

# 红麻对 Cu 和 Cu-EDDS 的吸收和富集<sup>①</sup>

王国庆<sup>1,2,3</sup>, 李敏<sup>1,2,3</sup>, 骆永明<sup>1,2,3</sup>, 宋静<sup>1,2</sup>, 赵其国<sup>1,2,3</sup>

(1 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; 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), 南京 210008; 3 中国科学院研究生院, 北京 100049)

**摘要:** 生物可降解特性螯合剂 [S, S]-乙二胺二琥珀酸 (EDDS), 被推荐用作污染土壤强化植物修复中的重金属活化试剂。我国能源经济作物红麻具有较高的地上生物产量, 可望用于重金属污染土壤的植物吸取修复或稳定修复。通过水培试验研究了红麻对水培营养液中 Cu 及 Cu-EDDS 的吸收和富集效应。试验结果表明, 能源植物红麻各组织中 Cu 的富集浓度依次为: 根>叶>茎 (皮)。扫描电镜-能谱分析表明, 红麻根系从水培溶液中吸收的 Cu 主要经木质部导管向地上部运输。EDDS 处理及 Cu/EDDS 摩尔比<1 时, 对红麻生长无急性植物毒性。红麻纤维皮层内 Cu 含量低于其他组织内的 Cu 含量, 并低于纺织产品 Cu 含量标准 (HJBZ 30-2000)。预测在 Cu 污染土壤上种植红麻, 可望实现红麻纤维的安全生产, 同时有可能实现对轻度 Cu 污染土壤的植物稳定和吸取修复。

**关键词:** EDDS; 诱导植物吸取; 植物稳定修复; 红麻; Cu; 污染土壤

**中图分类号:** X53

对于重金属污染土壤的植物吸取修复, 较高的植物生物产量及较高的体内富集浓度是决定重金属去除效率的关键性因素<sup>[1-2]</sup>。现有研究表明, 土壤施用 EDDS 后, 可促进纤维大麻、芥菜、玉米和向日葵等作物对污染土壤中重金属的高量吸收和积累<sup>[3-7]</sup>。Linger 等<sup>[8]</sup>发现, 工业能源植物大麻 (*Cannabis Sativa* L.) 对土壤中重金属具有较高的毒性耐受能力, 生长于重金属复合污染土壤上的大麻, 其纤维品质指标与生长于清洁土壤上的无显著差异。Kos 和 Leštan<sup>[9]</sup>在污染土壤中施用 EDDS 活化重金属后, 发现大麻地上部干物质中 Pb、Zn 和 Cd 含量分别为 CK 未施 EDDS 的 1926 倍、7.5 倍和 11 倍<sup>[9]</sup>。

我国是世界上最大的红麻 (*Hibiscus Cannabinus* L.) 生产国。红麻是一年生锦葵科木槿属草本植物, 其生长周期短 (120 ~ 160 天), 植株生物量大 (地上茎部干重达 25 ~ 30 t/hm<sup>2</sup>), 在我国南北各地均可种植。除了作为传统的纺织原料, 红麻还可广泛用于造纸、塑料填充剂、工艺品制造等, 具有很好的经济价值<sup>[10]</sup>。目前, 国内外尚没有关于红麻对重金属的耐性、吸收和积累方面的研究报道。本试验探

索性地研究了水培条件下, 红麻对 Cu 和 Cu-EDDS 的吸收及在植物体内的积累和分布, 旨在评估本土能源植物红麻对 Cu 污染土壤的强化植物吸取修复和稳定修复的潜力。

## 2 材料与方法

### 2.1 红麻育苗及水培

试验所用的红麻购自中国农科院麻类研究所。在珍珠岩和蛭石的混合基质上育苗, 待长出 2 片真叶后, 选择生长较为一致的红麻壮苗移入水培盆钵内, 每盆移入 1 株麻苗。水培试验所用营养液由 A、B 和 C 3 种储备母液混合配制而成。母液 A 含 0.6 mol/L Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 与 2.0 mol/L KNO<sub>3</sub>; 母液 B 含 0.4 mol/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 与 0.4 mol/L MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 母液 C 含 Fe 2.8 g/L [Na<sub>2</sub>FeEDTA]、含 B 0.25 g/L [H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>]、含 Mn 0.26 g/L [MnSO<sub>4</sub>]、含 Zn 0.025 g/L [ZnSO<sub>4</sub>]、含 Cu 0.01 g/L [CuSO<sub>4</sub>] 及含 Mo 0.005 g/L [(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>]。上述储备液 A、B 和 C 使用前分别稀释 400、400 和 500 倍即为水培试验所用营养液, 其中主要养分的摩尔浓度为: N 9.0 mmol/L、P

①基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目 (2002CB410809)、国家自然科学基金项目 (40301046、40432005)、中-荷战略科学联盟项目 (2004CB720403) 和江苏省自然科学基金 (BK2004166) 资助。

\* 通讯作者 (ymluo@issas.ac.cn)

作者简介: 王国庆 (1978—), 男, 江苏姜堰人, 博士研究生, 主要从事土壤环境质量与修复研究。E-mail: gqwang@issas.ac.cn

1.0 mmol/L、K 5.0 mmol/L、Ca 1.5 mmol/L 和 Mg 1 mmol/L。水培试验在玻璃温室内进行，植物生长期室内温度在 20 ~ 35°C 之间。新鲜配置的营养液直接用于红麻水培试验 (pH 4.5)，每株红麻供给 2.5 L 营养液。植物苗期生长期期间，每 4 天更换 1 次营养液；进入营养旺长期 (60 天) 后，每 3 天更换 1 次营养液。

### 2.2 试验处理设置

为了研究红麻对营养液中无机态 Cu 及 Cu-EDDS 螯合物的吸收和积累效应，本试验设单独添加 EDDS 及不同摩尔配比的 Cu 和 EDDS 处理。试验各处理及 CK 的设置见表 1。营养液中 Cu 为分析纯级 CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 提供，EDDS 为乙二胺二琥珀酸 [S, S]-结构异构体的三钠盐储备液 (476 g/kg 质量含量，瑞士 Fluka 公司产品)。水培红麻生长 100 天后进行 Cu-EDDS 处理，每处理设 4 个重复，新鲜配制的 CuSO<sub>4</sub> 溶液和 EDDS 溶液按处理比例混合均匀后添加到水培营养液 (表 1)。

表 1 水培试验处理设置

Table 1 Experimental treatments applied

处理	Cu 浓度 (μmol/L)	EDDS 浓度 (μmol/L)
CK	0.04	0
EDDS	0.04	318
Cu1-EDDS	100	318
Cu2-EDDS	200	318
Cu3-EDDS	300	318
Cu4-EDDS	400	318
Cu5-EDDS	500	318

### 2.3 采样和分析

所有红麻植株在添加 Cu 和 EDDS 处理 1 周后收获，期间没有更换营养液。收获时分别采集单株红麻各部分 (根系、茎秆、纤维皮层和叶片) 样品，测定各部分的鲜重和含水量，并计算干重产量。烘干植物样品粉碎后，用 HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>4</sub> 混合液消煮，Varian (FS220) 原子吸收分光光度计 (AAS) 测定重金属含量。

### 2.4 数据处理

采用 SPSS 11.0 统计软件进行方差分析和多重比较分析，同一列中不同小写字母表示处理之间存在显著性差异 (p<0.05)。

## 3 结果与讨论

### 3.1 不同处理下红麻对 Cu 的吸收和富集

仅添加 EDDS 处理时，未观察到明显的植物受害症状，表明 318 μmol/L EDDS 对红麻生长无显著生长毒性。CK 及各处理条件下，红麻各组织中 Cu 的积累浓度依次为：根>叶>茎 (皮)。Cu 在红麻纤维皮层内的浓度最低 (4.5 ~ 17.2 mg/kg)，低于国家生态纺织品中可提取态重金属 Cu 含量标准 25 ~ 50 mg/kg<sup>[11]</sup>。由此可见，红麻可望能够种植于 Cu 污染土壤上，在获取安全的纤维生产的同时，能够通过收获其他部位移除土壤中的 Cu。

图 1 比较了 CK 及各 Cu 和 EDDS 处理条件下，红麻对 Cu 的吸收和积累。随着营养液中总 Cu 浓度的逐渐升高，叶片内 Cu 浓度并没有一直随之逐渐

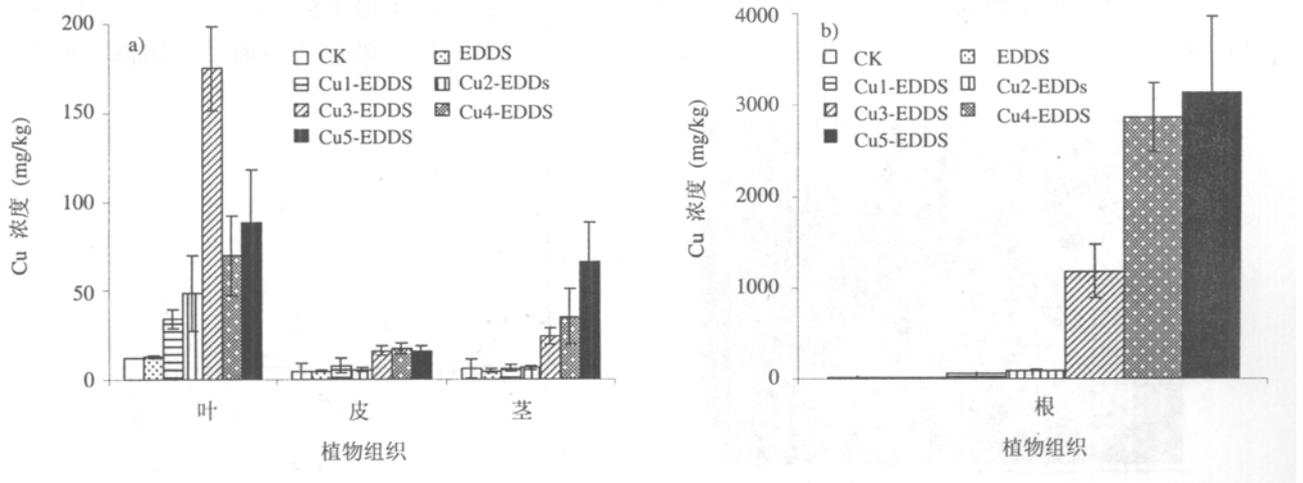


图 1 不同处理下红麻地上部 (a) 和根 (b) 对 Cu 的吸收和积累

Fig. 1 Cu concentrations in the above ground plant tissues (a) and root (b) of kenaf under the different treatments

升高,而是在 Cu3-EDDS 处理时达到最高浓度; Cu 4-EDDS 和 Cu5-EDDS 处理时,叶片内 Cu 浓度显著下降。与叶片不同,茎秆和根系内的 Cu 浓度则随着水培溶液中 Cu 处理浓度的升高而逐渐增加。随着营养液中 Cu 浓度的升高,大量 Cu 在根系中富集。方差分析及多重比较结果表明,就 Cu3-EDDS、

Cu4-EDDS、Cu5-EDDS 处理而言,营养液中的 Cu 浓度依次增加(摩尔比 3:4:5),但上述处理条件下表皮中的 Cu 浓度没有显著差异。与 Cu3-EDDS 处理相比,Cu5-EDDS 处理茎和根中的 Cu 含量显著升高,但 Cu4-EDDS 和 Cu5-EDDS 处理下,叶中的 Cu 含量反而显著低于 Cu3-EDDS 处理(表 2)。

表 2 不同 Cu 处理水平下红麻组织内 Cu 浓度的多重比较 (mg/kg)

Table 2 Statistical multi-comparison of Cu concentrations in plant tissues of kenaf under the different treatments

处理	皮	茎	叶	根
CK	4.5 ± 4.3 b	6.2 ± 5.2 c	11.9 ± 0.0 e	14.3 ± 15 c
EDDS	4.6 ± 0.38 b	4.9 ± 1.1 c	12.9 ± 0.7 e	14.1 ± 3.2 c
Cu1-EDDS	7.9 ± 4.3 b	6.4 ± 1.7 c	34.2 ± 5.2 e	56.8 ± 16.2 c
Cu2-EDDS	5.6 ± 0.87 b	6.6 ± 1.2 c	48.7 ± 21 bd	87.5 ± 27 c
Cu3-EDDS	16.2 ± 2.5 a	24.3 ± 4.4 b	175 ± 23 c	1179 ± 295 b
Cu4-EDDS	17.2 ± 3.1 a	35.3 ± 15.4 b	69.7 ± 22 ab	2868 ± 377 a
Cu5-EDDS	15.9 ± 3.3 a	66.1 ± 22.4 a	88.0 ± 30 a	3138 ± 828 a

注:同一列中字母不同表示有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

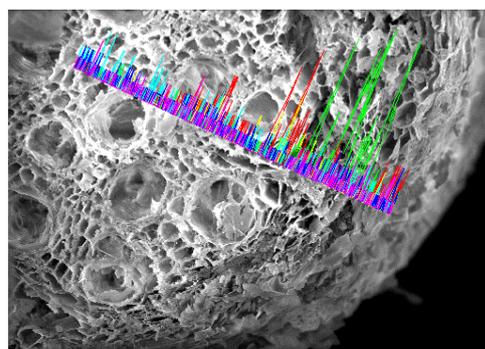
Cu-EDDS 的螯合物稳定常数 (LogK) 为 18.4,显著高于其他元素如 Ca (4.58) 和 Zn (13.4) 等<sup>[12]</sup>,且 Cu 与 EDDS 可形成 1:1 螯合物<sup>[13]</sup>。故本试验条件下,不同 Cu/EDDS 摩尔比 ( $R_{Cu}$ ) 决定水培营养液中 Cu 的物种形态。

Cu1-EDDS、Cu2-EDDS 和 Cu3-EDDS 处理时 ( $R_{Cu} < 1.0$ ),溶液中的 Cu 主要以 Cu-EDDS 形态存在,有机配位体可降低溶液中游离  $Cu^{2+}$  的根系毒性<sup>[14]</sup>,使得植物根系吸收的 Cu 可随着蒸腾流向地上部转运积累<sup>[15]</sup>。Cu3-EDDS 处理时,叶片内的 Cu 含量达到所有处理中的最大值,但在处理 7 天后观察到叶片出现萎蔫现象。这表明,Cu3-EDDS 处理后根系吸收的 Cu 尚可随蒸腾流向叶片内富集,

但随着处理时间的延长,叶片内 Cu 的富集浓度不断升高,叶片内过高的 Cu 浓度可能会导致叶片内叶绿素含量降低<sup>[16]</sup>,使叶片生理功能受损而萎蔫。Cu4-EDDS 和 Cu5-EDDS 处理时 ( $R_{Cu} > 1.0$ ),溶液中的 Cu 进入根系而不能向地上部转运,造成根系 Cu 浓度急剧升高,叶片内 Cu 浓度显著低于 Cu3-EDDS 处理。原因可能是随着溶液中无机态 Cu 浓度的逐渐升高,游离态  $Cu^{2+}$  对红麻根系产生了显著的毒害作用,并抑制植物的蒸腾速率<sup>[17]</sup>,降低了根系内 Cu 随蒸腾流向叶片的转运和富集效率。

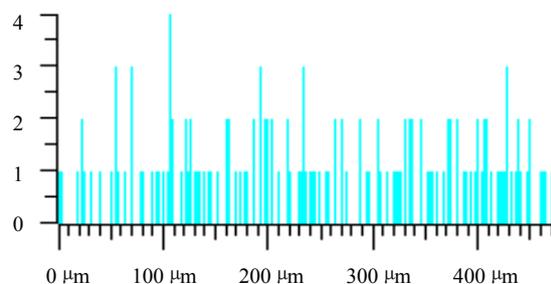
### 3.2 红麻各组织扫描电镜—能谱分析

图 2 为 Cu4-EDDS 处理条件下,对红麻根、茎和叶柄组织切片进行的扫描电镜图像和能谱分析



200 μm 扫描电镜图像

Cu4-EDDS: 根 (a)



Cu Ka1

Cu4-EDDS: 根 (a)

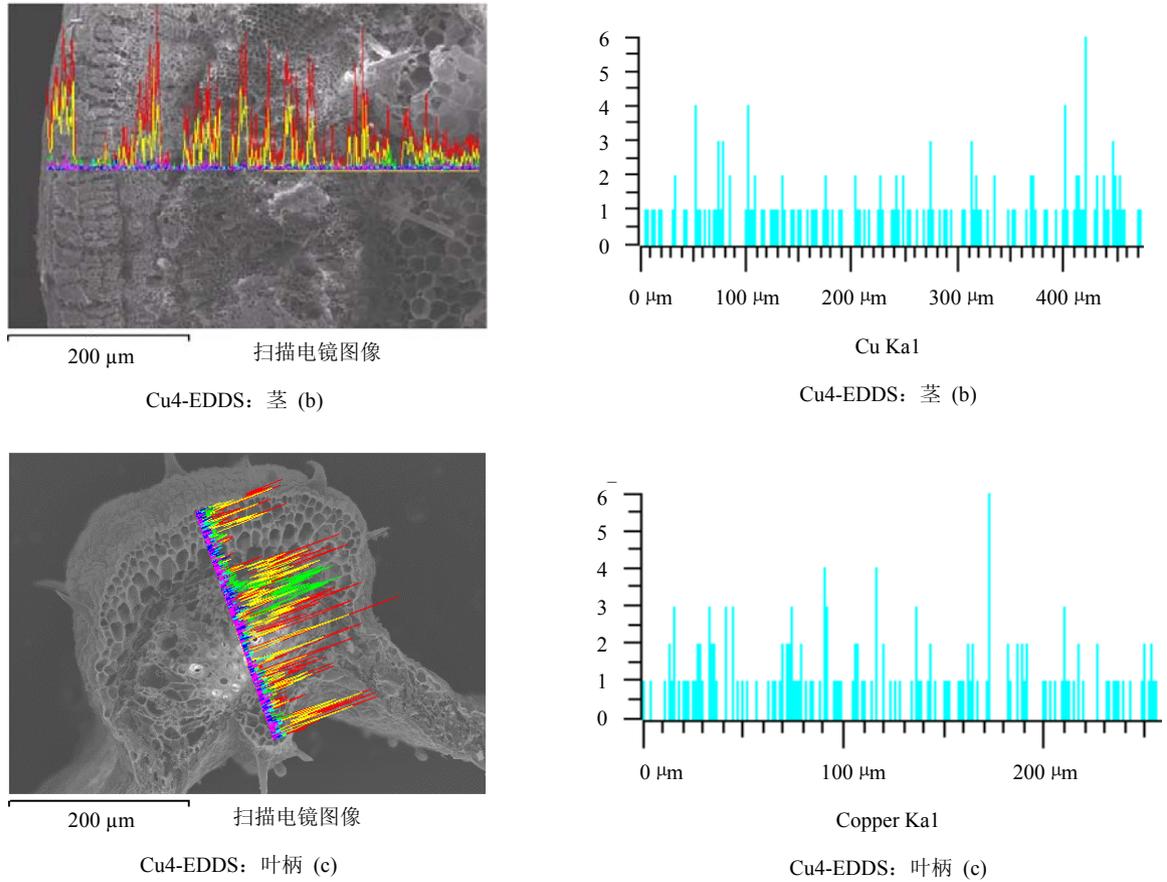


图 2 红麻各组织切片的扫描电镜—能谱分析图

Fig. 2 SEM-EDS analysis for the root, stem and leaf stalk of kenaf

图。

图 2a 为红麻根系木质部，能谱分析表明在导管部位 Cu 的浓度显著升高。图 2b 为红麻茎切片的扫描电镜图像及对应的能谱分析，图中从左到右依次为外皮层、皮层、韧皮部和木质部，木质部附近 Cu 的富集含量明显高于外皮层、皮层和韧皮部。图 2c 为叶柄横切面扫描电镜图像，能谱分析发现导管附近 Cu 的含量高于上下表皮、皮层和韧皮部组织。以上分析结果表明，红麻根系吸收的 Cu 主要经木质部的水分蒸腾作用转运到达地上部。Tandy 等<sup>[18]</sup>进行了 EDDS 诱导下向日葵对 Cu 的吸收试验，并在植物地上部组织的木质部汁液中检测到 EDDS，他们认为 EDDS 诱导条件下植物是通过质外体吸收重金属。本试验根据植物地上组织中 Cu 的分布特征，说明了红麻对营养液中 Cu 的吸收和转运主要是通过水分输导组织木质部进行的。

### 3.3 Cu 在红麻各组织中的含量分布

图 3 比较了各处理条件下红麻不同组织中 Cu 的富集量百分比。CK、EDDS、Cu1-EDDS 及

Cu2-EDDS 处理时，叶片 Cu 占植株总 Cu 的百分比从 48% 增加到 61%，说明随着溶液中 Cu-EDDS 浓度的逐渐升高，根系吸收的 Cu 可随蒸腾流有效转运富集于叶片中。而随着溶液中 Cu 浓度的继续升

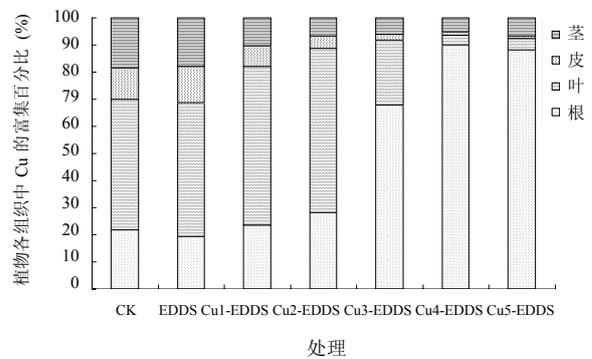


图 3 红麻各组织对 Cu 的富集量百分比

Fig. 3 Percentages of Cu accumulation in different plant tissues of kenaf

高, 红麻叶片内 Cu 的富集量百分比从 Cu3-EDDS 处理时的 24% 下降到 Cu4-EDDS 和 Cu5-EDDS 处理时的 4%, 而根系含 Cu 量则急剧升高为 88% (Cu5-EDDS) 和 90% (Cu4-EDDS)。Cu3-EDDS 处理时, 叶片和根系内 Cu 的富集量均增加, 但根系内 Cu 的富集浓度为叶片内 Cu 富集浓度的 6.7 倍, 导致了叶片内 Cu 的富集量百分比下降, 而根系内 Cu 的富集量百分比升高。Cu4-EDDS 和 Cu5-EDDS 处理时 ( $R_{Cu} > 1$ ), 溶液中游离态  $Cu^{2+}$  浓度增加, 大量 Cu 富集于根内并产生植物毒性, 根系内的 Cu 无法向地上部转运和富集, 导致了根系内 Cu 的富集量百分比急剧升高。结果表明, 溶液中 Cu 浓度及不同 Cu/EDDS 摩尔比处理, 影响着红麻对溶液中 Cu 和 Cu-EDDS 的吸收及向地上部组织的转运和富集。

#### 4 结论

水培试验表明, 能源纤维植物红麻各组织对 Cu 的富集浓度依次为: 根 > 叶 > 茎 (皮)。扫描电镜—能谱分析表明, 红麻吸收水溶液中 Cu 后主要经木质部导管向地上部转运和富集。红麻纤维皮层内 Cu 含量低于其他组织内的 Cu 含量, 并低于纺织产品 Cu 含量标准 (HJBZ30-2000)。随着溶液中游离  $Cu^{2+}$  浓度的升高 ( $R_{Cu} > 1$ ), 大量 Cu 在红麻根系内富集并产生植物毒性, 根系吸收 Cu 向地上部的转运和富集受阻。预测在轻度 Cu 污染土壤上种植红麻, 可望实现红麻纤维的安全生产, 以及污染土壤的植物稳定和吸取修复。

#### 参考文献:

- [1] Salt DE, Smit RD, Raskin I. Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1998, 49: 643-668
- [2] 骆永明. 金属污染土壤的植物修复. *土壤*, 1999, 31 (5): 261-266
- [3] 吴龙华, 骆永明. 铜污染土壤修复的有机调控研究 III. EDTA 和低分子量有机酸的效应. *土壤学报*, 2003, 40 (2): 679-685
- [4] 蒋先军, 骆永明, 赵其国, 葛元英. 镉污染土壤植物修复的 EDTA 调控机理. *土壤学报*, 2003, 40 (2): 205-209
- [5] Kos B, Leštan D. Chelator induced phytoextraction and in situ washing of Cu. *Environ. Pollut.*, 2004, 132: 333-339
- [6] Meers E, Ruttens A, Hopgood M, Lesage E, Tack FMG. Potential of *Brassic rapa*, *Cannabis sativa*, *Helianthus annuus* and *Zea mays* for phytoextraction of heavy metals from calcareous dredged sediment derived soils. *Chemosphere*, 2005, 61: 561-572
- [7] Meers E, Ruttens A, Hopgood M, Samson D, Tack FMG. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Chemosphere*, 2005, 58: 1011-1022
- [8] Linger P, Mussig J, Fischer H, Kobert J. Industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) growing on heavy metal contaminated soil: Fibre quality and phytoremediation potential. *Industrial Crops and Products*, 2002, 16 (1): 33-42
- [9] Kos B, Leštan D. Soil washing of Pb, Zn and Cd using biodegradable chelator and permeable barriers and induced phytoextraction by *Cannabis sativa*. *Plant Soil* 2004, 263: 43-51
- [10] 粟建光, 戴志刚, 龚友才, 黎宇. 我国红麻种质资源的遗传多样性与评价利用. *中国麻业*, 2004, 26 (1): 5-9, 14
- [11] 国家环保总局. 生态纺织品标准 (HJBZ30-2000). 北京: 中国标准出版社, 2000
- [12] Martell AE, Smith RM, Motekaitis RJ. NIST critically selected stability constants of metal complexes: version 6.0. NIST: Gaithersburg, MD, 2001
- [13] Vandevivere P, Hammes F, Verstraete W, Feijtel TCJ, Schowanek D. Metal decontamination of soil, sediment, and sewage sludge by means of transition metal chelant [S,S]-EDDS. *J. Environ. Eng.*, 2001, 127: 802-811
- [14] Voigt A, Hendershot WH, Sunahara GI. Rhizotoxicity of cadmium and copper in soil extracts. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2006, 25: 692-701
- [15] Tani FH, Barrington S. Zinc and copper uptake by plants under two transpiration rates. Part II. Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* L.). *Environ. Pollut.*, 2005, 13: 548-558
- [16] 廖红, 严小龙. 高级植物营养学. 北京: 科学出版社, 2003: 313
- [17] Chen CT, Chen TH, Lo KF, Chiu CY. Effects of proline on copper transport in rice seedlings under excess copper stress. *Plant Science*, 2004, 166: 103-111
- [18] Tandy S, Schulin R, Nowack B. Uptake of metals during chelant-assisted phytoextraction with EDDS related to the solubilized metal concentration. *Environ. Sci. Technol.*, 2006, 40: 2753-2758

## Plant Uptake and Accumulation of Cu and Cu-EDDS by Kenaf (*Hibiscus Cannabinus* L.)

WANG Guo-qing<sup>1,2,3</sup>, LI Min<sup>1,2,3</sup>, LUO Yong-ming<sup>1,2,3</sup>, SONG Jing<sup>1,2</sup>, ZHAO Qi-guo<sup>1,2,3</sup>

(1 *Soil and Environment Bioremediation Research Centre, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China;*

2 *State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China;*

3 *Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)*

**Abstract:** The biodegradable chelator, [S, S]-isomer ethylenediaminedisuccinate (EDDS), has been proposed as an alternative soil additive used in enhanced phytoextraction of heavy metal contaminated soils. Energy plants with high biomass production can potentially be used in phytoextraction. In this study, a hydroponics experiment was conducted to investigate the uptake and accumulation of Cu and Cu-EDDS by kenaf (*Hibiscus Cannabinus* L.), one of the Chinese energy plants. The results showed that Cu concentration in plant tissues of kenaf was in the order of root > leaf > stem (skin). Scanning Electron Microscopy and energy dispersive X-ray spectrometer analysis suggested that Cu may be transported from root to the above ground tissues through xylem vessels. When the molar ratios between Cu and EDDS were below 1 and Cu concentrations were below 200  $\mu\text{mol/L}$ , there was no significant phytotoxicity be found to the plants. The Cu concentrations in the skin were lower than those in other plant parts as well as the national Cu standards for safety textile products (HJBZ30 2000). Kenaf (*Hibiscus Cannabinus* L.) is expected to be able to grow on slightly Cu contaminated soils to achieve safety fiber production, phytostabilization of the soils and phytoextraction of soil Cu.

**Key words:** EDDS, Enhanced phytoextraction, Phytostabilization, Kenaf, Cu, Contaminated soil