

外源氨基酸对龙葵修复 Cd-PAHs 污染土壤的强化作用*

杨传杰^{1,2} 魏树和¹ 周启星^{1,3,*} 张 蕾^{1,2} 鲍艳宇³ 顾 平^{1,4} 任丽萍¹ 刘 睿¹

(¹ 中国科学院沈阳应用生态研究所陆地生态过程重点实验室, 沈阳 110016; ² 中国科学院研究生院, 北京 100039; ³ 南开大学环境科学与工程学院, 天津 300071; ⁴ 东北农业大学, 哈尔滨 150030)

摘 要 采用室内盆栽试验的方法, 研究外源半胱氨酸、谷氨酸、甘氨酸及其复合处理对超富集植物龙葵 (*Solanum nigrum*) 修复镉-多环芳烃复合污染土壤的影响。结果表明: 各浓度水平的单因素处理对植物株高及地上部干重并没有显著影响 ($P > 0.05$), 而复合处理则具有显著的促进作用 ($P < 0.05$); 各处理能够显著增强龙葵对镉的吸收和富集能力, 其中半胱氨酸处理使重金属提取率分别达到 1.80% 及 1.83%, 与对照相比提高了 0.80 及 0.83 倍; 研究发现甘氨酸、谷氨酸及半胱氨酸复合处理能够促进镉及多环芳烃在土壤环境中的去除作用, 且 $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 甘氨酸 + $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 谷氨酸 + $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 半胱氨酸处理效果最佳, 与对照相比龙葵地上部 Cd 含量增加了 1.26 倍, 土壤多环芳烃总量的去除率提高了 4.46 倍; 可见, 外源 PCs 组成物质能够强化植物修复低浓度镉-多环芳烃复合污染土壤, 具有成为植物修复重金属-有机复合污染高效强化剂的潜力。

关键词 植物修复; 镉; 多环芳烃; 外源氨基酸; 龙葵

中图分类号 X 171.5 文献标识码 A 文章编号 1000-4890(2009)09-1829-06

Promotion effects of exogenous amino acids on phytoremediation of Cd-PAHs contaminated soils by using hyperaccumulator plant *Solanum nigrum*. YANG Chuan-jie^{1,2}, WEI Shu-he¹, ZHOU Qi-xing^{1,3}, ZHANG Lei^{1,2}, BAO Yan-yua³, GU Ping^{1,4}, REN Li-ping¹, LIU Rui¹ (¹Key Laboratory of Terrestrial Ecological Process, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; ²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; ³College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China; ⁴Northeast Agricultural University, Haerbin, 150030). Chinese Journal of Ecology 2009 28(9):1829-1834.

Abstract: An indoor pot experiment was conducted to study the effects of exogenous cysteine, glutamate, glycine, and their combinations on the *Solanum nigrum* pyto remediation of Cd- and PAHs contaminated soils. Single factor treatments with test amino acids had less effects on the *S. nigrum* plant height and its shoot dry weight ($P > 0.05$), while multi-factor treatments promoted the plant height and shoot dry weight significantly ($P < 0.05$). All the treatments increased the Cd uptake and accumulation by the plants, with the extraction ratios of plant Cd in treatment cysteine reached as high as 1.80% and 1.83%, being 0.80-fold and 0.83-fold higher than the control, respectively. The combined application of cysteine, glutamate, and glycine promoted the removal of soil Cd and PAHs, with the best effect in treatment $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ cysteine + $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ glutamate + $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ glycine, in which, the Cd concentration in plant shoot and the removal rate of soil PAHs increased by 1.26-fold and 4.46-fold, respectively, compared with the control. It was suggested that exogenous cysteine, glutamate, and glycine could promote the phytoremediation of low concentration Cd-PAHs contaminated soils, and have a promising future in contaminated soil phytoremediation.

Key words: phytoremediation; Cd; PAHs; exogenous amino acid; *Solanum nigrum*.

* 辽宁省自然科学基金项目(20082017)、国家高技术研究发展计划项目(2006AA06Z386)和中俄自然资源与生态环境联合研究中心资助项目。

** 通讯作者 E-mail: zhouqx523@yahoo.com

收稿日期: 2009-01-13 接受日期: 2009-04-10

随着污染物排放的多样化、复杂化和频繁化,污染物的主要受体土壤受污染程度日益加重,污染土壤修复的复杂性和难治理性特征也越发突出(Paton *et al.* 2006),其中重金属-有机复合污染是较常见的污染类型,如 Cd-多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)复合污染。镉在较低浓度时能够通过降低植物光合作用、产生氧化胁迫等途径抑制植物生长、对植物产生毒害作用(Schill *et al.* , 2003),并不同程度地对人和动物产生毒害作用,还可诱发癌变,而 PAHs 是一类持久性有机污染物,对生物具有慢性毒性和致癌、致畸、致突变性。由于 Cd、PAHs 在土壤环境中表现为具有隐蔽性和长期性的特点,致使修复此类复合污染土壤的难度加大,寻求高效、安全、经济的修复技术成为亟需解决的现实问题。植物修复技术具有物理、化学修复方法所无法比拟的费用低廉、不易造成二次污染、美化环境、易于为社会所接受等优点,成为极具发展潜力的修复技术(Channy *et al.* ,1997 ;Brooks *et al.* ,1998)。重金属污染土壤的植物修复主要是通过超富集植物或富集植物的超量去除作用来实现(魏树和和周启星 2004);对于有机污染如 PAHs 主要是利用植物根际圈微生物的降解作用来完成(魏树和等, 2006)。但是,植物修复技术也存在着一些缺陷和某些限制性,如极易受环境条件及植物本身生物学特性影响、修复周期较长等。故需采用一些强化修复措施来提高植物修复的效率,以期为该技术的早日完善提供参考。

在重金属污染胁迫下,很多植物形成了某种自我保护机制来抵御重金属离子的危害,如生物合成一系列具有络合重金属离子能力的小分子(柠檬酸盐、谷胱甘肽、植物络合素等),与游离的重金属离子络合形成毒性较低的复合物,并将其储存在植物细胞的液泡中。其中植物络合素是植物体内重要的解毒物质。植物络合素是重金属如 Ni、Cd、Zn、Te、Au、Hg、Pb、As、Se 等胁迫诱导下细胞质液中产生的一类巯基整合多肽,其中 Cd 是最强的体内诱导因子,且发挥诱导作用的是细胞质中游离的金属离子(Rauser ,1995)。PCs(phytochelatins)是一类富含半胱氨酸(cysteine)的多肽,由半胱氨酸、谷氨酸、甘氨酸为原始底物经过一系列酶促反应生成。PCs 中的 Cys 巯基可与胞内的 Cd^{2+} 形成配位键,进而形成 PCs-Cd 复合物,此复合物对细胞的毒性已大为降低,此外植物还进一步采取了液泡区域化作用

(compartmentation)将复合物固定在液泡内,进一步降低了 Cd 对植物的毒害作用。本试验研究了 Cd-PAHs 复合污染条件下外源 PCs 原始底物对龙葵吸收和积累 Cd 的特征及其对土壤中 PAHs 降解作用的影响,并重点考察了半胱氨酸在植物解毒过程中的作用,探讨其内在机制,以期 Cd-PAHs 复合污染土壤的修复和治理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

土壤采自沈阳市东陵区的沈抚灌区,为石油污水多年灌溉的蔬菜田(以前是水田,约于 10 年前改为蔬菜田)。土壤类型为黄棕壤,其理化性质为 pH 值 6.9,有机质 $17.95\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,全氮 $1.32\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,全磷 $1.39\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效钾 $144.36\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。土壤总 Cd 含量 $0.711\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,超过国家土壤环境质量 GB 15618—1995 的 2 级标准,属于 Cd 污染菜田土壤,土壤中 16 种 PAHs 总量为 $0.569\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,2~4 环 PAHs 含量为 $0.462\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,5~6 环 PAHs 含量为 $0.106\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,苯并(a)芘含量为 $0.026\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,与荷兰土壤修复目标值相比,所采集土壤中 PAHs 含量明显超标。

修复植物为龙葵(*Solanum nigrum*),种子采自中国科学院沈阳生态实验站非污灌农业土壤。

1.2 试验方法

根据植物体内 PCs 合成水平及其在植物体内解毒过程中的作用,实验设计了半胱氨酸(Cys)、甘氨酸(Gly)、谷氨酸(Glu)单一处理,及甘氨酸(Gly)+谷氨酸(Glu)、甘氨酸(Gly)+谷氨酸(Glu)+半胱氨酸(Cys)复合处理,投加浓度水平见表 1。另设 1 个对照,共 11 个处理,每处理重复 3 次,采用液体投加法,分 3 次投加,投加时间间隔为 15 d。

试验在温室进行。将供试土壤风干后过 4 mm 筛,准确称量 1 kg 土装入塑料盆,选择生长一致的龙葵幼苗分别移入各处理盆中,每盆栽 2 棵幼苗。

表 1 半胱氨酸、甘氨酸、谷氨酸处理水平($\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$)
Tab.1 Treatment levels of cysteine , glycine and glutamate

处理	半胱氨酸	甘氨酸	谷氨酸	处理	半胱氨酸	甘氨酸	谷氨酸
CK	0	0	0	T ₆	0	0	0.9
T ₁	0.3	0	0	T ₇	0	0.3	0.3
T ₂	0.9	0	0	T ₈	0	0.9	0.9
T ₃	0	0.3	0	T ₉	0.3	0.3	0.3
T ₄	0	0.9	0	T ₁₀	0.9	0.9	0.9
T ₅	0	0	0.3				

控制培养室温度 25 ℃ ~ 30 ℃、空气湿度 50% ~ 80%、光照强度 350 ~ 450 μmol · m⁻² · s⁻¹、光照时间 8 00—17 30。移栽 15 d 后,对应各处理分别投加,并根据盆缺水情况不定期浇自来水,使土壤含水量经常保持在田间持水量的 80% 左右。为防止处理液淋漓渗漏损失,在盆下放置塑料托盘并及时将渗漏液倒回盆中。80 d 后于植物成熟期采样。

1.3 样品分析

收获的植物样品一部分用于地上部重金属含量的测定,其余部分分根、茎、叶、果 4 部分,分别用自来水充分冲洗,然后再用去离子水冲洗,沥去水分,在 105 ℃ 下杀青 30 min,然后在 70 ℃ 下于烘箱中烘至恒量。烘干后的植物样品粉碎过筛备用,土壤样品风干后过 100 目筛备用。植物及土壤样品均采用 HNO₃-HClO₄ 法消化(二者体积比为 3:1)原子吸收分光光度计法测定 Cd 的含量(Wei & Zhou 2004),原子吸收分光光度计为日立 180-80,Cd 的吸收波长为 228.8 nm。土壤的有机质含量等基本理化性质的测定采用常规的测定方法(鲁如坤 2000)。

收获的土壤样品风干后过 100 目筛,储藏在 -80 ℃ 冰箱里备用。土壤 PAHs 提取方法参考宋玉芳(1995)和高彦征(2005)。称取 5.0 g 土壤样品于 25 ml 玻璃离心管中,用 15 ml 的二氯甲烷超声萃取 2 h,其间采用换水的方式控制提取温度 40 ℃ 以下,以 4000 r · min⁻¹ 离心分离并吸取上清液在旋转蒸发仪中蒸发近干,再加入 1 ml 的环己烷溶解,准确吸取 0.5 ml 过 1 g 硅胶柱净化,用 11 ml 的正己烷-二氯甲烷(体积比为 1:1)混合液洗脱。弃去前 1 ml 洗脱液后开始收集,将收集到的洗脱液于 40 ℃ 恒温下旋转蒸发至干,再用乙腈溶解并定容至 1 ml,过 0.45 μm 有机相滤膜后上机测定。

PAHs 的测定采用荧光-紫外串联检测-高效液相色谱法(饶竹等 2007)。HPLC 为 Waters 1525,荧光检测器(Multi λ Fluorescence Detector)为 Waters 2475,紫外检测器(Dual λ Absorbance Detector)为 Waters 2487,色谱柱为 PAHs 专用色谱柱(4.6 × 250 mm 5 μm)。分析条件:以乙腈/水为流动相梯度淋洗 36 min(0 ~ 3 min 乙腈/水体积比为 60:40,3 ~ 30 min 乙腈/水体积比为 100:0,30 ~ 36 min 乙腈/水体积比为 60:40)。流速 1.00 ml · min⁻¹,进样量为 20 μl,柱温 25 ℃,16 种 PAHs 的相应测定波长见参考文献(饶竹等 2007)。以 16 种 PAHs 混合标样为外标,以保留时间和峰面积直接对照进行 PAHs 的定

性和定量。本方法对 16 种 PAHs 的测定线形较好,相关系数 *r* 值均 > 0.999,检出范围为 0.011 ~ 0.513 ng,对 16 种 PAHs 的加标回收率除 2 环的萘为 53.4% 外其余均在 75% ~ 110%。

1.4 数据统计

所获数据用 Microsoft Excel 和 SPSS 16.0 进行统计分析,利用 Duncan 新复极差检验进行差异显著性检验(α = 0.05)。

2 结果与分析

2.1 外源氨基酸对龙葵生长特性的影响

龙葵在室内盆栽条件下株高和地上部生物量发生变化(图 1、图 2)。在 Cd-PAHs 复合污染条件下,龙葵正常生长,叶片没有出现缺绿、枯黄等受胁迫症状。显然,在本实验条件下重金属及 PAHs 对植物的正常生长没有产生抑制作用。植物株高与地上部干质量对添加物的反应表现为一致的规律。与未投

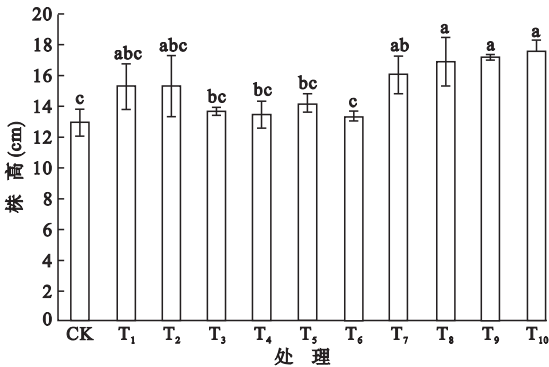


图 1 外源氨基酸对龙葵株高的影响
Fig. 1 Effects of exogenous amino acid on the height of *Solanum nigrum*
不同字母表示显著差异 (*P* < 0.05)。下同。

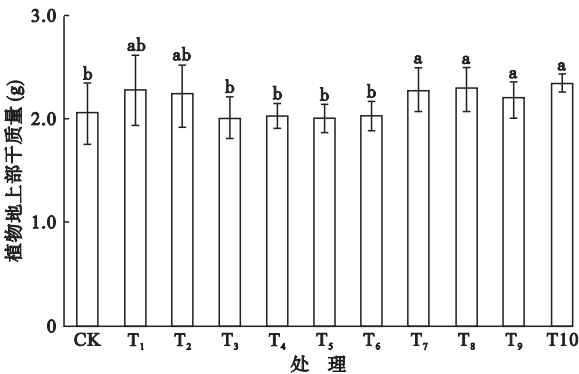


图 2 外源氨基酸对龙葵地上部干质量的影响
Fig. 2 Effects of exogenous amino acid on the shoot biomasses of *Solanum nigrum*

表 2 外源氨基酸对龙葵体内 Cd 积累量的影响
Tab.2 Effects of exogenous amino acid on Cd accumulation in *Solanum nigrum*

处理	Cd 积累量(mg · kg ⁻¹)				
	根	茎	叶	果	地上部
CK	0.41 ± 0.01 f	1.53 ± 0.18 f	3.41 ± 0.28 d	1.43 ± 0.07 cd	2.50 ± 0.02 f
T ₁	1.82 ± 0.01 b	4.29 ± 0.03 d	6.53 ± 0.19 ab	1.25 ± 0.07 d	4.01 ± 0.02 d
T ₂	1.57 ± 0.33 c	6.26 ± 0.14 c	9.51 ± 0.58 a	1.93 ± 0.12 b	4.14 ± 0.19 cd
T ₃	0.63 ± 0.04 e	8.06 ± 0.76 a	6.51 ± 0.56 ab	1.24 ± 0.03 d	4.40 ± 0.60 c
T ₄	0.44 ± 0.01 ef	6.71 ± 0.19 bc	6.46 ± 0.12 ab	1.27 ± 0.03 d	3.92 ± 0.29 d
T ₅	1.09 ± 0.06 d	2.69 ± 0.32 e	6.64 ± 0.91 ab	0.64 ± 0.03 g	3.44 ± 0.27 e
T ₆	1.19 ± 0.06 d	3.05 ± 0.67 e	7.42 ± 1.22 abc	0.89 ± 0.10 f	3.86 ± 0.16 de
T ₇	1.80 ± 0.12 b	8.24 ± 0.75 a	7.36 ± 0.60 abc	2.72 ± 0.12 a	5.33 ± 0.18 ab
T ₈	0.25 ± 0.03 f	7.22 ± 0.40 b	8.82 ± 1.38 ab	1.11 ± 0.01 e	4.59 ± 0.01 bc
T ₉	3.28 ± 0.17 a	8.41 ± 0.28 a	9.34 ± 3.71 a	1.30 ± 0.04 cd	5.65 ± 1.01 a
T ₁₀	0.38 ± 0.01 f	8.36 ± 0.57 a	5.78 ± 0.59 c	1.46 ± 0.13 c	4.91 ± 0.39 b
显著性水平(F)	175.8	92.2	4.9	198.2	17.4
P	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01	<0.01

加氨基酸的对照相比 ,半胱氨酸、甘氨酸、谷氨酸各浓度水平的单因素处理对植物株高及地上部干质量没有显著影响 ,而各复合处理均对其具有显著的促进作用。

2.2 外源氨基酸对龙葵体内吸收 Cd 的影响

由表 2 可以看出 ,各处理除叶中 Cd 含量显著性增加外 ,根、茎、果及地上部的含量增加均达到显著性水平(*P* < 0.05)。植物地上部 Cd 的累积量大于其在地下部的累积量 ,在低浓度 Cd 污染条件下仍表现出较强的提取及富集能力 ,且不同氨基酸处理能够显著增强龙葵对 Cd 提取及富集能力 ,如处理 0.3 mmol · kg⁻¹ Gly + 0.3 mmol · kg⁻¹ Glu + 0.3 mmol · kg⁻¹ Cys 使龙葵地上部 Cd 含量比对照增加了 1.26 倍。整体来看 ,不同浓度水平的复合因素处理对植物吸收重金属的促进作用优于单因素处理 ,且 3 因素处理效果优于 2 因素处理 ,说明投加 PCs 合成所需全部氨基酸时最能提高其在植物体内的生成量 ,促进了植物对 Cd 的吸收。

超富集植物是指能超量积累或同时积累几种重金属元素的植物 ,并具备临界值含量、转移及富集特征 ,其转移及富集特征主要通过转移系数及富集系数来表征。转移系数(translocation factor ,TF)是指地上部元素的含量与地下部同种元素含量的比值(Fayiga *et al.* , 2004) ,用来评价植物转运重金属的能力。转移系数越大 ,则重金属从根部向地上部器官转运能力越强(孙约兵等 2007)。对于超富集植物而言 ,其地上部重金属含量大于根部重金属含量。从表 3 可以看出 ,在低浓度 Cd-PAHs 复合污染条件下 ,各处理 TF > 1 ,龙葵对低浓度 Cd 仍然具备较强

的转移能力。富集系数(bioaccumulation factor ,BF)也称吸收系数 ,是指植物中某元素含量与土壤中元素含量之比(周启星和宋玉芳 2004) ,表征土壤-植物体系中元素迁移的难易程度 ,富集系数越高 ,表明植物地上部重金属富集质量分数越大。向土壤中投加 PCs 底物能够增强植物地上部对重金属的吸收 ,当投加 0.3 mmol · kg⁻¹ Gly + 0.3 mmol · kg⁻¹ Glu + 0.3 mmol · kg⁻¹ Cys 时 ,使植物吸收重金属的能力提高了 1.26 倍。植物修复重金属能力的大小与植物体内重金属的含量及地上部生物量有直接关系 ,通常用重金属提取率(metal extraction ratio ,MER)来表征。重金属提取率是指植物地上部积累重金属的量与土壤中同种重金属量的比值(Mertens *et al.* , 2005) ,即 :

$$MER = (C_{\text{地上部重金属}} \times M_{\text{地上部干质量}} / C_{\text{土壤中重金属}} \times M_{\text{土壤质量}}) \times 100\%$$

由表 3 可知 ,不同浓度水平的 PCs 底物的投加在很大程度上提高了龙葵对土壤中低浓度Cd的提

表 3 外源氨基酸对 Cd 的富集系数、转移系数及重金属提取率的影响
Tab.3 Effects of exogenous amino acid on translocation and bioaccumulation factors and metal extraction ratio of Cd

处理	转移系数	富集系数	重金属提取率(%)	处理	转移系数	富集系数	重金属提取率(%)
CK	6.2	3.5	1.00	T ₆	3.2	5.4	1.55
T ₁	2.2	5.6	1.80	T ₇	3.0	7.5	2.39
T ₂	2.6	5.8	1.83	T ₈	18.6	6.5	2.07
T ₃	7.0	6.2	1.75	T ₉	1.7	7.9	2.43
T ₄	8.9	5.5	1.56	T ₁₀	12.9	6.9	2.27
T ₅	3.2	4.8	1.35				

表 4 外源氨基酸对土壤中 PAHs 降解作用的影响化
Tab.4 Effects of exogenous amino acid on the degradation of PAHs in soils

处理	土壤 PAHs 含量(mg · kg ⁻¹)			
	2 ~4 环 *	5 ~6 环 * *	苯并(a)蒽	PAHs 总量
CK	0.460 ±0.023 a	0.093 ±0.008 b	0.024 ±0.000 a	0.553 ±0.021 a
T ₁	0.479 ±0.058 a	0.094 ±0.004 b	0.018 ±0.001 bc	0.573 ±0.057 a
T ₂	0.457 ±0.016 a	0.088 ±0.011 c	0.025 ±0.002 a	0.544 ±0.007 ab
T ₃	0.367 ±0.024 b	0.074 ±0.003 d	0.017 ±0.002 bc	0.438 ±0.031 b
T ₄	0.392 ±0.070 b	0.071 ±0.003 d	0.014 ±0.001 cd	0.466 ±0.090 b
T ₅	0.477 ±0.017 a	0.104 ±0.002 a	0.022 ±0.002 a	0.581 ±0.019 a
T ₆	0.395 ±0.009 b	0.094 ±0.001 b	0.022 ±0.001 a	0.489 ±0.009 b
T ₇	0.351 ±0.014 b	0.102 ±0.004 a	0.021 ±0.002 a	0.453 ±0.015 b
T ₈	0.366 ±0.009 b	0.070 ±0.002 d	0.013 ±0.003 cd	0.436 ±0.007 b
T ₉	0.290 ±0.003 c	0.073 ±0.015 d	0.016 ±0.005 bc	0.362 ±0.013 c
T ₁₀	0.416 ±0.033 ab	0.078 ±0.006 cd	0.012 ±0.003 cd	0.494 ±0.038 b
显著性水平(F)	10.6	43.7	11.5	10.1
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

* 萘、蒾、蒾烯、芴、蒾、菲、蒾蒾、蒾、苯并(a)蒾、苯并(b)蒾蒾、苯并(k)蒾蒾, ** 苯并(a)蒾、二苯并(a , h)蒾、苯并(g , h , i)蒾、茚并(1 , 2 , 3-cd)蒾。

取率,其中半胱氨酸处理使重金属提取率分别达到 1.80% 和 1.83% ,与对照相比分别提高了 0.80 和 0.83 倍。总之,在低浓度 Cd-PAHs 复合污染条件下,龙葵体内都有较高的转移系数、富集系数及重金属提取率,显示出对 Cd 较好的提取、转移和富集特征,PCs 底物的投加能够强化龙葵对土壤中 Cd 的吸收能力,加速 Cd 在土壤环境的去除速度。

2.3 外源氨基酸对土壤中 PAHs 降解的影响

由表 4 可以看出,外源氨基酸对土壤中高分子量 PAHs 降解的促进作用要高于低分子量 PAHs ,其原因可能是外源氨基酸为土壤微生物提供共代谢基质,而共代谢是高分子量 PAHs 生物降解的主要方式,此外,随着甘氨酸投加量的增加 5-6 环 PAHs 及苯并(a)蒾的降解作用相应增强,说明甘氨酸能够为高分子量 PAHs 的降解提供共代谢所需碳源。

3 讨论

自 1985 年发现植物络合素以来,许多学者对其在植物体内的合成途径及抵抗重金属胁迫机理进行了研究。研究者认为 PCs 的合成是高等植物对重金属胁迫的一种响应机制,可能具有双重作用:1)是对植物体内的重金属起解毒作用,作为鉴定植物相对抗性的指标(Rauser,1995) 2)是细胞结构和功能遭受伤害的反应,作为生物标记物指示重金属的毒害程度(Ahher *et al.* ,1994)。研究发现,PCs 能以 Cys 的巯基与重金属发生络合作用而生成 Cd-PCs 复合物,并进一步储存在液胞内,从而大大降低了 Cd 对植物的毒害作用(Kneer & Zenk,1992 ;Howden *et al.* ,1995 ;Clemens *et al.* ,1999)。本试验结果显

示,外源 PCs 合成底物能够促进植物对重金属的吸收及积累作用,且该促进作用强度受外源底物尤其是组氨酸添加量的影响,如 Ducruix 等(2006)研究发现,在高浓度 Cd 的胁迫条件下,添加 25 mmol · L⁻¹ 的甘氨酸能够抑制植物体内谷胱甘肽及 PCs 的合成水平。由表 2 也可以看出,在低浓度 Cd-PAHs 污染条件下 0.9 mmol · kg⁻¹ 的甘氨酸对植物体内谷胱甘肽及 PCs 的合成促进作用降低,表现为半胱氨酸、谷氨酸处理随添加浓度的增加植物吸收 Cd 的能力相应增加,而其余各处理均随添加浓度的升高而出现不同程度的降低。此外,孙琴等(2005)研究发现小麦根中 PCs 的诱导量与金属的吸收量和生物毒性的变化存在一致的正相关性,而本实验结果显示甘氨酸处理较其他处理显著降低了根部对重金属的吸收量,说明根部 PCs 合成受到抑制,但茎、叶、果及地上部对 Cd 的吸收并没有相应降低,其原因可能是根部吸收的 Cd 以离子形式被转运到茎后,诱导植物体在茎部产生大量 PCs,增强茎对 Cd 的吸收及储存能力,导致 Cd 在植物茎中的含量大于叶中含量。在低浓度 Cd 污染条件下,外源氨基酸的投加能够提高植物体内 PCs 的合成水平,刺激植物对重金属 Cd 的吸收,提高植物对低浓度 Cd 污染土壤的修复效率。然而,在高浓度 Cd 污染情况下,外源氨基酸能否对植物吸收重金属起促进作用需要进一步深入研究。

PAHs 在环境中是一种极为稳定的难降解物质,其降解主要依靠土壤微生物代谢活动来实现。在植物-微生物系统中,大多数植物不能直接吸收

或降解有机污染物,如表4显示,在低浓度 PAHs 污染条件下,种植龙葵并没有对该污染物的降解起促进作用。植物对有机污染物质去除作用主要通过间接途径来实现,即通过增加微生物的数量、提高微生物活性或改变微生物种群结构来加快有机污染物的降解。释放根际分泌物和酶促进根际微生物的活性和生物转化作用。Pandya 等(1999)研究发现植物根能够分泌某些氨基酸(如谷氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸),为土壤微生物提供碳源,提高根区微生物活性,促进有机污染物质的生物降解作用。植物对 PAHs 降解的促进作用主要有以下两种途径(潘声旺等,2008):1)通过根际作用增加微生物降解菌的数量;2)分泌有机物质为微生物共代谢提供基质底物。本实验结果显示,于低浓度 PAHs 污染土壤中种植龙葵并不能促进该污染物的生物降解作用,而通过添加 PCs 合成所需氨基酸时,除半胱氨酸、谷氨酸单因素处理外均对土壤中 PAHs 的降解起到一定的促进作用。其中,以甘氨酸的促进效果最为显著,且随其添加浓度的升高而相应增强,其可能原因是甘氨酸导致植物根部 PCs 合成水平的降低,致使更多有机物质滞留在根区土壤,为微生物的代谢提供丰富的碳源。

由表2和表4比较可以得出,多因素处理对龙葵修复 Cd-PAHs 污染土壤的促进作用强于单因素处理,且处理 T_9 ,即 $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{Gly} + 0.3 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{Glu} + 0.3 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{Cys}$ 对以上2种污染物质的去除效果最佳,使龙葵地上部 Cd 含量达到 $5.65 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,富集系数高达7.9,与对照相比均提高1.26倍;此时,土壤中 PAHs 的去除率达到39.3%,与对照相比提高了4.46倍。可见低浓度的 Gly + Glu + Cys 处理不仅满足了植物合成 PCs 所需底物要求,还能为土壤微生物降解 PAHs 提供所需基质底物,有望成为植物修复 Cd-PAHs 复合污染土壤高效强化剂。

参考文献

- 高彦征,凌婉婷,朱利中,等. 2005. 土壤和植物样品的多环芳烃分析方法研究. 农业环境科学学报, **24**(5): 1003-1006.
- 鲁如坤. 2000. 土壤农业化学分析方法. 北京:中国农业科学技术出版社.
- 潘声旺,魏世强,袁馨,等. 2008. 沿阶草(*Ophiopogon japonicus*)对土壤中菲的修复作用. 应用生态学报, **28**(8): 3654-3661.
- 饶竹,李松,何森,等. 2007. 高效液相色谱-荧光-紫外串联测定土壤中16种多环芳烃. 分析化学, **35**(7): 954-958.
- 宋玉芳,区自清,孙铁钊. 1995. 土壤、植物中多环芳烃

- (PAHs)分析方法研究. 应用生态学报, **6**(1): 92-96.
- 孙琴,袁信芳,王晓蓉. 2005. 环境因子对小麦体内镉的生物毒性和植物络合素合成的影响. 应用生态学报, **16**(7): 1360-1366.
- 孙约兵,周启星,任丽萍. 2007. 镉超富集植物球果蕨菜对镉-砷复合污染的反应及其吸收积累特征. 环境科学, **28**(6): 1355-1360.
- 魏树和,周启星, Pavel VK, 等. 2006. 有机污染环境植物修复技术. 生态学杂志, **25**(6): 716-721.
- 魏树和,周启星. 2004. 重金属污染土壤植物修复基本原理及强化措施探讨. 生态学杂志, **23**(1): 65-72.
- 周启星,宋玉芳. 2004. 污染土壤修复原理与方法. 北京:科学出版社.
- Ahner BA, Price NM, Moral FMM, et al. 1994. Phytochelatin production by marine phytoplankton at low free metal ion concentration: Laboratory studies and field data from Massachusetts Bay. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **91**: 8433-8436.
- Brooks RR, Chambers MF, Nickls LJ, et al. 1998. Phytomining. *Trends in Plant Science*, **3**: 359-362.
- Channy RL, Malik M, Li YM. 1997. Phytoremediation of soil metals. *Current Opinions in Biotechnology*, **8**: 279-284.
- Clemens S, Kim EJ, Neumann D, et al. 1999. Tolerance to toxic metals by a gene family of phytochelatin synthases from plants and yeast. *European Molecular Biology Organization Journal*, **18**: 3325-3330.
- Ducruix C, Junot C, Fiévet JB, et al. 2006. New insights into the regulation of phytochelatin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* cells from metabolite profiling analyses. *Biochimie*, **88**: 1733-1742.
- Fayiga AQ, Ma LQ, Cao XD, et al. 2004. Effects of heavy metals on growth and arsenic accumulation in the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. *Environmental Pollution*, **132**: 289-296.
- Howden R, Goldsbrough PB, Anderson CR, et al. 1995. Cadmium-sensitive, cadl mutants of *Arabidopsis thaliana* are phytochelatin-deficient. *Plant Physiology*, **107**: 1059-1066.
- Kneer R, Zenk MH. 1992. Phytochelatin protect plant enzymes from heavy metal poisoning. *Phytochemistry*, **31**: 2663-2667.
- Mertens J, Luyssaert S, Verheyen K. 2005. Use and abuse of trace metal concentrations in plants tissue for biomonitoring and phytoextraction. *Environmental Pollution*, **138**: 1-4.
- Pandya S, Iyer P, Gaitonde V, et al. 1999. Chemotaxis of *Rhizobium* sp. S2 towards *Cajanus cajan* root exudates and its major components. *Current Microbiology*, **38**: 205-209.
- Paton GI, Viventsova E, Kumpene J, et al. 2006. An ecotoxicity assessment of contaminated forest soils from the Kola Peninsula. *Science of the Total Environment*, **355**: 106-117.
- Rausser WE. 1995. Phytochelatin and related peptides. *Plant Physiology*, **109**: 1141-1149.
- Schill RO, Görlitz H, Köhler HR. 2003. Laboratory simulation of a mining accident: Acute toxicity hsc/hsp 70 response, and recovery from stress in *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda) exposed to a pulse of cadmium. *Biomaterials*, **16**: 391-401.
- Wei SH, Zhou QX. 2004. Identification of weed species with hyperaccumulative characteristics of heavy metals. *Progress in Natural Science*, **14**: 495-503.

作者简介 杨传杰,女,1981年生,硕士研究生。主要从事污染土壤的植物修复研究,发表论文4篇。E-mail: jianjian-jiao1003@163.com
责任编辑 魏中青