研究简报

美人蕉对水体三唑磷降解作用研究

成水平[1]　肖　瑾[1]　肖惠萍[1,2]　吴振斌[1]

(1. 中国科学院水生生物研究所淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉　430072; 2. 中国科学院研究生院, 北京　100039)

PHYTODEGRADATION OF TRIAZOPHOS BY CANNA INDICA L INN.

CHENG Shui-Ping[1], XIAO Jin[1], XIAO Hui-Ping[1,2] and WU Zhen-Bin[1]

(1. *State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan* 430072; 2. *Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100039)

关键词: 植物修复; 植物降解; 有机磷农药; 三唑磷; 美人蕉; 磷酸酶

Key words: Phytoremediation; Phytodegradation; Organic phosphate pesticide; Triazophos; *Canna indica* Linn.; Phosphatase

中图分类号: X592　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-3207(2008)03-0437-03

三唑磷(O,O-二乙基-O-(1-苯基-1,2,4-三唑-3-基)硫代磷酸酯, $C_{12}H_{16}N_3O_3PS$, TAP)是一种有机磷杀虫剂, 由于其具有较高的杀虫活性、低残留等特点, 逐步取代甲胺磷、对硫磷、甲基对硫磷等高毒农药, 成为我国使用较多的新型农药品种。虽然对于哺乳类而言, TAP 属于中低毒农药, 但对于多数水生生物仍是属于高毒性物质, TAP 污染导致死虾、死贝、死鱼的事件在我国沿海时有发生[1]。如何有效地防止 TAP 农药废水进入自然水体也是亟待解决的环境问题。

利用植物转移、解毒或固化污染物质的植物修复技术已成为一种环境友好的污染治理手段[2,3], 其主要作用方式有植物摄取、根区降解、植物降解、植物转运和植物挥发等。研究表明培养在狄氏剂水溶液中白杨树苗能在一周后将 66% 狄氏剂的摄取进入植物根部[4]; 在阿根廷一个浅水湖中, 水葱内有机氯农药的含量可以达到 30.2—45.7ng/g DW[5], 可见植物摄取积累作用的存在。Sun, *et al*. 报道玉米和绿豆苗能加强根区对涕灭威的降解[6], 黑麦草和紫花苜蓿能增加石油污染土壤的微生物丰度和多样性, 加强根区降解[7]。植物本身还能释放胞外酶到环境中降解有机物, 经消毒的紫花苜蓿组织培养物能释放酶降解多氯联苯[8], 污水中的酚能被马铃薯发根培养物的过氧化物酶所降解[9]。

美人蕉(*Canna indica* Linn.)因其花期长、易生长且景观好等特点, 常用于街道与花园植物, 并能在人工湿地中生长用于水质改善[10], 具有修复重金属镉污染的潜力[11]。本文将研究水培状态下美人蕉对 TAP 污染的修复作用及其机制。

1　材料与方法

1.1　植物材料及处理　美人蕉(*Canna indica* Linn.)材料取自中国科学院水生生物研究所人工湿地中试系统。小苗鲜重(93±5.2)g, 培养在装有 2L 1/10 Hoagland 溶液的三角瓶中, 温度 18—22 ℃, 自然光照(14h:10h)。植物暂养一周后, 分 5 个处理组: 植物 + 培养液(C_0), 对照培养; TAP + 青霉素 + 培养液(T_0), 测试无菌状态自然降解; TAP + 人工湿地基质浸出液 + 培养液(T_1), 测试微生物降解; TAP + 植物 + 培养液(C_1), 测试植物系统 TAP 的去除; TAP + 植物 + 无 KH_2PO_4 的培养液(C_2), 测试植物系统在无磷营养状态对 TAP 的去除。每个处理 3 个重复, 起始 pH 调整到 7。三角瓶用黑布遮盖, 防止 TAP 光解。

1.2　化学分析　水样参照文献[12]进行前处理, 在 25 ℃、8000r/min 速率下离心 30min, 上清液上 HPLC (1100 serial HPLC, Agilent, USA) 测定水体中 TAP 浓度。HPLC 条件: Waters 反相 C-18 柱, 150mm×3.90mm×5.00μm; 柱流量 1.00mL/min, 流动相为水 30.0%, 甲醇 70.0%, 进样量 10.0μL, 柱温 25.0 ℃; 二极管阵列检测器, 检测波长 246nm, 波段 4。TAP 的保留时间为 3.26min。

1.3　水体中磷酸酶检测　水体磷酸酶活性参照文献[13, 14]的方法: 取水样 5mL, 加入 0.25mL Tis-HCl 缓冲溶液(pH 7.0), 0.25mL 0.3mmol/L 叠氮化钠, 最后加入 0.25mL 3mmol/L 对硝基苯磷酸二钠启动反应; 在 37 ℃、黑暗条件下反应 4h, 用 2mL 1mol/L NaOH 停止反应。反应液在 410nm 波长下进行比色测定, 酶活性以单位时间内单位体积的水溶液水解对硝基苯磷酸二钠生成的对硝基酚的量来表示, 单位为 μmol/L·h。

1.4　数据分析　测量数据取三次重复的平均值。TAP 符合一级反应动力学[15], 用 SAS V8 非线性回归, TAP 水解反应一

收稿日期: 2007-01-25; **修订日期**: 2007-12-17

基金项目: 中国科学院知识创新工程项目(KZCX2-YW-426); 国家留学回国人员启动基金资助

通讯作者: 成水平, 男, 湖南衡山人; 博士, 研究员; 主要研究方向为植物修复与生态工程。E-mail: shpcheng@ihb.ac.cn

级方程 $C_t = C_0 \cdot e^{-Kt}$,计算出水解常数 K 及 TAP 降解半衰期 $t_{1/2} = 0.693/K$。

2 结果与讨论

2.1 美人蕉修复 TAP 污染的作用

经过 21d 的培养,各处理组 TAP 浓度的变化情况(图 1),第 21 天的去除率以及一级反应速率常数和半衰期(表 1)。

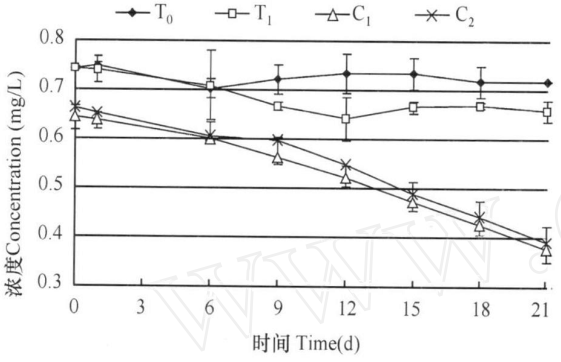


图 1 不同处理溶液中 TAP 浓度变化情况

Fig. 1 The concentration of TAP in different treatment in hydroponic system

T_0: TAP + 青霉素 + 培养液; T_1: TAP + 人工湿地基质浸出液 + 培养液; C_1: TAP + 植物 + 培养液; C_2: TAP + 植物 + 无 KH_2PO_4 的培养液

T_0: TAP + 10mg/L penicillin + diluted (1/10) Hoagland solution; T_1: TAP + 100mL media eluate + diluted (1/10) Hoagland solution; C_1: plant + TAP + diluted (1/10) Hoagland solution; C_2: plant + TAP + P-deficient Hoagland solution

表 1 各处理组 TAP 一级反应参数及第 21 天的去除率

Tab. 1 Parameters of TAP removal kinetics in different treatments

处理组 Treatment	TAP 一级反应速率常数 Removal kinetics constant of TAP K(/d)	半衰期 Half-life $t_{1/2}$(d)	第 21 天去除率 Removal percentage at 21st day(%)
TAP + 青霉素 + 培养液	0.0020	351.8	1.4
TAP + 人工湿地基质浸出液 + 培养液	0.0059	117.5	11.4(2.9) *
TAP + 植物 + 培养液	0.0229	30.2	41.6(7.1)
TAP + 植物 + 无 KH_2PO_4 的培养液	0.0253	27.3	41.1(4.1) *

*括号内为标准偏差 Standard deviations in brackets

在加了青霉素抑菌的处理组中(T_0),TAP 浓度变化很小,到第 21 天的去除率才 1.4%,其速率常数 K 为 0.0020/d,且与一级反应方程拟合不好(r^2为 0.3268)。青霉素的加入抑制了微生物的生长,而黑布遮挡防止了光解,表明 TAP 在无菌无光条件下较稳定。

在加入了人工湿地基质浸出液的处理组中(T_1),TAP 浓度有所下降,到第 21 天的去除率为 11.4%,降解速率常数 K 为 0.0059/d,与一级反应方程拟合也不好(r^2为 0.5893)。人工湿地基质浸出液中具有微生物的浸出液和胞外酶,能降解 TAP,这与文献报道相类似,Sun, *et al*.。

在有植物处理组中(C_1、C_2),TAP 浓度下降很快,第 21 天的去除率分别达到 41.6%和 41.1%,降解速率常数 K 分别为 0.0229/d 和 0.0253/d,且与一级反应方程拟合很好(r^2: 0.9382 和 0.9374),可见植物的存在加快了水溶液中 TAP 的降解。其中无磷培养液中的 TAP 降解略快,TAP 半衰期较短为 27.3d,可能与植物对磷元素的需求导致了 TAP 的降解加速,但两个处理组之间尚无显著差异($p > 0.05$)。

处理系统对 TAP 的去除作用包括自然水解、微生物和植物的作用。通过 4 个处理组 K 值的对比,自然水解贡献 K 为 0.0020/d,微生物的贡献 K(T_1减去 T_0)为 0.0039/d,植物存在的贡献 K(C_1减去 T_1)为 0.0170/d,由此计算植物的贡献达到 74.3%,植物在 TAP 降解过程中发挥重要作用。美人蕉可能增加了根区的微生物丰度,进而加强降解作用,根区微生物往往比无植物系统的微生物丰富。Nakamura, *et al*. 研究了香葱对五氯酚(PCP)污染土壤的修复作用,经过 28 d 的实验,土壤 PCP 含量下降 30%,香葱起着重要作用[16]。而 Sun, *et al*. 对比研究消毒、不消毒和种植植物的土壤中狄氏剂的降解,表明微生物发挥着重要作用,植物的存在主要是加强了根区的降解作用[6]。由此看来,植物和微生物的贡献因有机污染物的特性和植物种类不同而不同。

2.2 美人蕉修复 TAP 污染的机制

TAP 在自然水体中的降解遵循如下步骤:第一步水解反应,连接三唑基团和硫代磷酸基团的 C—O 键断裂,生成 O,O-二乙基硫代磷酸酯和苯唑醇;苯唑醇再经过一系列反应,其中的三唑基团最终生成尿素[17]。TAP 中有一个磷酸基团,而磷是生物所需营养元素。磷酸酶能将有机磷分解为被植物可利用的无机磷,由此分析不同处理组中水溶液磷酸酶活性(图 2),可揭示美人蕉降解 TAP 的机制。

由图 2 可知,植物对照组中(C_0)无有机磷,前 15 天磷酸酶活性几乎为零,美人蕉并不释放磷酸酶到溶液中。尽管存在有机磷,但同样存在无机磷营养的处理组中(T_1和 C_1),无论有否植物,磷酸酶活性都非常低。而在缺无机磷营养的处理组中(C_2),磷酸酶活性平均达到 14.8μmol/L·h,且随着 TAP 的曝露,在前 6 天迅速达到高值 25μmol/L·h。宋勇春等报道了不同磷源对红三叶草根际和菌根际磷酸酶活性的影响,发现在供给有机磷(植酸钠)的条件下明显增加了菌根际土壤磷酸酶活性[18]。C_2处理组中,缺乏无机磷营养,植物生长需要磷,这样就可能诱导植物产生并释放磷酸酶到水溶液中,降解有机磷成为植物可利用的无机磷。有文献报道植物磷酸酶活性增加,导致根区磷酸酶活性也增加[19, 20]。因此,鉴于缺乏无机磷营养条件下植物释放大量磷酸酶,TAP 浓度下降,可见植物降解的存在。

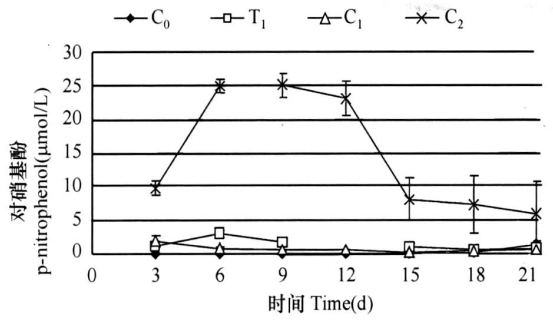


图 2　各处理组中磷酸酶活性变化情况

Fig. 2　Phosphatase activities in water of the different treatments

C_0:植物 + 培养液;T_1:TAP + 人工湿地基质浸出液 + 培养液;C_1:TAP + 植物 + 培养液;C_2:TAP + 植物 + 无 KH_2PO_4 的培养液

C_0: Plant + diluted (1/10) Hoagland solution; T_1: TAP + 100 mL media eluate + diluted (1/10) Hoagland solution; C_1: plant + TAP + diluted (1/10) Hoagland solution; C_2: plant + TAP + P-deficient Hoagland solution

3　结　论

应用植物和微生物来降低土壤和地下水的污染是一种具有潜力的、经济方便的技术手段。从本研究可知,植物修复水体 TAP 污染是可行的。植物的存在提高了 TAP 降解速率常数,美人蕉在降解水体 TAP 的贡献达到 74.3%,具有修复水体 TAP 污染的潜力。植物降解是植物修复的方式之一,美人蕉诱导释放磷酸酶可能是降解水体 TAP 污染的主要机制。美人蕉广泛地应用于人工湿地,利用美人蕉修复水体 TAP 污染的技术可随之而发展。

参考文献:

[1] Ding Y P, Jin C X, Guo Y M, *et al*. The acute toxicity of triazophos to prawn and crab [J]. *Journal of Zhejiang Ocean University* (Natural Science), 2002, **21**(2): 116—118 [丁跃平,金彩杏,郭远明,等. 三唑磷对海水虾类、蟹类的急性毒性试验. 浙江海洋学院学报(自然科学版),2002,**21**(2):116—118]

[2] Salt D E, Blaylock M, Kumar N P B A, *et al*. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants [J]. *Biotechnology*, 1995, **13**: 468—474

[3] Meagher R B. Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2000, **3**(2): 153—162

[4] Skaates S V, Ramaswami A, Anderson L G. Transport and fate of dieldrin in poplar and willow trees analyzed by SPME [J]. *Chemosphere*, 2005, **61**:85—91

[5] Miglioranza K S B, De Moreno J E A, Moreno V J. Organochlorine pesticides sequestered in the aquatic macrophyte *Schoenoplectus californicus* (C. A. Meyer) Soják from a shallow lake in Argentina [J]. *Wat Res*, 2004, **38**:1765—1772

[6] Sun H W, Xu J, Yang S H, *et al*. Plant uptake of aldicarb from contaminated soil and its enhanced degradation in the rhizosphere [J]. *Chemosphere*, 2004, **54**: 569—574

[7] Kirk J L, Klironomos J N, Lee H, *et al*. The effects of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil [J]. *Environ Pol*, 2005, **133**:455—465

[8] Mehmannavaz R, Prasher S O, Darakhshan A. Rhizospheric effects of alfalfa on biotransformation of polychlorinated biphenyls in a contaminated soil augmented with *Sinorhizobium meliloti* [J]. *Proc Biol*, 2002, **37**:955—963

[9] González P S, Cristian E. Capozucca, *et al*. Milrad and Elizabeth Agostini. Phytoremediation of phenol from wastewater, by peroxidases of tomato hairy root cultures [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2006, **39**(4):647—653

[10] Grosse W, Wissing F W, Perfler R, *et al*. Water quality improvement in tropical and subtropical areas for reuse and rehabilitation of aquatic ecosystem [A]. In: Gawlik B M, Platzer B, Muntau H (Eds.), Freshwater Contamination in China [C]. Office for Official Publications of the European Communities, European Communities, 2001, 19—32

[11] Cheng S, Ren F, Grosse W, *et al*. Effects of cadmium on chlorophyll content, photochemical efficiency, and photosynthetic intensity of *Canna indica* Linn. [J]. *Int J Phytoremed*, 2002, **4**(3): 239—246

[12] Zhang Z Y, He D J, Xu D M, *et al*. A study on residual determination and degradation of triazophos in different pH water [J]. *Modem Agrochemicals*, 2005, **14**(1): 25—27 [张志勇,何丹军,徐敦明,等. 三唑磷在水中消解和残留动态研究. 现代农药,2005,**14**(1):25—27]

[13] Sayler G, Puziss S M, Silver M. Alkaline phosphatase assay for freshwater sediments: application to perturbed sediment system [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1979, **38**:922—927

[14] Zhou Y Y, Li J Q, Zhang M. Temporal and spatial variations in kinetics of alkaline phosphatase in sediments of a shallow Chinese eutrophic lake (Lake Donghu) [J]. *Water Res*., 2002, **36**:2084—2090

[15] Xia H L, Wu L H, Tao Q N. Phytoremediation of some pesticides by water hyacinth (*Eichhornia crassipes* Solms) [J]. *Journal of Zhejiang University* (Agrie. & Life Sci.), 2002, **28**(2): 165—168 [夏会龙,吴良欢,陶勤男. 凤眼莲植物修复几种农药的效应. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2002,**28**(2):165—168]

[16] Nakamura T, Motoyama T, Suzuki Y, *et al*. Biotransformation of pentachlorophenol by Chinese chive and are combinant derivative of its rhizosphere-competent microorganism, *Pseudomonas gladioli* M-2196 [J]. *Soil Biol*, 2004, **36**:787—795

[17] Rani S, Madan V K, Kathpal T S. Persistence and dissipation behavior of triazophos in canal water under Indian climatic conditions [J]. *Eco Environ*, 2001, **50**:82—84

[18] Song Y C, Feng G, Li X L. Effects of different P sources on phosphatase activity of mycorrhizosphere of red clover inoculated with AMF [J]. *Chinese J Appl. Eco.*, 2003, **14**(4): 781—784 [宋勇春,冯固,李晓林. 不同磷源对红三叶草根际和菌根际磷酸酶活性的影响. 应用生态学报,2003,**14**(5):781—784]

[19] Li F, Li M Y, Pan X H, *et al*. Biochemical and physiological characteristics in seedlings roots of different rice cultivars under low-phosphorus stress [J]. *Chinese J Rice Sci.*, 2004, **18**(1):48—52 [李峰,李木英,潘晓华,等. 不同水稻品种幼苗适应低磷胁迫的根系生理生化特征. 中国水稻科学,2004,**18**(1):48—52]

[20] Zhang E H, Zhang X H, Wang H Z. Adaptable effects of phosphorus stress on different genotypes of faba-bean [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, **24**(8):1589—1593 [张恩赫,张新慧,王惠珍. 不同基因型春蚕豆对磷胁迫的适应性反应. 生态学报,2004,**24**(8):1589—1593]