

EDTA 和硫辅助苎麻修复铅、锌和镉污染土壤的研究

专 业：生态学

硕士生：陈金景

导 师：叶志鸿 教授

摘 要

受重金属污染的土壤由于造成了严重的环境和公共健康问题,日益受到人们的密切关注。但目前高效、对环境友好并能广泛应用于实践的重金属污染土壤修复方法仍缺乏。所以,寻找高效且对环境友好的重金属污染土壤修复方法成为了许多学者共同关注的焦点之一。本实验模拟野外的条件,采用土柱实验的方法,用乙二胺四乙酸(EDTA)和硫(S)辅助经济作物苎麻对重金属污染土壤进行修复,并通过 EDTA 和硫加入后对苎麻生物量的影响、苎麻地上部重金属的积累情况、重金属的渗漏情况以及对土壤微生物和动物的影响等几方面来进行综合评价。

研究表明, EDTA 的加入能显著提高苎麻地上部的重金属浓度。加入 5 mmol kg^{-1} EDTA 后深根型苎麻叶中的 Pb、Zn、Cd 浓度显著提高,分别是对照的 45.5、2.2 和 2.8 倍。而硫只对 Zn 的吸收有显著作用,第二次收获深根型苎麻叶中的 Zn 含量是对照的 1.6 倍。在雨水的冲刷作用下, EDTA 的加入会显著增强重金属往下层土壤的迁移并引起重金属的渗漏。 5 mmol kg^{-1} EDTA 使渗滤液中 Pb、Zn、Cd 的最大浓度分别达到了 384、74 和 0.16 mg L^{-1} ,说明 EDTA 与重金属形成的重金属-EDTA 复合物具有很高的可溶性。 3 mmol kg^{-1} EDTA 也发生了重金属的淋溶,但淋溶量要显著小于 5 mmol kg^{-1} EDTA。硫的作用相对较弱,并未造成重金属往下层的迁移,与对照相比,硫未引起显著的淋溶。苎麻三次收获生物量的结果显示, 5 mmol kg^{-1} EDTA 处理在第二和第三次收获时苎麻的生物量显著减少,而 3 mmol kg^{-1} EDTA 处理在第三次收获时才影响苎麻的生物量,说

明低浓度 EDTA (3 mmol kg^{-1} EDTA) 在短期内对苎麻的生物量影响不大, 但经过较长时间后 (3—4 个月) 也会影响苎麻的生长, 使生物量降低。硫在三次收获中对苎麻生物量的影响都不大。磷脂脂肪酸分析的结果显示, EDTA 和硫的加入使得土壤微生物群落结构发生了改变, 真菌和菌根菌的数量减少, 硫处理组中反映微生物生理状况的指标 $\text{cy17:0} / \text{pre16}$ 显著高于对照和 EDTA 处理组, 说明硫加入后形成的酸性环境给土壤微生物带来了更大的压力。土壤线虫数量变化的结果与土壤微生物的结果一致, EDTA 和硫的加入显著减少了土壤线虫的数量。土壤微生物和动物的研究结果表明, EDTA 和硫的加入给土壤微生物和动物带来了一个环境胁迫更大的生存环境。

上述发现将有助于人们认识经济作物配合螯合剂在重金属污染土壤修复中的潜在作用, 并为植物修复材料和螯合剂的选择提供理论指导和依据。

关键词: 植物提取, EDTA, 硫, 苎麻, 重金属, 渗滤液

EDTA and Sulfur Enhanced Phytoextraction of Pb、 Zn、 Cd from Metal Contaminated Soil by *Boehmeria nivea*

Major: Ecology

Name: CHEN Jinjing

Supervisor: Prof. YE Zhihong

Abstract

Soils contaminated by heavy metals have become a serious problem in areas of intense industry and agriculture. Heavy metals are deposited in soils mainly by atmospheric input and the use of mineral fertilizers or compost, and sewage sludge disposal. Soils polluted with heavy metals pose a health hazard to humans as well as plants and animals, often requiring soil remediation practices.

Ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) and sulfur (S) have been shown to enhance phytoextraction of some heavy metals from contaminated soil. In present soil column studies, ramie (*Boehmeria nivea* L.) was investigated for the EDTA and S-enhanced phytoextraction of Pb, Zn, Cd from contaminated soil. We examined the effect of EDTA and S on the uptake of Pb, Zn and Cd by ramie, biomass, mobilization and leaching of heavy metals and the toxicity effects of EDTA and S added on soil microorganisms and nematodes.

The heavy metal concentrations in shoots could be enhanced by EDTA significantly. In the 5 mmol kg⁻¹ EDTA treatments, concentrations of Pb, Zn and Cd in the leaves were 45.5, 2.2 and 2.8 times higher compared to the control treatments. The Zn concentration in the leaves was 1.6 times higher compared to the control

treatments after the S additions in the second harvest. In columns treated with 5 m mol kg⁻¹ EDTA, the concentrations of Pb, Zn and Cd in leaching reached 384, 74 and 0.16 mg L⁻¹, suggesting high solubility of heavy metals-EDTA complexes. However, S didn't cause heavy metals leaching. EDTA with low concentration (3 m mol kg⁻¹) had little effect on the biomass of ramie in short time, but significantly reduced the biomass after long time period (3-4 month). Sulfur had little effect on the biomass of ramie during three harvests. The results of phospholipid fatty acid analyses (PLFA) indicated toxic effects of EDTA and S on soil fungi and VAM fungi. The number of nematodes was greatly reduced upon addition of EDTA and S which was most likely related to the increasing environmental stress.

Our results help to recognize the potential application of economic plant on phytoextraction of heavy metals and provide some useful information in plants and chelating agents' selecting.

Keywords: phytoextraction, EDTA, sulfur, *Boehmeria nivea*, heavy metal, leaching

目 录

□ 文摘

□ 英文文摘

□ 第一章前言

- 1.1 重金属污染土壤及其环境问题
- 1.2 重金属污染土壤修复方法的研究现状
- 1.3 螯合剂和硫在植物修复技术中的应用
- 1.4 螯合剂诱导修复的环境效应
- 1.5 本研究的目的意义和研究内容
- 1.6 技术路线

□ 第二章材料与方法

- 2.1 土壤取样地描述
- 2.2 土壤取样方法
- 2.3 土柱实验设计
- 2.4 测定方法
- 2.5 统计分析

□ 第三章 EDTA 和硫对苧麻生物量和修复效率的影响

- 3.1 土壤基本理化性质分析
- 3.2 土壤重金属含量分析
- 3.3 苧麻生物量变化
- 3.4 苧麻对重金属的吸收
- 3.5 苧麻的修复效率
- 3.6 讨论

□ 第四章 EDTA 和硫对土壤重金属渗漏的影响

- 4.1 土壤各层重金属的变化
- 4.2 渗滤液(leaching)
- 4.3 讨论

□ 第五章 EDTA 和硫对土壤微生物和动物的影响

- 5.1 EDTA 和硫对土壤微生物的影响
- 5.2 EDTA 和硫对土壤线虫的影响
- 5.3 讨论

□ 第六章综合讨论与展望

- 6.1 综合讨论:
- 6.2 小结与展望
- 6.3 结论

□ 参考文献

□ 致谢

□ 原创性声明

第一章 前言

1.1 重金属污染土壤及其环境问题

重金属是指密度在 5 g cm^{-3} 以上的金属, 如 Au、Ag、Cu、Pb、Zn、Ni、Co、Cd、Cr 和 Hg 等 45 种。从环境污染方面所说的重金属, 实际上主要是指 Hg、Cd、Pb、Cr 以及类金属 As 等生物毒性显著的重金属, 也指具有一定毒性的一般重金属如 Zn、Cu、Co、Ni、Se 等 (鑫磊, 2000)。

受重金属污染的土壤已经造成了严重的环境和公共健康问题, 日益受到人们的密切关注。目前, 全世界平均每年排放 Hg 约 1.5 万吨, Cu 340 万吨, Pb 500 万吨, Mn 1500 万吨, Ni 100 万吨 (周泽义, 1999)。在中国, 一方面是耕地资源较为匮乏, 近年来耕地面积不断减少; 另一方面是受污染的耕地面积达 2000 万公顷, 约占耕地面积的五分之一, 其中重金属污染 (主要是 Pb、Zn 和 Cd) 约占污染面积的 30% 至 40% (韦朝阳等, 2001)。据我国农业部进行的全国污灌区调查显示, 我国 140 万公顷的污灌面积中, 8.4%、9.7% 和 46.7% 的面积分别受到重金属的重度、中度和轻度污染 (陈志良等, 2002)。我国每年因重金属污染而减产粮食 1000 多万吨, 被重金属污染的粮食每年多达 1200 万吨, 合计经济损失至少 200 亿元。当前我国大多数城市近郊土壤都受到不同程度的重金属污染, 其中 Cd 污染较普遍, 污染面积近 1000 万 hm^2 , 其次是 Pb、Zn、Cu、Hg 等; 有许多地方粮食、蔬菜、水果等食物中 Cd、Cr、As、Pb 等重金属含量超标和接近临界值 (王凯荣, 1997)。土壤中的污染物通过食物链聚集到动物和人体中, 危害人畜的健康, 引发人类的癌症和其他疾病, 在日本由 Hg 中毒而引发的“水俣病”就是一个例证。所以对重金属污染的土壤进行修复和治理是非常有必要的。

1.2 重金属污染土壤修复方法的研究现状

目前国内外采用的重金属污染土壤的修复方法分为物理修复法、化学修复法和生物修复法, 其中生物修复法包括动物修复法、植物修复法和微生物修复法。利用物理和/或化学方法治理重金属污染土壤往往投资昂贵、容易造成二次污染,

因此无法大面积应用。

植物修复技术是利用植物的吸收和代谢功能将环境介质中的有毒有害污染物进行分解、富集和稳定的过程 (Cunningham et al., 1996)。以植物为基础的植物修复法由于具有其他技术无可比拟的优点: 经济、绿色、环境友好和可以进行原位修复等 (McGrath et al., 2002), 逐渐成为当今环境科学领域的一个研究热点。污染土壤的植物修复技术主要包括植物固定法 (Phytostabilization) 和植物提取法 (Phytoextraction)。植物固定法较适用于重度污染的土壤, 但并不去除土壤中的污染物, 植物提取法则较适用于低度和中度污染的土壤。大面积的环境问题与低到中度重金属污染土壤有关, 因此植物提取法被认为是植物修复技术中最具有经济市场和发展前景的方法。英国利物浦大学的 Bradshaw 等 (1980) 长期致力于矿山废弃地的生态恢复研究工作, 他们最早利用当地的耐性植物对矿山土地进行了修复, 并且成功的开发出可商业化应用的针对不同重金属矿山废弃地的耐性品种系列。Kumar 等 (1995) 在含 $\text{Pb } 625 \text{ mg kg}^{-1}$ 的土壤盆栽处理中种植印度芥菜 (*Brassica juncea*), 三个星期后使淋溶液中的 Pb 含量由 $740 \mu\text{g ml}^{-1}$ 下降到 $22 \mu\text{g ml}^{-1}$ 。

早期的植物提取技术研究主要集中在超富集植物 (hyperaccumulators) 方面。现在已经发现并证实了多种超富集植物, 陈同斌等 (2000) 发现 As 超富集植物——蜈蚣草 (*Pteris vittata* L.), 其羽片野外含 As 量超过 1000 mg kg^{-1} , 室内栽培羽片的 As 含量达 5070 mg kg^{-1} 。杨肖娥等 (2002) 发现 Zn 超富集植物——东南景天 (*Sedum alfredii* H.), 其地上部 Zn 含量高达 $4134\text{--}5000 \text{ mg kg}^{-1}$, 平均为 4515 mg kg^{-1} 。在国内还发现 Mn 超富集植物商陆 (*Phytolacca acinosa* R.), As 富集植物大叶井口边草 (*Pteris cretica* L.), Cd 超富集植物宝山堇菜 (*Viola baoshanensis*) 等 (韦朝阳等, 2002; 刘威等, 2003; 薛生国等, 2003; Wang et al, 2006)。但超富集植物通常只能富集某种特定的金属元素, 并且生长速度慢, 生物量低, 不易于机械化操作, 这些不足限制了它在植物修复技术中的实际应用。近年来, 有不少学者提出在植物修复材料方面可选择一些对重金属有一定耐性的能源或经济类植物, 这些植物在修复污染土壤的同时还可以产生一定的经济价值, 且一般不经过食物链, 但这方面的研究较少。总的来说, 目前的植物修复技术, 无论在国外还是在国内基本上都停留在室内实验和小面积的田间示范实验阶段, 还没有形成

成熟的土壤修复技术。

1.3 螯合剂和硫在植物修复技术中的应用

1.3.1 螯合剂和硫

研究表明,螯合剂(如乙二胺四乙酸、乙二胺二琥珀酸、有机酸等)能释放与土壤固相键合的重金属,增加土壤溶液重金属的浓度,从而增强植物对重金属的吸收和向地上部分的转运(Huang et al.,1997; Epstein et al., 1999; Wu et al., 1999)。螯合剂诱导提取法(Chelate induced phytoextraction),是应用无机或有机螯合剂增强大生物量植物地上部重金属富集以去除土壤中的重金属的一种方法。这种方法已成为重金属污染土壤植物修复研究的一个热点,正受到越来越多的关注和青睐。Huang 等(1997)报道,施加 0.2 g kg^{-1} 乙二胺四乙酸(EDTA)后,土壤溶液中 Pb 的质量浓度由 4 mg L^{-1} 增加到 4000 mg L^{-1} ,玉米(*Zea mays* L.)和豌豆(*Pisum sativum* L.)地上部分 Pb 质量分数由 500 mg kg^{-1} 增加到 10000 mg kg^{-1} ;他们还发现,加入 EDTA 24 h 后,玉米(*Z. mays*)伤流液中 Pb 质量分数增加了 140 倍,由根向地上部的净运输量增加了 120 倍。Blaylock 等(1997)的研究发现,EDTA 不仅促进印度芥菜(*Brassica juncea* L.)对 Pb 的吸收,且同时促进 Cd、Cu、Ni、Zn 的吸收。Grčman 等(2003)采用土柱生长试验研究了 EDTA 和 EDDS(乙二胺二琥珀酸)对白菜(*Brassica rapa* L.)吸收 Pb 的影响,发现施加 EDTA 及 EDDS 与对照相比植物 Pb 吸收量分别增加 158 倍和 89 倍。对于不同重金属,螯合剂的作用不尽相同,如 Pb 的最适螯合剂为 EDTA,而 Cd 为 EGTA(乙二醇双四乙酸)。同时,螯合剂的效果与植物品种有关,Ebbs 等(1997)研究发现,EDTA 能促进印度芥菜(*B. juncea*)对 Zn 的吸收,但对燕麦(*Avena sativa* L.)和大麦(*Hordeum vulgare* L.)则无效果。在重金属污染土壤的植物修复研究中,EDTA 通常是最常见和最有效的螯合剂(Blaylock et al., 1997)。

另外,硫、硫酸铵等化学物质也常被用来增强植物对重金属的吸收(Ulrich et al., 2003)。硫是通过降低土壤 pH 值来达到目的的。Hornburg 等(1993)研究发现,当土壤 pH 值下降到 6.5 时,土壤中可溶性的 Cd 显著增加,Zn、Cu 和 Pb

分别在 pH 值下降到 5.3、4.5 和 3.5 时显著增加。向土壤中加入硫和铵肥可以降低土壤的 pH 值, 另外值得一提的是, 硫和铵类物质都是植物生长所必需的营养元素之一。Tichy 等 (1997) 在其盆栽实验中, 通过施入不同量的硫使土壤的 pH 值降低, 芥菜 (*B. juncea*) 在 pH 值为 5 的时候, Cd 的清除率是对照的 1.3 倍。Kayser 等 (2000) 在大田实验中, 将 1.15 kg m^{-2} 的硫分别混入烟草 (*Nicotiana tabacum* L.)、向日葵 (*Helianthus annuus* L.)、玉米 (*Z. mays*) 和柳树 (*Salix sp.*) 的根际区, 发现植物中 Cd 和 Zn 的含量增加了 1.4 到 2.2 倍。

1.3.2 苎麻

苎麻 (*Boehmeria nivea* L.) 是荨麻科苎麻属多年生宿根性草本。其茎内的韧皮纤维可用作纺织原料, 是重要的纤维作物。根据根系入土深浅和地上部生长状态, 苎麻品种可分为深根丛生型、浅根散生型和中间型三类。韦朝阳和陈同斌 (2002) 在对高砷区的植物进行调查时, 发现高砷区苎麻叶、茎、根中的 As 含量分别为 536 mg kg^{-1} 、 103 mg kg^{-1} 和 69 mg kg^{-1} , 说明苎麻对 As 具有极强的耐性。代剑平等 (2003) 在研究 Cd 污染环境中苎麻植株各部分 Cd 的分布规律时, 发现苎麻具有很强的富集 Cd 的能力, 在含 $\text{Cd} 10 \text{ mg kg}^{-1}$ 的污染农田土壤上, 其地上部含量就能达到 15 mg kg^{-1} 。尽管利用苎麻修复 Cd、Hg 污染土壤已做了一些初步的有益尝试, 但未考虑向污染土壤中添加合适的螯合剂和与之适应的田间管理技术等因素, 所得的实验结果不尽人意。

本实验室通过在湖南、广东、广西的十多个 Pb、Zn、Cd 污染区的野外调查和室内土培实验表明: 苎麻 (*B. nivea*) 是世界上首次发现的能耐受多种重金属 (如 Pb、Zn 和 Cd) 的非食用性多年生经济作物, 并且在适当的螯合剂诱导下, 苎麻地上部能高富集 Pb、Zn 和 Cd。苎麻作为植物修复材料具有如下几大优点: 1. 分布广, 适应各种土壤条件, 能同时耐受和吸收 Pb、Zn 和 Cd; 2. 具有重大经济价值并且不经过食物链; 3. 多年生, 根系发达, 生长快, 生物量高; 4. 易于大面积繁殖。利用苎麻配合螯合剂修复重金属污染土壤这项技术能否在实际中获得应用, 选择合适的植物、开发有效、安全的螯合剂及它们的优化组合是成功的前提和关键。

1.4 螯合剂诱导修复的环境效应

需要注意的是,添加螯合剂如 EDTA、EGTA 等,能提高重金属的迁移性能,重金属很可能通过淋滤的方式扩散到非污染区域,从而扩大了污染的区域 (Cooper et al., 1999; Grčman et al., 2001; Lombi et al., 2001), EDTA 较难降解,同时,强配体还能导致大量元素的流失,使土壤发生贫瘠化 (Dirilgen et al., 1998; Wasay et al., 1998; Nörtemann et al., 1999)。此外,螯合剂的加入,增高了土壤溶液重金属的浓度,改变了土壤微生物和土壤动物的生存环境,势必会对它们造成一定的影响。因此,在使用螯合剂时,一定要进行环境风险评价,在考虑诱导效率的同时,也要估测对环境的潜在危害。下面分别叙述螯合剂施用的环境评价指标。

1.4.1 土壤微生物

土壤微生物是土壤生态系统中的原动力,直接推动着土壤的物质循环与能量流动,并通过影响土壤物质的合成与分解间接地影响着植物的生长,它在整个生态系统中发挥着重要的生态作用 (Van der Heijden et al., 1998; Moynahan et al., 2002)。研究表明:土壤微生物的一个重要特征就是对环境变化十分敏感,即使土壤环境微小的或短时间内的变化都会引起微生物组成及活性的改变 (Pankhurst et al., 1995; Mummey et al., 2002)。在重金属污染的土壤中加入螯合剂会导致土壤溶液中重金属的浓度发生变化,从而对土壤微生物产生一定的影响。因此分析土壤微生物的生物量及其群落结构在螯合剂加入前后的变化,必然能为螯合剂应用到实际的重金属污染土壤中提供有价值的信息。

目前在土壤微生物研究方面,用的较多的是磷脂脂肪酸分析方法 (PLFA)。PLFA 是构成活体细胞膜的重要组分,不同类群的微生物能通过不同生化途径形成不同的 PLFA,部分 PLFA 总是出现在同一类群的微生物中,而在其它类群的微生物中很少出现,细胞死亡后数分钟到数小时内细胞酶水解和释放磷脂,PLFA 被降解,这是 PLFA 作为区分活体微生物群落标记的基础。Frostegård 等 (1996) 对已有的磷脂提取方法进行改进后,成功地应用到土壤微生物分析中。Frostegård

等 (1993) 用 PLFA 方法测试不同重金属污染森林和耕地土壤中生物量的变化, 发现重金属污染导致森林土壤中 10Me16:0, 10Me17:0 和 10Me18:0 增加, 耕地中 10Me16:0, 10Me18:0 下降, 15:0 和 17:0 增加, 表明森林土壤放线菌生物量增加, 耕地放线菌生物量下降, 细菌生物量增加。Bååth 等 (1998) 用 PLFA 方法研究了 Cu 污染对土壤微生物群落结构的影响, 发现外源 Cu 的加入导致土壤微生物群落结构发生变化, 使得 cy17:0 脂肪酸的相对含量增大, 而 18:1w7 和 16:1w5 脂肪酸的含量下降。Kelly 等 (1999) 用 PLFA 方法发现 Zn 污染土壤中指示菌根真菌和放线菌的 PLFA 相对含量下降, 微生物群落结构发生了变化。Kandeler 等 (2000) 发现经长时间重金属污染后, 土壤中真菌/细菌的比值上升, 其原因可能是真菌具有耐重金属污染的能力, 同时也发现, 在富含重金属的淤泥和粘土中, 微生物量有明显的减少。Suhadolc 等 (2004) 用 PLFA 分析了在重金属污染土壤中改变重金属有效性对土壤微生物群落结构的影响, 发现用磷灰石处理降低重金属有效性和补充重金属来提高其有效性两种方式均改变了土壤微生物群落结构。

1.4.2 土壤动物

土壤动物是土壤生态系统的有机组成部分, 主要涉及原生动物、线形动物、软体动物、环节动物、节肢动物等。具有数量大、种类多、移动范围小和对环境污染或变化所产生的反应敏感等特点, 因而通过对污染区土壤动物群落结构、生态分布和污染指示种的系统研究, 能反应土壤被污染程度、时间变化和生物学效应, 为土壤质量评价和土壤污染监测提供重要依据。

线虫是土壤中最丰富的无脊椎动物, 它们参与土壤有机质分解、植物营养矿化和养分循环等重要生态过程, 在土壤生态系统腐屑食物网中占有重要地位 (Ingham et al., 1985)。线虫因其形态的特殊性, 食物的专一性, 分离鉴定相对简单, 以及对环境的各种变化包括污染的胁迫效应能做出较迅速的反应等特点, 土壤线虫已成为生态学上指示生物的首选对象之一, 为环境污染状况评价提供有价值的信息 (Bongers et al., 1999; Neher, 2001)。Donkin 等 (1993) 用土壤线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 对 Cu 污染土壤进行了毒理实验, 得到了线虫毒性与重金属含量的剂量—响应关系, 以及土壤性质对重金属的生物可利用性影响。

1.4.3 渗滤液 (leaching)

施用 EDTA 等螯合剂将影响土壤中重金属, 如 Zn、Cu、Pb、Cd 和 Ni 等的活度和迁移性, 从而会增大重金属污染地下水的潜在危险性。Vogeler 等 (2001) 在 Cu 污染土壤中加入 EDTA, 7 d 后 Cu 开始淋溶迁移, 16 d 后 Cu 迁移量达到最大。由于 EDTA 的活化作用, Cu 向下迁移距离达到 700 cm。Clothier 等 (2002) 的土柱生长试验表明, 加入螯合剂后, Cu 流失进入地下水的量达到土柱总 Cu 量的 20%。Grčman 等 (2001) 在其土柱实验中报道, 加入 10 mmol kg^{-1} 的 EDTA 后, Pb、Zn 和 Cd 初始浓度的 37.9、10.4 和 56.3% 发生了渗滤。所以螯合剂的施用剂量应当严格控制, 并且尽量避免在雨季时施用。

1.5 本研究的意义和研究内容

从目前国内外的文献来看, 在利用植物和螯合剂对重金属污染土壤进行修复方面, 大量的研究都着眼于超积累植物或是一些大生物量的农作物, 如玉米 (*Z. mays*) 和印度芥菜 (*B. juncea*) 等, 而关于一些对重金属有较强耐性的能源或经济类植物则报道的比较少。如前所述, 苎麻 (*B. nivea*) 是能耐受多种重金属 (如 Pb、Zn 和 Cd) 的非食用性多年生经济作物, 并且在适当的螯合剂诱导下, 苎麻地上部能高富集 Pb、Zn 和 Cd, 是理想的植物修复材料。本研究将从不同的角度研究和分析苎麻在加入不同的螯合剂后对环境的影响 (包括土壤动物、微生物和土壤渗滤液), 以及不同螯合剂的加入对苎麻品质 (生物量) 和修复效率的影响。将中、低度重金属污染土壤视为一种资源, 从生态和经济两个方面来考虑问题, 在对污染土壤进行修复的同时使其再次拥有生产价值, 这是治理重金属污染土壤的另一条途径, 且更加复合我国的国情。本研究的成果将有助于人们认识经济作物配合螯合剂在重金属污染土壤修复中的作用, 并为植物修复材料和螯合剂的选择提供理论指导和依据。

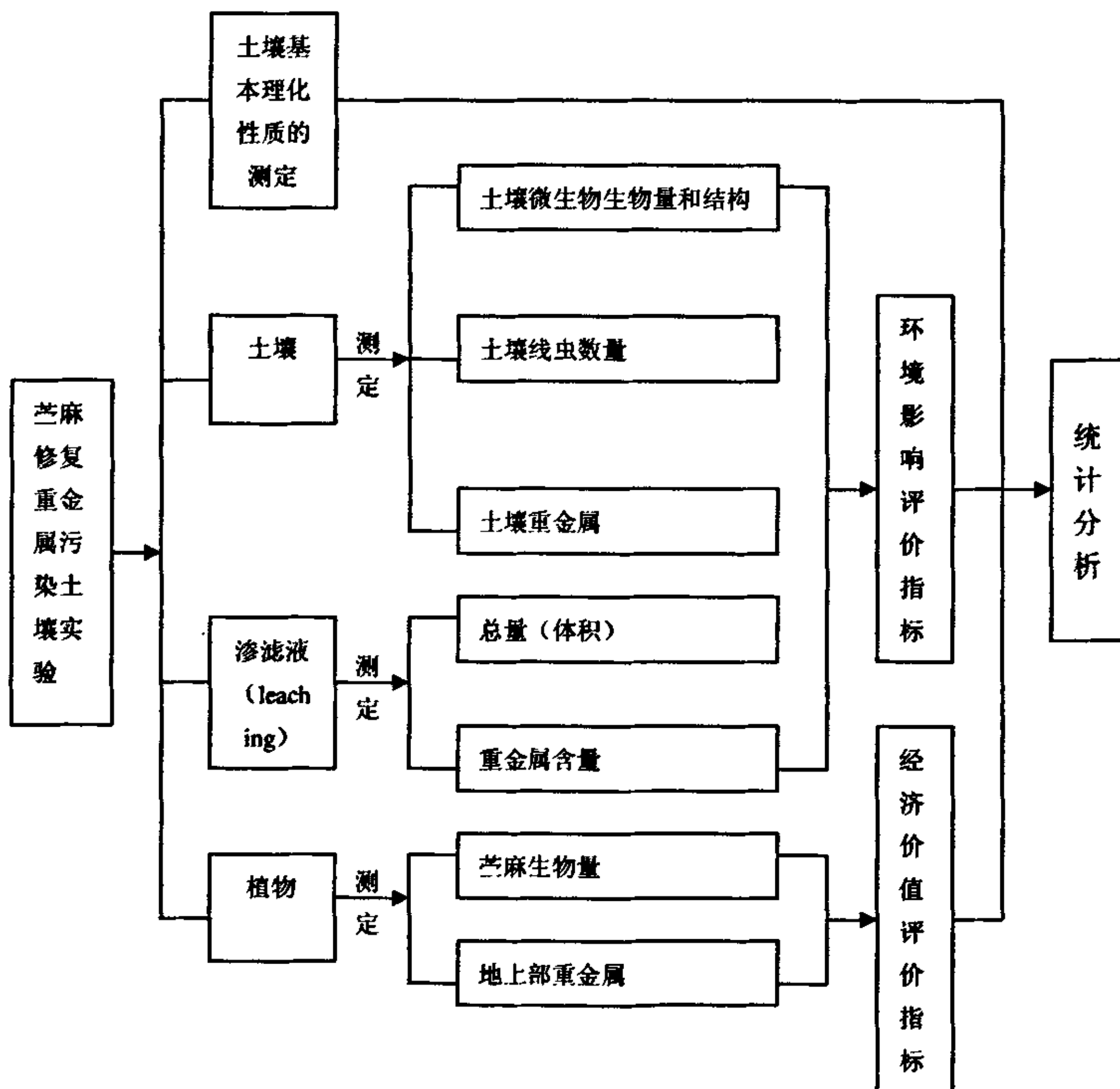
本研究主要是通过模拟野外的条件下, 采用土柱实验的方法, 在 Pb、Zn、Cd 中度复合污染的土壤上种植不同苎麻品种或其组合 (深根品种、浅根品种), 考察加入不同螯合剂对环境的影响 (主要是土壤动物、微生物和土壤渗滤液的量

及其中重金属的含量), 以探索出对环境影响最小的苎麻品种组合和螯合剂的最优配置。

研究主要包括如下三个方面:

- 1) 比较不同品种苎麻或其组合在不同螯合剂作用下对Pb、Zn和Cd污染土壤的修复效率。
- 2) 比较不同螯合剂对不同品种苎麻或其组合生物量(长期)的影响。
- 3) 从多方面评估(土壤动物、微生物和渗滤液)施加不同螯合剂后对环境产生的影响。

1.6 技术路线



第二章 材料与方法

2.1 土壤取样地描述

本实验使用的土壤取自广东省乐昌市 Pb/Zn 矿附近的农田, 此 Pb/Zn 矿位于乐昌市东部, 离市中心约 4 km, 年降雨量为 1500 mm, 属亚热带气候。由于当地农民长期使用矿区的污染水源进行灌溉, 致使农田受到一定程度的重金属污染(主要为 Pb、Zn 和 Cd)。

2.2 土壤取样方法

随机选取重金属污染区一块农田, 挖取长 2.5 m、宽 1.5 m、深 0.7 m 的立方体土样, 土样分为三层: 第一层为地面 0—25 cm, 第二层为地下 25—50 cm, 第三层为地下 50—70 cm。不同层的土样用不同的袋子分别装回中山大学南校区进行实验。不同层的土样分别充分混合、风干、过 4 mm 筛, 用于土柱实验。

2.3 土柱实验设计

将高 80 cm, 直径 20 cm 的聚氯乙烯管 (PVC 管) 一端用带孔的胶塞封住, 胶塞上放两层 0.2 mm 的塑料网, 防止土壤从胶塞孔流出, 胶塞下方放一塑料瓶, 通过漏斗收集渗滤液。然后分别往柱内依次装入第三层的土壤 9 kg、第二层的土壤 8.5 kg、第一层的土壤 8 kg, 共 25.5 kg 风干土。所有处理一次性加入 150 mg kg^{-1} 土的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和 K_2SO_4 作为 N 和 K。

将生长了 3 个星期的苎麻苗种入土柱中, 苎麻苗取自湖南农业大学苎麻研究所。每柱种植 4 棵苎麻, 其中深根型+浅根型组合中, 深根型、浅根型各种入两株。苎麻根据品种不同分成三种组合: A. 深根型、B. 浅根型、C. 深根型+浅根型组合, 三种不同组合分别加入 EDTA 和硫 (S), EDTA 和硫设有两个浓度: EDTA_1 (3 mmol kg^{-1})、 S_1 (40 mmol kg^{-1}) 和 EDTA_2 (5 mmol kg^{-1})、 S_2 (60 mmol kg^{-1}), 以不加 EDTA 和硫的处理为对照, 每个处理设有三个重复。其中 EDTA_2

和 S_2 只在深根型品种中施用, 因为深根型苎麻具有发达的根系, 它在防止螯合剂加入后重金属的迁移可能有一定的作用。

实验处理如下 (3个重复, 共42柱):

- 1) 苎麻 (浅根型品种)
- 2) 苎麻 (深根型品种)
- 3) 苎麻 (浅根型品种+深根型品种)
- 4) 苎麻 (浅根型品种+EDTA₁)
- 5) 苎麻 (浅根型品种+S₁)
- 6) 苎麻 (深根型品种+EDTA₁)
- 7) 苎麻 (深根型品种+EDTA₂)
- 8) 苎麻 (深根型品种+S₁)
- 9) 苎麻 (深根型品种+S₂)
- 10) 苎麻 (浅根型品种+深根型品种+EDTA₁)
- 11) 苎麻 (浅根型品种+深根型品种+S₁)
- 12) 土壤+EDTA₁
- 13) 土壤+S₁
- 14) 土壤

为了表述简便, 我们将浅根型苎麻、深根型苎麻、深+浅根型苎麻、土壤分别命名为: SR, DR, DSR, T; EDTA₁ 和 EDTA₂ 分别缩写为: E₁ 和 E₂; DR+E₁ 表示: 深根型苎麻加入 3 mmol kg^{-1} EDTA; DR+S₁ 表示: 深根型苎麻加入 40 mmol kg^{-1} 硫, 其他同理。

将以上土柱至于露天空地上, 每次下雨后收集渗滤液, 用于测定重金属在加入 EDTA 和硫后的渗漏情况。种入苎麻后, 植物生长 60 天, 在收获前两个星期加入 EDTA 和硫 (EDTA 以溶液形式加入, 硫以固体形式加入到第一层土壤中), 苎麻继续生长, 两个星期后将土柱地上部的苎麻全部收获, 将收获的地上部分为茎、皮、叶和花四部分, 分别测定其生物量和重金属的含量。深根型、深根型+浅根型苎麻共收获了三批 (三次收获时间分别为: 2006-10-9, 2006-11-30, 2007-3-12), 但浅根型苎麻由于缺苗, 种入的时间稍晚, 只收获了两批 (两次收获时间分别为: 2006-12-11, 2007-3-12)。实验结束前, 用五点法取 0—25 cm 的

土样测定 PLFA 和线虫, 确定螯合剂加入后对土壤微生物和动物的长期效应。实验结束后, 分别取不同层的土壤测定其中重金属的含量, 以确定在加入不同螯合剂后, 重金属在不同层土壤间的迁移情况。

2.4 测定方法

2.4.1 土壤理化性质的测定方法

土壤有机质按照重铬酸钾容量法测定; 土壤总氮用凯氏定氮法测定; 土壤总磷和有效磷用钼锑抗显色法测定 (鲍士旦, 2000)。土壤 pH 值用 pH 计 (Sartorius PB-10) 测定 (水 : 土 = 2.5 : 1, V/V)。

土壤重金属 (Pb、Zn、Cd) 总量的测定: 土壤风干 (约一个星期), 磨碎, 过 0.025 mm 的筛, 称取约 0.5 g, 小心倒入消化管内, 用少量的纯净水润湿, 加入 4 ml 王水 ($\text{HNO}_3 : \text{HCl} = 1 : 3$, V/V), 浸泡过夜, 将消化管放入消化炉内 90 °C 30 min, 然后 140 °C 30 min, 180 °C 1 h, 冷却, 加入 1 ml 的 HClO_4 , 然后 140 °C 20 min, 180 °C 1 h, 冷却, 定容, 过滤, 用原子吸收法测定土壤重金属总量。土壤中重金属有效态的提取: 用 0.005 mol L^{-1} DTPA- 0.01 mol L^{-1} CaCl_2 ; 0.01 mol L^{-1} TEA 配成 DTPA 浸提液后, 调节 pH 至 7.3, 称 25 g 过 20 目筛土样 + 50 ml DTPA 浸提液于三角瓶中, 25 °C 下 120 次/min 振荡提取 2 h 后用滤纸过滤, 滤液用原子吸收法测定重金属含量。

2.4.2 土壤微生物群落 PLFA 分析

参考最初由 Bligh 和 Dyer (1959) 提出, 后经 White 等 (1979) 和 Frostegård 等 (1993b) 改进的方法测定 PLFA。步骤如下:

1、称 3 g 鲜土, 将样品放于 50 ml 带螺旋盖的离心管中, 用 5 ml 移液枪分别加 10 ml 的提取液 (氯仿 : 甲醇 : 柠檬酸盐缓冲液, 1 : 2 : 0.8, V/V), 涡流 15 秒。提取至少 2 h 后, 在 1800 rpm 下, 离心 15 min 后, 悬浮液倒入带螺旋盖的大玻璃试管中。然后再用 5 ml 移液枪加 5 ml 的同样提取液到余下的土壤, 涡流, 重提 30 min, 离心。第二次得到的悬浮液与第一次的合并。用 5 ml 玻璃移液管加入 4 ml 的氯仿与 5 ml 移液枪加 4 ml 的柠檬酸盐缓冲液, 加盖, 涡流 1 min,

过夜分离（分层）。

2、用 5 ml 玻璃移液管（下层，取液之前将枪头用氯仿润洗 1-2 次）取氯仿层到 10 ml 尖头离心管中，在 40 °C 水浴下（将 10 ml 尖头离心管放在试管架上，再将试管架放在水浴锅中，以下相同）用 N₂ 吹干，放在 -20 °C 冰箱保存，待分析。

3、将柱子（3 ml 或 6 ml）放在固定架上（自制），用 5 ml 玻璃移液管吸 3 ml 的氯仿加到 SPE-Si 柱（SPE-Si 柱，500 mg/3ml, SUPELCO, USA）上进行活化，之后，将吹干样品先用 500 μ l 微量注射器取 200 μ l 的氯仿溶解，涡流 15 秒，洗入柱子，再用 200 μ l 涡流 15 秒，洗入柱子。然后分别用 5 ml 的氯仿分离中性脂类，加 10 ml 的丙酮分离甘油酯，氯仿与丙酮的分离相收集于废液瓶中，并用丙酮洗柱尖，以便清除不纯物。加 5 ml 的甲醇，并使甲醇在柱中停留 1 min，最后洗脱的极性磷脂用 10 ml 尖头离心管收集（上述按生产商指令进行），得到的甲醇分离物在 40 °C 水浴下用 N₂ 吹干（气流不要过大）。放在 -20 °C 冰箱保存，待分析。

4、加 100 μ l 的内标（FAME 19:0，用 500 μ l 微量玻璃注射器）到盛有吹干样品的 10 ml 尖头离心管中，用 N₂ 吹干（不加热）。再用 5 ml 玻璃移液管向样品中加 1 ml 的甲醇/甲苯（1:1，V/V），涡流混合。

5、用 1 ml 移液枪加 1 ml 新配制的 0.2 M KOH 溶液，在 37°C 下甲酯化 15 min，冷却 20 min。

6、用 5 ml 玻璃移液管向混合液中加入 2 ml 的正己烷/氯仿混合液（4:1，V/V）、用 1 ml 移液枪加 0.3 ml 的 1 M 的乙酸、用 5 ml 移液枪加 2 ml 的水，涡流 1 min，静止 10 min（利于分层）。

7、5 ml 玻璃移液管将上层液（不要带下层液）转到新的小试管中，用 N₂ 吹干，但不加热。放在 -20 °C 冰箱保存，待分析。

8、GC-分析

a) 将样品溶解在 100 μ l（土壤）或 50 μ l（沙子）的正己烷中，涡流几秒。

b) 小 GC 瓶填充 200 μ l 的正己烷，然后内套管被放进去。

c) 加 25 μ l 的样品至内套管中，加盖子。

9、PLFA 的计算：

PLFA 按照 Abaye 等 (2004) 提出的公式进行计算:

$$\text{Fatty acid ng g}^{-1}\text{dm} = (\text{P}_{\text{FAME}} \times \text{ng Std}) / (\text{P}_{\text{ISTD}} \times \text{dilution} \times \text{W})$$

其中, P_{FAME} 与 P_{ISTD} 分别为脂肪酸与内标的峰面积; ng Std 为内标的浓度 ($\text{ng}/\mu\text{l}$ 内标溶液); dilution 为正己烷的体积 ($100 \mu\text{l}$), W 为土壤干重。

GC-MS (GC6890/5973N-MSD, Agilent Technologies, Bracknell, UK) 条件: 进样口温度 230°C ; 检测器温度 270°C 。升温程序 80°C , 持续 1 min , 以 $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 增加至 170°C , 保持 3 min , 再以 $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 增加至 210°C , 保持 10 min , 以 $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 260°C , 保持 5 min 。以 He 气作为载气。

脂肪酸的命名以总碳数: 双键数和双键距离末端甲基的位置命名。如 PL FA 16:1w7, 表示距末端第 7 位碳上有 1 个双键的 16 碳脂肪酸。c 表示顺式, t 表示反式, a 和 i 分别表示反异构 (anteiso) 和异构 (iso); br 表示没确定支链位置; 10Me 表示甲基团在距分子末端第 10 个碳原子上; cy 指环丙烷脂肪酸。

2.4.3 土壤线虫的测定方法

土壤线虫测定方法: 采用贝尔曼漏斗法(modified Baermann funnel method), 既在口径为 20 cm 的塑料漏斗末端接一段橡皮管, 在橡皮管后端用弹簧夹夹紧, 在漏斗内放置一层铁丝网, 其上放置两层纱网, 并在上面放一层线虫滤纸, 把 100 g 土样均匀铺在滤纸上, 加水至浸没土壤, 置于 20°C 室温条件下分离。24 小时后打开夹子, 放出橡皮管内的水于小烧杯中, 得到线虫样本, 将样本置于立体解剖镜下计数 (叶维青等, 1983)。

2.4.4 渗滤液的收集及测定方法

螯合剂加入前, 每次下雨后收集渗滤液并测定其体积 (以十天为一个时间段); 螯合剂加入后, 收集每次下雨的渗滤液, 收集时间为: 2006 年 9 月 1 日到 2006 年 12 月 30 日。取 30 ml 用滤纸过滤后的滤液, 放入小塑料瓶中并加入少量硝酸保存, 留待测定其中重金属的含量。

2.4.5 植物的分析方法

植物生物量的测定：将收获的植物地上部分分为茎、皮、叶、花四部分，用去离子水洗净，放入 60 °C 烘箱内 3 天，直至恒重，记录干重。

植物各部分重金属浓度的测定：植物地上部分用去离子水充分洗净，置烘箱内烘干后（3 天），磨碎，称取约 0.5 g，小心的倒至消化管内，用少量的纯净水润湿，加入 5 ml 浓 HNO₃，浸泡过夜，放入消化炉内 90 °C 30 min，然后 140 °C 30 min，180 °C 1 h，冷却，加入 1 ml 的 HClO₄，然后 160 °C 20 min，180 °C 1 h，冷却，定容，过滤，再用原子吸收法测定。

2.5 统计分析

所有数据用 SPSS 13.0 和 SAS-6.12 软件进行分析。不同数据间的差异显著性采用 LSD 方法检验（ $p < 0.05$ ）。

第三章 EDTA 和硫对苎麻生物量和修复效率的影响

3.1 土壤基本理化性质分析

根据常规的土壤分析方法，三层土壤的有机质、总氮、总磷、有效磷和 pH 值分别被分析。从表 3-1 可见，除 pH 值外，各项指标从第一层到第三层都一致性地降低，并且各层之间差异显著（ $p < 0.05$ ），有机质、总 N、总 P、有效 P 主要集中在第一层，即地表层。各层的 pH 值在 7 左右，差别不大。

3.2 土壤重金属含量分析

各层土壤的 Pb、Zn、Cd 总量和 DTPA 有效态含量结果见表 3-2。土壤的 Pb、Zn、Cd 总量和 DTPA 有效态含量最大值出现在第一层，之后逐层降低，和土壤基本理化性质里的有机质、总 N、总 P 和有效 P 呈现一致的趋势。第一层的 Pb 含量为 664 mg kg^{-1} ，Zn 为 564 mg kg^{-1} ，属于中度污染水平，Cd 的含量为 1.26 mg kg^{-1} ，属轻度污染水平。Pb、Zn 和 Cd 在第一层的含量分别是第二层的 7 倍、4.6 倍和 3 倍，即重金属的污染主要集中在第一层土壤中。

3.3 苎麻生物量变化

3.3.1 深根型苎麻三次收获地上部的生物量

EDTA 等螯合剂一般在植物生长的成熟期前加入，在这个时候加入可以减少螯合剂的加入对植物生物量的影响，如果螯合剂加入的过早，可能会影响植物的生长，降低生物量，从而影响到对重金属污染土壤的修复效率。由表 3-3 可以看出，深根型苎麻第一次收获各处理间的生物量差异不显著（ $p > 0.05$ ），各处理和对照 DR 比，生物量有略微的减少。

第二次收获硫处理组与对照的地上部生物量差异不显著（ $p > 0.05$ ），硫处

表 3-1 土壤基本理化性质 (means $\pm$ SE, n = 3)

理化参数	第一层 (0—25 cm)	第二层 (25—50 cm)	第三层 (50—70 cm)
有机质 (g kg^{-1})	41.21 $\pm$ 1.06 a	4.14 $\pm$ 0.42 b	2.63 $\pm$ 0.07 b
总 N (g kg^{-1})	1.22 $\pm$ 0.09 a	0.82 $\pm$ 0.15 b	0.25 $\pm$ 0.08 c
总 P (g kg^{-1})	0.81 $\pm$ 0.02 a	0.24 $\pm$ 0.01 b	0.16 $\pm$ 0.03 c
有效 P (mg kg^{-1})	17.89 $\pm$ 0.32 a	3.86 $\pm$ 0.14 b	2.87 $\pm$ 0.16 c
pH 值	7.02 $\pm$ 0.03 b	7.19 $\pm$ 0.01 a	7.19 $\pm$ 0.02 a

根据 LSD 检验 ($p < 0.05$), 表中每行标有相同字母的数据表示不同层的土壤差异不显著, 而标有不同字母的数据表示不同层的土壤差异显著。

表 3-2 土壤重金属含量的统计特征 (mg kg^{-1} dw, means $\pm$ SE, n = 4)

重金属含量	第一层	第二层	第三层
总 Pb	664.1 $\pm$ 0.4 a	93.2 $\pm$ 5.4 b	50.2 $\pm$ 2.0 c
总 Zn	564.5 $\pm$ 2.4 a	162.5 $\pm$ 1.7 b	139.6 $\pm$ 3.5 c
总 Cd	1.26 $\pm$ 0.09 a	0.27 $\pm$ 0.01 b	0.10 $\pm$ 0.06 b
DTPA-Pb	183.0 $\pm$ 1.1 a	14.4 $\pm$ 0.4 b	6.7 $\pm$ 0.1 c
DTPA-Zn	22.6 $\pm$ 0.5 a	15.0 $\pm$ 0.7 b	11.6 $\pm$ 0.4 c
DTPA-Cd	0.39 $\pm$ 0.01 a	0.021 $\pm$ 0.001 b	0.013 $\pm$ 0.001 b

根据 LSD 检验 ($p < 0.05$), 表中每行标有相同字母的数据表示不同层的土壤差异不显著, 而标有不同字母的数据表示不同层的土壤差异显著。

理组不论是高浓度（60 m mol kg⁻¹）还是低浓度（40 m mol kg⁻¹），对苎麻的生物量影响都比 EDTA 处理组的小。高浓度 EDTA（5 m mol kg⁻¹）对苎麻第二次收获的生物量影响较大，DR+E₁ 和 DR+E₂ 与对照 DR 相比，生物量分别减少了 25% 和 68%，但 DR+E₁ 的生物量减少并不显著（*p* > 0.05）。

第三次收获中，EDTA 对苎麻生物量的影响继续扩大，硫的影响相对较小。深根型苎麻在高浓度 EDTA 处理下，生物量出现了最低值 4.3 g。不论是低浓度还是高浓度，在第三次收获中 EDTA 都对苎麻的生物量产生了显著的影响（*p* < 0.05）。DR+E₁ 和 DR+E₂ 与对照 DR 相比，生物量分别减少了 79%和 89%。

表 3-3 深根型苎麻三次收获地上部的生物量（g dm per column, means±SE, n = 3）

处理	第一次收获 2006-10-9	第二次收获 2006-11-30	第三次收获 2007-3-12
DR	89.59 ± 6.59 a	22.06 ± 2.60 a	39.25 ± 3.72 a
DR+E ₁	61.12 ± 10.95 a	16.63 ± 0.66 a	8.20 ± 2.70 c
DR+E ₂	71.71 ± 5.81 a	6.96 ± 2.11 b	4.31 ± 0.57 c
DR+S ₁	65.38 ± 4.44 a	19.01 ± 3.08 a	27.23 ± 2.38 b
DR+S ₂	78.60 ± 14.85 a	18.68 ± 3.54 a	22.74 ± 3.22 b

DR: 深根型苎麻（不加螯合剂）；E₁: 3 m mol kg⁻¹ EDTA；E₂: 5 m mol kg⁻¹ EDTA；S₁: 40 m mol kg⁻¹ 硫；S₂: 60 m mol kg⁻¹ 硫；DR+E₁ 表示：深根型苎麻加入 3 m mol kg⁻¹ EDTA；DR+S₁ 表示：深根型苎麻加入 40 m mol kg⁻¹ 硫，其他同理。根据 LSD 检验（*p* < 0.05），表中每列标有相同字母的数据表示各处理生物量的差异不显著，而标有不同字母的数据表示各处理生物量的差异显著。

3.3.2 深+浅根型苎麻三次收获地上部的生物量

与深根型苎麻地上部的生物量变化不同，深+浅根型苎麻 EDTA 处理组在三次收获中都 与对照 DSR 有显著差异（表 3-4），但硫处理组的三次收获都没有显著差异。第二次收获时，DSR+E₁ 和对照 DSR 相比减少了 47%；到了第三次收获时 DSR+E₁ 减少了 81%。

3.3.3 浅根型苎麻两次收获地上部的生物量

由于浅根型苎麻苗数量不足,浅根型苎麻种入的时间较晚,在2006年12月11日才收获第一次。由表3-5可见,SR+E₁的生物量要比其对照SR的略大,但差异不显著($p > 0.05$),硫(40 mmol kg⁻¹)处理后,苎麻的生物量有所降低。第二次收获中,EDTA和硫处理组与对照相比,差异都不显著($p > 0.05$),低浓度EDTA和硫的加入并没有对浅根型苎麻的生物量产生显著影响,这与深根型苎麻的结果基本一致。由于受实验时间限制,浅根型苎麻未能收获第三次,没能得到相关数据。

表 3-4 深+浅根型苎麻三次收获地上部的生物量 (g dm per column, means±SE, n = 3)

处理	第一次收获 2006-10-9	第二次收获 2006-11-30	第三次收获 2007-3-12
DSR	89.82 ± 4.25 a	26.86 ± 2.24 a	41.74 ± 2.04 a
DSR+E ₁	69.16 ± 5.11 b	14.05 ± 3.59 b	8.13 ± 3.74 b
DSR+S ₁	84.10 ± 3.80 ab	24.50 ± 2.18 a	23.36 ± 10.49 ab

DSR: 深+浅根型苎麻(不加螯合剂); DSR+E₁表示: 深+浅根型苎麻加入 3 mmol kg⁻¹ EDTA; DSR+S₁表示: 深+浅根型苎麻加入 40 mmol kg⁻¹ 硫。根据 LSD 检验 ($p < 0.05$), 表中每列标有相同字母的数据表示各处理生物量的差异不显著, 而标有不同字母的数据表示各处理生物量的差异显著。

表 3-5 浅根型苎麻两次收获地上部的生物量 (g dm per column, means±SE, n = 3)

处理	第一次收获 2006-12-11	第二次收获 2007-3-12
SR	23.12 ± 1.59 ab	35.89 ± 2.42 a
SR+E ₁	27.66 ± 1.21 a	25.52 ± 5.61 a
SR+S ₁	19.36 ± 1.63 b	27.16 ± 3.62 a

SR: 浅根型苎麻(不加螯合剂); SR+E₁: 浅根型苎麻加入 3 mmol kg⁻¹ EDTA; SR+S₁: 浅根型苎麻加入 40 mmol kg⁻¹ 硫。根据 LSD 检验 ($p < 0.05$), 表中每列标有相同字母的数据表示各处理生物量的差异不显著, 而标有不同字母的数据表示各处理生物量的差异显著。

3.4 苎麻对重金属的吸收

在每次苎麻收获后, 我们对苎麻的各部分进行了重金属 (Pb、Zn、Cd) 浓度的测定。EDTA 和硫只在第一次收获的两个星期前加入, 之后的收获都未加入。

3.4.1 深根型苎麻三次收获各部分的重金属浓度

深根型苎麻三次收获各部分的重金属浓度见表 3-6。在第一次收获中, EDTA 的加入显著增加了苎麻叶、花中 Pb、Zn 和 Cd 的浓度 ($p < 0.05$), 其中 EDTA 对 Pb 的作用最为明显。DR+E₂ 叶中的 Pb 浓度达到 547 mg kg^{-1} , 其叶、花的 Pb 浓度分别是对照 DR 的 45.5 倍和 32.5 倍。苎麻对 Pb 的吸收能力随着 EDTA 浓度的增大而增大, 当 EDTA 从 3 m mol kg^{-1} 增大到 5 m mol kg^{-1} 时, Pb 在苎麻叶子中的浓度从 385 mg kg^{-1} 增大到 547 mg kg^{-1} , 增幅 42%。但高浓度 EDTA 对苎麻吸收 Cd 和 Zn 的作用不大, 对 Cd 和 Zn 而言, E₁ (3 m mol kg^{-1}) 和 E₂ (5 m mol kg^{-1}) 的差异不显著 ($p > 0.05$)。DR+E₁ 叶中的 Cd、Zn 浓度分别是其对照 DR 的 3 倍和 2.4 倍。硫的加入对苎麻吸收 Pb、Zn 和 Cd 的能力没有太大提高, 其作用不显著 ($p > 0.05$)。

第一次收获后, 苎麻经过将近两个月的生长, 收获第二次。EDTA 经过两个月的时间后, 依然能促进苎麻对重金属的吸收, 但效果比第一次的有所下降。低浓度 EDTA (3 m mol kg^{-1}) 对 Pb、Zn、Cd 在叶中的积累效果依然显著 ($p < 0.05$), DR+E₁ 叶中 Pb、Zn、Cd 的浓度分别是其对照 DR 的 20.5 倍、2.3 倍和 2.3 倍。与第一次收获的结果一样, EDTA 在第二次收获中对 Pb 的吸收作用仍然比 Zn 和 Cd 的好。高浓度 EDTA (5 m mol kg^{-1}) 在第二次收获时依然能够显著提高苎麻叶片对重金属的吸收 ($p < 0.05$), 但效果不如低浓度 (3 m mol kg^{-1}) 的显著。硫处理组在第二次收获时对 Pb、Cd 的作用依然不显著 ($p > 0.05$), 苎麻叶中的 Pb、Cd 浓度基本和对照持平。但叶、花中的 Zn 浓度在第二次收获时有显著的提高 ($p < 0.05$), DR+S₁ 花中的 Zn 浓度是对照 DR 的 1.6 倍。

第二次收获后, 苎麻经过三个多月的生长, 收获第三次。由于第三次收获在春季, 植物地上部分没有花, 所以未能获得该部分数据。EDTA 经过前两次收获后, 其促进苎麻对重金属的吸收作用已经不显著了 ($p > 0.05$), 恢复到对照的水平。和深根型第二次收获时一样, 硫对 Pb 和 Cd 的吸收作用不显著 ($p > 0.05$), 但高浓度硫 (60 m mol kg^{-1}) 对 Zn 的吸收仍然有显著的效果, DR+S₂

表 3-6 深根型苎麻三次收获各部分的重金属浓度 (mg kg^{-1} , means $\pm$ SE, $n = 3$)

金属	收获次数	部位	DR	DR+E ₁	DR+E ₂	DR+S ₁	DR+S ₂
Pb	第一次收获	叶	12.0 $\pm$ 0.7 c	385.4 $\pm$ 67.5 b	547.1 $\pm$ 53.6 a	9.2 $\pm$ 0.8 c	10.4 $\pm$ 0.7 c
		皮	5.2 $\pm$ 1.2 b	23.7 $\pm$ 1.4 a	28.9 $\pm$ 5.9 a	5.9 $\pm$ 2.4 b	7.2 $\pm$ 0.4 b
		茎	5.9 $\pm$ 0.4 b	5.9 $\pm$ 0.6 b	9.3 $\pm$ 1.5 a	3.9 $\pm$ 0.9 b	5.0 $\pm$ 0.5 b
		花	4.4 $\pm$ 0.8 c	83.3 $\pm$ 19.4 b	143.2 $\pm$ 26.7 a	2.4 $\pm$ 1.0 c	3.4 $\pm$ 0.7 c
	第二次收获	叶	10.8 $\pm$ 0.9 c	221.7 $\pm$ 14.5 a	150.1 $\pm$ 2.2 b	10.0 $\pm$ 0.9 c	10.3 $\pm$ 0.5 c
		皮	4.0 $\pm$ 0.1 b	18.7 $\pm$ 6.8 a	28.2 $\pm$ 4.8 a	4.9 $\pm$ 1.1 b	6.2 $\pm$ 0.7 b
		茎	5.6 $\pm$ 0.1 b	11.1 $\pm$ 0.7 a	9.4 $\pm$ 1.2 a	5.5 $\pm$ 0.9 b	6.8 $\pm$ 0.2 b
		花	6.6 $\pm$ 1.2 b	49.3 $\pm$ 1.2 a	51.4 $\pm$ 2.1 a	8.9 $\pm$ 1.4 b	10.1 $\pm$ 1.5 b
	第三次收获	叶	7.9 $\pm$ 0.6 a	6.6 $\pm$ 0.4 ab	7.9 $\pm$ 0.6 a	6.1 $\pm$ 0.2 b	6.9 $\pm$ 0.6 ab
		皮	1.5 $\pm$ 0.3 b	4.9 $\pm$ 1.3 a	1.5 $\pm$ 0.7 b	0.8 $\pm$ 0.3 b	0.6 $\pm$ 0.4 b
		茎	1.2 $\pm$ 0.5 a	2.3 $\pm$ 1.1 a	1.6 $\pm$ 0.9 a	1.1 $\pm$ 0.1 a	0.4 $\pm$ 0.2 a
Zn	第一次收获	叶	61.5 $\pm$ 17.4 b	147.3 $\pm$ 38.1 a	133.0 $\pm$ 10.6 ab	66.3 $\pm$ 26.6 ab	84.3 $\pm$ 32.3 ab
		皮	36.0 $\pm$ 10.4 a	48.5 $\pm$ 4.5 a	38.0 $\pm$ 4.9 a	36.7 $\pm$ 9.2 a	63.6 $\pm$ 21.6 a
		茎	14.7 $\pm$ 2.9 a	13.3 $\pm$ 1.4 a	11.6 $\pm$ 2.0 a	13.5 $\pm$ 2.9 a	15.5 $\pm$ 3.0 a
		花	58.2 $\pm$ 6.7 bc	75.9 $\pm$ 11.2 ab	87.3 $\pm$ 4.8 a	55.3 $\pm$ 1.7 c	57.8 $\pm$ 3.7 bc
	第二次收获	叶	36.1 $\pm$ 1.7 c	84.2 $\pm$ 6.6 a	65.0 $\pm$ 3.0 b	57.1 $\pm$ 2.0 b	54.8 $\pm$ 2.9 b
		皮	19.1 $\pm$ 1.8 ab	16.2 $\pm$ 1.4 b	25.5 $\pm$ 4.1 ab	30.4 $\pm$ 7.1 a	29.7 $\pm$ 2.4 a
		茎	21.7 $\pm$ 2.1 b	15.4 $\pm$ 0.9 c	18.8 $\pm$ 2.0 bc	36.8 $\pm$ 2.4 a	32.2 $\pm$ 1.7 a
		花	60.9 $\pm$ 2.9 b	58.8 $\pm$ 1.6 b	81.6 $\pm$ 1.4 a	81.7 $\pm$ 7.7 a	80.6 $\pm$ 2.7 a
	第三次收获	叶	50.3 $\pm$ 1.8 b	52.0 $\pm$ 1.7 b	51.0 $\pm$ 4.3 b	62.0 $\pm$ 0.9 ab	69.6 $\pm$ 7.0 a
		皮	21.2 $\pm$ 1.4 a	42.9 $\pm$ 14.5 a	37.5 $\pm$ 2.9 a	29.0 $\pm$ 3.7 a	31.0 $\pm$ 4.3 a
		茎	25.3 $\pm$ 3.6 a	26.0 $\pm$ 8.2 a	29.3 $\pm$ 2.5 a	34.1 $\pm$ 9.6 a	34.8 $\pm$ 2.0 a
Cd	第一次收获	叶	0.25 $\pm$ 0.04 b	0.74 $\pm$ 0.07 a	0.70 $\pm$ 0.04 a	0.17 $\pm$ 0.02 b	0.18 $\pm$ 0.02 b
		皮	0.25 $\pm$ 0.04 b	0.39 $\pm$ 0.02 a	0.37 $\pm$ 0.01 a	0.28 $\pm$ 0.04 b	0.23 $\pm$ 0.03 b
		茎	0.16 $\pm$ 0.02 b	0.26 $\pm$ 0.02 a	0.18 $\pm$ 0.01 b	0.17 $\pm$ 0.01 b	0.21 $\pm$ 0.02 ab
		花	0.17 $\pm$ 0.05 b	0.60 $\pm$ 0.14 a	0.81 $\pm$ 0.16 a	0.11 $\pm$ 0.03 b	0.15 $\pm$ 0.03 b
	第二次收获	叶	0.14 $\pm$ 0.02 c	0.33 $\pm$ 0.04 a	0.24 $\pm$ 0.02 b	0.11 $\pm$ 0.01 bc	0.18 $\pm$ 0.01 bc
		皮	0.14 $\pm$ 0.01 b	0.14 $\pm$ 0.04 b	0.31 $\pm$ 0.05 a	0.19 $\pm$ 0.01 b	0.19 $\pm$ 0.02 b
		茎	0.04 $\pm$ 0.03 c	0.15 $\pm$ 0.01 a	0.13 $\pm$ 0.02 ab	0.08 $\pm$ 0.02 bc	0.08 $\pm$ 0.01 bc
		花	0.18 $\pm$ 0.02 a	0.18 $\pm$ 0.01 a	0.18 $\pm$ 0.01 a	0.20 $\pm$ 0.08 a	0.15 $\pm$ 0.01 a
	第三次收获	叶	0.17 $\pm$ 0.01 a	0.16 $\pm$ 0.01 a	0.15 $\pm$ 0.02 a	0.15 $\pm$ 0.01 a	0.16 $\pm$ 0.01 a
		皮	0.12 $\pm$ 0.02 ab	0.09 $\pm$ 0.01 b	0.10 $\pm$ 0.03 ab	0.17 $\pm$ 0.02 a	0.13 $\pm$ 0.02 ab
		茎	0.09 $\pm$ 0.02 b	0.09 $\pm$ 0.03 b	0.13 $\pm$ 0.04 ab	0.18 $\pm$ 0.02 a	0.16 $\pm$ 0.01 ab

表中各处理的代码请参见表 3-3。根据 LSD 检验 ($p < 0.05$), 表中每行标有相同字母的数据表示差异不显著, 而标有不同字母的数据表示差异显著。

叶中的 Zn 浓度是对照 DR 的 1.4 倍 ($p < 0.05$)。

3.4.2 深+浅根型苎麻三次收获各部分的重金属浓度

由表 3-7 可见, 第一次收获时, EDTA 的加入显著提高了深+浅根型苎麻叶、花中的重金属浓度($p < 0.05$)。DSR+E₁ 叶、花中的 Pb 浓度分别达到 461 mg kg^{-1} 和 117 mg kg^{-1} , 是其对照 DSR 的 39.5 倍和 22.5 倍。DSR+E₁ 叶中 Cd、Zn 浓度分别是其对照 DSR 的 4 倍和 4.1 倍。硫的加入对苎麻吸收 Pb、Zn 和 Cd 的能力没有太大提高, 其作用不显著 ($p > 0.05$)。

第二次收获时, EDTA 依然能够促进深+浅根型苎麻对重金属的吸收, 但效果不及第一次的显著。DSR+E₁ 的 Pb、Zn、Cd 浓度由第一次的 461 mg kg^{-1} 、 172 mg kg^{-1} 、 0.712 mg kg^{-1} 下降为 232 mg kg^{-1} 、 78 mg kg^{-1} 和 0.351 mg kg^{-1} 。DSR+E₁ 叶中的 Pb、Zn、Cd 浓度是其对照 DSR 的 19.2 倍、1.9 倍和 2 倍。与深根型苎麻不同, 硫在第二次收获时依然对 Pb、Zn 和 Cd 没有显著的吸收, 作用不显著 ($p > 0.05$)。

深+浅根型苎麻在第三次收获时, EDTA 促进苎麻对重金属的吸收作用已经不显著了 ($p > 0.05$), 回复到初始水平。硫在三次收获中都没有促进苎麻对 Pb、Zn 和 Cd 的吸收, 作用不显著 ($p > 0.05$)。

3.4.3 浅根型苎麻两次收获重金属浓度的变化

浅根型苎麻的第一次收获中, EDTA 的加入也显著增加了苎麻叶、花中 Pb、Zn 和 Cd 的浓度 (表 3-8), SR+E₁ 叶中的 Pb、Zn 和 Cd 浓度是其对照 SR 的 12.8 倍、2 倍和 3.1 倍, 但与深根型苎麻第一次收获相比, 深根型在相同 EDTA 浓度下对 Pb、Zn、Cd 的吸收能力是浅根型的 1.5、1.9 和 1.8 倍。浅根型苎麻第一次收获中重金属的浓度与深根型苎麻第二次收获的重金属浓度相近。

和浅根型苎麻第一次收获相比, 除 Zn 变化不大外, Pb、Cd 浓度在第二次收获中都有了明显的减少, Pb 由原来的 256 mg kg^{-1} 减少为 63 mg kg^{-1} , Cd 由原来的 0.4 mg kg^{-1} 减少为 0.2 mg kg^{-1} 。

硫在浅根型两次收获中对 Pb、Zn、Cd 的作用都不显著 ($p > 0.05$), 这和

深+浅根型苎麻的结果一致。

表 3-7 深+浅根型苎麻三次收获各部分的重金属浓度 (mg kg^{-1} , means $\pm$ SE, $n = 3$)

金属	收获次数	部位	DSR	DSR+E ₁	DSR+S ₁
Pb	第一次收获	叶	11.7 $\pm$ 0.8 b	460.9 $\pm$ 4.9 a	9.9 $\pm$ 0.2 b
		皮	6.3 $\pm$ 0.9 b	18.9 $\pm$ 1.4 a	6.2 $\pm$ 0.8 b
		茎	7.3 $\pm$ 0.3 a	6.2 $\pm$ 0.9 ab	4.3 $\pm$ 0.8 b
		花	5.2 $\pm$ 0.3 b	117.0 $\pm$ 7.6 a	2.3 $\pm$ 0.3 b
	第二次收获	叶	12.1 $\pm$ 0.8 b	231.6 $\pm$ 26.8 a	10.5 $\pm$ 1.0 b
		皮	8.5 $\pm$ 0.4 b	22.4 $\pm$ 1.9 a	5.4 $\pm$ 1.4 b
		茎	7.8 $\pm$ 0.3 b	11.9 $\pm$ 0.3 a	7.7 $\pm$ 1.2 b
		花	16.5 $\pm$ 1.0 b	43.4 $\pm$ 2.3 a	10.3 $\pm$ 1.8 c
	第三次收获	叶	10.1 $\pm$ 0.7 ab	13.1 $\pm$ 1.6 a	8.7 $\pm$ 0.9 b
		皮	1.6 $\pm$ 0.3 ab	5.2 $\pm$ 2.1 a	0.5 $\pm$ 0.1 b
		茎	2.3 $\pm$ 0.5 a	2.4 $\pm$ 1.0 a	0.6 $\pm$ 0.2 a
Zn	第一次收获	叶	42.3 $\pm$ 2.5 b	172.1 $\pm$ 23.1 a	48.0 $\pm$ 27.7 b
		皮	28.8 $\pm$ 1.5 a	43.6 $\pm$ 11.5 a	40.4 $\pm$ 4.9 a
		茎	11.8 $\pm$ 1.8 a	14.2 $\pm$ 1.3 a	12.4 $\pm$ 0.9 a
		花	59.2 $\pm$ 5.1 b	100.1 $\pm$ 19.4 a	73.3 $\pm$ 3.2 ab
	第二次收获	叶	42.1 $\pm$ 2.4 b	78.5 $\pm$ 3.1 a	51.9 $\pm$ 6.2 b
		皮	27.5 $\pm$ 1.5 a	16.0 $\pm$ 0.4 b	25.3 $\pm$ 2.2 a
		茎	11.8 $\pm$ 1.9 a	13.4 $\pm$ 0.5 a	21.0 $\pm$ 5.7 a
		花	86.6 $\pm$ 9.5 a	66.5 $\pm$ 7.8 a	82.6 $\pm$ 5.7 a
	第三次收获	叶	52.5 $\pm$ 3.2 a	50.2 $\pm$ 5.4 a	69.2 $\pm$ 7.9 a
		皮	31.7 $\pm$ 3.4 a	33.0 $\pm$ 8.5 a	28.8 $\pm$ 1.2 a
		茎	20.8 $\pm$ 2.1 a	21.1 $\pm$ 5.2 a	31.4 $\pm$ 9.6 a
Cd	第一次收获	叶	0.18 $\pm$ 0.01 b	0.71 $\pm$ 0.03 a	0.17 $\pm$ 0.01 b
		皮	0.18 $\pm$ 0.03 b	0.30 $\pm$ 0.05 a	0.17 $\pm$ 0.03 b
		茎	0.13 $\pm$ 0.01 b	0.21 $\pm$ 0.02 a	0.19 $\pm$ 0.01 a
		花	0.31 $\pm$ 0.02 b	0.61 $\pm$ 0.06 a	0.14 $\pm$ 0.02 c
	第二次收获	叶	0.17 $\pm$ 0.01 b	0.35 $\pm$ 0.01 a	0.14 $\pm$ 0.02 c
		皮	0.22 $\pm$ 0.01 a	0.20 $\pm$ 0.04 a	0.14 $\pm$ 0.06 a
		茎	0.12 $\pm$ 0.01 b	0.18 $\pm$ 0.01 a	0.09 $\pm$ 0.02 b
		花	0.37 $\pm$ 0.07 a	0.16 $\pm$ 0.03 b	0.21 $\pm$ 0.04 ab
	第三次收获	叶	0.15 $\pm$ 0.09 ab	0.10 $\pm$ 0.02 b	0.17 $\pm$ 0.01 a
		皮	0.13 $\pm$ 0.01 a	0.13 $\pm$ 0.02 a	0.14 $\pm$ 0.03 a
		茎	0.10 $\pm$ 0.02 a	0.13 $\pm$ 0.04 a	0.16 $\pm$ 0.03 a

表中各处理的代码请参见表 3-4。根据 LSD 检验 ($p < 0.05$), 表中每行标有相同字母的数据表示差异不显著, 而标有不同字母的数据表示差异显著。

表 3-8 浅根型苎麻三次收获各部分的重金属浓度 (mg kg^{-1} , means $\pm$ SE, $n = 3$)

金属	收获次数	部位	SR	SR+E ₁	SR+S ₁
Pb	第一次收获	叶	10.0 $\pm$ 0.4 b	255.7 $\pm$ 17.4 a	13.4 $\pm$ 1.7 b
		皮	11.1 $\pm$ 1.5 b	24.6 $\pm$ 1.2 a	11.5 $\pm$ 1.0 b
		茎	6.4 $\pm$ 0.6 b	12.4 $\pm$ 0.8 a	6.7 $\pm$ 0.6 b
		花	11.2 $\pm$ 1.5 b	116.3 $\pm$ 15.7 a	13.1 $\pm$ 1.6 b
	第二次收获	叶	9.0 $\pm$ 0.1 b	63.2 $\pm$ 14.3 a	10.0 $\pm$ 0.9 b
		皮	1.1 $\pm$ 0.5 b	12.1 $\pm$ 2.6 a	1.9 $\pm$ 0.3 b
		茎	1.4 $\pm$ 0.3 b	5.2 $\pm$ 1.5 a	2.1 $\pm$ 0.6 ab
Zn	第一次收获	叶	39.6 $\pm$ 2.0 b	78.9 $\pm$ 4.1 a	41.2 $\pm$ 3.7 b
		皮	35.2 $\pm$ 5.6 a	33.5 $\pm$ 2.6 a	40.8 $\pm$ 2.8 a
		茎	10.1 $\pm$ 1.9 a	11.3 $\pm$ 0.8 a	11.1 $\pm$ 1.5 a
		花	71.8 $\pm$ 8.1 a	98.0 $\pm$ 4.2 a	85.3 $\pm$ 11.4 a
	第二次收获	叶	56.5 $\pm$ 2.8 a	72.2 $\pm$ 5.8 a	65.5 $\pm$ 4.6 a
		皮	29.9 $\pm$ 1.1 b	35.2 $\pm$ 2.9 ab	40.5 $\pm$ 2.7 a
		茎	22.7 $\pm$ 3.8 ab	15.8 $\pm$ 1.8 b	32.9 $\pm$ 4.3 a
Cd	第一次收获	叶	0.13 $\pm$ 0.01 b	0.42 $\pm$ 0.06 a	0.17 $\pm$ 0.01 b
		皮	0.20 $\pm$ 0.02 b	0.28 $\pm$ 0.02 a	0.30 $\pm$ 0.02 a
		茎	0.11 $\pm$ 0.01 a	0.15 $\pm$ 0.02 a	0.14 $\pm$ 0.04 a
		花	0.19 $\pm$ 0.03 b	0.42 $\pm$ 0.08 a	0.28 $\pm$ 0.06 ab
	第二次收获	叶	0.14 $\pm$ 0.01 a	0.20 $\pm$ 0.03 a	0.19 $\pm$ 0.04 a
		皮	0.11 $\pm$ 0.03 a	0.14 $\pm$ 0.01 a	0.18 $\pm$ 0.02 a
		茎	0.08 $\pm$ 0.02 b	0.13 $\pm$ 0.02 ab	0.15 $\pm$ 0.02 a

表中各处理的代码请参见表 3-5。根据 LSD 检验 ($p < 0.05$), 表中每行标有相同字母的数据表示差异不显著, 而标有不同字母的数据表示差异显著。

3.5 苎麻的修复效率

植物提取法效率的高低与植物地上部的重金属浓度和生物量有关, 我们对苎麻地上部的重金属净含量进行了统计分析。

3.5.1 不同根型苎麻及其组合的修复效率

为了比较不同根型苎麻及其组合对污染土壤的修复效率,我们分析了苎麻在相同 EDTA 浓度下三次收获地上部的重金属含量(表 3-9)。深根型苎麻和深+浅根型苎麻在相同 EDTA 浓度处理下,每次收获 DR+E₁ 与 DSR+E₁ 的 Pb、Zn、Cd 含量都没有显著差异 ($p > 0.05$),但浅根型苎麻第一次收获时的 Pb、Cd 含量要显著低于深根型及其组合。

表 3-9 相同 EDTA 浓度下苎麻三次收获地上部的重金属含量
(mg per column, means $\pm$ SE, $n = 3$)

金属	收获次数	DR+E ₁	DSR+E ₁	SR+E ₁
Pb	第一次收获	10.10 $\pm$ 2.94 ab	10.83 $\pm$ 1.23 a	3.86 $\pm$ 0.66 b
	第二次收获	2.48 $\pm$ 0.24 a	2.09 $\pm$ 0.62 a	1.10 $\pm$ 0.37 a
	第三次收获	0.04 $\pm$ 0.02 a	0.08 $\pm$ 0.03 a	ND
Zn	第一次收获	5.07 $\pm$ 1.88 a	5.69 $\pm$ 1.12 a	1.69 $\pm$ 0.17 a
	第二次收获	1.02 $\pm$ 0.10 a	0.79 $\pm$ 0.21 a	1.35 $\pm$ 0.37 a
	第三次收获	0.34 $\pm$ 0.09 a	0.30 $\pm$ 0.09 a	ND
Cd	第一次收获	0.032 $\pm$ 0.008 a	0.031 $\pm$ 0.003 a	0.009 $\pm$ 0.001 b
	第二次收获	0.005 $\pm$ 0.001 a	0.004 $\pm$ 0.001 a	0.004 $\pm$ 0.001 a
	第三次收获	0.001 $\pm$ 0.001 a	0.001 $\pm$ 0.001 a	ND

DR+E₁ 表示:深根型苎麻加入 3 m mol kg⁻¹ EDTA; DSR+E₁ 表示:深+浅根型苎麻加入 3 m mol kg⁻¹ EDTA; SR+E₁ 表示:浅根型苎麻加入 3 m mol kg⁻¹ EDTA; ND: SR+E₁ 没有收获第三次。根据 LSD 检验 ($p < 0.05$),表中每行标有相同字母的数据表示差异不显著,而标有不同字母的数据表示差异显著。

3.5.2 不同 EDTA 浓度的修复效率

由表 3-10 可见,高浓度和低浓度 EDTA 在第一次和第三次收获时,地上部的 Pb、Zn、Cd 含量没有显著差异 ($p > 0.05$),但第二次收获时,DR+E₁ 的 Pb、Zn、Cd 含量要显著高于 DR+E₂ 的。

3.6 讨论

Grčman 等(2001)和 Wu 等(2004)在实验中分别向甘蓝和印度芥菜中加

表 3-10 不同 EDTA 浓度下三次收获地上部的重金属含量
(mg per column, means $\pm$ SE, n = 3)

金属	收获次数	DR+E ₁	DR+E ₂
Pb	第一次收获	10.10 $\pm$ 2.94 a	12.90 $\pm$ 0.61 a
	第二次收获	2.48 $\pm$ 0.24 a	0.75 $\pm$ 0.22 b
	第三次收获	0.04 $\pm$ 0.02 a	0.02 $\pm$ 0.003 a
Zn	第一次收获	5.07 $\pm$ 1.88 a	4.36 $\pm$ 0.14 a
	第二次收获	1.02 $\pm$ 0.10 a	0.38 $\pm$ 0.09 b
	第三次收获	0.34 $\pm$ 0.09 a	0.20 $\pm$ 0.03 a
Cd	第一次收获	0.032 $\pm$ 0.008 a	0.032 $\pm$ 0.002 a
	第二次收获	0.005 $\pm$ 0.001 a	0.002 $\pm$ 0.001 b
	第三次收获	0.001 $\pm$ 0.001 a	0.001 $\pm$ 0.0001 a

DR+E₁ 表示: 深根型苎麻加入 3 m mol kg⁻¹ EDTA; DR+E₂ 表示: 深根型苎麻加入 5 m mol kg⁻¹ EDTA。根据 LSD 检验 ($p < 0.05$), 表中每行标有相同字母的数据表示差异不显著, 而标有不同字母的数据表示差异显著。

入 EDTA 后, 发现植物叶片中出现棕色斑点和烂叶等明显的植物中毒现象。在本实验中, 也出现了类似的情况, 苎麻加入 EDTA 后, 下层的老叶容易变黄, 并伴有脱落现象, 但这些症状并未出现在中、上层的叶片中。向重金属污染土壤中加入螯合剂, 会增大土壤中可溶性重金属的浓度, 从而对植物产生一定的毒害作用, 影响植物的生长。为了减少螯合剂的加入对苎麻生物量的影响, 螯合剂在第一次收获的前两个星期加入, 此时苎麻的生长已经接近成熟期, 并积累了较大的生物量。由表 3-3、3-4 和 3-5 可见, 第二次收获中 DR+E₁ 和 SR+E₁ 的生物量与其相应的对照比, 没有显著差异 ($p > 0.05$), 说明低浓度 EDTA (3 m mol kg⁻¹) 在短期内没有对苎麻的生物量产生显著影响, 但经过较长的时间后 (如第三次收获时), 差异就显著了; 高浓度 EDTA (5 m mol kg⁻¹) 在第二次收获时与对照就有了显著的差异 ($p < 0.05$)。不同浓度的 EDTA 对苎麻的生物量产生了不同的影响, 低浓度 EDTA 要经过较长时间 (3—4 个月) 才会影响苎麻的生物量, 这为 EDTA 浓度的选择提供了一个参考。

硫对苎麻生物量的影响较小。一方面硫是植物必需的营养元素之一; 另一方面, 硫的作用比较缓慢。硫加入后, 需要靠一些土壤微生物的作用来降低土壤的 pH 值, 这个过程需要较长的时间。Kayser 等 (2000) 在其大田实验中, 发现硫的加入没有影响植物的生物量。在第二次收获中, 对照和各处理组的生物量都比

较低,这可能是由于收获时间处于冬季,苎麻生长缓慢所致。另外,经过第一次收获,土壤中的有机质和氮等营养元素下降,也是导致生物量较小的原因。

加入 EDTA 后, Pb、Zn 和 Cd 主要集中在苎麻的叶和花中,在茎、皮中的含量较低。苎麻是重要的纺织原料,有很高的经济价值,茎、皮是纤维的主要来源。所以在利用苎麻对重金属污染土壤进行修复的同时,不会影响苎麻的经济价值。但苎麻茎的干重占地上部的 30%左右,茎中重金属含量的不高也在一定程度上降低了苎麻的修复效率。EDTA 对苎麻吸收 Pb 的作用很明显,并且随着 EDTA 浓度的增大而增大;相比之下,EDTA 对 Zn 和 Cd 的作用要小些,且高浓度 (5 m mol kg^{-1}) 和低浓度 (3 m mol kg^{-1}) 对苎麻吸收 Zn、Cd 的差异不显著。一般 Pb 在土壤中常被一些土壤胶体和土壤复合物所吸附,活性非常低。EDTA 加入后, Pb 的活性比 Zn、Cd 的要显著加强,这也是 EDTA 能提高 Pb 的植物提取效率的原因之一 (Blaylock et al., 1997; Huang et al., 1997; Cooper et al., 1999)。

第二次收获中苎麻对重金属的吸收能力下降,一方面可能是由于雨水的冲刷作用,导致 EDTA 和 EDTA-金属络合物被淋滤掉,减少了土壤层中可溶性重金属的含量;另一方面,土壤中可溶性重金属浓度的增高,会对植物产生一定的毒害作用,苎麻可能通过对生理功能的调节来阻止大量重金属的进入。高浓度 EDTA (5 m mol kg^{-1}) 在第二次收获时效果不如低浓度 (3 m mol kg^{-1}) 的好 (表 3-10),也可能与上述原因有关。高浓度 EDTA 形成的重金属-EDTA 复合物较多,被雨水淋滤的也越多,另外对苎麻的毒害作用也越大。所以在考虑长期的修复效率时,高浓度 EDTA 不一定是个好选择。

Kayser (2000) 在其大田实验中发现,向烟草和向日葵的根际区中加入 1.15 kg m^{-2} 硫时, Cd 和 Zn 的浓度增加了 1.4 到 2.2 倍。苎麻在加入硫后,对 Zn 也有显著的作用,但与 Kayser 的实验结果不同的是,硫对苎麻吸收 Pb、Cd 的作用不显著,这可能是由植物不同所引起的。硫主要是通过降低土壤的 pH 值来起作用的,这个过程有土壤微生物的参与,需要一段比较长的时间。

通过对不同品种的苎麻及其组合的比较,可以发现:深根型苎麻与深+浅根型苎麻地上部的重金属含量差异不大,但要大于浅根型苎麻 (表 3-9)。深根型苎麻在相同 EDTA 浓度下对 Pb、Zn、Cd 的吸收能力是浅根型苎麻的 1.5 倍、1.9 倍和 1.8 倍,并且深根型苎麻的生物量也比浅根型苎麻的大。植物提取法修复重

金属污染土壤的关键是：选择一种在地上部能积累高浓度重金属且生物量大的植物。

第四章 EDTA 和硫对土壤重金属渗漏的影响

4.1 土壤各层重金属的变化

在重金属污染土壤中加入 EDTA 并经雨水的冲刷作用后, 三种重金属 (Pb、Zn、Cd) 在各层之间发生了不同程度的迁移。硫处理组 (不论是高浓度还是低浓度) 中的重金属和相应的对照比, 没有显著差异 ($p > 0.05$), 即硫处理组中重金属的迁移不明显 (数据没有显示)。由于硫处理组的重金属没有发生明显迁移, 所以只对 EDTA 处理组的进行作图分析。由图 4-1 可见, 对照 (DR、SR、DSR、T) 中各层的土壤重金属变化不大, 基本保持在初始值附近。但 EDTA 加入后, 在雨水的冲刷作用下, 重金属发生了明显的迁移。Pb 在第一层土壤中的含量显著下降 ($p < 0.05$), DRE₂ 下降的最多, 由原来的 664 mg kg^{-1} 下降到 296 mg kg^{-1} , 降幅 55%。DRE₁ 的 Pb 含量在第二层中显著增高 ($p < 0.05$), 说明 Pb 从第一层迁移并积聚在第二层。SRE₁ 和 TE₁ 在第三层的 Pb 含量显著提高 ($p < 0.05$), Pb 迁移并积聚在第三层。DRE₂ 的 Pb 含量在各层都呈下降趋势, Pb 向更深层的土壤中积聚。

Zn 在各层中的变化趋势与 Pb 的相似。加 EDTA 后, Zn 在第一层中的含量显著下降 ($p < 0.05$), DRE₂ 依然下降的最多, 由 535 mg kg^{-1} 下降到 420 mg kg^{-1} 。DRE₁ 在第二层的 Zn 含量显著增高 ($p < 0.05$), 和 Pb 在各层的变化趋势一致。SRE₁、DSRE₁ 和 TE₁ 的 Zn 含量主要迁移到第三层, 它们在第三层的 Zn 含量都显著高于各自的对照 ($p < 0.05$)。

Cd 出现了与 Pb、Zn 不同的变化趋势。EDTA 加入后, 第一层中 Cd 的含量显著下降 ($p < 0.05$), 这与 Pb、Zn 的一致。但第二层中的 Cd 含量与各自的对照相比显著增高 ($p < 0.05$), Cd 主要迁移集中在第二层。DRE₂ 的 Cd 主要集中在第三层, 高浓度的 EDTA (5 mmol kg^{-1}) 促使 Cd 向更深层方向迁移。

DRE₁ 中第二层的 Pb、Zn、Cd 含量都显著高于不种植物的处理 TE₁ ($p < 0.05$), 说明深根型苎麻能对重金属的迁移起到一定的截流作用, 但浅根型和深+浅根型苎麻的作用不明显。

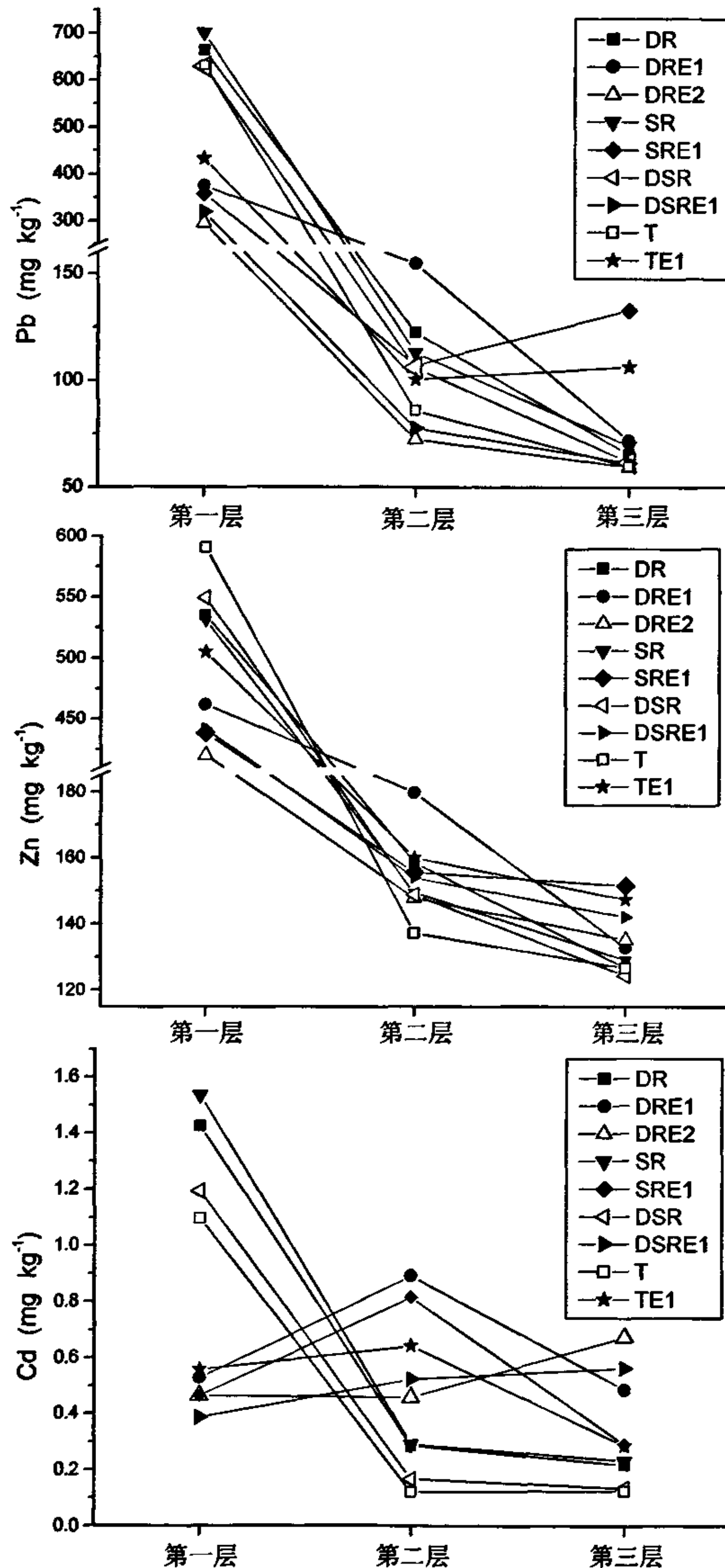


图 4-1 三层土壤中 Pb、Zn、Cd 在加入 EDTA 后的变化

DR: 深根型苎麻 (不加螯合剂); SR: 浅根型苎麻 (不加螯合剂); DSR: 深+浅根型苎麻 (不加螯合剂); T: 土壤 (不种植物, 不加螯合剂); E₁: 3 m mol kg⁻¹ EDTA; E₂: 5 m mol kg⁻¹ EDTA; DRE₁ 表示: 深根型苎麻加入 3 m mol kg⁻¹ EDTA, 其他同理。(n=3)

4.2 渗滤液 (leaching)

渗滤液 (leaching) 的收集从 2006 年 9 月 1 日到 2006 年 12 月 30 日, 共收集到了 7 次, 每次收集的渗滤液体积见表 4-1。在对各处理中渗滤液的重金属浓度和体积进行测定后, 得到了重金属渗漏的有关信息。深根型、深+浅根型的螯合剂在 2006 年 9 月 25 日加入; 浅根型由于苗不足, 种入的时间相对较迟, 螯合剂在 2006 年 11 月 29 日加入, 所以浅根型渗滤液中的重金属含量不高。

硫处理组中, 不论是低浓度 (40 mmol kg^{-1}) 还是高浓度 (60 mmol kg^{-1}), 渗滤液中 Pb、Zn、Cd 的浓度都很低 (数据未显示), 和对照的差异不显著 ($p > 0.05$), 未发生显著的重金属渗漏。但在 EDTA 处理组中, Pb、Zn 和 Cd 发生了不同程度的渗漏 (图 4-2), EDTA 加入后的第一次渗滤液收集 (Oct. 15), Pb、Zn 和 Cd 在渗滤液中的浓度便有了明显的上升。对照 (DR、DSR、T) 渗滤液中的 Pb、Zn、Cd 浓度基本在基线 0 附近, 没有发生重金属的渗漏。

加入低浓度 EDTA (DRE_1 、 DSRE_1 、 TE_1) 后, 渗滤液中 Pb 的浓度随着时间的推移呈上升趋势; 高浓度 EDTA (DRE_2) 渗滤液中的 Pb 浓度也随着时间的推移而上升, 但不同的是在 11 月 28 日时, Pb 在渗滤液中的浓度达到最大值 384 mg L^{-1} , 之后呈下降趋势。Zn 的变化趋势与 Pb 的相似, 不同的是 DRE_2 在 11 月 20 日时, 渗滤液中的 Zn 浓度就显著提高, 最大值出现在 11 月 22 日, 达 74 mg L^{-1} , 之后 Zn 浓度呈下降趋势。Cd 在 11 月 20 日时, 渗滤液中的浓度也显著提高, 但与 Pb、Zn 不同, 在之后的几次渗滤液中, Cd 的浓度没有下降, 反而呈上升趋势。

根据 Pb、Zn、Cd 浓度在几次渗滤液中的变化, 我们发现 Zn、Cd 在高浓度 EDTA (5 mmol kg^{-1}) 的时候比较溶液发生渗漏, 而 Pb 相对较慢; 低浓度 EDTA (3 mmol kg^{-1}) 对 Pb、Zn、Cd 的作用持续时间较长, 在 3 个月后渗滤液中的 Pb、Zn、Cd 浓度依然呈上升趋势。

4.3 讨论

不同的重金属在 EDTA 加入后表现出了不同的迁移情况, 这与 EDTA 对不同

表 4-1 不同处理渗滤液的体积 (2006-9-1 至 2006-12-30, means $\pm$ SE, n = 3)

不同处理	渗滤液体积 (ml)							总体积
	Sept.4	Sept.14	Oct.15	Nov.20	Nov.22	Nov.28	Dec.14	
DR	698 $\pm$ 21	570 $\pm$ 16	153 $\pm$ 21	340 $\pm$ 19	508 $\pm$ 124	645 $\pm$ 120	453 $\pm$ 53	3366 $\pm$ 67
DRE ₁	1260 $\pm$ 80	573 $\pm$ 12	160 $\pm$ 43	230 $\pm$ 22	480 $\pm$ 47	185 $\pm$ 25	800 $\pm$ 24	3689 $\pm$ 87
DRE ₂	528 $\pm$ 143	395 $\pm$ 186	410 $\pm$ 54	850 $\pm$ 43	828 $\pm$ 110	600 $\pm$ 38	825 $\pm$ 110	4436 $\pm$ 352
DRS ₁	610 $\pm$ 173	510 $\pm$ 53	115 $\pm$ 41	720 $\pm$ 30	345 $\pm$ 20	303 $\pm$ 38	838 $\pm$ 140	3440 $\pm$ 281
DRS ₂	911 $\pm$ 168	448 $\pm$ 139	47 $\pm$ 15	227 $\pm$ 18	623 $\pm$ 147	529 $\pm$ 32	823 $\pm$ 94	3606 $\pm$ 275
SR	1735 $\pm$ 55	500 $\pm$ 61	120 $\pm$ 21	480 $\pm$ 12	215 $\pm$ 27	200 $\pm$ 16	210 $\pm$ 26	3460 $\pm$ 138
SRE ₁	1878 $\pm$ 20	570 $\pm$ 16	145 $\pm$ 18	640 $\pm$ 46	500 $\pm$ 30	467 $\pm$ 71	165 $\pm$ 20	4365 $\pm$ 118
SRS ₁	1631 $\pm$ 21	575 $\pm$ 13	150 $\pm$ 14	553 $\pm$ 20	450 $\pm$ 63	424 $\pm$ 101	128 $\pm$ 25	3911 $\pm$ 203
DSR	1614 $\pm$ 223	572 $\pm$ 9	20 $\pm$ 13	450 $\pm$ 64	565 $\pm$ 21	820 $\pm$ 130	480 $\pm$ 48	4520 $\pm$ 310
DSRE ₁	893 $\pm$ 150	567 $\pm$ 16	223 $\pm$ 80	367 $\pm$ 23	555 $\pm$ 108	271 $\pm$ 56	763 $\pm$ 64	3638 $\pm$ 247
DSRS ₁	903 $\pm$ 471	552 $\pm$ 19	72 $\pm$ 17	520 $\pm$ 35	633 $\pm$ 105	155 $\pm$ 17	525 $\pm$ 25	3360 $\pm$ 522
T	1284 $\pm$ 64	558 $\pm$ 22	596 $\pm$ 198	1703 $\pm$ 13	720 $\pm$ 16	725 $\pm$ 58	400 $\pm$ 69	5986 $\pm$ 238
TE ₁	941 $\pm$ 178	478 $\pm$ 117	760 $\pm$ 67	873 $\pm$ 10	840 $\pm$ 20	713 $\pm$ 60	815 $\pm$ 24	5419 $\pm$ 124
TS ₁	1518 $\pm$ 488	582 $\pm$ 11	790 $\pm$ 10	1145 $\pm$ 198	565 $\pm$ 12	460 $\pm$ 47	615 $\pm$ 83	5675 $\pm$ 603

DR: 深根型苎麻 (不加螯合剂); SR: 浅根型苎麻 (不加螯合剂); DSR: 深+浅根型苎麻 (不加螯合剂); T: 土壤 (不种植物, 不加螯合剂); E₁: 3 m mol kg⁻¹ EDTA; E₂: 5 m mol kg⁻¹ EDTA; S₁: 40 m mol kg⁻¹ 硫; S₂: 60 m mol kg⁻¹ 硫; DRE₁表示: 深根型苎麻加入3 m mol kg⁻¹ EDTA; DRS₁表示: 深根型苎麻加入40 m mol kg⁻¹ 硫, 其他同理。

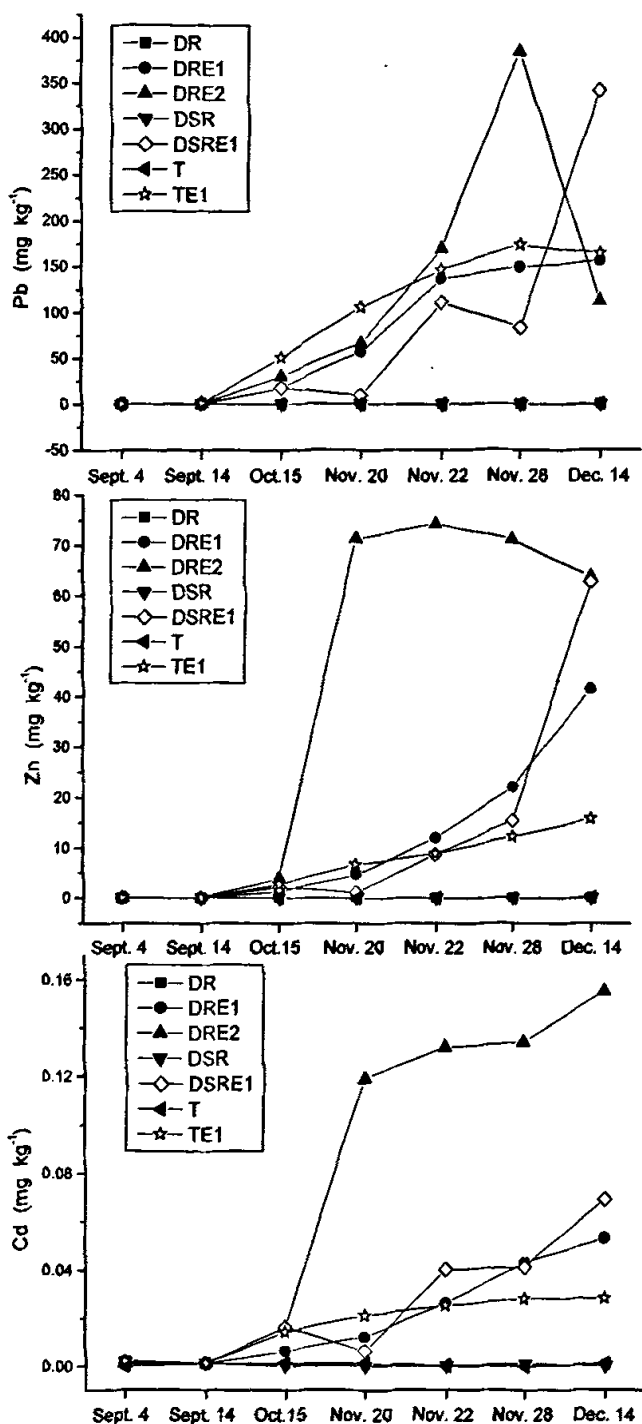


图 4-2 EDTA 加入前后渗滤液中 Pb、Zn、Cd 含量的变化

DR: 深根型苎麻 (不加螯合剂); DSR: 深+浅根型苎麻 (不加螯合剂); T: 土壤 (不种植物, 不加螯合剂); E₁: 3 mol kg⁻¹ EDTA; E₂: 5 mol kg⁻¹ EDTA; DRE₁表示: 深根型苎麻加入3 mol kg⁻¹ EDTA, 其他同理。(n=3)

的金属具有不同的螯合性能有关, EDTA被认为是增高土壤中可溶性Pb最有效的螯合剂之一(Blaylock et al., 1997; Huang et al., 1997)。在本研究中, EDTA加入后, Pb在土壤层中的迁移能力比Zn、Cd的强, 这和Huang等人的研究结果一致。Cd是三种金属中迁移能力最弱的, 在低浓度EDTA (3 m mol kg^{-1}) 处理时, 第一层中的Cd向下迁移后主要集中在第二层, 这也说明EDTA对Cd的活化性能不是很强。在高浓度EDTA (5 m mol kg^{-1}) 作用下, 第一层的重金属向更深层的土壤中迁移。低浓度EDTA (3 m mol kg^{-1}) 处理下重金属的迁移情况相对较小, 第一层的重金属在第二或第三层中都有积聚。

DRE₁中第二层的Pb、Zn、Cd含量都比对照的高(图 4-1), 说明深根型苎麻能将第一层迁移下来的重金属“截流”在第二层, 减缓重金属向下层的迁移, 但深根型苎麻对高浓度EDTA无效。深根型苎麻具有庞大的根系, 这些庞大根系可能对重金属的迁移起到“截流”和吸收作用。深+浅根型苎麻组合在防止重金属的迁移方面作用不明显, 这可能与浅根型苎麻对重金属的吸收能力较弱有关。

硫的加入并没有造成重金属在土壤各层中的迁移, 硫对重金属的活化作用不显著, 这也是硫处理下, 苎麻地上部没有吸收大量重金属的原因之一。

没有种苎麻的土柱比种入苎麻的土柱收集到更多的渗滤液(表 4-1), 说明苎麻对减少渗滤液的量有一定的作用。一方面苎麻的根系能起到保持水土的作用, 另一方面苎麻的蒸腾量比较大, 能将土壤中的一部分水转移到大气中。在 5 m mol kg^{-1} 的EDTA作用下, Pb、Zn、Cd在渗滤液中的含量占土柱总Pb、Zn、Cd含量的7.4、2.9和3%, 比Grčman等(2001)在其土柱实验中加入 10 m mol kg^{-1} EDTA后得到的37.9、10.4和56.3%要小。本实验是野外实验, 使用的EDTA浓度较低, 且EDTA的加入时间也选择在降雨较少的秋、冬季节, 这都是造成渗滤液中重金属的含量较低的原因。由图 5-2可以看出, 渗滤液收集结束时, 渗滤液中的重金属含量还在呈上升趋势, 所以实际的Pb、Zn、Cd滤出量要比所测值大。

第五章 EDTA 和硫对土壤微生物和动物的影响

5.1 EDTA 和硫对土壤微生物的影响

为了研究土壤微生物群落在加入 EDTA 和硫后的变化,我们对深根型各处理的土壤微生物进行了磷脂脂肪酸分析 (PLFA)。结果显示有 32 种 PLFA 被检出,其中各处理间 15 种脂肪酸有显著差异 (表 5-1)。这些被检测出的脂肪酸主要由饱和脂肪酸、不饱和脂肪酸、带甲基支链的脂肪酸和带环丙基的脂肪酸组成。脂肪酸总量 (Total PLFA) 可以作为土壤微生物生物量的指标 (Mummey et al., 2002)。由表 5-1 可见,硫处理组的总脂肪酸含量较高,EDTA 处理组的较低,总脂肪酸含量随着 EDTA 浓度的增高而降低。

根据已有的文献报道,在目前所检测到的脂肪酸中,一些标志性脂肪酸可以被归属为不同的菌群,我们参照表 5-2 作为微生物的指示脂肪酸,以此来划分不同的微生物类群 (图 5-1),并计算下列指标:真菌/细菌 (Fung/Bact)、革兰氏阴性菌/革兰氏阳性菌 (Gram-/Gram+)、环丙基脂肪酸/其前体 (Cyclo/Precursor) 和单不饱和脂肪酸/饱和脂肪酸 (Mono/Sat) (图 5-2)。

由图 5-1 可以看出,细菌 (bacteria) 在微生物类群中占绝对优势,DRS₂ 中细菌的量要显著高于其他四个处理 ($p < 0.05$),DRE₂ 中细菌的含量最低。好氧细菌 (aerobes) 出现了先下降后上升的变化趋势,即随着 EDTA 的加入和浓度的增大,好氧细菌的数量逐渐下降,但在硫处理组中,却随着硫浓度的增大而升高。厌氧细菌 (anaerobes) 呈现相似的变化趋势,但厌氧菌的数量在硫处理组中要显著高于对照 (DR) 和 EDTA 处理组 ($p < 0.05$)。螯合剂的加入使得真菌 (fungi) 的数量减少;菌根真菌 (VAM fungi) 从 DR 到 DRS₁ 逐渐减少,且硫处理组中的菌根真菌要显著低于对照 ($p < 0.05$)。与对照相比,各处理组的原生动物 (protozoa) 数量有所下降,放线菌 (actinomycetes) 的变化不明显。

Fung/Bact 通常被用于有机质水平的指示 (Bardett et al., 1996; Frostegård and Bååth, 1996)。Fung/Bact 在对照 DR 中最高 (图 5-2),加入 EDTA 和硫后都略有下降。Gram-/Gram+ 的变化与土壤有机质的质量有关,较高的 Gram-/Gram+ 用来

表 5-1 脂肪酸在不同螯合剂作用下的差异 ($\text{ng g}^{-1}\text{dm}$, means $\pm$ SE, $n = 3$)

PLFA	DR	DRE ₁	DRE ₂	DRS ₁	DRS ₂
12:0	0.114 $\pm$ 0.058 a	0.182 $\pm$ 0.025 a	0.107 $\pm$ 0.059 a	0.315 $\pm$ 0.108 a	0.291 $\pm$ 0.092 a
13:0	0.056 $\pm$ 0.015 a	0.069 $\pm$ 0.017 a	0.040 $\pm$ 0.007 a	0.047 $\pm$ 0.006 a	0.068 $\pm$ 0.033 a
i14:0	0.860 $\pm$ 0.245 a	0.824 $\pm$ 0.087 a	0.697 $\pm$ 0.168 a	0.722 $\pm$ 0.035 a	0.818 $\pm$ 0.082 a
14:0	1.269 $\pm$ 0.286 a	1.248 $\pm$ 0.115 a	1.091 $\pm$ 0.216 a	1.200 $\pm$ 0.056 a	1.279 $\pm$ 0.054 a
i15:0	12.219 $\pm$ 1.718 a	11.073 $\pm$ 0.865 a	9.829 $\pm$ 1.040 a	9.570 $\pm$ 0.630 a	10.347 $\pm$ 1.393 a
a15:0	4.306 $\pm$ 0.456 ab	3.563 $\pm$ 0.257 bc	3.270 $\pm$ 0.195 c	3.720 $\pm$ 0.333 bc	5.023 $\pm$ 0.247 a
15:0	1.281 $\pm$ 0.165 a	1.179 $\pm$ 0.107 a	1.130 $\pm$ 0.142 a	1.261 $\pm$ 0.017 a	1.334 $\pm$ 0.068 a
i16:0	6.328 $\pm$ 0.555 b	5.009 $\pm$ 0.372 b	5.090 $\pm$ 0.398 b	9.009 $\pm$ 0.462 a	10.385 $\pm$ 1.095 a
16:1w9	0.427 $\pm$ 0.090 a	0.339 $\pm$ 0.035 ab	0.335 $\pm$ 0.051 ab	0.228 $\pm$ 0.013 b	0.249 $\pm$ 0.046 b
16:1w7	4.004 $\pm$ 0.567 a	3.685 $\pm$ 0.256 a	3.657 $\pm$ 0.514 a	4.443 $\pm$ 1.732 a	6.739 $\pm$ 2.487 a
16:1w5	1.961 $\pm$ 0.279 a	1.684 $\pm$ 0.166 a	1.608 $\pm$ 0.235 a	0.812 $\pm$ 0.037 b	0.970 $\pm$ 0.150 b
16:0	28.305 $\pm$ 2.635 bc	23.965 $\pm$ 2.129 c	22.782 $\pm$ 2.381 c	33.929 $\pm$ 2.349 b	42.829 $\pm$ 2.491 a
i17:0	4.211 $\pm$ 0.234 ab	3.596 $\pm$ 0.255 b	3.606 $\pm$ 0.216 b	5.241 $\pm$ 0.119 a	4.814 $\pm$ 0.832 ab
a17:0	2.760 $\pm$ 0.157 bc	2.166 $\pm$ 0.158 c	2.195 $\pm$ 0.086 c	3.063 $\pm$ 0.157 b	4.186 $\pm$ 0.374 a
cy17:0	2.306 $\pm$ 0.237 c	2.073 $\pm$ 0.162 c	1.972 $\pm$ 0.133 c	6.160 $\pm$ 0.455 b	9.063 $\pm$ 1.123 a
17:0	1.312 $\pm$ 0.157 ab	0.997 $\pm$ 0.105 b	0.984 $\pm$ 0.118 b	1.415 $\pm$ 0.292 ab	1.879 $\pm$ 0.500 a
i18:0	2.760 $\pm$ 0.266 a	2.416 $\pm$ 0.241 a	2.385 $\pm$ 0.238 a	3.008 $\pm$ 0.084 a	2.947 $\pm$ 0.614 a
18:2w6,9	3.546 $\pm$ 1.189 a	1.518 $\pm$ 0.319 a	1.932 $\pm$ 0.848 a	1.933 $\pm$ 0.176 a	2.298 $\pm$ 0.245 a
18:1w9c	4.654 $\pm$ 0.688 a	3.801 $\pm$ 0.448 a	3.620 $\pm$ 0.721 a	3.408 $\pm$ 0.062 a	4.263 $\pm$ 0.113 a
18:1w9t	7.039 $\pm$ 1.336 b	5.859 $\pm$ 0.656 b	6.131 $\pm$ 1.033 b	13.122 $\pm$ 3.578 ab	17.347 $\pm$ 3.957 a
18:1w7	0.357 $\pm$ 0.036 a	0.390 $\pm$ 0.041 a	0.392 $\pm$ 0.013 a	0.495 $\pm$ 0.053 a	0.443 $\pm$ 0.063 a
18:1w5	0.710 $\pm$ 0.044 a	0.410 $\pm$ 0.125 a	0.468 $\pm$ 0.144 a	0.397 $\pm$ 0.121 a	0.738 $\pm$ 0.093 a
18:0	5.008 $\pm$ 0.498 a	3.703 $\pm$ 0.358 b	3.770 $\pm$ 0.441 b	4.334 $\pm$ 0.311 ab	5.140 $\pm$ 0.066 a
10Me18:0	0.936 $\pm$ 0.106 a	0.785 $\pm$ 0.103 a	0.791 $\pm$ 0.032 a	1.047 $\pm$ 0.081 a	1.135 $\pm$ 0.185 a
cy19:0	4.097 $\pm$ 0.154 a	3.742 $\pm$ 0.380 a	3.917 $\pm$ 0.365 a	7.669 $\pm$ 2.771 a	13.221 $\pm$ 7.235 a
20:4w6	0.127 $\pm$ 0.046 a	0.055 $\pm$ 0.015 a	0.088 $\pm$ 0.057 a	0.066 $\pm$ 0.025 a	0.068 $\pm$ 0.003 a
20:1w11c	0.174 $\pm$ 0.014 a	0.158 $\pm$ 0.025 ab	0.133 $\pm$ 0.015 ab	0.117 $\pm$ 0.010 ab	0.108 $\pm$ 0.029 b
20:0	0.809 $\pm$ 0.096 a	0.575 $\pm$ 0.070 ab	0.535 $\pm$ 0.060 b	0.559 $\pm$ 0.072 b	0.557 $\pm$ 0.087 b
21:0	0.183 $\pm$ 0.031 a	0.117 $\pm$ 0.014 b	0.115 $\pm$ 0.020 b	0.108 $\pm$ 0.018 b	0.099 $\pm$ 0.015 b
22:0	0.692 $\pm$ 0.086 a	0.502 $\pm$ 0.054 ab	0.502 $\pm$ 0.057 ab	0.460 $\pm$ 0.065 b	0.461 $\pm$ 0.072 b
23:0	0.227 $\pm$ 0.026 a	0.184 $\pm$ 0.016 a	0.193 $\pm$ 0.019 a	0.166 $\pm$ 0.020 a	0.166 $\pm$ 0.035 a
24:0	0.603 $\pm$ 0.051 a	0.532 $\pm$ 0.038 a	0.576 $\pm$ 0.051 a	0.477 $\pm$ 0.058 a	0.511 $\pm$ 0.093 a
Total PLFA	103.643 $\pm$ 11.299 bc	86.397 $\pm$ 7.752 bc	83.942 $\pm$ 9.884 c	118.498 $\pm$ 10.650 ab	149.777 $\pm$ 11.225 a

DR: 深根型苎麻 (不加螯合剂); DRE₁: 深根型苎麻加入 3 m mol kg⁻¹ EDTA; DRE₂: 深根型苎麻加入 5 m mol kg⁻¹ EDTA; DRS₁: 深根型苎麻加入 40 m mol kg⁻¹ 硫; DRS₂: 深根型苎麻加入 60 m mol kg⁻¹ 硫。根据 LSD 检验 ($p < 0.05$), 每行数据后标有相同字母的表示各处理间差异不显著, 而标有不同字母的表示各处理间差异显著。

指示土壤中寡营养条件向富营养条件的转变 (Borga et al., 1994; Kourtev et al., 2003), 这个指标差异不显著 ($p > 0.05$)。Mono/Sat 通常被用于指示土壤通气性和有机质的可获得性 (Zelles et al., 1992, 1995; Bossio and Scow, 1998; Bossio et al., 1998)。硫处理组的 Mono/Sat 要显著低于对照 ($p < 0.05$), 说明其土壤通气性较低, 相应的厌氧菌含量会较高。cy17 / pre16 和 cy19 / pre18 反映的是土壤营养胁迫以及微生物生理状况 (Knivett and Cullen, 1965; Gurkert et al., 1985), 这两项指标的变化趋势相似, 硫处理组的要显著高于对照和 EDTA 处理组。

表 5-2 微生物指示脂肪酸

土壤微生物	标志脂肪酸
Bacteria	i15:0, a15:0, 15:0, i16:0, 16:1w9c, 16:1w7c, i17:0, a17:0, cy17:0, 17:0, 18:1w7c, cy19:0 (Grayston et al., 2001)
Gram(+)	i14:0, i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a17:0 (O'Leary and Wilkinson, 1988; Zelles, 1999)
Gram(-)	16:1w9c, 16:1w7c, 16:1w5c, cy17:0, 18:1w7c, cy19:0 (Wilkinson, 1988; Zelles, 1999; Yao et al., 2000; Schutter and Fuhrmann, 2001)
Aerobes	16:1w7, 18:1w7 (Vestal and White 1989)
Anaerobes	cy17:0, cy19:0 (Vestal and White 1989)
Gram ⁽⁻⁾ /Gram ⁽⁺⁾	16:1w9c+16:1w7c+16:1w5c+cy17:0+18:1w7c+cy19:0 / i14:0+i15:0+a15:0+i16:0+i17:0+a17:0 (Yao et al., 2000; Kourtev et al., 2002)
Fungi	18:2w6,9 (Frostegård and Bååth, 1996; Bååth et al., 1998)
Fung/Bact	18:2w6,9 / i15:0+a15:0+15:0+i16:0+16:1w9c+16:1w7c+i17:0+a17:0+cy17:0+17:0+ 18:1w7c+cy19:0 (Bardgett et al., 1996; Grayston et al., 2001)
Cyclo/Precursor	cy17:0 / 16:1w7c(cy17 / pre16), cy19:0 / 18:1w7c(cy19 / pre18) (Grogan and Cronan, 1997; Bossio and Scow, 1998; Drijber et al., 2000)
VAM fungi	16:1w5c (Olsson and Alström, 2000)
Actinomycetes	10Me18:0 (Frostegård et al., 1993b; Kourtev et al., 2002)
Monounsaturated	16:1w9c, 16:1w7c, 16:1w5c, 18:1w9c, 18:1w7c (Vestal and White, 1989; Bossio and Scow, 1998)
Saturated	12:0, 13:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 21:0, 22:0, 23:0, 24:0 (Vestal and White, 1989; Bossio and Scow, 1998)
Mono/Sat	16:1w9c+16:1w7c+16:1w5c+18:1w9c+18:1w7c / 12:0+13:0+14:0+15:0+16:0+17:0+18:0+ 20:0+21:0+22:0+23:0+24:0 (Bossio and Scow, 1998; Zelles et al., 1992, 1995)
Protozoa	20:4w6 (Vestal and White 1989)

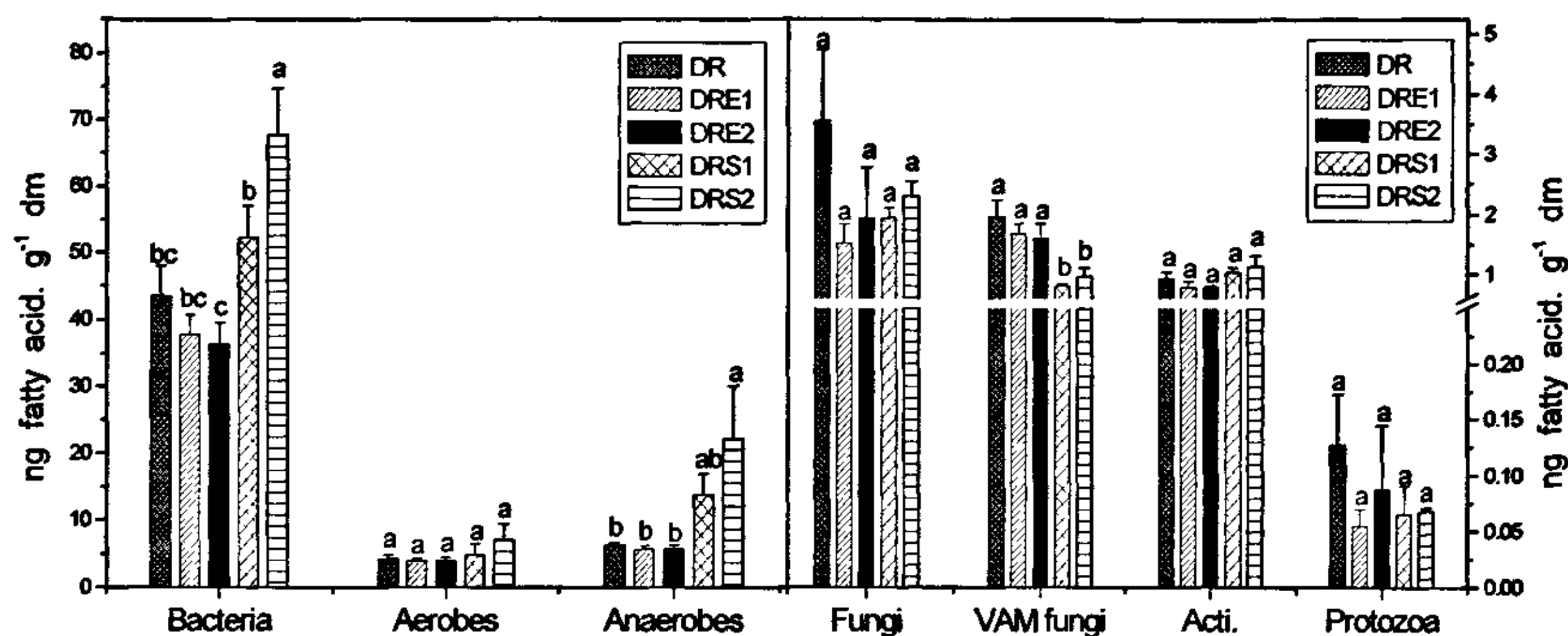


图 5-1 脂肪酸类群在不同整合剂处理下的变化

DR: 深根型苎麻 (不加整合剂); DRE₁: 深根型苎麻加入 3 m mol kg⁻¹ EDTA; DRE₂: 深根型苎麻加入 5 m mol kg⁻¹ EDTA; DRS₁: 深根型苎麻加入 40 m mol kg⁻¹ 硫; DRS₂: 深根型苎麻加入 60 m mol kg⁻¹ 硫。图上的柱代表标准差 (n=3), LSD 检验 ($p < 0.05$)。

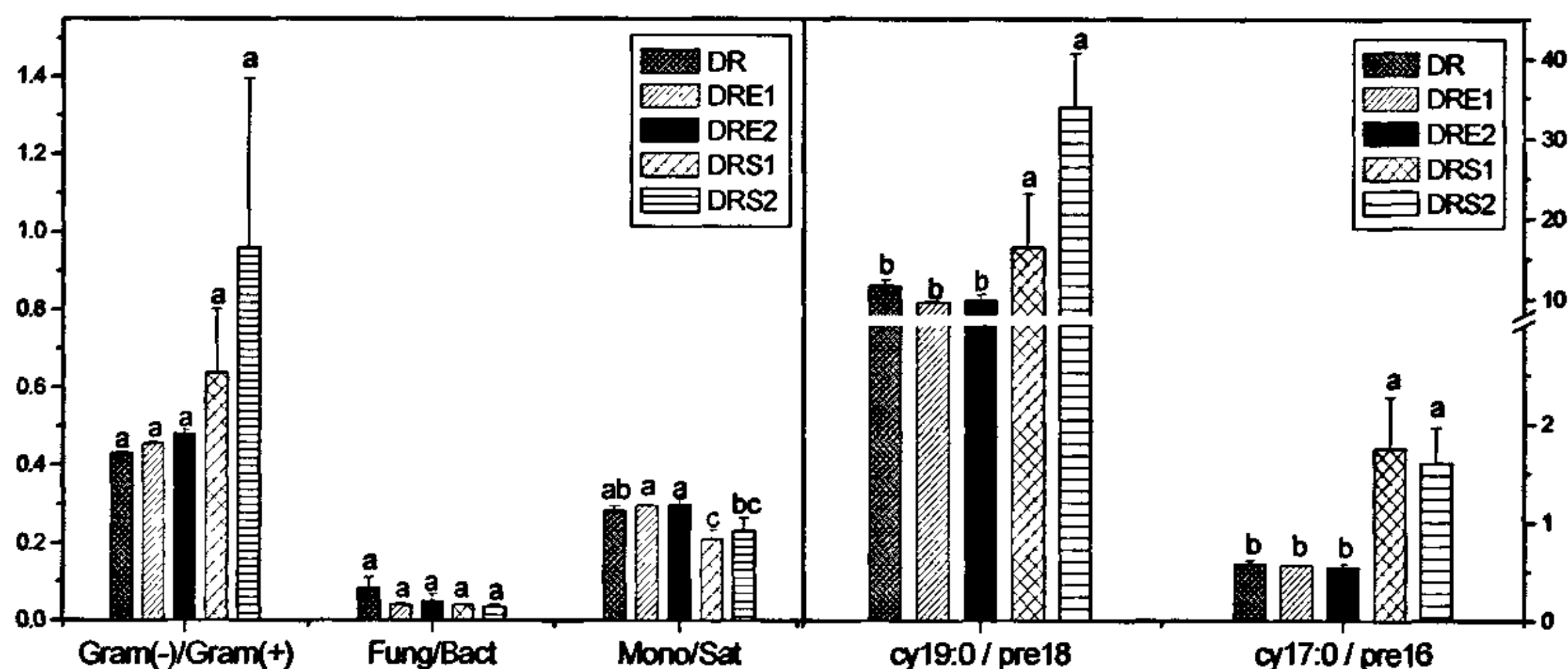


图 5-2 脂肪酸比率在不同整合剂处理下的变化

DR: 深根型苎麻 (不加整合剂); DRE₁: 深根型苎麻加入 3 m mol kg⁻¹ EDTA; DRE₂: 深根型苎麻加入 5 m mol kg⁻¹ EDTA; DRS₁: 深根型苎麻加入 40 m mol kg⁻¹ 硫; DRS₂: 深根型苎麻加入 60 m mol kg⁻¹ 硫。图上的柱代表标准差 (n=3), LSD 检验 ($p < 0.05$)。

5.2 EDTA 和硫对土壤线虫的影响

为了研究线虫在 EDTA 和硫加入后的变化,我们对不同处理的线虫进行了分离(图 5-3),并对线虫的数量变化进行了统计分析。由图 5-4 可见,线虫数量从 DR 到 DRS₂ 逐渐下降,最大值(113 ± 25)出现在对照(DR)中,最小值出现在高浓度(60 m mol kg^{-1})硫处理组中(17 ± 5)。DRE₂、DRS₁ 和 DRS₂ 的线虫数量与对照相比显著减少 ($p < 0.05$)。

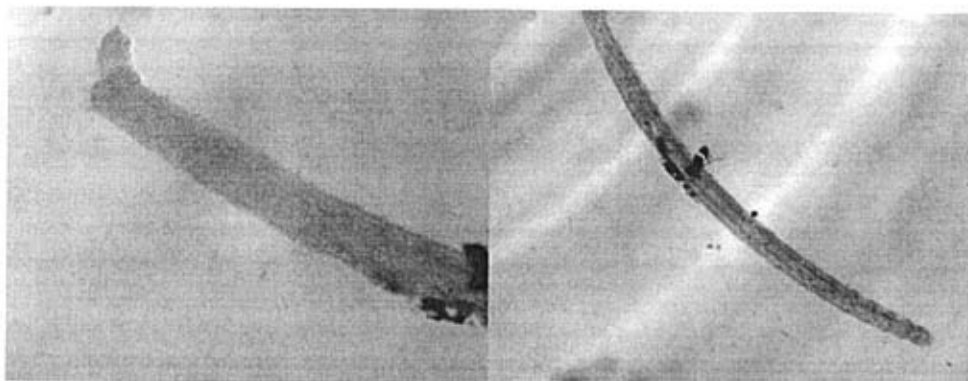


图 5-3 立体解剖镜下的线虫形态

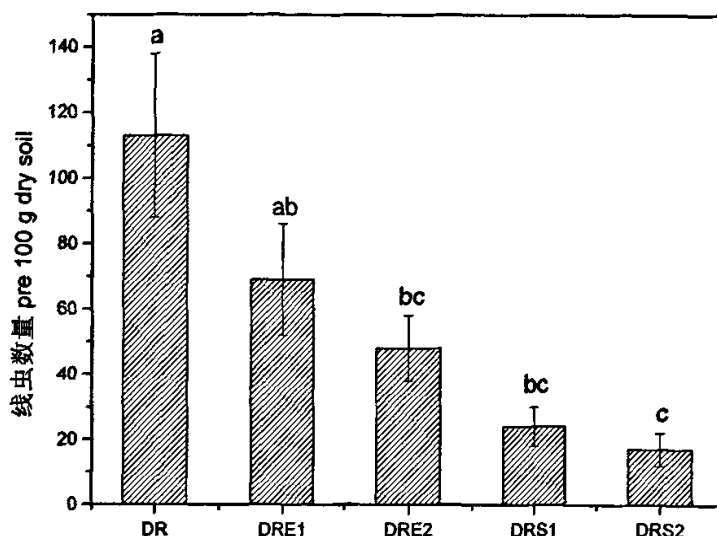


图 5-4 线虫数量在不同整合剂处理下的变化

DR: 深根型苎麻 (不加整合剂); DRE₁: 深根型苎麻加入 3 m mol kg^{-1} EDTA; DRE₂: 深根型苎麻加入 5 m mol kg^{-1} EDTA; DRS₁: 深根型苎麻加入 40 m mol kg^{-1} 硫; DRS₂: 深根型苎

麻加入 60 m mol kg^{-1} 硫。图上的柱代表标准差 ($n=3$), LSD 检验 ($p<0.05$)。

5.3 讨论

磷脂脂肪酸分析方法 (PLFA) 是一项新兴的微生物群落研究技术, 通过对微生物群落脂肪酸的定性与定量分析, 不仅可以量化微生物的生物量, 而且还可以了解微生物群落的组成成分 (Zelles et al., 1992)。向重金属污染土壤中加入 EDTA, 往往会对土壤微生物产生毒害作用, 本研究 and Grčman 等 (2001) 的研究结果一致, EDTA 处理组中的总脂肪酸含量呈下降趋势 (表 5-1), 说明土壤微生物的生物量在 EDTA 加入后有所下降, 这可能是由于 EDTA 加入后, 增大了土壤中可溶性重金属的浓度, 土壤环境的改变和重金属的胁迫使得土壤微生物的生长受到了抑制。硫处理组中的总脂肪酸含量升高, 可能是由于硫的加入, 导致一些嗜酸菌和硝化细菌的大量繁殖所致。

16:1w5c 是土壤菌根菌的标志脂肪酸 (Frostegård et al., 1993a; Haack et al., 1994), 它在硫处理组中的含量显著下降, 说明硫加入后形成的酸性环境影响了菌根菌的生长。fung/bact 比值越高, 表示有机质水平越高, EDTA 和硫处理组的比值都比对照 DR 的要低, 说明整合剂加入后降低了土壤中有机质的水平。mono/sat 比值被认为是土壤通气状况的指示, 它在硫处理组中的显著下降 ($p < 0.05$), 说明其土壤的通气状况下降, 这和厌氧菌 (anaerobes) 的数量增高相一致。cy17/pre16 和 cy19/pre18 比值在硫处理组中上升, 表明硫的加入形成了一个胁迫更大的土壤生境, 这可能是由于硫加入后显著降低了土壤的 pH 值的缘故。

线虫是土壤中最丰富的无脊椎动物, 对环境的各种变化包括污染的胁迫效应能做出较迅速的反应, 为环境污染状况评价提供有价值的信息 (Bongers et al., 1999; Neher, 2001)。EDTA 加入后, 线虫的数量都有所下降, 但低浓度 EDTA 的减少不显著 ($p > 0.05$)。硫处理组中的线虫数量显著减少, 说明线虫对硫加入后形成的酸性土壤环境很敏感, 数量大幅下降。Li 等 (2006) 在研究线虫数量在 Zn 污染土壤中的变化情况时也有类似的结果。

第六章 综合讨论与展望

6.1 综合讨论:

用植物提取法修复重金属污染土壤的目标是: 在一个合理的时间内将污染土壤中的重金属降低到一个能令人接受的水平。为了能达到这个目标, 所选取的植物必须能在地上部积累高浓度的重金属, 并且具有较高的生物量。超富集植物被定义为叶中的Cd、Cu、Pb和Zn含量分别达到100、1000、1000和10000 mg kg^{-1} 干重的植物 (Baker, 1981; Baker and Brooks, 1989)。超富集植物虽然能在其叶中积累很高浓度的重金属, 但由于它的生物量一般较低, 并且超富集植物通常是一些在农业上用处不大的植物, 这些不足限制了它在修复重金属污染土壤中的应用。苎麻 (*Boehmeria nivea* L.) 是重要的经济作物, 其茎内的韧皮纤维和皮可用作纺织原料。如果能将苎麻这类经济作物应用于重金属污染土壤的修复, 那就可以在修复污染土壤的同时产生一定的经济价值, 符合我国的国情。苎麻能在一些Pb、Zn、Cd污染区上生长, 说明它对Pb、Zn、Cd具有一定的耐性, 但苎麻本身在地上部并不积累大量的重金属, 所以如何提高苎麻地上部的重金属含量成为了关键。

很多水培的研究结果显示, 植物对重金属的吸收和转运能力随着水培溶液中重金属浓度的升高而升高 (Huang et al., 1997), 但土壤中的重金属很多都以结合态的形式存在。Pb是土壤中最广泛的重金属污染物之一, 它有很高的负电性, 被认为是弱Lewis酸, 易与Fe、Al、Mn氧化物、有机质和碳酸盐形成共价键, 不易被植物吸收 (Ruby et al., 1999)。所以提高土壤中可溶性重金属的含量显得极为重要。

我们的研究结果显示, 加入5 m mol kg^{-1} EDTA后苎麻叶中的Pb含量显著提高, 达到547 mg kg^{-1} , 是对照的45.5倍 (表 3-6)。虽然Zn、Cd含量的提高不如Pb的多, 但也达到了133 mg kg^{-1} 和0.7 mg kg^{-1} , 分别是对照的2.2倍和2.8倍。低浓度EDTA (3 m mol kg^{-1}) 处理中, 苎麻叶中的Pb含量为385 mg kg^{-1} , 虽然比5 m mol kg^{-1} 的要低, 但在Zn、Cd的积累方面, 低浓度和高浓度EDTA没有显著差异 ($p >$

0.05)。早期也有过EDTA增强植物地上部对Pb吸收的能力要高于Zn、Cd或其他重金属的报道(Blaylock et al., 1997), 这说明EDTA对不同的金属具有不同的螯合能力, 所以针对不同的重金属污染地, 应该选择不同的螯合剂。第二次收获, EDTA处理的苎麻叶中的Pb、Zn、Cd含量虽然有所下降, 但依然显著高于对照($p < 0.05$)。到了第三次收获, EDTA处理组的苎麻对Pb、Zn、Cd的吸收能力回复到对照的水平。

硫虽然在第一次收获中没有显著的效果, 但从第二次收获以后, 硫处理下的苎麻对Zn有显著的吸收。使用硫来辅助植物修复重金属污染土壤的报道并不多, 这可能与硫促进植物对重金属的吸收不及EDTA等螯合剂的作用显著有关, 但硫也有其自身的优点, 硫的作用比较缓慢, 基本不会造成重金属的迁移和渗漏, 是较为安全的螯合剂, 并且不会对植物的生物量产生很大的影响。Kayser等(2000)在其大田实验中发现, 向烟草和向日葵的根际区中加入 1.15 kg m^{-2} 硫时, Cd和Zn的浓度增加了1.4到2.2倍。

螯合剂一般在植物收获前的一到两个星期加入, 在这个时候加入可以减少螯合剂对植物生物量的影响。目前大部分的研究都集中在螯合剂对植物生物量短期的影响方面, 没有考虑螯合剂对植物长期生物量的影响。我们研究了苎麻在加入EDTA和硫后三次收获的生物量变化情况, 结果显示苎麻在加入 3 mmol kg^{-1} EDTA后, 第一、二次的生物量变化不大, 但到了第三次收获, 苎麻的生物量显著减少了。硫处理组中, 苎麻三次收获的生物量变化不大。在评价一种螯合剂是否有效时, 除了考虑植物地上部的重金属含量外, 螯合剂对植物长期的生物量是否有影响也应该加以考虑。

将螯合剂用于植物修复, 虽然能提高土壤重金属的活性, 增强植物对重金属的吸收, 但同时也增加了重金属在土壤层中迁移的潜在危险。已经有不少学者强调整合剂加入后可能会导致重金属对地表和地下水的污染(Huang and Cunningham, 1996; Copper et al., 1999)。加入EDTA后, Pb、Zn、Cd在各土壤层中发生了不同程度的迁移, 并且在土柱的渗滤液中发现了高浓度的Pb、Zn、Cd(图4-1, 4-2)。这些结果显示EDTA能与Pb、Zn、Cd形成可溶性很强的螯合剂——重金属复合物, 提醒我们在使用螯合剂前, 必须充分考虑它的环境效应, 防止可溶性重金属在土壤中的迁移。

为了研究土壤微生物群落在螯合剂加入后的变化,我们对深根型各处理的土壤微生物进行了磷脂脂肪酸分析(PLFA)。PLFA是一项相对较新的微生物群落研究技术,它不仅可以量化微生物的生物量,而且还可以了解微生物群落的组成成分(Tunlid and White,1992; Zelles et al.,1992, 1994)。EDTA处理组中,土壤微生物的生物量有所下降,说明土壤可溶性重金属浓度的增大对微生物造成了影响。硫处理组的微生物生物量有所提高,这可能是一些嗜酸菌和硝化细菌大量繁殖所致。反映土壤营养胁迫以及微生物生理状况的指标 $cy17/pre16$ 和 $cy19/pre18$ 在硫处理组中显著提高(图 5-2),表明硫加入后形成的酸性环境给土壤微生物造成了胁迫。

线虫对环境的各种变化包括污染的胁迫效应能做出较迅速的反应,所以常被做为土壤环境变化的指示生物(Bongers et al., 1999; Neher, 2001)。螯合剂的加入使得线虫的数量有所减少,硫对线虫数量的影响最大,过酸的环境不利于线虫的生长。

6.2 小结与展望

为了将经济作物苎麻应用于重金属污染土壤的修复,我们向土壤中添加了一定量的EDTA和硫。两者表现出了不同的效果。EDTA能显著提高苎麻地上部对Pb、Zn、Cd的吸收,但其作用效果不持续,在第三次收获时不能继续起到促进苎麻对重金属吸收的作用。短期内,低浓度EDTA对苎麻的生物量影响不大,但经过较长时间后苎麻的生物量显著减小。EDTA的加入使得Pb、Zn、Cd在土壤层中发生迁移并引起渗漏,而且对土壤微生物、动物也产生一定的毒害作用。虽然硫对促进苎麻地上部对重金属吸收的作用不及EDTA显著,且只对Zn的吸收有作用,但硫对苎麻的生物量影响较小,基本不发生土壤中Pb、Zn、Cd的迁移和渗漏,对环境的影响相对较小。和EDTA一样,硫也会对土壤微生物和动物产生一定的毒害作用。

不同的苎麻品种在加入螯合剂后对重金属的富集能力不同,深根型对Pb、Zn、Cd的富集能力比浅根型的强,而且深根型减缓重金属在土壤层中迁移的能力也比浅根型、深根型+浅根型的强。

螯合剂的应用在一定程度上解决了重金属在土壤中因被强烈吸附而不能被植物吸收和利用的问题。但目前使用的螯合剂又有一定的风险性,因此在选用螯合剂时,要对螯合剂的使用风险作出评价,以免因使用不当而造成对生态环境的不良影响。

螯合剂诱导植物提取技术在修复重金属污染土壤方面具有潜在的应用价值,选择合适的螯合剂和植物以及适当的管理措施显得尤为重要。Kos和Leštan (2003)报道了一种能生物降解的螯合剂——EDDS,这给螯合剂诱导植物提取技术带来了新的希望。一些新的、能进行生物降解和对植物无毒害作用的高效螯合剂应当继续被寻找。另外,能在螯合剂作用下富集高浓度重金属的植物也应当继续被筛选。如何运用适当的管理措施来阻止重金属向地下水的渗漏?如何运用合理的田间管理措施来增加植物的生物量?这些均需进行深入细致的研究。

6.3 结论

本论文的主要结论如下:

1. EDTA的加入能显著提高苎麻地上部对Pb、Zn、Cd的吸收。不同根型的苎麻吸收重金属的能力有差异,深根型对Pb、Zn、Cd的吸收能力要强于浅根型。
2. 硫的加入只促进苎麻对Zn的吸收,对Pb和Cd的作用不明显。
3. EDTA促进苎麻地上部对重金属的吸收有一定的时间范围,经过较长的时间后(3—4个月),EDTA不能继续起到促进苎麻地上部对重金属吸收的作用;硫在短期内作用不明显,需要较长的时间才能起到促进作用。
4. 短期内,低浓度EDTA的加入对苎麻的生物量影响不大,但经过较长时间后(3—4个月),会影响苎麻的生长,减小苎麻的生物量。高浓度EDTA则在短期内就对苎麻的生物量产生显著影响。
5. EDTA的加入会使得土壤重金属发生迁移并引起渗漏,对环境产生一定的影响。硫的作用较缓和,重金属的迁移和渗漏不明显。
6. EDTA和硫的加入对土壤微生物和土壤动物有一定的毒害作用。

参考文献

1. 鲍士旦. 2000. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社.
2. 陈同斌, 韦朝阳, 黄泽春等. 2000. 华南的一些砷超积累植物种类. 国际会议中关于土壤修复的研究进展. 杭州, 194-195.
3. 陈志良, 仇荣亮, 张景书. 2002. 重金属污染土壤的修复技术. 环境保护, 6(3): 21-23.
4. 代剑平, 揭雨成, 冷鹃等. 2003. 镉污染环境中镉在苎麻植株各部分分布规律的研究. 中国麻业, 25(6): 279-293.
5. 刘威, 束文圣, 蓝崇钰. 2003. 宝山堇菜(*Viola baoshanensis*) —一种新的镉超富集植物. 科学通报, 48(19): 2046-2049.
6. 王凯荣. 1997. 我国农业重金属污染现状及其治理利用对策. 农业环境保护, 16(6): 174-178.
7. 韦朝阳, 陈同斌. 2002. 高砷区植物的生态与化学特征. 植物生态学报, 26(6): 695-700.
8. 韦朝阳, 陈同斌, 黄泽春等. 2002. 大叶井口边草——一种新发现的富集砷的植物. 生态学报, 22(5): 777-778.
9. 韦朝阳, 陈同斌. 2001. 重金属超富集植物及植物修复技术研究进展. 生态学报, 21(7): 1196-1204.
10. 鑫磊. 2000. 重金属污染危害及其防治. 国土资源与环境, 1: 38-38.
11. 薛生国, 陈英旭, 林琦等. 2003. 中国首次发现的锰超积累植物——商陆. 生态学报, 23(5): 935-937.
12. 杨肖娥, 龙新宪, 倪吾钟等. 2002. 东南景天——一种新的锌超富集植物. 科学通报, 47(13): 1003-1007.
13. 叶维青, 张维谦, 周鹏里等译. 1983. 土壤微生物实验法[日]. 北京: 科学出版社. 215-220.
14. 周泽义. 1999. 中国蔬菜重金属污染及控制. 资源生态环境网络研究动态, 10(3): 21-27.

15. Abaye D.A., Lawlor K., Hirsch P.R., Brookes P.C. 2004. Changes in the microbial community of an arable soil caused by long-term metal contamination. *Eur. J. Soil Sci.* 48, 1-10.
16. Bååth E., Díaz-Raviña M., Frostegård Å., Campbell C.D. 1998. Effect of metal-rich sludge amendments on the soil microbial community. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 238-245.
17. Baker A.J.M., Brooks R.R. 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements-A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* 1, 81-126.
18. Baker A.J.M. 1981. Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. *J. Plant Nutr.* 3, 643-654.
19. Bardgett R.D., Hobbs P.J., Frostegård Å. 1996. Changes in soil fungal: bacterial ratios following reductions in the intensity of management of an upland grassland. *Bio. Fertil. Soils* 22, 261-264.
20. Blaylock M.J., Salt D.E., Dushenkov S., Zakharova O., Gussman C., Kapulnik Y., Ensley B.D., Raskin I. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environ. Sci. Technol.* 31, 860-865.
21. Bligh E.G., Dyer W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911-917.
22. Bongers T., Ferris H. 1999. Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. *Trends Ecol. Evol.* 14, 224-228.
23. Borga P., Nilsson M., Tunlid A., 1994. Bacterial communities in peat in relation to botanical composition as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biol. Biochem.* 7, 841-848.
24. Bossio D.A., Scow K.M. 1998. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns. *Microbial Ecol.* 35, 265-278.
25. Bossio D.A., Scow K.M., Gunapala N., Graham K.J. 1998. Determinants of soil microbial communities: effects of agricultural management, season, and soil type on phospholipids fatty acid profiles. *Microbial Ecol.* 36, 1-12.

26. Bradshaw A.D., Chadwick M.J. 1980. The Restoration of Land: the Ecology and Reclamation of Derelict and Degraded Land. Blackwell Scientific Publications. Oxford, Studies in Ecology 6, 361-317.
27. Clothier B.E., Green S.R., Robinson B.H. 2002. Contaminants in the root zone: Bioavailability, uptake and transport, and their implications for remediation. Eds. Naidu R. Chemical Bioavailability in the Terrestrial Environment. Csiro Publishing, Collingwood.
28. Cooper E.M., Sims J.T., Cunningham S.D., Huang J.W., Berti W.R. 1999. Chelate-assisted phytoextraction of lead from contaminated soils. J. Environ. Qual. 28, 1709-1719.
29. Cunningham S.D., Anderson T.A., Schwab A.P. 1996. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. Adv. Agron. 56, 55-114.
30. Dirilgen N. 1998. Effects of pH and chelator EDTA on Cr toxicity and accumulation in *Lemna minor*. Chemosphere 37, 771-783.
31. Donkin S.G., Dusenbery D.B. 1993. A soil toxicity test using the nematode *Caenorhabditis elegans* and an effective method of recovery. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 25, 145-151.
32. Drijber R.A., Doran J.W., Parkhurst A.M. Lyond D.J. 2000. Changes in soil microbial community structure with tillage under long-term wheat-fallow management. Soil Biol. Biochem. 32, 1419-1430.
33. Ebbs S.D., Lasat M.M., Brady D.J. 1997. Phytoextraction of cadmium and zinc from a contaminated soil. J. Environ. Qual. 26, 1424-1430.
34. Epstein A.L., Gussman C.D., Blaylock M.J., Yermiyahu U., Huang J.W., Kapulnik Y., Orser C.S. 1999. EDTA and Pb-EDTA accumulation in *Brassica juncea* grown in Pb-amended soil. Plant Soil 208, 87-94.
35. Frostegård Å., Bååth E. 1996. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. Biol. Fertil. Soils 22, 59-65.
36. Frostegård Å., Tunlid A., Bååth E. 1993a. Phospholipid fatty acid composition, biomass, and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. Appl. Environ. Microb. 59(11):

- 3605-3617.
37. Frostegård Å., Bååth E., Tunlid A. 1993b. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biol. Biochem.* 25, 723-730.
38. Grayston S.J., Griffith G.S., Mawdsley J.L., Campbell C.D., Bardgett R.D. 2001. Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biol. Biochem.* 33, 533-551.
39. Grčman H., Vodnik D., Velikonja-Bolta S. 2003. Ethylenediaminedisuccinate as a new chelate for environmentally safe enhanced lead phytoextraction. *J. Environ. Qual.* 32, 500-506.
40. Grčman H., Velikonja-Bolta S., Vodnik D., Kos B., Lestan D. 2001. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching and toxicity. *Plant Soil* 235, 105-114.
41. Grogan D.W., Cronan J.E. 1997. Cyclopropane ring formation in membrane lipids of bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. R.* 61, 429-441.
42. Gurkert J.B., Antworth C.P., Nichols P.D., White D.C. 1985. Phospholipid, ester-linked fatty acid profiles as reproducible assays for changes in prokaryotic community structure of estuarine sediments. *FEMS Microbial Ecol.* 31, 147-158.
43. Haack S.K., Garchow H., Odelson D.A., Forney L.J., Klug M.J. 1994. Accuracy, reproducibility, and interpretation of fatty acid methyl ester profiles of model bacterial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 2483-2493.
44. Hornburg V., Brummer G.W. 1993. Behaviour of heavy metals in soils: heavy metal mobility. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 156, 467-477.
45. Huang J.W., Chen J.J., Berti W.R., Cunningham S.D. 1997. Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environ. Sci. Technol.* 31, 800-805.
46. Huang J.W., Cunningham S.D. 1996. Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation. *New Phytol.* 134, 75-84.
47. Ingham R.E., Trofymow J.A., Ingham E.R., Coleman D.C. 1985. Interaction of bacteria, fungi, and their nematode grazers: effect on nutrient cycling and plant

- growth. Ecol. Monogr. 55, 119-140.
48. Kandeler E., Tschirko D., Bruce K.D., Stemmer M., Hobbs P.J., Bardgett R.D., Amelung W. 2000. Structure and function of the soil microbial community in microhabitats of a heavy metal polluted soil. Biol. Fert. Soils 32, 390-400.
49. Kayser A., Wenger K., Keller A., Attinger W., Felix H., Gupta S.K., Schulin R. 2000. Enhancement of phytoextraction of Zn, Cd, and Cu from calcareous soil: the use of NTA and sulfur amendments. Environ. Sci. Technol. 34, 1778-1783.
50. Kelly J.J., Håggblom M., Tate R.L. 1999. Changes in soil microbial communities over time resulting from one time application of zinc: a laboratory microcosm study. Soil Biol. Biochem. 31, 1455-1465.
51. Knivett V.A., Cullen J. 1965. Some factors affecting cyclopropane acid formation in *Escherichia coli*. Biochem. J. 96, 771-776.
52. Kos B., Leštan D. 2003. Influence of a biodegradable ([S,S]-EDDS) and nondegradable (EDTA) chelate and hydrogel modified soil water sorption capacity on Pb phytoextraction and leaching. Plant Soil 253, 403-411.
53. Kourtev P.S., Ehrenfeld J.G., Håggblom M. 2003. Experimental analysis of the effect of exotic and native plant species on the structure and function of soil microbial communities. Soil Biol. Biochem. 35, 895-905.
54. Kourtev P.S., Ehrenfeld J.G., Håggblom M. 2002. Exotic plant species alter the microbial community structure and function in the soil. Ecology 83, 3152-3166.
55. Kumar N.P.B.A., Dushenkov V., Motto H., Raskin I. 1995. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. Environ. Sci. Technol. 29, 1232-1238.
56. Li Q., Jiang Y., Liang W.J. 2006. Effect of heavy metals on soil nematode communities in the vicinity of a metallurgical factory. J. Environ. Sci. 18, 323-328.
57. Lombi E., Zhao F.J., Dunham S.J., McGrath S.P. 2001. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. J. Environ. Qual. 30, 1919-1926.
58. McGrath S.P., Zhao F.J., Lombi E. 2002. Phytoremediation of metals, metalloids,

- and radionuclides. *Adv. Agron.* 75, 1-56.
59. Moynahan O.S., Zabinski C.A., Gannon J.E. 2002. Microbial community structure and carbon-utilization diversity in a mine tailings revegetation study. *Restor. Ecol.* 10, 77-87.
60. Mummey D.L., Stahl P.D., Buyer J.S. 2002. Soil microbiological properties 20 years after surface mine reclamation: spatial analysis of reclaimed and undisturbed sites. *Soil Biol. Biochem.* 34, 1717-1725.
61. Neher D.A. 2001. Role of nematodes in soil health and their use as indicators. *J. Nematol.* 33, 161-168.
62. Nörtemann B. 1999. Biodegradation of EDTA. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51, 751-759.
63. O'Leary W.M., Wilkinson S.G. 1988. Gram-positive bacteria. In *Microbial Lipids*. Eds. Ratledge C., Wilkinson S.G. Academic Press, London. pp. 117-201.
64. Olsson S., Alström S. 2000. Characterization of bacteria in soils under barley monoculture and crop rotation. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1443-1451.
65. Pankhurst C.E., Hawke B.G., McDonald H.J., Kirkby C.A., Buckerfield J.C., Michelsen P., O'Brien K.A., Gupta V.V.S.R., Doube B.M. 1995. Evaluation of soil biological properties as potential bioindicators of soil health. *Aust. J. Exp. Agri.* 35, 1015-1028.
66. Ruby M.V., Schoof R., Brattin W., Goldade M., Post G, Harnois M., Mosby D.E., Casteel S.W., Berti W., Carpenter M., Edwards D., Cragin D. and Chappell W. 1999. Advances in evaluating the oral bioavailability of inorganics in soil for use in human health risk assessment. *Environ. Sci. Technol.* 32, 3697-3705.
67. Schutter M.E., Fuhrmann J.J. 2001. Soil microbial community responses to fly ash amendment as revealed by analyses of whole soils and bacterial isolates. *Soil Biol. Biochem.* 33, 1947-1958.
68. Suhadolc M., Schroll R., Gattinger A., Schlöter M., Munch J.C., Lestan D. 2004. Effects of modified Pb-, Zn-, and Cd- availability on the microbial communities and on the degradation of isoproturon in a heavy metal contaminated soil. *Soil Biol. Biochem.* 36, 1943-1954.

69. Tichy R., Fajtl J., Kuzel S., Kolar L. 1997. Use of elemental sulphur to enhance a cadmium solubilization and its vegetative removal from contaminated soil. *Nutr. Cycl. Agroecosys.* 46, 249-255.
70. Tunlid A., White D.C. 1992. Biochemical analysis of biomass, community structure, nutritional status, and metabolic activity of microbial communities in soil. *Soil Biochem.* 7, 229-262.
71. Ulrich S. 2003. Enhancing phytoextraction: the effect of chemical soil manipulation on mobility, plant accumulation, and leaching of heavy metals. *J. Environ. Qual.* 32, 1939-1954.
72. Van der Heijden M.G.A., Klironomos J.N., Ursic M., Moutoglis P., Streitwolf-Engle R., Boller T., Wiemken A., Sanders L.R. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396, 69-72.
73. Vestal J.R., White D.C. 1989. Lipid analysis in microbial ecology. *Bioscience* 39, 535-541.
74. Vogeler I., Green S.R., Clothier B.E. 2001. Contaminant transport in the root zone. Eds. Iskandar I., Kirkham M.B. *Trace Elements in Soils: Bioavailability, Fluxes and Transfer*. Lewis, Boca Raton, FL. pp. 175-197.
75. Wang H.B., Ye Z.H., Shu W.S., Li W.C., Wong M.H., Lan C.Y. 2006. Arsenic uptake and accumulation in fern species growing at arsenic-contaminated sites of southern China: field surveys. *Int. J. Phytoremediat.* 8: 1-11.
76. Wasay S.A., Barrington S.F., Tokunaga S. 1998. Remediation of soils polluted by heavy metals using salts of organic acids and chelating agents. *Environ. Technol.* 19, 369-379.
77. White D.C., Davis W.M., Nickels J.S., King J.D., Bobbie R.J. 1979. Determination of the sedimentary microbial biomass by extractible lipid phosphate. *Oecologia* 40, 51-62.
78. Wilkinson S.G. 1988. Gram-negative bacteria. In *Microbial Lipids*. Eds. Ratledge C., Wilkinson S.G. Academic Press, London. pp. 299-408.
79. Wu J., Hsu F.C., Cunningham S.D. 1999. Chelate-assisted Pb phytoextraction: Pb

- availability, uptake, and translocation constraints. *Environ. Sci. Technol.* 33, 1898-1904.
80. Wu L.H., Lou Y.M., Xing X.R., Christie P. 2004. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk. *Agr. Ecosyst. Environ.* 102, 307-318.
81. Yao H., He Z., Wilson M.J., Campbell C.D. 2000. Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use. *Microbial Ecol.* 40, 223-237.
82. Zelles L. 1999. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities: A review. *Biol. Fertil. Soils* 29, 111-129.
83. Zelles L., Bai Q.Y., Rackwitz R., Chadwick D., Beese F. 1995. Determination of phospholipid and lipopolysaccharide-derived fatty acids as an estimate of microbial biomass and community structures in soils. *Biol. Fertil. Soils* 19, 115-123.
84. Zelles L., Bai Q.Y., Beck T., Beese F. 1992. Signature fatty acids in phospholipids and lipopolysaccharides as indicators of microbial biomass and community structure in agricultural soils. *Soil Biol. Biochem.* 24, 317-323.

致 谢

非常感谢我的导师叶志鸿教授在实验设计和论文撰写过程中给予的深切关怀和悉心指导。两年来，导师渊博的知识、敏捷的思维、严谨的治学作风、诲人不倦的育人精神和博大的胸怀使我受益匪浅、感动万分。值此论文完成之际，向恩师表示我最真挚的感激之情和崇敬之情！

感谢束文圣教授、栾天罡副教授、林里老师、廖斌老师、刘蔚秋老师、环境学院杨秀红老师、刘洪涛博士在实验中给予的热情和真挚的指导和帮助。感谢杨兵、李艳芬、张韵珊、马卓萃、李金天、吴继国、李向丽、王晓玮、陈若虹、封志勤、罗树生、黄天达、杨琼、杨俊兴、刘永、刘志彦、梅秀芹及实验室全体成员对我的帮助和支持。

衷心感谢所有关心和帮助过我的老师、同学和朋友！

感谢我的家人多年来对我经济和精神上的支持和鼓励！

最后感谢各位论文评阅人、答辩主席和答辩委员对本论文的批评和指导，谢谢！

陈金景

2007.05.25

原创性声明

本人郑重声明：所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品成果。对本文的研究作出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本人完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

学位论文作者签名：陈 金 景

日期：2007 年 6 月 10 日