

可降解络合剂及微生物调控对海州香薷修复污染土壤的效应

翁高艺^{1, 2} 汪自强¹ 吴龙华^{2*} 骆永明² 宋 静² 钱 薇²
林 琦³ 王发园⁴ 蒋玉根⁵ 戴学龙⁵ 裘希雅⁵

(1 浙江大学农业与生物技术学院 杭州 310029; 2 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所) 土壤与环境生物修复研究中心 南京 210008; 3 浙江大学环境与资源学院 杭州 310029;
4 中国科学院南京土壤研究所 南京 210008; 5 富阳市农业局土肥站 浙江富阳 311400)

摘 要 盆栽试验研究了海州香薷在 Cu、Zn、Pb 污染土壤上生长和对 Cu、Zn、Pb 的富集能力, 以及调控剂 EDDS、壳聚糖和微生物菌剂对海州香薷重金属吸收的影响。结果表明, Cu 223 mg/kg, Pb 232 mg/kg, Zn 1068 mg/kg 的重金属复合污染土壤对海州香薷的生长发育没有明显影响。施用 EDDS (3 mmol/kg 土) + 微生物制剂处理组海州香薷叶片中 Cu 含量高达 847 mg/kg, Zn 含量为 745 mg/kg; Cu 吸收量高达 6244 $\mu\text{g}/\text{株}$, Zn 吸收量为 5670 $\mu\text{g}/\text{株}$, 叶片中 Cu、Zn 的含量和吸收量均极显著高于对照 ($p < 0.01$); 3 mmol/kg 土 EDDS 处理海州香薷茎中 Pb 含量显著增加 ($p < 0.05$), 茎中 Pb 的吸收量亦显著提高 ($p < 0.05$), 茎秆中 Pb 的吸收量为 274 $\mu\text{g}/\text{株}$ 。微生物制剂或壳聚糖单独处理对海州香薷生长和金属元素吸收均没有明显的效果。

关键词 海州香薷; EDDS; 微生物制剂; 复合污染

中图分类号 X 820.6

土壤受重金属污染情况日益加剧^[1~4], 土壤中的重金属会扩散或迁移从而污染水体、大气和生物, 严重影响食品安全和人畜健康^[5]。针对土壤重金属污染的现状, 人们提出了多种土壤重金属修复技术, 其中植物修复技术以其环境友好、易被接受和价格低廉等优点而成为研究热点之一^[6]。海州香薷在铜矿区分布很广, 是 Cu 的指示植物, 因此关于海州香薷的绝大多数研究工作都围绕着该植物对 Cu 单一元素的耐性和富集^[7, 8], 但很多由采矿冶炼等企业造成的重金属污染往往是多种重金属复合污染, 如杭州某地大片农田就是由小高炉炼 Cu 而导致的多种重金属的复合污染^[9]。因此, 开展海州香薷在重金属复合污染土壤上的植物修复研究工作会更具有实际意义。

提高植物修复效率, 关键是采取适当措施增大修复植物生物量和体内重金属浓度, 而采用化学调控剂是较早报道的成功事例, 如 3 mmol/kg EDTA 可以显著地增加芥菜各组织 Cu 浓度和 Cu 吸收量^[10], 但由于 EDTA 等络合物具有难降解、作用时间

长等特点而易造成环境风险^[11, 12]。因此, 寻找络合活化能力强且易降解的化学调控剂是近期研究的热点之一。EDDS(乙二胺二琥珀酸)—EDTA 的同分异构体在植物修复领域的作用正备受关注^[13], EDDS 与 Cu、Zn、Pb 的金属螯合物的稳定系数分别为 18.4、13.5、12.7, 稳定系数与 EDTA 相近, 但 EDDS 及其金属螯合物易被生物降解, 潜在的环境风险较 EDTA 低。壳聚糖(Chitosan)是一种由甲壳素脱乙酰基后形成的产物, 它可以有效地吸附溶液中的 Cu 离子^[14]。微生物制剂对植物生长的影响研究较多, 但其对重金属的作用则较少报道, 廖继佩等^[15]发现丛枝菌根真菌 *Glomus caledonium* 和 *Glomus manihotis* 可以增加玉米地上部 Cu 含量, 而 *Acaulospora laevis* 却降低了玉米地上部 Cu 含量, 微生物对植物吸收重金属的作用有待继续明确。本文采用 EDDS、壳聚糖为供试化学调控剂, 从重金属污染区分离的菌根真菌混合菌剂作为微生物调控剂, 研究其对海州香薷植物生长和土壤中重金属 Cu、Zn、Pb 的植物有效性的效应, 为确定提高重金

国家重点基础研究发展规划(973)项目(2002CB410809)、国家高技术研究发展计划(863)项目(2001AA645010-2)、国家自然科学基金项目(40001013, 40301046)共同资助。

*通讯作者(lhwu@mail.issas.ac.cn)

属污染土壤植物修复效率的途径和调控剂的筛选提供科学依据。

1 材料和方法

供试土壤为采自浙江省富阳某炼铜小高炉附近的粉砂粘土, 0~15 cm 表层土壤有机 C 含量为 19.3 g/kg, pH(水)为 7.10, 全量 Cu、Pb、Zn 分别为 223、232 和 1068 mg/kg; 0.01 mol/L CaCl₂ 提取态 Cu、Pb、Zn 分别为 0.03、3.96 和 0.07 mg/kg; 试验用海州香薷种子采自安徽铜陵市某铜矿区。将土壤风干, 碾磨过 2 mm 尼龙筛, 备用。

盆栽试验在中国科学院南京土壤研究所温室进行, 试验共设 7 个处理, 分别是: 对照(以 CK 表示); 加乙二胺二琥珀酸 3 mmol/kg 土(烘干土基, 下同)(EDDS); 加壳聚糖 2 g/kg 土(Chit.);

加微生物制剂, 灭菌对照(MCK); 加微生物制剂(M); EDDS 3 mmol/kg 土+微生物制剂(EDDS+M); 壳聚糖 2 g/kg 土+微生物制剂(Chit.+M)。试验采用塑料盆(上缘直径 15.0 cm, 底面直径 11.0 cm, 高 14.0 cm), 每盆装土 1.5 kg(烘干重)。将海州香薷种子用蒸馏水浸种, 并在培养皿中催芽 2 天后移植于塑料盆中, 每盆 6 颗。播种后及时加入蒸馏水, 直到土样表层湿润; 植物生长期间, 每天用蒸馏水浇灌, 保持含水量在土壤最大田间持水量的 70%。一个月后间苗, 每盆保留大小一致、长势良好的幼苗 3 株。微生物菌剂由中国科学院南京土壤研究所微生物室提供, 供试微生物菌剂为丛枝菌根真菌: *Glomus caledonium* 90036(苏格兰球囊霉), 分离自河南黄潮土。以苏丹草为宿主, 以红壤为基质对其进行扩大培养 3~4 个月, 收获后去掉地上部分, 将根段剪碎, 与土样混匀, 风干后作为接种剂待用。接种剂按 1:20 的比例与试验用土均匀混合。EDDS(分析纯)和壳聚糖(水溶态, 实验室制备)在收获前 15 天施入。试验设置 3 次重复。播种后 5 个月收获海州香薷, 用不锈钢剪刀剪取地上部, 并将茎叶分开, 将根系从盆中小心挖出。分离的根、茎和叶分别先用自来水冲洗, 再用蒸馏水清洗 3 次, 105 °C 杀青 30 分钟, 80 °C 烘干至恒重。测定并记录茎和叶的干重, 用不锈钢粉碎机磨碎, 备用。植物样品用 Block Digestor(FS 2040)消煮(HNO₃-HClO₄, 85:15 v/v)。所有样品的 Cu、Zn、Pb 含量均用原子吸收分光光度计(Varian 220FS)测定^[16]。本文所给结果为 3 次重复的平均值, 用 DPS

软件(LSD 法)进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 海州香薷的生长和生物量

海州香薷在供试土壤上能良好生长, 各生长和发育阶段等都没有异常现象, 可见采自铜矿区的海州香薷不仅对 Cu 具有耐性, 还对 Cu、Zn、Pb 复合污染具有很好的耐性。统计分析发现, 微生物菌剂单独处理的海州香薷地上部生物量显著高于其他处理($p<0.01$), 这可能与香薷种子为野外收集, 个体间长势差异较大有关, 有待进一步试验验证(图 1)。

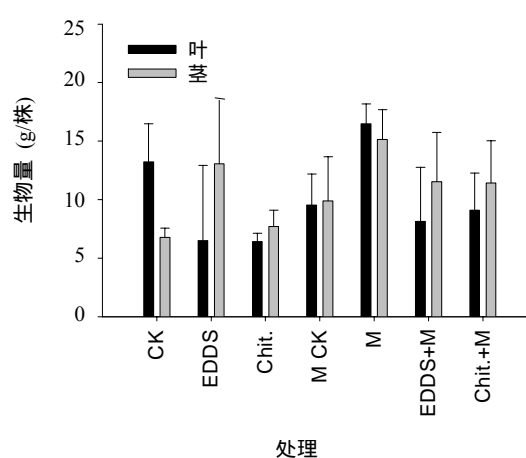


图 1 海州香薷地上部生物量

Fig. 1 Biomass of the ground parts of *Elsholtzia splendens*

2.2 海州香薷对 Cu、Zn、Pb 的吸收

图 2 分别为 Cu、Zn、Pb 在海州香薷根茎叶中的含量。一般来说, 根系中重金属浓度应该高于茎秆和叶片中的浓度, 但 EDDS+M 处理的海州香薷体内 Cu 和 Zn 浓度在器官中分布依次是: 叶>茎>根, 叶片 Cu 的浓度为 847 mg/kg, Zn 浓度为 745 mg/kg, 叶片中的 Cu、Zn 浓度分别极显著大于其他试验处理($p<0.01$), Cu、Zn 浓度分别较 CK 增加 126 倍、8.1 倍; 茎秆中 Cu、Zn 的浓度分别为 208 mg/kg 和 298 mg/kg, 与 CK 相比, Cu 浓度增加了 56 倍, 而 Zn 的浓度极显著地($p<0.01$)增加了 2.6 倍, 这说明 EDDS+M 处理可以有效地增大污染土壤中 Cu、Zn 尤其是 Cu 的活性, 并能促进它们向地上部运输; 其他处理叶片和茎秆中的 Cu、Zn 浓度差异不显著($p>0.05$)。Pb 在土壤中的迁移能力较差、有效性低, 但在施 EDDS 3 mmol/kg 后海州香薷地上部 Pb 浓度显著上升($p<0.05$), 与 CK 相比, 叶片中 Pb 浓度

增加 2.5 倍, 茎中 Pb 浓度增加 6 倍。

图 3 为海州香薷叶片和茎秆对 Cu、Zn、Pb 的吸收量。EDDS+M 处理组的海州香薷叶片和茎秆中 Cu 的积累量分别为 6244 $\mu\text{g}/\text{株}$ 、2205 $\mu\text{g}/\text{株}$, 极显著 ($p<0.01$) 高于其他处理。EDDS+M 处理叶片中 Zn 的积累量为 5670 $\mu\text{g}/\text{株}$, 极显著 ($p<0.01$) 大于

其他处理。EDDS+M 和 3 mmol/kg 土 EDDS 处理组茎秆 Zn 积累量极显著高于其他处理, 分别为 3062 $\mu\text{g}/\text{株}$, 2249 $\mu\text{g}/\text{株}$ 。各实验处理间叶片 Pb 积累量差异不显著 ($p>0.05$), 但 3 mmol/kg 土 EDDS 处理海州香薷茎秆中 Pb 积累量极显著大于其他处理 ($p<0.01$), 其茎秆中 Pb 的积累量为 275 $\mu\text{g}/\text{株}$ 。

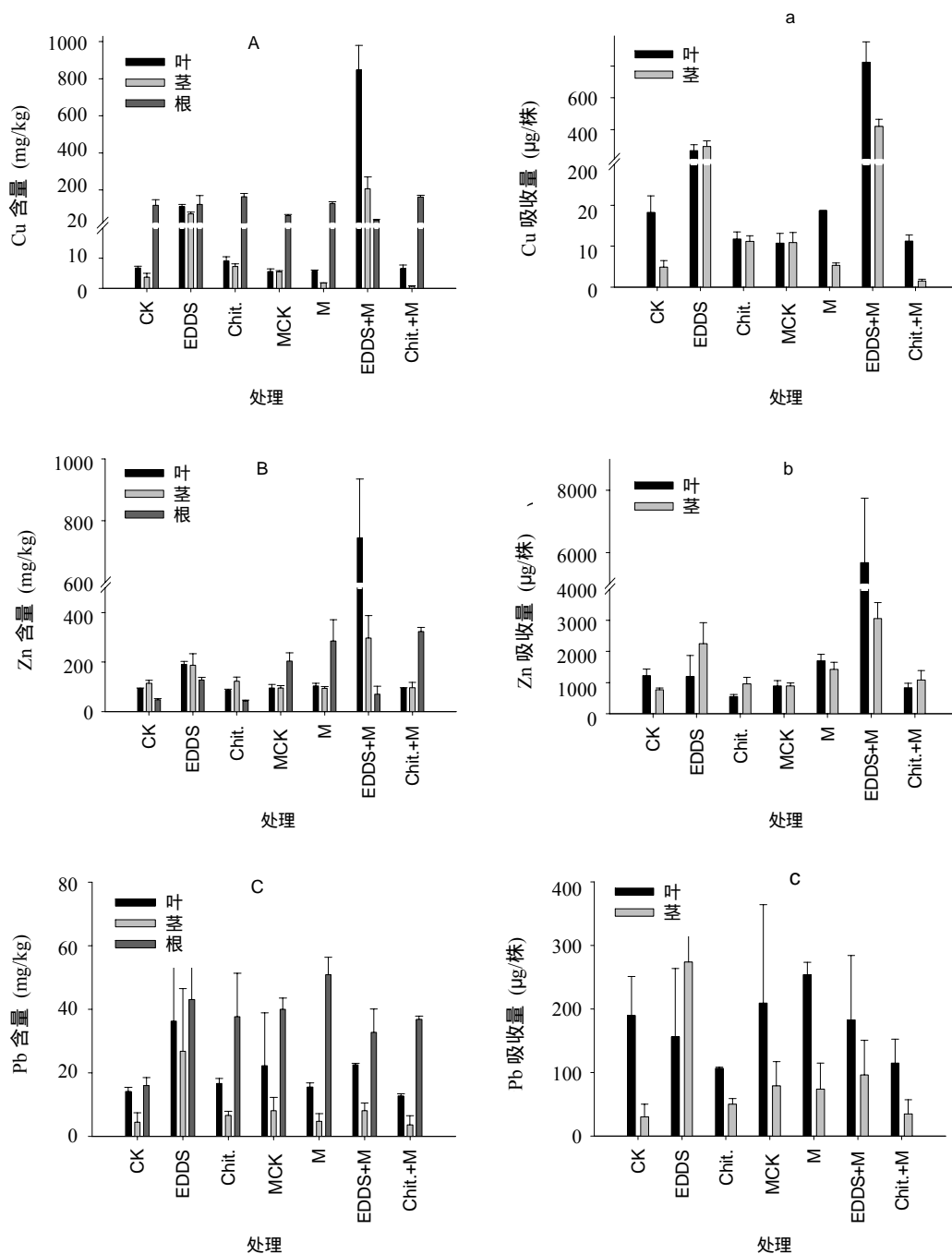


图 2 海州香薷器官中 Cu(A)、Zn(B)、Pb(C)含量

Fig. 2 Cu(A), Zn(B) and Pb(C) in *Elsholtzia splendens*

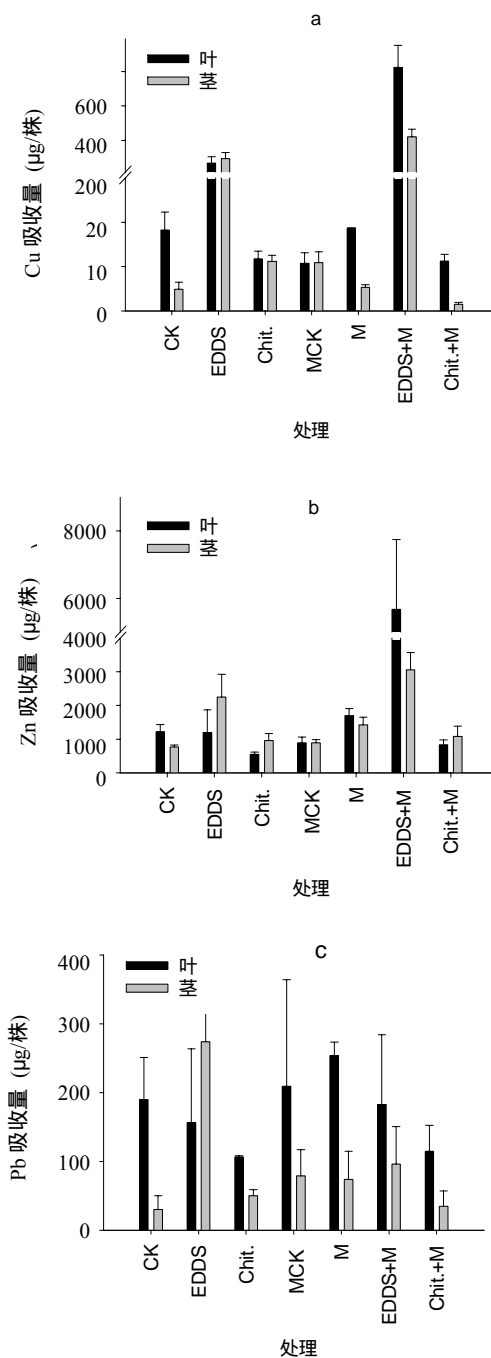


图 3 海州香薷茎叶中 Cu(a)、Zn(b)、Pb(c)积累量

Fig. 3 Uptake of Cu(a), Zn(b) and Pb(c) by *Elsholtzia splendens*

3 讨论

到目前为止, 被发现的自然界超积累植物已超过 400 种^[17, 18], 但绝大部分超积累植物仅可积累一种重金属元素, 少数可以同时超积累两种以上重金属。关于 Cu 超积累植物的报道非常少, Cu 超积累植物资源的匮乏, 使海州香薷这种积累 Cu 的植物在植物修复中的应用这项研究工作变得很有意义, 尤其是海州香薷在重金属复合污染土壤上的植物修复研究更具有商业潜力。当土壤中 Cu 全量超过 60 ~ 125 mg/kg, Zn 全量超过 300 mg /kg, Pb 全量超过 500 ~ 1000 mg/kg 时, 大部分植物就会受到伤害甚至死亡^[19], 但本试验结果表明原产于 Cu 矿区的海州香薷不仅对 Cu 有耐性, 还能在 Cu、Zn、Pb 复合污染土壤上生长良好, 同时对 Cu 和 Zn 具有很好的富集能力。海州香薷对 Pb 的富集能力略低于 Cu 和 Zn,

这可能与 Pb 在土壤中的迁移能力差, 有效性低有关。

McGrath 等^[17]对超积累植物的定义做了修正:

植株地上部重金属含量满足下列条件: Zn、Mn 含量超过 10000 mg/kg, Co、Cu、Ni、As 和 Se 含量超过 1000 mg/kg, Cd 含量超过 100 mg/kg; 地上部生物富集系数 (bioconcentration, 地上部重金属含量与土壤重金属含量比值) > 1, 这样的植物对重金属有很高的吸收效率; 地上部与根系中重金属含量比 > 1, 意味着植物对重金属的转运效率很高。本研究与 Song 等^[19]的结果一致, 即海州香薷不是 Cu 超积累植物, 但采用适当的化学、微生物调控措施可以显著增加海州香薷 Cu、Zn 的地上部富集系数和根-冠重金属含量比值 (表 1)。

廖继佩^[15]认为玉米被菌根侵染后有利于 Cu 从

表 1 地上部富集系数与根-冠重金属含量比

Table 1 Bioenrichment and the shoot-to-root ratio of metal concentration

处 理	地上部富集系数			根-冠重金属含量比值		
	Cu	Pb	Zn	Cu	Pb	Zn
CK	0.03	0.05	0.09	0.06	0.69	2.17
EDDS	0.37	0.13	0.18	0.81	0.67	1.48
Chit.	0.04	0.05	0.12	0.05	0.32	2.55
MCK	0.02	0.07	0.09	0.09	0.40	0.47
M	0.02	0.04	0.09	0.03	0.20	0.43
M+EDDS	2.04	0.06	0.44	12.4	0.43	9.42
M+Chit.	0.01	0.03	0.09	0.02	0.21	0.30

地下部向地上部迁移, 而本试验采用的 EDDS 可提高重金属的生物有效性, 使之更易被植物吸收, 微生物制剂+EDDS 联合作用提高海州香薷对 Cu 的吸收效率和转运效率, 这可能就是该组处理海州香薷叶片 Cu 含量高于其他试验处理的原因。与 EDTA 相比, EDDS 具有生物可降解性, 毒理试验表明毒性较低, 施用 EDDS 带来的环境风险小^[13], EDDS 在螯合诱导植物修复领域有一定应用前景。当然, 用海州香薷对重金属复合污染修复时还需注意其他细节, 如李锋民等^[20, 21]的研究发现, 海州香薷在种子萌发过程中对 Cu 的耐性最强, 而在幼苗生长过程中则对其他重金属元素具有很好的耐性。因此, 在植物修复的具体应用中, 若为单一 Cu 污染可以直接将海州香薷种子播种于 Cu 污染土壤, 若为重金属复合污染则将海州香薷移植比较好。

4 结论

采自铜矿区的海州香薷对 Cu、Zn、Pb 3 种重金属复合污染具有很强的耐性, 且可同时富集 Cu、Zn、Pb 等重金属。螯合剂 EDDS+微生物菌剂可以显著提高海州香薷地上部 Cu、Zn 的浓度和吸收量, EDDS 单独处理可以提高海州香薷地上部 Pb 的吸收。本试验条件下, 微生物菌剂或壳聚糖单独处理不能明显提高海州香薷地上部重金属含量。

参考文献

- 1 黄铭洪, 骆永明. 矿区土地修复与生态恢复. 土壤学报, 2003, 40 (2): 161 ~ 169
- 2 姜理英, 杨肖娥, 叶海波, 石伟勇, 蒋玉根. 炼铜厂对周边土壤和作物体内重金属含量及其空间分布的影响. 浙

- 江大学学报(农业与生命科学版), 2002, 28 (6): 689 ~ 693
- 3 倪才英, 陈英旭, 骆永明. 土壤 - 植物系统铜污染与修复的研究进展. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2003, 29 (3): 237 ~ 243
- 4 Hao XZ, Zhou DM, Wang YJ, Cang L, Chen HM. Effect of different amendments on ryegrass growth in copper mine tailings. *Pedosphere*, 2003, 13 (4): 299 ~ 308
- 5 周东美, 王玉军, 郝秀珍, 陈怀满. 铜矿区重金属污染分异规律初步研究. 农业环境保护, 2002, 21 (3): 225 ~ 227
- 6 Salt DE, Smith RD, Raskin I. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1998, 49: 643 ~ 668
- 7 Tang SR, Wilke BM, Brooks R. Heavy-metal uptake by metal-tolerant *Elsholtzia haichowensis* and *Commelina communis* from China. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2001, 32 (5-6): 895 ~ 905
- 8 Yang MJ, Yang XE, Römhild V. Growth and nutrient composition of *Elsholtzia splendens* Nakai under copper toxicity. *Journal of Plant Nutrition*, 2002, 25: 1359 ~ 1375
- 9 吴龙华, 骆永明. 铜污染土壤修复的有机调控研究. EDTA 和低分子量有机酸的效应. 土壤学报, 2002, 39 (5): 679 ~ 685
- 10 Römkens P, Bouwman L, Japenga, Draaisma C. Potentials, drawbacks of chelate-enhanced phytoremediation of soils. *Environmental Pollution*, 2002, 116: 109 ~ 121
- 11 Wu LH, Luo YM, Christie P, Wong MH. Changes in soil solution heavy metal concentrations over time following EDTA addition to a Chinese paddy soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2003, 71 (4): 706 ~ 713
- 12 Jaworska JS, Schowanek D, Feijtel TCJ. Environmental risk assessment for trisodium[S, S]-ethylene diamine disuccinate, a biodegradable chelator used in detergent applications. *Chemosphere*, 1999, 38 (15): 3597 ~ 3625
- 13 Vandevivere PC, Saveyn H, Verstraete W, Feijtel TC, Schowanek DR. Biodegradation of metal-[S, S]-EDDS complexes. *Environmental Science and Technology*, 2001, 35 (9): 1765 ~ 1770
- 14 Juang RS, Wu FC, Tseng RL. Adsorption removal of copper (II) using chitosan from simulated ring solutions containing chelating agents. *Water Research*, 1999, 33 (10): 2403 ~ 2409.
- 15 廖继佩, 林先贵, 曹志洪. 红壤中丛枝菌根真菌对污泥态铜生物有效性的影响. 土壤学报, 2003, 40 (6): 929 ~ 936
- 16 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科学技术出版社, 1999
- 17 McGrath SP, Zhao FJ. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current Opinion in Biotechnology*, 2003, 14: 277 ~ 282
- 18 Shu WS, Ye ZH, Lan CY, et al. Lead, zinc and copper accumulation and tolerance in populations of *Paspalum distichum* and *Cynodon dactylon*. *Environmental Pollution*, 2002, 120: 445 ~ 453
- 19 Song J, Zhao FJ, Luo YM, McGrath SP, Zhang H. Copper uptake by *Elsholtzia splendens* and *Silene vulgaris* and assessment of copper phytoavailability in contaminated soils. *Environmental Pollution*, 2004, 128: 307 ~ 315
- 20 李锋民, 熊治廷, 胡洪营. 海州香薷对铜的蓄积及铜的毒性效应. 环境科学, 2003, 24 (3): 30 ~ 34
- 21 李锋民, 熊治廷, 王狄, 王新力. 铜铁铅单一及复合污染对铜草幼苗生长的影响. 农业环境保护, 2001, 20 (2): 71 ~ 73, 77

EFFECT OF DEGRADABLE CHELATE AND MICROBIAL PREPARATION ON THE FUNCTION OF *ELSHOLTZIA SPLENDENS* PHYTOREMEDIATING CONTAMINATED SOIL

WENG Gao-yi^{1,2} WANG Zi-qiang¹ WU Long-hua² LUO Yong-ming² SONG Jing²
QIAN Wei² LIN Qi³ WANG Fa-yuan⁴ JIANG Yu-gen⁵ DAI Xue-long⁵ QIU Xi-ya⁵

(1 College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029; 2 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture(Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Soil and Environment Bioremediation Center, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008; 3 College of Environmental and Resource Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029; 4 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008; 5 Faculty of Soil and Fertilizers, Fuyang Bureau of Agriculture, Fuyang, Zhejiang 311400)

Abstract Soils polluted by fly-ash rich in copper from smelteries were collected from Zhejiang Province, the concentration of Cu, Zn and Pb was 223 mg/kg, 1068 mg/kg and 232 mg/kg, respectively. A pot experiment was conducted to investigate growth and metal uptake of *Elsholtzia splendens*. Microbial product, mainly VA fungus, was applied when plants were sown. EDDS and chitosan were used 15 days before plants were harvested. The objective was to investigate the effect of these materials enhancing growth and metal accumulation by *Elsholtzia splendens* plant. The results showed that *Elsholtzia splendens* could endure high concentrations of Cu, Zn and Pb without any visual symptoms of heavy metal toxicity. Compared to the control, concentrations of Cu and Zn in *Elsholtzia splendens* were significantly increased in the treatment of EDDS plus microbial product, suggesting that the treatment enhanced plant Cu and Zn uptake significantly. EDDS application alone increased Pb concentration in the ground parts of *Elsholtzia splendens*. But for treatment of microbial product or chitosan alone, they had no significant effect on uptake of the heavy metals by *Elsholtzia splendens*.

Key words *Elsholtzia splendens*, EDDS, Microbial product, Contamination