

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2018092705

鲍根莲, 邓欢欢, 李少君, 等. 生物表面活性剂和化学螯合剂强化无柄小叶榕修复 Cd、Cu 重金属污染盐碱地[J]. 环境化学, 2019, 38(7): 1497-1506.

BAO Genlian, DENG Huanhuan, LI Shaojun, et al. Biosurfactants generated from Marine Microbe and Chelator assisted remediation of Cadmium and Copper contaminated Saline-alkaline Soil by *Ficus concinna* var. *Subsessilis* [J]. Environmental Chemistry, 2019, 38(7): 1497-1506.

生物表面活性剂和化学螯合剂强化无柄小叶榕 修复 Cd、Cu 重金属污染盐碱地*

鲍根莲^{1,2} 邓欢欢^{1,3} 李少君^{1,2} 马斌斌^{1,2,4} 叶盛⁵ 葛利云^{1,2**}

(1. 温州医科大学公共卫生与管理学院, 温州, 325035; 2. 浙南水科学研究院, 温州, 325035;

3. 上海海庭环境工程有限公司, 上海, 200092; 4. 浙江伟明环保股份有限公司, 温州, 325088;

5. 温州医科大学, 温州, 325035)

摘要 采用盆栽试验研究海洋细菌和酵母产生物表面活性剂、化学螯合剂对无柄小叶榕(*Ficus concinna* var. *Subsessilis*)修复盐碱地重金属 Cd、Cu 的强化效果. 结果表明, 强化试验下无柄小叶榕能耐受 Cd、Cu 胁迫正常生长, 且体内重金属含量随生物表面活性剂投加浓度增大而升高, 表现为根>地上部分; 300 mg·kg⁻¹ 细菌产生物表面活性剂强化下, 根部 Cd 含量最大值为 313 mg·kg⁻¹, 1 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸(CA)-300 mg·kg⁻¹ 酵母产生物表面活性剂强化下, 根部 Cu 最大含量为 2156 mg·kg⁻¹. 强化剂添加下, 能显著提高 Cd、Cu 在小叶榕体内的累积量, 无柄小叶榕对土壤 Cd、Cu 的吸收富集能力显著提高, 1 mmol·kg⁻¹ CA—300 mg·kg⁻¹ 酵母产生物表面活性剂强化下 Cd 的最大富集系数为(9.76±0.10), 是对照组 S1(1.1±0.02)的 8.90 倍, 300 mg·kg⁻¹ 酵母产生物表面活性剂单独强化下 Cu 的最大富集系数为(7.42±0.16), 是 S1(0.77±0.03)的 9.60 倍; 无柄小叶榕向地上转移 Cu 的能力较弱, TF<1, 对 Cu 的提取修复潜能有限; 300 mg·kg⁻¹ 细菌产生物表面活性剂强化下 Cd 的最大修复率为 2.56%, 是对照组 S1 的 4.70 倍, 300 mg·kg⁻¹ 细菌产生物表面活性剂—1 mmol·kg⁻¹ EDTA 联合强化下 Cu 的最大修复率为 1.80%, 为 S1 的 3.30 倍. 综上, 无柄小叶榕对重金属污染的盐碱地有良好的修复潜力, 生物表面活性剂和化学螯合剂的添加可有效提高小叶榕对重金属 Cd 和 Cu 的吸收富集效率.

关键词 无柄小叶榕, Cd, Cu, 生物表面活性剂, 螯合剂, 重金属污染, 盐碱地.

Biosurfactants generated from Marine Microbe and Chelator assisted remediation of Cadmium and Copper contaminated Saline-alkaline Soil by *Ficus concinna* var. *Subsessilis*

BAO Genlian^{1,2} DENG Huanhuan^{1,3} LI Shaojun^{1,2} MA Binbin^{1,2,4}
YE Sheng⁵ GE Liyun^{1,2**}

(1. College of Public Health and Management, Wenzhou Medical University, Wenzhou, 325035, China;

2. Southern Zhejiang Water Research Institute, Wenzhou, 325035, China; 3. Shanghai Haiting Environmental Engineering Co., Ltd., Shanghai, 200092, China; 4. Zhejiang Weiming Environment Protection Co., Ltd., Wenzhou, 325088, China;

5. Wenzhou Medical University, Wenzhou, 325035, China)

2018 年 9 月 27 日收稿 (Received: September 27, 2018).

* 浙江省自然科学基金 (LY17E090006, LY14D060009, GF18C050005), 温州市科技局项目 (Y20170202) 和浙江省医药卫生科技项目 (2018271164) 资助.

Supported by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LY17E090006, LY14D060009, GF18C050005), the Wenzhou Municipal Science and Technology Bureau (Y20170202) and Medical Health Science and Technology Project of Zhejiang Province (2018271164).

* ** 通讯联系人, Tel: 0577-86689733, E-mail: 437720244@qq.com

Corresponding author, Tel: 0577-86689733, E-mail: 437720244@qq.com

Abstract: The strengthening effects of surfactants produced by marine bacteria and yeast and chemical chelators on the removal of heavy metals Cd and Cu in saline-alkaline soil by *Ficus concinna* var. *subsessilis* were studied in pot experiments. The results showed when adding Cd and Cu, *Ficus concinna* var. *subsessilis* was able to grow well, and the heavy metal content in the plants increased with the increasing addition of the biosurfactant, and the heavy metal content in the root was higher than in the shoot. With the enhancement of $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ bacterial surfactant, the maximum content of Cd in the root was $313 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, whereas with $1 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ CA— $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ yeast surfactant addition, and the maximum content of Cu in the root was $2156 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. The accumulation of Cd and Cu in *Ficus concinna* var. *subsessilis* was significantly increased by the addition of the fortifier, and the absorption and enrichment capacity of *Ficus concinna* var. *subsessilis* to Cd and Cu in the soil of was remarkably increased. The maximum enrichment coefficient of Cd under the enhancement of $1 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ CA— $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ yeast surfactant was (9.76 ± 0.10) , which was 8.90 times as many as the control group S1 (1.1 ± 0.02). The maximum enrichment coefficient of Cu under the single enhancement of $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ yeast surfactant was (7.42 ± 0.16) , which was 9.60 times as many as the control group S1 (0.77 ± 0.03). It was weak for *Ficus concinna* var. *subsessilis* to transfer Cu from the shoot to the upper parts, and TF was below 1, which showed a limited extraction and repair potential of *Ficus concinna* var. *subsessilis* for Cu. The maximum repair rate of Cd with the combined enhancement of $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ bacterial surfactant was 2.56%, which was 4.70 times as many as in the blank reaction system “S1”, and the maximum repair rate of Cu with the combined enhancement of $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ bacterial surfactant + $1 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ EDTA was 1.80%, which was 3.30 times as many as in the blank reaction system “S1”. Then, the *Ficus concinna* var. *subsessilis* has a better potential to remove the heavy metal in saline-alkali soil, and the addition of biological surfactant and chemical chelator can effectively improve the absorption and enrichment efficiency of heavy metal Cd and Cu in *Ficus concinna* var. *subsessilis*.

Keywords: *Ficus concinna* var. *Subsessilis*, cadmium, copper, biosurfactant, chelator, heavy metal pollution, saline-alkaline soil.

随现代工业、城镇化的快速发展,人类活动产生的重金属正源源不断地释放入土壤环境中并稳定存在,不仅影响农业生产,更对人类健康构成威胁^[1].采用植物修复的技术成本低、环境友好,为克服植物吸附生物量低、生长速度慢、修复周期长等问题,植物修复结合其它辅助技术的化学强化植物修复技术应运而生^[2-4].

利用表面活性剂的增溶和增流作用可辅助去除环境中难溶、难降解和难被利用的污染物^[5].与化学表面活性剂相比,生物表面活性剂具有环境友好、结构性质多样、极端环境(极端 pH、高盐碱)下较为有效等优点而被大量研究^[6];本研究所用的表面活性剂是从海洋底泥中筛选出的菌产生,来源于碱性环境,对盐碱地更具有适应性,比化学合成的表面活性剂更绿色环保,不会造成二次污染,在生态修复方面具有巨大的应用潜力^[7].EDTA 作为常用的化学螯合剂,能与土壤中大多数重金属离子进行螯合反应,通过提高土壤中有效态重金属浓度,促进在植物体内的富集^[8].研究表明,EDTA 联合表面活性剂共同处理可有效提高东南景天对 Cd 污染土壤^[9].柠檬酸(CA)作为一种天然低分子有机酸,生物降解性好,能与 Pb 和 Cd 络合形成低毒害的物质^[10],进而提高重金属生物有效性,促进植物吸收与累积,避免了高浓度 EDTA 在某种程度上降低植物生物量的生物毒性,与 EDTA 相比 CA 与表面活性剂的联合应用可能有效地提高植物对重金属的积累^[11-12],目前,利用海底泥筛选菌产生的表面活性剂联合螯合剂加强植物修复重金属土壤的文章还没有被报道过.

无柄小叶榕根系发达、地上部分生物量大、生长周期长,可以耐盐碱,抗台风能力强,是浙南沿海盐碱地适生树种,且小叶榕是观赏性植物,在修复土壤过程中可以增加美观性,所以小叶榕被用于围垦区重金属污染的生物修复具有较高的研究价值^[13-14].本研究以无柄小叶榕为供试植物,通过盆栽试验对单独添加海洋微生物产生的生物表面活性剂和生物表面活性剂/化学螯合剂共同添加下无柄小叶榕富集 Cd、Cu 的能力进行比较,以期选择出最优的搭配组合及最佳的添加浓度,为强化植物修复技术提供科学

依据,为土壤重金属污染的治理提供新途径.

1 材料和方法 (Materials and methods)

1.1 供试材料

挑选供试植物为株高 20—30 cm 的一年生无柄小叶榕幼苗,由温州兰里花园提供,移植入实验室稳定周期为 2 个月,实验周期为 3 个月,供试小叶榕生物量平均为每株 20.9 g;试验用盆为内口径 18 cm、底径 13.5 cm、高 20 cm 的塑料盆;供试土壤采集自温州医科大学花圃表层土(0—20 cm),其基本理化性质如表 1,土壤经自然风干后,压碎、剔除根系和石块并过 2 mm 筛备用.分析纯螯合剂乙二胺四乙酸(EDTA)、柠檬酸(CA)购自金山试剂公司,生物表面活性剂由海洋解脂耶罗维亚酵母菌(*Yarrowia lipolytica*)和不动杆菌(*Acinetobacter*)两种微生物产生.

表 1 供试土壤基本理化性质
Table 1 Basic physicochemical properties of the tested soil

Eh	pH	有机质 Organic matter	盐度 Alinity	全量 Cd Total amount of Cd/(mg·kg ⁻¹)	全量 Cu Total amount of Cu/(mg·kg ⁻¹)
336	5.8	2.8%	0.05 ‰	0.05	20.96

1.2 生物表面活性剂的制备

硫酸铵 10.0 g·L⁻¹,氯化钾 1.1 g·L⁻¹,氯化钠 1.1 g·L⁻¹,磷酸二氢钾 3.4 g·L⁻¹,酵母膏 0.5 g·L⁻¹,三水合磷酸氢二钾 2.46 g·L⁻¹,微量元素液 5 mL·L⁻¹,正十六烷 20 mL·L⁻¹;初始 pH7.4,高压蒸汽灭菌,超净工作台内接菌,28 ℃、150 r·min⁻¹摇床培养,发酵 72 h(灭菌条件:121 ℃、20 min;微量元素溶液:七水合硫酸锌 29 g·L⁻¹;氯化钙 24 g·L⁻¹;无水硫酸铜 25 g·L⁻¹;一水合硫酸锰 17 g·L⁻¹;七水合硫酸镁 10 g·100 mL⁻¹;0.056 g·L⁻¹七水合硫酸亚铁,用 0.22 μm 的滤膜过滤除菌).发酵液 pH 值调至 8,12000 r·min⁻¹离心 30 min 去除菌体.通过酸沉淀法粗提、氯仿甲醇萃取提纯、真空冷冻干燥后定量,*Yarrowia lipolytica* 产表面活性剂为 481 mg·L⁻¹,*Acinetobacter* 产表面活性剂为 262 mg·L⁻¹;且经过薄层色谱和傅里叶变换红外光谱定性,两种表面活性剂均为脂肽类表面活性剂^[7].考虑到生物表面活性剂产量低,提取工艺复杂,且实际应用需求量大,所以实验通过直接添加去除菌体的含不同浓度生物表面活性剂发酵液的方式来研究其对无柄小叶榕吸收盐碱地重金属 Cd、Cu 的强化作用.

1.3 土壤盐碱性模拟

将中性盐 NaCl、Na₂SO₄与酸式盐 NaHCO₃的浓度之比 1:2:1 及[Na⁺]0.9 mol·L⁻¹混合,溶于1000 mL 去离子水中,每盆 400 mL 分次加入,陈化两周后土壤性质稳定:pH 8.0—8.5,盐度 2.5‰—2.7‰.

1.4 重金属污染处理

试验于 2017 年 3 月中旬进行,每盆装 4.3 kg 风干土样,各植入一株健康的无柄小叶榕幼苗,立即浇上足量水,盆垫托盘,在温室中进行常规管理.待幼苗经缓苗期恢复正常生长后,于 5 月 20 日对盆栽土壤进行污染处理,总共 21 个实验组:按 50 mg·kg⁻¹的处理浓度添加镉元素,400 mg·kg⁻¹(以干土重量计)的处理浓度添加铜元素,每盆 1 周内分 3 次加入 1 L 溶液,加入盆栽土壤中的镉、铜分别由分析纯 CdCl₂·5/2H₂O、CuSO₄·5H₂O 配制;对照组(CK)加不含 Cd²⁺、Cu²⁺的等量去离子水.配置后试验土壤中重金属总含量可以通过背景值与加入的重金属盐所含量相加得出.

1.5 强化剂添加试验

强化试验包括生物表面活性剂或化学螯合剂单独处理以及共同处理.实验添加的生物表面活性剂发酵液设 3 个梯度,100、200、300 mg·kg⁻¹(以干土重量计);化学螯合剂为 EDTA 和 CA,在植物收获前 2 周,将 EDTA 和 CA 分别按 1.0 mmol·kg⁻¹(以干土重量计)的浓度添加到对应盆栽,对照处理(S1)加等量去离子水.试验处理具体为:S1、A1—A3:单加 0、100、200、300 mg·kg⁻¹ *Yarrowia lipolytica* 产表面活性剂;K1、C1—C3:EDTA 联合 0、100、200、300 mg·kg⁻¹ *Yarrowia lipolytica* 产表面活性剂;K2、D1—D3:CA 联合 0、100、200、300 mg·kg⁻¹ *Yarrowia lipolytica* 产表面活性;B1—B3:单加 100、200、300 mg·kg⁻¹

Acinetobacter 产生物表面活性剂;K1、E1—E3;EDTA 联合 0、100、200、300 mg·kg⁻¹ *Acinetobacter* 产表面活性剂;K2、F1—F3;CA 联合 0、100、200、300 mg·kg⁻¹ *Acinetobacter* 产表面活性剂.以上处理组土壤均添加 50 mg·kg⁻¹ 的 Cd 和 400 mg·kg⁻¹ Cu;CK 为空白组,不做任何处理.每个处理设 3 个平行重复,整个生长期保持盆内含水量 60%左右,并及时将渗到托盘中的溶液随时倒回盆中,3 个月后取样.

1.6 土样处理与重金属检测

2017 年 8 月 25 日采样,四分法取根系周围土壤 100 g,自然风干后除去土样中的石子和动植物残体,经木棒充分研压过 10 目尼龙筛除去 2 mm 以上的砂砾,混匀后再充分研磨至全部通过 100 目尼龙筛.取 0.2 g 于 50 mL 聚四氟乙烯坩埚中,用水湿润后加入硝酸、盐酸、氢氟酸各 5 mL,于通风橱内电热板上低温加热 30 min,再加盖中温加热 1 h 左右,开盖继续加热除硅,当内容物余 2 mL 左右,滴加 1 mL 高氯酸,直至高氯酸白烟基本冒尽且内容物呈粘稠状时,取下稍冷,加 1 mL (1:2) 稀盐酸溶解、超纯水定容至 25 mL 后带渣过滤.利用原子吸收分光光度计 (PinAAcle 900T 型) 测定滤液中 Cd 和 Cu 的含量.

1.7 植物样品处理与重金属检测

收获的植物样品先用自来水反复冲洗多次,根系置于 20 mmol·L⁻¹ 的 EDTA-Na₂ 中交换 15 min,以除去根系表面吸附的重金属,最后用去离子水冲洗 3 次吸水纸吸干.按根和地上部分将植物分成 2 部分,分别装于信封中 105 ℃ 杀青 30 min,70 ℃ 烘至恒重 (约 48 h).

植物干样经不锈钢粉碎机粉碎过 100 目尼龙筛,取 0.2 g 加硝酸:高氯酸 (V/V = 2/1) 的混合酸 6 mL,于电热板上进行消解,待内容物近干,取下稍冷,直接用超纯水定容至 25 mL 带渣过滤,利用原子吸收分光光度计测定滤液中 Cd 和 Cu 的含量.

1.8 分析方法

数据整理采用 Excel 2000,统计分析利用 SPSS 20.0,显著性水平 *P* 取 0.05,进行方差分析 (ANOVA),多重比较采用 Duncan 检验.利用 Origin 8.0 进行绘图.

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 生物表面活性剂单独处理下无柄小叶榕不同部位 Cd、Cu 含量变化

对不同生物表面活性剂处理下植物根和地上部分重金属含量分别进行单因素方差分析,多重比较利用 Duncan 氏新复极差法,结果如图 1.

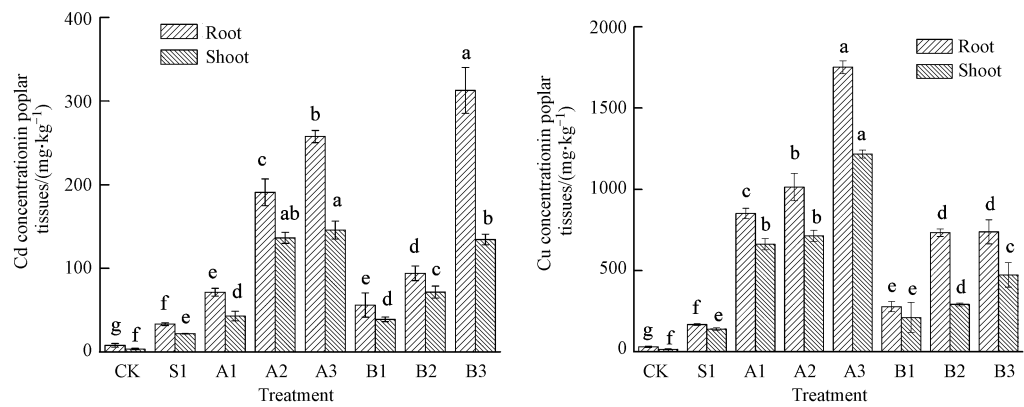


图 1 不同生物表面活性剂处理下无柄小叶榕不同器官 Cd、Cu 含量
(柱上不同小写字母表示不同处理下差异显著 (*P* < 0.05) 下同)

Fig.1 Cd, Cu concentrations in different organs of the *Ficus concinna* at different biosurfactant addition

(Different lower-case letters on columns indicate significant differences under different treatments (*P* < 0.05), the same as below.)

生物表面活性剂各浓度处理下小叶榕根部和地上部分 Cd、Cu 含量均显著高于对照 (*P* < 0.05),说明生物表面活性剂能强化无柄小叶榕对 Cd、Cu 的吸收;两种生物表面活性剂添加下植物体 Cd、Cu 含量差异显著 (*P* < 0.05),两种生物表面活性剂的强化效果不同,整体来看 *Yarrowia lipolytica* 产表面活性剂的强化作用

更佳;同种生物表面活性剂不同浓度处理下植物体中 Cd、Cu 含量差异显著($P<0.05$),且随着投加浓度的增大而增大,其中 *Acinetobacter* 产表面活性剂在 $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (B3) 投加浓度下根部 Cd 含量最大,达到 $313\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,较对照组(S1)提高了 840%,同时地上部分 Cd 含量较对照提高了 517%;*Yarrowia lipolytica* 产表面活性剂 $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (A3) 处理下无柄小叶榕根部、地上部分 Cu 含量最高,分别为 $1751\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $1217\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,较对照组 (S1) 提高了 946% 和 766%. 而 *Acinetobacter* 产表面活性剂在 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 处理下根部 Cu 含量差异不显著($P\geq 0.05$), $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 作用下根部铜即达到最大值.

2.2 *Yarrowia lipolytica* 产生物表面活性剂联合螯合剂共同处理下无柄小叶榕不同部位 Cd、Cu 的含量变化

由图 2 可知,化学螯合剂 EDTA、CA (处理组 K1、K2) 单独作用下无柄小叶榕根部和地上部分 Cd、Cu 含量均显著高于对照组(S1) ($P<0.05$),K1 处理下,根部 Cd、Cu 含量分别较对照提高了 121%、175%;K2 处理下根部 Cd、Cu 含量分别提高了 369%、605%,EDTA 和 CA 均能有效活化土壤中 Cd、Cu,提高其生物有效性从而促进无柄小叶榕对其吸收.螯合剂与 *Yarrowia lipolytica* 产表面活性剂共同处理下 (C1C2C3/D1D2D3),其中 EDTA 与表面活性剂联合处理下小叶榕体内 Cd、Cu 含量均显著低于表面活性剂单独作用($P<0.05$)而高于对照,说明 EDTA 与生物表面活性剂的复合对 Cd、Cu 的去除存在拮抗效应;CA 与表面活性剂联合作用下,小叶榕根部 Cd、Cu 含量显著高于对照及表面活性剂单独作用,其中 CA 与 $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 表面活性剂联合处理 (D3) 下根部 Cd、Cu 含量分别达到最大值 $301\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $2156\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,比表面活性剂单独添加时提高了 17.0%和 23.1%.

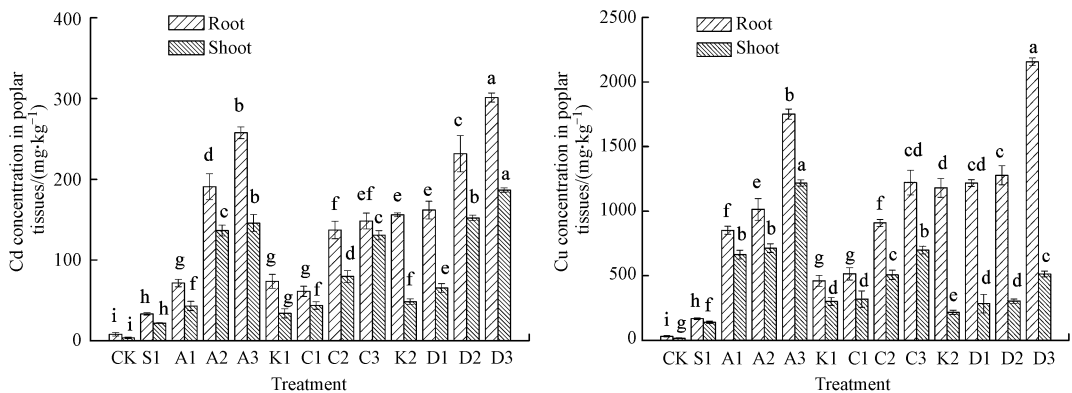


图 2 *Yarrowia lipolytica* 产生物表面活性剂联合螯合剂共同处理下无柄小叶榕不同器官 Cd、Cu 含量

Fig.2 Cd, Cu concentrations in different organs of the *Ficus concinna* under the multiple additive of yeast fermentation liquid and chelating agents

2.3 *Acinetobacter* 产生物表面活性剂联合螯合剂共同处理下无柄小叶榕不同部位 Cd、Cu 的含量变化

由图 3 可知,螯合剂与 *Acinetobacter* 产表面活性剂共同添加下 (E1E2E3/F1F2F3), EDTA 联合 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 表面活性剂共同处理 (E2) 相较对照和同浓度表面活性剂单独处理 (B2) 增加了小叶榕根部 Cd 的含量,其它联合处理组 (E1E3F1F2F3) 小叶榕根部 Cd 含量均低于表面活性剂单独添加处理组 (B1B3) ($P<0.05$),其中 $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 表面活性剂单独处理 (B3) 下对 Cd 的强化吸收效果最佳,为对照的 9.41 倍;EDTA 与表面活性剂联合强化可以显著提高小叶榕吸对重金属 Cu 的吸收,二者表现出强烈的协同效应,其中 E3 处理下小叶榕吸收 Cu 含量最高,根部 $1236\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,地上部 $1015\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

2.4 无柄小叶榕体内 Cd、Cu 的累积量

图 4 为不同处理下无柄小叶榕对 Cd 和 Cu 的总累积量 (植物体重金属浓度与生物量乘积).除 F1 处理下小叶榕对 Cd 的总累积量与 S1 (无强化处理) 无显著差异 ($P\geq 0.05$),其它处理均显著提高了植物体内 Cd 总量 ($P<0.05$),说明螯合剂与生物表面活性剂的单独或联合添加对小叶榕修复重金属 Cd 有强化作用,且植物积累 Cd 总量随表面活性剂投加浓度的增大而增大.生物表面活性剂单独作用 (A 组、B 组) 下,低浓度 A1、B1 处理间 Cd 累积量无显著差异 ($P\geq 0.05$),高浓度处理下对植物修复强化效果呈现出 *Yarrowia lipolytica* 产生物表面活性剂>*Acinetobacter* 产生物表面活性剂的趋势,其中 A3 处理下 Cd 累积量为 S1 的 3.90 倍.螯合剂单独作用 (K1K2) 下小叶榕体内 Cd 总量相较 S1 处理分别提高了 66.3%、

117%,整合剂的添加强化植物对重金属 Cd 的吸收.CA 与 *Yarrowia lipolytica* 产生物表面活性剂的共同作用显著提高了总 Cd 累积量($P<0.05$),由 A1、A2、A3 处理下的 0.210 mg、0.450 mg、0.510 mg,分别提高到 D1 0.370 mg、D2 0.540 mg、D3 0.610 mg;EDTA 与 *Acinetobacter* 产生物表面活性剂共同处理下植物体 Cd 累积量显著高于该表面活性剂的单独处理.从无柄小叶榕对 Cd 总积累量上考虑,D3 处理强化吸收效果最佳,即共同添加 $1\text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ CA 和 $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ *Yarrowia lipolytica* 产生物表面活性剂时 Cd 总累积量最高,是 S1 的 4.39 倍.

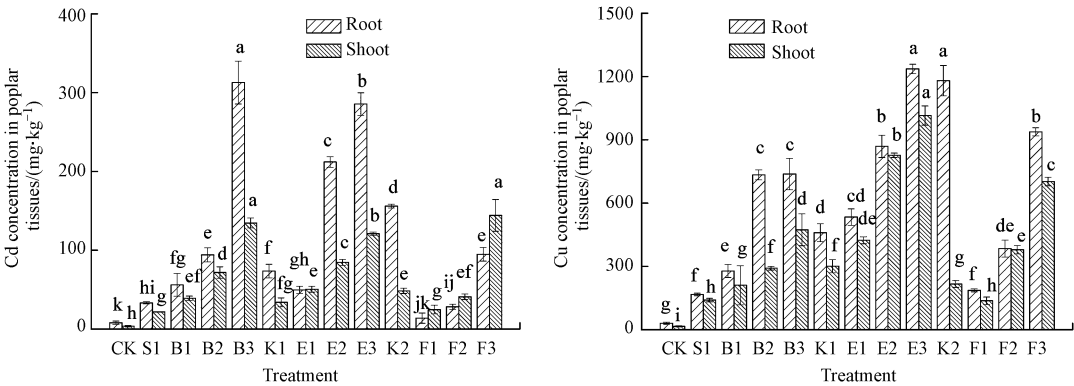


图 3 *Acinetobacter* 产生物表面活性剂联合整合剂共同处理下小叶榕不同器官 Cd、Cu 含量

Fig.3 Cd, Cu concentrations in different organs of the *Ficus concinna* under the multiple additive of bacteria fermentation liquid and chelating agents

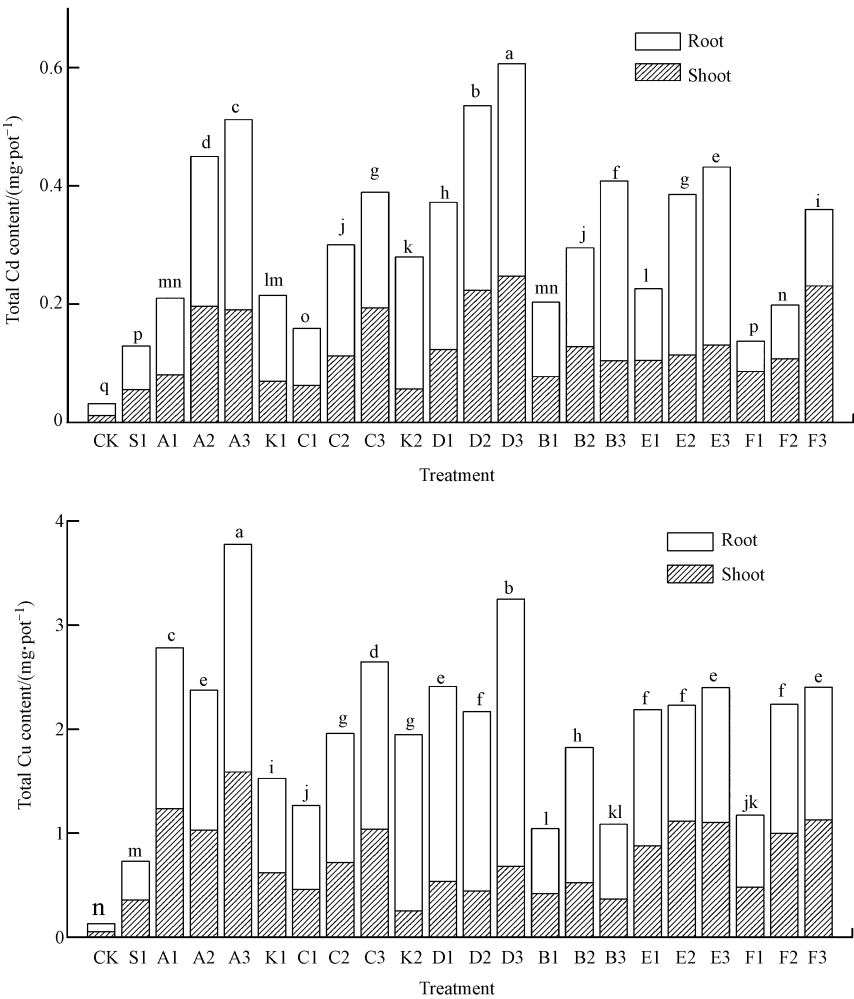


图 4 不同处理下小叶榕体内 Cd、Cu 的累积量

Fig.4 Total Cd content accumulated by *Ficus concinna*. under different treatments

如图 4 所示,各强化处理下,无柄小叶榕对 Cu 的总累积量均显著高于对照 S1($P<0.05$),螯合剂与生物表面活性剂的单独或联合添加能强化无柄小叶榕对 Cu 的吸收.相较 S1,EDTA 和 CA 的强化效果分别达 109%和 167%;生物表面活性剂单独处理(A 组、B 组)下,*Yarrowia lipolytica* 产生物表面活性剂(A 组)的强化效果较好,A3 处理下植物体 Cu 含量最高为 3.78 mg,相较 S1 提高了 418%;EDTA 与 *Yarrowia lipolytica* 产生物表面活性剂联合添加下植物 Cu 总累积量低于该表面活性剂单独添加($P<0.05$),而两种螯合剂与 *Acinetobacter* 产生物表面活性剂共同处理下植物总 Cu 累积量显著高于表面活性剂单独处理($P<0.05$),E1、E2、E3 处理比 B1、B2、B3 分别提高了 111%、22.5%、122%;F1、F2、F3 处理比 B1、B2、B3 分别提高 12.5%、23.1%、122%.从无柄小叶榕对 Cu 总积累量上考虑,300 mg·kg⁻¹ *Yarrowia lipolytica* 产生物表面活性剂单独添加(A3)时 Cu 总累积量最高,是 S1 的 5.19 倍.

2.5 无柄小叶榕对 Cd、Cu 的修复潜能

富集系数(BCF)即生物体内重金属的平衡浓度与其生存环境中该污染物浓度的比值;转运系数(TF)以植物地上部中的重金属含量与地下部中的重金属含量的比值来表示.富集系数(BCF)和转运系数(TF)是用来反映植物对重金属吸收和富集的重要指标.如表 2 所示,除 F1 处理下,无柄小叶榕对 Cd 的富集系数(0.77±0.21)小于对照 S1(1.10±0.02),其它各强化处理下 BCF 值均高于对照,且大于 1,说明强化处理下小叶榕对 Cd²⁺ 具有高的富集能力.同样除 F1 处理 BCF 值(0.81±0.05)<1,其它各强化处理均显著提高了无柄小叶榕对 Cu 的吸收.不同处理组下 BCF 值随生物表面活性剂投加浓度的增大而增大,在 300 mg·kg⁻¹ *Yarrowia lipolytica* 产表面活性剂与 CA 共同处理(D3)下 Cd 的 BCF 值最大达 9.76±0.10,是 S1 的 8.90 倍;300 mg·kg⁻¹ *Yarrowia lipolytica* 产表面活性剂单独处理(A3)下 Cu 的 BCF 值最大达 7.42±0.16,是 S1 的 9.60 倍.由 200 mg·kg⁻¹、300 mg·kg⁻¹生物表面活性剂各强化处理下无柄小叶榕对 Cd 的富集系数均大于 Cu 的,说明强化处理下植物对 Cd 的富集能力更强.

表 2 不同处理下 Cd²⁺、Cu²⁺ 的富集系数和转运系数
Table 2 Bioconcentration coefficient and transport coefficient of *Ficus concinna* var. *Subsessilis* seedlings to Cd²⁺, Cu²⁺ at different treatments

处理组 Treatment group	Cd			Cu		
	富集系数 Enrichment coefficient	转移系数 Transfer coefficient	修复率 Repair rate/%	富集系数 Enrichment coefficient	转移系数 Transfer coefficient	修复率 Repair rate/%
S1	1.10±0.02 ^{op}	0.66±0.04 ^{fgh}	0.543 ^{op}	0.77±0.03 ^p	0.84±0.04 ^{bc}	0.431 ^{klm}
A1	2.29±0.09 ^m	0.61±0.11 ^{fgh}	0.910 ^{lm}	3.79±0.16 ^{hij}	0.78±0.01 ^{cdef}	0.543 ^k
A2	6.55±0.45 ^{ef}	0.72±0.03 ^{efg}	1.67 ^e	4.32±0.16 ^f	0.71±0.08 ^{cdefg}	1.20 ^{cd}
A3	8.07±0.23 ^e	0.57±0.05 ^{fgh}	1.86 ^{cd}	7.42±0.16 ^a	0.7±0.002 ^{cdefg}	1.34 ^c
B1	1.90±0.34 ^m	0.72±0.14 ^{efg}	0.700 ^{no}	1.22±0.26 ^o	0.76±0.32 ^{cdef}	0.333 ^{mn}
B2	3.32±0.31 ^l	0.76±0.03 ^{efg}	1.19 ^{ijk}	2.56±0.06 ^m	0.40±0.02 ^{jk}	0.823 ^{hij}
B3	8.95±0.67 ^b	0.43±0.02 ^{gh}	2.56 ^a	3.03±0.35 ^l	0.64±0.08 ^{efgh}	1.58 ^b
K1	7.49±0.71 ^d	4.12±0.52 ^a	0.910 ^{lm}	1.9±0.08 ⁿ	0.66±0.12 ^{defgh}	0.543 ^k
K2	7.46±0.29 ^d	1.39±0.12 ^d	1.27 ^{hij}	3.49±0.19 ^k	0.18±0.02 ^l	0.903 ^{fghi}
C1	2.10±0.20 ^m	0.72±0.07 ^{efg}	0.860 ^{mn}	2.09±0.22 ⁿ	0.62±0.12 ^{fgh}	0.500 ^{kl}
C2	4.33±0.28 ^{jk}	0.58±0.07 ^{fgh}	1.16 ^{jk}	3.54±0.10 ^{jk}	0.56±0.05 ^{ghi}	0.843 ^{ghij}
C3	5.58±0.28 ^h	0.88±0.04 ^{ef}	1.26 ^{hij}	4.80±0.17 ^e	0.58±0.07 ^{ghi}	0.893 ^{fghi}
D1	4.54±0.29 ^{ijk}	0.40±0.03 ^{gh}	1.34 ^{ghi}	3.75±0.17 ^{ij}	0.23±0.06 ^l	0.951 ^{fgh}
D2	7.67±0.38 ^{cd}	0.66±0.07 ^{fgh}	1.75 ^{de}	3.95±0.22 ^{ghi}	0.24±0.01 ^l	1.12 ^{de}
D3	9.76±0.10 ^a	0.62±0.02 ^{fgh}	2.36 ^b	6.67±0.13 ^b	0.24±0.01 ^l	1.64 ^b
E1	2.00±0.15 ^m	1.02±0.08 ^e	0.690 ^{no}	2.40±0.12 ^m	0.80±0.06 ^{cde}	0.323 ^{mn}
E2	5.93±0.06 ^{gh}	0.40±0.03 ^{gh}	1.94 ^c	4.24±0.15 ^f	0.95±0.05 ^{ab}	1.30 ^c
E3	8.13±0.32 ^e	0.42±0.02 ^{gh}	2.36 ^b	5.63±0.16 ^d	0.82±0.03 ^{bcd}	1.80 ^a
F1	0.77±0.21 ^p	1.95±0.63 ^b	0.486 ^p	0.81±0.05 ^p	0.74±0.10 ^{cdef}	0.320 ^{mn}
F2	1.38±0.01 ^{no}	1.47±0.29 ^{cd}	0.560 ^{op}	1.91±0.06 ⁿ	1.00±0.15 ^a	0.193 ⁿ
F3	4.78±0.31 ^{ij}	1.54±0.34 ^{cd}	1.15 ^{jk}	4.10±0.10 ^{fg}	0.75±0.01 ^{cdef}	0.784 ^{hij}

注:数据采用平均值±标准差的形式表示,英文小写字母不同表示不同处理下富集系数或转移系数间差异显著($P<0.05$),显著性水平 $\alpha=0.05$.
Note: The data were expressed by mean± standard deviation, and different lower-case letters on the column showed significant differences under different treatments' BCF or TF ($P<0.05$), significance level $\alpha=0.05$.

由于无柄小叶榕吸收重金属后先累积在根部再慢慢向地上部分转移,所以根中 Cd、Cu 的浓度普遍要高于地上部分,TF 值小于 1.由表 2 可知,大多数强化处理下小叶榕对 Cd 的 TF 值要高于 S1 下的,而对 Cu 的 TF 值大多低于 S1 下的,这一结果表明,通过螯合剂和生物表面活性剂的单独或共同强化处理可以有效增强无柄小叶榕对 Cd 的转运能力.单独施加 $1\text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ EDTA (K1),Cd 的 TF 值达到最大 (4.12 ± 0.52),且大于 CA 单独施加(K2)时植物对 Cd 的 TF 值 (1.39 ± 0.12),说明 EDTA 对 Cd 的提取及向地上转运要强于 CA.在 F2 处理下无柄小叶榕对 Cu 的 TF 值最大达 (1.00 ± 0.15).

植物修复率用植物修复移除的重金属占该重金属在土壤中总量的百分比来表达.如表 2 所示,除 F1 修复率 0.486% 小于 S1 的 0.543% 外,其它强化处理均提高了无柄小叶榕对 Cd 的修复率,其中 $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ *Acinetobacter* 产表面活性剂单独处理(B3)下,无柄小叶榕对 Cd 的修复率高达 2.56%,是对照组 S1 的 4.70 倍.EDTA 和 $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ *Acinetobacter* 产表面活性剂(E3)共同处理下,Cu 的修复率最大达 1.80%,为 S1 的 3.30 倍.两种螯合剂与表面活性剂的强化试验下,无柄小叶榕吸收富集、向地上转移 Cd 的能力更强,植株收获时土壤中 Cd 含量较初始土壤 Cd 含量下降更明显,对 Cd 修复效果更佳,而提取修复 Cu 的潜能有限.

无柄小叶榕能耐受 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd、 $400\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cu 污染完成正常生长代谢,一定浓度生物表面活性剂的单独添加提高了小叶榕对 Cd、Cu 的吸收,并随添加浓度的增大而增大,主要是利用了生物表面活性剂易降解、增溶、增流的作用,降低了土壤颗粒对重金属的吸附能力^[15],有效地减弱了重金属离子对土壤微生物群落的毒害作用.生物表面活性剂的降解为微生物提供碳、氮等营养物质,促进土壤微生物的繁殖,从而间接的增加了土壤中脱氢酶、脲酶等酶的活性,进而提高了土壤重金属的生物有效性^[16].本研究中当不动杆菌产生物表面活性剂添加浓度为 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时小叶榕对 Cu 的吸收量达到最大,不再增加.一方面主要是由于生物表面活性剂在土壤颗粒上的吸附量达到饱和,对重金属的去除效率达到最大^[17],另一方面则是由于随着生物表面活性剂在土壤中浓度的不断增加,其胶束越来越大,与重金属离子结合形成沉淀,导致重金属离子与土壤颗粒重新结合,使植物对重金属的去除达到稳定浓度^[18].

EDTA 和 CA 通过与土壤中重金属形成金属螯合物进而将土壤吸附的重金属重新溶解进入土壤溶液,有效地增加土壤中溶解态重金属的浓度,提高无柄小叶榕对其吸收.本研究中 EDTA 和 CA 的单独添加,均显著地促进了小叶榕对 Cd、Cu 的吸收,且 CA 处理下无柄小叶榕对 Cd、Cu 的吸收显著强于 EDTA 处理.钱猛等通过施加 $5\text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ EDTA,发现海州香薷体内 Cu、Cd 的浓度分别比对照提高 27.4、89.5 倍^[19].已有研究表明,合成螯合剂 EDTA 对重金属活化作用要强于小分子有机酸类螯合剂 CA,而本实验 EDTA 处理下的小叶榕体内 Cd、Cu 含量小于 CA 处理,这主要是植物对重金属的吸收速率不能与螯合剂的活化速率相匹配所致.生物表面活性剂联合化学螯合剂在一定的浓度配比下具有显著的协同作用,*Yarrowia lipolytica* 产生物表面活性剂联合 CA 在实验各处理浓度下均显著的提高小叶榕对 Cd、Cu 的吸收,*Acinetobacter* 产生物表面活性剂联合 EDTA 在实验各浓度下促进 Cu 的吸收,即螯合剂的螯合作用和生物表面活性剂的胶束增溶作用发生了协同作用^[20],共同促进土壤中重金属离子的释放.当生物表面活性剂浓度高于其 CMC 值时,主要以胶束的形式存在,且随着浓度的不断增加胶束会越来越大,与重金属离子结合产生沉淀,致使重金属离子再次重新与土壤颗粒相结合,反而降低植物的去除作用^[18],当生物表面活性剂浓度低于 CMC 值时主要以单体分子形式存在,对重金属 Cd、Cu 的增溶淋洗主要以配位螯合为主^[21].这与本研究 *Yarrowia lipolytica* 产表面活性剂与 EDTA 联合下小叶榕体内 Cd、Cu 含量均显著低于表面活性剂单独作用、 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ *Acinetobacter* 产表面活性剂联合 EDTA 增加了小叶榕根部 Cd 的含量,其它联合处理组吸收 Cd 含量均低于表面活性剂单独添加处理组的结果是一致的.

植物从土壤中吸收累积重金属的能力可以用 BCF(生物富集系数)值来评估,用 TF(转运系数)值来表述植物由根向地上部分转移重金属的能力.对于有高效修复能力的植物,BCF 值通常要求大于 1,且 BCF 值越高,植物对重金属的积累能力就越强^[22].本研究各强化修复处理尽管极大的提高了无柄小叶榕对 Cd、Cu 的 BCF 值,但修复率的值仍然较低,其中无柄小叶榕对 Cu 的修复效率普遍小于 1.00%,这与影响植物修复率大小的几个因素有关,如土壤中重金属的总量、生物有效态重金属的含量、修复时间、植物的生物量及植物体内重金属的含量^[23].无柄小叶榕在整个强化试验中地上部分未表现出明显毒害特征, $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ *Acinetobacter* 产表面活性剂与 CA 共同处理(F3)下,地上部分 Cd 累积量达

$144 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 大于 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, BCF 值为 (4.78 ± 0.31) 大于 1, TF 值为 (1.54 ± 0.34) 大于 1, 符合 Baker 等提出的超富集植物标准^[24], 因此 F3 强化处理下的无柄小叶榕达到超富集效果, 此时对土壤中 Cd 的修复效率为 1.15%.

3 结论 (Conclusion)

(1) 生物表面活性剂的添加能强化无柄小叶榕对盐碱地重金属 Cd、Cu 的吸收, 整体来看 *Yarrowia lipolytica* 产表面活性剂的强化效果更佳. 植物体 Cd、Cu 含量随表面活性剂投加浓度的增大而增大, 且重金属分布呈现出根部 > 地上部分的趋势.

(2) 生物表面活性剂与化学螯合剂的单独或联合添加对小叶榕修复盐碱地重金属 Cd、Cu 有强化作用, 当 CA 与 *Yarrowia lipolytica* 产表面活性剂共同作用 (D3) 下根部 Cu 含量最高 $2155 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ *Acinetobacter* 产表面活性剂单独 (B3) 处理下, 无柄小叶榕根部 Cd 含量最高, 达 $313 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

(3) 生物表面活性剂与化学螯合剂的单独或联合添加能显著提高 Cd、Cu 在小叶榕体内的累积量. 当 CA 与 *Yarrowia lipolytica* 产表面活性剂共同添加时显著提高了总 Cd 累积量, 对 Cu 的总累积量 *Yarrowia lipolytica* 产生物表面活性剂 (A 组) 的强化效果相对较好.

(4) 通过种植无柄小叶榕, 土壤中 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 含量均有所下降, 生物表面活性剂与螯合剂的强化处理提高了无柄小叶榕对盐碱地 Cd、Cu 的修复率, 其中 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 的最大修复率分别是对照组 S1 的 4.70 倍和 3.30 倍. 不同强化处理下 BCF 随生物表面活性剂投加浓度的增大而增大, 且无柄小叶榕对 Cd 的富集能力更强, 可以有效增强无柄小叶榕对 Cd 的转运能力, 相较而言, 无柄小叶榕向地上部分转移 Cu 的能力较弱, 对 Cu 的提取修复潜能有限.

(5) 无柄小叶榕生物量大、耐盐碱、对 Cd—Cu 复合污染有强的耐性和吸收性, 通过添加海洋微生物产生物表面活性剂、低浓度化学螯合剂, 能辅助强化无柄小叶榕对盐碱地 Cd、Cu 的吸收, 提高小叶榕的修复潜能. 另外此辅助修复方法绿色、无二次污染, 更有利于海洋微生物资源开发, 具有巨大的应用前景.

参考文献 (References)

- [1] LI Z Y, MA Z W, VAN DER KUIJP T J, et al. A review of soil heavy metal pollution from mines in China: Pollution and health risk assessment[J]. Science of the Total Environment, 2014, 468-469: 843-853.
- [2] 雷国建, 陈志良, 刘千钧, 等. 生物表面活性剂及其在重金属污染土壤淋洗中的应用[J]. 土壤通报, 2013, 44(6): 1508-1511.
LEI G J, CHEN Z L, LIU Q J, et al. Biosurfactants and their applications in soil flushing of heavy metal pollution[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2013, 44(6): 1508-1511 (in Chinese).
- [3] MULLIGAN C N, YONG R N, GIBBS B F. Heavy metal removal from sediments by biosurfactants[J]. Journal of Hazardous Materials, 2001, 85(1/2): 111-125.
- [4] 朱清清, 邵超英, 张琢, 等. 生物表面活性剂皂角苷增效去除土壤中重金属的研究[J]. 环境科学学报, 2010, 30(12): 2491-2498.
ZHU Q Q, SHAO C Y, ZHANG Z, et al. Saponin biosurfactant-enhanced flushing for the removal of heavy metals from soils[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2010, 30(12): 2491-2498 (in Chinese).
- [5] GUO Y M, LIU Y G, LI H, et al. Remediation of Pb-contaminated port sediment by biosurfactant from *Bacillus* sp. G1[J]. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 2017(27): 1385-1393.
- [6] JOSHI S, BHARUCHA C, DESAI A J. Production of biosurfactant and antifungal compound by fermented food isolate *Bacillus subtilis* 20B [J]. Bioresource Technology, 2008, 99(11): 4603-4608.
- [7] 马斌斌, 马恒铁, 李少君, 等. 一株海洋柴油降解菌的分离筛选鉴定及其生物表面活性剂特性分析[J]. 海洋环境科学, 2017, 36(5): 754-759.
MA B B, MA H Y, LI S J, et al. Isolation, screening, and characterization of a diesel degrading marine bacteria and chemical characterization and properties of its biosurfactant [J]. Marine Environmental Science, 2017, 36(5): 754-759 (in Chinese).
- [8] 杨卓, 陈婧. 重金属污染土壤植物修复的 EDTA 调控效果[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(2): 258-261.
YANG Z, CHEN J. The effects of EDTA in the contaminated soil on the research of phytoremediation[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(2): 258-261 (in Chinese).
- [9] 石旻飞, 李晔, 袁江, 等. 螯合剂与表面活性剂强化东南景天修复 Cd 污染土壤的研究[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(20): 99-102.
SHI M F, LI Y, YUAN J, et al. Study on chelator/surfactant-enhanced remediation of Cd-contaminated soil by *Sedum alfredii* hance[J].

- Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2015, 43(20): 99-102 (in Chinese).
- [10] LIU J, ZHOU Q, WANG S. Evaluation of chemical enhancement on phytoremediation effect of Cd-contaminated soils with *Calendula officinalis* L[J]. International Journal of Phytoremediation, 2010, 12(5): 503-515.
- [11] LIN Q, CHEN Y X, CHEN H M, et al. Effect of organic acids on soil chemical behavior of lead and cadmium and their toxicity to plants [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2001, 12(4): 619-622.
- [12] MUHEREI M A, JUNIN R, MERDHAH A B B. Adsorption of sodium dodecyl sulfate, Triton X100 and their mixtures to shale and sandstone: A comparative study[J]. Journal of Petroleum Science & Engineering, 2009, 67(3-4): 149-154.
- [13] 刘志坚, 陈坚. 浙南海岸带盐碱地适生树种筛选试验[J]. 现代农业科技, 2016(9): 157-158.
- LIU Z J, CHEN J. Tree species screening test for saline soil in coastal of southern Zhejiang Province[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2016(9): 157-158 (in Chinese).
- [14] 李少君, 邓欢欢, 马斌斌, 等. 无柄小叶榕对盐碱地 Cd、Cu 的吸收特性及修复潜力[J]. 环境科学学报, 2017, 37(12): 4724-4733.
- LI S J, DENG H H, MA B B, et al. Cadmium, copper accumulation and remediation of *Ficus concinna* var. *Subsessilis* in saline-alkaline soil [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2017, 37(12): 4724-4733 (in Chinese).
- [15] 卢宁川, 冯效毅. 生物表面活性剂强化植物修复重金属污染土壤的可行性[J]. 环境科技, 2009, 22(4): 18-21.
- LU N C, FENG X Y. Feasibility of applying biosurfactants to strengthen phytoremediation of heavy metal contaminated soils [J]. Environmental Science and Technology, 2009, 22(4): 18-21 (in Chinese).
- [16] 石福贵, 郝秀珍, 周东美, 等. 鼠李糖脂与 EDDS 强化黑麦草修复重金属复合污染土壤[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(9): 1818-1823.
- SHI F G, HAO X Z, ZHOU D M, et al. Remediation of the combined polluted soil by growing ryegrass enhanced by EDDS/rhamnolipid [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2009, 28(9): 1818-1823 (in Chinese).
- [17] 时进钢, 袁兴中, 曾光明, 等. 鼠李糖脂对沉积物中 Cd 和 Pb 的去除作用[J]. 环境化学, 2005, 24(1): 55-58.
- SHI J G, YUAN X Z, ZENG G M, et al. Removal of heavy metals from sediment by rhamnolipid[J]. Environmental Chemistry, 2005, 24(1): 55-58 (in Chinese).
- [18] 刘霞, 王建涛, 张萌, 等. 螯合剂和生物表面活性剂对 Cu、Pb 污染壤土的淋洗修复[J]. 环境科学, 2013, 34(4): 1590-1597.
- LIU X, WANG J T, ZHANG M, et al. Remediation of Cu-Pb-Contaminated loess soil by leaching with chelating agent and biosurfactant [J]. Environmental Science, 2013, 34(4): 1590-1597 (in Chinese).
- [19] QIAN M, SHEN Z G, WEI L. Comparison of EDDS- and EDTA-Assisted uptake of heavy metals by *Elsholtzia haichowensis* [J]. Agro-Environment Science, 2006, 25(1): 113-118.
- [20] HONG K J, TOKUNAGA S, KAJIUCHI T. Evaluation of remediation process with plant derived biosurfactant for recovery of heavy metals from contaminated soils[J]. Ghemosphere, 2002, 49(4): 379-387.
- [21] HANG S, WANG K, KUO C, et al. Remediation of metal-contaminated soil by an integrated soil washing-electrolysis process[J]. Soil and Sediment Contamination: An International Journal, 2005, 14(6): 559-569.
- [22] 曹福亮, 郁万文, 朱宇林. 银杏幼苗修复 Pb 和 Cd 重金属污染土壤特性[J]. 林业科学, 2012, 48(4): 8-13.
- CAO F L, YU W W, ZHU Y L. Phytoremediation characteristics of the Pb and Cd contaminated soils by ginkgo seedling[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2012, 48(4): 8-13 (in Chinese).
- [23] 胡亚虎. 杨树对于旱区重金属污染农田土壤的修复研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2013.
- HU Y H. Research in the remediation of heavy metal contaminated farmland soil in arid area with populus [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2013 (in Chinese).
- [24] BAKER A J M, BROOKS R R, PEASE A J, et al. Studies on copper and cobalt tolerance in three closely related taxa within the genus *Scirpus* L. from Zaire[J]. Plant and Soil, 1983, 73(3): 377-385.