向冬芳, 廖水姣, 涂书新, 等. 三聚磷酸钠与柠檬酸复合强化蜈蚣草修复砷污染土壤[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(8): 1973-1981.
XIANG Dong-fang, LIAO Shui-jiao, TU Shu-xin, et al. Effect of a sodium tripolyphosphate and citric acid composite on arsenic bioaccumulation caused by arsenic-contaminated soil in *Pteris vittata* L.[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(8): 1973-1981.

三聚磷酸钠与柠檬酸复合强化蜈蚣草修复砷污染土壤

向冬芳[1], 廖水姣[1*], 涂书新[2], 张丽梅[2], 谢　天[2]

(1.华中农业大学理学院, 武汉 430070; 2.华中农业大学资源与环境学院, 武汉 430070)

摘　要: 为研究化学活化剂三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用对蜈蚣草萃取砷效率的影响,通过模拟实验,在含砷57.7 mg·kg^{-1}的水稻土中,探究了单一活化剂(三聚磷酸钠0.75 g·kg^{-1}土,柠檬酸0.75 g·kg^{-1}土)和三聚磷酸钠与柠檬酸配合施用(三聚磷酸钠:柠檬酸=0.375 g·kg^{-1}土:0.375 g·kg^{-1}土)对土壤有效态砷含量变化的影响;采用盆栽实验,探究了三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用(三聚磷酸钠:柠檬酸=0.187 5 g·kg^{-1}土:0.187 5 g·kg^{-1}土)对蜈蚣草地上部萃取土壤砷的影响。模拟实验结果表明,与单一活化剂相比,三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用对土壤砷的活化效果更显著。盆栽实验结果表明:与对照组相比,三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用可使蜈蚣草羽叶干质量提高21.8%以上,砷萃取总量提高40.4%以上;根际土总砷含量下降,土壤脲酶和脱氢酶活性显著增加。研究表明在砷污染土壤施加三聚磷酸钠和柠檬酸,由于其提高了蜈蚣草植物干质量和土壤有效态砷含量,羽叶萃取砷效率明显提高。

关键词: 土壤;砷;植物修复;三聚磷酸钠;柠檬酸;蜈蚣草

中图分类号: X53　　**文献标志码:** A　　**文章编号:** 1672-2043(2019)08-1973-09　　doi:10.11654/jaes.2019-0605

Effect of a sodium tripolyphosphate and citric acid composite on arsenic bioaccumulation caused by arsenic-contaminated soil in *Pteris vittata* L.

XIANG Dong-fang[1], LIAO Shui-jiao[1*], TU Shu-xin[2], ZHANG Li-mei[2], XIE Tian[2]

(1.College of Basic Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; 2.College of Resources and Environment, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: To study the effect of a sodium tripolyphosphate and citric acid composite on arsenic bioaccumulation caused by As-contaminated soil in *Pteris vittata* L., the effect of sodium tripolyphosphate(0.75 g·kg^{-1} soil), citric acid(0.75 g·kg^{-1} soil), and the sodium tripolyphosphate and citric acid composite(0.375 g·kg^{-1} soil sodium tripolyphosphate and 0.375 g·kg^{-1} soil citric acid) on the content of available As was studied using a soil screening experiment in paddy soil containing 57.7 mg·kg^{-1} As. The effect of the composite(0.187 5 g·kg^{-1} soil sodium tripolyphosphate and 0.187 5 g·kg^{-1} soil citric acid) on As bioaccumulation in *Pteris vittata* L. was studied using a pot experiment in paddy soil. The results showed that the activation effect of the composite on soil As was more significant than that of a single chemical activator. Furthermore, compared with the control, the dry weight of pinnae and the total amount of As extraction increased by more than 21.8% and 40.4%, respectively, by the application of the composite. Additionally, in the rhizosphere soil of the pot experiment, the total As content decreased and the activities of urease and dehydrogenase increased significantly compared with those for the control. These results suggest that the effect of As bioaccumulation caused by As-contaminated soil on *Pteris vittata* L. increases significantly by the application of the composite. The increase was mainly caused by the increase in plant dry weight and the As content available in the soil.

Keywords: soil; arsenic; phytoremediation; sodium tripolyphosphate; citric acid; *Pteris vittata* L.

收稿日期: 2019-05-30　　**录用日期:** 2019-07-17

作者简介: 向冬芳(1994—),女,湖北枝江人,硕士研究生,主要从事土壤环境污染修复。E-mail:1441529067@qq.com

***通信作者:** 廖水姣　E-mail:liaosj@mail.hzau.edu.cn

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFD0801303)

Project supported: The National Key R&D Program of China(2017YFD0801303)

砷位于元素周期表中第4周期VA族，具有-3、0、+3、+5等价态，在地壳中平均含量为2 mg·kg^{-1}[1]。目前，全世界有将近1亿人正面临砷污染的威胁[2]。大规模使用化肥和含砷农药、煤炭燃烧、采矿及生产工业材料等人为活动是造成土壤砷严重污染的主要因素[3]。我国砷土壤背景值为11.2 mg·kg^{-1}[4]，约为世界土壤平均砷背景值(6 mg·kg^{-1})的2倍。我国砷资源储量为世界砷总储量的70%[5]，由于不合理的开采利用以及矿渣随意倾倒堆积，导致我国成为砷严重污染的国家之一。湖南省锡矿山，由于锑的开采和冶炼，已造成严重的锑和砷污染[6]。湖北铜绿山矿已有3000多年的开采历史，尾矿废渣等未经妥善处理，导致该地区土壤砷等重金属污染严重，大多数蔬菜和水稻籽粒中砷的浓度均超过了《食品安全国家标准 食品中污染物限量》(GB 2762—2017)限值0.05~0.15 mg·kg^{-1}[7]。我国表层土壤中砷含量分布呈现出自南西向北东逐渐由高变低的趋势，海拔较高地区土壤中砷含量高于海拔较低地区[8]。据报道，我国受砷等重金属污染的耕地面积近2000万hm^2，约占总耕地面积的1/5[9]。砷会抑制植物生长、使根茎变色变短、植株发育不良、果实产量下降等，其也被国际癌症研究机构(IARC)列为Ⅰ类致癌物。因此，砷污染土壤亟待修复。

常用的砷污染修复技术主要分为三类：物理修复、化学修复以及生物修复[10]。植物修复技术研发由于环保绿色、投资少等受到国内外学者的格外青睐。超富集植物蜈蚣草因其对砷的耐受性强(可在含砷23 400 mg·kg^{-1}的矿渣中生长)、积累能力强(叶片最大含砷量可达5070 mg·kg^{-1})、生长较快、生物量大、分布广而倍受关注[11]。然而，尽管蜈蚣草对砷富集能力强(在含砷量小于1000 mg·kg^{-1}的土壤中，地上部生物富集系数可达7~80)[11]，但其根系仅能吸收土壤中的有效态砷(A-As)，而一般砷轻中度污染土壤中，A-As仅占总砷含量的4.6%左右[12]，因而修复效率有限。因此，利用化学试剂等与蜈蚣草联合修复土壤砷污染引起了科研人员的关注。有研究表明柠檬酸对蜈蚣草的生长有显著的促进作用[13]。此外，三聚磷酸钠作为一种高效的螯合剂，能够螯合Ca^{2+}等众多金属离子[14]，土壤中砷常与金属铁、铝、钙等结合形成$FeAsO_4\cdot 2H_2O$、$AlAsO_4\cdot 2H_2O$、$CaHAsO_4$等物质，从而影响了砷的迁移性[15]，因此添加三聚磷酸钠应该有利于A-As的溶出。土壤A-As是指能够被生物利用的一部分砷，这部分砷对土壤生物、植物等存在明显的生物毒性，因此越来越多的学者将目光聚集在土壤A-As的研究而非总砷[16]。土壤中各形态砷的生物可利用性为A-As>钙结合态砷(Ca-As)>铝结合态砷(Al-As)>铁结合态砷(Fe-As)>残渣态砷(Res-As)[17]。目前的文献鲜有将其运用于植物修复技术中。因此，我们提出将三聚磷酸钠与柠檬酸联合施用以验证其提高蜈蚣草修复砷污染土壤效率的假设。为此，本文首先通过模拟实验，探究化学试剂柠檬酸与三聚磷酸钠单一和复合施用对土壤有效态砷含量变化的影响及复合施用对土壤中各形态砷含量变化的影响，然后通过蜈蚣草盆栽实验，探究柠檬酸与三聚磷酸钠复合施用对蜈蚣草萃取砷效率、蜈蚣草生理生化指标及污染土壤中砷的形态变化等的影响，为砷污染土壤化学活化剂的选择提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试植物

蜈蚣草孢子取自华中农业大学农学院门前假山。蜈蚣草先行育苗，待长至15 cm左右，选取长势大小基本相同的蜈蚣草移栽。育苗时将孢子均匀撒在装有营养土(pH 7.5)的塑料盆中，盖上带透气孔的薄膜，定期浇水，保持土壤湿润；待长出2~3片子叶时分成单株继续培养，期间根据幼苗长势施加稀释5倍的霍格兰营养液；育苗在温室中进行，温室条件为空气湿度60%左右，室温25 ℃±3 ℃，光照16 h，黑暗8 h。

1.2 供试土壤

供试土样取自湖北省荆门市虎山村(31°28′N，112°15′E)水稻田表层0~20 cm土壤，土样自然风干后除掉大块石子和杂草，研磨后过20目筛。土样基本理化性质如表1所示。

表1 供试土壤基本理化性质

Table 1 The basic physical and chemical properties of test soil

土壤类型 Soil type	全磷 Total P/ g·kg^{-1}	全钾 Total K/ g·kg^{-1}	全氮 Total N/ g·kg^{-1}	碱解氮 Available N/ mg·kg^{-1}	速效磷 Available P/ mg·kg^{-1}	速效钾 Available K/ mg·kg^{-1}	有机质 Soil organic matter/g·kg^{-1}	pH	总砷 Total As/ mg·kg^{-1}	有效态砷 Available As/ mg·kg^{-1}
水稻土	1.6±0.1	8.0±0.3	1.8±0.02	129.8±2.2	94.1±5.6	224.2±10.1	48.1±0.2	7.4±0.01	57.7±2.7	4.1±0.5

1.3 实验设计

1.3.1 土壤模拟实验

选用化学活化剂三聚磷酸钠(C,化学纯)和无水柠檬酸(G,分析纯)。

活化剂筛选试验:实验设置4个处理组,分别为去离子水(对照)、三聚磷酸钠、柠檬酸、三聚磷酸钠+柠檬酸(1:1,质量比),每组3次重复。试验前将各组活化剂均配制成浓度为0.03 g·L^{-1}的溶液备用。称取过100目筛的砷污染土壤1.000 g装入塑料离心管中,分别加入25.00 mL上述各活化剂溶液,在25 ℃、150 r·min^{-1}下水浴振荡2 h;继续补加25.00 mL $NaHCO_3$溶液使其终浓度为0.5 mol·L^{-1},在同样条件下振荡0.5 h[18];4000 r·min^{-1} 离心3 min。试验结束后,取上清液过滤、酸化,测定有效态砷含量。

活化剂对土壤各形态砷含量的影响:实验设置2个处理组,分别为去离子水和三聚磷酸钠+柠檬酸(1:1,质量比),每组3次重复。实验前将活化剂配制成浓度为0.03 g·L^{-1}的溶液备用。称取过100目筛的砷污染土壤1.000 g装入塑料离心管中,分别加入25.00 mL去离子水和活化剂溶液,在25 ℃、150 r·min^{-1}下水浴振荡2 h;补加25.00 mL NH_4Cl溶液使其终浓度为1 mol·L^{-1},在同样条件下振荡0.5 h;4000 r·min^{-1} 离心3 min。取上清液过滤酸化,用原子荧光光度计测定提取液A-As,然后按照连续提取法测定Al-As、Fe-As、Ca-As和Res-As含量[19]。

1.3.2 盆栽试验

盆栽试验设计对照(CK)组和三聚磷酸钠与柠檬酸联合施用(CG)组,每组3次重复。将水稻土与尿素(0.2 g·kg^{-1})、KH_2PO_4(0.2 g·kg^{-1})、K_2SO_4(0.3 g·kg^{-1})和阿农微量营养元素储备液(1 mL·kg^{-1})充分混合后装入盆中,每盆装土2 kg。一周后,将蜈蚣草按1株·$盆^{-1}$移栽,加入自来水,使其含水量达到土壤最大持水量的60%(实验测得2 kg土壤最大持水量为1 L,故每盆加入600 mL自来水)。培养一周待其成活后,在CG组中加入三聚磷酸钠+柠檬酸(1:1,质量比)0.75 g。盆栽放置室外透明遮雨棚中,在栽培过程中保持初始水分。每隔50 d补充尿素0.1 g·$盆^{-1}$,并在CG组中加入0.75 g活化剂。栽培150 d后第一次收获蜈蚣草地上部和根附近土样(在距根0.5~2 cm圆周内,深5 cm处挖掘约5 g带根的土样)。留根部继续发芽生长,每隔75 d补充尿素0.1 g·$盆^{-1}$,并在CG组中加入0.75 g活化剂,150 d后第二次收获蜈蚣草地上部和根附近土样。

1.4 分析方法与实验数据处理

蜈蚣草地上部样品取后2 h之内完成清洗、滤干等工作。将一半羽叶置于烘箱105 ℃杀青15 min,再于70 ℃烘至恒质量,记录羽叶总干质量。磨碎过20目筛,准确称取0.500 g羽叶样品置于消解瓶中,采用HNO_3-$HClO_4$-H_2SO_4消解法消解,原子荧光光度法测定叶的砷浓度。根附近土样风干,磨碎过100目筛。剩下一半新鲜羽叶以及部分新鲜根附近土样自封袋密封后置于-80 ℃冰箱冷冻保存,分别用于植株叶绿素、还原型谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)含量测定以及土壤细菌菌群多样性分析。

叶绿素含量采用分光光度计比色法测定;MDA含量采用2-硫代巴比妥酸(TBA)法测定;GSH含量采用DTNB法测定[20]。

准确称取0.500 g风干根附近土样置于消解瓶中,采用HNO_3-$HClO_4$-H_2SO_4消解法消解,原子荧光光度计测定其砷浓度。称取1.000 g风干根附近土样按1.3.1砷形态提取法提取各形态砷。土壤脲酶、脱氢酶以及总磷酸酶活性测定方法参考《土壤酶及其研究法》[21]。称取0.5 g新鲜根附近土样,采用宏基因组16S rDNA测序技术分析土壤细菌菌群多样性[22]。

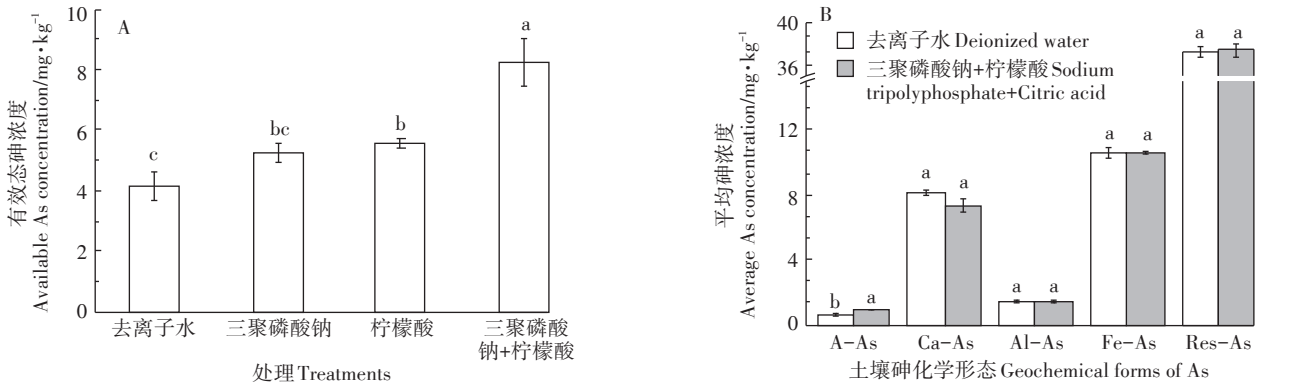
实验结果以平均值±标准差的形式表示。采用Origin 8.0绘图。实验数据采用SPSS 17.0进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 化学活化剂对砷污染土壤有效态砷和各形态砷含量变化的影响

由图1A可知,单一活化剂和三聚磷酸钠与柠檬酸配合施用均能够提高土壤中有效态砷含量,且配合施用活化效果明显优于单一活化剂。与对照组相比,单一活化剂三聚磷酸钠、柠檬酸处理有效态砷含量分别提高28.4%、35.0%,三聚磷酸钠+柠檬酸处理有效态砷含量显著提高了99.58%。对水稻土而言(图1B),加入三聚磷酸钠+柠檬酸使土壤中A-As含量比对照组显著提高了77.6%,Ca-As降低了8.6%,Al-As增加了8.8%,Fe-As及Res-As含量基本不变。说明三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用对钙离子有较强的螯合能力,因此可通过溶解Ca-As来提高土壤A-As含量。

比较图1A和图1B发现,对于去离子水组,0.5 mol·L^{-1} $NaHCO_3$(pH 8.5)溶液提取的A-As含量为4.1 mg·kg^{-1},高于1 mol·L^{-1} NH_4Cl(pH 5.1)溶液提取的A-



不同小写字母表示处理间差异达5%显著水平(P<0.05)。下同

There is significant difference among the treatments that have different letters(P<0.05). The same below

图1 活化剂对土壤有效态砷(A)以及各形态砷含量(B)的影响

Figure 1 Effects of compound chemical activators on the content of available As(A) and geochemical forms of As in contaminated soils of paddy soil(B)

As含量(0.9 mg·kg^{-1})。说明pH对A-As含量变化影响较大。砷在土壤中以阴离子形式存在,pH增大会增加土壤的表面负电荷粒子,导致砷在土壤颗粒中的吸附量下降,促进了其释放。

2.2 三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用对蜈蚣草萃取砷含量的影响

本研究拟通过蜈蚣草富集土壤重金属砷,收割植株地上部进行回收处理,留下根部继续发芽生长,从而在不断循环收割中达到修复土壤中砷污染的问题。由于蜈蚣草地上部富集的砷绝大多数储存于羽叶的液泡中,约占地上部总砷的96%[23],因此本研究重点探究羽叶中砷含量的变化。

对于一次收获,由图2A可知,CG组羽叶中的砷浓度比CK组增加了13.4%。活化剂CG能促进蜈蚣草羽叶的生长,使其生物量比CK提高了34.9%(图2B)。图2C为平均每株蜈蚣草羽叶萃取砷总量(羽叶砷浓度×羽叶干质量),与CK相比,CG组羽叶中总砷含量显著提高了52.3%。

对于二次收获,与CK相比,CG组羽叶中的砷浓度增加了28.0%(图2D),羽叶生物量显著提高了21.8%(图2E),羽叶总砷含量提高了40.4%(图2F)。

2.3 三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用对蜈蚣草生理生化指标的影响

叶绿素含量是衡量植物生长状况的一个重要指标。羽叶中的GSH作为一种重要的抗氧化剂,含有活性巯基,可以在谷胱甘肽转移酶的作用下与过氧化氢、活性氧自由基和重金属结合,降低植物毒性。MDA含量可以衡量植物细胞膜过氧化程度,当细胞受到外界环境的胁迫时,植物细胞膜的过氧化程度增加,MDA含量增加。

对于一次收获,由图3A可知,与CK相比,CG组叶绿素含量增加了7.1%,该结果与生物量增加的规律(图2B)较为一致;羽叶GSH含量增加了17.5%。MDA含量增加了24.6%。

对于二次收获,由图3B可知,与CK相比,CG组叶绿素含量增加了3.9%,GSH含量升高了19.4%,MDA含量显著增加了51.9%。叶绿素含量增加与蜈蚣草羽叶生物量增加规律(图2E)一致。

2.4 三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用对蜈蚣草根附近土壤总砷以及各形态砷含量的影响

一次收获根附近土壤总砷含量如图4A所示,与CK组相比,CG组根附近土壤总砷浓度显著下降了3.6%。与CK组相比,CG组A-As含量显著增加了375.4%,Ca-As含量降低了1.6%,Al-As含量增加了2.2%,Fe-As含量显著降低了7.9%,Res-As含量降低了9.1%(图4B)。从砷形态分布来看,三聚磷酸钠+柠檬酸通过将Ca-As、Al-As、Fe-As和Res-As向A-As转变,从而促进蜈蚣草对砷的吸收,降低土壤砷含量。

二次收获根附近土壤总砷含量如图4C所示,与CK相比,CG组根附近土壤总砷浓度下降了2.5%。与CK组相比,CG组A-As含量显著增加了90.6%,Ca-As含量显著增加了62.6%,Al-As含量增加了15.9%,Fe-As含量降低了2.2%,Res-As含量降低了21.5%(图4D)。结合两次收获时根附近土壤总砷变化和各形态砷分布情况来看,三聚磷酸钠和柠檬酸复合施用能够显著提高土壤可利用态砷含量,降低

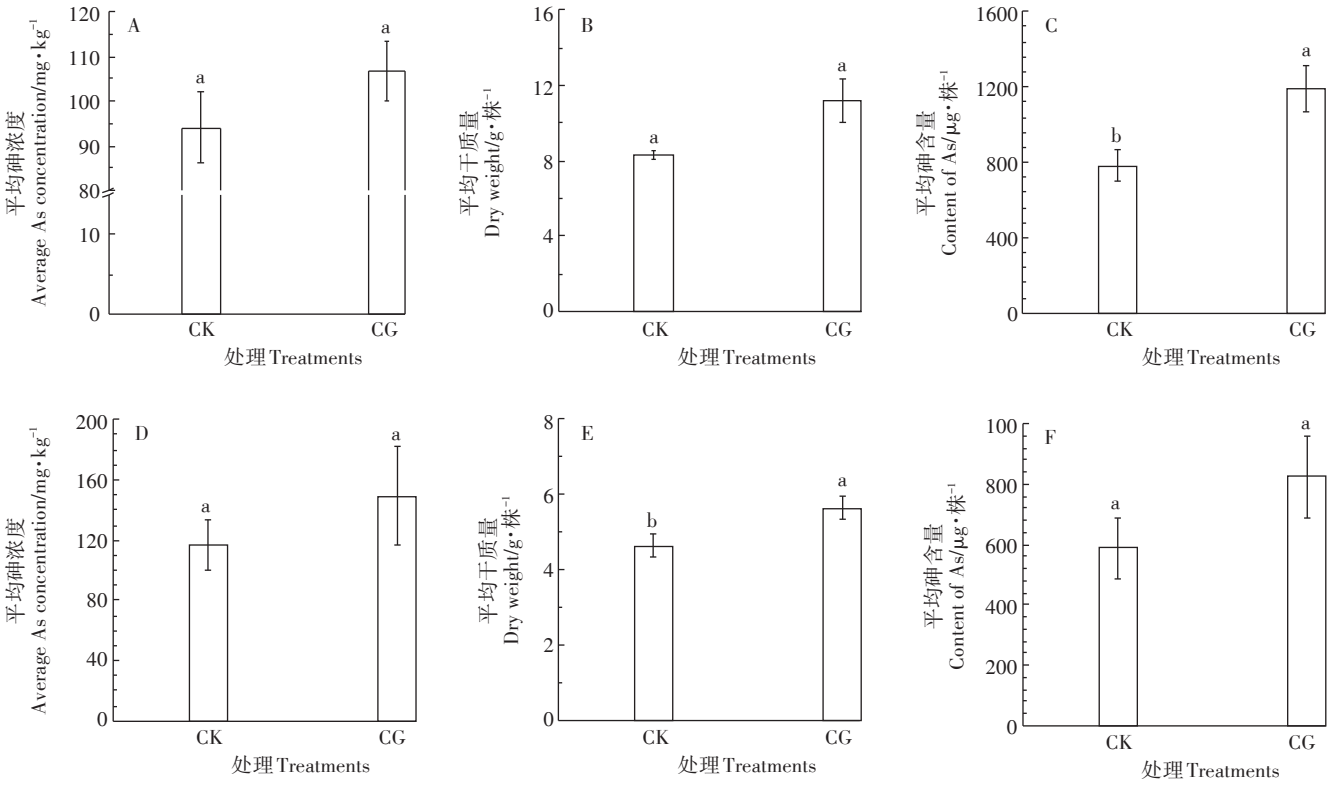


图2 三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用对一次收获蜈蚣草(A.羽叶砷浓度;B.羽叶生物量;C.羽叶总砷萃取量)和二次收获蜈蚣草(D.羽叶砷浓度;E.羽叶生物量;F.羽叶总砷萃取量)萃取土壤砷含量的影响

Figure 2 Effect of the composite of sodium tripolyphosphate and citric acid on the amount of arsenic absorbed by pinnae of *Pteris vittata* L. at first harvested(A.The concentration of As in pinnae;B.The dry weight of pinnae;C.The total As in pinnae) and second harvested(D.The concentration of As in pinnae;E.The dry weight of pinnae;F. The total As in pinnae)

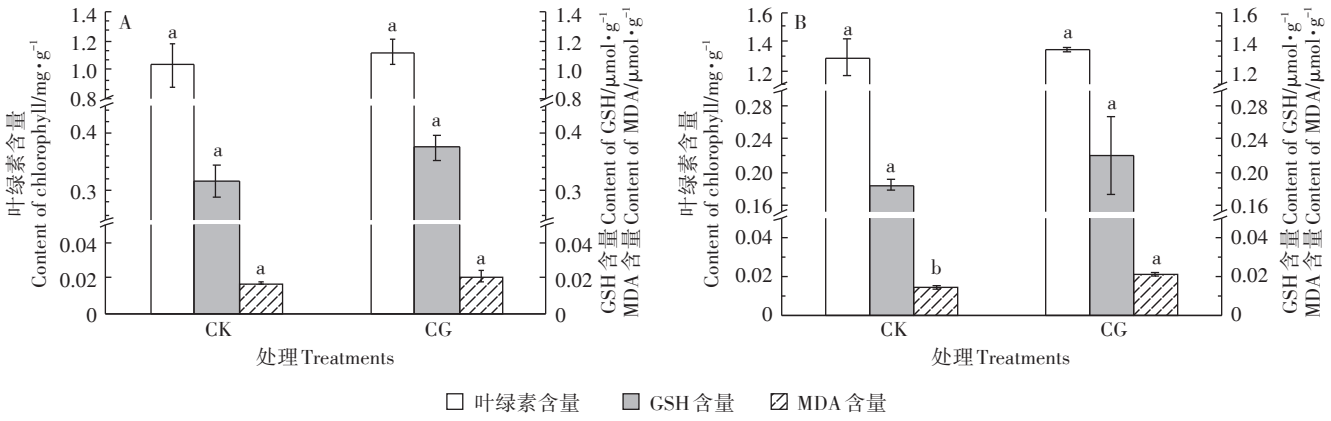


图3 三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用对一次收获(A)和二次收获(B)蜈蚣草生理生化指标的影响

Figure 3 Effects of the composite of sodium tripolyphosphate and citric acid on physiological and biochemical parameters of the pinnae of *Pteris vittata* L. at first harvested(A) and second harvested(B)

土壤总砷含量。

2.5 三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用对二次收获根附近土壤酶活性以及土壤细菌菌群多样性的影响

土壤脲酶可以水解尿素,其活性可明显反映土壤肥力水平。土壤脱氢酶广泛存在于动植物和微生物体内,其活性可以评估土壤微生物降解有机物的能力。土壤磷酸酶可以水解磷酸基团,提高土壤中有效态磷的含量。图5A显示,与CK相比,CG组土壤脲酶活性显著增加了43.6%,土壤脱氢酶活性显著增加了57.6%,磷酸酶活性降低了9.0%。

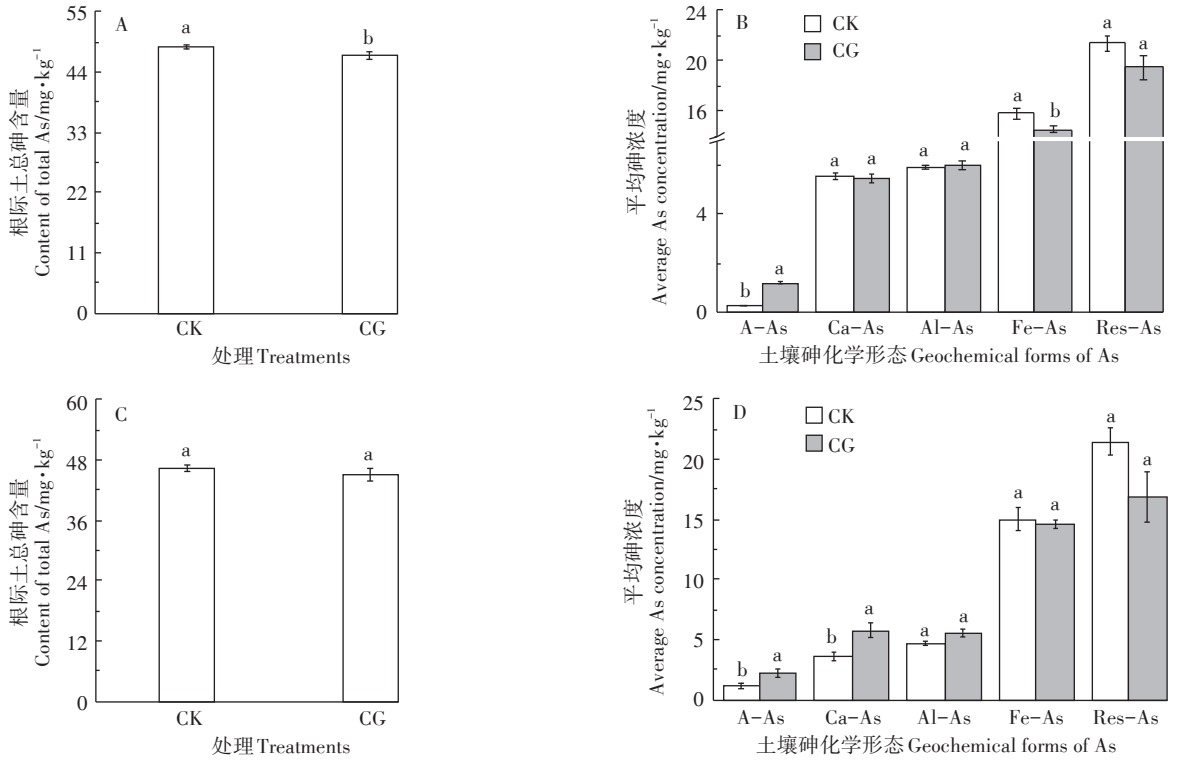


图4 三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用对一次收获根附近土壤总砷(A)和各形态砷(B)含量以及对二次收获根附近土壤总砷(C)和各形态砷(D)含量的影响

Figure 4 Effect of the composite of sodium tripolyphosphate and citric acid on total As(A) and As geochemical forms(B) of soil cultivating *Pteris vittata* L. at first harvested and total As(C) and As geochemical forms(D) of soil cultivating *Pteris vittata* L. at second harvested

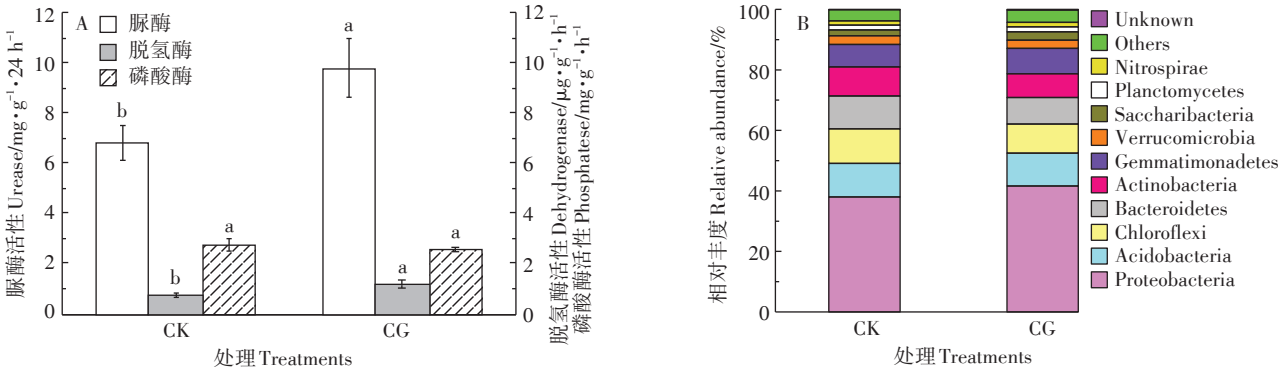


图5 三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用对二次收获根附近土样酶活性(A)以及根附近土细菌菌群多样性(门水平)(B)的影响

Figure 5 Effects of the composite of sodium tripolyphosphate and citric acid on urease, dehydrogenase, phosphatase activities(A) and the bacterial community composition(phylum level)(B) of rhizosphere soil at second harvested

为研究加入的三聚磷酸钠+柠檬酸是否会破坏土壤微生物菌群多样性,利用QIIME软件分析,得到了各处理根附近土壤中细菌在门水平上的组成和丰度分布。图5B是细菌在门水平上的多样性分析。不同的颜色表示不同的门水平分类,柱状面积大小表示其含量所占比例。选取占比较大的前10种菌群进行分析,其中变形菌门占主导地位,CK和CG组变形菌门分别占总量的38.0%和41.7%;其次是酸杆菌门、绿弯菌门、拟杆菌门、放线菌门、芽单胞菌门等。Han等[24]发现在种植蜈蚣草的砷污染根附近土壤中,变形菌门占据主导地位。已有研究证实,变形菌的数量会影响土壤砷的转化[25]。Li等[26]发现假单胞菌(变形菌门)在沉积物中砷的释放过程中起着重要作用。说明变形菌门的增加对提高土壤中溶解性砷有促进作用。

3 讨论

3.1 三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用能提高蜈蚣草羽叶砷修复效率

柠檬酸对植物具有明显的促生作用[13],且可通过酸解、离子交换等提高土壤砷溶解度[27]。三聚磷酸钠对钙、铁、镁等金属离子具有良好的螯合作用,可溶解金属结合态砷,还能通过磷酸根与砷酸根竞争土壤吸附位点,减少土壤对砷的吸附而释放砷[28],且其毒性较小,如可用作食品添加剂[29]等,因此具备了修复砷污染的潜力,但目前鲜有人将其运用于土壤重金属修复领域。由图1A可知,单独使用三聚磷酸钠和柠檬酸对土壤砷的活化有一定效果,但明显低于两者配合施用的效果。因此在盆栽实验中研究了三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用对蜈蚣草修复效率的影响。结合两次收获蜈蚣草羽叶生物量来看(图2B和图2E),三聚磷酸钠+柠檬酸组羽叶生物量提高了21.8%以上。实验结果表明三聚磷酸钠+柠檬酸的加入能够促进植物生长,三聚磷酸钠除提高A-As之外,还可能增加了土壤中磷的含量[30]。结合两次收获羽叶砷含量来看(图2A、图2C和图2D、图2F),三聚磷酸钠+柠檬酸组羽叶砷浓度均提高了13.4%以上,总砷含量均提高40.4%以上。结果表明在砷污染土壤中加入复合化学活化剂三聚磷酸钠+柠檬酸能够促进蜈蚣草羽叶对土壤砷的富集。其原因是活化剂三聚磷酸钠+柠檬酸显著增加了植物根附近土壤中A-As含量(图4B和图4D),增加了蜈蚣草生物量(图2B和图2E),促进了蜈蚣草对土壤砷的吸收。

Mandal等[31]在研究磷肥对蜈蚣草萃取低砷污染土砷含量时发现,按0.226 g·kg^{-1}的比例,平均每2周向盆栽中添加1次磷酸二氢钙,4个月后与对照相比,地上部生物量增加19.1%,地上部总砷含量增加46.5%。与此对照,本实验平均50 d向盆栽中加入0.375 g·kg^{-1}活化剂,5个月收获盆栽。本实验活化剂加入总量远小于Mandal等[31]加入的磷肥量,但蜈蚣草萃取砷效率基本相同,说明本实验中三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用在促进植物生长和提高蜈蚣草羽叶砷萃取量等方面效果优于该磷肥。因此,为提高蜈蚣草修复效率,在土壤中加入复合化学活化剂三聚磷酸钠+柠檬酸是一个较好的途径。

3.2 三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用能提高植物光合作用和抗氧化作用

本研究发现,三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用能提高植株羽叶叶绿素含量和GSH以及MDA含量(图3),这可能是因为活化剂提供了植物生长所需的磷、钠、碳等元素,促进了植物的生长,因此光合作用增强,叶绿素含量增加。活化剂增大了土壤中A-As含量,从而导致叶片中砷浓度增加,细胞受到胁迫,MDA含量增加,因此刺激了叶片合成更多的GSH,降低砷对叶片的毒害。有研究表明[32],土壤A-As含量下降可导致生菜叶绿素含量增加,MDA含量降低。

第一次的蜈蚣草在种植之前地上部本身已生长至15 cm,而第二次收获的蜈蚣草则是从地上部发芽开始生长,活化剂对植物会有胁迫作用,这种影响对于弱小的蜈蚣草的影响会更大,因此二次收割时活化剂组蜈蚣草体内MDA含量显著升高,而第一次活化剂组虽比对照高但不显著。

3.3 三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用能改善土壤营养状况

许多研究表明,土壤酶活性与土壤肥力之间存在显著相关关系,土壤酶参与土壤有机质的转化,释放有效成分,能够促进植物生长,土壤肥力水平很大程度上受制于土壤酶活性的影响[33]。由图5A可知,加入活化剂三聚磷酸钠+柠檬酸后,土壤脲酶和脱氢酶活性均有显著增加。有研究发现,土壤脲酶活性与土壤中磷的含量呈显著正相关[34]。三聚磷酸钠+柠檬酸组中三聚磷酸钠增加了土壤中磷的含量,因此使得脲酶活性增大,从而增加了土壤中氮等营养元素含量。由于脱氢酶大多存在于微生物体内,其活性增大也说明微生物代谢更加旺盛。因此土壤肥力得到了提高,导致蜈蚣草生物量增加。而总磷酸酶含量略有降低,说明磷的加入可能抑制了土壤磷酸酶的活性。

土壤微生物在土壤生态系统中起着不可替代的重要作用,它们的群落组成失衡将会直接导致土壤生态系统紊乱,影响土壤养分循环和农业生产。从图5B可知,与CK相比,三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用后虽然会使微生物组成略有影响,但总的来说不会影响土壤微生物丰富度,因此实际运用中不会破坏土壤生态系统。

值得注意的是,由于本研究仅限于盆栽试验,其实际应用效果仍需进行大田验证。由于大田环境较为复杂,如干旱或季节性降水等问题,施用活化剂时间、用量和方式等仍需进一步优化。此外,本研究仅针对低砷污染土壤植物修复,对于重度砷污染或复合型重金属污染土壤的修复仍需进行验证。

4 结论

(1)与单一化学活化剂三聚磷酸钠或柠檬酸相比,两者配合施用时对提高土壤中有效态砷含量的效果更为显著。三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用对土壤中各形态砷含量的变化有一定的影响,主要表现为促进难利用态砷向可利用态砷的转化。

(2)盆栽试验证明三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用能够提高蜈蚣草羽叶砷萃取效率,主要是由于其显著增加了土壤有效态砷含量,增加了植株羽叶生物量和砷浓度,砷萃取效率与这些指标呈正相关。此外,叶绿素含量和GSH含量均有所升高,也对蜈蚣草萃取砷有促进作用。三聚磷酸钠和柠檬酸配合施用能够提高土壤脲酶和脱氢酶活性,提高土壤肥力,且不会破坏土壤生态系统平衡。

参考文献:

[1] Mandal B K, Suzuki K T. Arsenic round the world: A review[J]. *Talanta*, 2002, 58(1): 201-235.

[2] 罗 婷, 景传勇. 地下水砷污染形成机制研究进展[J]. 环境化学, 2011, 30(1): 77-83.
LUO Ting, JING Chuan-yong. Research progress on mechanisms of arsenic mobilization in groundwater[J]. *Environmental Chemistry*, 2011, 30(1): 77-83.

[3] Zhao F J, Mcgrath S P, Meharg A A. Arsenic as a food chain contaminant: Mechanisms of plant uptake and metabolism and mitigation strategies[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2010, 61(1): 535-559.

[4] 魏复盛, 杨国治, 蒋德珍, 等. 中国土壤元素背景值基本统计量及其特征[J]. 中国环境监测, 1991, 7(1): 1-6.
WEI Fu-sheng, YANG Guo-zhi, JIANG De-zhen, et al. Basic statistics and characteristics of background value of soil elements in China [J]. *Environmental Monitoring in China*, 1991, 7(1): 1-6.

[5] 魏梁鸿, 周文琴. 砷矿资源开发与环境治理[J]. 湖南地质, 1992, 11(3): 259-262.
WEI Liang-hong, ZHOU Wen-qin. Development of arsenic mineral resources and Environmental control[J]. *Hunan Geology*, 1992, 11(3): 259-262.

[6] Wang X, He M, Xie J, et al. Heavy metal pollution of the world largest antimony mine-affected agricultural soils in Hunan Province (China) [J]. *Journal of Soil and Sediments*, 2010, 10(5): 827-837.

[7] Cai L M, Xu Z C, Qi J Y, et al. Assessment of exposure to heavy metals and health risks among residents near Tonglushan mine in Hubei, China[J]. *Chemosphere*, 2015, 127: 127-135.

[8] 翁焕新, 张霄宇, 邹乐君, 等. 中国土壤中砷的自然存在状况及其成因分析[J]. 浙江大学学报(工学版), 2000, 34(1): 88-92.
WENG Huan-xin, ZHANG Xiao-yu, ZOU Le-jun, et al. Natural existence of arsenic in soil of China and its cause of formation[J]. *Journal of Zhejiang University(Engineering Science)*, 2000, 34(1): 88-92.

[9] 陈同斌. 重金属对土壤的污染[J]. 金属世界, 1999(3): 10-11.
CHEN Tong-bin. Contamination of soil by heavy metals[J]. *Metal World*, 1999(3): 10-11.

[10] 李圣发, 王宏镔. 土壤砷污染及其修复技术的研究进展[J]. 水土保持研究, 2011, 18(4): 248-253.
LI Sheng-fa, WANG Hong-bin. Advances in the study of arsenic-contaminated soil and its remediation technology[J]. *Research of Soil and Water Conservation*, 2011, 18(4): 248-253.

[11] Chen T, Wei C, Huang Z, et al. Arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and its arsenic accumulation[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2002, 47(11): 902-905.

[12] Rodrigues S M, Henriques B, Coimbra J, et al. Water-soluble fraction of mercury, arsenic and other potentially toxic elements in highly contaminated sediments and soils[J]. *Chemosphere*, 2010, 78(11): 1301-1312.

[13] 王海娟, 宁 平, 张泽彪, 等. 含砷金矿的蜈蚣草除砷预处理初步研究[J]. 武汉理工大学学报, 2010, 32(8): 59-63.
WANG Hai-juan, NING Ping, ZHANG Ze-biao, et al. Pretreatment of arsenic gold ore by *Pteris vittata* L.[J]. *Journal of Wuhan University of Technology*, 2010, 32(8): 59-63.

[14] 何春芳, 叶近婷, 高 阳, 等. 三聚磷酸钠与柠檬酸钠钙螯合机理和螯合能力的对比分析[J]. 分子科学学报, 2015, 31(3): 198-202.
HE Chun-fang, YE Jin-ting, GAO Yang, et al. Comparative analysis of calcium chelation mechanism and chelating ability about sodium tripolyphosphate and citric acid sodium[J]. *Journal of Molecular Science*, 2015, 31(3): 198-202.

[15] Rochette E A, Li G C, Fendorf S E. Stability of arsenate minerals in soil under biotically generated reducing conditions[J]. *Soil Sci Soc Am J*, 1998, 62(6): 1530-1537.

[16] Anawar H M, Sanchez A G, Regina I S. Evaluation of various chemical extraction methods to estimate plant-available arsenic in mine soils[J]. *Chemosphere*, 2008, 70(8): 1459-1467.

[17] 韦东甫, 华 珞, 白玲玉, 等. 土壤对砷的缓冲性与砷的生物效应及形态分布[J]. 土壤, 1996(2): 94-97.
WEI Dong-fu, HUA Luo, BAI Ling-yu, et al. Buffer of soil to arsenic, biological effects and morphological distribution of arsenic[J]. *Soils*, 1996(2): 94-97.

[18] 涂 从, 苗金燕, 何 峰. 土壤砷有效性研究[J]. 西南农业大学学报, 1992, 14(6): 477-482.
TU Cong, MIAO Jin-yan, HE Feng. A study of availability of soil arsenic[J]. *Journal of Southwest Agricultural University*, 1992, 14(6): 477-482.

[19] Lin Z Q. Volatalization[J]. *Encyclopedia of Ecology*, 2008: 3700-3705.

[20] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
LI He-sheng. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.

[21] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
GUAN Song-yin. Soil enzyme and its research method[M]. Beijing: Agricultural Press, 1986.

[22] Shanmugam V, Verma R, Rajkumar S, et al. Bacterial diversity and

soil enzyme activity in diseased and disease free apple rhizosphere soils[J]. *Ann Microbiol*, 2011, 61(4):765-772.

[23] Lombi E, Zhao F J, Fuhrmann M. Arsenic distribution and speciation in the fronds of the hyperaccumulator *Pteris vittata*[J]. *New Phytol*, 2002, 156(2):195-203.

[24] Han Y H, Fu J W, Xiang P, et al. Arsenic and phosphate rock impacted the abundance and diversity of bacterial arsenic oxidase and reductase genes in rhizosphere of As-hyperaccumulator *Pteris vittata*[J]. *J Hazard Mater*, 2017, 321:146-153.

[25] Qamar N, Rehman Y, Hasnain S. Arsenic-resistant and plant growth-promoting *Firmicutes* and γ-*Proteobacteria* species from industrially polluted irrigation water and corresponding cropland[J]. *J Appl Microbiol*, 2017, 123(3):748-758.

[26] Li Y, Guo H M, Hao C B. Arsenic release from shallow aquifers of the Hetao basin, Inner Mongolia: Evidence from bacterial community in aquifer sediments and groundwater[J]. *Ecotoxicology*, 2014, 23(10): 1900-1914.

[27] Yin X, Chen J J, Cai W M. Evaluation of compounding EDTA and citric acid on remediation of heavy metals contaminated soil[J]. *Environmental Science*, 2014, 35(8):3096-3101.

[28] 雷 梅, 陈同斌, 范稚连, 等. 磷对土壤中砷吸附的影响[J]. 应用生态学报, 2003, 14(11):1989-1992.
LEI Mei, CHEN Tong-bin, FAN Zhi-lian, et al. Effect of phosphorus on arsenic adsorption by three different soil[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(11):1989-1992.

[29] 李 瑜, 尹春明, 周瑞宝. 三聚磷酸钠改性小麦面筋蛋白研究[J]. 粮食与油脂, 2002(2):4-5.
LI Yu, YIN Chun-ming, ZHOU Rui-bao. Study on wheat gluten modified by sodium tripolyphosphate[J]. *Cereals and Oils*, 2002(2):4-5.

[30] Tu C, Ma L Q. Effects of arsenate and phosphate on their accumulation by an arsenic-hyperaccumulator *Pteris vittata* L.[J]. *Plant Soil*, 2003, 249(2):373-382.

[31] Mandal A, Purakayastha T J, Patra A K, et al. Phytoremediation of arsenic contaminated soil by *Pteris Vittata* L. I. Influence of phosphatic fertilizers and repeated harvests[J]. *Int J Phytoremediat*, 2012, 14(10):978-995.

[32] 熊俊芬, 金晶炜, 付 燕, 等. 改良剂对砷污染土壤中生菜生理指标的影响及评价[J]. 热带作物学报, 2011, 32(1):147-151.
XIONG Jun-fen, JIN Jing-wei, FU Yan, et al. Effects of the modifiers on physiological index of iceberg lettuce from soil polluted by arsenic [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2011, 32(1):147-151.

[33] 胡建忠. 人工沙棘林地土壤酶分布及其与土壤理化性状间关系的研究[J]. 沙棘, 1996, 9(2):22-28.
HU Jian-zhong. Study on the relationship between soil enzyme distribution and soil physical and chemical properties in artificial seabuckthorn woodland[J]. *Hippophae*, 1996, 9(2):22-28.

[34] 安韶山, 黄懿梅, 郑粉莉. 黄土丘陵区草地土壤脲酶活性特征及其与土壤性质的关系[J]. 草地学报, 2005, 13(3):233-237.
AN Shao-shan, HUANG Yi-mei, ZHENG Fen-li. Urease activity in the loess hilly grassland soil and its relationship to soil property[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2005, 13(3):233-237.