

DOI: 10.13671/j.hjkxxb.2016.0124

杨丹丹, 杨丽雯, 张永清, 等. 2016. 2,6-二甲基- β -环糊精螯合强化菎草对 Pb 吸收的影响和机理[J]. 环境科学学报, 36(9): 3346-3353

Yang D D, Yang L W, Zhang Y Q, et al. 2016. Effect and mechanism of 2,6-Demethyl- β -Cyclodextrin on chelate-induced humulus towards lead accumulation[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 36(9): 3346-3353

2,6-二甲基- β -环糊精螯合强化菎草对 Pb 吸收的影响和机理

杨丹丹¹, 杨丽雯^{1,2,*}, 张永清¹, 甄霞¹, 张滋芳³, 王淑琴¹, 李雅¹

1. 山西师范大学地理科学学院, 临汾 041000

2. 山西大学生命学院, 太原 030006

3. 山西师范大学生命科学学院, 临汾 030006

收稿日期: 2016-01-11

修回日期: 2016-03-23

录用日期: 2016-03-24

摘要: 采用盆栽试验研究了 EDTA、2,6-二甲基- β -环糊精对 Pb 污染土壤上菎草生长及 Pb 积累特性的影响。土壤中硝酸铅含量分别为 0、600 和 1200 mg·kg⁻¹, 螯合剂的含量为硝酸铅含量的 0.5 倍和 1.0 倍。结果表明: EDTA 和 2,6-二甲基- β -环糊精对 Pb 离子均有显著增溶作用, 且二者之间没有差异; EDTA 对菎草的生长有轻微抑制作用, 而 2,6-二甲基- β -环糊精与对照没有差异, 原因可能是形成了 Pb-2,6-二甲基- β -环糊精络合物降低了 Pb 的毒性; EDTA 和 2,6-二甲基- β -环糊精都显著促进了菎草根、茎、叶部对 Pb 离子的吸收。EDTA 处理的菎草在硝酸铅含量为 600 mg·kg⁻¹, 螯合剂浓度为 0.9 mmol·L⁻¹ 时, 转移率达到最大值 1.34, 而 2,6-二甲基- β -环糊精的转移率最大值为 0.36。虽然 2,6-二甲基- β -环糊精的转移率较低, 但由于菎草的生物量大, 2,6-二甲基- β -环糊精可以作为菎草提取修复的一种新型螯合剂, 菎草也可用作植物提取修复的参考植物。由于 2,6-二甲基- β -环糊精具有独特的“内疏水, 外亲水”结构, 推测其促进菎草吸收转移 Pb 的机理可能是会以 Pb-2,6-二甲基- β -环糊精络合物的溶解物形式在菎草的质体通道中移动, 进入木质部, 最终通过蒸腾流的驱动转运至地上部。

关键词: 2,6-二甲基- β -环糊精; EDTA; 菎草; Pb 污染

文章编号: 0253-2468(2016)09-3346-08

中图分类号: X53

文献标识码: A

Effect and mechanism of 2,6-Demethyl- β -Cyclodextrin on chelate-induced humulus towards lead accumulation

YANG Dandan¹, YANG Liwen^{1,2,*}, ZHANG Yongqing¹, ZHEN Xia¹, ZHANG Zifang³, WANG Shuqin¹, LI Ya¹

1. College of Geographical Science, Shanxi Normal University, Linfen 041000

2. College of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006

3. College of Life Sciences, Shanxi Normal University, Linfen 041000

Received 11 January 2016;

received in revised form 23 March 2016;

accepted 24 March 2016

Abstract: Pot experiment was performed to study the influences of EDTA and 2,6-Demethyl- β -Cyclodextrin on the pollutant accumulation and the growth of *H. scandens* in the Pb polluted soils. In our experiment, soil was spiked with Pb(NO₃)₂ concentrations of 0, 600 and 1200 mg·kg⁻¹, and chelates (EDTA and DM- β -CD) were prepared at 1:1 and 0.5:1 ratios with the metal. The results revealed that EDTA and DM- β -CD were both efficient in bringing Pb into solution without significant difference. EDTA applications affected *H. scandens*'s growth slightly, while no significant reduction in dry matter production appeared after the DM- β -CD addition. The reason may be that the formation of Pb-DM- β -CD reduced the toxicity of lead. EDTA and DM- β -CD both significantly increased Pb concentration in roots, stems and leaves of *H. scandens*. The translocation factor (TF) value reached maximum (1.34) when soil Pb(NO₃)₂ concentration was 600 mg·kg⁻¹ and EDTA at 0.9 mmol·L⁻¹; while that of DM- β -CD application was 0.36. Although the TF rate of DM- β -CD was less than that of EDTA, we could still use DM- β -CD for phytoextraction purposes because of the high biomass of *H. scandens*. The results showed that highly biodegradable and non-toxic DM- β -CD can be a good chelant to enhance the phytoextraction of Pb. DM- β -CD has special molecular cavity structure of exo-hydrophilicity and endo-hydrophobicity. The mechanism of DM- β -CD enhancing the phytoextraction of Pb is that the solubilized Pb-DM- β -CD complex is transported through the apoplast channel of *H. scandens*, into the xylem, and finally via transpiration steam

基金项目: 国家自然科学基金(No.31571604)

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No.31571604)

作者简介: 杨丹丹(1991—), 女, E-mail: 1193852547@qq.com; * 通讯作者(责任作者), E-mail: beautifulife2133@163.com

Biography: YANG Dandan(1991—), female, E-mail: 1193852547@qq.com; * **Corresponding author**, E-mail: beautifulife2133@163.com

accumulates in the overground parts.

Keywords: 2,6-Demethyl- β -Cyclodextrin; EDTA; *Humulus scandens* (Lour.) Merr.; lead pollution

1 引言(Introduction)

随着工矿业的发展及农药的滥用,大量外源重金属进入土壤,造成严重的土壤重金属污染,其中,铅是主要的污染物(尹雪等,2014).我国土壤 Pb 含量最高可达 $1143 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,最低为 $0.68 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,平均可达 $26 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (洪春来等,2010),铅污染现状非常严重.土壤中的 Pb 污染不仅会降低农作物的质量和产量,而且还能通过食物链或直接通过人的口部进入体内,影响神经、造血、消化、泌尿、生殖和发育、心血管、内分泌、免疫、骨骼等各类系统和器官,对人类健康构成威胁(崔岩山等,2010).因此,修复与防治土壤中的重金属 Pb 污染刻不容缓.

目前,理论上和技术上可行的重金属污染土壤修复技术主要有物理修复、化学修复、微生物修复和植物修复等(王显海等,2006).其中,植物修复技术因具有修复成本较低、治理效果永久、应用面积大、环境美学价值高、有利于改善生态环境等优势受到更多的关注(周启星等,2004).植物修复技术主要包括植物稳定、植物提取和植物挥发 3 种方法.其中,植物提取是目前研究较多的方法,是指利用植物将重金属从根部运转到地上部,富集在生物量大、积累能力强的植物的茎和叶之中,然后将植物地上部收获并集中处理,以降低土壤中的重金属含量(Salt *et al.*, 1998).Pb 在土壤中的存在形态常以可交换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态、有机物硫化物结合态和残渣态等 5 种形式存在(Tessier *et al.*, 1979),Pb 很容易被土壤胶体吸附,植物可获得性很低.目前仅发现了 5 种 Pb 超积累植物,包括圆叶遏蓝菜(*Thlaspi. Rotundifolium*)、十字花科植物 *Biscutella laevigata*、石竹科植物 *Minuartia vema*、*Brassica pekinensis* 和东南景天(*Sedum alfredii Hance*)等.但这些植物中大多生物量小,且生长缓慢,极大地限制了它们在修复 Pb 污染土壤方面的应用(Xiong *et al.*, 1997;叶海波等,2003).

螯合剂能够增加土壤中重金属 Pb 溶解度,促进重金属 Pb 从根部向地上部运转,形成复杂的稳定的螯合物,因此向土壤中施加螯合剂有助于植物对 Pb 的吸收(王红新等,2011).近年来,人们对多

种多羧基氨基酸的修复效果进行了研究,如 EDTA、EGTA、HEDTA、EDDS、DTPA、NTA 等,结果表明,这些人工螯合剂可以有效增加土壤中重金属的溶解性,提高植物对土壤中重金属的提取效率(李玉红等,2002;Shen *et al.*, 2002).但由于螯合剂与金属的作用,土壤水溶态金属大量增加,容易发生淋洗作用,同时,大多数人工螯合剂本身不会自动降解,会抑制植物生长,破坏土壤结构和微生物群落(Epelde *et al.*, 2008).到目前为止,在这些多羧基氨基酸类螯合剂中,EDTA 是应用最为广泛,同时也是效果较好的一种螯合剂,添加 EDTA 能够明显促进土壤中重金属尤其是 Pb 的溶解以及在植物地上部分的积累(Shen *et al.*, 2002;Huang *et al.*, 1997).但 EDTA 及其复合物在土壤中持续时间长、生物毒性大(张玉秀等,2009).

β -环糊精(简称 β -CD)及其衍生物具有独特的分子空腔结构,腔内侧具有疏水性,外腔呈亲水性(郑建斌等,2005).正是由于其“内疏水,外亲水”的结构使得与其接触的污染物之间形成一种主-客体包合物,且 Pb 可以与脱质子化的环糊精形成多核和单核的复合物(梅征等,2012;Norkus *et al.*, 2009). β -环糊精在水中比较容易结晶,溶解度比较低,在 25 °C(室温)水中溶解度为 1.85%(李效红等,2010).Zhou 等(2007)研究表明,由于 β -环糊精单元的疏水空腔结构,其可以用于吸附环境污染中的重金属离子;Ehsana 等(2007)报道了 β -环糊精与 EDTA 联合作用可以去除土壤中的镉、铬、铜、铅和锌等多种重金属离子;Sharma 等(2010)也提出 β -环糊精可以吸附水相中的 Pb,是吸附重金属离子良好的材料.由于 β -环糊精本身溶解度小,为了增强使用效果,常把它的某些基团进行修饰,得到水溶性较大的环糊精衍生物(谢凝子等,2009).2,6-二甲基- β -环糊精(2,6-Demethyl- β -Cyclodextrin,简称 2,6-DM- β -CD,或 DM- β -CD 或 DIMEB)是 β -环糊精的一种衍生物,有非常高的水溶解度,室温下水中溶解度达到 $0.55 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$.预测其对重金属治理的效果会更好,而目前关于 2,6-二甲基的研究甚少,主要在促进百日咳杆菌的产生、尼索地平对映体的手性分离、影响 OS 双重荧光光谱等方面(杨芬等,2008;李

士敏等,2010).

在筛选螯合剂强化植物提取时,应对那些叶部位置生物量较大的植物给予更多的关注(王开爽等,2014).葎草(*Humulus scandens* (Lour.) Merr.)为桑科葎草属植物,生物量大,并且能够忍受不良土体和气候状况.近年来,人们对葎草的研究主要集中在其化学成分、药用成分、遗传育种等生理生化方面,同时也偶见葎草在水分、增温胁迫下具有性别差异的文献(Koelling *et al.*, 2012; 刘金平等, 2013).但将葎草用作重金属污染土壤的修复尚未见报道.

本研究通过盆栽试验,揭示 2,6-二甲基- β -环糊精强化葎草提取 Pb 的作用和机理,研究 EDTA 和 2,6-二甲基- β -环糊精螯合强化效果的差异,旨在为 Pb 污染土壤修复提供一种新型螯合剂,并为有效开展重金属污染植物修复提供科学依据.

表 1 供试土壤基本理化性质

Table 1 Basic physical and chemical properties of the tested soil

有机质/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	pH(H_2O)	速效磷/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	速效钾/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	全 N/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Pb 背景值/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
18.64	8.03	19.55	339.58	1.12	29.0

2.2 植物培养

葎草种子于 2013 年 9 月采自中国汾河沿岸.2014 年 2 月,将种子撒播于萌发盘中,盖上一层塑料薄膜以保持土壤水分,然后放于光照培养箱内,条件为:12 h 白天,12 h 黑夜,温度 25 $^{\circ}\text{C}$ /18 $^{\circ}\text{C}$ (白天/黑夜),相对湿度 60%.当种子萌发后,长到大约 2 cm 高时,移植至塑料小盆内(直径 8 cm,高 8 cm),每盆一株小苗,每天浇一次霍格兰营养液 15 mL,在温室大棚内培养 2 周,直至株高 10~15 cm;最后幼苗被移植至 Pb 污染土壤中,每盆(直径 12 cm,盆高 12 cm)装烘干的污染土壤 0.5 kg,硝酸铅污染剂量分别为 0、600 和 1200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (以 Pb 计).

2.3 土壤染毒

土壤放于清洁塑料布上,用喷壶喷洒硝酸铅溶液,一边喷洒一边轻轻翻动,直至混合均匀,土壤中硝酸铅含量为 600 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 1200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (分别记作 Pb600 和 Pb1200),将土壤放于较大的瓷盘内,每天翻动两次,持续 3 周,以保证土壤污染程度均匀.

2.4 盆栽试验

螯合剂种类:①无螯合剂(CK);②EDTA;③2,6-二甲基- β -环糊精;所有药品均购买于天津精细化工有限公司,药品纯度 99.5%.

螯合剂剂量:硝酸铅含量为 600 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,

2 材料与方法(Materials and methods)

2.1 土壤采集和基本理化性质

土壤采自山西襄汾农业生态园.采集后,放于空气中自然晾干,然后过 2 mm 和 0.154 mm 的土壤筛并测定 pH 值、速效 P、速效 K 和全氮(鲍士旦等,2000)(表 1).土壤水溶态 Pb 含量采用原子吸收法测定.取过 2 mm 土壤筛的土壤 1 g,加 15 mL 硝酸和 10 mL 高氯酸消煮 48 h,直到消解液温度达到 190 $^{\circ}\text{C}$ 以上,将消解液过滤然后取上清溶液,在原子吸收仪火焰模式下检测(German Jena novAA 400).取过 0.154 mm 土壤筛的土壤 5 g 放入离心管中,加入 25 mL 超纯水,在 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的转速下旋转 16 h,然后过滤取上清溶液,在原子吸收仪火焰模式下检测水溶态 Pb(German Jena novAA400).

EDTA 和 2,6-二甲基- β -环糊精浓度分别为 0.9 和 1.8 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,而硝酸铅含量为 1200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,EDTA 和 2,6-二甲基- β -环糊精浓度分别为 1.8 和 3.6 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$.

盆栽试验步骤:每个塑料盆(直径 12 cm,盆高 12 cm)装烘干的土壤 0.5 kg,土壤 Pb 含量分别为 0、600 和 1200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,接着植物被移植并培养在盆中.植物生长 7 d 后,将相应浓度的 EDTA 和 2,6-二甲基- β -环糊精溶液一次性施加在土壤表面,1 周后,收获植物.植物放于温室内培养,使用自然的光照和温度,每种处理 3 个重复.每个花盆地下放置一个 100 mL 的托盘,将渗漏的溶液倒回各自花盆中,以防止交叉污染.

2.5 植物收获和处理

植物培养 15 d 后收割,用流动的水冲洗、去除根部泥土,再用超纯水冲洗 3 遍,之后植物被分成根、茎、叶 3 部分,分别放于烘箱内,75 $^{\circ}\text{C}$ 烘 48 h,最后研磨.取植物样品 0.5 g,用 15 mL 硝酸和 10 mL 高氯酸消煮 48 h,然后在原子吸收仪火焰模式下检测(German Jena novAA400).每个样品 3 个重复.

2.6 转移率

转移率(TF)表示植物体内重金属从根部向地上部的转移,计算公式为:

$$TF = CL/CR$$

式中,CL 表示植物茎、叶部的重金属含量,CR 表示根部的重金属含量。

2.7 数据处理

使用 SPSS18.0 进行数据处理,用 Duncan 法进行差异显著性检验.所有的数据至少是 3 个重复处理数据的平均值,数据的显著性是 $p < 0.05$.

3 结果与讨论 (Results and discussion)

3.1 EDTA 和 2,6-二甲基-β-环糊精对土壤水溶态 Pb 含量的影响

当土壤中硝酸铅含量为 $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,EDTA、2,6-二甲基-β-环糊精处理的植物水溶态 Pb 含量分别是对照 (CK) 的 1.50、1.42 倍;而当硝酸铅含量为 $1200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,EDTA 和 2,6-二甲基-β-环糊精处理的植物水溶态 Pb 含量分别是 CK 的 1.51、1.38 倍.两种螯合剂处理与对照均存在显著性差异 ($p < 0.05$),但 EDTA 和 2,6-二甲基-β-环糊精两种螯合剂处理之间不存在显著差异 ($p > 0.05$),说明二者对 Pb 离子均有显著的增溶作用(图 1)。

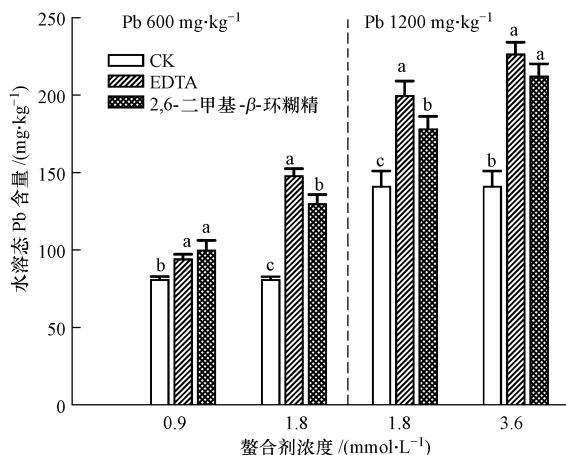


图 1 螯合剂对土壤水溶态 Pb 的影响(不同字母表示不同处理间差异显著($p < 0.05$),下同)

Fig.1 Effects of EDTA and 2,6-DM-β-CD treatments on water soluble Pb in soil

EDTA 对 Pb 离子的增溶效果较前人的研究结果偏低,原因可能与土壤的 pH 值、螯合剂处理浓度有关(Saifullah *et al.*, 2010).本研究供试土壤 pH 值为 8.03,而土壤 pH 值是影响土壤重金属活性的最重要因素之一,一般可溶性 Pb 在酸性土壤中含量较高.随着土壤 pH 值的升高,大部分微量元素通常会发生吸附作用或形成络合物,土壤对重金属的吸附量增加,会影响有效态 Pb 含量(韩少华等,

2011).另外,土壤的 pH 值会影响土壤胶体的荷电.一般认为,在酸性条件下土壤胶体带正电,在碱性条件下带负电,pH 值的改变会影响土壤胶体的电荷密度,导致其对金属离子的吸附能力的变化(任理想,2008).研究表明,随着 EDTA 浓度的增加,土壤中 Pb 可溶态重金属的含量占总重金属含量的比例呈线性提高,本研究结果偏低可能还与试验处理中螯合剂浓度偏低有关.此外,还有研究表明,EDTA/Pb 的摩尔比在 1.5~2.5 时,EDTA 对土壤中 Pb 的溶解度最大,而本研究中螯合剂与 Pb 的摩尔比分别为 0.5 和 1,这也是造成结果偏低的原因之一(Zhou *et al.*, 2007)。

金属螯合物的稳定性越高,螯合剂增溶的效果越好(李玉红等,2002).Pb-EDTA 复合物稳定常数较高($\log K = 17.9$),因此,EDTA 提高 Pb 的溶解能力高于其他螯合剂(Wu *et al.*, 2004).而 Pb-β-环糊精这种复杂的螯合物的稳定常数为 $\log K = 15.9 \pm 0.3$,因此,2,6-二甲基-β-环糊精对 Pb 离子的溶解能力也较高(Norkus *et al.*, 2009).而 EDTA 和 2,6-二甲基-β-环糊精增溶 Pb 的能力没有显著差别的原因推测可能和 EDTA 与土壤中多数阳离子(如 Cd、Cu、Zn 等)的结合能力高于 2,6-二甲基-β-环糊精有关,由于金属阳离子的竞争作用导致 EDTA 对 Pb 的溶解性降低(Do *et al.*, 2006).2,6-二甲基-β-环糊精在室温水中溶解度为 $0.55 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,显著高于 EDTA ($0.108 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$),但 EDTA 属于人工多羧基氨基酸,对 Pb 的螯合能力强,螯合作用持续效果好,提取效果明显(张玉秀等,2009).而 2,6-二甲基-β-环糊精属于能溶于水的生物可降解材料,降解速度非常快,这是二者对 Pb 的增溶效果没有显著差别的另一原因。

3.2 EDTA 和 2,6-二甲基-β-环糊精对菘草生物量的影响

当土壤中硝酸铅含量为 $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,EDTA、2,6-二甲基-β-环糊精对菘草根、茎、叶 3 部分的干重影响与 CK 均没有差异,说明在 $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的情况下,EDTA 和 2,6-二甲基-β-环糊精对菘草没有明显的毒害作用.但当硝酸铅含量为 $1200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,EDTA 对菘草的生长有轻微抑制作用,在菘草生长过程中,观察到菘草叶片有些发黄、卷曲和萎蔫,但整个培育过程中叶片没有凋落,茎部没有受害状况,菘草的根部颜色变深,看上去有点灰黑色.不施加硝酸铅时,CK 和 2,6-二甲基-β-环糊精影响下的

蕈草生物量显著大于 EDTA。

当硝酸铅含量为 $1200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 螯合剂浓度为 $3.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 蕈草整株生物量依次为 2,6-二甲基- β -环糊精 > CK > EDTA, 且 EDTA 与 2,6-二甲基- β -环糊精、CK 均有差异 (图 2), 说明 EDTA 抑制了蕈草的生长, 这与前人研究结果相一致 (王静雯等, 2013; 李剑敏等, 2007; 朱宇林等, 2012; 王红新等, 2011)。蕈草受害的原因一方面可能是高浓度 Pb 离子在 EDTA 活化下有效性增强, 土壤中 Pb 离子过多, 会使植物叶绿体内蛋白质合成受到破坏, 导致叶绿体分解, 蕈草叶部出现发黄、萎焉; 另一方面也可能是高浓度 EDTA 有些不能与 Pb 络合, 游离态 EDTA 比螯合态 Pb-EDTA 更具有生物毒性 (王静雯等, 2013; Xiong *et al.*, 1997; Vassil *et al.*, 1998; 陈亚华等, 2005)。2,6-二甲基- β -环糊精影响下的蕈草生长正常的原因可能是 2,6-二甲基- β -环糊精作为一种无毒无害材料, 因其“内疏水, 外亲水”的活性仲羧基团使得与其接触的重金属 Pb 离子之间形成一种主-客体包合物, 降低了 Pb 离子的毒性。

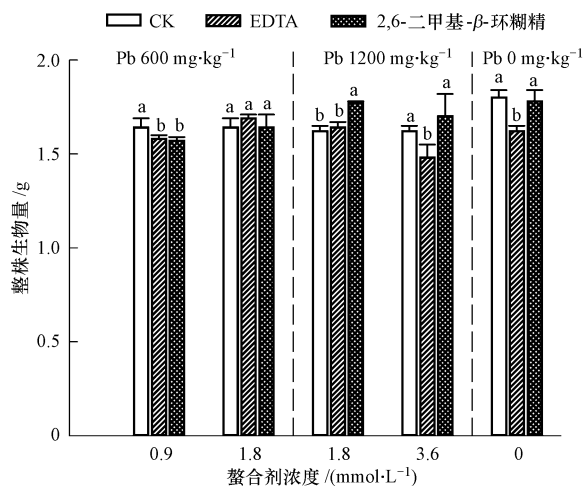


图 2 螯合剂对蕈草生物量的影响

Fig.2 Effects of EDTA and 2,6-DM- β -CD on the whole plant biomass of *H. scandens*

3.3 EDTA 和 2,6-二甲基- β -环糊精对蕈草 Pb 含量的影响

由图 3a 可知, 与对照相比, 当土壤中硝酸铅含量为 $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, EDTA 和 2,6-二甲基- β -环糊精浓度为 $0.9 \sim 1.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 蕈草根部分 Pb 含量分别是对照的 1.06~1.74 倍、2.94~3.40 倍。而在两种螯合剂同样浓度情况下, 蕈草茎部 Pb 含量分别是对照的 7.37~8.93 倍、2.10~3.01 倍。同样, 叶部 Pb 含量分别是对照的 10.71~15.28 倍、2.61~3.61 倍。

由图 3b 可知, 和对照相比, 当硝酸铅含量为 $1200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, EDTA 和 2,6-二甲基- β -环糊精浓度为 $1.8 \sim 3.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 蕈草根部分 Pb 含量分别是对照的 2.26~3.62 倍、3.44~3.85 倍。而在两种螯合剂同样剂量情况下, 茎部 Pb 含量分别是对照的 8.79~11.18 倍、3.13~6.54 倍。同样, 叶部 Pb 含量分别是对照的 22.23~24.48 倍、5.18~6.11 倍。

螯合剂浓度和蕈草根、茎、叶部 Pb 离子的含量呈正相关。土壤污染浓度与土壤中水溶态 Pb 含量亦具有正相关性, 蕈草吸收 Pb 离子的能力也随之增加。 $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Pb 处理中螯合剂浓度是土壤 Pb 浓度的 1 倍 ($1.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 时蕈草根、茎、叶各部 Pb 含量高于螯合剂浓度是 0.5 倍 ($0.9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 时的 Pb 含量, $1200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时也一样。研究表明, 土壤溶液中较高的 Pb 与螯合剂的比值有利于植物吸收和累积更多的 Pb, 因为在螯合剂浓度一定时, 较高的土壤全量 Pb 能使更多的 Pb 与螯合剂络合生成 Pb-螯合物, 被植物吸收 (Epstein *et al.*, 1999)。

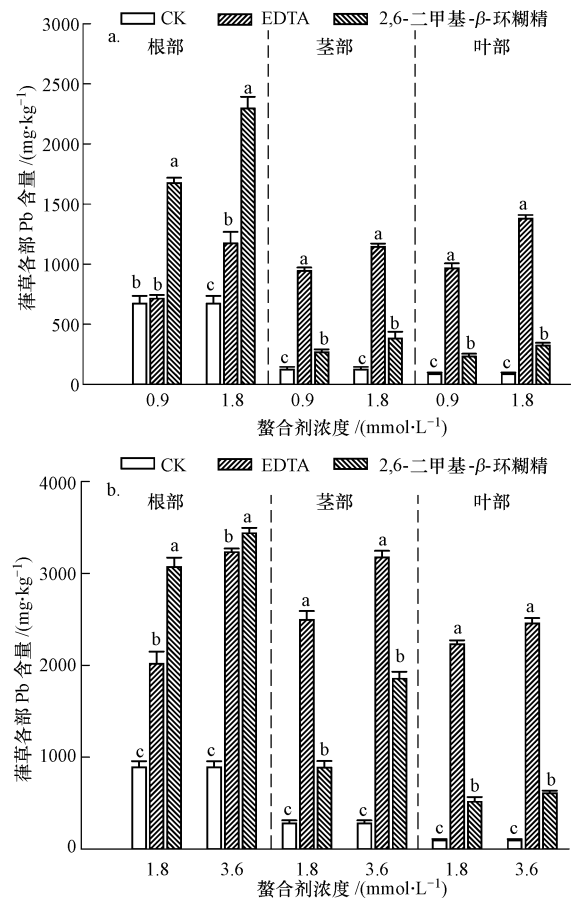


图 3 螯合剂对蕈草体内 Pb 含量的影响 (a. Pb $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, b. Pb $1200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

Fig.3 Effects of EDTA and 2,6-DM- β -CD on content of Pb in the various organs of *H. scandens*

当不施加螯合剂时,无论硝酸铅含量是 $600 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 还是 $1200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,菎草体内 Pb 含量大小顺序为根>茎>叶.这可能源于:在细胞外壁,Pb 被固定在细胞壁的离子交换位置上,主要以 Pb 的碳酸盐形式存在,Pb 不仅与土壤之间有较强的共价键,也与植物组织形成较强的共价键 (Huang *et al.*, 1997).因为木质部细胞壁具有较强的阳离子交换量,那么金属离子的向上运动就会被严重的阻碍 (Salt *et al.*, 1998).施加螯合剂之后,不仅促进了菎草根吸收更多的 Pb,而且促进了 Pb 向植物地上部转移.2,6-二甲基-β-环糊精、EDTA 促进了 Pb 从土壤表面的解吸作用的发生,增加了土壤溶液中的 Pb 离子浓度,进一步通过木质部,Pb 离子由根部向地上部转移 (Huang *et al.*, 1997).实际上,2,6-二甲基-β-环糊精和 EDTA 有效提高了污染土壤中 Pb 的生物可获得性,并且络合形成 Pb-2,6-二甲基-β-环糊精、Pb-EDTA.因此,Pb 能够被快速吸收和轻松转移 (Vassil *et al.*, 1998).

本研究中 EDTA 促进植物吸收累积 Pb 的效果低于其他研究者 (陈亚华等, 2005; 王红新等, 2011; 祁由菊等, 2008; 杨明琰等, 2014). Saifullah 等 (2010) 认为不同的研究结果可能源于土壤类型、螯合剂的浓度、施加螯合剂的时间和植物种类. Evangelou 等 (2007) 也认为 EDTA 促进植物吸收累积重金属的效果取决于所研究的植物种类和重金

属种类.

3.4 EDTA 和 2,6-二甲基-β-环糊精对菎草体内 Pb 转移率的影响

当土壤中硝酸铅含量为 $600 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,EDTA 的转移率为 1.209,2,6-二甲基-β-环糊精的转移率为 0.153,CK 的转移率为 0.163,且 EDTA 和 2,6-二甲基-β-环糊精、CK 均存在显著性差异,2,6-二甲基-β-环糊精和 CK 之间不存在显著差异 (表 2).当硝酸铅含量为 $1200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,EDTA 的转移率为 1.023,2,6-二甲基-β-环糊精的转移率为 0.294,CK 的转移率为 0.216,EDTA 和 2,6-二甲基-β-环糊精、CK 均存在显著性差异,2,6-二甲基-β-环糊精和 CK 之间的差异不明显.说明螯合剂 EDTA 能很好地促进植物根部 Pb 离子向植物地上部的转移,而螯合剂 2,6-二甲基-β-环糊精对植物体内 Pb 离子转移率的影响非常小.

当不施加螯合剂时,菎草的富集系数为 0.26~0.33,而非富集型植物的富集系数一般低于 0.04 (叶海波等, 2003).因此,菎草对 Pb 具有一定的耐性,虽未达到超积累的定义,但吸收 Pb 的效果远好于其他普通植物,具有富集 Pb 的能力.施加 2,6-二甲基-β-环糊精和 EDTA 后,菎草对 Pb 的富集系数均显著高于对照 CK,说明两种螯合剂处理均可显著提高菎草对 Pb 的富集能力.

表 2 螯合剂对菎草体内 Pb 转移率的影响

Table 2 Effects of EDTA and 2,6-DM-β-CD on translocation of Pb in *H. scandens*

Pb 处理/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	螯合剂	螯合剂浓度/ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	转移率 TF	富集系数 EC	Pb 处理/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	螯合剂	螯合剂浓度/ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	转移率 TF	富集系数 EC
600	EDTA	0.9	1.339 ^a	0.65 ^a	1200	EDTA	1.8	1.175 ^a	1.54 ^a
	2,6-DM-β-CD	0.9	0.151 ^b	0.49 ^a		2,6-DM-β-CD	1.8	0.229 ^b	1.26 ^b
	EDTA	1.8	1.080 ^a	0.95 ^a		EDTA	3.6	0.871 ^a	1.17 ^a
	2,6-DM-β-CD	1.8	0.155 ^b	0.68 ^b		2,6-DM-β-CD	3.6	0.359 ^b	1.08 ^a
	CK	0	0.163 ^b	0.26 ^c		CK	0	0.216 ^b	0.33 ^c

金属的生物可获得性和金属从植物根部向地上部的转移是植物修复成功与否的两个主要的影响因素 (Carlos *et al.*, 2001).通常,当转移率大于 1 时,该种植物适合于用作植物提取修复的参考植物,如果转移率小于 1,那么更适合用于植物稳定修复的参考植物 (Fitz *et al.*, 2002).EDTA 对菎草体内 Pb 的转移率大于 1 (表 2),这与前人的研究结果相一致 (王红新等, 2011; 祁由菊等, 2008; 李剑敏等, 2007; 朱宇林等, 2012).说明 EDTA 有助于铅从植物

地下部分向地上部分转运,表明菎草可用于螯合辅助植物提取方式的污染土壤修复.这可能与 EDTA 破坏根系控制离子跨膜运输的生理机制有关,Pb-EDTA 螯合体可能通过根系内皮层和凯氏带的裂缝处而吸收,并通过木质部运输,在蒸腾流的驱动下积累于地上部 (Vassil *et al.*, 1998; Bell *et al.*, 2003 朱宇林等, 2012).研究认为,2,6-二甲基-β-环糊精促进菎草体内 Pb 转移的机理与 EDTA 一致,而 2,6-二甲基-β-环糊精对菎草体内 Pb 的转移率较低,原因

可能与其本身易降解有关。

4 结论 (Conclusions)

1) 2,6-二甲基- β -环糊精能够显著提高菎草吸收和积累 Pb 含量,并且对其生长无显著抑制作用。与 EDTA 相比,2,6-二甲基- β -环糊精螯合强化下菎草的 Pb 转移率较低,然而由于菎草具有庞大的生物量,且对 Pb 具有一定的耐性,吸收 Pb 的效果优于其他普通植物。此外,考虑到 EDTA 对环境的负面影响,高度可生物降解的无毒的 2,6-二甲基- β -环糊精可以作为土壤污染植物修复的一种参考螯合剂。菎草也能够用于螯合剂强化修复土壤 Pb 污染。

2) 2,6-二甲基- β -环糊精能够明显增溶土壤中的 Pb,提高土壤溶液中 Pb 含量,形成 Pb-2,6-二甲基- β -环糊精络合物。由于 2,6-二甲基- β -环糊精具有“内疏水,外亲水”的特殊结构,推测 Pb 可能会以 Pb-2,6-二甲基- β -环糊精螯合物的形式通过菎草的质外体通道进入木质部,并通过蒸腾流的驱动转运至菎草地上部,积累在叶片中。

责任作者简介: 杨丽雯 (1978—), 女, 副教授, 理学博士, 硕士生导师, 主要从事矿区植被恢复和土壤重金属修复方面的研究。

参考文献 (References)

鲍士旦. 2000. 土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业科技出版社

Bell P F, McLaughlin M J, Cozens G, *et al.* 2003. Plant uptake of ^{14}C -EDTA, ^{14}C -Citrate, and ^{14}C -Histidine from chelator-buffered and conventional hydroponic solution [J]. *Plant and Soil*, 253: 311-319

Carlos G, Itzia A. 2001. Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment [J]. *Bioresource Technology*, 77: 229-236

陈亚华, 沈振国, 宗良纲. 2005. EDTA 对 2 种芥菜型油菜幼苗富集 Pb 的效应 [J]. *环境科学研究*, 18(1): 67-70

崔岩山, 陈晓晨, 付瑾. 2010. 污染土壤中铅、砷的生物可给性研究进展 [J]. *生态环境学报*, 19(2): 480-486

Do Nascimento C W A, Amarasiriwardena D, Xing B. 2006. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil [J]. *Environ Pollut*, 140(1): 114-123

Ehsan S, Prasher S O, Marshall W D. 2007. Simultaneous mobilization of heavy metals and polychlorinated biphenyl (PCB) compounds from soil with cyclodextrin and EDTA in admixture [J]. *Chemosphere*, 68(1): 150-158

Epelde L, Hernandez-Allica J, Becerril J M, *et al.* 2008. Effects of chelates on plants and soil microbial community: Comparison of EDTA and EDDS for lead phytoextraction [J]. *Sci Total Environ*, 401(1/3):

21-28

Epstein A L, Gussman C D, Blaylock M J, *et al.* 1999. EDTA and Pb-EDTA accumulation in *Brassica juncea* grown in Pb-amended soil [J]. *Plant and Soil*, 208(1): 87-94

Evangelou M W H, Ebel M, Schaffer A. 2007. Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity, and fate of chelating agents: A review [J]. *Chemosphere*, 68: 989-1003

Fitz W J, Wenzel W W. 2002. Arsenic transformation in the soil-rhizosphere-plant system, fundamentals and potential application of phytoremediation [J]. *Journal of Biotechnology*, 99: 259-278

韩少华, 唐浩, 黄沈发. 2011. 重金属污染土壤螯合诱导植物修复研究进展 [J]. *环境科学与技术*, 34(6G): 157-163

洪春来, 王卫平, 孙慧峰. 2010. 土壤铅污染及其生物有效性评价研究进展 [J]. *现代农业科技*, (12): 245-247

Huang J W, Chen J, Berti W R, *et al.* 1997. Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction [J]. *Environ Sci Tech*, 31: 800-805

Koelling J, Coles M C, Matthews P D, *et al.* 2012. Development of new microsatellite markers (SSRs) for *Humulus lupulus* [J]. *Molecular Breeding*, 30(30): 479-484

李剑敏, 杨劲松, 杨晓英, 等. 2007. EDTA 对铅污染土壤上芥菜生长及铅积累特性的影响 [J]. *土壤通报*, 38(6): 1178-1181

李士敏, 季红, 黄碧云, 等. 2010. 二甲基- β -环糊精作为手性选择剂对尼索地平映体的毛细管电泳拆分研究 [J]. *分析测试学报*, 29(4): 376-378

李效红, 王延平, 郝学奎. 2010. 环糊精及其衍生物在环境治理中的研究进展 [J]. *兰州工业高等专科学校学报*, (12): 52-58

李玉红, 宗良刚, 黄耀. 2002. 螯合剂在污染土壤植物修复应用中的应用 [J]. *土壤与环境*, 11(3): 303-306

刘金平, 段婧. 2013. 营养生长期雌雄菎草表现性状对水分胁迫响应的性别差异 [J]. *草业学报*, 22(2): 243-249

梅征, 李宁. 2012. 环糊精及其衍生物在环境污染治理中的应用 [J]. *高分子通报*, (1): 48-50

Norkus E. 2009. Metal ion complexes with native cyclodextrins. An overview [J]. *J Incl Phenom Macrocycl Chem*, 65: 237-248

祁由菊, 崔德杰. 2008. EDTA 辅助下地被石竹对铅污染土壤的修复潜力 [J]. *农业环境科学学报*, 27(1): 165-169

任理想. 2008. 土壤重金属形态与溶解性有机物的环境行为 [J]. *环境科学与技术*, 31(7): 69-73

Saifullah, Meers E, Qadir M, *et al.* 2010. EDTA-assisted Pb phytoextraction [J]. *Chemosphere*, 74(10): 1279-1291

Salt D E, Smith R D, Raskin I. 1998. Phytoremediation [J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49: 643-668

Shen Z G, Li X D, Wang C C, *et al.* 2002. Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species [J]. *J Environ Qual*, 31: 1893-1900

Tessier A, Campbell P G C, Bisson M. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals [J]. *Anal Chemistry*, 51: 844-851

Vassil A D, Kapulnik Y, Raskin I, *et al.* 1998. The role of EDTA in lead

- trans-plant and accumulation by Indian mustard [J]. *Plant Physiol*, 117:447-453
- 王红新,胡锋,许信旺,等.2011.EDTA 对铅锌尾矿改良土壤上玉米生长及铅锌累积特征的影响[J].*生态学报*,31(23):7125-7132
- 王静雯,伍钧,郑饮月,等.2013.EDTA 对鱼腥草修复铅锌矿区重金属复合污染土壤的影响[J].*水土保持学报*,27(6):62-66
- 王开爽,吉凡,王莉,等.2014.螯合诱导技术强化植物修复铅污染土壤的研究现状及展望[J].*安徽农学通报*,20(9):100-102
- 王显海,刘云国,曾光明,等.2006.EDTA 溶液修复重金属污染土壤的效果及金属的形态变化特征[J].*环境科学*,27(5):1008-1012
- Wu L H, Luo Y M, Xing X R, *et al.* 2004. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk [J]. *Agr Ecosyst Environ*, 102:307-318
- 谢凝子.2009.环糊精在土壤有机污染物治理中的应用[J].*环境科学与管理*, (2):119-122
- Xiong Z T.1997.Bioaccumulation and physiological effects of excess lead in a roadside pioneer species *Sonchus oleraceus* L [J]. *Environmental Pollution*, (3):275-279
- 杨芬,宋宏锐.2008.动物源性食品中碘醚柳胺含量检测方法的研究及 2,6-二甲基- β -环糊精合成工艺的研究[D].沈阳:沈阳药科大学.28-32
- 杨明琰,陈华,梁语燕,等.2014.EDTA 强化黑麦草对铅污染土壤的诱导修复效应[J].*环境科学与技术*,37(9):19-22
- 叶海波,杨肖娥,何冰,等.2003.东南景天对锌镉复合污染的反应极其对锌镉吸收和积累特性的研究[J].*农业环境科学学报*,22(5):513-518
- 尹雪,陈家军,蔡文敏.2014.EDTA 与柠檬酸复配洗涤修复多种重金属污染土壤效果研究[J].*环境科学*,35(8):3096-3101
- 张玉秀,黄智博,柴团耀.2009.螯合剂强化重金属污染土壤植物修复的机制和应用研究进展[J].*自然科学进展*,19(11):1149-1158
- 郑建斌,陶福芳,张宏芳.2005. β -环糊精的示波行为及其应用[J].*西北大学学报*,35(6):727-730,740
- Zhou J H, Yang Q W, Lan C Y, *et al.* 2007. Heavy metal uptake and extraction potential of two *Beckmannia nivea* Gaud. (Ramie) varieties associated with chemical reagents [J]. *Water, Air and Soil Pollution*, 211(1):356-358
- 周启星,宋玉芳,李培军,等.2004.污染土壤修复原理与方法[M].北京:科学出版社.23-24
- 朱宇林,谢华华,谭萍,等.2012.EDTA 对铅胁迫下香根草生长及铅积累特性的影响[J].*北方园艺*, (2):9-12