

分类号\_\_\_\_\_

密级\_\_\_\_\_

U D C\_\_\_\_\_

编号\_\_\_\_\_

## 中国科学院地球化学研究所

### 博士后研究报告

铅锌矿废弃地优势植物对重金属的累积和抗性机制

---

朱光旭

工作完成日期 2014年9月—2017年8月

---

报告提交日期 2017年8月

---

中国科学院地球化学研究所（贵州贵阳）

2017年8月

## 铅锌矿废弃地优势植物对重金属的累积和抗性机制

### Study on the Tolerance Mechanism of Dominant Plants to Heavy Metal From Wasteland of Lead-Zinc Mine

博 士 后 姓 名：朱光旭

流动站（一级学科）名称：地质学

专 业（二级学科）名称：地球化学

合 作 导 师：肖化云研究员

研究工作起始时间 2014 年 9 月 1 日

研究工作期满时间 2017 年 8 月 31 日

中国科学院地球化学研究所（贵州贵阳）

2017 年 8 月

## 摘要

铅锌矿的开采与加工不但破坏环境，挤占耕地，还会给矿区及其周边地区造成了严重的土壤重金属污染。植物修复作为一种价格低廉、环境扰动小、没有二次污染的绿色土壤修复方法，是金属矿区土壤重金属污染治理及生态环境恢复的极为有效的措施，正受到越来越广泛的关注。本文选取黔西北某锌冶炼厂的废渣堆场和广西北部某铅锌尾矿污染农田为研究区域，开展野外实地植被调查，并采集优势植物样品、作物及矿渣/土壤样品，分析矿渣、土壤、优势植物和作物的重金属含量，评估当地居民经食用摄入重金属的人体健康风险，研究优势植物对重金属的吸收、转运和富集特征，筛选出适应该地区生态修复的先锋植物。以几种菊科植物为研究对象，采用差速离心与化学试剂提取法分析重金属在植物中的亚细胞分布及其存在的化学形态，进一步通过盆栽试验，研究菊科植物对铅锌矿区土壤多金属胁迫和多梯度 Cd 胁迫的的积累、耐性特征和机制，探讨游离氨基酸在植物耐抗重金属胁迫中的机制。主要研究结果如下：

(1) 黔西北矿渣土壤 Cd、Pb、Zn、Cu、Cr 和 Ni 不同程度超标，以 Cd、Pb、Zn 污染最为严重；儿童和成人在三种暴露途径下受到各污染物的非致癌风险分别是 28.9 和 16.8，远大于可接受的风险水平；农作物可食部分的 Cd、Pb、Zn 等含量超出国家食品卫生标准，并具有健康风险，不宜食用；该地的鬼针草和土荆芥对 Cd、Pb、Zn 的吸收量大、运输能力强，且覆盖率高、生物量较大，对复合重金属具有一定的耐性，可以作为该地区生态恢复中的先锋物种。

(2) 桂北铅锌尾矿下游污染农田土壤主要污染元素包括 Cd、Pb 和 Zn，研究区优势植物几乎为草本植物，且以菊科为主，野苘蒿、胜红蓟、小蓬草、苦苣菜和稗草对 Cd 具有较强的富集和转移能力，可作为镉富集植物，用于镉污染土壤的修复。其中野苘蒿可基本判定为镉超富集植物。蜈蚣草和中华苔草地上部对 Cd、Cu、Zn 和 Pb 的吸收和转运效率较低，使得它们适用于研究区污染土壤的植物稳定化修复。液泡区隔化、细胞壁固持和重金属以低活性的化学形态为主可能是研

究区 3 种菊科植物应对重金属胁迫的重要耐性机制。

(3) 铅锌矿渣基质的盆栽试验结果表明, 三叶鬼针草、革命菜、胜红蓟吸收的 Cd 和 Zn 主要积累在地上部分, 而 Pb 主要分布在根系。3 种植物对各种重金属的吸收量大小排列顺序均为野苘蒿>鬼针草>胜红蓟, 野苘蒿生长迅速, 繁殖力强, 适用于 Cd 为主的重金属复合污染土壤的生态修复。植物中氨基酸代谢可能在植物富集和抵抗重金属中发挥了重要作用, 关键氨基酸包括 Gln、Glu、Asn、Asp、His、Arg、Gly 等。

(4) 与胜红蓟相比, 野苘蒿对 Cd 胁迫具有更强的耐性, 地上部积累更多的 Cd; 野苘蒿满足 Cd 超富集植物的标准, 可认定为镉超富集植物。Cd 胁迫导致了两种菊科植物体内氨基酸水平的差异性协调反应, 在植物适应镉胁迫中起着重要作用。其中主要的氨基酸包括 Gln、Glu、Asn、Asp、GABA、Val 和 Ala。比起胜红蓟, 野苘蒿体内更高的游离氨基酸, 特别是 Gln 和 Asn 的含量, 可能与野苘蒿对 Cd 具有更高的耐性和富集能力有关。选择合适的外源氨基酸及其浓度, 能缓解重金属对 Cd 的毒害, 促进植物对 Cd 的吸收。

**关键词:** 铅锌矿; 植物修复; 镉超富集植物; 氨基酸代谢; 机制

## Abstract

With the development and utilization of lead and zinc mine resources, Pb/Zn ore mining and melting not only caused occupation of cultivated land and environmental destruction, but also has caused serious soil heavy metal pollution to mine areas and the surrounding areas. Phytoremediation is considered as a low cost green method, less environmental disturbance and no secondary pollution is the most effective method for the soil heavy metal pollution control in metal mine areas and the improvement of eco-environmental quality, receiving more and more public attention. Therefore, this dissertation took one zinc smelting slag site in Northwestern Guizhou Province, and one lead-zinc tailings farmland from Guangxi Zhuang Autonomous Region as research areas to carry out field vegetation survey and collected dominant plants, slag, as well as soil samples. The analysis of measuring the heavy metal content of plants and soil/slag has been carried out, human health risk of heavy metals in crops for residents were assessed. The absorption and accumulation characteristics of heavy metals between plants and soils were compared, and the pioneer plants for ecosystem restoration of the area were selected. Three types of widely distributing Compositae plants (*Artemisia lavandulaefolia*, *Ageratum conyzoides* L., *Crassocephalum crepidioides*) were taken as research object, the differential centrifugation technique and sequential chemical extraction method were conducted to study the subcellular distribution and chemical forms of heavy metals in these plants. Furthermore, the greenhouse pot experiment was conducted to study the responses and the mechanisms of tolerance to multi-metal and Cd pollution stress. The role of free amino acids in the resistance and adaptation of plants to heavy metal stress was also studied. The main results were as follows:

(1): The soils of the smelting slag field in Northwestern Guizhou have been polluted by heavy metals in varying degrees, The concentration of

Cd, Pb, and Zn was 48, 311, and 114 times of their respective background value in Guizhou Province. The non-carcinogenic risk of three exposure pathways of heavy metals from slag soil were 28.9 for children and 16.8 for adult, indicating unacceptable risk. The concentrations of Pb, Zn and Cd in edible parts of crops exceeded the limit standard, the local inhabitants had higher potential health risks by intake of these crops. Among the dominant plants, *Bidens pilosa* L. and *Chenopodium ambrosioides* L. had large biomass, and had good accumulation of Cd, Pb and Zn. Thus, *Bidens pilosa* L. and *Chenopodium ambrosioides* L. can be used as pioneer plants for revegetation and phytoremediation in the study area.

(2) The soil in wasteland of the downstream of Guangxi Pb-Zn mine was highly contaminated by Cd, Pb and Zn. *C. crepidioides*, *S. nigrum*, *B. pilosa*, *C. Canadensis*, *A. conyzoides*, *I. denticulata* and *E. crusgali*. showed strong capability in accumulation and transport of Cd, and they could be used as pioneer plants for Cd- phytoextraction. Among which, Cd concentration in the aerial part of *C. crepidioides* exceeded the threshold of Cd-hyperaccumulator. Thus, *C. crepidioides* can be regarded as Cd-hyperaccumulator. The lower translocation ratios for Cd, Cu, Zn and Pb in *P. vittata* and *C. chinensis* make them suitable for phytostabilization in the study area. Cell wall binding, vacuolar compartmentalization and distributing mainly in lower active chemical forms were supposed to be the main tolerance mechanisms to heavy metal in the studied Compositae plants.

(3) *C. crepidioides*, *A. conyzoides* and *B. pilosa* can germination and grew in the pure slag media. The absorbed Cd and Zn by the three plants mainly accumulated in the root, while Pb was mainly distributed in the roots. The amount of Cd, Pb and Zn absorbed by the three studied plants all presented in the order: *C. crepidioides* > *B. pilosa* > *A. conyzoides*. Additionally, *C. crepidioides* with fast growth and spread rates, grows rapidly, occur widely throughout tropical and subtropical China. Therefore, *C.*

*crepidioides* can be a promising candidate for phytoextraction of Cd from polluted soils. The amino acid metabolism in plants may play an important role enrichment and resistance to heavy metals in plants. Key amino acids include Gln, Glu, Asn, Asp, His, Arg, Gly and so on.

(4) *C. crepidioides* accumulated more Cd in its shoot and was tolerant to Cd, whereas its low Cd-accumulating relative, *A. conyzoides*, suffered reduced growth. Cd content in the aerial part of *C. crepidioides* exceeded the threshold of Cd-hyperaccumulator. Furthermore, the bioaccumulation factor (BCF) and biological transfer factor (BTF) values for Cd in *C. crepidioides* were  $> 1$ . Thus, *C. crepidioides* can be regarded as Cd-hyperaccumulator. The comparison between both studied plants indicated that Cd stress resulted in a differential but coordinated response of amino acids levels playing a significant role in plant adaptation to Cd stress. Glu, Gln, Asp, Asn, GABA, Val and Ala dominated the major amino acid. Higher Cd tolerance and Cd accumulation in *C. crepidioides* was associated with greater accumulation of free amino acids, especially for Gln and Asn, in *C. crepidioides* than in *A. conyzoides*. Suitable exogenous amino acids and their concentrations can alleviate the toxicity of heavy metals to Cd and promote the uptake of Cd by plants.

**Key word:** Pb/Zn mine; Phytoremediation; Cd-hyperaccumulator; Amino acid metabolism; Resistance mechanism





## 目 录

摘要.....	I
Abstract.....	III
目录.....	I
1 绪论.....	4
1.1 矿区重金属污染与植物修复.....	4
1.1.1 矿区废弃地重金属污染概述.....	4
1.1.2 矿区优势植物分类.....	4
1.1.3 矿区重金属污染植物修复技术.....	5
1.2 重金属在植物中的化学形态及亚细胞分布.....	7
1.2.1 重金属在植物中的化学形态.....	7
1.2.2 重金属在植物细胞中的亚细胞分布.....	8
1.3 植物重金属胁迫与氨基酸代谢.....	8
1.3.1 植物体内氨基酸对重金属胁迫的响应.....	9
1.3.2 外源氨基酸对植物吸收重金属的影响.....	12
2 黔西北某炼锌渣堆场优势植物及农作物的重金属累积特征.....	14
2.1 样地概况、样品采集与分析.....	14
2.1.1 研究区域概况.....	14
2.1.2 样品采集与处理.....	15
2.1.3 样品分析与测定.....	15
2.1.4 重金属污染评价标准.....	16
2.1.5 重金属污染评价方法.....	17
2.2 结果与分析.....	21
2.2.1 矿渣和农田土壤重金属含量统计分析.....	21
2.2.2 农作物根际土壤重金属污染评价.....	22
2.2.3 废矿渣污染人体健康风险评价.....	22
2.2.4 农作物重金属含量统计分析.....	23

2.2.5 农作物重金属污染评价 .....	24
2.2.6 农作物食用安全性评价 .....	25
2.2.7 距渣堆不同距离玉米的重金属污染评价.....	26
2.2.8 距渣堆不同距离玉米的食用安全性评价.....	28
2.2.9 废渣堆场优势植物组成及特征 .....	29
2.2.10 优势植物体内重金属含量.....	29
2.2.11 优势植物对重金属的富集系数和转运特征 .....	30
2.3 小结.....	33
<b>3 桂北某铅锌矿废弃地优势植物的重金属累积特征.....</b>	<b>34</b>
3.1 样地概况、样品采集与分析 .....	34
3.1.1 研究区域概况.....	34
3.1.2 样品采集与处理 .....	34
3.1.3 样品分析与测定 .....	34
3.2 结果与分析.....	35
3.2.1 优势植物组成及特征.....	35
3.2.2 土壤重金属含量统计分析.....	36
3.2.3 优势植物体内重金属含量.....	37
3.2.4 优势植物中重金属吸收和转运特征.....	39
3.2.5 研究区 3 种菊科植物体内重金属的亚细胞分布和化学形态特征.....	42
3.3 小结.....	47
<b>4 三种菊科植物对铅锌冶炼废渣土壤重金属的积累特征.....</b>	<b>48</b>
4.1 材料与方法.....	48
4.1.1 试验材料 .....	48
4.1.2 盆栽基质.....	48
4.1.3 盆栽试验.....	48
4.1.4 样品采集与处理.....	48
4.1.5 样品分析.....	49
4.2 结果与分析.....	49
4.2.1 供试土壤重金属含量.....	49
4.2.2 不同矿渣基质对植物生长性状的影响.....	50

4.2.3 重金属在三种植物不同器官的吸收积累.....	51
4.2.4 矿渣基质中三种植物对重金属的总吸收量.....	53
4.2.5 植物各组织游离氨基酸对矿渣处理的响应变化.....	55
4.3 小结.....	59
5 镉胁迫对两种菊科植物生长和氨基酸代谢的影响及氨基酸对镉积累调控作用.....	60
5.1 材料与方法.....	60
5.1.1 试验材料.....	60
5.1.2 盆栽基质.....	60
5.1.3 盆栽试验.....	60
5.1.4 样品采集与处理.....	60
5.1.5 样品分析.....	60
5.2 结果与分析.....	61
5.2.1 镉胁迫对植物生长的影响.....	61
5.2.2 植物不同组织中镉的积累.....	61
5.2.3 镉胁迫对植物氨基酸代谢的影响.....	63
5.2.4 氨基酸对菊科植物镉积累的调控作用.....	69
5.3 小结.....	70
参考文献.....	71
致 谢.....	83
作者简介.....	84

# 1 绪论

## 1.1 矿区重金属污染与植物修复

### 1.1.1 矿区废弃地重金属污染概述

矿产资源是社会经济发展的重要物质基础，矿产资源的开发和利用，为我国经济建设做出巨大贡献 (Li et al., 2014)，然而，由于长期不合理的矿产利用，生产和治理工艺的落后，有色金属矿产资源开采冶炼形成的尾矿库、废渣、废石场等矿业废弃地，不仅占用和浪费大量土地资源，也给矿山及周边区域带来生态破坏和环境污染，并且影响到人类的健康和生存，其中尤为突出的是重金属元素对环境的污染 (Li et al., 2005)。大量的矿业废弃物中含有的重金属会通过大气、水体等途径广泛扩散，污染周边水源和农田，导致作物质量下降，农产品减产或失收 (邓新辉等, 2015)。重金属还会通过食物链在生物体内蓄积，或以粉尘为载体通过呼吸和体表吸附，给人体健康造成严重的威胁损害 (仇荣亮等, 2009; Sun et al., 2014)。据统计，我国由采矿及加工所产生的矿业废弃地已超过 150 万公顷，并以每年 4.7 万公顷的速度增长 (Zhuang et al., 2009)。近些年，矿区周边地区重金属污染事件屡有发生 (Lei et al., 2015; Xiao et al., 2017)。

### 1.1.2 矿区优势植物分类

随着重金属污染土地植被重建和植物修复研究的兴起，植物修复技术作为安全可靠、成本低、效果好的生态修复方法越来越受到重视 (Ali et al., 2013; 韩煜等, 2016; Marrugo-Negrete et al., 2016)。在我国贵州、广西等西南喀斯特地区，耕地资源较为贫乏，对重金属污染废弃地进行植被重建显得尤为重要 (Li and Yang, 2008)。而金属矿区废弃地和冶炼废渣堆场土壤往往具有土壤结构不良，保水保肥能力差，有机质含量及植物必须的氮磷钾等养分元素严重缺乏，土壤 pH 值偏极端等特点，再加上重金属具有很高的植物毒性，植被往往严重退化，生态恢复十分困难 (Nirola et al., 2016)。但自然界植物种类繁多，各有不同的适应性，在重金属异常区的自然植被中，经过长期自然选择

的作用，某些特殊的金属型植物能够适应这种特殊的环境条件，对本地逆境条件具有很强的耐性、适应性，甚或偏好性（Dazy et al. 2009; Malik et al. 2010）。这些植物在重金属污染土地的植被重建和植物修复中起到决定性的作用，其前提是寻找和发现适合当地气候和土壤条件的重金属耐性和富集植物（张会敏等，2015）。因此，研究重金属异常区地上自然生长的优势植物，筛选具有重金属富集与耐性的特殊植物，对于金属矿区废弃地的污染治理和生态恢复具有重要意义。

生长在金属矿区土壤上的植物，经过长期自然选择进化，往往对重金属胁迫产生了一定的抗性而成为优势植物，但是其抗性机制（耐性和避性）的不同会使植物对重金属的吸收、转移和累积特征表现出较大的差异（Antonkiewicz and Para, 2016; 毕德等，2006）。根据植物对重金属不同的吸收、转移和累积机制，目前公认的植物耐受重金属机制主要有3种策略（Baker, 2001; Punz and Sieghardt, 2013; Usman et al., 2012）：富集型（accumulator）、根部囤积型（compartment）和规避型（excluder）。富集型植物是指从土壤中主动吸收并富集金属元素，同时将大量重金属由根部转移到地上部的植物。植物修复中的植物提取技术即利用此策略。不同植物对重金属的富集能力不同，并且不同植物对重金属元素在各器官的分配也表现出较大的差异。根部囤积型植物对土壤中的重金属具有被动吸收的特征，能将重金属吸收至体内，但金属元素大量囤积于根部，只有少量向地上部运移，减少对光合、呼吸、生殖系统的伤害。植物修复中植物稳定技术即基于这种吸收机制。规避型植物的特点是虽然植物生长在重金属含量非常高的土壤中，但能抵制植物根系对重金属的吸收，并常常将土壤重金属沉淀在根系表面，而植物体内只吸收少量的重金属。

### 1.1.3 矿区重金属污染植物修复技术

矿山开采冶炼过程带来的重金属污染及其对周边生态系统破坏极其严重。为减少重金属对环境的污染，对矿区植被进行修复与重建，其前提是寻找和发现适合当地气候条件的重金属耐性和富集植物。近年来，以植物修复为主的生物修复技术成为国内外环境治理的热点领域。植物修复技术具有安全、成本低、生态协调及环境美化功能等优

点，正在越来越受到研究者的重视。植物修复重金属污染土壤主要有植物提取和植物稳定这两种方式（Guala et al., 2011; Nawab et al., 2016）。

### （1）植物提取（phytoextraction）

植物提取主要是利用重金属积累植物或超积累植物对土壤重金属的富集能力，通过收割地上部分提取土壤中重金属，逐渐降低土壤中重金属含量（Sarma, 2011）。植物提取是目前研究最多且最有发展前途的一种植物修复技术，亦即狭义的植物修复。超富集植物是植物修复的基础，寻找和发现生物量大、富集重金属能力强的超富集植物是植物修复技术走向工程应用的首要任务。当前国内外发现的超富集植物达700多种，所占比例低于所有已知物种的0.2%，广泛分布于约50个科，并主要集中在十字花科。研究最多的植物主要为遏蓝菜属、庭荠属、及芸苔属、九节木属、蓝云英属，绝大多数为Ni的超富集植物，有的已经用于实践修复（Nicoletta and Flavia, 2011; 邢艳帅等, 2014）。何东等（2013）调查了湖南下水湾铅锌尾矿库区的植被状况，并筛选出15种优势植物，发现地枇杷对Pb具有很强的转运能力与富集能力，地上部分Pb含量为正常含量上限值的4.01倍，转运系数达到3.91，富集系数达到14.4。刑丹等（2012）以黔西北4个不同恢复年限的铅锌矿为研究对象，通过群落生态调查利用聚类分析方法筛选出研究区域中重金属耐性植物优势种，结果表明：4个矿区共筛选出9种重金属耐性植物优势种，其中转运系数大于1的植物有：黄花蒿（Cu）、珠光香青（Zn）、大叶醉鱼草（Zn/Pb/Cd）和野艾蒿（Cu/Zn/Pb/Cd）。秦丽等（2013）调查了云南会泽铅锌矿冶炼矿渣堆周边野外植物，发现了土荆芥、芨芨草和莎草Cd富集系数均大于1，具有较强的Cd富集能力，并达到Pb富集植物临界含量标准。

### （2）植物稳定（phytoextraction）

植物稳定是利用植物使土壤环境中的重金属流动性降低，生物可利用性下降，使重金属对生物的毒性降低（邢艳帅等, 2014）。虽然超富集植物可以提取土壤中重金属，但是这些植物并不适用于所有矿区。由于矿区重金属含量高、范围广、复垦机率小，且重金属容易通过风力扩散或进入地下水从而威胁周边居民的健康，因此植物提取修复方

式不适用于污染较严重的地区。而植物稳定修复则是利用耐性植物的原位稳定修复，将面源污染缩小成点源污染，有效解决矿业废弃地由于缺少植被覆盖而侵蚀作用加剧的难题，遏制周边土壤污染（Mendez and Maier, 2008）。因此，植物稳定技术对于金属矿区废弃地的生态恢复、矿区重度污染土壤的修复具有重要的现实意义和较强的可操作性。适用于矿区稳定修复的植物应该具有根系发达、生物量大，能够吸收大量重金属且阻止重金属向地上部运输等特点（Alvarenga et al., 2008）。

## 1.2 重金属在植物中的化学形态及亚细胞分布

为适应环境中的重金属胁迫，植物形成了特定的耐性机制，如结合到细胞壁或液泡区隔化，与有机酸或蛋白质等络合形成活性较低的解毒形态（Gallego et al., 2012; Kushwaha et al., 2016）。植物吸收转运重金属后，会以不同的化学结合形态将重金属贮存于植物的各个器官组织中，限制其在植物体内的移动，从而减轻对植物的毒害。植物中重金属的亚细胞分布及化学形态与其毒性、迁移能力及生物有效性密切相关（Sytar et al., 2013; Zhang et al., 2015; 游少鸿等, 2016）。因此，对耐性植物体内重金属的化学形态、亚细胞分布特征进行探讨，将有利于认识耐性植物的耐性及解毒机理,对重金属污染土壤的植物修复具有重要意义。

### 1.2.1 重金属在植物中的化学形态

重金属在植物体内可以多种复杂的化学形态存在，化学形态直接关系到重金属的活性、毒性、迁移能力和从基质分离的难易程度，不同形态重金属的迁移能力及活性明显不同。如以水溶性有机酸盐或以硝酸盐、氯化物等无机盐形态存在的重金属，其迁移能力就比难溶性磷酸盐或牢固吸附于细胞壁上的重金属要强得多，其毒性效应也更为显著（崔妍等, 2005）。重金属在植物体内结合形态的研究对揭示植物对重金属的毒理和耐性具有重要意义（Wang et al., 2016）。已有研究表明，重金属经过植物吸收、转运后，会以不同的化学结合形态存在于不同的器官组织中，借以限制其在植物体内的移动，从而减轻其对植物的毒害（王明新等, 2014）。Fu 等（2011）发现多数的 Cd 在植物细

胞的液泡中与有机配体或果胶酸结合以及与细胞壁的蛋白质结合是美洲商陆对 Cd 胁迫的超富集和适应的主要机理。吴朝波等（2016）的研究结果表明海雀稗中毒性较低、活性较弱的盐酸提取态、醋酸提取态和氯化钠提取态 Cd 分配比例增加，根中细胞壁固持和液泡区隔化可能是海雀稗应对镉胁迫的重要耐性机制。

### 1.2.2 重金属在植物细胞中的亚细胞分布

重金属在非代谢活性组织中的分布可减轻或避免其对功能性结构单元的损伤和代谢过程的干扰，在植物组织和细胞水平上，重金属在超富集植物体内存在区室化分布，在组织水平上重金属主要分布在表皮细胞、亚表皮细胞和表皮毛中（Brune et al., 1994）。在细胞水平上重金属主要分布在质外体和液泡中，植物液泡和细胞壁在植物内部对重金属的耐性、解毒和超积累方面往往起着重要作用（Qiu et al., 2011; 徐君等, 2012），但不同重金属在植物体内不同部位的分布也有很大差别（Lvika et al., 2007）。超富集植物长柔毛委陵菜体内的 Cd 主要分布在细胞壁和可溶组分中，且叶片中 90% 以上的 Cd 富集在液泡中（周小勇等, 2008）。铅锌矿区修复植物马缨丹中，镉在根和叶细胞可溶性组分中的分配比例最高，其次是细胞壁（方继宇等, 2014）。李冬香和陈清西（2013）的研究发现，对于低浓度的 Zn 胁迫，Zn 主要分布于再力花根部的细胞壁，高浓度 Zn 处理下，细胞壁没能有效将 Zn 隔离，进入细胞内的 Zn 主要聚集在液泡。

### 1.3 植物重金属胁迫与氨基酸代谢

植物体内的游离小分子物质，如有机酸、多胺和氨基酸类物质，可作为植物体内的信号分子，在渗透调节、结构保护和代谢调控方面起到重要作用（Oksana et al., 2013）。人们普遍认为，胁迫条件下植物体内产生的游离氨基酸起着维持细胞水势、调节气孔开放、消除物质毒害和储存氮素的功能（Rai, 2002; 薛永等, 2014），在超积累植物富集重金属的机制中也起到关键作用（Sharma and Dietz, 2006）。不同植物或同一物种的不同品种，体内胁迫诱导产生的氨基酸差异很大，游离氨基酸种类与含量多寡与植物的抗逆性密切相关（Zemanová et al., 2013）。



### 1.3.1 植物体内氨基酸对重金属胁迫的响应

氨基酸是植物体内的重要组成部分之一，是植株氮化物的主要存在方式和运输形式，也是合成蛋白质、维持体内氮平衡、合成体内各种酶、激素等的原料（宋奇超等，2012），氨基酸的变化可反映植物体内的氮素代谢变化及植物对氮素的吸收、运输、同化等状况（孙秀梅等，2010），氨基酸代谢与植物的生长发育密切相关。当植物生长于重金属污染的环境中时，植物光合速率的降低导致代谢能量的供应受到限制，从而影响了氮的同化。氮素的吸收和同化受抑制，蛋白质代谢失调，导致植物体内氨基酸水平发生明显改变（Kumar et al., 2014）。同时，重金属胁迫也会影响氮素代谢中某些关键酶的活性（zemanov áet al., 2015）。因此，氮代谢变化是植物对重金属胁迫的主要反应，植物在重金属胁迫下氨基酸合成以及氮代谢途径如图 1.1 所示（Sharma and Dietz, 2006）。不同植物种类、品种，甚至同一植物，在不同环境中其组织中氨基酸的水平往往不同（徐智敏等，2015）。

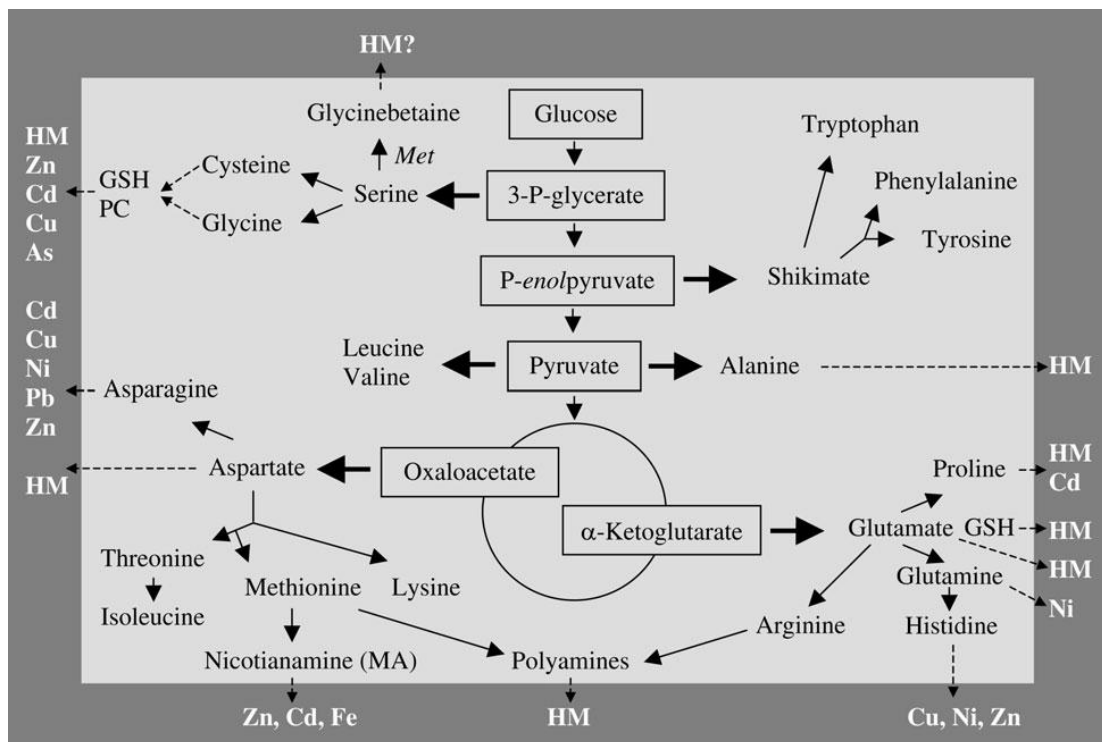


图 1.1 植物在重金属胁迫下氨基酸代谢简图

植物在受到重金属胁迫时，植物细胞会主动积累渗透调节物质，包括无机离子和小分子有机物质。过多的无机离子会对细胞造成伤害，

而小分子有机物质，尤其是氨基酸类物质，对重金属离子的解毒和迁移，对于细胞维持较适宜的环境、细胞进行正常的生理生化反应具有重要作用，通常被称之为“相容物质”（Sharma and Dietz, 2006）。此外，游离氨基酸具有很强的亲和性，增加了细胞液的浓度，对原生质的保水能力及胶体稳定性有一定作用（Chia et al., 2015）。游离氨基酸的积累与代谢经常作为重金属胁迫刺激而引起植物生理生化变化的参数指标。

氨基酸也是一种较活泼的多元有机配体，植物体内游离氨基酸中的羧基、氨基、巯基和酚基等功能团能与金属离子结合，形成稳定的螯合物，对有毒重金属具有钝化和解毒作用；游离氨基酸中的脯氨酸、谷氨酸、半胱氨酸还是植物螯合肽合成前体，而植物螯合肽被认为对植物重金属耐性起重要作用（Mesu et al., 2006; 张中春和邱保胜, 2012）。因此，重金属污染条件中游离氨基酸含量的变化对植物重金属抗性有重要生理意义。

#### 脯氨酸（Pro）

胁迫常产生氨基酸响应，其中脯氨酸是最常见的响应分子（Shamsul et al., 2012）。游离氨基酸中脯氨酸与植物抗逆性的关系受到广泛关注，这主要是由脯氨酸的特性所决定的（Xu et al., 2009），即：相对分子质量小、易溶于水、在生理 pH 范围内不带电荷、富含能量、能为细胞膜所保持并且能迅速生成。同时，脯氨酸具有细胞渗透调节的功能，可以通过控制气孔开闭抑制蒸腾作用而减少植物对重金属的吸收。另外，研究也发现，脯氨酸参与植物体内活性氧自由基的解毒机制，能够降低质膜过氧化伤害，减少细胞内阳离子外流等，在此过程中脯氨酸很可能是依靠增加体内的还原型谷胱甘肽水平和植物螯合肽合成量来提高植物对氧化胁迫的适应（Matysik et al., 2002）。

脯氨酸通常被看作是植物体内的氨基酸库，是植物在干旱、高温、高盐、冰冻、紫外照射以及重金属等胁迫条件下累积的主要有机分子（Dinakar et al., 2009）。在正常条件下植物体内脯氨酸含量较低，但在重金属（Pb、Zn、Mn、Cu、Cd、Ni、As）胁迫条件下，脯氨酸的含量增加，并与胁迫的强度和植物的抗逆性有关（Vassilev and Lidon, 2011; 李清飞和仇荣亮, 2012; 于方明等, 2013）。因此，通常根据脯

氨酸的含量可以从生理的角度了解重金属对植物的危害程度和植物对胁迫的抵抗能力。而 Yi 和 Kao (2006) 的研究结果却表明, Cd 胁迫对 Cd 耐性水稻品种中脯氨酸含量影响不大。因此认为, 把脯氨酸含量作为植物体内的氨基酸代谢是否受到重金属影响的指标是不合适的。

#### 组氨酸 (His)

自从 1996 年 Krämer 等报道了组氨酸在 Ni 超积累植物 *Alyssum lesbiacum* 木质部汁液中作为配体参与 Ni 的螯合和转运, 并能够提高植物对重金属镍的忍耐力后, 一系列研究陆续证明了组氨酸在植物重金属耐性和超积累中的作用。Salt 等 (1999) 在 Zn 的超富集植物 *Thlaspi caerulescens* 中发现了 Zn-His 的复合物。Shi 等 (2008) 发现 Cu 的耐性植物海州香薷体内, Cu-His 类似形态是 Cu 最重要的分子形态, 组氨酸在 Cu 的络合和转运中起着重要作用。当然, 组氨酸并不是所有超积累植物中重金属的配体, 这可能与植物自身和重金属种类有关 (Stepansky and Leustek, 2006)。

#### 半胱氨酸 (Cys)

半胱氨酸是含 S 氨基酸, 其侧链含有一 S 一侧链, 由于一些金属如 Cd、Cu 等与 S 具有较强的亲和力, 因此半胱氨酸也能在植物受到重金属胁迫时参与络合重金属离子, 起到提高耐性和解毒的作用 (Hossain et al., 2012)。Dominguez 等 (2004) 在急性 Cd 胁迫实验中发现, *Arabidopsis* 合成半胱氨酸的能力显著增强。但由于半胱氨酸是谷胱甘肽、金属硫蛋白、植物螯合态及其它一些蛋白质的合成前体, 因此它作为游离氨基酸形态直接参与重金属螯合的作用仍需进一步讨论。

#### 其他氨基酸

其它氨基酸如天冬氨酸、谷氨酸、丙氨酸、甘氨酸、蛋氨酸、丝氨酸、赖氨酸等也可能参与植物对重金属的解毒, 在重金属胁迫时发生含量变化。谷氨酸和天冬氨酸, 其侧链官能团是羧酸基, 呈酸性, 易于维持植物体内的酸性条件, 增强重金属离子的活性, 同时由于其侧链的羧基易于和金属离子结合 (Rai, 2002)。Bhatia 等 (2005) 发现 Ni 的超富集植物 *Stackhousia tryonii* 随着 Ni 胁迫的提高, 其木质部

中丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸的浓度有所增加。徐卫红等（2007）发现黑麦草在重金属 Zn、Cd 胁迫下，丝氨酸、赖氨酸均明显增加，尤其是赖氨酸含量增加十分明显，显示这 2 种氨基酸可能是黑麦草在重金属 Zn、Cd 胁迫下，为了适应重金属胁迫而大量分泌的。杜瑞英（2013）的研究结果表明，红麻根系在受到重金属胁迫时或作为耐性植物所产生的氨基酸类分泌物中丝氨酸和精氨酸含量显著增加。Zoghlami 等人（2011）的试验发现，在镉暴露后，番茄根部中天冬酰胺、谷氨酰胺和支链氨基酸（缬氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸和色氨酸）的含量明显增加，而在叶片中，除酪氨酸外，其他氨基酸的含量几乎没有改变。Daniela 等（2014）的研究报告称，丙氨酸、亮氨酸、脯氨酸和蛋氨酸在烟草抵抗锌胁迫逆境中发挥重要作用。遏蓝菜在受到 Cd 胁迫后，体内苯丙氨酸、苏氨酸、鸟氨酸、色氨酸的含量显著增加，而降低了丙氨酸和甘氨酸的含量（Zemanová et al., 2017）。

综上所述，植物中游离氨基酸对于缓解重金属毒性、提高植物对重金属的抗性和运输能力等发挥了重要作用；可反映植物体内的氮素代谢变化及植物对氮素的吸收、运输、同化等状况，越来越多用来作为重金属胁迫等外界刺激而引起植物生理生化变化的参数指标。游离氨基酸在重金属胁迫的逆境生境下的适应性变化是当前的研究热点之一，但由于植物中的游离氨基酸种类多，代谢情况十分复杂，有待于深入研究。

### 1.3.2 外源氨基酸对植物吸收重金属的影响

在重金属胁迫下，植物细胞中会迅速合成的氨基酸，或作为渗透调节物质，或以不同方式与金属离子络合，通过缓冲胞质金属离子浓度、提高细胞对重金属的抗性和运输能力等途径降低重金属离子对细胞的毒害（Sharma and Dietz, 2006）。鉴于氨基酸在机体新陈代谢过程中对重金属具有螯合和解毒功能的重要作用，外源氨基酸可能影响植物对重金属的吸收，或在某种程度上缓解重金属逆境胁迫对植物造成的伤害。

外源氨基酸添加能提高植物抵抗重金属胁迫的能力在烟草、小麦等植物研究中得到验证（Islam et al., 2009; Rasheed et al., 2014）。Kerkeb

和 Krämer (2003) 的研究显示, 在培养液中加入一定比例的组氨酸以后, 增加了非超积累植物 *Alyssum lesbiacum* 和 *Brassica juncea* 对 Ni 的抵抗, 也增加了 Ni 从根向叶的转移速度。杨传杰等 (2009) 对超富集植物龙葵添加外源半胱氨酸、谷氨酸、甘氨酸及复合处理后, 龙葵对镉的吸收和富集能力均能显著提高, 与对照相比地上部 Cd 含量最多增加了 1.26 倍。Zhou 等 (2007) 的结果表明: 半胱氨酸处理能显著增加铜胁迫下玉米叶片和根系中的铜积累量, 提高小麦幼苗对铜胁迫的耐受性, 而甘氨酸、天冬氨酸和赖氨酸添加的处理效果并不明显。宋敏等 (2013) 研究喷施不同浓度脯氨酸对镉胁迫下小麦幼苗重金属吸收的结果显示: 随着外源脯氨酸浓度的增加, 小麦中锌积累量升高, 而镉和铜积累量下降。胡蔚等 (2014) 的研究报道称, 外源脯氨酸处理显著降低 Cd 胁迫下不结球白菜幼苗地上部 Cd 含量, 对根系 Cd 含量无显著影响, 但外源脯氨酸处理并不能缓解过量 Cd 对不结球白菜幼苗生物量的抑制作用。Kozhevnikova 等 (2014) 的试验发现, 在 Ni-Zn-Cd 复合重金属胁迫条件下, 添加组氨酸能显著促进遏蓝菜木质部对镍和锌的吸收, 而对镉的转运几乎没有影响。

## 2 黔西北某炼锌渣堆场优势植物及农作物的重金属累积特征

### 2.1 样地概况、样品采集与分析

#### 2.1.1 研究区域概况

黔西北是贵州铅锌矿分布的主要地区，土法炼锌在该地区已有 300 多年历史。土法炼锌由于冶炼工艺水平落后，对 Zn 的回收率低，对其它元素基本上没有回收，并缺失环保治理设施，冶炼废渣长期堆存于未经防护的渣场中。研究区位于贵州省威宁县金钟镇冒水村，地处  $26^{\circ} 46' N$ ,  $104^{\circ} 23' E$ , 海拔约 2140 m, 是典型喀斯特地貌地区。属亚热带季风湿润气候区，年平均气温  $11.1^{\circ}C$ ，无霜期 178 d，全年平均日照时间 1812 h，年降雨量 1100 mm。炼锌矿渣堆场总占地面积  $10000 m^2$  左右，平均高度约为 10 m，堆置时间超过 30 年。炼锌矿渣堆场的东边是冒水小学，全校师生有 300 多人，旁边有农户几家，部分矿渣堆上已种植小面积多种类作物，矿渣堆的南边和东南边为大面积玉米地（见图 2.1）。



图 2.1 研究区概图

### 2.1.2 样品采集与处理

2015年5月和11月,根据废渣堆积点的分布情况,设置7个30 m×30 m的样方,采集土壤和植物样品。在每个样方地采集5个点的土样混合为一个样,采集深度为0~15 cm,随机选取3株生长旺盛的优势植物。将不同样方地的同种植物归为同一个植物样。同时根据废渣堆积点的分布情况,采集在废渣堆种植的粮食类(玉米、土豆、黄豆、芸豆)和蔬菜类(萝卜、莲花白、油菜、四季菜心、青口白)等9种农作物共13个植物样品(萝卜和玉米种植较多,各取2个,萝卜分萝卜块茎和萝卜叶),以及对应的11个根系矿渣土壤样品。另外,以矿渣堆为起点,往东南方向的玉米地按距离(0 m、10 m、30 m、60 m、100 m、150 m)由近及远采集农田土壤和玉米可食部分样品。土壤的采样深度为0~15 cm,每个样品由4~6个子样混合,样重1 kg左右,分别装袋记录。

将采集的矿渣和土壤样品带回实验室,自然风干法晒干,除去矿渣及土壤中的石砾、植物根系等杂物,经充分搅拌混匀,敲碎后一部分过20目尼龙筛,用于pH值和重金属有效态含量测定,另一部分用研钵研磨后,过0.25 mm尼龙筛,密封、编号保存备用。采集回的普通植物和农作物样品首先用自来水冲洗表面附着泥土,每个样分别冲洗3次,然后用去离子水冲洗3次。自然晾干后,把农作物样品用剪刀将它的茎、根、叶分开。将晾干后的农作物样品先于恒温烘箱中105℃烘30 min杀酶,再于60℃的鼓风箱中继续烘干,取出粉碎,采用粉碎机将农作物样品粉碎3~5次,然后放在阴凉干燥处密封保存,贴标签、编号,放入干燥箱备用。

### 2.1.3 样品分析与测定

土壤和矿渣样品中Pb、Cr、Cd、Zn、Cu、Ni的全量测定采用混酸消解法:称取过100目风干土壤0.1000 g于100 mL聚四氟乙烯烧杯中,加入硝酸9 mL,氢氟酸3 mL,放置于电热板上加热,当烧杯内的溶液近干后,再加入高氯酸3 mL,直至肉眼观察土壤消解至透明无

色，加酸至溶液呈黄豆粒大小，自然冷却至室温，转移至 25 mL 比色管，摇匀，待测。

重金属元素的有效态含量采用  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$  的 HCl 浸提制备待测液：称取 10.00 g 风干过 20 目筛的土样放入 150 mL 硬质玻璃三角瓶中，加入 50 mL  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$  的 HCl 浸提液，用水平振荡器振荡 1.5 h，于过滤纸过滤，滤液用于分析。

植物样品重金属总量采用  $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$  法消解：称取约 0.2000 g 植物样品，在 100 mL 的锥形瓶中分别加入所测样品及硝酸 12 mL，放置于电热板上加热消解，加热消解至几无棕色冒烟出后再加入高氯酸 3 mL，直至肉眼观察样品消解至透明无色，加酸，自然冷却至室温，转移至 25 mL 比色管中，摇至均匀，待测。

实验中所用  $\text{HNO}_3$ 、HF、 $\text{HClO}_4$  均为优级纯，水为二次纯化蒸馏水。实验数据可靠性通过全程空白分析、加入国家标准土壤样品进行准确度控制以及随机选取样品做平行进行精密度控制，每个平行样的误差范围控制在 5%。样品测试在中国科学院地理科学与资源研究所理化分析中心进行，PHS-3B 型雷磁精密 pH 计测定土壤 pH 值；电感耦合等离子体质谱仪（ICP-MS，ELAN-DRC-e）测定样品中的 Cd 浓度，电感耦合等离子体光谱仪（ICP-OES，Optima 5300DV）测定 Cr、Cu、Ni、Pb 和 Zn 含量。

#### 2.1.4 重金属污染评价标准

(1) 土壤、农作物的重金属污染评价分别以贵州省土壤背景值(刘凤枝, 2001)、《国家土壤环境质量二级标准》(GB15618-1995) 和食品中污染物国家限量标准为参照，采用污染指数法对所测的土壤和农作物样品中重金属污染进行评价。

(2) 以所测的矿渣土壤样品中的 6 种重金属元素的平均含量为依据，采用人体健康风险评价模型，计算表明人体经手-口摄入、呼吸吸入、皮肤接触三种主要暴露途径的健康风险指数。

(3) 以所测农作物样品中的 6 种重金属元素的平均含量为依据，采用目标危害系数法对农作物食用安全性进行评价。



## 2.1.5 重金属污染评价方法

### (1) 单因子污染指数法

单因子污染指数法（郑国璋，2007）是把原来多个变量化为单个指标的一种统计分析方法，指标之间相互独立且代表性最好。

$$P_i = C_i / S_i \quad \text{式 (1)}$$

式子（1）中： $i$  代表某种重金属； $C_i$  为某种重金属的实测值（ $\text{mg kg}^{-1}$ ）； $P_i$  为某种重金属的单项污染指数； $S_i$  为重金属  $i$  对应的评价标准（ $\text{mg kg}^{-1}$ ）；。当  $P_i < 1$  时，表明样品未受污染； $P_i > 1$  时，表明样品已受污染，且  $P_i$  的值越大，说明样品受污染越严重。

### (2) 内梅罗污染指数法

内梅罗指数法(Nemerow)是当前国内外评价各污染物的污染程度最常用的方法之一。式中包含评价参数中最大的单项污染指数和各单项污染指数的平均值，计算的结果能够显示最大的污染物对环境质量的影响和作用，克服了平均值法评价各个污染物分担的缺陷(田莉等，2016)，内梅罗综合污染指数计算公式：

$$P_N = [(C_i/S_i)_{\text{ave}}^2 + (C_i/S_i)_{\text{max}}^2 / 2]^{1/2} \quad \text{式 (2)}$$

式子（2）中， $P_N$  为第  $N$  个样的综合指数， $(C_i/S_i)_{\text{ave}}$  为土壤和农作物各单项污染指数  $P_i$  的平均值和  $(C_i/S_i)_{\text{max}}$  分别为重金属中各单项污染指数  $P_i$  最大值。污染指数中各分级标准见表2.1。

表2.1 重金属污染等级划分标准

分级	综合污染指数		单项污染指数	
	污染等级	污染指数	污染等级	污染指数
I	安全	$P_N < 1$	清洁	$P_i < 1$
II	警戒线	$0.7 < P_N \leq 1.0$	轻度污染	$1 < P_i \leq 2$
III	轻度污染	$1.0 < P_N \leq 2.0$	中度污染	$2 < P_i \leq 3$
IV	中度污染	$2.0 < P_N \leq 3.0$	重度污染	$P_i > 3$
V	重度污染	$P_N > 3.0$		

### (3) 健康风险评价模型

#### (一) 暴露模型和参数

本文以矿渣中重金属含量的平均值，计算出儿童和成人通过呼吸

吸入、手-口摄入、皮肤接触的三种暴露途径下的人体健康风险（刘小燕等，2016）。Pb、Cr、Cd、Zn、Cu、Ni 这 6 种重金属元素均具有慢性非致癌健康风险，其中 Cd、Cr 和 Ni 具有致癌风险，本研究采用 USEPA 土壤健康风险评估模型（1989；2001），各种途径摄入重金属为长期日平均暴露量，暴露模型和暴露参数的参考值分别如表 2.2 和 2.3 所示。

表 2.2 人体健康风险评估暴露途径及模型

暴露途径	暴露模型
手-口摄入/ $\text{mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}$	$\text{ADD}_{\text{ing}} = C \times \text{IngR} \times \text{EF} \times \text{ED} / \text{BW} \times \text{AT}$
呼吸吸入/ $\text{mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}$	$\text{ADD}_{\text{inh}} = C \times \text{InhR} \times \text{EF} \times \text{ED} / \text{BW} \times \text{AT} \times \text{PEF}$
皮肤接触/ $\text{mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}$	$\text{ADD}_{\text{derm}} = C \times \text{SA} \times \text{SL} \times \text{ABS} \times \text{EF} \times \text{ED} / \text{BW} \times \text{AT}$

表 2.3 不同暴露途径的健康风险评估参数

参数	参数意义及单位	参数值	
		儿童	成人
C	重金属元素浓度, $\text{mg kg}^{-1}$		
IngR	经手-口摄入的灰尘频率, $\text{mg d}^{-1}$	200	100
InhR	呼吸频率, $\text{m}^3 \text{d}^{-1}$	5	20
PEF	颗粒物排放因子, $\text{m}^3 \text{kg}^{-1}$	$1.32 \times 10^9$	$1.32 \times 10^9$
SA	暴露皮肤表面积, $\text{cm}^2 \text{d}^{-1}$	1600	4350
SL	皮肤黏着度, $\text{mg cm}^{-2} \text{d}^{-1}$	0.2	0.7
ABS	皮肤吸收因子, 无量纲	0.001	0.001
ED	暴露年限, a	6	24
EF	暴露频率, $\text{d a}^{-1}$	180	350
BW	平均体重, kg	25	55.9
AT	平均暴露时间（非致癌物）, d	$\text{ED} \times 180$	$\text{ED} \times 365$
AT	平均暴露时间（致癌物）, d	$70 \times 365$	$70 \times 365$

(二) 健康风险表征模型

人体经呼吸吸入矿渣土壤中的污染物、手-口摄入、皮肤接触矿渣土壤中的污染物的三种暴露途径，重金属元素进入人体后引起的健康风险分为非致癌风险（HI）和致癌风险（RISK）。

A. 非致癌风险评价，计算公式如下：

$$\text{HQ} = \frac{\text{ADD}}{\text{RFD}} \tag{3}$$

$$\text{HQ}_n = \sum \text{HQ}_i \tag{4}$$

$$HI = \sum HQ_n \quad \text{式(5)}$$

式中：HQ为非致癌风险指数，表示单一重金属经某一途径的非致癌风险商数，无量纲；ADD为平均每天摄入量（mg/kg/d）；RFD为污染物经不同暴露途径下非致癌参考剂值（mg/kg/d），参考取值见表3.7； $HQ_n$ 为单一重金属经上述暴露途径叠加后的非致癌风险总值；HI为全面的评价多种重金属多暴露途径产生的非致癌总风险，是多种重金属元素共同作用的结果。当HQ或HI<1.00，认为对人体没有明显的健康风险，当HQ或HI>1.00，认为对人体存在非致癌风险（陈耿等，2016）。

### B. 致癌风险评价

致癌风险指人体长久暴露在具有致癌性污染物的情况风险，可能引发癌症的评价方式。以线性低剂量致癌方程来表述：

$$RISK = ADD_{致} \times SF \quad \text{式(6)}$$

RISK表示污染物致癌风险，通常以一定数量人口出现癌症患者的个体数表示癌症发生的概率； $ADD_{致}$ 为致癌重金属通过致癌暴露的唯一途径吸入途径中终生日平均暴露量（mg/kg/d）；SF为致癌斜率表示人体暴露于某种重金属中产生致癌效应的最大概率（mg/kg/d），相应取值见表2.4。在一个受污染的土壤中，含有多个致癌物质导致的致癌风险为各种污染物的暴露途径所产生的致癌风险之和。对于致癌物，当单个污染物的致癌风险以及所有污染物的累计致癌风险在 $1 \times 10^{-6} < R < 1 \times 10^{-4}$ 时是可接受范围。 $R < 10^{-6}$ 表示可忽略不计， $10^{-6} \sim 10^{-4}$ 之间暗示可能有一定危害，当 $R > 10^{-4}$ 表示有显著致癌风险，必须采取降低致癌风险的相关措施（郑冬梅等，2016）。

表2.4 各重金属健康风险评价风险参考剂量（RFD）和斜率系数（SF）

暴露途径	Cu	Zn	Pb	Cr	Cd	Ni
RFD <sub>呼吸</sub>	4.02E-02	3.00E-01	3.52E-03	2.86E-05	1.00E-03	2.06E-02
RFD <sub>摄食</sub>	4.00E-02	3.00E-01	3.50E-03	3.00E-03	1.00E-03	2.00E-02
RFD <sub>皮肤</sub>	1.20E-02	6.00E-02	5.25E-04	6.00E-05	1.00E-05	5.40E-03
SF	-	-	-	42.0	6.30	0.84

### (4) 食用安全性评价方法

蔬菜食用安全性评价采用美国环保局于 2000 年发布的目标危害系数法 (THQ 法), 其优点是可同时评价单一重金属的健康风险和多种重金属复合暴露的健康风险。该方法是基于污染物吸收剂量等于摄入剂量, 通过人体摄入污染物剂量除以其参考剂量计算得出, 作为食用安全性评价标准。若  $THQ \leq 1$ , 说明暴露人群没有明显的健康风险; 若  $THQ > 1$ , 则存在健康风险。THQ 值越大表明该污染物对人体健康风险越严重。如果  $TTHQ \leq 1$ , 表明没有潜在的健康影响,  $TTHQ > 1$ , 表明对人体健康产生负面影响的可能性很大, 当  $TTHQ > 10.0$  时, 表明存在慢性毒性效应 (杨晶等, 2014)。

单一重金属计算公式:

$$THQ = \frac{EF \times ED \times FIR \times C}{RFD \times WAB \times ATn} \times 10^{-3} \quad \text{式(7)}$$

多种重金属复合风险计算公式:

$$TTHQ = \sum THQ \quad \text{式(8)}$$

式 (7) 中各参数名称和取值见表 2.5。

表 2.5 农作物健康风险分析参考数值

参数符号	参数名称及单位	参数值	
		儿童	成人
C	重金属元素浓度, $\text{mg kg}^{-1}$	本研究	本研究
EF	暴露频率, $\text{d a}^{-1}$	365	365
ED	暴露时间, a	70	70
FIR	蔬菜摄入量, $\text{g d}^{-1}$	231.5	301.4
	粮食摄入量, $\text{g d}^{-1}$	100	150
RFD	参考剂量, $\text{mg kg d}^{-1}$	Pb=0.004	
		Cd=0.001	
		Cr=0.003	
		Cu=0.04	
		Zn=0.3	
		Ni=0.002	
WAB (蔬菜)	平均体重, Kg	32.7	55.9
WAB (粮食)	平均体重, Kg	16	70
ATn	皮非致癌平均暴露时间, d	25550	25550

## 2.2 结果与分析

### 2.2.1 矿渣和农田土壤重金属含量统计分析

废渣堆场土壤pH平均值为7.96, 偏碱性。对在炼锌废矿渣堆采集的7个废渣样品和11个作物根际土壤样品进行重金属Cd、Cr、Cu、Pb、Zn、Ni含量测定和统计分析, 并参考贵州省土壤环境背景值(刘凤枝, 2001)和《国家土壤环境质量三级标准》(GB15618-1995), 统计结果见表2.6。可以看到, 无论是废矿渣还是附件农田土壤, 所测6种重金属的平均含量均超过贵州省土壤背景值, 其中Cd、Pb和Zn污染较严重, 平均含量远超于贵州省土壤背景值和国家土壤环境质量标准值。相对于废矿渣, 耕地土壤的重金属元素浓度的变化范围都较大, 其中Pb和Zn含量的最大值分别是最小值的18.9和24.4倍。

表2.6 废矿渣及周边农田土壤重金属含量 ( $\text{mg kg}^{-1}$ )

统计值		Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
废矿渣 (n=7)	最小值	22.42	88.5	244.9	45.6	7657	10297
	最大值	40.92	201.6	416.9	81.8	17375	18083
	平均值	31.41	149.0	323.8	68.3	10949	14018
	标准差	6.36	47.3	69.4	12.8	3451	2738
作物 根际 土壤 (n=11)	最小值	6.80	83.1	35.7	36.5	448	629
	最大值	35.79	161.6	320.6	80.9	8404	15357
	平均值	18.57	111.1	149.5	53.6	3252	5086
	标准差	10.67	22.6	117.9	15.4	3500	5844
贵州省土壤背景值		0.659	95.9	32.0	32.8	35.2	99.5
土壤环境质量标准		1	300	400	200	500	500

## 2.2.2 农作物根际土壤重金属污染评价

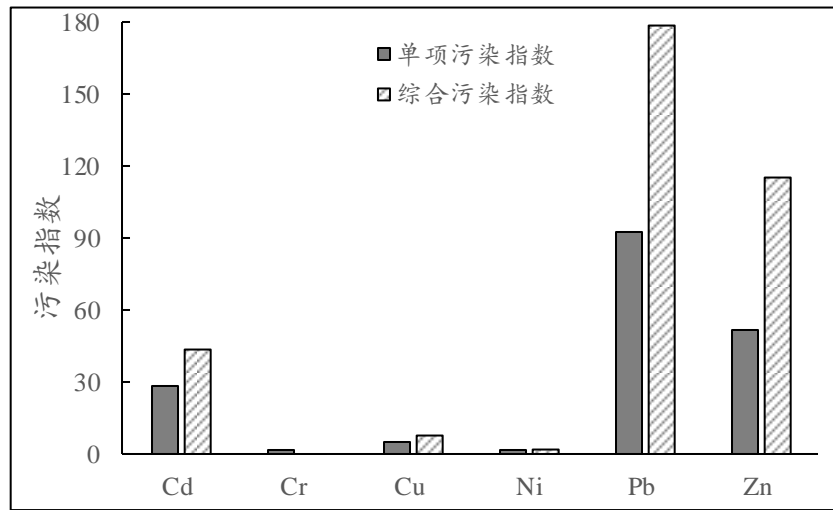


图 2.2 作物根际土壤重金属污染指数

以贵州省土壤环境背景值作为参考标准,根据废矿渣堆场周边耕地土壤重金属含量,计算得土壤各重金属元素的平均单项污染指数和内梅罗综合污染指数,结果如图2.2所示。各金属元素平均单项污染指数均大于1,可知,耕地土壤均受到不同程度的重金属污染。污染指数大小依次为Pb(92.4)>Zn(51.1)>Cd(28.2)>Cu(4.7)> Ni(1.6)> Cr(1.2), Pb污染最为严重,其次为Zn、Cd和Cu,这4种元素均为重度污染, Ni和Cr指示轻度污染的特征。从综合污染指数上看, Pb、Zn、Cd和Cu污染等级为严重,综合指数大小分别为179.0、114.9、43.4和7.8, Ni和Cr分别为中度污染和轻度污染。

## 2.2.3 废矿渣污染人体健康风险评价

该冶炼废矿渣堆中重金属通过3种不同暴露途径的非致癌风险和致癌风险见表2.7。从表中可以看出,不同暴露途径带来的非致癌风险存在显著差异,对于儿童表现为:手-口摄入途径> 皮肤接触途径> 呼吸摄入途径,而对于成人则表现为:皮肤接触途径>手-口摄入途径>呼吸摄入途径。非致癌风险大小排序为儿童: Pb>Cr>Zn>Cd>Cu> Ni, 成人: Pb>Cd>Cr>Zn>Cu>Ni。由此可见主要非致癌风险贡献元素为Pb,其非致癌风险值分别为28.90(儿童)和16.8(成人),分别占总风险值的95.9%和96.7%,比其他重金属高出2-3个数量级,存在很

大的非致癌风险。建议当地人群不宜长期暴露在此环境中，特别是对于附近小学的300多名师生，应做好相应的防范措施。其他元素的风险值未超过1，即非致癌风险控制在安全限内。从致癌风险指数上看，土壤中三种致癌重金属Ni、Cd和Cr致癌风险指数从大到小排序均为：Cr>Cd>Ni，3种金属元素在废矿渣中的致癌风险值和总致癌风险值小于 $10^{-6}$ ，表示这三种重金属的致癌风险较低，不会对人体造成致癌危害。

表 2.7 废矿渣不同暴露途径的人体健康风险指数

人群风险值	Cd	Cr	Ni	Pb	Zn	Cu	合计	
儿童	HQ <sub>呼吸</sub>	4.76E-06	7.89E-04	5.03E-07	4.71E-04	7.07E-06	1.22E-06	1.27E-03
	HQ <sub>摄食</sub>	2.51E-01	3.97E-01	2.73E-02	25.03	3.74E-01	6.48E-02	26.14
	HQ <sub>皮肤</sub>	4.02E-02	3.18E-02	1.62E-04	2.67	2.99E-03	3.45E-04	2.74
	合计	2.91E-01	4.30E-01	2.75E-02	27.70	3.77E-01	6.51E-02	28.89
	RISK	2.57E-09	8.13E-08	7.45E-10				8.46E-08
成人	HQ <sub>呼吸</sub>	8.17E-06	1.35E-03	8.62E-07	8.09E-04	1.21E-05	2.10E-06	2.19E-03
	HQ <sub>摄食</sub>	5.39E-02	8.52E-02	5.86E-03	5.36	8.01E-02	1.39E-02	5.60
	HQ <sub>皮肤</sub>	1.64E-01	1.30E-01	6.61E-04	10.89	1.22E-02	1.41E-03	11.2
	合计	2.18E-01	2.16E-01	6.53E-03	16.26	9.24E-02	1.53E-02	16.81
	RISK	1.76E-08	5.58E-07	5.12E-09				5.81E-07

#### 2.2.4 农作物重金属含量统计分析

本研究所采集的农作物可食部分重金属含量结果如表 2.8。农作物产品中的重金属含量范围分别为：Cd 0.14~16.14 mg kg<sup>-1</sup>，Cr 1.33~9.34 mg kg<sup>-1</sup>，Cu 2.44~15.87 mg kg<sup>-1</sup>，Pb 0.79~100.88 mg kg<sup>-1</sup>，Zn 23.1~372.5 mg kg<sup>-1</sup>。依据《食品安全国家标准食品中污染物限量》（GB-2762-2012）及《食品中锌限量卫生标准》（GB13106-91）、《食品中铜限量卫生标准》（GB15199-94）等相关国家食品安全中重金属的极限标准可知，所有农作物中 Cd、Cr、Pb 和 Zn 含量均超过食品中污染物的限量标准，含量最高依次出现在油菜、1 号萝卜叶、四季菜心和四季菜心，而土豆、黄豆、2 号玉米籽粒和土豆中的 Cd、Cr、Pb、Zn 分别最低。土豆、2 号萝卜块茎、萝卜叶、莲花白、玉米籽粒和芸豆中的 Cu 含量未超标。

表 2.8 矿渣堆农作物重金属含量 ( $\text{mg kg}^{-1}$ )

作物种类	Cr	Cd	Zn	Cu	Pb
土豆	0.14	1.33	4.72	4.71	23.1
萝卜 1	2.69	8.19	13.36	30.14	189.1
萝卜 2	1.08	5.19	4.39	20.14	96.0
萝卜叶 1	6.62	9.33	8.51	83.35	261.7
萝卜叶 2	3.21	5.88	5.37	59.25	154.9
莲花白	2.15	3.50	2.99	21.36	77.3
油菜	16.14	3.82	13.83	91.83	372.5
四季菜心	7.16	4.07	15.88	100.88	294.8
青口白	10.26	4.03	11.45	60.23	195.5
玉米籽粒 1	0.34	4.81	6.01	1.41	71.1
玉米籽粒 2	0.20	3.78	2.44	0.79	42.6
黄豆	3.40	0.64	16.21	3.17	130.1
蚕豆	0.61	1.09	5.61	3.98	64.3
蔬菜安全标准	0.05	0.50	10.00	0.20	20.00
粮食安全标准	0.05	0.50	10.00	0.40	50.00

## 2.2.5 农作物重金属污染评价

表2.9 矿渣堆农作物重金属污染评价

作物种类	单项污染指数					综合污染指数
	Cr	Cd	Zn	Cu	Pb	
土豆	2.7	2.8	1.2	0.5	23.6	17.2
萝卜 1	16.4	53.8	9.5	1.3	301.4	218.9
萝卜 2	10.4	21.6	4.8	0.4	201.4	146.0
萝卜叶 1	18.7	132.4	13.1	0.9	277.8	202.4
萝卜叶 2	11.8	64.2	7.7	0.5	197.5	143.5
莲花白	7.0	43.0	3.9	0.3	71.2	52.0
油菜	7.6	322.8	18.6	1.4	306.1	224.2
四季菜心	8.1	143.2	14.7	1.6	336.3	244.3
青口白	8.1	205.2	9.8	1.1	200.8	147.0
玉米籽粒 1	4.8	6.8	1.5	0.6	7.0	5.5
玉米籽粒 2	3.8	4.0	1.1	0.2	3.9	3.2
黄豆	0.6	68.0	1.3	0.8	15.8	12.3
蚕豆	1.1	12.2	0.6	0.1	19.9	14.5
平均值	7.7	83.08	6.7	0.7	151.10	91.28

依据各重金属在蔬菜和粮食中的极限值,对矿渣堆土壤上种植的农



作物重金属污染状况进行分析，计算结果见表2.9。因目前还未出台食品或农产品中关于Ni的限量标准，且所测农作物中Ni元素的含量普遍较低，因此所测的农作物污染评价内容不包含Ni元素。由表2.9可知，所测农作物中Cu的平均单项污染指数小于1，其他重金属在所有农作物中的平均单项污染指数都大于1。平均单项污染指数的排序为 $Pb > Cd > Cr > Zn$ ，其中，Pb的单项污染指数多数为200以上，最高为四季菜心的336和油菜的306；而在所测样品中Zn的含量虽然较高，但其单项污染指数与其它重金属相比较小，且对农作物造成的污染程度较小；Cu的单项污染指数均小于2，污染等级为轻度污染，对农作物造成的污染最小。从综合污染指数来看，所有农作物的污染指数都大于3，污染程度为重度污染。四季菜心的污染指数最高，为244.3，而玉米籽粒重金属受污染水平相比较低。

#### 2.2.6 农作物食用安全性评价

通过运用式（7）和式（8）分别计算儿童和成人的单一健康风险值和复合健康风险值，结果见表2.10。在13个调查植物中，5种重金属元素对儿童的单项风险指数多数大于1，综合风险指数均大于10，表明食用该地产的作物会对儿童具有慢性毒性；其中Pb污染的健康风险值普遍较高，从而表现为对复合风险指数的贡献率最大，依次为Cd和Cr，Cu和Zn的健康风险值相对较低。需引起重视的是，各作物中的重金属对儿童的风险指数均高于成人，表明作物受重金属污染后更容易给儿童带来健康风险。从作物品种来看，受重金属污染的油菜的综合风险指数最高，其次包括四季菜心、青口白、莲花白、萝卜叶等叶类青菜，玉米籽粒则相对较低。因此，从食品安全角度看，在该矿渣堆土壤种植农作物的摄入会对人体造成健康威胁，尤其对于儿童具有慢性毒性效应，在污染土壤得到有效治理之前，该地不建议为农用种植农作物。建议相关部门对该地块进行管控和合理治理，降低当地居民受危害的风险。

表 2.10 矿渣堆农作物重金属摄入的健康风险

人群	土豆	萝卜 1	萝卜 2	萝卜 叶 1	萝卜 叶 2	莲花 白	油菜	四季 菜心	青口 白	玉米 籽粒 1	玉米 籽粒 2	黄豆	蚕豆	
儿童	Cd	0.88	19.04	7.65	46.83	22.73	15.24	114.26	50.65	72.60	2.09	1.22	21.26	3.82
	Cr	2.76	19.31	12.24	22.02	13.86	8.25	9.01	9.61	9.51	10.03	7.88	1.34	2.28
	Cu	0.74	2.36	0.78	1.51	0.95	52.30	2.45	2.81	2.03	0.94	0.38	2.53	0.88
	Pb	7.36	53.34	35.64	147.52	104.87	37.80	162.52	178.53	106.59	2.20	1.23	4.95	6.22
	Zn	0.48	4.46	2.26	6.18	3.65	18.20	8.79	6.96	4.61	1.48	0.89	2.71	1.34
	TTHQ	12.22	98.51	58.57	224.06	146.06	131.79	297.03	248.56	195.34	16.74	11.60	32.79	14.54
成人	Cd	0.30	14.50	5.82	35.67	17.31	11.61	87.02	38.58	55.29	0.72	0.42	7.29	1.31
	Cr	0.95	14.71	9.32	16.77	10.56	6.29	6.86	7.32	7.24	3.44	2.70	0.46	0.78
	Cu	0.25	1.80	0.59	1.15	0.72	0.40	1.86	2.14	1.54	0.32	0.13	0.87	0.30
	Pb	2.52	40.62	27.14	112.35	79.87	28.79	123.78	135.97	81.18	0.75	0.42	1.70	2.13
	Zn	0.17	3.40	1.73	4.70	2.78	1.39	6.69	5.30	3.51	0.51	0.30	0.93	0.46
	TTHQ	4.19	87.83	44.60	170.64	112.24	48.48	226.21	189.66	148.76	5.74	3.97	11.25	4.98

### 2.2.7 距渣堆不同距离玉米的重金属污染评价

测定分析距渣不同距离（0~150 m）采集的土壤和玉米籽粒样品的重金属含量如表 2.11 和表 2.12。结果表明，土壤和玉米籽粒中的重金属含量均随着距矿渣堆越远而降低。但在 150 m 处，土壤中 Cd、Pb 和 Zn 含量仍超过国家土壤环境质量二级标准，玉米籽粒中的 Cd、Cr 和 Pb 含量超过限量标准。结合食品中各重金属的限量标准，对距渣堆不同距离玉米的重金属污染状况进行评价，计算结果见表 2.13 和表 2.14。由结果可知，不同范围内玉米受重金属污染程度均为重度污染，其中 Cd 和 Pb 的污染指数均大于 1，而 Cu 的污染指数均小于 1，表明 0~150 m 范围中 Cu 未对玉米造成污染；而 Zn 在所测样品中的含量虽然最高，但在 0~150 m 范围中，Zn 的污染指数均小于 2，为轻度污染。从综合污染指数来看，距离矿渣 0~150 m 范围内的玉米的指数值都大于 3，表明为重度污染，其中玉米在 0~10 m 内为重度污染区域，综合污染指数为 22.4~23.3，为重度污染标准的 7 倍以上。

表 2.11 距渣堆不同距离内的玉米籽粒重金属含量 (mg kg<sup>-1</sup>)

离矿渣距离	Cd	Cr	Cu	Pb	Zn
0 m	0.48	4.36	5.03	3.43	61.3
10 m	0.47	3.12	2.92	3.46	58.0
30 m	0.34	1.93	2.68	2.36	52.4
60 m	0.22	1.92	2.57	1.85	50.6
100 m	0.18	1.36	2.25	1.87	45.5
150 m	0.13	0.76	1.51	1.26	32.2
粮食安全标准	0.05	0.50	10.00	0.40	50.00

表 2.12 距渣堆不同距离农田土壤重金属含量 (mg kg<sup>-1</sup>)

离矿渣距离	Cd	Cr	Cu	Pb	Zn
0 m	30.11	175.32	324.54	13253.21	14393.7
10 m	22.99	122.34	129.42	6743.20	8543.6
30 m	17.13	88.46	101.98	4546.80	6399.7
60 m	10.64	82.26	91.18	2452.34	5475.8
100 m	9.34	70.87	80.50	1653.30	2390.4
150 m	7.13	57.82	52.281	586.43	1473.6

表 2.13 距渣堆不同距离玉米重金属污染指数

离矿渣距离	单项污染指数					综合污染指数
	Cd	Cr	Cu	Pb	Zn	
0 m	9.6	4.4	0.5	17.2	1.2	23.3
10 m	9.4	3.1	0.3	17.3	1.2	22.4
30 m	6.8	1.9	0.3	11.8	1.1	15.5
60 m	4.4	1.9	0.3	9.3	1.0	12.3
100 m	3.6	1.4	0.2	9.4	0.9	11.8
150 m	2.6	0.8	0.2	6.3	0.6	5.3

表 2.14 距渣堆不同距离玉米重金属污染等级划分

元素	0 m	10 m	30 m	60 m	100 m	150 m
Cd	重度污染	重度污染	重度污染	重度污染	重度污染	中度污染
Cr	重度污染	重度污染	轻度污染	轻度污染	轻度污染	清洁
Cu	清洁	清洁	清洁	清洁	清洁	清洁
Pb	重度污染	重度污染	重度污染	重度污染	重度污染	重度污染
Zn	轻度污染	轻度污染	轻度污染	轻度污染	清洁	清洁
综合污染	重度污染	重度污染	重度污染	重度污染	重度污染	重度污染

表 2.15 距渣堆不同距离农田土壤重金属污染评价

离矿渣距离	单项污染指数					综合污染指数
	Cd	Cr	Cu	Pb	Zn	
0 m	45.69	1.83	10.14	376.51	144.66	348.64
10 m	34.88	1.28	4.04	191.57	85.87	180.66
30 m	25.99	0.92	3.17	129.17	64.32	123.15
60 m	16.15	0.86	2.85	69.67	55.03	69.82
100 m	14.17	0.74	2.52	46.97	24.02	45.79
150 m	10.82	0.60	1.63	16.66	14.81	18.11

## 2.2.8 距渣堆不同距离玉米的食用安全性评价

通过运用式 (7) 和式 (8) 分别计算儿童和成人通过玉米摄入重金属的 THQ 值和 TTHQ 值, 结果见表 2.16。

表 2.16 距渣堆不同距离玉米重金属摄入的健康风险

离矿渣堆距离	THQ 值					TTHQ	
	Cd	Cr	Cu	Pb	Zn		
儿童	0 m	2.97	9.09	0.78	5.36	1.28	19.48
	10 m	2.94	6.49	0.46	5.40	1.21	16.50
	30 m	2.15	4.03	0.42	5.14	1.10	12.84
	60 m	1.38	3.99	0.40	2.89	1.05	10.16
	100 m	1.12	2.83	0.35	2.92	0.95	8.17
	150 m	0.83	1.59	0.24	1.96	0.67	5.29
成人	0 m	1.02	3.12	0.27	1.84	0.42	6.67
	10 m	1.01	2.23	0.16	1.85	0.41	5.66
	30 m	0.47	1.38	0.14	1.26	0.38	3.63
	60 m	0.38	1.37	0.13	0.99	0.36	3.23
	100 m	0.38	0.97	0.12	1.01	0.33	2.81
	150 m	0.29	0.54	0.08	0.67	0.23	1.81

就单一重金属的健康风险评价上看, 单个金属元素随玉米与矿渣堆距离的增大其健康风险指数逐渐减小。但在 150 m 处, 对于儿童, Cr 和 Pb 污染的 THQ 值仍大于 1, 表明食用距离矿渣堆 150 m 范围内的农田土壤种植的玉米, 会对儿童造成健康隐患。对于成人, Cu 和 Zn 的 THQ 值均小于 1, 表明 Cu 和 Zn 不会对成人产生健康风险。比较儿童的 TTHQ 值与成人的 TTHQ 值, 表明通过本地玉米摄入对儿童

造成的健康风险要高于成人。从多种重金属的综合健康风险评价来看，儿童的 TTHQ 值在 60 m 范围内大于 10，表明在 60 m 区域种植的玉米对儿童均有极大的健康风险，存在慢性中毒效应；在 0~150 m 范围内，玉米种多金属对成人的 TTHQ 值均小于 10，表明相对安全。

### 2.2.9 废渣堆场优势植物组成及特征

经过多年的自然演替，矿渣堆的植被已形成以草本植物占绝对优势的自然群落，其种类组成较为丰富（表2.17）。调查中共采集植物样品 18 个，分属于 12 科。其中，菊科 5 种，十字花科和禾本科各 2 种。从植物生活型来看，以草本植物为主，共 16 种，灌木 2 种，这可能与草本植物具有营养繁殖及耐贫瘠、干旱，相对比较容易形成重金属耐性，且种子容易随风播种成活有关（Yang et al., 2014）。从植物的丰富度来看，优势度较高的植物有三叶鬼针草（*Bidens pilosa* L.）、醉鱼草（*Buddleja lindleyana*）、金星蕨（*Parathelypteris glanduligera*）和土荆芥（*Chenopodium ambrosioides* L.）。这些植物为乡土植物，能够适应当地的气候条件和恶劣的生长环境，具有较强的重金属耐性。

表2.17 废渣堆场优势植物种类及其特征

科名	植物名称	丰富度	生活型
菊科	小蓬草	常见	一年生草本
菊科	马刺薊	偶见	多年生草本
菊科	蒲公英	偶见	多年生草本
菊科	三叶鬼针草	丰富	一年生草本
菊科	野艾蒿	常见	多年生草本
禾本科	牛筋草	偶见	一年生草本
禾本科	狗尾巴草	偶见	一年生草本
十字花科	芥菜型油菜	常见	一年生草本
十字花科	野蔊菜	偶见	一年生草本
马钱科	醉鱼草	丰富	落叶灌木
车前科	车前草	偶见	多年生草本
醉浆草科	红花醉浆草	偶见	多年生草本
木贼科	节节草	偶见	多年生草本
蔷薇科	三花悬钩子	常见	藤状灌木
金星蕨科	金星蕨	丰富	多年生草本
紫草科	琉璃草	偶见	多年生草本
败酱科	败酱草	偶见	多年生草本
藜科	土荆芥	丰富	一年生草本

### 2.2.10 优势植物体内重金属含量

18种优势植物体内的Cd、Pb和Zn含量的测定结果表明（表2.18），

不同植物对重金属的吸收和蓄积特征存在较大差异, 总体来看, 植物体内Zn含量最高, 其次是Pb和Cd。一般认为, 植物的重金属正常含量分别为: Cd 0.2~3 mg kg<sup>-1</sup>; Pb 0.1~41.7 mg kg<sup>-1</sup>; Zn 1~160 mg kg<sup>-1</sup> (何东等, 2014)。本次调查的18种优势植物中, 无论是地上部分的茎和叶, 还是地下根部的Cd、Pb和Zn含量, 几乎都超过植物的重金属正常含量, 但是都没有达到超富集植物的临界含量 (分别为100 mg kg<sup>-1</sup>、1000 mg kg<sup>-1</sup>和10000 mg kg<sup>-1</sup>) 标准 (Baker et al., 1983)。本研究的18种植物均能在重金属污染严重的环境下正常生长, 可见这些植物是在长期的自然选择过程中产生了对重金属毒害的防卫机制, 具有较强的抗污染能力 (金倩等, 2010)。

表2.18 优势植物重金属含量 (mg kg<sup>-1</sup>)

植物名称	Cd			Pb			Zn		
	叶	茎	根	叶	茎	根	叶	茎	根
小蓬草	19.79	20.12	11.74	180.0	106.2	176.1	596.5	301.8	398.7
三叶鬼针草	36.80	19.42	27.48	731.0	254.0	951.3	1103.8	374.0	1414.5
野艾蒿	16.42	9.88	19.47	208.6	26.1	244.2	545.6	169.6	365.8
马刺蓟	14.88		5.80	489.4		73.5	918.0		159.4
蒲公英	21.31		13.60	439.7		424.0	744.3		633.2
芥菜型油菜	12.04	5.82	3.79	387.3	97.6	128.7	758.5	406.3	293.0
野苋菜	8.06	4.76	4.92	173.4	88.2	263.8	635.3	368.8	547.9
琉璃草	9.69	2.65	5.31	220.3	64.7	137.1	517.6	164.2	319.6
败酱草	18.14	5.83	9.42	84.0	24.9	56.7	368.8	71.0	165.1
土荆芥	42.15	13.85	8.28	394.5	157.4	340.3	1214.8	424.0	422.3
醉鱼草	12.36	6.02	10.84	295.0	69.8	141.6	546.5	193.6	391.2
三花悬钩子	32.97	17.29	39.94	567.2	153.0	1208.2	781.0	410.6	1147.5
金星蕨	8.18	7.02	6.16	574.2	108.6	462.6	673.0	210.6	617.5
牛筋草	4.24		10.03	93.8		354.3	138.0		658.0
狗尾巴草	18.32		46.25	253.7		707.7	609.8		1537.5
红花酢浆草	6.27		4.54	176.0		89.7	319.1		237.5
车前草	5.43		9.24	130.5		430.3	283.7		1497.5
节节草	9.66		22.86	199.8		618.7	431.4		916.5

### 2.2.11 优势植物对重金属的富集系数和转运特征

在植物修复中, 富集系数(植物体内重金属含量/土壤重金属含量)常用来反映植物对土壤重金属元素的富集能力和修复潜力, 转移系数(地上部重金属浓度/根部相应重金属浓度)用来表征植物将重金属从根部向地上部转移的能力 (Buscaroli, 2017; Pandey et al., 2016)。而土壤的重金属生物有效性及植物毒性不仅与其总量有关, 更大程度上取决

于土壤中重金属的赋存形态，尤其是生物有效态的含量。与全量重金属相比，土壤中的有效态重金属能够更好地反映植物对土壤中重金属的吸收和受毒害的可能性，用其进行植物富集特性的研究，更具有科学性和可比性（李亮亮等，2008）。因此，本研究采用植物体内的重金属含量与相应的土壤有效态重金属含量的比值来比较植物对土壤重金属吸收转移能力的强弱。

表2.19 优势植物的富集系数和转运系数

植物	地上部富集系数				根部富集系数				转移系数		
	Cd	Pb	Zn	综合	Cd	Pb	Zn	综合	Cd	Pb	Zn
小蓬草	1.29	0.25	0.27	1.80	0.76	0.29	0.22	1.27	1.70	0.85	1.20
三叶鬼针草	1.99	0.92	0.47	3.38	1.78	1.55	0.79	4.12	1.12	0.59	0.60
马刺蓟	0.96	0.80	0.48	2.24	0.38	0.12	0.09	0.58	2.57	6.66	5.76
蒲公英	1.38	0.72	0.41	2.51	0.88	0.69	0.35	1.93	1.57	1.04	1.17
野艾蒿	0.92	0.24	0.23	1.38	1.26	0.40	0.20	1.86	0.73	0.59	1.13
牛筋草	0.27	0.15	0.08	0.50	0.65	0.58	0.37	1.59	0.42	0.26	0.21
狗尾巴草	1.19	0.41	0.34	1.94	3.00	1.16	0.86	5.01	0.40	0.36	0.40
芥菜型油菜	0.66	0.49	0.36	1.51	0.25	0.21	0.16	0.62	2.68	2.33	2.23
野苧菜	0.46	0.24	0.31	1.01	0.31	0.23	0.24	0.78	1.47	1.05	1.31
琉璃草	0.47	0.27	0.22	0.96	0.34	0.22	0.18	0.75	1.36	1.21	1.23
败酱草	0.90	0.10	0.15	1.15	0.61	0.09	0.09	0.79	1.47	1.12	1.60
车前草	0.35	0.21	0.16	0.72	0.60	0.72	0.83	2.15	0.59	0.30	0.19
节节草	0.63	0.33	0.24	1.19	1.48	1.01	0.51	3.00	0.42	0.32	0.47
土荆芥	1.91	0.47	0.48	2.85	0.54	0.59	0.24	1.36	3.55	0.80	2.03
醉鱼草	0.64	0.33	0.23	1.20	0.70	0.23	0.22	1.15	0.91	1.45	1.04
红花酢浆草	0.41	0.29	0.18	0.87	0.29	0.15	0.13	0.57	1.38	1.96	1.34
三花悬钩子	1.83	0.72	0.37	2.93	2.59	1.97	0.64	5.20	0.71	0.37	0.58
金星蕨	0.52	0.82	0.34	1.68	0.40	0.76	0.34	1.50	1.30	1.09	0.98
最大值	1.99	0.92	0.48	3.38	3.00	1.97	0.86	5.20	3.55	6.66	5.76
最小值	0.27	0.10	0.08	0.50	0.25	0.09	0.09	0.57	0.40	0.26	0.19
平均值	0.93	0.43	0.30	1.66	0.93	0.61	0.36	1.90	1.35	1.24	1.30

表 2.19 为 18 种优势植物地上部和根部对 Cd、Pb 和 Zn 的富集系数、综合富集系数及转移系数。1) 地上部富集系数：小蓬草、鬼针草、蒲公英、狗尾巴草、土荆芥和三花悬钩子 6 种植物对 Cd 的富集系数大于 1，其他植物对 Cd 的富集系数小于 1；所有植物对 Pb 的富集系数均小于 1，对 Zn 的富集系数均小于 0.5，说明各植物吸收土壤 Pb 和 Zn 的能力较弱。从综合富集系数来看，综合富集能力较强的有鬼针草、三花悬钩子、土荆芥、蒲公英和马刺蓟，综合富集系数分别为 3.38、2.93、2.85、2.51 和 2.24。在 18 种调查植物中，鬼针草对 Cd

和 Pb 的富集系数最高, 分别为 1.99 和 0.92, 且对 Zn 的富集系数也较高。土荆芥具有第二高 (1.91) 的 Cd 富集系数和最高的 Zn 富集系数 (0.48)。综合考虑鬼针草和土荆芥对 Cd、Pb 和 Zn 具有较强的富集能力, 地上部形态高大、生物量远大于一般的草本植物, 可作为 Cd、Pb 和 Zn 污染严重地区生态恢复的先锋植物。2) 根部富集系数: 狗尾巴草、三花悬钩子、鬼针草、节节草和野艾蒿的根部对 Cd 富集能力较强, 富集系数分别为 3.00、2.59、1.78、1.48 和 1.26; Pb 富集系数大于 1 的植物包括鬼针草、狗尾巴草、节节草和三花悬钩子; 所有调查植物的根部对 Zn 的富集系数均小于 1; 三花悬钩子的综合富集系数最大 (5.20), 其次为狗尾巴草 (5.01) 和鬼针草 (4.12)。3) 转移系数: 马刺薊和芥菜型油菜对 Cd、Pb 和 Zn 的转移系数较高, 均大于 2, 表现出较强的向地上部分转移的能力; 牛筋草、狗尾巴草、车前草、节节草和三花悬钩子对 3 种金属的转移系数较低, 基本小于 0.5, 表明这些植物能够通过自身的排斥机制, 阻止地下部分吸收的重金属元素向上部运输以减少毒害。

根据植物对重金属不同的吸收、转移和累积机制, 目前公认的植物耐受重金属机制主要有 3 种策略 (Baker, 2001; Punz and Sieghardt, 2013; Usman et al., 2012): 富集型、根部囤积型和规避型。富集型是指从土壤中主动吸收并富集金属元素, 并表现出较强的向地上部分转移的能力。根部囤积型植物对土壤中的重金属具有被动吸收的特征, 能将重金属吸收至体内, 但金属元素大量囤积于根部, 只有少量向地上部运移, 以减少对植物生理系统的伤害, 转移系数小于 1。规避型植物的特点是虽然植物生长在重金属含量非常高的环境中, 但能通过某些机制抵制植物根系对重金属的吸收, 植物体内只吸收少量的重金属。本研究表明: 蒲公英、马刺薊和土荆芥体内三种金属元素的含量相对较高, 且转移系数均大于 1, 符合富集型植物特征; 牛筋草、车前草和节节草的重金属主要累积在根部, 转移系数基本小于 0.5, 表现出较弱的向地上转移的能力, 可见属于根部囤积型植物; 红花醉浆草地上部和根部的三种重金属含量均较低, 地上部和根部的综合富集系数均小于 1, 属于重金属规避型植物。



## 2.3 小结

(1) 矿渣土壤中Pb、Zn、Cd、Cu、Cr和Ni的平均含量超过贵州省土壤环境背景值,表明矿渣土壤受到不同程度污染。利用污染指数法得到,重金属对矿渣土壤的污染排序为Pb>Zn>Cd>Cu。通过人体健康风险评估法评价儿童和成人经呼吸吸入、手-口摄入、皮肤接触矿渣土壤的三种暴露途径下受到各污染物的非致癌风险分别是28.9和16.8,远大于可接受的风险水平,非致癌风险的主要贡献元素为Pb。

(2) 矿渣土壤上种植的所有农作物中Cd、Pb、Cr和Zn的含量高于农作物中重金属的极限标准,食用安全性低,其中Pb污染最为严重,其次为Cd。蔬菜类重金属复合健康风险指数普遍偏高,儿童与成人不可食用,食用可能会对人体健康造成潜在危害,造成重金属中毒等负面影响。与粮食、蔬菜等其他作物相比,玉米籽粒受重金属污染程度较低,食用安全性相对较高。

(3) 土壤和玉米籽粒中的重金属含量均随着距矿渣堆的增加而降低,但在150 m处,土壤中Cd、Pb和Zn含量仍超过国家土壤环境质量二级标准,玉米籽粒中的Cd、Cr和Pb含量超过限量标准。距离渣堆不同距离的玉米主要受Pb和Cd的污染,其污染等级均为重度污染。在距矿渣150 m范围内种植的玉米由于受到重金属污染,会对儿童带来健康风险,并可能具有慢性毒性。综合玉米重金属的污染程度以及人体摄入健康风险指数得出,矿渣对农田土壤的影响范围超过150 m。

(4) 经过多年的自然演替,矿渣堆的植被已形成以草本植物占绝对优势,物种丰富的自然植物群落,所调查的18种优势植物中体内的重金属含量几乎都超过植物的重金属正常含量,对重金属具有一定的耐性,但都没有达到超富集植物的临界含量。其中,三叶鬼针草和土荆芥对Cd、Pb、Zn的吸收量大、运输能力强,且覆盖率高、生物量较大,对复合重金属具有一定的耐性,可以作为该地区生态恢复中的先锋物种。根据优势植物对重金属的富集和转运特征,研究区优势植物可分为富集型(如马刺蓟、蒲公英和土荆芥)、根部囤积型(如牛筋草、车前草和节节草)和规避型(如红花醉浆草)等3种类型。

### 3 桂北某铅锌矿废弃地优势植物的重金属累积特征

#### 3.1 样地概况、样品采集与分析

##### 3.1.1 研究区域概况

研究区域位于广西北部某铅锌矿河谷下游地区的村庄，地处中亚热带季风性气候区，受季风影响，一年的旱、涝、冷、热变化大，年平均温度 19.5℃，年均降雨量 1700 mm 以上。位于研究区河谷上游 7 公里的的铅锌矿，曾作为广西壮族自治区规模较大的铅锌矿，最多时有近千名职工。自 20 世纪 50 年代进行开采，并于 1958 年在采矿坑口建立小型浮选厂进行选矿生产。20 世纪 70 年代的一次强降雨导致尾矿砂坝坍塌，大量尾砂沿河谷冲入下游村庄，造成大范围的土壤重金属污染，部分沿河谷农田因污染严重而废弃。

##### 3.1.2 样品采集与处理

2016 年 5 月，选取铅锌矿下游临近河谷的受污染严重的废弃农田进行实地调查。采集具有活力、代表性和覆盖广泛的自然定居优势植物物种。每种植物的样本至少包含 5 个子样本，并分别采集相应植物根际土壤。植物的不同部位，如根、茎、叶，分开收集，尽量保持植物的完整性。所有的土壤和植物标本都用聚乙烯袋密封，植物样品存放于便携式低温保存箱，迅速运回至实验室。

采回的土壤样品如 2.1.2 处理方法进行前处理，封装，待测。植物样品用自来水冲洗尘土和夹渣物，再用去离子水漂洗干净，再分成两部分，一部分保存于液氮中备用，用于测定植株亚细胞组分和不同化学形态的重金属含量。另一部分晾干后于 105℃ 下杀青 30 min，然后 60℃ 烘干至恒重，不锈钢粉碎机粉碎，放入干燥箱备用。土壤样品经自然风干后磨细，过 100 目尼龙筛，以备测定分析。

##### 3.1.3 样品分析与测定

###### (1) 土壤与植物样品重金属含量分析前处理

分析方法同 2.1.3。

### (2) 植物样品亚细胞组分的分离

采用差速离心法分离不同的细胞组分。2.0 g 样品用预冷的 20 mL 匀浆液在玻璃匀浆器中匀浆，匀浆液的组成为：0.25 mmol L<sup>-1</sup> 蔗糖、50 mmol L<sup>-1</sup> Tris-HCl 缓冲液(pH 7.5)和 1.0 mmol L<sup>-1</sup> 二硫赤藓糖醇，匀浆后的组织转入 50 mL 的离心管中，将组织匀浆液在高速冷冻离心机中以 600 r min<sup>-1</sup> 速度离心 10 min，沉淀部分为细胞壁部分，上清液部分在 16000 r min<sup>-1</sup> 速度离心 45 min，底层碎片部分为细胞器，上层清液为可溶部分组分(细胞质及液泡内的大分子, 有机物和无机离子)，匀浆过程和分离过程均控制在 4℃。

### (3) 植物样品重金属的化学形态分析

采用化学试剂逐步提取法进行植物样品的重金属化学形态分析，包括乙醇提取态、去离子水提取态、NaCl 提取态、HAc 提取态、HCl 提取态和残渣态，具体步骤为：准确称取鲜样 2.0 g，加入 20 mL 提取剂研磨匀浆后转入 50 mL 的塑料离心管中，提取剂分别为：80% 乙醇、去离子水、1 mol L<sup>-1</sup> 的氯化钠、2% 醋酸和 0.6 mol L<sup>-1</sup> 盐酸。在 25℃ 恒温振荡 22 h 后，5000 r min<sup>-1</sup> 速度离心 10 min，倒出上清液，再加入 10 mL 提取剂，25℃ 恒温振荡 1 h，5000 r min<sup>-1</sup> 速度离心 10 min，倒出上清液。合并 2 次的上清液于 150 mL 的三角瓶中。

### (4) 样品测试和试验质量控制

样品重金属浓度分析同 2.1.3，整个试验过程使用高纯度试剂，并通过设置空白样、平行样和标准物质控制数据准确度。

## 3.2 结果与分析

### 3.2.1 优势植物组成及特征

表3.1优势植物种类及其特征

科名	植物名称	生活型
菊科	小蓬草	一年生草本
菊科	胜红蓟	一年生草本
菊科	蒲公英	多年生草本
菊科	鬼针草	一年生草本

菊科	野艾蒿	多年生草本
菊科	野茼蒿	一年生草本
菊科	苦苣菜	一年生草本
菊科	千里光	多年生草本
凤尾蕨科	蜈蚣草	多年生草本
凤尾蕨科	毛轴蕨	多年生草本
禾本科	稗草	一年生草本
禾本科	白茅	多年生草本
伞形科	积雪草	多年生草本
醉鱼草科	大叶醉鱼草	落叶灌木
茄科	龙葵	一年生草本
莎草科	中华苔草	多年生草本
藜科	土荆芥	一年生草本

经过长时间的自然演替，因重金属污染的荒废地形成了一个物种较多样的自然植物群落。在本次调查的 17 种优势植物分属于 8 个科属，其中 8 种植物是菊科植物，占最多数，凤尾蕨科和禾本科各有 2 种。此外，17 种优势植物中，野茼蒿、胜红蓟、蜈蚣草、毛轴蕨和大叶醉鱼草密度分布更大。从植物的生活型来看，除大叶醉鱼草为落叶灌木外，其他 16 种优势植物均为草本植物，占总量的 94%，与 2.2.9 在黔西北炼锌废渣堆场调查的优势植物结果相一致，同样说明草本植物具有较高的繁殖活力和较强的耐旱耐涝耐重金属胁迫的能力。

### 3.2.2 土壤重金属含量统计分析

废弃地土壤 pH 平均值为 5.42 (5.23~5.58)，表明研究区土壤偏酸性。土壤中几种主要重金属 (Cd、Cu、Pb、Zn、Ni、Cr) 的含量结果如表 3.2 所示。可以看到，几种重金属在土壤中均具有较高的浓度，均超过了广西东北部的土壤背景值 (郑武, 1993)，而且污染严重的采样点更靠近河谷地块，表明了铅锌矿的长期开采活动和尾矿的随意堆积导致了该地土壤重金属含量的增加。在 6 种金属中，Cd、Pb 和 Zn 污染最为严重，它们的平均含量分别为当地土壤背景值的 46.5、57.3 和 23.7 倍。这片废弃地土壤中具有较高的 Cd、Pb 和 Zn 含量，加上该类土壤往往具有营养元素缺乏、土壤结构不佳等特点，这些往往会对植物的生长和繁殖带来不利影响 (Nirola et al., 2016)。参照我国土壤环境质量二级标准 (GB15618-1995) 的限量值，土壤中 Ni 和 Cr 含

量并未超标，而 Pb、Zn 和 Cd 的含量远超过标准值。

表3.2 研究区植物根际土壤重金属含量

金属	含量 ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )			SD	CV	背景值 ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	国家标准 ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )
	最小值	最大值	平均值				
Cr	75.2	102.1	85.4	8.4	0.10	70.18	150
Cd	3.01	12.70	8.84	3.43	0.39	0.19	0.30
Cu	47.7	277.8	127.3	75.9	0.60	23.78	50
Zn	602.5	2189.5	1721.3	558.9	0.32	72.61	200
Pb	751.7	3838.5	1715.7	919.2	0.54	29.95	250
Ni	24.1	34.2	28.8	4.51	0.16	23.37	40

SD: 标准差; CV: 变异系数 (%)

### 3.2.3 优势植物体内重金属含量

表 3.3 列出了研究区 17 种优势植物不同部位的重金属含量。各金属元素含量的变化范围为: Cd  $1.7\sim 219.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , Cr  $2.4\sim 76.8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , Cu  $6.4\sim 94.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , Ni  $0.7\sim 28.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , Pb  $11.0\sim 1406.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , Zn  $54.4\sim 2787.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 表明不同植物间对同种元素吸收能力差异较大。总的而言, Zn 在植物中的浓度最高, 其次是 Pb 和 Cu, 这主要是由土壤中金属含量的差异和它们的生物活性决定的(Marrugo-Negrete et al., 2016)。与一般植物的正常重金属含量相比(何东等, 2013), 多数植物的 Cd、Pb 和 Zn 含量高于正常值, 这可能与土壤中较高的 Cd、Pb、Zn 含量有关。Cd、Pb 和 Zn 的最高浓度分别出现在野苘蒿的叶部, 蜈蚣草的根部稗草的根部。此外, 一些植物中的 Cu 和 Cr, 以及少部分植物中的 Ni 浓度超过了正常植物范围的上限值。注意到大多数植物中叶片的重金属浓度比茎部较高, 这可能归因于茎部在转移从根部的吸收营养物质到叶片中的作用(Planquart et al., 1999)。从重金属对一般植物的毒性含量来看(Kabata-Pendias, 2011), 多数植物中的 Cd、Pb、Zn 和 Cu 含量达到致毒水平, 而 Ni 和 Cr 只在少数几个植物中超过毒害浓度。Nadgórska-Socha 等(2015)指出, 作为动物饲料牧草, 其体内 Cd 含量不应超过  $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , Pb 不超过  $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , Zn 不超过  $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。而本次调查中所有植物地上部的 Cd、Pb、Zn 均超过这些标准, 因此要注意本研究区荒废地生长的植物不能为牛、羊等动物所食

用。值得注意的是，蒲公英中的 Cu、Pb、Ni、Zn 和 Cr 含量均在一般植物的正常重金属含量范围内，Cd 含量较其他植物也相对较低，表明该物种对高强度的复合重金属胁迫已产生特殊的回避机制。

表3.3优势植物不同部位重金属含量 (mg kg<sup>-1</sup>)

		Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
正常含量		0.2~0.8	0.2~8.4	0.4~45.8	0.1~10	0.1~41.7	1~160
毒性含量		5~30	10~100	20~100	40~246	30~300	100~400
蜈蚣草	茎&叶	2.5	27.6	16.6	6.5	104.0	1198.0
	根	8.6	50.4	94.0	8.1	1406.9	2241.4
毛轴蕨	茎&叶	5.0	5.5	33.7	6.4	690.1	1984.0
	根	10.8	8.3	75.5	7.3	1300.0	1390.0
白茅	茎&叶	8.3	16.6	14.8	3.4	200.8	1509.4
	根	9.0	70.6	74.5	27.4	948.3	1737.8
小蓬草	茎&叶	40.9	5.4	60.0	4.4	323.4	1731.7
	根	27.1	6.8	55.2	6.6	221.0	923.7
积雪草	茎&叶	23.1	7.1	32.9	2.4	107.3	904.5
	根	20.8	6.9	46.1	3.6	253.9	1022.0
稗草	茎&叶	35.4	5.7	17.1	2.2	80.3	1735.5
	根	24.4	20.5	35.2	8.6	352.9	2787.0
苦苣菜	茎&叶	14.6	2.7	10.9	0.7	49.1	336.8
	根	10.7	3.4	11.7	1.3	84.9	253.0
中华苔草	茎&叶	6.7	41.4	6.4	15.1	15.5	357.8
	根	14.5	76.8	15.4	28.9	91.3	1452.8
胜红蓟	叶	67.6	5.9	26.9	4.5	60.4	1480.1
	茎	50.9	5.1	10.6	2.3	45.1	945.3
野苘蒿	根	39.2	21.9	44.3	12.0	257.0	1636.9
	叶	219.5	4.7	58.5	2.5	85.6	2196.9
野苘蒿	茎	159.6	4.7	25.4	1.5	113.2	1405.5
	根	79.8	53.1	43.8	12.5	411.3	1122.8
野艾蒿	叶	11.6	11.1	47.7	6.3	62.1	2216.5
	茎	5.9	6.0	31.2	3.0	60.9	1331.4
大叶醉鱼草	根	10.1	12.2	40.4	6.4	262.2	1575.6
	叶	18.1	2.4	35.6	4.5	35.2	1709.0
草	茎	7.7	5.5	11.9	5.3	45.1	711.2
	根	15.4	16.7	28.1	8.9	177.9	1423.3
千里光	叶	5.3	6.0	23.6	3.1	46.0	317.6
	茎	4.6	5.6	15.5	1.8	28.9	209.6
鬼针草	根	6.9	6.2	20.3	2.2	69.9	340.3
	叶	17.1	5.0	24.9	1.3	34.4	372.2

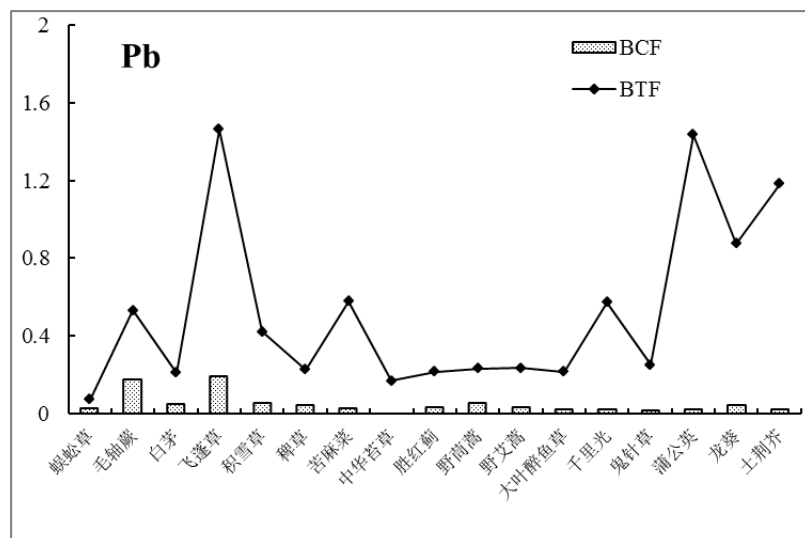
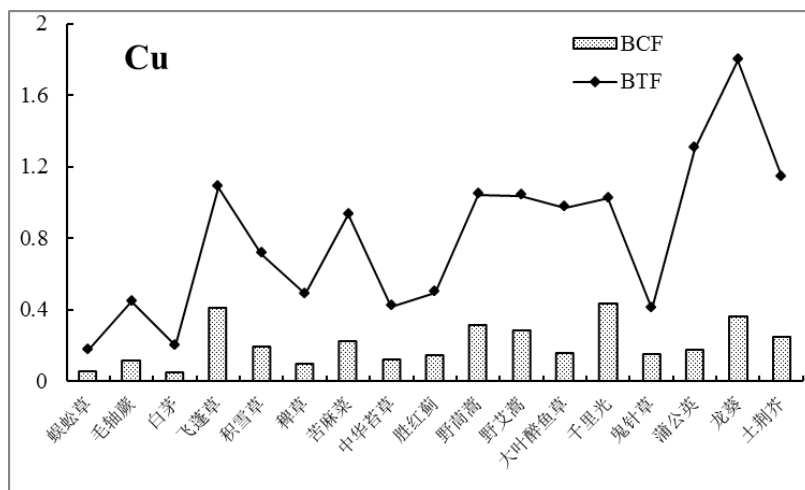
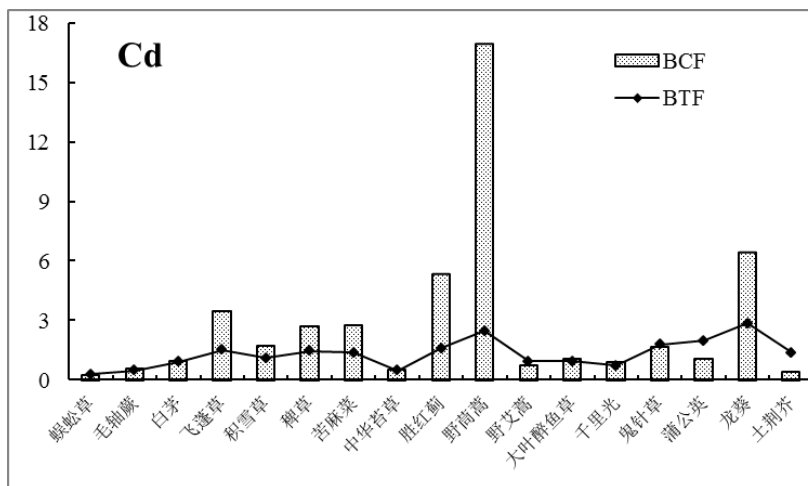
	茎	9.7	4.4	12.8	1.1	16.5	178.2
	根	7.9	16.5	49.8	6.6	109.2	246.7
	叶	4.0	4.2	13.2	2.9	21.1	133.4
蒲公英	茎	2.2	4.6	9.6	0.7	12.6	101.8
	根	1.7	4.7	9.3	1.1	12.9	54.4
	叶	23.1	5.8	30.1	2.3	36.2	183.6
龙葵	茎	11.2	3.5	12.7	2.6	30.0	155.8
	根	6.9	14.2	13.8	5.2	39.2	124.8
	叶	6.9	12.2	15.4	5.3	42.3	467.0
土荆芥	茎	3.0	5.5	8.3	1.5	11.0	175.3
	根	4.0	7.6	11.3	3.2	26.5	413.3

### 3.2.4 优势植物中重金属吸收和转运特征

本研究采用富集系数和转运系数来评价 17 种优势植物对 Cd、Cu、Pb 和 Zn 四种金属的富集和转移特征（图 3.1）。从图中可以看到，富集系数和转运系数在不同植物间的差异显著，说明了植物耐受重金属机制的不同策略（Chunilall et al., 2005）。从富集系数来看，Cd、Cu、Pb 和 Zn 的变化范围分别为 0.32~16.94，0.05~0.44，0.01~0.19 和 0.16~0.96，四种元素的富集系数的大小顺序依次为 Cd> Zn> Cu> Pb，与 Zhan 等（2014）在甘肃徽县某铅锌矿区的植物调查得到一致的结论。野苘蒿对 Cd 的富集系数最大，为 16.94，其次是龙葵（6.50）和胜红蓟（5.39）。所调查植物中，Cu、Pb 和 Zn 的最大富集系数依次出现在千里光（0.44）、飞蓬草（0.19）和野苘蒿（0.96）。Pb 在植物中的富集系数普遍较小，最高仅为 0.19，反应了 Pb 在植物中较低的活性和迁移能力。

从转移系数来看，多数植物对 Pb、Cu 和 Zn 的转运系数大于这几种金属的富集系数，表明这三种元素在多数植物根部中含量低于在土壤中相应的含量。相反地，除了土荆芥和蒲公英，Cd 在其他植物中的富集系数均高于其相应的转运系数。尽管如此，比起其他三种金属，植物对 Cd 具有较高的向上转移能力，而 Cu 和 Pb 则很少被运输到地上部。所研究的植物中 Cd、Pb、Cu 和 Zn 的最大转移系数依次出现在龙葵（2.84）、小蓬草（1.46）、龙葵（1.79）和蒲公英（2.11）。值得关注的是野苘蒿对 Cd、Cu 和 Zn 均具有较高的转运系数，分别为 2.46、

1.04 和 1.69, 而蜈蚣草和中华苔草对 Cd、Cu、Pb 和 Zn 的转运系数均小于 1, 表明这些植物会通过自身的排斥机制来阻止从地下部分吸收的重金属向地上转运, 以减少对植物生理系统的伤害。





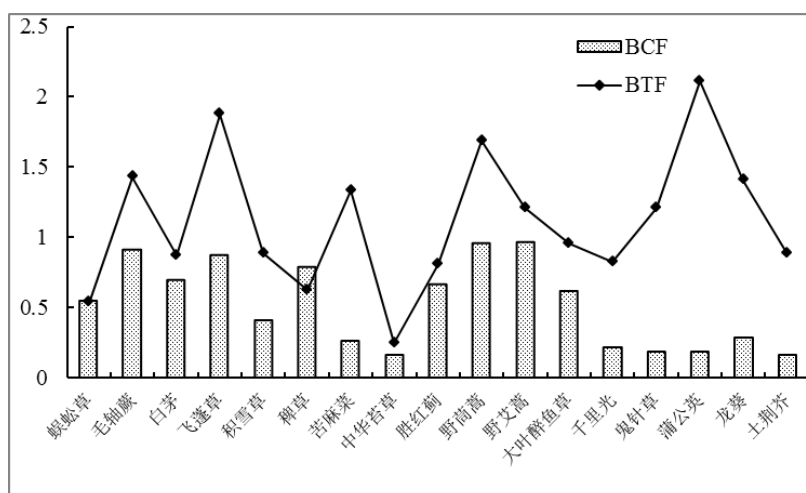


图 3.1 重金属元素在植物体内的富集系数 (BCF) 与转移系数 (BTF)

植物修复技术通常包括利用重金属积累植物或超积累植物对重金属较强的富集能力，通过收割地上部分提取土壤中重金属，而逐渐降低土壤中重金属含量的植物提取技术，以及利用重金属根部囤积型植物把重金属主要集中在根部而限制重金属向上运输，降低重金属的生物可利用性的植物稳定技术 (Guala et al., 2011; Nawab et al., 2016)。富集系数和转移系数常用来评价植物修复潜力的重要指标 (Galal and Shehata, 2015)。在本研究所调查的 17 种植物中，野苘蒿叶片和茎部的 Cd 含量分别为  $220 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  和  $160 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，超过了镉超富集植物  $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的临界阈值 (Baker and Brooks, 1989)。同时野苘蒿对 Cd 的富集系数和转移系数均  $>1$ ；研究区的野苘蒿生长旺盛，并未表现出重金属毒害症状，因此，野苘蒿对 Cd 的富集特征已完全具有 Cd 超富集植物的 4 个主要特征：即耐性特征、临界含量特征、强富集特征和向上转移特征 (孙约兵等, 2007)，基本可以认定野苘蒿是 Cd 的超富集植物，可进一步开展该植物对 Cd 污染土壤的修复潜力研究。我们也发现了野苘蒿对 Zn 也具有较强的富集和转运能力，对于多金属复合污染土壤，野苘蒿可能具有较好的应用前景。

前人研究报道已认定了龙葵和鬼针草为镉超富集植物，它们叶片中的 Cd 含量可分别高达  $194 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (魏树和等, 2004) 和  $303 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Sun et al., 2009)。而在本研究中，该两种植物地上部的 Cd 含量远低于报道中的值，这主要是由于土壤中 Cd 浓度的巨大差异所致 (3.0

$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  vs.  $25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  和  $8.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  vs.  $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )。尽管如此, 本研究中龙葵和鬼针草对 Cd 的富集系数和转移系数都 $>1$ , 证实了它们对 Cd 较强的富集和转运能力。此外, Cd 在小蓬草、胜红蓟、苦苣菜和稗草中的富集系数和转移系数也都大于 1, 虽然这些植物地上部的 Cd 未能达到镉超富集植物的临界值, 但它们具有植物提取修复 Cd 污染土壤的潜力。

考虑到修复时间和修复效率, 植物提取技术往往更适用于中低度的重金属污染土壤修复, 而对于重度污染的矿区土壤, 植物稳定技术更具现实意义和较强的可操作性 (Mahar et al., 2016)。适用于稳定修复的植物应该具有根系发达、生物量大, 能够吸收大量重金属且阻止重金属向地上部运输等特点 (Alvarenga et al., 2008)。此外, 理想的用于稳定重金属植物应该是已经适应当地土壤、气候等自然环境的本土植物, 以杜绝外来入侵物种破坏当地植物多样性的风险 (Mendez and Maier, 2008)。本研究的 17 种植物中, 蜈蚣草和中华苔草地上部的 Cd、Cu、Pb 和 Zn 含量比根部低得多, 表现为转移系数均 $<1$ 。此外, 这两种植物都是当地常见的速生草本多年生植物, 根系发达, 生物量较高, 能在较短的时间内在荒地上定居、生长和繁殖。因此, 蜈蚣草和中华苔草可用于研究区重污染地块或南方其他铅锌矿区重金属污染的稳定化修复。

### 3.2.5 研究区 3 种菊科植物体内重金属的亚细胞分布和化学形态特征

选取了研究区重污染地块自然生长的野苘蒿、胜红蓟和野艾蒿 3 种菊科植物, 对重金属 (Cd、Pb 和 Zn) 在植物中的亚细胞分布和化学形态特征进行研究。由 3.2.3 可知, Cd、Pb 和 Zn 在各菊科植物组织中的含量范围为: Cd  $5.9\sim 219.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ; Pb  $35.1\sim 411.3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ; Zn  $945.3\sim 2216.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 均超过一般植物的正常重金属含量值, 3 种植物对污染土壤重金属胁迫均表现出很好的适应性和耐性。3 种植物体内的 Zn 含量均较高, 根、茎、叶对 Zn 的富集系数均 $>1$ , 以野苘蒿和野艾蒿叶片中 Zn 含量最高, 分别为  $2196.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  和  $2216.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 但没有达到 Zn 超富集植物  $10000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的临界含量标准 (Baker and Brooks, 1989)。Pb 在 3 种植物中含量较低, 富集系数均 $<1$ , 最高均出

现在各自的根部，地上部分对 Pb 的富集系数  $\leq 0.1$ 。野茛蒿已基本认定为镉超富集植物，胜红蓟也表现出较强的 Cd 富集能力和向地上运输能力，也可作为 Cd 富集植物，用于 Cd 污染土壤的修复。

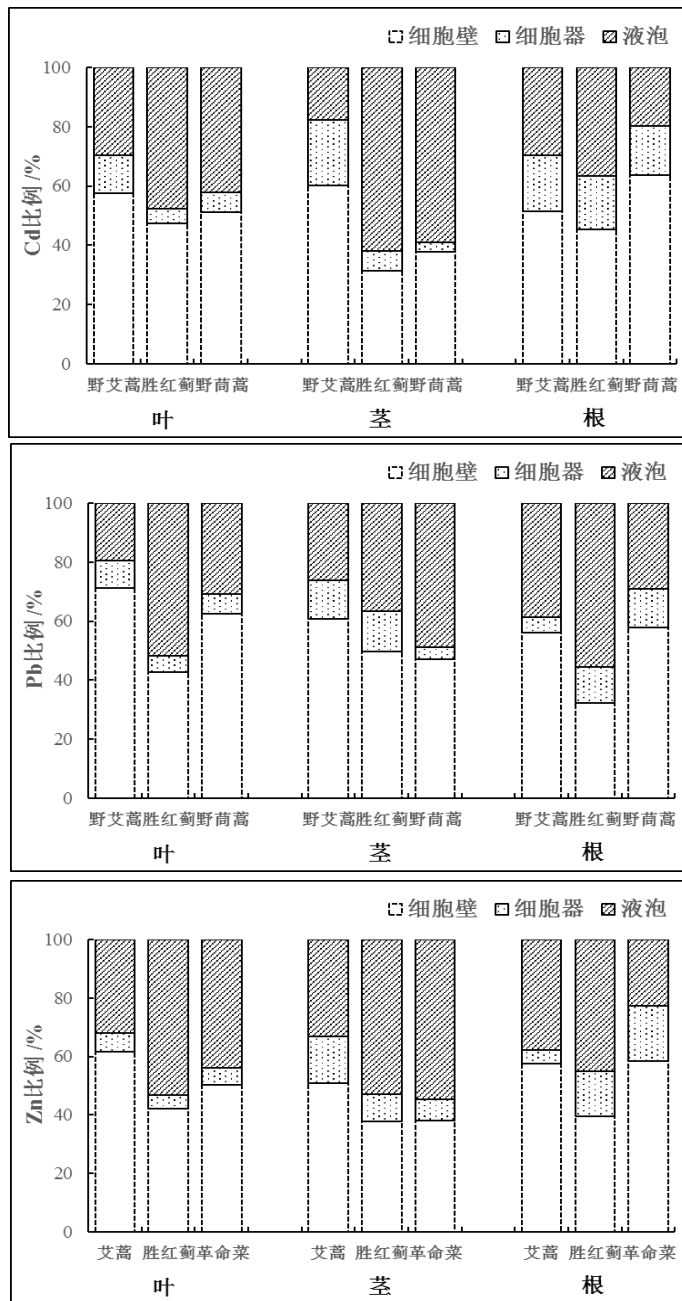
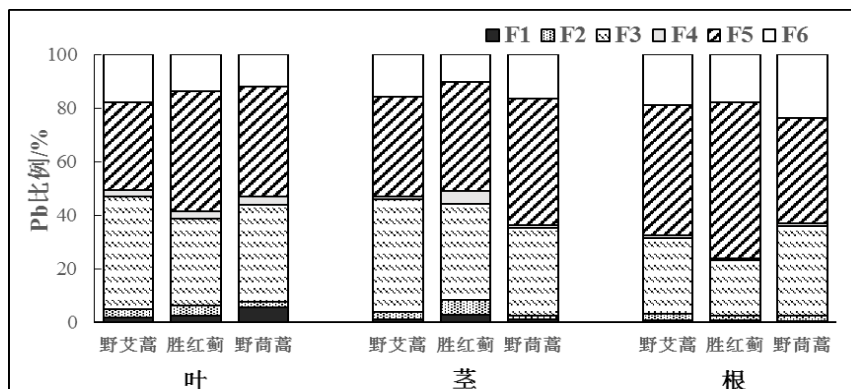


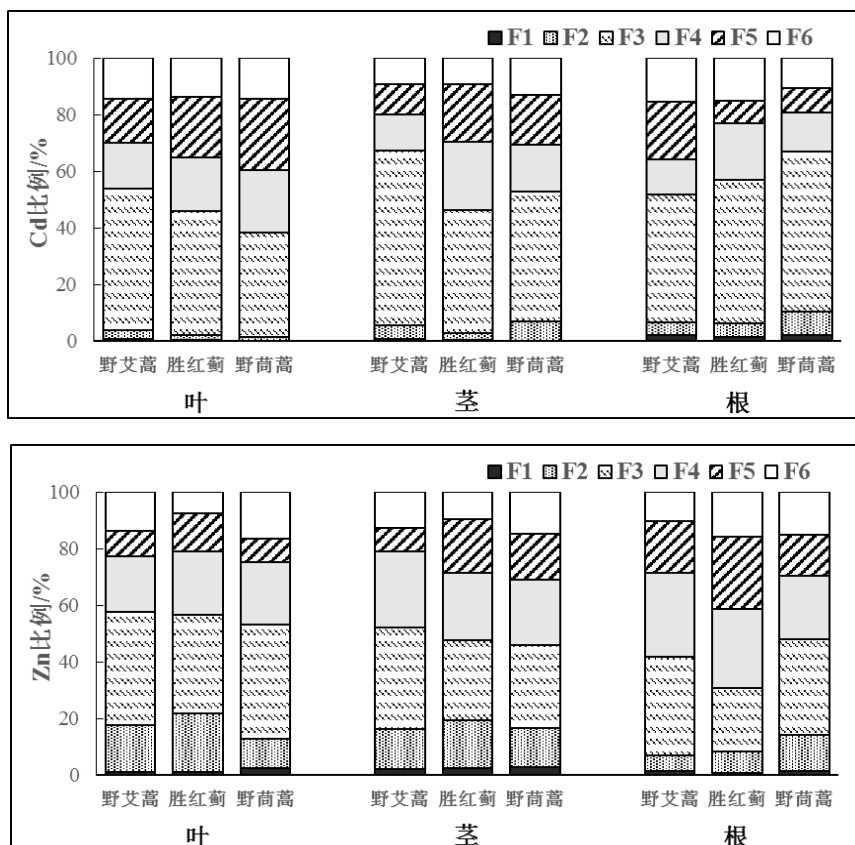
图 3.2 Cd、Pb、Zn 在 3 种菊科植物亚细胞组分中的分布

野艾蒿、胜红蓟和野茛蒿根、茎、叶亚细胞组分中 Cd、Pb 和 Zn 的分布情况见图 3.2。从图中可知，3 种植物叶、茎和根中的重金属主要蓄积在细胞壁（31.2%~71.7%）和液泡的可溶性组分中

(17.7%~54.7%), 少量存在于细胞器组分中 (3.4%~22.1%), 表明细胞壁和液泡的可溶组分是 3 种供试菊科植物储存重金属的两个最重要位点。在野艾蒿的各组织中, Cd、Pb 和 Zn 主要分布在细胞壁, 占总量的 50.9%~71.1%, 其次为液泡部分, 而在细胞器中的平均含量分数分别仅为 18.0%、9.1% 和 9.2%。3 种重金属在胜红蓟叶片的亚细胞组分中的含量高低顺序为: 液泡>细胞壁>细胞器, 而在野茼蒿的叶片中则表现为细胞壁>液泡>细胞器。在胜红蓟和野茼蒿的茎中, Cd 和 Zn 在液泡组分中所占比例分别约为 60% 和 50%; Pb 在胜红蓟的茎中主要分布在细胞壁, 占总量的 49.6%, 野茼蒿茎中的细胞壁和液泡中的 Pb 含量相当, 分别为 47.2% 和 48.9%。各金属在野茼蒿的根细胞壁中的分配比例以绝对优势占据总量的 57.8%~63.6%, 液泡次之。在胜红蓟的根细胞中, Cd 大部分存在于细胞壁, 而 Pb 和 Zn 主要分布在液泡的可溶性组分中。

采用提取剂分级提取测定 6 种不同化学形态的重金属, 3 种菊科植物各组织 Cd、Pb 和 Zn 所占比例如图 3.3 所示。可以看出, 在 3 种植物的各部位, 乙醇提取态 Cd、Pb 和 Zn 的分配比例均很低, 最高仅为 5.8%。Cd 在 3 种植物中以 NaCl 提取态为主, 这部分形态所占比例为 37.0%~61.9%, 去离子水提取态的分配比例较少, 平均仅为 4.3%。Pb 在植物组织中以 NaCl 提取态 (20.6%~42.1%) 和 HCl 提取态 (32.9%~58.4%) 占多数, 其次为残渣态, 乙醇提取态、去离子水提取态和 HAc 提取态合计仅占总量的 3.9%~13.2%。Zn 在植物茎叶的形态主要是 NaCl 提取态, HAc 提取态和去离子水提取态次之; 在植物根细胞中, Zn 以 NaCl 提取态和 HAc 提取态为主导形态, 其次为 HCl 提取态。





F1 为乙醇提取态；F2 为去离子水提取态；F3 为氯化钠提取态；F4 为醋酸提取态；F5 为盐酸提取态；F6 为残渣态

图 3.3 Cd、Pb、Zn 在 3 种菊科植物中的化学形态分布

重金属在细胞壁的沉淀及细胞内的区隔化分布是植物内部解毒的两个重要途径 (Brune et al., 1994)。植物细胞壁含有蛋白质、多糖、果胶酸以及大量的羟基、羧基、醛基、氨基或磷酸基等亲金属的配位基团，容易固定重金属离子 (Rauser, 1999)。因此，细胞壁是重金属进入细胞内部的第一道屏障，对于维持细胞正常生理代谢、保护植物正常生长起到关键作用。在本研究中，野艾蒿各组织细胞中细胞壁组分重金属含量均占有最高分配比，可见细胞壁的固持作用是野艾蒿对重金属忍耐与解毒的主要机制。此外，在野苘蒿体内积累的 Pb 和 Zn 主要与细胞壁结合，从而降低对其他细胞结构的伤害。当重金属离子在细胞壁上的结合达到饱和，大部分进入到细胞的重金属会被转运至液泡中，与液泡中含有的糖类、有机酸、氨基酸、无机盐等多种物质络合，实现区隔化 (Cosio et al., 2004)。长柔毛委陵菜细胞内的 Cd

主要分布在细胞壁和可溶组分中,且叶片中 90% 以上原生质体中的 Cd 富集在液泡中(周小勇等, 2008)。美洲商陆中 53.7%~68.3% 的 Cd 蓄积在细胞可溶组分中,其次是细胞壁(Fu et al., 2011)。周守标等(2011)的研究结果表明,皖景天的细胞内的 Cd 主要储存在可溶部分,在叶中可溶部分 Cd 占 93% 以上。本试验发现, Cd 在胜红蓟和野茼蒿茎叶细胞液泡中占有相当高的分布比例(42.3%~61.9%),显著高于液泡的 Cd 在野艾蒿茎和叶细胞的分配比(分别为 17.7% 和 29.7%),因此,液泡区隔化作用可能是胜红蓟和野茼蒿能够强富集 Cd 的关键因素。胜红蓟各组织细胞液泡中较高的 Pb、Zn 含量也说明了液泡中的可溶部分在胜红蓟耐受 Pb 和 Zn 胁迫中发挥主要作用。

由于重金属在不同极性提取剂中的溶解度有很大差别,不同提取剂的提取量可以反映重金属存在的化学形态差异(徐劼等, 2011)。乙醇主要提取无机盐、氨基酸盐等物质;去离子水主要提取水溶性有机酸盐等;氯化钠主要提取与蛋白质结合或吸附态以及果胶酸盐等;醋酸主要提取难溶于水的重金属磷酸盐;盐酸提取草酸盐等。乙醇和去离子水提取态生物毒性和迁移活性最强,最容易使植物受到毒害,氯化钠提取态次之,醋酸与盐酸提取态生物毒性与迁移活性最弱(王明新等, 2014; 吴朝波等, 2016)。本研究结果发现, Cd、Pb 和 Zn 在 3 种植物体内主要以蛋白质结合或吸附态及果胶酸盐的形式存在,结合分析三种重金属元素在植物中亚细胞分布特征,这部分形态的重金属可能与细胞壁和细胞膜中果胶酸和蛋白质等的固定作用有关;其次是以磷酸盐和草酸盐的形式存在,而这部分移动性较差形态的重金属可能与液泡中的有机酸的络合作用有关。

吴朝波等(2016)和钟海涛等(2013)发现在海雀稗和小飞扬草中 Cd 主要以 NaCl 提取态和 HAc 提取态为主。超积累东南景天(李会合和杨肖娥, 2009)植物体内 Cd 形态以 NaCl 提取态、HAc 提取态和水提取态占优势。然而在三色堇(白雪等, 2014)和萱草(李红婷和董然, 2015)中却发现 Cd 主要以活性较强的乙醇提取态为优势形态。本试验中, 3 种菊科植物根和茎叶的 Cd 形态都是以 NaCl 提取态最多,但 3 种植物间的 Cd 化学形态分布特征存在一定的差异。在野艾蒿中,活性较弱、毒性较低的 Cd 形态(HAc 提取态+HCl 提取态+

残渣态)分别占叶和茎中 Cd 总量的 46.3%和 32.6%，低于胜红蓟的 54.2%和 53.7%以及野苘蒿的 61.7%和 47.3%。胜红蓟和野苘蒿茎叶中蓄积更多的 Cd 以低毒性的形态存在，有利于减弱 Cd 对植物茎叶的毒害作用，增强植物对 Cd 的耐性。从植物根系来看，野苘蒿根系中较高的有效态 Cd (乙醇提取态+去离子水提取态+NaCl 提取态)含量，有助于野苘蒿对 Cd 的吸收及向地上部的转运和积累。

### 3.3 小结

(1) 研究区土壤主要污染元素包括 Cd、Pb 和 Zn，其浓度值分别比其对应的背景值高出 46.5、57.3 和 23.7 倍，反映了该地土壤受上游铅锌矿生产活动和尾矿垮坝的影响。

(2) 研究区优势植物几乎为草本植物，且以菊科为主。多数优势植物中 Cd、Pb 和 Zn 的含量超过一般植物正常含量范围和植物毒性水平。野苘蒿、胜红蓟、小蓬草、苦苣菜和稗草对 Cd 具有较强的富集和转移能力，可作为镉富集植物，用于镉污染土壤的修复。其中野苘蒿满足了镉超富集植物的耐性特征、临界含量特征、强富集特征和向上转移特征，可基本判定为镉超富集植物。蜈蚣草和中华苔草地上部对 Cd、Cu、Zn 和 Pb 的吸收和转运效率较低，使得它们适用于研究区污染土壤的植物稳定化修复。

(3) 研究区自然生长的野苘蒿、野艾蒿和胜红蓟 3 种菊科植物地下部和地上部的 Cd、Pb 和 Zn 主要分布在液泡可溶组分和细胞壁中，而在细胞器中的分布较少。植株中大部分的重金属以迁移性较低的氯化钠提取态、醋酸提取态和盐酸提取态存在。因此，液泡区隔化、细胞壁固持和重金属以低活性的化学形态为主可能是 3 种菊科植物应对重金属胁迫的重要耐性机制。与野艾蒿相比，胜红蓟和野苘蒿茎叶中的 Cd 更多地贮存在液泡中，且地上部“活性态”Cd 的积累比例低于根系，这些很可能是胜红蓟和野苘蒿忍耐和富集镉的重要途径。

## 4 三种菊科植物对铅锌冶炼废渣土壤重金属的积累特征

### 4.1 材料与amp;方法

#### 4.1.1 试验材料

盆栽试验所需材料包括自然土壤、铅锌矿渣和试验植物幼苗。自然土壤来自贵阳市郊荒地 0~20 cm 的表层土壤，铅锌矿渣采集自 2.1 的贵州省威宁县某铅锌冶炼厂废矿渣，供试 3 种菊科植物包括野茼蒿、胜红蓟和三叶鬼针草，试验植物幼苗（高为 2~5 cm）来自同一非污染区的自然荒地所采集，洗干净后移植于温室大棚中预培养 2 周，再移栽至盆栽花盆中。

#### 4.1.2 盆栽基质

铅锌矿渣和自然土壤按不同体积比例混配而成（见表 4.1），共 4 个处理，每个处理设置 3 个重复，每盆土装 4 kg，在每一个盆上做好不同处理的标记。

表4.1 不同基质处理配比（按体积比）

基质组	基质配比
对照（CK）	100%自然土
T1	20%矿渣+80%自然土
T2	60%矿渣+40%自然土
T3	100%矿渣

#### 4.1.3 盆栽试验

试验幼苗在预培养2周后，选择长势大致相同的植物幼苗分别移栽到各盆中，每盆各4株苗。为保证生长所需营养物质，施入相同的植物生长所需的N、P肥（ $\text{CO}(\text{NH}_2)_2 + \text{KH}_2\text{PO}_4$ ），并根据需要不定期浇水。植物生长周期从2016年6月20日到8月30日，共计70天。

#### 4.1.4 样品采集与处理

在植物成熟期收获植物的根、茎、叶样品，并采集每盆对应的土壤样品。选取每个处理的 6 株植物，分别测定其株高，计算每个处理植物的平均株高，然后将其分成根、茎、叶三部分，再分别称重。最



后将每个处理的根、茎、叶分别混成一个样品。植物和土壤样品的前处理方法同 3.1.2。

#### 4.1.5 样品分析

##### (1) 土壤和植物样品重金属含量测定

分析方法同 2.1.3。

##### (2) 植物样品游离氨基酸含量的测定

取新鲜植物组织样品，超纯水清洗，冷冻干燥去除水分，并用植物粉碎机打碎，过 100 目筛，至 $-20^{\circ}\text{C}$ 低温保存，备用；称取过筛样品 0.2 g，转入 50 mL 离心管，加 2 mL 超纯水混匀后，超声 15 min， $10000\text{ r min}^{-1}$  离心 30 min，取上清液；残渣复提 2 次；加入等体积的 20% 三氯乙酸沉淀蛋白； $10000\text{ r min}^{-1}$  离心 30 min，取上清液，过 0.45  $\mu\text{m}$  滤头，盐酸调节 pH 在 1~2 之间；将活化好的陶氏树脂 2 mL 加入到玻璃层析柱中，将上清液加入到层析柱上，慢流速过柱；过柱完成后，静置 5 min，再加入 10 mL 超纯水，然后加入 15 mL 的  $4\text{ mol L}^{-1}$  的氨水洗脱，收集流出液，并将流出液冷冻干燥；干燥完成后，用  $0.1\text{ mol L}^{-1}$  盐酸溶液溶解，定容到 1 mL，转移到样品瓶中，高效液相色谱 (HPLC, 1260, Agilent) 测定。共得到 20 种氨基酸：天冬氨酸 (Asp)，谷氨酸 (Glu)，天冬酰胺 (Asn)，丝氨酸 (Ser)，谷氨酰胺 (Gln)，组氨酸 (His)，甘氨酸 (Gly)，苏氨酸 (Thr)，瓜氨酸 (Cit)，精氨酸 (Arg)，丙氨酸 (Ala)， $\gamma$ -氨基丁酸 (GABA)，酪氨酸 (Tyr)，半胱氨酸 (Cys)，缬氨酸 (Val)，色氨酸 (Trp)，苯丙氨酸 (Phe)，异亮氨酸 (Ile)，亮氨酸 (Leu)，脯氨酸 (Pro)。

## 4.2 结果与分析

### 4.2.1 供试土壤重金属含量

表 4.2 为 4 个处理土壤中主要重金属总量和有效态含量的测定结果，由表 4.2 可知，相对于贵州省土壤环境背景值 (刘凤枝, 2001)，对照土壤的 Cu、Pb 和 Zn 含量超标，而铅锌矿渣土壤 (T3) 中的 5 种元素均有不同程度超标，其中 Cd、Cu、Pb 和 Zn 的含量分别是土壤

背景值的 115.1、33.6、669.1 和 247.7 倍，Ni 含量相对较低，为背景值的 2.2 倍。根据国家土壤环境质量二级标准（GB15618-1995），对照土壤的 Cd 含量是二级标准的 2.1 倍，Zn 含量也略超过二级标准。而铅锌矿渣土壤（T3）中，Cd、Cu、Pb 和 Zn 分别超标 252.8、7.2、94.2 和 123.2 倍；Cd、Pb 和 Zn 的有效态含量也远超过国家二级标准，尤其是有效态的 Cd，表明铅锌矿渣土壤主要的污染元素为 Cd、Pb 和 Zn，且超标严重，可能对植物生长具有较强的毒性和危害性。从重金属的有效性系数（有效态含量占总量的比例）来看，Cd 的平均有效性系数最高，为 57%，其次为 Zn（28%），Cu（18%），Ni（17%）和 Pb（15%）。

表4.2 试验土壤重金属含量/ mg kg<sup>-1</sup>

	土样	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
全量	CK	0.62	47.20	24.00	154	209
	T1	15.43	270.27	43.24	3534	4806
	T2	45.20	710.65	60.30	11966	14647
	T3	75.84	1074.10	71.88	23551	24643
有效态	CK	0.27	2.30	1.20	5.4	35.3
	T1	10.43	37.99	5.97	661.3	2093.4
	T2	21.03	83.93	9.46	1647.4	2968.9
	T3	43.21	268.29	18.63	3290.5	4874.3
国家二级标准		0.30	150	40	250	200
土壤背景值		0.659	32.0	32.8	35.2	99.5

#### 4.2.2 不同矿渣基质对植物生长性状的影响

铜、镍和锌是植物生长必需的微量营养物质，这些元素与许多植物中酶系统和某些其他蛋白质有关。而过高浓度却导致植物叶片失绿和坏死，影响植物营养和水分吸收。镉和铅是对植物有毒害作用的金属元素，常见的毒性症状通常包括抑制植物生长发育，影响光合作用和物质代谢，甚至导致突变作用（Küpper and Andresen, 2016; Nawab et al., 2015）。

图4.1和图4.2为不同处理的矿渣处理对三种供试植物主要生长指标（平均株高和平均每盆总生物量）的影响。从图中可以看出，三种植物的株高相差不大，而生物量高低顺序依次为野苘蒿>三叶鬼针草>胜红蓟。当盆栽土壤中废渣比例为 20%时，三种植物的平均株高和平

均生物量较对照处理均无显著差异，指示未受影响。含有 60% 废渣的盆栽土壤对胜红蓟的株高和鬼针草的生物量开始出现明显的抑制作用；当盆栽基质为 100% 矿渣时，野苘蒿、胜红蓟和鬼针草的平均株高和平均生物量分别为对照处理的 69% 和 53%，70% 和 54%，77% 和 49%，表明高浓度的复合重金属对植物生长产生毒害和胁迫作用，但其仍正常生长，外观未表现出明显的受毒害症状，表现出一定的适应性。

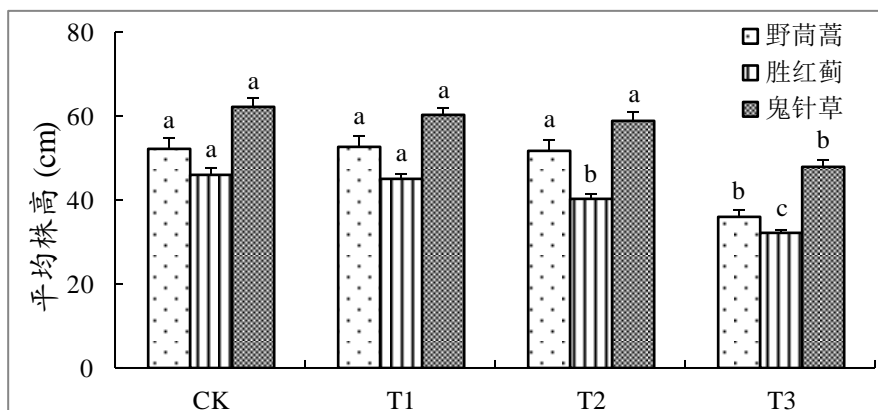


图 4.1 矿渣添加处理对植物株高的影响，字母 a、b、c 表示同种植物不同处理间的显著差异 ( $P < 0.05$ )

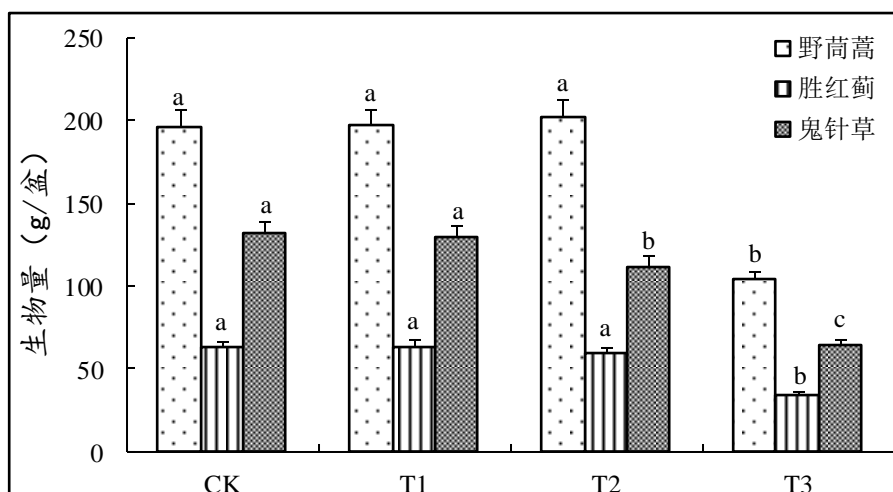


图 4.2 矿渣添加处理对植物总生物量的影响，字母 a、b、c 表示同种植物不同处理间的显著差异 ( $P < 0.05$ )

#### 4.2.3 重金属在三种植物不同器官的吸收积累

测定分析了不同矿渣处理下三种试验植物各部位的重金属含量

(表 4.3~4.5), 结果表明, 植物体内重金属的含量随着土壤中重金属含量的升高而增加。一般植物的正常重金属含量为 (何东等, 2014): Ni:  $0.1 \sim 10 \text{ mg kg}^{-1}$ ; Cd:  $0.2 \sim 3 \text{ mg kg}^{-1}$ ; Pb:  $0.1 \sim 41.7 \text{ mg kg}^{-1}$ ; Zn:  $1 \sim 160 \text{ mg kg}^{-1}$ ; Cu:  $0.4 \sim 45.8 \text{ mg kg}^{-1}$ 。对照条件下三种植物中各元素的浓度及添加矿渣各处理下植物各组织的 Cu 和 Ni 的含量未超过一般植物的正常含量; 添加矿渣处理下三植物的根、茎和叶中的 Cd 和 Zn 含量多数超过一般植物的含量, 尤其是 Cd 含量远超于正常含量, 其中革命菜中叶和茎中的 Cd 含量最大值分别为  $132.1$  和  $159.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 超过 Cd 超富集植物  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的临界标准。植物中的铅浓度则在 T3 条件下才出现超标, 这可能是由于矿渣中 Pb 的生物活性较低。从重金属在植物各组织中的分布来看, 吸收的 Cd 和 Zn 主要积累在地上部分, 且表现为叶片 > 茎部, 而 Pb 和 Cu 主要分布在根系。总体上看, Cd 在野苘蒿体内的含量普通高于胜红蓟和鬼针草, 胜红蓟体内的 Cu 和 Zn 含量较其他两种植物低, Pb 则相对更容易在鬼针草中富集。从富集系数来看, 三种植物对四种金属元素的富集系数随着矿渣比例的升高而降低, Cd 的富集系数普遍大于 1, 这主要与土壤中较高的 Cd 有效性系数有关; 含有矿渣基质条件下, 植物对 Pb 和 Zn 的富集系数较低, 在 0.01~0.12 之间。

表4.3 野苘蒿各部位重金属含量及富集系数

试验 土壤	部 位	含量/ $\text{mg kg}^{-1}$				富集系数			
		Cd	Cu	Pb	Zn	Cd	Cu	Pb	Zn
CK	叶	0.81	10.84	12.15	45.23	3.00	4.71	2.25	1.28
T1		35.69	31.71	19.6	248.6	3.42	0.83	0.03	0.12
T2		58.1	24.68	24.21	273.15	2.76	0.29	0.01	0.09
T3		132.1	28.9	31.3	568.34	3.06	0.11	0.01	0.12
CK	茎	0.76	10.03	13.16	43.24	2.81	4.36	2.44	1.22
T1		28.47	21.96	19.12	194.22	2.73	0.58	0.03	0.09
T2		44.14	16.38	25.21	266.11	2.10	0.20	0.02	0.09
T3		159.14	26.48	86.49	550.36	3.68	0.10	0.03	0.11
CK	根	0.57	11.31	25.82	31.85	2.11	4.92	4.78	0.90
T1		19.03	28.24	69.23	130.23	1.82	0.74	0.10	0.06
T2		35.58	39.73	169.06	283.13	1.69	0.47	0.10	0.10
T3		67.15	47.66	257.19	452.67	1.55	0.18	0.08	0.09

表4.4 胜红蓟各部位重金属含量及富集系数

试验 土壤	部 位	含量/ mg kg <sup>-1</sup>				富集系数			
		Cd	Cu	Pb	Zn	Cd	Cu	Pb	Zn
CK	叶	0.34	9.6	5.84	21.6	1.26	4.17	1.08	0.61
T1		26.82	25.21	21.53	232.14	2.57	0.66	0.03	0.11
T2		57.61	23.33	29.73	291.49	2.74	0.28	0.02	0.10
T3		99.69	29.16	74.13	683.02	2.31	0.11	0.02	0.14
CK	茎	0.38	6.48	3.83	24.63	1.41	2.82	0.71	0.70
T1		8.95	10.74	20.92	86.91	0.86	0.28	0.03	0.04
T2		28.21	10.53	33.08	130.55	1.34	0.13	0.02	0.04
T3		58.4	20.31	81.14	287.63	1.35	0.08	0.02	0.06
CK	根	0.46	10.34	11.79	24.05	1.70	4.50	2.18	0.68
T1		6.88	18.29	59.91	112.78	0.66	0.48	0.09	0.05
T2		22.92	25.43	121.38	176.47	1.09	0.30	0.07	0.06
T3		25.8	37.22	158.21	253.52	0.60	0.14	0.05	0.05

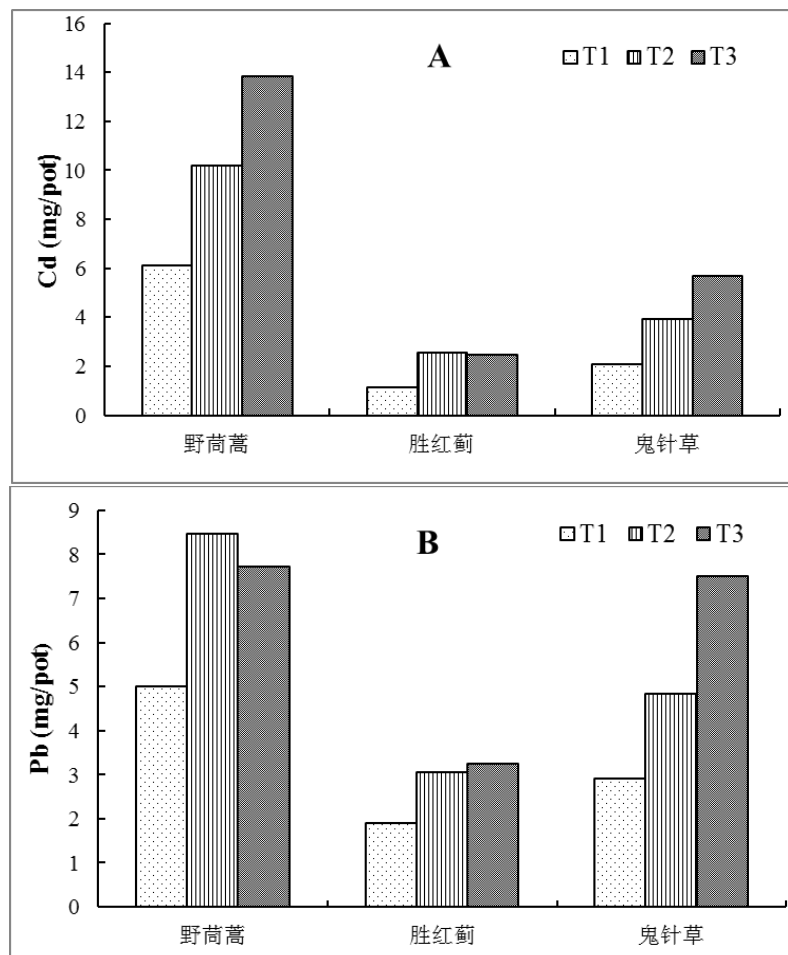
表4.5 鬼针草各部位重金属含量及富集系数

试验 土壤	部 位	含量/ mg kg <sup>-1</sup>				富集系数			
		Cd	Cu	Pb	Zn	Cd	Cu	Pb	Zn
CK	叶	0.47	13.59	7.61	58.47	1.74	5.91	1.41	1.66
T1		18.62	18.18	9.26	186.33	1.79	0.48	0.01	0.09
T2		34.89	20.88	13.44	258.71	1.66	0.25	0.01	0.09
T3		47.27	18.13	19.93	376.58	1.09	0.07	0.01	0.08
CK	茎	0.31	5.35	18.64	39.75	1.15	2.33	3.45	1.13
T1		14.41	5.97	22	79.44	1.38	0.16	0.03	0.04
T2		23.46	8.94	26.02	149.38	1.12	0.11	0.02	0.05
T3		42.04	9.04	64.62	259.94	0.97	0.03	0.02	0.05
CK	根	0.27	17.53	46.96	48.23	1.00	7.62	8.70	1.37
T1		11.74	20.92	71.29	94.65	1.13	0.55	0.11	0.05
T2		25.13	30.51	142.11	167.86	1.19	0.36	0.09	0.06
T3		30.75	36.65	175.77	275.01	0.71	0.14	0.05	0.06

#### 4.2.4 矿渣基质中三种植物对重金属的总吸收量

根据三种植物在不同土壤基质条件下根、茎、叶的生物量以及重金属在植物不同器官中的含量，可计算得不同土壤基质下植物各器官及植物整株吸收的重金属的总量。图 4.3 为 3 种研究植物对 Cd、Pb 和 Zn 的每盆吸收量。由于 3 种植物生物量相差较大，各植株所吸收

的重金属质量分数也有较大差异，因此它们对 Cd、Pb 和 Zn 的每盆吸收量也呈现出显著性差异。从图中可看出，每种植物对各种重金属的吸收量大小排列顺序均为野苘蒿>鬼针草>胜红蓟，其中在纯矿渣污染土壤中野苘蒿对 Cd 和 Zn 的吸收量分别是胜红蓟的 5.5 和 3.4 倍，鬼针草与胜红蓟相比也分别达到了 2.3 和 2.5 倍。随着土壤中矿渣含量的升高 (T1~T2)，3 种植物体内所积累的重金属含量也呈增加，而 T3 处理与 T2 相比，野苘蒿的吸 Cd 量和鬼针草对 Cd、Pb 和 Zn 的积累持续增长，而野苘蒿对 Pb 和 Zn 的吸收以及胜红蓟对三金属元素的累积量并未显著增加，表明鬼针草对复合重金属污染的矿渣土壤具有较强的耐性，而胜红蓟的耐性相对较差。



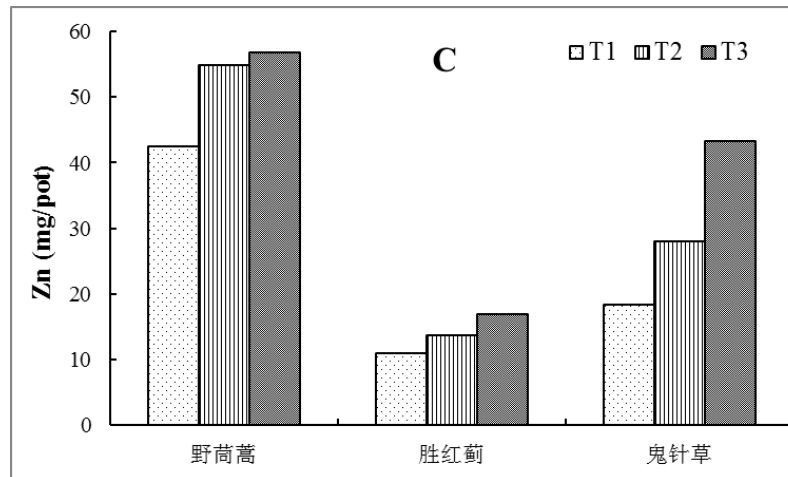


图 4.3 三种植物对 Cd(A)、Pb(B)和 Zn(C)的总吸收量

#### 4.2.5 植物各组织游离氨基酸对矿渣处理的响应变化

植物体内的游离氨基酸能反映植物体内的氮素代谢变化及植物对氮素的吸收、运输、同化等状况，植物受到重金属胁迫时，氨基酸代谢受到干扰，细胞内的氨基酸组成和含量会发生一系列的变化，同时这也是植物适应胁迫的重要机制(Zemanová et al., 2014; Zoghlami et al., 2011)。图 4.4 和 4.5 为胜红蓟和野苘蒿在不同比例矿渣的盆栽基质条件下各组织中总游离氨基酸和各游离氨基酸的含量。由图可得，在对照土壤中，胜红蓟体内总游离氨基酸含量在不同器官中的大小顺序依次为叶片>茎部>根部，而野苘蒿中则表现为茎部>叶片>根部。野苘蒿各组织中的总游离氨基酸含量均高于胜红蓟，特别是在根部和茎部，分别高出 1.0 和 2.3 倍。Chaffei 等（2004）指出，富含高 N/C 值的氨基酸能为植物提供更多的营养储备而作为植物在胁迫条件下的保护机制。本研究中两种植物总游离氨基酸的对比情况也支持这一观点。随着矿渣比例的升高，胜红蓟各器官的总游离氨基酸含量随之增加，尤其在茎部，最多提升了 13.2 倍；而在野苘蒿中，根部总游离氨基酸含量依次升高，叶片和茎部则为先小幅降低而后升高，T3 条件下各组织合成的氨基酸显著高于对照。在纯矿渣基质土壤中，胜红蓟各器官中总游离氨基酸的含量则高于野苘蒿，可能是胜红蓟为了适应高强度的重金属胁迫而大量合成氨基酸。

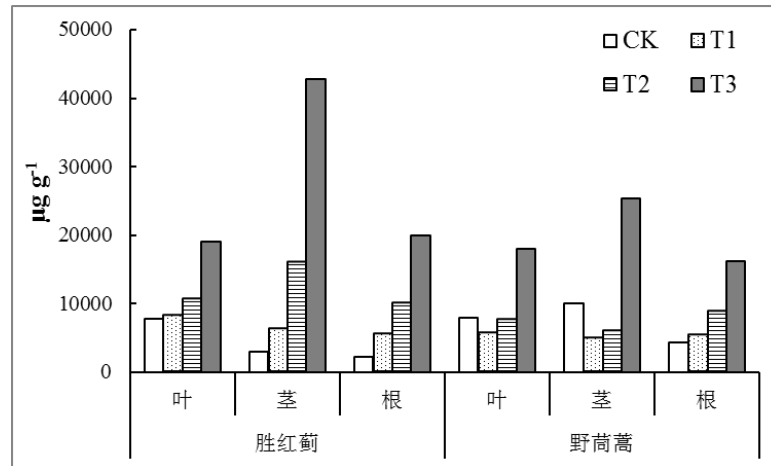
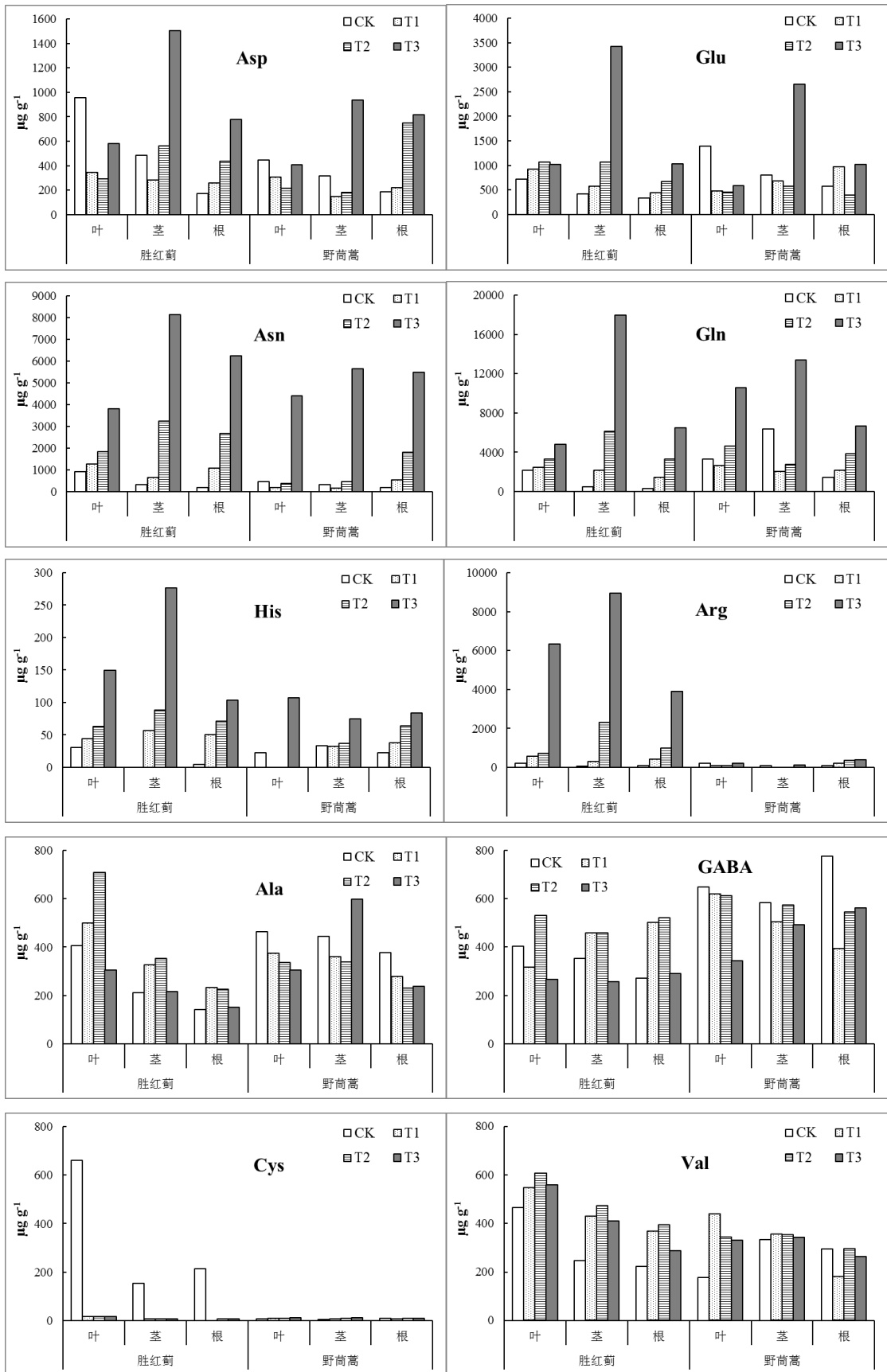


图 4.4 不同矿渣基质下植物不同组织中总游离氨基酸的含量

在两种植物中，Asp、Asn、Glu、Gln、Ala、GABA、Val 均为主要的游离氨基酸，在胜红蓟和野茼蒿的不同处理中，分别占总量的 60%~82% 以及 86%~94%，其中以 Gln 含量居多，在胜红蓟和野茼蒿中占总氨基酸含量的比例最高可分别达 42% 和 64%。随着土壤中矿渣含量的增加，两种植物不同组织中的 Asn、Gln、His 的含量也随之升高。其中，胜红蓟茎中的 Gln 含量从  $457\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  提升至  $17970\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，升高 39 倍，可见胜红蓟茎部总总游离氨基酸的增加主要来自 Gln 的贡献。此外，胜红蓟中的 Arg、Gly、Glu、Thr、Tyr、Phe、Trp、Ile、Cit 的浓度也随着矿渣比例的升高而大幅度增加，尤其是 Arg，T3 处理胜红蓟叶片和茎部的 Arg 含量分别较对照增加 28 和 198 倍，而这些氨基酸在野茼蒿中增加不甚明显，甚至出现降低趋势。Asp、Ala、Gaba、Val、Ser、Leu 在两种植物种的含量随着土壤基质矿渣比例的升高，呈先增加后降低或先降低后增加的波浪状变动。值得注意的是自然土壤生长的胜红蓟体内具有较高的 Cys 含量，土壤中添加矿渣后胜红蓟体内的 Cys 含量较对照处理下降了 95%~98%，而 Cys 在不同土壤处理野茼蒿中的含量均较低。重金属胁迫下，两种试验植物中各种氨基酸含量的升高或降低的变化规律不尽相同，植物中游离氨基酸的种类和数量变化，可能与植物缓解重金属毒害胁迫存在一定的相关性。由于矿渣成分复杂，含有多种重金属，植物的游离氨基酸对不同金属元素胁迫的响应各异而显复杂，因此在下一章节中，将进一步开展两种植物的氨基酸代谢与镉胁迫的关系研究。





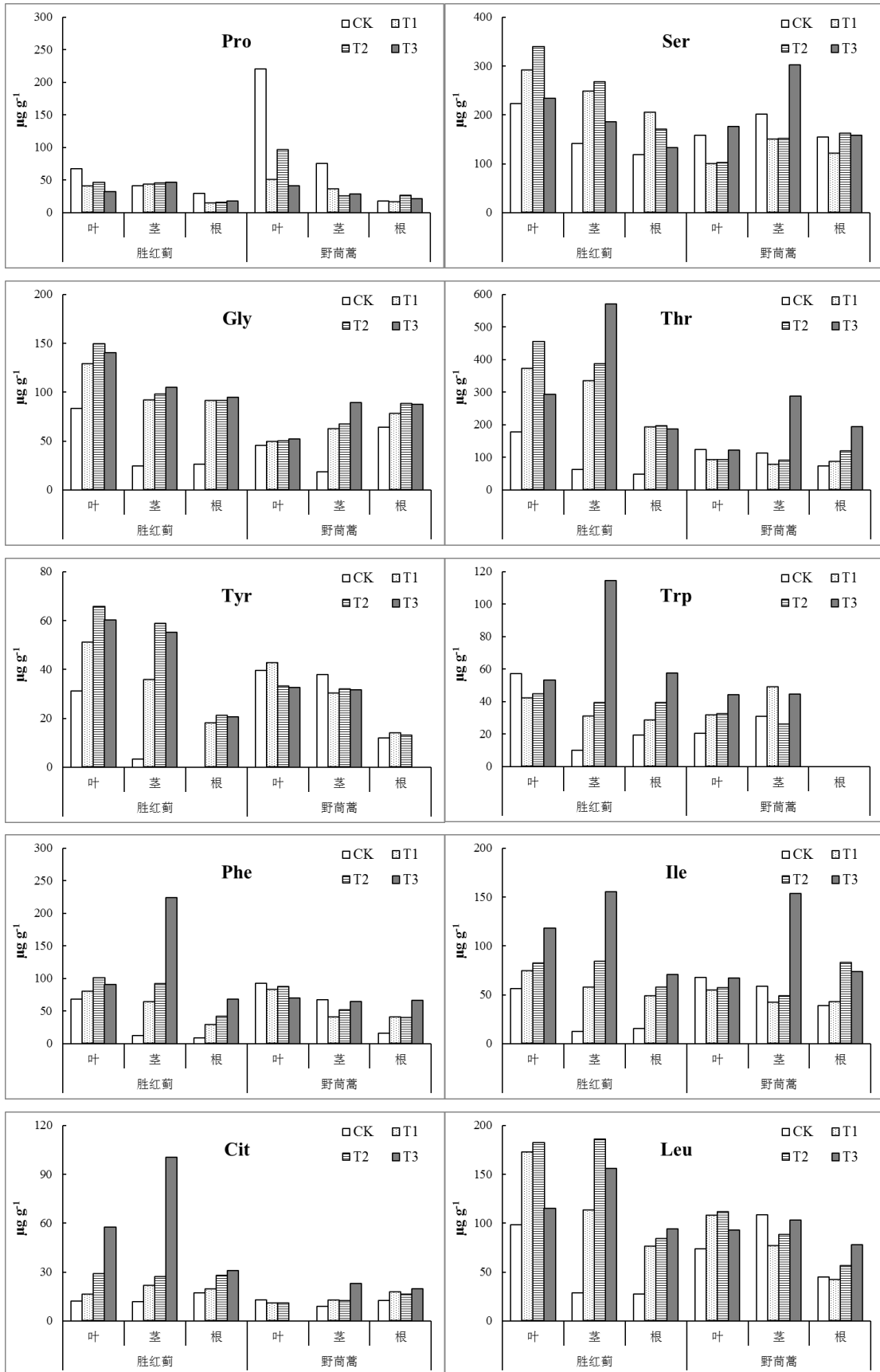


图 4.5 不同矿渣基质下植物不同组织中各游离氨基酸的含量

### 4.3 小结

(1) 在含有不同比例的铅锌冶炼废渣的盆栽试验中,当盆栽土壤中废渣比例为 20%和 60%时,三叶鬼针草、革命菜、胜红蓟的株高和生物量较对照处理未有显著差异;当盆栽基质为 100%废渣时,植物株高和生物量分别为对照处理的 68%~80%和 58%~67%,但植物能正常生长,外观未表现出明显的受毒害症状,具有良好的适应性。Pb、Zn 和 Cd 在植物中的含量范围为: Pb  $9.3\sim 257.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , Zn  $79.4\sim 683.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , Cd  $6.9\sim 159.1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 3 种植物不同组织中的重金属含量均随着土壤中废渣含量的增加而升高,其中革命菜中叶和茎中的 Cd 含量最大值分别为 132.1 和 159.1  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 超过 Cd 超富集植物  $100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的临界标准。

(2) 3 种植物吸收的 Cd 和 Zn 主要积累在地上部分,而 Pb 主要分布在根系。从富集系数来看,3 种植物对金属元素的富集系数随着矿渣比例的升高而降低,地上部分对 Cd 的富集系数多数大于 1, Pb 和 Zn 的富集系数较低;3 种植物对各种重金属的吸收量大小排列顺序均为野苘蒿>鬼针草>胜红蓟,野苘蒿生长迅速,繁殖力强,适用于 Cd 为主的重金属复合污染土壤的生态修复。

(3) 在不同梯度矿渣含量的重金属胁迫下,胜红蓟和野苘蒿不同组织中游离氨基酸的种类和数量变化规律不尽相同,植物中游离氨基酸代谢可能在植物富集和抵抗重金属中发挥了重要作用,关键氨基酸包括 Gln、Glu、Asn、Asp、His、Arg、Gly 等。

## 5 镉胁迫对两种菊科植物生长和氨基酸代谢的影响及氨基酸对镉积累调控作用

### 5.1 材料与方法

试验（一）：镉胁迫对两种菊科植物生长和氨基酸代谢的影响

试验（二）：氨基酸对两种菊科植物镉积累的调控作用

#### 5.1.1 试验材料

盆栽试验所需材料包括自然土壤和试验植物（野茼蒿和胜红蓟）幼苗，自然土壤的采集和植物幼苗的获取及前处理同 4.1.1。

#### 5.1.2 盆栽基质

试验（一）设置的 Cd 污染土壤浓度分别为：CK，3，6，12，30  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  5 个梯度，分别记为 Ck，Cd3，Cd6，Cd12 和 Cd30，每种处理重复 3 次。试验（二）设置的 Cd 污染土壤浓度为 30  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

以  $\text{CdCl}_2\cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$  水溶液形式向土壤添加 Cd。土壤平衡 2 个月后再施加盆栽基肥，并移栽植物幼苗。

#### 5.1.3 盆栽试验

2 个试验植物生长周期从 2016 年 9 月 10 日到 11 月 30 日，共计 80 天，植物生长过程的水管理同 4.1.3。试验（二）在植物幼苗移栽第 10、30、50、70 天采用叶面喷施法添加外源氨基酸，包括 Gln、Glu、Asp、Asn、GABA 和 Cys，设置空白对照、低浓度（0.4  $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ）和高浓度（2  $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ）投加浓度，试验平行 3 次。

#### 5.1.4 样品采集与处理

样品采集与处理方法同 4.1.4。

#### 5.1.5 样品分析

植物样品的重金属含量和游离氨基酸含量分析同 4.1.5。

## 5.2 结果与分析

### 5.2.1 镉胁迫对植物生长的影响

在本试验中，所有供试植物都生长良好，都没有表现出明显受毒害的症状。在不同梯度的 Cd 胁迫下，两种植物的总生物量如图 5.1 所示。与胜红蓟相比，野苘蒿在所有土壤处理下均具有更高的生物量，鲜重平均高出 3 倍。当土壤 Cd 处理浓度为 3、6 和 12 mg·kg<sup>-1</sup> 时，胜红蓟的生物量较对照处理并无显著减少 ( $p < 0.05$ )，而 30 mg·kg<sup>-1</sup> 的 Cd 处理使得胜红蓟的生物量显著降低，为对照处理的 77%，表明该浓度的 Cd 胁迫对胜红蓟生长产生了抑制作用。然而，各个 Cd 处理浓度间野苘蒿的生物量并无显著差异，仅在最高浓度胁迫时生物量出现小幅降低。因此，野苘蒿对镉胁迫具有更强的耐性。

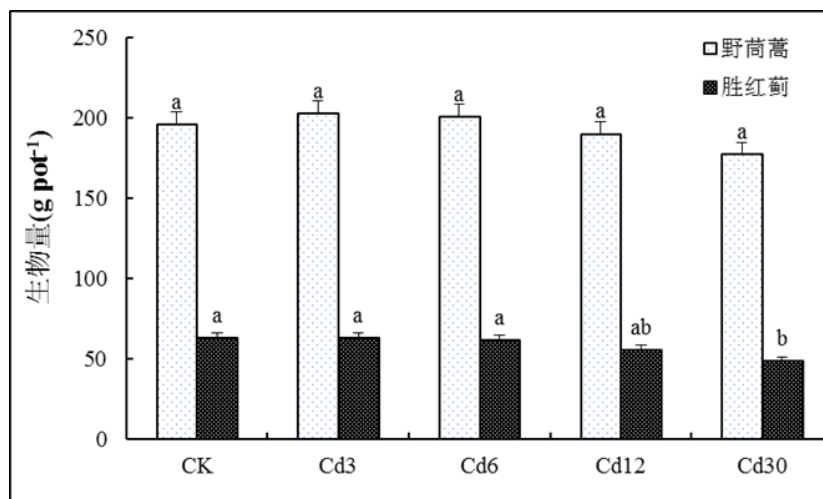


图 5.1 镉胁迫对植物生物量的影响

### 5.2.2 植物不同组织中镉的积累

不同镉处理土壤中两种植物根、茎、叶的镉含量结果如图 5.2 所示。可以看出，2 种植物地上部的 Cd 含量高于根部 (Cd30 处理的胜红蓟除外)，叶片和茎部中的 Cd 含量相当。本研究中的 2 种植物地上部能富集较高含量的 Cd，且转移系数  $> 1$ ，为 Cd 富集植物。与胜红蓟相比，野苘蒿体内的 Cd 含量较高，为胜红蓟的 2~3 倍。加以考虑生物量的优势，野苘蒿提取的 Cd 总量远高于胜红蓟 (6~10 倍)。因此，

对于 Cd 污染土壤，野苘蒿具有更强的耐性和提取修复潜力。

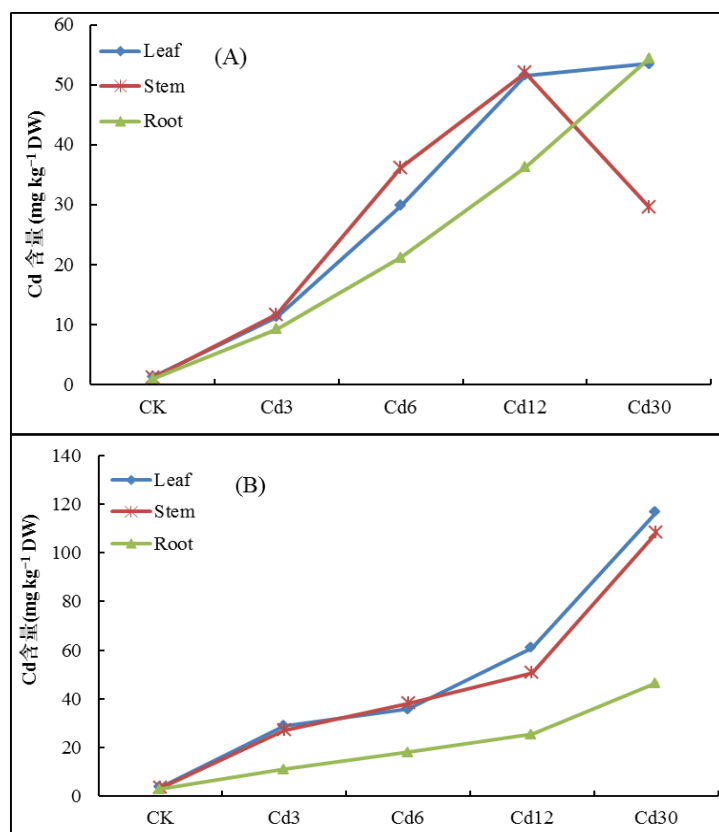


图 5.2 不同镉胁迫胜红蓟 (A) 和野苘蒿 (B) 不同组织中的镉含量

当土壤中 Cd 浓度从 CK 增加到 12 mg·kg<sup>-1</sup>，胜红蓟体内的 Cd 浓度也逐步增加，富集系数和转移系数值也大于 1。而 Cd30 的镉处理使得胜红蓟茎部的 Cd 含量较 Cd12 处理降低了 43.1%，叶片仅增加了 3.7%，表明高浓度的 Cd 胁迫抑制了植株从地上部吸收 Cd。在第三章和第四章的研究中，野苘蒿在复合重金属污染土壤中已具备超富集植物的基本要求。在本研究中，随着土壤 Cd 水平的提高，野苘蒿各组织的 Cd 含量明显增加，反映出植物对 Cd 富集与土壤中 Cd 的含量呈正相关关系。当 Cd 处理浓度为 30 mg·kg<sup>-1</sup> 时，野苘蒿叶片和茎部的 Cd 浓度为 116.9 mg·kg<sup>-1</sup> 和 108.4 mg·kg<sup>-1</sup>，均达到 Cd 超富集植物的临界阈值 (100 mg·kg<sup>-1</sup>) 此外，Cd 的富集系数和转移系数分别为 3.8 和 2.4。因此，综合考虑强耐性特征、高含量特征、富集特征和转移特征，野苘蒿可认定为 Cd 超富集植物 (Antoniadis et al., 2017; Baker and Brooks, 1989; Mahar et al., 2016)。有必要在此基础上进一步开展浓度

梯度试验，以获得该植物对 Cd 富集的最大潜能。

### 5.2.3 镉胁迫对植物氨基酸代谢的影响

不同镉浓度胁迫下植物各组织中游离氨基酸的变化情况如图 5.3 和 5.4 所示。总体而言，野苘蒿中的总游离氨基酸含量高于胜红蓟（图 5.3）。从具体的氨基酸来看，Glu、Gln、Ala、GABA 和 Leu 在野苘蒿中的含量高于胜红蓟，而胜红蓟中的 Cys 和 Asp 含量则相对较高。同一植物中不同组织的游离氨基酸含量也有较大差异，表现为地上部高于根部。两种植物所有组织中的主要氨基酸包括 Glu、Gln、Asp、Asn、GABA、Val 和 Ala，分别平均占野苘蒿叶、茎、根中总游离氨基酸含量的 91%、92%和 79%，在胜红蓟中分别占 74%、66%和 76%。与对照相比，镉胁迫改变了游离氨基酸的种类和含量，但是两种试验植物的各组织对镉胁迫的响应并不一致。

在对照处理野苘蒿的叶片中，最优势的氨基酸为 Gln，占总量的 41%，其次为 Glu（17%），Gaba（8%），Asp（6%）Asn（6%）和 Ala（6%）。在 Cd 胁迫处理条件下，这几个氨基酸仍是主要的氨基酸。当 Cd 处理的浓度较低时，野苘蒿叶片中总游离氨基酸含量较对照处理显著提高，Cd6 和 Cd12 处理时的含量分别是对照处理的 1.9 和 2.6 倍。其中，Gln、Asn、Val 和 Arg 的含量显著升高，尤其是 Gln 和 Asn，这二者占总游离氨基酸含量的比例分别提高到 63%和 22%，而 Glu、Gaba、Ala 和 Pro 含量明显减低。当处以最高浓度的 Cd(30 mg·kg<sup>-1</sup>)，野苘蒿叶片中所有氨基酸的含量都较 Cd12 处理的低，导致总游离氨基酸含量下降了 74%。这可能是由于在 Cd 浓度较低时，野苘蒿细胞的呼吸作用加强，产生了较多的游离氨基酸，是野苘蒿细胞对 Cd 胁迫的反应。随着 Cd 处理浓度增加到一定程度，细胞生长受到抑制，各代谢过程减缓，各种糖酵解和循环中直接产生的氨基酸含量下降，这也反映了细胞活性的降低(金勇, 2013)。在对照处理野苘蒿的茎中，Gln 的量占总游离氨基酸的 64%，在 Cd12 处理时这一比例提高到 74%，而在 Cd30 条件下又降低到 57%。茎部 Asp、Glu、Asn 和 Val 也呈现类似 Gln 先升高后降低的变化趋势。在 CK ~ Cd6 处理时，野苘蒿根

部的游离氨基酸含量也降低，在 Cd6~Cd30 条件下上升，根部氨基酸的变化幅度较茎部更明显。

对于胜红蓟，Gln、Asp、Asn、Glu、Gaba 和 Val 也是各组织中主要的氨基酸。注意到，胜红蓟中 Cys 的含量也较高，占总量的 5%~10%，而该氨基酸在野苘蒿中却几乎测不出来。Gln 也是对照处理时胜红蓟体内含量最高的氨基酸，但含量仅为野苘蒿的 7%~65%，而 Cd 处理条件下二者 Gln 含量也相差 1.1~7.3 倍。在较低 Cd 胁迫时(CK~Cd6)，胜红蓟中多数的氨基酸和总游离氨基酸的含量随土壤 Cd 水平的升高而降低，其中降幅较大的氨基酸有 Asn (降低 77%)，Gln (70%)，Asp (60%)、Glu (50%)，而在较高 Cd 处理水平时 (Cd6~Cd30)，氨基酸含量又开始提高，其中 Cd30 处理时 Asn、Gln 和 GABA 含量分别较 Cd6 处理增加 234%、229%和 152%。

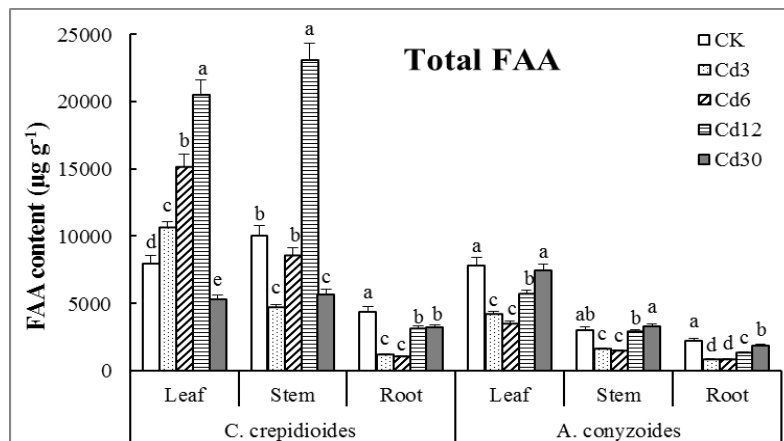
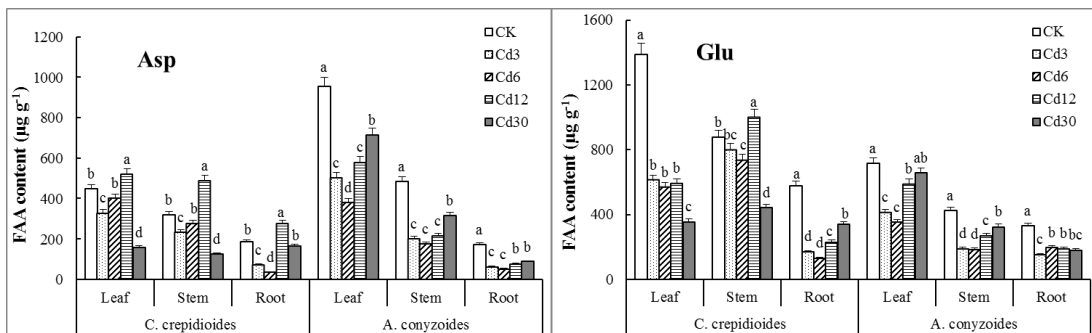
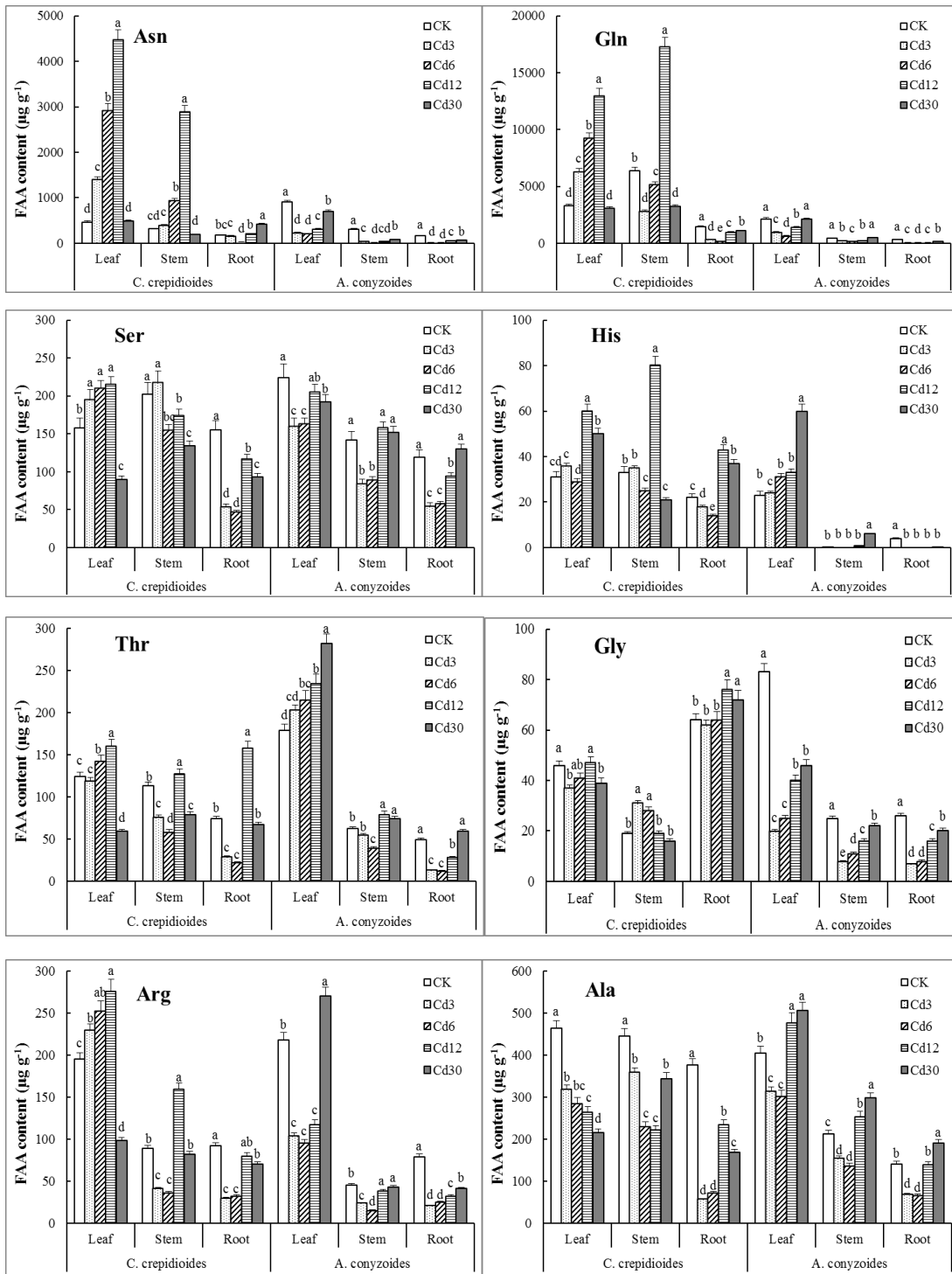


图 5.3 Cd胁迫对植物不同组织总离氨基酸含量的影响，字母 a, b, c, d 表示同种植物组织在不同处理间的差异 (P < 0.05)







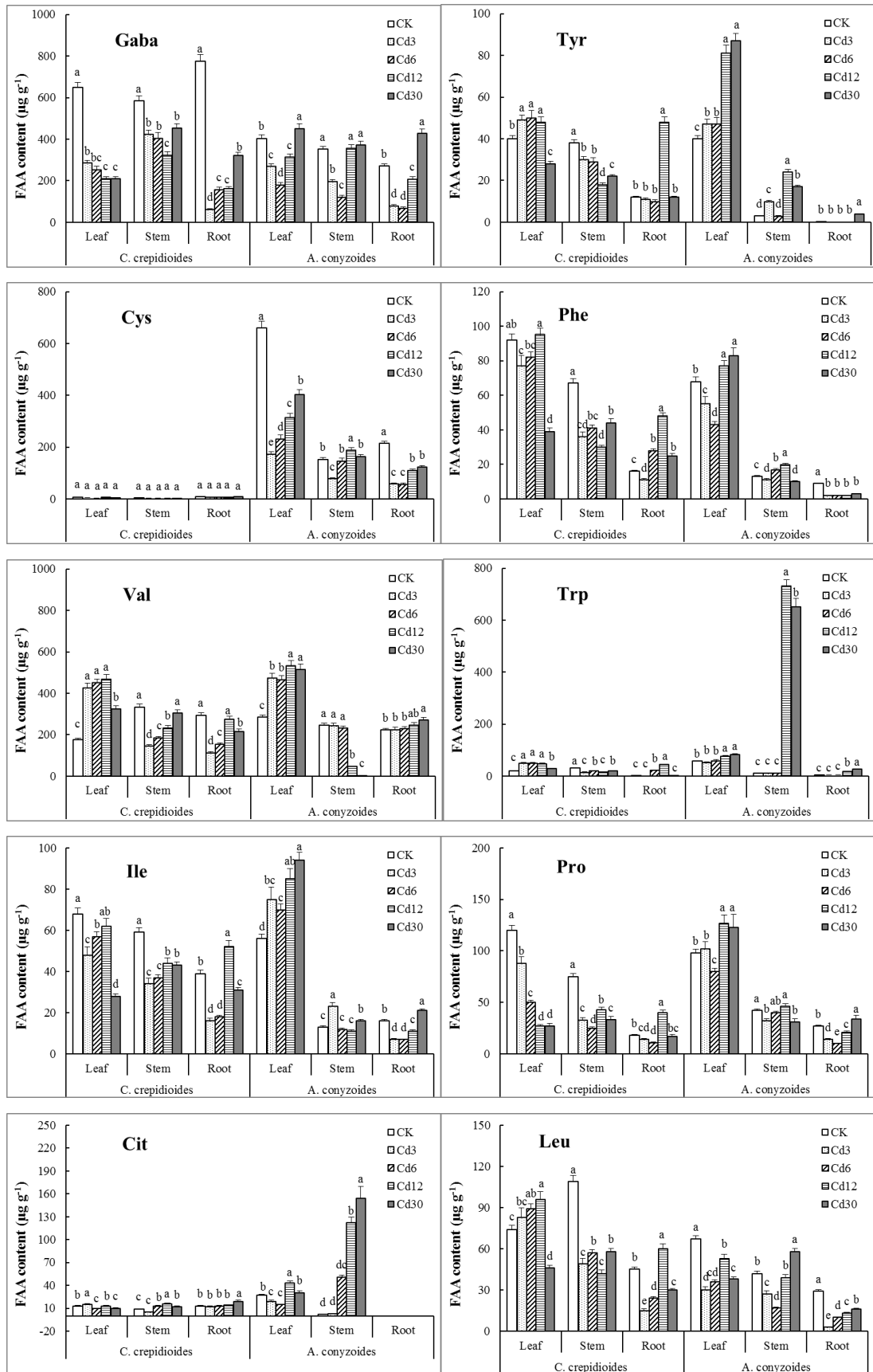


图 5.4 Cd 胁迫对植物不同组织个体氨基酸含量的影响

Glu、Gln、Asp、Asn, 作为本研究中的主要氨基酸, 普遍参与了植物的氮同化和转运过程。此外, 它们还用于植物生长、防御胁迫和繁殖过程中氮素利用的积累储备(Zemanova et al., 2015a)。在所有高等植物中, 无机氮在进入有机形态之前, 首先被还原为氨。氨被同化成 Glu 和 Gln, 因此它们在本质上作为所有氨基酸和其他含氮化合物的 N 素供体 (Sánchez-Pardo et al., 2013)。Asp 是通过对草酰乙酸的转化而合成的, 同时也会转化合成为 Asn、Lys、Met、Thr 和 Ile (Angelovici et al., 2009)。在本试验中, 在较低 Cd 胁迫时, 两种植物的 Asp 和 Glu 含量均下降, 在高 Cd 含量处理时上升。根据 Zemanova 等 (2013) 的观点, 这二者氨基酸含量的下降应该是被强化合成参与植物防御胁迫。在 Cd 胁迫下, 这两种氨基酸可以迅速转化为必需的产物, 或参与蛋白质合成, 因而减少其积累。在较高的 Cd 胁迫下, Glu 和 Asp 的积累可能是通过对 Pro/His/Orn 和 Asn/Lys/Thr/Ile /Met 途径 (Xu et al., 2012) 的补充以起到缓冲作用的结果。具有高 N/C 比的 Gln, 其活性较强, 是植物中主要的氮输运形式。Asn, 也是一种高 N/C 比的酰胺, 活性比 Gln 低, 也可以被植物用来储存氮素 (Chaffei et al., 2004)。此外, 有研究发现, Gln 和 Asn 能与 Cd 形成有机配体来减少 Cd 毒性 (Sharma and Dietz, 2006)。在较低的 Cd 浓度处理时, 土壤 Cd 含量的升高会促发野苘蒿地上部 Gln 和 Asn, 却对胜红蓟体内的 Gln 和 Asn 起抑制作用。这些结果表明了两种植物氮素利用的不同途径。注意到在 Cd 胁迫条件下, 野苘蒿的根部 Glu、Gln、Asp、Asn 的含量都高于胜红蓟, 这可能与野苘蒿根部对 Cd 胁迫具有更强的耐性和富集能力有关。

Pro 和 GABA 通常被认为是植物遭受非生物胁迫和生物胁迫应激指标和保护剂 (Xu et al., 2012; Zemanová et al., 2017)。之前很多研究都发现重金属胁迫容易诱发 Pro 的积累 (Sharma and Dietz, 2009; Vassilev and Lidon, 2011; Xu et al., 2009)。Pro 的功能是多方面的, 包括在调节渗透压力, 保持水分平衡, 稳定亚细胞结构, 并起到羟基自由基清除剂的作用 (Sharma and Dietz, 2006)。然而, 在本研究中, 两种植物中 Pro 变化趋势的不同, 表明它们存在不同的胁迫防御途径。

Pro 是合成 Hyp 的前体物，在 Cd 胁迫下，Hyp 对 Pro 的合成需求增加，可能是野苘蒿地上部 Pro 含量减少的原因。野苘蒿的这一结果与 Yi 和 Kao (2003) 的研究结果相吻合，他们的研究报道称 Cd 耐性植物的叶片中并未发现 Pro 的积累。胜红蓟地上部 Pro 含量在受到 Cd 胁迫时增加，可能是由于 Pro 被用作渗透保护剂，并在减少膜和蛋白质损伤方面发挥作用 (Pavlik et al., 2010)。除了作为游离氨基酸的主要成分之外，GABA 还起到以下作用：通过  $\text{Ca}^{2+}$  诱导信号传导，通过初级代谢 C/N 平衡，通过细胞壁修饰的发育作用，参与营养摄取等 (Michaeli and Fromm, 2015)。通常不同的生物和非生物逆境会导致 GABA 的积累 (Pavliková et al., 2014; Shelp et al., 2012)。而我们的研究却得到相反的结果，可能是由于镉胁迫下谷氨酸脱羧酶 (GAD) 活性的减弱导致谷氨酸合成 GABA 的下降。

Ala 作为支链氨基酸的一种，被认为与细胞内 pH 调节有关，其含量通常是受各种胁迫而积累的 (Limami et al., 2008; Rocha et al., 2010)。我们的数据表明，在较低镉处理水平是，Cd 胁迫的增强导致两种植物中 Ala 含量的下降，可能是由于 Ala 被更多地用来合成其他氨基酸或富含 Ala 的蛋白质或蛋白激酶 (Komatsu et al., 2009; Mori et al., 2013)。当土壤 Cd 含量较高时，由于丙氨酸氨基转移酶反应的干扰，蛋白质合成速率的降低和丙氨酸合成的增加导致游离 Ala 的增加 (Hjorth et al., 2006)。作为另一种支链氨基酸，Val 是平衡不同氨基酸途径之间的通量的关键，Val 的积累可以用于促进应激诱导的蛋白质合成和维持氨基酸的体内平衡 (Joshi 等, 2010)。本试验发现 Cd 胁迫对两种植物叶片中游离 Val 含量有刺激作用，而在茎中则表现出相反的效应，这可能是 Val 对胁迫条件的直接生物反应的结果。

在植物中，Gly 和 Cys 参与植物螯合素和抗氧化代谢物的生物合成，并且也存在于影响植物生长和细胞壁功能的富含甘氨酸的蛋白质中 (Zemanová et al., 2017)。Cd 胁迫下胜红蓟体内的 Gly 含量大幅下降，而在我们的超累积植物野苘蒿中，Gly 积累相对稳定。Cys 是胜红蓟的主要 FAA，而在野苘蒿中其含量低于检测限。Xu 等 (2012) 的转录组分析显示，可以催化 Cys 成 Ala 的半胱氨酸脱硫酶基因-NFS，在 Cd 超富集植物印度芥菜中表现出较高的表达。野苘蒿中低不可测

Cys 浓度可能是由于 Cys 转化成 Ala 的结果。

芳香族氨基酸 Trp、Tyr 和 Phe，在调控植物发育和防御反应中起主要作用，它们是蛋白质和激素生长素合成的前体（Liu et al., 2011; Sanjaya et al., 2008）。在本研究中，Cd 胁迫诱导植物根部合成 Trp 和 Tyr，且导致地上部 Trp 和 Tyr 含量的增加。与 Cd6 处理相比，Cd12 处理的野苘蒿茎中的游离 Trp 和 Tyr 含量分别高出 70 倍和 10 倍。这些结果表明，Trp 和 Tyr 可能通过减少植物中的氧化损伤而参与 Cd 抗性和积累。Phe 也是苯丙酮类物质代谢途径的底物，其可用来合成多种抗氧化代谢物和酚类化合物（Sanayama et al., 2011）。我们的研究中游离 Phe 含量的波动变化，表明其在 Cd 胁迫过程中的反应性。

#### 5.2.4 氨基酸对菊科植物镉积累的调控作用

不同种类及浓度的外源氨基酸对两种植物各组织 Cd 含量的结果如图 5.5 所示，施加外源氨基酸对植物 Cd 的吸收积累效应并不一致，总体而言，虽然对照处理胜红蓟积累 Cd 的含量和总量均低于野苘蒿，但外源氨基酸处理更能促进胜红蓟对 Cd 的吸收。氨基酸添加处理野苘蒿叶、茎、根中的 Cd 含量分别为对照处理的 0.74~1.46 倍，0.82~1.59 倍和 0.62~1.04 倍，在胜红蓟中分别为 0.91~1.39 倍，0.93~1.85 倍和 1.17~2.07 倍。低浓度的 Glu、Asp 和高浓度的 GABA 及 Asn 处理能显著促进野苘蒿地上部对 Cd 的吸收，这些氨基酸能络合重金属，一方面降低了 Cd 对植物的毒害，恢复植物吸收重金属的能力；另一方面这些络合物使得重金属在植物体内的移动性增强，增加了向地上部转运的速度和数量。高浓度的 Glu 和 Asp 处理并未明显增加野苘蒿中 Cd 的含量，可能是某些过高的氨基酸浓度降低叶片气孔导度，抑制蒸腾速率而减少 Cd 向地上部迁移。氨基酸添加对野苘蒿根部吸收 Cd 几无促进作用，而在胜红蓟根部则增加明显，这可能是过高的氨基酸含量干扰了野苘蒿的氨基酸代谢，从而抑制了对重金属的吸收的缘故。外源 Glu、Gln 和 Asp 显著增加了胜红蓟地上部对 Cd 的吸收和转运。由 5.2.4 可知高浓度的 Cd 胁迫下 Glu、Gln 和 Asp 的含量低于对照处理。因此，Glu、Gln 和 Asp 的补充有利于植物正常生理功能的恢复。

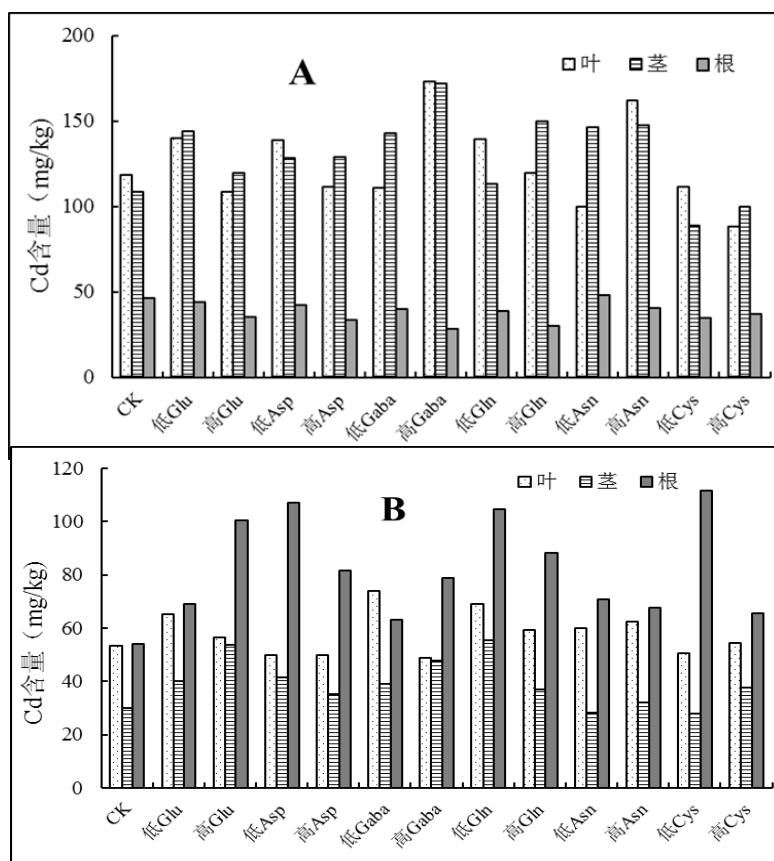


图 5.5 外源氨基酸添加对野苘蒿 (A) 和胜红蓟 (B) 各组织中 Cd 含量的影响

### 5.3 小结

(1) 野苘蒿和胜红蓟在不同浓度 Cd 污染土壤的盆栽试验表明，野苘蒿对 Cd 胁迫具有更强的耐性，地上部积累更多的 Cd；野苘蒿地上部的 Cd 含量超过 Cd 超富集植物的标准，且具备强耐性，高富集和高转移等特征，野苘蒿可认定为镉超富集植物。

(2) Cd 胁迫导致了两种菊科植物体内氨基酸水平的差异性协调反应，在植物适应镉胁迫中起着重要作用。其中主要的氨基酸包括 Gln、Glu、Asn、Asp、GABA、Val 和 Ala。比起胜红蓟，野苘蒿体内更高的游离氨基酸，特别是 Gln 和 Asn 的含量，可能与野苘蒿对 Cd 具有更高的耐性和富集性有关。选择适宜的外源氨基酸及其浓度，能缓解重金属对 Cd 的毒害，促进植物对 Cd 的吸收。

## 参考文献

- Ali, H., Khan, E., Sajad, M.A., 2013. Phytoremediation of heavy metals - concepts and applications [J]. *Chemosphere*, 91: 869-881.
- Alvarenga, P., Gongalves, A.P., Femandes, R.M., et al., 2008. Evaluation of composts and liming materials in the phytostabilization of a mine soil using perennial ryegrass [J]. *Science of the total environment*, 406: 43-56.
- Angelovici, R., Fait, A., Zhu, X., et al., 2009. Deciphering transcriptional and metabolic networks associated with lysine metabolism during *Arabidopsis* seed development [J]. *Plant physiology*, 151: 2058-2072.
- Antoniadis, V., Levizou, E., Shaheen, et al., 2017. Trace elements in the soil-plant interface: Phytoavailability, translocation, and phytoremediation—A review [J]. *Earth-science reviews*, 171: 621-645.
- Antonkiewicz, J., Para, A., 2016. The use of dialdehyde starch derivatives in the phytoremediation of soils contaminated with heavy metals [J]. *International journal of phytoremediation*, 18: 245-250.
- Baker, A.J.M., 2001. Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals [J]. *Journal of plant nutrition*, 3: 643-654.
- Baker, A.J.M., Brooks, R.R., 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements – a review of their distribution, ecology and phytochemistry [J]. *Biorecovery*, 1, 811-826.
- Baker A.J.M., Brooks R.R., Pease A.J., et al. 1983. Studies on copper and cobalt tolerance in three closely related taxa within the genus *Silene* L. (Caryophyllaceae) from Zaire [J]. *Plant and soil*, 73: 377-385.
- Brune, A., Urbach, W., Dietz, K.J., 1994. Compartment and transport of zinc in barley leaves as basic mechanism involved in zinc tolerance [J]. *Plant cell and environment*, 17: 153-162.
- Buscaroli, A., 2017. An overview of indexes to evaluate terrestrial plants for phytoremediation purposes (Review) [J]. *Ecological indicators*, 82:367-380.
- Chaffei, C., Pageau, K., Suzuki, A., et al., 2004. Cadmium toxicity induced changes in nitrogen management in *Lycopersicon esculentum* leading to a metabolic safeguard through an amino acid storage strategy [J]. *Plant and cell physiology*, 45:1681-1693.

- Chia, M.A., Lombardi, A.T., Melão, M.G.G., et al., 2015. Combined nitrogen limitation and cadmium stress stimulate total carbohydrates, lipids, protein and amino acid accumulation in *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae) [J]. *Aquatic toxicology*, 160: 87-95.
- Chunilall, V., Kindness, A., Jonnalagadda, S.B., 2005. Heavy metal uptake by two edible *Amaranthus* herbs grown on soils contaminated with lead, mercury, cadmium and nickel [J]. *Journal of environmental science and health*, 40: 375-384.
- Clemens, S., Palmgren, M.G., Krmer, U., 2002. A long way ahead: Understanding and engineering plant metal accumulation [J]. *Trends in plant science*, 7: 309-315.
- Daniela, P., Veronika, Z., Dagmar, P., et al., 2014. The long-term effect of zinc soil contamination on selected free amino acids playing an important role in plant adaptation to stress and senescence [J]. *Ecotoxicology and environmental safety*, 100: 166-170.
- Dazy, M., Béraud, E., Cotelle, S., et al., 2009. Changes in plant communities along soil pollution gradients: responses of leaf antioxidant enzyme activities and phytochelatin contents. *Chemosphere*, 77: 376-383.
- Dinakar, N., Nagajyothi, P.C., Suresh, S., et al., 2009. Cadmium induced changes on proline, antioxidant enzymes, nitrate and nitrite reductases in *Arachis hypogaea*, L. [J]. *Journal of environmental biology*, 30: 289-294.
- Dominguez-Solis, J.R., Lopez-Martin, M.C., Ager, M.C., et al., 2004. Increased cysteine availability is essential for cadmium tolerance and accumulation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant biotechnology journal*, 2: 469-476.
- Fu, X.P., Dou, C.M., Chen, Y.X., et al., 2011. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Phytolacca americana* L. [J]. *Journal of hazardous materials*, 186: 103-107.
- Galal, T.M., Shehata, H.S., 2015. Bioaccumulation and translocation of heavy metals by *Plantago major* L. grown in contaminated soils under the effect of traffic pollution [J]. *Ecological indicators*, 48: 244-251.
- Galleo, S.M., Pena, L.B., Barcia, R.A., et al., 2012. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms [J]. *Environmental and experimental botany*, 83: 33-46.
- Guala, S.D., Vega, F.A., Covelo, E.F., 2011. Development of a model to select plants with optimum metal phytoextraction potential [J]. *Environmental science and pollution research*, 18: 997-1003.



- Hjorth, M., Mathiassen, S.K., Kudsk, P., et al., 2006. Amino acids in loose silky-bent (*Apera spica-venti* (L.) Beauv.) responding to prosulfocarb exposure and the correlation with physiological effects [J]. *Pesticide biochemistry and physiology*, 86: 138-145.
- Hossain, M.A., Piyatida, P., Silva, J.T., et al., 2012. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation [J]. *Journal of botany*, 2012: 1-37.
- Islam, M.M., Hoque, M.A., Okuma, E., et al., 2009. Exogenous proline and glycinebetaine increase antioxidant enzyme activities and confer tolerance to cadmium stress in cultured tobacco cells [J]. *Journal of plant physiology*, 166: 1587-1597.
- Joshi, V., Joung, J.G., Fei, Z., et al., 2010. Interdependence of threonine, methionine and isoleucine metabolism in plants: accumulation and transcriptional regulation under abiotic stress [J]. *Amino Acids*, 39: 933-947.
- Kabata-Pendias, A., 2011. Trace elements in soils and plants [M]. Boca Raton (FL): CRC Press.
- Kerkeb, L., Krämer, U., 2003. The role of free histidine in xylem loading of nickel in *Alyssum lesbiacum* and *Brassica juncea* [J]. *Journal of plant physiology*, 131: 716-724.
- Krämer, U., Cotter-Howells, J.D., Charnock, J.M., et al., 1996. Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel [J]. *Nature*, 379: 63-638.
- Komatsu, S., Jan, A., Koga, Y., 2009. Characterization of a histidine- and alanine-rich protein showing interaction with calreticulin in rice [J]. *Amino Acids*, 36: 137-146.
- Kumar, A., Dwivedi, S., Singh, R.P., et al., 2014. Evaluation of amino acid profile in contrasting arsenic accumulating rice genotypes under arsenic stress [J]. *Bilgia plantarum*, 58: 733-742.
- Küpper, H., Andresen, E., 2016. Mechanisms of metal toxicity in plants [J]. *Metallomics* 8: 269-285.
- Kushwaha, A., Rani, R., Kumar, S., et al., 2016. Heavy metal detoxification and tolerance mechanisms in plants: Implications for phytoremediation [J]. *Environmental reviews*, 24: 39-51.

- Lee, J.H., 2013. An overview of phytoremediation as a potentially promising technology for environmental pollution control [J]. *Biotechnology and bioprocess engineering*, 18: 431-439.
- Lei, M., Tie, B.Q., Song, Z.G., et al., 2015. Heavy metal pollution and potential health risk assessment of white rice around mine areas in Hunan Province, China [J]. *Food security*, 7: 45-54.
- Li, M.S., Tang, S.Q., Zhang, X.H., et al., 2005. Metal mining wasteland of ecological restoration practice and counter measures [J]. *Mining safety and environmental protection*, 32: 6-18.
- Li, M.S., Yang, S.X., 2008. Heavy metal contamination in soils and phytoaccumulation in a manganese mine wasteland, South China [J]. *Air soil and water research*, 1: 257-273.
- Li, Z.Y., Ma, Z.W., Kuijp, T.J.V.D., et al., 2014. A review of soil heavy metal pollution from mines in China: pollution and health risk assessment [J]. *Science of the total environment*, 468-469: 843-853.
- Limami, A.M., GléÂvarec, G., Ricoult, C., et al., 2008. Concerted modulation of alanine and glutamate metabolism in young *Medicago truncatula* seedlings under hypoxic stress [J]. *Journal of experimental botany*, 59: 2325-2335.
- Liu, X.L., Yang, C.Y., Zhang, L.B., et al., 2011. Metabolic profiling of cadmium-induced effects in one pioneer intertidal halophyte *Suaeda salsa* by NMR-based metabolomics [J]. *Ecotoxicology*, 20: 1422-1431.
- Mahar, A., Wang, P., Ali, A., et al., 2016. Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: A review [J]. *Ecotoxicology and environmental safety*, 126: 111-121.
- Malik, R.N., Husain, S.Z., Nazir, I., 2010. Heavy metals contamination and accumulation in soils and wild plant species from industrial areas of Islamabad, Pakistan [J]. *Pakistan journal of botany*, 42: 291-301.
- Marrugo-Negrete, J., Marrugo-Madrid, S., Pinedo-Hernández, J., et al., 2016. Screening of native plant species for phytoremediation potential at a Hg-contaminated mining site [J]. *Science of the total environment*, 542: 809-816.
- Matysik, J., Bhalu, B., Mohanty, P., et al., 2002. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants [J]. *Current science*, 82: 525-532.
- Mendez, M.O., Maier, R.M., 2008. Phytostabilization of mine tailings in arid and

- semiarid environments-an emerging remediation technology [J]. *Environmental health perspectives*, 116: 278-283.
- Mesu, J.G., Visser, T., Soulimani, F., et al., 2006. New insights into the coordination chemistry and molecular structure of copper (II) histidine complexes in aqueous solutions [J]. *Inorganic chemistry*, 45: 1960-1971.
- Michaeli, S., Fromm, H., 2015. Closing the loop on the GABA shunt in plants: are GABA metabolism and signaling entwined? [J]. *Frontiers in plant science*, 6: 1-7.
- Mori, T., Kikuchi, E., Watanabe, Y., et al., 2013. Chemical library screening for WNK signalling inhibitors using fluorescence correlation spectroscopy [J]. *Biochemical journal*, 455: 339-345.
- Nadgórska-Socha, A., Kandziora-ciupa, M., Ciepał, R., 2015. Element accumulation, distribution, and phytoremediation potential in selected metallophytes growing in a contaminated area [J]. *Environmental monitoring and assessment*, 187: 1-15.
- Nawab, J., Khan, S., Shah, M.T., et al., 2016. Heavy metal bioaccumulation in native plants in chromite impacted sites: a search for effective remediating plant species [J]. *Clean soil air water*, 44: 37-46.
- Nicoletta, R., Flavia, N.I., 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? [J]. *Plant science*, 180: 169-181.
- Nirola, R., Megharaj, M., Aryal, R., et al., 2016. Screening of metal uptake by plant colonizers growing on abandoned copper mine in Kapunda, South Australia [J]. *International journal of phytoremediation*, 18: 399-405.
- Oksana, S., Abhay, K., Dariusz, L., et al., 2013. Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants [J]. *Acta physiologiae plantarum*, 35: 985-999.
- Pandey, S.K., Bhattacharya. T., Chakraborty. S., 2016. Metal phytoremediation potential of naturally growing plants on fly ash dumpsite of Patratu thermal power station, Jharkhand, India [J]. *International journal of phytoremediation*, 18: 87-93.
- Pavlková D., Zemanová V., Procházková D., et al., 2014. The long-term effect of zinc soil contamination on selected free amino acids playing an important role in plant adaptation to stress and senescence [J]. *Ecotoxicology and environmental safety*, 100: 166-170.
- Pavlk, M., Pavlková D., Staszková L., et al., 2010. The effect of arsenic

- contamination on amino acids metabolism in *Spinacia oleracea*, L [J]. *Ecotoxicology and environmental safety*, 73: 1309-1313.
- Planquart, P., Bonin, G., Prone, A., Massiani, C., 1999. Distribution, movement and plant availability of trace metals in soils amended with sewage sludge compost: application to low metal loading [J]. *Science of the total environment*, 241: 161-179.
- Punz, W.F., Sieghardt, H. 2013. The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals [J]. *Environmental and experimental botany*, 33: 85-98.
- Qiu, R.L., Thangavel, P., Hu, P.J., et al., 2011. Interaction of cadmium and zinc on accumulation and subcellular distribution in leaves of hyperaccumulator *Potentilla griffithi* [J]. *Journal of hazardous materials*, 186: 1425-1430.
- Rai, V.K., 2002. Role of amino acids in plant responses to stresses [J]. *Biologia plantarum*, 45: 481-487.
- Rasheed, R., Ashraf, M.A., Hussain, I., et al., 2014. Exogenous proline and glycinebetaine mitigate cadmium stress in two genetically different spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars [J]. *Brazilian journal of botany*, 37: 399-406.
- Rauser, W.E., 1999. Structure and function of metal chelators produced by plants: the case for organic acids, amino acids, phytin, and metallothioneins [J]. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 31: 19-48.
- Rocha, M., Licausi, F., Araujo, W.L., et al., 2010. Glycolysis and the tricarboxylic acid cycle are linked by alanine aminotransferase during hypoxia induced by waterlogging of *Lotus japonicus* [J]. *Plant physiology*, 152: 1501-1513.
- Salt, D.E., Prince, R.C., Baker, A.J.M., et al., 1999. Zinc ligands in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* as determined using X-ray absorption spectroscopy [J]. *Environmental science and technology*, 33: 713-717.
- Sanayama, Y., Nagasaka, H., Takayanagi, M., et al., 2011. Experimental evidence that phenylalanine is strongly associated to oxidative stress in adolescents and adults with phenylketonuria [J]. *Molecular genetics and metabolism*, 103: 220-225.
- Sánchez-Pardo, B., Carpena, R.O., Zornoza, P., 2013. Cadmium in white lupin nodules: Impact on nitrogen and carbon metabolism [J]. *Journal of plant physiology*, 170: 265-271.
- Sanjaya, Hsiao, P.Y., Su, R.C., et al., 2008. Overexpression of *Arabidopsis thaliana* tryptophan synthase beta 1 (AtTSB1) in *Arabidopsis* and tomato confers tolerance to cadmium stress [J]. *Plant cell and environment*, 31: 1074-1085.

- Sarma, H., 2011. Metal hyperaccumulation in plants: a review focusing on phytoremediation technology [J]. *Journal of environmental science and technology*, 4: 118-138.
- Shamsul, H., Qaiser, H., Mohammed, N.A., et al., 2012. Role of proline under changing environments [J]. *Plant signaling and behavior*, 7: 1-11.
- Sharma, S.S., Dietz, K.L., 2006. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress [J]. *Journal of experimental botany*, 57, 711-726.
- Sharma, S. S., Dietz, K. J., 2009. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance [J]. *Trends in plant science*, 14: 43-50.
- Shelp, B.J., Bozzo, G.G., Trobacher, C.P., et al., 2012. Contribution of putrescine to 4-amino butyrate (GABA) production in response to abiotic stress [J]. *Plant science*, 194: 130-135.
- Shi, J.Y., Wu, B., Yuan, X.F., et al., 2008. An X-ray absorption spectroscopy investigation of speciation and biotransformation of copper in *Elsholtzia splendens* [J]. *Plant soil*, 302: 163-174.
- Stepansky, A., Leustek, T., 2006. Histidine biosynthesis in plants [J]. *Amino Acids*, 30: 127-142.
- Sun, L., Liao, X., Yan, X., et al., 2014. Evaluation of heavy metal and polycyclic aromatic hydrocarbons accumulation in plants from typical industrial sites: potential candidate in phytoremediation for co-contamination [J]. *Environmental science and pollution research*, 21: 12494-12504.
- Sun, Y.B., Zhou, Q.X., Wang, L., et al., 2009. Cadmium tolerance and accumulation characteristics of *Bidens pilosa* L. as a potential Cd-hyperaccumulator [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2-3: 808-814.
- Sytar, O., Kumar, A., Latowski, D., et al., 2013. Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants [J]. *Acta physiologiae plantarum*, 35: 985-999.
- U.S. EPA. Risk assessment guidance for superfund (volume I): Human health evaluation manual [R]. Washington DC: Office of Emergency and Remedial Response, 1989 : 1-89.
- U.S. EPA. Supplemental guidance for developing soil screening levels for superfund sites [R]. Washington DC: Office of Solid Waste and Emergency Response, 2001: 4

-24.

- Usman, A.R.A., Lee, S.S., Awad, Y.M., et al., 2012. Soil pollution assessment and identification of hyperaccumulating plants in chromated copper arsenate (CCA) contaminated sites, Korea [J]. *Chemosphere*, 87: 872-878.
- Vassilev, A., Lidon, F., 2011. Cd-induced membrane damages and changes in soluble protein and free amino acid contents in young barley plants [J]. *Emirates journal of food and agriculture*, 23: 130-136.
- Wang, Q.Y., Liu, J.S., Hu, B., 2016. Integration of copper subcellular distribution and chemical forms to understand copper toxicity in apple trees [J]. *Environmental and experimental botany*, 123: 125-131
- Xiao, R., Wang, S., Li, R., et al., 2017. Soil heavy metal contamination and health risks associated with artisanal gold mining in Tongguan, Shaanxi, China [J]. *Ecotoxicology and environmental safety*, 141: 17-24.
- Xu, J., Yin, H.X., Li, X., 2009. Protective effects of proline against cadmium toxicity in micropropagated hyperaccumulator, *Solanum nigrum*, L [J]. *Plant cell reports*, 28: 325-333.
- Xu, J., Zhu, Y., Ge, Q., et al., 2012. Comparative physiological responses of *Solanum nigrum* and *Solanum torvum* to cadmium stress [J]. *New Phytologist*, 196: 125-138.
- Xu, Y., Xiao, H.Y., 2017. Free amino acid concentrations and nitrogen isotope signatures in *Pinus massoniana* (Lamb.) needles of different ages for indicating atmospheric nitrogen deposition [J]. *Environmental pollution*, 221: 180-190.
- Yang, S.X., Liang, S.C., Yi, L.B., et al., 2014. Heavy metal accumulation and phytostabilization potential of dominant plant species growing on manganese mine tailings [J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 8: 394-404.
- Yi, T.H., Kao, C.H., 2003. Changes in protein and amino acid contents in two cultivars of rice seedlings with different apparent tolerance to cadmium [J]. *Plant growth regulation*, 40: 147-155.
- Zemanová V., Pavlík, M., Pavlíková D., 2017. Cadmium toxicity induced contrasting patterns of concentrations of free sarcosine, specific amino acids and selected microelements in two *Noccaea* species [J]. *PLOS ONE* 12, e0177963.
- Zemanová V., Pavlík, M., Pavlíková D., et al., 2015. Responses to Cd stress in two *Noccaea* species (*Noccaea praecox* and *Noccaea caerulea*) originating from two contaminated sites in Mezica, Slovenia and Redlschlag, Austria [J]. *Archives*

- of environmental contamination and toxicology, 70: 1-11.
- Zemanová V., Pavlík, M., Pavlíková D., et al., 2015. Changes in the contents of amino acids and the profile of fatty acids in response to cadmium contamination in spinach [J]. *Plant soil and environment*, 61: 285-290.
- Zemanová V., Pavlík, M., Pavlíková D., et al., 2013. The changes of contents of selected free amino acids associated with cadmium stress in *Noccaea caerulescens* and *Arabidopsis halleri* [J]. *Plant soil and environment*, 59: 417-422.
- Zemanová V., Pavlík, M., Pavlíková D., et al., 2014. The significance of methionine, histidine and tryptophan in plant responses and adaptation to cadmium stress [J]. *Plant soil and environment*, 60: 426-432.
- Zhan, H.Y., Jiang, Y.F., Yuan, J.M., et al., 2014. Trace metal pollution in soil and wild plants from lead–zinc smelting areas in Huixian County, Northwest China [J]. *Journal of geochemical exploration*, 147: 182-188.
- Zhang, H.Z., Guo Q.J., Yang, J.X., et al., 2014. Cadmium accumulation and tolerance of two castor cultivars in relation to antioxidant systems [J]. *Journal of environmental sciences*, 26: 2048-2055.
- Zhang, H.Z., Guo, Q.J., Yang, J.X., et al., 2015. Subcellular cadmium distribution and antioxidant enzymatic activities in the leaves of two castor (*Ricinus communis* L.) cultivars exhibit differences in Cd accumulation [J]. *Ecotoxicology and environmental safety*, 120: 184-192.
- Zhou, Z.G., Zhou, J.M., Li, R.Y., et al., 2007. Effect of exogenous amino acids on Cu uptake and translocation in maize seedlings [J]. *Plant and soil*, 292: 105-117.
- Zhuang, P., Zou, B., Li, N.Y., et al., 2009. Heavy metal contamination in soils and food crops around Dabaoshan mine in Guangdong, China: implication for human health [J]. *Environmental geochemistry and health*, 31: 707-715.
- Zoghalmi, L.B., Djebali, W., Abbas, Z., et al., 2011. Metabolite modifications in *Solanum lycopersicum* roots and leaves under cadmium stress [J]. *African journal of biotechnology*, 10: 567-579.
- 白雪, 陈亚慧, 耿凯, 等. 2014. 镉在三色堇中的积累及亚细胞与化学形态分布[J]. *环境科学学报*, 34(6): 1600-1605.
- 毕德, 吴龙华, 骆永明, 等. 2006. 浙江典型铅锌矿废弃地优势植物调查及其重金属含量研究[J]. *土壤*, 38(5): 591-597.

- 陈耿, 刘军, 杨立辉, 等. 2016. 燃煤电厂周边地区积尘重金属污染特征与健康风险评[J]. 中山大学学报(自然科学版), 55(1): 107-113.
- 崔妍, 丁永生, 公维民, 等. 2005. 土壤中重金属化学形态与植物吸收的关系[J]. 大连海事大学学报: 自然科学版, 31(2): 59-63.
- 邓新辉, 柴立元, 杨志辉, 等. 2015. 铅锌冶炼废渣堆场土壤重金属污染特征研究[J]. 生态环境学报, 24(9): 1534-1539.
- 杜瑞英. 2013. 土壤改良剂和红麻联合修复对多金属污染土壤中微生物群落功能的影响[J]. 生态与农村环境学报, 29(1): 70-75.
- 方继宇, 贾永霞, 张春梅, 等. 2014. 马缨丹对镉的生长响应及其富集、转运和亚细胞分布特点研究[J]. 生态环境学报, 23(10): 1677-1682.
- 韩煜, 全占军, 王琦, 等. 2016. 金属矿山废弃地生态修复技术研究[J]. 环境保护科学, 42(2): 108-113.
- 何东, 邱波, 彭尽晖, 等. 2014. 湖南下水湾铅锌尾矿库优势植物重金属含量及富集特征[J]. 环境科学, 34(9): 3595-3600.
- 胡蔚, 夏妍, 陈亚华, 等. 2014. 脯氨酸对不结球白菜 (*Brassica chinensis*) 镉积累的影响[J]. 植物生理学报, 50(7): 931-936.
- 金倩, 杨远祥, 朱雪梅. 2010. 汉源普陀山铅锌矿区优势植物铅锌富集特性研究[J]. 西南农业学报, 23(6): 1976-1979.
- 金勇. 2013. 基于离体细胞研究蓖麻 (*Ricinus communis*) 对  $\text{Cu}^{2+}$  耐性与积累机制[D]. 华中农业大学.
- 李冬香, 陈清西. 2013. 锌在再力花体内的富集性及亚细胞分布和化学形态研究[J]. 中国生态农业学报, 21(9): 1114-1118.
- 李红婷, 董然. 2015. 2种萱草对铅、镉的吸收累积及其在亚细胞的分布和化学形态特征[J]. 华南农业大学学报, 36(4): 59-64.
- 李会合, 杨肖娥. 2009. 硫对超积累东南景天镉积累、亚细胞分布和化学形态的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 15(2): 395-402.
- 李亮亮, 张大庚, 李天来, 等. 2008. 土壤有效态重金属提取剂选择的研究[J]. 土壤, 40(5): 819-823.
- 李清飞, 仇荣亮. 2012. 麻疯树对镉胁迫的生理耐性及富集特征研究[J]. 农业环境学报, 31(1): 42-47.
- 刘凤枝. 2001. 农业环境监测应用手册[M]. 北京: 中国标准出版社: 590-596.
- 刘小燕, 陈棉彪, 李良忠, 等. 2016. 云南会泽铅锌冶炼厂周边土壤重金属污染特征及健康风险评价[J]. 农业资源与环境学报, 33(3): 221-229.
- 彭渤, 唐晓燕, 余昌训, 等. 2011. 湘江入湖河段沉积物重金属污染及其 Pb 同位素



- 地球化学示踪[J]. 地质学报, 85(2) : 282-299.
- 秦丽, 祖艳群, 李元, 等. 2013. 会泽铅锌矿渣堆周边 7 种野生植物重金属含量及累积特征研究[J]. 农业环境科学学报, 32(8) : 1558- 1563.
- 仇荣亮, 仇浩, 雷梅, 等. 2009. 矿山及周边地区多金属污染土壤修复研究进展[J]. 农业环境科学学报, 28(6) : 1085-1091.
- 宋敏, 徐文竞, 彭向永, 等. 2013. 外源脯氨酸对镉胁迫下小麦幼苗生长的影响[J]. 应用生态学报, 24(1): 129-134.
- 宋奇超, 曹凤秋, 巩元勇, 等. 2012. 高等植物氨基酸吸收与转运及生物学功能的研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 18(6): 1507-1517.
- 孙秀梅, 张纪秀, 张海军, 等. 2010. 镉胁迫对拟南芥中氨基酸及其衍生物的影响[J]. 环境化学, 29(1): 25-28.
- 孙约兵, 周启星, 任丽萍, 2007. 镉超富集植物球果菜对镉-砷复合污染的反应及其吸收积累特征[J]. 环境科学, 28(6): 1355-1360.
- 田莉, 李国琛, 王颜红, 等. 2016. 葫芦岛锌厂周边农田土壤重金属浓度的空间变异及污染评价[J]. 生态学杂志, 35(11): 3086-3092.
- 王明新, 陈亚慧, 白雪. 2014. 孔雀草对镉胁迫的响应及其积累与分布特征[J]. 33(11): 1878-1884.
- 王友保, 张莉, 沈章, 等. 2005. 铜尾矿库区土壤与植物中重金属形态分析[J]. 应用生态学报, 16(12): 2418- 2422.
- 魏树和, 周启星, 王新, 等. 2004. 一种新发现的镉超积累植物龙葵 (*Solanum nigrum* L.) [J]. 科学通报, 49(24): 2568-2573.
- 吴朝波, 王蕾, 郭建春, 等. 2016. 镉在海雀稗体内的分布及化学形态特征[J]. 环境化学, 35(2): 330-336.
- 邢艳帅, 乔冬梅, 朱桂芬. 2014. 土壤重金属污染及植物修复技术研究进展[J]. 中国农学通报, 30(17): 208-214.
- 徐劼, 于明革, 陈英旭, 等. 2011. 铅在茶树体内的分布及化学形态特征[J]. 应用生态学报, 22(4): 891-896.
- 徐君, 贾荣, 施国新, 等. 2012. 镉在水花生叶片中的亚细胞分布及其毒理学[J]. 应用生态学报, 23(4): 1070-1076.
- 徐卫红, 王宏信, 刘怀, 等. 2007. Zn、Cd 单一及复合污染对黑麦草根分泌物及根际 Zn、Cd 形态的影响[J]. 环境科学, 28(9): 2089-2095.
- 徐智敏, 何宝燕, 李取生, 等. 2015. 盐分胁迫下两个苋菜品种对镉及主要渗透调节物质累积的差异[J]. 生态学杂志, 34(2): 483-490.

- 薛永, 王苑颀, 姚泉洪, 等. 2014. 植物对土壤重金属镉抗性的研究进展[J]. 生态环境学报, 23(3):528-534.
- 杨传杰, 魏树和, 周启星, 等. 2009. 外源氨基酸对龙葵修复 Cd-PAHs 污染土壤的强化作用[J]. 生态学杂志, 28(9):1829-1834.
- 杨晶, 赵云利, 甄泉, 等. 2014. 某污灌区与蔬菜重金属污染状况及健康风险评价[J]. 生态与农村环境学报, 30(2): 234-238.
- 游少鸿, 滕云, 马丽丽, 等. 2016. 香蒲吸收镉的途径及体内镉化学形态研究[J]. 环境工程, 34(8): 58-61.
- 于方明, 苏银萍, 刘华, 等. 2013. Mn、Zn 单一及复合污染对短毛蓼氮素代谢的影响[J]. 农业环境科学学报, 32(3): 517-523.
- 张会敏, 袁艺, 焦慧, 等. 2015. 相思谷尾矿 8 种定居植物对重金属吸收及富集特性[J]. 生态环境学报, 24(5): 886-891.
- 张中春, 邱保胜. 2012. 植物螯合肽的转运与功能研究进展[J]. 植物生理学报, 48(5): 425-428.
- 郑冬梅, 金丹, 蔺昕, 等. 2016. 沈阳市采暖期与非采暖期的街道灰尘重金属暴露[J]. 生态学杂志, 35(4): 1047-1052.
- 郑国璋. 2007. 农业土壤重金属污染研究的理论与实践[M]. 北京: 中国环境科学出版社.
- 郑武. 1993. 广西桂东北地区农业土壤环境若干重金属元素背景值的调查[J]. 生态与农村环境学报, 4: 39-42.
- 钟海涛, 潘伟斌, 张太平, 等. 2013. 小飞扬草 (*Euphorbia thymifolia* L.) 中镉的亚细胞分布及化学形态[J]. 环境保护科学, 39(3): 50-54.
- 周守标, 徐礼生, 吴龙华, 等. 2011. 镉和锌在皖景天细胞内的分布及化学形态[J]. 应用生态学报, 2011, 19: 2515-2520.
- 周小勇, 仇荣亮, 应蓉蓉, 等. 2008. 锌对长柔毛委陵菜体内镉的亚细胞分布和化学形态的影响[J]. 农业环境科学学报, 27(3): 1066-1071.

## 致 谢

三年时光飞逝而过，转眼博士后生活即将完成。在此期间，我得到众多师长、同门、朋友和家人的关心、帮助和鼓励，在此谨向他们表示最真挚的感谢！

首先要感谢我的合作导师肖化云研究员长期对我生活和工作的关心和支持。本文的完成得益导师创造和提供的良好的学术氛围及先进的实验条件。肖老师潜心科研的作风、孜孜不倦的奋斗精神、谦逊求实的态度以及学术上的业绩，都是我们学习的榜样，将深深鼓励我，鞭策我不断努力前进。

衷心感谢我的博士生导师中国科学院地理科学与资源研究所郭庆军研究员一如既往对我的鼓励和帮助。博士毕业后离开地理所，郭老师经常关心我的生活近况和工作进展，并为我研究工作中部分样品的测试提供大量的支持。

感谢地化所肖老师课题组关晖、郑能建、张忠义、高肖飞、瞿玲露、徐宇、赵晶晶、盛恩国等同门师弟师妹们在本人工作开展过程中提供的大量无私的帮助。天下没有不散的宴席，他们中有些已经离开贵阳去别地工作了，我也将马上离开这个团队，但这份同门情我将牢记于心。

感谢地化所环境室、人事处、财务处、物业中心等相关部门的各位老师和工作人员提供了优越便利的工作和生活条件，为论文的顺利完成提供可靠的保障。

感谢地化所足球队各位球友们的陪伴一起度过欢乐和汗水时光，也感谢那些帮助过我，但不为我所知的老师和同学！

特别感谢我的家人，感谢我的父母、岳父岳母、我的妻子周笑犁女士和未满一周岁的儿子优优，感谢他们始终如一的理解、鼓励和支持，他们是我奋斗的精神动力和坚强后盾。

最后，感谢在百忙之中抽出时间评阅和参与答辩的专家老师！

朱光旭

2017年8月于贵阳

## 作者简介

### 1 基本情况

姓名：朱光旭

性别：男

籍贯：福建仙游

出生年月：1986年11月

### 2 学习和工作经历

- ◇ 2014.09 至今 中国科学院地球化学研究所 环境地球化学 博士后
- ◇ 2010.09~2014.06 中国科学院地理科学与资源研究所 环境科学 博士
- ◇ 2007.09~2010.06 中国科学院亚热带农业生态研究所 生态学 硕士
- ◇ 2003.09~2007.06 福建师范大学地理科学国家理科基地班 地理科学 学士

### 3 主持或参与项目

- ◇ 主持中国博士后科研基金《游离氨基酸在铅锌尾矿区优势植物重金属抗性中的作用》
- ◇ 参与国家杰出青年科学基金《同位素地球化学》

### 4 博士后期间论文发表情况

- ◇ **Zhu Guangxu**, et al., 2017. Multivariate statistical and lead isotopic analyses approach to identify heavy metal sources in topsoil from the industrial zone of Beijing Capital Iron & Steel Factory. *Environmental Science and Pollution Research*, 24: 14877-14888.
- ◇ **Zhu Guangxu**, et al., 2016. Chemical and sulfur isotopic composition of precipitation in Beijing, China. *Environmental Science and Pollution Research*, 23: 5507-5515.
- ◇ Guo Qingjun, **Zhu Guangxu**, et al., 2016. Tracing the sources of sulfur in Beijing soil with stable sulfur isotopes. *Journal of Geochemical Exploration*, 161: 112-118.
- ◇ Guo Qingjun, **Zhu Guangxu**, et al., 2017. Spatial variation and environmental assessment of soil organic carbon isotopes for tracing sources in a typical contaminated site. *Journal of Geochemical Exploration*, 175: 11-17.
- ◇ **Zhu Guangxu**, et al. Heavy metal contents and enrichment characteristics of dominant plants in wasteland of the downstream of Yangshuo Pb-Zn mine, Southwest China. *Ecotoxicology and Environmental Safety* (under review).
- ◇ **Zhu Guangxu**, et al. Effects of cadmium stress on growth and amino acid

metabolism in two Compositae plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* (new submission).

- ◇ 朱光旭, 等. 2017. 铅锌尾矿污染区3种菊科植物体内重金属的亚细胞分布和化学形态特征. *环境科学*, 38(7): 420-426 (EI).
- ◇ 朱光旭, 等. 2016. 锌冶炼渣堆场优势植物的重金属累积特征研究. *生态环境学报*, 25(8): 1395-1400.
- ◇ 朱光旭, 等. 2016. 3种菊科植物对铅锌冶炼废渣土壤中重金属的积累和转运特征研究. *矿物岩石地球化学通报*, 36(增): 636.
- ◇ 朱光旭, 等. 2015. 蓖麻幼苗游离氨基酸组成对Cd-Pb-Zn复合胁迫的响应. *吉林大学学报(地球科学版)*, 45(增1):1507.