bulletin, 56 (11): 1871-1879. doi:10.1016/j.marpolbul.2008.07.017
- Wang, Y. S., Wang, Z. D., Huang, L. M., 2004. Environment changes and trends in Daya bay in recent 20 years. *Journal of Tropical Oceanography*, 23(5):85-95 (in Chinese with English abstract).

- Wang, Z. D., Lian, J. S., Hu, J. X., et al., 2003. Characteristic of degraded ecosystem in Daya bay China. *Ecologic Science*, 22(4):313-320 (in Chinese with English abstract).
- Wang, Z., Yan, W., Chi, J., et al., 2008a. Spatial and vertical distribution of organochlorine pesticides in sediments from Daya bay, South China. *Marine Pollution Bulletin*, 56(9): 1578–1585. doi:10.1016/j. marpolbul. 2008.05.019
- Yang, D. H., 1991. The effects of heavy metals on the structure and function of photosynthetic membranes in higher plants. *Chinese Bulletin of Botany*,8(3):26-29 (in Chinese with English abstract).
- Yu, X., Yan, Y., Wang, W., 2010. The distribution and speciation of trace metals in surface sediments from the Pearl River Estuary and the Daya bay, southern China. *Marine Pollution Bulletin*, 60(8):1364-1371. doi:10. 1016/j. marpolbul. 2010. 05. 012
- Zhang, Y. X., 1997. Toxicity of heavy metals to Hordeum Vulgare. Acta Scientiae Circumstantiae, 17(2): 199-205 (in Chinese with English abstract).
- Zheng, Q. H., Liang, Z. Q., He, Y. Q., et al., 1992. Geochemical behabiour of the pollutants in surface sediments of Daya bay. *Tropic Oceanology*, 11(1):65-71 (in Chinese with English abstract).

附中文参考文献

- 李学杰,2003. 广东大亚湾底质重金属分布特征与环境质量 评价. 中国地质,30(4): 429-435.
- 李元,王焕校,吴玉树,1992. Cd、Fe及其复合污染对烟草叶 片几项生理指标的影响. 生态学报,12(2): 147-154.
- 彭鸣,王焕校,吴玉树,1991. 镉铅诱导的玉米幼苗细胞超微 结构的变化镉对烟草光合特性的影响. 中国环境科学, 11(6): 426-431.
- 王友绍,王肇鼎,黄良民,2004.近20年来大亚湾生态环境的 变化及其发展趋势.热带海洋学报,23(5):85-95.
- 王肇鼎,练健生,胡建兴,等,2003.大亚湾生态环境的退化现 状与特征.生态科学,22(4):313-320.
- 杨丹慧,1991.重金属离子对高等植物光合膜结构与功能的 影响.植物学通报,8(3):26-29.
- 张义贤,1997. 重金属对大麦(Hordeum vulgare)毒性的研 究. 环境科学学报,17(2): 199-205.
- 郑庆华,梁自强,何悦强,等,1992.大亚湾表层沉积物中污染 物质的地球化学行为研究.热带海洋,11(1):65-71.