夏涓文,徐小逊,卢 欣,等. EGTA 与有机酸联合施用对黄麻修复 Cd 污染土壤的影响[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(2): 333-341. XIA Juan-wen, XU Xiao-xun, LU Xin, et al. Effect of combined application of EGTA and organic acid on remediation of Cd-contaminated soil by *Corchorus capsularis* L.[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(2): 333-341.

# EGTA 与有机酸联合施用对黄麻修复 Cd 污染土壤的影响

夏涓文1,徐小逊1,2\*,卢 欣1,陈芝吟1,唐 妍1,张世熔1,2

(1.四川农业大学环境学院,成都 611130; 2.四川省土壤环境保护重点实验室,成都 611130)

**摘 要:**采用盆栽试验研究了柠檬酸(CA)和酒石酸(TA)分别与螯合剂乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸(EGTA)的配施对改进黄麻部分生理特性和Cd提取效率的影响。结果表明,EGTA与有机酸配施能促进黄麻光合色素的合成,增加抗氧化酶活性。各处理均提高了黄麻的株高、根长和各器官的干质量,T2E2处理的总干质量最大,为对照的2.69倍。EGTA与CA和TA的配施不同程度提高了黄麻各器官中的Cd含量和积累量,在E1C1处理中,黄麻具有最大的地上部Cd积累量643.02 μg·plant<sup>-1</sup>。各处理地上部和地下部富集系数均有所提高,地上部增幅达1.30~2.14倍,地下部增幅达0.11~0.80倍。各处理的迁移系数分别较CK增加了0.64~1.66倍,其中,T1E2处理的迁移系数最高,达3.15。土壤净化率明显提高,在T2E2和C1E1处理中达最大值0.346%。综上所述,EGTA与TA或CA配施能显著改善黄麻对Cd的提取效率。

关键词:有机酸;EGTA;黄麻;Cd胁迫

中图分类号:X53 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2019)02-0333-09 doi:10.11654/jaes.2018-0686

# Effect of combined application of EGTA and organic acid on remediation of Cd-contaminated soil by *Corchorus capsularis* L.

XIA Juan-wen<sup>1</sup>, XU Xiao-xun<sup>1,2\*</sup>, LU Xin<sup>1</sup>, CHEN Zhi-yin<sup>1</sup>, TANG Yan<sup>1</sup>, ZHANG Shi-rong<sup>1,2</sup>

(1. College of Environmental Sciences, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2. Key Laboratory of Soil Environment Protection of Sichuan Province, Chengdu 611130, China)

**Abstract:** In this study, we focused on the effects of combined application of chelating agents and organic acid on Cd absorption and accumulation by *Corchorus capsularis* L. Pot experiments were conducted to investigate the effects of citric acid (CA) and tartaric acid (TA) combined with EGTA on physiological characteristics and Cd accumulation in *C. capsularis*. The results showed that the application of EG-TA and organic acids promoted the synthesis of photosynthetic pigments and increased the activity of antioxidant enzymes in *C. capsularis*. All treatments increased plant height, root length and biomass of *C. capsularis*, and the maximum biomass of plant when the EGTA and TA were both at 2 mol·L<sup>-1</sup> T2E2 treatment(EGTA and TA were both at 2 mol·L<sup>-1</sup>) was 2.69 higher than that of the control. The combination of EGTA with CA and TA increased the concentration and accumulation of Cd in different organs of *C. capsularis*, and the highest shoot Cd accumulation reached 643.02  $\mu$ g·plant<sup>-1</sup> with the C1E1 treatment(EGTA and CA were both at 1 mol·L<sup>-1</sup>). The bioconcentration factor of the root and shoot improved after the treatments, with an increase of 1.30~2.14 times and 0.11~0.80 times, respectively. With the application of EGTA and organic acid, the transportation factor increased by 0.64~1.66 times, and reached a maximum of 3.15. The Cd purification rate was significantly increased, reaching a maximum of 0.346% in the T2E2 and C1E1 treatments, which 7.69 times higher than that of the control. The combination of EGTA and organic acid; EGTA; *Corchorus capsularis* L; Cd stress

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFD0800604);四川省重点研发项目(19ZDYF2427);四川农业大学科研兴趣培养计划项目(ky2016128)

Project supported: National Key Research and Development Program of China (2018YFD0800604); Key Research and Development Projects of Sichuan Province of China (19ZDYF2427); Project for Research Interest of Sichuan Agricultural University (ky2016128)

收稿日期:2018-05-24 录用日期:2018-08-01

作者简介:夏涓文(1997—),女,主要研究方向为污染土壤修复。E-mail:13281179752@163.com

<sup>\*</sup>通信作者:徐小逊 E-mail:xuxiaoxun2013@163.com

随着我国工农业的快速发展,土壤镉(Cd)污染 问题日趋严峻<sup>[1-2]</sup>。Cd易通过食物链进入人体,影响 多种酶活性和细胞的正常功能,对人类健康构成极大 威胁<sup>[3]</sup>。因此寻找安全、实用、高效的土壤Cd污染修 复方法是当前研究的热点。植物修复属于土壤重金 属污染的原位修复技术,因其具有修复成本低、二次 污染风险小以及不破坏土壤结构的优点受到广泛关 注<sup>[4-6]</sup>。然而植物对Cd的提取效率受到土壤中Cd的 赋存形态、迁移转化能力以及生物有效性的影响<sup>[7]</sup>。 一般而言,土壤中能被植物有效利用的Cd形态含量 不高,限制了植物对其的吸收,Cd修复的效率低<sup>[8]</sup>。 这些因素限制了该技术的工程化应用,需要进一步探 索提高植物修复效率的方法。

研究表明,螯合剂可与土壤中的重金属形成水溶 性的金属-螯合剂络合物,从而改变其赋存形态,提 高生物有效性,增加植物对重金属的吸收能力<sup>19</sup>。目 前广泛使用的螯合剂主要包括氨基多羧酸类螯合剂 (Amino polycarboxylate chelating agents, 简称 APCAs) 和小分子有机酸类螯合剂(Low molecular organic acids,简称LMWOAs)。APCAs主要通过与目标金属形 成络合物,从而增加其生物有效性,而LMWOAs则通 过酸溶、吸附解吸等作用活化土壤中的重金属<sup>[10]</sup>。乙 二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸(EGTA)作为一种人 工合成的螯合剂,与Cd能形成较稳定的络合物,是修 复Cd污染土壤较理想的选择[11-13]。但高浓度的EG-TA对植株会产生毒害作用,限制植物修复的效率<sup>[9]</sup>。 EGTA对植株产生毒害作用的机制可能是由于高浓 度的 EGTA 大幅增加了土壤溶液中的 Cd浓度,造成 植株对Cd的大量积累,导致植株的氧化胁迫和叶绿 体结构的改变,抑制植株生长<sup>[9,14]</sup>。而有机酸对Cd具 有解毒作用,酒石酸(TA)和柠檬酸(CA)可增大植株 的生物量,提高叶绿素含量和抗氧化酶活性[15-16]。因 此,EGTA与TA、CA联合施用能否在保证植物正常生 长的同时提高植物Cd积累能力,是一个值得研究的 问题。

黄麻(Corchorus capsularis L.)是椴树科黄麻属,

农业环境科学学报 第38卷第2期

一年生草本植物,在我国南方有广泛种植,具有生物 量大、生长速度快等特点,其主要产品是纤维,不进入 食物链,且有一定经济效益。前期研究发现,黄麻对 Cd具有较强的富集能力,当Cd浓度为50 mg·kg<sup>-1</sup>时, 地上部Cd含量可达181.60 mg·kg<sup>-1</sup>,是一种良好的Cd 污染修复材料<sup>117-18]</sup>。然而,是否可利用螯合剂的添加 来增强黄麻对Cd的提取效率,目前尚无相关研究报 道。因此本研究拟通过盆栽试验,分析EGTA分别与 TA和CA混合施用对黄麻富集Cd能力及其生理特征 的影响,揭示人工合成的螯合剂与有机酸配施对植株 解毒的生理机制,从而为提高黄麻对Cd的修复效率 提供理论依据。

#### 1 材料与方法

1.1 试验材料

选取黄麻为试验材料,种子购买于四川省种子市场。

- 1.2 试验设计
- 1.2.1 幼苗培养

将饱满成熟的黄麻种子浸泡在0.05%NaClO中消 毒 30 min,再用蒸馏水洗净,于28℃恒温培养箱内催 芽,5 d后播种于未受重金属污染的营养土中,培养30 d后选择长势一致的幼苗(株高15 cm左右,8叶)备用。 1.2.2 盆栽试验

供试土壤为水稻土,取自受工业污染的严重污染 农田,其基本理化性质为pH值7.63,有机质20.26g· kg<sup>-1</sup>,碱解氮73.42mg·kg<sup>-1</sup>,速效磷15.35mg·kg<sup>-1</sup>,速效钾 148.4mg·kg<sup>-1</sup>。其Cd全量为37.21mg·kg<sup>-1</sup>。复合肥以 NH4NO3和KH2PO4的形式添加(N:P2O5:K2O=17:17:17), 每盆添加量4.0g,以基肥形式加入,试验期间不再添加 任何肥料。将该土壤分装进塑料花盆(直径30 cm,高 度20 cm),每盆装土5.0kg,将准备好的黄麻幼苗移栽 到塑料花盆中,每盆3株。盆栽30 d后以溶液滴灌形式 向黄麻根系土壤加入螯合剂,培养80 d后收获植株,并 取适当根系土,自然风干留样备用。盆栽试验设计共9 个处理,每个处理3次重复。试验设计如表1。

	Table 1 Experiment design(mmol·kg <sup>-1</sup> )								
处理Treatments	СК	T1E1	T1E2	T2E1	T2E2	C1E1	C1E2	C2E1	
ТА	0	1	1	2	2	0	0	0	
CA	0	0	0	0	0	1	1	2	
EGTA	0	1	2	1	2	1	2	1	

表1 盆栽试验设计(mmol·kg<sup>-1</sup>)

# 1.3 测定方法

1.3.1 生长指标

植株收获后,先反复用自来水把根冲洗干净,然 后用去离子水反复清洗3~5次。测量并记录植物的 株高和根长,再将植物分为根、茎和叶3部分,将植物 各部分鲜样置于105℃下杀青30min,然后在80℃下 烘干至恒质量,称量其干物质量。

1.3.2 生理指标

(1)光合色素含量

分别选取各处理植株上2片成熟叶片,用丙酮浸 提,用紫外可见分光光度计分别测定浸提液在663、 645、470 nm 波长处的光密度 OD 值, 按熊庆娥<sup>[19]</sup>的方 法计算各光合色素的含量。

(2)抗氧化酶活性

酶液的提取:用磷酸缓冲液(pH 7.8)在冰浴上研 磨成匀浆,在4℃、12 000 g下离心 20 min,上清液即 为酶液。

采用氮蓝四唑(NBT)法测定 SOD 活性[19]。样品 管中加反应体系(pH 7.8的 PBS,甲硫氨酸,NBT,核黄 素,EDTA)和酶液。设置1支对照管放置在暗处,其 他管于4000 lx 日光下反应 10 min, 计算 SOD 活性。

采用愈创木酚法测定 POD 活性[19]。用 pH 6.0 磷 酸缓冲溶液,30%过氧化氢溶液和愈创木酚配制反应 混合液。样品管中加入反应液和酶液,加入pH 6.0的 磷酸缓冲溶液为对照管,然后在470 nm下测定光密 度,40s后再次测定。计算POD活性。

采用高锰酸钾滴定法测定 CAT 活性[19]。设置两 个测定管,两个对照管,测定瓶中加入酶液,对照瓶加 入已煮死酶液,各瓶均加入0.1 mol·L<sup>-1</sup>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,在30 ℃ 恒温水浴中保温10 min, 立刻加入10%的H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>终止 反应。用0.1 mol·L<sup>-1</sup>KMnO<sub>4</sub>标准溶液滴定,至出现粉 红色(0.5 min内不消失)。计算CAT活性。

1.3.3 土壤 pH 值及各形态的 Cd 含量

土壤pH值测定<sup>[20]</sup>:称取过100目筛的土样20g, 放入50mL的烧杯中,加入去离子水20mL,以玻棒搅 拌1 min, 使水土充分混合, 静置 30 min 后用 pHS-3C 复合电极测定pH值。

土壤Cd的全量测定<sup>[20]</sup>:土壤样品风干后磨细过2 mm网筛备用。称取1.000g土壤样品于聚四氟乙烯 坩埚中,经去离子水润湿后加入15 mL HF和10 mL HCL-HNO3混合酸(体积比为1:1)加热至干,再加入 5 mL HNO₃消煮至少量无色无白烟冒出的液体,完全 转移至容量瓶后定容并过滤,用原子吸收分光光度计

测定Cd含量。

采用改进的BCR连续提取法[21]分别测量土壤中 Cd弱酸提取态、可还原态、可氧化态、残渣态的含量。 弱酸提取态:用HAc作为提取液提取,用原子吸收分 光光度计测定浓度,表示为C1。残余土样供下一步 实验使用。可还原态:用NH<sub>2</sub>OH·HCl作为提取液对 上一步残渣进行提取,用原子吸收分光光度计测定浓 度,表示为C2。残余土样处理方法同上。可氧化态: 向上一步残渣中缓慢加入30%(质量分数)H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>消解 至溶液减少到1mL以下。用NH4OAc作为提取液提 取后,用原子吸收分光光度计测定浓度,表示为C3。 残余土样处理方法同上。残渣态:将上一步残渣小心 转移到聚四氟乙烯烧杯中,然后加入一定比例的 HNO<sub>3</sub>、HF和HClO<sub>4</sub>于电热板上消解至内容物呈黏稠 状时,以水定容后,用原子吸收分光光度计测定浓度, 表示为C4。

土壤有效态 Cd 用二乙基三胺五乙酸(DTPA)作 为提取剂提取, DTPA提取剂(0.005 mol·L<sup>-1</sup> DTPA-0.1 mol·L<sup>-1</sup> TEA-0.01 mol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>) 用 6 mol·L<sup>-1</sup>的 HCl调节pH至7.30。提取后用原子吸收分光光度计 测定浓度[22]。

1.3.4 植物样品Cd含量

用硝酸-高氯酸法消煮,取烘至恒质量的黄麻, 分为根、叶、茎,粉碎,过1mm尼龙网筛,混合均匀备 用。称取 0.300 g 于三角瓶中, 加入 20 mL的 HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>4</sub>混合酸(体积比为4:1)消煮至少量无色液体 后,完全转移至容量瓶定容并过滤,用原子吸收分光 光度计测定Cd含量[23]。

#### 1.4 数据处理与统计分析

试验数据采用 Microsoft Office Excel 2010 处理, 用Origin制作图表,在IBM SPSS Statistics 20.0 中对数 据进行单因素方差(ANOVA)检验,采用DUNCAN多 重比较进行处理间差异显著性检验。分别计算转移 系数(地上部Cd含量/地下部Cd含量),富集系数[地 上(下)部Cd含量/污染土壤Cd含量]和土壤净化率 (地上部Cd积累量/土壤总Cd量)。

# 2 结果与分析

#### 2.1 螯合剂对黄麻生长的影响

与CK相比,各处理均不同程度地增加了黄麻的 株高、根长和各器官的生物量(表 2)。且T2E2和 C1E1处理株高增加量最大,达1.33倍。C2E2处理根 长增大最多,达1.42倍。各处理对黄麻叶生物量促进 最为明显,其次为根和茎。与CK相比,螯合剂添加处 理叶生物量增加453.52%~1051.18%,根部生物量升 高25.32%~127.96%,茎部生物量升高6.13%~ 105.12%。

# 2.2 螯合剂对黄麻生理指标的影响

# (1)光合色素

表3可见,与CK相比,各处理均显著提高了黄麻的叶绿素b、总叶绿素和类胡萝卜素含量(P<0.05),涨幅分别达22.7%~105.7%、15.1%~89.6%和25.5%~111.6%,除C2E1处理外,其余处理均显著提高黄麻叶绿素a含量(P<0.05),比CK增加34.1%~73.4%。其中,C2E2处理黄麻的叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素和类胡萝卜素含量最高,分别是CK的1.73~2.11倍。

(2)抗氧化酶

螯合剂处理下,黄麻 SOD、POD和CAT酶活性均 呈增加趋势,其中 SOD和 POD酶活性根部增幅大于 叶部,而 CAT酶活性则相反(图 1)。各处理黄麻叶片 SOD酶活性和 POD酶活性比 CK 显著(P<0.05)增加, 增幅分别为 29.58%~116.17%, 11.71%~84.16%。除 T1E2和T2E1处理外,其余处理叶片 CAT酶活性均显 著(P<0.05)高于 CK,是 CK 的 1.73~2.66 倍。各处理 黄麻根系 SOD 酶活性均显著增加(P<0.05),增幅达 37.47%~294.13%,除 T1E2 外,各处理黄麻根系 POD 酶活性与 CK 相比均显著提高(P<0.05),涨幅达 15.03%~347.29%。除 T2E2和 C2E2处理外,各处理 黄麻根系 CAT酶活性相对 CK 均显著(P<0.05)增加, 涨幅达 17.62%~179.97%。

## 2.3 螯合剂处理对土壤 pH 值及土壤 Cd 形态的影响

由于 EGTA 与有机酸都为酸性物质,相对于 CK 各处理土壤 pH 值有所降低,但降低幅度较小,最大不 超过 0.31,各处理间土壤 pH 无显著差异(图 2)。添加 螯合剂后各处理土壤弱酸提取态 Cd 所占比例有所增 加,可还原态和可氧化态占比有所降低,而残渣态无 明显变化(图 2)。各处理弱酸提取态 Cd 占比为 CK 的 1.01~1.12 倍。T1E2 与 T2E1 处理弱酸提取态 Cd 占比 最高,分别是 CK 的 1.12 倍和 1.11 倍。

Table 2	Effects of	different	treatments	on the	growth	of $C$ .	capsularis
---------	------------	-----------	------------	--------	--------	----------	------------

处理Treatments	株高 Plant high/	根长 Root length/	干质量 Biomass/g·plant <sup>-1</sup> DW				
	cm	cm	根 Root	茎Stem	叶 Leaf		
СК	$102.00 \pm 8.54 c$	32.00±2.08c	$0.96 \pm 0.05 \mathrm{b}$	5.69±1.39c	$0.48 \pm 0.10 c$		
T1E1	111.33±3.48bc	$39.00 \pm 1.15 \text{abc}$	1.27±0.15ab	$7.33 \pm 0.80 \mathrm{bc}$	$2.88{\pm}0.07{\rm b}$		
T1E2	126.00±4.04ab	$33.33 \pm 1.86 \text{bc}$	1.70±0.51ab	9.04±1.10abc	$3.48 \pm 0.23 \mathrm{b}$		
T2E1	135.00±6.81a	39.67±2.96abc	2.02±0.43a	11.78±1.02a	4.81±0.43a		
T2E2	135.67±1.45a	$35.67 \pm 3.28 \mathrm{bc}$	2.11±0.19a	11.95±0.43a	5.07±0.52a		
C1E1	136.00±6.43a	44.33±1.20a	2.19±0.20a	10.67±0.65ab	4.81±0.22a		
C1E2	126.00±4.04ab	40.67±3.84ab	1.83±0.25ab	$7.89{\pm}1.07{\rm bc}$	$2.91 \pm 0.72 \mathrm{b}$		
C2E1	133.00±1.73a	$35.33 \pm 0.67 \mathrm{bc}$	1.33±0.14ab	6.04±1.75c	$2.67 \pm 0.45$ b		
C2E2	127.33±2.40a	45.67±3.28a	2.01±0.39a	10.22±0.33ab	5.04±0.17a		

注:各列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。下同。

Note: Different small letters indicate significant difference at P<0.05 level in different treatments. The same below.

#### 表3 不同处理对黄麻光合色素含量的影响

Table 3 Effects of different treatments on the photosynthetic pigments of C. capsularis

处理Treatments	叶绿素 a Chla/mg•g⁻¹	叶绿素 b Chlb/mg•g <sup>-1</sup>	叶绿素 a/b Chla/Chlb	总叶绿素 Chl/mg•g <sup>-1</sup>	类胡萝卜素Car/mg·g <sup>-1</sup>
СК	1.00±0.08c	$1.00 \pm 0.06 e$	0.92±0.03a	2.00±0.13e	0.26±0.03f
T1E1	1.50±0.10ab	$1.73 \pm 0.04 \mathrm{b}$	0.87±0.03a	3.23±0.13c	$0.45 \pm 0.02 \text{bcd}$
T1E2	1.68±0.14a	2.01±0.08a	$0.84 \pm 0.04 ab$	$3.68 \pm 0.20$ ab	0.52±0.00a
T2E1	1.58±0.04ab	$1.79 \pm 0.06 \mathrm{b}$	0.89±0.01a	$3.37 \pm 0.10 \mathrm{bc}$	$0.45 \pm 0.00 \mathrm{bc}$
T2E2	1.50±0.03ab	$1.68 \pm 0.02 \mathrm{b}$	0.89±0.01a	$3.18 {\pm} 0.03 {\rm cd}$	$0.43 \pm 0.00$ cd
C1E1	$1.35 \pm 0.06 b$	$1.52\pm0.04c$	0.89±0.02a	2.86±0.11d	0.41±0.01d
C1E2	1.58±0.06ab	$1.80 \pm 0.06 \mathrm{b}$	0.87±0.03a	$3.38 \pm 0.11 \mathrm{bc}$	$0.47 \pm 0.01 \mathrm{b}$
C2E1	$1.08\pm0.02c$	$1.22 \pm 0.02 d$	0.91±0.02a	$2.30\pm0.04e$	0.33±0.01e
C2E2	1.74±0.05a	2.05±0.06a	$0.79 \pm 0.11 \mathrm{b}$	3.79±0.11a	0.55±0.02a







与CK相比,除T1E1、T2E2、C1E1外,各处理DTPA 提取态Cd比CK显著(P<0.05)增加,增幅达36.29%~ 60.36%(P<0.05),其中,C2E2处理土壤DTPA提取态 Cd含量最高,为CK的160.36%。

#### 2.4 螯合剂处理下黄麻对Cd的富集特征

由图4可以看出,不同处理黄麻各器官的Cd含量和Cd积累量均呈增加趋势,且地上部的增加幅度大于地下部,CK中各器官Cd含量表现为根>叶>茎,处理中黄麻各器官Cd含量均呈现为叶>根>茎,Cd积累量也从茎>根>叶变为叶>茎>根,说明Cd的主要积累场所从地下部变为了地上部。除T1E2与C1E2外,



图2 不同处理土壤 pH





图3 不同处理土壤Cd形态分布特征



各处理根的 Cd 含量均显著(P<0.05)高于 CK,增加幅 度为 12.65%~81.07%。其中,C1E1 处理黄麻根系 Cd 含量达最高为 62.42 mg·kg<sup>-1</sup>。与 CK 相比,各处理黄 麻茎、叶的 Cd 含量较 CK 均显著(P<0.05)增加,增加 幅度分别达 39.23%~82.83%和 181.45%~336.19%。 茎中 Cd 含量在 C1E1 处理达最大为 28.59 mg·kg<sup>-1</sup>,各 处理黄麻叶的 Cd 含量较 CK 均显著(P<0.05)增加,增 加幅度达 181.45%~336.19%,并在 C2E1 处理达最大

#### 农业环境科学学报 第38卷第2期

为88.57 mg·kg<sup>-1</sup>。叶部Cd积累量增幅为16.45~39.64 倍。C1E1处理时叶部Cd积累量达最大为410.48 μg· 株<sup>-1</sup>。

EGTA和TA与CA的配施促进了Cd向黄麻地上部的转移。表4可见,各处理的转移系数分别比CK增加了64.42%~166.35%,其中,T1E2处理的转移系数最高,达3.15。除T1E2和C1E2处理地下部富集系



igure 4 Effects of different treatments on the concentration of bioavailable Cd in soil



数下降外,各处理组地上部和地下部富集系数均提高,且增幅分别为1.30~2.14倍、0.11~0.80倍。土壤净化率提高明显,不施加任何螯合剂的对照处理,土壤Cd的净化率仅为0.045%。而施加螯合剂后,土壤净化率提高了2.77~5.53倍。

# 3 讨论

植物生长是影响植物修复效率的重要指标<sup>[24]</sup>。 EGTA对Cd有较强的活化作用,可显著促进植物对土 壤中Cd的吸收<sup>[25]</sup>。但有研究表明EGTA在促进植物 吸收重金属的同时会导致植物生长慢、生物量低,限 制植物对重金属的去除能力<sup>[9]</sup>。产生该现象的原因 可能是由于高浓度的EGTA大量增加了土壤溶液中 的Cd浓度,造成植株对Cd的大量积累,在Cd和螯合 剂的双重胁迫下,植株生长受到抑制<sup>[9,14]</sup>。李君等<sup>[11]</sup> 研究发现蓖麻(*Ricinus communis* L.)根系鲜质量和茎 干质量在EGTA投加量达到2 mmol·kg<sup>-1</sup>时比CK显著 降低31.82%。研究发现,TA和CA能通过影响Cd在 植株中的化学形态来降低Cd对植株的毒害效应<sup>[26]</sup>,



#### 图5 不同处理对黄麻各器官Cd含量与Cd积累量的影响

Figure 5 Effects of different treatments on Cd concentration and accumulation in C. capsularis. organs

#### 表4 黄麻对Cd的吸收富集特征

Table 4 The characteristics of Cd absorption at	nd accumulation of C. capsular	ris
---	--------------------------------	-----

处理	富集系数Biocon	centration factors	转移系数	土壤净化率	
Treatments	地上部Shoot	地下部Root	Transportation factor	Cd purification rate/%	
СК	0.97±0.06f	0.93±0.00d	$1.04 \pm 0.06 f$	$0.045 \pm 0.007 d$	
T1E1	$2.76 \pm 0.04 \mathrm{c}$	$1.04\pm0.02c$	$2.65 \pm 0.10 \mathrm{b}$	0.225±0.011c	
T1E2	$2.54{\pm}0.02{\rm d}$	$0.81 \pm 0.01 e$	3.15±0.04a	$0.259{\pm}0.019{\rm bc}$	
T2E1	2.48±0.01d	$1.08 \pm 0.03 \mathrm{c}$	$2.29 \pm 0.06c$	0.345±0.025a	
T2E2	2.50±0.01d	$1.30\pm0.04\mathrm{b}$	1.93±0.06d	0.346±0.024a	
C1E1	$2.88 \pm 0.04 \mathrm{b}$	1.68±0.02a	1.72±0.01e	0.346±0.011a	
C1E2	$2.24 \pm 0.02 e$	$0.81 \pm 0.00 e$	2.77±0.03b	0.201±0.011c	
C2E1	3.05±0.02a	1.63±0.07a	$1.87{\pm}0.09{\rm de}$	$0.208 \pm 0.036 c$	
C2E2	$2.28 \pm 0.05 e$	1.07±0.02c	2.14±0.02c	0.299±0.012ab	

也可以通过影响植物代谢过程来调节 Cd 的毒害作 用<sup>[27]</sup>,如改善 Cd 胁迫下植株的生长、促进植株的生物 量提升等<sup>[28-29]</sup>。本试验中 2 mmol·kg<sup>-1</sup>EGTA 与有机酸 配施均提高了黄麻的根长、株高与根茎叶干质量,表 明 EGTA 与有机酸配合施用可改善 Cd 胁迫下黄麻的 生长,克服单施螯合剂导致修复植物生物量降低的缺 点。但有机酸对黄麻生长的改善机制有待深入研究。

植物光合色素是植物进行光合作用的必需物质, 其含量在一定程度上反映了植物受逆境伤害的程 度<sup>[30]</sup>。研究表明,高浓度的APCAs施用会造成植株的 叶绿素含量降低,阻碍光合作用的正常进行,最终导 致植物生物量的降低<sup>[31]</sup>,本试验中,EGTA与CA和TA 配施都提高了Cd胁迫下植株叶绿素a、叶绿素b、叶 绿素a+b和类胡萝卜素的含量。这可能是由于有机 酸的施用能缓解Cd胁迫下植株的光合色素含量下 降<sup>[16,29]</sup>。该结果表明有机酸与EGTA复配能缓解单施 螯合剂导致的光合色素含量下降,是有机酸与EGTA 配施改善黄麻生长的机制之一。

Cd胁迫会导致植物体内活性氧自由基水平急剧 上升,氧自由基过量会影响植物生长发育,严重时会 导致植物死亡<sup>[30]</sup>。SOD、POD、CAT等抗氧化酶是植物 活性氧清除系统中的重要酶,能抵抗活性氧自由基所 造成的氧化伤害<sup>[32]</sup>,抗氧化酶活性的大小在一定程度 上反映了植物在逆境中的耐受能力。以往研究发现, 单施高浓度 APCAs 会加剧 Cd 对植株的氧化胁 迫<sup>[31,33]</sup>。本试验结果表明,有机酸与EGTA处理下,黄 麻叶部和根部抗氧化酶活性相对 CK 均呈增高趋势, 原因在于有机酸可通过参与特异性蛋白或防御相关 性酶的表达等方式缓解 Cd造成的氧化胁迫,从而提 高 Cd 胁迫下 SOD、POD、CAT 的活性<sup>[16,34-35]</sup>。该结果 表明 EGTA 与 TA 和 CA 的配施可在一定程度上减轻 单施 EGTA 时活性氧对黄麻细胞的伤害,提高其抗逆 能力,从而改善黄麻的生长。

植物提取是通过富集重金属的植物对重金属的 吸收将重金属带出土体,因此植物提取的效率较大程 度上取决于重金属在土壤中的生物有效性<sup>[36]</sup>。BCR 连续提取法中,弱酸提取态是重金属在土壤中具生物 活性的部分<sup>[9]</sup>。本试验中,添加EGTA与有机酸后各 处理土壤中Cd的土壤弱酸提取态均增加,这与张譞 等<sup>[37]</sup>的研究中所得结论一致。螯合剂作用下,土壤中 Cd的弱酸提取态的增加有利于黄麻对Cd吸收的增 加。DTPA 能浸提出土壤里交换态、吸附态、有机固 定态和部分氧化态的水溶性重金属,这部分被认为是

重金属生物有效的形态<sup>[38]</sup>。本试验显示,与CK相比, 添加螯合剂的土壤有效态Cd含量显著增高,该结果 与张玉芬等[29]的研究结果一致。其原因主要是由于 EGTA与Cd形成了稳定的Cd-EGTA络合物,研究表 明,有机酸只有在较高浓度和较低pH的情况下才对 提高有效态Cd有一定效果,而本试验土壤pH呈微碱 性,因此有机酸对于增加土壤有效态Cd的作用十分 有限。EGTA在碱性条件下依然可以显著增加有效 态Cd含量,则在本试验中发挥主要作用<sup>[25,39]</sup>。另外, 本试验中各处理pH相比CK均有所降低,这可能是由 于EGTA 与有机酸都呈酸性的原因,加入土壤后使土 壤pH降低。一些研究表明通过降低土壤pH,可以使 重金属从植物不可利用态转变为可利用态,从而增加 重金属生物有效性[40]。这也与本试验中重金属形态 变化趋势匹配。在 EGTA 与 CA 和与低浓度 TA 的处 理组中,随螯合剂的浓度增加,有效态Cd浓度随之增 加。以上结果说明TA和CA与EGTA配施的活化效 应与其剂量有关。因此有机酸与EGTA配施可在避 免对黄麻产生毒害的同时,对土壤Cd有较好的活化 效果。

植物的Cd修复效率主要取决于其地上部Cd积 累量,本试验中,添加螯合剂之前,黄麻对Cd的富集 主要集中在黄麻的茎部和根部,地上部对Cd的富集 量不高直接限制了黄麻的 Cd 修复效率。在 EGTA 与 有机酸的配施处理下,黄麻地上部富集系数和迁移系 数增幅分别达到 1.30~2.14 倍和 0.64~1.66 倍, 这与 Luo 等[4]的研究结果一致,陈亚慧等[9]研究也发现,螯 合剂与有机酸配施的处理提高了Cd从植物根系到地 上部的转移能力。该结果是由于 EGTA 能够与土壤 中的Cd形成更易被植物吸收的形态而被植物吸收和 转运到地上部<sup>[11]</sup>。Cd积累量受植株生物量与植株Cd 含量的共同影响。叶中Cd含量在C1E1处理下虽然 未达到最大,仅为85.28 mg·kg<sup>-1</sup>,但受黄麻生物量影 响,其叶部Cd积累量达到最大为410.48 μg·株<sup>-1</sup>,土 壤净化率达 0.346%。研究发现,单施 5 mmol· kg<sup>-1</sup>EDTA时,虽蓖麻Cd含量达139.11 mg·kg<sup>-1</sup>,但地 上部生物量相比CK显著降低,其积累量仅为63.07 μg·株<sup>-1</sup>,土壤净化率0.063%<sup>[26]</sup>。本试验结果表明, EGTA与有机酸配合施用时,适宜浓度TA和CA可缓 解Cd对黄麻的毒害,使黄麻地上部具有较大生物量, 而EGTA与Cd形成稳定的Cd-EGTA络合物使得黄麻 地上部具有较高的Cd含量,因此,EGTA与TA和CA 联合施用能在保证植物正常生长的同时提高植物Cd

#### 农业环境科学学报 第38卷第2期

积累能力。

# 4 结论

(1)EGTA与TA和CA配施增加了黄麻光合色素 含量,提高了黄麻SOD、POD、CAT酶活性,表明EGTA 与有机酸可通过调节黄麻体内抗氧化酶活性,清除黄 麻细胞内因胁迫产生的过量活性氧自由基,保持黄麻 体内活性氧代谢平衡,从而保障黄麻的正常生长。

(2)EGTA与TA和CA配施提高了土壤弱酸提取态Cd占比和DTPA提取态Cd含量,从而促进黄麻对 土壤Cd的吸收。

(3)施加 EGTA 和有机酸促进了黄麻的生长,增加了黄麻对 Cd 的吸收,从而增大了黄麻对土壤 Cd 的 积累。当 CA 和 EGTA 施用量均为1 mmol·kg<sup>-1</sup>时,黄 麻具有最大的地上部 Cd 积累量 643.02 μg·株<sup>-1</sup>,土壤 净化率为0.346%,分别为 CK 的7.75 倍和5.53 倍。

#### 参考文献:

- Chen H, Teng Y, Lu S, et al. Contamination features and health risk of soil heavy metals in China[J]. Science of the Total Environment, 2015, 512-513:143-153.
- [2] Ran X, Shuang W, Li R, et al. Soil heavy metal contamination and health risks associated with artisanal gold mining in Tongguan, Shaanxi, China[J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2017, 141: 17-24.
- [3] Jaishankar M, Tseten T, Anbalagan N, et al. Toxicity mechanism and health effects of some heavy metals[J]. *Interdisciplinary Toxicology*, 2014, 7(2):60-72.
- [4] 孙 鑫, 娄燕宏, 王 会, 等. 重金属污染土壤的植物强化修复研究 进展[J]. 土壤通报, 2017, 48(4):1008-1013.
  SUN Xin, LOU Yan-hong, WANG Hui, et al. Review on enhancing phytoremediation of soil contamination by heavy metals[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2017, 48(4):1008-1013.
- [5] Sarwar N, Imran M, Shaheen M R, et al. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives[J]. *Chemosphere*, 2017, 171:710–721.
- [6] Cristaldi A, Conti G O, Jho E H, et al. Phytoremediation of contaminated soils by heavy metals and PAHs: A brief review[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2017, 8:309–326.
- [7] 陈良华, 徐 睿, 张 健, 等. 螯合剂对香樟生理特征和 Cd 积累效率的影响[J]. 云南大学学报(自然科学版), 2016, 38(1):150-161. CHEN Liang-hua, XU Rui, ZHANG Jian, et al. The effects of chelator on physiological traits and Cd accumulation efficiency of *Cinnamonum camphora*[J]. Journal of Yunnan University (Natural Science), 2016, 38 (1):150-161.
- [8] 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.

WEI Shu-he, ZHOU Qi-xing. Discussion on basic principles and strengthening measures for phytoremediation of soils contaminated by

heavy metals[J]. Chinese Journal of Ecology, 2004, 23(1):65-72.

- [9] 陈亚慧,李 君,王明新,等.EGTA和酒石酸对蓖麻Cd胁迫与积累的调控作用[J].西北植物学报,2014,35(9):1025-1031.
  CHEN Ya-hui, LI Jun, WANG Ming-xin, et al. Regulation of EGTA and tartaric acid on Cd stress and accumunition in *Ricinus communis* L.
  [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2014, 35(9):1025-1031.
- [10] 胡亚虎,魏树和,周启星,等.螯合剂在重金属污染土壤植物修复中的应用研究进展[J].农业环境科学学报,2010,29(11):2055-2063.

HU Ya-hu, WEI Shu-he, ZHOU Qi-xing, et al. Application of chelator in phytoremediation of heavy metals contaminated soils: A review [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(11):2055–2063.

- [11] 李 君, 葛 跃, 王明新, 等. EGTA对Cd胁迫下蓖麻Cd积累和营养元素吸收的影响[J]. 西北植物学报, 2015, 35(9):1855-1860.
  LI Jun, GE Yue, WANG Ming-xin, et al. Regulation of EGTA on Cd and nutrient elements accumulation in *Ricinus Communis* under Cd stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica. 2015, 35(9): 1855-1860.
- [12] Hu Y H, Nan Z R, Su J Q, et al. Chelant-assisted uptake and accumulation of cd by poplar from calcareous arable soils around Baiyin nonferrous metal smelters, Northern China[J]. Arid Soil Research & Rehabilitation, 2014, 28(3):340–354.
- [13] Wang S, Liu J. The effectiveness and risk comparison of EDTA with EGTA in enhancing Cd phytoextraction by *Mirabilis jalapa* L.[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2014, 186(2):751–759.
- [14] Parmar P, Kumari N, Sharma V. Structural and functional alterations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress[J]. *Botani*cal Studies, 2013, 54(1):45.
- [15] Afshan S, Ali S, Bharwana S A, et al. Citric acid enhances the phytoextraction of chromium, plant growth, and photosynthesis by alleviating the oxidative damages in *Brassica napus* L.[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(15):11679–11689.
- [16] 杨 艳, 汪 敏, 刘雪云, 等. 三种有机酸对 Cd 胁迫下油菜生理特性的影响[J]. 安徽师范大学学报(自然科学版), 2007(2):158-162. YANG Yan, WANG Min, LIU Xue-yun, et al. Effects of organic acids on the growth of rape under Cd stress[J]. Journal of Anhui Normal University(Natural Science), 2007(2):158-162.
- [17] 董袁媛,孙 竹,杨 洋,等. 镉胁迫对黄麻光合作用及镉积累的 影响[J]. 核农学报, 2017, 31(8):1640-1646.
  DONG Yuan-yuan, SUN Zhu, YANG Yang, et al. Effects of cadmium of photosynthesis and Cd accumulation of *Corchorus capsularis* L.[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2017, 31(8):1640-1646.
- [18] 王玉富. 黄麻、红麻在重金属污染耕地修复中的应用研究进展[J]. 湖南农业科学, 2015(8):49-52.

WANG Yu-fu. Review of jute and kenaf application in remediation of arable lands contaminated by heavy metals[J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2015(8):49–52.

[19] 熊庆娥. 植物生理学实验教程[M]. 成都:四川科学技术出版社, 2003:52-124.

XIONG Qing-e. Plant physiology[M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press, 2003:52-124.

[20] 刘凤枝,李玉浸. 土壤监测分析技术[M]. 北京:化学工业出版社,

#### 2019年2月 夏涓文,等:EGTA 与有机酸联合施用对黄麻修复 Cd 污染土壤的影响

341

2015:198-341.

LIU Feng-zhi, LI Yu-jin. Soil monitoring and analysis technology[M]. Beijing:Chemical Industry Press, 2015:198-341.

- [21] 张朝阳, 彭平安, 宋建中, 等. 改进 BCR 法分析国家土壤标准物质 中重金属化学形态[J]. 生态环境学报, 2012, 21(11):1881-1884. ZHANG Chao-yang, PENG Ping-an, SONG Jian-zhong, et al. Utilization of modified BCR procedure for the chemical speciation of heavy metals in Chinese soil reference material[J]. Ecology & Environmental Sciences, 2012, 21(11):1881-1884.
- [22] 刘 铭, 刘凤枝, 刘保峰. 土壤中有效态铅和镉的测定[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(S1): 300-302.
   LIU Ming, LIU Feng-zhi, LIU Bao-feng. Determination of available

lead and cadmium in soil[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2007, 26(S1): 300-302.

- [23] 徐小逊, 董袁媛, 邓玉兰, 等. 镉胁迫对豨莶生长及光合作用相关 参数的影响[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(9):1672-1679. XU Xiao-xun, DONG Yuan-yuan, DENG Yu-lan, et al. Effects of cadmium stress on growth and photosynthetic parameters of Sigesbeckia orientalis L.[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2016, 35(9): 1672-1679.
- [24] Cay S, Uyanik A, Engin M S. EDTA supported phytoextraction of Cd from contaminated soil by four different ornamental plant species[J]. *Journal of Soil Contamination*, 2016, 25(3):346–355.
- [25] 张 磊. 螯合剂强化棉花对镉污染土壤修复的初步研究[J]. 水土 保持学报, 2015, 29(4):321-326.

ZHANG Lei. Preliminary study on chelate-enhanced phytoremediation of cadmium-contami nated soil by cotton plants[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2015, 29(4): 321-326.

- [26] 陈英旭, 林 琦, 陆 芳, 等. 有机酸对铅、镉植株危害的解毒作用 研究[J]. 环境科学学报, 2000, 20(4):467-472. CHEN Ying-xu, LIN Qi, LU Fang, et al. Study on detoxication of organic acid to raddish under the stress of Pb and Cd[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2000, 20(4):467-472.
- [27] 夏小燕,杨丽琴,翟福勤,等.有机酸对小麦幼苗镉毒的缓解作用
  [J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(3):990-995.
  XIA Xiao-yan, YANG Li-qin, ZHAI Fu-qin, et al. Organic acids alleviating the toxicity of Cd to young wheat plants[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2007, 26(3):990-995.
- [28] Zaheer I E, Ali S, Rizwan M, et al. Citric acid assisted phytoremediation of copper by *Brassica napus* L.[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, 120;310–317.
- [29] 张玉芬, 刘景辉, 杨彦明, 等. 柠檬酸和 EDTA 对蓖麻生理特性和 镉累积的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2015, 31(5):760-766. ZHANG Yu-fen, LIU Jing-hui, YANG Yan-ming, et al. Effects of CA and EDTA on physiological characteristics and Cd accumulation of *Ricinus communis*[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2015, 31(5):760-766.

[30] 胡国涛,杨兴,陈小米,等.速生树种竹柳对重金属胁迫的生理 响应[J].环境科学学报,2016,36(10):3870-3875.

HU Guo-tao, YANG Xing, CHEN Xiao-mi, et al. Physiological responses of bamboo-willow plants to heavy metal stress[J]. *Acta Scienti*- ae Circumstantiae, 2016, 36(10):3870-3875.

- [31] 王思予,多立安,赵树兰.可降解螯合剂对草坪植物高羊茅发育及 生理的影响[J]. 园艺学报, 2017, 44(11):2186-2194.
  WANG Si-yu, DUO Li-an, ZHAO Shu-lan. Effects of biodegradable chelator on growth and physiology of *Festuca arundinacea* seedlings
  [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2017, 44(11):2186-2194.
- [32] Huang C, Lai C, Xu P, et al. Lead-induced oxidative stress and antioxidant response provide insight into the tolerance of *Phanerochaete chrysosporium* to lead exposure[J]. *Chemosphere*, 2017, 187:70–77.
- [33] Zhao Y, Mao G, Hu H, et al. Effects of EDTA and EDDS on heavy metal activation and accumulation of metals by soybean in alkaline soil[J]. Journal of Soil Contamination, 2015, 24(4):353-367.
- [34] Gao Y, Miao C, Xia J, et al. Effect of citric acid on phytoextraction and antioxidative defense in *Solanum nigrum L*. as a hyperaccumulator under Cd and Pb combined pollution[J]. *Environmental Earth Sciences*, 2012, 65(7):1923–1932.
- [35] Ehsan S, Ali S, Noureen S, et al. Citric acid assisted phytoremediation of cadmium by *Brassica napus* L.[J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2014, 106:164–172.
- [36] 熊国焕,潘义宏,何艳明,等. 螯合剂对大叶井口边草 Pb、Cd、As吸收性影响研究[J]. 土壤, 2012, 44(2):282-289.
  XIONG Guo-huan, PAN Yi-hong, HE Yan-ming, et al. Chelate assisted uptake of heavy metal of lead, cadmium and arsenic from soil with *Pteris cretica var. nervosa*[J]. Soils, 2012, 44(2):282-289.
- [37] 张 譞, 李 晔, 胡 进, 等. 三种螯合剂对土壤重金属 Cd和 Zn 形态变化的研究[J]. 科学技术与工程, 2013, 13(21):6184-6188.
  ZHANG Xuan, LI Ye, HU Jin, et al. Effects of three chelate on the form distribution of Cd and Zn in soil[J]. Science Technology and Engineering, 2013, 13(21):6184-6188.
- [38] 尹炳奎,黄满红,张大磊,等.菜籽饼施加对镉-铜污染土壤中重金属形态转化及其植物有效性的影响[J].环境工程学报,2017,11
   (6):3879-3883.

YIN Bing-kui, HUANG Man-hong, ZHANG Da-lei, et al. Effects of rapeseed cake on cadmium and copper forms and its phytoavailability in heavy metals contaminated paddy soil[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2017, 11(6):3879–3883.

[39]郑明霞,冯 流,刘 洁,等.螯合剂对土壤中镉赋存形态及其生物有效性的影响[J].环境化学,2007,26(5):606-609.

ZHENG Ming-xia, FENG Liu, LIU Jie, et al. Effects of chelators on species and bioavailability of cadmium in soil[J]. *Environmental Chemistry*, 2007, 26(5):606-609.

[40] 李永涛, 刘科学, 张 池, 等. 广东大宝山地区重金属污染水田土 壤的 Cu Pb Zn Cd 全量与 DTPA 浸提态含量的相互关系研究[J]. 农 业环境科学学报, 2004, 23(6):1110-1114.

LI Yong-tao, LIU Ke-xue, ZHANG Chi, et al. Relationships between total and DTPA extractable contents of Cu, Pb, Zn, Cd in trace metal-contaminated paddy soils of Dabaoshan, Guangdong[J]. *Journal of Agro-environmental Science*, 2004, 23(6):1110–1114.

[41] Luo J, Cai L, Qi S, et al. Improvement effects of cytokinin on EDTA assisted phytoremediation and the associated environmental risks[J]. *Chemosphere*, 2017, 185:386–393.