

有机氯农药(六六六)污染土壤植物修复技术研究

摘 要

本文主要分为两部分内容:

第一部分 土壤中六六六(HCH)残留量提取方法的确定

采用气相色谱毛细管色谱柱分离、电子捕获检测器检测土壤中残留的HCH含量。研究了索氏提取和超声波提取2种方法提取土壤中HCH的效果,结果表明,超声波提取法时间短、效率高,加标回收率在90.32%~103.92%之间,相对标准偏差为2.32~9.33。该方法准确、灵敏。

第二部分 HCH污染土壤的植物修复

(1)通过盆栽试验研究了受HCH及其主要降解产物污染土壤的植物修复技术,比较了12种牧草对 α -HCH污染土壤的修复能力。研究表明,种植不同品种的牧草对土壤中 α -HCH的消解的影响存在很大差异,其中种植多花黑麦草和紫花苜蓿的处理效果最好,与种植其它十种植物的处理之间达极显著水平。谷稗次之,其次为高丹草、苦荚菜和菊苣,再次鲁梅克斯,木豆、籽粒苋、御谷、柱花草、大翼豆。

(2)植物生物量的根/冠与土壤中HCH的消解率相关性达 $R=0.928$,因此,我们认为,较高的根/冠是筛选植物的重要指标之一。

(3)通过对12种牧草修复周期的预测,种植多花黑麦草和紫花苜蓿只需三次即可达到预定要求,较其它牧草更为经济、适宜。

(4)在HCH污染土壤(1000 mg/kg)中,以紫花苜蓿、多花黑麦草和籽粒苋为供试植物,研究了土壤中HCH浓度对牧草种子萌发和种子活力的影

响。结果表明,低浓度的 HCH 可以促进紫花苜蓿和多花黑麦草的生长,且紫花苜蓿能耐受更高土壤 HCH 浓度。而低浓度土壤 HCH 就会严重抑制籽粒苋的生长发育。

(5)以紫花苜蓿、多花黑麦草和籽粒苋为供试植物,研究了植物修复 HCH 污染土壤的根际效应。在 HCH 浓度为 1.09 mg/kg 的土壤中种植三个月,分析了不同植物对土壤中的 HCH 降解的影响。结果表明,植物的根系可大大提高土壤中微生物数量和酶的活性,微生物的数量和酶的活性与土壤中 HCH 的降解密切相关。试验结束后,土壤中 HCH 及其四种异构体的总含量降低幅度为 43.87%—65.79%。但是,在去除土壤中 HCH 的作用上,草的吸收是轻微的,土壤中污染物消失的主要原因是土壤中生物降解作用的结果。

关键词: 六六六 (HCH) 毛细管气相色谱 植物修复
 土壤微生物 土壤酶

STUDIES ON THE PHYTOREMEDIATION OF HCH-CONTAMINATED SOIL

ABSTRACT

Two parts are given in the thesis:

1. Study on the extracted methods of HCH residue in soil

The Capillary gas chromatographic method (GC) was introduced for determining HCH residues in soil. And two extracted methods, such as Soxhelt Extraction and Ultrasonic wave Assistant Extraction(UAE) have been studied. The analytical results showed that the UAE was more efficient and the time was shorter. The method was proved to be simple, rapid and sensitive. The sample recovery was 90.32%~103.92%, and the relative standard deviation was 2.32~9.33.

2. The phytoremediation of HCH contaminated soil

(1) A phytoremediation technique for contaminated soil by HCH and its main degradation products planting 12 species of grasses was described. The results showed that different species have wide differences capacity in elimination of pollution. *Medicago sativa* L and *Lolium multiflorum* L. are best, the third is *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. The fourth to sixth are *Sorghum Hybrid* Sudangrass, *Vaccua denticulata* Max. and *Cichorium intybus* L. the last are *Rumex patientia* x *R. tianschanicus*, cv. *Rumex k-1* , *Cajanus cajan* (Linn) H. & A. , *Amaranthus hypochondriacus* L , *Pennisetum americanum* L. Suhm. , *Stylosanthes gracilis* H.B.K. and *Macroptilium atropurpureum*.

(2) Correlation (R) between biomass S/R and HCH-dissipation in soil is $R=0.928$, so high S/R is one of the important indicators to screening plants.

(3) Through forecasting the period of repairing soil of twelve grasses, *Medicago*

sativa L and *Lolium multiflorum* L can reach the aim within only three periods. The two grasses are more economical and appropriate than others.

(4) After species screened, *Lolium multiflorum* L, *Medicago sativa* L and *Amaranthus hypochondriacus* L were studied for relative growth vigor index (RGVI) and seeds vitality in HCH-contaminated soil (1000 mg/kg). The results showed that low concentrations of HCH can promote *Lolium multiflorum* L and *Medicago sativa* L, and the latter can resist higher soil HCH concentrations. But *Amaranthus hypochondriacus* L was seriously restrained in the low HCH concentrations in soil.

(5) Studied for rhizosphere characterization to optimize HCH phytoremediation. Grasses were grown in HCH-contaminated soil at 1.09 mg/kg for three months, an analysis of the different plants on soil degradation, the impact of plant. The result showed that the root system of plants can greatly increase soil microbial counts and enzyme activity, and the number of microbial enzymes with the reactive soil degradation was closely related to the plant. After three months, the soil of the plant and its four isomers lower margins for the overall content 43.87%-65.79%. However, in decrease of HCH and its main degradation product in soil, the function of absorb and concentration of HCH and its main degradation product by grass was very low. The key factor was microdegradation of pesticides in soil.

KEY WORDS: HCH=hexachlorocyclohexane Capillary gas chromatography
Phytoremediation soil microbe soil enzyme

前 言

土壤是生态系统的重要组成部分,也是人类赖以生息的环境资源之一。但是在过去几十年间,随着经济的飞速发展和人口的不断增加,由于对土地的不合理利用和各种污染物的肆意排放,土壤环境正在受到越来越大的威胁,越发暴露出不堪重负的现象。

土壤是各种物质生物地球化学循环的关键环节,是大气、水体及固体废弃物中污染物在环境中迁移、滞留和沉积的目的地。土壤污染不仅直接致使生活在其中的生物衰亡,而且通过土壤—植物—根系系统经由食物链危及人类的健康和安全,还通过污染物的迁移引起地表水和地下水的污染,在多个层面上构成对人类生存环境的威胁,使人类暴露于更大的环境风险之中。因此受污染土壤的修复技术也成为环保专业工作者的研究热点。

按照污染物的种类,土壤污染可以分为以重金属为代表的无机污染和各种有机物污染,后者通常包括石油、农药、木材防腐剂、能源燃烧产生的多环芳烃(PAHs)以及垃圾渗漏形成的种种有毒有害化合物等。相对于重金属污染,有机物污染由于种类繁多、结构各异,产生的环境问题以及相应的修复技术也更复杂^[1]。

随着科学技术的发展,目前对污染土壤的修复技术主要有物理修复(physical remediation):其中包括分离修复、蒸汽浸提(soil vapour extraction, SVE)、固化/稳定化(solidification/stabilization)、玻璃化、热力学、热解吸附、电动力学、和冰冻法等。化学法修复(chemical remediation):其中主要包括原位化学淋洗(in-situ soil leaching and flushing/washing)、异位化学淋洗(out-situ soil leaching and flushing/washing)、溶剂浸提(solvent extraction technology)、原位化学氧化(in-situ chemical oxidation)、原位化学还原与还原脱氯修复(in-situ chemical reduction and reductive dehalogenation remediation)和土壤性能改良技术等^[2]。生物修复:主要包括植物修复(phytoremediation)、动物修复、微生物修复(bioremediation)。

此外,污染生态化学修复(eco-chemical remediation)是近年来兴起的一种技术,并被有关专家认为是21世纪污染土壤修复技术的发展方向。它是微生物修复、植物修复和化学修复技术的综合,具有生态影响小、费用低、和市场结合紧密,容易被大众接

受、应用范围广、易操作，容易推广，可以在其它方法不能进行的场地进行等优点^[3, 4]。生态化学修复注意与土壤的自然生态过程相协调，其最终产物为二氧化碳、水和脂肪酸，不会形成二次污染。

本研究以典型有机农药，曾在我国大面积使用多年的六六六为例，研究了植物修复有机污染土壤的机理。

一 研究目的和意义

农药是保证农作物取得高产的重要农业生产资料之一，据统计我国施用农药面积在 2.8 亿 hm^2 以上，2003 年全国农药使用量达 131.2 万 t，全国平均用量为 $2.34\text{kg}/\text{hm}^2$ 。这些施用的农药，有 50%—60% 残留于土壤，只有 10%—20% 依附于植物，目前，我国约有 87—107 万 hm^2 的农田土壤受到农药污染。而对已受有机农药污染的土壤，传统修复方法包括通过焚烧或煅烧的热处理法和采用化学试剂的清洗法等，这些方法对有机污染虽有一定修复效果，但也存在注入投资及运作费用高，不易管理与操作，容易产生二次污染等问题，不宜普遍采用。近年来，利用植物吸收、降解、挥发、过滤、固定等作用，净化土壤和水体中重金属元素、有机污染物、放射性核素的环境修复技术——植物修复技术（phytoremediation）在重金属、多环芳烃类（PAHs）、多氯苯类（PCBs）等污染土壤和水体环境中都取得了一些进展，并大规模运用于实地修复，取得了巨大的经济和生态效益。但利用植物修复有机农药污染土壤的研究并不多见，具有很大的发展潜力。

本课题研究的旨在对受有机农药污染土壤中，筛选出某种对特定污染物具有高富集和降解能力的植物，探明植物修复过程中根际微生物多样性动态变化特征及其影响机制，为植物修复技术在有机物污染土壤的修复中的应用提供依据。开展这一领域的研究，将对提高土壤和水的环境质量、保证农产品的安全、实现农业可持续发展等有着重要的理论和现实意义。

二 有机氯农药六六六简介及其检测方法

（一）有机氯农药六六六简介^[5]

六六六，又名六氯环己烷（HCH），化学式为 $\text{C}_6\text{H}_6\text{Cl}_6$ ，1825 年首先由 Michael Faraday

合成,1942 年发现其杀虫功效。根据氢原子与氯原子在环两侧位置不同,目前已知有八种异构体(2α 、 β 、 δ 、 ϵ 、 γ 、 η 、 θ),其中 γ 异构体具有明显的杀虫效力,但其含量只占 12%—14%,其余为无效异构体,含量分别为 α -HCH 55%—80%, β -HCH 5%—14%, δ -HCH 2%—10%, ϵ -HCH 3%—5%。当六六六中 γ -HCH 含量高达 99%以上时,称为林丹。

工业品六六六为白色固体,65℃开始熔化。它是多种异构体的混合物。六六六对光、热、氧化以及酸性介质均很稳定,但在碱介质中发生氯化氢的消除反应,最终得到 1,2,4-三氯苯。 γ -HCH 具有较高的蒸汽压(20℃为 9.4×10^{-4} Pa)。该药难溶于水,易溶于苯、丙酮、氯仿、乙醚等有机溶剂,能溶于醇。

六六六在自然环境中降解很慢。有人得出在水稻田中, γ -HCH、 α -HCH、 β -HCH、 δ -HCH 的半衰期分别为 180、360、620、720h 的结论:在人体血液中, β -HCH 的半衰期为 7.2 年,而 γ -HCH 的半衰期为 1d。

林丹的大鼠口服急性毒性 LDS_{50} 为 $76 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。给药后曾在动物的脂肪和肺中发现林丹的存在,但能相当快的排除体外,积蓄体内的危险性很小。然而,工业品六六六由于含有一定量的 β -HCH,使积蓄的可能性及慢性毒性大为提高。

六六六是一种神经毒剂,主要影响中央神经系统,昆虫中毒后,在神经索内发现游离的乙酰胆碱增加,但对胆碱酯酶无抑制作用。六六六对昆虫呼吸酶也有一定作用,以 γ -HCH 作为杀虫剂有效成分,对昆虫有触杀、胃毒和熏蒸作用。六六六是一种广谱性杀虫剂,主要用于防治咀嚼和刺吸口器害虫,但对蚜螨效果不好。它可用来防治水稻、经济作物、果树、蔬菜等多种虫害,如水稻三化螟、稻飞虱、稻苞虫、稻蓟马等。六六六也是一种重要的土壤杀虫剂,用于防治蝼蛄、地老虎、金针虫、甜菜象甲等。

(二) 有机氯农药残留分析方法

有机氯农药的主要品种六六六(HCH)和滴滴涕(DDT)分别于 1825 年和 1874 年问世,广泛应用于农业植保和公共卫生,曾成为世界上大多数国家首选的杀虫剂。有机氯农药是我国最早大规模使用的农药,20 世纪七十年代是我国使用有机氯农药的高峰期,八十年代初达到顶峰。由于其化学性质稳定,在环境中降解十分缓慢,以及它的亲脂性等特点,在环境和动、植物体内大量蓄积并通过食物链进入人体,对人类机体健康

构成潜在威胁。1983 年我国开始禁止生产 HCH 和 DDT 等有机氯农药。虽然有机氯农药在中国已被禁止使用了二十多年,但在土壤中仍能检测出有机氯农药残留^[6]。

薄层色谱法(thin layer chromatography,TLC 法)具有操作简便,快速等特点,但只能进行定性和半定量,精密度和灵敏度较低,可满足土壤中有机氯农药残留检测要求。

气相色谱法(GC 法)在农残分析中的优越性是无需质疑的,尤其是近年来高效毛细管柱 GC 和新型检测器广泛应用于农残分析,大大提高了检测灵敏度,缩短了分析时间。

气相色谱——质谱联用法(gas chromatography-mass, GC-MS) GC-MS 联用可大大提高分析灵敏度,并可对多种农药进行确认和鉴定结构,已越来越多的用于农残分析。如今安捷伦公司还建立了 600 多种农药的质谱图库,不需标样,只须跟库存图谱对照,就可对农药进行定性分析。

我国目前主要采用溶剂萃取 GC/ECD 法测定有机氯农药。

三 国内外污染土壤修复研究进展及应用

(一) 污染土壤修复研究进展

目前,对农药污染土壤的修复技术主要有物理修复、化学修复、生物修复、化学与生物相结合的修复等。传统的方法是将受污染的土壤挖掘后再处理,工程大、费用高。郭明等研究采用化学修复方法修复农药残留的土壤^[7],结果表明,通过单糖组分处理及改变土壤 pH 值均在一定程度上影响了农药的降解率。土壤淋洗技术也是一种重要的化学修复,利用水压推动清洗液通过受污染土壤将污染物从土壤中清除。在处理农药污染土壤时,通常加入表面活性剂或有机溶剂可以达到更好的效果。如 Roy 等从 *Sapindus mukurossi* 果皮中提取的生物表面活性剂化学式为 $(C_{26}H_{31}O_{10})_n$,其 0.5%和 1.0%生物表面活性剂溶液去除土壤中农药六六六的效率分别为清水的 20 倍和 100 倍^[8]。土壤真空吸引法(SVE)是一种重要的物理—化学修复方法。它是利用真空泵产生负压,驱使空气流过受农药污染的不饱和土壤孔隙而解吸并夹带有机成分流向抽取井,并最终于地上处理。对于受挥发性有机农药污染的土壤的净化来说,SVE 是一种很有效的方法^[9]。近年来污染土壤的生物修复受到了广泛的重视,尤其是植物修复技术以太阳能为驱动,不破坏土地结构,无二次污染等优点,成为研究热点之一。国外在大量研究的基础上已有

许多成功的实例,并且开发出相应的产品进行实地修复,产生了巨大的经济和生态效益。1998年4月美国市场报告显示,全美植物修复市场销售在1700万~3000万美元之间,估计2005年将达到2亿美元^[10]。植物修复(phytoremediation)是指利用植物吸收、降解、挥发、过滤、固定等作用,净化土壤和水中金属元素、有机污染物、放射性核素的环境修复技术。与其它修复技术相比,植物修复技术成本较低,Drake等人(1997年)曾估算过植物修复技术和其它技术的处理费用的比较列于表1^[11]。

表1 污染土壤的植物修复与其它各种修复技术的费用比较
Table1 Cost of phytoremediation compared to other techniques

技术类型	处理成本(美元/t)
植物修复技术(Phytoremediation)	10~35
原位微生物修复技术(In situ bioremediation)	50~150
向土通气(Ventilate to soil)	20~220
直接热处理(Indirect thermal)	120~300
清洗土壤(Soil washing)	80~200
固化/稳定化处理(Solidification/stabilization)	240~340
溶剂提取法(Solvent extraction)	360~440
焚烧法(Incineration)	200~1500

(二) 植物修复在农药污染土壤中的应用

有机农药可以作为植物和根际区的微生物营养源,从而改变农药的化学性质和毒性,促进农药在土壤中的降解,减少环境中的农药残留量。农药污染土壤的植物修复在国内外已有报道和实际应用,阿特拉津是典型的被广泛使用的除草剂,Kruger等人研究发现,在用植物修复多种农药污染的土壤时,植物 *Kochia* 可明显地吸收多年沉积的阿特拉津^[12];美国衣阿华州为了防治农业径流的影响,截留和去除除草剂莠去津和硝酸盐对下流河流和地下水的污染,沿河栽种了杨树建立缓冲带,结果使10%~20%的莠去津被树木吸收,且地表水硝酸盐含量由50~100mg/L降低到5mg/L。Perkovich同样研究了莠去津的植物修复,种植在含莠去津土壤上的地肤草大大加速了莠去津在根际区的矿化,36d后其根际区的莠去津的矿化率达62.1%,而没有种植物的土壤与灭菌土中莠去津的矿化率分别为48.7%和4.4%^[13]。我国目前使用的农药仍以杀虫剂为主,用量达 14×10^4 t/a以上,占总用量的68%^[14]。Hsu等研究了二嗪磷与对硫磷在菜豆根系中的降解,30d后二嗪磷和对硫磷的降解分别为12.9%和17.9%,菜豆的根系分泌物以及根瘤等均促进了

有机农药的降解。夏会龙等人研究了利用凤眼莲对水溶液中乙硫磷、三氯杀螨醇和三氟氯氰菊酯进行植物修复,结果表明,10~11g 凤眼莲可将 250ml 的 1mg/L 乙硫磷、三氯杀螨醇和三氟氯氰菊酯消解速率分别提高 28.33%、106.64%和 362.23%^[15]。60 到 70 年代,六六六、DDT 等高残留有机氯农药大量使用,虽然我国在 1983 年禁止使用,但土壤中仍有大量的有机氯农药的残留。安凤春等利用早熟禾、多年生黑麦草、高羊草等 10 种草坪草修复受 DDT、HCH 和三氯杀螨醇污染土壤,结果表明这是一种经济、简便和可行的方法,植草三个月 DDT 及其主要降解物的总含量分别降低 19.6~73.0%^[16]。植物根际区农药的降解是一个复杂的过程,土壤微生物、酶系统以及土壤的理化性状均影响农药在根际区的降解。因而植物修复与生物修复、物理化学修复等相结合,往往能更好的提高修复效果。应注意的是,某些与这类密切联系的植物,如粮食作物、蔬菜等,即使具有很高的降解能力也不能使用,以防止对人类产生不可预料的后果。

(三) 植物修复农药污染土壤的机理

传统的有机污染物的生物修复是用微生物来完成的,有人认为研究植物去除有机物比较困难,因为有机物在植物体内的形态较难分析,形成的中间代谢物也较复杂,很难观察其在植物体内的转化^[17],但与微生物相比,植物修复更适合用于现场修复。近几年相关的研究也较多,有的已达野外应用的水平^[18]。

植物修复技术即利用植物能忍耐和超量累积环境中污染物的特性,通过植物的生长来清除环境中污染物的方法(见图 1)^[19]。

在农药污染的植物修复中,农药的理化性质、环境条件、植物种类等均影响着修复的效果。其中最主要的参数是辛醇-水分配系数 K_{ow} ,研究表明,具有中等 $\lg K_{ow}$, (约 1-4)的农药易被植物根吸收,这些化合物可以在植物木质部流动,但却不能在韧皮部流动^[20]。土壤中这类农药的污染比较适用于植物修复技术。 $\lg K_{ow} > 4$ 的农药大量地被植物根部吸收,但却不能大量转移到幼芽上,可依赖根表面的降解能力,或利用收获根的修复技术^[21],收获根,晒干,完全燃烧以破坏这类农药。植物修复的适用性还依赖于环境因子(如土壤 pH、有机质含量、水分条件、粘土含量与类型^[22]、气温、风速等),环境条件的改变会影响农药的生物利用率。同时,耕作制度也可以影响植物修复效果,如通过挖掘土壤,有利于植物根系处理那些密度大于水、 $\lg K_{ow}$ 较低、来源于点源(如泄漏)且在

土壤中呈垂直浓度分布的农药。

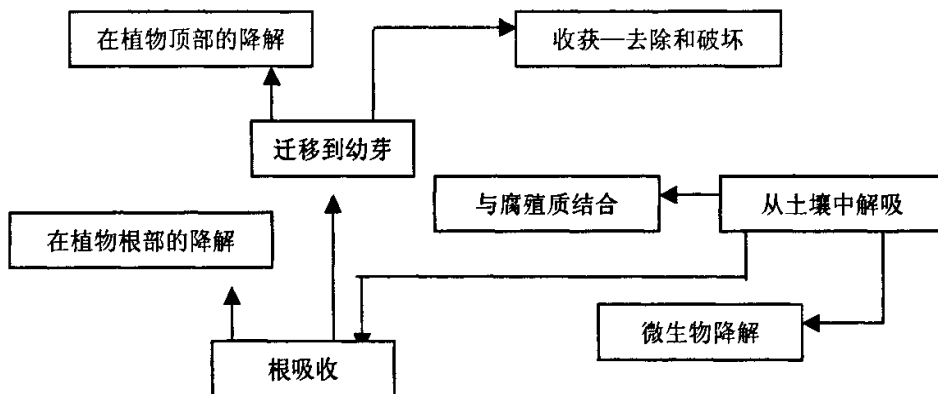


图1 土壤污染的植物修复技术

Tab.1 Phytoremediation technology of contaminated soils

有机农药污染土壤的修复方式有4种^[23], ①植物提取(phytoextraction): 植物直接吸收有机污染物并在体内积累, 植物收获后进一步处理; ②植物降解(phytodegradation): 植物本身及其相关微生物和各种酶系统将有机污染物降解为小分子的 H_2O 和 CO_2 , 或转化为无毒性的中间产物; ③植物稳定(phytostabilization): 植物在与土壤的共同作用下, 将有机物固定并降低其生物活性, 以减少其对生物与环境的危害; ④植物挥发(phytovolatilization): 植物挥发是与植物吸收相连的, 它是利用植物吸取、积累、挥发而减少土壤有机污染物。

植物修复有机农药有三种机制: 直接吸收并在植物组织中积累非植物毒性的代谢物; 释放促进生物化学反应的酶; 强化根际(根—土壤界面)的矿化作用。

1 植物对有机农药的直接吸收和降解

植物对有机农药的吸收受以下三个因素影响: 化合物的化学特性; 环境条件和植物种类^[24]。植物对位于浅层土壤的中度憎水有机物(辛醇-水的分配系数的对数 $\lg K_{ow}=0.5\sim 3$)有很高的去除率, 憎水有机物($\lg K_{ow}>3.0$)和植物根表面结合得十分紧密, 致使它们在植物体内不能转移, 水溶性物质($\lg K_{ow}<0.5$)不会充分吸着到根上, 迅速通过植物膜转移。有机农药被植物吸收后, 将其在体内降解, 并通过木质化作用使其成为植物体

的组成部分;或通过代谢、矿化作用将其转化为 CO_2 和 H_2O ; 还可通过植物的挥发作用达到去除土壤中农药的目的^[25]。植物对农药的直接吸收需要有发达的根系, 较高的根/冠能提高植物对农药的吸收性能, 因而选择植物时要考虑具有发达的根系, 具有发达根系的植物能同时满足对亚表层土壤污染的修复^[26]。不同种植物对农药的吸收与富集能力也有很大的差异, 同一种草对不同品种农药的吸收与富集也不同。有机污染物被植物体吸收后, 参与体内代谢活动, 只有很少一部分不能降解物质或降解不完全物质可在植物体内积累。而对重金属污染土壤, 某些特异植物对特定的金属元素的富集可达植物干重 0.01%。植物对土壤中有机农药的浓度有一定的忍耐性, 高于一定的限度, 植物不但不能起到对有机污染物的降解和去除, 还可导致植物生长受阻, 甚至死亡。某些农药经植物体的代谢后转化为 CO_2 、 H_2O 或气体形态直接从叶表气孔挥发。例如在植物和微生物的共同作用下, 可将含硒农药中硒转化无毒气态的二甲基硒^[27]。Watanabe 等人也利用转基因植物 *Arabidopsis thaliana* 成功将有机和无机态汞盐转换为气态汞, 从植物体内挥发^[28]。

2 植物根系分泌物和酶对有机农药的去除

植物根系可以分泌一些物质到土壤中, 包括酶和一些有机酸。研究表明, 植物光合产物 40% 以上通过根释放到土壤, 供微生物代谢利用, 同时促进根际区微生物生长、繁殖, 进而加速有机农药的降解。Nichols 等研究表明, 植物根际微生物明显比空白土壤中多^[29], Yoshitomi 等通过模拟根际环境, 分离研究根系分泌物和根际微生物对人为污染物的降解的影响, 结果表明, 玉米根系分泌物通过促进根际微生物群落的生长促进砷的矿化作用^[30]。植物根系释放到土壤中的酶可以直接降解有关的化合物, 死亡后的植物还可以将酶释放到土壤继续发挥分解作用。有机农药在植物体内的脱毒过程基本上是在酶的作用下进行的, 大部分属于酶氧化过程。已有研究证实, 硝酸盐还原酶和漆酶可降解军火废物如 TNT, 使之成为无毒的成分, 脱卤酶可降解含氯的溶剂如 TEC (四氯乙烯)^[31]。有机磷的分解主要靠植物根系分泌物中的酸性磷酸酶、真菌产生的酸性或碱性磷酸酶、以及细菌产生的碱性磷酸酶, 亚硝酸还原酶可降解含硝基有机农药。植物修复中酶的研究目前还很有限, 但酶可加速农药的降解已是不争的事实, 今后还有必要在这方面加强研究。

3 根际的生物降解

根际区是农药发生降解是活跃的区域，微生物群落在植物根际区繁殖活动，根分泌物和分解物给微生物提供营养物质，而微生物活动也促进了根系分泌物的释放，两者互惠互利，共同加速了根际区农药的降解。直接连接在植物根系和土壤的微生物——菌根，对农药的降解也具有一定的作用。一方面菌根可以强化植物对农药的耐受性，另一方面农药的某些有机成分又可作为菌根真菌和植株的养分，降低农药的污染程度^[32]。林先贵等研究了施用绿麦隆、二甲四氯和氟乐灵的土壤接种菌根对白三叶草生长的影响，发现接种 VA 菌根真菌后，植株的菌根侵染率、生长量和氮、磷的吸收都显著高于不接种的对照植株^[33]，Menendcz Auan A 等指出，菌根真菌摩西球囊霉（*Glomus mosseae*）侵染的大豆，其生长不受杀虫剂乐果影响，施用 0.5mg/L 的乐果反而增加了摩西球囊霉的孢子萌发^[34]。Ferro 等人研究发现，黑麦草 *Agropyron cristatum* 根际区五氯苯酚的降解比空白土壤明显增加^[35]。以上研究均表明，有机农药污染土壤修复过程中，最重要的环节是根际区土壤微生物的数量和活性以及相关酶的活性。从某种意义说，根系分泌的酶比微生物对农药的降解更重要，因为菌株对农药的降解归根结底是由于其分泌的酶来完成的，且为多种酶协同完成^[36]。

第一章 材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤采自广西大学实验农场, pH6.52; OM 2.52%; CEC 6.43cmol/kg。试验所用牧草见表 1-1。

表 1-1 试验所采用的牧草品种
Table1-1 Pasture species in treatment

序号	品种	产地	来源
1	柱花草 <i>Stylosanthes gracilis</i> H.B.K. (<i>S. guyanensis</i>)	美国	南宁澳盛草业有限公司
2	大翼豆 <i>Macroptilium atropurpureum</i> (DC.) Urb	中国	
3	紫花苜蓿 <i>Medicago sativa</i> L	美国	南宁劲能农业科技有限公司
4	谷稗 <i>Echinochloa crusgalli</i> (L.) Beauv.	丹麦	
5	木豆 <i>Cajanus cajan</i> (Linn) Hrb	中国	
6	鲁梅克斯(K-1) (<i>Rumex patientia</i> x <i>R. flammula</i> , cv. <i>Rumex k-1</i>)	美国	
7	御谷 <i>Pennisetum americanum</i> L.Suhm.	美国	
8	籽粒苋 (<i>Amaranthus hypochondriacus</i> L.)	中国	
9	多花黑麦草 <i>Lolium multiflorum</i> Lam.	丹麦	
10	菊苣 (<i>Cichorium intybus</i> L.)	美国	
11	苦苣菜 (<i>Lactuca denticulata</i> Max.)	中国	
12	高丹草 (<i>Sorghum Hybrid</i> Sudangrass)	中国	

1.2 仪器和装置

GC—17A 气相色谱仪 (日本岛津), 63Ni 电子捕获 ECD 检测器, DB1701 石英毛细管柱, 30m×0.53mm×0.25mm。

200ml 全玻璃索氏提取器、超声波清洗器 (上海科导超声仪器有限公司)、组织捣碎机 (JJ-2 型, 江苏金坛市亿通电子有限公司)、氮扫吹仪 (BF-2000M, 北京八方世纪科技有限公司)、GC17—A 气相色谱仪 (日本岛津)、手提式蒸汽高压灭菌锅 (江阴滨江医疗设备厂)、恒温培养箱 (广大 LRH-250-GS)、洁净工作台 (苏州苏净集团安泰公司)、恒温水浴锅、氮扫吹仪 (BF-2000M, 北京八方世纪科技有限公司)、人工气候箱 (广大 LRH-250-GS)、分析天平、烘箱等。

1.3 药品和试剂

标准样品及试剂: 100 $\mu\text{g/mL}$ α -HCH、 β -HCH、 γ -HCH、 δ -HCH 标准样品, 纯度>99.99%, 购自北京化学试剂公司; 丙酮、石油醚、无水硫酸钠(500 $^{\circ}\text{C}$ 烘3小时后备用)、浓硫酸, 均为分析纯; 硅藻土, 脱脂棉等。培养细菌、真菌、放线菌和测定土壤酶试剂均为国产。

1.4 实验方法

1.4.1 土壤中 HCH 提取方法的确定

1.4.1.1 土壤预处理

取经风干、研细、过 60 目土壤样品置烘箱中, 350 $^{\circ}\text{C}$ 烘烤 8 小时后, 放入干燥器内冷却, 作空白土壤备用。称取 8 份空白土壤, 每份重 10.00g, 分别加入不同体积的 HCH 工作液(2.5 $\mu\text{g/mL}$), 使土壤中 HCH 的含量分别为 0.00、0.10、0.20、0.40 $\mu\text{g/kg}$ 。分别进行索氏提取和超声波提取, 重复($n=6$), 计算精密度和加标回收率。

(1) 索氏提取法(国标法)^[37]

准确称取制备的预处理土壤样品 10.00 g, 置于小烧杯中, 加蒸馏水 2 mL, 硅藻土 4g, 充分混匀, 无损地分四份均匀装入滤纸包后, 将滤纸包放入索氏提取器内。加 100 mL 石油醚-丙酮(1:1), 用 70mL 溶液浸泡土样 12 h 后于 85 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴上加热提取 4h, 待冷却后, 将提取液移入 250 mL 的分液漏斗中, 用 10 mL 石油醚分三次冲洗提取器及烧瓶, 将洗液并入分液漏斗中, 加入 50 mL 硫酸钠(2%)溶液, 振摇 1 min, 静止分层, 弃去下层丙酮水溶液, 留下石油醚提取液, 待净化。

在分液漏斗中加入 5 mL 浓硫酸, 振摇 1 min, 弃去硫酸层, 再加浓硫酸, 重复 4~5 次。然后向弃去硫酸层的石油醚提取液中加入 25 mL 左右的硫酸钠溶液。振摇 10 余次。待其静止分层后弃去水层。如此重复至提取液呈中性为止(一般 2~4 次), 石油醚提取液再经装有少量无水硫酸钠的漏斗脱水, 滤液用氮扫吹近干, 用 1mL 石油醚洗出, 过滤, 供气相色谱测定。

(2) 超声波提取法^[38]

准确称取上述预处理土壤样品 10.00 g 于具塞三角瓶中, 用 70 mL 石油醚-丙酮 (1:1) 浸泡过夜, 超声波提取 15 min, 转入 50mL 离心管, 1500 转/min 离心 5min, 用 1mL 水清洗一次, 上清液用 0.5mL 浓硫酸净化, 弃去磺化层, 反复两次, 再用 1mL 水清洗一次, 取上层清液体供气相色谱进样用。

1.4.1.2 标准样品配制

标准储备液: 用石油醚分别将各 100 μ g/mL, 标准溶液稀释成 10 μ g/mL 的储备液, 密封冰箱保存。

混合标准溶液: 分别从 10 μ g/mL 储备液中准确吸取 2.00mL 于 10mL 容量瓶中。所需标准溶液采用逐级稀释法配制。

1.4.1.3 测定方法及条件

测定方法: 气相色谱法。

测定条件: 进样口温度 250 $^{\circ}$ C, 检测器 300 $^{\circ}$ C, 柱温 140 $^{\circ}$ C—220 $^{\circ}$ C, 5 $^{\circ}$ C/min, 保持 10min, 10 $^{\circ}$ C/min 升至 250 $^{\circ}$ C, 保持 3min

载气高纯氮 99.999%, 柱头压 35kpa, 尾吹气 28ml/min, 无分流进样。

进样量为 1 μ L, 外标法定量计算。

1.4.2 HCH 污染土壤中适宜植物的筛选

1.4.2.1 污染土制备

以 α -HCH 为供试农药, 将 α -HCH 标准样品以石油醚溶解后, 拌入过 60 目筛 700 g 土壤中, 置于瓷盘内充分混匀。自然状态下挥发 3 天后, 期间多次搅拌, 装入封口袋内, 再用 300g 土将瓷盘内所有土粒冲擦干净, 一并倒入袋内混匀备用。

1.4.2.2 盆栽试验

每盆称 25.64g 上述制备的污染土混入未加农药过 3mm 筛土壤内, 使其总重为 700g, 充分混匀后装盆, 经分析测定 α -HCH 浓度为 0.05128mg/kg 土。设不施农药空白对照,

重复三次。将装好污染土壤的花盆底部浸入清水,当水由底部通过毛细管作用上升到土壤表面后,直接播种,待出苗后间苗。多花黑麦草和紫花苜蓿留苗 8 株/盆,柱花草、大翼豆、苦苣菜、籽粒苋留苗 3 株/盆,谷稗、木豆、鲁梅克斯、御谷、菊苣、高丹草留苗 2 株/盆。

1.4.2.3 栽培时间及管理:

栽培时间:2004 年 10 月 19 日——2005 年月 1 月 19 日

管理:花盆置于广西大学实验农场温室大棚,按常规管理方法,每 2 天随机交换盆钵在温室中位置。90 天后采样。

1.4.2.4 测定方法

植株处理:90 天后,以土壤表面为界,收割所有牧草地上部鲜样,称重。地下部从土壤中仔细挑出植物根系,冲洗后擦净。待土壤稍干后,捏碎筛分出余下根系,洗净后杀青烘干,一并称重。

土壤处理:土壤风干后过 60mm 筛,于-18℃冰箱中保存,供检测农药残留量用。

数据处理采用 DPS 软件,多重比较采用 Tukey 法。

1.4.3 HCH 污染程度对植草生长的影响

1.4.3.1 不同浓度污染土壤制备

将直径 90 mm 培养皿用蒸馏水清洗后放入烘箱中烘干,放 2 层滤纸,加入 50g 供试土壤,拌入不同浓度六六六原粉,使各处理 HCH 浓度分别为 10、20、50、100、500、1000 mg/kg 土,以不施农药为对照。

1.4.3.2 种植与培养

将供试种子均分 3 份,在每个培养皿中均匀地摆放 10 粒种子。将培养皿放入人工光照培养箱,25±1℃培养一周,以当天胚根和胚芽长到种子本身长度的一半为发芽标准,从起始发芽每天记录发芽数。

1.4.3.3 测定

采用直接发芽的方法进行种子萌发特性实验。根据文献中有关标准^[39], 实验结束时, 测正常幼苗鲜重, 计算幼苗活力指数(growing vigor index, GVI)和相对幼苗活力指数(relative grow-ngvigor index, RGV_I)^[56], 即

$$I_{GV} = \left[\sum (n/d) \right] \times \text{幼苗平均鲜重}$$

$$I_{RGVI} = \frac{\text{施药处理幼苗活力指数}}{\text{对照幼苗活力指数}} \times 100\%$$

式中: d——发育天数

N——d 时间内的成苗数

对照幼苗指不施六六六处理的种子, 其 I_{RGVI} 为 100%。 $RGVI$ 既能反映品种成苗率, 又能反映品种成苗速度及生活力, 而且消除了品种本身间存在的差异, 能够用来比较不同品种的植物耐盐性, 因此笔者主要以 GVI 和 $RGVI$ 作为评价种子活力及耐受限度的主要指标。

1.4.4 经筛选植物对土壤中 HCH 降解效应研究

1.4.4.1 污染土壤的制备

称取 2.1600g 6%可湿性六六六原粉拌入 1000g 过 60 目风干土样, 准确称取一定量上述污染土加入过 2mm 筛每盆 1200g 土中, 充分混匀, 经测定其中含 α -HCH 0.6354 mg/kg 土、 β -HCH 0.1556 mg·kg⁻¹ 土、 γ -HCH 0.1639 mg/kg 土、 δ -HCH 0.1355 mg·kg⁻¹ 土, 设计土壤 HCH 四种异构体总浓度为 1.0904 mg·kg⁻¹ 土。

1.4.4.2 培养试验

试验分为两组, I 组: 土壤灭菌处理, 土壤灭菌条件为 110℃, 15MPa, 30min。II 组: 土壤非灭菌。每组 8 个处理, 设空白对照, 具体见表 1-2。将筛选后的植物多花黑麦草、紫花苜蓿和籽粒苋分别植入, 网室内培养 3 个月。种植后第 30 天起每隔 15 天采集土壤样品, 三个月后采集植株样品, 用于测定土壤和植株农药残留量的样品保存在 -18℃冰箱中, 测定微生物数量和酶活性土壤样品保存在 4℃冰箱。测定土壤和植株中六六六的含量以及土壤中过氧化氢酶、转化酶、脲酶的活性和细菌、真菌和放线菌的数量。

表 1-2 试验处理
Table 1-2 Treatments of experiment

处理(Treatment)	污染土壤 Amended soil				非污染土壤 Unamended soil			
土壤灭菌 Irradiated soil	CK	A	B	C	CK	A	B	C
土壤不灭菌 Unirradiated soil	CK	A	B	C	CK	A	B	C

注: CK、A、B、C 分别代表不种植植物的空白对照、种植黑麦草、紫花苜蓿和籽粒苋的处理

1.4.4.3 植物中 HCH 的提取和净化

牧草鲜样洗净后用石油醚:丙酮(1:1)浸泡过夜,高速捣碎,过滤,滤液加入 2ml 2% Na_2SO_4 溶液,分层后弃去有机相,有机相用浓 H_2SO_4 净化至上层液清晰透明为止,氮扫吹仪浓缩至干,准确加入 1ml 石油醚溶解,待测 HCH 用。

1.4.4.4 测定方法及条件

土壤和植株中 HCH 含量的测定方法同上

土壤可培养微生物数量的测定:细菌培养采用牛肉膏蛋白胨培养基;放线菌采用高氏 I 号培养基;真菌采用马丁氏培养基,稀释平板法培养、计数^[40]。

过氧化氢酶采用高锰酸钾滴定法^[41]:取 2g 风干土,置于 100ml 三角瓶中,并注入 40ml 蒸馏水和 5ml 0.3%过氧化氢溶液。将三角瓶放在振荡机上,振荡 20min。而后加入 5ml 1.5mol/L 硫酸,以稳定未分解的过氧化氢。再将瓶中悬液过滤。然后,吸取 25ml 滤液,用 0.02mol/L 高锰酸钾滴定至淡粉红色终点。

另取 5ml 0.3%过氧化氢与 40ml 蒸馏水和 5ml 1.5mol/L 硫酸,吸取 25ml 该混合液,用 0.02mol/L 高锰酸钾滴定至淡粉红色终点。

结果计算:用于滴定土壤滤液所消耗的高锰酸钾量(毫升数)为 D,用于滴定 25ml 原始的过氧化氢混合液所消耗的高锰酸钾量(毫升数)为 C。

$(C-D) \times T$ 即为过氧化氢酶活性。以 20min 后 1g 土壤的 0.02mol/L 高锰酸钾的毫升数表示。式中 T 为高锰酸钾滴定度的校正值。酶活性以 1g 土壤、1 小时内消耗 0.1mol/L KMnO_4 毫升数表示。

转化酶采用比色法^[42]：称 5 克风干土，置于 50ml 三角瓶中，注入 15ml 8%的蔗糖溶液，5ml pH5.5 磷酸缓冲液和 5 滴甲苯。摇匀混合物后，放入恒温箱，在 37℃下培养 24h。到时取出，迅速过滤。从中吸取滤液 1ml，注入 50ml 容量瓶中，加 3ml 3,5-二硝基水杨酸，并在沸腾的水浴锅中加热 5min，随即将容量瓶移至自来水流下冷却 3min。溶液因生成 3-氨基-5-硝基水杨酸而呈橙黄色，最后用蒸馏水稀释至 50ml，并在分光光度计上于波长 508nm 处进行比色。为了消除土壤中原有的蔗糖、葡萄糖而引起的误差，每一土样需做无基质对照，整个实验需做无土对照。

结果计算：转化酶活性以 24h 后 1g 土壤葡萄糖的毫克数表示。

$$\text{葡萄糖(毫克)} = a \times 4$$

式中：a——从标准曲线查得的毫克数

4——换算成 1g 土的系数

标准曲线绘制：

将葡萄糖先在 50~58℃条件下，干燥至恒重。然后取 500mg 溶于 100ml 苯甲酸溶液中(5mg 还原糖/ml)，即成标准葡萄糖溶液。再用标准液制成 1ml 含 0.01~0.5mg 葡萄糖的工作溶液。取 1ml 不同浓度的工作液，并按与测定转化酶活性同样的方法进行显色，比色后以光密度值为纵坐标，葡萄糖浓度为横坐标绘制成标准曲线。

脲酶采用苯酚一次氯酸比色法^[43]：称 5 克风干土，置于 50ml 三角瓶中，加 1ml 甲苯，15min 后加 5ml 10%的尿素液和 10ml pH6.7 柠檬酸盐缓冲液。摇匀后在 37℃恒温箱中培养 24h。过滤后取 3ml 滤液注入 50ml 容量瓶中，然后加蒸馏水至 20ml。再加 2ml 苯酚钠溶液和 1.5ml 次氯酸钠溶液，随加随摇匀，定容。20min 后显色，1h 内在分光光度计上于波长 578nm 处比色。

结果计算：脲酶活性以 24h 后 1g 土壤中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的毫克数表示。

$$\text{NH}_3\text{-N (mg)} = b \times 2$$

式中：b——从标准曲线查得的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 毫克数

1.4.4.5 数据分析

原始数据的整理采用 EXCEL 软件完成；数据分析采用 origin 软件完成；差异显著性检验采用 DPS 软件完成；相关性分析采用 EXCEL 软件完成。

第二章 结果与分析

2.1 土壤中 HCH 测定方法的确定

2.1.1 色谱图

在选定的毛细管柱和色谱程序升温条件下, HCH 四种异构体得到了较好的分离, 其出峰顺序为 α -HCH、 γ -HCH、 β -HCH、 δ -HCH, 空白土样加标色谱图见图 2-1。

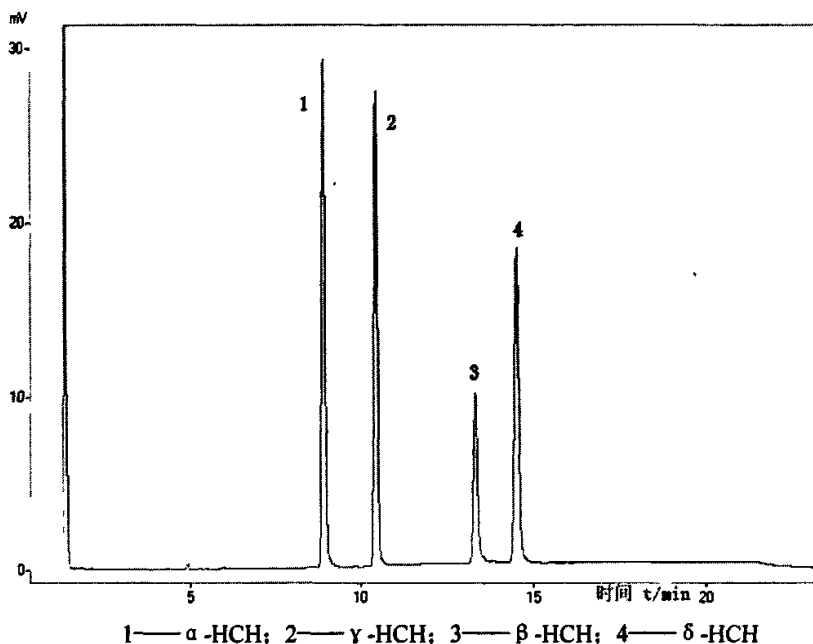


图 2-1 六六六农药的标准品色谱图

Fig. 2-1 Chromatogram of HCH pesticide of standard

2.1.2 标准工作曲线

按上述方法分析, 以六六六峰高 h 与其含量 m ($\mu\text{g/mL}$) 进行回归分析, 其回归方程见表 2-1

2.1.3 精密度和回收率试验

按 2.2 实验方法, 在空白土样中加入一定量六六六标准溶液作精密度和回收率试验, 试验结果见表 2-2、表 2-3

表 2-1 索氏提取和超声波提取的标准工作曲线

Tab 2-1 Standard curve of Soxhelt Extraction and Ultrasonic wave Assistant Extraction(UAE)

异构体名称	索氏提取法(SE)		超声波提取法(UAE)	
	回归方程	相关系数	回归方程	相关系数
α -HCH	$h = 21442m - 32.13$	0.9989	$h = 20786m - 16.496$	0.9994
β -HCH	$h = 10903m - 24.472$	0.9973	$h = 11341m - 20.512$	0.9994
γ -HCH	$h = 20466m - 24.049$	0.9979	$h = 20403m - 14.472$	0.9994
δ -HCH	$h = 17872m - 36.572$	0.9986	$h = 17226m - 28.298$	0.9998

表 2-2 (索氏提取法)加入不同量农药的精密度和回收率 (n=6) %

Tab 2-2 (SE) Exactitude and recovery in different quantities of pesticides (n=6) %

异构体名称	相对标准差 RSD			加标回收率		
	0.1 ^①	0.2	0.4	0.1	0.2	0.4
α -HCH	9.59	11.66	9.15	91.64	84.87	86.93
β -HCH	7.40	3.74	2.49	97.22	98.92	98.54
γ -HCH	6.00	2.74	2.38	96.66	99.63	96.02
δ -HCH	6.39	3.25	1.78	94.03	99.18	98.35

①各农药加入量的单位为μg /kg 土

表 2-3 (超声提取法)加入不同量农药的精密度和回收率 (n=6) %

Tab 2-3 (UAE) Exactitude and recovery in different quantities of pesticides (n=6) %

异构体名称	相对标准差 RED			加标回收率		
	0.1	0.2	0.4	0.1	0.2	0.4
α -HCH	9.33	9.19	8.49	93.58	93.71	90.32
β -HCH	6.86	3.43	2.44	100.31	101.22	101.74
γ -HCH	5.15	3.72	2.25	102.78	102.15	98.94
δ -HCH	3.77	6.24	2.32	97.87	103.92	99.30

从图 2-1 的色谱图可以看出，此程序升温条件下，六六六四种异构体得到了较好的分离，且出峰时间大大缩短，能满足批量检测要求。

从精密度和回收率结果可以看出，采用索氏提取法和超声波提取法所得结果都较好。据我国农药评审委员会规定，农药残留检测分析回收率在 70%—110%范围内，平均回收率在 80%以上均为合格。本次试验索氏提取和超声提取两种方法加标回收率分别为 84.87—99.63%和 90.32—103.92%，均符合这个标准。超声提取略好于索氏提取法。

在农药残留量的测定工作中，样品前处理时的两大步骤提取与净化是直接影响结果准确性的重要因素，提取过程要求尽可能地将样品中的残留农药提取出来，净化过程则

要求尽可能地减少农药损失。净化过程是造成农药损失的因素，一是乳化现象，一是萃取过程分配比造成的损失。在采用分液漏斗净化时，需用浓硫酸净化两次，用硫酸钠溶液洗涤一次，且试剂用量都较大，这必然造成残留农药的分配比损失较大。而本文采用的离心管净化，加少量浓硫酸即可，农药的分配比损失必然较小，有机试剂的挥发小，造成的环境污染也小得多。

实验过程中还发现用磺化法净化样品较为麻烦。因为样品在用浓硫酸去除油脂、色素等干扰物质后，还要去除里面的酸，否则不但会影响检测器 ECD 的性能，还会干扰六六六的测定。要消除酸的干扰，就要用 2%硫酸钠溶液将样品溶液洗至呈中性，而往往要用硫酸钠溶液萃取 8~9 次才能达到目的。这种方法对于大批量样品分析所花时间长，要消耗很大的人力和物力。

2.2 HCH 污染土壤中适宜植物的筛选

2.2.1 不同植物对土壤中 α -HCH 消解的影响

植草三个月后，各处理六六六消解率见表 2-4。在自然状态下，进入土壤中 α -HCH 通过物理吸附、化学吸附、氢键结合和配合价结合等形式吸附在颗粒表面上，另外一部分会在微生物、化学分解和光化学分解作用下转化成其它形式。在有植草的处理中， α -HCH 的消失率明显高于不种植物的空白处理。且植物种类的不同，表现了明显的差异。紫花苜蓿和多花黑麦草处理中， α -HCH 的消失量最多。观察发现，紫花苜蓿和多花黑麦草均为须根植物，根系、根毛较发达，土壤的容积会因植物根所触及的深度以及根分冠所伸展的方式不同而异，由此影响污染物的降解或积累速率。发育良好的根系统对有机污染物的快速降解以及对有毒金属的超积累或固定起重要的促进作用，因此植物修复无疑需要理想的根系统。相反，对那些有浅根、低扩散根的植物而言，即使它能支持一个具有高降解能力的微生物群落，也不是植物修复的最佳选择植物，因为这类植物不能满足对亚表层土壤污染生物降解的需要。在进行植物修复时，根及根圈的物理形态需要重点考虑。在此意义上，植物修复除了可以处理表上层污染外，对土壤的亚表层甚至更深层污染的处理更为有效，由此大大节省了环境污染的处理费用^[44]。

表 2-4 植草三个月后各处理土壤中六六六消解率
Table 2-4 Dissipation of HCH after three months of planting different grasses in soil

处理	土壤中 α -HCH 含量 $\mu\text{g/kg}$ 土	消解率%	5%显著水平	1%极显著水平
多花黑麦草	10.7	79.05 ± 1.90	a	A
紫花苜蓿	11.0	78.48 ± 1.10	a	A
谷稗	16.6	67.58 ± 0.83	b	B
高丹草	23.8	53.55 ± 0.50	c	C
苦荬菜	24.5	52.25 ± 1.30	c	C
菊苣	26.2	48.86 ± 0.50	c	C
鲁梅克斯	30.6	40.30 ± 0.86	d	D
木豆	33.2	35.19 ± 1.97	e	DE
籽粒苋	33.6	34.57 ± 2.54	e	DE
御谷	34.2	33.31 ± 1.36	e	E
柱花草	35.1	31.65 ± 1.43	e	E
大翼豆	35.3	31.18 ± 2.57	e	E
CK	38.8	24.29 ± 2.36	f	F

注：同一列数据后的字母相同表示未达到显著水平，小写字母表示 5%显著水平，大写字母表示 1%显著水平

Note: In a column, data followed by the same letter represent not significant difference; little letter means significant difference at 5%, capital letter means significant difference at 1%

2.2.2 不同植物的地上、地下部生物量比较

不同处理土壤中植物地上部和地下部生物量(干重计)见表 2-5, 由此表可以看出, 根/冠最高的是多花黑麦草, 其次是紫花苜蓿。不同植物根/冠与植物对 α -HCH 的消解有相似的一致性。其拟合关系见图 2-2, 相关系数 $R=0.928$, 达极显著水平。可见较高的根/冠是选择高效植物的一个很重要的标准, 这与 Fitter 等人报道一致^[45]。黑麦草和紫花苜蓿虽然地上生物量居中, 但其发达的根系有着较高的地上部生物量, 其处理 α -HCH 的消解率也较高。而御谷的地上部生物量最大, 但地下部生物量只有 1.49g, 根/冠只有 0.26, 其最终对 α -HCH 的消解亦只有原施药量的近三分之一, 显然不是理想的所需植物。高丹草、籽粒苋等直根系作物, 尽管地上部生物量较高, 但因植物对有机物的直接吸收有限, 根际范围内释放的根系分泌物和酶较少, 各处理的 α -HCH 的消解也十分有限。

表 2-5 各处理地上、地下部生物量(g, 干重计)
Table 2-5 Root and shoot weight(g) in different treatment

编号 No.	品种 type	地上部 (g) Shoot weigh (g)	地下部 (g) Root weight (g)	根/冠 R/S
1	柱花草	0.14	0.0545	0.39
2	大翼豆	1.77	0.4557	0.26
3	紫花苜蓿	2.27	4.0322	1.77
4	谷稗	3.88	2.5620	0.66
5	木豆	2.87	0.8049	0.28
6	鲁梅克斯	2.97	1.8720	0.63
7	御谷	5.72	1.4957	0.26
8	籽粒苋	4.28	1.2817	0.29
9	多花黑麦草	4.25	8.9026	2.09
10	菊苣	3.7	2.0602	0.55
11	苦苣菜	1.92	0.9018	0.46
12	高丹草	5.23	3.1495	0.60

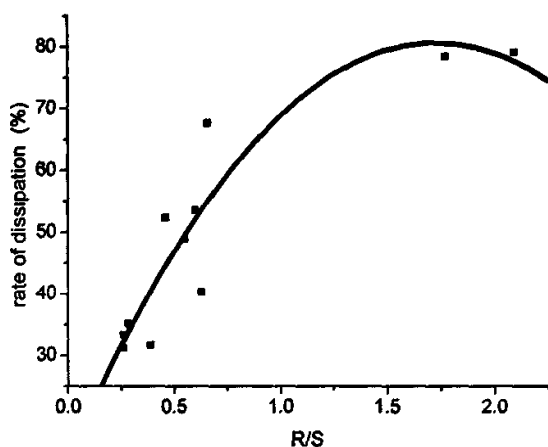


图 2-2 植物根/冠与土壤中 HCH 消降率的相关性
Fig. 2-2 Correlation between S/R and HCH-dissipationed in soil

2.2.3 污染土壤植物修复周期预测

污染土壤植物修复植草周期可以用下列关系式预测^[46]:

$$C_i = C_o(1 - A)^i$$

$$i = \lg(C_i / C_o) \cdot [\lg(1 - A)]^{-1}$$

式中:

C_o ——土壤中 HCH 的原始浓度(mg/ kg);

C_i ——草种植第 i 次后土壤中 HCH 的浓度(mg/kg);

A ——草种植 3 个月后土壤中 HCH 的消失率(%);

I ——种植草的次数, 每次以 3 个月为一个过程。

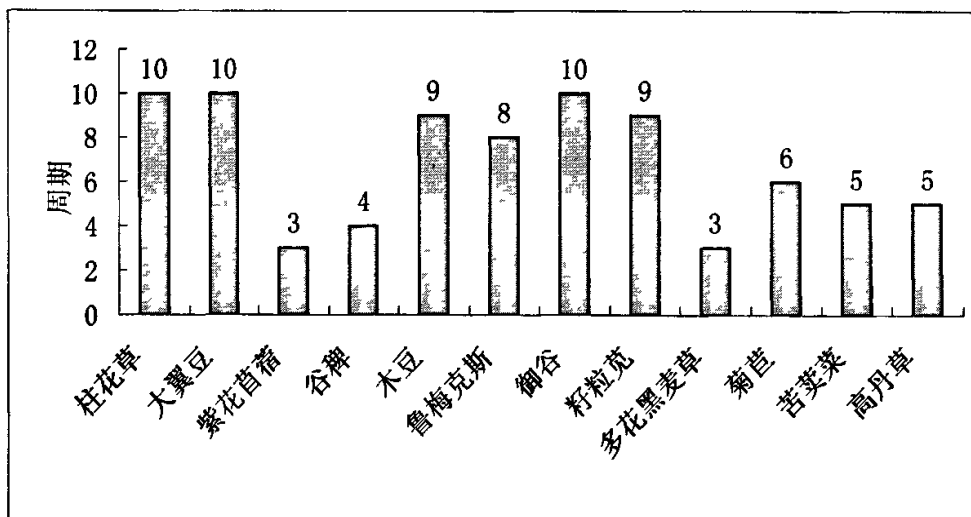


图 2-3 不同牧草修复污染土壤周期

Fig. 2-3 The period of repair soil in different grass

当污染土壤中 HCH 浓度为 0.050 mg/kg, 当土壤中 HCH 的残留量下降至 0.001 mg/kg 时, 种植上述 12 种草所需要种植的次数见图 2-3。显然, 种植紫花苜蓿和多花黑麦草只需三次, 较种植其它品种牧草更为经济、适宜。

2.3 HCH 污染程度对植草生长的影响

2.3.1 施用不同浓度 HCH 对多花黑麦草生长的影响

施用不同浓度 HCH 对多花黑麦草种子活力的影响见图 2-4。图中横坐标 1—7 分别表示土壤 HCH 浓度为 0、10、20、50、100、500、1000 mg/kg 土。

由图 2-4 可以看出, 当土壤中 HCH 浓度逐渐增加到 50mg/kg 土时, 多花黑麦草种子活力呈增加趋势, 当土壤中 HCH 浓度达 50mg/kg 时幼苗相对活力达以最高。随着 HCH 浓度继续增加, 种子活力呈急剧减小趋势, 土壤中的 HCH 对多花黑麦草种子的萌发表现出强烈的抑制作用, 当土壤中 HCH 污染浓度达 500mg/kg 时, 土壤中 HCH 对种子的萌发产生毒害作用, 导致种子无法发芽。

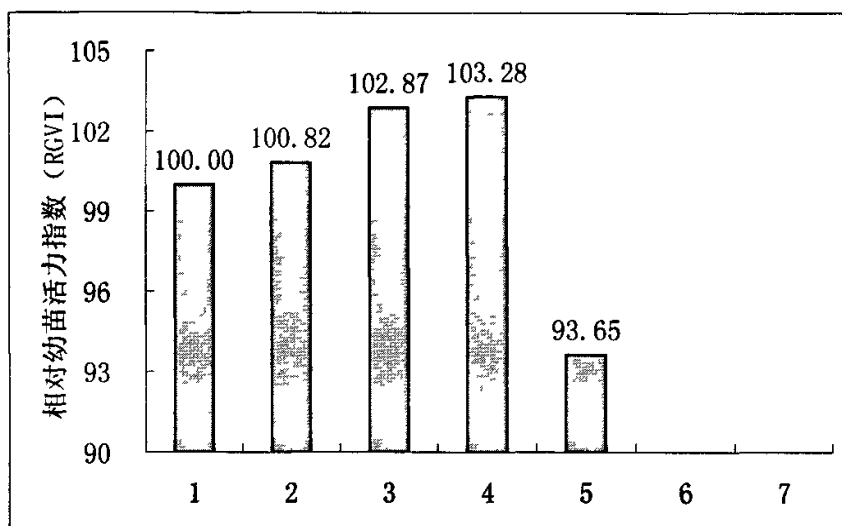


图 2-4 不同浓度土壤 HCH 对多花黑麦草种子活力的影响

Fig. 2-4 Effects of different soil HCH on seed *Lolium multiflorum* L.

2.3.2 施用不同浓度 HCH 对紫花苜蓿生长的影响

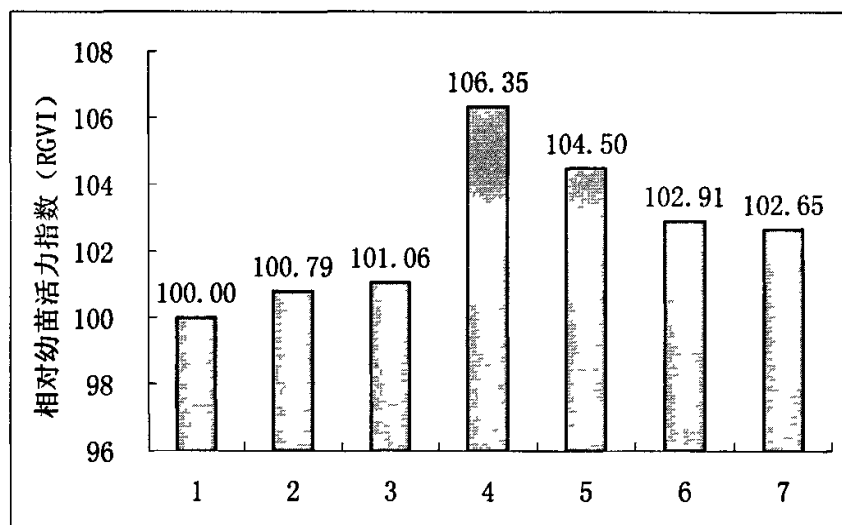


图 2-5 不同浓度土壤 HCH 对紫花苜蓿种子活力的影响

Fig. 2-5 Effects of different soil HCH on seed *Medicago sativa* L.

由图 2-5 可以看出, 土壤中 HCH 浓度在 1000 mg/kg 以内, 对紫花苜蓿种子活力的影响不大, 虽然在浓度较低时, 表现出和黑麦草相似的规律, 即随着浓度的增加, 种子活力增强。可能是由于施入量的 HCH 为植物生长提供了所需的 C 源, 促进了植物的生

长发育。但随着浓度进一步增加时,浓度达到 1000mg/kg 土时,种子依然有较高的活力。紫花苜蓿表现出比多花黑麦草更强的耐受力,其耐受机理有待于进一步研究。因此,紫花苜蓿比多花黑麦草更适宜用修复受 HCH 污染的土壤。

2.3.3 施用不同浓度 HCH 对籽粒苋生长的影响

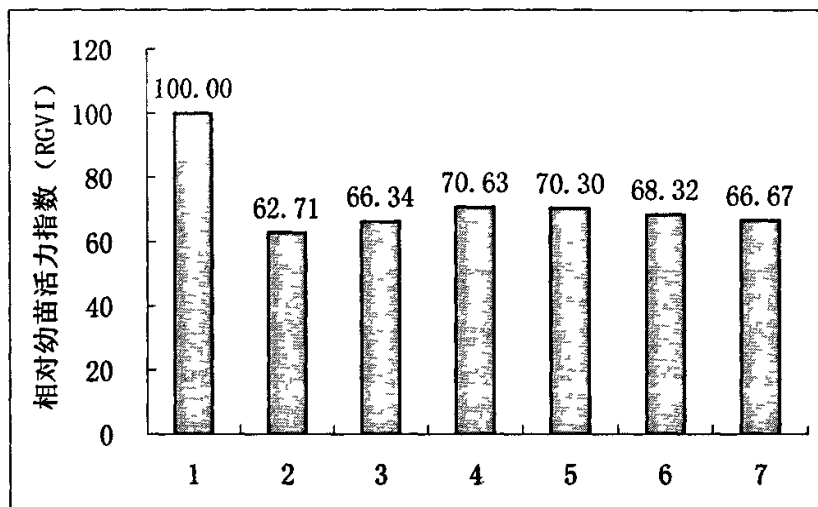


图 2-6 不同浓度土壤 HCH 对籽粒苋种子活力的影响

Fig. 2-6 Effects of different soil HCH on seed *Amaranthus hypochondriacus* L

由图 2-6 可出,土壤中 HCH 对籽粒苋有较强的抑制作用,施药后各处理种子活力均低于不施药的空白对照。少量的 HCH 亦会影响种子的萌发活力。但随着土壤中 HCH 污染程度的增加,其种子相对幼苗活力指数始终维持在 65%左右。因此,籽粒苋并不是修复受 HCH 污染土壤的理想植物,不仅对土壤中 HCH 的消解能力较差,且对 HCH 的耐受限度有限,究其原因,有待进一步研究。

2.4 经筛选植物对土壤中 HCH 降解效应研究

2.4.1 土壤中 HCH 消解行为

HCH 及其四种异构体在土壤中随时间的消解见图 2-7。由图可看出,在灭菌和非灭菌土壤中 α -HCH、 β -HCH、 γ -HCH、 δ -HCH 四种异构体的消解速率差异不显著,土壤灭菌与否不是土壤中 HCH 降解产生差异的主要原因。主要是在本试验条件下,由

于室外环境中,各种微生物具有很强的繁殖能力,灭菌土壤在自然环境中极易受环境影响,在很短的时间内即可恢复原土壤区域内微生物条件。因而土壤灭菌处理并不影响 HCH 的消解速率。

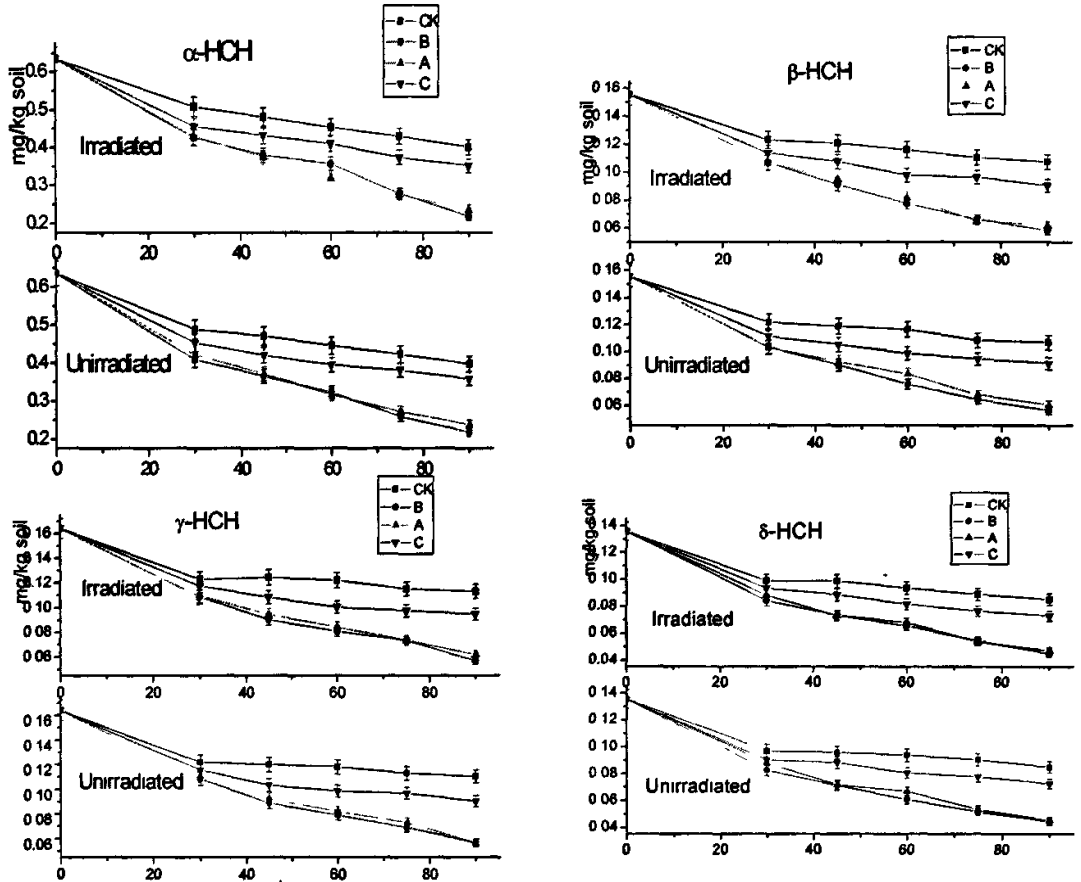


图 2-7 HCH 及其异构在土壤中的消解率

Fig 2-7 Rate of four HCH isomers dissipation in soil

大量研究已经证实,作物对六六六的吸收量,除了取决于作物种类外,土壤类型、理化性状等以及 HCH 的组成成份和浓度有很大的关系。植草三个月后, HCH 及其主要降解物在土壤中残留率见表 2-6。由此可见,土壤灭菌对 HCH 的降解差异不显著,然而在灭菌和非灭菌土壤中,植物显著地提高了土壤中 HCH 的降解。在灭菌和非灭菌土壤中,非根际土壤中 HCH 残留率分别为 62.73%和 62.58%,而根际土壤中则不超过 53.87%和 53.58%,最低可达 32.62%。实验所用六六六原粉主要由 α 、 β 、 γ 和 δ 四种异构体组成,其含量分别约为 58.3、14.3、15.1 和 12.43%,其 β/γ 为 0.94。六六六施入土壤

后各处理 β/γ 均有不同程度提高。说明土壤中 γ -HCH 比 β -HCH 在土壤中降解得更快，这也是 HCH 在土壤中持留的特点之一^[47-49]。

图 2-8 表示了在非灭菌土壤中，不同植物对 HCH 及其异构的降解速率差异。HCH 的四种异构体在非根际和根际土壤中的降解规律较一致，主要表现为 δ -HCH 最快， β -HCH 降解速率最慢，可能是与其它异构体相比 β -HCH 的所有氯原子都位于 HCH 分子的赤道短轴上，其稳定性高、水溶性和挥发性都非常低，同时也更加难以被生物利用。

表 2-6 三个月后土壤中 HCH 及其主要降解物 ($\mu\text{g/kg}$ 土)
Table 2-6 HCH and its isomer in the soil after three months ($\mu\text{g/kg}$ soil)

处理	α -HCH		β -HCH		γ -HCH		δ -HCH		β/γ
	C	C/C ₀	C	C/C ₀	C	C/C ₀	C	C/C ₀	
		(%)		(%)		(%)		(%)	
土壤灭菌									
CK	399.5	62.87	107.2	69.05	113.2	69.00	85.0	62.74	0.95
黑麦草	234.8	36.95	61.7	39.65	62.2	37.95	46.7	34.46	0.99
紫花苜蓿	217.5	34.23	58.0	37.28	56.9	34.72	44.5	32.86	1.02
籽粒苋	350.8	55.21	90.1	57.90	94.8	57.84	73.0	53.87	0.95
土壤不灭菌									
CK	397.7	62.61	106.7	68.57	110.4	67.36	84.8	62.58	0.97
黑麦草	238.0	37.45	60.3	38.80	56.5	34.47	45.0	33.21	1.07
紫花苜蓿	217.2	34.18	56.0	36.00	56.6	34.53	44.2	32.62	0.99
籽粒苋	358.0	56.34	91.2	58.61	90.6	55.28	72.6	53.58	1.01

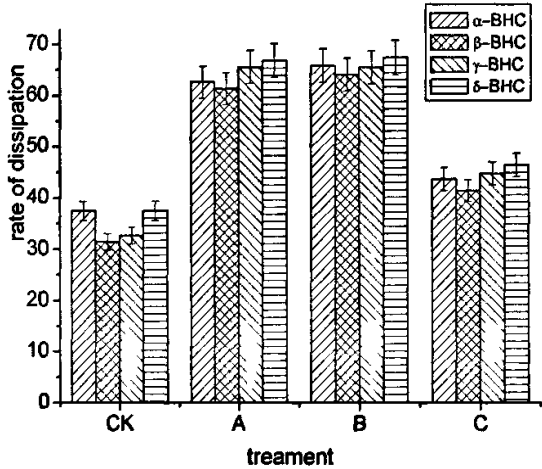


图 2-8 三个月后不同植物处理土壤 HCH 降解速率
Fig. 2-8 The rate of degradation in different treatment after three months

与不种植物的空白相比,根际土壤中, HCH 及其异构体消解率明显升高,其中紫花苜蓿处理最好,多花黑麦草处理次之,且这两种牧草降解效果均明显好于籽粒苋。说明植物对土壤中 HCH 的降解起重要作用。这种作用主要表现在根际土壤内,植物根系微区环境内有较高的土壤酶系统和土壤微生物活性,促进了 HCH 的生物降解。因此,在植物修复过程中,对不同污染类型如何选择适宜和高效的植物至关重要。

2.4.2 植物体对 HCH 及其异构体的吸收

表 2-7 为植草三个月后, HCH 及其主要降解产物在草中不同部位的浓度分布。由此可看出,灭菌和非灭菌土壤,植物对 HCH 的吸收没有太大差异。HCH 在植物根部的浓度明显高于茎叶部浓度,其根/茎叶比值约在 1.37~6.14 之间,平均为 3.72,最高为灭菌处理的多花黑麦草达 6.14。说明植物对 HCH 的直接吸收主要发生在根部,茎叶部 HCH 的含量极少。籽粒苋各处理 HCH 浓度的根/茎叶比均小于同处理的黑麦草和紫花苜蓿。植物地上部的生物量对 HCH 的吸收亦起一定作用,但主要富集因子仍在根部。与前人研究结果一致。姚建仁等 1983 年曾研究了几种不同植物对六六六的吸收规律^[50],结果表明,胡萝卜吸收量最大,其次为马铃薯>花生>白薯。尽管胡萝卜等块根类作物对六六六的吸收量比其它作物大,而且超出了土壤中六六六的残留,但是从环境安全角度考虑,胡萝卜等可食性植物并不是污染土壤修复植物的理想对象。

表 2-7 三个月后 HCH 及其主要降解产物在草中的分布 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 鲜重)

Table 2-7 HCH and its isomer in the shoot and root of grass after three months ($\mu\text{g}/\text{kg}$ FW)

处理	α -HCH		β -HCH		γ -HCH		δ -HCH	
	根	茎叶	根	茎叶	根	茎叶	根	茎叶
土壤灭菌								
黑麦草	116.8	078.2	26.4	4.3	34.0	7.0	29.0	6.9
紫花苜蓿	117.9	078.7	27.6	4.8	33.0	7.6	29.5	7.3
籽粒苋	114.0	083.4	26.0	8.0	42.9	13.1	28.6	4.9
土壤不灭菌								
黑麦草	117.9	78.9	26.7	4.7	34.8	8.2	29.3	7.2
紫花苜蓿	118.6	79.4	26.5	4.9	35.5	11.7	29.4	7.6
籽粒苋	106.4	90.6	27.2	5.7	33.3	14.7	29.0	8.3

2.4.3 根际区土壤三大类群微生物的作用

2.4.3.1 施用 HCH 对土壤三大类群微生物数量的影响

为了避免植物根系分泌物等影响土壤中微生物数量,研究空白土壤在施用 HCH 后土壤三大类群微生物数量变化,结果见图 2-9。施入低浓度 HCH 后,细菌、真菌和放线菌数量均有所提高,真菌提高最多达 30.30%,细菌次之为 10.76%,其次是放线菌,只有 0.06%。施入的 HCH 对土壤微生物活性具有一定的刺激作用,与吴坤等人对五氯酚的研究较为一致^[51]。另有研究表明施入土壤的农药对土壤普通微生物主要表现为抑制作用,对耐受微生物种类主要是刺激作用^[52],因此,施药后土壤微生物数量的变化主要由普通菌的抑制率和耐受菌的刺激率来决定。从本试验来看,施入的 HCH 对普通菌的抑制率要远远小于刺激率,使土壤三大类群微生物数量都有不同程度的增加。因此,在长期受 HCH 污染土壤内筛选特定的微生物优势种,是利用微生物对污染土壤修复的一种有效措施。

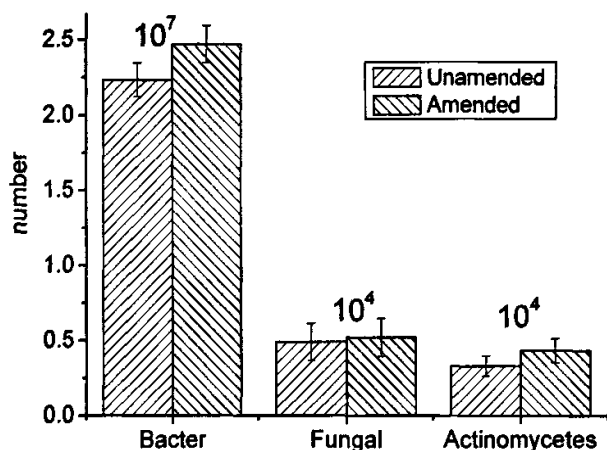


图 2-9 非灭菌土壤根际区土壤细菌、真菌和放线菌数量

Table2-9 Bacterial、Fungal and Actinomycetes counts in irradiated soils

2.4.3.2 植草三个月后土壤三大类群微生物数量变化

植草后三个月,灭菌土壤和非灭菌根际区土壤三类群微生物数量见表 2-8。种植牧草三个月后,土壤中三大类群微生物在灭菌和非灭菌土壤中均显著增加,灭菌处理和非

表 2-8 六六六污染土壤根际区土壤细菌、真菌和放线菌数量
Table 2-8 Bacterial, Fungal and Actinomycetes counts in HCH-amended soils

处理 Treatment	Bacterial counts ($\times 10^7$)		Fungal counts ($\times 10^4$)		Actinomycetes ($\times 10^4$)	
	Initial	End	Initial	End	Initial	End
灭菌						
Ck	0 f G	4.48 $\pm$ 0.18d E	0 f E	1.91 $\pm$ 0.08d C	0 f D	0.82 $\pm$ 0.05d C
A	0 f G	5.27 $\pm$ 0.08cd DE	0 f E	2.17 $\pm$ 0.12cd C	0 f D	1.34 $\pm$ 0.12b B
B	0 f G	8.30 $\pm$ 0.59a AB	0 f E	4.12 $\pm$ 0.49a A	0 f D	2.26 $\pm$ 0.11a A
C	0 f G	4.54 $\pm$ 0.02d E	0 f E	2.07 $\pm$ 0.01cd C	0 f D	1.16 $\pm$ 0.16bc BC
非灭菌						
Ck	2.23 $\pm$ 0.16e F	5.95 $\pm$ 0.10c CD	0.49 $\pm$ 0.01e D	2.14 $\pm$ 0.06cd C	0.33 $\pm$ 0.03e D	0.91 $\pm$ 0.02cd C
A	2.23 $\pm$ 0.16e F	8.51 $\pm$ 0.45a A	0.49 $\pm$ 0.01e D	2.63 $\pm$ 0.03b B	0.33 $\pm$ 0.03e D	1.37 $\pm$ 0.01b B
B	2.23 $\pm$ 0.16e F	9.08 $\pm$ 0.10a A	0.49 $\pm$ 0.01e D	4.14 $\pm$ 0.11a A	0.33 $\pm$ 0.03e D	2.32 $\pm$ 0.04a A
C	2.23 $\pm$ 0.16e F	7.14 $\pm$ 0.16b BC	0.49 $\pm$ 0.01e D	2.22 $\pm$ 0.10c C	0.33 $\pm$ 0.03e D	1.32 $\pm$ 0.03b B

注：同一列数据后的字母相同表示未达到显著水平，小写字母表示 5%显著水平，大写字母表示 1%显著水平

Note: In a column, data followed by the same letter represent not significant difference by Tukey multiple test, little letter means significant difference at 5%, capital letter means significant difference at 1%

灭菌处理相比,非灭菌处理增加幅度较小,但各处理的细菌、真菌和放线菌数均大于灭菌土壤。在自然环境下,灭菌后的土壤在大气、水等环境条件下,随着植物的生长,微生物迅速繁殖,最终达到一个较高水平。灭菌和非灭菌土壤相比,土壤细菌除了紫花苜蓿处理差异不显著外,空白、多花黑麦草以及籽粒苋处理差异达显著。而真菌变化除了多花黑麦草差异外,其余均差异不显著。说明,真菌相对来说,变化较小。放线菌处理灭菌与非灭菌所有处理均没有差异,表明灭菌时对放线菌影响不大。从上以三大类微生物变化来看,土壤经高温高压灭菌后,土壤结构以及原著土壤微生物遭到很大破坏,在一定程度上影响了土壤微生物对有机农药的降解。

2.4.3.3 不同植物根际区土壤微生物数量的变化

由于在植物修复过程中,土壤 HCH 的消解是在自然环境中完成的,因此,以非灭菌施加 HCH 土壤为例,研究根际区三大类微生物变化,结果分别见下图。

(1) 细菌数量的变化

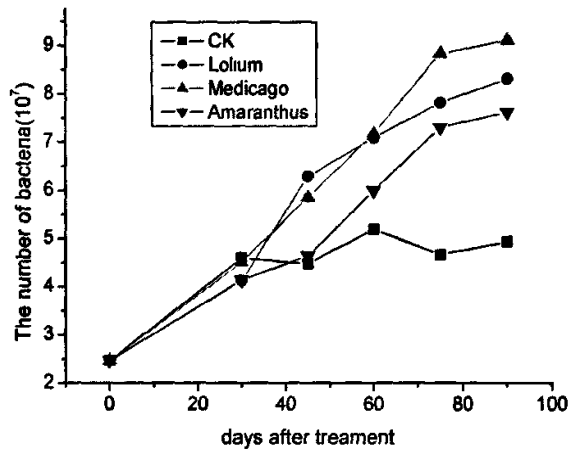


图 2-10 不同植物处理对细菌数量的影响

Fig2-10 The effect of different sorts on the number of bacteria

由图 2-10 可看出,不同植物处理土壤微生物细菌数量均呈现不同程度的增加,其中多花黑麦草和紫花苜蓿处理根际土壤微生物数量明显较籽粒苋高,且有植物的根际土壤明显高于不种植物的非根际土壤,差异均达显著水平。但是植物种类的不同,其随时间变化有所差异。种植植物一个月后,由于植物之间生长差异不大,在自然状态下,三

种植物和空白土壤细菌增长速度变化不大,但随着时间的推移,不同植物之间生长活动的差异明显增加,根系的生长发育程度以及分泌物的差异导致各处理出现差异,进而影响根际区细菌数量有明显的不同。三个月后,多花黑麦草和紫花苜蓿差异不显著,但两者与籽粒差异均达显著水平。空白土壤在复杂的自然环境中,细菌数量的变化因水、肥、气等其它因素的影响较强,变化不稳定。有植物的根际土壤,在植物根系活动的情况下,细菌数量呈现明显的增加。

(2) 真菌数量的变化

不同植物处理对真菌数量的影响见图 2-11, 由图可以看出, 种植物的根际土和空白的非根际土中真菌均有一定程度的增加, 不同植物之间也有一定的差距, 但均有相似的增殖规律。真菌的这种增殖规律可能是由于施入的水、肥、环境等引起的, 不同植物之间的差异除了上述原因外, 主要是由于根系活动的差别所致, 须根植物的多花黑麦草和紫花苜蓿明显好于直根的籽粒苋。

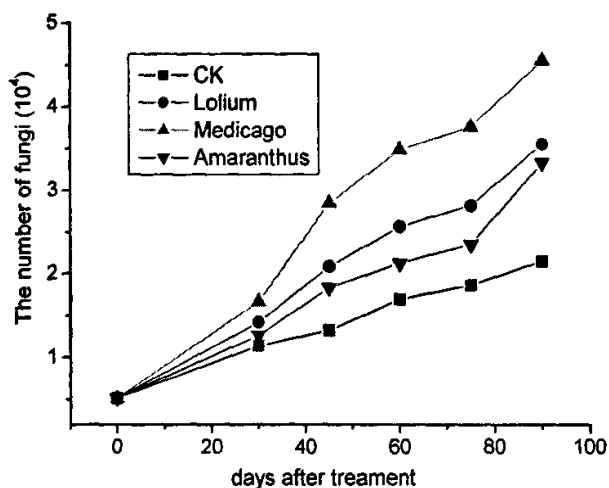


图 2-11 不同植物处理对真菌数量的影响

Fig2-11 The effect of different sorts on the number of fungi

(3) 放线菌数量的变化

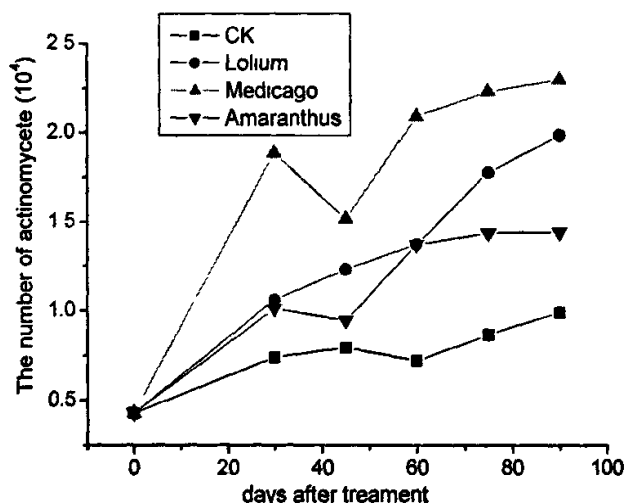


图 2-12 不同植物处理对放线菌数量的影响

Fig.2-12 The effect of different sorts on the number of actinomycete

不同植物处理对放线菌数量的影响见图 2-12, 由图可以看出, 相对于其它微生物, 放线菌数目的增加相对较少, 且空白的非根际土壤和种植物的根际土壤有不同的变化趋势。三种植物处理放线菌数量差异明显, 表现为紫花苜蓿 > 多花黑麦草 > 籽粒苋, 其中紫花苜蓿处理放线菌数量优势较大, 多花黑麦草稍高于籽粒苋处理, 在 60 天以前差异并不显著。因此, 根际土壤内放线菌的数量因植物种类的不同有很大差距。

5.3.3.4 微生物在有机农药降解过程中的作用

在植物生长过程中, 死亡的根系和根的脱落物(根毛、表皮细胞和根冠)是微生物的营养来源, Moser 等研究表明^[53], 植物每年释放的酶、糖类、醇类等物质可达植物光合作用的 10—20%, 它们与脱落的根冠细胞等一起为根区的微生物提供重要的营养物质, 促进了根系的穿插, 使根际的通气条件、水分状况和温度均比根际外的土壤更有利于微生物的生长^[54]。另一方面, 某些植物又可将大气中的氧气经叶、茎传输到根中, 扩散到根际周围缺氧的底质中, 形成了氧化的微环境, 刺激好氧微生物的生长和活性^[55]。根际微生物的数量明显高于非根际土壤, 有利地促进了环境中有机农药的降解。

2.4.4 根际区土壤过氧化氢酶、转化酶、脲酶

2.4.4.1 不同植物根际区土壤过氧化氢酶的变化

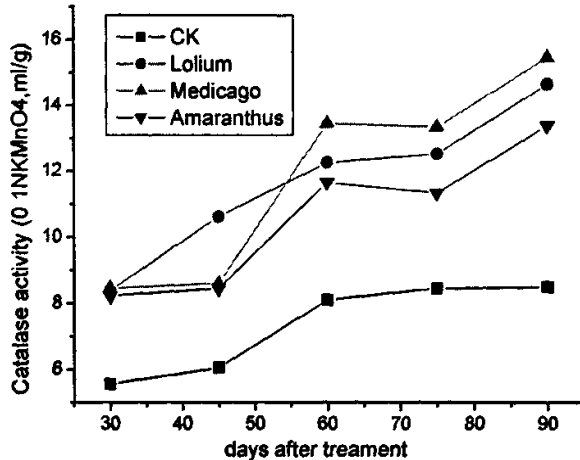


图 2-13 不同植物根际区土壤过氧化氢酶的变化

Fig. 2-13 The variety of different plants on enzyme Catalase activity

过氧化氢酶主要来自于细菌、真菌和放线菌以及根系分泌。从整个过氧化氢酶活性来看，随着时间的推移，各处理过氧化氢酶都呈逐渐增加趋势，种植植物的根际土壤过氧化氢酶活性远远高于不种植物的空白土壤。多花黑麦草在三个月内，过氧化氢酶活性一直处于相对平稳增加，在 45 天以前，紫花苜蓿和籽粒苋过氧化氢酶并没有显著差异，均小于多花黑麦草。45 天后，紫花苜蓿处理过氧化氢酶活性迅速升高，并一直高于其它处理。由图 2-13 可看出，根际区的过氧化氢酶活性远远高于非根际区土壤，不同作物在初期稍差异较大外，后期虽有一定差异，但并不显著。

2.4.4.2 不同植物根际区土壤转化酶的变化

转化酶广泛存在于所有土壤中，它是表征土壤生物活性的重要的酶。土壤中转化酶的活性与土壤腐殖质、水溶性有机物和粘粒的含量以及微生物的数量及其活性有关。由图 2-14 可看出，非根际土壤转化酶变化不大，维持在一定量水平上。根际土壤随着植物的生长发育、根际区微生物数量增加以及代谢活动的增强，酶的活性也在不断增加，不同植物种类，根系发育程度不同直接导致土壤中转化酶的变化。根系发达的紫花苜蓿

和多花黑麦草转化酶的活性几乎一致, 且远远高于根系并不发达的籽粒苋。

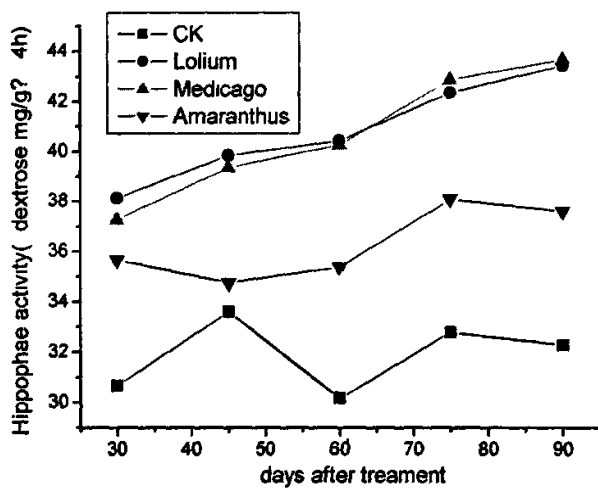


图 2-14 不同植物根际区土壤转化酶的变化

Fig.2-14 The variety of different plants on enzyme Hippophae activity

2. 4. 4. 3 不同植物根际区土壤脲酶的变化

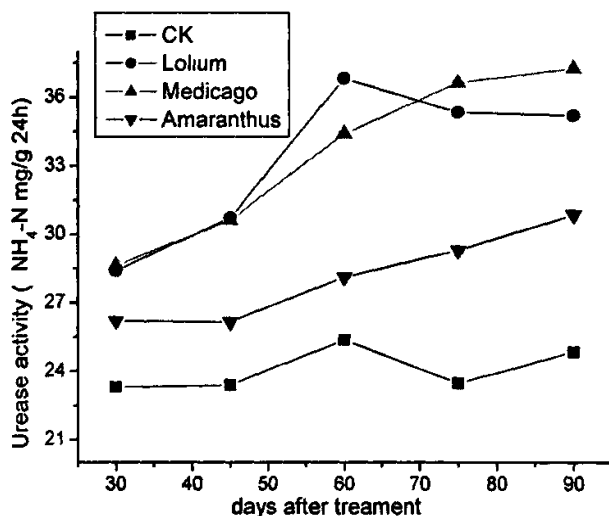


图 2-15 不同植物根际区土壤脲酶的变化

Fig. 2-15 The variety of different plants on enzyme Urease activity

脲酶存在于大多数细菌、真菌和高等植物中,与土壤微生物数量、有机质含量、全氮和速效磷正相关。由图 2-15 可看出,非根际土壤脲酶始终维持在一个较低的水平,而根际土壤内,脲酶在植物生长初期增加较快,后期增长速度减缓,其中多花黑麦草在 60 天时达到最高值后开始逐渐下降,但仍维持在较高水平,而籽粒苋处理,由于根际的微生物数量、根系分泌物等相对较弱,土壤转化酶活性高于非根际土小于多花黑麦草和紫花苜蓿。

2.4.4.4 植草三个月后土壤酶的变化

植草三个月后,根际土壤中酶的活性与土壤中 HCH 的残留量的关系见表 2-9。结果表明,施入少量农药,可为微生物提供生长必需的 C 源从而是增加土壤中过氧化氢酶、转化酶和脲酶的活性,且非灭菌土壤中三种酶的活性均稍高于灭菌土壤。作物根际区酶的活性显著高于未种植物的非根际土壤,作物种类不同其根际区酶的活性差异亦很大,表现为紫花苜蓿>多花黑麦草>籽粒苋,根系发达程度越高,微生物数量越多,酶的活性越高,土壤中 HCH 的降解率越高。

2.4.4.5 土壤酶在有机农药降解过程中的作用

植物释放以根区土壤的酶系统可以直接降解有机污染物。有研究发现,某些能降解的染物的酶来源是植物而不是微生物^[56],所以有部分观点认为,直接采用酶进行有机农药降解比用微生物处理更具有优势,主要表现在酶对外界的适应性,对低浓度有机农药的降解,对农药的降解范围和降解效能上比微生物更优越^[57-58]。与此同时,也有很多相反的观点认为^[59-60],利用降解酶净化土壤中的农药污染研究相对较复杂,因为降解酶在土壤中易受到非生物变性、土壤吸附等作用失活,难以保持长时间的降解活性,因此能否实际应用取决于其稳定性。通过生物工程对农药降解酶基因进行克隆与高效表达来获取降解酶是行之有效的办法。笔者认为,土壤中有有机农药的降解绝大部分是在微生物和酶的共同作用下完成的,根际区的强烈代谢活动以及根系分泌物,增加了土壤酶活性的同时也促进了微生物数量的增加,微生物增加的同时也促进了根系分泌更多的酶类,相互作用共同促进了有机污染物的降解。

表 2-9 根际区酶的活性和 HCH 残留量表
Table 2-9 Soil rhizosphere enzyme activity and HCH levels

处理 Treatment	过氧化氢酶 (Catalase activity) (0.1 mol/LKMnO ₄ , ml/g)		转化酶 (Hippophae activity) (葡萄糖 mg/g • 24h)		脲酶 (Urease activity) (NH ₄ —N mg/g • 24h))	
	Unamended	Amended	Unamended	Amended	Unamended	Amended
灭菌						
CK	10.63 ± 0.23j J	12.89 ± 0.03i I	28.15 ± 0.11j J	31.63 ± 0.08i I	12.63 ± 0.13j I	15.71 ± 1.53i I
A	15.37 ± 0.08de DE	15.59 ± 0.09cd CD	43.78 ± 0.05f F	37.66 ± 0.05f F	16.12 ± 0.13i I	18.47 ± 0.09g F
B	15.76 ± 0.13bc BC	15.97 ± 0.04b B	43.91 ± 0.03b B	43.62 ± 0.20cd CD	18.25 ± 0.04gh FG	21.72 ± 0.13f E
C	15.16 ± 0.02e E	14.19 ± 0.02g G	32.51 ± 0.03h H	34.26 ± 0.08g G	16.80 ± 0.05h GH	18.67 ± 0.04g F
非灭菌						
CK	10.39 ± 0.02j J	13.81 ± 0.21h H	32.27 ± 0.18h H	32.38 ± 0.22h H	31.83 ± 1.04e D	33.85 ± 0.45d C
A	14.64 ± 0.03f F	14.25 ± 0.03g G	43.44 ± 0.11d D	43.78 ± 0.05cd CD	35.19 ± 0.36cd C	35.42 ± 0.04c C
B	15.45 ± 0.03d CDE	17.17 ± 0.09a A	52.69 ± 0.09b B	53.76 ± 0.22a A	37.26 ± 0.23b B	40.24 ± 0.27a A
C	14.29 ± 0.02g G	14.07 ± 0.02gh GH	37.61 ± 0.05f F	38.43 ± 0.20e E	34.83 ± 0.19cd C	35.33 ± 0.08c C

注：同一列数据后的字母相同表示多重比较未达到显著水平

Note: Means followed by the same letter are not significant difference as determined by Tukey multiple test

2.4.5 根际区植物—微生物—酶的相互间的相关性

土壤中 HCH 的降解主要发生在植物根际区, 根际区土壤微生物数量和酶的活性以及土壤中 HCH 的残留量的相关性见表 2-10。由表可看出, 土壤中 HCH 残留量和细菌、真菌、放线菌、过氧化氢酶以及转化酶都呈现显著负相关, 表现为过氧化氢酶>转化酶>放线菌>细菌>真菌>脲酶, 但与脲酶与土壤 HCH 的残留量的相关性不显著。其中放线菌与真菌以及过氧化氢酶达到极其显著水平, 脲酶与转化酶相关性达显著外, 与细菌、真菌放线菌以及过氧化氢酶相关性均不显著。有植物的根际土壤中, 根系不仅本身分泌酶类, 而且分泌各种营养物质, 从而刺激根际土壤微生物的生长, 并稳定地表现出酶活性。因此, 土壤微生物和酶的相关性较高。

表 2-10 根际区土壤微生物量和酶的活性以及土壤中 HCH 的残留量的相关性

Table 2-10 Correlation(R^2) of microbial counts enzyme activity and soil HCH

Variables	细菌	真菌	放线菌	过氧化氢酶	转化酶	脲酶
细菌	1.000					
真菌	0.833**	1.000				
放线菌	0.814**	0.967***	1.000			
过氧化氢酶	0.661*	0.838**	0.911***	1.000		
转化酶	0.890**	0.861**	0.893**	0.848**	1.000	
脲酶	0.731*	0.351	0.322	0.296	0.585*	1.000
残留量	-0.631*	-0.627*	-0.724*	-0.772*	-0.765*	-0.183

注: *表示 $P<0.05$

**表示 $P<0.01$

***表示 $P<0.001$

第三章 讨论

3.1 微波萃取——气相色谱分析是测定土壤中六六六的准确、快速方法

六六六和 DDT 为高毒性有机氯农药,建国初期至 20 世纪 70 年代我国使用的有机氯农药的性质极稳定,不易分解,尤其有机氯农药水溶性高、脂溶性低,表现高残留、易迁移的特性。尽管我国在 1983 年已明令禁止使用,但在许多地区土壤和水体/沉积物中,六六六、DDT 等有机氯仍有较高的检出率^[61],种植的谷类、茶叶、中药等粮食作物和经济作物中,以及长春市等城市女的母乳中都检测出有机氯农药^[62],因此,对土壤中六六六残留量的测定仍具有现实意义。目前,气相色谱法是应用最广泛和成熟的技术。以同样的方法测定时,样品前处理方法的不同将直接影响测定结果。如何快速、简便、且耗材少的提取土壤样品中六六六,尽可能使残留的农药完全提取,是前处理时必须考虑的问题。

土壤中六六六的测定一般用索氏提取法提取样品,经净化后,用气相色谱仪测定。玻璃材质的索氏抽提器,浸取时间长,操作繁琐,干扰物质多,不适应高速高效分析的要求。微波萃取是一种速度快、试剂用量少、回收率高、重现性好、易于自动控制的样品制备技术。它利用介质吸收微波能量的差异,通过选择不同的溶剂和调节微波加热参数,对样品中的目标成分进行选择性地萃取,使样品中的某些有机成分与基体物质有效分离^[63, 64]。本试验采用微波萃取技术提取土壤中的六六六,再采用程序升温,毛细管色谱柱,微电子捕获检测器,分析时间短,分离效果好,灵敏度高。

3.2 不同品种牧草对土壤中污染物消除能力不同

林道辉等^[65]研究表明,同一品种的草在不同土壤中对污染物的清除能力是不同的,不同品种的草在同一土壤中对污染物的清除能力也是不同的。因此,植物种类是植物修复的关键因子,如何寻找、优选用于土壤有机污染植物修复的特性植物是当前该项领域研究的难点和前沿问题之一。植物对有机物的吸收分为主动吸收与被动吸收,被动吸收可看作污染物在土壤固相—土壤水相、土壤水相—植物水相、植物水相—植物有机相之间的一系列分配过程的组合^[66]。其动力主要来自植物的蒸腾拉力,不同植物的蒸腾作用

强度不同,对污染物的吸收转运能力也不同。另外,由于组织成分不同,不同植物积累、代谢污染物能力也不同,脂质含量较高的植物对脂溶性有机污染物的吸收能力强^[67]。有研究表明,蔬菜类对农药的吸收能力顺序为:根菜类>叶菜类>果菜类^[68]。

对植物吸收能力起最主要影响的是植物的根系,须根比主根具有更大的比表面积,能通常处于土壤表层,而土壤表面比下层土壤含有更多的污染物,因此须根吸收污染物的量高于主根。这一区别是禾本科植物比木本科植物吸收和累积更多污染物的主要原因之一。另外,根系类型不同,根面积、根分泌物、酶、菌根菌等的数量和种类都不同,导致根际对污染物降解能力存在差异。目前,不同植物吸收有机物的差异机制尚不明确,可能与植物间根系分泌物的不同有关^[69-70]。Schnoor 等^[71],认为应通过鉴定植物根系分泌物中与相关有机污染物降解酶的种类与含量来定向筛选对某类化合物特异清除能力的植物。

目前在无机重金属污染土壤和水体中,已探索出许多超富集植物种类,世界上已经发现 Cd、Co、Cu、Ni、Mn、Zn 超富集植物 400 多种,其中 73%为 Ni 的超富集植物^[72]。在中国,1999 年陈同斌首次发现了 As 的超富集植物蜈蚣草(*Pteris vittata*),其叶片含 As 高达 5000mg/kg^[73]。重金属污染土壤上大量地方植物物种的发现,促进了耐重金属植物的研究,同时某些能够超量积累重金属的植物也相继被发现。在有机多氯联苯(PCBs)、五氯酚(PCP)、多环芳烃(PAHs)、菲、芘等污染土壤修复国内外也做了大量研究,取了一定的成功经验,但对六六六污染土壤的植物修复尚未见报道,因此本文选取了广西区分布较广、常见的 12 种牧草为供试植物,研究了受六六六污染土壤的植物修复过程中 12 种植物的差异,筛选出适宜修复 HCH 污染土壤的植物。

污染土壤中种植各种草有利于土壤中 HCH 的消解,不同品种的牧草对土壤中 HCH 的吸收和降解是不同的,其根/冠与植物对 HCH 的消解相关性达极显著水平,因此植物具有较高的根/冠是筛选高效降解植物的主要指标之一。在本试验中,多花黑麦草和紫花苜蓿表现为较强的 HCH 吸收和降解能力。通过对 12 种牧草的修复周期预测,可见多花黑麦草和紫花苜蓿可以达到最经济高效的修复效果。因此选择这二种较好植物进行下一步研究,同时以直根系牧草籽粒苋做比较。

3.3 不同牧草对土壤中 HCH 耐受程度不同

进入土壤中的农药通过物理吸附,化学吸附,氢键结合和配价结合等形式吸附在颗粒表面,残留在土壤中的农药对植物生长发育产生不同的影响,有研究表明,低浓度农药可以促进植物的生长发育。不同的植物对土壤中 HCH 吸收能力有很大差异,即使对土壤中 HCH 有较强吸收能力的作物,其对土壤中的 HCH 也有一定的耐受限度。

污染物的生物活性和浓度不同,对植物细胞代谢过程的影响也不同^[74]。小剂量的污染物对植物代谢过程和细胞再生过各不产生可见影响,而只是以高的诱导能力为特征予以表达。很显然,小剂量的污染物在植物体内的渗透是完全可代谢的,细胞对完全脱毒具有足够的氧化能力。然而,污染物浓度过高将对植物产生一定的毒害作用。因此,植物修复受污染物浓度限制。只有在植物承受的浓度范围内,植物修复才得以进行。否则,不仅植物修复的效果不佳,而且会造成植物伤害,甚至导致植物死亡。

本研究以筛选后的植物多黑麦草、紫花苜蓿和籽粒苋为供试植物,研究土壤不同 HCH 浓度对牧草种子萌发和种子活力的影响。通过对以上三种牧草种子萌发活力的研究,结果表明,植草对 HCH 表现出不同的耐受程度。施入少量的 HCH 可以提高多花黑麦草和紫花苜蓿的种子幼苗活力,且紫花苜蓿对 HCH 有极强的耐受力,而少量的 HCH 已严重影响籽粒苋种子幼苗活力。更进一步说明了受 HCH 污染土壤修复中,牧草的修复效果是紫花苜蓿>多花黑麦草>籽粒苋。

3.4 不同牧草对土壤中 HCH 的降解效应

周启星等人^[75]研究表明,植物修复最为重要的一个方面,是“特异”植物根能释放出多种有利于有机污染物降解过程或对有毒金属起固定作用的有机化学物质,其中包括低分子化合物中单糖、氨基酸、脂肪酸、维生素、酮酸以及高分化合物多糖、聚乳酸和粘液等,它们与植物通过分泌和死亡细胞的脱落而向土壤释放的光合产物构成一个特异系统,即特异根圈,由此增加土壤有机质含量,可以改变有机污染物的吸附特性,从而促进它们与腐植酸的共聚作用。孙铁珩等^[76]在研究植物法修复多环芳烃(PAHs)和矿物油污染土壤时,发现苜蓿草就具有这种特异根圈效应。有研究表明,环境中农药的生物降解虽然与植物、土壤微型动物、藻类等有一定的关系,但最主要的降解者是细菌和真菌。

由于农药分子的特殊性，一些微生物在降解农药含污染物时，需要比降解一般污染物更为复杂的过程，需要多种微生物的共同作用才能完全降解^[77]。目前，已经有许多研究证明存在大量的有机农药降解微生物^[78]，对高效降解土壤 HCH 的农药种类还未见报道。

农药与其它有机污染物质一样，微生物降解代谢方式主要有酶促方式和非酶促方式，而酶促方式则是微生物降解的主要形式。农药在土壤中的降解既可以在土壤微生物的作用下发生各种生物降解反应，但也可以在没有土壤微生物直接参与的情况下进行，因为土壤中含有大量微生物的胞外酶，而且这些胞外酶种类很多，如水解酶、氧化酶、脱氢酶、转移酶、脂酶、淀粉酶等。实际上土壤所包含的这些酶就使得土壤具有了生物活性，土壤中的许多反应都是在这些酶的参与下进行^[79, 80]。

第四章 结论与展望

4.1 结论

通过对实验室模拟实验及对污染土壤的样品的研究,初步得到以下几点结论:

(1) 在选定的色谱条件下:GC—17A 气相色谱仪,63Ni 电子捕获 ECD 检测器,DB1701 石英毛细管柱,30m×0.53mm×0.25mm。进样口温度 250℃,检测器 300℃,柱温 140℃—220℃,5℃/min,保持 10min,10℃/min 升至 250℃,保持 3min。载气为高纯氮 99.999%,柱头压 35kpa,尾吹气 28ml/min,无分流进样。进样量为 1μL,外标法定量计算。可得到 α-HCH、β-HCH、γ-HCH、δ-HCH 的很好分离。索氏提取和超声波提取法对提取土壤中的六六六效果都很好,但索氏提取较为繁琐。

(2) 研究了多花黑麦草、紫花苜蓿、柱花草、大翼豆、苦苣菜、籽粒苋、谷稗、木豆、鲁梅克斯、御谷、菊苣、高丹草 12 种牧草对 HCH 污染土壤植物修复的效果,结果表明,不同的植物的修复效果存在很大差异。植物的根/冠比是筛选植物很重要的指标之一,其与土壤 HCH 的残留量相关系数 $R=0.928$,达极显著水平。通过对以上 12 种牧草种植周期的预测,得出黑麦草和紫花苜蓿处理可以达到最小修复周期。

(3) 以多花黑麦草、紫花苜蓿和籽粒苋为研究对象,研究了 HCH 污染程度对植草生长的影响。结果表明,不同植草对 HCH 表现出不同的耐受程度。少量的 HCH 可以提高黑麦草和紫花苜蓿的种子幼苗活力,且紫花苜蓿对 HCH 有极强的耐受力,而少量的 HCH 已严重影响籽粒苋种子幼苗活力。

(4) 通过对多花黑麦草、紫花苜蓿和籽粒苋根际区土壤细菌、真菌和放线菌以及过氧化氢酶、转化酶和脲酶的研究表明,土壤中 HCH 的降解主要发生在植物根际,植物体对 HCH 的直接吸收只占很小一部分。种植物的根际土壤比不种植物的空白土壤中 HCH 消解率高得多,不同植物对 HCH 的降解能力也存在很大差异。

4.2 展望

植物修复技术之所以受到如此高度的重视,主要在于它的低费用,以及利用太阳能作为动力,是一种节能,环境安全的处理技术^[81, 82]。目前植物修复技术仍属一个新研究开发领域,多数研究成果仅限于实验研究阶段。由于所用的植物类型不同,土壤类型不同,以及被处理的污染物种类不同,植物修复有时还不能达到理想的结果^[83, 84]。利用植物修复受有机氯污染物农药污染土壤时,本人认为有以下几方面值得进一步研究:

(1) 加强有机氯农药的快速检测技术研究。尽管目前对有机氯农药的检测技术日渐成熟,但如何快速有效的测定土壤、植物体各部分残留的农药及其转化物,对研究植物体对有机氯农药的吸收、转运具有重要作用,并进一步为研究有机污染物在不同类型植物体内的吸收和转化打下基础。

(2) 深化植物修复机理。当前对机理的研究大多还处于实验现象描述阶段,对机理的探讨带有猜测性。因此,迫切需要深入研究植物修复机理,尤其需加强研究植物体内和根际降解有机污染物的过程及机制的研究。

(3) 完善植物修复模型。当前的植物修复模型均基于较多假设,侧重于模拟植物吸收有机污染物的过程,较少涉及植物根际和植物体内对有机污染物的降解过程,适用范围不广。建立适用范围广的动态模拟整个植物修复过程(包括植物根系降解、体内代谢等)的模型具有重要的理论与实践意义。

(4) 加强植物根际——微生物——酶协同修复的机理研究和技术应用。植物根际——微生物——酶结合可提高土壤有机污染的修复效率。同时,通过对高效微生物提取、纯化出特定酶的研究,筛选出特定的微生物和酶是下一步研究的重点。

(5) 加强复合有机污染植物修复研究。当前,环境中的污染物呈现多样性和复杂性的特点。目前在研究植物修复过程中,主要针对单一有机污染物,但现实环境一般为复合有机污染,因此加强复合有机污染植物修复研究具有重要的现实意义。

参考文献

- [1] 戴树桂主编.环境化学进展[M].化学工业出版社,北京,2005,119
- [2] 周启星、宋玉芳等著.污染土壤修复原理与方法[M].科学出版社,北京,2004
- [3] Khodadoust A P, Sorial G A, Wilson G J, Suidan M T, Griffiths R A and Brenner R C. Integrated system for remediation of contaminated soils[J]. Journal of Environmental Engineering, 1999, 125(11):1033~1041
- [4] Di Gregorio S, Serra R and Villani M. Applying cellular automata to complex environmental problems: the simulation of the bioremediation of contaminated soils [J]. Theoretical Computer Science, 1999, 217(1):131~156
- [5] 唐除痴主编.农药化学[M].南开大学出版社,天津,1998
- [6] 黄卫平.食品中有机氯农药残留分析方法[J].中国卫生检验杂志.2001, 11(6):739~741
- [7] 郭明,闫志顺,段金荣等.土壤农药残留的化学修复探索[J].农业环境科学学报,2003, 22(3):368~370
- [8] Roy D, kommalapati R R, Mandava S S, et al. Environ Sci Technol, 1997, 31(3):670~675
- [9] 何丽莲,李元.农田土壤农药污染的综合治理[J].云南农业大学学报,2003, 18(4):430~434
- [10] Flathman P E and Lanza G R. Journal of Soil Contamination, 1998, 7:415~432
- [11] Cunningham, S.D. I Ow, D.W. Promises and prospects of phytoremediation. Plant physiol. 1996, 110, 715~719
- [12] E. L. Kruger, J. C. Anhalt, D. Scorenson, et al. Atrazine degradation in pesticide-contaminated soils. Phytoremediation of soil and water contaminants, American Chemical Society, Washington DC, 1997: 54~64
- [13] Perkovich B S, Anderson T A, Kruger E L et al., Enhanced Mineralization of C14 Atrazine in Kochia Scoparia Rhizosphere Soil from a Pesticide-Contaminated Soil. Pestic. Sci. 1996, 46: 391~396
- [14] 蔡道基主编.农药环境毒理学研究[C].华晓梅,单正军,我国农药生产、使用状况及其影响因子分析[J].北京,中国环境科学出版社,1999,311~323
- [15] 夏会龙,植物对有机农药的吸收与污染修复研究[D].浙江大学博士学位论文,2002,浙江,杭州
- [16] 安凤春,莫汉宏,郑明辉等.DDT污染土壤的植物修复技术[J].环境污染治理技术与

设备, 2002, 3 (7) :39~44

[17] Watanabe ME. Phytoremediation on the Brink of commercialization. Environ. Sci. Technol 1997, 31(4) :182A

[18] Kling J. Phytoremediation of organics moving rapidly into field trials. Environ. Sci. Technol. 1997, 31(3) :129A

[19] 戴树桂等.污染土壤的植物修复技术[J].上海环境科学, 1998, 17 (9) :25~31

[20] Banks K. M., Schwah A.P. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. In: Symposium on bioremediation of hazardous wastes: research, development and field evaluations, Washington. D. C: Environmental Protection Lab. EPA/600/R-93/ 054, 1993. 246

[21] Pignatello, J.J. Sorption Dynamics of organic comal(eds.). New york: Perspective in Ethology, Plenun Press, 1976.311~332

[22] Hatzios K K, Hoagland R E. Crop-safeners for herbicides: development, uses and mechanisms of action. New York: Academic Press, 1989

[23] 刘世亮, 骆永明, 丁克强等.土壤中有有机污染物的植物修复研究进展[J].土壤, 2003, 35 (3) :187~192

[24] 沈德中编著. 污染环境的生物修复[M]. 化学工业出版社, 北京, 2002, 316

[25] 刘惠君, 刘维屏. 农药污染土壤的生物修复技术[J].环境污染治理技术与设备, 2001, 2 (2) :74~80

[26] 周启星, 宋玉芳. 植物修复的技术内涵及展望[J]. 安全与环境学报, 2001, 1(3):48~53

[27] Sridhar Susarla, Victor F. Medina, Steven C. Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. Ecological Engineering 2002(18) :647~658

[28] Watanabe, M.E. Phytoremediation on the brink of commercialization. Environ. Sci. Technol. 1997 (31) :182A~186A.

[29] Nichol TD. Rhizosphere microbial populations in contaminated soils. Water, Air and Soil Pollution [J]. 1997.95(1/4):165

[30] Yoshitomi K J, Shann J R Corn (Zeamays L) root exudates and their impact on ¹⁴C-pyrene mineralization [J]. Applied Environmental Microbial, 1983.45:826~892

[31] Schnoor JL, Licht LA, Cutcheon SC. Phytoremediation of contaminated soils and sediments. Environ. Sci. Technol, 1995, 29:318~323

[32] 王曙光, 林先贵. 菌根在污染土壤生物修复中的作用[J]. 农村生态环境, 2001, 17

(1):56~59

- [33] 林先贵, 郝文英, 施亚琴, 三种除草剂对 VA 菌根真菌的侵染和植物生长的影响[J]. 环境科学学报, 1991, 11(4):439~444
- [34] Menendez Auan A, et al. Influence of the insecticide dimethoate on arbuscular mycorrhizal colonization and growth in soybean plants[J]. Int Microbiol, 1999, 2(1):43~45
- [35] Ferro, A.M., Sims, R.C., Bugbee, B., 1994. Hycrest crested wheatgrass accelerates the degradation of pentachlorophenol in soil. J. Environ. Qual. 23:272~279.
- [36] 汪小勇, 张超兰, 姜文. 被农药污染的土壤植物修复研究进展[J]. 中国农学通报, 2005, (21), 7:382~384
- [37] 中华人民共和国国家标准 GB/T 14550—1993
- [38] 杨丽莉, 邓延慧. 超声波提取—气相色谱法测定土壤残留六六六和滴滴涕[J]. 环境监测管理与技术, 2002, 14(3):33~35
- [39] GB 3543-1983 农作物种子检验规程[S]. 1983
- [40] 沈萍, 范秀容, 李广武主编. 微生物学实验(第三版)[M]. 高等教育出版社, 北京, 2000
- [41] 周礼恺编著. 土壤酶学[M]. 科学出版社, 北京, 1987
- [42] 许光辉, 郑洪元主编. 土壤微生物分析方法手册[M]. 农业出版社, 北京, 1986:264
- [43] 关松荫等编著. 土壤酶及其研究法[M]. 农业出版社, 北京, 1986:323
- [44] 周启星, 宋玉芳. 植物修复技术内涵及展望[J]. 安全与环境学报, 2001, 1(3):48~53
- [45] Fitter A H. Ecological Interaction in Soil, Plant, Microbes and Animals[M]. Oxford(UK):Blackwell Scientific Publications, 1985
- [46] 安凤春, 莫汉宏, 郑明辉等. DDT 及其主要降解产物污染土壤的植物修复[J]. 环境化学, 2003, 22(1):19-25
- [47] 张永铭, 安琼, 顾宗濂等. 六六六在土壤中的降解[J]. 环境科学, 1982, 3(3):1~4
- [48] 张永铭, 马杏法, 安琼. 六六六在土壤中的残留和降解[J]. 土壤学报, 1988, 25(1):81~87
- [49] 白清云. 六六六在环境中的异构化作用[J]. 农业环境科学学报, 1983, 2, 20~22
- [50] 姚健仁, 焦淑贞, 赵福珍等. 几种不同植物对六六六的吸收[J]. 生态学报, 1983, (5):223~230
- [51] 吴坤, 刘娜, 贾新成等. 五氯酚对土壤微生物数量及酶活性的影响[J]. 河南农业大学学报, 2004, 38(2):207~210

- [52] 方程冉.甲磺隆对根际微生物生态的影响及其降解规律研究[D].浙江大学硕士学位论文, 2003, 5
- [53] Moser, M. Haselwandter, K. Ecophysiology of mycorrhizal symbiosis, Physiological plant ecology II: responses to the chemical and plant environment. Germany: Spriger Verlag KG. Berlin. 1983
- [54] 刘惠君, 刘维屏.农药污染土壤的生物修复技术[J].环境污染治理技术与设备, 2001, 2(2):74~80
- [55] 和树培.环境生物技术[M].南京: 南京大学出版社, 1994
- [56] Macek, T., Mackova, M. Kas, J. Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation. Biotechnology Advances, 2000,18(1):23~34
- [57] 和文祥, 蒋新, 朱茂旭等.酶修复土壤农药污染的研究进展[J].生态学杂志, 2001, 20(3):47~51
- [58] Kazuhito, I, H, et al. Phenolic acid affect transformations of chlorophenols by a coriolus versicolor laccase[J], Soil Biology & Biochemistry, 2000,32:85~91
- [59] Bollag, J. M. Decontaminating soil with enzymes[J]. Environ. Sci. Technol., 1992,26:1876~1881
- [60] Gianfreda, L. and Bollag, J. M. Effect of soils on behavior of immobilized enzymes[J]. Soil Sci, Soc. Am. J., 1994,58:1672~1681
- [61] 董玉瑛, 冯霄.持久性有机污染物分析处理技术研究进展[J].环境污染治理技术与设备, 2003, 4(6):49~54
- [62] 余刚, 黄俊, 张彭义.持久性有机污染物倍受关注的全球性环境问题[J].环境保护, 2001, 37~39
- [63] 林媛真, 王绪卿.苹果有机氯农药残留量测定方法的改进卫生研究[J].1985,14(1):31~33.
- [64] 王立, 汪正范等, 色谱分析样品处理[M], 北京: 化学工业出版社, 2001:172~ 177
- [65] 林道辉, 朱利中, 高彦征.土壤有机污染植物修复的机理与影响因素[J].应用生态学报, 2003, 14(10):1799~1803
- [66] Ryan JA, Bell RM. Davidson JM, et al. 1988. Plant uptake of nonionic organic chemicals from soils. Chemosphere, 17(12):2299~2323
- [67] Chiou CT, Sheng Gy, manes M., 2001, A partition-limited model for the plant uptake of organic contaminants from soil and water, Environ Sci Technol, 35(7):1437~1444
- [68] 孙铁珩, 周启星, 李培军主编.污染生态学[M].科学出版社, 北京, 2001

- [69] Hulster A, Muller JF. 1994. Soil-plant transfer of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans to vegetables of the cucumber family(cucubitacae). *Environ Sci Technol*, 28:1110~1115
- [70] Kerstin WP, McLachlan MS, Umlauf G. 1995. Determination of the principal paty ways of PCDD and PCDF to lolium multiflorum (welsh ray grass). *Environ Sci technol*, 29:1090~1098
- [71] Schnoor JL, Licht LA, McCutcheon SC. 1995, Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Environ. Sci. Technol.*, 29:318~323A
- [72] F'lathman P E and Lanza G R. *Jonrnal of Soil Contamination*, 1998, 7:415~432
- [73] 陈同斌, 韦朝阳. 砷超富集植物蜈蚣草及对砷的富集特征[J]. 科学通报, 2002, 47 (3) :207~210
- [74] Fiorenza S, Oubre C CL and Ward C H. *Phytoremediation of Hydrocarbon-Contaminated Soil*. [M], London: Lew is Publishers, 2000
- [75] 周启星, 宋玉芳. 植物修复技术内涵及展望[J]. 安全与环境学报, 2001, 1 (3) :48~53
- [76] 孙铁珩, 宋玉芳等. 许华夏等. 植物法生物修复 PAHs 和矿物油污染土壤的调控研究[J]. 应用生态学报, 1999, 10 (2) :225~229
- [77] 夏北成编著. 环境污染生物降解[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002
- [78] 王焕校主编. 污染生态学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000
- [79] Alexander M. Biodegradation of organic chemicals. *Environ. Sci. Technol.* , 1985, 19:106~111
- [80] Munnecke DM. Hydrolysis of orgnophosphate insetides by an immobilized enzyme system. *Biotechnol. Bioeng*, 1979(22) :2247-2261
- [81] Allnuff F C T, Exy R, Renganathan M, Pan R S and Dilley K A. Nigericin and hexylamine effects on localized proton gradients in thylacoids[J]. *Biophys Acta Bioenerg*, 1991, 1059:28~36
- [82] Russell M. Hazardous waste remediation: The task ahead[R], Waste Management Research and Education Institute, The University of Tennessee, R01-2534-19-001-92, 1992
- [83] Yong R N and Thomsa H R . *Ground Contamination: Pollutant Management and Remediation*[M]. London: Thomas Telford Publishing 1999
- [84] Soesilo J A and Wilson S R. *Site Remediation: Planning and Management*[M]. London: Lew is Pabbishers, 1997

致 谢

时光荏苒,三年的研究生生活转瞬即逝。值此论文完稿之际,首先我要感谢我的恩师张超兰副教授,张老师及其家人在学业上的悉心指导和生活中的热情关怀,另我长存感激之情。张老师正直的处世原则、严谨的治学态度、一丝不苟的工作作风深深影响我,使我受益匪浅,永远铭记。本论文几易其稿,张老师倾注了大量心血,在此,我再次向她表示崇高的敬意和衷心的感谢!

感谢骆东奇老师,在我进入广西大学最初的日子里,给予的精心指导。在论文写作过程中,也得到了骆老师的关心与指导。特别在论文完成初稿时,骆老师提出了一些改进意见。后来得知当时骆老师由于身体不适,正是住院期间,心中有说不出的歉疚和感激。

感谢广西大学各位授课老师的谆谆教诲和无私指导,我将永远铭记心中!

本试验研究工作在广西大学资源环境实验室完成,感谢资环实验室的所有老师们!特别感谢沈方科老师在色谱分析中给予的指导和帮助,感谢国家加工食品质量监督检验中心的翁先生在最初茫然之际给与的指点,使我茅塞顿开。也特别感谢廖荣胜和黄锋两位同学在整个试验过程不辞辛劳的工作和在试验过程中提出的很多宝贵意见。

在此,我更要感谢我的亲人,在我人生的每个十字路口、在每一次困难面前,是他们给了我无尽的力量和勇气!

最后,我要感谢和我朝夕相处的同学和朋友们,他们和我共同度过了校园最美好的时光,真心感谢所有曾经关心、帮助与鼓励过我的人!

特别感谢参与本论文审阅及答辩委员会的各位专家,感谢他们对本论文提出的指正和建议!

作者 汪小勇

二00六年五月于广西大学

攻读学位期间发表论文情况

- [1] 汪小勇, 张超兰, 姜文. 污染土壤的修复技术研究进展[J]. 安徽农业科学, 2005, 33 (1): 128~129
- [2] 汪小勇, 张超兰, 姜文. 被农药污染的土壤植物修复研究进展[J]. 中国农学通报, 2005, 27 (7): 382~384
- [3] 姜文, 骆东奇, 汪小勇等. 滁州市建设生态城市的 SWOT 分析及对策研究[J]. 甘肃农业, 2006, 3: 98~99