NTA 对玉米体内 Cu、Zn 的积累及亚细胞分布的影响

周建民¹, 党志^{1*}, 陶雪琴¹, 周永章²

(1. 华南理工大学环境科学与工程学院, 广州 510640; 2. 中山大学地球环境与地球资源研究中心, 广州 510275)

摘要: 通过向多金属复合污染土壤中加入螯合剂氮三乙酸(NTA)并运用差速离心法研究了 NTA 对玉米根、茎和叶中 Cu、Zn 亚细胞分布的影响。结果表明: Cu 和 Zn 在玉米细胞内的分布特征与其吸收和富集重金属能力密切相关, NTA 能显著促进 Cu 和 Zn 在玉米体内的吸收和积累并且影响重金属在细胞壁和液泡内的分布。在玉米细胞内, 细胞壁是 Cu 的主要结合位点, 其次为含液泡的细胞质部分, 只有少量的 Cu 分布在叶绿体、线粒体、细胞核等细胞器组分中; Zn 更趋向于分布在以液泡为主的细胞质中, 并且在细胞器中也有较高的分布。在 NTA 诱导下, Cu 和 Zn 在液泡内的分布呈强化趋势, 有从细胞壁向细胞质转移的趋势, 叶片中细胞器的重金属也部分向细胞质转移。

关键词: NTA; 铜; 锌; 亚细胞分布; 玉米; 植物修复

中图分类号: X53 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2005)06-0126-05

Influence of NTA on Accumulation and Subcellular Distribution of Copper and Zinc in Corn (*Zea mays*)

ZHOU Jian-min¹, DANG Zhi¹, TAO Xue-qin¹, ZHOU Yong-zhang²

(1. College of Environmental Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China; 2. Institute of Geo-environment & Geo-resources, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The differential centrifugation method was used to study the subcellular distribution of Cu and Zn in the roots, stems and leaves of corn (*zea mays*) growing on multi-metal contaminated soil with the addition of chelator Nitrilotriacetic Acid (NTA). The results show that the subcellular distributions of Cu and Zn have significant relationship with the ability of metal uptake and accumulation in corn. NTA could evidently promote the uptake and accumulation of Cu and Zn in corn and affect on their distribution in cell wall and vacuole. Most of Cu was bound to the cell wall fraction and secondly cytoplasm fraction and only a small quantity of Cu bound to organelle fractions. For Zn, however, most of Zn was bound to cytoplasm fraction and there was more Zn bound to organelles than Cu. Under the induce ment of NTA, there were increasing Cu and Zn bound to cytoplasm fraction, which mostly came from cell wall fraction and partly came from organelle fractions.

Key words: NTA; copper; zinc; subcellular distribution; corn (*Zea mays*); phytoremediation

土壤重金属严重污染是亟待解决的环境问题之一,也一直是国际上研究的热点问题之一。鉴于传统的重金属污染土壤的修复技术(如固化、填埋、淋洗等)存在费用高昂、破坏土壤结构及肥力和造成二次污染等诸多缺点,近年来兴起的植物修复技术(phytoremediation)以其过程简单、成本低廉、环境友好和不存在安全隐患等特点受到了人们越来越多的关注,并已有很多成功的例子^[1-5]。目前国内外在螯合诱导植物提取研究中,有关螯合剂增加土壤溶液中重金属生物有效性及提高植物对重金属的吸收和积累的报道较多,而对于螯合剂诱导下的植物体内重金属元素的亚细胞分布特征及其解毒机制研究较少^[6-9]。已有报道玉米(*Zea mays*)对 Cu、Zn 和 Pb 等均具有较高的富集能力,是一种潜在的、很有应用前景的重金属污染土壤修复植物,但就其对重金属的富集机理尚缺少全面的研究^[10-13]。本文选择一种较易降解对环境危害较小的螯合剂 NTA 进

行螯合诱导植物提取研究,并运用差速离心技术研究重金属 Cu 和 Zn 在玉米根、茎和叶中的亚细胞分布情况,从玉米体内重金属亚细胞分布特征的角度探讨螯合剂对玉米细胞内重金属分布的影响以及玉米吸收和积累重金属的机理,从而为进一步研究其富集重金属的生理和分子机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物培养和试验处理

供试土壤为以 Cu、Zn 为主的复合污染土壤,取自广东大宝山矿污水灌溉稻田土壤,土壤 pH 值为

收稿日期:2004-11-12;修订日期:2005-01-23

基金项目:广东省环保局科技研究开发项目(2001-27);广东省科技厅重大专项项目(2004A30308002)

作者简介:周建民(1973~),男,湖南邵阳人,博士研究生,研究方向为污染物环境化学行为和污染土壤的生物修复技术。

* 通讯联系人, Tel: 020-87112631, E-mail: chzdang@scut.edu.cn

4.62, Cu 和 Zn 的总量分别为 $561 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $1135 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. 基肥添加量(以每 kg 土壤干重计) N 为 200 mg , P_2O_5 为 100 mg , K_2O 为 100 mg , 平衡 2 周. 供试植物材料采用前期试验筛选出的对重金属有较强吸收和富集能力的超甜 38 号玉米种子 (*Zea mays*).

玉米种子在苗圃发芽出苗长出 4~5 片真叶后, 取生长一致的幼苗移栽到供试污染土壤中. 温室内生长 50d 后添加 NTA, 10d 后收获. 设 4 个处理, NTA 添加量(以每 kg 土干重计)分别为: 0, 1.0, 5.0 和 10 mmol , 分别记为: Control、NTA₁、NTA₅ 和 NTA₁₀. 每个处理 3 次重复, 随机区组排列. 收获后的植物样品分成根、茎和叶 3 部分, 分别用自来水、去离子水各洗涤 2~3 次, 置于 -20°C 冰箱内保存备用.

1.2 玉米根系和茎叶中重金属含量测定

玉米根和茎叶先在 65°C 下烘干, 植物粉碎机粉碎至 40 目, 然后采用 $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ 混合消化, ICP-MS (Aligent7500A 型) 测定其 Cu 和 Zn 含量. 在线加入 ^{72}Ge 作为内标并采用国家一级标准物质茶叶标准样 GBW07605 作为质控标准, 所有样品重复 3 次, 并作全程空白对照.

1.3 玉米根系和茎叶亚细胞分离

参照 Hans 等人的研究, 采用差速离心法分离不同的细胞组分^[14,15]. 分别取玉米根和茎叶鲜样, 用预冷的匀浆液匀浆化, 匀浆液组成为: 蔗糖 $250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, Tris-HCl (pH 7.5) $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 二硫赤藓糖醇 ($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2\text{S}_2$) $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$. 匀浆液在 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心 15 min, 沉淀为含细胞壁的残渣部分 (F1); 上清液在 $15000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心 30 min, 沉淀为细胞器部分 (F2); 上清液为可溶性部分即细胞质部分 (F3). 全部操作在 4°C 下进行. 细胞壁和细胞器组分采用 $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ 混合消化, ICP-MS 测定 Cu 和 Zn 含量; 细胞质组分 Cu 和 Zn 含量直接测定. 所有样品重复 3 次, 并以提取液作空白.

2 结果与讨论

2.1 NTA 对玉米生物量及金属累积量的影响

如表 1 所示, 玉米根、茎和叶的生物量均随 NTA 浓度的增加而减少, 与对照相比分别下降了 $2.86\% \sim 35.51\%$ 、 $7.67\% \sim 25.94\%$ 和 $5.14\% \sim 12.54\%$, 其中处理 NTA₁₀ 生物量减少最多. 原因可能是由于 NTA 的加入增加了土壤溶液中的重金属浓度, 在一定程度上抑制了玉米的生长和发育. 外观上看, NTA 添加量 $\leq 5 \text{ mmol}$ 时, 玉米没有显示出中

毒症状; NTA 添加量达 10 mmol 时, 已表现出轻微的中毒现象.

从植物体内金属浓度看, 各处理条件下玉米根、茎和叶的金属浓度与对照相比均显著增加, 当 NTA 添加量达 10 mmol 时, Cu 在玉米根、茎和叶中的浓度分别为对照处理的 4.02 倍、4.69 倍和 3.99 倍; Zn 的浓度为对照的 2.35 倍、2.70 倍和 4.39 倍. 随着 NTA 添加量的增加, 叶片中 Zn 浓度增加最为显著, 表明 NTA 能影响到 Zn 在玉米体内不同部位的分配, 更有利于 Zn 从茎向叶片的转运, 而 Cu 则不同, 茎和叶片中的 Cu 浓度非常接近.

NTA 的添加显著增加 Cu 和 Zn 在玉米体内的累积量、提取效率和转运效率. 与对照比, Cu 和 Zn 的提取效率和转运效率均达到了显著水平. 当 NTA 添加量为 10 mmol 时, Cu 的提取效率和转运效率分别提高了 4.75 倍和 2.28 倍, Zn 则分别提高了 3.88 倍和 2.68 倍.

以上结果表明, NTA 能显著促进玉米对土壤中 Cu 和 Zn 的吸收和积累, 并且能促进提取效率和转运效率的显著提高, 是一种高效的用于整合诱导植物修复的整合剂.

2.2 NTA 对玉米根、茎和叶中 Cu 亚细胞分布的影响

元素在植物亚细胞水平的定位对于认识其在细胞活动中的作用非常重要. 以往有关该方面的研究主要采用电镜放射自显影和 X 射线能谱分析等方法, 但这些方法操作极为繁琐, 且难以准确定量^[14]. 本研究中借鉴 Hans 所采用的方法, 将玉米根、茎和叶分为细胞壁、细胞器和细胞质等组分. 结果表明 Cu 和 Zn 的回收率(即 Cu 和 Zn 3 种组分之和分别与全 Cu 和全 Zn 之比)均在 92% 以上(表 2 和表 3), 说明该方法可用于亚细胞水平 Cu 和 Zn 组分的研究.

Cu 在玉米根、茎和叶的亚细胞分布情况如表 2 所示. 不同 NTA 添加量情况下, Cu 在根细胞不同组分中的分配比例为 $F1 > F3 \gg F2$, 均以含细胞壁的组分 F1 最高, 占 $58.35\% \sim 64.26\%$, 其次是细胞质组分 F3, 占 $25.38\% \sim 31.84\%$, 含细胞器的组分 F2 最少, 为 10% 左右, 基本保持稳定. 在茎中分配和根有相似的结果, 所不同的是含细胞壁组分 F1 和含细胞器组分 F2 分配比例均有所下降, 而含细胞质组分 F3 比例有所增加. 在叶片中, 分配比例发生改变, 为 $F3 > F1 \gg F2$, 含细胞质的组分 F3 略高于含细胞壁的组分 F1, 而组分 F2 仍为最少. 随着 NTA

表 1 玉米根、茎和叶中重金属 Cu 和 Zn 的含量及累积量¹⁾Table 1 The concentration and accumulation of Cu and Zn in root, stem and leaf of *Zea mays*

处理	部位	生物量 /g	Cu ²⁾				Zn			
			含量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	累积量/mg	提取效率	转运效率	含量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	累积量/mg	提取效率	转运效率
Control	根	2.45	240.63 ± 37.83	0.59		529.42 ± 64.17	1.30			
	茎	13.30	51.16 ± 4.25	0.68	0.29c	250.44 ± 25.38	3.33	0.61c	6.09c	
	叶	14.59	63.14 ± 5.37	0.92		245.82 ± 9.38	3.59			
NTA ₁	根	2.38	558.32 ± 47.26	1.33		920.96 ± 91.37	2.19			
	茎	12.28	147.51 ± 15.16	1.81	0.75b	507.37 ± 71.59	6.23	1.32b	10.24b	
	叶	13.84	172.12 ± 19.28	2.38		634.60 ± 95.53	8.78			
NTA ₅	根	1.84	747.94 ± 89.45	1.38		1116.01 ± 228.21	2.05			
	茎	11.32	187.27 ± 22.06	2.12	0.85ab	599.22 ± 58.83	6.78	1.56ab	12.11ab	
	叶	13.20	202.15 ± 30.77	2.67		828.34 ± 109.54	10.93			
NTA ₁₀	根	1.58	967.38 ± 56.30	1.53		1245.01 ± 64.24	1.97			
	茎	9.85	240.11 ± 28.16	2.37	0.99a	676.69 ± 89.93	6.67	1.80a	13.66a	
	叶	12.76	252.07 ± 15.35	3.22		1078.35 ± 85.41	13.76			

1) 累积量 = 生物量 × 植物体(根、茎、叶)内金属含量;提取效率 = 地上部(茎和叶)金属累积量/土壤金属总量 × 100;转运效率 = 地上部(茎和叶)金属累积量/根金属累积量 2) 运用 Duncan 多重比较法,同列数据具有相同字母的数据间无显著差异($p = 0.05$),下同。

表 2 Cu 在玉米根、茎和叶中的亚细胞分布¹⁾Table 2 Subcellular distribution of Cu in the roots, stems and leaves of *Zea mays*

处理	部位	Cu 含量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$			回收率/%	分配比例/%		
		F1	F2	F3		F1	F2	F3
Control	根	145.44 ± 24.31	23.45 ± 3.92	57.44 ± 9.60	94.06	64.26a	10.36a	25.38a
	茎	25.33 ± 2.22	4.55 ± 0.40	18.50 ± 1.62	94.57	52.36a	9.40a	38.24a
	叶	26.59 ± 2.45	7.03 ± 0.65	24.53 ± 2.26	92.08	45.73a	12.09a	42.18b
NTA ₁	根	340.98 ± 29.53	48.63 ± 4.21	156.22 ± 13.53	97.76	62.47a	8.91a	28.62a
	茎	71.59 ± 7.70	13.04 ± 1.40	56.23 ± 6.05	95.49	50.82a	9.26a	39.92a
	叶	70.77 ± 8.46	12.72 ± 1.52	77.75 ± 9.30	93.68	43.89a	7.89b	48.22ab
NTA ₅	根	406.53 ± 53.53	68.48 ± 9.02	204.35 ± 26.91	92.17	59.84a	10.08a	30.08a
	茎	90.72 ± 10.96	15.85 ± 1.91	76.07 ± 9.19	97.53	49.67a	8.68a	41.65a
	叶	81.02 ± 13.02	14.01 ± 2.25	96.42 ± 15.50	94.71	42.32a	7.32b	50.36ab
NTA ₁₀	根	547.22 ± 32.85	92.00 ± 5.52	298.60 ± 17.93	96.95	58.35a	9.81a	31.84a
	茎	108.16 ± 13.33	22.25 ± 2.74	98.02 ± 12.08	95.13	47.35a	9.74a	42.91a
	叶	100.08 ± 6.38	15.84 ± 1.01	124.78 ± 7.96	95.49	41.58a	6.58b	51.84a

1) F1:细胞壁组分;F2:细胞器组分;F3:细胞质组分,下同

添加量的增加,细胞内不同组分的分配比例发生了一些改变,含细胞壁的组分 F1 呈下降趋势,但没有达到显著水平;含细胞器组分 F2 呈下降趋势,叶中 Cu 分配比例与对照相比均达到显著水平;含细胞质的组分 F3 呈增加趋势,处理 NTA₁₀ 叶中 Cu 分配比例与对照比较达到显著水平。

上述结果表明含细胞壁的部分是 Cu 在玉米细胞内的主要结合位点,其次为细胞质可溶性部分,只有少量的 Cu 分布在叶绿体、线粒体和细胞核等细胞器组分中。同时,在 NTA 诱导下,玉米细胞内的 Cu 有从细胞壁向细胞质转移的趋势,在叶片中部分细胞器中的 Cu 也向细胞质转移。

2.3 NTA 对玉米根、茎和叶中 Zn 亚细胞分布的影响

Zn 在玉米根、茎和叶的亚细胞分布情况如表 3 所示。可以看出,Zn 和 Cu 在玉米细胞内的分配情况

有相似的结果,也是主要分布在以细胞壁为主的组分 F1 和可溶性组分 F3 中。所不同的是不同组分所占分配比例发生了改变,Zn 在细胞壁组分的分配比例低于 Cu 在细胞壁组分的分配比例,而在细胞质组分和细胞器组分的分配比例高于 Cu 在相应组分的分配比例。这表明,相对于元素 Cu 来说,元素 Zn 更趋向于分布在以液泡为主的细胞质中,并且在叶绿体、线粒体、细胞核等细胞器中也有相对较高的分布。

在 NTA 诱导下,Zn 在玉米亚细胞各组分的分配比例发生了改变。随着 NTA 添加量的增加,含细胞壁的组分 F1 呈下降趋势,但没有达到显著水平;含细胞器组分 F2 所占比例呈下降趋势,且与对照比较达到显著水平;而含细胞质组分 F3 呈上升趋势,处理 NTA₁₀ 根中 Zn 分配比较与对照比较达到显著水平。这表明 NTA 的添加有利于 Zn 从细胞壁

表 3 Zn 在玉米根、茎和叶中的亚细胞分布

Table 3 Subcellular distribution of Zn in the roots, stems and leaves of *Zea mays*

处理	部位	Zn 含量/ mg·kg ⁻¹			回收率/ %	分配比例/ %		
		F1	F2	F3		F1	F2	F3
Control	根	224.46 ± 27.48	96.71 ± 11.84	203.02 ± 24.85	99.01	42.82a	18.45a	38.73b
	茎	97.54 ± 10.21	37.07 ± 3.88	107.85 ± 11.29	96.81	40.23a	15.29a	44.48a
	叶	81.59 ± 3.21	31.70 ± 1.25	124.86 ± 4.92	96.88	34.26a	13.31a	52.43a
NTA ₁	根	372.70 ± 38.02	137.76 ± 14.05	394.19 ± 40.21	97.26	41.61a	14.38ab	44.01ab
	茎	187.97 ± 27.66	62.90 ± 9.26	235.60 ± 34.67	95.88	38.64a	12.93ab	48.43a
	叶	210.25 ± 32.21	65.22 ± 9.99	348.05 ± 53.33	98.25	33.72a	10.46b	55.82a
NTA ₅	根	446.29 ± 91.83	142.63 ± 29.35	520.16 ± 107.03	99.38	40.24a	12.86b	46.90ab
	茎	214.41 ± 21.70	70.17 ± 7.10	296.79 ± 30.03	97.02	36.88a	12.07ab	51.05a
	叶	272.30 ± 36.72	82.13 ± 11.07	457.92 ± 61.75	98.07	33.52a	10.11b	56.37a
NTA ₁₀	根	485.76 ± 25.75	141.07 ± 7.48	585.14 ± 31.02	97.35	40.08a	11.64b	48.28a
	茎	231.45 ± 31.89	70.69 ± 9.74	350.58 ± 48.30	96.46	35.46a	10.83b	53.71a
	叶	339.37 ± 28.00	87.48 ± 7.22	608.45 ± 50.19	96.01	32.78a	8.45b	58.77a

和细胞器向以液泡为主的细胞质的转移。

2.4 讨论

重金属元素在植物中的分布总是尽量避免损伤功能相对重要的组织如细胞器,从而表现出选择性的分配。重金属离子在非原生质体部位积累以及在细胞内的区室化分布是植物内部解毒的 2 个重要途径。以细胞壁为主体的非原生质体部分含有多种能与进入植物的金属离子配位结合的多糖分子(包括纤维素、半纤维素、木质素等)和蛋白质分子(含有大量羟基、羧基、醛基、氨基和磷酸基等亲金属离子的配位基团)等物质,当植物接触高浓度离子时,上述金属配位体能够与进入植物的金属离子配位结合,从而减少金属离子的跨质膜运输,降低原生质体中的金属离子浓度,维持细胞的正常生理代谢,因而是植物体内重金属离子解毒的重要部位^[16,17]。如 Küpper 等对超积累植物遏蓝菜 (*Thlaspi caerulea*) 的研究表明植物体内大约 60% ~ 90% 的 Zn 分布在细胞壁上^[18]。同时,当细胞壁结合的重金属离子达到饱和点时,进入细胞内的大部分金属离子被转运到液泡中储藏起来,使金属离子在细胞内区室化,因此液泡在植物抗金属胁迫中承担着隔离金属作用。如 Brooks 等用离心的方法研究了抗重金属植物体内重金属的分布,结果表明抗 Ni 的庭芥属植物 (*Alyssum serpyllifolium*) 细胞中 72% 的 Ni 分布在液泡中^[19]。廖斌等对超积累植物鸭跖草 (*Commelina communis*) 细胞内的 Cu 分布情况研究也表明 Cu 主要分布在细胞壁和细胞质部分^[20]。本研究结果与此类似,随着 NTA 的加入,土壤溶液中的重金属浓度显著增加,玉米根中大部分 Cu (58% ~ 64%) 和 Zn (40% ~ 42%) 分布在细胞壁组分中,

茎、叶中 Cu 和 Zn 主要分布在细胞壁和以液泡为主的细胞质可溶性部分中(表 2 和表 3)。从这些结果可以推测,细胞壁是玉米积累 Cu 和 Zn 的重要部位,同时液泡也发挥着极其重要作用,而对于细胞最重要的光合作用和呼吸作用的场所——含叶绿体、线粒体和细胞核的细胞器组分结合的 Cu 和 Zn 含量很少,为 10% 左右,这样一方面有利于满足细胞对 Cu 和 Zn 这些植物必需元素的需要,另一方面又减轻了过量的 Cu 和 Zn 对细胞的毒害作用,使细胞能正常发挥其生理功能,从而使植物表现出较强的耐受性,这可能是玉米对 Cu 和 Zn 的耐受机理之一。但是 Cu 和 Zn 在细胞壁和液泡中具体与何种配位体结合,还有待于进一步研究。

3 结论

(1) 玉米在重金属污染土壤中对 Cu 和 Zn 表现出较强的耐受性,其吸收和富集重金属的能力与 Cu 和 Zn 在玉米细胞内的分布特征密切相关。玉米体内细胞壁和液泡是 Cu 和 Zn 的主要结合位点,是实现其对重金属离子解毒的重要途径。

(2) NTA 显著促进 Cu 和 Zn 在玉米体内的吸收和积累并且影响玉米体内重金属亚细胞分布。在 NTA 诱导下,Cu 和 Zn 在液泡内的分布呈强化趋势,有从细胞壁向细胞质转移的趋势,叶片中细胞器的重金属也部分向细胞质转移。

(3) 玉米是一个广域的植物品种,具有很高的生物量(达 22t/hm²),对多种金属如 Cu、Zn、Pb 等都具有较高的富集作用,特别是在螯合剂诱导下表现出与一些超积累植物特性很相似的重金属解毒机制,所以是一种很有开发和利用价值的重金属污染土壤

修复植物,值得进一步深入研究.

致谢:感谢华南理工大学食品与生物工程学院在高速冷冻离心试验和中国广州分析测试中心在样品分析过程中给予帮助!

参考文献:

- [1] Raskin I, Smith R D, Salt D E. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 1997, **8** (2): 221 ~ 226 .
- [2] 骆永明. 重金属污染土壤的植物修复 [J]. *土壤*, 1999, **31** (5): 261 ~ 265 .
- [3] McGrath S P, Zhao F J, Lombi E. Phytoremediation of metals, metalloids, and radionuclides [J]. *Advance in Agronomy*, 2002, **75** (1): 1 ~ 56 .
- [4] 蔡美芳,刘玉荣,党志. 植物修复重金属污染土壤的研究进展 [J]. *重庆环境科学*, 2003, **25**(11) : 174 ~ 176 .
- [5] 韦朝阳,陈同斌. 重金属超富集植物及植物修复技术研究进展 [J]. *生态学报*, 2001, **21**(7) : 1196 ~ 1203 .
- [6] Huang J W, Chen J J, Berti, *et al.* Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction [J]. *Environmental Science and Technology*, 1997, **31** (3): 800 ~ 805 .
- [7] Wu L H, Luo Y M, Xing X R, *et al.* EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk. *Agriculture [J]. Ecosystems and Environment*, 2004, **102** (3): 307 ~ 318 .
- [8] Blaylock M J, Salt D E, Dushenkov S. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents [J]. *Environmental Science and Technology*, 1997, **31** (3): 860 ~ 865 .
- [9] 王剑虹,麻密. 植物修复的生物学机制 [J]. *植物学通报*, 2000, **17** (6): 504 ~ 510 .
- [10] 魏树和,周启星. 重金属污染土壤植物修复基本原理及强化措施探讨 [J]. *生态学杂志*, 2004, **23** (1): 65 ~ 72 .
- [11] 姜理英,杨肖娥,石伟勇,等. 植物修复技术中有关土壤重金属活化机制的研究进展 [J]. *土壤通报*, 2003, **34** (2): 154 ~ 157 .
- [12] Brennan M A, Shelley M L. A model of the uptake, translocation, and accumulation of lead (Pb) by maize for the purpose of phytoextraction [J]. *Ecological Engineering*, 1999, **12** (3-4): 271 ~ 297 .
- [13] Koralie A H, Leonaro W L. Reduced Cd accumulation in *Zea mays*: A protective role of phytosiderophores [J]. *Environmental Science and Technology*, 2002, **36** (24): 5363 ~ 5368 .
- [14] Hans J W, Hans J J. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plant [J]. *Plant Physiology*, 1980, **65** (3): 480 ~ 482 .
- [15] Yang J R, Bao Z P, Zhang S Q. Distribution and chemical binding forms of Cd, Pb in plants [J]. *China Environmental Science*, 1993, **13** (4): 263 ~ 268 .
- [16] Hayens R J. Ion exchange properties of roots and ionic interactions within the root POPL sm: Their role in ion accumulation by plants [J]. *Botanical Review*, 1980, **46** (1): 75 ~ 99 .
- [17] Allen D L, Jarrell W M. Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls [J]. *Plant Physiology*, 1989, **89** (5): 823 ~ 832 .
- [18] Kupper H, Zhao F J, McGrath S P. Cellular compartmentation of zinc in leaves of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. *Plant Physiology*, 1999, **119** (1): 305 ~ 311 .
- [19] Brooks R R, Shaw S, Marfil A A. The chemical form and physiological function of nickel in some Iberian *Alyssum* species [J]. *Plant Physiology*, 1981, **51** (3): 167 ~ 170 .
- [20] 廖斌,邓冬梅,杨兵,等. 铜在鸭跖草细胞内的分布和化学形态研究 [J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2004, **43**(2) : 72 ~ 75 .