

DOI: 10.5846/stxb201806071286

陈红纯, 吴科君, 李瑞, 王婷, 周翠, 马文超, 魏虹. 外源有机酸对镉胁迫下秋华柳镉积累特征的影响. 生态学报, 2019, 39(12): - .

Chen H C, Wu K J, Li R, Wang T, Zhou C, Ma W C, Wei H. Effects of exogenous organic acids on the characteristics of Cd accumulation of *Salix variegata* under Cd stress. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(12): - .

外源有机酸对镉胁迫下秋华柳镉积累特征的影响

陈红纯¹, 吴科君¹, 李 瑞¹, 王 婷¹, 周 翠¹, 马文超², 魏 虹^{1,*}

1 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆市三峡库区植物生态与资源重点实验室, 西南大学生命科学学院, 重庆 400715

2 攀枝花市旅游局, 攀枝花 617000

摘要:为探究外源有机酸在加强秋华柳(*Salix variegata* Franch.) 镉积累效率中的应用潜力, 采用营养液培养方法, 研究了 5 种 100 $\mu\text{mol/L}$ 外源有机酸(草酸、柠檬酸、酒石酸、苹果酸和琥珀酸)对 50 $\mu\text{mol/L}$ Cd 胁迫下秋华柳生长适应性及 Cd 积累特征的影响, 并通过化学平衡程序 VISUAL MINTEQ v3.0 计算溶液中不同化学形态 Cd(游离态和螯合态 Cd)的含量。结果表明:柠檬酸、酒石酸、苹果酸和琥珀酸的添加有效缓解了 Cd 对秋华柳的毒害, 明显促进了秋华柳的生长。除草酸处理组外, 其余 4 个有机酸处理组培养液中游离 Cd^{2+} 含量均得到较大提升, 显著促进了秋华柳对 Cd 的吸收。柠檬酸、酒石酸、琥珀酸和苹果酸的添加显著提高了秋华柳植株的 Cd 积累量, 分别是未加入有机酸 Cd 处理组的 210%、190%、190% 和 178%。外源有机酸的施加提高了介质中游离 Cd^{2+} 的含量, 并通过与重金属的络合等作用提升了植株对 Cd 的吸收和积累能力。但不同有机酸对秋华柳 Cd 积累特征的影响差异明显, 柠檬酸加入后通过提高秋华柳根生物量和根中 Cd 含量, 显著增加了根系 Cd 积累量; 酒石酸、苹果酸和琥珀酸的应用则明显提高了秋华柳地上部分 Cd 积累量。因此, 外源酒石酸、琥珀酸和苹果酸的应用可提高秋华柳地上部分的 Cd 积累效率, 更有利于对 Cd 污染土壤的修复。

关键词:有机酸; Cd 污染; 秋华柳; 植物修复; Cd 积累特征

Effects of exogenous organic acids on the characteristics of Cd accumulation of *Salix variegata* under Cd stress

CHEN Hongchun¹, WU Kejun¹, LI Rui¹, WANG Ting¹, ZHOU Cui¹, MA Wenchao², WEI Hong^{1,*}

1 Key Laboratory of Eco-environments in Three Gorges Reservoir Region (Ministry of Education), Chongqing Key Laboratory of Plant Ecology and Resources Research in Three Gorges Reservoir Region, School of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

2 Panzhihua Tourism Bureau, Panzhihua 617000, China

Abstract: Cadmium (Cd) is characterized as being highly toxic to human health, and its accumulation in plants may exert a health risk for humans through food chain. Phytoextraction is a way for plants to transfer heavy metals from soils to the harvestable parts, which is considered to be an environment-friendly and inexpensive technology for the remediation of metal-contaminated soils. Chelate-induced phytoextraction reduced by organic acids can be used to enhance metal uptake and translocation in plants. To explore the application potential of exogenous organic acids in accelerating Cd accumulation efficiency in *Salix variegata* Franch., a nutrient culture experiment was conducted to detect the effects of five exogenous organic acids (oxalic acid, citric acid, tartaric acid, malic acid, and succinic acid) with the concentration of 100 $\mu\text{mol/L}$ on the growth adaptability and Cd accumulation of *S. variegata* under 50 $\mu\text{mol/L}$ Cd stress. The contents of different Cd

基金项目:国家十三五重点研发计划(2017YFC0505305); 国家国际科技合作专项(2015DFA90900); 三峡后续工作库区生态与生物多样性保护专项项目(5000002013BB5200002); 中央财政林业科技推广示范资金项目(20170183)

收稿日期: 2018-06-07; 网络出版日期: 2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: weihong@swu.edu.cn

speciation (free and chelated Cd) in the solution were calculated by the chemical equilibrium program VISUAL MINTEQ v3.0. The results showed that the addition of citric acid, tartaric acid, malic acid, and succinic acid effectively alleviated the toxicity of Cd stress on *S. variegata*, and significantly improved its growth. Except for the oxalic acid-treated group, the free Cd²⁺ was greatly increased, which significantly promoted the absorption of Cd in *S. variegata*. The addition of citric acid, tartaric acid, malic acid, and succinic acid significantly increased Cd accumulation rates in *S. variegata* plants, which were 210%, 190%, 178%, and 190%, respectively compared with that of the CK group. The application of exogenous organic acid increased the content of free Cd²⁺ in the culture and enhanced the ability of plants to absorb and accumulate Cd through complexation with heavy metals. However, the effects of different organic acids on the Cd accumulation characteristics of *S. variegata* were obvious. The addition of citric acid increased the root biomass and Cd content of roots significantly, whereas the application of tartaric acid, malic acid, and succinic acid increased aboveground Cd accumulation of *S. variegata*. In summary, the application of exogenous tartaric acid, succinic acid, and malic acid can improve the Cd accumulation efficiency of the aboveground parts of *S. variegata*, which will be beneficial to the phytoremediation of Cd-contaminated soil.

Key Words: organic acid; cadmium contamination; *Salix variegata*; phytoremediation; cadmium accumulation characteristics

镉(Cd, cadmium)是一种高毒性、非生物必需的致癌元素^[1],在土壤中天然存在,但是由于矿山开采、废水排放、磷肥的大量使用以及城市交通等人为活动导致环境中的Cd含量明显增加,引起严重的环境问题^[2]。Cd进入植物体后将引起一系列的生理和生化障碍,包括光合结构的损伤、氧化应激的启动、营养吸收和碳水化合物代谢紊乱等,从而导致植物生长受阻、生物量降低^[3-4]。环境中的Cd通过植物吸收富集进入食物链后,将对人类健康造成危害^[5]。因此,重金属污染土壤的治理与修复成为近年来生态修复研究领域的重要内容之一。

众多修复技术中,植物修复技术具有经济、美观和适用性广等特点,在土壤重金属污染修复领域得到广泛关注^[6]。植物修复技术(phytoremediation)是通过利用适应性好、抗逆性强的植物吸收、分解、转化或固定土壤中的重金属,达到降低污染物浓度,提高土壤安全性目的的重金属污染修复技术^[7]。然而,随着研究工作的不断深入,结果显示土壤中重金属的生物有效性通常较低,以及大多数重金属超积累植物生长缓慢、生物量小,从而在很大程度上限制了重金属污染土壤植物修复技术的应用与发展^[8-9]。近年来有研究者提出,“螯合—诱导”植物修复技术(chelate-induced phytoremediation)的应用将有助于克服这个障碍^[10]。与合成螯合剂相比,天然低分子量有机酸(natural low molecular weight organic acids, NLMWOAs)如柠檬酸、草酸、酒石酸、苹果酸和琥珀酸等作为植物体重要代谢物,不仅是植物根系分泌物和微生物分泌物的重要组成,同时也是植物和动物残渣在土壤中分解的自然产物,具有高降解性、低毒性的特点,更符合环境友好性的要求^[11]。有机酸可通过促进金属离子解吸附作用及与金属离子形成可溶性的络合物,增加介质中重金属的溶解度和生物利用度,从而加强植物对重金属的吸收^[12]。此外,有机酸作为植物体内重要的金属配位体,还将参与重金属的吸收、运输、贮存和解毒等生理代谢过程^[13]。研究发现,外源有机酸如草酸、柠檬酸的加入可以缓解重金属对植物的毒害,增加植物对重金属胁迫的耐性,提高重金属积累量等^[14]。有机酸对重金属活化以及植物积累重金属的影响为植物修复技术开辟了一条新的途径^[15]。但随目标金属和工程物种种类的不同,不同有机酸对植物修复的作用效果也存在较大差异^[16]。

秋华柳(*Salix variegata*)是杨柳科(Salicaceae)柳属(*Salix* L.)多年生灌木,生长速率快,繁殖能力强,具有较好的Cd耐性与Cd富集能力,在Cd污染土壤的植物修复工程中有广泛的应用前景^[17-19]。前期研究结果发现,Cd胁迫下,草酸、酒石酸和琥珀酸等低分子量有机酸是秋华柳根系分泌物中有机酸的主要成分,对保持植株正常生理功能有重要作用^[20]。联合低分子量外源有机酸的使用,是否可进一步促进秋华柳的生长及其Cd积

累效率? 本研究通过营养液培养,探究 5 种常见低分子量外源有机酸的添加对 Cd 胁迫下秋华柳的生长适应性及 Cd 积累特征的影响,为推动植物修复技术的应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2016 年 11 月 7 日,从重庆市嘉陵江同兴街段河岸(29°41'2"N,106°26'56"E)采集一年生秋华柳实生幼苗,移栽入西南大学生态园适应性培养后作为研究对象,期间采用常规田间管理,适时浇水除草。

1.2 试验设计

2017 年 6 月 2 日,选取长势良好并一致的幼苗(株高约 25 cm、基茎约 4 cm)转移至光照培养室,使用 1/2 Hoagland 改良营养液进行培养。培养容器为 18 cm(上口径)×16 cm(高)的花盆,每盆量取 1.7 L 营养液。培养室昼夜温度分别控制在 25℃ 和 20℃,每天光照 16 h,光强为 5000 lx。

预培养一周后随机分组,进行 Cd 和有机酸(草酸、柠檬酸、酒石酸、苹果酸和琥珀酸)的处理。Cd 浓度为 50 μmol/L,各有机酸浓度均为 100 μmol/L,设置 7 个处理(表 1)。所有处理均 6 个重复。其中,Cd 以 CdCl₂·2.5H₂O 的水溶液加入,各有机酸均以纯酸的水溶液加入,并测定各处理组培养液 pH 值。

培养 4 周后收获并进行分析测定,培养期间,保持水培箱内 24 h 持续曝气。

表 1 实验设计
Table 1 Experimental design

处理组 Treatment group	Cd 浓度/(μmol/L) Cd concentration	有机酸种类 Organic acids sort	有机酸浓度/(μmol/L) Organic acids concentration
对照组 Control treatment (CK)	0	—	—
镉添加组 Cadmium treatment (Cd)	50	—	—
Cd+草酸 Cadmium+oxalic acid treatment	50	草酸	100
Cd+柠檬酸 Cadmium+citric acid treatment	50	柠檬酸	100
Cd+酒石酸 Cadmium+tartaric acid treatment	50	酒石酸	100
Cd+苹果酸 Cadmium+malic acid treatment	50	苹果酸	100
Cd+琥珀酸 Cadmium+amber acid treatment	50	琥珀酸	100

1.3 溶液中金属离子形态的分布

用化学平衡程序 VISUAL MINTEQ v.3.0 计算溶液中金属离子的形态^[21]。

1.4 测试指标及方法

1.4.1 生物量的测定

处理 4 周后将样品采回,用超纯水冲洗干净,根部用 20 mmol/L EDTA—Na₂ 浸泡 5 min 后,迅速用超纯水冲洗干净。各植株样品分为根、茎和叶 3 部分,分装好后放置于通风烘箱中 80 ℃ 下烘干至恒重,用电子天平称量各部分生物量。

1.4.2 植株各组分 Cd 含量的测定

用球磨仪对烘干的各样品进行粉碎后,称取粉状样品 0.05 g 加入 HNO₃(6 mL)—H₂O₂(2 mL)消解液在微波消解仪(SpeedWave SW-4)中进行消解,用超纯水定容至 50 mL,采用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES,ThermoFisher iCAP6300,UK)测定 Cd 含量。

1.5 数据分析

植株各组分 Cd 积累量=植株各组分生物量×相应 Cd 含量。

根—地上部分 Cd 转移系数=地上部分 Cd 含量/根中 Cd 含量

地上部分富集系数=地上部分 Cd 含量/介质中 Cd 含量^[22]

利用 SPSS 22.0 软件采用单因素方差分析(One—Way ANOVA)和 Tukey's 多重比较分析不同有机酸处理

对 Cd 胁迫下秋华柳生物量及 Cd 积累的影响差异。利用软件 Origin 8.5 绘图, Microsoft word 制表。

2 结果与分析

2.1 溶液中金属离子形态的分布

金属离子在溶液中以游离离子或作为络合物存在, 取决于金属配体的浓度和种类以及溶液 pH^[23]。在本研究中, 金属离子溶液和配体溶液以 1:2 的比例在营养液中进行配置, 测定溶液酸碱度, Cd 处理组 pH 值为 6, 各添加有机酸的处理组中, pH 值明显降低(表 2)。使用 VISUAL MINTEQ v.3.0 预测 Cd 在营养液中的形态发现, 低浓度有机酸(100 $\mu\text{mol/L}$)处理下, 只有少部分 Cd 与有机酸形成 Cd—有机酸复合物, 约 5.6% 的 Cd^{2+} 与草酸结合, 与柠檬酸、酒石酸和苹果酸结合的 Cd^{2+} 分别占 1.42%、0.9% 和 1.62%, 与琥珀酸结合的 Cd^{2+} 比例最少, 约为 0.24%; 但有机酸的加入均增加了游离 Cd^{2+} 的比例, 其中琥珀酸的加入使游离 Cd^{2+} 得到最大提高, 草酸处理对 Cd^{2+} 的增加影响最小(表 2)。

表 2 Cd 在不同有机酸溶液中的形态
Table 2 Speciation of Cd in different organic acids solutions

处理组 Treatment group	溶液 pH Solution pH	Cd^{2+} 浓度 Cd ²⁺ concentration/ ($\mu\text{mol/L}$)	Cd—有机酸复合物浓度 Cd-organic acid complex concentration/($\mu\text{mol/L}$)	其他形态 Cd 浓度 Other forms of Cd concentration/($\mu\text{mol/L}$)
Cd Cadmium treatment	6.00	44.8(89.6%)	—	5.2(10.4%)
Cd+草酸 Cadmium+oxalic acid treatment	4.09	45.4(90.8%)	2.8(5.6%)	1.8(3.6%)
Cd+柠檬酸 Cadmium+citric acid treatment	4.18	47.4(94.8%)	0.71(1.42%)	1.89(3.78%)
Cd+酒石酸 Cadmium+tartaric acid treatment	4.32	48.1(96.2%)	0.45(0.9%)	1.45(2.9%)
Cd+苹果酸 Cadmium+malic acid treatment	4.51	47.7(95.4%)	0.81(1.62%)	1.49(2.98%)
Cd+琥珀酸 Cadmium+amber acid treatment	4.57	48.3(96.6%)	0.12(0.24%)	1.58(3.16%)

括号内的数值是不同形态 Cd 占总 Cd 含量的百分比

2.2 有机酸对 Cd 胁迫下秋华柳生长的影响

图 1 呈现了各处理下秋华柳根、茎、叶及总生物量的变化。与对照相比, Cd 胁迫显著降低秋华柳根、茎生物量及总生物量, 对植株生长产生明显的抑制作用。

柠檬酸、酒石酸、苹果酸和琥珀酸的加入则明显缓解了 Cd 对秋华柳生长的毒害, 促进了秋华柳生物量的积累。总体来看, 苹果酸的添加使秋华柳生物量的促进作用最为明显, 琥珀酸次之。草酸的添加则没有解除 Cd 胁迫对植株的毒害和生长抑制, 各生物量指标均低于对照处理, 与 Cd 处理植株生物量间没有明显差异。

比较各处理对秋华柳各器官生物量的影响, 结果表明, 外源有机酸的添加更有利于植株根、茎的生长。与 Cd 胁迫下秋华柳植株相比, 柠檬酸、酒石酸、苹果酸和琥珀酸的加入使根和茎生物量分别提高了 61%、55%、101%、76% 和 56%、95%、141%、87%。

2.3 有机酸对 Cd 胁迫下秋华柳各器官 Cd 含量及转移系数的影响

Cd 胁迫下, 有机酸添加对秋华柳各器官 Cd 含量的影响如图 2 所示。秋华柳对 Cd 的积累主要集中在根部, 根系中 Cd 含量远高于茎和叶中含量。柠檬酸、琥珀酸、苹果酸和酒石酸的添加分别在不同程度促进了秋华柳各器官 Cd 含量的提升, 草酸的添加则对提高秋华柳各器官中 Cd 含量没有显著效果。

与 Cd 处理组相比, 柠檬酸的加入明显提高了秋华柳根系 Cd 含量, 琥珀酸的加入使茎中 Cd 含量提高了 20%; 苹果酸的加入使叶中 Cd 含量提高了 36%; 酒石酸的加入则显著提升了秋华柳地上及地下部分 Cd 含量, 根、茎、叶中 Cd 含量分别为 Cd 胁迫对照处理组的 119%、118% 和 182%(图 2)。

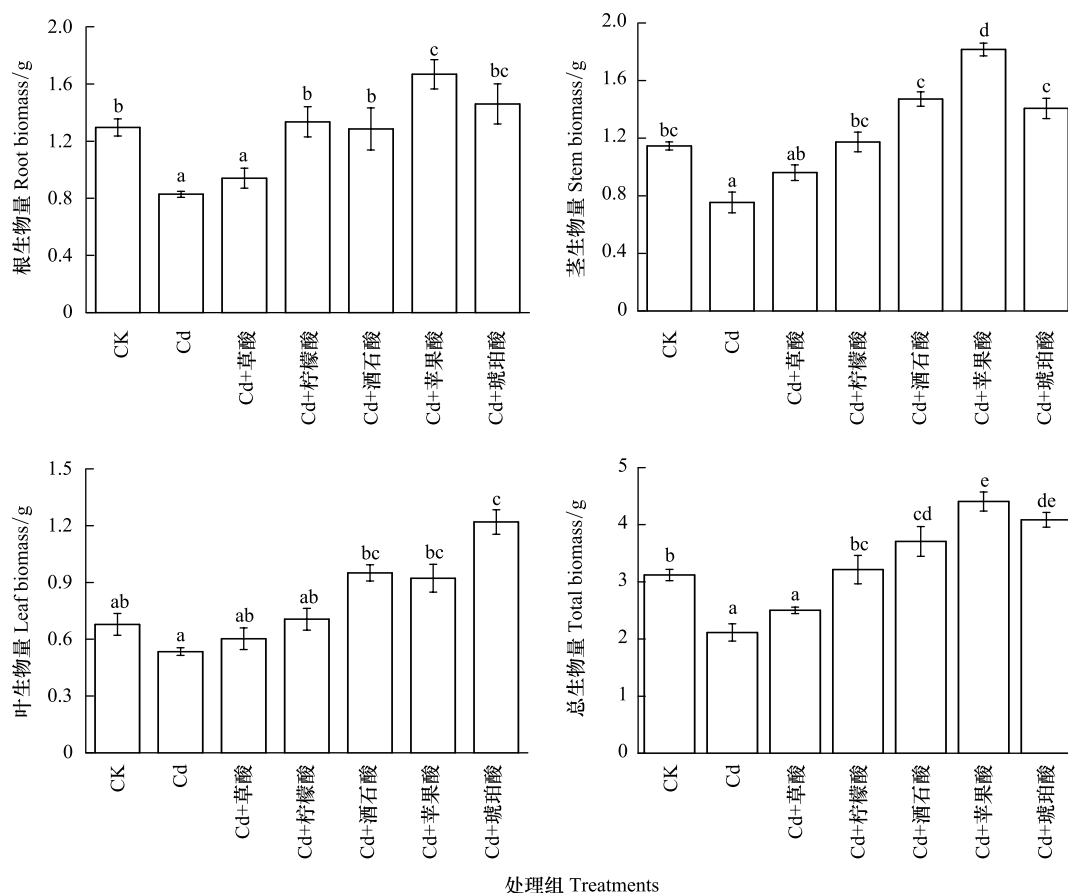


图 1 外源有机酸对 Cd 胁迫下秋华柳生物量的影响

Fig.1 Effects of organic acids on the biomass of *S.variegata* under Cd Stress不同小写字母分别表示各处理之间有显著差异 ($\alpha=0.05$)

与 Cd 处理组相比,秋华柳根—地上部分 Cd 转移系数在加入有机酸后没有显著变化。地上部分 Cd 富集系数在加入酒石酸后得到显著提升(图 2)。

2.4 有机酸对 Cd 胁迫下秋华柳 Cd 积累量的影响

综合考虑秋华柳生物量和 Cd 含量,Cd 环境中加入柠檬酸、酒石酸、琥珀酸和苹果酸后,秋华柳植株中 Cd 积累量得到显著提升,分别是未加入有机酸 Cd 处理组的 210%、190%、190%和 178%;草酸的添加未对秋华柳植株 Cd 积累量产生显著影响(表 3)。

秋华柳各器官 Cd 积累量依次为根>茎>叶,大部分 Cd 被保留在根中。柠檬酸、酒石酸、苹果酸和琥珀酸的添加均显著提高了秋华柳根中 Cd 积累量,分别是未加入有机酸 Cd 处理组的 222%、183%、178%、185%。柠檬酸对提高秋华柳根中 Cd 积累的作用最为明显,但对于茎和叶中 Cd 积累量则没有明显的提升效果。酒石酸、琥珀酸和苹果酸的加入则显著促进了秋华柳地上部分的 Cd 积累量。

3 讨论

环境中的 Cd 被植物吸收后,植物体内游离的 Cd 离子将通过干扰矿物吸收、植物水分关系、氧化代谢和光合作用等生理过程阻碍植物的生长^[24],植物生物量可以直接指示重金属对植物的毒害程度^[25]。本研究结果表明,Cd 胁迫显著降低了秋华柳生物量,外源有机酸的添加则在不同程度上缓解了 Cd 对植株生长的抑制。其中,苹果酸对秋华柳生物量积累的促进作用最为显著,草酸无明显改善。

有机酸在植物对重金属的耐受、运输和储存以及在植物维持细胞稳态方面发挥着关键作用^[26]。低分子

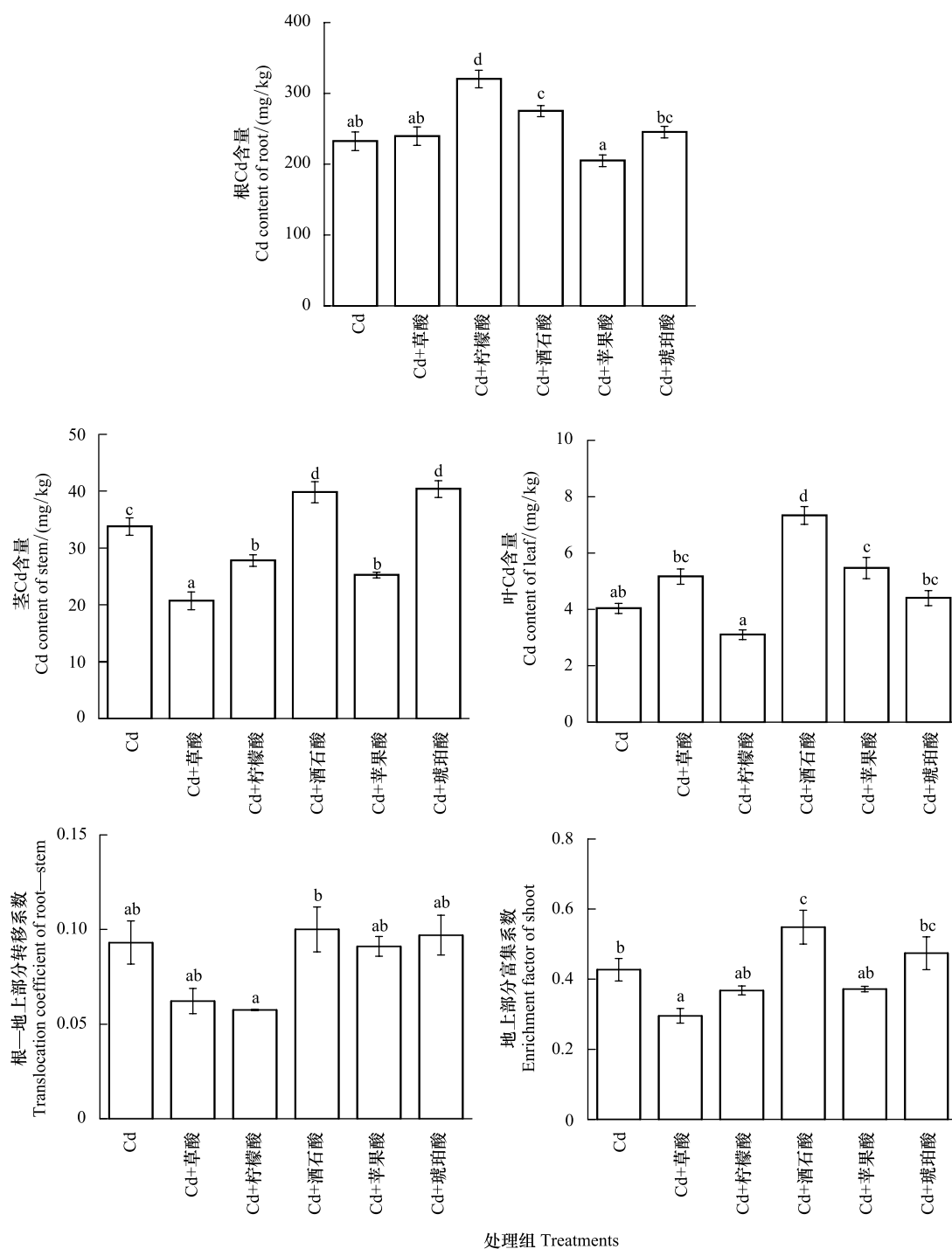


图2 外源有机酸对Cd胁迫下秋华柳各器官Cd含量、Cd转移系数及地上部分Cd富集系数的影响

Fig.2 Effect of organic acids on content of Cd in each organ, Cd translocation coefficient and enrichment of *S.variegata* under Cd Stress

量有机酸可通过与Cd进行螯合,改变Cd在植物体内的赋存形态,使其由高毒性的自由离子形式向低毒性的Cd—有机酸复合物形式转化,缓解植物受到的毒害^[27-28]。本研究,柠檬酸、酒石酸、苹果酸和琥珀酸的加入显著缓解了Cd对秋华柳的毒害,与An等人报道的结果一致^[29-30]。在低分子量有机酸对重金属的解毒中,目前普遍认可的机制是有机酸在细胞内与重金属发生络合作用,并把重金属隔离在液泡中从而缓解重金属对植物的毒害^[31],本研究中各有机酸的添加对缓解秋华柳Cd毒害效果的差异可能与其螯合Cd时的配体亲和力有关。外源低分子量有机酸缓解重金属对植物毒害,促进植物生长能力的差异与其在植物生理代谢过程中所

扮演的角色有密切关系。有研究表明,有机酸可通过缓解重金属所诱导的氧化应激,保护细胞结构完整,维持细胞正常生理活动,减轻植物受到的毒害作用^[32]。Guo 等^[33]发现,Cd 胁迫下,苹果酸的加入进一步增强了部分抗氧化酶的活性和基因表达,通过 *Miscanthus sacchariflorus* 体内酶和非酶抗氧化剂的调节来缓解 Cd 对植物的毒害和氧化损伤。Cd 胁迫下柠檬酸的加入可通过调节植物叶片中光合色素合成和分解相关酶基因的表达,增加叶片中光合色素含量,提高植物光合作用能力^[34]。同时,有机酸对植物营养代谢也有着重要意义,如 Schulze 等人发现 *alfalfa* 中苹果酸的分泌有助于植物体对 N 和 P 等营养物质的获取,这可能也是本研究中苹果酸处理组生物量明显提升的原因之一^[35]。本研究结果表明,草酸的添加对秋华柳生物量没有显著影响,可能是由于在较低 pH 环境下,植物 pH 恒稳态遭到破坏,细胞的代谢活动、DNA 复制和细胞分裂等过程受到影响^[36-37]。

表 3 有机酸对 Cd 胁迫下秋华柳 Cd 积累量的影响 (μg 平均值 $\pm$ 标准误)
Table 3 Effects of organic acids on Cd accumulation of *S. variegata* under Cd Stress

处理 Treatments	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	整株 Total plant
Cd				
Cadmium treatment	191.85 $\pm$ 6.38a	25.76 $\pm$ 4.85a	2.15 $\pm$ 0.04a	219.76 $\pm$ 4.21a
Cd+草酸 Cadmium+oxalic acid treatment	223.45 $\pm$ 4.30a	20.00 $\pm$ 2.38a	3.11 $\pm$ 0.30ab	246.56 $\pm$ 4.64a
Cd+柠檬酸 Cadmium+citric acid treatment	425.85 $\pm$ 24.6c	32.43 $\pm$ 5.85ab	2.19 $\pm$ 0.33a	460.47 $\pm$ 18.53c
Cd+酒石酸 Cadmium+tartaric acid treatment	351.06 $\pm$ 31.5b	58.70 $\pm$ 4.25c	6.84 $\pm$ 1.33c	416.60 $\pm$ 34.05bc
Cd+苹果酸 Cadmium+malic acid treatment	340.85 $\pm$ 18.43b	45.78 $\pm$ 0.36bc	5.02 $\pm$ 0.63bc	391.65 $\pm$ 19.32b
Cd+琥珀酸 Cadmium+amber acid treatment	355.81 $\pm$ 22.36b	56.93 $\pm$ 6.43c	5.30 $\pm$ 0.34c	418.05 $\pm$ 21.21bc

不同小写字母分别表示各处理之间有显著差异 ($\alpha=0.05$)

研究金属在植物体内的积累和迁移机制,对提高植物修复效率具有重要意义。秋华柳根部作为 Cd 进入植物的主要部位,与茎和叶相比,根中 Cd 含量更高,是减轻植物地上组织尤其是叶片受 Cd 毒害的自然保护反应^[38]。柠檬酸的添加显著提升了秋华柳根对 Cd 的吸收和固定能力,酒石酸、琥珀酸和苹果酸则显著提升了秋华柳地上部分的 Cd 含量。Chen 等人认为,有机酸提高植物对 Cd 的吸收归因于有机酸的施加使溶液 pH 降低,酸性环境中 H^+ 浓度较高,金属离子更易释放从而增加了金属的迁移率^[39]。这与本研究中通过 VISUAL MINTEQ v.3.0 预测的结果一致,有机酸的加入除了形成 Cd—有机酸复合物,也提高了介质中游离 Cd^{2+} 的含量。草酸处理组形成了最大浓度的 Cd—有机酸复合物,而游离 Cd^{2+} 含量只有较小提升,这是否是造成草酸处理组秋华柳 Cd 含量没有显著提升的主要原因还有待进一步验证。此外,植物 Cd 含量的提升可能与有机酸络合重金属的能力具有更为密切的关系,如对促进秋华柳根部 Cd 吸收具有显著作用效果的柠檬酸具有成对的 OH/COOH 依附在两个相邻的碳原子上,能与重金属形成较为稳定的五元环状结构^[40]。而草酸在植物体内多以草酸盐的形式存在,游离态的草酸与 Ca 等离子的优先结合可能也是草酸处理组秋华柳体内 Cd 含量没有显著提升的原因之一^[41-42]。植物体积累的 Cd 超过其所能承受的阈值后将导致植物代谢紊乱,乃至死亡^[43]。本研究中秋华柳根中 Cd 浓度最高达 320 mg/kg,但其生长并未受到负面影响,各器官生物量均与对照组达到相同水平。一方面体现出有机酸在秋华柳解 Cd 毒和储存 Cd 过程中的重要性,另一方面也体现出秋华柳具有较强的 Cd 耐性以及吸收富集 Cd 方面较好的调节能力。

大部分 Cd 存留于根系中,秋华柳根中 Cd 向地上部分的转移系数仍处于较低水平。有研究报道柠檬酸在重金属的木质部负载中起着重要作用,可以提高重金属从根向地上部分的转运^[44-45]。本研究结果则显示,在柠檬酸的作用下,秋华柳将 Cd 固定在根中的能力被加强,减少了 Cd 向地上部分的转移。酒石酸的加入显著提升了地上部分 Cd 富集系数,我们前期的研究也发现,酒石酸是 Cd 胁迫下秋华柳根系分泌物的主要成分

之一,推测酒石酸在秋华柳体内重金属解毒、积累、转运过程中都起着重要作用。

植物修复的重点应该放在地上部分从土壤中去掉的污染物总量上^[22,46]。对秋华柳的重金属积累量进行定量分析,结果表明,柠檬酸、酒石酸、苹果酸和琥珀酸的加入对秋华柳 Cd 积累总量的提升有显著效果。其中,柠檬酸加入后通过对秋华柳根生物量和根中 Cd 含量的提升,使根中 Cd 积累量显著增加;酒石酸、琥珀酸和苹果酸的应用使秋华柳各器官中 Cd 积累量都得到显著增加,有利于秋华柳对 Cd 污染土壤修复效率的提高。其中,苹果酸主要通过提升秋华柳各器官生物量使其 Cd 积累量得到增加,酒石酸和琥珀酸对秋华柳各器官生物量和 Cd 含量均有所提升,酒石酸对秋华柳 Cd 吸收能力的促进作用大于琥珀酸。

4 结论

(1) Cd 胁迫显著降低了秋华柳生物量,柠檬酸、酒石酸、苹果酸和琥珀酸的添加有效缓解了 Cd 对秋华柳的毒害,使秋华柳生长得到显著提高。其中,苹果酸对秋华柳生物量积累的促进作用最为显著。

(2) 加入有机酸后,除草酸处理组外,其余处理组中游离 Cd²⁺ 含量均得到较大提升,有利于秋华柳对 Cd 的吸收。柠檬酸的加入提高了秋华柳根中 Cd 含量;琥珀酸和苹果酸的加入分别使秋华柳茎和叶中 Cd 含量显著提升;酒石酸的加入则对增加秋华柳各器官中的 Cd 含量均有明显效果,地上部分富集系数也得到显著提升。

(3) 柠檬酸、酒石酸、苹果酸和琥珀酸的加入对秋华柳 Cd 积累总量的提升有显著效果。酒石酸、琥珀酸和苹果酸的应用可增加秋华柳地上部分 Cd 积累量,可有效提高秋华柳对 Cd 污染土壤的修复效率。

参考文献 (References):

- [1] Alloway B J. Heavy Metals in Soils. Glasgow, Scotland: Blackie Academic and Professional Publication, 1995, 122-127.
- [2] He S Y, He Z L, Yang X E, Stoffella P J, Baligar V C. Soil Biogeochemistry, plant Physiology, and phytoremediation of cadmium-contaminated soils. *Advances in Agronomy*, 2015, 134: 135-225.
- [3] Gill S S, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010, 48(12): 909-930.
- [4] Dias M C, Monteiro C, Moutinho-Pereira J, Correia C, Gonçalves B, Santos C. Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2013, 35(4): 1281-1289.
- [5] Neugschwandtner R W, Tlustoš P, Komárek M, Széková J. Phytoextraction of Pb and Cd from a contaminated agricultural soil using different EDTA application regimes: Laboratory versus field scale measures of efficiency. *Geoderma*, 2008, 144(3/4): 446-454.
- [6] Mahar A, Wang P, Ali A, Awasthi M K, Lahori A H, Wang Q, Li R H, Zhang Z Q. Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, 126: 111-121.
- [7] Marques A P G C, Rangel A O S S, Castro P M L. Remediation of heavy metal contaminated soils: phytoremediation as a potentially promising clean-up technology. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2009, 39(8): 622-654.
- [8] Persans M W, Salt D E. Possible molecular mechanisms involved in nickel, zinc and selenium hyperaccumulation in plants. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 2000, 17(1): 389-413.
- [9] 骆永明. 强化植物修复的螯合诱导技术及其环境风险. *土壤*, 2000, (2): 57-61, 74-74.
- [10] Evangelou M W H, Ebel M, Schaeffer A. Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity, and fate of chelating agents. *Chemosphere*, 2007, 68(6): 989-1003.
- [11] Do Nascimento C W, Amarasiriwardena D, Xing B S. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. *Environmental Pollution*, 2006, 140(1): 114-123.
- [12] Wuana R A, Okieimen F E, Imborvungu J A. Removal of heavy metals from a contaminated soil using organic chelating acids. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 2010, 7(3): 485-496.
- [13] Ma J F, Ryan P R, Delhaize E. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. *Trends in Plant Science*, 2001, 6(6): 273-278.
- [14] 刘宛茹, 张磊, 杨惟薇, 黎晓峰, 潘丽萍, 李强, 张超兰. 外源有机酸对红蛋植物吸收和转运镉的影响. *土壤通报*, 2014, 45(1): 205-209.
- [15] Kim S H, Lee I S. Comparison of the ability of organic acids and EDTA to enhance the phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2010, 84(2): 255-259.
- [16] 梁彦秋, 潘伟, 刘婷婷, 铁梅, 邓斌, 孙鹏, 邢志强, 臧树良. 有机酸在修复 Cd 污染土壤中的作用研究. *环境科学与管理*, 2006, 31(8): 76-78.

- [17] 贾中民, 程华, 魏虹, 李昌晓. 三峡库区岸生植物秋华柳对镉胁迫的光合响应. 林业科学, 2012, 48(6): 152-158.
- [18] 贾中民, 魏虹, 孙晓灿, 李昌晓, 孟翔飞, 谢小红. 秋华柳和枫杨幼苗对镉的积累和耐受性. 生态学报, 2011, 31(1): 107-114.
- [19] 孙晓灿, 魏虹, 谢小红, 贾中民, 孟翔飞. 水培条件下秋华柳对重金属 Cd 的富集特性及光合响应. 环境科学研究, 2012, 25(2): 220-225.
- [20] 周翠. 外源有机酸对秋华柳镉积累效率的影响. 重庆: 西南大学, 2018, 9-16.
- [21] Gustafsson J P. Visual MINTEQ 3.0 User Guide. Stockholm; KTH Royal Institute of Technology, 2012: 1-10.
- [22] 聂发辉. 关于超富集植物的新理解. 生态环境, 2005, 14(1): 136-138.
- [23] Tandy S, Bossart K, Mueller R, Ritschel J, Hauser L, Schulin R, Nowack B. Extraction of heavy metals from soils using biodegradable chelating agents. Environmental Science & Technology, 2004, 38(3): 937-944.
- [24] Singh P K, Tewari R K. Cadmium toxicity induced changes in plant water relations and oxidative metabolism of *Brassica juncea* L. plants. Journal of Environmental Biology, 2003, 24(1): 107-112.
- [25] Baker A J M, Walker P L. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants//Shaw A J, ed. Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects. Boca Raton FL: CRC Press, 1990: 155-177.
- [26] Irtelli B, Navari-Izzo F. Influence of sodium nitrilotriacetate (NTA) and citric acid on phenolic and organic acids in *Brassica juncea* grown in excess of cadmium. Chemosphere, 2006, 65(8): 1348-1354.
- [27] Han Y L, Huang S Z, Yuan H Y, Zhao J Z, Gu J G. Organic acids on the growth, anatomical structure, biochemical parameters and heavy metal accumulation of *Iris lactea* var. *Chinensis* seedling growing in Pb mine tailings. Ecotoxicology, 2013, 22(6): 1033-1042.
- [28] Chigbo C, Batty L. Chelate-assisted phytoremediation of Cu-pyrene-contaminated soil using *Z. mays*. Water, Air, & Soil Pollution, 2015, 226(3): 74.
- [29] Arsenov D, Zupunski M, Borisev M, Nikolic N, Orlovic S, Pilipovic A, Pajevic S. Exogenously applied citric acid enhances antioxidant defense and phytoextraction of cadmium by willows (*Salix* Spp.). Water, Air, & Soil Pollution, 2017, 228(6): 221.
- [30] An Y, Zhou P, Xiao Q, Shi D Y. Effects of foliar application of organic acids on alleviation of aluminum toxicity in alfalfa. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2014, 177(3): 421-430.
- [31] Chaffai R, Tekitek A, El Ferjani E. A comparative study on the organic acid content and exudation in maize (*Zea mays* L.) seedlings under conditions of copper and cadmium stress. Asian Journal of Plant Sciences, 2006, 5(4): 598-606.
- [32] Najeeb U, Xu L, Ali S, Jilani G, Gong H J, Shen W Q, Zhou W J. Citric acid enhances the phytoextraction of manganese and plant growth by alleviating the ultrastructural damages in *Juncus effusus* L. Journal of Hazardous Materials, 2009, 170(2/3): 1156-1163.
- [33] Guo H P, Chen H M, Hong C T, Jiang D A, Zheng B S. Exogenous malic acid alleviates cadmium toxicity in *Miscanthus sacchariflorus* through enhancing photosynthetic capacity and restraining ROS accumulation. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2017, 141: 119-128.
- [34] Kaur R, Yadav P, Sharma A, Kumar Thukral A, Kumar V, Kaur Kohli S, Bhardwaj R. Castasterone and citric acid treatment restores photosynthetic attributes in *Brassica juncea* L. under Cd(II) toxicity. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2017, 145: 466-475.
- [35] Schulze J, Tesfaye M, Litjens R H M G, Bucciarelli B, Trepp G, Miller S, Samac D, Allan D, Vance C P. Malate plays a central role in plant nutrition. Plant and Soil, 2002, 247(1): 133-139.
- [36] 周文彬, 邱保胜. 植物细胞内 pH 值的测定. 植物生理学通讯, 2004, 40(6): 724-728.
- [37] 赵彦坤, 张文胜, 王幼宁, 李科学, 贾会珍, 李霞. 高 pH 对植物生长发育的影响及其分子生物学研究进展. 中国生态农业学报, 2008, 16(3): 783-787.
- [38] Duarte B, Delgado M, Caçador I. The role of citric acid in cadmium and nickel uptake and translocation, in *Halimione portulacoides*. Chemosphere, 2007, 69(5): 836-840.
- [39] Chen Y X, Lin Q, Luo Y M, et al. The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil. Chemosphere, 2003, 50(6): 807-811.
- [40] 朱艳霞, 魏幼璋, 叶正钱, 杨肖娥. 有机酸在超积累植物重金属解毒机制中的作用. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2006, 34(7): 121-126.
- [41] Nakata P A. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. Plant Science, 2003, 164(6): 901-909.
- [42] Franceschi V R, Nakata P A. Calcium oxalate in plants: formation and function. Annual Review of Plant Biology, 2005, 56: 41-71.
- [43] 赵中秋, 席梅竹. Cd 对植物的氧化胁迫机理研究进展. 农业环境科学学报, 2007, 26(S1): 47-51.
- [44] Mnasri M, Ghabriche R, Fourati E, Zaier H, Sabally K, Barrington S, Lutts S, Abdelly C, Ghnaya T. Cd and Ni transport and accumulation in the halophyte *Sesuvium portulacastrum*: implication of organic acids in these processes. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 156.
- [45] Lu L L, Tian S K, Yang X E, Peng H Y, Li T Q. Improved cadmium uptake and accumulation in the hyperaccumulator *Sedum alfredii*: the impact of citric acid and tartaric acid. Journal of Zhejiang University SCIENCE B, 2013, 14(2): 106-114.
- [46] Ebbs S D, Lasat M M, Brady D J, Cornish J, Gordon R, Kochian L V. Phytoextraction of cadmium and zinc from a contaminated soil. Journal of Environmental Quality, 1997, 26(5): 1424-1430.