

间作条件下螯合剂对龙葵和大叶井口边草吸收重金属的影响

熊国焕, 高建培*, 王宏宾, 潘义宏, 焦 鹏

(昆明理工大学环境科学与工程学院, 云南 昆明 650093)

摘 要:用室内土培试验方法,在采自田间的 Pb、Cd 和 As 复合污染土壤中单作或间作龙葵和大叶井口边草条件下,筛选出修复 Pb-Cd-As 复合污染土壤较好的种植方式为间作。进一步在间作方式下,研究了外源添加不同浓度 EDDS(乙二胺二琥珀酸)、NTA(氨基乙酸)和 EDTA(乙二胺四乙酸)对植物吸收 Pb、Cd 和 As 的影响。结果表明,间作显著促进了龙葵地上部对 Cd 的吸收量和大叶井口边草地上部对 As 的吸收量,间作龙葵地上部吸收 Cd 和大叶井口边草地上部吸收 As 含量分别是单作龙葵和大叶井口边草的 1.3 倍和 1.4 倍,说明间作龙葵和大叶井口边草比单作更有利于修复 Pb-Cd-As 复合污染土壤。间作条件下,大叶井口边草对螯合剂的耐性比龙葵更强。3、6、12 mmol·kg⁻¹ EDTA 能极显著增加土壤中 Pb、Cd 有效态含量,从而促进龙葵地上部对 Pb 吸收和大叶井口边草地上部对 Pb、Cd 吸收。EDTA 比 NTA 具有更强的提高土壤 Pb、Cd 有效态的能力,但对土壤 As 有效态促进作用与 EDTA 相比,NTA 效果极显著,1.5、3 mmol·kg⁻¹ NTA 处理极显著提高土壤 As 有效态含量及促进龙葵和大叶井口边草地上部对 As 吸收。

关键词:螯合剂;重金属;植物提取;龙葵;大叶井口边草;间作

中图分类号:X53 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2011)04-0666-11

Effects of Chelators on the Uptake of Heavy Metals by *Solanum nigrum* and *Pteris cretica* var. *Nervosa* Growing in an Intercropping System

XIONG Guo-huan, GAO Jian-pei*, WANG Hong-bin, PAN Yi-hong, JIAO Peng

(Faculty of Environmental Sciences and Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093, China)

Abstract: Enhancing phytoextraction of heavy metals has been proposed as an effective approach to remove heavy metals from contaminated soils. Plants with different metal-hyperaccumulative characteristics, namely *Solanum nigrum* and *Pteris cretica* var. *nervosa*, were monocropped or intercropped in multiple-metal contaminated field soils in this study. This line of study aims to investigate, compared with monocropping method, whether intercropping method could improve metal uptake by these two tested plants. The effects of ethylene diamine disuccinate (EDDS), ethylene diamine tetraacetate (EDTA) and nitrilotriacetic acid (NTA) on uptake of heavy metals (Pb, Cd and As) by plants growing in an intercropping system were also investigated using the same soil. Compared with monocropping method, intercropping method increased Cd concentration 1.3 times and As concentration 1.4 times in shoots of *S. nigrum* and *P. cretica* var. *nervosa*, respectively. This result indicated that intercropping method could significantly improve heavy metal uptake by hyperaccumulators. Much higher tolerance to chelators was observed in *P. cretica* var. *nervosa* than that in *S. nigrum* in the intercropping system. The application of 3, 6, 12 mmol·kg⁻¹ EDTA to soil contaminated with heavy metals significantly increased soil Pb, Cd bioavailability and concentrations of Pb in two intercropped plants. The maximum Pb concentrations reached 27.58 mg·kg⁻¹ and 26.17 mg·kg⁻¹ in *S. nigrum* and *P. cretica* var. *nervosa*, respectively, which were 3.3 times and 3 times higher than that in the corresponding control plants to which no chelators were applied. Under the conditions of the intercropping system, the application of 3, 6, 12 mmol·kg⁻¹ EDTA also significantly increased Cd concentration in the shoot of *P. cretica* var. *nervosa*. EDTA was more effective than NTA in increasing soil Pb, Cd bioavailability, but was less effective than NTA in increasing soil As bioavailability. The application of 1.5 mmol·kg⁻¹ and 3 mmol·kg⁻¹ NTA significantly increased soil As bioavailability as well as the concentrations of As in shoots of two tested plants.

Keywords: chelator; heavy metal; phytoextraction; *Pteris cretica* var. *nervosa*; *Solanum nigrum* L.; intercropping

收稿日期:2010-10-11

基金项目:国家环境保护科技项目(E-2007-06);云南省环境保护专项项目(2007[262]);云南省教育厅科学研究基金重点项目(09Z0019)

作者简介:熊国焕(1984—),女,云南西双版纳人,在读硕士,主要从事污染生态学研究。E-mail:xgh198412@126.com

* 通讯作者:高建培 E-mail:gaojp99@yahoo.com.cn

土壤污染是当前人类面临的一个极为重要的、全球普遍关注的环境问题之一。污染土壤的重金属主要有 Hg、Cd、As、Pb、Cr、Zn、Cu、Co、Ni 等。植物修复技术因环境友好、经济有效、操作简便等优点而备受关注,该技术实施的关键是找到地上部重金属含量高并具有较大生物量的植物。许多研究表明超富集植物适合于重金属污染土壤的修复,但由于其专一性强的缺点而具有一定的运用局限^[1-2]。合适的螯合剂可以诱导增加土壤中重金属可溶性^[3-4],促进植物对重金属的吸收和向地上部转运^[5]。EDTA(乙二胺四乙酸)对大多数金属具有较好的螯合作用,特别是对 Pb 元素^[6-7],但 EDTA 或 EDTA-金属螯合物对植物和土壤微生物具有一定毒性^[7],同时难被生物降解,可能导致淋溶风险^[8-9]。近几年来,EDDS(乙二胺二琥珀酸)、NTA(氨三乙酸)因易被生物降解而越来越多地运用于土壤重金属污染的治理^[10-11]。

龙葵(*Solanum nigrum* L.)是一种 Cd 的超富集植物,具有耐 Cd 毒害和富集 Cd 的能力^[12]。大叶井口边草(*Pteris cretica* var. *nervosa*.)是一种能超富集 As 的植物^[13]。鉴于大多数重金属污染土壤呈多元素复合型,而很多超富集植物只能吸收单一元素,目前多金属共超富集植物的报道不多,必须采用多种植物配置联合修复重金属复合污染土壤。已有研究表明,间作体系条件能促进超富集植物对相应重金属的吸收^[14],但将 EDTA、EDDS 和 NTA 等螯合剂运用于龙葵和大叶井口边草间作体系修复 Pb、Cd 和 As 复合污染土壤的研究尚少。

本研究通过室内土培试验,研究在采自田间的 Pb、Cd 和 As 复合污染土壤中单作或间作龙葵和大叶井口边草条件下,筛选出更有利于修复重金属复合污染土壤的种植方式。在较优的种植方式下进一步研究外源添加不同浓度 EDDS、NTA 和 EDTA 对植物吸收 Pb、Cd 和 As 的影响,初步探讨 EDTA、EDDS、NTA 提高植物修复 Pb、Cd 和 As 复合污染土壤的可能性,旨在为龙葵、大叶井口边草进一步开发利用于 Pb、Cd 和 As 复合污染土壤修复和治理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤采自云南省个旧市乍甸村某农田 0~20 cm 耕作层。土壤属棕壤土,土壤风干后过 5 mm 筛,充分混匀。土壤基本理化性质见表 1。供试土壤属 Pb、Cd 和 As 复合污染。供试龙葵(*S. nigrum*)种子购自昆明市小板桥种子批发市场,龙葵种子在未受污染的腐殖土中育苗,生长到 2~3 片小叶后选取长势整齐幼苗移栽。大叶井口边草(*P. cretica* var. *nervosa*)幼苗采自中科院昆明植物所,选取高 5~7 cm、带 3~5 片小叶、长势一致的幼苗进行盆栽试验。

1.2 盆栽试验

采用直径 14 cm、高 15 cm 的 PVC 盆,每盆装土 1.5 kg,以 NH_4Cl 、 KH_2PO_4 、 KCl (均为分析纯)作基肥,用量($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土)分别为 $\text{N}:\text{P}_2\text{O}_5:\text{K}_2\text{O}=0.15:0.10:0.15$ 。基肥与土充分混匀,平衡 1 周后进行单作龙葵、单作大叶井口边草及间作龙葵和大叶井口边草的盆栽试验。单作条件下每盆各移栽龙葵或大叶井口边草 8 株,间作条件下每盆移栽龙葵和大叶井口边草各 4 株,不同种植方式均在植物生长 80 d 后收获。间作龙葵和大叶井口边草条件下,幼苗生长 80 d 后分别施加 NTA、EDTA(Na_2EDTA)、EDDS(Na_3EDDS)3 种螯合剂,其中 NTA 用 NaOH 溶解,调节 pH 至 7.0 后施加,螯合剂施加后第 8 d 收获。NTA、EDTA、EDDS 均施加 5 个浓度水平:0(对照)、1.5、3.0、6.0、12.0 $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土,每个处理分别以 CK、N1.5、N3.0、N6.0、N12.0;CK、E1.5、E3.0、E6.0、E12.0;CK、S1.5、S3.0、S6.0、S12.0 表示。植物在室内自然光照 18~30 °C 条件下培养,试验期间用自来水浇灌,土壤湿度保持在 60%田间持水量。每个处理设 3 个重复。

1.3 样品处理及测定方法

植物样品分为地上部和根部,用自来水冲洗干净再用去离子水淋洗 2~3 次,于 105 °C 下杀青 30 min,在 70 °C 下烘至恒重,测定干重。磨碎后过 60 目尼龙筛,用 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 法消解,原子吸收光谱仪(美国

表 1 供试土壤基本理化性质

Table 1 Physio-chemical characteristics of soil used($n=3$)

项目	pH	有机质/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	总 N/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	总 P/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	CEC/ $\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$	金属总量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$					金属有效态/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$		
						Pb	Cd	Zn	Cu	As	Pb	Cd	As
平均值	7.4	36.8	1.4	1.8	9.5	569.6	2.1	260.0	219.6	260.9	103.1	0.8	49.4
标准差	0.3	0.7	0.4	0.4	1.2	4.2	0.3	24.2	3.3	14.6	18.2	0.03	4.3

Varian AA240FS 型)测定 Pb、Cd 含量;采用氢化物发生-原子吸收光谱法测定总 As^[15],氢化物发生器购自北京瀚时制作所(WHG-103 型)。

土样风干后过 100 目筛。土壤 pH 值测定采用电位法;有机质的测定采用重铬酸钾容量法-稀释热法;总氮测定采用半微量凯氏定氮法;总磷测定采用 HClO₄-H₂SO₄ 法;阳离子代换量(CEC)采用乙酸铵交换法;总 Pb、总 Cd、总 Cu 和总 Zn 采用王水-高氯酸消煮原子吸收光谱法;土壤 Pb、Cd 有效态含量采用二乙三胺五醋酸-三乙醇胺(DTPA-TEA)法;总 As 采用氢化物发生-原子吸收光谱法。具体操作方法参照中国科学院南京土壤研究所《土壤理化分析》^[16]及鲍士旦《土壤农化分析》(第三版)^[15]。土壤 As 有效态采用 0.5 mol·L⁻¹ NaH₂PO₄ 提取法^[17]。

空白样品、茶叶标准样品(GBW-08505)、土壤标准样品(GBW-08303)以及 As、Pb 和 Cd 标准溶液购自国家标准物质研究中心。各元素的加标回收率在 92%~99%之间,符合元素质量分数分析质量控制要求。

1.4 数据处理

数据分析用 SAS 9.0 软件进行单因素或双因素方差分析,并采用 Tukey's HSD 法进行多重比较。用 SPSS17.0 进行相关性分析,显著性差异水平 *P* 取 0.05。

2 结果与分析

2.1 不同种植方式对植物吸收重金属的影响

不同种植方式下两种植物地上部对 3 种重金属 Pb、Cd 和 As 的吸收量见表 2。间作龙葵地上部对 Cd 的吸收量显著高于单作龙葵地上部对 Cd 的吸收量(*P*<0.05),间作龙葵地上部吸收 Cd 含量大约是单作的 1.3 倍,但间作和单作龙葵地上部对 Pb、As 的吸收量无显著差异(*P*>0.05);间作大叶井口边草地上部对 As 的吸收量显著高于单作大叶井口边草地上部对 As 的吸收(*P*<0.05),间作大叶井口边草地上部吸收

As 含量大约是单作的 1.4 倍,而间作和单作大叶井口边草地上部对 Pb、Cd 的吸收量无显著性差异(*P*>0.05)。总体来看,间作方式比单作更有利于修复 Pb-As-Cd 复合污染土壤。

2.2 螯合剂对间作龙葵和大叶井口边草生长的影响

施加不同螯合剂后两种植物表现出不同程度的毒害症状。由表 3 可见,大叶井口边草对螯合剂的耐性较强,直至收获时除 N12、E12、S12 表现轻微毒害症状外,其余处理与对照差异不大,说明大叶井口边草只有在螯合剂施加较大剂量时才表现出受害症状。龙葵受毒害较严重,其中,E12、S12 处理的植株在收获时叶片大面积灼伤、变黄,且 S12 处理的植株在第 8 d 收获时有少部分叶片脱落。由表 4 可见,不同螯合剂浓度处理仅对龙葵根部干重有显著影响(*P*=0.031 2<0.05)外,不同螯合剂以及不同螯合剂和浓度交互作用对两种植物干重均无显著影响(*P*>0.05)。

2.3 螯合剂诱导下间作龙葵和大叶井口边草对 Pb 的吸收

施螯合剂后间作的两种植物对 Pb 的吸收见图 1。3 种螯合剂处理后龙葵和大叶井口边草地上部 Pb 含量最高分别为 27.58、26.17 mg·kg⁻¹,分别是对照的 3.3 倍和 3.0 倍。不同螯合剂、不同螯合剂浓度及二者交互作用均对龙葵吸收 Pb 产生极显著差异(*P*<0.01)。与 NTA 比较,EDTA、EDDS 极显著提高龙葵对 Pb 的吸收(*P*<0.01),其中 EDTA 促进龙葵地上部对 Pb 的吸收效果最好,其次为 EDDS,而 NTA 的影响不显著。与对照相比较,1.5、3、6、12 mmol·kg⁻¹ 的 EDTA 和 EDDS 处理极显著地提高了龙葵对 Pb 的吸收和向地上部转运(*P*<0.01)。不同螯合剂、不同螯合剂浓度均使大叶井口边草地上部吸收 Pb 产生极显著差异(*P*<0.01),而不同螯合剂和不同螯合剂浓度交互作用对大叶井口边草地上部吸收 Pb 产生显著影响(*P*=0.012 0),其中 EDTA 处理提高大叶井口边草地上部吸收 Pb 极显著好于 EDDS、NTA(*P*<0.01);与对照相比较,3、6、12 mmol·kg⁻¹ EDTA 处理极显著提高了大叶井口边草地上部对 Pb 的吸收(*P*<0.01)。分析结果表明:EDTA 促进两种植物地上部对 Pb 的吸收效果最好,其中以 6 mmol·kg⁻¹ EDTA 处理效果为最好。

2.4 螯合剂诱导下间作龙葵和大叶井口边草对 Cd 的吸收

不同螯合剂对间作两种植物体内 Cd 含量影响见图 2。不同螯合剂、不同螯合剂及其浓度交互作用均对两种植物地上部吸收 Cd 没有显著影响(*P*>

表 2 两种种植方式下植物地上部吸收重金属总量
Table 2 Uptake of heavy metals in shoots of tested plants under two planting conditions

重金属元素	龙葵		大叶井口边草	
	单作	间作	单作	间作
Pb/μg·半盆 ⁻¹	11.72±1.92a	12.91±0.51a	13.05±2.18a	15.30±4.27a
Cd/μg·半盆 ⁻¹	4.76±0.13b	6.33±0.82a	2.87±0.36a	2.74±0.55a
As/μg·半盆 ⁻¹	20.78±1.62a	20.33±2.49a	202.13±41.74b	280.16±52.27a

注:表中同一行字母相同表示同种植物在不同种植方式下对重金属吸收差异不显著(*P*>0.05),字母不同表示差异显著(*P*<0.05)。数据为平均值±标准差(*n*=3)。下同。

表 3 不同螯合剂处理下植物的生长反应

Table 3 The growing responses of two tested plants to different chelators						
处理	龙葵生长反应			大叶井口边草生长反应		
	2 d	4 d	8 d	2 d	4 d	8 d
CK	良好	良好	良好	良好	良好	良好
N1.5	良好	良好	良好	良好	良好	良好
N3.0	良好	良好	良好	良好	良好	良好
N6.0	良好	良好	良好	良好	良好	良好
N12.0	良好	良好	有少许缺绿	良好	良好	叶边缘灼伤
E1.5	良好	良好	良好	良好	良好	良好
E3.0	良好	良好	小部分缺绿	良好	良好	良好
E6.0	良好	少部分叶片缺绿	叶片灼伤、缺绿明显	良好	良好	良好
E12.0	根部叶片少许失绿	叶片缺绿、灼伤较明显	叶片严重缺绿、灼伤	良好	良好	叶边缘灼伤
S1.5	良好	良好	良好	良好	良好	良好
S3.0	良好	良好	少许缺绿	良好	良好	良好
S6.0	根部叶片少许缺绿	部分叶片缺绿、叶片灼伤	叶片缺绿、灼伤较严重	良好	良好	良好
S12.0	根部叶片缺绿、小部分灼伤	叶片缺绿较明显、灼伤严重	叶片缺绿、灼伤较严重、少部分叶片脱落	良好	良好	叶边缘灼伤

表 4 不同螯合剂处理对植物干重影响

Table 4 Effects of different chelators on the dry weight of two tested plants					
螯合剂	浓度/ $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$	龙葵		大叶井口边草	
		地上部/ $\text{g}\cdot\text{pot}^{-1}$	根部/ $\text{g}\cdot\text{pot}^{-1}$	地上部/ $\text{g}\cdot\text{pot}^{-1}$	根部/ $\text{g}\cdot\text{pot}^{-1}$
NTA	0	1.52±0.24	0.62±0.07	1.77±0.51	2.71±0.71
	1.5	2.19±0.71	1.00±0.13	1.79±0.51	2.74±0.42
	3.0	1.90±0.29	0.81±0.37	1.53±0.58	2.49±0.16
	6.0	1.25±0.07	0.78±0.19	1.13±0.15	1.96±0.69
	12.0	1.59±0.31	0.63±0.30	1.17±0.54	1.70±0.35
EDTA	0	1.52±0.24	0.62±0.07	1.77±0.51	2.71±0.71
	1.5	1.98±0.57	0.88±0.14	1.80±0.42	2.77±0.87
	3.0	2.08±0.40	0.99±0.27	1.59±0.26	2.65±0.74
	6.0	1.82±0.24	0.48±0.15	1.69±0.29	2.28±0.48
	12.0	1.62±0.21	0.56±0.21	1.06±0.57	1.50±0.28
EDDS	0	1.52±0.24	0.62±0.07	1.77±0.51	2.71±0.71
	1.5	1.52±0.71	0.70±0.39	1.52±0.61	2.51±1.39
	3.0	1.57±0.60	0.53±0.16	1.24±0.65	2.96±0.69
	6.0	1.58±0.31	0.42±0.23	1.10±0.16	2.70±0.88
	12.0	1.24±0.16	0.46±0.21	1.15±0.47	2.44±0.56
双因素方差分析					
螯合剂种类(A)		$P=0.217\ 8$	$P=0.132\ 7$	$P=0.627\ 7$	$P=0.201\ 6$
不同浓度(C)		$P=0.507\ 5$	$P=0.031\ 2$	$P=0.051\ 9$	$P=0.395\ 5$
A×C		$P=0.098\ 0$	$P=0.198\ 1$	$P=0.947\ 8$	$P=0.618\ 5$

0.05),但不同螯合剂浓度对两种植物地上部吸收 Cd 有极显著影响 ($P<0.01$), 与对照相比较,1.5、3、6 $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ 处理极显著提高了龙葵地上部对 Cd 的吸收 ($P<0.01$);3、6、12 $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ 处理显著提高了大叶井口边草地上部对 Cd 的吸收($P<0.01$)。不同螯合剂、不同螯合剂浓度对龙葵和大叶井口边草根部分吸收 Cd 均产生极显著差异 ($P<0.01$)。其中 EDDS 比 EDTA、

NTA 对龙葵根部吸收 Cd 的促进作用效果更好,但对大叶井口边草来说,EDTA、EDDS 对其根部吸收 Cd 的促进作用比 NTA 好。与对照相比较,3、6 $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ EDDS 处理均极显著提高了两种植物根部对 Cd 的吸收($P<0.01$)。分析表明:3 种螯合剂对间作的两种植物地上部吸收 Cd 的影响差异不显著($P>0.05$),3、6 $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ 螯合剂处理均极显著提高了两种植物地上

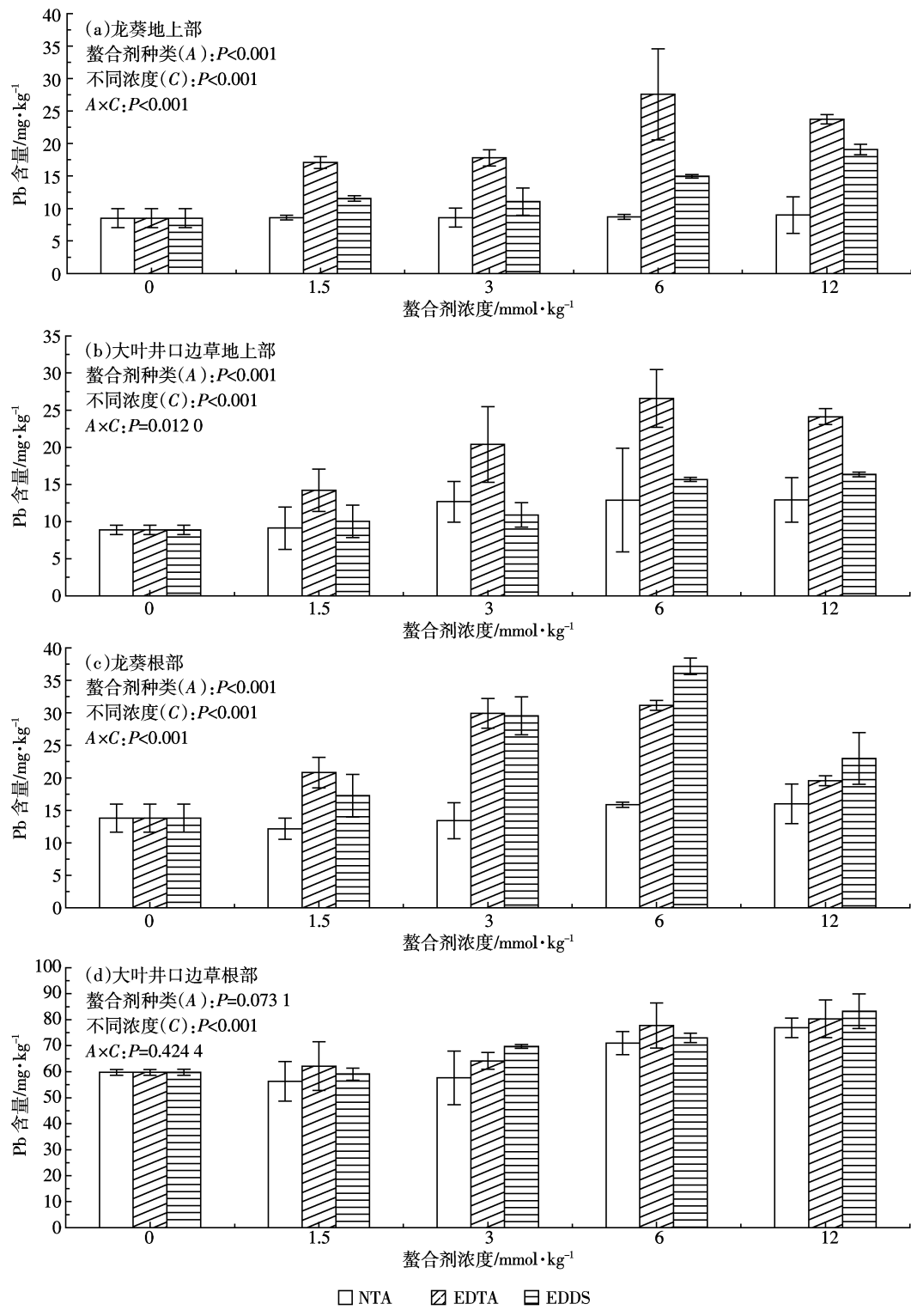


图 1 不同螯合剂及其浓度对植物体内 Pb 含量影响

Figure 1 Effects of different chelators on Pb concentrations in two tested plants

部对 Cd 的吸收($P < 0.01$)。

2.5 螯合剂诱导下间作龙葵和大叶井口边草对 As 的吸收

螯合剂诱导下间作龙葵和大叶井口边草对 As 的吸收影响见图 3。不同螯合剂、不同螯合剂浓度及不同螯合剂和不同螯合剂浓度交互作用对龙葵体内 As 含量均产生极显著影响($P < 0.01$),其中 NTA 促进作用最好、其次为 EDTA,EDDS 没有显著影响,与对照相

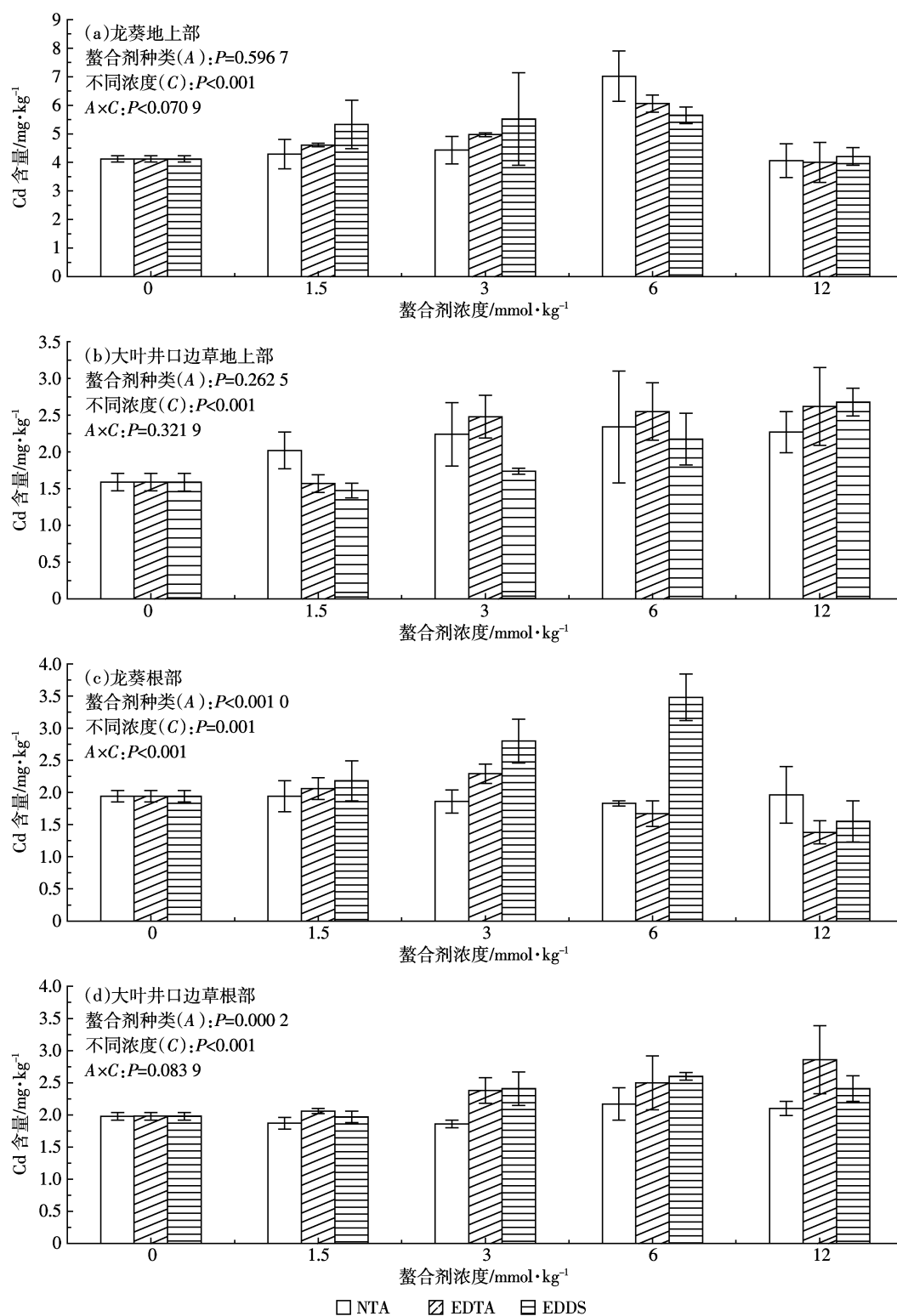


图2 不同螯合剂对植物体内Cd含量影响

Figure 2 Effects of different chelators on Cd concentrations in two tested plants

比较, 1.5、3 $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ NTA 极显著提高龙葵地上部对As的吸收($P<0.01$)。对于大叶井口边草而言, 不同螯合剂、不同螯合剂和不同螯合剂浓度交互作用对大叶井口边草吸收As均没有显著影响($P>0.05$), 但不同

螯合剂浓度对其影响显著($P<0.05$)。与对照相比较, 1.5、3、6 $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度能极显著提高大叶井口边草地上部对As的吸收($P<0.01$)。试验结果表明: NTA 促进龙葵吸收As效果较好; 1.5、3 $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度能极

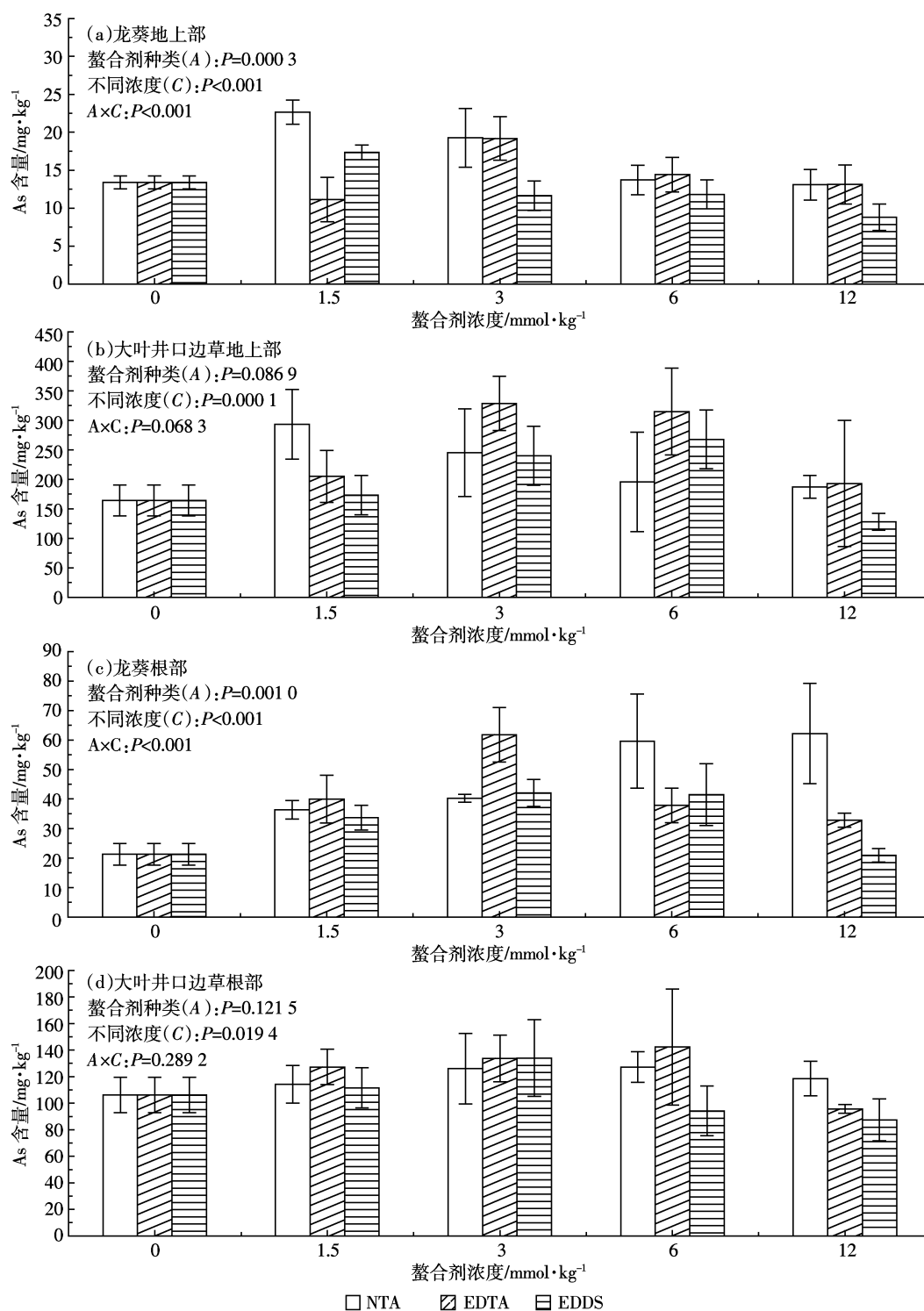


图3 不同螯合剂对植物体内As含量影响

Figure 3 Effects of different chelators on As concentrations in two tested plants

显著提高两种植物地上部对As的吸收。

2.6 螯合剂对土壤重金属有效态的影响

施加不同水平NTA、EDTA和EDDS对土壤中Pb、Cd和As有效态含量影响见表5。不同螯合剂对土壤Pb、Cd有效态含量有显著影响($P<0.05$),其中

EDTA对土壤Pb有效态的促进效果最好,EDTA、EDDS比NTA对Cd有效态的促进效果好。不同螯合剂浓度对土壤Pb、Cd有效态含量有极显著影响($P<0.01$),与对照相比,3、6、12 $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 螯合剂均极显著提高土壤中Pb、Cd有效态含量($P<0.01$)。不同螯合

剂和不同螯合剂浓度对土壤 As 有效态均产生极显著影响($P<0.01$),其中 NTA 的促进效果比 EDTA、EDDS 好,与对照相比较,1.5、3、6、12 mmol·kg⁻¹ NTA 极显著提高了土壤中 As 有效态含量($P<0.01$)。

2.7 土壤重金属有效态与植物体地上部重金属含量间的相关性

如表 6 所示,土壤中各重金属有效态与植物体地上部相应重金属含量之间呈正相关。对于龙葵,在 EDTA 和 EDDS 处理下,其地上部 Pb 含量与土壤中 Pb 有效态含量呈显著正相关($P<0.05$);对于大叶井口边草,在 EDTA 和 NTA 处理下,其地上部 Pb 含量与土壤中 Pb 有效态含量呈显著正相关($P<0.05$),在 EDDS 处理下,其地上部 Cd 含量与土壤中 Cd 有效态含量呈显著正相关($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 不同种植方式对植物地上部吸收重金属的影响

龙葵和大叶井口边草间作后,显著促进了龙葵地上部对 Cd 的吸收量和大叶井口边草地上部对 As 的吸收量。说明间作比单作更适合于重金属复合污染土壤的植物修复,对重金属复合污染土壤修复具有较大意义。对于这一研究结果,尚有待进一步从间作后的

根际环境变化来解释其机理。目前相关研究显示,土壤的 pH 值是影响 Cd 活性最重要的因素^[8]。本研究间作条件下促进 Cd 的超富集植物龙葵对 Cd 的吸收机理解释可能是:龙葵与大叶井口边草间作时,由于养分竞争等原因,龙葵和大叶井口边草分泌更多的根系分泌物来活化土壤中的养分,而低分子有机酸是根系分泌物的主要成分^[19-20],低分子有机酸与 Cd 形成螯合物,并能降低植物根际 pH,从而提高土壤中 Cd 的生物有效性,根际土壤中活化的 Cd 被吸附到龙葵根部细胞表面,扩散进入质外体,向地上部运输,使间作龙葵地上部吸收 Cd 含量显著高于单作。间作条件下促进 As 的超富集植物大叶井口边草对 As 的吸收机理尚不清楚,有待于进一步研究。但蒋成爱等^[14]研究表明,超富集植物与非超富集植物混作后,会显著提高超富集植物对专性重金属吸收,这点与本研究结果一致。

3.2 植物对螯合剂的生长反应

本研究结果表明,EDTA 和 EDDS 对龙葵毒害较大,且 EDDS 对龙葵的毒性大于 EDTA,与 Evangelou 等^[11]研究用 EDTA 和 EDDS 处理单作烟草(*Nicotiana tabacum*)和 Tandy 等^[21]对向日葵(*Helianthus annuus*)施加 10 mmol·kg⁻¹ EDDS 后叶片表现严重缺绿和灼伤

表 5 螯合剂对土壤重金属有效态影响
Table 5 Effect of different chelators on concentrations of heavy metal bioavailability

螯合剂种类	螯合剂浓度/mmol·kg ⁻¹	重金属元素/mg·kg ⁻¹		
		Pb	Cd	As
EDTA	0	102.74±13.67	1.14±0.12	49.78±1.17
	1.5	122.75±5.83	1.41±0.04	56.27±4.99
	3.0	125.00±19.30	1.50±0.04	55.60±6.21
	6.0	150.83±1.84	1.51±0.03	55.58±4.95
	12.0	156.59±15.16	1.65±0.18	53.18±2.96
EDDS	0	102.74±13.67	1.14±0.12	49.78±1.17
	1.5	111.95±6.89	1.25±0.09	59.72±2.52
	3.0	124.70±4.77	1.33±0.16	55.61±4.07
	6.0	126.61±8.91	1.43±0.02	55.43±5.74
	12.0	153.23±7.48	1.50±0.02	52.90±2.42
NTA	0	102.74±13.67	1.14±0.12	49.78±1.17
	1.5	102.89±22.89	1.16±0.30	63.84±5.15
	3.0	117.30±5.83	1.19±0.21	61.77±5.60
	6.0	123.39±13.02	1.20±0.12	60.35±4.04
	12.0	124.09±12.42	1.34±0.03	59.28±3.16
双因素方差分析				
螯合剂种类(A)		$P=0.049\ 9$	$P=0.000\ 8$	$P=0.006\ 5$
不同浓度(C)		$P<0.001$	$P=0.000\ 2$	$P=0.000\ 3$
A×C		$P=0.831\ 5$	$P=0.725\ 8$	$P=0.680\ 3$

表 6 土壤重金属有效态(x)与植物体地上部重金属含量(y)相关性分析

Table 6 The analysis of the relationship between heavy metal accumulation in shoots and soil heavy metal bioavailability

植物	螯合剂	重金属	回归方程	皮尔逊相关系数 R	双尾显著性检验 P 值
龙葵	EDTA	Pb	$y=0.312x-10.324$	0.950	0.013*
		Cd	$y=0.746x+3.676$	0.172	0.728
		As	$y=0.066x+10.644$	0.061	0.923
	EDDS	Pb	$y=0.207x-12.399$	0.972	0.006**
		Cd	$y=0.845x+3.843$	0.166	0.790
		As	$y=0.495x-14.399$	0.598	0.287
	NTA	Pb	$y=0.007x+7.761$	0.189	0.761
		Cd	$y=2.972x+1.175$	0.189	0.761
		As	$y=0.442x-10.324$	0.597	0.288
大叶井口边草	EDTA	Pb	$y=0.308x-21.634$	0.935	0.020*
		Cd	$y=2.300x-1.153$	0.824	0.086
		As	$y=8.453x-217.940$	0.307	0.615
	EDDS	Pb	$y=0.170x-8.910$	0.873	0.053
		Cd	$y=3.063x-2.140$	0.897	0.039*
		As	$y=5.300x-98.780$	0.354	0.559
	NTA	Pb	$y=0.140x-5.006$	0.908	0.033*
		Cd	$y=2.706x-1.194$	0.706	0.183
		As	$y=7.597x-231.230$	0.798	0.106

注:表中 ** 表示相关系数假设检验极显著相关($P<0.01$), * 表示显著相关($P<0.05$)。根据变异来源将自由度分解如下:螯合剂间 $df=2$;浓度间 $df=4$;螯合剂×浓度交互 $df=8$;误差 $df=30$;总变异 $df=44$ 。

症状一致,但本研究施加 12 mmol·kg⁻¹ EDDS 条件下龙葵少部分叶片迅速变老、叶片脱落,这与施加螯合剂浓度较大有关。Marques 等^[22]研究发现,在 Zn 污染土壤中 EDTA 对龙葵毒性大于 EDDS,而本研究中 EDDS 对间作龙葵毒性大于 EDTA,其原因还需进一步研究。与龙葵相比,3 种螯合剂对大叶井口边草毒害较小。螯合剂施加后,对间种的龙葵和大叶井口边草地上部干重均无显著影响,这可能与施加螯合剂后较短时间收获植物有关。

3.3 螯合剂对间作植物吸收重金属的影响

土壤中重金属存在不同的形态,其中交换态的重金属(包括溶解态的重金属)迁移能力最强,具有生物有效性(又称有效态)^[14]。从表 6 可知在 EDTA 处理条件下,龙葵、大叶井口边草地上部 Pb 含量与土壤中 Pb 有效态含量呈显著正相关,说明本研究中 3、6、12 mmol·kg⁻¹ EDTA 处理极显著提高土壤中 Pb 有效态,从而极显著提高了两种植物地上部对 Pb 的吸收。EDTA 诱导龙葵和大叶井口边草地上部吸收 Pb 过程中,一方面增加土壤中 Pb 有效态含量,另一方面促进 Pb 向植物地上部迁移。但是植物的金属吸收效率与 3 种螯合剂和金属的亲合力直接相关,其中 EDTA 溶解土壤中 Pb 易形成 Pb-EDTA 络合物,具有较高稳定

系数 $K_f=17.88$ ^[23-24],其次是 Pb-EDDS(12.7)和 Pb-NTA(11.3)^[24-25],因而本研究中 EDTA 比 NTA 在增加土壤中 Pb 有效态的效果更好;EDTA 比 EDDS、NTA 极显著提高两种植物地上部对 Pb 的吸收,这与 Luo 等^[26]和 Freitas 等^[27]在单作条件下研究结果一致。但 Freitas 等^[27]研究结果表明,NTA 处理显著提高单作玉米地上部对 Pb 的吸收,本研究中 NTA 对两种植物地上部吸收 Pb 没有显著影响,这可能与植物种类和龙葵、大叶井口边草分别对 Cd、As 吸收具有专一性有关。龙葵是 Cd 的超富集植物,对 Pb 吸收较少^[12,22,30],我们先前的研究表明,土壤中 Pb 含量为 600、900、1 200 mg·kg⁻¹ 时,龙葵和大叶井口边草地上部 Pb 含量分别为 (32.48±6.21)、(80.65±6.02)、(71.26±7.87) mg·kg⁻¹ 和 (14.49±4.39)、(23.45±4.72)、(39.05±4.68) mg·kg⁻¹ (未发表资料),说明随着土壤中重金属增加,植物体内 Pb 吸收较少。Lai 等^[28]研究发现在单作香根草(*Vetiveria zizanioides*)条件下,施加 2、5 mmol·kg⁻¹ EDTA 对外源添加的重金属污染土壤中 Pb 有效态含量没有产生显著性差异,而本研究中 3、6、12 mmol·kg⁻¹ EDTA 显著提高 Pb 有效态含量,这与土壤污染方式和土壤污染时间有关。与外源添加重金属土壤相比较,长期污染土壤中金属有效态较低^[29]。

一般情况下,重金属有效态含量与植物体吸收重金属量有很好的相关关系^[27]。从表6可知,在EDTA、EDDS和NTA处理下,大叶井口边草地上部Cd含量与土壤Cd有效态含量之间相关性较好,其中EDDS处理下,地上部Cd吸收量与土壤Cd有效态含量之间显著相关,说明3、6、12 mmol·kg⁻¹EDDS均极显著提高研究土壤中Cd有效态含量,进而显著提高了大叶井口边草地上部对Cd的吸收。但本研究中,在EDTA、EDDS和NTA处理下,龙葵地上部Cd吸收量与土壤Cd有效态含量之间和两种植物地上部As吸收量与土壤中As有效态含量相关性不显著。原因在于3、6、12 mmol·kg⁻¹不同螯合剂处理均极显著提高了研究土壤中Cd有效态含量(表5),使3、6 mmol·kg⁻¹螯合剂处理显著提高龙葵地上部对Cd的吸收(图2),但12 mmol·kg⁻¹没有显著提高龙葵对Cd的吸收。尽管1.5、3、6、12 mmol·kg⁻¹NTA极显著提高了土壤中As有效态含量,但仅有3、6 mmol·kg⁻¹NTA极显著提高龙葵和大叶井口边草地上部对As的吸收,同样12 mmol·kg⁻¹也没有显著提高龙葵和大叶井口边草对As的吸收。这可能与高浓度螯合剂处理后植物受害抑制其地上部对重金属吸收有关,Santos等^[31]研究表明,EDTA、EDDS毒害植物抑制植物地上部对Cd、Zn吸收。从表3可知施用螯合剂后龙葵受毒害较严重,其中E12、S12处理的植株在收获时叶片大面积灼伤、变黄,且S12处理的植株在第8d收获时有少部分叶片脱落。大叶井口边草对螯合剂的耐性较强,但N12、E12、S12处理也表现轻微毒害症状。

Chiu等^[32]研究认为,对于土壤中As的有效态而言,施加NTA比HEDTA(羟乙基替乙二胺三乙酸)、EDTA、EGTA(乙二醇双四乙酸)、CDTA(环己烷二胺四乙酸)和DTPA(二乙基三胺五乙酸)效果好,与本研究中NTA效果好于EDTA一致。但Chiu等^[32]研究表明,低于20 mmol·kg⁻¹NTA没有显著提高单作香根草地上部As含量,而本研究1.5、3 mmol·kg⁻¹NTA能极显著提高间作方式下龙葵地上部对As的吸收。目前,螯合剂诱导植物修复砷污染土壤研究较少,且是否与植物种类、种植方式有关还需进一步研究。

综合分析可知,施加6 mmol·kg⁻¹EDTA为间作龙葵和大叶井口边草修复Pb-Cd-As复合污染土壤的最优方案,每年以收割3次计,每盆地上部去除Pb、Cd、As分别为384、67、2 232 μg·a⁻¹。植物修复技术的缺点是修复过程缓慢、用时较长,用该方案将土壤中Cd、As含量降至三级标准分别需要16.4 a和92.2 a。

当然,本研究仅是室内条件下的盆栽,野外自然条件种植下的修复效果如何,仍需进一步深入研究。

螯合剂在土壤环境中的滞留可能会引起土壤和沉积物中重金属元素的溶出,增加重金属在土壤和沉积物中的可溶态和移动性,可能导致重金属对地下和地表水的污染。本研究中所用的3种螯合剂在环境中均能滞留一段时间,其中EDTA在施用后的很长一段时间,甚至是植物收获1 a后,仍然在起作用^[33],而EDDS在土壤中矿化速度很快,28 d后即可降解完全,其半衰期为2.5 d^[34],NTA在土壤中21 d后可降解完全^[35]。因此,必须考虑螯合剂使用过程中的环境风险,最好能选用价格低廉的可降解螯合剂。

4 结论

(1)与单作相比,间作显著促进龙葵地上部对Cd的吸收和大叶井口边草对As的吸收,间作龙葵地上部吸收Cd和大叶井口边草地上部As吸收量分别是单作的1.3、1.4倍。

(2)间作条件下,大叶井口边草对不同螯合剂的耐性比龙葵更强。

(3)EDTA处理条件下,龙葵、大叶井口边草地上部Pb含量与土壤中Pb有效态含量呈显著正相关。

(4)3、6、12 mmol·kg⁻¹EDTA能极显著增加土壤中Pb、Cd有效态含量,促进龙葵地上部对Pb吸收和大叶井口边草地上部对Pb、Cd吸收。EDTA比NTA具有更强的增加土壤中Pb、Cd有效态的能力。1.5、3 mmol·kg⁻¹NTA处理能极显著提高土壤As有效态含量,进而促进龙葵和大叶井口边草地上部对As的吸收。

参考文献:

- [1] Reeves R D, Brooks R R. Hyperaccumulation of lead and zinc by two metallophytes from mining areas of Central Europe[J]. *Environmental Pollution*, 1983, 31(4): 277-285.
- [2] Brooks R R, Chambers M F, Nicks L J, et al. Phytomining[J]. *Trends in Plant Science*, 1998, 3(9): 359-362.
- [3] 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]. *Nature Biotechnology*, 1995, 13: 468-474.
- [4] Lasat M M. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2002, 31: 109-120.
- [5] Lombi E, Zhao F J, Dunham S J, et al. Phytoremediation of heavy metal contaminated soils: Natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2001, 30(6): 1919-1926.
- [6] Vaxevanidou K, Papassiopi N, Paspaliaris I. Removal of heavy metals and arsenic from contaminated soils using bioremediation and chelant extraction techniques[J]. *Chemosphere*, 2008, 70(8): 1329-1337.

- [7] Chen H, Cutright T. EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr, and Ni uptake by *Helianthus annuus*[J]. *Chemosphere*, 2001, 45(1):21-28.
- [8] Grcman H, Velikonja B S, Vodnki D, et al. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: Metal accumulation, leaching and toxicity[J]. *Plant and Soil*, 2001, 235(1):105-114.
- [9] Nowack B. Environmental chemistry of aminopolycarboxylate chelating agents[J]. *Environmental Science and Technology*, 2002, 36(19):4009-4016.
- [10] Luo C L, Shen Z G, Lou L Q, et al. EDDS and EDTA-enhanced phytoextraction of metals from artificially contaminated soil and residual effects of chelant compounds[J]. *Environmental Pollution*, 2006, 144(3):862-871.
- [11] Evangelou M W H, Bauer U, Ebel M, et al. The influence of EDDS and EDTA on the uptake of heavy metals of Cd and Cu from soil with tobacco *Nicotiana tabacum*[J]. *Chemosphere*, 2007, 68(2):345-353.
- [12] 魏树和, 周启星, 王新, 等. 一种新发现的镉超累积植物龙葵 (*Solanum nigrum* L.)[J]. 科学通报, 2004, 49(24):2568-2573.
WEI Shu-he, ZHOU Qi-xing, WANG Xin, et al. A newly discovered Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L.[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2004, 49(24):2568-2573.
- [13] 韦朝阳, 陈同斌, 黄泽春, 等. 大叶井口边草: 一种新发现的富集种的植物[J]. 生态学报, 2002, 22(5):777-778.
WEI Chao-yang, CHEN Tong-bin, HUANG Ze-chun, et al. Cretan brake (*Pteris cretica* L.): An arsenic-accumulating plant[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(5):777-778.
- [14] 蒋成爱, 吴启堂, 吴顺辉, 等. 东南景天与不同植物混作对土壤重金属吸收的影响[J]. 中国环境科学, 2009, 29(9):985-990.
JIANG Cheng-ai, WU Qi-tang, WU Shun-hui, et al. Effect of Co-cropping *Sedum alfredii* with different plants on metal uptake[J]. *China Environmental Science*, 2009, 29(9):985-990.
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 第三版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
BAO Shi-dan. Soil agricultural chemistry analysis[M]. 3rd ed. Beijing: China Agricultural Press, 2000.
- [16] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤理化分析[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1978.
Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences. Soil physico-chemical analysis[M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1978.
- [17] Huang R Q, Gao S F, Wang W L, et al. Soil arsenic availability and the transfer of soil arsenic to crops in suburban areas in Fujian Province, Southeast China[J]. *Science of the Total Environment*, 2006, 368(2-3):531-541.
- [18] 常学秀, 段昌群, 王焕校. 根分泌作用与植物对金属毒害的抗性[J]. 应用生态学报, 2000, 11(2):315-320.
CHANG Xue-xiu, DUAN Chang-qun, WANG Huan-xiao. Root excretion and plant resistance to metal toxicity[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2000, 11(2):315-320.
- [19] 涂书新, 孙锦荷, 郭智芬, 等. 植物根系分泌物与根际营养关系评述[J]. 土壤与环境, 2000, 9(1):64-67.
TU Shu-xin, SUN Jin-he, GUO Zhi-fen, et al. On Relationship between root exudates and plant nutrition in rhizosphere[J]. *Soil and Environmental Sciences*, 2000, 9(1):64-67.
- [20] 李德华, 贺立源, 李建生, 等. 一种根系分泌物中有机酸的前处理和高效液相色谱检测方法[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(2):219-222.
LI De-hua, HE Li-yuan, LI Jian-sheng, et al. A method for pretreatment and determination of organic acid in root secretion by high performance liquid chromatography[J]. *Plant Physiology Communications*, 2004, 40(2):219-222.
- [21] Tandy S, Schulin R, Nowack B. Uptake of metals during chelant-assisted phytoextraction with EDDS related to the solubilized metal concentration[J]. *Environmental Science and Technology*, 2006, 40(8):2753-2758.
- [22] Marques A P G C, Oliveira R S, Samardjiev K A, et al. EDDS and EDTA-enhanced zinc accumulation by *Solanum nigrum* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi grown in contaminated soil[J]. *Chemosphere*, 2008, 70(6):1002-1014.
- [23] Vassil A D, Kapulnik Y, Raskin I, et al. The role of EDTA in lead transport and accumulation by Indian mustard[J]. *Plant Physiology*, 1998, 117(2):447-453.
- [24] Tandy S, Bossart K, Mueller R, et al. Extraction of heavy metals from soils using biodegradable chelating agents[J]. *Environmental Science and Technology*, 2004, 38(3):937-944.
- [25] Martell A E, Smith R M. Critical stability constants// Volume 1 Amino acids[M]. New York, USA: Plenum Press, 1974.
- [26] Luo C L, Shen Z G, Li X D. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS[J]. *Chemosphere*, 2005, 59(1):1-11.
- [27] Freitas E V S, Nascimento C W A. The use of NTA for lead phytoextraction from soil from a battery recycling site[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 171(1-3):833-837.
- [28] Lai H Y, Chen Z S. Effects of EDTA on solubility of cadmium, zinc, and lead and their uptake by rainbow pink and vetiver grass[J]. *Chemosphere*, 2004, 55(3):421-430.
- [29] Vig K, Megharaj M, Sethunathan N, et al. Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: A review[J]. *Advances in Environmental Research*, 2003, 8(1):121-135.
- [30] Sun Y B, Zhou Q X, Diao C Y. Effects of cadmium and arsenic on growth and metal accumulation of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L.[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(5):1103-1110.
- [31] Santos F S, Hernandez-Allica J, Becerril J M, et al. Chelate-induced phytoextraction of metal polluted soils with *Brachiaria decumbens*[J]. *Chemosphere*, 2006, 65(1):43-50.
- [32] Chiu K K, Ye Z H, Wong M H. Enhanced uptake of As, Zn, and Cu by *Vetiveria zizanioides* and *Zea mays* using chelating agents[J]. *Chemosphere*, 2005, 60(10):1365-1375.
- [33] Vandevivere P C, Saveyn H, Vcratmete W, et al. Biodegradation of metal-[s, s]-EDDS complexes[J]. *Environmental Science and Technology*, 2001, 35(9):1765-1770.
- [34] Jaworska J S, Schowanek D, Feijtel T C. Environmental risk assessment for trisodium[s, s]-ethylene diamine disuccinate, a biodegradable chelator used in detergent applications[J]. *Chemosphere*, 1999, 38(15):3597-3625.
- [35] Meers E, Ruttens A, Hopgood M J, et al. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals[J]. *Chemosphere*, 2005, 58(8):1011-1022.