

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2020.01.022

傅校锋, 刘杰, 龙玉梅, 等. 强化青葙修复镉污染土壤的柠檬酸施用方式优化试验研究. 土壤, 2020, 52(1): 153–159

强化青葙修复镉污染土壤的柠檬酸施用方式优化试验研究^①

傅校锋¹, 刘杰^{1,2*}, 龙玉梅¹, 孟德佳¹

(1 桂林理工大学环境污染控制理论与技术广西重点实验室, 广西桂林 541004; 2 桂林理工大学岩溶地区水污染控制与用水安全保障协同创新中心, 广西桂林 541004)

摘要: 采用盆栽试验, 研究了以不同时间和次数共 10 种方式施用柠檬酸对青葙(*Celosia argentea* Linn.)修复 Cd 污染土壤及地上部 Cd 积累量的影响, 为筛选最佳的柠檬酸施用方式, 提高青葙 Cd 修复效率提供参考。结果表明: 所有处理的青葙各部分生物量均增加, 其中移栽前施加柠檬酸, 混匀后平衡两周(CA+Bal)处理可显著增加青葙各部分生物量, 叶、茎、根及地上部分别比对照(CK)处理增加 66.18%、67.22%、65.58% 和 66.92%; 第 4 周单次施加柠檬酸(CA+4)处理和第 4、5 周等量分两次施加柠檬酸(CA+4/5)处理显著增加青葙地上部 Cd 含量, 分别较 CK 处理增加 67.18% 和 66.82%; CA+Bal 和 CA+4/5 处理显著增加了青葙地上部 Cd 积累量, 分别比 CK 处理高 139.62%和 129.59%。可见, 移栽前施加柠檬酸, 混匀后平衡两周和第 4、5 周等量分两次施加柠檬酸处理更有利于提高青葙对 Cd 污染土壤的修复效率。

关键词: 柠檬酸; 施用方式; 镉; 青葙

中图分类号: X53 文献标志码: A

Experimental Study on Optimization of Citric Acid Application Method for Remediation of Cadmium-contaminated Soil by *Celosia argentea* Linn.

FU Xiaofeng¹, LIU Jie^{1,2*}, LONG Yumei¹, MENG Dejie¹

(1 Guangxi Key Laboratory of Environmental Pollution Control Theory and Technology, Guilin University of Technology, Guilin, Guangxi 541004, China; 2 Guangxi Collaborative Innovation Center for Water Pollution Control and Water Safety in Karst Area, Guilin University of Technology, Guilin, Guangxi 541004, China)

Abstract: A pot experiment was conducted to study the effects of applying citric acid at different time and times in 10 ways for remediation of Cd-contaminated soil and cadmium accumulation in shoot by *C. argentea* for providing the reference for screening the best citric acid application method to improve Cd remediation efficiency by *C. argentea*. Results revealed that the biomass of each section of *C. argentea* was increased after the experiment, in which citric acid was applied before transplanting, and balanced for two weeks after mixing (CA+Bal) had the largest effects, the biomass of leaves, stems, roots and aboveground increased than CK treatment by 66.18%, 67.22%, 65.58%, and 66.92%, respectively. In the treatment of citric acid applied a single in the fourth week (CA+4) and the treatment of two equal amounts in the fourth and fifth weeks (CA+4/5), Cd contents in the aboveground were significantly increased than CK treatment by 67.18% and 66.82%, respectively; Cd accumulation in the aboveground parts of *C. argentea* under the treatments of CA+Bal and CA+4/5 were significantly increased than CK treatment by 139.62% and 129.59%, respectively. Therefore, citric acid can be applied prior to transplanting, and balanced two weeks after mixing and two times in equal in the fourth and fifth weeks to increase the remediation efficiency of Cd-contaminated soil by *C. argentea*.

Key words: Citric acid; Application method; Cadmium; *Celosia argentea* Linn

随着我国工业化进程的加快,土壤重金属污染问题越来越严重。其中 Cd 的点位超标率为 7.0%, 是所有无机污染物中最高^[1], 且 Cd 是环境中生物毒性和

迁移性最强的元素之一^[2], 易通过食物链被人体吸收, 危害身体健康。因此, 治理土壤 Cd 污染迫在眉睫。植物修复技术(phytoremediation)是修复 Cd 等重

①基金项目: 广西科技重大专项(桂科 AA17204047)和广西高等学校高水平创新团队及卓越学者计划项目(桂财教函[2018]319 号)资助。

* 通讯作者(liujie@glut.edu.cn)

作者简介: 傅校锋(1994—), 男, 浙江绍兴人, 硕士研究生, 主要研究方向为受损土壤环境的生态修复。E-mail: 409981523@qq.com

金属污染土壤最具潜力的方法之一。该技术因同时具备治理效果的永久性、治理过程的原位性、治理成本的低廉性、环境美学的兼容性、后期处理的简易性等多项优点,而倍受青睐^[3-5]。但由于受到土壤重金属生物有效性等因素的制约,植物修复往往存在效率较低的问题^[6-7]。通过施用螯合剂能够显著地增加土壤重金属的生物有效性,从而提高植物修复效率^[8]。因此,利用螯合剂强化植物修复技术已成为新的发展趋势。

柠檬酸是一种天然螯合剂,能改变重金属 Cd 的形态并促进其释放,进而提高植物吸收和积累土壤中的 Cd。大量研究表明,柠檬酸能够有效提高 Cd 污染土壤的植物修复效率^[9-10]。贾倩闻等^[11]研究表明,施加柠檬酸使海州香薷地上部 Cd 平均含量比对照增加了 1.50 倍。Sana 等^[12]研究表明施加外源柠檬酸不仅可以增加植物对 Cd 吸收还能缓解 Cd 对植物的胁迫,并有利于促进超富集植物欧洲油菜对 Cd 的提取。本课题组研究发现,当柠檬酸的施加量为 5 mmol/kg 时对提高青苜蓿各部分 Cd 含量的促进效果最佳^[13]。但由于施加时间和次数的不同,可能会导致柠檬酸对植物修复 Cd 污染土壤的促进效果存在差异。王学锋等^[14]研究表明,柠檬酸施加一周后,四川黄芥地上部对 Cd 的吸收并没有明显改善;然而景琪等^[15]研究表明,柠檬酸施加 10 d 后,商陆地上部对 Cd 的吸收促进效果显著,提高幅度为 66.19%;张家伟^[16]研究表明,柠檬酸施加 30 d 后,巨菌草地上部 Cd 吸收量较空白提高了 13.57%;而黎诗宏等^[17]研究表明,移栽后第 15、22、30 d 时分别施加柠檬酸,移栽 76 d 后,龙葵地上部 Cd 吸收量较空白提高了 179.74%。因此,本研究通过不同时间和等量分两次施加柠檬酸,探讨了以哪种方式施用柠檬酸对青苜蓿地上部 Cd 积累量的促进效果最好,以期为青苜蓿在 Cd 污染土壤的修复实践提供科学依据和理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤采自广西桂林,为 Cd 污染土壤,采集 0~20 cm 表层土壤。将采集的土壤样品放置阴凉处自然风干,剔除石子和枯叶等杂物,压碎后过 2 mm 尼龙筛,备用。取风干土壤样品,用 TRF-2B 型多功能土壤测试仪(仪器误差<3.0%)测定土壤基本理化性质(表 1)。

青苜蓿种子采集于广西桂林上等元村。2017 年 4 月 8 日,选取颗粒饱满的青苜蓿种子播种于育苗盘中,

表 1 供试土壤基本理化性质
Table 1 Basic physiochemical properties of tested soil

pH	有机质 (g/kg)	铵态氮 (mg/kg)	有效磷 (mg/kg)	速效钾 (mg/kg)	全镉 (mg/kg)
6.48	7.0	15.2	51.4	225.8	3.89

置于温室培养,温室温度恒定在 20℃~35℃。种子萌发后,每周用 Hoagland's 营养液浇灌一次^[18],平日使土壤含水量保持在田间持水量的 80% 左右。待幼苗长出 4~6 片真叶,高度约为 3~4 cm 时,移栽进行盆栽试验。

试验所用柠檬酸为分析纯柠檬酸。

1.2 试验设计与实施

盆栽试验于 2017 年 4—7 月在桂林理工大学重金属污染植物修复试验基地进行。准确称取 1.5 kg 的土壤装于规格为 2 L(14.5 cm × 19 cm)的塑料盆内。选取生长一致的青苜蓿幼苗移栽入盆中,每盆 1 株。培养期间,使土壤含水量保持在田间持水量的 80% 左右。试验共设 10 个处理,3 次重复,分别是:①CK: 种植青苜蓿,施加等量去离子水;②CA+Bal: 种植青苜蓿,移栽幼苗前两周施加柠檬酸,充分混匀后加水并晒干,如此反复 3 次;③CA+4: 种植青苜蓿,在第 4 周(2017 年 4 月 29 日)时(以育苗当天作为第 1 周)施加柠檬酸;④CA+4/5: 种植青苜蓿,在第 4、5 周时等量分两次施加柠檬酸;⑤CA+5: 种植青苜蓿,在第 5 周时施加柠檬酸;⑥CA+5/6: 种植青苜蓿,在第 5、6 周时等量分两次施加柠檬酸;⑦CA+8: 种植青苜蓿,在第 8 周时施加柠檬酸;⑧CA+8/9: 种植青苜蓿,在第 8、9 周时等量分两次施加柠檬酸;⑨CA+10: 种植青苜蓿,在第 10 周时施加柠檬酸;⑩CA+10/11: 种植青苜蓿,在第 10、11 周时等量分两次施加柠檬酸。仅 CA+Bal 处理柠檬酸以粉末形式加入并搅拌均匀,其余处理柠檬酸溶于去离子水,以溶液形式施于土壤表面,总施加量为 5 mmol/kg。植物在第 12 周末(2017 年 7 月 1 日)收获。

1.3 样品处理和分析测定

植物收获时,抖落松散粘附在根系表面 1~4 mm 范围内的土壤作为根际土^[19],置阴凉处自然风干,压碎后过 200 目筛,备用。样品采用 USEPA 推荐的 HNO₃-H₂O₂ 法^[20]消解,有效态 Cd 采用 DTPA 浸提法浸提,并用电感耦合等离子体发射光谱仪(PerkinElmer Optima 7000 DV)测定样品中 Cd 含量。分析过程中所用试剂均为优级纯,采用国家标准土壤样品(GBW07404(GSS-4))和平行空白样进行土壤样品消解及质量控制,样品回收率为 90%~110%。收

获的植物分成根、茎、叶 3 部分。根部先用 5 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 溶液浸泡 15 min，交换掉表面吸附的重金属 Cd^{2+} ，然后超声波清洗仪清洗 10 min，再用去离子水冲洗干净。茎和叶先用自来水冲洗掉表面的尘土，再用去离子水冲洗干净。洗净的植物样品在 105 °C 下杀青 30 min，70 °C 下烘干至恒重(48 h)。烘干后的样品用电子天平称量生物量(以干重计)，粉碎，过 5 mm 筛，供分析测定用。称取粉碎的样品(约 0.2 g)用 $\text{HNO}_3+\text{HClO}_4(9:1)$ 湿法消解，采用电感耦合等离子体发射光谱仪测定样品 Cd 含量。分析过程中所用试剂均为优级纯，采用国家标准参比物质(GBW07602 (GSV-1))和平行空白样进行植物样品消解及质量控制，样品回收率控制在 95%~105%。

1.4 数据处理与统计

统计分析采用 SPSS19.0 中的单因素方差(ANOVA)，并用最小显著差数法(LSD)进行显著性检验($P<0.05$)，用 Origin 9.1 作图。Cd 的富集系数(BCF)和转运系数(TF)的计算公式如下：

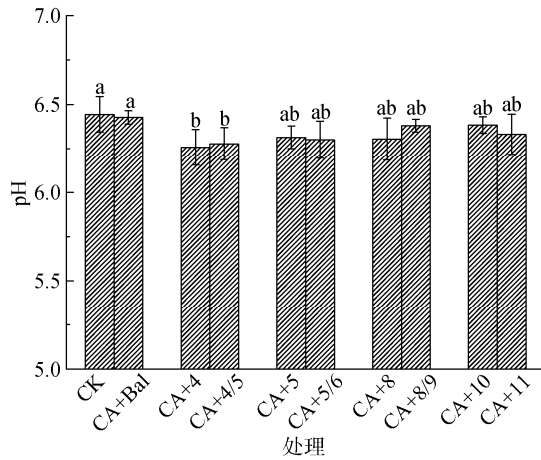
$$\text{富集系数(BCF)} = \frac{\text{植物叶 Cd 含量(mg/kg)}}{\text{土壤 Cd 含量(mg/kg)}}$$

$$\text{转运系数(TF)} = \frac{\text{植物叶 Cd 含量(mg/kg)}}{\text{植物根 Cd 含量(mg/kg)}}$$

2 结果与分析

2.1 柠檬酸不同施用方式对根际土 pH 的影响

柠檬酸不同施用方式对根际土 pH 影响见图 1。施加柠檬酸后，所有处理青箱根际土的 pH 均略有降低，且 CK 的根际土 pH 低于中性土的下限值($\text{pH} =$



(图中小写字母不同表示柠檬酸不同施用方式处理间差异显著 ($P<0.05$, LSD 法, $n=3$), 下图同)

图 1 柠檬酸不同施用方式对根际土 pH 的影响

Fig. 1 Effects of different application methods of citric acid on pH values of rhizosphere soils

6.5)，说明青箱的根际环境应为酸性。CA+Bal 处理的 pH 高于其他柠檬酸处理，这可能是由于柠檬酸以粉状形式加入土壤并搅拌均匀，对土壤 pH 的影响较小，而其他处理均以溶液形式施于根际表面土壤，故对于根际土的 pH 影响更大。

2.2 柠檬酸不同施用方式对根际土有效态 Cd 含量的影响

柠檬酸不同施用方式对根际土有效态 Cd 含量的影响见图 2。所有处理根际土有效态 Cd 含量没有显著变化，这可能是由于岩溶区土壤 Ca 含量高，酸中和能力强，施加的柠檬酸被中和了，未能有效提高土壤有效态 Cd 含量。

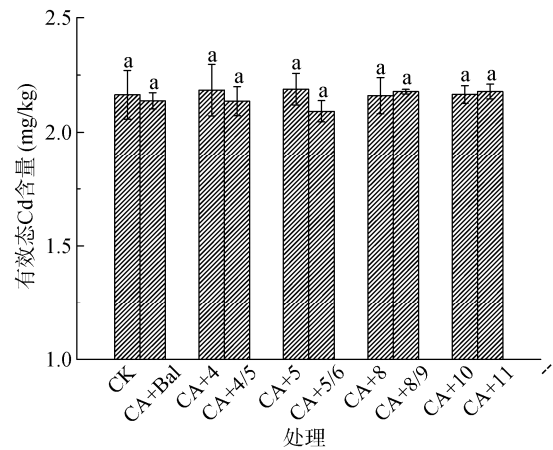


图 2 柠檬酸不同施用方式对根际土有效态 Cd 含量的影响

Fig. 2 Effects of different application methods of citric acid on available Cd contents in rhizosphere soils

2.3 柠檬酸不同施用方式对青箱各部分生物量的影响

柠檬酸不同施用方式对青箱叶、茎、根及地上部生物量的影响如图 3 所示。不同时间施加柠檬酸，所有处理各部分生物量均有所增加，这可能是由于柠檬酸与土壤中的 Cd^{2+} 螯合，这与魏佳等^[22]研究结果一致：柠檬酸主要贡献为官能团的螯合作用，使 Cd^{2+} 转化为无毒或毒性更小的结合形态，从而减小了对青箱的胁迫能力，更有利于青箱生长发育。其中，CA+Bal 处理各部分生物量均最大，叶、茎、根及地上部分别比对照增加了 66.18%、67.22%、65.58% 和 66.92%。不同次数施加柠檬酸对各部分生物量的变化趋势相同，均是等量分两次施加处理对青箱生长的促进作用优于单次施加处理，这可能是由于多次施加可以降低柠檬酸对植物的生理毒害作用，并逐渐增强植物对柠檬酸的耐受性^[23]。青箱各部位间生物量大小均表现为：茎>叶>根。

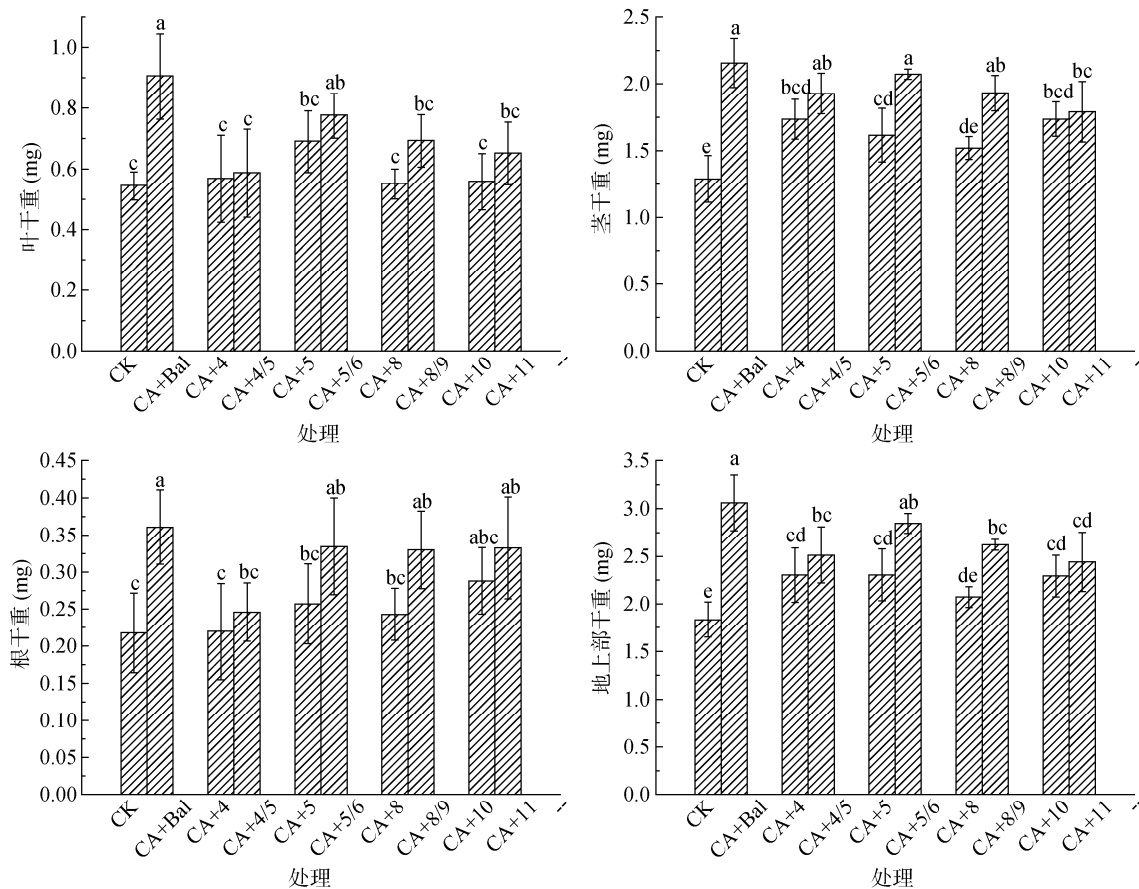


图 3 柠檬酸不同施用方式对青箱各部分生物量的影响

Fig. 3 Effects of different application methods of citric acid on biomass in various parts of *C. argentea*

2.4 柠檬酸不同施用方式对青箱各部分 Cd 含量的影响

柠檬酸不同施用方式对青箱叶、茎、根和地上部 Cd 含量的影响如图 4 所示。随着柠檬酸施加时间的推进,青箱各部分 Cd 含量呈先增加后减少的趋势,且均在 CA+4、CA+4/5 处理时含量最大,CA+4 处理的叶、茎、根和地上部干重分别比 CK 处理高 117.76%、45.71%、64.79% 和 67.18%,CA+4/5 处理各部分分别比 CK 处理高 102.47%、73.40%、96.12% 和 66.82%,说明第 4 周和第 4、5 周施加柠檬酸对青箱各部分 Cd 含量的促进作用最大。CA+Bal 处理各部分 Cd 含量显著高于 CK 处理,但显著低于 CA+4 和 CA+4/5 处理,这可能是由于小分子有机酸易生物降解,在移栽之前已经有部分柠檬酸被土壤中的微生物降解,导致对青箱体内 Cd 含量的促进作用没有 CA+4 和 CA+4/5 处理好。同样的,等量分两次施加柠檬酸处理的 Cd 含量比单次施加略大,单次施加大量的柠檬酸中有一小部分被生物降解,而等量分两次施加对重金属 Cd 的活化效果更持久,所以对青箱各部分 Cd 含量的促进效果比单次施加好。

2.5 柠檬酸不同施用方式对青箱富集系数和转运系数的影响

富集系数被用来反映土壤-植物体系中元素迁移的难易程度,是植物将重金属吸收转移到体内能力大小的评价指标^[24]。从表 2 可以看出,柠檬酸的施加提高了青箱的富集系数,说明柠檬酸的施加有利于青箱对重金属 Cd 的富集吸收。随着施加时间的推进,富集系数先增大后减小,CA+4 和 CA+4/5 处理的富集系数最大。

转运系数用来评价植物将重金属从根部向地上部运输和富集的能力^[24]。除了 CA+5/6、CA+8/9、CA+10、CA+10/11 处理,其余处理的转运系数均大于 CK,可能是由于 CA+5/6、CA+8/9、CA+10、CA+10/11 处理的柠檬酸施加时间较晚,青箱对 Cd 的吸收部分积累在根部,没有转运至地上部,故转运系数小于对照。

2.6 柠檬酸不同施用方式对青箱地上部 Cd 积累量的影响

地上部 Cd 积累量 = 叶生物量 × 叶 Cd 含量 + 茎生物量 × 茎 Cd 含量,由此计算出的青箱地上部 Cd 积

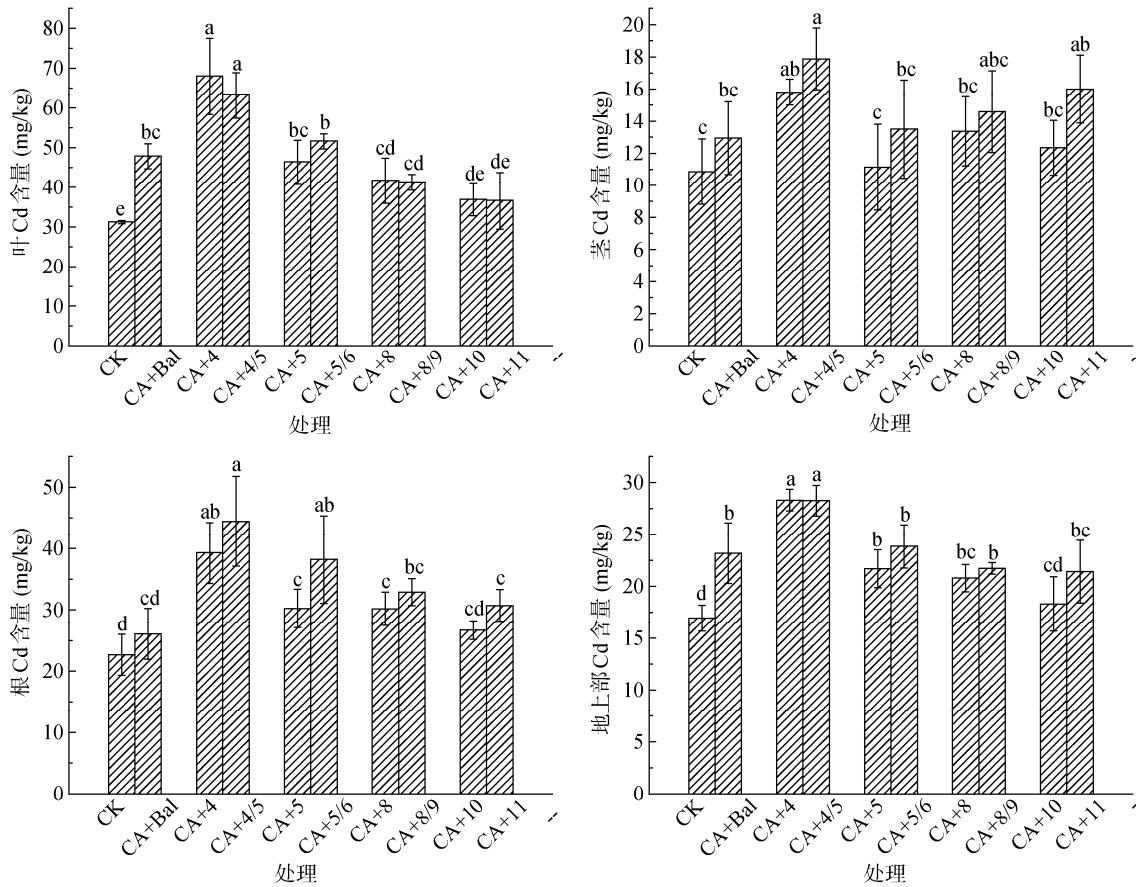


图 4 柠檬酸不同施用方式对青箱各部分 Cd 含量的影响

Fig. 4 Effects of different application methods of citric acid on Cd contents in various parts of *C. argentea*

表 2 柠檬酸不同施用方式对青箱富集系数和转运系数的影响

Table 2 Effects of different application methods of citric acid on enrichment coefficients and translocation coefficients of *C. argentea*

指标	CK	CA+Bal	CA+4	CA+4/5	CA+5	CA+5/6	CA+8	CA+8/9	CA+10	CA+10/11
富集系数	8.02 ± 0.10 e	12.29 ± 0.81 bc	17.46 ± 2.48 a	16.23 ± 1.48 a	11.90 ± 1.43 bc	13.25 ± 0.49 b	10.71 ± 1.46 cd	10.60 ± 0.51 cd	9.47 ± 1.04 de	9.40 ± 1.84 de
转运系数	1.40 ± 0.22 bc	1.85 ± 0.17 a	1.73 ± 0.20 ab	1.44 ± 0.15 bc	1.54 ± 0.18 abc	1.37 ± 0.19 c	1.40 ± 0.31 bc	1.26 ± 0.14 c	1.39 ± 0.20 bc	1.19 ± 0.23 c

注：表中数据为平均值±标准差(n = 3)；同行数据小写字母不同表示处理间显著差异(P < 0.05, LSD)。

累量见图 5。随着施加时间的推进，柠檬酸处理地上部 Cd 积累量逐渐减小，这与曹志远等^[25]研究发现螯合剂在土壤中存留时间长有助于提高植物对重金属的富集能力相一致。CA+Bal 和 CA+4/5 处理地上部 Cd 积累量显著高于其他处理，分别比 CK 高 139.62% 和 129.59%。因此在移栽前施加柠檬酸，混匀后平衡两周和第 4、5 周等量分两次施加柠檬酸最适合用于强化青箱修复 Cd 污染土壤。对于不同次数施加柠檬酸，等量分两次施加柠檬酸的处理均比对应单次施加的大，分别增加了 8.3%、36.31%、32.13%、23.89%，说明等量分两次施加柠檬酸更有利于青箱对 Cd 吸收富集。

3 讨论

CA+Bal 处理青箱地上部生物量比 CA+4 和 CA+

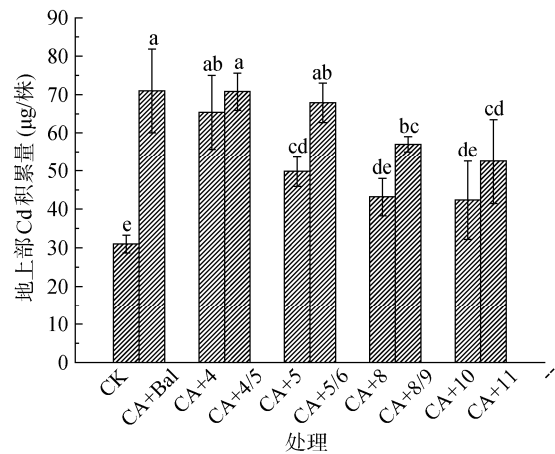


图 5 柠檬酸不同施用方式对青箱地上部 Cd 积累量的影响

Fig. 5 Effects of different application methods of citric acid on cadmium accumulation in shoots of *C. argentea*

4/5 分别增加了 32.9% 和 21.8%，这是因为 CA+Bal 处理是移栽前施加柠檬酸，混匀后平衡两周，部分柠檬酸被生物降解，柠檬酸对青苜的生理毒害效应减弱，这与沈斌等^[26]研究结果一致，即低浓度柠檬酸对鱼腥草没有产生明显的生理毒性，反而促进了鱼腥草的生长发育，但高浓度柠檬酸的施加对鱼腥草有明显的生理毒性，导致鱼腥草生物量降低；另一方面 CA+Bal 处理中青苜各部分 Cd 含量高于对照，但显著低于 CA+4 和 CA+4/5 处理，可能由于柠檬酸容易被土壤中的微生物降解^[27]，而 CA+4 和 CA+4/5 处理是在植物生长期以溶液形式施于土壤，更多的柠檬酸以重金属 Cd 的络合物进入青苜体内，因此 CA+4 和 CA+4/5 处理青苜体内 Cd 含量更高。

姚诗音等^[28]研究发现，当青苜生长到第 8 周以后地上部 Cd 积累量无显著增加，是 Cd 积累量最多的时候。CA+8 和 CA+10 处理施用时间处在青苜地上部 Cd 积累量较大时，这时外源施加柠檬酸，与土壤固相结合在一起的重金属 Cd 与柠檬酸结合成金属络合物进入到土壤溶液中^[29-30]，进一步促进了青苜对 Cd 的吸收，但会加剧青苜的中毒，加速青苜的落叶，导致富集了大量重金属 Cd 的叶片又重新回到土壤，造成二次污染。张磊等^[31]在收获前一周施加螯合剂，在加入螯合剂的第 4 天，EDTA(7.5 mmol/kg)处理的叶片开始出现脱落症状直至第 5 天全部脱落，本研究结果与此一致。曹志远等^[25]研究表明螯合剂在土壤中存留时间长有助于提高植物对重金属的富集能力，这与本研究中 CA+8 和 CA+10 处理由于施加时间较晚，柠檬酸对地上部 Cd 含量的增加量相对较少一致。因此不建议在收获前施加柠檬酸。

研究表明多次施加螯合剂可以降低螯合剂对植物的毒害作用，并逐渐增强植物对螯合剂的耐受性^[25]。在本研究中等量分两次施加柠檬酸处理的地上部生物量均大于单次施加柠檬酸处理，这正佐证了前人的观点。研究表明螯合剂分两次淋洗时淋出的重金属量显著大于单次淋洗^[32]，说明两次施加柠檬酸对重金属的持续活化效果更好，本试验也发现等量分两次施加柠檬酸处理的青苜地上部 Cd 含量大于单次施加。故等量分两次施加柠檬酸处理优于单次施加柠檬酸的处理。

植物修复收获的是植物地上部分，青苜地上部 Cd 积累量表征了青苜的修复潜力。地上部青苜 Cd 积累量表明，CA+Bal 和 CA+4/5 处理均可作为柠檬酸强化青苜修复 Cd 污染土壤的最佳施用方式。考虑到 CA+Bal 处理柠檬酸要与土壤平衡两周，消耗时间

较久；而 CA+4/5 处理中柠檬酸以溶液形式喷洒(柠檬酸溶解度为 20 °C 时 59.2%)，对于大规模土壤修复，需要大量的水溶解柠檬酸，由此消耗的人力比 CA+Bal 处理大。故需要结合实际修复情况进行选择：若修复工程工期紧，则可考虑 CA+4/5 处理；若考虑成本的低廉、工序的简易，则可以选择 CA+Bal 处理。

随着对植物修复强化措施研究的深入，人们对于强化措施效果的评价不再只局限于超富集植物的修复效率，土壤环境质量也成为关注的热点。其中土壤酶活性和微生物多样性是简单易行且可靠的土壤环境质量评价指标。一方面，为了研究柠檬酸对土壤酶活性的影响，赖彩秀^[33]向 Cd、Zn 污染土壤中施加柠檬酸，发现柠檬酸提高了土壤脲酶和蔗糖酶的活性；邢艳帅^[34]研究表明，低浓度柠檬酸增强了土壤淀粉酶和过氧化氢酶活性，施加柠檬酸浓度分别为 3 mmol/kg 和 4 mmol/kg 时，土壤中淀粉酶和过氧化氢酶的活性分别达到最大值；丁玲^[35]在铅锌镉污染土壤中施加柠檬酸后也发现，土壤的脲酶、碱性磷酸酶和过氧化氢酶活性明显增加。这可能是柠檬酸与重金属进行络合形成毒性较低的络合物，降低重金属对土壤微生物的毒害，从而改善土壤的环境质量^[36-37]。另一方面，对于微生物多样性，丁玲^[35]研究表明，在铅锌镉污染土壤中施加柠檬酸，可使土壤中细菌的种群产生显著差异，其中土壤中变形菌门菌属显著增加。变形菌门是重金属污染土壤中超富集植物根际的主要种群，在超富集植物对重金属的吸收和耐性中发挥重要作用。由此可见在土壤中施加柠檬酸对植物根际微生物具有一定的筛选作用，使土壤中不利于活化的种群消失，而利于植物生长和重金属活化的微生物种群数量显著提高。因此，施加柠檬酸不仅有利于提高土壤酶活性而且可引起土壤微生物特殊种群的形成并可能导致稳定遗传现象的产生，从而改善土壤的环境质量。综上，外源施加柠檬酸可作为强化措施，既能提高修复效率又能改善土壤的环境质量。

4 结论

1)移栽前施加柠檬酸，混匀后平衡两周种植的青苜各部分生物量均最大。而在收获前施加柠檬酸，会加速青苜叶片的枯萎、凋落，从而降低青苜的生物量，不利于提高土壤的修复效率。

2)等量分两次施加柠檬酸处理优于单次施加柠檬酸的处理。

3)移栽前施加柠檬酸，混匀后平衡两周的处理和

第 4、5 周等量分两次施加柠檬酸处理更适合强化青苜修复 Cd 污染土壤，提高青苜对 Cd 污染土壤的修复效率。

参考文献：

- [1] 环境保护部, 国土资源部. 全国土壤污染状况调查公报[R]. 北京: 环境保护部, 国土资源部, 2014: 1-5.
- [2] 包姣, 韦惠琴, 赵秀兰. 低分子量有机酸强化烟草修复镉污染土壤的适用性研究[J]. 水土保持学报, 2012, 26(2): 265-270.
- [3] Saifullah, Meers E, Qadir M, et al. EDTA-assisted Pb phytoextraction[J]. Chemosphere, 2009, 74(10): 1279-1291.
- [4] Hazrat A, Ezzat K, Muhammad A S. Phytoremediation of heavy metals concepts and applications[J]. Chemosphere, 2013, 91(7): 869-881.
- [5] 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.
- [6] 刘萍, 翟崇治, 余家燕, 等. Cd、Pb 复合污染下柠檬酸对龙葵修复效率及抗氧化酶的影响[J]. 环境工程学报, 2012, 6(4): 1387-1392.
- [7] 任婧, 吴龙华, 刘鸿雁, 等. 调控剂对锌镉污染土壤植物修复效率及后茬蔬菜重金属吸收的影响[J]. 土壤, 2013, 45(2): 233-238.
- [8] 程国玲, 胥家桢, 马志飞, 等. 螯合诱导植物修复技术在重金属污染土壤中的应用[J]. 土壤, 2008, 40(1): 16-20.
- [9] Vigliotta G, Matrella S, Cicatelli A, et al. Effects of heavy metals and chelants on phytoremediation capacity and on rhizobacterial communities of maize[J]. Journal of Environmental Management, 2016, 179: 93-102.
- [10] Han Y L, Zhang L L, Gu J G, et al. Citric acid and EDTA on the growth, photosynthetic properties and heavy metal accumulation of *Iris halophila* Pall. cultivated in Pb mine tailings[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2016, 128: 15-21.
- [11] 贾倩闻, 雄治廷. 外源柠檬酸和乳酸对海州香薷吸收和转运镉的影响[J]. 武汉大学学报(理学版), 2017, 63(1): 81-85.
- [12] Sana E, Shafaqat A, Shamaila N, et al. Citric acid assisted phytoremediation of cadmium by *Brassica napus* L[J]. Ecotoxicology Environmental Safety, 2014, 106: 164-172.
- [13] 姚诗音. 超富集植物青苜对土壤镉的修复性能及强化措施研究[D]. 桂林: 桂林理工大学, 2017: 1-75.
- [14] 王学锋, 林海, 冯颖俊, 等. EDTA、柠檬酸对 Cd、Ni 污染土壤植物修复的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(6): 1487-1492.
- [15] 景琪, 李晔, 张謏, 等. 螯合剂和商陆联合修复重金属 Cd、Cu 污染土壤的田间试验[J]. 武汉理工大学学报, 2014, 36(4): 139-143.
- [16] 张家伟. 螯合剂和表面活性剂强化巨菌草修复铅镉复合污染土壤研究[D]. 广州: 广东工业大学, 2016: 1-75.
- [17] 黎诗宏, 梁斌, 李忠惠, 等. 螯合剂对龙葵修复成都平原 Cd 污染土壤的影响[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(10): 1917-1922.
- [18] Hoagland D R, Arnon D I. The water-culture method for growing plants without soil[J]. Circular California Agricultural Experiment Station, 1950, 347(5406): 357-359.
- [19] 苏宝玲, 韩士杰, 王建国. 根际微域研究中土样采集方法的试验进展[J]. 应用生态学报, 2000, 11(3): 477-480.
- [20] USEPA. Risk-based concentration table[R]. Washington D C: USEPA, 2000: 165.
- [21] 吴秉奇, 刘淑杰, 张森, 等. 接种耐镉细菌对青苜吸收积累土壤中镉的影响[J]. 生态学杂志, 2014, 33(12): 3409-3415.
- [22] 魏佳, 李取生, 徐智敏, 等. 多种有机酸对土壤中碳酸镉的活化效应[J]. 环境工程学报, 2017, 11(9): 5299-5306.
- [23] 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.
- [24] 聂发辉. 关于超富集植物的新理解[J]. 生态环境, 2005, 14(1): 136-138.
- [25] 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.
- [26] 沈斌, 伍钧, 孟晓霞, 等. 柠檬酸对鱼腥草吸收累积铅锌矿区土壤中重金属的影响[J]. 水土保持学报, 2015, 29(3): 320-324.
- [27] Turgut C, Pepe M K, 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.
- [28] 姚诗音, 刘杰, 王怡璇, 等. 青苜对镉的超富集特征及累积动态研究[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(8): 1470-1476.
- [29] Jalali M, Khanlari Z V. Redistribution of fractions of zinc, cadmium, nickel, copper, and lead in contaminated calcareous soils treated with EDTA[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2007, 53: 519-532.
- [30] Sarkar D, Andra S S, Saminathan S K M, et al. Chelant-aided enhancement of lead mobilization in residential soils[J]. Environmental Pollution, 2008, 156: 1139-1148.
- [31] 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.
- [32] 卫泽斌, 郭晓方, 吴启堂, 等. 混合螯合剂的不同施加方式对重金属污染土壤套种修复效果的影响[J]. 华南农业大学学报, 2016, 37(1): 29-34.
- [33] 赖彩秀. 三种有机酸对两种植物修复 Cd/Zn 污染土壤的影响[D]. 广东: 华南理工大学, 2015: 1-66.
- [34] 邢艳帅. 有机酸诱导油菜对污染土壤的修复研究[D]. 河南: 河南师范大学, 2014: 1-92.
- [35] 丁玲. 巨大/胶质芽孢杆菌与柠檬酸联合强化植物修复铅镉污染的土壤[D]. 河北: 河北大学, 2017: 1-71.
- [36] Pe' rez de Mora A, Julio Ortega-Calvo J, Cabrera F, et al. Changes in enzyme activities and microbial biomass after "in situ" remediation of a heavy metal-contaminated soil[J]. Applied Soil Ecology, 2005, 28: 125-137.
- [37] Wasay S A, Barrington S, Tokunaga S. Organic acids for the in situ remediation of soils polluted by heavy metals: Soil flushing in columns[J]. Water Air Soil Pollution, 2001, 127(2): 301-314.