

鼠李糖脂与 EDDS 强化黑麦草修复重金属复合污染土壤

石福贵^{1,2}, 郝秀珍¹, 周东美¹, 钱 翌³

(1.中国科学院南京土壤研究所, 土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 江苏 南京 210008; 2.新疆农业大学草业与环境科学学院, 新疆 乌鲁木齐 830052; 3.青岛科技大学环境与安全工程学院, 山东 青岛 266042)

摘要:通过盆栽试验,研究了鼠李糖脂和 EDDS 对黑麦草生长与吸收土壤重金属 Cu、Zn、Pb 和 Cd,以及对土壤酶活性的影响。结果显示,向重金属复合污染土壤中施加 $1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的鼠李糖脂将显著降低黑麦草地上部的生物量。EDDS 比鼠李糖脂具有更强的溶解土壤 Cu、Zn、Pb 和 Cd 的能力;同时施加 $1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的鼠李糖脂和 $0.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 EDDS 大幅增加了土壤溶液中 Cu、Zn、Pb 和 Cd 的浓度,显著增加了黑麦草地上部植株中 Cu、Zn、Pb 和 Cd 的含量,促进了土壤脲酶和脱氢酶的活性。鼠李糖脂与 EDDS 易生物降解,环境风险小,用于黑麦草修复重金属复合污染具有很大的修复潜力。

关键词:重金属;鼠李糖脂;EDDS;黑麦草;土壤酶活性

中图分类号:X53 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2009)09-1818-06

Remediation of the Combined Polluted Soil by Growing Ryegrass Enhanced by EDDS/rhamnolipid

SHI Fu-gui^{1,2}, HAO Xiu-zhen¹, ZHOU Dong-mei¹, QIAN Yi³

(1.State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Sciences, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2. School of Pratacultural and Environmental Sciences, Xinjiang Agriculture University, Urumqi 830052, China; 3. College of Environment and Safety Engineering, Qingdao University of Science & Technology, Qingdao 266042, China)

Abstract: Phytoremediation has shown promising results in reducing the environmental risk of heavy metal polluted soil. This study is to optimize the experimental conditions of phytoremediation of a heavy metal contaminated soil assisted by chelates of EDDS/rhamnolipid. A series of pot experiments were carried out, and EDDS and Rhamnolipid were applied to the combined polluted soil to evaluate their effects on the growth of ryegrass, uptake of Cu, Zn, Pb and Cd by ryegrass, and soil enzymatic activities. The results showed that rhamnolipid ($1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) significantly decreased the biomass of ryegrass. EDDS had stronger ability in dissolving heavy metals from the soil than rhamnolipid. And the Cu, Zn, Pb and Cd concentrations in soil solution and in the above-ground part of ryegrass increased in response to the simultaneous supply of $1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ rhamnolipid and $0.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ EDDS. Meanwhile, rhamnolipid and EDDS stimulated the activities of soil urease and dehydrogenase. Thus, rhamnolipid and EDDS had great potential in remediation of the combined polluted soil, due to their easy biodegradation and relatively low toxicity to the environment.

Keywords: heavy metal; rhamnolipid; EDDS; ryegrass; soil enzymatic activity

随着工农业的快速发展,环境污染问题日益严重。土壤一旦受到重金属污染,不仅会危害植物的生长和发育,而且会影响农产品品质,并通过食物链危及人类健康^[1]。对于重金属污染土壤采用植物修复表现为廉价、环境友好等,但存在土壤重金属溶解度低、

迁移能力差等限制因素,因此采用化学修复与生物修复相结合的化学强化植物修复便应运而生。

在化学修复中,表面活性剂和螯合剂以其特有的增溶、增流、螯合和络合能力等特性而备受人们青睐。根据表面活性剂的增流和增溶特性,有研究发现其对修复土壤与沉积物重金属有很好效果,当加入螯合剂 EDTA 后效果更显著^[2-3]。但由于 EDTA 难降解等原因,在增加了重金属在土壤中可溶性的同时,也增加了重金属淋溶的风险^[4-5]。而鼠李糖脂是由铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)利用不同碳源生成的一

收稿日期:2008-12-25

基金项目:中国科学院知识创新工程重要方向项目(kzcx2-yw-404);
国家自然科学基金项目(30700480)

作者简介:石福贵(1983—),男,山东潍坊人,硕士研究生,主要从事土壤重金属污染化学修复研究工作。

通讯联系人:周东美 E-mail: dmzhou@issas.ac.cn

种阴离子生物表面活性剂,具有显著降低水的表面张力、低毒性、易降解等优点,逐渐引起人们的注意^[6], Neilson^[7]等用鼠李糖脂淋洗被铅污染多年的土壤,土样 A(铅含量 3 780 mg·kg⁻¹)和土样 B(铅含量 23 900 mg·kg⁻¹)中铅的去除率分别为 14.2%和 15.3%。

EDDS 作为一种可生物降解且高效的螯合剂在植物修复重金属污染土壤中应用广泛^[8-9],但其使用成本较高;鼠李糖脂作为一种低成本的生物表面活性剂应用于淋溶土壤重金属在国外已有研究^[10-11],但应用于强化植物修复土壤重金属的研究较少。本文的创新点在于应用可降解鼠李糖脂和 EDDS 强化黑麦草修复重金属复合污染土壤,采用温室盆栽试验,通过研究鼠李糖脂和 EDDS 单独施加和共同施加对植物地上部重金属 Cu、Zn、Pb 和 Cd 积累、土壤溶液重金属浓度以及土壤酶活性的影响,为生物表面活性剂和螯合剂强化植物修复提供参考。由于鼠李糖脂生产成本低,和 EDDS 共同施加降低了土壤修复成本,对应用于强化植物修复重金属污染土壤具有重要的现实意义。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试土壤采自浙江富阳某重金属复合污染区,将性质相近的重金属污染高低土壤混合而成。土样采集深度为 0~20 cm,经自然风干后,过 2.0 mm 尼龙筛备用。土壤的基本理化性质见表 1。试验用黑麦草(邦德)购于南京农业大学神州种业公司。试验用盆为直径 14 cm、高 17 cm 的塑料盆。鼠李糖脂购于浙江大学联合化学反应工程研究所,由铜绿假单胞菌(*P.aeruginosa* ZJU-10-1)发酵生成,含二鼠李糖脂(dirhamnolipid)和单鼠李糖脂(monnrhamnolipid)浓度为 21.5 g·L⁻¹,临界胶束浓度为 51.53 mg·L⁻¹。EDDS 三钠盐((S,S)-Ethylenediamine-N,N'-disuccinic acid trisodium)购自 Sigma-Aldrich 公司。

表 1 供试土壤的基本理化性质

Table 1 Physicochemical characteristics of the soils tested

pH	有机质/g·kg ⁻¹	重金属全量/mg·kg ⁻¹			
		Cu	Zn	Pb	Cd
7.3	20.3	197	1 550	342	2.2

1.2 试验方法

试验用塑料盆每盆装土 2 000 g,装土深 6 cm 处埋设一只原位土壤溶液采样器^[12]。安装完毕后,每天

用蒸馏水浇灌保持 60%田间持水量,静止平衡一周后每盆直播黑麦草种 80 颗,出苗 3 d 后间苗至每盆 60 颗。在黑麦草生长过程中,每天采用称重法加去离子水,调节盆中土壤含水量约为田间持水量的 60%。待生长 50 d 添加表面活性剂或螯合剂,按处理浓度配成溶液,将各个处理溶液 pH 值调至 6.8,随浇灌水施入盆中。试验设单独施加鼠李糖脂(R)处理、单独施加 EDDS(E)处理和共同施加鼠李糖脂和 EDDS(RE)处理,分别为 L、M 和 H 3 个浓度梯度和对照,处理如表 2 所示,每个处理设 4 个重复。分别于活化剂处理后第 5、10 d 抽取土壤溶液,测定 Cu、Zn、Pb、Cd 含量。植物生长 60 d 后收获地上部,用不锈钢剪刀剪取土面 1 cm 以上部分,测量鲜重。植物鲜样用蒸馏水清洗 3 次,105 ℃杀青,80 ℃烘干至恒重,用不锈钢粉碎机磨碎备用。植物样品分析采用 HNO₃-HClO₄ 消煮法制备待测液^[13]。收获植物后用四分法采集土壤鲜样,测定土壤酶活性。土壤脲酶、脱氢酶采用关松荫^[14]的方法测定。

表 2 温室盆栽试验的处理

Table 2 Treatments of the greenhouse pot experiment

处理	表面活性剂用量	螯合剂用量
CK	对照(仅加去离子水)	
RL	鼠李糖脂 0.1 g·kg ⁻¹ 土	
RM	鼠李糖脂 0.5 g·kg ⁻¹ 土	
RH	鼠李糖脂 1 g·kg ⁻¹ 土	
EL		EDDS 0.1 g·kg ⁻¹ 土
EM		EDDS 0.2 g·kg ⁻¹ 土
EH		EDDS 0.4 g·kg ⁻¹ 土
REL	鼠李糖脂 0.1 g·kg ⁻¹ 土	EDDS 0.1 g·kg ⁻¹ 土
REM	鼠李糖脂 0.5 g·kg ⁻¹ 土	EDDS 0.2 g·kg ⁻¹ 土
REH	鼠李糖脂 1 g·kg ⁻¹ 土	EDDS 0.4 g·kg ⁻¹ 土

1.3 数据处理

所有分析数据均采用 SPSS 软件进行标准差分析和 $P < 0.05$ 水平进行显著性比较,采用邓肯法(Duncan's multiple range test)检验。

2 结果与讨论

2.1 鼠李糖脂/EDDS 对黑麦草地上部生长的影响

由图 1 可看出,在不施鼠李糖脂和 EDDS 的对照处理中,黑麦草地上部生长正常,没有表现明显的中毒症状。单独施加 EDDS(EL)、(EM)处理黑麦草均未产生明显中毒症状,与 Tandy^[15]结果一致。单独施加高浓度鼠李糖脂(RH)、单独施加高浓度 EDDS(EH)处

理、共同施加高浓度鼠李糖脂和EDDS(REH)处理均对黑麦草产生了明显毒害作用,主要表现为叶片失绿。统计分析表明,单独施加高浓度鼠李糖脂(RH)处理的黑麦草生物量为52.86 g,显著低于对照生物量。关于高浓度鼠李糖脂与土壤重金属复合作用对黑麦草的毒害,有研究指出表面活性剂可以破坏大麦细胞膜透性,导致植物组织内重金属含量显著增加,对植物产生毒害^[16-17]。单独施加EDDS处理、共同施加鼠李糖脂和EDDS处理植物生物量与对照相比没有显著性差异。不同活化剂处理植物生物量也没有显著性差异,可能与处理时间较短有关。

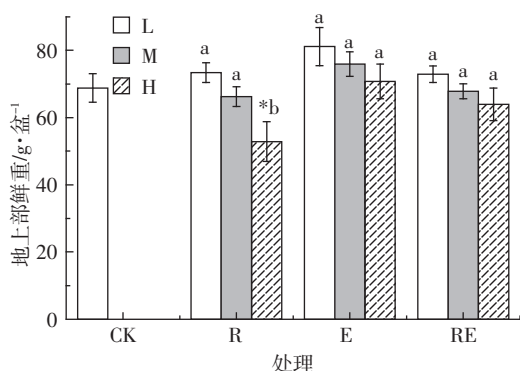


图1 施加鼠李糖脂/EDDS对黑麦草地上部鲜重(g·盆⁻¹)的影响
Figure 1 The effect of rhamnolipid and EDDS application on fresh weight of above-ground part of ryegrass(g·pot⁻¹)

注:用*表示施加活化剂与对照存在显著性差异,用不同字母表示同种活化剂处理间显著性差异。For comparing the chelator treatments with the control, bars marked with a(*) means significantly different($P<0.05$). For comparing the same chelator treatments, the mean value followed by different letters means significantly different($P<0.05$). Error bars represent $\pm$ SE of($n=4$).

2.2 鼠李糖脂/EDDS对土壤溶液重金属浓度的影响

表面活性剂吸附在土壤颗粒表面,并与重金属产生络合作用,进而使重金属进入水相,并与表面活性剂的胶束络合增加了土壤溶液中重金属的浓度^[18-19]。

由表3可见,活化剂处理5 d后,单独施加高浓度鼠李糖脂(RH)处理土壤溶液中Cu、Zn、Pb浓度是对照的数倍,而单独施加EDDS处理和共同施加鼠李糖脂与EDDS处理土壤溶液中Cu、Zn、Pb浓度可达对照的数十倍,显示EDDS活化土壤Cu、Zn、Pb的能力相对较强。土壤溶液中Cd浓度低于仪器火焰原子吸收的检测限故数据未列出。共同施加鼠李糖脂和EDDS的(REL)、(REM)处理土壤溶液中重金属浓度均分别低于单独施加EDDS的(EL)、(EM)处理,而共同施加高浓度鼠李糖脂和EDDS的(REH)土壤溶液中重金属浓度高于单独施加EDDS(EH)处理。其原因可能是:加入的活化剂浓度较低时,EDDS及其螯合物吸附在土壤颗粒物表面,同时加入的鼠李糖脂本身先吸附在土壤颗粒物表面,改变了土壤颗粒物表面的理化性质,且占据表面吸附点位,增强了EDDS及其螯合物的吸附作用;当活化剂浓度超出一定范围后,土壤颗粒表面吸附点位达到饱和,使被吸附的重金属离子及配合物释放到土壤溶液中,同时鼠李糖脂的胶束作用增加了被吸附重金属配合物和有机结合态重金属的水溶性。

活化剂处理10 d后,单独施加EDDS处理和共同施加鼠李糖脂与EDDS处理土壤溶液中重金属浓度已经大幅下降,这主要是由于EDDS和鼠李糖脂都易于生物降解^[20-21],活化出来的土壤溶液中重金属大部分在短期内被土壤重新固定。目前化学强化植物修复土壤重金属主要是通过污染土壤上种植较高生物量的金属耐受性植物,在植物生长达到较高生物量时,向土壤中添加活化剂,提高土壤溶液中重金属的浓度,促进植物在较短时间内,大量吸收土壤溶液中的重金属并转移富集到地上部实现土壤重金属移除修复。植物在较短时间内吸收过量土壤重金属并对植物产生毒害作用,将影响植物正常生长,减少植物对土壤重金属的吸收。因此,研发低毒高效、经济实用、

表3 各处理土壤溶液中重金属浓度随时间的变化(mg·L⁻¹)

Table 3 Changes of metal concentration in soil solution with time

试验时间	元素	CK	RL	RM	RH	EL	EM	EH	REL	REM	REH
5 d	Cu	0.1±0.0	0.1±0.0	0.2±0.1	1.2±0.3	7.1±0.8	25.7±2.3	27.1±2.1	3.8±0.8	20.6±2.2	34.1±5.1
	Zn	0.2±0.1	0.2±0.1	0.3±0.1	0.6	3.4±0.7	16.5±1.5	19.7±1.9	1.9±0.3	14.2±1.4	23.1±2.3
	Pb	0.1±0.0	0.1±0.0	0.2±0.1	0.2±0.1	1.4±0.5	4.6±0.8	5.2±0.9	0.9±0.2	4.2±0.7	7.6±1.4
10 d	Cu	0.1±0.0	0.1±0.0	0.2±0.1	1.0±0.2	1.2±0.3	6.4±0.9	7.2±1.1	1.6±0.4	6.2±1.1	9.7±1.7
	Zn	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.5±0.1	0.9±0.3	4.3±0.7	5.1±0.8	1.0±0.2	4.1±0.9	5.9±1.0
	Pb	0.1±0.0	0.1±0.0	0.2±0.1	0.2±0.1	0.5±0.1	1.9±0.5	2.2±0.4	0.6±0.1	2.1±0.6	3.1±0.9

注:个别处理由于抽取的土壤溶液量不足,而将4个重复混成1个样品分析,故无标准偏差。

易生物降解对环境影响较小的活化剂具有重要意义。

2.3 鼠李糖脂/EDDS对黑麦草地上部(干重计)重金属积累的影响

图2(a)显示了黑麦草地上部对Cu的积累情况。单独施加高浓度鼠李糖脂处理(RH)处理黑麦草地上部Cu浓度是对照的1.3倍;单独施加EDDS处理EL、EM、EH处理黑麦草地上部Cu浓度分别是对照的1.5、2和2.6倍,EH处理与EL处理有显著差异;共同施加鼠李糖脂和EDDS的处理REM、REH处理黑麦草地上部Cu浓度分别是对照的1.7和4倍。施加高浓度鼠李糖脂和EDDS均显著增加了黑麦草对铜的吸收。

图2(b)显示了黑麦草地上部对Pb的积累情况。跟对照相比,单独施加EDDS处理均显著增加了黑麦草地上部Pb浓度,EH处理与EL处理有显著差异;共同施加鼠李糖脂和EDDS的处理,REM、REH处理均显著增加了黑麦草地上部Pb浓度,REH处理黑麦草地上部Pb浓度是对照的8.0倍。

图2(c)显示了黑麦草地上部对Zn的积累情况。

跟对照相比,共同施加高浓度鼠李糖脂和EDDS的处理(REH)显著增加了黑麦草地上部Zn浓度;单独施加鼠李糖脂处理和单独施加EDDS处理均未显著增加黑麦草地上部Zn浓度,各处理的黑麦草地上部Zn浓度都达到 $360 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以上,Zn在土壤和黑麦草这个体系中比Cu有着更高的活性。

图2(d)显示了黑麦草地上部对Cd的积累情况。共同施加高浓度鼠李糖脂和EDDS的处理(REH)处理黑麦草地上部Cd浓度显著高于对照,而单独施加鼠李糖脂处理和单独施加EDDS处理黑麦草地上部Cd浓度没有显著增加。这与鼠李糖脂与EDDS活化Cd的能力较弱有关。

2.4 鼠李糖脂/EDDS对土壤酶活性的影响

由图3可看出,与对照相比,单独施加鼠李糖脂(RM)、(RH)处理、单独施加高浓度EDDS(EH)处理、共同施加高浓度鼠李糖脂和EDDS(REH)处理下土壤脲酶活性均显著增加。土壤脲酶的测定是在植物收获后测定土壤样品的,由于并非当时取样,对土壤微生物的影响跟施加活化剂之后立即测定相

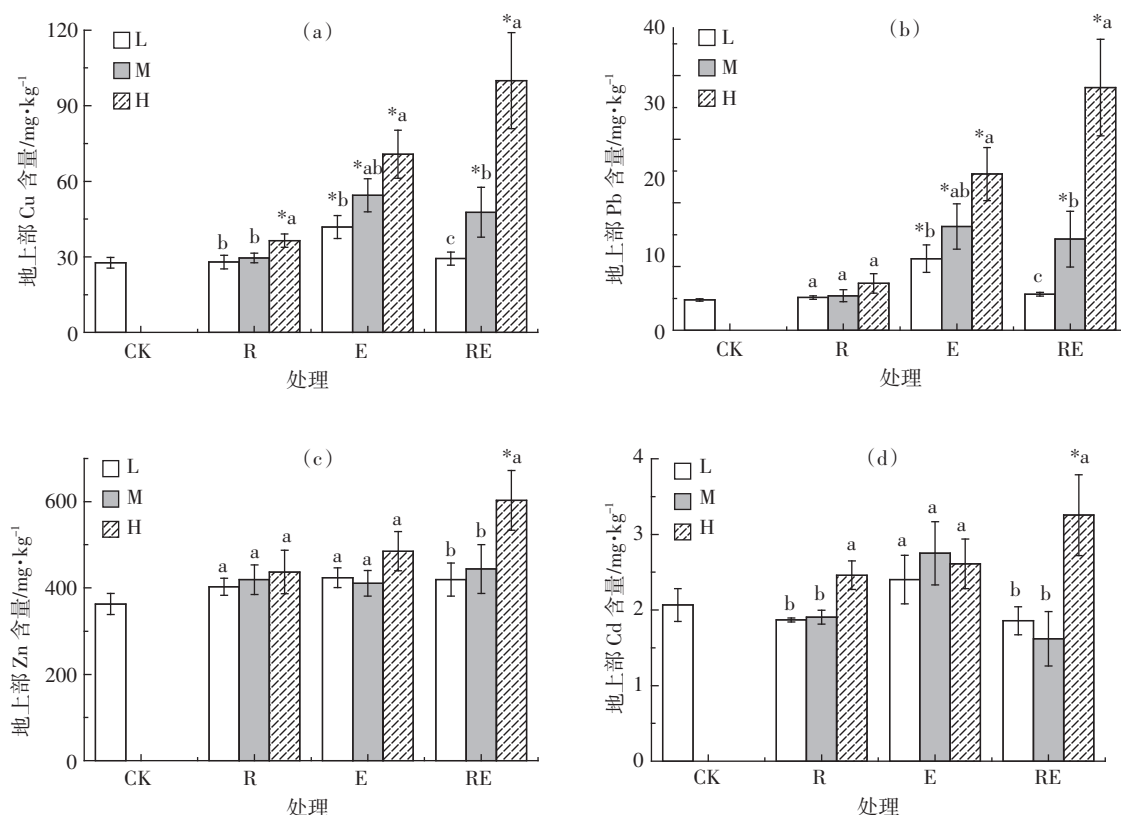


图2 鼠李糖脂/EDDS对黑麦草地上部(干重计)Cu(a)、Pb(b)、Zn(c)和Cd(d)含量的影响

Figure 2 Effects of rhamnolipid and EDDS application on the concentration of Cu(a), Pb(b), Zn(c) and Cd(d) in the above-ground part of ryegrass

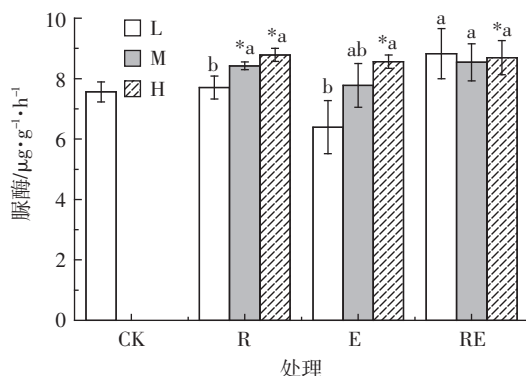


图3 鼠李糖脂/EDDS对土壤脲酶活性的影响

Figure 3 Effects of rhamnolipid and EDDS application on soil urease activity

比有所降低。

由图4可看出,与对照相比,单独施加高浓度鼠李糖脂(RH)处理、单独施加EDDS(EM)处理、共同施加高浓度鼠李糖脂和EDDS(REH)处理土壤脱氢酶活性显著增加。

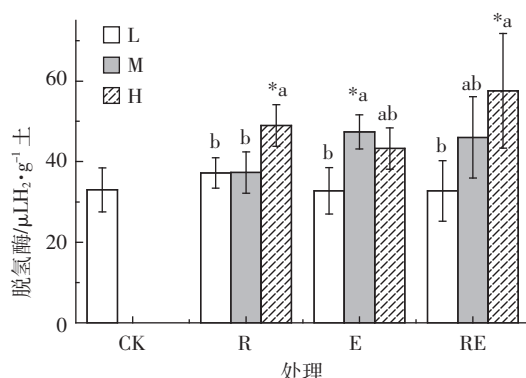


图4 鼠李糖脂/EDDS对土壤脱氢酶活性的影响

Figure 4 Effects of rhamnolipid and EDDS application on soil dehydrogenase activity

土壤酶活性反映了土壤中各种生物化学过程的强度和方向,其活性受各种因素影响,施加高浓度鼠李糖脂和EDDS均增加了土壤脲酶、土壤脱氢酶的活性,其对于脲酶的影响可能有以下原因:一方面鼠李糖脂和EDDS都是生物产品,具有毒性小、易降解特点^[21],鼠李糖脂和EDDS降解可以转化成碳源促进微生物利用,而土壤脲酶活性随土壤微生物生物量增加而增强^[22];另一方面土壤重金属主要通过抑制土壤微生物酶合成作用以及由此引起的土壤微生物生长受抑制而降低土壤酶活性^[23],施加高浓度鼠李糖脂和EDDS与重金属形成螯合物,产生的螯合物不在土壤上发生吸附,降低土壤对重金属的吸附,从而降

低了土壤重金属对土壤微生物的毒害,增加了土壤酶活性。

Alessia等^[24]通过施加EDDS强化植物吸收土壤重金属研究,发现可降解螯合剂显著增加了土壤细菌群落总数,其可能原因是可降解螯合剂为土壤微生物提供碳源、氮源和能源,并增加了土壤微量元素的活性促进了微生物的增殖。Kos等^[25]也证明了施加EDDS增加了土壤呼吸未对土壤微生物造成毒害。

3 结论

(1)单独施加高浓度鼠李糖脂(RH)显著地降低了黑麦草地上部生物量,单独施加高浓度EDDS处理、共同施加鼠李糖脂和EDDS处理均对黑麦草产生明显毒害作用,但对黑麦草生物量影响不显著。

(2)EDDS比鼠李糖脂具有更强溶解土壤Cu、Zn、Pb和Cd的能力,单独施加EDDS处理、共同施加鼠李糖脂和EDDS均明显增加了土壤溶液中Cu、Zn、Pb浓度。同时施加 $1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的鼠李糖脂和 $0.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的EDDS显著增加了黑麦草地上部Cu、Zn、Pb和Cd含量。鼠李糖脂与EDDS促进黑麦草吸收重金属的主要机理可能是提高了土壤重金属的生物有效性。

(3)施加高浓度鼠李糖脂、高浓度EDDS、共同施加高浓度鼠李糖脂和EDDS均显著增加了土壤脲酶和脱氢酶活性。鼠李糖脂和EDDS在土壤中易降解,对环境风险小。

参考文献:

- [1] Nalini P, Sharma C P. Effect of heavy metal Co^{2+} , Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage[J]. *Plant Science*, 2002, 163:753-758.
- [2] Kulli B, Balmer M, Krebs R, et al. The influence of nitrilotriacetate on heavy metal uptake of lettuce and ryegrass[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1999(28):1699-1705.
- [3] 陈玉成,董姗姗,熊治廷.表面活性剂与EDTA对雪菜吸收镉的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2004, 10:651-656.
CHEN Yu-cheng, DONG Shan-yan, XIONG Zhi-ting. Effect of surfactants and EDTA on cadmium bioaccumulation by *Brassica juncea* var. *multiceps*[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2004, 10:651-656.
- [4] 吴虹,汪薇,韩双艳.鼠李糖脂生物表面活性剂的研究进展[J]. 微生物学通报, 2007, 34(1):148-152.
WU Hong, WANG Wei, HAN Shuang-yan. Recent progress on rhamnolipid biosurfactant[J]. *Microbiology*, 2007, 34(1):148-152.
- [5] 王莉玮,陈玉成,董姗姗.表面活性剂与螯合剂对植物吸收Cd及Cu的影响[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2004, 26(6):745-749.
WANG Li-wei, CHEN Yu-cheng, DONG Shan-yan. Effects of surfactants and chelators on Cd and Cu uptake by corn and mustard[J]. *Jour-*

- nal of Southwest Agricultural University (Natural Science), 2004, 26 (6): 745-749.
- [6] Stacey S P, McLaughlin M J, Cakmak I, et al. Root uptake of lipophilic zinc-rhamnolipid complexes[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56: 2112-2117.
- [7] Neilson J W, Artiola J F, Maier R M. Characterization of lead removal from contaminated soils by non-toxic soil washing agents[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2003, 32: 899-908.
- [8] 钱 猛, 沈振国, 魏 岚. 螯合剂 EDDS 和 EDTA 诱导海州香薷积累土壤重金属的比较研究[J]. *农业环境科学学报*, 2006, 25(1): 113-118.
- QIAN Meng, SHEN Zhen-guo, WEI Lan. Comparison of EDDS- and EDTA-assisted uptake of heavy metals by *elsholtzia haichowensis* [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(1): 113-118.
- [9] 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[J]. *土壤*, 2006, 38(5): 619-625.
- SONG Jing, ZHONG Ji-cheng, WU Long-hua, et al. Chelate-induced extraction and remediation of brassicajuncea on heavy metals mixpolluted soil by EDTA and EDDS[J]. *Soil*, 2006, 38(5): 619-625.
- [10] Juwarkar A A, Nair A, Dubey K V, et al. Biosurfactant technology for remediation of cadmium and lead contaminated soils[J]. *Chemosphere*, 2007, 68: 1996-2002.
- [11] Torrens J L, Herman D C, Miller-Maier R M. Biosurfactant (Rhamnolipid) sorption and the impact on rhamnolipid-facilitated removal of cadmium from various soils under saturated flow conditions[J]. *Environ Sci Technol*, 1998, 32: 776-781.
- [12] 罗小三, 仓 龙, 郝秀珍, 等. 原位土壤溶液采样及可溶性有机碳(DOC)的紫外吸收光谱直接测定探讨[J]. *土壤*, 2007, 39(6): 943-947.
- LUO Xiao-san, CANG Long, HAO Xiu-zhen, et al. In-situ sampling of soil solution and determination of dissolved organic carbon(DOC) with UV absorption method(UVA254)[J]. *Soil*, 2007, 39(6): 943-947.
- [13] Zhou D M, Hao X Z, Wang Y J, et al. Copper and Zn uptake by radish and pakchoi as affected by application of livestock and poultry manures[J]. *Chemosphere*, 2005, 59: 167-175.
- [14] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1987: 294-332.
- GUAN Song-yin. Soil enzyme and its research methods[M]. Beijing: Agricultural Press, 1987: 294-332.
- [15] Susan T, Rainer S, Bernd N. The influence of EDDS on the uptake of heavy metal in hydroponically grown sunflowers[J]. *Chemosphere*, 2006, 62: 1454-1463.
- [16] 罗立新, 孙铁珩. Cd 和表面活性剂复合污染对小麦叶片若干生理性状的影响[J]. *应用生态学报*, 1998, 9(1): 95-100.
- LUO Li-xin, SUN Tie-heng. Effect of cadmium-surfactant combined pollution on physiological characteristics of wheat leaf[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1998, 9(1): 95-100.
- [17] 栾 升, 倪晋山. 表面活性剂和 Ca^{2+} 对大麦根质膜透性的作用[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 1987, 13(2): 168-173.
- LUAN Sheng, NI Jin-shan. Effects of surfactants and Ca^{2+} on membrane permeability of barley roots[J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 1987, 13(2): 168-173.
- [18] Mulligan C N, Yong R N, Gibbs B F. Heavy metal removal from sediments by biosurfactants[J]. *Journal of Hazardous Material*, 2001(85): 111-125.
- [19] Doong R A, Wu Y W, Lei W G. Surfactant enhanced remediation of cadmium contaminated soils[J]. *Water Science and Technology*, 1998, 37(8): 65-71.
- [20] Meers E, Ruttens A, Hopgood M J, et al. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metal[J]. *Chemosphere*, 2005, 58: 1001-1022.
- [21] Maier R M, Soberon-chavez G. *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids: biosynthesis and potential environmental applications[J]. *Applied Microbiol and Biotechnol*, 2000, 54: 625-633.
- [22] 郭继勋, 姜世成, 林海俊. 不同草原植被碱化草甸土的酶活性[J]. *应用生态学报*, 1997, 8(4): 412-416.
- GUO Ji-xun, JIANG Shi-cheng, LIN Hai-jun. Enzymic activity of alkaline meadow soil with different grass and vegetations[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1997, 8(4): 412-416.
- [23] 万忠梅, 吴景贵. 土壤酶活性影响因子研究进展 [J]. *西北农林科技大学学报*, 2005, 33(6): 87-91.
- WAN Zhong-mei, WU Jing-gui. Study progress on factors affecting soil enzyme activity[J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry*, 2005, 33(6): 87-91.
- [24] Alessia C, Alessandra C, Tiziana L, et al. Effect of biodegradable chelating agents on heavy metals phytoextraction with *Mirabilis jalapa* and on its associated bacteria[J]. *European journal of soil biology*, 2007, 43: 200-206.
- [25] Kos B, Lestan D. Influence of a biodegradable([S, S]-EDDS) and non degradable(EDTA) chelate and hydrogen modified soil water sorption capacity on Pb phytoextraction and leaching[J]. *Plant Soil*, 2003, 253: 403-411.