

牛婷婷, 杨昌浪, 刘翠, 等. 柠檬酸对间作小花南芥和玉米的铅富集特征[J]. 环境科学与技术, 2025, 48(3): 87–95. Niu Tingting, Yang Changlang, Liu Cui, et al. Effect of citric acid on characteristics of lead enrichment by intercropping *A. alpina* and *Zea mays*[J]. Environmental Science & Technology, 2025, 48(3): 87–95.

柠檬酸对间作小花南芥和玉米的铅富集特征

牛婷婷, 杨昌浪, 刘翠, 祖艳群, 王吉秀*

(云南农业大学资源与环境学院, 云南 昆明 650201)

摘要: 为了验证间作体系下根系分泌柠檬酸对超富集植物小花南芥(*Arabis alpina* L. var. *parviflora* Franch)和玉米(*Zea mays* L.)铅(Pb)富集特征的影响, 文章设置Pb(1 000 mg/kg)胁迫下, 外源添加不同浓度柠檬酸(0、5、25、50 mmol/kg)的盆栽实验, 研究外源添加柠檬酸对土壤pH、有效态Pb含量, 植物根系形态、株高、生物量、Pb富集特征的影响。结果表明: 与对照相比, 随着柠檬酸浓度增加单作和间作根际土壤pH显著降低, 5 mmol/kg柠檬酸处理, 间作土壤中有效态Pb的含量显著($P<0.05$)增加6.16%; 间作小花南芥的株高、地上部、地下部生物量均显著增加15.32%、41.21%、22.22%, 玉米的株高、地上部、地下部生物量显著增加32.25%、184.82%、173.08%; 间作小花南芥地下部Pb含量显著增加10.14%。50 mmol/kg柠檬酸处理下, 间作玉米地上部和地下部Pb含量显著降低14.18%和48.39%。25 mmol/kg柠檬酸处理下, 间作小花南芥和玉米地上部柠檬酸含量分别增加118.55%和114.29%。外源添加柠檬酸能够改变土壤pH和有效态Pb的含量, 显著增加植物体内柠檬酸浓度, 提高间作小花南芥地下部对Pb的富集, 抑制间作玉米对Pb的富集。

关键词: 柠檬酸; Pb; 间作; 植物生长; 累积特征

中图分类号: X53; X173 **文献标志码:** A **doi:** 10.19672/j.cnki.1003-6504.1619.24.338 **文章编号:** 1003-6504(2025)03-0087-09

Effect of Citric Acid on Characteristics of Lead Enrichment by Intercropping *A. alpina* and *Zea mays*

NIU Tingting, YANG Changlang, LIU Cui, ZU Yanqun, WANG Jixiu*

(College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: This study highlights the verification of the response of citric acid secreted from root to the characteristics of Pb enrichment by *A. alpina* and *Zea mays* in intercropping system. Thereby, pot experiments were performed with test condition set up: respective addition of 0, 5, 25 and 50 mmol/kg citric acid, under Pb stress (1 000 mg/kg), investigating the effects of citric acid on pH value of soil, available Pb content, root morphology, plant height, biomass and Pb enrichment characteristics. The results obtained showed that in contrast to the control, in the condition of mono-culture and intercropping, pH value of the rhizosphere soil decreased significantly with the increase of citric acid concentration; when citric acid concentration was 5 mmol/kg, the content of available Pb in intercropping soil went up significantly ($P<0.05$), an increase of 6.16%. the plant height, shoot and root biomass of intercropping *A. alpina* remarkably increased by 15.32%, 41.21% and 22.22%, respectively, and plant height, shoot and root biomass of *Zea mays* considerably increased by 32.25%, 184.82% and 173.08%, respectively; when citric acid content increased to 50 mmol/kg, Pb content of the shoot and root parts of intercropping *Zea mays* decreased by 14.18% and 48.39%, respectively; as citric acid content was 25 mmol/kg, the citric acid content in the root part of intercropping *A. alpina* and *Zea mays* rose by 118.55% and 114.29%, respectively. In brief, the addition of citric acid can alter the pH value of soil and the content of available Pb; in addition, the concentration of citric acid in plants increased considerably, which could enhance the enrichment of Pb in the root part of intercropped *A. alpina*, and thus could inhibit the enrichment of Pb in intercropped *Zea mays*.

Key words: citric acid; Pb; intercropping; plant growth; accumulation characteristics

重金属污染是全球当前最突出的土壤环境污染问题之一^[1,2]。据《全国土壤污染状况调查报告》显示,

全国土壤重金属总超标率达16.1%, 铅污染超标率更是高达7.0%^[3], 其中, 农田土壤的重金属污染尤为严

重^[4]。土壤重金属污染具有隐蔽性、积累性等特点,能够通过多种途径在食物链、食物网中累积,最终转移到人体内,并且能够在植物体和人体内蓄积,威胁着人类身体健康^[5]。植物修复技术(phytoremediation)是一种友好且低成本的绿色土壤重金属修复技术,该技术主要利用重金属富集植物将土壤中的污染物转移到植物的地上部,通过收获植物达到修复污染土壤的目的^[6]。而超富集植物作为植物修复技术的核心载体,在清除土壤重金属污染物的过程中发挥了关键作用^[7,8]。小花南芥(*Arabis alpina* L. var. *parviflora* Franch)是云南本土超富集植物,十字花科,南芥属,多年生草本植物^[9],是云南会泽铅锌矿区筛选到的Pb、Zn本土超富集植物^[10]。但小花南芥也存在一些局限性,例如植株矮小、生物量低、生长缓慢、需要的修复时间较长,往往需要数年时间^[11-13]。

为了克服植物修复技术的不足,可采用植物修复的联合调控措施。目前植物修复的调控措施主要包括动物联合修复、种植方式管理、活化剂活化和改良剂改良等^[14]。植物间作以及外源添加柠檬酸能够显著提高重金属污染土壤的植物修复效率,但其作用效果因土壤环境和修复植物不同而不同^[15]。蒋成爱等^[16]研究发现,将超富集植物东南景天与玉米(*Zea mays*)、大豆混作能显著增加东南景天地上部对Pb的富集量。间作可以改变植物根系土壤pH,植物之间的相互作用可能会促进根系分泌有机酸或酶类物质,从而直接固定或溶解土壤中的重金属,以提高或降低重金属的生物有效性^[17-20]。As胁迫下,三七(*Panax*

notoginseng (Burk.) F.H.Chen)根系分泌柠檬酸和总有机酸随As处理浓度增加而增加^[21]。续断菊与玉米间作,能增加续断菊柠檬酸的分泌量及对Pb的富集,降低玉米柠檬酸分泌量及地上部Pb的富集^[22]。

目前,已有在间作体系下植物根系分泌柠檬酸对重金属富集特征的相关研究,而间作下添加柠檬酸对植物体内柠檬酸含量和重金属富集的研究不多。前期研究表明,小花南芥和玉米间作能促进根系分泌柠檬酸,促进小花南芥富集Pb,而抑制玉米对Pb的富集^[23]。为了验证添加柠檬酸对Pb富集的响应,本研究设置不同浓度的柠檬酸,分析间作模式下植物对Pb的吸收转运,以及植物体内和根系分泌的柠檬酸含量,为Pb污染土壤的修复提供理论基础和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植物小花南芥种子采自云南省会泽县铅锌矿区(103°03′~103°55′E, 25°48′~26°38′N),玉米种子选用低累积Pb品种“会单4号”。小花南芥种子育苗试验采用培养皿纸床法,挑选颗粒饱满大小均匀的种子用20%的H₂O₂溶液消毒20 min,蒸馏水清洗2~3次,在培养皿中促芽,发芽后长至5片真叶,移栽至土壤中进行盆栽试验。玉米种子采用直接播种的方式进行播种。供试土壤为该地周边农田土壤,其基本理化性质见表1,土壤自然风干后过10目筛网备用。

表1 土壤理化性质
Table 1 Soil physical and chemical properties

pH	土壤有机质/ (g·kg ⁻¹)	总氮/ (g·kg ⁻¹)	总磷/ (g·kg ⁻¹)	总钾/ (g·kg ⁻¹)	速效氮/ (mg·kg ⁻¹)	速效磷/ (mg·kg ⁻¹)	速效钾/ (mg·kg ⁻¹)	总铅/ (mg·kg ⁻¹)
6.14	30.82	1.23	0.82	2.17	130.20	5.90	53.50	2 754.30

1.2 试验方法

试验设置小花南芥单作、玉米单作及小花南芥/玉米间作3种植植模式,0、5、25、50 mmol/kg 4个柠檬酸浓度,共12个处理,每个处理重复3次。外源添加1 000 mg/kg Pb,以Pb(CH₃COO)₂溶液配制,与土壤充分混合均匀自然放置7 d,分别加入500 mL 0、5、25、50 mmol/kg浓度的柠檬酸溶液,放置3 d后,准确称量4 kg土壤于大小为22 cm×17 cm的盆中,进行小花南芥移栽和玉米播种(播种深度为3~5 cm)。小花南芥和玉米单作为每盆播种4粒种子,间作为每盆移栽2株小花南芥幼苗同时播种2粒玉米种子,盆栽时应注意种子种植间距相同且分布均匀。每2 d浇1次水,种植60 d后收集植物样品和土壤样品。

1.3 指标测定方法

1.3.1 土壤理化性质的测定

土壤理化性质中的有机质含量、总氮、总磷、总钾、速效氮、速效磷、速效钾、总铅含量的测定参照《土壤农化分析》^[24]。

1.3.2 土壤pH的测定

取10 g的风干土样,土壤质量与蒸馏水体积比为1:5,将溶液搅拌混匀后静置5 h,用数字pH计(ATARTER 3100)测定pH^[25]。

1.3.3 株高和生物量的测定

将新鲜植物样品用清水冲洗干净,用吸水纸将水分吸干,将植株分为地上部和地下部,直尺测量植物的株高,后将植株地上部和地下部105℃杀青1 h,

75 ℃烘干至恒重,测定植物的生物量。

1.3.4 植物根系形态测定

取新鲜干净植物样品的地下部,用蒸馏水洗涤3次,根系扫描仪(Epson Perfection V700 Photo,爱普生有限公司,中国)扫描植物根系,根系分析软件(WinRHIZO)分析^[26]。

1.3.5 根系分泌物收集与柠檬酸含量测定

根系分泌物的提取和测定参照 Wieshammer 等^[27]的方法并加以改进。取整株新鲜干净植物样品,去离子水洗净3次、擦干,放入盛有30 mL去离子水的烧杯中,避光静置24 h,收集液过0.45 μm水相滤膜,旋转蒸发浓缩为10 mL,上机检测分泌物中柠檬酸含量,采用高效液相色谱仪(Thermo HPLC-ultimate 3000)进行测定。测试条件如下:色谱柱采用 Acclaim C18, 120A, 4.60×150 mm, 5 μm, 流动相为25 mmol/L的磷酸二氢钾溶液,色谱柱温30 ℃,流速0.80 mL/min,进样量15 μL,波长210 nm。

1.3.6 土壤有效Pb含量测定

取过2 mm筛的风干土壤样品0.1 g,置于50 mL的锥形瓶中,加入少量蒸馏水和5 mL的王水(HNO₃:HCl=1:3)混匀静置过夜。将该溶液置于220 ℃的加热板上加热至棕色气体完全挥发,再加入2~3 mL高氯酸,继续加热至土壤颜色变为灰白色,取出冷却,过滤定容至50 mL,用火焰原子吸收分光光度计(Thermo ICETM 3300 AAS)测定Pb含量^[24]。

1.3.7 植物Pb含量测定

烘干的植物样品地下部分和地上部粉碎过筛,取

0.20 g植物样品于聚四氟乙烯罐中,加入4 mL的HNO₃放置12 h过夜,再加入3 mL 30% H₂O₂置于压力罐中,于140 ℃烘箱硝化4 h,将硝化液过滤定容至50 mL。用火焰原子吸收分光光度计(Thermo ICE-TM 3300 AAS)测定Pb含量^[24]。

转运系数=植物地上部重金属含量(mg/kg)/植物地下部重金属含量(mg/kg)^[26]

富集系数=植物地上部重金属含量(mg/kg)/土壤重金属含量(mg/kg)^[26]

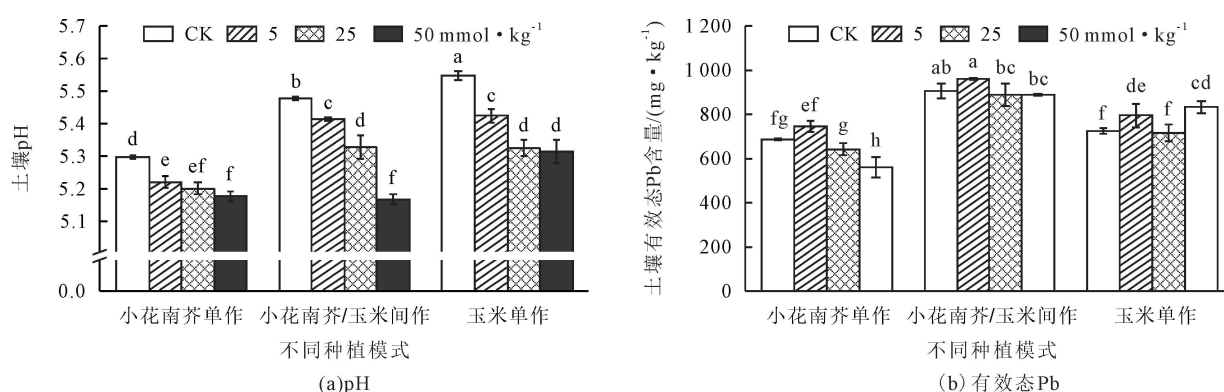
1.3.8 数据处理方法

所得数据使用Microsoft Excel 2021整理分析数据,SPSS 21.0进行单因素方差分析、独立样本 t 检验和相关性分析,采用Origin 2021进行图表的制作,Duncan方法检验各处理水平在 $P<0.05$ 水平的差异性。

2 结果与分析

2.1 外源添加柠檬酸对土壤pH和有效态Pb的影响

如图1(a)所示,随着柠檬酸浓度的升高,不同种植模式的土壤pH下降。如图1(b)所示,随着柠檬酸浓度的增加,间作土壤有效态Pb含量较小花南芥单作分别增加23.52%、27.88%和36.85%,间作土壤有效态Pb含量较玉米单作分别增加17.27%、19.47%和6.18%。与CK相比,在柠檬酸浓度为5 mmol/kg时,小花南芥单作和间作的土壤有效态Pb显著增加,但在25和50 mmol/kg时显著降低;单作玉米在柠檬酸浓度为5和50 mmol/kg时土壤有效态Pb显著增加,但在25 mmol/kg时无显著变化。



注:不同小写字母表示在0.05水平上差异显著($P<0.05$),下同。

图1 外源添加柠檬酸对土壤pH和有效态Pb的影响

Fig.1 Effects of exogenous addition of citric acid on soil pH and available Pb

2.2 外源添加柠檬酸对小花南芥和玉米Pb富集特征的影响

如表2所示,与CK相比,不同柠檬酸浓度处理的小花南芥地上部Pb含量均降低,单作小花南芥地上部和地下部Pb含量随着柠檬酸浓度的增加而降低,间作小花南芥地上部Pb含量随柠檬酸浓度的

增加先降低后增加。随着柠檬酸浓度的增加,单作小花南芥Pb转运系数比CK依次增加了17.24%、24.14%、27.59%,间作小花南芥则无显著差异性。小花南芥Pb富集系数随着柠檬酸浓度的增加先降低后增加。单作玉米地上部Pb含量随着柠檬酸浓度的增加先降低后升高再降低,间作玉米

地上部 Pb 含量随柠檬酸浓度的增加而降低,其中 5 和 50 mmol/kg 柠檬酸浓度处理下,单作玉米地上部富集 Pb 含量最少。单作和间作玉米地下部 Pb 含量随着柠檬酸浓度的增加而降低,其中 5 mmol/kg 柠檬酸处理下玉米地下部 Pb 含量最高,50 mmol/kg 柠檬

酸处理下玉米地下部 Pb 含量最低。单作玉米 Pb 转运系数对柠檬酸的响应为低浓度降低,高浓度增加,5 mmol/kg 柠檬酸处理下,单作玉米 Pb 转运系数达到最低。间作玉米 Pb 富集系数在添加柠檬酸后均降低。

表 2 外源添加柠檬酸对小花南芥和玉米 Pb 富集特性的影响
Table 2 Effects of exogenous addition of citric acid on Pb enrichment characteristics of *A. alpina* and *Zea mays*

种植模式	柠檬酸浓度/ (mmol·kg ⁻¹)	小花南芥				玉米			
		地上部 Pb 含量/ (mg·kg ⁻¹)	地下部 Pb 含量/ (mg·kg ⁻¹)	转运系数	富集系数	地上部 Pb 含量/ (mg·kg ⁻¹)	地下部 Pb 含量/ (mg·kg ⁻¹)	转运系数	富集系数
单作	0	857.39±10.14a	2 990.75±120.04a	0.29±0.02cd	0.26±0.01b	212.64±10.70a	836.72±53.44e	0.26±0.02b	0.06±0.01b
	5	780.77±20.65bc	2 272.22±223.59cd	0.35±0.04ab	0.25±0.01c	156.74±1.10d	1 375.07±173.66a	0.12±0.02d	0.04±0.01d
	25	798.70±8.60bc	2 188.78±46.10cd	0.37±0.02a	0.27±0.01ab	175.75±4.22c	1 323.60±170.40ab	0.14±0.02d	0.06±0.01b
	50	762.57±33.38cd	2 044.24±39.49d	0.38±0.02a	0.28±0.02a	158.15±15.05d	881.92±45.47de	0.18±0.02c	0.06±0.01c
间作	0	828.33±39.61ab	2 639.22±143.32ab	0.32±0.03bc	0.27±0.01ab	211.25±9.66a	1 179.33±5.88bc	0.18±0.01c	0.07±0.01a
	5	771.85±28.59c	2 906.73±423.54a	0.27±0.05d	0.23±0.01d	191.02±1.95b	1 472.33±58.20d	0.13±0.01d	0.06±0.01b
	25	612.97±43.77e	2 471.54±153.12bc	0.25±0.01d	0.18±0.01e	193.45±5.55b	1 055.73±132.46cd	0.19±0.03c	0.06±0.01b
	50	716.30±5.85d	2 773.28±105.77ab	0.26±0.02d	0.23±0.01d	181.30±7.52bc	608.66±37.94f	0.30±0.02a	0.06±0.01bc

如表 3 所示,逐步线性回归分析进一步表明,小花南芥、玉米的地上部与地下部 Pb 含量同时受植物体内柠檬酸含量(X₁)、根系分泌物中柠檬酸含量(X₂)和外源

添加柠檬酸含量(X₃)的影响,三者对小花南芥地上部和地下部变化的解释贡献分别为 58.4%、72.5%,对玉米地上部和地下部变化的解释贡献分别为 64.6%、22.8%。

表 3 植物体不同部位 Pb 含量与各部位柠檬酸含量逐步回归分析
Table 3 Stepwise regression analysis of Pb content in different parts of plants and citric acid content in different parts of plants

植物不同部位 Pb 含量	外源添加	修正后 R ²	P
小花南芥地上部	$Y=919.79-77.65X_1-39.96X_2-11.63X_3$	0.584	0.02
小花南芥地下部	$Y=3 415.45-1 498.98X_1-257.15X_2+667.35X_3$	0.725	0.00
玉米地上部	$Y=195.62-1.48X_1-260.16X_2+4.36X_3$	0.646	0.01
玉米地下部	$Y=598.46+115.69X_1+1 434.76X_2+33.57X_3$	0.228	0.18

注:X₁为植物体内柠檬酸含量,X₂为根系分泌柠檬酸含量,X₃为外源添加柠檬酸含量。

2.3 外源添加柠檬酸对小花南芥和玉米体内和根系分泌柠檬酸含量的影响

如图 2(a)所示,随着柠檬酸浓度的增加,单作小花南芥柠檬酸含量依次比 CK 增加了 27.63%、76.32%、109.21%;25 mmol/kg 柠檬酸浓度处理时,间作小花南

芥柠檬酸含量比 CK 增加了 118.55%。如图 2(b)所示,5 mmol/kg 柠檬酸处理下,单作玉米地上部柠檬酸含量分别比 CK 增加了 70.48%;随着柠檬酸浓度的增加,间作玉米地上部柠檬酸含量依次比 CK 增加了 64.73%、114.29%、92.41%。

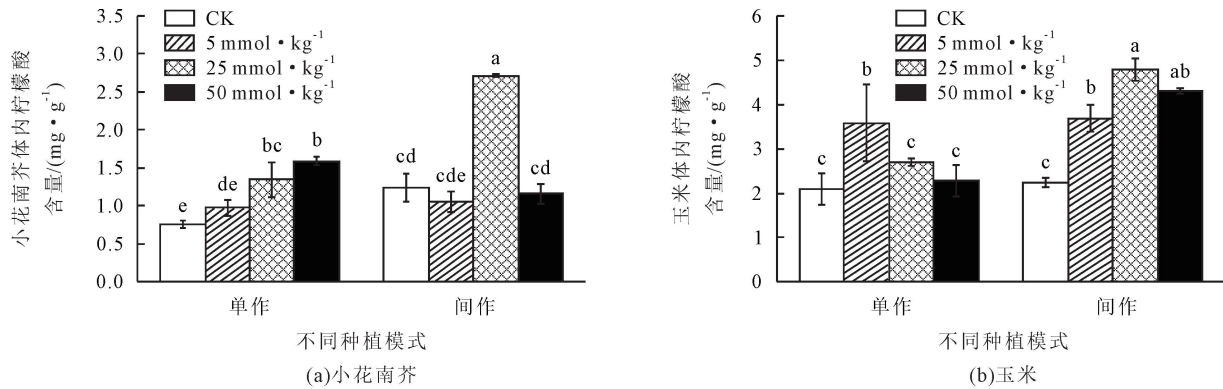


图 2 外源添加柠檬酸对小花南芥和玉米体内柠檬酸含量的影响
Fig.2 Effects of exogenous addition of citric acid on citric acid content in *A. alpina* and *Zea mays*

如图 3(a)所示,5 mmol/kg 柠檬酸处理下,单作小花南芥根系分泌柠檬酸含量最高,间作小花南芥

根系分泌柠檬酸含量低未检出。如图 3(b)所示,单作玉米根系分泌有机酸无显著差异性,间作玉米根

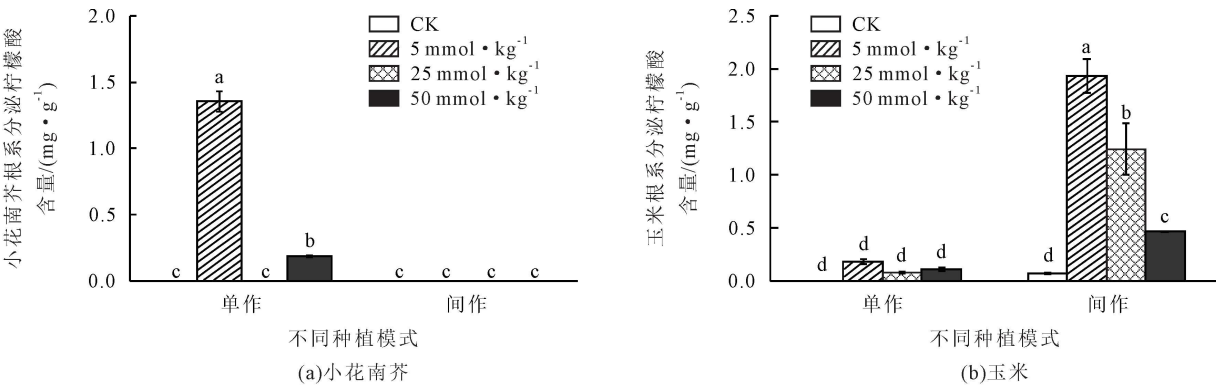


图3 外源柠檬酸添加对小花南芥和玉米根系分泌柠檬酸含量的影响
Fig.3 Effects of exogenous citric acid addition on the content of citric acid secreted by the roots of *A. alpina* and *Zea mays*

系分泌柠檬酸含量随着外源添加柠檬酸浓度的升高而降低。随着柠檬酸浓度的增加,间作玉米根系分泌柠檬酸含量比CK增加了2 671.43%、1 671.43%、571.43%。

外源添加柠檬酸条件下,对小花南芥、玉米各部分柠檬酸含量进行相关性分析,如表4所示。单作条件下,外源添加柠檬酸浓度与小花南芥地上部柠檬酸

含量呈显著正相关、与根系分泌物中柠檬酸含量呈负相关,与玉米地上部柠檬酸含量呈正相关、与玉米根系分泌物中柠檬酸含量呈负相关。在间作条件下,外源添加柠檬酸浓度与小花南芥地上部柠檬酸含量呈正相关、与根系分泌物中的柠檬酸含量不相关,与玉米的地上部柠檬酸含量呈负相关,与根系分泌物中的柠檬酸含量呈正相关。

表4 外源柠檬酸与小花南芥和玉米不同部位柠檬酸含量的相关性分析
Table 4 Correlation analysis between exogenous citric acid and citric acid content in different parts of *A. alpina* and *Zea mays*

	种植模式	柠檬酸来源	外源	地上部	地下部
小花南芥	单作	外源添加	1	0.92*	-0.35
	间作	外源添加	1	0.20	无
玉米	单作	外源添加	1	0.25	-0.19
	间作	外源添加	1	-0.33	0.05

2.4 外源添加柠檬酸对小花南芥叶长和玉米株高的影响

如图4(a)所示,CK处理下,小花南芥叶长单作比间作增加了11.84%,5~50 mmol/kg柠檬酸处理下,小花南芥叶长间作比单作依次增加了19.02%、54.51%、42.08%;间作下,小花南芥叶长随着柠檬酸浓度的增加而降低,其中,5 mmol/kg柠檬酸处理下

比CK显著增加15.32%。如图4(b)所示,CK处理下,玉米单作和间作无显著差异性,5~50 mmol/kg柠檬酸处理下,玉米株高间作比单作依次增加了20.03%、11.30%、28.28%;单作和间作下,玉米株高随着柠檬酸浓度的增加而降低,其中5 mmol/kg柠檬酸处理下,与CK相比,单作增加了21.32%,间作增加了32.25%。

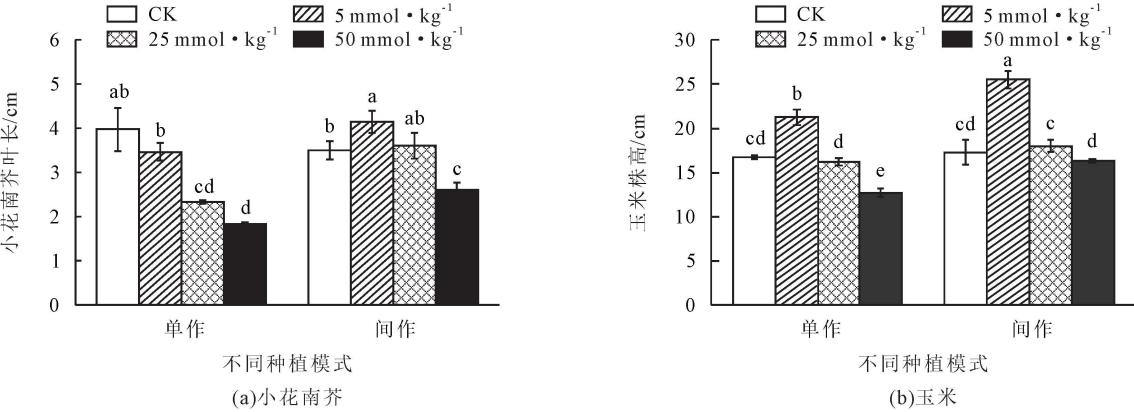


图4 外源添加柠檬酸对小花南芥叶长和玉米株高的影响
Fig.4 Effects of exogenous addition of citric acid on leaf length of *A. alpina* and plant height of *Zea mays*

2.5 外源添加柠檬酸对小花南芥和玉米根系形态的影响

如表5所示,不添加柠檬酸时,间作小花南芥根长、根表面积、总根体积、根尖数比单作分别增长

5.46%、67.91%、47.06%、139.28%;间作玉米根长和根尖数分别增长 43.85% 和 117.92%,根表面积、根平均直径和总根体积降低 4.11%、11.54% 和 5.88%。随着添加柠檬酸浓度的增加,单作和间作小花南芥根长、根表面积、根平均直径和总根体积均降低。其中,添加 50 mmol/kg 柠檬酸的小花南芥生长情况最差,根

变短变细、根尖数最少。单作玉米对柠檬酸的响应表现为随着柠檬酸浓度的增加,根长、根表面积、总根体积先增加后降低,根平均直径无显著差异,根尖数先降低后增加。间作玉米对柠檬酸的响应表现为随着柠檬酸浓度的增加,根长、根平均直径增加,根表面积、总根体积、根尖数先降低后增加。

表 5 外源添加柠檬酸对小花南芥和玉米根系形态的影响
Table 5 Effects of exogenous addition of citric acid on root morphology of *A. alpina* and *Zea mays*

植物	种植模式	浓度/(mmol·kg ⁻¹)	根长/cm	根表面积/cm ²	根平均直径/mm	总根体积/cm ³	根尖数/个
小花南芥	单作	0	10.81±0.38a	29.23±5.03b	0.21±0.01ab	0.17±0.01b	2 206.67±91.51f
		5	10.42±0.04ab	34.90±0.41b	0.23±0.01a	0.23±0.02a	4 180.00±76.63c
		25	6.68±0.13d	15.65±1.12c	0.15±0.01c	0.06±0.01de	4 771.00±189.00b
		50	7.37±0.86cd	14.65±0.21cd	0.15±0.01c	0.04±0.01e	2 565.67±46.51e
	间作	0	11.40±3.02a	49.08±2.47a	0.20±0.02b	0.25±0.03a	5 281.00±383.00a
		5	9.53±0.20abc	19.49±8.82c	0.20±0.03b	0.10±0.05cd	3 243.67±62.94d
		25	8.19±0.48bcd	20.09±1.99c	0.17±0.02c	0.12±0.06cd	2 513.67±209.51e
		50	6.45±1.56d	8.25±0.49d	0.17±0.02c	0.03±0.01e	1 051.00±40.00g
玉米	单作	0	5.04±0.30d	14.36±0.82d	0.52±0.04a	0.18±0.02bc	306.67±22.82f
		5	7.68±0.60b	13.38±1.78d	0.54±0.04a	0.19±0.01bc	789.34±32.13b
		25	9.29±0.30a	23.67±1.02ab	0.52±0.05a	0.26±0.05ab	360.67±62.09ef
		50	6.98±0.63bc	20.95±1.51bc	0.52±0.06a	0.23±0.05bc	590.67±8.09cd
	间作	0	7.25±2.24bc	13.76±5.06d	0.46±0.02ab	0.16±0.06c	669.00±234.00bc
		5	5.62±0.35cd	19.88±0.39c	0.37±0.02c	0.26±0.10abc	976.67±23.10a
		25	6.67±0.76bcd	14.19±1.23d	0.40±0.02bc	0.17±0.05bc	476.67±20.51de
		50	9.41±0.08a	26.78±0.67a	0.53±0.10a	0.35±0.06a	706.00±20.00bc

2.6 外源添加柠檬酸对小花南芥和玉米生物量的影响

如图 5(a)所示,随着柠檬酸浓度的增加,间作小花南芥地上部的生物量比单作增加了 169.23%、688.30%、86.67% 和 221.95%。单作时,与 CK 相比小花南芥地上部生物量在不同外源柠檬酸浓度下都显著下降,分别下降了 51.80%、46.15%、78.97%,地下部在外源柠檬酸浓度为 25 mmol/kg 时显著增加 37.84%,在 5 和 50 mmol/kg 时显著降低,分别降低了 44.60%、67.57%;间作时,地上部与地下部在柠檬酸浓度为 5 mmol/kg 时都显著增加,分别增加了 41.21%、22.22%,而在 25 和

50 mmol/kg 时都显著下降,地上部分别下降了 62.73%、74.79%,地下部分别下降了 44.44%、41.02%。如图 5(b)所示,随着柠檬酸浓度的增加,间作玉米地上部比单作增加了 20.43%、211.76%、82.86% 和 153.33%;间作玉米地下部比单作分别增加了 40.54%、327.27%、164.29% 和 214.29%。与 CK 相比,单作时柠檬酸浓度对玉米地上部和地下部生物量没有显著影响;间作时地上部与地下部都显著增加,地上部分别增加了 184.82%、70.54%、103.57%,地下部分别增加了 173.08%、113.46%、155.77%。

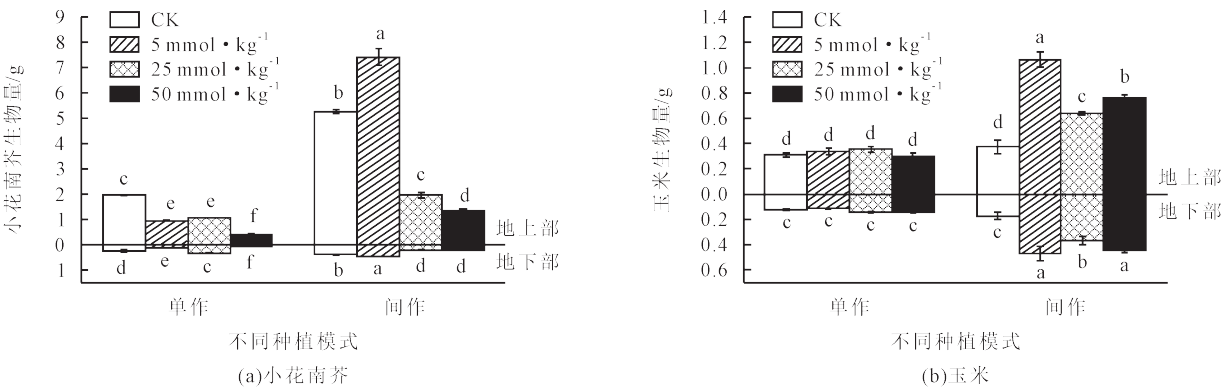


图5 外源添加柠檬酸对小花南芥和玉米生物量的影响
Fig.5 Effects of exogenous addition of citric acid on biomass of *A. alpina* and *Zea mays*

3 讨论

3.1 柠檬酸对植株生长的影响

柠檬酸作为根际分泌物的一种,可以影响根际微环境与微生物群落,降低土壤的pH值,活化土壤中矿质元素,进而促进植物对矿质养分的吸收,改变重金属在土壤中的生物有效性^[25,28,29]。同时,柠檬酸作为植物光合作用的直接或者间接产物,与植物碳代谢密切相关^[30]。研究发现,外源柠檬酸可增强植物的非生物胁迫耐受性,提高叶绿素含量与光合效率,进而促进作物生长与产量的提升^[31]。邵微等^[32]发现外源添加柠檬酸可以促进梨对养分的吸收与果实品质的提升。Duarte等^[33]的研究也说明了柠檬酸对烟草芽的生长有着积极影响。在本试验中,间作下外源添加5 mmol/kg 柠檬酸时均能提高Pb胁迫下单作和间作小花南芥和玉米的株高与生物量,根系变短变粗,总根体积分增大;而柠檬酸浓度>25 mmol/kg时,玉米和小花南芥的株高和生物量降低,根系变短变细、根尖数减少。说明过高浓度的柠檬酸会对植物产生抑制作用,这与柠檬酸对植株生长低促高抑的研究结果一致^[34]。

3.2 柠檬酸对土壤有效态Pb及植物吸收转运Pb的影响

在本试验中,土壤pH随着柠檬酸添加浓度的增加而降低,是由于有机酸能够电离出H⁺,使得土壤pH降低。余健等^[35]发现柠檬酸处理能够使土壤pH下降0.8个单位,主要由于柠檬酸是三元酸,其羧基个数及空间结构和有机酸本身的解离度不同,因此酸性较强^[36]。间作时会刺激植物根系分泌更多的柠檬酸,降低土壤pH,促进土壤中重金属离子的释放,增加土壤中有效态Pb的含量^[18],因此小花南芥和玉米间作土壤中有效态Pb含量增加。添加柠檬酸也能显著增加土壤中有效态Pb的含量($P<0.05$),改变土壤中Pb的赋存形态,与前人^[37,38]的研究结果基本一致。根系分泌的柠檬酸与Pb²⁺形成络合物,抑制土壤胶体对Pb²⁺的吸附作用,增强植株根系对Pb的吸收^[39]。

Dan等的研究发现富集型和非富集型东南景天在柠檬酸的作用下能显著增加根系对Pb的吸收,而富集型的东南景天则可以促进Pb向地上部的运输^[40]。耐Pb植株可以将Pb固定在根系中,限制其吸收和转运^[39]。在本实验中,根际土壤中活化的Pb被吸附到小花南芥和玉米根部细胞表面,并进入根部细胞向地上部运输。在单作时,与CK相比小花南芥的富集系数和转运系数显著增加,但是玉米的转运系数显著下降,说明外源添加柠檬酸能促进超富集植物小花南芥对Pb的吸收和转运,对于低富集Pb品种的玉米而言,

外源添加柠檬酸能促进根系对Pb的富集,但是限制Pb向地上部的转运。孙姣辉等的研究发现随玉米生育进程的进行,玉米根部、茎秆和叶片Cd质量分数分别呈现出不同的积累趋势^[41]。Cd胁迫下,玉米Cd积累量均在苗期至灌浆期呈上升趋势,在灌浆期达到最大,灌浆期之后Cd积累量呈下降趋势^[42]。小花南芥和玉米间作种植模式下添加柠檬酸,间作玉米对土壤Pb的吸收高于单作,可能是玉米处于幼苗期。

3.3 外源添加柠檬酸对植株分泌柠檬酸的影响

姜冰等^[43]发现在玉米中,Pb、Cr、Ni、As的富集表现出了明显的根系底端聚集,说明玉米根系能分泌更多柠檬酸结合土壤中的Pb²⁺来阻止玉米吸收Pb^[44],通过缓解胁迫对植物细胞膜造成的损伤^[45],从而减少重金属毒害促进植物生长。由于养分竞争,小花南芥和玉米分泌更多的柠檬酸活化土壤的养分^[46],与多种金属离子形成复合物,进而促进植物对养分元素的吸收^[47]。在本试验中,添加25 mmol/kg 柠檬酸,小花南芥地上部柠檬酸含量最高,但根系分泌柠檬酸含量并不是最高,这可能是由于添加了柠檬酸促进小花南芥吸收柠檬酸,但抑制了根系自身分泌柠檬酸的量。随着添加柠檬酸浓度的增加,根系分泌柠檬酸含量增加,土壤中的柠檬酸与Pb螯合,有效态Pb含量降低,在植株根系富集。柠檬酸存在于植物体内末端氧化代谢系统中,参与到碳循环中^[48]。因此小花南芥和玉米生长变化随着植物体内柠檬酸含量的变化而变化。

4 结论

外源添加柠檬酸对玉米和小花南芥的株高、生物量及Pb的富集表现为低促高抑,显著降低土壤pH,促进植物体内柠檬酸浓度的增加。5 mmol/kg 柠檬酸处理下,提高了间作小花南芥和单作玉米及间作玉米的株高、生物量和土壤中有效态Pb的含量,促进小花南芥根部对Pb的富集和向地上部的转运,抑制间作玉米对Pb的富集。

[参考文献]

- [1] Ben-Uwabor P O, Olawepo G K, Ogunkunle C O, et al. Heavy metal status of major vegetable farmsoils in ilorin metropolis, Kwara State, Nigeria[J]. Journal of Applied Sciences and Environmental Management, 2020,24(3):467-472.
- [2] 王成尘,田稳,向萍,等. 土壤-水稻/小麦重金属吸收机制与安全调控[J]. 中国环境科学, 2022,42(2):794-807.
Wang Chengchen, Tian Wen, Xiang Ping, et al. Mechanism of heavy metal uptake and transport in soil-rice/wheat system and regulation measures for safe production[J]. China Environmental Science, 2022,42(2):794-807.

- [3] 全国土壤污染状况调查公报[J]. 中国环保产业, 2014,(5): 10-11.
- [4] Yuan X H, Xue N D, Han Z G. A meta-analysis of heavy metals pollution in farmland and urban soils in China over the past 20 years[J]. Journal of Environmental Sciences, 2021,101:217-226.
- [5] Yu F, Yang C F, Zhu Z L, et al. Adsorption behavior of organic pollutants and metals on micro/nanoplastics in the aquatic environment[J]. Science of the Total Environment, 2019,694:133643.
- [6] 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[J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2009,39 (8):622-654.
- [7] 杨国栋,张梦竹,冯涛,等. 土壤重金属污染修复技术研究现状及展望[J]. 现代化工, 2020,40(12):50-54.
Yang Guodong, Zhang Mengzhu, Feng Tao, et al. Research status and prospect of remediation technology for heavy metal pollution in soil[J]. Modern Chemical Industry, 2020,40 (12):50-54.
- [8] Danh L T, Truong P, Mammucari R, et al. A critical review of the arsenic uptake mechanisms and phytoremediation potential of *Pteris vittata*[J]. International Journal of Phytoremediation, 2014,16(5):429-453.
- [9] Zu Y Q, Li Y, Chen J J, et al. Hyperaccumulation of Pb, Zn and Cd in herbaceous grown on lead-zinc mining area in Yunnan, China[J]. Environment International, 2005,31(5): 755-762.
- [10] 方其仙,祖艳群,湛方栋,等. 小花南芥(*Arabis alpina* var. *parviflora* Franch)对Pb和Zn的吸收累积特征研究[J]. 农业环境科学学报, 2009,28(3):433-437.
Fang Qixian, Zu Yanqun, Zhan Fangdong, et al. Study on the absorption and accumulation characteristics of Pb and Zn by *Arabis alpina* var. *parviflora* Franch[J]. Journal of Agro-environment Science, 2009,28(3):433-437.
- [11] Wei S H. A newly-discovered Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L[J]. Chinese Science Bulletin, 2005,50(1):33.
- [12] Zhang X F, Xia H P, Li Z A, et al. Identification of a new potential Cd-hyperaccumulator *Solanum photeinocarpum* by soil seed bank-metal concentration gradient method[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011,189(1/2):414-419.
- [13] 彭少邦,蔡乐,李泗清. 土壤镉污染修复方法及生物修复研究进展[J]. 环境与发展, 2014,26(3):86-90.
- [14] 熊璇,唐浩,黄沈发,等. 重金属污染土壤植物修复强化技术研究进展[J]. 环境科学与技术, 2012,35(S1):185-193.
Xiong Xuan, Tang Hao, Huang Shenfa, et al. Review in strengthening technology for phytoremediation of soil contaminated by heavy metals[J]. Environmental Science & Technology, 2012,35(S1):185-193.
- [15] Tang Y, He J, Yu X N, et al. Intercropping with *Solanum nigrum* and *Solanum photeinocarpum* from two ecoclimatic regions promotes growth and reduces cadmium uptake of eggplant seedlings[J]. Pedosphere, 2017,27(3):638-644.
- [16] 蒋成爱,吴启堂,吴顺辉,等. 东南景天与不同植物混作对土壤重金属吸收的影响[J]. 中国环境科学, 2009,29(9):985-990.
Jiang Cheng' ai, Wu Qitang, Wu Shunhui, et al. Effect of co-cropping *Sedum alfredii* with different plants on metal uptake[J]. China Environmental Science, 2009,29(9):985-990.
- [17] Guo X F, Li H S, Chen H Y. The effects of biochar and intercropping on the Cd, Cr and Zn speciation in soils and plant uptake by *Machilus pauhoi*[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2017,98(4):574-581.
- [18] 闫仁俊,韩磊,赵亚萍,等. 玉米与龙葵间作模式对植物生长及Cd富集特征的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020,39 (10):2162-2171.
- [19] Gramlich A, Tandy S, Andres C, et al. Cadmium uptake by cocoa trees in agroforestry and monoculture systems under conventional and organic management[J]. Science of the Total Environment, 2017,580:677-686.
- [20] 周显勇,刘鸿雁,刘艳萍,等. 植物修复重金属和抗生素复合污染土壤微生物数量和酶活性的变化[J]. 农业环境科学学报, 2019,38(6):1248-1255.
Zhou Xianyong, Liu Hongyan, Liu Yanping, et al. Changes in microbial populations and enzyme activity under phytoremediation in soil co-contaminated with heavy metals and antibiotics[J]. Journal of Agro-environment Science, 2019, 38(6):1248-1255.
- [21] 李祖然,闵强,孙晶晶,等. As胁迫对二年生三七生长、根部As含量和根系分泌物的影响[J]. 北京农学院学报, 2015,30 (3):86-91.
- [22] 秦丽,何永美,王吉秀,等. 续断菊与玉米间作的铅累积及根系低分子量有机酸分泌特征研究[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2020,28(6):867-875.
Qin Li, He Yongmei, Wang Jixiu, et al. Study on lead accumulation and low molecular weight organic acid secretion characteristics of root system in intercropping of *Dipsacus asperata* and maize[J]. Chinese Journal of Eco-agriculture, 2020,28(6):867-875.
- [23] 王吉秀,湛方栋,李元,等. 铅胁迫下小花南芥与玉米间作对根系分泌物有机酸的影响[J]. 中国生态农业学报, 2016,24 (3):365-372.
Wang Jixiu, Zhan Fangdong, Li Yuan, et al. Effects of *Arabis alpina* L. var. *parviflora* Franch and *Zea mays* L. intercropping system on root-exudated organic acids under lead stress[J]. Chinese Journal of Eco-agriculture, 2016,24(3): 365-372.
- [24] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京:中国农业出版社,

- 2000,25-111.
- [25] 詹淑威,潘伟斌,赖彩秀,等. 外源有机酸对小飞扬草(*Euphorbia thymifolia* L.)修复镉污染土壤的影响[J]. 环境工程学报, 2015,9(10):5096-5102.
- Zhan Shuwei, Pan Weibin, Lai Caixiu, et al. Effects of exogenous organic acids on remediation of cadmium contaminated soil by *Euphorbia thymifolia* L[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2015,9(10):5096-5102.
- [26] 肖峰,刘才鑫,祖艳群,等. 叶面喷施吡啶乙酸对小花南芥和玉米间作富集铅的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2024, 41(1): 230-239.
- Xiao Feng, Liu Caixin, Zu Yanqun, et al. Effects of foliar spraying of IAA on Pb enrichment during interplanting of *Arabis alpina* L. var. *parviflora* Franch and *Zea mays* L.[J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2024,41(1):230-239.
- [27] Wieshammer G, Unterbrunner R, García T B, et al. Phytoextraction of Cd and Zn from agricultural soils by *Salix* ssp. and intercropping of *Salix caprea* and *Arabidopsis halleri* [J]. Plant and Soil, 2007,298(1/2):255-264.
- [28] 许衡,杨和生,徐英,等. 果树根际微域环境的研究进展[J]. 山东农业大学学报:自然科学版, 2004,35(3):476-480.
- Xu Heng, Yang Hesheng, Xu Ying, et al. Research progress on rhizosphere environment of fruit trees[J]. Journal of Shandong Agricultural University: Natural Science Edition, 2004,35(3):476-480.
- [29] 黄敬,龙坚,蒋凯,等. 外源有机酸对不同土壤中Cd解吸行为的影响[J]. 环境生态学, 2019,1(4):54-62.
- [30] Araújo W L, Nunes-Nesi A, Nikoloski Z, et al. Metabolic control and regulation of the tricarboxylic acid cycle in photosynthetic and heterotrophic plant tissues[J]. Plant, Cell & Environment, 2012,35(1):1-21.
- [31] Tahjib-Ul-Arif M, Zahan M I, Karim M M, et al. Citric acid-mediated abiotic stress tolerance in plants[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021,22(13):7235.
- [32] 邵微,徐国益,于会丽,等. 低分子有机酸水溶肥提升梨叶片光合、养分吸收及果实品质[J]. 果树学报, 2022,39(6):992-1003.
- Shao Wei, Xu Guoyi, Yu Huili, et al. Low molecular weight organic acid water-soluble fertilizer improves leaf photosynthesis, nutrient absorption and fruit quality of pear[J]. Journal of Fruit Science, 2022,39(6):992-1003.
- [33] Duarte B, Delgado M, Caçador I. The role of citric acid in cadmium and nickel uptake and translocation, in *Halimione portulacoides*[J]. Chemosphere, 2007,69(5):836-840.
- [34] Duan D C, Tong J H, Xu Q, et al. Regulation mechanisms of humic acid on Pb stress in tea plant (*Camellia sinensis* L.) [J]. Environmental Pollution, 2020,267:115546.
- [35] 余健,俞元春,房莉,等. 有机酸对森林土壤pH及铝形态变化的影响[J]. 福建林学院学报, 2005,(3):243-246.
- [36] 刘慧,栗杰,贺云龙,等. 外源低分子量有机酸对土壤钙、磷释放动力学特性的影响[J]. 北方园艺, 2016(23):163-167.
- Liu Hui, Li Jie, He Yunlong, et al. Effect of exogenous low molecular weight organic acids on soil calcium, phosphorus release kinetics characteristics[J]. Northern Horticulture, 2016(23):163-167.
- [37] 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 Hongfei, Qiao Dongmei, Qi Xuebin, 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.
- [38] 秦丽,湛方栋,祖艳群,等. 土荆芥和蚕豆/玉米间作系统中Pb、Cd、Zn的累积特征研究[J]. 云南农业大学学报:自然科学, 2017,32(1):153-160.
- [39] Shahid M, Pinelli E, Dumat C. Review of Pb availability and toxicity to plants in relation with metal speciation; role of synthetic and natural organic ligands[J]. Journal of Hazardous Materials, 2012,219:1-12.
- [40] Liu D, Islam E, Li T Q, et al. Comparison of synthetic chelators and low molecular weight organic acids in enhancing phytoextraction of heavy metals by two ecotypes of *Sedum alfredii* Hance[J]. Journal of Hazardous Materials, 2008,153(1/2):114-122.
- [41] 孙姣辉,陈婷婷,邱博,等. 几种重金属(Cd、Cr、As)在玉米植株中的分布研究[J]. 作物研究, 2016,30(4):402-405.
- [42] 赵良侠,高坤,黄婷婷,等. 玉米籽粒高/低镉积累自交系不同生育期的镉累积特性研究[J]. 生态环境学报, 2023,32(4):766-775.
- [43] 姜冰,董红志,高宗军,等. 土壤-玉米重金属富集迁移特征及秸秆还田[J]. 科学技术与工程, 2021,21(18):7797-7805.
- [44] Savage D F, Way J, Silver P A. Defossilizing fuel: how synthetic biology can transform biofuel production[J]. ACS Chemical Biology, 2008,3(1):13-16.
- [45] 王鸿燕,佟海英,黄苏珍,等. 柠檬酸和草酸对Pb胁迫下马蔺生长和生理的影响[J]. 生态学杂志, 2010,29(7):1340-1346.
- [46] 涂书新,孙锦荷,郭智芬,等. 植物根系分泌物与根际营养关系评述[J]. 土壤与环境, 2000,9(1):64-67.
- [47] Yang C, Chen T, Shen B R, et al. Citric acid treatment reduces decay and maintains the postharvest quality of peach (*Prunus persica* L.) fruit[J]. Food Science & Nutrition, 2019, 7(11):3635-3643.
- [48] Karaffa L, Kubicek C P. *Aspergillus niger* citric acid accumulation: do we understand this well working black box?[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2003,61(3):189-196.