

# 螯合剂对铅锌尾矿改良基质上蓖麻幼苗生长 和铅锌积累的影响\*

王红新<sup>1,2</sup> 郭绍义<sup>3</sup> 胡锋<sup>1†</sup> 蒋洋杨<sup>1</sup> 李辉信<sup>1</sup>

(1 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

(2 池州学院资源环境与旅游系, 安徽池州 247000)

(3 池州学院化学与食品科学系, 安徽池州 247000)

**摘要** 采用盆栽试验,以铅锌尾矿与对照土壤按1:1的质量比例混合为培养基质,研究了单独添加乙二胺四乙酸二钠盐(EDTA-Na<sub>2</sub>)和氨三乙酸(NTA)以及复合添加对蓖麻幼苗生长和重金属积累的影响。结果表明:添加螯合剂后蓖麻生物量和根系形态参数均显著下降。其中,根系形态参数中根尖数下降最明显,与对照相比差异极显著( $p < 0.01$ )。各螯合处理蓖麻叶绿素a、b和叶绿素a+b与对照相比均显著下降( $p < 0.05$ ),且叶绿素b较叶绿素a下降幅度略大。蓖麻叶片中三种抗氧化酶活性均随螯合处理中EDTA添加量的增加先上升后下降。添加螯合剂使蓖麻各部位Pb、Zn含量明显增加,且Pb的增幅较Zn大。螯合剂添加显著提高蓖麻对Pb、Zn的积累能力,其中对Pb的积累能力大于Zn。添加螯合剂明显促进了Pb、Zn从根部向地上部的转移,转移系数在添加EDTA和NTA各3 mmol kg<sup>-1</sup>处理中达最大值。蓖麻对Pb和Zn有较强的耐性和积累能力,可用于铅锌尾矿废弃地植物修复的进一步研究。

**关键词** 铅; 锌; 尾矿; 蓖麻; 抗氧化酶

**中图分类号** X53 **文献标识码** A

尾矿是采选矿过程中产生的主要工业固体废物。在矿区,尾矿一般堆积在尾矿库内或者地势低洼处,形成大面积的尾矿废弃地,对周围环境造成严重污染。由于尾矿颗粒(目前多磨至0.07~0.15 mm)较小,植物生长所需营养元素含量低,保水、保肥性能较差,加之重金属含量较高,对尾矿废弃地进行植被恢复非常困难<sup>[1]</sup>。目前,螯合诱导修复技术已被广泛应用于重金属污染土壤的植物修复或植物采矿中。螯合剂对金属离子有很强的螯合能力,能增加土壤中重金属的生物有效性,促进植物对重金属的吸收及积累。在重金属污染土壤的植物修复研究中,EDTA(乙二胺四乙酸)是应用最广泛的一种螯合剂,对活化土壤中的重金属以及诱导植物对目标重金属的吸收具有良好的效果,常用于强化Pb和其他重金属污染土壤的植物提取修复<sup>[2-3]</sup>。但大量实验表明,EDTA的生物降解能力差,持续残留于土壤中会长时间毒害植物<sup>[4-5]</sup>。NTA(氨三乙酸)是一种可生物降解的螯合剂,降解速率与柠檬酸大致相同,近年来越来越受到人们的重视。它在土壤环境中的半衰期比较短,仅为

3~7 d<sup>[6]</sup>。Kayser等<sup>[7]</sup>研究结果表明,添加NTA或者S的处理,土壤中植物有效态Zn、Cd和Cu的含量分别较对照提高了21倍、58倍、9倍,植物地上部重金属的含量也提高了2~3倍。

蓖麻为大戟科蓖麻属,一年生或多年生草本植物。蓖麻原产于非洲,我国各地均有栽培,是理想的环保植物和较高经济价值的油料作物<sup>[8]</sup>。目前,国内利用蓖麻修复重金属污染土壤方面的研究已有报道,但不够深入<sup>[9-12]</sup>。螯合剂对蓖麻在重金属复合污染土壤中对重金属的积累能力及生理指标的影响鲜见报道。将土壤与尾矿相混合,既能有效改善尾矿结构,提高持水能力,又能节省大量土地资源,减少复垦费用,是一种经济有效的复垦方法<sup>[13]</sup>。本文利用对照土壤和铅锌尾矿混合后的改良基质模拟尾矿废弃地土壤进行室内盆栽试验,观测和分析了EDTA、NTA单独及复合添加对蓖麻的生长状况、抗氧化酶活性、积累Pb和Zn能力的影响,为进一步研究和利用蓖麻进行矿区尾矿废弃地的植物修复提供依据。

\* 安徽省高校省级优秀青年人才基金项目(2009SQRZ143)资助

† 通讯作者, E-mail: fenghu@njau.edu.cn

作者简介: 王红新(1979—),女,河北衡水人,博士研究生,讲师,研究方向为重金属污染土壤修复。E-mail: wanghxx2000@163.com

收稿日期: 2011-07-31; 收到修改稿日期: 2011-11-30

# 1 材料与amp;方法

## 1.1 试验材料

试验用蓖麻品种为淄蓖7号(杂交),由南京大

学盐生植物实验室提供。试验用尾矿取自安徽池州市黄山岭铅锌尾矿库,对照土壤取自池州市升金湖自然保护区,土壤类型为水稻土,取0~20 cm土层的土壤。尾矿及土壤基本性质见表1。

表1 供试土壤和尾矿基本理化性质

Table 1 Basic properties of the soil and mine tailings used for pot test

类别 Sorts	pH	有机质 OM (g kg <sup>-1</sup> )	全氮 Total N (mg kg <sup>-1</sup> )	全磷 Total P (g kg <sup>-1</sup> )	全钾 Total K (g kg <sup>-1</sup> )	速效磷 Available P (mg kg <sup>-1</sup> )	速效钾 Available K (mg kg <sup>-1</sup> )	重金属含量 Content of heavy metal (mg kg <sup>-1</sup> )	
								全铅 Total Pb	全锌 Total Zn
土壤 Soil	6.10	15.26	73.1	0.77	2.87	8.10	147.8	19	44
尾矿 Tailings	9.12	14.94	36.5	0.01	8.60	1.37	49.2	2 448	1 606

由表1可知,尾矿和对照土壤中重金属含量均为Zn大于Pb,尾矿Zn、Pb含量极高,分别是对照土壤的130.9倍、36.4倍,均超出土壤质量环境标准的三级标准值(Zn:500 mg kg<sup>-1</sup>, Pb:500 mg kg<sup>-1</sup>),存在对植物生长造成危害的可能性。

## 1.2 实验设计

本试验在南京农业大学资源与环境科学学院温室内完成。供试土壤和尾矿经风干后过2 mm筛。将尾矿与对照土壤以1:1的质量比例混匀,装入直径12 cm、高15 cm的塑料钵中,每钵装2.0 kg。每钵施入基肥: NH<sub>4</sub>Cl 0.40 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.15 g、K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.40 g,装钵后平衡10 d。挑选籽粒饱满的蓖麻种子,采用温水浸种法进行处理。用70~80℃水烫种,并不停搅拌,水温降到25~30℃时停止搅拌,泡籽8~10 h,种子捞出后,用湿布包好,置于温室催芽,种子外皮裂开缝隙时播种。每钵5粒,出苗一周后间苗,每钵保留2株。植物生长期间保持土壤湿度为田间持水量的60%左右,3周以后追肥一次。

幼苗生长第31天,对蓖麻进行螯合处理(螯合剂均一次性加入):(1)对照(CK,不加螯合剂);(2)6 mmol kg<sup>-1</sup> NTA;(3)2 mmol kg<sup>-1</sup> EDTA + 4 mmol kg<sup>-1</sup> NTA;(4)3 mmol kg<sup>-1</sup> EDTA + 3 mmol kg<sup>-1</sup> NTA;(5)4 mmol kg<sup>-1</sup> EDTA + 2 mmol kg<sup>-1</sup> NTA;(6)6 mmol kg<sup>-1</sup> EDTA(分别记为:CK、NTA、E<sub>1</sub> + N<sub>1</sub>、E<sub>2</sub> + N<sub>2</sub>、E<sub>3</sub> + N<sub>3</sub>、EDTA)。每个处理3个重复,共18钵,其中,EDTA为二钠盐,NTA用NaOH溶解,稀盐酸将pH调至5.0。经螯合处理7 d后,分根、茎、叶采收,并用去离子水冲洗。根系

在20 mmol L<sup>-1</sup>乙二胺四乙酸二钠(EDTA-Na<sub>2</sub>)溶液中浸泡交换30 min,以去除根系表面黏附的金属离子,最后用去离子水洗净,吸干表面水分,叶片、茎和根分别称取鲜样,置于-75℃冰箱保存供分析测定。

## 1.3 测定指标及方法

**1.3.1 蓖麻根系测定** 植物根系指标包括根系长度、根表面积、根体积和根尖数,用根系分析系统(Win RHIZO A1600+, Regent Instruments Inc.)测定。

**1.3.2 叶绿素含量测定** 植物叶绿素含量测定参照Qiu等<sup>[14]</sup>的方法。

**1.3.3 蓖麻叶片抗氧化酶的活性测定** 抗氧化酶活性的测定参照Wu等<sup>[15]</sup>的方法测定。超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氮蓝四唑(NBT)还原法,以抑制NBT光化还原50%的酶量为一个酶活力单位。过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外吸收法,将每1 min吸光度值减少0.01定义为1个活力单位。过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚显色法,在分光光度计470 nm处测定吸光度,以每分钟吸光度变化0.01为一个酶活性单位。

**1.3.4 蓖麻根、茎、叶中铅和锌含量的测定** 烘干的植物样品经研磨后用HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>4</sub>(体积比为4:1)混合液消煮,用ICP-AES法测定重金属含量。

## 1.4 数据处理

实验所得数据采用Excel及SPSS17.0进行数据处理。利用one-way ANOVA单因素方差分析及多重比较(LSD)方法对数据进行分析,差异显著水平为0.05和0.01。

## 2 结 果

### 2.1 螯合剂对蓖麻生长的影响

**2.1.1 螯合剂对蓖麻生物量和株高的影响** 由表 2 可见, 与不添加螯合剂的对照相比, 各螯合处理蓖麻的地上部、根系以及植株总生物量均显著下降 ( $p < 0.05$ )。单独添加 NTA, 地上部和根

系生物量均下降幅度最小, 与对照相比分别下降 14.34%、25.37%。在其余四个螯合处理中, 随着 EDTA 添加量的增加, 地上部和根系的生物量下降幅度均逐渐增加, 均在单独添加 EDTA 处理中下降幅度最大, 分别为 40.84%、40.30%。从株高来看, 除  $E_3 + N_3$  和 EDTA 处理中蓖麻株高较对照明显降低外, 其余螯合处理均不显著 ( $p > 0.05$ )。

表 2 螯合剂对蓖麻生物量和株高的影响

Table 2 Effects of chelating agents on biomass and plant height of castor

处理 Treatments	地上部生物量 Dry biomass of shoots (g plant <sup>-1</sup> , DW)	根系生物量 Dry biomass of roots (g plant <sup>-1</sup> , DW)	总生物量 Dry biomass of roots and shoots (g plant <sup>-1</sup> , DW)	平均株高 Average plant height (cm)
CK	5.02 a	1.34 a	6.36 a	24.70 a
NTA	4.30 b	1.00 b	5.30 b	23.97 a
$E_1 + N_1$	3.86 bc	0.93 bc	4.79 bc	22.70 ab
$E_2 + N_2$	3.63 cd	0.87 bc	4.50 cd	22.47 abc
$E_3 + N_3$	3.16 de	0.83 c	3.99 de	20.73 bc
EDTA	2.97 e	0.80 c	3.77 e	19.76 c

注: 同一列中, 不同字母表示处理间差异显著性 ( $p < 0.05$ ; Duncan 检验) Note: In a column, means affixed with different letters denote statistically significant difference between treatments according to duncan's test ( $p < 0.05$ )

观察表明, 不同螯合处理下蓖麻情况不同。螯合处理第 3 天, NTA、 $E_1 + N_1$ 、 $E_2 + N_2$  三种处理中蓖麻与对照相比没有明显变化, 但  $E_3 + N_3$  和单独添加 EDTA 处理的蓖麻开始出现轻微的叶片黄斑和卷缩。螯合处理第 7 天, 前三种处理与对照相比仍然没有明显变化, 但  $E_3 + N_3$  和单独添加 EDTA 处理中蓖麻叶片均出现较大面积的黄斑和卷缩。采收时发现  $E_3 + N_3$  和单独添加 EDTA 处理蓖麻根系出现不同程度褐变和发黑症状, 后者较前者更明显。

**2.1.2 螯合剂对蓖麻根系性状的影响** 由表 3 可知, 添加螯合剂后, 各处理中蓖麻的根长度、根表面积和根体积与对照相比均明显降低 ( $p < 0.05$ ), 且均在单独添加 EDTA 处理中达到最小值。随螯合处理中 EDTA 添加量的增加, 根尖数明显下降, 与对照相比均达到极显著性差异 ( $p < 0.01$ )。单独添加 EDTA, 根长度、根表面积、根体积和根尖数分别下降 54.65%、57.89%、59.26%、68.48%。因此, 根长度受螯合剂的影响最小, 根尖数所受影响最大。

表 3 蓖麻幼苗根系形态参数

Table 3 Root morphological parameters of castor seedlings

处理 Treatments	根长度 Root length (cm)	根表面积 Surface area (cm <sup>2</sup> )	根体积 Root volume (cm <sup>3</sup> )	根尖数 Tips
CK	1 956 ± 310 a	817 ± 125 a	27.2 ± 4.0 a	2 846 ± 111 A
NTA	1 168 ± 26 b	480 ± 44 b	16.0 ± 4.1 b	1 952 ± 496 B
$E_1 + N_1$	1 090 ± 119 b	439 ± 75 bc	14.2 ± 4.1 bc	1 309 ± 439 BC
$E_2 + N_2$	997 ± 81 b	352 ± 31 c	10.0 ± 1.8 c	1 292 ± 150 BC
$E_3 + N_3$	972 ± 170 b	378 ± 20 bc	11.8 ± 0.9 bc	1 087 ± 269 C
EDTA	887 ± 43 b	344 ± 5 c	11.6 ± 0.3 c	897 ± 119 C

注: 同一列内, 不同大写、小写字母分别代表处理间差异显著性 (大写字母  $p < 0.01$ , 小写字母  $p < 0.05$ ; Duncan 检验) Note: In a column, different uppercase and lowercase letters denote statistically significant difference between treatments at  $p < 0.01$  and  $p < 0.05$  levels, respectively according to duncan's test

## 2.2 螯合剂对蓖麻叶绿素含量的影响

由表 4 可知,添加螯合剂对叶绿素 a 和叶绿素 b 含量的影响程度不同。各螯合处理中叶绿素 a、b 和叶绿素 a + b 与对照相比均明显降低( $p < 0.05$ ),

且随螯合剂中 EDTA 添加量的增加叶绿素 a、b 的下降幅度逐渐增大;叶绿素 a/b 的值则逐渐增大,但与对照相比未达到显著性差异( $p > 0.05$ )。单独添加 EDTA,叶绿素 a、b 和叶绿素 a + b 均最低。

表 4 螯合剂对蓖麻叶绿素含量的影响

Table 4 Effects of chelating agents on chlorophyll contents in castor leaves

处理 Treatment	叶绿素含量 Chlorophyll contents ( $\text{mg g}^{-1}$ , FW)			叶绿素 a/叶绿素 b Chl a/ chl b
	叶绿素 a Chlorophyll a	叶绿素 b Chlorophyll b	叶绿素 a + b Chlorophyll a + b	
CK	12.56 a	8.80 a	21.36 a	1.43 a
NTA	10.13 b	6.43 b	16.57 b	1.58 a
$E_1 + N_1$	9.94 b	6.10 b	16.04 b	1.63 a
$E_2 + N_2$	9.30 c	5.60 bc	14.89 c	1.67 a
$E_3 + N_3$	8.39 d	4.69 c	13.36 d	1.70 a
EDTA	7.99 d	4.97 c	12.67 d	1.72 a

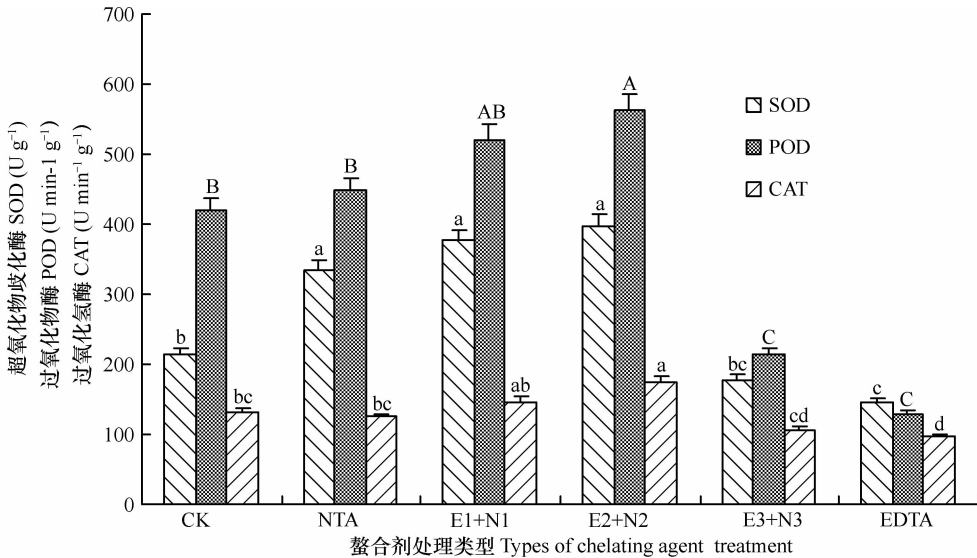
注:同一列中,不同字母表示处理间差异显著性( $p < 0.05$ ; Duncan 检验);Chl 和 FW 分别代表叶绿素和鲜重

Note: In a column, means with different letters denote statistically significant difference between treatments according to duncan's test ( $p < 0.05$ ); Chl and FW denotes chlorophyll and fresh weight, respectively

## 2.3 螯合剂对叶片抗氧化酶活性的影响

添加螯合剂对蓖麻的抗氧化防御系统酶产生了明显影响(见图 1)。SOD 活性在螯合处理 NTA、 $E_1 + N_1$ 、 $E_2 + N_2$  中逐渐增加,与对照相比均差异显著( $p < 0.05$ )。SOD 在  $E_3 + N_3$ 、EDTA 处理中逐渐下降,其中 EDTA 处理与对照相比下降明显( $p <$

0.05)。POD 和 CAT 活性变化与 SOD 类似,在螯合处理 NTA、 $E_1 + N_1$ 、 $E_2 + N_2$  中活性逐渐增加,但在 NTA 处理中 POD 活性与对照相比增加不明显,CAT 活性还出现了轻微下降。在  $E_3 + N_3$ 、EDTA 处理中二者活性与对照相比均明显下降,其中 POD 活性下降更明显( $p < 0.01$ )。



注:对于同种酶,不同大写字母与小写字母分别代表处理间差异显著性(大写字母  $p < 0.01$ , 小写字母  $p < 0.05$ ; Duncan 检验) Note: For the same enzyme, means with different uppercase and lowercase letters denote statistically significant difference between treatments according to Duncan 检验 ( $p < 0.01$  for uppercase letter and  $p < 0.05$  for lowercase letter, respectively)

图 1 螯合剂对蓖麻叶片抗氧化酶活性的影响

Fig. 1 Effects of chelating agents on antioxidant enzyme activities in castor leaves

## 2.4 螯合剂对蓖麻幼苗 Pb、Zn 含量的影响

由表 5 可见,添加螯合剂后,蓖麻各部位中 Pb、Zn 含量均明显增加,Pb、Zn 在根、茎和叶中的含量顺序均为:叶 > 根 > 茎。随螯合处理中 EDTA 添加量的增加,蓖麻根、茎和叶中 Pb 含量逐渐增加,均在 EDTA 处理中最高,分别是对照的 4.16 倍、4.24 倍和 68.96 倍。各部位中,除 NTA 处理根部 Pb 含量与对照差异不明显

外,其余均和对照间有极显著性差异( $p < 0.01$ )。

随螯合处理中 EDTA 添加量增加,根部 Zn 含量也逐渐增加,在 EDTA 处理中最高,是对照处理的 1.37 倍;各螯合处理 Zn 含量与对照相比差异显著( $p < 0.05$ )。在茎和叶中 Zn 含量先增加,后逐渐降低,均在  $E_2 + N_2$  处理中最高,分别是对照处理的 2.11 倍和 8.51 倍。

表 5 蓖麻幼苗中 Pb、Zn 含量

Table 5 Contents of Pb and Zn in castor seedlings ( $\text{mg kg}^{-1}$ )

处理 Treatments	根 Roots		茎 Stems		叶 Leaves	
	铅含量 Pb content	锌含量 Zn content	铅含量 Pb content	锌含量 Zn content	铅含量 Pb content	锌含量 Zn content
CK	228.4 ± 39.1 D	247.1 ± 24.4 c	53.0 ± 4.5 C	109.7 ± 3.4 b	20 ± 6 C	75.3 ± 15.4 D
NTA	321.4 ± 27.5 CD	307.6 ± 2.6 ab	150.8 ± 19.2 B	210.6 ± 17.1 a	476 ± 71 B	442.8 ± 34.2 C
$E_1 + N_1$	345.7 ± 42.5 C	302.2 ± 29.4 ab	174.4 ± 27.9 AB	217.7 ± 24.6 a	665 ± 26 B	577.8 ± 47.0 A
$E_2 + N_2$	387.6 ± 66.2 C	295.4 ± 13.2 b	190.6 ± 38.1 AB	231.3 ± 29.4 a	1 109 ± 223 A	641.0 ± 45.5 A
$E_3 + N_3$	725.2 ± 32.2 B	313.3 ± 30.6 ab	212.2 ± 12.1 A	225.7 ± 50.8 a	1 233 ± 119 A	545.9 ± 30.3 AB
EDTA	950.3 ± 53.1 A	338.2 ± 22.6 a	224.8 ± 12.2 A	218.1 ± 19.7 a	1 406 ± 157 A	472.2 ± 51.3 BC

注:同一列中,不同大写字母与小写字母分别代表处理间差异显著性(大写字母  $p < 0.01$ ,小写字母  $p < 0.05$ ;Duncan 检验) Note: In a column, means with different uppercase and lowercase letters denote statistically significant difference between treatments according to Duncan's test ( $p < 0.01$  for uppercase letter and  $p < 0.05$  for lowercase letter, respectively)

## 2.5 螯合剂对蓖麻 Pb、Zn 积累量的影响

添加螯合剂后,蓖麻地上部 Pb 和 Zn 的积累量明显增加,与对照相比,均达到极显著性差异( $p < 0.01$ )。单独添加 EDTA,Pb 的地上部积累量最高,是对照的 19.77 倍; $E_2 + N_2$  处理中 Zn 的地上部积累量最高,是对照的 4.37 倍。添加螯合剂后,蓖麻根部 Pb 的积累量逐渐增加,在单独添加 EDTA 处理中最高( $1 517 \mu\text{g pot}^{-1}$ );Zn 的积累量先逐渐减少,在  $E_2 + N_2$  处理中最低,然后又逐渐增加。各螯合处理中,蓖麻体内 Pb 的总积累量随着螯合处理中 EDTA

添加量的增加而增加,与对照相比,达到极显著性差异( $p < 0.01$ );在  $E_2 + N_2$  处理中 Zn 总积累量最高( $4 315 \mu\text{g pot}^{-1}$ ),各螯合处理与对照相比均差异极显著( $p < 0.01$ )。

转移系数为植物地上部分积累重金属的量与植物根中该重金属积累量之比。它反映植物将重金属从根部向地上部转移的能力。添加螯合剂能极显著地提高蓖麻对 Pb、Zn 的转移系数( $p < 0.01$ ),并且均在  $E_2 + N_2$  处理中最高,分别为 9.19、7.5,与对照相比,分别提高了 18.38 倍、5.73 倍。

表 6 螯合剂对蓖麻幼苗 Pb、Zn 积累量的影响

Table 6 Effects of chelating agents on Pb and Zn accumulation in shoots and roots of castor seedlings ( $\mu\text{g pot}^{-1}$ , DW)

元素 Element	处理 Treatments	地上部积累量	根系积累量	总积累量	转移系数
		Accumulation of Shoot ( $\mu\text{g pot}^{-1}$ )	Accumulation of root ( $\mu\text{g pot}^{-1}$ )	Total accumulation ( $\mu\text{g pot}^{-1}$ )	Translocation factor
铅 Pb	CK	310 ± 77 D	609 ± 93 c	919 ± 169 D	0.50 C
	NTA	3 175 ± 653 C	645 ± 101 c	3 820 ± 736 C	4.93 B
	$E_1 + N_1$	3 945 ± 528 BC	646 ± 82 c	4 590 ± 591 BC	6.13 B
	$E_2 + N_2$	6 124 ± 1 275 AB	669 ± 61 c	6 793 ± 1 284 AB	9.19 A
	$E_3 + N_3$	5 879 ± 1 273 AB	1 202 ± 51 b	7 081 ± 1 230 A	4.92 B
	EDTA	6 247 ± 905 A	1 517 ± 174 a	7 764 ± 1 018 A	4.13 B
锌 Zn	CK	868 ± 166 C	660.6 ± 59.4 a	1 529 ± 214 C	1.31 C
	NTA	3 146 ± 432 AB	614.4 ± 38.4 ab	3 761 ± 454 AB	5.12 B
	$E_1 + N_1$	3 604 ± 636 A	564.2 ± 54.8 ab	4 168 ± 686 A	6.36 AB
	$E_2 + N_2$	3 797 ± 308 A	518.4 ± 88.9 b	4 315 ± 306 A	7.50 A
	$E_3 + N_3$	2 852 ± 548 AB	521.6 ± 81.0 b	3 373 ± 594 AB	5.50 AB
	EDTA	2 357 ± 400 B	539.9 ± 63.0 b	2 897 ± 418 B	4.40 B

注:同一列中,不同大写字母与小写字母分别代表处理间差异显著性(大写字母  $p < 0.01$ ,小写字母  $p < 0.05$ ;Duncan 检验) Note: In a column, means with different uppercase and lowercase letters denote statistically significant difference between treatments according to Duncan's test ( $p < 0.01$  for uppercase letter and  $p < 0.05$  for lowercase letter, respectively)

### 3 讨论

植物对重金属的耐性是植物修复重金属污染土壤的前提<sup>[16]</sup>。添加螯合剂前,蓖麻在土壤和尾矿混合的改良基质中能正常生长,在螯合处理 NTA、E<sub>1</sub> + N<sub>1</sub>、E<sub>2</sub> + N<sub>2</sub> 中蓖麻也未出现明显中毒症状,表明蓖麻对铅、锌耐性较强。Levy 等<sup>[17]</sup> 报道植物中铅锌正常和毒性浓度范围 0.5 ~ 10 mg kg<sup>-1</sup> (Pb) 和 30 ~ 300 mg kg<sup>-1</sup> (Pb)、10 ~ 150 mg kg<sup>-1</sup> (Zn) 和大于 100 mg kg<sup>-1</sup> (Zn)。本次试验蓖麻各部位中 Pb、Zn 含量要高于以上界限(除茎中 Pb 含量外),可能是导致蓖麻在不同螯合处理中有不同耐性的原因。根系在植物生长发育过程中有非常重要的作用,根系的变化会影响其他组织的发育。有研究表明土壤中的重金属是影响蔬菜根系伸长的重要因素<sup>[18]</sup>。本试验表明螯合处理中蓖麻根系受到了重金属的影响,原因可能是根部直接接触土壤中高浓度金属离子使根细胞受到毒害,故使根系生长受到抑制<sup>[19]</sup>。Pb 能减缓根细胞有丝分裂的速度,并使部分酶活性丧失<sup>[20]</sup>,随根部 Pb 浓度梯度升高,这种抑制作用逐渐加剧。大量的 Pb 积累在根部还能导致植物染色体和细胞核的畸变,从而使根系的生理过程受到影响<sup>[21]</sup>。在蓖麻根系的四个指标中,尤以根尖数下降幅度最大,原因可能是作为根系生命活动最活跃的部分,铅对根尖的胁迫最敏感。有研究表明,通过不同浓度铅胁迫下萝卜根尖切片的电镜照片发现,随着铅胁迫浓度的增加,萝卜根尖生长锥变短,产生畸形,根尖细胞也变短、变小<sup>[22]</sup>。本试验中螯合处理的蓖麻是否也出现这种现象有待于进一步的试验研究。

光合色素含量是反映植物光合能力的一项重要指标,环境因子的改变可引起光合色素的变化,进而引起光合功能的改变<sup>[23]</sup>。Alberte 等<sup>[24]</sup> 认为,逆境胁迫下叶绿素含量降低的主要原因是叶绿体片层中捕光 Chl<sub>a</sub>b-Pro 复合体合成受到抑制。本实验螯合处理中蓖麻叶片叶绿素 a、b 含量明显下降,可能是叶片吸收的 Pb、Zn 与控制叶绿素合成的几种酶相结合,抑制了酶活性从而影响了叶绿素的合成<sup>[25]</sup>。植物在受到重金属胁迫时,会产生大量的活性氧。活性氧的生成会启动植物体内的抗氧化酶系统,产生超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)等抗氧化酶来清除植物体内的活性氧,以减少活性氧对细胞膜系统的

伤害<sup>[26]</sup>。蓖麻的 SOD、POD 以及 CAT 活性在 NTA、E<sub>1</sub> + N<sub>1</sub>、E<sub>2</sub> + N<sub>2</sub> 处理中明显升高,原因是 NTA、EDTA 活化了土壤中的 Pb、Zn,对蓖麻的生长造成了胁迫,引起活性氧含量增加,从而引起植物体内抗氧化酶活性升高。在 E<sub>3</sub> + N<sub>3</sub>、EDTA 处理中随着土壤溶液中金属离子浓度升高,植物产生的抗氧化酶已经不能完全清除活性氧,使细胞受到伤害,导致抗氧化酶活性降低。

Deng 等<sup>[27]</sup> 认为植物修复效率取决于地上部金属积累量。从试验结果来看,利用蓖麻进行铅锌尾矿废弃地的修复,添加 3 mmol kg<sup>-1</sup> EDTA 和 3 mmol kg<sup>-1</sup> NTA 是比较合理的。此处理中蓖麻地上部 Pb、Zn 积累量较高,对 Pb、Zn 的转移系数最高;更为重要的是与其他螯合处理相比,蓖麻没有明显受毒害症状。同时,此处理 EDTA 的用量较少。有研究表明,EDTA 在施加后的较长时间,甚至是植物收获 1 a 后,仍有少量在土壤中没有降解;NTA 虽然是一种可降解螯合剂,在土壤中也需 20 d 左右才可完全降解<sup>[28-29]</sup>。因此,在螯合修复试验中必须考虑螯合剂使用时可能引起的环境风险,尽量减少难降解螯合剂的使用量。此外,施肥作为农业生产中一项最重要的增产措施,已经应用在重金属污染土壤的修复技术中。肥料进入土壤后能和土壤胶体发生一系列反应,影响重金属的生物有效性,还可以通过改善植物的营养状况,增加植物地上部生物量,从而提高植物对重金属元素的积累量。在本试验中,没有讨论施肥量不同时蓖麻对 Pb、Zn 的积累情况。在今后的研究中,要把恰当选择螯合剂及其施用量以及合理施肥联系起来,以减少螯合剂施用带来的环境风险,提高植物的修复效率。

### 参考文献

- [1] 周东美,王玉军,郝秀珍,等.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. Zhou D M, Wang Y J, Hao X Z, et al. Primary study of distribution of heavy metals in copper mines (In Chinese). Agro-Environmental Protection, 2002, 21(3): 225—227
- [2] Kos B, Letan D. Induced phytoextraction/soil washing of lead using biodegradable chelate and permeable barriers. Environmental Science & Technology, 2003, 37(3): 624—629
- [3] Liphadzi M S, Kirkham M B, Mankin K R, et al. EDTA-assisted heavy-metal uptake by poplar and sunflower grown at a long-term sewage-sludge farm. Plant and Soil, 2003, 257: 171—182
- [4] Santos F S, Hernández-Allica J, Becerril J M, et al. Chelate-induced phytoextraction of metal polluted soils with *Brachiaria de-*

- cumbens. *Chemosphere*, 2006, 65(1):43—50
- [ 5 ] Komárek M, Tlustoš P, Száková J. The use of maize and poplar in chelant-enhanced phytoextraction of lead from contaminated agricultural soils. *Chemosphere*, 2007, 67:640—651
- [ 6 ] Bucheli-Witschel M, Egli T. Environmental fate and microbial degradation of aminopoly-carboxylic acids. *FEMS Microbiology Reviews*, 2001, 25:69—106
- [ 7 ] Kayser A, Wenger K, Keller A, et al. Enhancement of phytoextraction of Zn, Cd and Cu from calcareous soil: The use of NTA and sulfur amendments. *Environmental Science & Technology*, 2000, 34(9):1 778—1 783
- [ 8 ] 周萍, 祝丽香. 多种用途的植物——蓖麻. 中国林副特产, 2000, 53(2):48—49. Zhou P, Zhu L X. A multipurpose plant—castor (In Chinese). *Quarterly of Forest By-product and Speciality in China*, 2000, 53(2):48—49
- [ 9 ] 陆晓怡, 何池全. 蓖麻对重金属 Cd 的耐性与吸收积累研究. 农业环境科学学报, 2005, 24(4):674—677. Lu X Y, He C Q. Tolerance, uptake and accumulation of cadmium by *Ricinus communis* L (In Chinese). *Journal of Agro-Environmental Science*, 2005, 24(4):674—677
- [ 10 ] 陆晓怡, 何池全. 蓖麻对重金属锌的耐性与吸收积累研究. 环境污染与防治, 2005, 27(6):414—416. Lu X Y, He C Q. Environmental behavior of zinc in *Ricinus communis* L. (In Chinese). *Environmental Pollution & Control*, 2005, 27(6):414—416
- [ 11 ] 康薇, 郑进. 蓖麻——一种新的铜超积累植物. 安徽农业科学, 2011, 39(3):1 449—1 451. Kang W, Zheng J. *Ricinus communis*, A new copper hyperaccumulator (In Chinese). *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39(3):1 449—1 451
- [ 12 ] 郑进, 康薇. 湖北铜绿山古铜矿野生蓖麻重金属含量研究. 黄石理工学院学报, 2009, 25(1):36—40. Zheng J, Kang W. Study on heavy metals in *Ricinus Communis* L. from Daye Tonglushan copper mine (In Chinese). *Journal of Huangshi Institute of Technology*, 2009, 25(1):36—40
- [ 13 ] 周连碧, 代宏文, 吴亚君. 铜矿尾矿库无土植被与有土覆盖农作物种植研究. 有色金属, 2003, 55(增刊):58—62. Zhou L B, Dai H W, Wu Y J. Vegetation and crops planting at copper mine tailings ponds (In Chinese). *Nonferrous Metals*, 2003, 55(Supplement):58—62
- [ 14 ] Qiu R L, Zhao X, Tang Y T, et al. Antioxidative defense against Cd in a newly discovered cadmium hyperaccumulator, *Arabis paniculata* F. *Chemosphere*, 2008, 74:6—12
- [ 15 ] Wu F B, Zhang G P, Dominy P. Four barley genotypes respond differently to cadmium: Lipid peroxidation and activities of antioxidant capacity. *Environ Exp Bot*, 2003, 50:67—77
- [ 16 ] 杨卫东, 陈益泰. 不同品种杞柳对高锌胁迫的忍耐与积累研究. 中国农业生态学报, 2009, 17(6):1 182—1 186. Yang W D, Chen Y T. Tolerance of different varieties of *Salix integra* to high zinc stress (In Chinese). *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2009, 17(6):1 182—1 186
- [ 17 ] Levy D B, Redente E F, Uphoff G D. Evaluating the phytotoxicity of Pb-Zn tailings to big bluesteam (*Andropogon gerardii vitman*) and switchgrass (*Panicum virgatum* L.). *Soil Science*, 1999, 164(6):363—375
- [ 18 ] 徐明岗, 纳明亮, 张建新, 等. 红壤中 Cu、Zn、Pb 污染对蔬菜根伸长的抑制效应. 中国环境科学, 2008, 28(2):153—157. Xu M G, Na M L, Zhang J X, et al. Inhibition effects of Cu, Zn and Pb on vegetable root elongation in contaminated red soil (In Chinese). *China Environmental Science*, 2008, 28(2):153—157
- [ 19 ] 王春春, 沈振国. Cd 在植物体内的积累及其对绿豆幼苗生长的影响. 南京农业大学学报, 2001, 24(4):9—13. Wang C C, Shen Z G. Uptake of Cd by three species of plants and responses of mung bean to Cd toxicity (In Chinese). *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2001, 24(4):9—13
- [ 20 ] 孙铁珩, 周启星, 李培军. 污染生态学. 北京: 科学出版社, 2001. Sun T H, Zhou Q X, Li P J. *Pollution ecology* (In Chinese). Beijing: Science Press, 2001
- [ 21 ] 廖自基. 环境中微量重金属元素的污染危害与迁移转化. 北京: 科学出版社, 1989. Liao Z J. *Contamination hazards, migration and transformation of trace heavy metals in environment* (In Chinese). Beijing: Science Press, 1989
- [ 22 ] 初宇, 杜清福, 王建华. 3 种蔬菜种子萌发与胚根生长对铅胁迫的耐受性. 中国蔬菜, 2009, 18:56—59. Chu Y, Du Q F, Wang J H. Studies on lead-endurance of seed germination and radical growth of three kinds vegetables (In Chinese). *China Vegetables*, 2009, 18:56—59
- [ 23 ] Lusk C H. Leaf area accumulation helps juvenile evergreen trees tolerate shade in a temperate rainforest. *Oecologia*, 2002, 132:188—196
- [ 24 ] Alberte R S, Thomber J P, Fiscus E L. Water stress effects on the content and organization of chlorophyll in mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize. *Plant Physiology*, 1977, 59(3):351—353
- [ 25 ] Somashekaraiah B V, Padamajjaes K, Prasad A R K. Phytotoxicity of cadmium ions on germination seedlings of mung bean (*Phaseolus vulgaris*): Involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation. *Physiologia Plantarum*, 1992, 85:85—89
- [ 26 ] Chowdhury S R, Choudhuri M A. Hydrogen peroxide metabolism as an index of water stress tolerance in jute. *Physiol Plant*, 1985, 65:475—480
- [ 27 ] Deng D M, Shu W S, Zhang J, et al. Zinc and cadmium accumulation and tolerance in population of *Sedum alfredii*. *Environmental Pollution*, 2007, 147:381—386
- [ 28 ] Vandevivere P C, Saveyn H, Vcratmete W, et al. Biodegradation of metal-[s, s]-EDDS complexes. *Environmental Science and Technology*, 2001, 35(9):1 765—1 770
- [ 29 ] Meers E, Ruttens A, Hopgood M J, et al. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Chemosphere*, 2005, 58(8):1 011—1 022

## EFFECTS OF CHELATING AGENTS ON GROWTH AND LEAD-ZINC ACCUMULATION OF CASTOR SEEDLINGS GROWING IN AMENDED SUBSTRATE OF LEAD-ZINC TAILINGS

Wang Hongxin<sup>1,2</sup> Guo Shaoyi<sup>3</sup> Hu Feng<sup>1†</sup> Jiang Yangyang<sup>1</sup> Li Huixin<sup>1</sup>

(1 College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

(2 Resource Environment and Tourism Department, Chizhou College, Chizhou, Anhui 247000, China)

(3 Chemistry and Food Science Department, Chizhou College, Chizhou, Anhui 247000, China)

**Abstract** Pot experiments were conducted to study effects of addition of EDTA-Na<sub>2</sub> only, NTA only and both in combination, separately, on growth and heavy metal accumulation of castor seedlings, growing in a substrate of Pb-Zn tailings and soil in ratio of 1:1. Results of the experiments show that biomass and root morphological parameters of the castor seedlings decreased significantly with the addition of chelating agents. The decrease in the number of root tips was the most significant. Comparison with the control demonstrated that the difference reached extremely significant level ( $p < 0.01$ ). Addition of the chelating agents reduced chlorophyll *a*, *b*, and *a + b* significantly in castors ( $p < 0.05$ ), especially chlorophyll *b*. The activities of SOD (Superoxide Dismutase), CAT (Catalase) and POD (Peroxidase) in leaves of the castor seedlings were also affected, ascending first and then descending with the increasing EDTA application rate. The addition increased generally Pb and Zn contents in the castor seedlings, with Pb in particular, demonstrating that it significantly enhanced the plant's capacity of accumulating Pb and Zn, especially Pb, and of transferring Pb and Zn from roots to shoots, with translocation coefficient reaching the peak when 3 mmol kg<sup>-1</sup> EDTA and NTA was added. Castor is relatively high in tolerance to Pb and Zn and in capacity of accumulating the two, so it can be used in the study on phytoremediation of waste lands of Pb-Zn tailings.

**Key words** Pb; Zn; Tailings; Castor; Antioxidant enzyme