

柠檬酸和 EDTA-Na₂ 对黑麦草吸收 Pb 及营养元素特性的影响

张远兵^a, 刘爱荣^b, 黄守程^b, 张雪平^b, 王雪娟^a

(安徽科技学院, a. 建筑学院; b. 生命科学学院, 安徽 凤阳 233100)

摘要: 为探究柠檬酸或 EDTA-Na₂ 对 Pb 污染下黑麦草(*Lolium perenne* L.)吸收 Pb 和营养元素特性的影响, 对水培黑麦草进行不同处理, 研究黑麦草一些生理生化指标的变化。结果表明, 与对照相比, Pb 处理降低黑麦草干重, 增加质膜透性和根系脱氢酶活性, 且在叶和根中积累 Pb, 而叶和根中 6 种营养元素含量的变化不尽相同。与 Pb 处理同时加入低浓度的柠檬酸或 EDTA-Na₂ 对其生长影响较小, 且叶片的 Pb 积累量较低; 而同时加入高浓度的柠檬酸或 EDTA-Na₂, 虽然强化 Pb 在叶片中的积累, 但是加重了生长的抑制作用和营养元素的稳态失衡; 1 mmol L⁻¹ 的柠檬酸强化叶片积累 Pb 的效应强于同浓度的 EDTA-Na₂, 而 5 和 10 mmol L⁻¹ 柠檬酸的强化作用则弱于同浓度的 EDTA-Na₂。因此, 适当浓度的柠檬酸或 EDTA-Na₂ 在治理 Pb 污染环境具有一定作用。

关键词: 柠檬酸; EDTA-Na₂; Pb 污染; 黑麦草; 营养元素

doi: 10.11926/j.issn.1005-3395.2016.05.010

Effects of Citric Acid or EDTA-Na₂ on the Absorption Characteristic of Pb and Nutrient Elements of *Lolium perenne* L.

ZHANG Yuan-bing^a, LIU Ai-rong^b, HUANG Shou-cheng^b, ZHANG Xue-ping^b, WANG Xue-juan^a

(a. College of Architecture; b. College of Life Science, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, Anhui, China)

Abstract: In order to understand the effects of citric acid or EDTA-Na₂ on the absorption characteristic of Pb and six nutrient elements of *Lolium perenne* L., the contents of Pb, N, P, K, Ca, Mg and Fe, as well as the dry weight, the root dehydrogenase activity and the membrane permeability in *L. perenne* with different treatments were studied. The results showed that the dry weight of *L. perenne* decreased, and root dehydrogenase activity and membrane permeability increased under Pb pollution, the changes in six nutrient elements contents in leaf and root varied, and Pb accumulated in both of leaf and root. Treated with low concentration of citric acid or EDTA-Na₂, there was a little influence on growth of *L. perenne*, and the Pb accumulation in leaf was low. However, treated with high concentration of citric acid or EDTA-Na₂, the growth of *L. perenne* not only showed serious inhibition, but also caused imbalance of nutrients homeostasis, and the accumulation of Pb in leaf increased. Then, *L. perenne* could accumulate more Pb in leaf treated with 1 mmol L⁻¹ citric acid or 5 and 10 mmol L⁻¹ EDTA-Na₂. Therefore, it was suggested that suitable concentration of citric acid or EDTA-Na₂ could play certain role in control environment of Pb pollution.

收稿日期: 2015-11-02

接受日期: 2016-01-06

基金项目: 安徽省科技厅农业科技成果转化项目(1404032007); 安徽省科技厅攻关计划项目(1301031030); 安徽省科技厅年度重点科研项目(07020304093); 安徽科技学院重点学科项目(AKZDXK2015B01)资助

This work was supported by the Transformative Project for Agricultural Scientific and Technology Achievements of Anhui Scientific and Technological Department (Grant No. 1404032007), the Program for Tackling Key Problems of Anhui Scientific and Technological Department (Grant No. 1301031030), the Annual Key Research Projects of Anhui Scientific and Technological Department (Grant No. 07020304093), and the Project for Key Disciplines of Anhui Science and Technology College (Grant No. AKZDXK2015B01).

作者简介: 张远兵(1966-), 男, 教授, 硕士, 主要从事草坪学教学与研究。E-mail: zyb2246@163.com

Key words: Citric acid; EDTA-Na₂; Pb pollution; *Lolium perenne*; Nutrient element

随着我国大力推进城镇化进程,人口和经济迅速增长,现代工业和交通的迅速发展,城市和交通要道的生态环境问题日益突显,其中 Pb 污染已经成为城市环境的重要问题之一^[1]。利用园林绿化植物对城市 Pb 污染进行修复,是当前的研究热点之一,这些植物在修复重金属污染的同时,既增加城市公共绿地面积,又美化城市环境,因此具有良好的生态、经济和社会效益^[2-3]。

黑麦草(*Lolium perenne* L.)为禾本科(Poaceae)草本植物,具有适应范围广、分蘖多、生长快、再生力强、耐践踏、耐修剪等特性,既是优质牧草,也是园林绿化中常用草坪草。刘慧芹等研究表明,黑麦草对 Pb 有较强忍耐能力,可作为重金属污染地区绿化修复植物^[4]。EDTA-Na₂处理可降低黑麦草根长和地上部生物量^[5],并且促进 Pb 从根部向地上部转运,从而提高黑麦草对 Pb 的富集^[5-7];乔冬梅等报道外源低浓度苹果酸能够在一定程度上促进黑麦草地上部分和根系干物质量,促进黑麦草吸收和富集 Pb^[8];汪楠楠等^[9]比较了柠檬酸和 EDTA 对吊兰(*Chlorophytum comosum*)的 Cu 富集能力,认为柠檬酸对吊兰富集 Cu 能力强于 EDTA; Muhammad 等^[10]报道,与重金属污染香蒲(*Typha angustifolia*)相比,添加 2.5 和 5 mmol L⁻¹ EDTA 降低其干重,而添加同浓度的苹果酸增加其根干重,但 EDTA 比苹果酸更有效提高地上部的 Pb 含量。而将柠檬酸和 EDTA 对黑麦草 Pb、营养元素吸收及转运进行比较的研究鲜见报道。为此,本研究以盆栽黑麦草为材料,探究柠檬酸和 EDTA 对 Pb 污染下黑麦草生长、Pb 富集、Pb 及营养元素吸收和转运特性的影响,旨在为利用强化剂对 Pb 污染下的黑麦草吸收和转运 Pb 及营养元素生理机制的研究积累资料;也为利用黑麦草治理城市、交通干道等区域的 Pb 污染,确定化学强化剂种类和剂量,增强绿化草坪景观效应,改善生态环境提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

黑麦草(*Lolium perenne* L.)种子为北京克劳沃草业技术开发中心提供,品种为“百客来”(Barclay)。2014 年 9 月 10 日,将种子用 0.1% KMnO₄ 浸泡消

毒 10 min,冲洗干净后,继续浸种 12 h。次日在白瓷盘中垫上 2 层湿润吸水纸,再将种子均匀播于其上,置于 28℃/18℃(昼/夜)的恒温培养箱中,保持种子和吸水纸湿润。黑麦草种子萌发后,将白瓷盘置于宁波江南仪器厂生产的 RXZ 型智能人工气候箱中,昼/夜温度仍保持为 28℃/18℃,光强为 600 μmol m⁻²s⁻¹,光照时间为 13 h d⁻¹,浇灌适量的 1/2 浓度的 Hoagland 营养液。至 10 月 20 日,取长势一致幼苗移栽至装有 2 L 1/2 浓度的 Hoagland 营养液的塑料盆中(直径 14 cm,高 11 cm),每盆 50 株,共 64 盆。每天补充水分至预定量,每隔 5 d 更换完全 Hoagland 营养液,室外培养。

1.2 方法

11 月 20 日开始对黑麦草幼苗进行处理,共 8 个处理。对照为完全 Hoagland 营养液,1 个用 4 mmol L⁻¹ Pb(CH₃COO)₂ 处理,其他处理为 4 mmol L⁻¹ Pb(CH₃COO)₂ 处理的同时分别加入 1、5、10 mmol L⁻¹ 的柠檬酸(Citric acid, CA)或 1、5、10 mmol L⁻¹ 的 EDTA-Na₂,分别用 CK、Pb、Pb/C1、Pb/C5、Pb/C10、Pb/E1、Pb/E5、Pb/E10 表示(pH 依次为 6.09、5.45、4.95、3.87、3.25、4.91、4.19、3.73),每处理 8 盆。所有处理液均用完全 Hoagland 营养液配制,每天定时补充散失水分,处理液每隔 3 d 更换 1 次。处理 20 d 后测定干重和生理指标,干重测量 50 株;生理指标测定 3 次重复,取平均值。

将黑麦草植株从塑料盆中完整取出用自来水快速冲洗干净,再用去离子水冲洗 3 次,吸干表面水分,将叶和根分离,放入 105℃电热鼓风干燥箱中杀青 10 min,然后在 65℃烘干,分别称量叶和根的干重。根系脱氢酶活性用 2,3,5-三苯基氯化四氮唑显色法测定^[11]。质膜透性采用电导率仪法测定^[12]。

分别取叶和根的干品研磨过 80 目筛。取干样品 0.5 g,加 H₂SO₄ 5 mL 和 0.2 g CuSO₄-K₂SO₄ 高温消化,定容,于 KDY-9820 凯氏定氮仪(北京市通润源机电技术有限责任公司)蒸馏,再用 0.01 mol L⁻¹ 盐酸滴定, N 含量以 mg g⁻¹ 表示^[12]。取干样品 0.5 g,加入 10 mL 的浓 HNO₃:HClO₄:浓 H₂SO₄=8:1:1 (V/V/V)浸泡过夜,高温消化后用钒钼黄比色法测定 P 含量^[12]。

分别称取 100 mg 叶和根干品用湿式消化法消

化^[13], 转移至 50 mL 容量瓶用去离子水定容。用 ZEENit700P 型原子吸收光谱仪(德国)测定样品溶液中 K、Pb、Ca、Mg、Fe 含量。Pb 富集量=样品干重×样品中的 Pb 含量; 元素的转运系数=叶中的含量/根中的含量; Pb 富集系数=根中 Pb 含量/处理液中 Pb 含量。

1.4 数据分析

使用 Microsoft Excel 2003 处理数据, 以 3 次重复的平均值±标准差表示, 采用 SPSS 17.0.0 进行不同处理间的多重比较, 显著性水平为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果和分析

2.1 对干重、根系脱氢酶活性和质膜透性的影响

从表 1 可见, Pb 处理黑麦草的叶、根干重分别比对照低 12.80%、18.60%, 达差异显著。Pb/C1~Pb/C10 处理的叶和根干重又分别比 Pb 处理的低 2.79%~26.98%和 8.32%~44.81%, 均达差异显著。

Pb/E1 处理, 叶、根干重高于 Pb 处理的 1.87%和 2.30%, 差异不显著, 但仍显著低于对照; Pb/E5~Pb/E10 处理的叶、根干重分别低于 Pb 处理的 28.65%~43.65%、46.09%~57.14%, 且差异显著。

Pb 处理的根系脱氢酶活性比对照高 50.46%, 达差异显著。Pb/C1~Pb/C10 处理的活性比 Pb 处理的下降 37.75%~88.95%, 达差异显著, 比对照下降 6.34%~83.37%。Pb/E1 处理的活性比 Pb 处理的增加 7.95%, 差异不显著; Pb/E5~Pb/E10 处理则比 Pb 处理的下降 91.20%~97.44%, 比对照下降 86.75%~96.15%, 且差异均显著。Pb 处理的叶和根质膜透性分别高于对照的 17.59% (差异显著)和 16.96%。Pb/C1~Pb/C10 处理的叶质膜透性高于 Pb 处理的 5.52%~31.75%; Pb/E1 处理的叶质膜透性为 Pb 处理的 87.75%, 达差异显著, 但仍比对照高 3.19%, 差异不显著; Pb/E5~Pb/E10 处理则比 Pb 处理增加 40.38%~80.35%, 差异显著。Pb/C1~Pb/C10 和 Pb/E1~Pb/E10 处理的根质膜透性分别比 Pb 处理的增加 5.34%~109.98%和 1.92%~165.02%。

表 1 不同处理对铅污染下黑麦草的干重、根系脱氢酶活性和质膜透性的影响

Table 1 Effect of different treatments on dry weight, root dehydrogenase activity and membrane permeability of *Lolium perenne* under Pb pollution

| | 叶干重 Dry weight of leaf (mg) | 根干重 Dry weight of root (mg) | 根系脱氢酶活性 Root dehydrogenase activity ($\mu\text{g g}^{-1} \text{FW h}^{-1}$) | 叶质膜透性 Membrane permeability of leaf (%) | 根质膜透性 Membrane permeability of root (%) |
|--------|-----------------------------|-----------------------------|---|---|---|
| CK | 324.267±23.550a | 55.800±2.559a | 209.620±18.306b | 28.938±0.885c | 23.368±2.885d |
| Pb | 282.756±21.411b | 45.422±3.206b | 315.403±36.858a | 34.029±0.619d | 27.331±6.854d |
| Pb/C1 | 274.867±22.156b | 41.644±1.869c | 196.338±12.264b | 35.907±0.731cd | 28.789±2.580d |
| Pb/C5 | 232.511±24.741c | 29.711±1.318d | 60.253±4.872c | 38.966±0.803c | 44.246±4.898c |
| Pb/C10 | 206.467±10.006c | 25.067±1.207e | 34.860±3.867cd | 44.834±3.460b | 57.365±7.861b |
| Pb/E1 | 288.044±18.014b | 46.467±1.427b | 340.469±20.525a | 29.862±1.484e | 27.857±3.270d |
| Pb/E5 | 201.756±13.633c | 24.489±1.231e | 27.765±3.769d | 47.771±3.918b | 61.494±3.993b |
| Pb/E10 | 159.333±8.322d | 19.467±2.284f | 8.072±1.125d | 61.371±2.035a | 72.435±5.909a |

同列数据后不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。下表同。

Data followed different letters within column indicate significant difference at 0.05 level. The same is following Tables.

2.2 对 Pb 吸收特性的影响

对照黑麦草叶、根中未检测到 Pb (表 2)。Pb 处理的叶、根 Pb 含量分别为 0.085 和 16.277 mg g⁻¹ DW。Pb/C1~Pb/C10 和 Pb/E1~Pb/E10 处理的叶 Pb 含量均呈增加趋势, 分别为 Pb 处理的 5.79~31.44 倍(差异显著)和 2.78~94.80 倍, 而根 Pb 含量均呈下降趋势, 分别从 Pb 处理的 2.37 倍下降为 1.47 倍和 1.35 倍下降为 0.19 倍, 且差异显著; 除 Pb/E10 处理外,

叶 Pb 含量均低于根的。

Pb 处理的叶、根 Pb 富集量分别为 0.048 mg 和 1.502 mg。Pb/C1~Pb/C10 或 Pb/E1~Pb/E10 处理的叶 Pb 富集量分别为 Pb 处理的 5.73~23.24 倍或 2.83~54.30 倍, 而根的 Pb 富集量则分别从 Pb 处理的 2.20 倍下降为 0.80 倍或 1.39 倍下降为 0.08 倍, 且差异显著。除 Pb/E5 和 Pb/E10 处理外, 其余处理叶 Pb 富集量均低于根。

表 2 不同处理对铅污染下黑麦草 Pb 含量、富集量、转运系数、富集系数的影响

Table 2 Effect of different treatments on Pb content, enrichment amount, transfer coefficient and bioconcentration factor of *Lolium perenne* under Pb pollution

| | 叶 Pb 含量 Pb content in leaf (mg g ⁻¹ DW) | 根 Pb 含量 Pb content in root (mg g ⁻¹ DW) | 叶 Pb 富集量 Pb enrichment amount in leaf (mg) | 根 Pb 富集量 Pb enrichment amount in root (mg) | Pb 转运系数 Pb transfer coefficient | Pb 富集系数 Pb enrichment coefficient |
|--------|--|--|--|--|---------------------------------------|---|
| CK | 0d | 0g | 0e | 0g | — | 0g |
| Pb | 0.085±0.006d | 16.277±1.742d | 0.048±0.002e | 1.502±0.081d | 0.005±0c | 19.650±2.103d |
| Pb/C1 | 0.493±0.061d | 38.628±0.690a | 0.277±0.042d | 3.308±0.133a | 0.013±0.001c | 46.631±0.838a |
| Pb/C5 | 0.745±0.055d | 29.881±0.779b | 0.349±0.012d | 1.815±0.072c | 0.025±0.002c | 36.070±0.937b |
| Pb/C10 | 2.676±0.199c | 23.855±1.707c | 1.122±0.091c | 1.205±0.076e | 0.112±0.003c | 28.812±2.045c |
| Pb/E1 | 0.237±0.094d | 22.069±1.346c | 0.137±0.050de | 2.092±0.103b | 0.011±0.005c | 26.674±1.638c |
| Pb/E5 | 3.435±0.464b | 10.141±1.222e | 1.418±0.091b | 0.512±0.084f | 0.342±0.063b | 12.251±1.476e |
| Pb/E10 | 8.068±1.041a | 3.036±0.580f | 2.621±0.306a | 0.123±0.037g | 2.677±0.173a | 3.670±0.704f |

Pb 处理的 Pb 转运系数和富集系数分别为 0.005 和 19.650。Pb/C1~Pb/C10 和 Pb/E1~Pb/E10 处理的 Pb 转运系数分别为 Pb 处理的 2.43~21.39 倍和 2.08~510.53 倍；而 Pb 富集系数分别为 Pb 处理的 2.373~1.466 倍和 1.357~0.187 倍，且差异显著。

2.3 对 N、P、K、Ca、Mg 和 Fe 含量的影响

从图 1 可见，相同处理均为叶 N 含量高于根；且以对照的最高。Pb 处理的叶和根 N 含量分别为对照的 75.07% 和 66.33%，达差异显著。Pb/C1~Pb/C10 处理的叶和根 N 含量分别比 Pb 处理的高 3.34%~11.57% 和 0.55%~22.70%；Pb/E1~Pb/E10 处理的均呈下降趋势，但仍高于 Pb 处理，分别比 Pb 处理的提高 21.74%~8.16% (差异显著) 和 14.37%~5.82%。Pb 处理的叶和根 P 含量分别为对照的 50.48% 和 114.03%，达差异显著。Pb/C1~Pb/C10 和 Pb/E1~Pb/E10 处理的叶 P 含量比 Pb 处理的增加 2.35%~32.36% 和 8.20%~57.14%，达差异显著，但仍低于对照；根 P 含量均呈下降趋势，分别从 Pb 处理的 191.97% 下降为 108.64% (差异显著) 和 112.47% 下降为 83.55%。Pb 处理的叶和根 K 含量分别为对照的 74.06% 和 79.94%，达差异显著。Pb/C1~Pb/C10 和 Pb/E1~Pb/E10 处理的叶 K 含量为 Pb 处理的 99.66%~106.35% (差异不显著) 和 114.38%~168.83%；而根的均呈下降趋势，分别比 Pb 处理的下降 1.61%~60.12% 和 1.70%~72.22%。

Pb 处理的叶 Ca 含量比对照下降 24.92%，而根的比对照增加 45.14%，且差异显著。Pb/C1~Pb/C10 和 Pb/E1~Pb/E10 处理的叶 Ca 含量比 Pb 处理的分别增加 16.53%~80.94% 和 13.88%~86.24%；根的比 Pb 处理的分别增加 17.39%~32.60% 和 2.18%~

24.03%，差异不显著。Pb 处理的叶和根 Mg 含量为对照的 79.83% 和 72.41%，差异显著。Pb/C1~Pb/C10 和 Pb/E1~Pb/E10 处理的叶 Mg 含量分别比 Pb 处理的增加 1.49%~16.32% (差异不显著) 和 3.56%~34.26%；根的呈下降趋势，但仍高于 Pb 处理，且分别比 Pb 处理的增加 15.68%~4.83% 和 12.82%~6.57%，且差异不显著。Pb 处理的叶和根 Fe 含量比对照增加 10.80% 和 7.85% (差异显著)。Pb/C1~Pb/C10 和 Pb/E1~Pb/E10 处理的叶 Fe 含量分别比 Pb 处理的增加 9.07%~17.08% (差异不显著) 或 2.11%~52.81%；根的呈下降趋势，分别是 Pb 处理的 129.90%~117.84% (差异显著) 和 108.15%~88.43%。

2.4 对 N、P、K、Ca、Mg 和 Fe 转运系数的影响

Pb 处理的 N、Mg、Fe 转运系数分别比对照提高 13.24%、10.74%、3.90%；P、K、Ca 转运系数分别降低 55.70%、8.17% 和 49.00%。Pb/C1~Pb/C10 和 Pb/E1~Pb/E10 处理的 N 转运系数呈下降趋势，而 P、K、Ca、Mg 和 Fe 的呈升高趋势。Pb/C1~Pb/C10 处理的 N、P、K、Ca、Mg 和 Fe 转运系数分别为 Pb 处理的 102.76%~90.90%、53.34%~121.80%、102.37%~267.44%、98.71%~138.83%、87.29%~110.26% 和 83.14%~98.36%，变幅由大至小依次为 K、P、Ca、Mg、Fe、N；而 Pb/E1~Pb/E10 处理的转运系数分别为 Pb 处理的 106.40%~102.61%、96.44%~187.92%、118.03%~608.70%、113.19%~150.08%、92.08%~127.11% 和 93.55%~171.41%，变幅由大至小顺序是 K、P、Fe、Ca、Mg、N。同一营养元素，Pb/C1~Pb/C10 处理的转运系数均低于相同浓度的 Pb/E1~Pb/E10 处理。

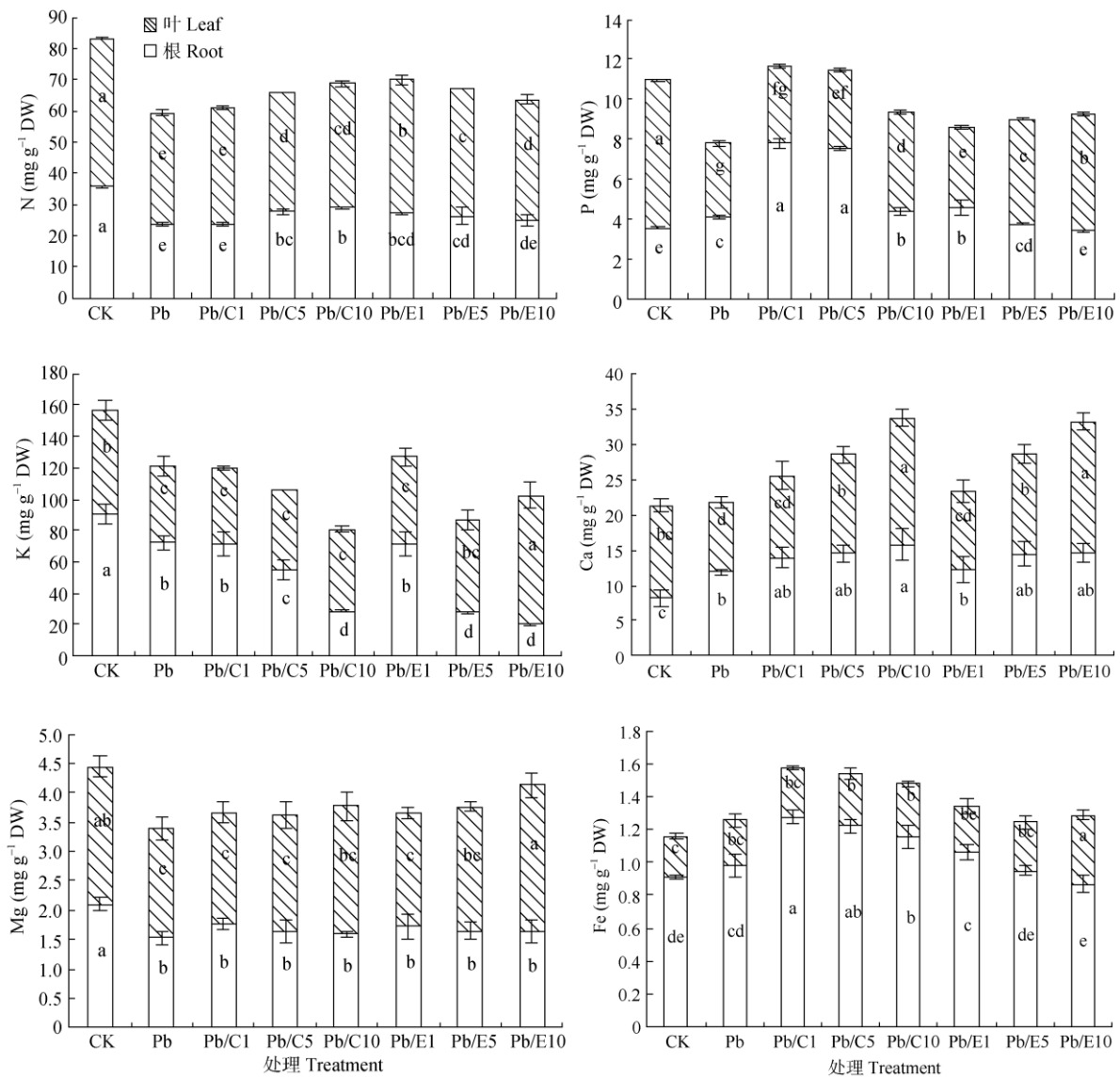


图 1 不同处理对铅污染下黑麦草叶和根中的 N、P、K、Ca、Mg 和 Fe 含量 Effect of different treatments. 相同柱子中不同字母表示差异显著(P<0.05).

Fig. 1 Effects of different treatments on contents of N, P, K, Ca, Mg and Fe in leaves and roots of *Lolium perenne* under Pb pollution. Different small letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level.

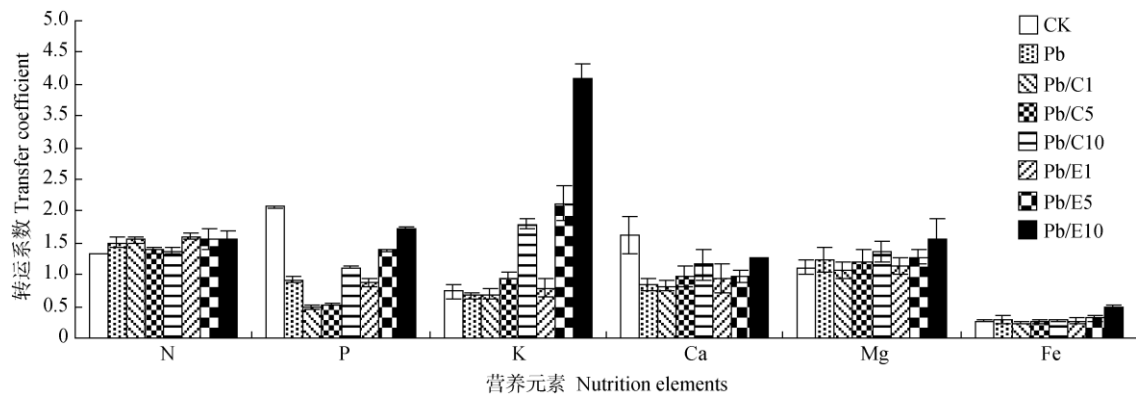


图 2 不同处理对铅污染下黑麦草的 N、P、K、Ca、Mg 和 Fe 转运系数的影响

Fig. 2 Effects of different treatments on transfer coefficients of N, P, K, Ca, Mg and Fe of *Lolium perenne* under Pb pollution

3 讨论和结论

黑麦草植株经不同处理 60 d 后, 以对照生长最旺, 叶色鲜绿; Pb 处理的生长弱于对照, 叶色浓绿; Pb/C1 处理的叶色浓绿; Pb/C5 处理的叶色正常, 极少量叶尖发黄; Pb/C10 处理的叶尖发黄增多, 叶中部和基部仍保持绿色, 植株无枯死; Pb/E1 处理的叶色正常; Pb/E5 处理的叶色发黄, 长势弱, 植株无枯死现象; Pb/E10 处理的出现植株枯死。

根系脱氢酶是根系与呼吸作用相关的酶, 反映根系主动吸收水分和营养元素的强弱^[11]。质膜透性表示细胞膜受到损伤的情况, 反映细胞内离子、小分子物质透过细胞膜的多少^[14]。矿质元素的转运系数反映植物由根向叶运输元素能力的强弱^[15]。Pb 处理的叶和根 N、K、Mg 含量分别低于对照, 且 K 转运系数也低于对照, 而 N、Mg 转运系数均高于对照, 说明 Pb 处理会抑制吸收 N、K、Mg, 并抑制转运 K, 而 N、Mg 转运系数的增加是由于叶 N、Mg 含量减少幅度小于根的所致, 故相对而言有利 N、Mg 转运。Pb 处理叶的 P 和 Ca 含量低于对照, 而根则高于对照, 且其转运系数低于对照, 显示 Pb 处理抑制 P 和 Ca 转运, 至于根 P 和 Ca 含量增多可能是抑制 P 和 Ca 转运或增强吸收 P 和 Ca 所致, 尚待后续研究。Pb 处理的叶和根 Fe 含量均高于对照, 其转运系数也高于对照, 反映 Pb 处理促进 Fe 吸收和转运。结合 Pb 处理叶、根的干重均下降, 而增强根系脱氢酶活性、根与叶质膜透性及 Pb 含量的结果表明, Pb 处理虽增强根系主动吸收能力, 可能主动吸收的主要元素是 Pb、Fe, 反而减少对 N、K、Mg 的吸收, 引起这些元素缺乏, 加重离子、小分子物质外渗; 且改变必需营养元素转运能力, 原有必需营养元素的稳态失调, 导致生长受抑制; 同时也可推测通过增施 N、K、Mg 不能有效缓解 Pb 毒害。杨明琰研究认为 Pb 胁迫下黑麦草生长表现出低促高抑趋势^[6], 与本结果不尽一致, 可能与 Pb 处理浓度不同有关。

Pb/C1~Pb/C10 和 Pb/E1~Pb/E10 处理的叶 Pb 含量及 Pb 富集量、Pb 转运系数均高于 Pb 处理并呈增加趋势, 表明 1~10 mmol L⁻¹ 柠檬酸或 EDTA-Na₂ 均促进 Pb 由根向叶转运, 因此增强叶对 Pb 积累能力, 而这与根 Pb 含量和富集量、Pb 富集系数均呈下降趋势的结果相吻合。Pb/C1 处理的叶与根 Pb 含量和富集量、转运系数、富集系数均高于 Pb/E1 处

理, 表明加入 1 mmol L⁻¹ 柠檬酸对 Pb 吸收、转运并积累于叶片的能力强于加入 1 mmol L⁻¹ EDTA-Na₂。Pb/C5~Pb/C10 处理的叶 Pb 含量及富集量、转运系数则均低于同浓度 Pb/E5~Pb/E10 处理, 并以 Pb/E10 处理的最高; 而根 Pb 含量及富集量、富集系数均高于同浓度 Pb/E1~Pb/E10 处理, 并以 Pb/E10 处理的最低, 表明加入 5~10 mmol L⁻¹ 柠檬酸对 Pb 转运弱于同浓度的 EDTA-Na₂, 但由于叶片积累过高的 Pb, Pb 毒害导致短期内植株失水青枯, 后期黄化, 造成死亡, 因此不宜使用 Pb/E10 处理。结合植株长势情况, 适宜使用 Pb/C1~Pb/C10 或 Pb/E1~Pb/E5 处理对 Pb 污染环境进行修复。Muhammad 认为 2.5 和 5 mmol L⁻¹ 苹果酸提高香蒲地上部 Pb 含量能力弱于 EDTA^[10], 汪楠楠报道柠檬酸对吊兰 Cu 富集作用比 EDTA 强^[9]; Cui 等研究了外源螯合剂浓度与百日菊(*Zinnia elegans*) 幼苗 Pb 毒性和富集的关系, 提出 Pb 与 EDTA 或苹果酸比例分别为 1:1 或 2:3 最合适^[16]。这与本结果不尽相同, 可能因为植物种类、重金属种类、化学强化剂的浓度不同而异。

Pb/E1 处理的 Pb 含量和富集量高于 Pb 处理, 且叶和根干重也均高于 Pb 处理, 这可能是与 Pb 处理相比, Pb/E1 处理虽然增加叶和根的 Pb 含量, 但由于一方面增强根系主动吸收能力, 这可以从叶和根 N、P、Ca、Mg、Fe 含量均高于 Pb 处理结果得以验证; 另一方面又减少离子外渗量, 而这又与 Pb/E1 处理的根和叶质膜透性低于相应 Pb 处理的结果相吻合; 因而其叶和根必需营养元素供应也较充足, 其稳态受干扰程度较轻, 故叶和根生长略强于 Pb 处理, 但仍显著弱于对照。Pb/C1~Pb/C10 或 Pb/E5~Pb/E10 处理的叶 Pb 含量和富集量呈上升趋势, 且均高于相应 Pb 处理, 而根的则均呈下降趋势; 同时叶和根的干重也均呈下降趋势, 并低于 Pb 处理。究其原因, 对于叶片而言, 可能是急剧增加的 Pb 富集量, 加重细胞内离子外渗, 这可从细胞质膜透性显著增加得以佐证, 虽然 N、P、K、Ca、Mg、Fe 含量均高于相应 Pb 处理(除 Pb/C1 处理 K 含量外), 但营养元素含量增加幅度远小于叶 Pb 含量增加幅度, 不能修复过量 Pb 毒害, 因此叶生长的抑制效应加重; 对于根而言, Pb/C1~Pb/C10 处理, 其 Pb 含量和富集量(除 Pb/C10 处理的 Pb 富集量外)均高于 Pb 处理, Pb 毒害抑制根系主动吸收能力, 且加重离子外渗, 导致根中营养元素或缺乏或稳态失调, 故根生长受抑制;

Pb/E5~Pb/E10 处理, 其 Pb 含量和富集量虽均低于 Pb 处理, 但是根系主动吸收能力仍显著弱于 Pb 处理, 离子外渗量又显著高于 Pb 处理, 且 EDTA-Na₂ 加强 N、P、K、Ca、Mg 和 Fe 等由根向叶转运, 因此其生长量的急剧下降可能主要与加重根中这些营养元素的缺乏或稳态失调有关。

Pb/C1~Pb/C10 处理的叶和根 N 含量呈上升趋势, Pb/E1~Pb/E10 处理的叶和根 N 含量呈下降趋势, 且两种化学强化剂处理后转运系数均下降, 表明增加柠檬酸水平强化 N 吸收, 但不促进其转运; 增加 EDTA-Na₂ 水平不促进 N 吸收, 也不促进其转运。Pb/C1~Pb/C10 或 Pb/E1~Pb/E10 处理的叶 P、K、Mg 和 Fe 含量呈增加趋势, 而根中则呈下降趋势, 且转运系数均上升, 显示增加柠檬酸或 EDTA-Na₂ 水平均促进 P、K、Mg、Fe 转运, 而根中这 4 种营养元素含量的下降, 可能是增强由根向叶的转运或根系主动吸收的减少所致。Pb/C1~Pb/C10 或 Pb/E1~Pb/E10 处理的叶和根 Ca 含量和转运系数均呈增加趋势, 显示增加柠檬酸或 EDTA-Na₂ 水平, 均促进 Ca 吸收和转运。因此对不同营养元素而言, 柠檬酸和 EDTA-Na₂ 对其吸收和转运的影响也不尽相同。就同一营养元素中, Pb/C1~Pb/C10 处理其转运系数均低于同浓度 Pb/E1~Pb/E10 处理的试验结果又表明, 柠檬酸强化 N、P、K、Ca、Mg 和 Fe 转运能力弱于 EDTA-Na₂。

总之, 黑麦草用 4 mmol L⁻¹ 的 Pb 处理会积累 Pb, 虽增强根系主动吸收能力, 但由于质膜透性受破坏, N、P、K、Ca、Mg、Fe 等营养元素稳态失调, 导致其生长受抑制。加入 1 mmol L⁻¹ 的柠檬酸或 EDTA-Na₂, 对其生长影响较小, 但叶片 Pb 积累量较低, 而加入 5~10 mmol L⁻¹ 的柠檬酸或 EDTA-Na₂, 虽增加叶片的 Pb 积累量, 但加大生长受抑制程度, 还加剧干扰营养元素的稳态。就叶片 Pb 的积累量而言, 1 mmol L⁻¹ 的柠檬酸强于同浓度的 EDTA-Na₂, 而 5~10 mmol L⁻¹ 的柠檬酸则弱于相应浓度的 EDTA-Na₂。

参考文献

- [1] WEI B G, YANG L S. A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from China [J]. *Microchem J*, 2010, 94(2): 99–107. doi: 10.1016/j.microc.2009.09.014.
- [2] SHAO Z Q, LI C L, ZHANG J J. Present situation and outlook on remediation of lead contaminated soils using flower plants [J]. *Environ Sci Manage*, 2010, 35(9): 23–25. doi: 10.3969/j.issn.1673-1212.2010.09.007.
- [3] 邵泽强, 李翠兰, 张晋京. 花卉植物修复铅污染土壤的研究现状及展望 [J]. *环境科学与管理*, 2010, 35(9): 23–25. doi: 10.3969/j.issn.1673-1212.2010.09.007.
- [3] CHENG F Z. The research about absorption and transportation of lead in several turf grass [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2008: 4–13.
- [4] 程凤枝. 关于几种草坪草对铅的吸收与转运的研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2008: 4–13.
- [4] LIU H Q, HAN J C, LIU H P. Influence of lead gradient stress on the physiological and biochemical characteristics of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) seedlings [J]. *Acta Pratacult Sin*, 2012, 21(6): 57–63.
- [5] 刘慧芹, 韩巨才, 刘慧平, 等. 铅梯度胁迫对多年生黑麦草幼苗生理生化特性影响 [J]. *草业学报*, 2012, 21(6): 57–63.
- [5] WU Q L, WANG W C, HE S Y. Enhancement of GA₃ and EDTA on remediate Pb contaminated soil and its detoxification mechanism [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2014, 25(10): 2999–3005.
- [6] 吴秋玲, 王文初, 何闪英. GA₃ 与 EDTA 强化黑麦草修复 Pb 污染土壤及其解毒机制 [J]. *应用生态学报*, 2014, 25(10): 2999–3005.
- [6] YANG M Y, CHEN H Y, LIANG Y Y, et al. Effects of ryegrass enhanced by EDTA on remediation of lead-contaminated soil [J]. *Environ Sci Technol*, 2014, 37(9): 19–22.
- [7] 杨明球, 陈华, 梁语燕, 等. EDTA 强化黑麦草对铅污染土壤的诱导修复效应 [J]. *环境科学与技术*, 2014, 37(9): 19–22.
- [7] HE S Y, WU Q L, HE Z L. Effect of DA-6 and EDTA alone or in combination on uptake, subcellular distribution and chemical form of Pb in *Lolium perenne* [J]. *Chemosphere*, 2013, 93(11): 2782–2788. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.09.037.
- [8] QIAO D M, FAN X Y, FAN T, et al. Response mechanism of exogenous organic acid on ryegrass under the stress of Pb²⁺ [J]. *J Soil Water Conserv*, 2012, 26(2): 261–270.
- [9] 乔冬梅, 樊向阳, 樊涛, 等. Pb²⁺ 胁迫下黑麦草对外源有机酸的响应机制 [J]. *水土保持学报*, 2012, 26(2): 261–270.
- [9] WANG N N, HU S, WU D, et al. Effects of CA and EDTA on growth of *Chlorophytum comosum* in copper-contaminated soil [J]. *Acta Ecol Sin*, 2013, 33(2): 631–639. doi: 10.5846/stxb201112021843.
- [10] 汪楠楠, 胡珊, 吴丹, 等. 柠檬酸和 EDTA 对铜污染土壤环境中吊兰生长的影响 [J]. *生态学报*, 2013, 33(2): 631–639. doi: 10.5846/stxb201112021843.
- [10] MUHAMMAD D, CHEN F, ZHAO J, et al. Comparison of EDTA- and citric acid-enhanced phytoextraction of heavy metals in artificially metal contaminated soil by *Typha angustifolia* [J]. *Int J Phytoremed*,

- 2009, 11(6): 558–574. doi: 10.1080/15226510902717580.
- [11] TRUJILLO M, KOGEL K H, HÜCKELHOVEN R. Superoxide and hydrogen peroxide play different roles in the nonhost interaction of barley and wheat with inappropriate formae speciales of *Blumeria graminis* [J]. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2004, 17(3): 304–312. doi: 10.1094/MPMI.2004.17.3.304.
- [12] LU W J, LI Y S. *Plant Physiology Experiment Course* [M]. Beijing: Chinese Forestry Publishing House, 2012: 17–20.
路文静, 李奕松. *植物生理学实验教程* [M]. 北京: 中国林业出版社, 2012: 17–20.
- [13] ZHOU N, ZHOU Z. Analysis of mineral elements in Rendong garlic [J]. *Chem Anal Met*, 2010, 19(4): 26–28. doi: 10.3969/j.issn.1008-6145.2010.04.008.
周能, 周振. 仁东大蒜矿物元素的分析 [J]. *化学分析计量*, 2010, 19(4): 26–28. doi: 10.3969/j.issn.1008-6145.2010.04.008.
- [14] WANG Y, DING G J. Physiological responses of mycorrhizal *Pinus massoniana* seedlings to drought stress and drought resistance evaluation [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2013, 24(3): 639–645.
王艺, 丁贵杰. 马尾松菌根化苗木对干旱的生理响应及抗旱性评价 [J]. *应用生态学报*, 2013, 24(3): 639–645.
- [15] ZHAO S D, ZHAO X Q, ZUO P, et al. Accumulation capacity of heavy metals by *Phragmites australis* and assessment [J]. *Mar Environ Sci*, 2014, 33(1): 60–65.
赵善道, 赵雪琴, 左平, 等. 湿地植物芦苇(*Phragmites australis*)的重金属富集能力与评价 [J]. *海洋环境科学*, 2014, 33(1): 60–65.
- [16] CUI S, ZHOU Q X, WEI S H, et al. Effects of exogenous chelators on phytoavailability and toxicity of Pb in *Zinnia elegans* Jacq. [J]. *J Hazard Mat*, 2007, 146(1/2): 341–346. doi: 10.1016/j.jhazmat.2006.12.028.