

# 污染土壤重金属修复的开放性实验

韩淑梅, 陈琳, 刘玉婷, 王婧, 马炳南, 朱丽萍, 王婧\*

贵州大学生命科学学院, 贵州 贵阳

收稿日期: 2022年6月16日; 录用日期: 2022年8月18日; 发布日期: 2022年8月26日

## 摘要

本文研究了不同浓度水杨酸对孔雀草生长和吸收土壤中重金属镉能力的影响。以镉超积累植物孔雀草为实验植物, 在穴盘中种植孔雀草长至3~4片真叶, 移栽至 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 镉污染土壤中, 每隔5天向孔雀草地上部喷施不同浓度(0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )水杨酸, 在种植70天后收获, 测定孔雀草各部分生理指标及镉含量。结果表明:  $0.2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 水杨酸能够促进土壤中的镉向孔雀草地上部转移。可见, 水杨酸能够提高孔雀草生长和吸收镉的能力, 从而提高孔雀草修复镉污染土壤的效率。该实验具有综合性、开放性和创新性的特点, 有利于培养学生的综合素质及创新能力。

## 关键词

水杨酸, 孔雀草, 镉污染, 修复

# Open Experiment of Heavy Metal Remediation in Polluted Soil

Shumei Han, Lin Chen, Yuting Liu, Jing Wang, Bingnan Ma, Liping Zhu, Qiang Wang\*

College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang Guizhou

Received: Jun. 16<sup>th</sup>, 2022; accepted: Aug. 18<sup>th</sup>, 2022; published: Aug. 26<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

The effects of different concentrations of salicylic acid on the growth of *Tagetes patula* L. and its ability to absorb heavy metal cadmium in soil were studied. Taking *Tagetes patula* L., a cadmium hyperaccumulator, as the experimental plant, the *Tagetes patula* L. grew to 3~4 true leaves in the

\*通讯作者。

hole plate and transplanted to 100 mg·kg<sup>-1</sup> cadmium polluted soil. Different concentrations of salicylic acid (0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 mmol·L<sup>-1</sup>) were sprayed on the upper part of *Tagetes patula* L. every 5 days. After planting for 70 days, the physiological indexes and cadmium content of each part of *Tagetes patula* L. were measured. The results showed that 0.2 mmol·L<sup>-1</sup> salicylic acid could promote the transfer of cadmium in soil to the upper part of peacock grassland. It can be seen that salicylic acid can improve the growth and cadmium absorption capacity of *Tagetes patula* L., so as to improve the efficiency of *Tagetes patula* L. in repairing cadmium contaminated soil. The experiment has the characteristics of comprehensiveness, openness and innovation, which is conducive to cultivating students' comprehensive quality and innovation ability.

## Keywords

Salicylic Acid, *Tagetes patula* L., Cadmium Pollution, Remediation

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

随着工业化进程加速、矿产资源的不合理开发, 污水灌溉、化肥农药的大量使用等, 加速了重金属在土壤中的堆积[1]。我国农田重金属污染不容乐观, 以镉、镍、铜等重金属污染最为突出[2]。据赵其国等估计, 我国农田土壤重金属污染面积达到上千万平方公里, 占我国总耕地面积的两成以上[3], 以西南(云南、贵州等地), 华中(湖南、江西等地), 长江三角洲及珠江三角洲等地区较为严重[4]。农田土壤污染重金属类型在增多, 面积在扩大, 如何解决土壤污染尤其是大面积农田土壤污染, 是一个十分严峻的问题。镉是植物非必需元素, 毒性极强, 在植物组织中积累到一定水平时, 会造成植物生长迟缓、植株矮小、产量下降甚至是死亡等毒害症状[5] [6] [7]。镉会进入食物链而被动物和人体摄入, 有研究表明, 重金属镉会对小鼠骨髓细胞 DNA 造成损伤[8], 也能在人体内累积, 严重危害人类健康[9] [10] [11]。目前应用于土壤重金属污染修复技术包括物理修复、化学修复、生物修复及联合修复[12]。生物修复中的植物修复技术被普遍认为具有其他三种修复方法无法比拟的价格低廉、无二次污染、美化环境等优点, 是一项潜力巨大的修复技术[13] [14]。基于此, 设计了一个开放性实验项目: 污染土壤重金属修复, 拟面向我校生命科学学院生物科学、生物技术、生态学专业 150 余人次的本科生开展。

实验内容包括, 土壤样品的制备, 土壤样品的生理指标的测定及重金属离子浓度的测定。首先学生需要了解该实验所涉及到的化学试剂的基本性质, 掌握原子吸收光谱等仪器的基本原理及使用方法, 其次学生在实验操作过程中需具备严谨的科学态度及良好的实验习惯; 最后通过实验结果更好地理解改良剂对重金属污染土壤的强化机理。本实验在重视学生基本操作能力的同时, 又引入当今研究热点, 有利于学生系统地掌握专业实验技术, 提高实验技能, 激发本科生对所学专业的兴趣, 为今后的各种学科竞赛及毕业设计奠定基础。

## 2. 实验材料及方法

### 2.1. 实验材料

供试孔雀草种子采自贵州大学植物标本园, 供试土壤基本理化性质如表 1 所示, 水杨酸和氯化镉 (CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O) 均为国产分析纯。

**Table 1.** Physical and chemical properties of tested soil**表 1.** 供试土壤理化性质

土壤	pH	有机质	全氮	全磷	速效钾
营养土	6.22	11.67%	0.73%	0.32	193.13

## 2.2. 实验方法

将买来的有机营养土自然风干，于直径为 21 cm 的塑料花盆中装入 1 kg 上述土壤，将固体  $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$  加入土壤中，使其终浓度为  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，每日进行搅动，以使镉在土壤中充分混匀，平衡 1 个月待用。

试验设 0.1、0.2、0.3、0.4  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  4 个浓度 SA 处理，以蒸馏水处理为对照，选取饱满、健壮的孔雀草种子播种于含有有机营养土的穴盘中，当幼苗长到 4 片真叶时，移栽至平衡好的土壤中，每盆保苗 2 株，去离子水浇灌，移栽后每隔 5 d 进行以下 6 种试验处理：Tck (不加 Cd 及 SA 处理)，T0 ( $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  Cd)，T1 ( $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  Cd + 0.1  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  SA)，T2 ( $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  Cd + 0.2  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  SA)，T3 ( $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  Cd + 0.3  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  SA)，T4 ( $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  Cd + 0.4  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  SA)。每个处理 4 次重复，处理 50 d 后收获叶片用于各项生理指标测定，每个指标测定重复 3 次。

## 3. 测定方法及数据分析

### 3.1. 测量指标与方法

#### 3.1.1. 生物量的测定

收获成熟的孔雀草植株，用去离子水洗净植株，再用吸水纸吸干后，测量叶长、叶宽、茎粗、根长、株高、鲜重、干重，叶面积 = 叶长 × 叶宽 × 0.66，根含水量 = (根鲜重 - 根干重)/根鲜重 × 100%，地上部含水量 = (地上部鲜重 - 地上部干重)/地上部鲜重 × 100%，根冠比 = 根干重/地上部干重。

#### 3.1.2. 孔雀草各部分镉含量的测定

将孔雀草各处理组植株从盆中取出，根系用蒸馏水清洗干净，再在 20  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  乙二胺四乙酸二钠溶液中交换 20 min，以去除根系黏附的金属离子，再用去离子水清洗干净，用吸水纸吸干表面水分，105℃ 下杀青 30 min，然后在 60℃ 下烘干至恒重。土壤样品自然风干后充分研磨，过 100 目筛，准确称取 0.1 g，采用  $\text{HF-HNO}_3\text{-HClO}_4$  消煮，准确称取孔雀草根、叶样品 0.2 g，采用  $\text{HNO}_3\text{-HClO}_3$  (3:2, v/v, 分析纯) 消煮，原子吸收法测定镉含量(Thermo 原子吸收光谱仪)。

### 3.2. 数据分析

所获数据用 Microsoft Excel 和 SPSS16.0 进行统计分析，利用 Duncan 新复极差检验进行差异显著性检验( $p < 0.05$ )。

## 4. 实验结果与讨论

### 4.1. 孔雀草各部分生理指标的测定

由表 2 可知，单一 Cd 处理(T0)，孔雀草植株的叶面积、茎粗、根长和株高均高于对照组(Tck)，叶面积、茎粗、根长和株高分别比对照升高了 132.14%、69.21%、23.89%、44.42%，与 Cd 处理相比，T1 处理使孔雀草植株的叶面积、茎粗、株高降低了 18.16%、3.23%、13.89%，根长升高了 3.84%，差异不显著，T2 处理使孔雀草植株的叶面积、根长、株高降低了 33.36%、0.44%、29.81%，茎粗升高了 3.23%，

差异不显著; T3 处理使孔雀草植株的叶面积、茎粗、株高降低了 10.20%、5.26%、17.45%, 根长升高了 47.64%, 差异不显著; T4 处理使孔雀草植株的叶面积、茎粗、株高降低了 11.89%、4.11%、28.05%, 根长升高了 100.00%, 差异显著。

由表 3 可知, 单一 Cd 处理(T0), 孔雀草植株的地上部含水量、根冠比比对照组(Tck)降低了 2.78%, 28.25%, 根含水量升高了 8.41%; 与 Cd 处理相比, T1 处理使孔雀草植株根含水量、地上部含水量、根冠比升高了 1.88%、0.24%、29.24%。

T2 处理使孔雀草植株根含水量、地上部含水量、根冠比升高了 0.06%、4.47%、26.05%; T3 处理使孔雀草植株根含水量、地上部含水量、根冠比升高了 4.07%、3.23%、17.31%; T4 处理使孔雀草植株根含水量、地上部含水量、根冠比升高了 3.42%、1.66%、76.41%。

**Table 2.** Effect of exogenous SA on plant growth of *Tagetes patula* L. under cadmium stress

**表 2.** 外源 SA 对镉胁迫下孔雀草植株生长的影响

处理	叶长(mm)	叶宽(mm)	叶面积(mm <sup>2</sup> )	茎粗(mm)	根长(cm)	株高(cm)
Tck	23.78 ± 2.20 <sup>c</sup>	8.21 ± 0.67 <sup>d</sup>	129.43 ± 22.19 <sup>d</sup>	2.92 ± 0.41 <sup>b</sup>	15.42 ± 5.49 <sup>b</sup>	25.92 ± 1.01 <sup>d</sup>
T0	37.97 ± 1.29 <sup>a</sup>	11.99 ± 0.39 <sup>a</sup>	300.47 ± 12.57 <sup>a</sup>	4.95 ± 0.16 <sup>a</sup>	19.10 ± 6.61 <sup>b</sup>	37.43 ± 2.33 <sup>a</sup>
T1	34.43 ± 1.85 <sup>a</sup>	10.82 ± 0.15 <sup>bc</sup>	245.91 ± 12.66 <sup>bc</sup>	4.79 ± 0.50 <sup>a</sup>	19.83 ± 1.60 <sup>b</sup>	32.23 ± 1.64 <sup>b</sup>
T2	29.43 ± 1.62 <sup>b</sup>	10.29 ± 0.59 <sup>c</sup>	200.24 ± 22.23 <sup>c</sup>	5.11 ± 0.46 <sup>a</sup>	19.02 ± 10.04 <sup>b</sup>	26.27 ± 1.56 <sup>d</sup>
T3	34.92 ± 3.48 <sup>a</sup>	11.68 ± 0.46 <sup>ab</sup>	269.82 ± 36.14 <sup>ab</sup>	4.69 ± 0.34 <sup>a</sup>	28.20 ± 5.63 <sup>ab</sup>	30.90 ± 2.85 <sup>bc</sup>
T4	34.58 ± 4.15 <sup>a</sup>	11.59 ± 0.59 <sup>ab</sup>	264.75 ± 39.37 <sup>ab</sup>	4.74 ± 0.56 <sup>a</sup>	38.20 ± 10.07 <sup>a</sup>	26.93 ± 3.40 <sup>cd</sup>

注: 不同字母表示相同处理不同时间点之间的显著性差异(p < 0.05), 下同。

**Table 3.** Effects of exogenous SA on root water content, shoot water content and root shoot ratio of *Tagetes patula* L. under cadmium stress

**表 3.** 外源 SA 对镉胁迫下孔雀草植株根含水量、地上部含水量、根冠比的影响

处理	地上部鲜重(g·株 <sup>-1</sup> )	根鲜重(g·株 <sup>-1</sup> )	地上部干重(g·株 <sup>-1</sup> )	根干重(g·株 <sup>-1</sup> )	根含水量	地上部含水量	根冠比
Tck	2.08 ± 0.22 <sup>c</sup>	0.15 ± 0.03 <sup>d</sup>	0.17 ± 0.04 <sup>c</sup>	0.03 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.81 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.92 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.16 ± 0.02 <sup>ab</sup>
T0	8.91 ± 1.40 <sup>a</sup>	0.83 ± 0.16 <sup>c</sup>	0.90 ± 0.27 <sup>a</sup>	0.10 ± 0.02 <sup>bc</sup>	0.88 ± 0.02 <sup>ab</sup>	0.90 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.12 ± 0.04 <sup>b</sup>
T1	8.26 ± 1.69 <sup>a</sup>	1.21 ± 0.12 <sup>b</sup>	0.85 ± 0.16 <sup>a</sup>	0.12 ± 0.03 <sup>ab</sup>	0.90 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.90 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.15 ± 0.04 <sup>ab</sup>
T2	4.39 ± 0.37 <sup>b</sup>	0.37 ± 0.01 <sup>d</sup>	0.29 ± 0.06 <sup>c</sup>	0.04 ± 0.03 <sup>de</sup>	0.88 ± 0.07 <sup>ab</sup>	0.94 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.15 ± 0.07 <sup>ab</sup>
T3	7.29 ± 1.03 <sup>a</sup>	0.95 ± 0.34 <sup>bc</sup>	0.55 ± 0.11 <sup>b</sup>	0.08 ± 0.03 <sup>cd</sup>	0.92 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.92 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.14 ± 0.03 <sup>ab</sup>
T4	8.61 ± 1.07 <sup>a</sup>	1.79 ± 0.24 <sup>a</sup>	0.77 ± 0.09 <sup>ab</sup>	0.16 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.91 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.91 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.03 <sup>a</sup>

## 4.2. 孔雀草镉积累分析

水杨酸是一种重要的信号分子, 可通过调节氧化反应平衡以及作为抗氧化剂清除活性氧来保护植物免受镉的毒害。转移系数是用来评价植物转运重金属的能力, 转移系数越大, 表明植物根部向地上部转移能力越强, 对于重金属超富集植物来说, 其地上部重金属含量大于根部重金属含量[15] [16]。由图 1 可以看出, T2 处理组孔雀草植株地上部镉含量大于根部镉含量, 转移系数(translocation factor, TF) TF > 1, 说明 SA 的最适浓度可以提高根系活力, 缓解 Cd 对孔雀草植株根部的危害, 提高了根尖细胞对 Cd 的吸收以及输导组织向地上部运输的能力[17]。

## 5. 实验教学设计

本实验作为实践教学环节的开放性实验, 拟面向我校生物科学、生物技术、生态学专业三年级本科

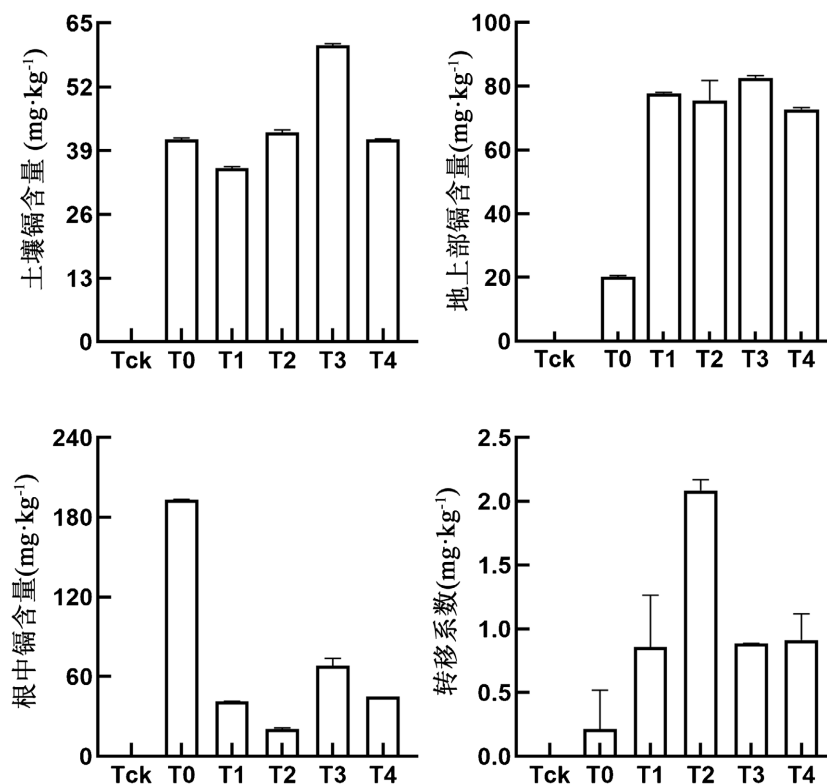


Figure 1. Analysis of cadmium accumulation in *Tagetes patula* L.

图 1. 孔雀草镉积累分析

生开展, 开设学时为 20 个学时, 实验周期为 80 天。具体安排如下: 土壤样品预处理 4 学时; 各种生理指标的测定 8 学时; 样品消解、测定土壤及孔雀草根及地上部重金属镉离子浓度 8 学时。

## 6. 结语

植物修复是一种相对安全、对环境友好、成本低的生物修复技术, 利用花卉植物修复镉污染土壤, 具有不破坏土壤理化性质, 无二次污染的特点。本实验得出  $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  水杨酸能够促进植物生长, 并促进土壤中的镉向孔雀草地上部转移, 表明该方法具有广阔的应用前景。

该实验方法简单, 容易操作, 涉及仪器分析、环境化学、植物学等知识, 知识面广, 适合作为学生的探索综合性实验, 该实验对于拓宽学生的科学视野, 提高学生的创新实践能力大有帮助。

## 基金项目

贵州大学省级本科教学工程项目(项目编号: 2020022), “贵州大学生物科学国家级一流本科专业建设项目”, 贵州大学实验室开放项目 SYSKF2022-089 资助。

## 参考文献

- [1] 杨寒雯, 刘方, 刘秀明, 等. 农田土壤镉污染修复技术研究进展[J]. 山地农业生物学报, 2020, 39(2): 58-63.
- [2] 中华人民共和国环境保护部, 中华人民共和国国土资源部. 全国土壤污染状况调查公报[Z]. 2014.
- [3] 张小俊. 土壤重金属污染及其危害[J]. 农业开发与装备, 2020, 226(10): 109-110.
- [4] 何娇. 贵州典型土地整治项目区耕地土壤重金属污染的评价[D]: [硕士学位论文]. 贵阳: 贵州大学, 2015.
- [5] Shahid, M., Dumat, C., Pourrut, B., et al. (2014) Assessing the Effect of Metal Speciation on Lead Toxicity to *Vicia*

- faba* Pigment Contents. *Journal of Geochemical Exploration*, **144**, 290-297.  
<https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2014.01.003>
- [6] Pourrut, B., Shahid, M., Douay, F., *et al.* (2013) Molecular Mechanisms Involved in Lead Uptake, Toxicity and Detoxification in Higher Plants. In: Gupta, D.K., Corpas, F.J. and Palma, J.M., Eds., *Heavy Metal Stress in Plants*, Springer, Berlin, 121-147. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-38469-1\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-642-38469-1_7)
- [7] Shahid, M., Khalid, S., Abbas, G., *et al.* (2015) Heavy Metal Stress and Crop Productivity. In: Hakeem, K.R., Ed., *Crop Production and Global Environmental Issues*, Springer, Berlin, 1-25.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-319-23162-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-23162-4_1)
- [8] 杨国强, 黎杰强, 何风华, 等. 铅和镉对小鼠骨髓细胞 DNA 损伤的检测[J]. 实验室研究与探索, 2015(7): 44-49.
- [9] Hediji, H., Djebali, W., Belkadhi, A., *et al.* (2015) Impact of Long-Term Cadmium Exposure on Mineral Content of *Solanum lycopersicum* Plants: Consequences on Fruit Production. *South African Journal of Botany*, **97**, 176-181.  
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.01.010>
- [10] Shahid, M., Pourrut, B., Dumat, C., *et al.* (2014) Heavy-Metal-Induced Reactive Oxygen Species: Phytotoxicity and Physicochemical Changes in Plants. In: Whitacre, D.M., Ed., *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol. 232, Springer, Berlin, 1-44. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-06746-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-06746-9_1)
- [11] Khalid, S., Shahid, M., Niazi, N.K., *et al.* (2017) A Comparison of Technologies for Remediation of Heavy Metal Contaminated Soils. *Journal of Geochemical Exploration*, **182**, 247-268. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.11.021>
- [12] 李俊荷. 重金属污染土壤修复技术综述[J]. 生态环境与保护, 2021, 3(11): 14-15.
- [13] 张莹. 植物修复技术及其在环境保护中的运用思考[J]. 生态环境与保护, 2021, 4(3): 156-157.
- [14] Chaney, R.L., Malik, M., Li, Y.M., *et al.* (1997) Phytoremediation of Soil Metals. *Current Opinion in Biotechnology*, **8**, 279. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(97\)80004-3](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(97)80004-3)
- [15] Fayiga, A.O., Ma, L.Q., Cao, X., *et al.* (2004) Effects of Heavy Metals on Growth and Arsenic Accumulation in the Arsenic Hyperaccumulator *Pteris vittata* L. *Environmental Pollution*, **132**, 289-296.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.04.020>
- [16] 杨传杰, 魏树和, 周启星, 等. 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, 2009, 28(9): 1829-1834.
- [17] Bai, X.Y., *et al.* (2015) Effects of Application of Salicylic Acid Alleviates Cadmium Toxicity in Perennial Ryegrass. *Plant Growth Regulation: An International Journal on Natural and Synthetic Regulators*, **75**, 695-706.  
<https://doi.org/10.1007/s10725-014-9971-3>