

3-吲哚乙酸协同螯合剂强化植物提取重金属的研究

周建民¹, 党志², 陈能场¹, 徐胜光¹, 谢志宜¹

(1. 广东省生态环境与土壤研究所广东省农业环境综合治理重点实验室, 广州 510650; 2. 华南理工大学环境科学与工程学院, 广州 510640)

摘要: 螯合剂的潜在环境风险以及重金属/金属螯合物对植物的胁迫作用是限制重金属污染土壤的螯合诱导植物提取技术应用的 2 个主要障碍. 以玉米为试验材料进行室内盆栽, 通过添加螯合剂 EDTA 和氨三乙酸(NTA)进行螯合诱导植物提取研究, 并以植物激素 3-吲哚乙酸(IAA)来缓解重金属对植物的胁迫作用. 结果表明, EDTA&IAA 处理玉米地上部生物量比 EDTA 处理增加 40.0%, 地上部 Cu、Zn、Cd 和 Pb 累积量分别增加 27.0%、26.8%、27.5% 和 32.8%; NTA&IAA 处理玉米地上部生物量比 NTA 处理增加 29.9%, 地上部 Cu、Zn、Cd 和 Pb 累积量分别增加 31.8%、27.6%、17.0% 和 26.9%. 结果表明, IAA 能缓解重金属/螯合剂的植物毒性, 促进植物根系伸长, 增加植物生物量, 协同螯合剂促进植物对重金属的吸收、转运和积累, 显著提高植物提取效率.

关键词: 重金属; NTA; IAA; 螯合诱导植物提取

中图分类号: X53 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2007)09-2085-04

Enhanced Phytoextraction of Heavy Metal Contaminated Soil by Chelating Agents and Auxin Indole-3-Acetic Acid

ZHOU Jian-min¹, DANG Zhi², CHEN Neng-chang¹, XU Sheng-guang¹, XIE Zhi-yi¹

(1. Guangdong Key Laboratory of Agro-Environment Integrated Control, Guangdong Institute of Eco-Environment and Soil Sciences, Guangzhou 510650, China; 2. College of Environmental Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The environmental risk of chelating agents such as EDTA application to the heavy metals polluted soils and the stress on plant roots due to the abrupt increase metals concentration limit the wide commercial use of chelate-induced phytoextraction. Chelating agent ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and nitrilotriacetic acid (NTA) and auxin indole-3-acetic acid (IAA) were used for enhancing heavy metals uptake from soils by *Zea mays* L. (corn) in pot experiments. The metals content in plant tissues was quantified using an inductively coupled plasma mass spectrometer (ICP-MS). The results showed that the combination of IAA and EDTA increased the biomass by about 40.0% and the contents of Cu, Zn, Cd and Pb in corn shoots by 27.0%, 26.8%, 27.5% and 32.8% respectively, as compared to those in EDTA treatment. While NTA&IAA treatment increased the biomass by about 29.9% and the contents of Cu, Zn, Cd and Pb in corn shoots by 31.8%, 27.6%, 17.0% and 26.9% respectively, as compared to those in NTA treatment. These results indicated that corn growth was promoted, and the biomass and the accumulation of heavy metals in plant shoots were increased significantly with the addition of IAA, which probably helps to change the cell membrane properties and the biomass distribution, resulting in the alleviation of the phytotoxicity of metals and the chelating agents.

Key words: heavy metal; nitrilotriacetic acid; indole-3-acetic acid; chelate-induced phytoextraction

近年来兴起的植物修复技术以其有效、非破坏、经济等特点, 正成为重金属污染土壤修复的主要手段之一, 螯合诱导植物提取技术是其中的有效方法^[1~4]. 但目前螯合诱导植物提取技术商业化应用存在 2 个主要障碍: 一是螯合剂的潜在环境风险, 近年来研究者开始以易降解的螯合剂如氨三乙酸(NTA)、乙二胺二琥珀酸(EDDS)等来代替难降解的螯合剂如乙二胺四乙酸(EDTA)、二乙烯三胺五乙酸(DTPA)等^[5~7]; 二是高浓度的重金属离子以及螯合剂/金属螯合物对植物的胁迫作用, 抑制植物的生长发育, 严重影响植物的生物量, 导致植物提取效率往往并不理想, 目前还没有很好的解决办法^[8,9]. 在利用螯合剂促进植物吸收和积累重金属的同时, 如何

保证不降低或者少降低植物地上部的生物量, 是螯合诱导植物提取技术能否取得成功的关键问题之一. 植物激素 3-吲哚乙酸(IAA)是植物体内合成的调控植物生长发育的微量有机物质, 能促进细胞分裂和伸长以及新器官的分化和形成, 对植物的生长发育和生理生化有着重要影响^[10]. 本研究把植物激素引入植物修复技术领域, 即在进行螯合诱导植物提取的同时, 通过施加 IAA 来缓解重金属以及螯合

收稿日期: 2006-11-02; 修订日期: 2006-12-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(30571117); 广东省科技计划项目(2004B20501001, 2006B20601008, 2006A36703004)

作者简介: 周建民(1973~), 男, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为污染物环境化学行为及其生物修复, E-mail: jmzhou@soil.gd.cn

剂/金属螯合物的胁迫作用,达到促进植物生长发育和提高植物提取效率的目的,对于解决螯合诱导植物提取技术应用存在的问题有重要的理论及现实意义.

1 材料与方法

1.1 试验设计与处理

供试土壤为重金属复合污染土壤,取自广东大宝山矿废水灌溉农田,土壤 pH 值为 4.62, Cu、Zn、Cd 和 Pb 的总量分别为 561、1 135、2.45 和 429 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,超过土壤环境质量二级标准(GB15618-1995),属中度污染土壤.土样风干后过 2 mm 筛,每盆土重 5 kg,基肥添加量为(以每 kg 土干重计):200 mg N、100 mg P_2O_5 和 100 mg K_2O ,施入形态分别为 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 、 KH_2PO_4 和 K_2SO_4 ,充分混合,温室内平衡 1 周.供试植物材料为 *Zea mays* L..

螯合剂 EDTA、NTA 处理量均为 $5\text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$,植物激素 IAA 处理量为 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,采用完全设计,共计 6 个处理,分别记为:Control(不施加螯合剂和 IAA);IAA(施加 IAA);EDTA(施加 EDTA);EDTA&IAA(同时施加 EDTA 和 IAA);NTA(施加 NTA);NTA&IAA(同时施加 NTA 和 IAA).每个处理重复 3 次,随机区组排列.幼苗在长出 4~5 片真叶后移栽到供试污染土壤中,每盆 1 株,在自然光照条件下进行室内盆栽,温度 22~32℃,每天浇灌 2 次,早晚各 1 次,保持土壤持水量为最大持水量的 60%.移栽后 20 d 追肥 1 次,施用量为基肥的 1/3.植株生长 50 d 后进行试验处理,EDTA 和 NTA 分别配成溶液后均匀淋溶在土壤表面,IAA 用乙醇溶解配成溶液,分 2 次添加,每次添加量的一半直接均匀淋溶在土壤表面,另一半均匀喷施在植物叶片上.再过 10 d 收获,用剪刀沿植株基部切取,分为根和地上部.测量植株高度及根系长度.地上部用自来水、去离子水各洗涤 2~3 次,根先用超声波清洗器清洗、20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA 溶液交换 15 min 去除根部吸附离子、再用去离子水漂洗和洗涤 2~3 次,吸干表面水分.

1.2 样品分析与数据处理

根和地上部先在 65℃ 下烘干并称重,植物粉碎机粉碎至 40 目,然后采用 $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ 混合消化,ICP-MS(Aligent7500A 型)测定其 Cu、Zn、Pb 和 Cd 含量^[11].在线加入内标以茶叶标准样 GBW 07605 作为质控标准,并作全程空白对照.数据用 SAS 软件进行统计检验分析,5% 水平下 Duncan 多重比较检验

各处理平均值之间的差异显著性.

2 结果与分析

2.1 IAA 与螯合剂处理对植物生长的影响

如表 1 所示,与空白对照处理比较,IAA 处理的玉米根系伸长量从 21.5 cm 增加到 26.2 cm,增加 21.9%,达显著性差异;植株高度从 145 cm 增加到 148 cm,没有显著性差异.在施加螯合剂的同时添加 IAA,IAA 也能促进植物根系伸长和植物生长,如 EDTA&IAA 处理与 EDTA 处理比较,玉米根系长度从 16.5 cm 增加到 20.8 cm,增加 26.1%;植株高度从 106 cm 增加到 136 cm,增加 28.3%,均达显著性差异水平.表明 IAA 主要是诱导不定根的伸长,从而促进植物的生长发育.

从生物量看,IAA 处理与空白对照比较,根部生物量没有显著性差异,但地上部生物量从 27.81 $\text{g}\cdot\text{pot}^{-1}$ (以干重计,下同)增加到 33.06 $\text{g}\cdot\text{pot}^{-1}$,增加 18.9%,达显著性差异.在施加螯合剂的同时添加 IAA,根部和地上部生物量与相应单一施加螯合剂比较均达显著性差异水平.如 NTA&IAA 处理的玉米根部生物量从 2.26 $\text{g}\cdot\text{pot}^{-1}$ 增加到 2.63 $\text{g}\cdot\text{pot}^{-1}$,增加 16.4%;地上部生物量从 23.34 $\text{g}\cdot\text{pot}^{-1}$ 增加到 30.32 $\text{g}\cdot\text{pot}^{-1}$,增加 29.9%.EDTA&IAA 处理也有类似的结果,玉米根部和地上部生物量分别比 EDTA 处理分别增加 30.3% 和 40.0%,增加幅度比 NTA&IAA 处理更为显著,原因在于 EDTA 对植物的毒害或抑制作用比 NTA 更明显.表明施加 IAA 能缓解重金属以及螯合剂/金属螯合物的植物毒性,促进植物生长发育.

表 1 IAA 与螯合剂处理对玉米生长的影响¹⁾
Table 1 Effect on corn growth with the addition of IAA and EDTA or NTA

处理	根长/cm	株高/cm	生物量/ $\text{g}\cdot\text{pot}^{-1}$	
			根部	地上部
Control	21.5b	145ab	2.39ab	27.81b
IAA	26.2a	148ab	2.56ab	33.06a
EDTA	16.5c	106c	1.78c	15.98d
EDTA&IAA	20.8b	136b	2.32b	22.37c
NTA	19.8b	138ab	2.26b	23.34c
NTA&IAA	24.6a	154a	2.63a	30.32ab

1) 表中数据为平均值($n=3$),运用 Duncan 多重比较法,同列数据具有相同字母的数据无显著性差异($p<0.05$),下同

2.2 IAA 与螯合剂处理对植物地上部重金属含量的影响

如表 2,IAA 处理玉米地上部重金属含量与空白

对照处理比较没有显著差异,Cu、Zn、Cd 和 Pb 含量分别为 50.8、240.7、3.45 和 41.7 mg•kg⁻¹.与单一施加螯合剂比较,同时施加螯合剂和 IAA 处理玉米地上部重金属含量也没有达显著差异水平(NTA&IAA 处理中元素 Pb 除外).但 EDTA 处理玉米地上部 Cu、Zn、Cd 和 Pb 含量分别达 229.6、882.8、9.39 和 154.1 mg•kg⁻¹,与空白对照处理比较达显著性差异水平,

表 2 IAA 和螯合剂处理对玉米地上部重金属含量和累积量的影响

Table 2 Contents and accumulation of Cu, Zn, Cd and Pb in corn shoots with the addition of IAA and EDTA or NTA

处理	重金属含量/mg•kg ⁻¹				重金属累积量/mg•pot ⁻¹			
	Cu	Zn	Cd	Pb	Cu	Zn	Cd	Pb
Control	56.9c	244.7c	3.27c	40.5d	1.58d	6.81e	0.030d	0.72d
IAA	50.8c	240.7c	3.45c	41.7d	1.68d	7.96d	0.039c	0.91c
EDTA	229.6a	882.8a	9.39a	154.1a	3.67c	14.11c	0.051b	1.16b
EDTA&IAA	221.6ab	827.7ab	9.36a	139.8a	4.66b	17.89b	0.065a	1.54a
NTA	199.4b	743.5b	6.10b	89.9b	4.65b	17.35b	0.053b	0.93c
NTA&IAA	202.1b	730.1b	6.16b	59.8c	6.13a	22.14a	0.062a	1.18b

2.3 IAA 与螯合剂处理对植物地上部重金属累积量的影响

如表 2 所示,施加 IAA 处理的玉米地上部 Cu、Zn、Cd 和 Pb 累积量分别为 1.68、7.96、0.039 和 0.91 mg•pot⁻¹,与空白处理比较有显著差异(元素 Cu 除外).同时施加 IAA 与螯合剂处理玉米地上部重金属累积量与单一施加螯合剂处理也有显著差异,如 NTA&IAA 处理玉米地上部 Cu、Zn、Cd 和 Pb 累积量分别增加到 6.13、22.14、0.062 和 1.18 mg•pot⁻¹,分别是空白对照处理的 3.87、3.25、2.07 和 1.64 倍,比 NTA 处理也分别增加 31.8%、27.6%、17.0% 和 26.9%.EDTA&IAA 处理也有类似结果,玉米地上部 Cu、Zn、Cd 和 Pb 累积量分别增加到 4.66、17.89、0.065 和 1.54 mg•pot⁻¹,分别是空白对照处理的 2.95、2.63、2.17 和 2.14 倍,比 EDTA 处理也分别增加 27.0%、26.8%、27.5% 和 32.8%.表明对于元素 Cu 和 Zn,施加 IAA 对 NTA 处理更为显著,而对于元素 Cd 和 Pb 施加 EDTA 处理更为显著.

综合表 1 和表 2 可以看出,施加 IAA 能显著增加植物对重金属的累积量,主要原因是 IAA 能缓解重金属或螯合剂/金属螯合物的植物毒性,促进植物生长发育,增加植物生物量,从而提高了植物提取效率.

3 讨论

IAA 属于植物激素中植物生长素的一种,能促进细胞分裂和伸长以及新器官的分化和形成,对植物的生长发育和生理生化有着重要影响^[10,12].同时,一些研究还表明 IAA 能增加植物的蒸腾作用或气孔

分别是空白对照处理的 4.0、3.6、2.9 和 3.8 倍.NTA 处理与空白对照处理比较也有类似的结果.这表明,IAA 对玉米吸收和转运重金属没有显著影响,螯合剂的主要作用是促进植物吸收和转运重金属.

另外还可以看出,EDTA 处理的玉米地上部重金属含量与 NTA 处理有显著差异,表明 EDTA 在促进植物对重金属的吸收和转运方面比 NTA 能力要强.

导度,有助于植物根系对重金属的吸收及向地上部转移^[13~16],还能对植物的重金属胁迫有缓解作用,促进植物对重金属的吸收,并认为其可能机理是植物激素引起植物代谢发生某些方面的变化^[17],或可能与调节活性氧代谢及蛋白质的表达有关^[18].Martha 等在水培条件下研究了 EDTA 与 IAA 协同作用对紫花苜蓿(*Medicago sativa*)吸收 Pb 的影响,结果表明,100 μmol•L⁻¹ IAA/0.2 mmol•L⁻¹ EDTA 处理显著增加紫花苜蓿叶片 Pb 的含量,分别比 Pb 单独处理和 Pb/EDTA 处理增加 2800% 和 600%^[8],并认为其可能机制是 IAA 与其受体 ABP (Auxin-binding proteins)的结合可以调节质膜上的 H⁺-ATPase 活性,引起质膜离子通道的开放或激活细胞质膜离子转运蛋白所致^[19~21].

本研究结果也表明,IAA 能促进植物根系伸长、增加植株高度,促进植物的生长发育,增加地上部生物量.同时也能缓解重金属以及螯合剂/金属螯合物对植物的胁迫作用,协同螯合剂促进植物对重金属的吸收、转运和积累,增加植物提取效率,但其调控机理还有待于从植物生理生化方面进一步深入研究.并且本研究结果显示,IAA 在提高植物生物量的同时并不降低植物地上部重金属含量,从而达到提高植物提取效率的目的,与 Martha 等的研究结果 IAA 能增加紫花苜蓿叶片 Pb 含量有所差别,原因可能与试验方法、植物种类以及 IAA 用量和施加方式等有关.

4 结论

(1) 植物激素 IAA 能促进植物根系伸长,增加

植株高度,促进植物生长发育,增加植物生物量.

(2) 植物激素 IAA 能缓解重金属以及螯合剂/金属螯合物对重金属的胁迫作用,协同螯合剂促进植物对重金属的吸收、转运和积累,显著增加植物提取效率.

参考文献:

- [1] Watanabe M E. Phytoremediation on the brink of commercialization [J]. *Environ Sci Technol*, 1997, **31** (4): 182 ~ 186.
- [2] Huang J W, Chen J, Berti W R, *et al.* Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction [J]. *Environ Sci Technol*, 1997, **31** (3): 800 ~ 805.
- [3] 骆永明. 强化植物修复的螯合诱导技术及其环境风险[J]. *土壤*, 2000, **2**: 57 ~ 61.
- [4] Nowack B, Schulin R, Robinson B H. Critical assessment of chelant-enhanced metal phytoextraction [J]. *Environ Sci Technol*, 2006, **40**(17): 5225 ~ 5232.
- [5] Wenger K, Kayser A, Gupta S K, *et al.* Comparison of NTA and elemental sulfur as potential soil amendments in phytoremediation [J]. *Soil & Sediment Contamination*, 2002, **11**(5): 655 ~ 672.
- [6] Tandy S, Bossart K, Mueller R, *et al.* Extraction of heavy metals from soils using biodegradable chelating agents [J]. *Environ Sci Technol*, 2004, **38**(3): 937 ~ 944.
- [7] Luo C L, Shen Z G, Li X D, *et al.* Enhanced phytoextraction of Pb and other metals from artificially contaminated soils through the combined application of EDTA and EDDS [J]. *Chemosphere*, 2006, **63**(10): 1773 ~ 1784.
- [8] Martha L L, Jose R P, Tenoch B, *et al.* Enhancement of lead uptake by alfalfa (*Medicago sativa*) using EDTA and a plant growth promoter [J]. *Chemosphere*, 2005, **61**(4): 595 ~ 598.
- [9] Quartacci M F, Argilla A, Baker A J M, *et al.* Phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by Indian mustard [J]. *Chemosphere*, 2006, **63**(6): 918 ~ 925.
- [10] 吕剑, 喻景权. 植物植物激素的作用机制[J]. *植物生理学通讯*, 2004, **40** (5): 624 ~ 628.
- [11] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. (第三版), 北京: 中国农业出版社, 2000. 85 ~ 98.
- [12] Salt D E, Prince R C, Pickering I J, *et al.* Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard [J]. *Plant Physiol*, 1995, **109**: 1427 ~ 1433.
- [13] Abdelilah Chaoui, Brahim Jarrar, Ezzedine EL Ferjani. Effects of cadmium and copper on peroxidase, NADH oxidase and IAA oxidase activities in cell wall, soluble and microsomal membrane fractions of pea roots [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2004, **161** (11): 1225 ~ 1234.
- [14] Blaylock M J, Salt D E, Dushenkov S. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents [J]. *Environ Sci Technol*, 1997, **31** (3): 860 ~ 865.
- [15] 范晓荣, 沈其荣. ABA, IAA 对旱作水稻叶片气孔的调节作用[J]. *中国农业科学*, 2003, **36** (12): 1450 ~ 1455.
- [16] Kirkham M B. EDTA-facilitated phytoremediation of soil with heavy metals from sewage sludge [J]. *Int J Phytoremediation*, 2000, **2**: 159 ~ 172.
- [17] 郭栋生, 席玉英, 王爱英, 等. 植物激素类除草剂对玉米幼苗吸收重金属的影响[J]. *农业环境保护*, 1999, **18** (4): 182 ~ 187, 191.
- [18] 周红卫, 施国新, 陈景耀, 等. 6-BA 对水花生抗氧化酶系 Hg^{2+} 毒害的缓解作用[J]. *生态学报*, 2003, **23** (2): 387 ~ 392.
- [19] Pazurkiewicz-Kocot K, Galas W, Kita A. The effect of selenium on the accumulation of some metals in *Zea mays* L. plants treated with indole-3-acetic-acid [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2003, **8** (1): 97 ~ 103.
- [20] Peralta-Videa J R, Gardea-Torresdey J L, Gomez E, *et al.* Effect of mixed cadmium, copper, nickel and zinc at different pHs upon alfalfa growth and heavy metal uptake [J]. *Environ Pollut*, 2002, **119** (3): 291 ~ 301.
- [21] Tode K, Lüthen H. Fusicoccin and IAA-induced elongation growth share the same pattern of K^{+} dependence [J]. *J Exp Bot*, 2001, **52**: 251 ~ 255.