

北京化工大学学位论文原创性声明

本人郑重声明： 所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本人完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

作者签名： 李有丹 日期： 2015.6.4

关于论文使用授权的说明

学位论文作者完全了解北京化工大学有关保留和使用学位论文的规定，即：研究生在校攻读学位期间论文工作的知识产权单位属北京化工大学。学校有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和磁盘，允许学位论文被查阅和借阅；学校可以公布学位论文的全部或部分内容，可以允许采用影印、缩印或其它复制手段保存、汇编学位论文。

☐ 论文暂不公开（或保密）注释：本学位论文属于暂不公开（或保密）范围，在 X 年解密后适用本授权书。

☒ 非暂不公开（或保密）论文注释：本学位论文不属于暂不公开（或保密）范围，适用本授权书。

作者签名： 李有丹 日期： 2015.6.4

导师签名： 王峰 日期： 2015.6.4



学位论文数据集

中图分类号	X53	学科分类号	610.30	
论文编号	1001020150234	密 级	公开	
学位授予单位代码	10010	学位授予单位名称	北京化工大学	
作者姓名	李有丹	学 号	2012200234	
获学位专业名称	环境科学与工程	获学位专业代码	0830	
课题来源	自选项目	研究方向	土壤修复	
论文题目	富汞植物的筛选及性能评价			
关 键 词	汞, 土壤, 富集植物, 耐受性, 富集能力			
论文答辩日期	2015 年 6 月 3 日	* 论 文 类 型	应用研究	
学位论文评阅及答辩委员会情况				
	姓名	职称	工作单位	学科专长
指导教师	冯流	教授	北京化工大学	环境化学
评阅人 1	胡翔	教授	北京化工大学	水污染控制工程
评阅人 2	王京刚	副教授	北京化工大学	大气污染控制工程
评阅人 3				
评阅人 4				
评阅人 5				
答辩委员会主席	张润铎	教授	北京化工大学	催化控制
答辩委员 1	黄世萍	教授	北京化工大学	化工模拟
答辩委员 2	海热提	研究员	北京化工大学	水处理
答辩委员 3	包雨云	教授	北京化工大学	搅拌工艺
答辩委员 4	雷志刚	教授	北京化工大学	化工模拟
答辩委员 5				

- 注：一. 论文类型：1. 基础研究 2. 应用研究 3. 开发研究 4. 其它
- 二. 中图分类号在《中国图书资料分类法》查询。
- 三. 学科分类号在中华人民共和国国家标准（GB/T 13745-9）《学科分类与代码》中查询。
- 四. 论文编号由单位代码和年份及学号的后四位组成。

富汞植物的筛选及性能评价

摘 要

汞作为全球性的环境污染物之一,它具有很高的毒性并且能够在环境中迁移,具有较大的环境风险且是全球污染治理的难题之一。目前,我国的汞污染也异常严重,因此寻求一种行之有效的治理方法至关重要。

本论文针对我国汞污染的严峻现状,希望寻找到一种富汞能力强的植物。通过对福建德化某废弃金矿、北京石景山某钢铁厂和贵州万山废弃汞矿的采样调查,发现福建德化某废弃金矿的土壤汞浓度为 $117.01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,北京石景山某钢铁厂的土壤汞浓度为 $2.85 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,而贵州万山废弃汞矿的土壤汞浓度为 $158.44\sim 517.45 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,用单因子指数法评价方法得出三地均为重度污染。以植株中的汞含量、转运系数(TF)、富集系数(BCF)、生物量等指标作为富汞植物的筛选标准,最终从贵州万山废弃汞矿矿区筛选出了一种大量生存、长势良好、生物量大、汞含量高、转运系数大、富集能力强的富汞植物—鳞毛蕨科贯众。

对筛选出来的富汞植物贯众在人工气候箱培养等实验室模拟条件下用氯化汞染毒的土壤进行盆栽实验。研究表明,贯众的耐汞浓度范围为 $0\sim 500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,其中贯众适宜的汞浓度为 $25\sim 50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。汞会对贯众的生理特性产生一定的影响而反映出贯众的抗胁迫能力的强弱。通过实验发现,贯众体内的超氧化物歧化酶(SOD)活性在汞浓度低时增加,汞浓度高时降低,随着时间的延长,超氧化物歧化酶(SOD)活性开始下降;贯

众体内的谷胱甘肽 (GSH) 含量随汞浓度和时间的增加而增加; 贯众体内的脯氨酸含量随汞浓度的增加先减小后增加, 随着时间的延长脯氨酸的含量增加; 丙二醛 (MDA) 含量随汞浓度和时间的增加均呈现增加趋势。贯众仍能正常生长, 表明贯众的抗胁迫能力强。

对老化和种植贯众后的土壤进行 Tessier 五步提取法形态分析, 发现老化后土壤汞形态的大小顺序为离子交换态汞 > 碳酸盐结合态汞 > 有机结合态汞 > 残渣态汞 > 铁锰氧化物结合态汞, 表明添加的氯化汞主要转化为离子交换态汞和碳酸盐结合态汞; 种植贯众后的土壤离子交换态汞和碳酸盐结合态汞下降非常明显, 表明贯众主要吸收离子交换态汞和碳酸盐结合态汞。通过实验发现弱酸性和少量有机质含量条件下有利于贯众吸收汞, 碱性和过量的有机质含量则阻碍贯众对汞的吸收。其中, 适宜的 pH 值范围为 6.24~6.85, 适宜有机质含量范围为 1.79%~2.81%, 通过 $L_9(3^4)$ 正交实验得出: (1) 对贯众富汞影响最大的因素为汞浓度, 其次为 pH 值, 有机质的影响最小; (2) 贯众的最优生长条件汞浓度为 $45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, pH 值为 6.35, 有机质含量为 2.52%。贯众的富汞能力强, 可以运用于工程实践进行检验。

关键词: 汞, 土壤, 富集植物, 耐受性, 富集能力

SCREENING AND PERFORMANCE EVALUATION OF MERCURY-RICH PLANT

ABSTRACT

Mercury is one of the global environmental pollutants, which is highly toxic and can migrate in the environment, with greater environmental risk, and is one of the problems of global pollution. At present, China's mercury pollution is very serious, it is essential to seek an effective treatment method.

With the serious situation of mercury pollution in our country, this paper hopes to find a kind of mercury enrichment ability of plants. By sampling survey in Fujian Dehua abandoned gold mines, Beijing Shijingshan steel mills and Guizhou Wanshan abandoned mercury mine, found that the mercury concentrations in soil of Fujian Dehua abandoned gold mine was $117.01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, Beijing Shijingshan steel mills was $2.85 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, Guizhou Wanshan abandoned mercury mine was $158.44\sim 517.45 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, with a single factor index method to get three places were severe pollution. Mercury content in plants, transport coefficient (TF), the enrichment factor (BCF), biomass and other indicators as screening criteria mercury enrichment plants, and eventually from Guizhou Wanshan abandoned mercury mine screened a large number of survival, growing well, large biomass, high levels of mercury,

transport coefficient, enrichment capability mercury enrichment plant —
Dryopteridaceae Cyrtomium Rhizome.

Mercury enrichment plants pot experiment with mercuric chloride infected soil under laboratory simulation conditions such as artificial climate chamber. Studies have shown that the resistance to mercury concentration range of $0\sim 500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, which is the optimum mercury concentration of $25\sim 50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Mercury have some impact on the physiological characteristics of Cyrtomium Rhizome and reflects the strength of the anti-stress capability. Experiments found that superoxide dismutase (SOD) activity increased at low concentrations and decreased at high concentrations, with the extension of time, the superoxide dismutase (SOD) activity began to decline; glutathione (GSH) content increases with the increase of the mercury concentration and time; proline content increase after the first decrease with the increase in mercury concentrations and as time increases the content of proline increased; malondialdehyde (MDA) content with the increase of mercury concentration and time showed an increasing trend. Cyrtomium Rhizome can still normal growth, indicating a strong anti-stress capability.

The soil after aging and planting carried out the Tessier five-step extraction method morphological analysis found mercury speciation in the soil after aging the order was the ion exchange fraction > carbonate fraction > Organic bound > residual > Fe-Mn oxide bound, it show added mercuric chloride is mainly converted to ion exchange and carbonate bound; after

planting the soil ion exchange and carbonate-bound dropped very significantly, indicating Cyrtomium Rhizome main absorption ion exchange and carbonate bound. It was found weak acid and a small amount of organic matter content are conducive Cyrtomium Rhizome absorb mercury, Basic and excess organic matter content is hinder the absorption. the optimum pH range of 6.24~6.85, the optimum organic matter content range of 1.79%~2.81%. By $L_9(3^4)$ orthogonal experiments: (1) the impact of mercury enrichment biggest factor for mercury concentration, followed by pH, organic matter with minimal impact; (2) the optimal growth conditions for mercury concentration $45 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, pH value of 6.35, the organic matter content of 2.52%. Cyrtomium Rhizome has strong mercury enrichment capability and can be applied to engineering practice test.

Keywords: mercury, soil, enrichment plant, Tolerance, enrichment capability

目录

第一章 绪论	1
1.1 土壤中汞的来源、性质、赋存形态及危害	1
1.1.1 土壤中汞的来源	1
1.1.2 汞的性质	2
1.1.3 土壤中汞的赋存形态及迁移转化	2
1.1.4 汞的危害	3
1.1.4.1 汞对植物的危害	3
1.1.4.2 汞对人体的危害	4
1.2 修复技术	4
1.2.1 修复技术的种类	4
1.2.2 植物修复的类型	5
1.2.3 植物修复的优缺点	5
1.3 超积累植物	6
1.3.1 超积累植物的定义	6
1.3.2 超积累植物的特征和筛选方法	6
1.3.3 超积累植物的不足	7
1.4 超积累植物耐受重金属的机理	7
1.5 本课题的研究意义及内容	8
1.5.1 研究意义	8
1.5.2 研究内容	8
1.5.3 技术路线	9
第二章 富汞植物的筛选	11
2.1 实验材料	11
2.1.1 采样点选择	11
2.1.2 采样方法	13
2.1.3 实验仪器及试剂	13

2.2 实验方法	15
2.2.1 土壤 pH 值的测定	15
2.2.2 土壤有机质的测定	15
2.2.3 植物样品总汞含量的提取	15
2.2.4 土壤样品总汞含量的提取	16
2.2.5 汞含量的测定	16
2.2.6 污染评价方法	16
2.2.7 质量控制与数据分析	16
2.3 实验结果与讨论	17
2.3.1 采样点土样的理化性质	17
2.3.2 采样点土壤的汞浓度	17
2.3.3 富汞植物的筛选	18
2.4 本章小结	20
第三章 富汞植物贯众的耐受性评价	21
3.1 实验设计	21
3.1.1 耐汞浓度范围的确定	21
3.1.2 富汞植物生理特性的测定	21
3.2 测定方法	22
3.2.1 超氧化物歧化酶的测定	22
3.2.2 谷胱甘肽的测定	22
3.2.3 脯氨酸的测定	23
3.2.4 丙二醛测定	23
3.3 实验结果讨论与分析	23
3.3.1 耐汞浓度的确定	23
3.3.2 汞对贯众生理特性的影响	24
3.3.2.1 汞对贯众叶片超氧化物歧化酶的影响	24
3.3.2.2 汞对贯众叶片谷胱甘肽的影响	26
3.3.2.3 汞对贯众叶片脯氨酸的影响	27
3.3.2.4 汞对贯众叶片丙二醛的影响	28
3.4 本章小结	30
第四章 贯众富汞影响因素与条件优化	31

4.1 实验设计	31
4.1.1 pH 对贯众富汞的影响	31
4.1.2 有机质对贯众富汞的影响	31
4.1.3 正交实验的设计	31
4.2 测定方法	32
4.3 结果分析与讨论	33
4.3.1 贯众吸收与土壤形态的关系	33
4.3.2 pH 值对贯众富汞的影响	34
4.3.3 有机质对贯众富汞的影响	34
4.3.4 正交实验	36
4.4 本章小结	37
第五章 结论与建议	39
5.1 结论	39
5.2 建议	40
参考文献	41
致谢	47
研究成果及发表的学术论文	49
作者及导师简介	51

Contents

Chapter 1 Introduction	1
1.1 Sources of mercury in soil, nature, chemical speciation and hazards	1
1.1.1 Sources of mercury in the soil	1
1.1.2 Nature of mercury	2
1.1.3 Forms and migration of mercury conversion in soil	2
1.1.4 Hazards of mercury	3
1.1.4.1 Mercury harm to plants	3
1.1.4.2 Mercury harm to human	4
1.2 Remediation Technology	4
1.2.1 Remediation Technology species	4
1.2.2 Phytoremediation type	5
1.2.3 Advantages and disadvantages of phytoremediation	5
1.3 Hyperaccumulator	6
1.3.1 Hyperaccumulator definition	6
1.3.2 Hyperaccumulator characteristics and screening methods	6
1.3.3 Hyperaccumulator inadequate	7
1.4 Hyperaccumulator tolerance mechanism of heavy metals	7
1.5 This paper studies the significance and content	8
1.5.1 Significance	8
1.5.2 Research	8
1.5.3 Technology Roadmap	9
Chapter 2 Screening mercury-rich plants	11
2.1 Experimental Materials	11
2.1.1 Sample point selection	11
2.1.2 Sampling Method	13
2.1.3 Laboratory equipment and reagents	13
2.2 Experimental Methods	15

2.2.1 Determination of pH in soil.....	15
2.2.2 Determination of organic matter in soil.....	15
2.2.3 Extraction of total mercury content in plant samples.....	15
2.2.4 Extraction of total mercury content in soil samples.....	16
2.2.5 Determination of mercury content	16
2.2.6 Pollution Assessment Methods.....	16
2.2.7 Quality Control and Data Analysis.....	16
2.3 Results and discussion.....	17
2.3.1 Physicochemical properties of soil samples in sampling points	17
2.3.2 Mercury concentrations in soil sampling points.....	17
2.3.3 Screening mercury-rich plants.....	18
2.4 Summary	20

Chapter 3 Tolerance of mercury-rich plants Cyrtomium Rhizome..... 21

3.1 Experimental Design	21
3.1.1 Determine the tolerance range of mercury concentrations.....	21
3.1.2 Determination of mercury-rich plant physiological characteristics	21
3.2 Determination	22
3.2.1 Determination of superoxide dismutase.....	22
3.2.2 Determination of glutathione.....	22
3.2.3 Determination of proline	23
3.2.4 Determination of malondialdehyde	23
3.3 Results and discussion.....	23
3.3.1 Determine the tolerance range of mercury concentrations.....	23
3.3.2 Effects of mercury on Cyrtomium Rhizome physiological characteristics.....	24
3.3.2.1 Effects of mercury on superoxide dismutase in Cyrtomium Rhizome leaves.....	24
3.3.2.2 Effects of mercury on glutathione in Cyrtomium Rhizome leaves	26
3.3.2.3 Effects of mercury on proline in Cyrtomium Rhizome leaves.....	27
3.3.2.4 Effects of mercury on malondialdehyde in Cyrtomium Rhizome leaves.....	28
3.4 Summary	30

Chapter 4 Cyrtomium Rhizome enrichment factors and Optimization ... 31

4.1 Experimental Design	31
-------------------------------	----

4.1.1 Effect of pH on the enrichment of mercury.....	31
4.1.2 Effect of organic matter content on the enrichment of mercury.....	31
4.1.3 Orthogonal experimental design	31
4.2 Determination.....	32
4.3 Discussion and analysis of results.....	33
4.3.1 Cyrtomium Rhizome absorb relationships with soil morphology.....	33
4.3.2 Effect of pH on the enrichment of mercury.....	34
4.3.3 Effect of organic matter content on the enrichment of mercury.....	34
4.3.4 Orthogonal experimental.....	36
4.4 Summary	37
Chapter 5 Conclusion and suggestion.....	39
5.1 Conclusion.....	39
5.2 Suggestion	40
Reference.....	41
Acknowledgement.....	47
Publications.....	49
Introduction of author and advisor	51

符号说明

<i>TF</i>	转运系数
<i>BCF</i>	富集系数
<i>X_a</i>	土壤污染积累起始值, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
<i>X_b</i>	中度污染起始值, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
<i>X_c</i>	重度污染起始值, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
<i>SOD</i>	超氧化物歧化酶, $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$
<i>GSH</i>	谷胱甘肽, $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$
<i>MDA</i>	丙二醛, $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$
<i>ROS</i>	活性氧自由基
<i>PC</i>	植物螯合素

第一章 绪论

汞是一种全球性的有毒污染物,目前它已成为人们研究的热点。人们对重金属汞污染危害的认识源于20世纪50年代日本爆发的水俣病事件,尤其是甲基汞(MeHg)的危害。汞在环境中不能降解,并能随大气、水体进行长距离的传播,可通过食物链转移富集最终进入人体内对人身健康造成危害。目前一些金矿、汞矿附近的土壤和农作物中的汞含量超标异常严重,汞污染的治理在全球范围内是一个难题,最近超过130个国家同意联合国水俣公约减少汞的排放和使用,以减轻汞对环境和人类的危害。我国使用汞的历史悠久,且污染相当严重,因此治理汞污染刻不容缓。

1.1 土壤中汞的来源、性质、赋存形态及危害

1.1.1 土壤中汞的来源

自然来源的汞是由多种渠道通过各种自然过程的方式而释放出来。主要包括火山、地热活动;森林火灾;岩石风化等。Mason等认为目前每年从自然来源排放到大气中的汞估计在80~600吨^[1]。这些汞在大气中移动了一段距离后又通过干湿沉降返回到地球表面,通过这种方式超过90%的汞最终排放在陆地生态系统中,而土壤是最大的接纳者,占到汞排放总量25%的大气干湿沉降通常造成汞污染^[2]。

人为因素是引起汞污染的主要因素,人为汞污染的来源主要包括:(1)含汞矿石的开采、运输和加工,贵州万山的汞污染主要是由汞矿的开采和冶炼造成的,冯新斌等在万山和务川汞矿附近的稻田中研究发现土壤中甲基汞浓度分别为 $23\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $20\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ^[3,4];(2)化石燃料的燃烧,包括煤炭等的燃烧,Friedli认为1997~2006年全球每年生物质燃烧排放的汞相当于同时期所有的人为和自然汞排放的8%^[5];(3)金属冶炼,由于汞的性质,它可以作为一个很好的催化剂,尤其在黄金的冶炼中。我国用混汞法冶金造成金矿区非常严重的汞污染^[6],Pataranawat等发现泰国披集府一个小规模的黄金矿区土壤表面汞浓度升高了 $10.5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[7],调查发现葫芦岛炼锌厂的土壤汞浓度高达 $14.6\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[8];(4)化工生产,由于汞可以作为催化剂或还原剂,在化工生产中的消耗量非常巨大,因此污染也非常严重,Bernaus发现荷兰氯碱厂附近土壤中汞含量高达 $1150\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[9];(5)农业排放,在农业生产中,也能造成汞的排放,Hseu等研究表明农业汞污染来源于农药,化肥,污水污泥和灌溉用水^[10],这是因为有些农药和化肥中含有汞,如磷肥的汞含量通常比较高,污泥虽然非常肥沃,可以增加土壤

的肥力,但污泥中通常含有大量的汞,有些灌溉用水也遭受了汞的污染;(6)垃圾填埋,运往垃圾场进行填埋的通常只进过简单的处理,一些含汞的废弃物未经处理便被填埋,造成环境风险危害。Earle 等研究了佛罗里达州的城市固体垃圾废物填埋场,他们的研究表明,废弃物中的汞浓度范围为 0.03 到 $16.8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,平均值为 $0.17 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [11];(7)木材防腐,许多木材的防腐剂中也含有大量的汞,暴露于环境中时也能造成汞的释放。Bolle 等收集了德国南部的一个早期木材浸渍厂的土壤和地下水样品,分析表明土壤和地下水中的汞浓度分别为 $3\sim 11000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $0.5\sim 230 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ [12];(8)军事设施,许多军事装备中也使用了汞,长时间也会释放到环境中,Bakir 等分析了土耳其安卡拉一个军事基地的地下水样品,结果表明汞含量超过了世界卫生组织 (WHO)规定的最大值[13];(9)其他含汞污染物,如含汞电池、日光灯等,Hutchison 研究表明离岸设施,船舶,气象站,机场,风洞及发动机制造使用气压表也能造成汞的排放[14]。

1.1.2 汞的性质

汞是在常温常压下呈液态存在的唯一金属,俗称水银。它的元素符号为 Hg,在化学元素周期表中的位置为第 6 周期、第 IIB 族,它的原子量为 200.59,熔点是 -38.87°C ,沸点是 356.6°C [15],密度为 $13.59 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ 。汞是银白色闪亮的重质液体,它的结晶为八面体结构,它的晶格为菱面体,虽然汞的导热性能差,但是它的导电性能较佳。它的化学性质十分稳定,既不溶于酸也不溶于碱。汞一般在常温下就能蒸发,汞蒸气和汞的化合物一般都有剧毒。

汞非常容易与大部分的普通金属形成汞合金(或汞齐),在工业生产中做为还原剂或催化剂使用。汞的金属活性较低,不能与酸溶液反应生成氢气。汞常见化合物有氯化亚汞(HgCl)、氯化汞(HgCl_2)、雷酸汞、硫化汞,有机化合物为甲基汞[16]。汞有七种稳定的同位素,分别是 ^{196}Hg 、 ^{198}Hg 、 ^{299}Hg 、 ^{200}Hg 、 ^{201}Hg 、 ^{202}Hg 、 ^{204}Hg 。自然界的汞通常以朱砂(HgS)、氯硫汞矿、硫锑汞矿等矿藏存在。

1.1.3 土壤中汞的赋存形态及迁移转化

Schuster 认为土壤中重金属的形态可分为可溶态(自由离子或可溶络合物)、非特异性吸附(静电吸附)、特异性吸附(共价键或配位键结合)、螯合(有机吸附)、沉淀(硫化物,碳酸盐,氢氧化物,磷酸盐等) [17]; Tessier 连续提取法分为离子交换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化态、有机结合态和残渣态[18],欧共体的 BCR 法分为醋酸提取形态、还原提取形态、氧化提取形态以及残渣形态[19]。

土壤中的汞主要以单质汞、一价汞、二价汞等形式存在,影响汞在土壤中赋存形

态的因素主要有 pH 值、有机质含量、氧化还原电位 (Eh) 等^[20]。在土壤微生物等的影响下, 土壤中的汞可以发生如下的形态转化^[21]:



影响汞在土壤中稳定或移动的的因素主要有载体、晶体的变化和 pH 值、氧化还原电位。汞的载体主要有有机物、矿物质、 Cl^- , OH^- , S_2^{2-} 等, 天然有机质能影响土壤中汞的形态、溶解度、流动性和毒性。有机物固定土壤粒子能提供额外的吸附位点, 从而可能一方面提高汞的固定, 有机质修复后土壤汞释放明显偏低并且有助于土壤中有机质的增加^[22]; 另一方面, 有机质可以与汞形成可溶物在土壤水的作用下移动, 可溶性腐殖酸显著增强汞的流动性导致汞从固相中溶解^[23]。粘土矿物, 非晶氧化物和 Fe、Mn 和 Al 的氢氧化物, 以及非晶硫化铁 (FeS) 是汞的有效无机吸附剂^[24], 汞也可以与 Mn 和 Fe 的氢氧化物、氧化物、碳酸盐和磷灰石形成固溶体的形式固定^[25]。增加 Cl^- 浓度被认为可以减少有机物对汞的吸附, Reddy 和 Aiken 的一项实验表明高 Cl^- 浓度能导致富里酸汞向氯化汞转变^[26]。

生化过程包括甲基化或脱甲基及氧化还原反应, 甲基化主要是硫酸盐还原菌 (SRB), 铁还原菌 (FeRB), 产甲烷菌或厚壁菌转换无机汞的生物过程^[27]。以细菌为媒介的 $[CH_3Hg]^+$ 脱甲基通过还原过程产生 Hg^0 和甲烷或氧化过程产生 Hg^{2+} 和二氧化碳^[28]。甲基化和非甲基化细菌可以通过协同作用提高汞的厌氧氧化和甲基化。

氧化还原电位可能会改变汞形态和缺氧的条件下可提高硫酸盐还原细菌的活性, 促进汞甲基化, 但也产生硫化物和多硫化物。pH 值可影响土壤中汞的形态和稳定性, 汞在 pH 值从酸性到碱性时有一个起伏的变化, 汞最低溶解时 pH 值为 3, 最大时为 5 或 11^[29]。

1.1.4 汞的危害

1.1.4.1 汞对植物的危害

进入土壤的汞污染首先对土壤微生物产生影响, 导致土壤酶活性降低, 造成土壤肥力降低, 影响作物生长。汞在植物体内的分布是根>茎>叶, 植物对重金属的吸收主要包括根的吸收和叶的吸收。汞对植物的影响有影响抗氧化系统、影响光合作用系统、抑制植物生长和产量、影响养分吸收和体内平衡、诱导基因毒性。汞对植物的主

要危害是甲基汞与蛋白中的巯基相结合,使植物中某些酶的功能受到破坏。许多研究已经表明汞会诱导氧化应激,提高植物细胞脂质过氧化作用和增加抗氧化酶的活性^[30],抗氧化酶谷胱甘肽(GSH)可能保护细胞免受汞的损害,汞可以与DNA结合损害染色体^[31]。不同形态的汞对植物的生长影响不同,无机汞的毒性没有有机汞的毒性强,但无机汞可转化为甲基汞,从而对植物造成很大的伤害。

1.1.4.2 汞对人体的危害

汞通过食物链进入人体,会对人体的健康造成危害,汞被吸收后会随血液迅速分布到全身各个器官,与血液中和组织的蛋白巯基结合,最终转移到肝脏、肾脏、大脑等造成损伤,引起失眠、多梦、溃疡、齿龈肿胀出血、牙齿松动脱落等症状^[32],还会导致新生儿先天性痴呆和畸形及各种神经退化性疾病如肌萎缩性脊髓侧索硬化症、阿尔茨海默病和帕金森病^[33]。

1.2 修复技术

1.2.1 修复技术的种类

物理方法主要是客土法、热脱附和电动修复。客土法是用洁净的土壤替换原来污染的土壤或者用部分洁净的土壤稀释受污染的土壤,将污染物的浓度控制在安全范围以内,从而减轻污染土壤对环境的危害^[34]。热脱附是通过物理高温等方法使重金属从土壤中挥发出来,通过后续操作对挥发出来的重金属进行吸收避免二次污染^[35],研究发现此技术的脱汞效率可以达到90%以上。电动修复通过在加入导电物质的污染土壤中插入电极,外加直流电场使污染物质积累在电极附近,定期清理电极以去除污染物质,Cox等人使用碘或碘化物对硫化汞污染的土壤进行电动修复,发现去除率高达99%^[36]。

化学方法包括固定稳定化、淋洗等。固定稳定化通过向土壤中添加固定剂使金属离子由活动态转化为固定态从而降低污染物对环境的危害的方法^[37]。固定稳定化法常用的固定剂是无机化合物,如磷酸盐、石灰、飞灰和硅酸铝,有研究表明土壤中20%~90%的汞可以被特定的固定剂固定^[38]。淋洗主要是通过螯合剂将土壤中的污染物浸出,但有些螯合剂可以造成二次污染。研究发现碘化物、EDTA和硫代硫酸盐对土壤汞的去除率约为30%^[39]。

生物修复包括植物修复和微生物修复,植物修复是通过自身的生理活动对污染物质进行代谢,如王明勇在贵州矿区发现了一种汞的富集植物—乳浆大戟,富汞量为25.3~35.1 mg·kg⁻¹^[40]。微生物修复是利用微生物的新陈代谢来降低重金属的毒性,有学

者研究发现抗汞细菌中存在一种特殊的 MMR 酶系,能将化合物的汞还原为单质汞,可以用于土壤汞污染修复^[41]。

1.2.2 植物修复的类型

植物修复的类型主要有:(1)植物吸收作用,利用超积累植物或富集植物对污染土壤中的某种金属元素的特异性吸收,使重金属转移至植物体内,通过对植物的合理处理减少污染。王明勇在贵州矿区发现了一种汞的富集植物—乳浆大戟,富汞量为 25.3~35.1 mg·kg⁻¹,转运系数大于 1,说明植物吸收的汞传送到植物地上部^[40]。Moreno 等发现硫代硫酸钠可以显著提高汞污染土壤中矮菜豆和印度芥菜对汞的吸收,在对照组,这两种植物茎中的总汞浓度低于检测限,根中的值分别为 5.5 和 9.8 mg·kg⁻¹,在硫代硫酸钠处理后,矮菜豆和印度芥菜茎和根的总汞浓度为 9.5 mg·kg⁻¹和 113 mg·kg⁻¹、15.2 mg·kg⁻¹和 69mg·kg⁻¹^[42],硫代硫酸铵处理过印度芥菜的根和茎的总汞浓度是对照组的近 13 和 40 倍。(2)植物挥发作用,植物吸收的重金属转化为易挥发的形态排除体外,此种方法往往造成二次污染,可利用性仍待商榷。Leonard 等研究植物和空气的地上部分的汞交换通量,在汞污染浓度为 450 mg·kg⁻¹和 1605 mg·kg⁻¹的土壤上种植 5 种植物 (*Lepidium latifolium*, *Artemisia douglasiana*, *Caulanthus* sp, *Fragaria vesca*, *Eucalyptus globulus*),发现 *Caulanthus* sp 白天汞排放率比其他植物高 (92.6ng⁻²h⁻¹),晚上的排放量小于白天所有植物^[43]。Meagher 通过基因工程将汞还原酶 (*merA*) 和有机汞裂解酶 (*merB*) 导入拟南芥并表达,使得转基因拟南芥比非转基因拟南芥耐汞能力明显提高^[44],并能将毒性高的甲基汞转化为毒性低的无机汞。此外 *merA* 和 *merB* 基因还被转入了白杨、芥菜和烟草等植物。(3)植物降解作用,植物根际的微生物能降解土壤中的有机污染物,植物可以分泌 10 到 100 倍的碳水化合物、氨基酸、类黄酮等刺激根际微生物的活性,植物分泌的碳源和氮源能为微生物提供丰富的营养环境,植物也能分泌一些降解土壤中有机污染物的酶^[45]。(4)植物稳定作用,主要是利用超积累植物植物或富集植物的根部固定重金属来降低重金属的活动性。柳树的根系可以积累可利用汞从而减少根际的可利用汞浓度,但是土壤中总汞相对不变^[46]。研究发现西班牙的 *Silene vulgaris* 对固定土壤汞污染有很大的潜力^[47]。

1.2.3 植物修复的优缺点

植物修复的优点主要有简便,只是种植和收割时需要一定的人力;经济,用于土壤修复的植物一般都比较廉价;无二次污染,植物修复是一种绿色健康的修复方法,一般不会有危害,适合大面积种植。缺点是用于土壤修复的植物数量少,目前发现的富汞植物非常稀少,而且富汞能力较弱,富汞效率较低;植物修复的周期一般很长,

需要花费大量的时间。

1.3 超积累植物

1.3.1 超积累植物的定义

超积累植物是指地上部积累的重金属超过土壤或附近非超积累植物的植物^[48]。它的概念最早是由 Brooks 等人在 1977 年提出的,指的是茎中镍含量(干重)大于 $1000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的植物^[49]。目前全世界发现的超积累植物超过了四百多种,分布在 50 个科,主要集中在十字花科^[50]。我国植物种类繁多,由于植物修复研究起步较晚,所以发现的富汞植物不多,主要有刘威等在湖南镉的超积累植物有天蓝遏蓝菜(*Thlaspi caerulescens*)、东南景天(*Sedum alfredii* Hance)、宝山堇菜(*Viola baoshanensis*)^[51]、龙葵(*Solanum nigrum* L.)^[52]等,铜的超积累植物有海州香薷(*E. splendens*)和鸭跖草(*Commelina communis*)^[53]等,锰的超积累植物有商陆(*Phytolacca acinosa* Roxb.)^[54]等,铅的超积累植物有圆叶遏蓝菜(*Thlaspi rotundifolium*)、香附子(*Typha rotunda* L.)等^[55],锌的超积累植物有天蓝遏蓝菜(*Thlaspi caerulescens*)、东南景天(*Sedum alfredii* Hance)^[56],铬的超积累植物有李氏禾(*Leersia hexandra* Swartz)^[57]等,砷的超积累植物有蜈蚣草(*Pteris vittata* L.)^[58]、大叶井口边草(*Pteris cretica* L.)^[59]等。

1.3.2 超积累植物的特征和筛选方法

超积累植物具有很好的富集效果,与非超积累植物相比,超积累植物主要有以下特征^[60]: (1) 超积累植物对土壤中的高浓度重金属污染物有较强的耐受性; (2) 积累于植物体内的重金属能转移至地上部,富集量通常超出普通植物的上百倍且都能正常生长; (3) 生长迅速,生长周期短,可以多茬栽种,生物量大,能积累更多的重金属。

超积累植物有很大的潜力,因此寻找超积累植物至关重要,目前超积累植物的筛选方法主要有: (1) 野外采样分析法,通过野外的采样分析筛选超积累植物的一种方法,这是一种最常见的筛选方法,大部分的超积累植物都是通过这种方法筛选得到,如王明勇通过野外采样分析法在贵州矿区发现了汞的富集植物乳浆大戟^[40],这种方法的优点是处于在污染严重的地区采样,一般都采集到较为满意的富集植物,缺点是采集的样品量较多,需要很长的时间测量分析; (2) 微量分析法,主要通过对微量植物叶片的化学分析确定此种植物是否为超积累植物,有研究者通过对植物标本的测量分析,证实了存在镍的超积累植物^[61]; (3) 土壤盆栽模拟法,主要是通过实验室模拟条件下,利用丰富的植物资源库在盆栽实验条件下筛选超积累植物,优点是可以发现有超积累植物潜力但在污染地区没有生存的植物,避免了遗漏,缺点是工作量大且有

一定的盲目性,魏树和等人利用这种方法筛选出了对镉有较高富集能力的植物^[62]; (4) 野外试纸初步诊断法,这种方法利用金属元素与特定试纸的显色反应达到筛选超积累植物的目的,它的优点是操作简便,缺点是与金属元素特异性显色反应的物质较少,有研究者用此种方法发现了镍的超积累植物^[63]; (5) 室内营养液培养法,主要是通过添加重金属元素的营养液中培养来筛选超积累植物,此类方法的优点是操作简便,有效避免外界干扰,汤叶涛等通过这种方法表明圆锥南芥具有同时富集铅、锌、镉的能力^[64]。绝大多数的超积累植物筛选采用野外采样分析法,一般从重金属污染严重的地方采集植物样品和土壤样品,测定植物地上部、地下部和土壤中的重金属含量,通过转运系数和富集系数判断其对重金属富集能力,公式如下^[65,66]:

$$TF = \frac{C_{\text{地上部}}}{C_{\text{地下部}}} \dots\dots\dots \text{式 (1-4)}$$

$$BCF = \frac{C_{\text{地上部}}}{C_{\text{土壤}}} \dots\dots\dots \text{式 (1-5)}$$

$C_{\text{地上部}}$ —地上部重金属浓度

$C_{\text{地下部}}$ —根部重金属浓度

$C_{\text{土壤}}$ —土壤中重金属浓度

一般转运系数(TF)和富集系数(BCF)都大于1,富集的重金属浓度远远超过附近普通植物的富集浓度,可确定其为超富集植物,转运系数(TF)和富集系数(BCF)越大,则说明该植物作为超积累植物就越理想。

1.3.3 超积累植物的不足

虽然超积累植物对修复土壤重金属污染有很大的潜力,但是仍存在一些缺点。目前发现的超积累植物大多数都只对一种重金属元素有效,但是现在的土壤重金属污染呈现出复合污染的趋势,面对这种现象仍缺乏能富集多种金属元素的超积累植物;超积累植物一般都具有生物量小,生长周期长等特点,会耗费很长的时间成本且效率低下;而且落叶或腐烂会导致污染重回土壤,所以一般要及时收割;筛选出来的超积累植物多为野生型植物,对气候有相当严格的要求,一般很难进行跨区域的栽种^[67]。

1.4 超积累植物耐受重金属的机理

当植物受到重金属的胁迫时,植物细胞内活性氧的代谢平衡会遭到破坏,就会产生大量的活性氧自由基,超氧化物歧化酶(SOD)具有清除活性氧自由基的能力,从而能减轻植物受到的毒害^[68],有研究表明烟草在铅镉的胁迫下,其体内的超氧化物歧

化酶（SOD）活性增加，但当铅镉浓度增大时，超氧化物歧化酶（SOD）活性开始下降，表明酶系统遭到了破坏^[69]。谷胱甘肽（GSH）也能清除活性氧，而且不仅本身可以与重金属离子螯合还能合成植物螯合肽（PC）与重金属离子螯合生成低毒或无毒的螯合物^[70]，减轻植物受到重金属离子的毒害，有研究表明加入外源的谷胱甘肽（GSH）可以增强超积累植物对重金属的耐性^[71]。脯氨酸的主要功能是调节植物的渗透平衡，但也能参与活性氧的清除和降低膜脂氧化的过程^[72]，有研究表明，大麦幼苗在受到重金属的胁迫时，一开始大麦幼苗受到低浓度重金属的抑制而脯氨酸含量下降，但随着重金属浓度的增加脯氨酸的含量也上升^[73]。当植物的抗氧化系统被破坏后，就会产生大量的丙二醛（MDA），它是衡量植物膜脂氧化的重要指标，一般反映植物受到的伤害程度和抗胁迫能力的强弱^[74]，有研究表明，镉含量的增加会导致丙二醛（MDA）含量的增加，继而破坏玉米幼苗的生物膜系统，影响玉米幼苗正常的生理代谢活动^[75]。

1.5 本课题的研究意义及内容

1.5.1 研究意义

汞是一种毒性很强的重金属，并成为污染严重的金属之一，汞不能被微生物分解，并能通过食物链的富集进入人体，一旦超过环境容纳的临界值便会造成危害。汞污染修复现在已经成为研究的重点，主要的修复方法为化学方法，但化学方法通常花费巨大，且可能造成二次污染。新兴的植物修复就可解决这一问题，虽然修复周期较长，但可以大面积修复，且有一些经济效益，所以有巨大的发展前景。

目前植物修复通过基因工程和诱导剂对修复土壤汞污染取得了一定的效果，但仍然缺乏富汞效果很好的植物。本课题希望通过对汞污染地区的植物采样分析，找到一种汞富集植物，将其运用于工程实践，则具有巨大的生态效益和经济效益。

1.5.2 研究内容

本课题希望通过野外采样分析找到理想的富汞植物并通过盆栽实验测定出富汞植物的耐汞浓度范围以及汞对植物的生理特性的影响而反映出的耐受性，pH 值、土壤有机质含量对富汞植物富汞效果的影响，土壤汞形态与植物吸收的关系和评价富汞植物的性能。

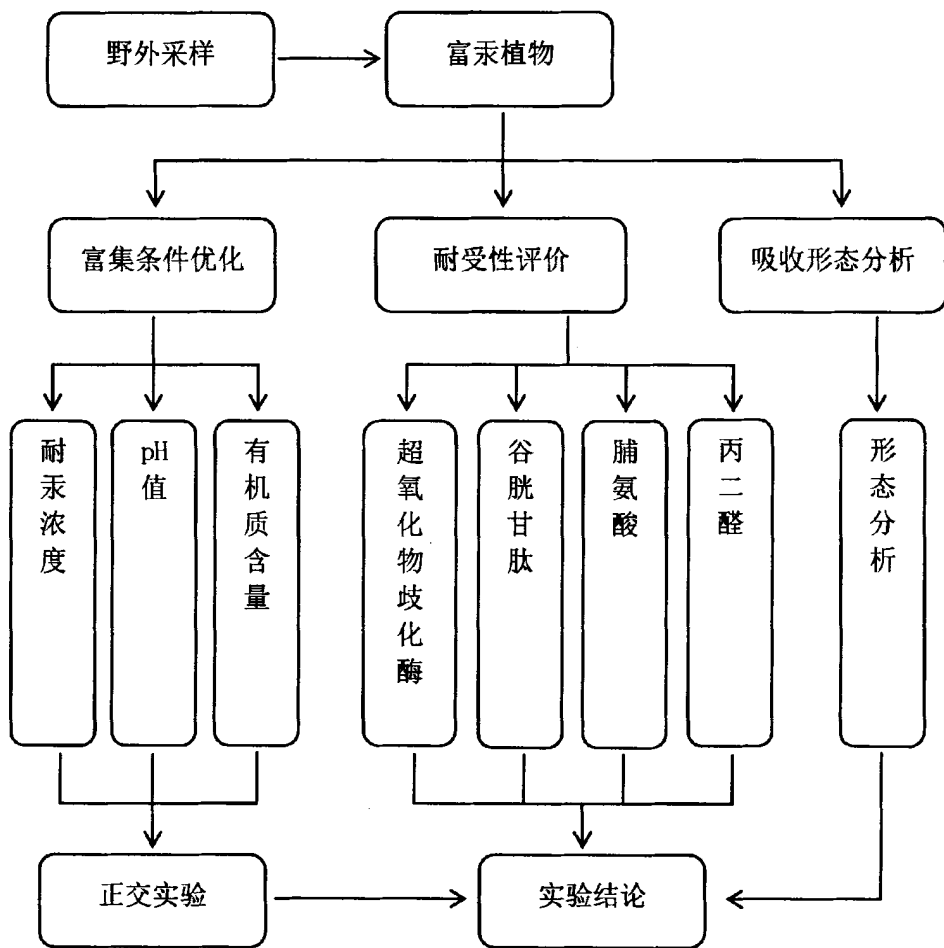
（1）在汞污染地区采集植物样品，测定植物及土壤浓度，运用转运系数和富集系数筛选出富汞植物；

（2）进行盆栽实验，确定筛选的富汞植物的耐汞浓度范围；测定筛选出的富汞植物在不同时间和不同汞浓度下生理活性的变化，判断富汞植物的抗胁迫能力；

(3) 测定不同浓度的 pH 值、有机质含量对富汞植物富汞的影响，正交实验确定影响因素的主次顺序和得到最优的生长条件；

(4) 通过种植前后土壤汞形态的变化探究土壤形态与植物吸收之间的关系和植物体内汞含量的高低评价富汞植物的性能。

1.5.3 技术路线



第二章 富汞植物的筛选

2.1 实验材料

2.1.1 采样点选择

德化县隶属于福建省泉州市，地理位置为东经 $117^{\circ} 55'$ — $118^{\circ} 32'$ ，北纬 $25^{\circ} 23'$ — $25^{\circ} 56'$ 。境内河流纵横，地形复杂，以山地为主，属于中亚热带海洋性的季风气候，无霜期为 270 天左右，植物品种多样，矿产资源丰富，拥有石灰石、高岭土等资源，陶瓷生产历史悠久，有中国“瓷都”之称。德化县历史上曾存在着金矿的开采和冶炼，由于用土法炼金，经过测定发现其土壤汞浓度远超国家标准且污染严重，经过现场勘察，选定某废弃金矿作为采样点，分别于 2013 年 9 月和 11 月进行两次采样，如图 2-1 所示。



图 2-1 德化采样点

Figure 2-1 Dehua sampling point

石景山区隶属于北京市，地理位置为北纬 $39^{\circ} 53'$ — $39^{\circ} 59'$ ，东经 $116^{\circ} 07'$ — $116^{\circ} 14'$ 。区内以平原为主，略有山地，永定河穿流而过，气候为温带半湿润气候，石景山的年平均降水量在 680 毫米左右。区内的某钢铁厂由于污染严重，遭到政

策性搬迁而停产，2013 年 11 月于厂区内采样，如图 2-2 所示。



图 2-2 石景山采样点

Figure 2-2 Shijingshan sampling point



图 2-3 万山采样点

Figure 2-3 Wanshan sampling point

万山特区隶属于贵州省铜仁市，地理位置为东经 $109^{\circ} 11' - 109^{\circ} 14'$ ，北纬 $27^{\circ} 30' - 27^{\circ} 32'$ ，万山特区以喀斯特岩溶的地貌为主，多山，丘陵。万山特区属于中亚

热带季性风湿润气候，年平均气温为 13.4℃，年平均降水量为 1400 毫米。万山特区曾经的朱砂含量非常丰富，有中国“汞都”之称。由于历史上汞矿的开采和冶炼，现在已成为汞污染最为严重的地区，2014 年 4 月和 6 月分别在 1 坑、2 坑、4 坑、5 坑分别采样，如图 2-3 所示。

2.1.2 采样方法

由于福建德化和贵州万山多以山地为主，污染地区无较大的平整地块，因此选用随机采样法，采集大量生存、长势良好的植物样品。

2.1.3 实验仪器及试剂

实验仪器及试剂分别为表 2-1、表 2-2。

表 2-1 实验试剂
Table2-1 Experiment Reagent

试剂名称	纯度	生产厂家
重铬酸钾	分析纯	北京化工厂
重铬酸钾	工作基准	北京化工厂
硫酸	分析纯	北京化工厂
硫酸亚铁	分析纯	北京化工厂
邻菲罗啉	分析纯	北京化工厂
二氧化硅	分析纯	西陇化工股份有限公司
硝酸	分析纯	北京化工厂
过氧化氢	分析纯	北京化工厂
盐酸	分析纯	北京化工厂
硼氢化钾	分析纯	天津市津科精细化工研究所
氢氧化钠	分析纯	北京化工厂
汞标准溶液	工作基准	中国计量科学研究院
氯化汞	分析纯	合肥市新茂化工有限公司
四水硝酸钙	分析纯	西陇化工股份有限公司
硝酸钾	分析纯	北京化工厂
硝酸铵	分析纯	北京化工厂
磷酸二氢钾	分析纯	北京化工厂
硫酸镁	分析纯	北京化工厂
七水硫酸亚铁	分析纯	西陇化工股份有限公司
乙二胺四乙酸二钠	分析纯	北京化工厂
碘化钾	分析纯	北京化工厂
硼酸	分析纯	北京化工厂
硫酸锰	分析纯	北京化工厂

硫酸锌	分析纯	北京益利精细化学品有限公司
钼酸钠	分析纯	北京化工厂
硫酸铜	分析纯	北京化工厂
氯化钴	分析纯	北京化工厂
磷酸氢二钠	分析纯	北京化工厂
磷酸二氢钠	分析纯	北京化工厂
甲硫氨酸	生化试剂	北京奥博星生物技术有限公司
氯化硝基四氮唑蓝 (NBT)	生化试剂	Sigma
核黄素	生化试剂	北京奥博星生物技术有限公司
谷胱甘肽	生化试剂	Amresco
三氯乙酸(TCA)		天津福晨化学试剂厂
二硫代二硝基苯甲酸 (DNTB)	生化试剂	Sigma
硫代巴比妥酸(TBA)	生化试剂	北京索莱宝科技有限公司
茚三酮		天津福晨化学试剂厂
冰醋酸	分析纯	天津福晨化学试剂厂
磷酸	分析纯	北京化工厂
脯氨酸	生化试剂	北京奥博星生物技术有限公司
乙醇	分析纯	北京化工厂
石英砂	分析纯	北京化工厂
氯化镁	分析纯	西陇化工股份有限公司
醋酸钠	分析纯	北京化工厂
盐酸羟胺	分析纯	西陇化工股份有限公司
醋酸铵	分析纯	西陇化工股份有限公司

表 2-2 实验仪器

Table2-2 Laboratory instruments

仪器名称	型号	生产厂家
pH 计	PHS-3C	上海康仪仪器有限公司
恒温加热消煮炉	JKX206 型	济南精密科学仪器仪表有限公司
微波消解仪	XH-800C 电脑双控型	北京祥鸽科技有限公司
分析天平	FA1004N	上海精密科学仪器有限公司
冷冻真空干燥机	Scientz-18N 型	宁波新芝生物科技股份有限公司
天平	JY1201	上海民桥精密科学仪器有限公司
人工气候培养箱	RXZ 智能型人工气候箱	宁波江南仪器厂
电热恒温水浴锅	TDA-8002 型	天津中环科技开发有限公司
标准筛		浙江上虞市银河测试仪器厂
高速万能粉碎机	FW80	天津市泰斯特仪器有限公司
原子荧光光度计	AFS 3000 型	北京科创海光仪器有限公司
超声清洗仪	DS-5510DTH	上海生析超声仪器有限公司
振荡培养箱	HZQ-F160 型	中国哈尔滨市东联电子技术开发有限公司
电热恒温鼓风干燥箱	DHG 9140A 型	上海一恒科学仪器有限公司
离心机	TD25-WS 型	湘仪仪器有限公司
紫外可见分光光度计	WZF UV2000	尤尼柯(上海)仪器有限公司
高速冷冻离心机	TG16-WS	上海卢湘仪离心机仪器有限公司

2.2 实验方法

2.2.1 土壤 pH 值的测定

根据标准 NY/T 1377-2007^[76]测定土壤的 pH 值。pH 计在使用前需要使用基准溶液校正；称量一定的土壤样品并加去离子水，保持土液比 1:2.5，强力振荡 5min，静置 2~3h，测定上清液中的 pH 值，最终 pH 值取三次测定的平均值。

2.2.2 土壤有机质的测定

根据 NY/T 1121.6-2006^[77]第 6 部分进行测定。称量 0.05g~0.5g 样品于消解管中，然后加入 10mL 0.4mol·L⁻¹ 的重铬酸钾-硫酸溶液。连接冷凝装置后置于 170℃ 至 180℃ 之间消解，在冷凝管下端有冷凝液体滴下时开始计时，5min±0.5 min 后将消解管连冷凝管取出，待样品冷却后完全转移至 250mL 的锥形瓶中，用去离子水冲洗消解管和冷凝管并转移至锥形瓶中使液体总体积控制在 50mL 至 60mL 之间。用硫酸亚铁标准溶液滴定加 3-5 滴邻菲罗啉指示剂的样品，滴定完成时溶液为棕红色。同时以二氧化硅做空白实验。具体计算公式为：

$$O.M = \frac{C \times (V_0 - V) \times 0.003 \times 1.724 \times 100}{m} \dots\dots\dots \text{式 (2-1)}$$

式中：

O.M—土壤有机质含量，%；

V₀—空白滴定的消耗，mL；

V—滴定的消耗，mL；

C—标液浓度，mol·L⁻¹；

0.003—1/4 碳原子的摩尔质量数，g·mol⁻¹；

1.724—换算系数；

m—试样的质量，g。

2.2.3 植物样品总汞含量的提取

采集的植物样品经超声清洗仪清洗后在冷冻干燥箱中进行干燥，经研磨后装入样品袋于干燥处待测；测定时准确称取 0.2g±0.0001g 的植物样品于微波消解专用溶样杯中，先加入 1.3mL 的浓硝酸加盖在通风橱中静置过夜，后加入 0.5mL 30%的双氧水

从溶样杯中转移至消解管中，再将消解管装入消解罐中加塞并拧紧消解罐盖进行微波消解。消解完成冷却后加 1.5 mL 的浓盐酸，定容，待测。

2.2.4 土壤样品总汞含量的提取

土壤中总汞的提取参照 GB/T 22105.1-2008^[78]，首先将土壤样品晾干研磨，过 100 目筛后装带置于阴凉处待测。测定时用分析天平准确称取 $0.5\text{g}\pm 0.0002\text{g}$ 的土壤样品加入 10mL 的王水 96℃ 的水浴 2h，冷却后定容，待测。

2.2.5 汞含量的测定

所有制备的含汞提取试样均使用双道原子荧光分光光度计进行测定。

2.2.6 污染评价方法

污染评价方法采用单因子指数法，其计算公式如下：

$$C_i \leq X_a, P_i = \frac{C_i}{X_a} \dots\dots\dots \text{式 (2-2)}$$

$$X_a < C_i \leq X_c, P_i = 1 + \frac{C_i - X_a}{X_c - X_a} \dots\dots\dots \text{式 (2-3)}$$

$$X_a < C_i \leq X_c, P_i = 2 + \frac{C_i - X_c}{X_p - X_c} \dots\dots\dots \text{式 (2-4)}$$

$$C_i > X_p, P_i = 3 + \frac{C_i - X_p}{X_p - X_c} \dots\dots\dots \text{式 (2-5)}$$

X_a —土壤污染积累起始值， $X_{a(Hg)}=0.15$ ；

X_c —中度污染起始值， $X_{c(Hg)}=0.30$ ；

X_p —重度污染起始值， $X_{p(Hg)}=1.50$ 。

若 $P_i \leq 0.7$ ，则土壤质量处于清洁安全的状态；若 $0.7 < P_i \leq 1.0$ ，则土壤污染处于安全警戒的状态；若 $P_i > 1.0$ ，则土壤重金属含量超标；若 $1.0 < P_i \leq 2.0$ ，则为轻污染；若 $2.0 < P_i \leq 3.0$ ，则为中度污染；若 $P_i > 3.0$ ，则为重度污染。

2.2.7 质量控制与数据分析

实验中 AFS-3000 原子荧光光度计和 UV-2000 紫外可见分光光度计测定时所做的标准曲线相关性均达到 99.9% 以上；盆栽实验等均做三组平行；实验过程中的所有玻璃仪器均使用酸液浸泡后清洗烘干使用。

实验数据的采集整理使用 Excel 2010，数据分析和作图所用软件为 SPSS20.0 和

Origin9.0。

2.3 实验结果与讨论

2.3.1 采样点土样的理化性质

福建德化某废弃金矿、北京某停产钢铁厂、贵州万山废弃汞矿的土样 pH 值和有机质含量如表 2-3 所示：

表 2-3 采样点土壤的理化性质
Table2-3 Physicochemical properties of soil

	pH	有机质/%
德化	6.17	3.08
石景山	7.85	1.31
万山	8.20	2.59

从表中可以看出，福建德化废弃金矿附近的土壤为红壤，呈弱酸性，这可能与当地的酸雨环境有关，有机质含量较低，石景山的钢铁厂的土壤为黄棕壤，呈弱碱性，有机质含量低，万山汞矿地区的土壤为黄棕壤，呈弱碱性，有机质含量较低。

2.3.2 采样点土壤的汞浓度

福建德化某废弃金矿、北京某停产钢铁厂、贵州万山废弃汞矿的土壤汞浓度如表 2-4 所示：

表 2-4 采样点土壤汞浓度
Table2-4 Mercury concentration of soil

	德化	石景山	万山		
			矿渣	尾矿坝	矿区周边
Hg/mg·kg ⁻¹	117.01	2.85	1223.51	517.45	204.28

根据《土壤环境质量标准》(GB15618-1995)的二级土壤标准，pH<6.5 时，Hg ≤0.30 mg·kg⁻¹；pH>7.5 时，Hg≤1.0 mg·kg⁻¹，可以看出某废弃金矿、石景山某钢铁厂和万山汞矿的土壤汞含量均超标。用单因子指数法的土壤污染评价方法，可以得出德化某废弃金矿土壤的 Pi=99.26，石景山的某钢铁厂土壤的 Pi=4.13，万山汞矿的矿渣、尾矿坝土壤和矿区周边土壤 Pi=1021.34、Pi=432.58 和 Pi=180.70，可以看出，德化某废弃金矿、石景山的某钢铁厂和万山汞矿的土壤都属于重度污染，能对人类的健康造成危害。其中以万山汞矿的矿渣为最，万山汞矿尾矿坝土壤次之，石景山的某钢铁厂土壤污染相对较轻。德化某废弃金矿土壤与当地金矿的开采与冶炼有关，虽然已经废

弃,但污染仍然存在;万山汞矿的污染主要由汞矿的开采和冶炼造成,当地已对一些大的矿渣坝进行了水泥封存,但仍有渗透水流出,矿区周边也进行了填土造林,石景山的某钢铁厂土壤污染由钢铁的冶炼加工造成。

2.3.3 富汞植物的筛选

在汞污染地区的采样原则是选取大量生存、长势良好的植物,装袋保存,及时测量,表 2-5、2-6、2-7 分别为德化某废弃金矿、石景山某钢铁厂和万山汞矿的植物浓度:

表 2-5 德化废弃金矿植物汞浓度

Table2-5 Mercury concentration of plant in dehua abandoned gold mine

学名	拉丁名	科	地上部 mg·kg ⁻¹	地下部 mg·kg ⁻¹	土壤 mg·kg ⁻¹	TF	BCF
莎草	CyperusrotundusL.	莎草科	2.48	13.02	102.46	0.19	0.02
鸭跖草	Commelina communis	鸭跖草科	6.01	37.17	122.63	0.16	0.05
白茅	Imperata cylindrica (Linn.) Beauv.	禾本科	10.93	114.97	173.44	0.10	0.06
萝卜	Raphanus sativus L	十字花科	11.28	7.99	83.87	1.41	0.13
鹿草	Scirpus triqueter L.	莎草科	6.81	13.48	156.98	0.50	0.04
藿香蓟	Ageratum conyzoides	菊科	11.49	12.22	99.87	0.94	0.12
苣荬菜	Sonchus brachyotus D C.	菊科	11.40	8.47	105.76	1.34	0.11
白菜	Chinese Cabbage	十字花科	8.07	7.22	91.05	1.12	0.09

表 2-6 石景山某钢铁厂植物汞浓度

Table2-6 Mercury concentration of plant in shijingshan steel mills

学名	拉丁名	科	地上部 mg·kg ⁻¹	地下部 mg·kg ⁻¹	土壤 mg·kg ⁻¹	TF	BCF
马唐	Digitaria sanguinalis (L.) Scop.	禾本科	3.61	5.02	1.38	0.72	2.61
小飞蓬	Conyza canadensis (L.) Cronq.	菊科	2.35	3.84	1.91	0.61	1.23
桑	Morus alba L.	桑科	3.03	1.29	4.07	2.34	0.74
皱叶酸模	Rumex crispus L.	蓼科	7.92	1.304	2.49	6.10	3.18
荠菜	Capsella bursa-pastoris	十字花科	4.06	7.85	3.46	0.52	1.17
狗尾巴草	Setaria viridis (L.) Beauv.	禾本科	1.64	3.89	0.85	0.42	1.94

表 2-7 万山汞矿植物汞浓度

Table 2-7 Mercury concentration of plant in wanshan mercury mine

学名	拉丁名	科	地上部 mg·kg ⁻¹	地下部 mg·kg ⁻¹	土壤 mg·kg ⁻¹	TF	BCF
顶芽狗脊	Woodwardia unigemmata	乌毛蕨科	8.94	5.73	190.99	1.56	0.05
艾草	Artemisia argyi H. Lév. & Vaniot	菊科	5.96	4.50	178.89	1.32	0.03
苦苣菜	Ixeris sonchifolia Hance	菊科	12.27	7.61	193.04	1.61	0.06
苣荬菜	Sonchus brachyotus D C.	菊科	17.31	12.83	234.70	1.35	0.07
贯众	Rhizoma Cyrtomii Fortunei	鳞毛蕨科	36.44	13.90	225.73	2.62	0.16
鸭跖草	Commelina communis	鸭跖草科	8.383	17.19	209.31	0.49	0.04
鸡爪草	Calathodes oxycarpa	毛茛科	3.32	4.77	187.43	0.70	0.02
小飞蓬	Conyza canadensis (L.) Cronq.	菊科	9.96	13.74	237.81	0.72	0.04
苍耳	Xanthium sibiricum Patrinx Widder	菊科	1.89	1.28	158.44	1.48	0.01
细毛碗蕨	Dennstaedtia hirsuta	姬蕨科	14.62	16.70	226.47	0.88	0.06

从表可以看出,植物吸收的汞主要集中于根部,有一部分会转移到地上的茎叶中,相比于土壤的汞浓度,植物的富集能力仍然较弱。

表 2-5 中德化废弃金矿附近的植物主要以菊科、十字花科、鸭跖草科、禾本科和莎草科为主,包括莎草、鸭跖草、白茅、萝卜、藨草、藿香蓟、苣荬菜、白菜等,这些植物地下部富集汞的含量在 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 左右,白茅最大可以达到 $114.97 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。白茅、萝卜、藿香蓟、苣荬菜地上部汞的富集都能达到 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以上,说明有很好的富集效果,其中十字花科的萝卜、白菜和菊科的苣荬菜其转运系数大于 1,说明具有富汞植物的潜力。

在表 2-6 中,石景山某钢铁厂的植物的汞含量高于土壤的含量,猜测这部分汞可能来自大气的吸收或者钢铁厂土壤中其他重金属元素干扰了土壤中汞元素浓度的测定。石景山某钢铁厂的草本植物以禾本科、菊科、蓼科和十字花科为主,主要包括马唐、狗尾巴草、小飞蓬、皱叶酸模、芥菜和木本植物桑树,其中以蓼科的皱叶酸模富汞效果最好。

万山地区气候适宜,雨水充沛,植物种类繁多,从表 2-7 可以看出主要以乌毛蕨科、菊科、鳞毛蕨科、鸭跖草科、毛茛科、姬蕨科为主,主要包括顶芽狗脊、艾草、苦苣菜、苣荬菜、贯众、鸭跖草、鸡爪草、小飞蓬、苍耳、细毛碗蕨。顶芽狗脊、苦苣菜、苣荬菜、贯众、鸭跖草、小飞蓬、细毛碗蕨的地上部和地下部汞含量都可以达到 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 左右,且地上部的汞含量普遍大于地下部,可能的原因是矿渣等汞的挥发造成大气中汞含量较高,植物叶片吸收了大气中的汞。其中鳞毛蕨科的贯众其地上部汞含量可达到 $36.44 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,是三个采样点植物地上部汞含量最高的植物,其转运系数可以达到 2.62,而且也具有较大的生物量,所以具有很大的富汞潜力。

通过对德化废弃金矿、石景山某钢铁厂和万山汞矿的采样分析，根据转运系数、富集系数和生物量的大小最终选出一种具有潜力的富汞植物—贯众，如图 2-4 所示。

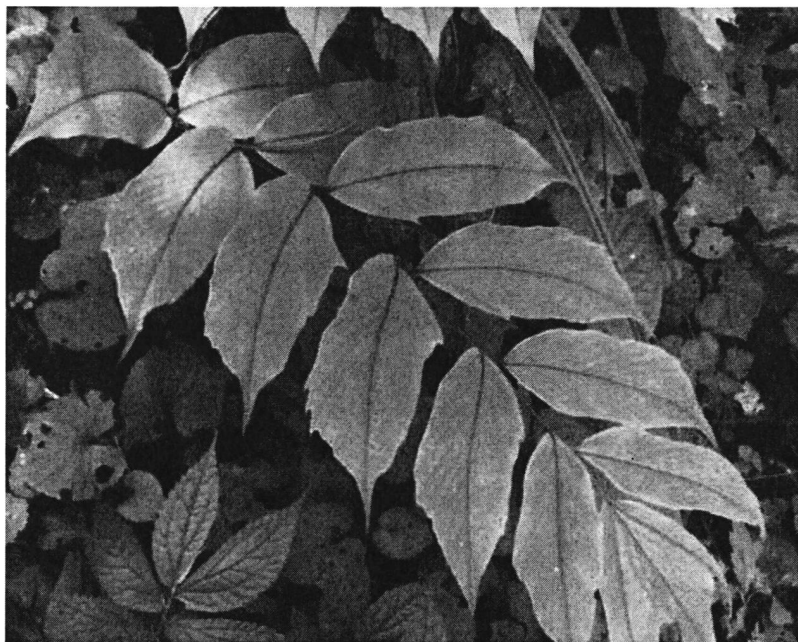


图 2-4 贯众

Figure 2-4 Cyrtomium Rhizome

2.4 本章小结

德化废弃金矿、石景山某停产钢铁厂和万山汞矿的土壤汞浓度均超过《土壤环境质量标准》(GB15618-1995) 二级土壤标准，根据单因子指数法的污染评价方法，以上三地都为重度污染，可对人类的健康造成危害，其中万山汞矿和德化废弃金矿的汞污染尤为严重，石景山某停产钢铁厂汞污染相对较轻；德化废弃金矿的土壤呈弱酸性，而石景山某停产钢铁厂和万山汞矿的土壤呈弱碱性；以上三地的土壤有机质含量都较低；

通过对上述三地污染地区的植物采样测试，根据转运系数、富集系数和生物量的大小，发现万山的鳞毛蕨科贯众有巨大的富汞潜力。另外十字花科和菊科的植物也有不错的富汞能力。

第三章 富汞植物贯众的耐受性评价

3.1 实验设计

3.1.1 耐汞浓度范围的确定

用盆栽实验确定耐汞浓度范围,实验所用土壤采自小汤山农田,采集时去除表面覆土,主要采集 15cm 以下的土壤。土壤理化性质如表 3-1 所示,可以看出小汤山农田土壤未经污染。采集的土壤样品晾干后研磨,过 40 目筛装袋于干燥条件下贮藏备用。鉴于矿渣中总汞浓度高达 $1223.51\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,所以设置 0、5、10、25、50、100、200、500、1000、2000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的浓度梯度,用氯化汞染毒,染毒后的土壤样品在干燥条件下避光老化一月。

表 3-1 小汤山农田土壤理化性质

Table3-1 Physicochemical properties of soil in xiaotangshan farm

	pH	有机质/%	Hg/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
小汤山农田	7.46	0.87	0.46

在贵州采集的贯众幼苗先在 Hoagland's 营养液中生长一周时间,然后移栽至含 500g 染毒土壤的花盆中,依次编号为 G0、G1、G2、G3、G4、G5、G6、G7、G8、G9,做三组平行,置于气候箱中培养,设置与当地相同的温度、湿度、光照强度及时间等参数,每日按需浇水,并适当添加 Hoagland's 营养液,每隔 4 天测定植株的汞含量。Hoagland's 营养液的配方如表 3-2 所示。

表 3-2 Hoagland's 营养液配方

Table3-2 Hoagland's nutrient solution formula

大量元素/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$		微量元素/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	
四水硝酸钙	945	碘化钾	4.15
硝酸钾	506	硼酸	31
硝酸铵	80	硫酸锰	111.5
磷酸二氢钾	136	硫酸锌	43
硫酸镁	493	钼酸钠	1.25
七水硫酸亚铁	13.9	硫酸铜	0.125
乙二胺四乙酸二钠	18.65	氯化钴	0.125

3.1.2 富汞植物生理特性的测定

进行盆栽实验考察贯众抗汞的胁迫能力, 根据耐汞浓度实验的结果设定土壤的汞浓度为 0、5、10、25、50、100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 用氯化汞染毒并避光老化一月。种植前贯众幼苗在 Hoagland's 营养液中培养一周, 然后移栽在 500g 染毒的土壤中, 每组设置三个平行, 置于气候箱中培养, 设置与当地相同的温度、湿度、光照强度及时间等参数, 每日按需浇水, 并适当添加 Hoagland's 营养液, 每隔 1 天测量贯众的超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、谷胱甘肽 (GSH)、脯氨酸和丙二醛 (MDA) 含量。

3.2 测定方法

3.2.1 超氧化物歧化酶的测定

超氧化物歧化酶 (SOD) 采用 NBT 光化还原法测定^[79], 首先称取植物叶片 0.5g, 总共用 5mL 的 PBS 研磨匀浆后转移至离心管中, 放入 4℃ 下 10000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的高速冷冻离心机中离心 15min, 将得到的上清液取部分经适当稀释后测定酶活性。取 7 只 10mL 的小烧杯, 依次加入 4.05mL 0.05 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液、0.3 mL 220 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Met 溶液、0.3 mL 1.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NBT 溶液、0.3 mL 33 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的核黄素溶液和 0.05 mL 的酶液。混匀后将 1 只烧杯置于暗处, 剩下的烧杯放置在光照强度为 4000lx 的日光灯下反应 20min, 最后用紫外可见分光光度计在 560nm 用暗处烧杯液体作参照, 测定其它烧杯液体的光密度。酶活性的计算公式为:

$$\text{SOD 总活性} = \frac{(A_{ck} - A_e) \times V}{A_{ck} \times 0.5 \times W \times V_t} \dots\dots\dots \text{式 (3-1)}$$

其中: A_{ck} —对照烧杯 (照光) 的光吸收值;

A_e —样品烧杯的光吸收值;

V 为样液总体积;

V_t 为测定时样品用量;

W 为样重, g。

3.2.2 谷胱甘肽的测定

谷胱甘肽 (GSH) 用巯基试剂 DNTB 测定^[79], 配置已知浓度梯度的谷胱甘肽 (GSH) 溶液, 以谷胱甘肽浓度 (GSH) 为横坐标、测定结果的光密度值为纵坐标制作标准曲线, 相关性达到 99.9% 以上。称取 0.5g 的植物叶片置于研钵中, 加入 5mL 5% 的三氯乙酸溶液研磨匀浆后转移至离心管, 在 15000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的高速冷冻离心机中离心 10min, 得到的上清液用三氯乙酸溶液定容至 5mL。取样品提取液 0.25 mL, 加入 2.6mL 150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ pH7.7 的磷酸缓冲液和 0.15mL 的 DTNB 试剂, 空白实验用磷酸缓冲液代替

DTNB 试剂。摇匀后在 30℃ 的水浴中反应 5min，用紫外可见分光光度计测定 412nm 时的光吸收值。然后根据标准曲线计算出样品的 GSH 含量。

3.2.3 脯氨酸的测定

脯氨酸测定用酸性茚三酮法显色法^[79]，配置已知浓度梯度的脯氨酸溶液，分别以脯氨酸浓度为横坐标，以测定的光密度值为纵坐标制作标准曲线，相关性达到 99.9% 以上。称取 0.3g 的植物样品置于研钵中，加入适量的 80% 的乙醇和少量的石英砂研磨成匀浆后全部转移至 10mL 的刻度试管中，最后用 80% 的乙醇定容，在 80℃ 的水浴中提取 20min。将人造沸石和活性炭加入所得的提取液中强烈振荡 5min 后过滤，收集滤液。用两支刻度试管，一支加入 2mL 的提取液，另一支加入 2ml 80% 的乙醇，分别将 2mL 的冰醋酸和 2ml 的茚三酮试剂加入两支试管中，在沸水浴中反应 15min，冷却后用紫外可见分光光度计测定 520nm 处的光密度。

3.2.4 丙二醛测定

以丙二醛（MDA）与硫代巴比妥酸（TBA）的显色反应测定丙二醛含量^[80]，称取 0.5g 植物样品，用 5mL 10% 的 TCA 研磨匀浆后转移至离心管，在 3000 r·min⁻¹ 的离心机中离心 10min，取 2mL 的上清液和 2mL 0.5% 的 TBA 溶液加入带塞试管中于沸水浴上反应 20min，反应完成后迅速冷却并离心，所得上清液用紫外可见分光光度计分别测定在 532nm、600nm 及 450nm 波长时的 OD 值。空白实验的提取液用水代替。脯氨酸含量的计算公式为：

$$\text{MDA 浓度} = 6.45(\text{OD}_{532} - \text{OD}_{600}) - 0.56\text{OD}_{450} \dots\dots\dots \text{式 (3-2)}$$

其中：OD₅₃₂—532nm 时的光吸收值；

OD₆₀₀—600nm 时的光吸收值；

OD₄₅₀—450nm 时的光吸收值。

植物样品和土壤样品汞含量的测定参见 2.2.3、2.2.4、2.2.5。

3.3 实验结果讨论与分析

3.3.1 耐汞浓度的确定

从图 3-1 可以看出，贯众体内的汞浓度随时间增加，30 天后植物体内的汞浓度基本不再增加，可视为最佳的收获期。G4 的最大汞浓度可以达到 $593.50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，说明氯化汞是植物易吸收的形态。G3、G4 对应的土壤浓度为 $25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时植物体内的汞浓度最大，G5、G6、G7 对应的土壤浓度为 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时次之，但植物内的汞浓度仍能达到 $450\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 左右，有不错的富汞效果，其体内浓度降低可能高浓度汞对植物的生长产生一定的抑制。G8 对应的土壤浓度为 $1000\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，此浓度下植物出现些许萎蔫、叶片发黄的现象，但体内仍能富集汞 $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 左右，说明高浓度汞对植物生长产生了抑制。G9 对应的土壤浓度为 $2000\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，此浓度下植物枯死。可以得出，贯众的耐汞浓度为 $500\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 以下，最适汞浓度为 $25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 至 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间。

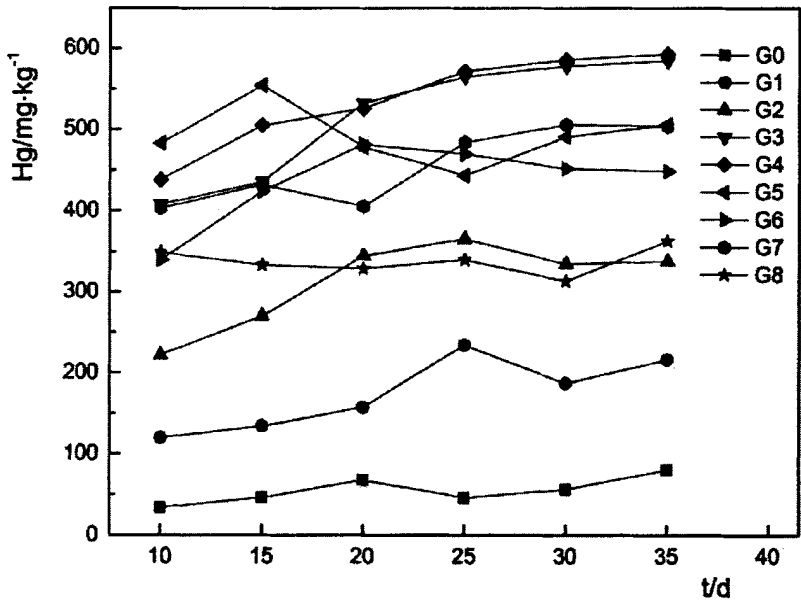


图 3-1 植物中汞含量随时间变化

Figure 3-1 Mercury concentration in plant changes over time

3.3.2 汞对贯众生理特性的影响

3.3.2.1 汞对贯众叶片超氧化物歧化酶的影响

从图 3-2 中可以看出，第 3 天和第 5 天，贯众在土壤浓度为 0、5、10、25、 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时，贯众体内超氧化物歧化酶（SOD）的活性随土壤汞浓度的增加而增加，在土壤浓

度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 随土壤汞浓度的增加而减小, 第 7 天和第 9 天, 贯众在土壤浓度为 0、5、10、 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 贯众体内超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性随土壤汞浓度的增加而增加, 在土壤浓度为 50、 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 随土壤汞浓度的增加而减小, 这与严重玲等的研究结果随重金属浓度的增加, 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性先增加后减小一致^[69], 在土壤汞浓度为 5、 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 贯众体内的超氧化物歧化酶 (SOD) 活性持续增加; 在土壤汞浓度 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 第 3 天、第 5 天和第 7 天, 贯众体内的超氧化物歧化酶 (SOD) 活性增加, 第 9 天超氧化物歧化酶 (SOD) 活性减少; 在土壤汞浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 第 3 天和第 5 天, 贯众体内的超氧化物歧化酶 (SOD) 活性增加, 到了第 7 天和第 9 天, 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性持续减小; 土壤汞浓度 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 贯众体内超氧化物歧化酶 (SOD) 活性持续减小。这与李大辉等的研究结果低浓度汞诱导超氧化物歧化酶 (SOD) 活性增加, 长时间高浓度汞使超氧化物歧化酶 (SOD) 活性持续减小一致^[81]。第 3 天和第 5 天时, 贯众在土壤浓度为 5、10、 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性增长相对一致, 但在土壤浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性增长幅度较大, 第 7 天和第 9 天, 经过长时间积累, 贯众在土壤浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性开始下降, 推测贯众体内超氧化物歧化酶 (SOD) 的汞极限浓度可能为 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。超氧化物歧化酶 (SOD) 是植物体内非常重要的抗氧化酶, 在植物受到胁迫而活性氧 (ROS) 代谢平衡破坏后可以参与清除多余的活性氧^[68]。贯众在低浓度汞时活性氧自由基会诱导超氧化物歧化酶 (SOD) 使其活性增加以清除活性氧 (ROS) 减轻贯众受到的伤害; 而高浓度的汞能破坏贯众的抗氧化系统, 使超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性降低, 从而导致贯众抵抗自由基和过氧化物的能力减弱而受到伤害。贯众可能在汞含量 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时酶活性遭到破坏, 贯众超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的上升幅度大, 贯众的抗性较好。

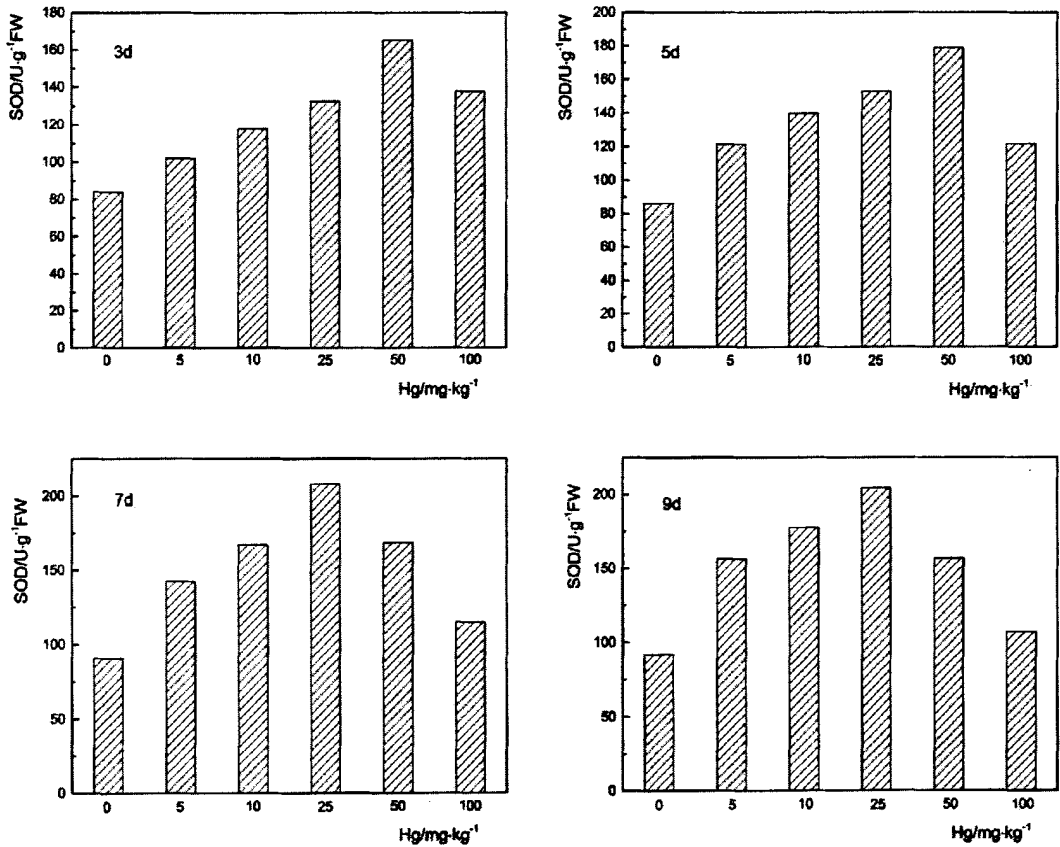


图 3-2 超氧化物歧化酶 (SOD) 随汞浓度和时间的变化

Figure 3-2 Superoxide dismutase (SOD) varies with the mercury concentration and time

3.3.2.2 汞对贯众叶片谷胱甘肽的影响

从图 3-3 中可以看出, 从第 3 天到第 9 天, 随土壤汞浓度的增加, 贯众体内的谷胱甘肽 (GSH) 含量增加, 在同一土壤汞浓度下, 随时间的增加, 贯众体内谷胱甘肽 (GSH) 含量增加, 这与丁海东等的研究结果随金属含量增加谷胱甘肽 (GSH) 含量增加一致^[82], 说明贯众受到了汞的胁迫, 且胁迫随汞浓度的增加而增加。从第 3 天到第 11 天, 土壤汞浓度为 5、10、25、50、100 mg·kg⁻¹ 时, 贯众体内的谷胱甘肽 (GSH) 含量一直是增加的, 说明随着植物吸收的汞含量越多, 对植物的胁迫越大, 从而导致生成的谷胱甘肽 (GSH) 含量越多。从第 3 天到第 9 天, 贯众在土壤汞浓度为 5、10、25 mg·kg⁻¹ 时体内的谷胱甘肽 (GSH) 增加幅度比土壤汞浓度为 50、100 mg·kg⁻¹ 时小很多, 说明贯众在低浓度汞下受到的胁迫小。还原型谷胱甘肽 (GSH) 对植物来说也是一种很重要的抗氧化剂, 当植物受到胁迫产生大量的活性氧 (ROS) 时, 它可以协

助清除活性氧（ROS），从而防止膜的过氧化。当植物受到重金属的危害时，谷胱甘肽（GSH）可以在植物螯合肽酶的作用下形成植物螯合肽（PC）与金属离子螯合形成无毒的物质^[70]，另外谷胱甘肽（GSH）本身也可以直接与金属离子螯合从而降低重金属对植物的毒害。所以，当贯众在受到汞的胁迫时，谷胱甘肽（GSH）一方面可以协助抗氧化系统清除活性氧（ROS），另一方面合成植物螯合肽（PC）螯合汞离子，同时谷胱甘肽（GSH）本身也螯合汞离子，从而减轻汞对贯众的毒害。所以谷胱甘肽（GSH）的含量持续增加，说明贯众的抗胁迫能力较强。

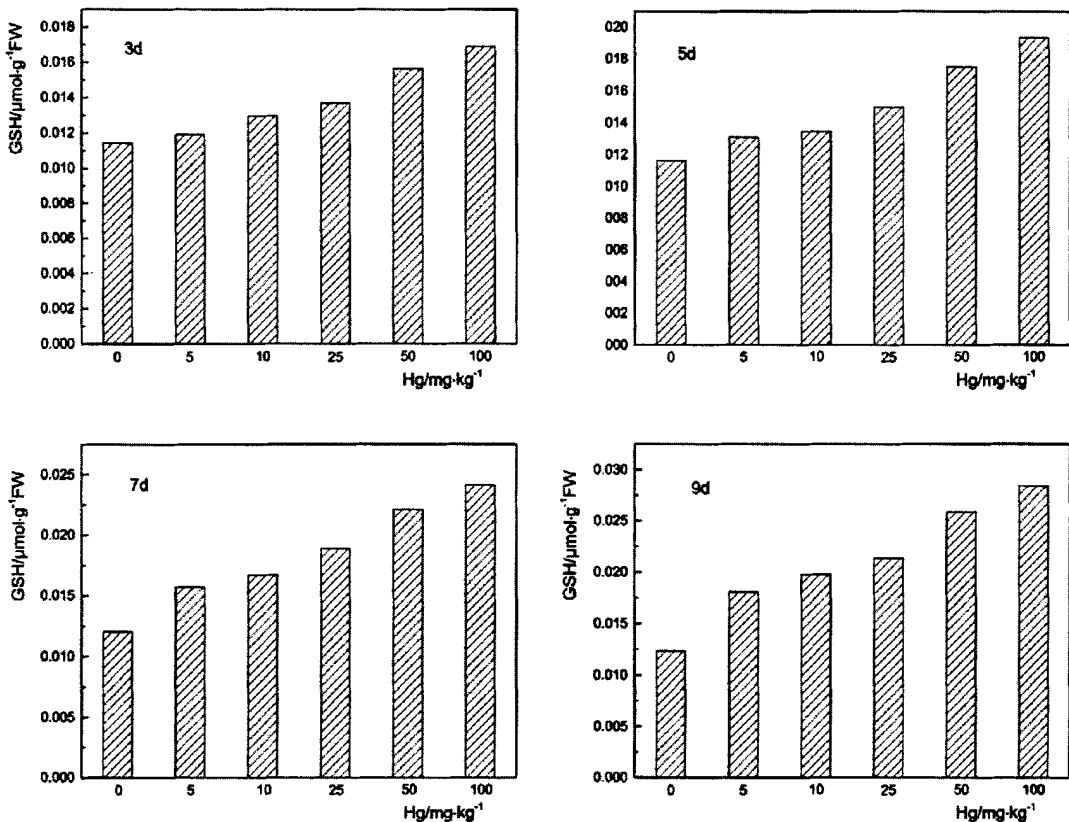


图 3-3 谷胱甘肽（GSH）随汞浓度和时间的变化

Figure 3-3 Glutathione (GSH) varies with the mercury concentration and time

3.3.2.3 汞对贯众叶片脯氨酸的影响

从图 3-4 中可以看出，刚开始，在土壤汞浓度为 5、10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时，贯众体内的脯氨酸含量相比对照组是降低的，在土壤汞浓度为 25、50、100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时，贯众体内的脯氨酸含量增加，这与张义贤等人的研究结果随汞浓度的增加大麦体内脯氨酸含量先减小后增加的趋势一致^[73]。但在同一土壤汞浓度下，随时间的增加，贯众体内脯氨酸

含量是增加的。到第 8 天时, 土壤汞浓度为 5、10、25、50、100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 贯众体内的脯氨酸含量均超过对照组, 说明贯众受到了汞的胁迫, 到第 10 天, 在土壤汞浓度为 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 脯氨酸含量可达到对照组的 3 倍, 说明贯众受到汞的胁迫严重。脯氨酸最重要的作用是调节植物的渗透平衡, 当植物受到重金属的胁迫时, 水分的吸收也会受到一定的限制, 这时植物体内的脯氨酸参与渗透平衡的调节而导致含量增加, 脯氨酸一般反映的是植物的忍耐能力和抵抗能力。贯众在汞的胁迫下, 贯众体内的水分吸收可能受到抑制, 所以通过增加脯氨酸的含量来进行贯众体内渗透平衡的调节, 从而保护贯众细胞结构和功能上的完整性^[72]。另外脯氨酸也有清除自由基的能力, 并且还有能降低膜脂过氧化的作用。所以脯氨酸含量的显著增加也可能是其参与了清除贯众体内自由基和降低膜脂过氧化的过程。

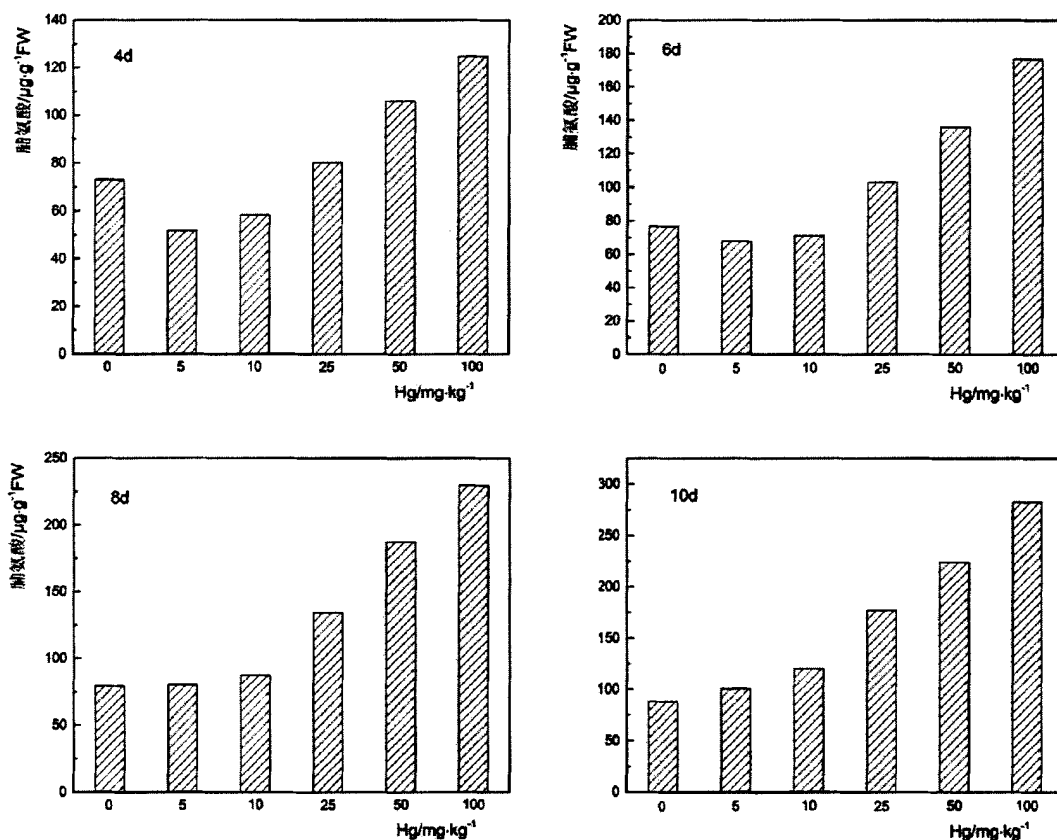


图 3-4 脯氨酸随汞浓度和时间的变化

Figure 3-4 Proline varies with mercury concentration and time

3.3.2.4 汞对贯众叶片丙二醛的影响

从图 3-5 中可以看出, 从第 4 天到第 10 天, 贯众在土壤汞浓度为 0、5、10、25、50、100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 贯众体内丙二醛含量随土壤汞浓度的增加而增加, 这与张义贤等人的研究结果随汞浓度的增加大麦体内丙二醛含量持续增加的趋势一致^[73]。在同一汞浓度下, 随时间的增加, 贯众体内丙二醛的含量是增加的。随土壤汞浓度的增大, 贯众体内的丙二醛含量增加, 且在土壤汞浓度为 5、10、25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 贯众体内的丙二醛 (MDA) 增加幅度小于土壤汞浓度为 50、100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时丙二醛的增加幅度, 说明土壤汞浓度 5、10、25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时相对贯众来说是低浓度, 50、100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时为高浓度。在土壤汞浓度为 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 脯氨酸含量可达到对照组的 3 倍, 说明 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时贯众受到的胁迫最大。植物在逆境或衰老等条件下, 会发生膜脂的过氧化作用产生丙二醛 (MDA)^[74], 其浓度可以表示脂质过氧化的程度、膜系统受到伤害的程度和植物抗逆性的强弱。贯众在汞的胁迫下, 丙二醛的含量随着汞浓度和时间的增加而增加, 说明汞对贯众的生物膜系统造成了一定的伤害, 造成了细胞膜脂过氧化作用的加剧, 但高浓度的丙二醛 (MDA) 也反映出贯众的抗逆性较好。

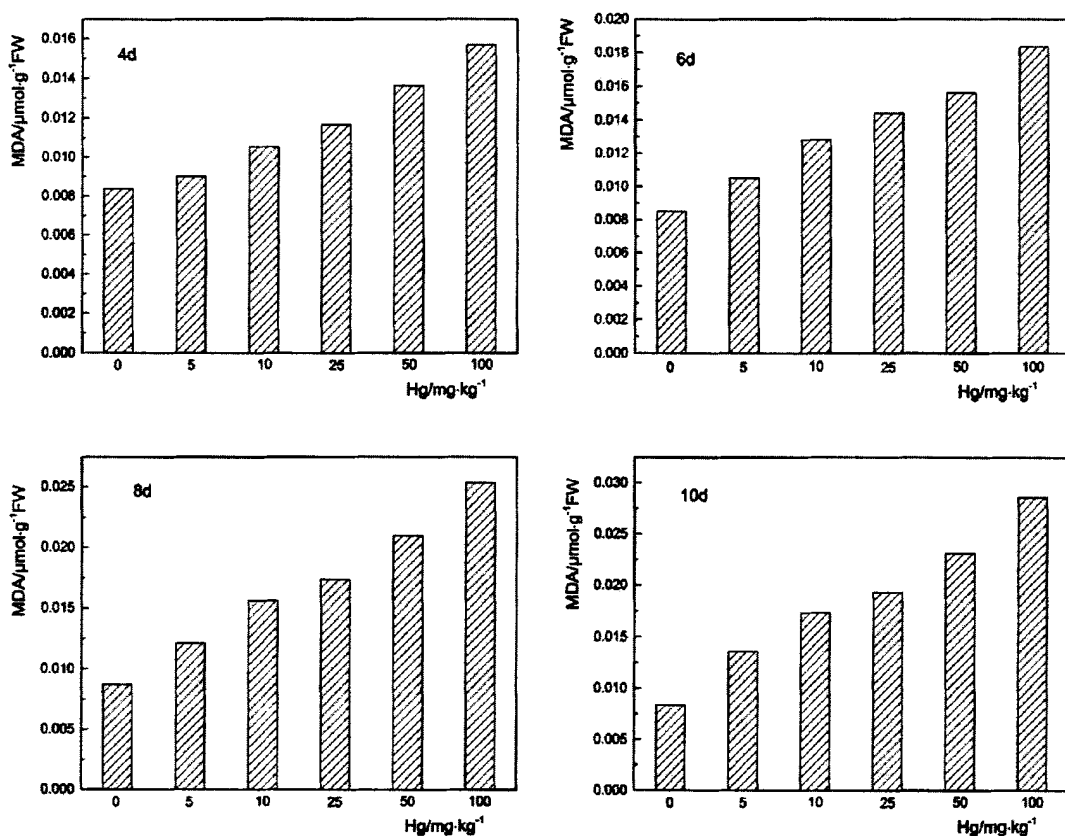


图 3-5 丙二醛 (MDA) 随汞浓度和时间的变化

Figure 3-5 Malondialdehyde (MDA) varies with mercury concentrations and time

综上,可以看出在土壤汞浓度为 5、10、25、50、100mg·kg⁻¹ 时,各种酶协助清除汞对贯众的伤害,使贯众保持代谢平衡,贯众能正常生长未出现枯死、萎蔫等现象,说明贯众的耐受性很好。

3.4 本章小结

通过耐汞实验发现贯众在 2000 mg·kg⁻¹ 时直接枯死,1000 mg·kg⁻¹ 下都能生长,但随着时间的延长,1000 mg·kg⁻¹ 时的贯众出现萎蔫,叶片发黄的现象。从叶片中的汞含量来看,贯众在 25-50 mg·kg⁻¹ 时达到最大值,最高可达到 593.50 mg·kg⁻¹,说明氯化汞是植物易吸收的形态。土壤汞浓度再增大,叶片中的汞浓度减小,说明贯众受到了汞的胁迫,但仍有不错的富汞量。可以得出贯众的耐汞浓度为 500 mg·kg⁻¹ 以下,最适的生长浓度为 25-50 mg·kg⁻¹。

随着汞浓度的增加和时间的延长,贯众受到了汞的胁迫,首先作用于贯众的抗氧化系统,随着时间和土壤汞浓度的增加,贯众体内的超氧化物歧化酶(SOD)活性先增加后减少。增加的超氧化物歧化酶(SOD)主要是清除贯众体内的活性氧(ROS),维持活性氧(ROS)的代谢平衡,超氧化物歧化酶(SOD)活性下降,说明贯众体内的活性氧平衡遭到破坏,贯众的抗氧化系统受到了损害,而在土壤汞浓度 100 mg·kg⁻¹ 时超氧化物歧化酶(SOD)活性就持续下降,说明贯众的抗氧化系统在汞浓度为 100 mg·kg⁻¹ 时一开始便遭到损害。与此同时,谷胱甘肽(GSH)、脯氨酸也参与调节植物的活性氧(ROS)代谢平衡,并在抗氧化系统损害后继续调节。谷胱甘肽(GSH)的含量随时间和土壤汞浓度的增加而增加,因为它既能协助抗氧化系统清除活性氧(ROS),又能合成植物螯合肽(PC)螯合汞离子,同时谷胱甘肽(GSH)本身也能螯合汞离子形成无毒的螯合物,从而减轻汞对贯众的毒害。脯氨酸的重要作用是调节植物的渗透平衡,同时也参与自由基的清除和降低膜脂过氧化过程。脯氨酸含量刚开始在低浓度汞胁迫时下降,可能的原因是刚开始贯众受到的胁迫较小,水分代谢几乎不受到影响,从而抑制脯氨酸的分泌,此后随着汞浓度和时间的增加,脯氨酸的含量持续增加,可能参与了调节贯众的渗透平衡、清除自由基和降低膜脂过氧化过程来提高贯众的抗氧化能力。丙二醛(MDA)的含量一般能反映膜脂过氧化作用的强弱,也被用来衡量植物受到伤害的程度和植物的抗逆性强弱,随土壤汞浓度和时间的增加,贯众丙二醛(MDA)的含量持续增加,说明贯众的膜脂过氧化作用越来越强,受到的伤害也越大,高浓度的丙二醛(MDA)也反映出贯众有较强的抗逆性。在实验中贯众仍能正常生长并未出现枯死、萎蔫等现象,说明贯众的耐受性较强。

第四章 贯众富汞影响因素与条件优化

4.1 实验设计

4.1.1 pH 对贯众富汞的影响

通过耐汞浓度实验,得出最适宜的汞浓度为 $25\sim 50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间,所以用氯化汞对采集的洁净土壤染毒,设置土壤汞浓度为 $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,避光阴凉处老化一个月后分别用硝酸和氢氧化钠溶液调节土壤的 pH 值,土壤的缓冲能力较强,需多次调节,最后 pH 值设定为 6.24、6.85、7.13、7.87、8.38,稳定一月。贯众幼苗用 Hoagland's 营养培养一周后移栽入配制好的土壤,每盆加土 300g,做三组平行,置于人工气候箱中培养,设置与当地相同的温度、湿度、光照强度及时间等参数,每日按需浇水,并适当添加 Hoagland's 营养液,一月后收割测量。

4.1.2 有机质对贯众富汞的影响

鸡粪的有机质含量较高,所以选用鸡粪做有机添加剂。选用老化好的汞浓度 $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的土壤进行添加腐熟的过 60 目筛的鸡粪,鸡粪的添加量分别为 0、30、60、90、120g,加水稳定一月周后测得有机质含量为 0.87%、1.79%、2.81%、3.50%、4.58%。贯众幼苗用 Hoagland's 营养培养一周后移栽入配制好的土壤,每盆加土 300g,做三组平行,置于人工气候箱中培养,设置与当地相同的温度、湿度、光照强度及时间等参数,每日按需浇水,并适当添加 Hoagland's 营养液,一月后收割测量。

土壤的氧化还原电位(Eh)虽然对植物富集重金属也有很大的影响,但是由于很难操作,所以本实验没有考虑。

4.1.3 正交实验的设计

从实验得出贯众生长的最适条件为汞的浓度在 $25\sim 50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间、pH 值 6.24~6.73 之间、有机质含量 1.79%~2.81%之间,设计三因素三水平正交实验 $L_9(3^4)$,如表 4-1。采集的洁净土壤经过处理使汞浓度为 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $38\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $45\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,pH 值为 6.35、6.56、6.73,有机质含量为 1.92%、2.25%、2.52%。贯众幼苗用 Hoagland's 营养培养一周后移栽入配制好的土壤,每盆加土 300g,做三组平行,置于人工气候箱

中培养，设置与当地相同的温度、湿度、光照强度及时间等参数，每日按需浇水，并适当添加 Hoagland's 营养液，一月后收割测量。

表 4-1 正交实验表
Table 4-1 Orthogonal experiment table

编号	汞浓度/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	pH	有机质/%
1	1 (30)	1 (6.35)	1 (1.92)
2	1	2 (6.56)	2 (2.25)
3	1	3 (6.73)	3 (2.52)
4	2 (38)	1	2
5	2	2	3
6	2	3	1
7	3 (45)	1	3
8	3	2	1
9	3	3	2

4.2 测定方法

土壤形态用 Tessier 五步连续化学浸提法测定^[16]，具体的提取步骤为：（1）离子交换态：用分析天平准确称取 $2.0\pm 0.0005\text{g}$ 的土壤样品置于 50mL 的锥形瓶中，然后加入 16mL $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ pH 7.0 的氯化镁溶液，置于温度为 25°C 、振荡速率为 $160\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的振荡箱中连续振荡 2h。将提取液用转速为 $4000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的离心机离心 10min，上清液定容至 50mL 容量瓶，待测；（2）碳酸盐结合态：向上一步的残渣中加入 16mL $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ pH5.0 的醋酸钠-醋酸缓冲溶液，置于温度为 25°C 、振荡速率为 $160\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的振荡箱中连续振荡 5 h。将提取液用转速为 $4000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的离心机离心 10min，上清液定容至 50mL 容量瓶，待测；（3）铁锰氧化物态：向上一步的残渣中加入 40 mL $0.04\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸羟胺的 25%的醋酸 ($\text{V}\cdot\text{V}^{-1}$) 溶液，置于 96°C 的水浴锅中提取 6 h，期间偶尔振荡。将提取液用转速为 $4000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的离心机离心 10min，上清液定容至 50mL 容量瓶，待测；（4）有机结合态：向上一步的残渣中加入 6 mL $0.02\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硝酸溶液和 10 mL 30% pH 2.0 的双氧水溶液，置于 85°C 的水浴锅中提取 2 h，期间间歇振荡；然后加入 6 mL 30% pH 2.0 的双氧水溶液于 85°C 水浴锅中提取 3 h；再加入 10 mL $3.2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的醋酸铵的 20% 的硝酸溶液，置于温度为 25°C 、振荡速率为 $160\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的振荡箱中连续振荡 0.5h。将提取液用转速为 $4000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的离心机离心 10min，上清液定容至 50mL 容量瓶，待测；（5）残渣态：向上一步的残渣中加入 40mL 的王水，置于 96°C 的水浴锅中提取 2 h，期间间歇振荡。冷却后定容，待测。

pH 值、有机质含量、植物样品汞含量、土壤样品汞含量的测定参见 2.2.1、2.2.2、2.2.3、2.2.4、2.2.5。

4.3 结果分析与讨论

4.3.1 贯众吸收与土壤形态的关系

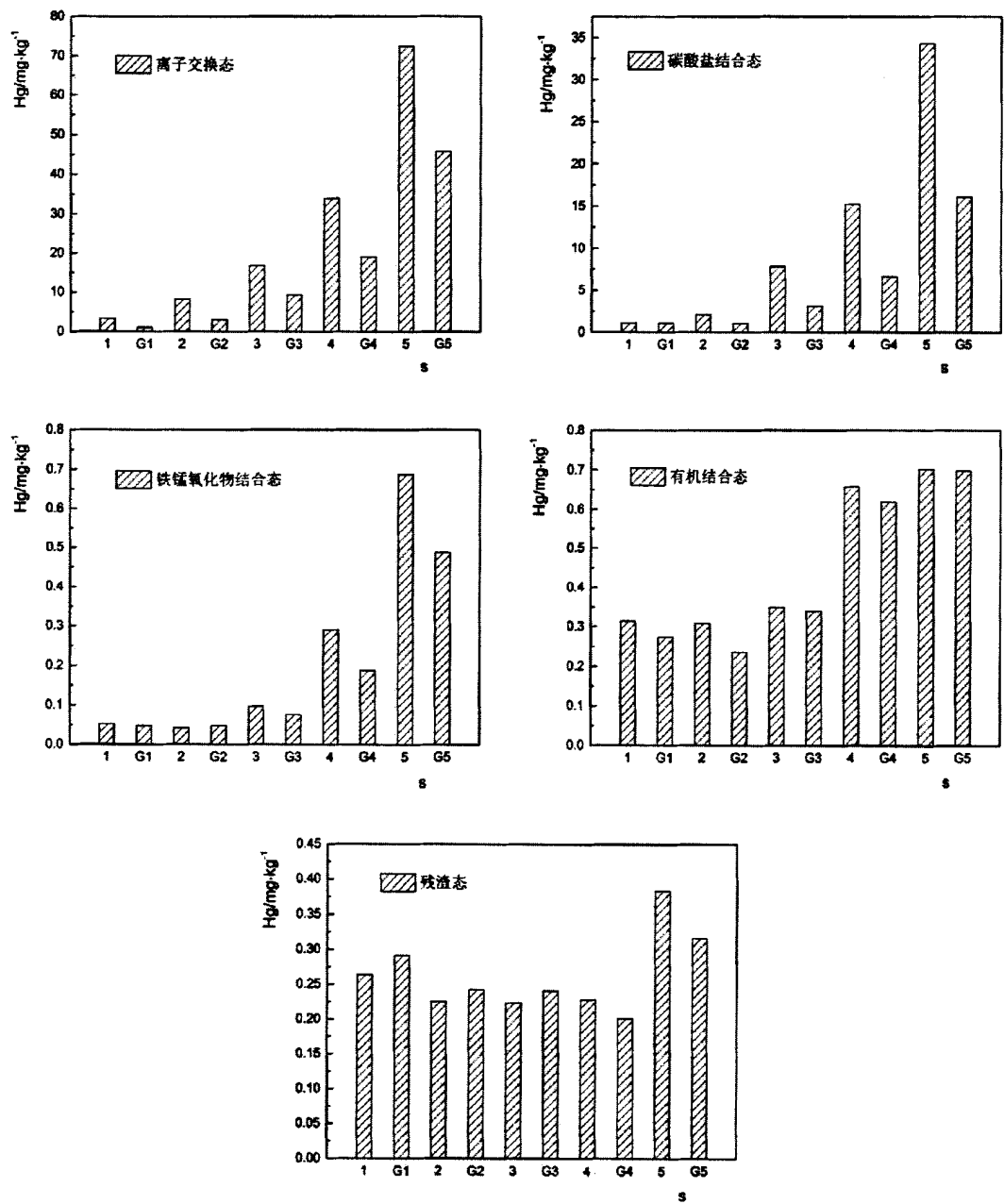


图 4-1 种植前后土壤形态的变化

Figure 4-1 Planting soil morphology before and after

运用 Tessier 五步提取法对染毒后的原始土壤和种植贯众后的土壤形态分析,从图 4-1 中可以看出,氯化汞染毒老化后的土壤形态的大小顺序基本为离子交换态>碳酸盐结合态>残渣态>铁锰氧化物结合态>有机结合态,推测氯化汞加入土壤老化后大部分转化为离子交换态汞,一部分转变为碳酸盐结合态汞,剩余部分转变为铁锰氧化物结合态汞、有机结合态汞和残渣态汞。种植贯众后的土壤离子交换态汞下降的非常显著,其次是碳酸盐结合态汞,铁锰氧化物结合态汞和有机结合态汞的降低都不是很明显,这与前人的研究结果植物的生物有效性与离子交换态和碳酸盐结合态显著相关一致^[83],说明贯众容易吸收离子结合态汞和碳酸盐结合态的汞。所以在实际应用过程中可以添加一些活性剂,如柠檬酸等,促进土壤中汞的活化,增强贯众的吸收。

4.3.2 pH 值对贯众富汞的影响

从图 4-2 中可以看出,随着 pH 值的增大,碱性增强,贯众体内汞的含量逐渐降低,有研究表明,pH 值越低,土壤重金属的迁移性和生物活性也会越强^[84],可能的原因是碱性环境下,形成的汞的碱性物质不易被贯众吸收。在土壤汞浓度为 $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, pH 值为 6.24 和 6.85 时贯众体内的含量可达到 $500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 以上,在弱碱性的环境中,贯众体内的含量可达到 $400 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 以上,说明贯众仍有较强的富汞能力。猜测酸性条件下,汞的离子活性增大,易被贯众的根部吸收,另外在弱酸性环境下,可能利于根部的一些微生物生长,它们能分泌一些物质和重金属离子形成无毒的物质利于植物吸收。可以得出,碱性越强,对贯众的富汞越不利,对植物有利的 pH 值为 6.24~6.85 的弱酸性环境。所以贯众适用于南方的酸性土壤或者在汞污染土壤中添加酸性活化剂,促进贯众富汞。

4.3.3 有机质对贯众富汞的影响

从图 4-3 中可以看出,随有机质含量的增加,贯众体内的汞浓度增加,但到一定含量后,随着有机质含量的增加,贯众体内的汞浓度反而降低。这与王坤的研究结果一致^[85],造成这种现象的原因可能是有机质与汞形成有机结合态汞,由于贯众主要吸收离子交换态和碳酸盐结合态汞,所以降低了植物的吸收;还有一种可能是有机质呈碱性,降低了汞的离子活性,导致了贯众富汞量的下降。但在少量的情况下却可以促进植物的吸收。在有机质含量为 1.79%、2.81%时,贯众体内的汞含量 $500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 以上,在 0.87%、3.50%、4.58%时都不到 $500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,可以看出植物富汞最佳的有机质含量为 1.79%~2.81%之间,过量的有机质会阻碍植物对重金属的吸收。因此,在实践中可以适当添加酸性肥料,如过磷酸钙等,促进贯众富汞。

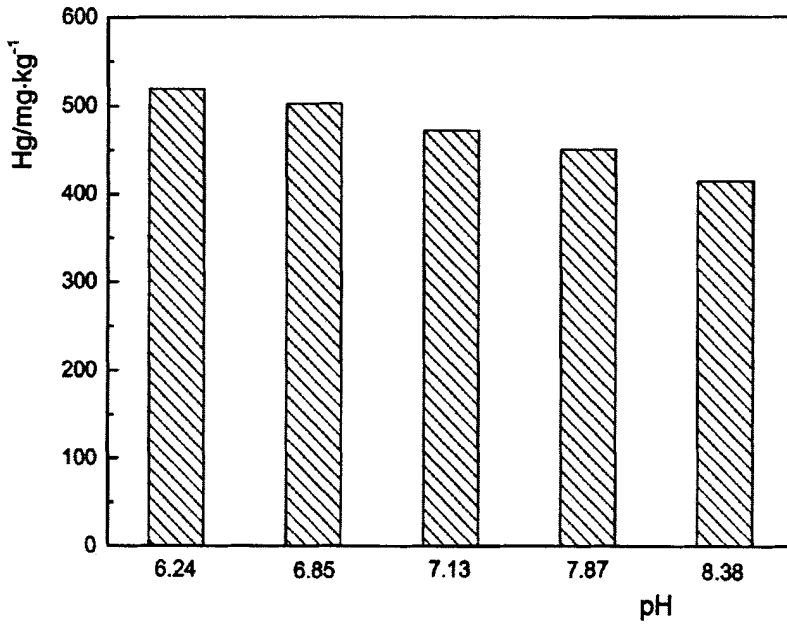


图 4-2 pH 与汞含量的影响

Figure 4-2 Impact on the mercury concentration of pH

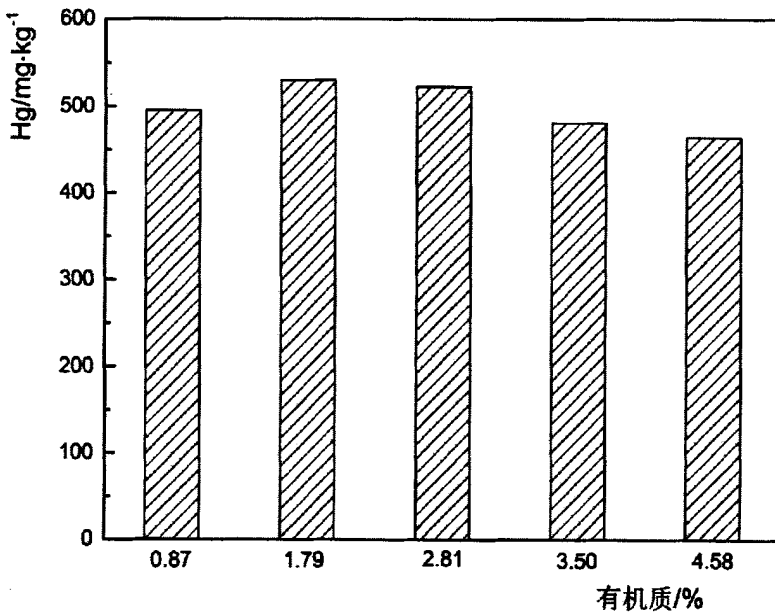


图 4-3 有机质对汞含量的影响

Figure 4-3 Impact on the mercury concentration of organic matter

4.3.4 正交实验

表 4-2 正交实验结果计算表

Table4-2 Orthogonal experiment results calculation table

编号	A 汞浓度	B pH 值	C 有机质含量	实验结果 汞含量/mg·kg ⁻¹
1	1	1	1	468.70
2	1	2	2	450.79
3	1	3	3	439.40
4	2	1	2	488.75
5	2	2	3	470.85
6	2	3	1	451.42
7	3	1	3	600.47
8	3	2	1	569.73
9	3	3	2	524.14
K1	1358.89	1557.92	1489.85	K=4464.25
K2	1411.02	1491.37	1463.68	
K3	1694.34	1414.96	1510.72	
r	335.45	142.96	47.04	P=2214392.01
Q	2236115.84	2217803.67	2214762.36	

表 4-3 方差分析表

Table4-3 Analysis of variance table

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	临界值	显著性
A	21723.83	2	10861.92	72.09	F _{0.01} (2, 2) =99	*
B	3411.63	2	1705.83	11.32	F _{0.05} (2, 2) =19	
C	370.35	2	185.17	1.23	F _{0.1} (2, 2) =9	

在最适的汞浓度、pH 值、有机质含量设计三因素三水平正交实验，实验结果及分析如表 4-2、4-3 所示，种植一个月后，收获的植物中汞的浓度集中在 400~600 mg·kg⁻¹ 之间。从表 4-2 可以看出，极差 rA>rB>rC，则各因素的主次顺序为汞含量>pH 值>有机质含量，实验的目的是贯众体内的汞浓度越高越好，因此应该选择 Ki 指标较大的值为最优组合，即 A3、B1、C3。从表 3-2 可以看出，A（汞含量）的显著性检验值最高，其次是 B（pH 值）和 C（有机质含量），可以判定 A（汞含量）水平的改变可以对实验指标造成一定的影响。可以看出，方差分析的结果与极差分析的结果一致，可以确定主次因素顺序为汞含量>pH 值>有机质含量，优选方案为汞含量为 45 mg·kg⁻¹，pH 值 6.35，有机质含量为 2.52%。因此在土壤中汞浓度一定时，应该优先考虑改变土壤的 pH 值，尽可能添加酸性活化剂或肥料接近最适的 pH 值和有机质含量，促进贯众的富汞效果。

4.4 本章小结

对老化和种植贯众后的土进行 Tessier 五步提取法形态分析,发现老化后土壤汞形态的大小顺序为离子交换态>碳酸盐结合态>有机结合态>残渣态>铁锰氧化物结合态,说明添加的氯化汞主要转化为离子交换态和碳酸盐结合态。种植贯众后的土壤离子交换态汞和碳酸盐结合态汞下降非常显著,说明贯众主要吸收离子交换态汞和碳酸盐结合态汞,这与前人研究的离子交换态和碳酸盐结合态与植物的生物有效性显著相关一致。

pH 值可以影响土壤中重金属离子的活性,一般的情况为随着 pH 值的增大,金属的离子活性降低,土壤中汞的离子活性也符合这个规律,实验结果表明随着 pH 值的增大,贯众体内的汞含量降低,说明 pH 值的增大影响贯众的富汞效率,因此在工程实践中,在土壤中尽量不要添加碱性物质。

有机质可以整合土壤中的重金属离子,研究结果表明适当增加有机质可以促进贯众对汞的吸收,但过量的有机质则阻碍贯众对汞的吸收。因此在程实践中,在土壤中应适当添加有机物。

通过正交实验得到对贯众富汞影响最大的因素为土壤的汞浓度,其次为土壤的 pH 值,有机质的含量影响较小。贯众最优的生长条件是汞含量为 $45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, pH 值为 6.35,有机质含量为 2.52%。

第五章 结论与建议

5.1 结论

通过对福建德化某废弃金矿、北京石景山某停产钢铁厂和贵州万山废弃汞矿矿区的植物采样调查,筛选富汞植物,并进行盆栽实验确定筛选的富汞植物的耐汞浓度和植物生理特性的变化反映富汞植物的抗胁迫能力,不同 pH 值、有机质含量对植物富汞的影响并进行正交实验得到最佳生长条件,植物吸收汞与土壤中汞形态的关系及植物修复汞污染土壤效果的评价,最终得到的结论如下:

(1) 福建德化某废弃金矿、北京石景山某停产钢铁厂和贵州万山废弃汞矿都受到汞污染,其中贵州万山废弃汞矿和福建德化某废弃金矿汞污染严重。最终从贵州万山废弃汞矿矿区筛选出一种大量生存、长势良好、生物量大、富汞能力强的富汞植物—贯众;

(2) 通过盆栽实验,确定贯众的耐汞浓度在 $500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 以下,最适的生长浓度为 $25\sim 50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间。在受到汞胁迫时,超氧化物歧化酶(SOD)活性在低浓度时增加,高浓度时降低,随着时间的延长,富集过多重金属汞后,贯众的抗氧化系统受到损伤,超氧化物歧化酶(SOD)活性也开始下降;谷胱甘肽(GSH)含量随汞浓度、时间的增加而增加,这主要与谷胱甘肽(GSH)不仅可以清除自由基,而且还能合成植物螯合素(PC)对重金属离子解毒有关;脯氨酸含量随汞浓度的增加先减小后增加,随着时间的增加脯氨酸的含量增加,这与脯氨酸调节渗透平衡,也能参与清除自由基和降低膜脂过氧化有关;随汞浓度和时间的增加丙二醛(MDA)含量持续增加,丙二醛可以衡量植物受到伤害的程度和抗胁迫能力的强弱。贯众仍能正常生长,说明贯众的抗汞胁迫能力强。

(3) 对老化和种植贯众后的土进行 Tessier 五步提取法形态分析,发现老化后土壤汞形态的大小顺序为离子交换态>碳酸盐结合态>有机结合态>残渣态>铁锰氧化物结合态,说明添加的氯化汞主要转化为离子交换态汞和碳酸盐结合态汞。种植贯众后的土壤离子交换态汞和碳酸盐结合态汞下降非常显著,说明植物主要吸收离子交换态汞和碳酸盐结合态汞。

(4) 实验表明弱酸性和少量有机质含量条件下有利于贯众吸收汞,碱性和过量的有机质含量则阻碍贯众对汞的吸收。其中,最适 pH 值为 6.24~6.73 之间,有机质含量为 1.79%~2.81%之间,通过正交实验得到影响贯众富汞的主要因素是汞浓度,其次为土壤的 pH 值,有机质的含量影响较小;最优的生长条件汞浓度为 $45 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, pH

值为 6.35, 有机质含量为 2.52%;

(5) 贯众有作为富汞植物的潜力, 可以运用于工程实践进行检验。

5.2 建议

本次实验的重点是筛选一种富汞植物, 并对其的富汞能力进行评价, 贯众的生长周期较长, 时间仓促, 难免有所不足, 还需进一步研究。

(1) 本次调查地点仅为福建德化某废弃金矿、北京石景山某停产钢铁厂和贵州万山废弃汞矿三地, 采样点较少, 而且在采样过程中, 植物众多, 难免有所遗漏;

(2) 筛选出来的富汞植物贯众在气候箱中培养, 未考察其对不同气候条件、土壤环境的适应性和作为广域修复植物的潜力;

(3) 在实验室模拟条件下, 只选用了植物易于吸收的氯化汞, 未考虑实际的汞污染土壤, 实验结果有一定的局限性, 仅供参考;

(4) 实验后的贯众仍缺乏行之有效的处理方法;

(5) 实验模拟中贯众的富汞效率较高, 还需工程检验。

参考文献

- [1] Mason R P, Choi A L, Fitzgerald W F, et al. Mercury biogeochemical cycling in the ocean and policy implications[J]. *Environmental research*, 2012, 119: 101-117.
- [2] 方凤满, 王起超. 大气汞的来源, 形态及环境过程研究现状[J]. *环境导报*, 2001 (2): 18-21.
- [3] 仇广乐, 冯新斌, 王少锋, 等. 贵州汞矿矿区不同位置土壤中总汞和甲基汞污染特征的研究[J]. *环境科学*, 2006, 27(3): 550-555.
- [4] Horvat M, Nolde N, Fajon V, et al. Total mercury, methylmercury and selenium in mercury polluted areas in the province Guizhou, China[J]. *Science of the Total Environment*, 2003, 304(1): 231-256.
- [5] Friedli H R, Arellano A F, Cinnirella S, et al. Initial estimates of mercury emissions to the atmosphere from global biomass burning[J]. *Environmental science & technology*, 2009, 43(10): 3507-3513.
- [6] 张刚, 王宁, 王艺, 等. 中国金矿开采区环境汞污染[J]. *环境科学与管理*, 2012, 37(11): 54-60.
- [7] Egler S G, Rodrigues-Filho S, Villas-Bôas R C, et al. Evaluation of mercury pollution in cultivated and wild plants from two small communities of the Tapajós gold mining reserve, Pará State, Brazil[J]. *Science of the total environment*, 2006, 368(1): 424-433.
- [8] Zheng N, Liu J, Wang Q, et al. Mercury contamination due to zinc smelting and chlor-alkali production in NE China[J]. *Applied Geochemistry*, 2011, 26(2): 188-193.
- [9] Bernaus A, Gaona X, van Ree D, et al. Determination of mercury in polluted soils surrounding a chlor-alkali plant: direct speciation by X-ray absorption spectroscopy techniques and preliminary geochemical characterisation of the area[J]. *Analytica chimica acta*, 2006, 565(1): 73-80.
- [10] Hseu Z Y, Su S W, Lai H Y, et al. Remediation techniques and heavy metal uptake by different rice varieties in metal-contaminated soils of Taiwan: new aspects for food safety regulation and sustainable agriculture[J]. *Soil Science & Plant Nutrition*, 2010, 56(1): 31-52.
- [11] Earle C D A, Rhue R D, Earle J F K. Mercury in a municipal solid waste landfill*[J]. *Waste Management and Research*, 1999, 17(4): 305-312.
- [12] Bollen A, Wenke A, Biester H. Mercury speciation analyses in HgCl_2 -contaminated soils and groundwater—Implications for risk assessment and remediation strategies[J]. *Water research*, 2008, 42(1): 91-100.
- [13] Bakir B, Hacim A K, Gulec M, et al. The quality of groundwater for certain chemicals in military fields in Ankara[J]. *Military medicine*, 2003, 168(12): 1007-1010.
- [14] Hutchison A R, Atwood D A. Mercury pollution and remediation: the chemist's response to a global crisis[J]. *Journal of chemical crystallography*, 2003, 33(8): 631-645.
- [15] 李永华, 王五一, 杨林生, 等. 汞的环境生物地球化学研究进展[J]. *地理科学进展*, 2005, 23(6): 33-40.
- [16] 杨燕娜, 温小乐. 土壤汞污染及其治理措施的研究综述[J]. *能源与环境*, 2006 (3): 9-11.
- [17] Schuster E. The behavior of mercury in the soil with special emphasis on complexation and adsorption processes—a review of the literature[J]. *Water Air & Soil Pollution*, 1991, 56(1): 667-680.
- [18] Tessier A, Campbell P G C, Bisson M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals[J]. *Analytical chemistry*, 1979, 51(7): 844-851.
- [19] Davidson C M, Thomas R P, McVey S E, et al. Evaluation of a sequential extraction procedure for

- the speciation of heavy metals in sediments[J]. *Analytica Chimica Acta*, 1994, 291(3): 277-286.
- [20] 依艳丽, 李迎, 张大庚, 等. 不同水分条件下汞在土壤中形态转化的研究[J]. *沈阳农业大学学报*, 2010 (1): 42-45.
- [21] 牛凌燕, 曾英. 土壤中汞赋存形态及迁移转化规律研究进展[J]. *广东微量元素科学*, 2008, 15(7): 1-5.
- [22] Yang Y K, Zhang C, Shi X J, et al. Effect of organic matter and pH on mercury release from soils[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2007, 19(11): 1349-1354.
- [23] Cattani I, Zhang H, Beone G M, et al. The role of natural purified humic acids in modifying mercury accessibility in water and soil[J]. *Journal of environmental quality*, 2009, 38(2): 493-501.
- [24] Liao L, Selim H M, DeLaune R D. Mercury adsorption-desorption and transport in soils[J]. *Journal of environmental quality*, 2009, 38(4): 1608-1616.
- [25] Oliva J, Cama J, Cortina J L, et al. Biogenic hydroxyapatite (Apatite II™) dissolution kinetics and metal removal from acid mine drainage[J]. *Journal of hazardous materials*, 2012, 213: 7-18.
- [26] Reddy M M, Aiken G R. Fulvic acid-sulfide ion competition for mercury ion binding in the Florida Everglades[J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2001, 132(1-2): 89-104.
- [27] Bravo A G, Cosio C, Amouroux D, et al. Extremely elevated methyl mercury levels in water, sediment and organisms in a Romanian reservoir affected by release of mercury from a chlor-alkali plant[J]. *Water research*, 2014, 49: 391-405.
- [28] Barkay T, Miller S M, Summers A O. Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems[J]. *FEMS microbiology reviews*, 2003, 27(2-3): 355-384.
- [29] Xu J, Kleja D B, Biester H, et al. Influence of particle size distribution, organic carbon, pH and chlorides on washing of mercury contaminated soil[J]. *Chemosphere*, 2014, 109: 99-105.
- [30] Cho U H, Park J O. Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings[J]. *Plant Science*, 2000, 156(1): 1-9.
- [31] Cenkcı S, Yıldız M, Cigerci İ H, et al. Toxic chemicals-induced genotoxicity detected by random amplified polymorphic DNA (RAPD) in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings[J]. *Chemosphere*, 2009, 76(7): 900-906.
- [32] Stern A H. A review of the studies of the cardiovascular health effects of methylmercury with consideration of their suitability for risk assessment[J]. *Environmental Research*, 2005, 98(1): 133-142.
- [33] Mutter J, Naumann J, Sadaghiani C, et al. Amalgam studies: disregarding basic principles of mercury toxicity[J]. *International journal of hygiene and environmental health*, 2004, 207(4): 391-397.
- [34] 蔡美芳, 刘玉荣, 党志. 植物修复重金属污染土壤的研究进展[J]. *重庆环境科学*, 2004, 25(11): 174-176.
- [35] Chang T C, Yen J H. On site mercury contaminated soils remediation by using thermal desorption technology [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2006, 128(2-3): 208-217
- [36] Cox C D, Shoesmith M A, Ghosh M M. Electrokinetic remediation of mercury-contaminated soils using iodine/iodide lixiviant[J]. *Environmental Science & Technology*, 1996, 30(6): 1933-1938.
- [37] 金漫彤, 沈学优. 土壤聚合物的制备及其固化重金属离子的研究[J]. *化工环保*, 2005, 25(2): 84-87.
- [38] Dermont G, Bergeron M, Mercier G et al. Metal-contaminated soils: remediation practices and treatment technologies[J]. *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management*, 2008, 12(3): 188-209.

- [39] Subirés-Muñoz J D, García-Rubio A, Vereda-Alonso C, et al. Feasibility study of the use of different extractant agents in the remediation of a mercury contaminated soil from Almaden[J]. *Separation and Purification Technology*, 2011, 79(2): 151-156.
- [40] 王明勇, 乙引. 一种新发现的汞富集植物—乳浆大戟[J]. *江苏农业科学*, 2010 (2): 354-356.
- [41] Summers A O, Silver S. Microbial transformations of metals[J]. *Annual Reviews in Microbiology*, 1978, 32(1): 637-672.
- [42] Moreno F N, Anderson C W N, Stewart R B, et al. Induced plant uptake and transport of mercury in the presence of sulphur - containing ligands and humic acid[J]. *New phytologist*, 2005, 166(2): 445-454.
- [43] Leonard T L, Taylor G E, Gustin M S, et al. Mercury and plants in contaminated soils: 1. Uptake, partitioning, and emission to the atmosphere[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1998, 17(10): 2063-2071.
- [44] Meagher R B. Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants[J]. *Current opinion in plant biology*, 2000, 3(2): 153-162.
- [45] Yadav R, Arora P, Kumar S, et al. Perspectives for genetic engineering of poplars for enhanced phytoremediation abilities[J]. *Ecotoxicology*, 2010, 19(8): 1574-1588.
- [46] Wang Y, Stauffer C, Keller C, et al. Changes in Hg fractionation in soil induced by willow[J]. *Plant and soil*, 2005, 275(1-2): 67-75.
- [47] Pérez-Sanz A, Millán R, Sierra M J, et al. Mercury uptake by *Silene vulgaris* grown on contaminated spiked soils[J]. *Journal of environmental management*, 2012, 95: S233-S237.
- [48] Memon A R, Schröder P. Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2009, 16(2): 162-175.
- [49] Brooks R R, Lee J, Reeves R D, et al. Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants[J]. *Journal of Geochemical Exploration*, 1977, 7: 49-57.
- [50] 闫研, 李建平, 赵志国, 等. 超富集植物对重金属耐受和富集机制的研究进展[J]. *广西植物*, 2008, 28(4): 505-510.
- [51] 刘威, 束文圣, 蓝崇钰. 宝山堇菜 (*Viola baoshanensis*)——一种新的镉超富集植物[J]. *科学通报*, 2003, 48(19): 2046-2049.
- [52] 魏树和, 周启星, 王新. 超积累植物龙葵及其对镉的富集特征[J]. *环境科学*, 2005, 26(3): 167-171.
- [53] 姜理英, 石伟勇, 杨肖娥, 等. 铜矿区超积累 Cu 植物的研究[J]. *应用生态学报*, 2002, 13(7): 906-908.
- [54] 薛生国, 陈英旭, 林琦, 等. 中国首次发现的锰超积累植物—商陆[J]. *生态学报*, 2003, 23(5): 935-937.
- [55] 魏树和, 周启星, 王新, 等. 某铅锌矿坑口周围具有重金属超积累特征植物的研究[J]. *环境污染治理技术与设备*, 2004, 5(3): 33-39.
- [56] 杨肖娥, 傅承新. 东南景天 (*Sedum alfreii* H)——一种新的锌超积累植物[J]. *科学通报*, 2002, 47(13): 1003-1006.
- [57] 张学洪, 罗亚平, 黄海涛, 等. 一种新发现的湿生铬超积累植物—李氏禾 (*Leersia hexandra* Swartz)[J]. *生态学报*, 2006, 26(3): 950-953.
- [58] 陈同斌, 韦朝阳, 黄泽春, 等. 砷超富集植物蜈蚣草及其对砷的富集特征[J]. *科学通报*, 2002 (3): 207-210.
- [59] 韦朝阳, 陈同斌, 黄泽春, 等. 大叶井口边草——一种新发现的富集砷的植物[J]. *生态学报*, 2002, 22(5): 777-778.

- [60] 黄运湘, 廖柏寒, 王志坤. 超积累植物的富集特征及耐性机理[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2006, 31(6): 693-697.
- [61] Reeves RD, Macfarlane RM, Brooks RR. Accumulation of rucked and zinc by westen north American genera containining serpentine-tolerant species [J]. Amer J Bot. 1983, 70 (9): 1297-1303.
- [62] 魏树和, 周启星, 王新. 18 种杂草对重金属的超积累特性研究[J]. 应用基础与工程科学学报, 2003, 11(2): 152-160.
- [63] Baker A J M, Proctor J, Van Balgooy M M J, et al. Hyperaccumulation of nickel by the flora of the ultramafics of Palawan, Republic of the Philippines[J]. The vegetation of ultramafic (serpentine) soils, 1992: 291-304.
- [64] 汤叶涛, 仇荣亮, 曾晓雯, 等. 一种新的多金属超富集植物—圆锥南芥 (*Arabis paniculata* L.)[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2005, 44(4): 135-136.
- [65] Zhuang P, Yang Q W, Wang H B, et al. Phytoextraction of heavy metals by eight plant species in the field[J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2007, 184(1-4): 235-242.
- [66] Padmavathiamma P K, Li L Y. Phytoremediation technology: hyper-accumulation metals in plants[J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2007, 184(1-4): 105-126.
- [67] 董社琴, 李冰雯, 周健. 超积累植物对土壤中重金属元素吸收机理的探讨[J]. 太原科技, 2004 (1): 64-66.
- [68] 马旭俊, 朱大海. 植物超氧化物歧化酶 (SOD) 的研究进展[J]. 遗传, 2003, 25(2): 225-231.
- [69] 严重玲, 洪业汤, 付舜珍. Cd, Pb 胁迫对烟草叶片中活性氧清除系统的影响[J]. 生态学报, 1997, 17(5): 488-492.
- [70] Rauser W E. Phytochelatins [J]. Ann. Rev. Biochem, 1990, 59: 61-86
- [71] Freeman J L, Persans M W, Nieman K, et al. Increased glutathione biosynthesis plays a role in nickel tolerance in *Thlaspi nickel* hyperaccumulators[J]. The Plant Cell Online, 2004, 16(8): 2176-2191.
- [72] Mehta S K, Gaur J P. Heavy-metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris*[J]. New Phytologist, 1999, 143(2): 253-259.
- [73] 张义贤, 张丽萍. 重金属对大麦幼苗膜脂过氧化及脯氨酸和可溶性糖含量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(4): 857-860.
- [74] Shah K, Kumar R G, Verma S, et al. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings[J]. Plant Science, 2001, 161(6): 1135-1144.
- [75] 朱丹. Cd 和水分复合胁迫对玉米幼苗叶片抗氧化酶的活性与 MDA 含量影响[J]. 安徽科技学院学报, 2014, 28(1): 37-40.
- [76] NY/T 1377-2007 土壤 PH 的测定[S]. 2007 .
- [77] NY/T 1121.6-2006 土壤检测 第 6 部分: 土壤有机质的测定[S]. 2006.
- [78] GB/T 22105.1-2008 土壤质量 总汞、总砷、总铅的测定原子荧光法 第一部分: 土壤中总汞的测定[S]. 2008.
- [79] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2002.
- [80] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- [81] 李大辉, 施国新, 丁小余, 等. Cd²⁺, Hg²⁺对菱幼苗生长及其超氧化物歧化酶, 过氧化物酶活性的影响[J]. 武汉植物学研究, 1999, 17(3): 206-210.
- [82] 丁海东, 朱为民, 杨少军, 等. 镉, 锌胁迫对番茄幼苗生长及脯氨酸和谷胱甘肽含量的影响[J]. 江苏农业学报, 2006, 21(3): 191-196.
- [83] 汪霞, 南忠仁, 武文飞, 等. 干旱区绿洲土壤中重金属的形态分布及生物有效性研究[J]. 生

- 态环境学报, 2010, 19(7): 1663-1667.
- [84] 钟晓兰, 周生路, 李江涛, 等. 模拟酸雨对土壤重金属镉形态转化的影响[J]. 土壤 (Soils), 2009, 41(4): 566-571.
- [85] 王坤, 宁国辉, 谢建治, 等. 土壤有机质和螯合剂对龙葵富集重金属 Cd 的影响[J]. 水土保持学报, 2014, 28(3): 259-263.

致谢

本论文及三年的科研工作都是在冯流教授的指导下完成的。从本科的毕业设计到三年的研究生生活，冯老师都给我关怀和指导，冯老师知识渊博，具有敏锐的观察力和洞察力，对学生要求严格，认真严谨的科研精神与学术作风以及对待生活热情、认真负责都给予我们很好地学习榜样。踏出校门，相信再没有作为学生的机会感受校园生活，将会倍加怀念校园生活和冯老师的教导，为此，向冯老师致以最诚挚的谢意。

在论文的实验过程中，要感谢师姐贺娟妮、王静、张敏英和同届的刘刚、化玉谨以及师妹马世娜、田静、张玉枝和做本科毕业设计的蔡迪同学，他们在实验阶段给了我极大的帮助，积极探讨在实验中遇到的问题，给出合理的分析，才使得我的实验得以顺利的进展，在此对他们表示感谢！

最后要感谢我的家人，是他们对我的全力支持和帮助、生活上的关怀和呵护，使我能够顺利完成学业。

研究成果及发表的学术论文

发表及已接受的论文

曹宇, 陈明, 张佳文, 李有丹, 冯流. 硫化钠对土壤中铅镉的固定效果[J]. *环境工程学报*, 2014, 8(2): 782-788.

作者及导师简介

作者简介：李有丹，男，1989年1月出生，甘肃人。2008年9月至2012年7月在北京化工大学环境工程专业进行本科学习，2012年至今，在北京化工大学环境科学与工程专业攻读硕士研究生。

导师介绍：冯流，男，教授、研究生导师。1996年南京大学环境科学与工程系环境化学专业理学博士毕业。1996年8月至今，北京化工大学化学工程学院环境工程系，教授。主要从事领域包括有机污染化学、化学品风险评估与处理技术、土壤污染评价与修复技术、高级氧化技术原理及应用、污染物简易监测技术、环境功能材料等。先后承担和参与国家自然科学基金项目，国土资源部科技项目，国家973项目多项，在国内外核心学术刊物上发表论文40余篇，参编出版专著3部，获教育部科技进步二等奖一次，取得省部级鉴定成果1项。

北京化工大学

硕士研究生学位论文答辩委员会决议书

研究生姓名: 李有丹

专业: 环境科学与工程

论文题目: 富汞植物的筛选及性能评价

指导教师姓名: 冯流 职称: 教授

论文答辩日期: 2015年6月3日 地点: 工程楼 A201

论文答辩委员会成员

姓名	职称	工作单位	本人签名
张润铎	教授	北京化工大学	张润铎
黄世萍	教授	北京化工大学	黄世萍
海热提	研究员	北京化工大学	海热提
包雨云	教授	北京化工大学	包雨云
雷志刚	教授	北京化工大学	雷志刚

注: 此表用于存档, 除本人签名务必用钢笔填写外, 其余处必须用计算机打印。

答辩委员会对论文的评语（选题意义、文献综述、论文所取得的成果及水平、学风和论文写作水平、论文的不足之处）：

汞污染场地的修复日益受到科技工作者和公众的关注，寻求经济有效的修复方法成为研究的热点，本论文尝试筛选一种富汞植物用于汞污染场地的修复，选题具有重大的现实意义和学术价值。文献综述部分透彻的讲述了汞污染的起因、危害和现状，以及目前的修复方法及机理，内容充实。论文通过实地调查和大量的实验分析，筛选得到了一种富集能力强、耐受性好的富汞植物，并通过实验得出实际应用过程中的优化条件。

论文文献综述较全面，数据翔实，结论可信，研究工作具有创新性。论文条理清晰，写作规范，表明作者具备扎实的化工基础理论和专业知识，以及较强的独立从事科研工作的能力。

答辩过程中表述清楚，回答问题正确。

对学位论文水平的总体评价	优秀	良好	一般	较差
		√		

答辩委员会表决结果：

同意授予硕士学位 5 票，不同意授予硕士学位 0 票，弃权 0 票。根据投票结果，答辩委员会做出建议授予该同学硕士学位的决议。

答辩委员会主席签字：

2015 年 6 月 3 日