



移动扫码阅读

李圆圆,郝喆,孙杰.侧孢芽孢杆菌对锌尾矿先锋植物富集 Zn、Cd 能力的影响[J].能源环境保护, 2022, 36(6):70-75.

LI Yuanyuan, SUN Jie, HAO Zhe. Effect of *Bacillus laterosporus* on enrichment of Zn and Cd in pioneer plants in zinc tailings[J]. Energy Environmental Protection, 2022, 36(6):70-75.

侧孢芽孢杆菌对锌尾矿先锋植物富集 Zn、Cd 能力的影响

李圆圆,郝 喆*,孙 杰

(辽宁大学 环境学院,辽宁 沈阳 110036)

摘要:采用郴州柿竹园废弃锌尾矿库上生长的4种先锋植物(小蓬草、肾蕨、长芒草和小蓼)进行野外实验,分别测定了地上部位、地下部位及植物根系周围土壤中的Zn、Cd含量。结果表明:添加侧孢芽孢杆菌菌剂后,小蓬草对重金属Zn的富集系数以及转移系数大于Cd,而长芒草对重金属Cd的富集系数和转移系数大于Zn;肾蕨富集重金属Zn的能力几乎不变,小蓼对重金属Zn的富集系数在添加10 g侧孢芽孢杆菌时达到峰值1.6;在菌剂添加量为10 g时,肾蕨转移重金属Cd的能力提升效果最显著,转移系数达到了原来的4~6倍;除了小蓼之外,其他3种先锋植物在施加10~20 g侧孢芽孢杆菌时对土壤中重金属的富集能力较强;富集转移重金属Zn、Cd能力排序为:肾蕨>小蓼>长芒草>小蓬草。

关键词:侧孢芽孢杆菌;先锋植物;锌尾矿;土壤污染;重金属

中图分类号:X53

文献标识码:A

文章编号:1006-8759(2022)06-0070-06

Effect of *Bacillus laterosporus* on enrichment of Zn and Cd in pioneer plants in zinc tailings

LI Yuanyuan, HAO Zhe*, SUN Jie

(School of Environment, Liaoning University, Shenyang 110036, China)

Abstract: Field experiments was carried out with four pioneer plants (*Conyza canadensis* (Linn.) Cronq, *Nephrolepis auriculata* (L.) Trimen, *Stipa bungeana* Trin and *Polygonum minus* Huds) on the abandoned zinc tailings pond in Shizhuyuan, Chenzhou. The contents of Zn and Cd in soil overground, underground and around plant roots were measured respectively. The results showed that after adding *Bacillus laterosporus*, the enrichment coefficient and transfer coefficient of Zn for *Conyza canadensis* (Linn.) Cronq were higher than those of Cd, while the enrichment coefficient and transfer coefficient of Cd for *Stipa bungeana* Trin were higher than those of Zn. The ability of *Nephrolepis auriculata* (L.) Trimen to enrich Zn was almost unchanged. When 10 g *Bacillus laterosporus* was added, the enrichment coefficient of Zn for *Polygonum minus* Huds reached a peak value of 1.6. When the addition of bacterial agent was 10 g, the ability of *Nephrolepis auriculata* (L.) Trimen to transfer heavy metal Cd was significantly improved, and the transfer coefficient reached 4~6 times of the original value. Except *Polygonum minus* Huds, the other 3 pioneer plants had a strong ability to enrich heavy metals in soil when 10~20 g *Bacillus laterosporus* was added. The ability of enriching and transferring heavy metals Zn and Cd was ranked as follows: *Nephrolepis auriculata* (L.) Trimen>*Polygonum minus* Huds>*Stipa bungeana* Trin>*Conyza canadensis* (Linn.) Cronq.

收稿日期:2022-10-22;责任编辑:蒋雯婷

基金项目:辽宁省科技计划项目(2019JH8/10300107);辽宁省科技计划项目(2020JH2/10300100);辽宁省科技计划项目(2019JH8/10300105);中央引导地方科技发展专项资金(2021JH6/10500015)

第一作者简介:李圆圆(1998—),女,辽宁大连人,硕士研究生,主要从事矿山环境治理领域的研究工作。E-mail:7323977345@qq.com

通讯作者简介:郝喆(1972—),男,辽宁沈阳人,教授,主要从事矿山环境治理领域的研究工作。E-mail:626447443@qq.com

Key Words: *Bacillus laterosporus*; Pioneer plants; Zinc tailings; Soil pollution; Heavy metals

0 引言

近年来,由于矿产资源逐渐枯竭或矿山政策性关停等原因,形成了大量责任主体缺失的废弃尾矿库。这些废弃尾矿库由于缺乏有效的监管措施与管理制度,生态环境问题十分突出。废弃尾矿砂中的大量重金属在地表径流或雨水淋滤作用下,污染周边土壤^[1]。修复受污染土壤的方法主要有稳定化修复、提取法、加热解析法、生物炭改良剂等,这些方法具有成本高、易造成二次污染等缺点,因此不适用于大范围的土壤修复,而植物修复成本低、无二次污染,可用于大范围尾矿库的生态修复。

国内外诸多学者在植物修复重金属污染土壤方面做了一系列研究。李凯俊^[2]等对南京铅锌矿区土壤重金属及其主要植物的生物富集作用进行了评估,结果显示 14 种先锋植物均具有耐金属性,可用于生态修复;Samaneh Torbati^[3]等研究了生长在伊朗湿地的 3 种植物对重金属的生物富集作用,证明植物香蒲能在根部积累大量的 Cd、Zn、Pb,根系元素富集系数大于 1;刘秉浩等^[4]利用外生菌根樟子松对废弃尾矿池进行植物修复,实验表明含外生菌根的樟子松明显富集更多的 Zn、Cd、Pd;T Pardo^[5]等将赤泥衍生物与堆肥的混合物以及熟石灰混合播撒于田地中,然后将尾矿土壤原封不动地转移并混合到植物生长的田地中,并播种了滨藜和短叶霸王,证明结合使用赤泥衍生物、堆肥和盐生植物是一种良好的植物稳定策略;程刚仁^[6]等评估了豆科植物、根瘤菌和丛枝菌根真菌(AMF)在铀污染土壤复垦中的共生关系,结果表明,AMF 和根瘤菌在三重共生中具有互利关系,从而显着增加了植物的生物量和铀积累。上述研究均可以证明野外植物在添加菌剂或者其他试剂后,提升了植物富集尾矿库土壤中的重金属 Zn、Cd 的能力,而不同植物富集重金属的能力也有所不同。此外,有些研究者对微生物菌修复重金属污染土壤也有一定的研究。崔兆杰、张旭^[7]等研究证明复合微生物菌剂对重金属的固定化效率高达 74.98%(Zn)、85.29%(Pb)和 79.41%(Mn),显示出较好的生物修复效果;Sami Ullah Jan^[8]等研究表明金属抗性芽孢杆菌组合提高了欧洲油菜在污染土壤中的重金属富集效率;

Edward Raja Chellaiah^[9]通过研究发现,生物触媒剂铜绿假单胞菌不仅可以对促进植物生长,还可以提高植物对重金属 Cd 的吸附能力。

目前,对植物和微生物联合修复土壤重金属污染的研究大多限于盆栽小试阶段,缺乏直接应用于野外尾矿土壤的试验研究,并且对所选富集植物种类的研究较少。文章选用郴州柿竹园废弃锌尾矿库上生长的小蓬草(*Conyza canadensis* (Linn.) Cronq)、肾蕨(*Nephrolepis auriculata* (L.) Trimen)、长芒草(*Stipa bungeana* Trin)、小蓼(*Polygonum minus* Huds) 4 种先锋植物作为研究对象,进行野外实验,通过向 4 种植物的根际土壤中加入不同剂量的侧孢芽孢杆菌菌剂,培养期结束后分别测定植物地上部分、地下部分及植物根系周围土壤中的 Zn、Cd 含量,分析不同菌剂用量对植物吸附重金属 Zn、Cd 的影响,以期为修复尾矿土中重金属污染工作提供重要理论依据。

1 试验及分析方法

1.1 野外试验布置

试验场地位于湖南省郴州市柿竹园有色金属有限责任公司的废弃锌尾矿库。调研表示:锌尾矿库采样点为 pH ≤ 6 的酸性土壤,且该尾矿库土壤中重金属 Zn²⁺、Cd²⁺ 的变化范围较广,分别为 598.05~2 156.45 mg/kg 和 23.60~42.95 mg/kg。

(1)在矿区采用五点取样法,选择高度、生长年龄相近的肾蕨、长芒草、小蓬草、小蓼 4 种现场自然生长的植物,每种植物采 3 株,植物照片如图 1 所示。为减少伤根在移植前一天浇水润湿根部土壤,用小工具扒开植物根系外围,然后用小铲垂直用力铲下,为避免破坏根系主根完整性,挖掘土壤深度为 35 cm。

(2)在尾矿库中央选择一块阳光适宜的空地(4 m×1 m),挖 4 个间隔 40 cm 的长方形沟渠(40 cm×85 cm×40 cm),将之前移出的植物放入沟渠中,每个沟渠放 4 种植物,每种植物放 3 株,竖直排放,从后至前依次为:小蓬草、小蓼、肾蕨、长芒草,每种植物根系间距约为 20 cm,用挖出的深层土壤进行填埋。植物布局如图 2 所示。

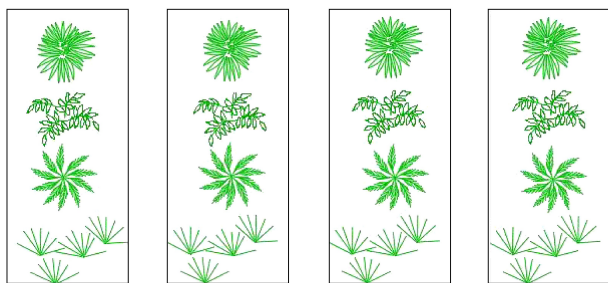
(3)选用蘸根、灌根结合的方式,将侧孢芽孢杆菌菌剂用少量清水稀释^[10],把移栽植物的根部浸入到稀释溶液中,使其充分沾上菌液,之后按照

剂量对其进行灌根培土。期间每 2 个月向土壤中均匀加入 5、10、20、30 g 剂量的侧孢芽孢杆菌菌剂。



图 1 4 种先锋植物照片

Fig.1 Photos of four pioneer plants



注：由上至下分别为小蓬草、小蓼、肾蕨、长芒草

图 2 植物布局示意图

Fig.2 Schematic diagram of plant layout

1.2 试验方法

对土壤用前述方式维护 6 个月后采集实验区植物地下部位、地上部位和根部土壤样品,进行样品前处理。

(1) 植物

植物的清洗:将所挖出的植物用自来水小流量冲洗,保证植物的完整性,并无土壤残留,然后再用蒸馏水淋洗一遍,用吹风筒距离 15 cm 将植物吹干,不滴水即可,最后将其放在对应编号的密封袋中。

植物的烘干:将清洗后植物放入烘箱中烘至恒重,再将植物根和露出土壤部分分开,分别将其磨碎,倒出后研磨成粉状,放入编号的封装袋中,于干燥器中保存^[11]。

植物的消解:分别精确称取 0.200 0 g 4 种植物的地上样品和地下样品放入 100 mL 的三角瓶中,加入 5 mLHNO₃、1 mLH₂O₂摇匀,静置 1 夜。样品封口后置于微波消解器中,按表 2 的微波消解条件其消解完全后,将消解好的溶液倒入 100 mL 的容量瓶中,滴加 2%的硝酸进行定容,倒入广口瓶待测。

(2) 土壤

土壤的烘干:将土壤分批放入烘箱中,控制温度在 60~70 ℃,干燥 12 h,放入编号的封装袋中,于干燥器中保存。

土壤的消解:将处理好的土壤样品放入三角瓶中,先用去离子水润湿,再加入 5 mLHNO₃、1 mLH₂O₂摇匀,静置 1 夜。待土壤样品完全消解后,将溶液倒入 100 mL 的容量瓶,滴加 2%的硝酸进行定容,倒入广口瓶中密封保存待测。

表 1 微波消解条件

Table 1 Microwave digestion conditions

样品类型	工步	温度 T/℃	保持时间 t/min	斜率
植物粉末	1	120	3	8
	2	150	3	8
	3	180	3	8
土壤粉末	1	150	3	8
	2	180	2	8
	3	200	2	8

重金属测定:采用原子吸收光谱法分别测定植物粉末和土壤粉末中重金属 Zn、Cd 含量。

1.3 分析方法

选用富集系数和转移系数来进行分析,二者能最直观地反映出植物富集重金属 Zn、Cd 的能力。对于一个受污染的生态系统而言,处于不同

营养级的生物对污染物的富集能力不同,这两者可以明确反映出不同植物在侧孢芽孢杆菌作用下富集重金属 Zn、Cd 的影响。

富集系数(Enrichment Factor, EF)是样品中元素的浓度与背景中元素的浓度的比值,以此判断环境介质中元素的污染状况。简言之就是单位

质量的生物量富集的污染物含量。由式(1)可计算富集系数 EF。

$$EF = \frac{[C_i/C_n]_{\text{sediment}}}{[C_i/C_n]_{\text{background}}} \quad (1)$$

式(1)中: $[C_i/C_n]_{\text{sediment}}$ 是土壤中金属 i 与标准化元素 n 的测定含量比, $[C_i/C_n]_{\text{background}}$ 是土壤中金属 i 与标准化元素 n 的背景值含量比。

重金属转移系数是指植物露出土壤部分的重金属含量与土壤地下根际中重金属含量的比,是用来评价植物将重金属从露出土壤部分向地下运输和富集能力的一种指标,用 TF 表示。TF 值越高表明植物露出土壤部分的重金属富集量越大,

越适用于植物修复技术。由式(2)可计算转移系数 TF。

$$TF = \frac{S}{R} \quad (2)$$

式(2)中: S 植物地上部分某种重金属元素含量, g/mol; R 植物地下部分该种元素的含量, g/mol。

2 结果与讨论

2.1 植物富集系数与菌剂用量的关系

试验考察了菌剂剂量分别为 0、5、10、20、30 g 时 4 种先锋植物对重金属 Zn、Cd 的富集系数,图 3 为植物富集系数和菌剂用量的关系。

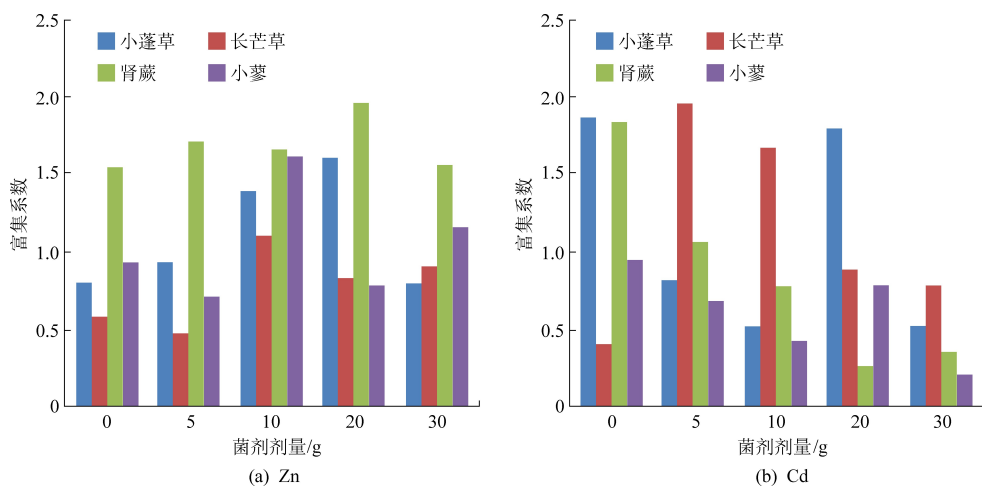


图 3 植物富集系数和菌剂用量关系图

Fig.3 Relationship between the plant enrichment coefficient and bacterial agent consumption

由图 3 可知,添加侧孢芽孢杆菌菌剂后,先锋植物小蓬草对土壤重金属 Zn 的富集系数 Zn 大于 Cd。当菌剂剂量达到 20 g 时,小蓬草富集土壤中的重金属 Zn 的能力达到峰值 1.8;随着菌剂剂量的增大,添加 30 g 侧孢芽孢杆菌菌剂时,小蓬草富集重金属 Zn 的能力下降。

当添加侧孢芽孢杆菌菌剂后,先锋植物长芒草对土壤重金属 Cd 的富集系数大于 Zn。当菌剂剂量达到 5 g 时,长芒草富集土壤中的重金属 Cd 能力达到峰值 1.3;添加菌剂剂量在 5~30 g 时,长芒草富集土壤中重金属 Cd 的能力呈下降趋势;添加菌剂达到 30 g 时,对长芒草富集重金属 Cd 的能力基本没有影响。

对比先锋植物肾蕨添加侧孢芽孢杆菌菌剂后对 2 种重金属的富集系数,可以明显看出菌剂对肾蕨富集重金属 Zn 的能力影响甚微。随着菌剂添加量的不断加大,肾蕨富集重金属 Cd 的能力迅速下降,当菌剂添加量达到 30 g 时,富集系数甚至

下降到未添加侧孢芽孢杆菌菌剂时的 1/4。

先锋植物小蓼对重金属 Zn 的富集能力在添加侧孢芽孢杆菌菌剂为 10 g 时达到峰值。随着菌剂剂量的增大,小蓼的富集系数逐渐趋于未添加菌剂时的富集系数,这表明添加菌剂剂量在 20~30 g 时,不会提高小蓼对 Zn 的富集能力;此外,由图 3(b) 可以看出,添加菌剂后,小蓼吸附重金属 Zn、Cd 的能力从初始值 0.96 下降到 0.2,但在添加菌剂为 20 g 时富集系数突然上升接近初始值 0.96,证明施加菌剂后,小蓼吸附重金属 Zn、Cd 的能力没有得到改善,反而下降。

2.2 植物转移系数与菌剂用量关系

试验考察了菌剂剂量分别为 0、5、10、20、30 g 时 4 种先锋植物对重金属 Zn、Cd 的转移系数,图 4 为植物转移系数和菌剂用量的关系。

由图 4(a) 可知,添加侧孢芽孢杆菌菌剂后,先锋植物小蓬草对土壤重金属 Zn 的转移系数大于 Cd。随着菌剂剂量逐渐增大,小蓬草转移重金

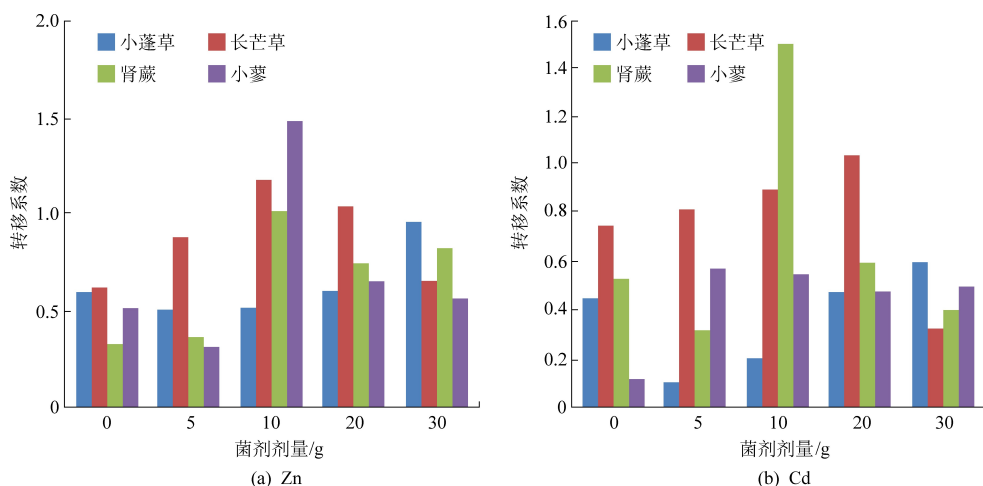


图4 植物转移系数和菌剂用量关系图

Fig.4 Relationship between the plant transfer coefficient and bacterial agent consumption

属 Zn 的能力逐渐上升。当菌剂剂量达到 30 g 时,小蓬草转移土壤中的重金属 Zn 的能力达到峰值 0.96。

当添加侧孢芽孢杆菌菌剂后,添加剂量低于 20 g 时,先锋植物长芒草对土壤重金属 Cd 的转移系数大于 Zn。当菌剂剂量达到 20 g 时,长芒草富集土壤中的重金属 Cd 能力达到峰值 1.04;添加菌剂达到 30 g 时,长芒草转移重金属 Cd 的能力下降为 0.32。

对比先锋植物肾蕨添加侧孢芽孢杆菌菌剂后对 2 种重金属的转移系数,可以明显看出肾蕨转移重金属 Cd 的能力在添加菌剂达到 10 g 时提升效果最显著。当菌剂添加量达到 10 g 时,转移系数达到最高的 1.5;随着菌剂添加量的提升,达到 30 g 时,转移系数下降至 0.4。

先锋植物小蓼对重金属 Zn 的转移能力在添加侧孢芽孢杆菌菌剂为 10 g 时达到峰值。随着菌剂剂量的增大,小蓼的富集系数逐渐趋于未添加菌剂时的富集系数,这表明添加菌剂剂量在 20~30 g 时,提高小蓼对 Zn 的转移能力较弱;此外,由图 4(b)可以看出,添加菌剂后,小蓼侧孢芽孢杆菌菌剂的存在明显增强了小蓼转移 Cd 的能力,相较于未添加菌剂的 0.11,添加菌剂剂量在 5~30 g 时,转移系数达到了原来的 4~6 倍。

3 结 论

通过加入不同剂量侧孢芽孢杆菌菌剂对柿竹园铋尾矿先锋植物进行野外移植,测定植物地上部分、地下部分及植物根系周围土壤中的 Zn、Cd 含量,分析不同剂量菌剂作用下植物对 Zn、Cd 的

富集系数和转移系数影响的关系,结论如下:

(1) 添加侧孢芽孢杆菌菌剂后,小蓬草对重金属 Zn 的富集系数大于 Cd;长芒草对重金属 Cd 的富集系数大于 Zn,随着剂量的增大,小蓬草和长芒草对重金属 Cd 的富集系数先增大后减小。

(2) 添加侧孢芽孢杆菌菌剂后,肾蕨富集重金属 Zn 的能力几乎不变,随着菌剂剂量的增大,肾蕨富集重金属 Cd 的能力下降;小蓼富集重金属 Zn 的能力添加侧孢芽孢杆菌菌剂为 10 g 时达到峰值 1.61,富集重金属 Cd 的能力下降。

(3) 添加侧孢芽孢杆菌菌剂后,小蓬草对重金属 Zn 的转移系数大于 Cd;添加剂量达到 20 g 之前,长芒草对重金属 Cd 的转移系数大于 Zn,随着菌剂剂量的增大,长芒草对重金属 Cd 的转移系数先增大后减小最后趋于稳定。

(4) 添加侧孢芽孢杆菌菌剂后,在添加菌剂达到 10 g 时,肾蕨转移重金属 Cd 的能力提升效果显著,而其他 4 种剂量则影响微弱;添加菌剂后,小蓼转移 Cd 的能力较未添加菌剂明显增强,转移系数达到了原来的 4~6 倍。

(5) 4 种先锋植物除了小蓼之外,其他 3 种在施加 10~20 g 侧孢芽孢杆菌菌剂时,对土壤中重金属的富集能力较强。小蓬草、肾蕨、长芒草 Zn 的转移系数分别为 0.96、0.82、0.67,而 3 种植物 Cd 的转移系数依次为 0.6、1.5、1.04。这 4 种植物中肾蕨对菌剂剂量最敏感。富集转移重金属 Zn、Cd 能力排序为:肾蕨>小蓼>长芒草>小蓬草。

参考文献

[1] 马可婧,张明泉,蔡圃.堆肥污泥重金属在黄土中的淋滤特

- 征 [J]. 环境工程学报, 2013, 7 (4): 1557-1562.
- MA Kejing, ZHANG Mingquan, CAI Pu. Leaching characteristics of heavy metals from compost sludge in loess [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2013, 7 (4): 1557-1562.
- [2] 李俊凯, 张丹, 周培, 等. 南京市铅锌矿采矿场土壤重金属污染评价及优势植物重金属富集特征 [J]. 环境科学, 2018, 39 (8): 3845-3853.
- LI Junkai, ZHANG Dan, ZHOU Pei, et al. Evaluation of soil heavy metal pollution and heavy metal enrichment characteristics of dominant plants in Lead-zinc Mine of Nanjing City [J]. Environmental Science, 2018, 39 (8): 3845-3853.
- [3] TORBATI S, ATASHBAR KANGARLOEI B, KHATAEE A. Bioconcentration of heavy metals by three plant species growing in Golmarz Wetland, in Northwestern Iran: The plants antioxidant responses to metal pollutions [J]. Environmental Technology & Innovation, 2021, 24: 101804.
- [4] LIU B, WANG S, WANG J. The great potential for phytoremediation of abandoned tailings pond using ectomycorrhizal pinus sylvestris [J]. Science of the Total Environment, 2020, 719: 137475.
- [5] PARDO T, BERNAL M P, CLEMENTE R. Phytostabilisation of severely contaminated mine tailings using halophytes and field addition of organic and inorganic amendments [J]. Chemosphere, 2017, 178: 556-564.
- [6] REN C G, KONG C C, WANG S X. Enhanced phytoremediation of uranium-contaminated soils by arbuscular mycorrhiza and rhizobium [J]. Chemosphere, 2019, 217: 773-779.
- [7] CUI Z, ZHANG X, YANG H. Bioremediation of heavy metal pollution utilizing composite microbial agent of mucor circinelloides, *Actinomucor sp.* and *Mortierella sp.* [J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2017, 5 (4): 3616-3621.
- [8] JAN S U, REHMAN M, GUL A. Combined application of two *Bacillus* species enhance phytoremediation potential of brassica napus in an industrial metal - contaminated soil [J]. International Journal of Phytoremediation, 2022, 24 (6): 652-665.
- [9] CHELLAIAH E R. Cadmium (heavy metals) bioremediation by pseudomonas aeruginosa: A minireview [J]. Applied Water Science, 2018, 8 (6): 154.
- [10] POVEDA J, GONZÁLEZ-ANDRÉS F. *Bacillus* as a source of phytohormones for use in agriculture [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2021, 105 (23): 8629-8645.
- [11] 李海峰, 王庆仁, 朱永官. 土壤重金属测定两种前处理方法的比较 [J]. 环境化学, 2006 (1): 108-109.
- LI Haifeng, WANG Qingren, ZHU Yongguan. Comparison of two pretreatment methods for determination of heavy metals in soil [J]. Environmental Chemistry, 2006 (1): 108-109.