

柠檬酸螯合诱导AMF-紫花苜蓿提取修复重金属污染土壤的研究

裘浪, 夏义璠, 杨晶, 王志刚, 俞龙生, 张延旭

引用本文:

裘浪, 夏义璠, 杨晶, 等. 柠檬酸螯合诱导AMF-紫花苜蓿提取修复重金属污染土壤的研究[J]. *农业环境科学学报*, 2025, 44(8): 2145-2157.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2025-0227>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

混合淋洗剂对污染土壤中重金属的去除及植物生长的影响

郭晓方, 韩玮, 赵国慧, 张桂香, 何秋生

农业环境科学学报. 2020, 39(7): 1486-1493 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0116>

巨大芽孢杆菌与柠檬酸联合强化青苜蓿修复镉污染土壤研究

张冰, 刘杰, 蒋萍萍, 蒋旭升, 丁志凡, 程艳, 雷玲

农业环境科学学报. 2021, 40(3): 552-561 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1007>

单壁碳纳米管对紫花苜蓿根际土壤中PAHs降解及微生物群落的影响

王慧敏, 陈莉荣, 任文杰, 郑春丽, 黄怡雯, 滕应, 张铁军

农业环境科学学报. 2021, 40(12): 2647-2659 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0332>

钒胁迫对紫花苜蓿生长及钒积累与转移的影响

武振中, 杨金燕, 张有贤

农业环境科学学报. 2021, 40(6): 1198-1207 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1165>

猪场粪水施用对设施白菜及土壤重金属的影响

程娟, 刘沐衡, 肖能武, 杨柳, 杜会英, 杜连柱, 张克强

农业环境科学学报. 2021, 40(11): 2559-2567 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-1030>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

裘浪, 夏义璠, 杨晶, 等. 柠檬酸螯合诱导 AMF-紫花苜蓿提取修复重金属污染土壤的研究[J]. 农业环境科学学报, 2025, 44(8): 2145–2157.

QIU L, XIA Y F, YANG J, et al. Citric acid chelation induced extraction and remediation of heavy metal polluted soils by arbuscular mycorrhizal fungi combined with *Medicago sativa*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2025, 44(8): 2145–2157.



开放科学 OSID

柠檬酸螯合诱导 AMF-紫花苜蓿提取修复重金属污染土壤的研究

裘浪^{1,2}, 夏义璠¹, 杨晶¹, 王志刚³, 俞龙生⁴, 张延旭⁵

(1. 宿州学院环境与测绘工程学院, 安徽 宿州 234000; 2. 广东省科学院生态环境与土壤研究所, 广州 510650; 3. 中国矿业大学(北京)地球科学与测绘工程学院, 北京 100083; 4. 广州市环境保护科学研究院有限公司, 广州 510620; 5. 中国矿业大学(北京)煤炭精细勘探与智能开发全国重点实验室, 北京 100083)

摘要:本研究旨在探索丛枝菌根真菌(AMF)与柠檬酸联合对紫花苜蓿修复重金属污染土壤的作用,采用温室盆栽试验,以复合重金属污染土壤为研究对象,研究不同柠檬酸浓度(0、5、10 mmol·kg⁻¹)施加水平下,接种 AMF 对紫花苜蓿生长特性、重金属(V、Cd、Cr、Cu、Pb 与 As)含量和积累量以及根际土壤重金属酸溶态含量的影响。结果表明:与无柠檬酸施加处理相比,施加 5、10 mmol·kg⁻¹柠檬酸显著降低紫花苜蓿根系侵染率 15.1%~19.2% ($P<0.05$),同时显著降低植株地上部干质量 17.0%~27.4% 和根系干质量 26.2%~37.1% ($P<0.01$);但显著提高植株地上部和根系重金属 V、Cd、Cr、Cu、Pb 与 As 含量及其富集系数 ($P<0.001$),二者地上部重金属含量分别比无柠檬酸施加处理平均提高了 71.0、3.60、12.4、2.87、14.7 倍与 5.09 倍,根系重金属含量分别提高了 1.87、4.94、2.68、2.87、9.66 倍与 4.12 倍。接种 AMF 能够缓解施加柠檬酸胁迫对紫花苜蓿生长的抑制作用,相比未接种处理显著增加植株地上部和根系干质量 ($P<0.001$),同时降低植株地上部和根系 V、Cd、Cr、Pb 与 As 含量,其与 10 mmol·kg⁻¹柠檬酸联合显著提高紫花苜蓿地上部和根系 V、Cd、Cr、Cu、Pb 与 As 积累量 ($P<0.001$),该处理下紫花苜蓿对污染土壤重金属的提取效果最好。方差分析结果表明,紫花苜蓿根际土壤 V、Cd、Cr、Cu、Pb 与 As 酸溶态含量均受到柠檬酸显著影响 ($P<0.001$)。通过构建植株地上部重金属积累量和根际土壤重金属酸溶态含量的一元线性回归方程,发现决定系数 R^2 均在 0.60 以上。研究表明,10 mmol·kg⁻¹柠檬酸和接种 AMF 组合明显增加紫花苜蓿根际土壤重金属有效态含量,促进植株吸收并向地上部转运与积累重金属,同时接种 AMF 能够改善施加柠檬酸对植株生长的抑制状况,二者联合能够提高紫花苜蓿提取修复复合重金属污染土壤。

关键词:丛枝菌根真菌;螯合剂;植物提取;侵染率;酸溶态金属

中图分类号:S541.9;X53 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2025)08-2145-13 doi:10.11654/jaes.2025-0227

Citric acid chelation induced extraction and remediation of heavy metal polluted soils by arbuscular mycorrhizal fungi combined with *Medicago sativa*

QIU Lang^{1,2}, XIA Yifan¹, YANG Jing¹, WANG Zhigang³, YU Longsheng⁴, ZHANG Yanxu⁵

(1. School of Environment and Surveying Engineering, Suzhou University, Suzhou 234000, China; 2. Institute of Eco-environmental and Soil Sciences, Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 3. College of Geoscience and Surveying Engineering, China University of Mining and Technology-Beijing, Beijing 100083, China; 4. Guangzhou Research Institute of Environmental Protection,

收稿日期:2025-03-06 录用日期:2025-06-14

作者简介:裘浪(1988—),男,江西南昌人,讲师,博士,主要从事丛枝菌根真菌与土壤重金属修复研究。E-mail:lq88@ahszu.edu.cn

基金项目:安徽省自然科学基金项目(2308085QD117);安徽省教育厅高校科学研究项目(2022AH051385);宿州学院博士科研启动基金项目(2023BSK060);宿州学院国家级大学生创新创业训练项目(202410379016);宿州学院省级大学生创新创业训练计划项目(S202410379038)

Project supported: Natural Science Foundation of Anhui Province, China (2308085QD117); Key Project of Anhui Provincial Department of Education (2022AH051385); Doctoral Scientific Research Foundation of Suzhou University (2023BSK060); National College Students' Innovation and Entrepreneurship Training Program of Suzhou University (202410379016); Provincial College Students' Innovation and Entrepreneurship Training Program of Suzhou University (S202410379038)

Guangzhou 510620, China; 5. State Key Laboratory for Fine Exploration and Intelligent Development of Coal Resources, China University of Mining and Technology-Beijing, Beijing 100083, China)

Abstract: The present study aimed to explore the combined effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and citric acid (CA) chelating agents on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil with *Medicago sativa*. A greenhouse pot experiment was conducted to investigate the effects of AMF inoculation on *M. sativa* growth, the concentration and accumulation of heavy metal V, Cd, Cr, Cu, Pb, and As, and soil acid-extractable metal concentration under different levels (0, 5, and 10 mmol · kg⁻¹) of CA application in the soil contaminated with complex heavy metals. Compared with the non-CA treatment, 5 and 10 mmol · kg⁻¹ CA treatments significantly decreased the root mycorrhizal colonization, shoot and root dry weight of *M. sativa* by 15.1%–19.2% ($P < 0.05$), 17.0%–27.4% and 26.2%–37.1% ($P < 0.01$), respectively; while they significantly enhanced the concentration of heavy metals V, Cd, Cr, Cu, Pb, and As in the plant and bioconcentration factor ($P < 0.001$), with an increased heavy metal concentration of 71.0, 3.60, 12.4, 2.87, 14.7 times, and 5.09 times for plant shoot and 1.87, 4.94, 2.68, 2.87, 9.66 times, and 4.12 times for plant root, respectively. AMF inoculation could alleviate the inhibition effect of CA application, and AMF inoculation treatments significantly improved plant dry weight ($P < 0.001$), and decreased the concentrations of V, Cd, Cr, Pb, and As in the shoot and root when compared to non-AMF inoculation. The combination treatment of AMF inoculation and 10 mmol · kg⁻¹ CA could significantly increase the accumulation of V, Cd, Cr, Cu, Pb, and As in plant shoot and root ($P < 0.001$), showing the best heavy metals removal efficiency. The analysis of variance results showed that the concentrations of acid-extractable metals V, Cd, Cr, Cu, Pb and As in the rhizosphere soil were significantly affected by CA factor ($P < 0.001$). The univariate linear regression equation of plant shoot V, Cd, Cr, Cu, Pb and As accumulation and rhizosphere soil acid-extractable metal concentration were established, and the coefficients of determination (R^2) for six heavy metals were above 0.60. Combination of 10 mmol · kg⁻¹ CA and AMF inoculation could accumulate heavy metals to the plant aboveground due to the increased soil available heavy metal concentration in soil, and AMF inoculation could alleviate the growth inhibition effect of CA application, thus improving the phytoextraction efficiency of *M. sativa* for remediation of heavy metal contaminated soil.

Keywords: arbuscular mycorrhizal fungi; chelator; phytoextraction; mycorrhizal colonization rate; acid-extractable metal

我国矿产资源丰富,但矿山开采、冶炼、尾矿、冶炼废渣和矿渣堆放等活动,已造成矿区及其周边农田土壤不同程度的重金属污染。重金属可在土壤-植物系统中迁移转运,通过食物链直接或间接危及农产品安全和人体健康,从而成为社会关注的热点环境问题。因此,关于如何科学高效地修复污染土壤中重金属的研究备受关注。

紫花苜蓿(*Medicago sativa*)作为一种多年生豆科草本植物,具有生物量高、根系发达等特点^[1],对重金属镉(Cd)、铅(Pb)、铬(Cr)、镍(Ni)、锌(Zn)和钒(V)胁迫具有较强的耐受性和富集能力^[2-3],因此其常被作为重金属污染土壤中适宜的修复植物。但是自然条件下,土壤和沉积物中重金属以残渣态为主,这往往限制着修复植物富集重金属的应用潜力。研究表明,螯合剂能够活化增强土壤中重金属的生物有效性,为植物吸收创造有利条件,促使植物吸收并向地上部迁移重金属,从而减少污染土壤中重金属含量,因此其被广泛用于螯合诱导植物修复重金属污染土壤研究^[4]。目前常用螯合剂主要分为两类:羧基氨基酸类螯合剂和天然小分子有机酸类螯合剂,前者以人工合成螯合剂EDTA(乙二胺四乙酸)为代表,后者以一些低分子有机酸(如柠檬酸、草酸或苹果酸)为代

表。螯合剂诱导植物修复重金属污染土壤的效果受到螯合剂种类、植物种类、土壤理化性质、重金属含量等因素影响,其中就螯合剂种类来说,考虑到螯合剂使用的环境风险,越来越多学者在应用中选择具有较强螯合能力、易生物降解且低毒性的小分子有机酸作为人工合成螯合剂的替代品^[5]。

天然小分子有机酸——柠檬酸(Citric acid, CA)作为一种三羧酸类化合物螯合剂,可从土壤矿质上解析金属离子,与之结合形成有机酸-重金属络合物,促进植物吸收重金属,从而提高植物修复效率,同时其在环境中具有低毒性和易降解性,不会对环境造成二次污染^[6]。因此,柠檬酸被广泛应用到螯合诱导植物修复研究中,例如陶荣浩等^[7]的田间试验结果表明,施加柠檬酸不仅能够提升玉米生物量和产量,而且能强化玉米对土壤Cd和Pb的吸收,且提取的重金属主要富集在植株非食用部位。刘桂华等^[8]研究发现,施加一定浓度柠檬酸、苹果酸和酒石酸3种有机酸能够提高龙葵对贵州地区黄壤重金属Cd的吸收与转运能力。Qureshi等^[9]的研究结果表明,2.5、5 mmol · kg⁻¹柠檬酸不仅能够改善植物对必需营养元素(K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、Fe²⁺和P)的吸收,而且显著提高植株体内Cr积累量。张雅睿等^[10]通过大田试验研究发现,施加

柠檬酸等4种螯合剂对商陆生长无负面影响,且均能够促进商陆修复污染农田土壤Cd和砷(As)。以上研究都表明,柠檬酸螯合剂可与重金属发生螯合活化作用,改变土壤中重金属有效态含量,促进修复植物对重金属的吸收与迁移转运能力。

然而,研究发现施加高浓度柠檬酸及其金属螯合物通常会对修复植物生理生态代谢活动和生长具有胁迫作用(例如引起植物黄化、萎蔫,甚至是死亡),极大地影响修复植物提取效率^[9],而植物提取技术的首要关键是成功建立起目标植被和促进植被生长。丛枝菌根真菌(AMF)是一类能与世界80%以上的陆生植物根系形成互惠共生的菌根共生体^[11]。研究表明,重金属胁迫下AMF不仅能够帮助宿主植物吸收更多养分和提高植物重金属耐受能力,而且对维持植物生产力起着决定性作用^[12]。目前大量研究表明,作为一种生物强化技术,AMF-植物联合已被广泛应用于重金属污染土壤修复中,主要得益于菌根能够强化修复植物对重金属的转运富集作用,同时通过促进植物营养元素的吸收、稳定细胞内氧化还原平衡以及限制相关基因表达等方式增强其抗逆性^[12-13]。理论上结合柠檬酸与丛枝菌根真菌的各自优势,二者联合对提高植物吸收与积累重金属具有取长补短的效果;因此,AMF介导的柠檬酸螯合诱导植物修复技术在我国重金属污染土壤治理方面具有一定应用前景。

本研究采用温室盆栽试验,以湖南怀化市辰溪县船溪乡一处钒矿周边复合污染(V、Cd、Cr、Cu、Pb与As)土壤为供试土壤,以不接种AMF为对照,研究不同柠檬酸浓度施加水平(0、5、10 mmol·kg⁻¹土壤)下,接种AMF对紫花苜蓿修复复合重金属污染土壤的作用,旨在探讨AMF-植物-柠檬酸联合修复技术对重金属污染土壤的萃取能力。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试土壤

本研究供试土壤(0~20 cm)采自湖南省怀化市辰溪县船溪乡一处钒尾矿渣周边(27°59'54"N,110°41'15"E)。供试土壤的基本理化性质见表1。供试土壤在去除粗根和细根以及其他可见杂质、过2 mm筛后,经121℃高压灭菌2 h,风干后装盆。试验用盆为塑料盆,规格为:上口径14.3 cm、下内径9 cm、盆高10.5 cm。

1.1.2 供试菌剂

供试AMF菌株为摩西斗管囊霉(*Funneliformis*

mosseae, BGC XJ01),由北京市农林科学院植物营养与资源环境研究所提供,后经砂土栽培玉米扩繁培养3个月,收获期去除地上部分,把玉米根系剪断混匀于砂土中,装入无菌自封袋。菌剂包含感染根段、根外菌丝和真菌孢子^[14]。

1.1.3 供试种子

供试紫花苜蓿种子购于江苏正大草业,种子首先用10% H₂O₂表面灭菌10 min,再用无菌水冲洗数次后,用于盆栽播种。

1.1.4 供试螯合剂

供试柠檬酸为分析纯柠檬酸试剂(≥99.5%, Macklin)。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计

根据前期柠檬酸施加浓度梯度预试验结果,筛选

表1 供试重金属污染土壤的基本理化性质

Table 1 Soil chemical properties, texture, and total metal concentration of the study site

项目 Item	指标 Index	数值 Value	我国土壤金属背景值 Background concentrations of soil elements of China
土壤化学性质 Soil chemical property	pH(H ₂ O)	6.91	
	有机碳 Soil organic carbon/(g·kg ⁻¹)	2.30	
	总氮 Total N/(g·kg ⁻¹)	0.42	
	总磷 Total P/(g·kg ⁻¹)	0.71	
	总钾 Total K/(g·kg ⁻¹)	6.62	
	碱解氮 Available N/(mg·kg ⁻¹)	54.6	
	速效磷 Olsen-P/(mg·kg ⁻¹)	5.63	
	有效钾 Available K/(mg·kg ⁻¹)	61.2	
土壤机械组成 Soil texture/%	砂粒 Sand(0.05~2 mm)	53	
	粉粒 Silt(0.002~0.05 mm)	25	
	黏粒 Clay(<0.002 mm)	22	
土壤重金属 Soil heavy metal concentration/(mg·kg ⁻¹)	总钒 Total V	1 705	82.0
	总镉 Total Cd	2.09	0.1
	总铬 Total Cr	169.7	61.0
	总铜 Total Cu	77.8	22.6
	总铅 Total Pb	100.5	26.0
	总砷 Total As	124.4	11.2
	酸溶态钒 Acid-extractable V	94.4	
	酸溶态镉 Acid-extractable Cd	0.15	
	酸溶态铬 Acid-extractable Cr	4.56	
	酸溶态铜 Acid-extractable Cu	1.64	
	酸溶态铅 Acid-extractable Pb	3.75	
	酸溶态砷 Acid-extractable As	4.38	

出 5、10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸浓度适合作为解析钒矿周边污染土壤中的可溶态钒化合物。本试验采用 2×3 双因素完全随机设计, 设置接种 AMF 和施加柠檬酸 2 个因素, 共计 6 个处理, 每个处理重复 4 次, 具体为: 不接种 AMF 和不施加柠檬酸(对照); 单施 5 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸; 单施 10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸; 单接种 AMF; 接种 AMF 和施加 5 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸; 接种 AMF 和施加 10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸。称取 1.1 kg 风干灭菌土壤装于塑料盆中, 然后用自来水浇至饱和, 保持土壤水平衡 2 周。针对接种 AMF 处理, 每盆加入 50 g AMF 菌剂, 并与盆栽上部分供试土壤基质均匀混合, 相应的未接种处理每盆加入同等质量灭菌 AMF 菌剂。每盆播种紫花苜蓿种子 50 粒, 发芽后间苗至 15 株。待生长 60 d 后, 以 7 d 为间隔, 分 2 次将柠檬酸施加至相应处理盆栽。所有盆栽均以 KNH₄NO₃、KH₂PO₄ 和 KNO₃ 形式施入底肥 N 100 mg·kg⁻¹、P 20 mg·kg⁻¹ 和 K 100 mg·kg⁻¹, 同时每 2 天称质量浇水至土壤最大持水量的 60%。盆栽试验于广东省科学院生态环境与土壤研究所人工大棚中进行, 自然采光, 生育期内温度为 20~30 °C, 定期交换盆栽位置。

1.2.2 样品采集

生长 90 d 后, 将植株地上部和根系分别收获, 其中取少许新鲜植株根系用于菌根侵染率的测定, 随后将植株地上部分自茎基部剪下、洗净后, 70 °C 烘干至恒质量。将附着在植株根上的松散土壤抖落, 收集并混合均匀, 形成根际土壤样品, 过筛、风干后, 用于土壤化学性质的测定。

1.3 测定项目和方法

1.3.1 植物生长指标测定

采用烘干法测定植物地上部与根系生物量。

1.3.2 根系侵染率的测定

将根系清洗干净, 剪成 1~1.5 cm 根段后, 采用改进后的 Phillips 等^[15]的方法测定侵染率, 即用 10% KOH 溶液浸泡新鲜植物根段 24 h, 随后用清水漂洗数次, 然后用 0.05% 曲利苯蓝染色浸泡 12 h, 洗去染色液后, 将植物根样品放于乳酸甘油水中, 每个重复处理挑取 2 组 15 个细根制片, 在显微镜下观察被侵染根段数, 侵染率计算公式为: 侵染率=被侵染根段数/总观察根段数×100%^[16]。

1.3.3 植物重金属含量和积累量的测定

称取 0.500 g 磨碎的植物地上部(茎和叶)和根系样品, 加入适量 HNO₃/HCl(6:2 V/V), 随后用微波系统消解, 制备待测溶液, 定容过滤后, 采用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES)测定植物样品消煮液

中 V、Cd、Cr、Cu、Pb 与 As 含量, 然后乘以相应地上部与根系干质量, 即为植物组织相应重金属的积累量。

1.3.4 植物重金属富集系数和转移系数

重金属富集系数(BF)=植物地上部重金属含量(mg·kg⁻¹)/初始土壤重金属含量(mg·kg⁻¹)

重金属转移系数(TF)=植物地上部重金属含量(mg·kg⁻¹)/根系重金属含量(mg·kg⁻¹)。

1.3.5 土壤重金属酸溶态含量的测定

针对不同处理的根际土壤重金属 V、Cd、Cr、Cu、Pb 与 As 的有效态含量, 采用改进的 BCR 连续提取法中的酸溶态含量来表示^[17], 提取液通过振荡、过滤后, 同样采用 ICP-OES 测定其相应含量。

1.4 统计分析

所有数据均表示为均值±标准误差, 采用 Kolmogorov-Smirnov 检验数据的正态性, 采用 Levene 检验数据方差异质性特征。采用 SAS 8.0 统计软件进行双因素方差分析, 采用最小显著差数法(LSD)进行多重比较, 显著性水平选择 α=0.05。采用 SigmaPlot 14.0 作图。

2 结果与分析

2.1 不同处理对植株根系侵染率的影响

由图 1 可知, 接种 AMF 的紫花苜蓿根系侵染率在 49.2%~60.8% 之间, 表明植株与供试 AMF 菌株建立了良好的共生关系。与无柠檬酸施加相比, 接种 AMF 处理在 5、10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸水平下显著降低紫花苜蓿根系侵染率, 分别降低了 19.2% 和 15.1%(P<0.05)。另外, 本试验中两个未接种 AMF 处理被观察到极低的菌根侵染率(0.83%), 这可能是由于灭菌土壤基质中未完全灭活的土著 AMF 侵染导致的。

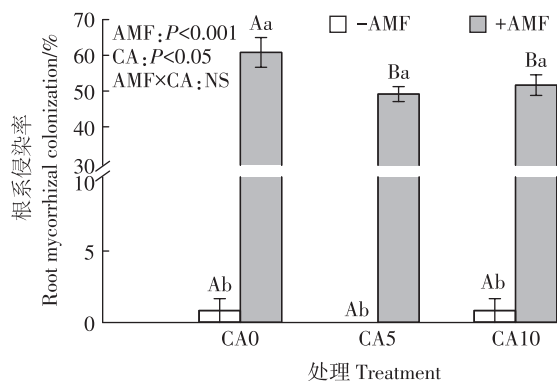
2.2 不同处理对植株生物量的影响

施加 5、10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸显著降低紫花苜蓿地上部和根系干质量, 分别比无柠檬酸施加处理降低了 17.0%~27.4% 和 26.2%~37.1%(P<0.05), 表明施加 5、10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸后的土壤根际环境抑制紫花苜蓿生长(图 2)。3 个柠檬酸施加水平下, 接种 AMF 显著增加紫花苜蓿地上和根系干质量, 分别比未接种处理植株提高 31.4%~43.5% 和 63.2%~73.3%(P<0.05)。

2.3 不同处理对植株重金属含量的影响

由图 3、图 4 可知, 对各重金属元素而言, 同一处理下的紫花苜蓿地上部重金属含量均低于相应根系, 表明紫花苜蓿吸收土壤中 V、Cd、Cr、Cu、Pb 与 As 元素主要集中在根系。

施加 5、10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸显著提高紫花苜蓿



-AMF: 不接种 AMF; +AMF: 接种 AMF; CA0: 不施加柠檬酸; CA5: 施加 5 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸; CA10: 施加 10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸。图中数值为均值±标准误差 (n=4)。不同大写字母表示同一接种处理在不同柠檬酸浓度水平间差异显著 (P<0.05); 不同小写字母表示同一柠檬酸浓度水平下不同接种处理间差异显著 (P<0.05)。下同。

-AMF: Non-AMF inoculation; +AMF: AMF inoculation; CA0: No citric acid applied; CA5: 5 mmol·kg⁻¹ citric acid applied; CA10: 10 mmol·kg⁻¹ citric acid applied. Bars represent mean±standard error (SE). Different uppercase letters indicated significant difference among citric acid application levels under the same inoculation treatment at 0.05 level. Different lowercase letters indicated significant difference between inoculation treatments in the same citric acid application level at 0.05 level. The same below.

图1 不同柠檬酸浓度施加水平下接种 AMF 对紫花苜蓿根系侵染率的影响

Figure 1 Effects of AMF inoculation on root mycorrhizal colonization rate of *Medicago sativa* under different levels of citric acid application

地上部重金属 V、Cd、Cr、Cu、Pb 与 As 含量, 分别比无柠檬酸施加处理平均提高了 71.0、3.60、12.4、2.87、14.7 倍与 5.09 倍 (P<0.05) (图 3)。无柠檬酸施加处理下, 接种 AMF 紫花苜蓿地上部 V、Cd、Cr、Cu、Pb 与 As 含量均高于未接种处理, 但二者无显著差异。5、10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸水平下, 与未接种处理相比, 接种 AMF 均降低紫花苜蓿地上部 V、Cd、Cr、Pb 与 As 含量,

其中 5 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸水平下, 接种 AMF 植株地上部 Cd 和 As 含量均显著低于相应未接种处理 (P<0.05); 10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸水平下, 接种 AMF 显著降低植株地上部 Cd 和 Cr 含量 (P<0.05)。但对于 Cu 来说, 接种 AMF 提高了植株地上部 Cu 含量, 其中 10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸水平下, 接种 AMF 植株地上部 Cu 含量比未接种处理植株显著提高 23.1% (P<0.05)。

施加 5、10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸显著提高紫花苜蓿根系重金属 V、Cd、Cr、Cu、Pb 与 As 含量, 分别比无柠檬酸施加处理平均提高了 1.87、4.94、2.68、2.87、9.66 倍与 4.12 倍 (P<0.05) (图 4)。无柠檬酸施加处理下, 接种 AMF 紫花苜蓿根系 V、Cd、Cr、Cu 与 Pb 含量均高于相应未接种处理植株, 但仅 Cu 有显著差异; 相反, 接种 AMF 提高了植株根系 As 含量, 但无显著差异 (P>0.05)。5、10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸水平下, 接种 AMF 较未接种均能够降低紫花苜蓿根系 V、Cd、Cr、Pb 与 As 含量, 其中 5 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸水平下, 接种 AMF 显著降低植株根系 V 含量, 而其他元素与未接种处理间无显著差异; 10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸水平下, 接种 AMF 植株 V 和 Cr 含量均显著低于相应未接种处理植株 (P<0.05), 其他元素与未接种处理无显著差异。与植株地上部 Cu 含量类似, 接种 AMF 在 10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸水平下显著提高植株根系 Cu 含量, 比未接种处理提高 15.3% (P<0.05)。

2.4 不同处理对植株重金属积累量的影响

图 5 为不同处理下紫花苜蓿地上部重金属积累量。施加 5、10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸显著提高植株地上部重金属积累量 (P<0.05), 分别比无柠檬酸施加处理植株地上部重金属 V、Cd、Cr、Cu、Pb 与 As 积累量平均提高了 54.3、2.58、9.55、2.03、11.5 与 3.80 倍 (P<0.05)。

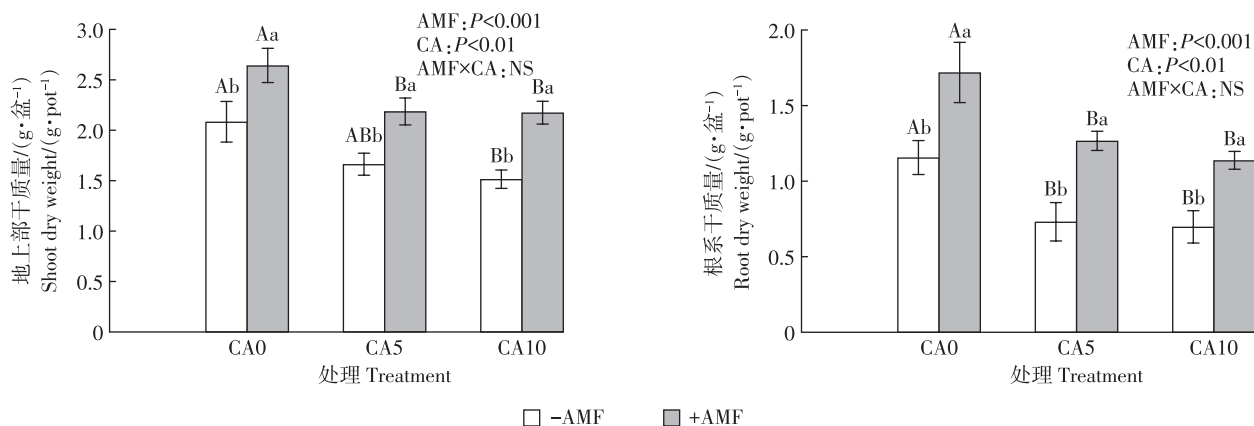


图2 不同柠檬酸浓度施加水平下接种 AMF 对紫花苜蓿生物量的影响

Figure 2 Effects of AMF inoculation on shoot and root dry weights of *Medicago sativa* under different levels of citric acid application

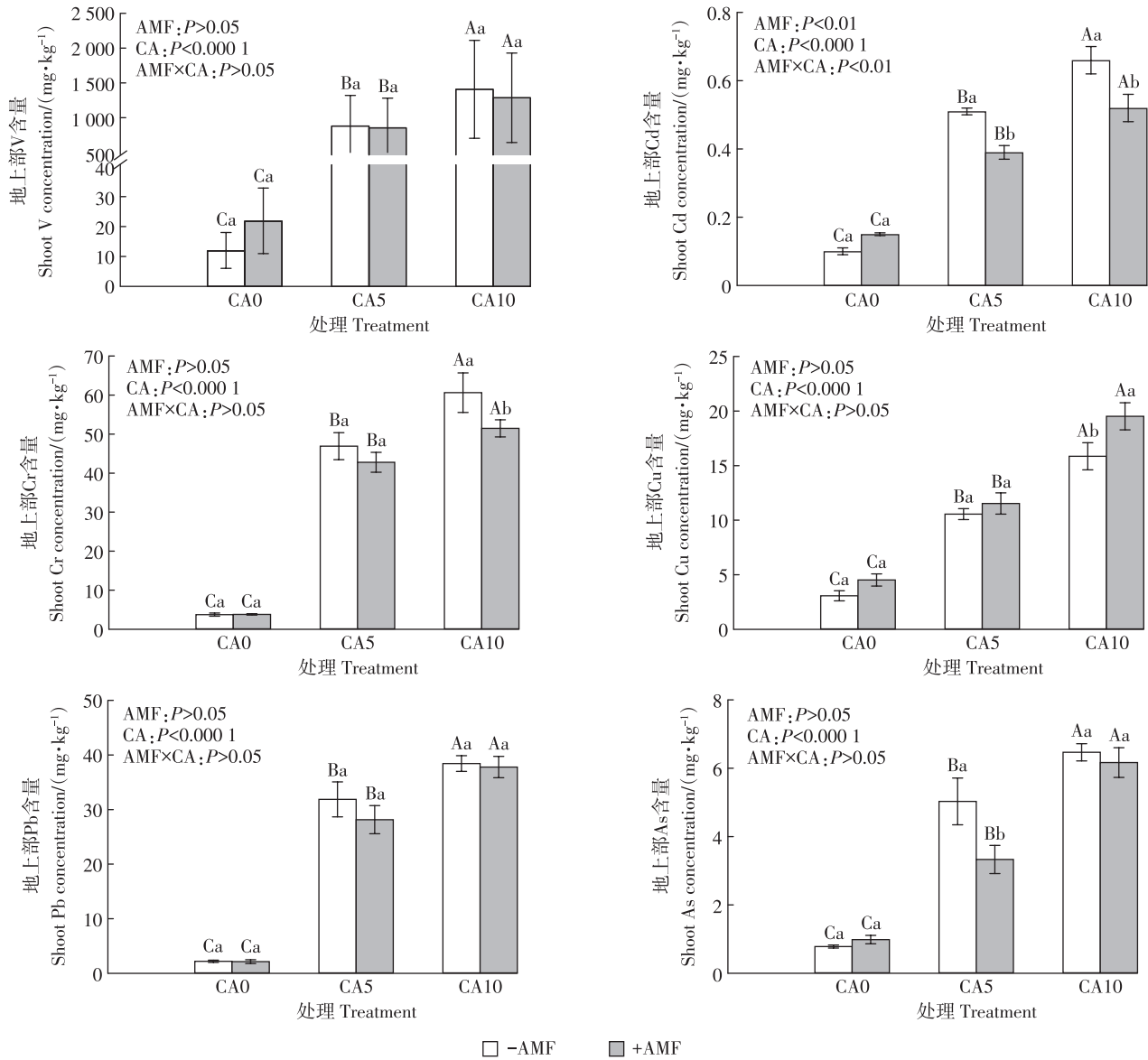


图3 不同柠檬酸浓度施加水平下接种AMF对紫花苜蓿地上部重金属含量的影响

Figure 3 Effects of AMF inoculation on shoot heavy metal concentrations of *Medicago sativa* under different levels of citric acid application

3个柠檬酸施加水平下,接种AMF均能够提高紫花苜蓿地上部重金属积累量(5 mmol·kg⁻¹柠檬酸水平下As除外)。无柠檬酸施加处理下,接种AMF显著提高了紫花苜蓿地上部V、Cd与Cu积累量(P<0.05),其他元素与未接种处理无显著差异。5 mmol·kg⁻¹柠檬酸水平下,接种AMF植株地上部Cr与Cu积累量显著高于未接种AMF处理植株(P<0.05),其他元素与未接种处理无显著差异;10 mmol·kg⁻¹柠檬酸水平下,接种AMF显著提高植株地上部V、Cr、Cu、Pb与As积累量,分别比未接种处理提高了32.7%、23.7%、76.9%、40.6%与36.4%(P<0.05);植株地上部Cd积累量与未接种处理间无显著差异。所有处理中,施加10 mmol·

kg⁻¹柠檬酸和接种AMF联合处理下紫花苜蓿地上部各重金属积累量均表现为最高,说明该组合对强化紫花苜蓿修复重金属污染土壤效果最好。

由图6可知,施加柠檬酸显著影响植株根系重金属积累量(P<0.05,除Cu外)。与不施加柠檬酸处理相比,施加5、10 mmol·kg⁻¹柠檬酸显著提高紫花苜蓿根系V、Cd、Cr、Pb与As含量,平均分别提高了81%、2.67、1.41、2.87、6.00倍与2.26倍(P<0.05)。与不接种处理相比,接种AMF在3个柠檬酸施加水平下均能够提高紫花苜蓿根系重金属积累量。无柠檬酸施加水平下,接种AMF显著提高植株根系V、Cd、Cr、Cu与Pb积累量(P<0.05),As积累量与未接种处理间无显著

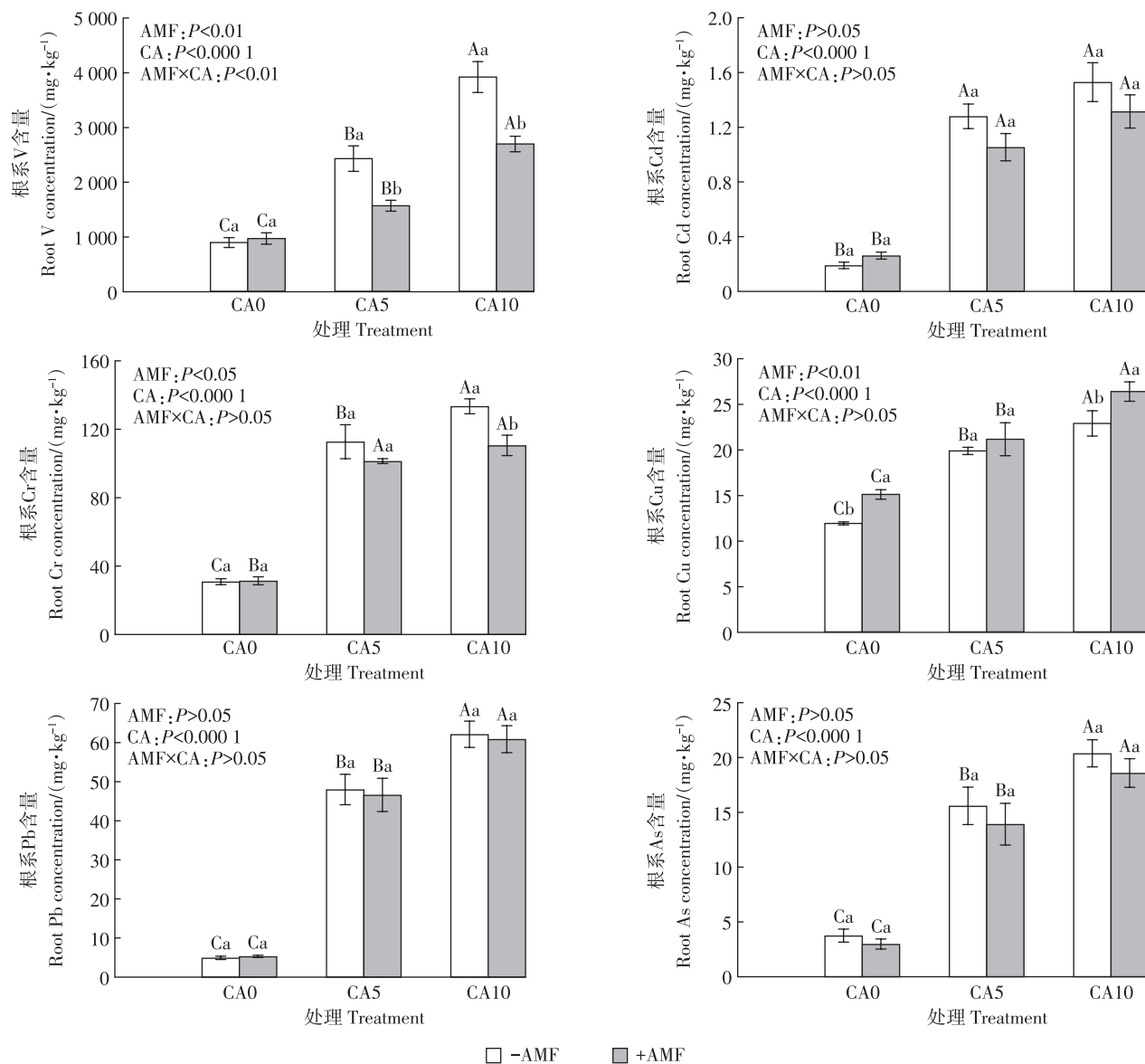


图4 不同柠檬酸浓度施加水平下接种AMF对紫花苜蓿根系重金属含量的影响

Figure 4 Effects of AMF inoculation on root heavy metal concentrations of *Medicago sativa* under different levels of citric acid application

差异。5、10 mmol·kg⁻¹柠檬酸水平下,接种AMF显著提高植株根系Cd、Cr、Cu与Pb积累量,分别比相应未接种处理提高了46.7%、45.3%、86.1%与66.7% ($P < 0.05$);植株根系V积累量在5 mmol·kg⁻¹柠檬酸水平下与未接种处理达到显著差异 ($P < 0.05$)。植株根系As积累量在10 mmol·kg⁻¹柠檬酸水平下较未接种处理显著提高 ($P < 0.05$)。

2.5 不同处理对植株重金属富集系数和转运系数的影响

方差分析结果表明,紫花苜蓿对重金属V、Cd、Cr、Cu、Pb与As的BF均受到柠檬酸因素显著影响 ($P < 0.05$)。由表2可知,与无柠檬酸施加处理相比,施加

5、10 mmol·kg⁻¹柠檬酸明显提高了紫花苜蓿对重金属的BF ($P < 0.05$)。无柠檬酸施加处理下,接种AMF与未接种植株重金属的BF表现为无明显差异。5、10 mmol·kg⁻¹柠檬酸水平下,接种AMF降低了紫花苜蓿对重金属V、Cd、Cr、Pb与As的BF,其中植株对Cd的BF分别比未接种降低20.8%和21.9% ($P < 0.05$);相反,接种AMF提高了植株对重金属Cu的BF,在5、10 mmol·kg⁻¹柠檬酸水平下,分别比未接种处理提高7.1%和25.0%,且后者达到显著水平 ($P < 0.05$)。

紫花苜蓿对重金属V、Cd、Cr、Cu与Pb的TF均受到柠檬酸因素显著影响 ($P < 0.05$)。施加5、10 mmol·kg⁻¹柠檬酸明显提高了紫花苜蓿对重金属V、Cr、Cu与

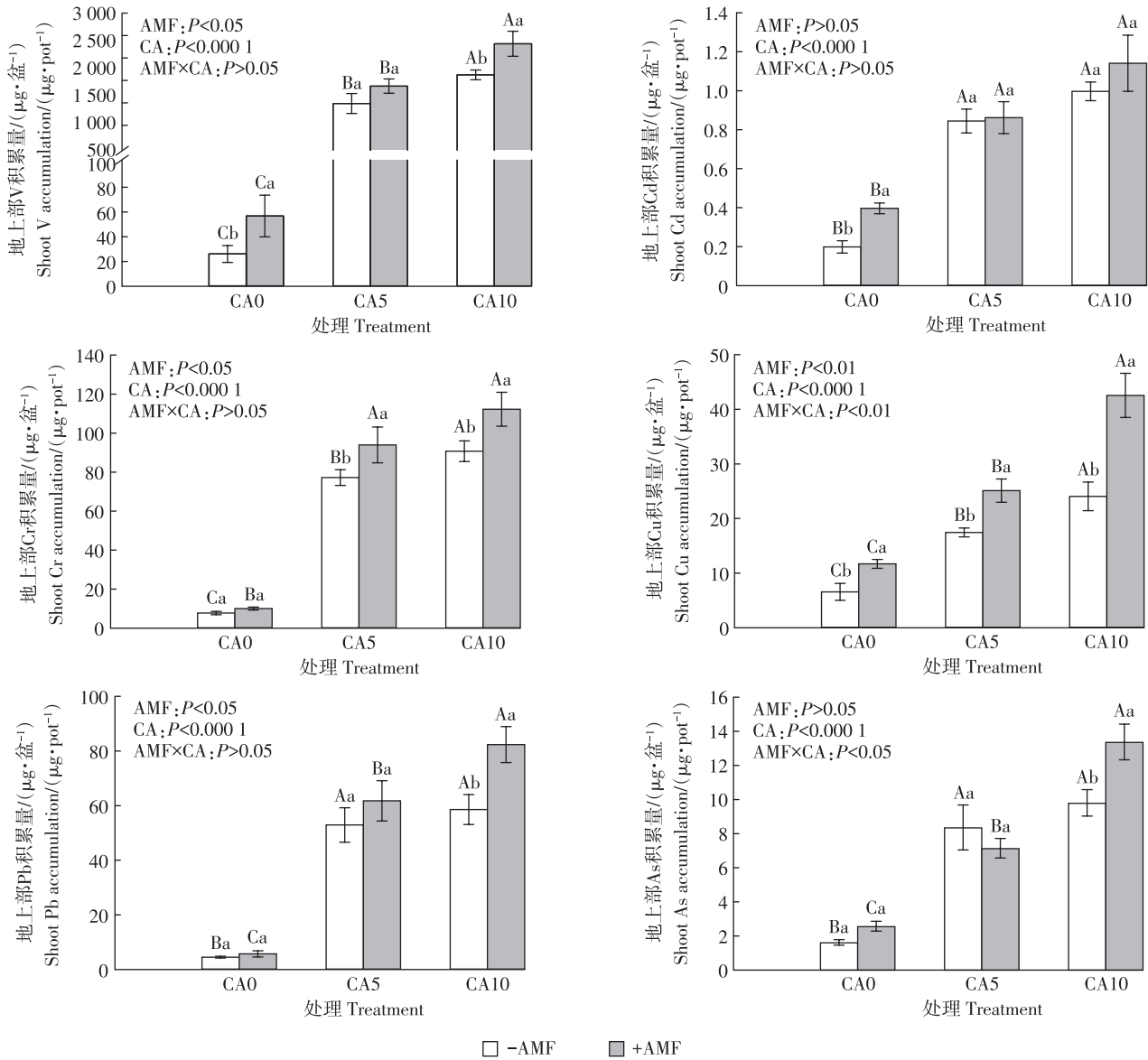


图5 不同柠檬酸浓度施加水平下接种 AMF 对紫花苜蓿地上部重金属积累量的影响

Figure 5 Effects of AMF inoculation on shoot heavy metal accumulations of *Medicago sativa* under different levels of citric acid application

Pb 的 *TF*, 同时明显降低了植株对 Cd 的 *TF* ($P < 0.05$), 但对植株 As 的 *TF* 无明显影响。无柠檬酸施加处理下, 接种 AMF 与未接种植株对重金属的 *TF* 无明显差异。5、10 $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 柠檬酸水平下, 接种 AMF 提高了紫花苜蓿对重金属 V、Cr 与 Cu 的 *TF*, 同时降低了植株对 Cd、Pb 与 As 的 *TF*, 其中接种 AMF 植株对重金属 V 的 *TF* 在 5、10 $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 柠檬酸水平下分别比未接种处理显著提高了 54.0% 和 47.0% ($P < 0.05$); 其他元素的 *TF* 较未接种处理无显著差异。

2.6 不同处理对植株根际土壤重金属酸溶态含量和 pH 的影响

紫花苜蓿根际土壤 V、Cd、Cr、Cu、Pb 与 As 酸溶态

含量均受到柠檬酸因素显著影响 ($P < 0.05$)。随着施加柠檬酸浓度水平的增加, 紫花苜蓿根际土壤重金属酸溶态含量呈现增加趋势 (表 3)。与无柠檬酸施加处理相比, 施加 5、10 $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 柠檬酸明显提高了紫花苜蓿根际土壤重金属酸溶态含量, 分别提高了 41.7%~456% 和 51.0%~728% ($P < 0.05$)。无柠檬酸施加水平下, 接种 AMF 降低了植株根际土壤重金属 V、Cr、Cu、Pb 与 As 酸溶态含量, 相反却提高了土壤 Cd 酸溶态含量, 但与未接种处理下均无显著差异。5、10 $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 柠檬酸水平下, 接种 AMF 提高了紫花苜蓿根际土壤 V、Cd、Cr、Pb 与 As 酸溶态含量, 同时降低了土壤 Cu 酸溶态含量, 其中接种 AMF 植株根际土壤酸

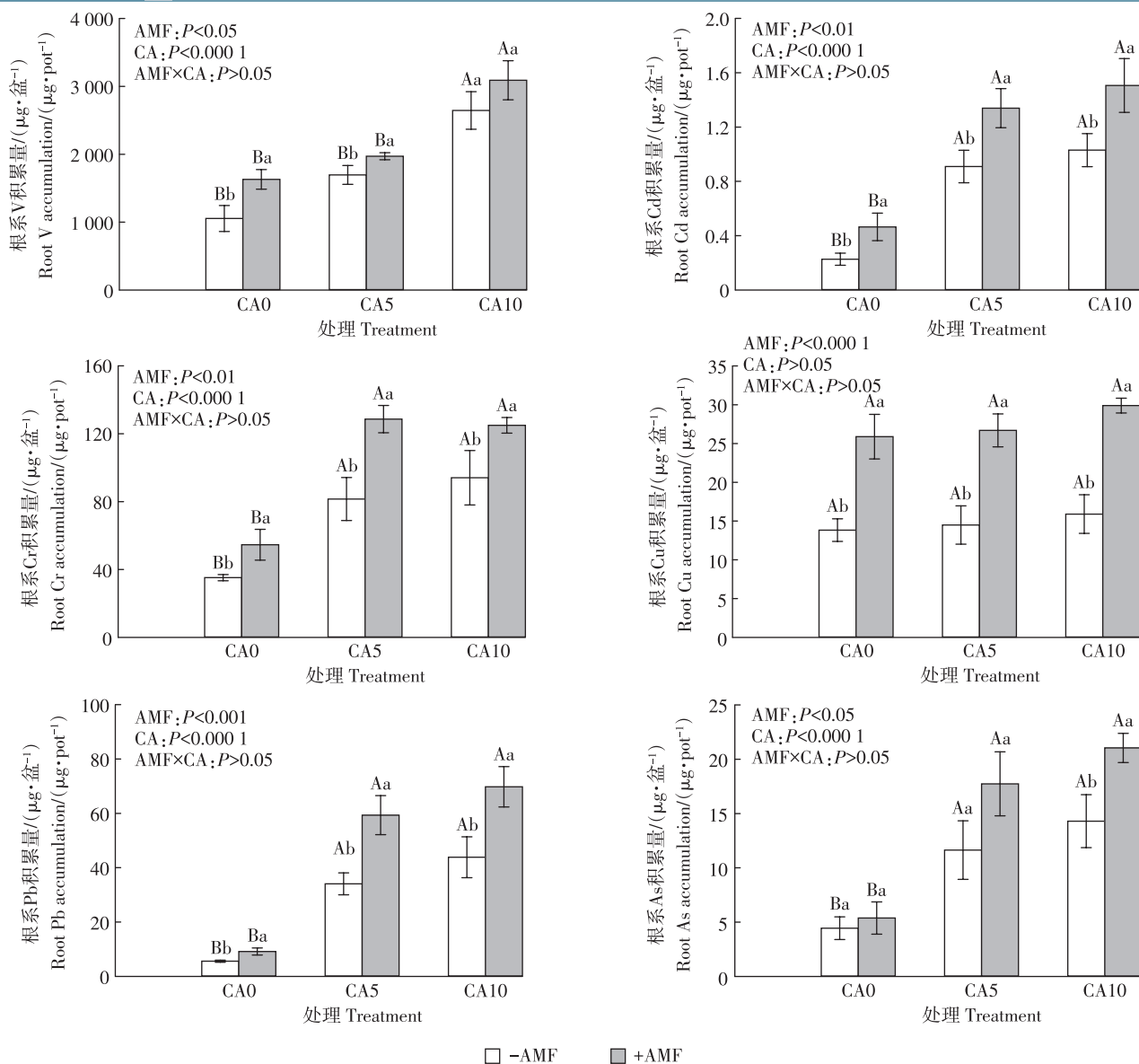


图6 不同柠檬酸浓度施加水平下接种AMF对紫花苜蓿根系重金属积累量的影响

Figure 6 Effects of AMF inoculation on root heavy metal accumulations of *Medicago sativa* under different levels of citric acid application

溶态V含量比未接种处理分别显著提高了22.1%和21.4% ($P < 0.05$); 接种AMF植株根际土壤酸溶态Pb含量在10 $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ 柠檬酸水平下比未接种植株显著提高11.6% ($P < 0.05$)。另外,紫花苜蓿地上部重金属积累量与相应根际土壤重金属酸溶态含量一元线性拟合结果均较好, P 值均小于0.000 1,说明两个数据之间具有显著性相关。8个重金属的相关系数 R^2 值均大于0.6,表明植株地上部重金属积累量明显受到土壤重金属酸溶态含量影响(表4)。

随着施加柠檬酸浓度水平的增加,紫花苜蓿根际土壤pH呈现逐渐降低趋势(表3),10 $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ 柠檬酸水平下,与无柠檬酸施加相比,不接种和接种AMF处理

均降低土壤pH,分别显著降低5.59%和5.46% ($P < 0.05$)。同一柠檬酸浓度施加水平下,接种AMF植株根际土壤pH低于相应未接种植株处理,但无显著差异。

3 讨论

3.1 接种AMF和柠檬酸施加对植物生长的影响

螯合剂对植物生长的影响与众多因素有关,包括微生物种群、植物类别、螯合剂类型及其施用方式、土壤重金属成分和土壤pH等^[18]。本研究发现,施加5、10 $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ 柠檬酸明显降低了紫花苜蓿地上部和根系的干质量,表明施加一定浓度柠檬酸对紫花苜蓿生长具有毒害作用。Turgut等^[19]的研究同样发现,在

表2 不同柠檬酸浓度施加水平下接种 AMF 对紫花苜蓿重金属富集系数和转运系数的影响

Table 2 Effects of AMF inoculation on BF and TF of *Medicago sativa* on heavy metals under different levels of citric acid application

柠檬酸浓度 Citric acid concentration/(mmol·kg ⁻¹)	AMF	V		Cd		Cr		Cu		Pb		As	
		BF	TF	BF	TF	BF	TF	BF	TF	BF	TF	BF	TF
0	-AMF	0.01±0.01c	0.01±0.01d	0.05±0.01d	0.50±0.04ab	0.02±0.01c	0.12±0.01b	0.04±0.01d	0.26±0.03d	0.02±0.01d	0.46±0.05c	0.01±0.01d	0.22±0.03a
	+AMF	0.01±0.01c	0.02±0.01d	0.07±0.01d	0.59±0.06a	0.02±0.01c	0.12±0.01b	0.06±0.01d	0.30±0.04d	0.02±0.01d	0.42±0.09c	0.01±0.01d	0.36±0.07a
5	-AMF	0.52±0.05b	0.36±0.02c	0.24±0.01b	0.40±0.02bc	0.28±0.02b	0.42±0.02a	0.14±0.01c	0.53±0.03c	0.32±0.03bc	0.67±0.07a	0.04±0.01bc	0.35±0.08a
	+AMF	0.50±0.02b	0.55±0.04a	0.19±0.01c	0.38±0.02c	0.25±0.01b	0.43±0.05a	0.15±0.01c	0.55±0.06bc	0.28±0.03c	0.62±0.09ab	0.03±0.01c	0.25±0.04a
10	-AMF	0.83±0.03a	0.36±0.03c	0.32±0.02a	0.44±0.03bc	0.36±0.03a	0.45±0.04a	0.20±0.02b	0.70±0.05ab	0.38±0.01a	0.63±0.05ab	0.05±0.01a	0.33±0.02a
	+AMF	0.75±0.04a	0.48±0.02b	0.25±0.02b	0.40±0.03bc	0.30±0.01b	0.47±0.04a	0.25±0.02a	0.74±0.06a	0.37±0.02ab	0.62±0.05ab	0.048±0.01a	0.32±0.02a
ANOVA	AMF	ns	***	**	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns
	CA	***	****	***	*	***	***	***	***	***	*	***	ns
	AMF×CA	ns	*	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

注: *表示 P<0.05, **表示 P<0.01, ***表示 P<0.001。ns 表示不显著。下同。

Note: *, **, and *** indicate significance at P<0.05, P<0.01, and P<0.001, respectively. ns indicates no significance. The same below.

表3 不同柠檬酸浓度施加水平下接种 AMF 对紫花苜蓿根际土壤重金属酸溶态含量和 pH 的影响

Table 3 Effects of AMF inoculation on *Medicago sativa* rhizosphere soil acid-extractable heavy metal concentrations and pH under different levels of citric acid application

柠檬酸浓度 Citric acid concentration/(mmol·kg ⁻¹)	AMF	酸溶态金属含量 Acid-extractable metal concentration/(mg·kg ⁻¹)						pH
		V	Cd	Cr	Cu	Pb	As	
0	-AMF	96±4d	0.18±0.02c	4.6±0.3c	1.6±0.1c	3.8±0.1d	4.6±0.3c	6.80±0.03a
	+AMF	88±4d	0.20±0.03c	4.5±0.3c	1.5±0.1c	3.5±0.1d	4.1±0.2c	6.77±0.08a
5	-AMF	136±6c	0.49±0.05b	12.0±0.9b	8.5±0.4b	16.8±1.4c	8.2±1.0b	6.70±0.06a
	+AMF	166±16ab	0.56±0.08b	13.3±1.4b	8.4±0.7b	19.2±1.4c	10.5±1.3ab	6.70±0.03a
10	-AMF	145±5bc	0.80±0.09a	16.6±1.5a	12.9±0.3a	22.3±0.9b	11.8±1.0a	6.42±0.08b
	+AMF	176±8a	0.83±0.05a	17.3±1.2a	12.5±0.3a	24.9±0.7a	12.8±0.6a	6.40±0.10b
ANOVA	AMF	*	ns	ns	ns	*	ns	ns
	CA	***	***	***	***	***	***	***
	AMF×CA	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns

表4 紫花苜蓿地上部重金属积累量与根际土壤重金属酸溶态含量的一元线性拟合方程

Table 4 Univariate linear prediction equation for plant shoot heavy metal accumulations and rhizosphere soil acid-extractable metal concentration

重金属 Heavy metal	一元线性拟合方程 Univariate linear prediction equation	n	R ²	F	P	RSS
V	y=24.833x-1 942.4	24	0.683 0	47.40	<0.000 1	64.82
Cd	y=1.016 9x+0.223 6	24	0.615 8	34.76	<0.000 1	0.403
Cr	y=7.305 2x-17.758	24	0.887 3	173.11	<0.000 1	4.807
Cu	y=2.042 9x+5.811 7	24	0.600 2	33.01	<0.000 1	5.238
Pb	y=3.188 3x-3.770 2	24	0.806 3	91.57	<0.000 1	7.921
As	y=0.972 1x-1.280 0	24	0.679 8	46.69	<0.000 1	3.982

Cd、Cr 和 Ni 污染土壤中施加 1.0 g·kg⁻¹ 或 3.0 g·kg⁻¹ 柠檬酸会降低向日葵生物量。这是因为柠檬酸分子中含有 3 个羧基(—COOH) 和一个羟基(—OH) 官能团,

该官能团能够提供孤对电子, 与金属离子形成配位键, 形成相对稳定的杂环化学复合物, 从而使得土壤中重金属的有效性提高, 有利于植物对其吸收; 但吸收到植物体内的重金属是以有机酸结合的形式积累在植物细胞原生质体中, 同样对植物生理代谢具有一定毒性, 但有研究认为该毒性要低于离子态金属对植物的毒性^[7]。本研究中, 施加 5、10 mmol·kg⁻¹ 柠檬酸均明显提高紫花苜蓿根际土壤重金属 V、Cd、Cr、Cu、Pb 与 As 的酸溶态含量, 土壤中重金属有效态含量过高时, 往往会抑制植株的生长, 导致其生物量下降。此外, 本研究中施加柠檬酸处理下土壤 pH 值降低了 0.07~0.38 个单位, 一定范围内也促进了污染土壤中多种金属阳离子的解吸。

关于施加柠檬酸对植物生长的影响仍然存在争议, 在一些研究中观察到了其对植物生长的促进效应^[20-23], 这可能是由于柠檬酸、草酸等作为植物根系

分泌物中主要有有机物,适当增加有利于促进植物吸收水分和养分,进一步改善植物生长状况^[24]。不同研究结果的差异可能与土壤结构、微生物群落、重金属螯合物的解吸物与螯合剂用量等因素有关^[22]。例如还有研究发现,土壤中施入柠檬酸不仅能与金属离子发生螯合作用,还可活化土壤固定态磷,将土壤或磷酸盐矿物中的磷素释放出来,这可能也对修复植物的生长具有一定促进作用^[25]。

大量研究表明,AMF-植物共生体能够增强植物生存力,缓解宿主植物受到的重金属以及其他逆境胁迫(包括土壤养分贫瘠、干旱、盐碱、寒冷以及病害等)^[12]。菌根侵染率大小直接反映AMF与侵染宿主植物的共生能力的强弱,影响逆境条件下菌根效应的发挥。本研究发现,施加5、10 mmol·kg⁻¹柠檬酸能够降低紫花苜蓿根系侵染率,这可能与土壤有效态重金属含量增加有关,重金属胁迫环境的加剧会进一步抑制植株根系被侵染程度。类似研究也发现,不同种类螯合剂与菌根之间存在不同的相互作用,例如人工合成螯合剂会降低根系侵染率,而生物可降解、毒性较小的螯合剂对根系侵染率影响较小^[26]。本研究中,施加柠檬酸处理下紫花苜蓿根系侵染率仍达到43.3%~73.3%,表明AMF与紫花苜蓿根系建立了良好的共生关系,进而缓解了施加柠檬酸对植株生长的胁迫环境。研究表明,AMF在土壤中能够形成庞大的根外菌丝网,通过根外菌丝的过滤机制和螯合作用,提高植物对土壤重金属的耐受能力,从而缓解重金属胁迫,强化重金属污染土壤植物修复的作用^[27]。

3.2 接种AMF和施加柠檬酸对土壤-植物系统中重金属迁移转运的影响

一般来说,土壤重金属有效态含量直接决定着植物对重金属的吸收能力。然而,土壤中重金属若以残渣态形式存在于土壤中,则严重影响修复植物对重金属的吸收和富集能力。本研究中,施加5、10 mmol·kg⁻¹柠檬酸提高了土壤重金属V、Cd、Cr、Cu、Pb与As酸溶态含量,这是因为柠檬酸含有带负电荷的羟基或羧基,可以与带正电荷的重金属形成稳定的螯合物,改变土壤中重金属的化学形态,提高其生物有效性,从而提高重金属在土壤-植物系统中的迁移转运,进而促进紫花苜蓿对重金属的吸收^[23]。本研究中,施加5、10 mmol·kg⁻¹柠檬酸明显提高了紫花苜蓿对重金属的富集系数,且施加10 mmol·kg⁻¹柠檬酸对紫花苜蓿富集重金属能力的影响要强于相应5 mmol·kg⁻¹柠檬酸水平,表明本研究中施加10 mmol·kg⁻¹柠檬酸有利

于增强土壤重金属离子活性,从而增加紫花苜蓿地上部对重金属的吸收与转运。

本研究发现,无柠檬酸施加水平下,接种AMF能够提高紫花苜蓿地上部和根系的V、Cd、Cr、Cu、Pb与As含量;相反,5、10 mmol·kg⁻¹柠檬酸施加水平下,接种AMF却明显降低植株地上部和根系的V、Cd、Cr、Pb与As含量。研究表明,AMF-植物共生体系对重金属的吸收转运作用主要与重金属类型及其污染程度、宿主植物种类与菌种等因素有关^[28-29]。本研究结果可能是因为当土壤中重金属有效态含量较低时,接种AMF能够提高植物地上部重金属含量,促进重金属向植物地上部转运^[30]。然而,当土壤重金属有效态含量超过一定阈值,AMF可抑制植物根系向上传递重金属,降低植物地上部重金属含量,即“生长稀释”效应^[31]。另外,3个柠檬酸浓度施加水平下,接种AMF表现为提高植株地上部和根系Cu含量,推测是因为施加柠檬酸后的土壤有效态Cu含量仍较低,有研究表明AMF可促进植物从金属缺乏或含量不高的土壤中吸收更多的微量元素(如Cu、Zn)^[32-33];同时与本研究中其他5种元素相比,Cu是植物生长不可或缺的微量元素,其在维持植物细胞结构与功能中发挥着关键作用,因此接种AMF的紫花苜蓿吸收了更多Cu元素,一定程度上有利于促进重金属胁迫条件下的菌根植物生长。

3.3 接种AMF和施加柠檬酸对紫花苜蓿重金属积累的影响

影响植物积累重金属的重要因素主要包括土壤重金属的生物有效性、富集系数和植物生物量^[34]。本研究发现,随着柠檬酸浓度施加水平的增加,紫花苜蓿地上部和根系的重金属积累量也呈现增加趋势,这主要得益于柠檬酸施加促进土壤重金属有效态含量的明显增加,两个数据间的一元线性拟合方程也表明植株地上部重金属积累量受到土壤重金属酸溶态含量显著影响。同时,在柠檬酸及重金属螯合物析出的土壤环境下,AMF改善了重金属胁迫环境下紫花苜蓿的生长,使修复植物具有更大的生物量,尽管修复植物体内重金属含量有所降低,但生物量的增加仍导致植株能够富集更多的重金属,从而提高植物修复效率^[35]。本研究中,10 mmol·kg⁻¹柠檬酸与接种AMF联合处理下紫花苜蓿地上部和根系不同重金属的积累量最高,说明二者联合强化紫花苜蓿吸收与积累重金属的效果最好。施加柠檬酸后,紫花苜蓿地上部不同重金属元素积累量存在明

显差异,原因主要有两方面:一是与供试土壤重金属元素含量水平有关;二是与柠檬酸螯合剂与不同重金属络合物的稳定常数大小有关,不同重金属和螯合剂之间存在选择性,因此对共存重金属的活化诱导能力不同,致使植物对不同重金属元素的吸收积累效应不同^[36-37]。

4 结论

(1)施加5、10 mmol·kg⁻¹柠檬酸明显降低了重金属污染土壤下的紫花苜蓿生长和根系菌根侵染率,表现出生长抑制现象。

(2)施加5、10 mmol·kg⁻¹柠檬酸明显提高了紫花苜蓿根际土壤V、Cd、Cr、Cu、Pb与As酸溶态含量,同时使土壤pH值下降0.07~0.38个单位,提升植物地上部对重金属的吸收转运能力,明显提高紫花苜蓿地上部和根系重金属含量及富集系数。

(3)接种AMF能够一定程度缓解施加柠檬酸对紫花苜蓿的生长抑制作用,改善其生物量,同时降低植株地上部和根系重金属V、Cd、Cr、Pb与As含量,而对Cu表现出促进吸收作用。

(4)综合植株生物量与重金属含量来看,接种AMF与10 mmol·kg⁻¹柠檬酸联合处理下紫花苜蓿地上部和根系吸收积累重金属V、Cd、Cr、Cu、Pb与As最高,说明二者联合能够强化紫花苜蓿植物提取修复污染土壤中重金属,这为AMF-植物-柠檬酸联合技术应用于重金属污染土壤治理提供了参考。

参考文献:

- [1] GAN C D, CHEN T, YANG J Y. Remediation of vanadium contaminated soil by alfalfa (*Medicago sativa* L.) combined with vanadium-resistant bacterial strain[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2020, 20: 101090.
- [2] PERALTA-VIDEA J R, GARDEA-TORRESDEY J L, GOMEZ E, et al. Effect of mixed cadmium, copper, nickel and zinc at different pHs upon alfalfa growth and heavy metal uptake[J]. *Environmental Pollution*, 2002, 119(3): 291-301.
- [3] ZHANG X Y, ZHANG H J, ZHANG Y X, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi alter carbohydrate distribution and amino acid accumulation in *Medicago truncatula* under lead stress[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2020, 171: 103950.
- [4] DO NASCIMENTO C W A, HESTERBERG D, TAPPERO R, et al. Citric acid-assisted accumulation of Ni and other metals by *Odontarrhena muralis*: implications for phytoextraction and metal foliar distribution assessed by μ -SXRF[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 260: 114025.
- [5] 韩少华, 唐浩, 黄沈发. 重金属污染土壤螯合诱导植物修复研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2011, 34(增刊1): 157-163. HAN S H, TANG H, HUANG S F. Review of chelate-induced phytoremediation in heavy metal contaminated soil[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 34(Suppl 1): 157-163.
- [6] 戴竹青, 彭文文, 王明新, 等. 盐酸羟胺强化柠檬酸淋洗修复重金属污染土壤[J]. *生态与农村环境学报*, 2020, 36(9): 1218-1225. DAI Z Q, PENG W W, WANG M X, et al. Citric acid elution enhanced by hydroxylamine hydrochloride for the remediation of heavy metal contaminated soil[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2020, 36(9): 1218-1225.
- [7] 陶荣浩, 高羽欣, 谢君豪, 等. 有机酸强化饲用玉米修复镉铅污染农田效果[J]. *农业环境科学学报*, 2024, 43(4): 823-834. TAO R H, GAO Y X, XIE J H, et al. Effect of organic acid enhancement on the remediation of cadmium-lead-polluted farmland by feed maize[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2024, 43(4): 823-834.
- [8] 刘桂华, 秦松, 柴冠群, 等. 低分子有机酸对贵州黄壤龙葵吸收镉的影响[J]. *南方农业学报*, 2020, 51(11): 2682-2689. LIU G H, QIN S, CHAI G Q, et al. Effects of low molecular weight organic acid on cadmium uptake by *Solanum nigrum* L. in yellow soil of Guizhou[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2020, 51(11): 2682-2689.
- [9] QURESHI F F, ASHRAF M A, RASHEED R, et al. Organic chelates decrease phytotoxic effects and enhance chromium uptake by regulating chromium-speciation in castor bean (*Ricinus communis* L.) [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 716: 137061.
- [10] 张雅睿, 黄益宗, 徐峰, 等. 螯合剂和有机酸对商陆修复镉砷污染农田的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2023, 42(9): 1936-1944. ZHANG Y R, HUANG Y Z, XU F, et al. Effects of chelating agents and organic acids on remediation of cadmium and arsenic complex contaminated farmland by *Phytolacca acinosa* Roxb[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(9): 1936-1944.
- [11] GENRE A, LANFRANCO L, PEROTTO S, et al. Unique and common traits in mycorrhizal symbioses[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 18(11): 649-660.
- [12] 杜运付, 伍金花, 高海健, 等. 菌根真菌修复重金属污染土壤研究进展[J]. *农业生物技术学报*, 2024, 32(7): 1681-1692. DU Y F, WU J H, GAO H J, et al. Research progress of mycorrhizal fungi on the remediation of heavy metal contaminated soil[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2024, 32(7): 1681-1692.
- [13] RIAZ M, KAMRAN M, FANG Y Z, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi-induced mitigation of heavy metal phytotoxicity in metal contaminated soils: a critical review[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 402: 123919.
- [14] QIU L, GAO W L, WANG Z G, et al. Citric acid and AMF inoculation combination-assisted phytoextraction of vanadium(V) by *Medicago sativa* in V mining contaminated soil[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28(47): 67472-67486.
- [15] PHILLIPS J M, HAYMAN D S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection[J]. *Transactions of the British Mycological Society*, 1970, 55(1): 158-160.
- [16] GIOVANNETTI M, MOSSE B. An evaluation of techniques for

- measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots[J]. *New Phytologist*, 1980, 84(3):489-500.
- [17] HAO L T, ZHANG B G, FENG C P, et al. Microbial vanadium (V) reduction in groundwater with different soils from vanadium ore mining areas[J]. *Chemosphere*, 2018, 202:272-279.
- [18] 王天顺, 陈伟, 杨玉霞, 等. 螯合剂处理下钻叶紫苑对土壤重金属的吸收富集效应[J]. 南方农业学报, 2020, 51(2):291-298. WANG T S, CHEN W, YANG Y X, et al. Effects of chelators on the uptake and accumulation of heavy metals by *Aster subulatus* Michx[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2020, 51(2):291-298.
- [19] TURGUT C, KATIE PEPE M, CUTRIGHT T J. The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus*[J]. *Environmental Pollution*, 2004, 131(1):147-154.
- [20] 陈伟, 廖洁, 杨玉霞, 等. 螯合剂对青葙吸收富集土壤中镉、铅、锌和铜的影响[J]. 南方农业学报, 2021, 52(9):2447-2456. CHEN W, LIAO J, YANG Y X, et al. Effects of chelators on the uptake and accumulation of cadmium, lead, zinc and copper in soil by *Celosia argentea* L.[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2021, 52(9):2447-2456.
- [21] 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.
- [22] FARID M, ALI S, RIZWAN M, et al. Citric acid assisted phytoextraction of chromium by sunflower; morpho-physiological and biochemical alterations in plants[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 145:90-102.
- [23] WANG K, LIU Y H, SONG Z G, et al. Chelator complexes enhanced *Amaranthus hypochondriacus* L. phytoremediation efficiency in Cd-contaminated soils[J]. *Chemosphere*, 2019, 237:124480.
- [24] 陆红飞, 乔冬梅, 齐学斌, 等. 外源有机酸对土壤pH值、酶活性和Cd迁移转化的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(3):542-553. LU H F, QIAO D M, QI X B, et al. Effects of exogenous organic acids on soil pH, enzyme activity, and cadmium migration and transformation[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(3):542-553.
- [25] WEI L L, CHEN C R, XU Z H. Citric acid enhances the mobilization of organic phosphorus in subtropical and tropical forest soils[J]. *Biology & Fertility of Soils*, 2010, 46(7):765-769.
- [26] 李瑞, 刘晓娜, 赵中秋. 螯合剂和AM菌根对玉米吸收重金属及重金属化学形态的影响[J]. 生态环境学报, 2014, 23(2):332-338. LI R, LIU X N, ZHAO Z Q. Effects of combined Chelator and AM on heavy metals uptake by maize (*Zea mays* L.) and their speciations in soil[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2014, 23(2):332-338.
- [27] 苗志加, 孟祥源, 李书缘, 等. 丛枝菌根真菌修复重金属污染土壤及增强植物耐性研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(2):252-262. MIAO Z J, MENG X Y, LI S Y, et al. Research progress on arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in remediation of heavy metal contaminated soil and enhancement of plant tolerance[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(2):252-262.
- [28] 伍松林, 张莘, 陈保冬. 丛枝菌根对土壤-植物系统中重金属迁移转化的影响[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(6):847-856. WU S L, ZHANG X, CHEN B D. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal translocation and transformation in the soil-plant continuum[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2013, 8(6):847-856.
- [29] EMAMVERDIAN A, DING Y L, MOKHBERDORAN F, et al. Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response[J]. *The Scientific World Journal*, 2015, 2015:756120.
- [30] WEI Y, SU Q, SUN Z J, et al. The role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant uptake, fractions, and speciation of antimony[J]. *Applied Soil Ecology*, 2016, 107:244-250.
- [31] WU S L, ZHANG X, SUN Y Q, et al. Chromium immobilization by extra- and intraradical fungal structures of arbuscular mycorrhizal symbioses[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 316:34-42.
- [32] 廖继佩, 林先贵, 曹志洪. 红壤中丛枝菌根真菌对污泥态铜生物有效性的影响[J]. 土壤学报, 2003, 40(6):929-936. LIAO J P, LIN X G, CAO Z H. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on bioavailability of copper in sewage-sludge-amended red soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 40(6):929-936.
- [33] MASON A R G, SALOMON M J, LOWE A J, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation and biochar application enhance soil carbon and productivity in wheat and barley[J]. *Science of the Total Environment*, 2025, 977:179230.
- [34] GHUGE S A, NIKALJE G C, KADAM U S, et al. Comprehensive mechanisms of heavy metal toxicity in plants, detoxification, and remediation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 450:131039.
- [35] MIRANSARI M. Contribution of arbuscular mycorrhizal symbiosis to plant growth under different types of soil stress[J]. *Plant Biology*, 2010, 12(4):563-569.
- [36] 高一丹, 袁旭音, 汪宜敏, 等. 不同螯合剂对两类Cd和Ni污染土壤的淋洗修复对比[J]. 中国环境科学, 2022, 42(1):250-257. GAO Y D, YUAN X Y, WANG Y M, et al. Leaching remediation efficiency of biodegradable chelating agents for the Cd and Ni contaminated soils [J]. *China Environmental Science*, 2022, 42(1):250-257.
- [37] 郭晓方, 韩玮, 赵国慧, 等. 混合淋洗剂对污染土壤中重金属的去除及植物生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(7):1486-1493. GUO X F, HAN W, ZHAO G H, et al. Effects of mixed chelators on the removal of heavy metals from contaminated soil and on the growth of plants[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(7):1486-1493.

(责任编辑:宋潇)