

* 专题评述 *

螯合剂强化重金属污染土壤植物修复的 机制和应用研究进展*

张玉秀¹ 黄智博¹ 柴团耀^{2**}

1. 中国矿业大学(北京)化学与环境工程学院, 北京 100083; 2. 中国科学院研究生院生命科学学院, 北京 100049

摘要 螯合剂能活化土壤中的重金属离子, 提高其生物有效性; 与重金属离子结合形成螯合物, 降低重金属对植物的毒性; 促进植物对重金属的吸收和由根部向地上部转运能力, 从而可以提高植物重金属的累积量和提取效率. 螯合剂的作用因螯合剂和重金属种类的不同而异: 人工合成的多羧基氨基酸 EDTA 强化植物修复 Pb 污染土壤的能力最强, 但对 Cd 污染土壤的作用较小. 天然的多羧基氨基酸 EDDS 对提高植物提取 Cd 和 Pb 的作用不如 EDTA, 但对 Cu 和 Zn 提取作用较强; 此外, EDDS 对提高植物吸收 Cu, Pb 和 Zn 的效果高于 NTA. EDTA 及其复合物在土壤中持续时间长, 生物毒性较大, 易造成环境二次污染; 与之相比, EDDS 和 NTA 易于生物降解, 其中 EDDS 将可能成为人工多羧基氨基酸的替代品. 目前, 螯合剂诱导的植物提取效率较低, 这可能与添加螯合剂的时间和剂量以及植物种类有关. 本文主要综述了螯合剂增强植物提取的作用机制、应用效果和存在问题, 并提出了进一步研究的方向.

关键词 螯合剂 重金属 植物提取

随着矿产资源的大量开发利用、工业生产迅猛发展和各种化学产品的广泛使用, 由此引发的重金属污染越来越重^[1]. 据统计, 欧洲至少有 50 个区域被 Zn, Pb, Cd 和 Cu 等重金属污染, 我国受 Cd, Cr, As 和 Pb 等重金属污染的耕地面积近 20 Mha, 约占总耕地面积的 20%. 过量的重金属进入环境, 参与水体—土壤—生物系统的循环, 特别是重金属在植物的根、茎、叶及籽实中大量积累, 通过食物链严重危及人类的健康, 如骨骼变形和肾病等多种病症. 水俣病也是由于重金属 Hg 污染引起的. 因此, 如何有效地治理重金属污染土壤的问题成为目前研究的重点和难点.

重金属污染土壤治理通常采用物理及化学的方法, 如排土填埋法、稀释法、淋洗法、物理分离法、

稳定法及电化学法等, 这些方法治理效果较好, 历时较短, 但是成本高, 难于管理, 易造成二次污染和对环境扰动大^[2]. 近年来, 人们利用植物对土壤重金属具有吸收和富集作用这一特性, 通过种植达到去除污染土壤重金属的目的, 即植物修复技术(phytoremediation)^[3]. 根据其作用过程和机理, 植物修复技术可以分为植物提取、植物过滤、植物挥发和植物稳定 4 种类型. 植物提取技术是利用高生物量的重金属超富集植物对土壤重金属的吸收和转移作用, 使其富集在植物的地上部分, 随后通过收割地上部分和集中处理去除污染. 植物提取技术是彻底去除重金属污染的绿色环保技术, 而超富集植物是植物修复技术得以应用的先决条件. 超富集植物是指地上部能累积 100 mg/kg

2009-06-03 收稿, 2009-07-05 收修改稿

* 国家高技术研究发展计划(批准号: 2007AA021404, 2006AA10Z407)和国家转基因生物新品种培育重大专项(批准号: 2009ZX08009-130B)资助项目

** 通信作者, E-mail: tychai@gucas.ac.cn

(干重)的 Cd, As, 1000 mg/kg 的 Co, Cu, Cr, Ni, Pb 以及 10000 mg/kg 以上的 Mn, Ni 的植物^[4]. 20 世纪 90 年代初, Baker 等^[5]报道遏蓝菜 (*Thlaspi caerulescens*) 地上部干重 Cd 含量最高达 3000 mg/kg, 印度芥菜 (*Brassica juncea*) 是生物量大的 Cd/Pb/Zn 富集植物. 目前, 已发现的超富集植物已有 400 多种, 研究较多的有芸苔属、庭芥属、遏蓝菜属、东南景天 (*Sedum alfredii* Hance)、龙葵 (*Solanum nigrum*) 和蜈蚣草 (*Pteris vittata*). 植物修复效率低的原因主要有两个: 一是多数超富集植物生长周期长、植株矮小和生物量低; 二是土壤中重金属的生物有效性较低, 不易被植物提取吸收^[6]. 由于植物的遗传特性改造较难, 因此, 如何能增加土壤溶液重金属的浓度和提高金属的生物有效性成为目前提高植物修复效率研究领域的热点.

小麦根系分泌的多种小分子有机酸, 如柠檬酸、酒石酸、丙酸和乙酸, 能改变土壤的根际环境 (主要是 pH 值), 增加土壤中重金属的溶解性, 提高植物对土壤中重金属 Cd 的吸收能力^[7]. 因此, Huang 等推测向土壤中添加小分子有机酸可以提高土壤金属的溶解性, 增加土壤中水溶性重金属的浓度, 提高植物修复的效率^[6], 也有实验表明土壤中添加苹果酸和柠檬酸等天然小分子有机酸, 植物修复的效果明显提高^[8]. 考虑到天然小分子有机酸生产成本较高、易降解, 不适合商业用途, 所以人们设想开发生产成本低和活化作用强的金属螯合剂 (螯合剂), 同时研究螯合剂添加的农艺措施和应用效果. 螯合剂是指分子骨架上带有螯合功能基团——含有多个配位原子的功能基团的高分子化合物, 对多种金属离子具有选择性螯合能力. 螯合剂可分为天然小分子有机酸和多羧基氨基酸 (aminopolycarboxylic acids) 两种, 目前, 研究和使用的螯合剂主要是多羧基氨基酸. 多羧基氨基酸又分为人工多羧基氨基酸和天然多羧基氨基酸. 人工多羧基氨基酸类螯合剂主要有乙二胺四乙酸 (EDTA)、羟乙基乙二胺三乙酸 (HEDTA)、二乙基三胺五乙酸 (DTPA)、环乙二胺四乙酸 (CDTA)、乙二醇双四乙酸 (EGTA)、乙二胺二乙酸 (EDDHA) 和双乙二胺二乙酸 (HBED), 天然多羧基氨基酸包括乙二胺二琥珀酸 (EDDS) 和氨三乙酸 (NTA) 等. 螯合剂可促进土壤重金属的活化, 提高其生物有效性, 增强植物

提取效果, 但在应用方面具有一定的局限性. 如 EDTA 能增加植物的重金属累积量, 修复效率高于天然小分子有机酸, 然而, 存在二次污染的风险^[9]; EDDS 生物降解能力强, 生物毒性小, 但提取 Pb, Cd 和 Zn 的能力不如 EDTA. 近年来, 国内外在螯合剂增强植物提取的机理和修复效率方面取得了很大的进展, 本文主要综述螯合剂对土壤重金属活化作用、提取作用和应用效果, 以及降低螯合剂淋溶和提高修复效率的策略, 并讨论了植物对重金属螯合复合物的吸收和运输机制.

1 天然有机酸强化植物提取重金属的作用

1.1 植物根系分泌的有机酸

土壤中的重金属 (如 Cd, Pb, Zn 和 Cu 等) 主要以水溶态、可交换态、有机结合态以及沉淀或难溶复合物的形式存在. 水溶态是指游离于土壤溶液中的重金属离子或土壤溶液中的可溶性重金属化合物, 植物可以直接吸收. 有机结合态和难溶的复合物不能够被植物直接吸收, 只有释放到土壤中形成水溶态, 才能够被植物吸收. 金属的活性受土壤 pH 值的影响^[10], 酸性的土壤中 H^+ 浓度较高, 金属离子较易溶解释放. 小麦根系分泌的小分子有机酸对 Cd 具有增溶作用, 使难溶态 Cd 向水溶态转化, 促进 Cd 在植物中的富集, 表明植物分泌的有机酸可以改善土壤环境, 降低土壤 pH 值, 提高土壤重金属的有效性. 进一步研究表明植物根系释放的 H^+ 和有机物 (如氨基酸和脂肪酸等) 可以酸化根际土壤, H^+ 与金属离子竞争与土壤结合, 致使金属离子从土壤中溶解出来, 提高金属离子在根部的溶解性^[11]. 重金属富集植物在重金属胁迫下可分泌出多种有机物, 如单糖、氨基酸、脂肪酸、酮酸及高分子化合物多糖等, 这些物质可以通过改变土壤微生物活性、土壤 pH 和自身螯合作用影响土壤金属离子的活性. 根系分泌的有机酸, 包括柠檬酸、草酸、乳酸、琥珀酸、氨基酸和脂肪酸等, 其中柠檬酸和草酸等分子结构中含有多羟基, 可以与土壤中的金属离子形成金属螯合物, 因此, 在增加重金属溶解性和活化矿质元素方面的作用远大于调节土壤 pH 的作用^[12].

1.2 天然小分子有机酸

近年来, 许多学者研究了小分子有机酸对提高

植物提取重金属的作用,表明向土壤中添加天然小分子有机酸(如柠檬酸、草酸和没食子酸)可以有效提高重金属的生物有效性^[9,13]。Quartacci等^[11]比较了柠檬酸、苹果酸、草酸和琥珀酸等几种小分子量有机酸对印度芥菜重金属累积量的影响,结果表明柠檬酸提取Cd的能力最强,20 mmol/kg的柠檬酸可使地上部Cd的浓度提高2.3倍。Evangelou等^[13]报道小分子有机酸尤其是柠檬酸,对提高土壤中Cu的生物有效性的能力最强,而对Pb的提取没有作用。如使用62.5 mmol/kg的柠檬酸和草酸,烟草地上部Cu浓度分别提高了2和0.5倍,而酒石酸对地上部Cu的浓度没有作用。在种植印度芥菜和小白菜(*Brassica chinensis*)的U污染土壤中施加20 mmol/kg的柠檬酸后,土壤pH暂时性降低了0.5—1.0个单位,土壤U的浓度增加了200倍,而两种植物中U的浓度提高了1000倍,表明柠檬酸在改善土壤根际环境的同时,活化了土壤中的重金属^[15]。最近的研究发现柠檬酸与柠檬酸盐配合使用能更有效地增溶土壤重金属,强化植物提取重金属能力^[16]。向U污染的土壤中分别加入5 mmol/kg柠檬酸、铵柠檬酸/柠檬酸、草酸、EDDS或NTA,土壤溶液中U的浓度均增加,其中柠檬酸和铵柠檬酸/柠檬酸混合物的增溶效果最好,土壤中U的浓度增加479倍。天然小分子有机酸作为一种金属螯合剂,具有较低的生物毒性和无污染环境等优点;但在应用中仍存在问题,如增强提取效率低、生物降解速率较大、较高浓度的有机酸会破坏土壤结构和引起植物生物量下降等^[17]。如萝卜对Cd及Pb的吸收效率随柠檬酸添加量的增加(1—3 mmol/L)而降低^[18]。当柠檬酸、酒石酸和草酸的浓度高于125 mmol/kg时,烟草的生物量明显减少^[19]。柠檬酸与EDTA在(Cu, Pb, Zn和Cd)中度污染的石灰质土壤中的提取效果研究表明:向日葵地上部累积的重金属浓度随添加EDTA(<10 mmol/kg)浓度的提高而提高;然而,添加的柠檬酸浓度小于土壤缓冲能力(<0.442 mol/kg)时,其地上部累积的重金属浓度没有明显增加^[20];同样,低浓度的柠檬酸对玉米(*Zea mays*)吸收Zn, Cu, Cd, Pb和Ni的作用没有影响^[21],造成这种结果的原因可能是柠檬酸矿物化速度快、使用浓度较低和所用土壤缓冲力过强,致使柠檬酸作用无效。所以,较低浓度的柠檬

酸对植物提取金属没有促进作用,而较高浓度的柠檬酸会导致土壤碳酸盐分解和土壤板结,影响植物正常生长。另外, Duquène等^[16]报道虽然柠檬酸、铵柠檬酸/柠檬酸等有机酸可有效地增加土壤溶液中重金属U的浓度,但土壤溶液中U浓度在施加有机酸7d后逐渐降低,这可能是由于天然小分子有机酸的高效降解性所致。天然小分子有机酸与EDTA相比成本高、不适合经济生产,所以,如何根据天然小分子有机酸的作用,开发适合植物提取作用的金属螯合剂一直是该领域研究的重点。

2 多羧基氨基酸类螯合剂的应用研究

多羧基氨基酸分为人工多羧基氨基酸和天然多羧基氨基酸。人工多羧基氨基酸类螯合剂主要有EDTA, HEDTA, DTPA, EGTA, EDDHA, CDTA和HBED,天然多羧基氨基酸包括EDDS和NTA等。多羧基氨基酸类螯合剂主要通过土壤中的重金属形成金属螯合物来增加土壤中重金属的溶解性。螯合剂加入土壤后,通过自身含有的配位体与土壤溶液中的重金属离子结合形成金属螯合物,降低土壤液相中重金属离子的浓度,维持重金属离子在土壤液相与固相之间的平衡,从而促进重金属从土壤颗粒表面解吸,由难溶态转换为水溶态,进而提高植物对金属的吸收效率^[22]。研究发现,人工多羧基氨基酸EDTA可以提高土壤中Pb的解吸和增加土壤溶液中Pb的浓度,增强Pb在豌豆和玉米中经过木质部由根部向地上部的转运^[6]。同时,EDTA可有效地提取土壤有机物和硫化物中结合的重金属Pb,并将其转化为可溶性,增加土壤溶液中Pb的浓度,而土壤溶液中Pb的浓度与植物所提取的金属量成正相关^[23]。Luo等^[24]报道土壤中施加5 mmol/kg的EDTA两天后,土壤中可溶性Cu, Pb, Zn和Cd的浓度分别比对照增加了102, 496, 5和114倍。为了增强植物对重金属的提取效率,人们在多羧基氨基酸类螯合剂诱导植物提取重金属应用方面进行了大量的研究。

2.1 人工合成的多羧基氨基酸

在过去50多年里,许多螯合剂包括EDTA用于土培和水培植物以提供微量营养元素。80年代末90年代初,EDTA已作为螯合剂协助植物提取过

程,然而盆栽实验结果差异比较大,EDTA对增强植物累积重金属的能力不尽相同.近年来,人们对多种多羧基氨基酸的修复效果也进行了研究,如HEDTA, DTPA, EGTA, EDDHA和CDTA,结果表明螯合剂强化重金属提取的效果与螯合剂种类和使用量、重金属种类和含量、物种以及土壤本身性质有关.

大量实验发现同一种螯合剂对不同重金属的提取效果不同.在Cd, Cu, Ni, Pb和Zn等复合污染土壤中添加EDTA(2.5 mmol/kg),印度芥菜地上部Pb的浓度最高,达到3600 mg/kg,其次是Cu和Zn(1000 mg/kg),Cd和Ni含量最低,表明EDTA对Pb的提取最好,而对Cd的作用小^[9].在Cr, Cd和Ni等重金属(浓度均为30 mg/kg)复合污染土壤中,施加HEDTA(0.5—1.0 g/kg)可有效增加土壤金属的溶解度, HEDTA对金属的增溶能力依次为: Cr>Cd=Ni;同时,施加HEDTA可使向日葵地上部Cd的浓度增加2倍以上, Ni增加4倍以上,而Cd和Ni在根部的浓度相应减少,表明HEDTA可提高土壤Cd和Ni的溶解性和向地上部的转运;另外, HEDTA可以增加Cr在向日葵根部的浓度,但对其在地上部的累积没有作用,这可能是由于Cr-螯合物的生物化学性质与Cd-, Ni-螯合物不同,影响了其向地上部的转运^[25].

不同螯合剂对土壤重金属的增溶和植物提取效果因物种和重金属种类不同而不同.用EDTA, DTPA, HEDTA, NTA和柠檬酸等不同螯合剂处理Pb污染土壤,结果表明EDTA溶解土壤Pb的能力最强^[26]. Huang等^[6]研究报道螯合剂对土壤中Pb的活化能力强弱的顺序为: EDTA>HEDTA>DTPA>EGTA>EDDHA,其中EDTA和HEDTA对土壤Pb的活化能力较强,如施加2.0 g/kg的HEDTA,土壤溶液中Pb浓度由3.5 mg/L增加到4000 mg/L,提高1000倍. Blaylock等报道EDTA, DTPA, EGTA, CDTA和柠檬酸等螯合剂不仅可增加土壤Pb的溶解度,而且提高印度芥菜对Pb的吸收和向地上部转运,如在600 mg/kg Pb污染的土壤中加入5—10 mmol/kg螯合剂,其对土壤Pb的增溶效果的顺序依次为: EDTA>DTPA>CDTA,对提高植物地上部Pb累积效果的顺序依次为: EDTA(印度芥菜地上部Pb浓度达到15000 mg/kg)>

CDTA>DTPA, EGTA对Pb的增溶和提取作用甚小,而柠檬酸对地上部Pb的累积只有微弱作用^[9]. 印度菝葜(*Hemidesmus indicus*)是Pb富集植物, EDTA和HEDTA可以提高其地上部Pb的浓度(分别为5196和4719 mg/kg),而CDTA和DTPA降低其对Pb的提取(分别为1286和194 mg/kg),导致地上部Pb的累积量低于对照(3956 mg/kg)^[27]. Wu等^[28]也报道不同螯合剂处理土壤对玉米提取Pb的作用不同, EDTA可提高玉米地上部Pb含量(由低于500 mg/kg提高到高于10000 mg/kg), HEDTA和DTPA对玉米地上部和根部Pb的累积量都没有明显影响;而HBED处理导致玉米根部Pb含量明显增加,而地上部则没有增加,表明不同螯合剂对增强不同植物提取Pb的效果不同.不同的螯合剂对土壤Cd的活化和植物提取效果也不同. Blaylock等比较了EGTA, CDTA, EDTA, DTPA或苹果酸等螯合剂对印度芥菜提取Cd的效果,结果表明印度芥菜提取Cd的效果随着螯合剂添加浓度(5—10 mmol/kg)的增加而增强,当施加10 mmol/kg相同量的不同螯合剂时, EGTA使地上部Cd的浓度由220 mg/kg(对照)提高到2800 mg/kg, CDTA和EDTA使地上部Cd浓度提高到1500 mg/kg左右, DTPA使地上部Cd浓度仅提高到1000 mg/kg,而苹果酸没有作用^[9],表明EGTA增强印度芥菜提取Cd的效果最明显,其次是EDTA和CDTA, DTPA效果最差.不同螯合剂活化土壤Cu能力也不同, HEIDA活化Cu的能力最强,施加20 mmol/kg HEIDA后,玉米和香根草(*Vetiveria zizanioides*)对Cu的提取增加了3—4倍;螯合剂活化Cu能力的顺序依次为: HEIDA>HEDTA>CDTA>DTPA>EDTA^[29].

螯合剂增强植物修复效率与重金属的污染程度和土壤pH有关.在低浓度Pb(400 mg/kg)污染的土壤中,5 mmol/L EDTA最适宜东南景天对Pb的提取;当土壤Pb含量(1200 mg/kg)较高时,尽管增加EDTA的使用量可以提高其地上部Pb的累积量,但也同时增加了土壤重金属淋溶的效率,表明EDTA诱导植物提取技术更适用于低浓度Pb污染水平^[30].另外,适当浓度的螯合剂可以减低Pb的毒性,而过量的螯合剂导致植物生长抑制. Cui等^[31]报道2.4 mmol/kg EDTA不仅可以提高百日菊

(*Zinnia elegans*)对 Pb 的提取作用,而且可以刺激秧苗的生长;但当 EDTA 浓度较高时,秧苗的生长则受抑制.所以,考虑到人工螯合剂的毒性和难以生物降解的特性,在使用前一定要考虑到螯合剂的剂量是否合适,从而避免危害环境.重金属污染土壤常常是多种重金属复合污染,而重金属离子之间可能具有离子拮抗作用,影响植物对某种金属的吸收和提取效率.如 Pb 超累积植物印度菝葜对 Pb 的提取效率与土壤其他重金属有关,当土壤中存在 Ni 时印度菝葜对 Pb 的提取减少 50%左右, Cd 存在时对 Pb 的提取减少 20%左右,而 Zn 和 Cr 存在时影响较小,表明土壤中存在 Cd 和 Ni 重金属可以影响植物提取 Pb 的效果^[27].所以,制订植物修复方案时要从植物、重金属和螯合剂三方面综合考虑.降低土壤 pH 可以提高重金属的有效性,土壤酸化与螯合剂配合可以显著增加 Pb 的吸收效率.例如,将乙酸和 EDTA 同时加入 pH 8.3, 1200 mg/kg Pb 的土壤中,地上部 Pb 浓度由 28 mg/kg 增加到 1471 mg/kg,与对照相比提高了 52 倍^[9].10 年来,一些研究试图阐述 EDTA 增加重金属提取的机制,但由于 EDTA 增加金属提取的效果与金属种类和所使用的植株密切相关,至今其机理没有得到完全解释.

人工螯合剂虽然可有效增加土壤中重金属的溶解性,提高植物对土壤中重金属的提取效率,但其本身存在一些问题.如使用相同浓度的 EDTA 和 HEDTA(分别为 1.39 和 1.45 mmol/kg)时,虽然向日葵地上部 Cd 和 Ni 的浓度提高,但生物量明显减少(50%以上),使得每株植物提取金属的总量小于对照^[25].添加 EDTA,玉米、菜豆、秋麒麟(*Solidago bicolor*)和向日葵等植物虽然没有表现出任何毒性症状,但是生物量也降低^[6],表明 EDTA 和 EDTA-金属复合物对植物毒性强.同时,EDTA 的毒性导致土壤微生物(真菌)和土壤微型动物(线虫)的数量减少,影响其生物多样性,从而可能对土壤生态系统产生影响^[32].此外,DTPA-和 EDTA-铁复合物在水溶液中的半衰期分别为 8 和 11 min^[33].Fe(III)EDTA 和 Cu(III)EDTA 复合物在水溶液中可以迅速光降解,而其他大多数的复合物不能或只能微弱地光降解^[34];特别是金属螯合物在土壤中的光解能力很小,甚至不能光解,会对土壤环境造成长期影响.

2.2 天然多羧基氨基酸

人工螯合剂生物降解能力差,持久残留于土壤中,可长时间毒害生物;同时,由于螯合剂与金属的作用,土壤水溶态金属大量增加,容易发生淋洗作用;过量的螯合剂亦可通过淋溶作用进入地下水,易造成土壤和地下水环境的二次污染^[35].所以,近年来研究聚焦在天然螯合剂的作用方面,如 EDDS 和 NTA.

2.2.1 EDDS

EDDS ($C_{10}H_{16}N_2O_8$) 是 EDTA ($C_{10}H_{16}N_2O_8$) 的结构异构体,具有 2 个手性 C 原子和 3 个立体异构体,其中只有 S, S EDDS 异构体是可生物降解的.EDDS 是由多种微生物合成产生的一种天然多羧基氨基酸^[24].目前,许多研究比较分析了 EDDS 和 EDTA 增强植物提取的效率,认为 EDDS 生物降解能力强,是一种环境友好的螯合剂,有望成为 EDTA 的替代品^[36].EDDS 螯合作用的有效半衰期约在 3.8—7.5 d;而 EDTA 的有效半衰期在 36 d 以上,甚至在 40 d 时仍未观察到 EDTA 的降解,说明 EDDS 的生物降解速率远高于 EDTA,但是 EDDS 的快速降解特性可能影响其活化重金属作用的持续发挥.Meers 等^[21]报道 EDDS 处理超过 30 d 后,土壤溶液中活化的重金属含量开始减少,其减少量与 EDDS 及其复合物自身的降解能力相关.同时,土壤中较高的微生物活性和高温也使螯合物更快地丧失作用.Vandevivere 等^[37]证实 EDDS 可快速降解,但是金属-EDDS 复合物的生物降解性与金属种类有关,如 Ca-, Cr(III)-, Fe(III)-, Pb-, Al-, Cd-, Mg-, Na-, 或 Zn-EDDS 等复合物很容易生物降解,而 Cu-, Ni-, Co-和 Hg-EDDS 复合物保持自身的不降解状态,特别是毒性 Hg 形成的 Hg-EDDS 缺乏生物降解能力.另外,金属-EDDS 复合物的生物降解能力与金属螯合物的稳定常数无关,例如金属-EDDS 复合物的生物降解能力依次为: Cd-> Pb-> Zn-> Cu-EDDS,实际上 Pb-和 Zn-EDDS 复合物具有相同的稳定常数,但是 Pb-和 Cd-EDDS 复合物比 Zn-和 Cu-EDDS 复合物更易生物降解;同样, Ca-EDDS 的稳定常数远大于 Cd-EDDS,但是 Cd-EDDS 与 Ca-EDDS 一样,很容易生物降解^[24].

EDDS 可提高土壤中重金属的溶解性,增强重

金属由植物根部向地上部的运输, 提高植物修复效率, 但其作用也因植物和重金属的种类不同而变化. EDDS 和 EDTA 比较研究表明 EDDS 增溶土壤 Cu 的能力强于 EDTA, 使用相同浓度 (5 mmol/kg) 的 EDTA 或 EDDS 处理土壤 2 d 后, 土壤可溶性 Cu 的浓度与对照相比分别提高 102 和 192 倍; 但是 EDDS 对土壤中 Pb 和 Cd 的增溶能力不如 EDTA, EDTA 处理 2 d 后, 土壤中可溶性 Pb 和 Cd 的浓度分别提高 496 和 114 倍, 而 EDDS 处理对可溶性 Pb 和 Cd 的含量影响小^[24]. 对玉米和菜豆的研究表明 EDDS 和 EDTA 对不同重金属 (Cu, Pb, Zn 和 Cd) 污染的提取能力不同, EDDS 对提高植物地上部 Cu 和 Zn 浓度的效果强于 EDTA, 如施加 5 mmol/kg EDDS 14 d 后, 与对照相比, 玉米和菜豆地上部 Cu 的浓度分别达到 2060 和 5130 mg/kg, 分别提高了 45 和 135 倍; 但是, EDDS 对于提高 Pb 和 Cd 的提取能力的效果明显不如 EDTA, 5 mmol/kg EDTA 处理, 玉米地上部 Pb 和 Cd 的浓度分别提高 27 和 3 倍, 菜豆地上部 Pb 和 Cd 的浓度分别提高 70 和 3 倍, 而用相同浓度 EDDS 处理时, 玉米地上部 Pb 和 Cd 的浓度分别提高 8 和 2 倍, 菜豆地上部 Pb 和 Cd 浓度分别提高 45 和 1.5 倍. 同时, EDTA 和 EDDS 可以明显提高根部重金属向地上部运输, 与对照相比, 施加 5 mmol/kg 的 EDTA 和 EDDS 后, 玉米和菜豆根部 Pb 向地上部运输的平均百分比由 3.5% 分别增加到 48% 和 18%, 根部 Cu 向地上部运输的平均百分比由 9.4% 分别增加到了 45% 和 88%, 表明 EDDS 在协助 Cu 向地上部运输的能力强于 EDTA^[24]. 宋静等^[17]用盆栽实验比较 EDTA 和 EDDS 诱导印度芥菜吸收土壤重金属的潜力, 也获得了相似的结果. 当施用量相同时, EDDS 对重金属 Zn, Pb 和 Cd (特别是 Pb 和 Cd) 的活化能力小于 EDTA, 而对 Cu 的活化能力强于 EDTA. 3 和 6 mmol/kg EDDS 处理均能强化印度芥菜超量吸收土壤 Cu, 叶片 Cu 浓度超过 1000 mg/kg^[38].

EDDS 对单一或复合重金属污染土壤修复效果不同. EDDS 可以提高向日葵对单一重金属 (Zn, Cu 或 Pb) 污染土壤中重金属的提取, 但对重金属 (Cu, Zn, Cd 和 Pb) 复合污染土壤中 Zn 和 Cd 的提取没有作用^[39], 表明土壤中的重金属离子的相互作用可以降低 EDDS 对某种重金属的提取作用.

EDDS 提高重金属由植物根部向地上部转运的能力随植物和土壤污染程度的不同而异. 在中度重金属污染的土壤中施加 EDTA 或 EDDS, 与对照相比, EDDS 使俯仰臂形草 (*Brachiaria decumbens*) 地上部的 Cd, Zn 和 Pb 浓度分别提高 2.54, 2.74 和 4.30 倍, 而 EDTA 只分别提高了 1.77, 1.11 和 1.87 倍, 表明 EDDS 促进重金属在植物中的运输和累积能力强于 EDTA^[40]. 然而, Epeld 等^[32]报道 EDTA 提高大叶菜蓟 (*Cynara cardunculus*) 对 Pb 的提取和由根部向地上部的运输能力远强于 EDDS, 在 Pb 污染 (5000 mg/kg) 的土壤中加入 1 g/kg EDTA, 大叶菜蓟地上部含 Pb 量达到 1332 mg/kg; 而当使用相同浓度的 EDDS 时, 地上部含 Pb 量只有 310 mg/kg. EDTA 和 EDDS 对 Pb 提取效果的差异可能与添加螯合剂的用量、植物种类以及土壤性质有关. 此外, EDDS 在无重金属污染的对照土壤中对微生物群体的毒性小于 EDTA, 然而, 在 Pb 污染土壤中, EDDS 处理后刺菜蓟植株的生物量却小于 EDTA 处理, 表明在 Pb 污染土壤中 EDDS 对刺菜蓟引起的毒性大于 EDTA, 这可能也是 EDDS 诱导 Pb 的累积量不如 EDTA 的原因^[32]. 尽管 EDDS 帮助刺菜蓟植物提取 Pb 的能力不如 EDTA, 但其在 Pb 污染土壤中的半衰期为 24 h, 所以在生物降解方面存在优势^[32].

由于 EDDS 降解速率较快, 可以考虑在植物生长期少量多次施加 EDDS, 尽可能使地上部提取更多的金属, 同时减少金属淋溶的危险^[10]. 考虑到 EDTA 对多数金属的螯合作用强于 EDDS, 而 EDDS 的生物降解能力比 EDTA 强, 推测 EDTA/EDDS 配合使用既能增强植物对重金属的提取效果, 又能减轻 EDTA 螯合剂引起的二次的污染. Luo 等^[11]研究表明, 当 EDTA/EDDS 为 2:1 时, 增强玉米地上部 Cu, Pb, Zn 和 Cd 浓度的效果最好. 用 3.33 mmol/kg EDTA 配合 1.67 mmol/kg EDDS 使用时, 地上部 Pb 的浓度达到 650 mg/kg, 分别是单独使用 5 mmol/kg 的 EDTA 和 EDDS 时的 2.4 和 5.9 倍; 从土壤中植物提取的 Pb 的总量达到 1710 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 分别是单独使用的 EDTA 和 EDDS 时的 2.1 和 6.1 倍. 同时, 发现 EDTA/EDDS 配合使用明显增强 Pb 由根部向地上部运输, 其增强玉米对 Pb 的提取效果比增加土壤溶液 Pb 含量的效果更加明显, 证

实 EDTA/EDDS 配合使用方法是提高植物修复效率的一个有力措施. EDDS 与 EDTA 一样, 可以增加植物对重金属的提取, 但是植物只能吸收活化的一小部分重金属并将其转运到地上部, 所以其用量也要斟酌.

2.2.2 NTA NTA 是另一种可生物降解的螯合剂, 在过去 50 年间一直应用于除垢剂. NTA 的降解速率与柠檬酸一样快, 并且能在厌氧和低温条件下快速降解. 尽管 NTA 的螯合能力弱于 EDTA, 但是与低分子量有机酸(柠檬酸和草酸)相比依然是一个强的螯合剂, 但是使用 NTA 促进植物修复重金属的实验不多.

NTA 具有很强的生物降解能力, Carey 等^[42]报道 Fe^{2+} 和 Cu^{2+} 与 NTA 形成的复合物具有快速的降解速率. 何氏螯合根菌(*Chelatobacter heintzii*)对 NTA-金属复合物的生物降解速率依次为: HNTA^{2-} (40%/h) > $\text{CoNTA}^- = \text{FeOHNTA}^- = \text{ZnNTA}^- > \text{AlOHNTA}^- > \text{CuNTA}^- > \text{NiNTA}^-$ (2%/h)^[43]. Meers 等^[21]证实土壤中施加 1.8 mmol/kg 的 NTA, 在收获两周后土壤中重金属的浓度已与对照没有差别, 表明 NTA 降解的速率快, 两周后即失去作用.

NTA 对土壤中 As 和 Zn 的提取比人工多羧基氨基酸(HEDTA, EDTA, EGTA, CDTA 和 DTPA)更为有效, 10 mmol/kg NTA 可以提取土壤中 30% 以上的 As; 但当 NTA 的浓度低于 2 mmol/kg 时, 对土壤中的 As, Zn 和 Cu 没有提取作用^[29]. 在 Cd, Cr, Cu, Pb 和 Zn 复合污染的沙质土壤中添加 5 mmol/kg 的 NTA, 印度芥菜地上部 Cu 的浓度提高了 3 倍, Cd 和 Zn 的浓度提高 2 倍, 而对 Pb 的浓度没有影响; 相同浓度的柠檬酸则没有提取作用^[44]. 埃塞俄比亚芥(*Brassica carinata*)盆栽实验^[45]表明, 在(As, Cd, Cu, Pb 和 Zn 等)多种重金属复合污染土壤中添加 EDDS 或 NTA, EDDS 溶解土壤重金属 Cu, Pb 和 Zn 的能力高于 NTA, 而对 As 和 Cd 的作用很小, 同时, EDDS 提高植物地上部 Cu, Pb 和 Zn 等浓度的能力(与对照相比增加 2—4 倍)也高于 NTA.

向日葵在土壤或水培以及埃塞俄比亚芥在盆栽条件下, 施加 EDDS 后在其根、茎和木质部汁液中都能检测到 EDDS 的存在, 表明金属螯合物或螯合

剂可通过根吸收后由木质部转运到地上部^[39,46]. 水培实验表明在含有 As, Cd, Cu, Pb 和 Zn 等多种重金属的培养液中, 施加 10 mmol/L NTA 没有影响埃塞俄比亚芥根长和地上部/根部的质量比, 而 5 mmol/L EDDS 使两者数值降低, 推测植物体内高浓度的 EDDS 自由形式可能部分地降低地上部的生长^[45]. Peñalosa 等^[47]报道在硫铁矿污染的土壤中, NTA 增溶土壤中重金属(Fe, Mn, Cu, Zn 和 Cd)的效果强于苹果酸和柠檬酸, 而与 EDTA 作用相当, 由于 NTA 可以快速活化硫铁矿污染土壤中的有毒元素, 从而提高羽扇豆中重金属(Mn, Cu, Zn, As 和 Cd)的浓度; 但是由于 NTA 能促进毒性元素的快速浸提, 特别是 As, Cd 和 Pb 等, 导致土壤溶液中的重金属浓度往往超过植物忍耐的最大浓度或超过土壤最大可淋滤值, 也存在一定的环境风险. 虽然 NTA 在增加土壤重金属的溶解性能力方面高于 EDDS, 但溶解的重金属不能完全被植物吸收, 反而能通过淋溶作用污染地下水. 所以, NTA 具有一定的环境危害性, 在实际应用时要控制螯合剂的使用剂量.

3 植物对金属螯合物的吸收和运输机理

EDTA 在植物体外能螯合 Pb, 可溶解的 Pb-EDTA 复合物通过植物吸收、运输并累积在叶片中. Vassil 等^[36]通过水培实验研究 EDTA 对印度芥菜运输和累积 Pb 的作用, 结果表明其地上部分能同时积累 Pb 和 EDTA, 且以 Pb-EDTA 的形式向上运输, Pb 与 EDTA 在植物体中含量之比为 0.67 : 1. Blaylock 等^[9]报道在印度芥菜水培养液中加入 ¹⁴C 标记的 EDTA-Pb 复合物, 地上部则累积 ¹⁴C 标记的复合物, 同时, 地上部 EDTA 的量足够螯合组织中的大部分 Pb, 这也表明 Pb 可以通过 Pb-EDTA 复合物的形式进入植物体并转运到地上部. Ensley 等^[48]提出了一个诱导植物提取金属的两步过程假设, 即在施加螯合剂之前, 植物可先将自由金属累积到根部; 在加入螯合剂后, 金属在根部形成复合物并以金属螯合物的形式转运. 研究证实金属螯合物可以从内皮层裂口处进入凯氏带, 然后被迅速转移到地上部^[49]. 尽管目前存在的多种人工螯合剂的提取机制尚未得以阐明, 但推测其机制可能与 EDTA 的相似. EDDHA 溶液呈现粉色, 实验发现当

向土壤中施加高浓度(mmol/L 范围)EDDHA 溶液 12 h 后,玉米和菜豆叶片上可观察到有粉色出现,表明 EDDHA 可以被植物根部快速吸收并转运到地上部^[6].

Huang 等^[6]猜测高浓度的人工螯合剂可能改变植物的离子运输系统,使 Pb 的提取和转运更容易进行;另外,螯合剂的亲脂性不同对植物提取也有影响^[28]. Wu 等^[28]报道植物在正常生长条件下,超过 99% 的液体流要经过凯氏带保卫途径通过根部,但这一数值在螯合剂诱导时却不确定.亲水性化合物偏爱质外体途径,而亲脂性化合物复合物偏爱共质体途径,因此,根部对化合物的提取速率及化合物在木质部的稳定浓度都依化合物的亲脂性而定. Tandy 等^[46]提出螯合剂存在时植物提取金属的两个途径:一是具有选择性的共质体途径;二是非选择性途径(质外体途径),即通过非原生质体途径提取金属元素.植物可以通过选择性提取系统维持对必需元素(Zn 和 Cu)的自由提取,同时,通过质外体途径增加植物对生物有效性较低的金属(Pb)的提取.目前,对金属-EDDS 复合物的提取机制了解不多,推测金属可能会以金属-EDDS 螯合物的形式通过根部裂缝进入凯氏带,然后由根部快速转运到地上部^[24].EDDS 可使自由金属离子失活减轻氧化损伤,同时,能使金属离子对植物的负面影响降低到最小程度,保护植物细胞免受伤害^[50].NTA 的提取机制也不明确,Wenger 等^[51]推测 Cu-NTA 复合物可以被烟草所提取.

质膜在根部选择性方面发挥重要作用,研究表明去除质膜中 Fe^{2+} , Ca^{2+} 和其他二价阳离子则导致生理屏障的破坏^[24];EDDS 及其活性形式 HEDDS^{3-} 和 $\text{H}_2\text{EDDS}^{2-}$ 都会产生此破坏作用,因此,与 NTA 相比金属-EDDS 复合物在植物质外体系统中的可移动性和在地上部的累积能力较强^[45].螯合剂之所以促进重金属向地上部的运输,可能是由于螯合剂与金属形成金属螯合物,阻止了重金属在根细胞的吸附和沉淀^[9];同时,重金属在植物体内以金属螯合物形式向地上部运输也减少了运输过程中重金属与阳离子交换位点的结合^[52],更有利于重金属的运输.金属螯合物的稳定性越高,螯合剂增溶的效果越好^[22],如 Pb-EDTA 复合物的稳定常数高($\log K=17.9$),因此,EDTA 提高 Pb 的溶解能力高于其他螯合剂^[53].矛盾的是 Pb-DTPA

的稳定常数($\log K=18.7$)高于 Pb-EDTA,然而,土壤 Pb 的增溶量却明显少,推测 DTPA 与土壤中多数阳离子的结合能力高于 EDTA,正是由于金属阳离子的竞争作用导致 DTPA 对 Pb 的溶解性降低^[8].所以,为了提高植物提取的效率,螯合剂必须具有两个条件:一是与靶金属有较强的结合力,提高土壤溶液中金属的溶解度;二是金属螯合物形式易于向地上部运输,并且其毒性小于金属或螯合剂本身的毒性.

4 展望

近 20 年来,人们对螯合剂强化植物修复进行了广泛研究,所使用的螯合剂从天然小分子有机酸到人工/天然多羧基氨基酸达几十种之多.柠檬酸和没食子酸可提高印度芥菜移除土壤 Cu, Zn, Ni 和 Cd 等重金属的能力,且其净移除量与 EDTA 相当^[8],但大多数天然小分子有机酸对土壤重金属的活化作用不如 EDTA 等人工螯合剂.同时,天然小分子有机酸易降解,螯合作用持续效果较差,且生产成本较高,所以开发和利用多羧基氨基酸是该领域的研究重点.EDTA 和 DTPA 等人工多羧基氨基酸类螯合剂对土壤重金属的螯合能力强,所形成的金属螯合物稳定性高,提取效果较明显,但其生物毒性大,生物降解性能差,对植物的生长和土壤环境产生长时间的影响,特别是添加过量的螯合剂不能被植物利用,反而能活化土壤中的微量元素,致使必需元素淋失,植物营养不良;同时,过量的螯合剂会通过淋溶作用进入地下水,对环境造成二次污染.所以,使用人工螯合剂时,要对周围土壤环境要进行详细评估,严格控制螯合剂的施用量和改进添加措施.天然多羧基氨基酸与天然小分子有机酸相比具有较强的螯合能力,且生物降解性能优于人工多羧基氨基酸,尽管也存在重金属淋溶问题,但是在诱导植物修复重金属污染土壤方面具有很大潜力.因此,研究螯合剂增强植物吸收重金属的机理,开发安全、有效和经济的螯合剂以及与螯合剂协同作用的土壤改良剂,探索螯合剂最佳施用时间和环境条件,配套农艺措施减少重金属的淋溶和提高螯合剂的效果,将成为今后进一步研究的重点.螯合剂能促进植物对重金属的吸收和运输,但是植物如何吸收、运输和代谢金属螯合物机制尚需要进一步研究.

重金属非富集植物对重金属的耐性低,添加螯

合剂尽管能提高其地上部重金属的浓度,但是提取效率依然很低.所以,重金属耐性/富集特性依然是植物提取重金属的基础,探索植物重金属耐性/富集机理和克隆重金属耐性/富集相关基因,才能利用基因工程技术培养生物量大的重金属富集植物,进而结合添加螯合剂措施提高植物提取效果.我们课题组在重金属累积植物遏蓝菜和印度芥菜中克隆了金属转运蛋白(BjCET)^[54]、转录因子(BjDREB)^[55]和脱水蛋白(BjDHN)^[56]等基因,转基因植物进一步表明BjCET和BjDHN能提高印度芥菜和烟草的耐重金属能力,特别是BjCET转基因印度芥菜地上部累积Cd的能力增强,EDTA等螯合剂对这些转基因植物修复重金属的效率正在研究中,这为进一步强化植物提取的潜力和转基因植物修复重金属污染土壤的产业化奠定了基础.

参 考 文 献

- 1 张玉秀,柴团耀, Burkard G. 植物耐重金属机理研究进展. 植物学报, 1999, 41(5): 453-457
- 2 Cunningham SD, Berti WR, Huang JW. Phytoremediation of contaminated soils. Trends Biotechnol, 1995, 13(9): 393-397
- 3 郎明林, 张玉秀, 柴团耀. 植物重金属超富集机理研究进展. 西北植物学报, 2003, 23(11): 2021-2030
- 4 Watanebe ME. Phytoremediation on the brink of commercialization. Environ Sci Technol, 1997, 31(4): 182-186
- 5 Backer AJM, Mcgrath SP, Sidoli CMD, et al. The possibility of *in situ* heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulating plants. Res Cons Recycl, 1994, 11(1-4): 41-49
- 6 Huang JW, chen J, Berti WR, et al. Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. Environ Sci Technol, 1997, 31(3): 800-805
- 7 Cielinski G, Van Rees KCJ, Szmigelska AM, et al. Low molecular-weight organic acids in rhizosphere soils of durum wheat and their effect on cadmium bioaccumulation. Plant Soil, 1998, 203(1): 109-117
- 8 Do Nascimento CWA, Amarasiriwardena D, Xing B. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. Environ Pollut, 2006, 140(1): 114-123
- 9 Blaylock MJ, Salt DE, Dushenkov S, et al. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. Environ Sci Technol, 1997, 31(3): 860-865
- 10 Alkorta I, Hernández-Allica J, Becerril JM, et al. Chelate-enhanced phytoremediation of soils polluted with heavy metals. Environ Sci Bio Technol, 2004, 3(1): 55-70
- 11 顾继光, 林秋奇, 胡 韧, 等. 土壤-植物系统中重金属污染的治理途径及其研究展望. 土壤通报, 2005, 36(1): 128-133
- 12 Krishnamurti GSR, Cielinski G, Huang PM, et al. Kinetics of cadmium release from soils as influenced by organic acids: Implementation in cadmium availability. J Environ Qual, 1997, 26: 271-277
- 13 Evangelou MWH, Ebel M, Schaeffer A. Evaluation of the effect of small organic acids on phytoextraction of Cu and Pb from soil with tobacco *Nicotiana tabacum*. Chemosphere, 2006, 63(6): 996-1004
- 14 Quartacci MF, Baker AJM, Navari-Izzo F. Nitrilotriacetate and citric acid-assisted phytoextraction of cadmium by Indian mustard (*Brassica juncea* (L.) Czernj, Brassicaceae). Chemosphere, 2005, 59(9): 1249-1255
- 15 Huang JW, Blaylock MJ, Kapulnik Y, et al. Phytoremediation of uranium-contaminated soils: Role of organic acids in triggering uranium hyperaccumulation in plants. Environ Sci Technol, 1998, 32(13): 2004-2008
- 16 Duquène L, Tack F, Meers E, et al. Effect of biodegradable amendments on uranium solubility in contaminated soils. Sci Total Environ, 2008, 391(1): 26-33
- 17 宋 静, 钟继承, 吴龙华, 等. EDTA与EDDS螯合诱导印度芥菜吸取修复重金属复合污染土壤研究. 土壤, 2006, 38(5): 619-625
- 18 Chen YX, Lin Q, Luo YM, et al. The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil. Chemosphere, 2003, 25(6): 807-811
- 19 Evangelou MWH, Daghan H, Schaeffer A. The influence of humic acids on the phytoextraction of cadmium from soil. Chemosphere, 2004, 57(3): 207-213
- 20 Lesage E, Meers E, Vervaeke P, et al. Enhanced phytoextraction: II. Effect of EDTA and citric acid on heavy metal uptake by *Helianthus annuus* from a calcareous soil. Int J Phyto, 2005, 7(2): 143-152
- 21 Meers E, Ruttens A, Hopgood MJ, et al. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. Chemosphere, 2005, 58(8): 1011-1022
- 22 李玉红, 宗良刚, 黄 耀. 螯合剂在污染土壤植物修复应用中的应用. 土壤与环境, 2002, 11(3): 303-306
- 23 Cao A, Cappai G, Carucci A, et al. Heavy metal bioavailability and chelate mobilization efficiency in an assisted phytoextraction process. Environ Geochem Health, 2008, 30(2): 115-119
- 24 Luo CL, Shen ZG, Li XD. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. Chemosphere, 2005, 59(1): 1-11
- 25 Chen H, Cutright T. EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr, and Ni uptake by *Helianthus annuus*. Chemosphere, 2001, 45(1): 21-28
- 26 Shen ZG, Li XD, Wang CC, et al. Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. J Environ

- Qual, 2002 (31): 1893—1900
- 27 Sekhar KC, Kamala CT, Chary NS, et al. Potential of *Hemidesmus indicus* for the phytoextraction of lead from industrially contaminated soils. *Chemosphere*, 2005, 58(4): 507—514
- 28 Wu J, Hsu FC, Cunningham S. Chelate-assisted Pb phytoextraction: Pb availability, uptake, and translocation constraints. *Environ Sci Technol*, 1999, 33(11): 1898—1904
- 29 Chiu KK, Ye ZH, Wong MH. Enhanced uptake of As, Zn and Cu by *Vetiveria zizanioides* and *Zea mays* using chelating agents. *Chemosphere*, 2005(60): 1365—1375
- 30 Liu D, Lia TQ, Yang XE, et al. Influence of EDTA on lead transportation and accumulation by *Sedum alfredii* hance. *Z Naturforsch*, 2007, 62(9—10): 717—724
- 31 Cui S, Zhou QX, Wei SH, et al. Effects of exogenous chelators on phytoavailability and toxicity of Pb in *Zinnia elegans* Jacq. *J Hazard Mater*, 2007, 146(1—2): 341—346
- 32 Epelde L, Hernández-Allica J, Becerril JM, et al. Effects of chelates on plants and soil microbial community: Comparison of EDTA and EDDS for lead phytoextraction. *Sci Total Environ*, 2008, 401(1—3): 21—28
- 33 Svenson A, Kaj L, Björndal H. Aqueous photolysis of the iron (III) complexes of NTA, EDTA and DTPA. *Chemosphere*, 1989(18): 1805—1808
- 34 Nowack B. Environmental chemistry of aminopolycarboxylate chelating agents. *Environ Sci Technol*, 2002, 36(19): 4009—4016
- 35 Grčman H, Vodnik D, Velikonja-Bolta S, et al. Ethylenediaminedisuccinate as a new chelate for environmentally safe enhanced lead phytoextraction. *Environ Qual*, 2003(32): 500—506
- 36 Vassil AD, Kapulnik Y, Raskin I, et al. The role of EDTA in lead transport and accumulation by Indian mustard. *Plant Physiol*, 1998, 117(2): 447—453
- 37 Vandevivere PC, Saveyn H, Verstraete W, et al. Biodegradation of metal- [S, S] -EDDS complexes. *Environ Sci Technol*, 2001, 35(9): 1765—1770
- 38 Lombi E, Zhao FJ, Dunham SJ, et al. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils: Natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. *Environ Qual*, 2001, 30: 1919—1926
- 39 Tandy S, Schulin R, Nowack B. Uptake of metals during chelant-assisted phytoextraction with EDDS related to the solubilized metal concentration. *Environ Sci Technol*, 2006, 40(8): 2753—2758
- 40 Santos FS, Hernández-Allica J, Becerril JM, et al. Chelate-induced phytoextraction of metal polluted soils with *Brachiaria decumbens*. *Chemosphere*, 2006, 65(1): 43—50
- 41 Luo CL, Shen ZG, Li XD, et al. Enhanced phytoextraction of Pb and other metals from artificially contaminated soils through the combined application of EDTA and EDDS. *Chemosphere*, 2006, 63(10): 1773—1784
- 42 Carey JH, Langford CH. Photodecomposition of Fe(III) amino-carboxylates. *Can J Chem*, 1973, 51: 3665—3670
- 43 Bolton JRH, Girvin DC, Plymale AE, et al. Degradation of metal-nitritoltriacetate complexes by *Chelatobacter heintzii*. *Environ Sci Technol*, 1996, 30(3): 931—938
- 44 Quartacci MF, Argilla A, Baker AJ, et al. Phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by Indian mustard. *Chemosphere*, 2006, 63(6): 918—925
- 45 Quartacci MF, Irtelli B, Baker AJ. The use of NTA and EDDS for enhanced phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by *Brassica carinata*. *Chemosphere*, 2007, 68(10): 1920—1928
- 46 Tandy S, Schulin R, Nowack B. The influence of EDDS on the uptake of heavy metals in hydroponically grown sunflowers. *Chemosphere*, 2006, 62(9): 1454—1463
- 47 Peñalosa JM, Carpena RO, Vázquez S, et al. Chelate-assisted phytoextraction of heavy metals in a soil contaminated with a pyritic sludge. *Sci Total Environ*, 2007, 378(1—2): 199—204
- 48 Ensley BD, Blaylock MJ, Dushenkov S, et al. Inducing hyperaccumulation of metals in plant shoots. U. S. Patent 5917117, 1999
- 49 Bell PF, Chaney RL, Angle JS. Free metal activity and total metal concentrations as indexes of micronutrient availability to barley [*Hordeum vulgare* (L.) “Klages”]. *Plant Soil*, 1991, 130(1—2): 51—62
- 50 Ruley AT, Sharma NC, Sahi SV, et al. Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sestania drummondii* grown in soil. *Environ Pollut*, 2006, 144(1): 11—18
- 51 Wenger K, Gupta SK, Furrer G, et al. The role of nitrilotriacetate in copper uptake by tobacco. *Environ Quality*, 2003(32): 1669—1676
- 52 Wozny A, Schneider J, Goozdz EA. The effects of lead and kinetin on green barley leaves. *Biol Plant*, 1995, 37: 541—552
- 53 Wu LH, Luo YM, Xing XR, et al. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk. *Agr Ecosyst Environ*, 2004, 102: 307—318
- 54 Xu J, Chai T, Zhang Y, et al. The cation-efflux transporter BjCET2 mediates zinc and cadmium accumulation in *Brassica juncea* L. leaves. *Plant Cell Rep*, 2009, 28(8): 1235—1242
- 55 Cong L, Chai TY, Zhang YX. Characterization of the novel gene BjDREB1B encoding a DRE-binding transcription factor from *Brassica juncea* L. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 371(4): 702—706
- 56 Xu J, Zhang YX, Wei W, et al. BjDHNs confer heavy-metal tolerance in plants. *Mol Biotechnol*, 2008, 38(2): 91—98