

镉污染土壤植物修复的 EDTA 调控机理*

蒋先军 骆永明 赵其国 葛元英

(中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

摘要 我们通过温室盆栽试验, 在不同 Cd 处理的土壤中加入 EDTA, 分析了印度芥菜根和地上部 Cd 的浓度, 探讨 EDTA 进入土壤后对 Cd 吸收和运输的影响。结果表明: 加入 EDTA, 水提取的 Cd 浓度增加了 400 倍以上, NH_4NO_3 提取的 Cd 浓度增加了 40 倍以上, 在土壤 Cd 浓度较低时, EDTA 对植物吸收 Cd 没有显著影响, 当土壤添加 Cd 在 130 mg kg^{-1} 以上时, 加入 EDTA 显著增加了地上部 Cd 的浓度。EDTA 能增加印度芥菜地上部中 Cd 的浓度, 不是由于土壤溶液中 Cd 浓度增加从而增加了印度芥菜根对 Cd 的吸收, 可能是 EDTA 加入土壤后增加了这些元素在土壤溶液中的浓度, 从而高浓度的 Cd 对植物根细胞产生毒害, 增加了细胞膜的透性后, 土壤溶液中的络合物得以进入根细胞并随蒸腾作用运输到地上部。

关键词 镉, 印度芥菜, 植物修复, EDTA, 吸收, 运输

中图分类号 X131.3

目前全世界发现的重金属超积累植物有 400 多种, 以富集 Ni 的最多。但超积累镉的植物只有一种, 即十字花科的 *Thlaspi caerulescens*, 地上部积累的镉可达 1800 mg kg^{-1} ^[1,2]。但这种植物生长缓慢、植株矮小、地上部生物量小, 成了实际应用中最大的限制。解决这个问题有两种方法, 一是寻找生物量大的超积累植物; 二是采用生物量大的中等富集植物, 如十字花科的 *Brassica juncea*, 通过一些调控措施来增加富集浓度。近来的一些研究表明, EDTA 等人工合成有机化合物能显著地活化土壤铅^[3]和铜、锌、镉^[4,5], 在含 Cd 100 mg kg^{-1} 和含 Pb 600 mg kg^{-1} 的土壤中, 施用 0.5 mmol L^{-1} EDTA 后, *Brassica juncea* 地上部 Cd 和 Pb 浓度可分别达到 500 和 5 000 mg kg^{-1} ^[6]。

Jacobson^[7] 于 1951 年首次报道了在营养液培养中番茄、向日葵、玉米及大麦能够利用 Fe EDTA。从此以后 EDTA 被广泛用于提高农田土壤中微量元素的有效性^[8]。EDTA 施入土壤后对元素吸收的影响一直存在两种理论, Wallace 等^[9] 认为土壤中金属-络合物的形成增加了金属的溶解性和移动性, 从而提高了被植物吸收的可能性。另一理论由 Halvorson 和 Lindsay 等^[10] 提出, 认为 EDTA 施入土壤后与阳离子形成稳定的络合物, 降低土壤溶液中金属离子的活度, 从而降低金属的毒性和植物吸收。这方面的证据有 Denduluri 在污灌区土壤上施用 EDTA 降低了植物对 Pb^[11] 和 Mn^[12] 的吸收, 以及 EDTA 施用降低了植物对 Ni^[13]、Cd^[14] 的吸收并导致植物缺 Zn^[15]。

对于这些不一致的实验结果, Li 和 Shuman^[16] 认为在土壤中金属浓度较高时, EDTA 降低了土壤溶液中金属离子的活度, 植物对金属的吸收也降低; 在正常土壤中, EDTA 使土壤溶液中金属的总量增加, 可以提高微量元素潜在的有效性。我们通过温室盆栽试验, 在不同 Cd 处理 (10~ 200 mg kg^{-1} 共 20 个浓度梯度) 的土壤中加入 EDTA, 分析了 EDTA 处理后土壤中不同提取形态的 Cd 的浓度变化, 以及印度芥菜根和地上部 Cd 的浓度, 初步讨论了 EDTA 调控下植物地上部 Cd 积累增加的机理。

1 材料与与方法

1.1 土壤样品

供试土样 (0~ 20 cm) 采自中国科学院南京土壤研究所常熟农业生态试验站, 为河湖相沉积物发育的水稻土。风干后过 2 mm 尼龙筛备用。土壤基本性质如下: pH(H₂O) 7.40, 有机质 36.3 g kg^{-1} , 全氮

* 国家自然科学基金 (49831070 和 49871042)、江苏省青年科技基金 (BQ98050)、国家重点基础研究发展规划项目 (G1999011807)、中国科学院南京土壤研究所土壤与环境联合开放研究实验室基金项目资助

收稿日期: 2001-03-26; 收到修改稿日期: 2001-08-22

2.25 g kg⁻¹, 全磷 0.75 g kg⁻¹, 全钾 17.4 g kg⁻¹, 游离 Fe₂O₃ 16.25 g kg⁻¹, CEC 215.9 mmol kg⁻¹, 并含痕量的 CaCO₃。土壤全 Zn 含量为 69.5 mg kg⁻¹, 全 Cd 含量为 0.07 mg kg⁻¹。分析方法见参考文献[17]。

1.2 盆栽试验

称取过筛风干土, 加入分析纯 Cd(NO₃)₂, 制成含不同浓度 Cd 的土壤, 处理浓度为 Cd 10~200 mg kg⁻¹, 共 20 个处理。将处理过的土壤装入塑料盆, 每盆 350 g (以烘干土计), 用分析纯 KH₂PO₄ 加入 P 80 mg kg⁻¹ 和 K 100 mg kg⁻¹; 加入分析纯 NH₄NO₃ 为氮肥, NH₄NO₃ 的加入量视处理而异, 以弥补因金属硝酸盐造成的氮素差异。土样混和均匀后, 加入蒸馏水使含水量为田间持水量的 60%, 保持 2 天后, 播入印度芥菜 (*Brassica juncea*) 种子, 生长一周后间苗, 每盆留 3 苗; 植物生长期间保持土壤湿度为田间持水量的 60%。印度芥菜生长 36 天后, 在 10~200 mg kg⁻¹ Cd 处理范围内选择 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200 mg kg⁻¹ 的 Cd 处理土壤加入 1.78 mmol L⁻¹ 的 Na₂-EDTA 25 mL。其余的 Cd 处理土壤不加 EDTA, 作为对照。EDTA 加入土壤一周后收获。沿土面剪取地上部, 测量株高、鲜重, 同时用水浸泡洗出根系; 在 105℃ 下烘 2 小时, 在 70℃ 下烘 24 小时。称地上部和根的干重。植物样品用硝酸-高氯酸法消煮。收获后的土壤调节水分至 40% WHC, 两天后, 取土样混匀, 过 2 mm 筛, 分别用 H₂O (土水比 1:1), 1 mol L⁻¹ 的 NH₄NO₃ (土液比 1:2.5), 以及 0.05 mol L⁻¹ 的 EDTA (土液比 1:5) 提取, 滤液用 Hitachi Z-8200 石墨炉原子吸收分光光度计测定 Cd 含量。

1.3 数据处理

本文的结果为 3 次重复的平均值, 数据进行方差分析, 并用新复极差法进行多重比较。

2 结果

2.1 EDTA 对镉的生物毒性的影响

1.78 mmol L⁻¹ 的 EDTA 加入土壤一周后, 印度芥菜地上部的生物量与对照相比有所下降, 但统计上差异不显著; 土壤中加入 EDTA 对根的影响比地上部大, 与对照相比有显著下降 ($p < 0.05$), 但下降的幅度不大 (图 1)。

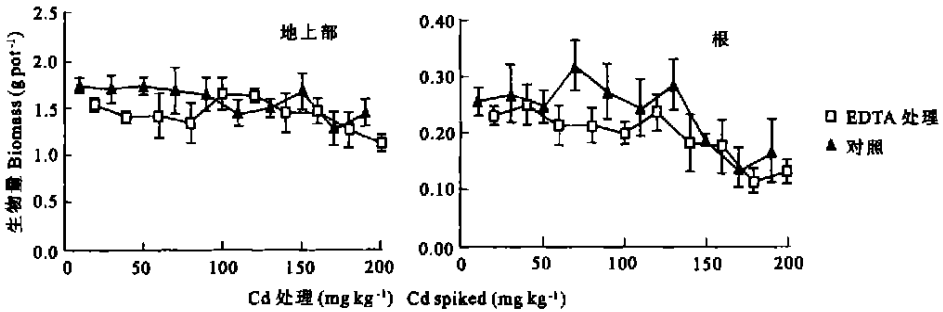


图 1 EDTA 对印度芥菜生物量的影响 (误差线表示标准差)

Fig. 1 Influence of EDTA on shoot and root biomass (Error bars represent S. D.)

2.2 EDTA 对土壤中 Cd 形态的影响

EDTA 加入土壤后, 水提取的 Cd 浓度随 Cd 处理浓度的增加而显著增加, 而没有加 EDTA 的土壤则变化较小 (图 2A); EDTA 加入后, 土壤中水提取的 Cd 浓度增加了 400 倍以上, NH₄NO₃ 提取的 Cd 浓度增加了 40 倍以上。没有加 EDTA 的土壤 NH₄NO₃ 提取态 Cd 的浓度也随处理浓度的增加而增加 (图 2B); EDTA 提取的 Cd 的浓度变化与水提取和 NH₄NO₃ 提取的有明显区别, EDTA 加入土壤与未加 EDTA 的土壤, EDTA 提取的 Cd 的浓度都随处理浓度的增加而显著增加 (图 2C)。这些结果说明 EDTA 加入 Cd 污染土壤可以大幅度增加土壤溶液中 Cd 的浓度。

2.3 EDTA 对印度芥菜吸收积累 Cd 的影响

1.78 mmol L⁻¹ 的 EDTA 加入土壤一周后, 印度芥菜根中 Cd 的积累显著下降 ($p < 0.01$) (图 3)。印度芥菜地上部中 Cd 的积累有所增加, 当添加 Cd 浓度在 130 mg kg⁻¹ 以上时, 加入 EDTA 显著增加了地上部 Cd 的浓度 ($p < 0.01$) (图 3)。

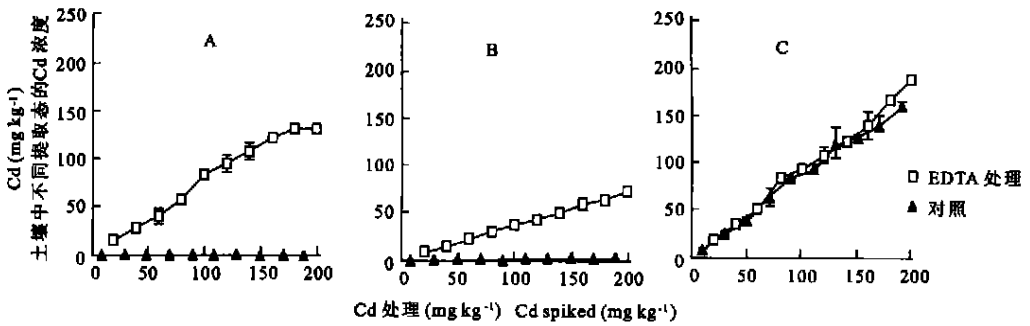


图 2 EDTA 对 H₂O(A), NH₄NO₃(B) 和 EDTA(C) 提取的土壤镉浓度的影响(误差线表示标准差)
 Fig. 2 Influence of EDTA on H₂O extracted (A), NH₄NO₃ extracted (B) and EDTA-extracted Cd (C) (Error bars represent S. D.)

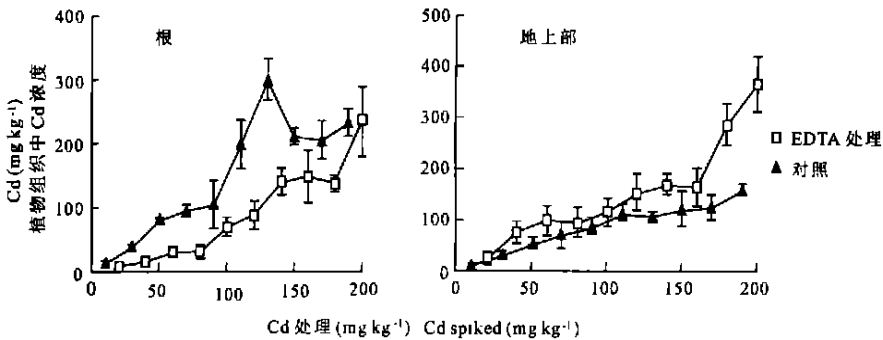


图 3 EDTA 对印度芥菜根及地上部积累镉的影响(误差线表示标准差)
 Fig. 3 Influence of EDTA on Cd accumulation in roots and shoots (Error bars represent S. D.)

3 讨论

EDTA 加入土壤后, 水提取的土壤 Cd 的浓度增加了 400 倍以上, NH₄NO₃ 提取的 Cd 的浓度增加 40 倍以上, 但印度芥菜根中积累的 Cd 却是对照显著高于加 EDTA 的处理。Salt 等^[18] 研究认为 Cd 在印度芥菜根中积累高于地上部, 其中大量的 Cd 是吸附在细胞壁上, 采用 1 mmol L⁻¹ 的 Ca(NO₃)₂ 解吸 15 分钟可以将根中积累的 67% 的 Cd 从细胞壁解吸到溶液中。在我们的试验中, EDTA 处理导致根中 Cd 的浓度降低是由于 EDTA 将根中积累的 Cd 从细胞壁解吸到土壤溶液中的结果。

从我们的实验结果来看, EDTA 加入土壤后对印度芥菜吸收 Cd 的影响与土壤中 Cd 的处理浓度有关。在土壤 Cd 处理浓度较低时, EDTA 加入土壤对植物吸收 Cd 没有显著影响, 当土壤添加 Cd 在 130 mg kg⁻¹ 以上时, 加入 EDTA 显著增加了地上部 Cd 的浓度(图 3)。

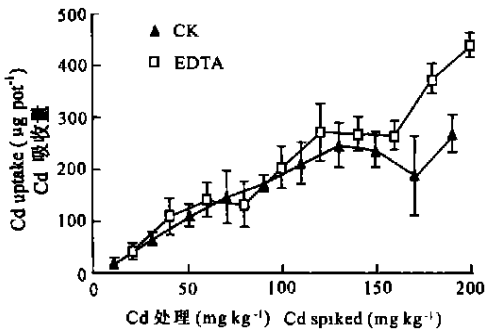


图 4 EDTA 对印度芥菜吸收镉总量的影响 (误差线表示标准差)
 Fig. 4 Influence of EDTA on total amount of Cd absorption (Error bars represent S. D.)

EDTA 加入土壤后, 土壤中所有的矿质元素都有机会和 EDTA 形成络合物。至于哪一种元素最优

先,取决于其总量及其与 EDTA 络合物的稳定性,而这种络合物的稳定性受土壤 pH 的控制。我们采用的土壤,其土壤溶液的 pH 是 7.40,在这样的 pH 条件下,可以认为 Cd-EDTA 是优先的,因为 Cd-EDTA 络合物的稳定常数为 16.5,其它元素如 Cu 和 Pb 虽然有更高的络合物形成常数,但在土壤中浓度很低。Ca 的含量虽然高,在正常土壤中在这样的 pH 条件下 EDTA 加入后通常与 Ca 先结合,但在 Cd 污染土壤中情况有所不同。我们的实验结果也证明了这一点(图 2A)。

在土壤添加 Cd 浓度较低时,EDTA 加入土壤后,土壤溶液中 Cd 的浓度也急剧增加,但印度芥菜吸收的 Cd 并没有显著增加。说明 EDTA 络合态的离子是水溶性的,但相对自由离子而言,更难以被植物吸收。在试验中我们发现,当土壤添加 Cd 浓度较高时,高浓度的 Cd 对植物产生毒害^[19]。已有很多研究表明,Cd 能够增加细胞膜的透性^[20]。所以在土壤中 Cd 浓度较高时,根细胞膜透性增加使得 EDTA 络合物能够穿过,运输到地上部的过程是由蒸腾作用控制的被动的过程^[21],土壤溶液中各种络合态离子浓度的增加从而导致了地上部浓度的增加。

Blaylock 等^[6]在含 Cd 100 mg kg^{-1} 的土壤中,施用 1 mmol L^{-1} 的 EDTA 一周后,印度芥菜 (*Brassica juncea*) 地上部 Cd 浓度达到 500 mg kg^{-1} ,但生物量干重从 2.05 克下降到 1.38 克,随着 EDTA 用量的增加,地上部浓度增加,但生物量继续下降。这可能是由于除 Cd 的毒害以外,EDTA 可能络合 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 从而破坏生物膜,使得土壤溶液里的络合物容易穿过^[22]。Denduluri^[11, 12]在污灌区土壤上施用 10 mmol L^{-1} EDTA 降低了植物对 Pb 和 Mn 的吸收,也减轻了 Pb 和 Mn 对植物的毒性。这些试验结果的差异可能是由于土壤性质的差异导致了重金属以及 EDTA 对植物毒性的差异,而植物受到毒害与否是地上部重金属浓度增加或降低的关键因素。

4 结 论

EDTA 加入土壤后,土壤水提取态 Cd 的浓度增加了 400 倍以上, NH_4NO_3 提取的 Cd 的浓度增加 40 倍以上,但印度芥菜根的 Cd 浓度却下降,是由于 EDTA 将根中积累的 Cd 从细胞壁解吸到土壤溶液中的结果。

EDTA 加入土壤后对印度芥菜吸收 Cd 的影响与土壤中 Cd 的处理浓度有关。在土壤 Cd 处理浓度较低时,EDTA 加入土壤对植物吸收 Cd 没有显著影响,当土壤添加 Cd 在 130 mg kg^{-1} 以上时,加入 EDTA 显著增加了地上部 Cd 的浓度。

参考文献

- Brooks R R. General Introduction. In: Brooks R R. ed. Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals. CAB International, Wallingford, U. K. 1998. 1~ 15
- 沈振国, 刘友良. 重金属超量积累植物研究进展. 植物生理学通讯, 1998, 34(2): 133~ 139
- Huang J W, Chen J J, Berti W R, et al. Phytoextraction of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. Environ. Sci. Technol., 1997, 31: 800~ 805
- Luo Y M, Christie P, Baker A J M. Metal uptake by *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl and metal solubility in a Zn/Cd contaminated soil after addition of EDTA. In: Proceedings of the Fifth International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements. Wenzel W W, et al. eds. Vienna, Austria. 1999. 882~ 883
- 吴龙华, 骆永明. 铜污染土壤修复的有机调控研究 II. 根际土壤铜的有机活化效应. 土壤, 2000, 32(2): 67~ 70
- Blaylock M J, Salt D E, Dushenkov S, et al. Enhanced accumulation of Pb in India mustard by soil-applied chelating agents. Environ. Sci. Technol., 1997, 31: 860~ 865
- Jacobson L. Maintenance of iron supply in nutrient solutions by a single addition of ferric potassium ethylenediamine tetraacetate. Plant Physiol., 1951, 26: 411~ 413
- Norvell W A. Reactions of metal chelates in soils and nutrient solutions. In: Micronutrients in Agriculture. 2nd ed. Mortvedt J J, et al. eds. SSSA, Madison, WI, 1991. 187~ 227
- Wallance A, Mueller R T, Cha J W, Alexander G V. Soil pH excess lime and chelating agent on micronutrients in soybeans and bush beans. Agron. J., 1974, 66: 698~ 700
- Halvorson A D, Lindsay W L. The critical Zn^{2+} concentration for corn and the nonabsorption of chelated zinc. Soil Sci. Soc. Am. J., 1977, 41: 531~ 534

11. Denduluri S. Reduction of lead accumulation by ethylenediamine tetraacetic acid and nitrilo triacetic acid in okra (*Abelmoschus esculentus* L.) grown in sewage-irrigated soil. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1993, 51:40~ 45
12. Denduluri S. Reduction of manganese accumulation by ethylenediamine tetraacetic acid and nitrilo triacetic acid in okra (*Abelmoschus esculentus* L.) grown in sewage-irrigated soil. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1994, 52: 438~ 444
13. Albasel N, Collenle A. Heavy metals uptake from contaminated soils affected by peat, lime, and chelates. Soil Sci. Soc. Am. J., 1985, 49: 386~ 390
14. Wolterbeek H T, Meer A van der, Bruin M de. The uptake and distribution of cadmium in tomato plants as affected by ethylenediamine tetraacetic acid and 2,4-dinitrophenol. Environ. Pollut., 1988, 55: 301~ 315
15. Laurie S H, Tancock N P, McGrath S P, Sanders J R. Influence of complexation on the uptake by plants of iron, manganese, copper and zinc. J. Exp. Bot., 1991, 42: 509~ 513
16. Li Z, Shuman L M. Extractability of zinc, cadmium, and nickel in soils amended with EDTA. Soil Sci., 1996, 161:226~ 232
17. Sparks D L, *et al.* eds. Methods of Soil Analysis, part 3: Chemical Methods. Soil Science Society of America, Inc., American Society of Agronomy, Inc., Madison, Wisconsin, USA. 1996
18. Salt D E, Pickering I J, Prince R C, *et al.* Metal accumulation by aquacultured seedlings of Indian Mustard. Environ. Sci. Technol., 1997, 31: 1 636~ 1 644
19. 蒋先军, 骆永明, 赵其国. 镉对富集植物印度芥菜(*Brassica juncea*)的毒性. 土壤, 2001, (4):197~ 201
20. Toppi L S di, Gabrielli R. Response to cadmium in higher plants. Environmental and Experimental Botany, 1999, 41(2): 105~ 130
21. Kochian L V. Mechanisms of micronutrient uptake and translocation in plants. In: Mortvedt J J, *et al.* eds. Micronutrients in Agriculture. 2nd ed. SSSA, Madison, WI, 1991. 229~ 297
22. Pasternak C A. A novel role of Ca^{2+} and Zn^{2+} protection of cells against membrane damage. Biosci. Rep., 1988, 8:578~ 583

THE ROLE OF EDTA IN Cd ABSORPTION AND TRANSLOCATION BY INDIAN MUSTARD

Jiang Xian-jun Luo Yong-ming Zhao Qi-guo Ge Yuan-ying
(Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Summary

There are two theories for cation-EDTA uptake: One suggested that metal-EDTA complex formed in the soil could increase metal solubility, and promote diffusion, and, hence, elevate potential uptake. Another theory suggested the complexation of metals with EDTA reduced the activities of free ions in the soil solution, and, therefore, decreased uptake. Pot experiment was conducted to study the role of EDTA in cadmium absorption by Indian Mustard (*Brassica juncea*). H_2O and NH_4NO_3 extractable Cd increased sharply in soils receiving EDTA treatment. Cadmium accumulation in the roots of *B. juncea* decreased significantly after EDTA application. However, Cd in shoots increased significantly when Cd added was over 130 mg kg^{-1} in soils, and Cd toxicity was observed. The results suggested that Cd concentration increased in soil solution after addition of EDTA, which resulted in increasing absorption and translocation when plant was suffering from toxicity.

Key words Cadmium, EDTA, Soil, Phytoremediation