

# 土壤 Cd 胁迫条件下外源 NO 与 EDDS 复合处理对紫苜蓿生长、生理和 Cd 积累的影响

陈银萍<sup>①</sup>, 赵镇贤, 丁浚刚, 王彤彤, 马俊杰, 张钰清

(兰州交通大学环境与市政工程学院, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 采用盆栽法研究了  $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  Cd 胁迫条件下  $0.05 \sim 0.30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  硝普钠(SNP)与  $0.50$  和  $1.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  [s,s]-乙二胺二琥珀酸(EDDS)单一或复合处理对紫苜蓿 (*Medicago sativa* Linn.) 幼苗生长、生理和 Cd 积累的影响,并分析了生长和 Cd 积累指标间及其与 SNP 和 EDDS 浓度的相关性。结果显示:在土壤 Cd 胁迫条件下,与对照(不施用 SNP 和 EDDS)相比,不同浓度 SNP 单一处理总体上可提高紫苜蓿幼苗的株高、主根长、地上部的鲜质量和干质量、地下部的鲜质量和干质量、根系活力及光合色素含量,也可提高地上部和地下部的 Cd 含量、Cd 转运系数、地上部和地下部的 Cd 富集系数、Cd 修复效率、地上部各亚细胞组分的 Cd 含量及地下部细胞器和可溶部分的 Cd 含量;经不同浓度 EDDS 单一处理后,上述多数指标显著升高,仅部分指标显著降低;而经不同浓度 SNP 与 EDDS 复合处理后,部分生长、生理和 Cd 积累指标高于对照或同浓度 SNP 单一处理,其中,经不同浓度 SNP 与  $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS 复合处理后,部分指标还高于同浓度 SNP 与  $1.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS 复合处理。总体上看, $0.10 \sim 0.20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP 与  $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS 复合处理对紫苜蓿幼苗的生长、生理和 Cd 积累的促进作用更明显;地下部的 Cd 含量和 Cd 富集系数大幅度高于地上部,地上部和地下部的细胞壁和可溶部分的 Cd 含量大幅度高于细胞器和线粒体。在 SNP 单一处理下,紫苜蓿幼苗地上部的 Cd 含量和 Cd 富集系数以及地下部的鲜质量、干质量、Cd 含量和 Cd 富集系数与 SNP 浓度显著正相关;在不同浓度 SNP 与  $1.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS 复合处理下,地上部 Cd 含量和 Cd 富集系数与 SNP 浓度显著负相关;而在其他处理条件下,生长和 Cd 积累指标与 SNP 和 EDDS 浓度无显著相关性。综合分析结果表明:在土壤 Cd 胁迫条件下,施用适宜浓度的 SNP 和 EDDS 有利于紫苜蓿幼苗的生长及对 Cd 的吸收积累,有助于细胞壁中 Cd 向可溶部分转移及降低细胞器和线粒体中 Cd 含量。综合考虑认为, $0.10 \sim 0.20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP 与  $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS 联用可强化紫苜蓿对 Cd 污染土壤的修复效应。

**关键词:** 外源 NO; EDDS; 土壤 Cd 胁迫; 紫苜蓿; 生长指标; Cd 积累

中图分类号: Q945.78; S541+.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2022)06-0001-14

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2022.06.01

**Effects of combined treatments of exogenous NO and EDDS on growth, physiology and Cd accumulation of *Medicago sativa* under soil Cd stress condition** CHEN Yinping<sup>①</sup>, ZHAO Zhenxian, DING Jungang, WANG Tongtong, MA Junjie, ZHANG Yuqing (School of Environmental and Municipal Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2022, 31(6): 1-14

**Abstract:** Effects of single or combined treatments of  $0.05 \sim 0.30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  sodium nitroprusside (SNP) and  $0.50$  and  $1.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  [s,s]-ethylenediamine disuccinic acid (EDDS) on growth, physiology, and Cd accumulation of *Medicago sativa* Linn. seedlings under  $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  Cd stress condition were

收稿日期: 2022-01-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31560161; 31260089; 31640012)

作者简介: 陈银萍(1974—),女,甘肃榆中人,博士,教授,主要从事重金属污染土壤植物修复研究。

<sup>①</sup>通信作者 E-mail: yinpch@mail.lzjtu.cn

引用格式: 陈银萍, 赵镇贤, 丁浚刚, 等. 土壤 Cd 胁迫条件下外源 NO 与 EDDS 复合处理对紫苜蓿生长、生理和 Cd 积累的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2022, 31(6): 1-14.

studied by using pot-culture method, and the correlations among growth and Cd accumulation indexes and their correlations with SNP and EDDS concentrations were analyzed. The results show that under soil Cd stress condition, compared with the control (not applying SNP and EDDS), single treatment of different concentrations of SNP can increase height, main root length, fresh mass and dry mass of above-ground part, fresh mass and dry mass of under-ground part, root activity, and contents of photosynthetic pigments of *M. sativa* seedlings in general, and can also increase Cd content in above- and under-ground part, Cd translocation coefficient, Cd concentration coefficient of above- and under-ground part, Cd remediation efficiency, Cd content in each subcellular component of above-ground part, and Cd content in organelles and soluble fraction of under-ground part; most above-mentioned indexes increase significantly after single treatment of different concentrations of EDDS, while only some indexes decrease significantly; meanwhile, after combined treatment of different concentrations of SNP and EDDS, some growth, physiological, and Cd accumulation indexes are higher than those of the control or single treatment of the same concentration of SNP, in which, after combined treatment of different concentrations of SNP and 0.50 mmol · L<sup>-1</sup> EDDS, some indexes are even higher than those of combined treatment of the same concentration of SNP and 1.50 mmol · L<sup>-1</sup> EDDS. In general, combined treatment of 0.10–0.20 mmol · L<sup>-1</sup> SNP and 0.50 mmol · L<sup>-1</sup> EDDS have more evident promotion effect on growth, physiology, and Cd accumulation of *M. sativa* seedlings; Cd content and Cd concentration coefficient of under-ground part are greatly higher than those of above-ground part, and Cd content in cell wall and soluble fraction of above- and under-ground part is greatly higher than that in organelle and mitochondria. Under SNP single treatment, Cd content and Cd concentration coefficient of above-ground part, and fresh mass, dry mass, Cd content, and Cd concentration coefficient of under-ground part of *M. sativa* seedlings show significant positive correlations with SNP concentration; under combined treatment of different concentrations of SNP and 1.50 mmol · L<sup>-1</sup> EDDS, Cd content and Cd concentration coefficient of above-ground part show significant negative correlations with SNP concentration; while under the other treatment conditions, growth and Cd accumulation indexes have no significant correlations with SNP and EDDS concentrations. The comprehensive analysis result shows that under soil Cd stress condition, application of suitable concentrations of SNP and EDDS are beneficial to the growth and absorption and accumulation of Cd of *M. sativa* seedlings, and can help Cd translocation from cell wall to soluble fraction and decrease Cd content in organelles and mitochondria. It is comprehensively considered that the combined application of 0.10–0.20 mmol · L<sup>-1</sup> SNP and 0.50 mmol · L<sup>-1</sup> EDDS can strengthen the remediation effect of *M. sativa* on Cd contaminated soil.

**Key words:** exogenous NO; EDDS; soil Cd stress; *Medicago sativa* Linn.; growth index; Cd accumulation

植物修复技术是利用超富集植物修复重金属污染土壤的一项新兴技术<sup>[1,2]</sup>,但由于超富集植物通常生长缓慢、生物量小,因此修复效率较低,从而限制了该技术的实际应用。修复效率不仅取决于植物对重金属的吸收和积累效率,而且在很大程度上依赖于重金属在土壤中的生物有效性和植物根系吸收重金属的能力。研究表明:施加螯合剂,如乙二胺四乙酸(EDTA)、[s,s]-乙二胺二琥珀酸(EDDS)和氨基三乙酸(NTA)等<sup>[3,4]</sup>,可以活化土壤中的重金属元素,促进重金属离子向植物地上部转移,从而提高东南景天(*Sedum alfredii* Hance)对Cd污染土壤以及黑麦草(*Lolium perenne* Linn.)对Cu和Zn污染土壤的修复效率。在这些螯合剂中,易被生物降解的EDDS受到更为广泛的关注<sup>[5]</sup>,例如:EDDS和NTA能诱导豨莶

(*Sigesbeckia orientalis* Linn.)<sup>[6]</sup>和蕹菜(*Ipomoea aquatica* Forsk.)<sup>[7]</sup>有效修复Cd污染土壤;EDDS还能增加三叶鬼针草(*Bidens pilosa* Linn.)对Cd的吸收和富集能力<sup>[8]</sup>。此外,微生物<sup>[9]</sup>和激素<sup>[10]</sup>等联合作用,能够强化EDDS和EDTA等对Cd和Pb污染土壤的修复效应,例如,植物生长调节剂(DA-6和6-BA)与EDDS联合施用可促进龙葵(*Solanum nigrum* Linn.)的生长和Cd吸收<sup>[11]</sup>。

一氧化氮(NO)是植物生长调节信号分子之一,并参与植物对各种重金属胁迫的信号应答<sup>[12]</sup>。在重金属胁迫条件下,适宜浓度的外源NO可以通过提高植物抗氧化酶系统的活性来缓解胁迫伤害<sup>[13]</sup>;并通过促进纤维素的合成提高植物对重金属的吸收和累积能力,提升叶绿素含量或修复损伤的叶绿体,从而

增强植物的光合能力<sup>[14,15]</sup>。但是,目前关于NO与螯合剂联用对植物生长和Cd吸收的影响效应尚缺乏明确的研究结论。

紫苜蓿(*Medicago sativa* Linn.)为多年生草本植物,具有生长快、适应能力强、根系发达、枝叶繁多、产量高等特点,并具有清除土壤中Cd、Cu、Zn等重金属的潜力,是一种很有应用前景的污染土壤修复植物<sup>[16]</sup>。为了探究NO与螯合剂联用对植物修复Cd污染土壤的作用效应,作者以紫苜蓿幼苗为研究材料,采用盆栽法研究了土壤Cd胁迫条件下不同浓度硝普钠(SNP)和EDDS单一处理及复合处理对紫苜蓿生长、生理和Cd积累的影响,并对紫苜蓿生长和Cd积累指标间及其与SNP和EDDS浓度的相关性进行分析,以期明确NO与EDDS协同处理对植物修复Cd污染土壤的作用机制,为Cd污染土壤植物修复强化技术的应用提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

紫苜蓿品种‘甘农3号’(‘Gannong No. 3’)种子购于甘肃省农业科学研究院。EDDS和SNP均购自Sigma-Aldrich上海贸易有限公司,0.15 mmol · L<sup>-1</sup> SNP大约可产生小于0.2 μmol · L<sup>-1</sup>的NO<sup>[17]</sup>。

供试土壤为甘肃省兰州市榆中县周边村庄农耕土的表层(0~20 cm)土壤,营养土购自兰州市西固区林产品开发公司。将土壤风干后粉碎,过孔径2 mm筛,与营养土等质量混匀,称取2 kg混合基质分装于配有托盘的花盆中(口径20 cm、高度15 cm),以CdCl<sub>2</sub> · 2.5H<sub>2</sub>O模拟Cd污染土壤,以溶液的形式加入土壤中,直至土壤本底Cd质量浓度达到15 mg · kg<sup>-1</sup>;适量浇水,不定期翻动土壤,平衡21 d后开始实验。

### 1.2 方法

1.2.1 幼苗培育方法 选取饱满均匀的紫苜蓿种子,用体积分数1%NaClO溶液浸泡10 min,再用超纯水冲洗干净,晾干后播种至上述Cd污染土壤中,播种深度0.5 cm;置于温度20℃~25℃、色温6 500 K的条件下培养,光照时间为6:00—20:00;培养期间不定期更换花盆位置以消除边际效应。待种子发芽后间苗,每盆保留55株。在幼苗生长过程中,以自来水(未检测出Cd)浇灌,使土壤含水量保持在幼苗正

常生长所需水平,不定期收集托盘中的渗漏液并倒回花盆中以防土壤中的Cd和养分流失,待紫苜蓿幼苗生长60 d后,用于SNP和EDDS处理。

1.2.2 实验设计和处理方法 参考项目组前期的研究结果<sup>[16]</sup>确定SNP和EDDS的处理浓度,并设计单一和复合2类处理。SNP单一处理设置4个处理组:0.05 mmol · L<sup>-1</sup>SNP(T<sub>1S</sub>)、0.10 mmol · L<sup>-1</sup>SNP(T<sub>2S</sub>)、0.20 mmol · L<sup>-1</sup>SNP(T<sub>3S</sub>)和0.30 mmol · L<sup>-1</sup>SNP(T<sub>4S</sub>)。EDDS单一处理设置2个处理组:0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS(T<sub>1E</sub>)和1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS(T<sub>2E</sub>)。SNP和EDDS复合处理设置8个处理组:0.05 mmol · L<sup>-1</sup>SNP-0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS(T<sub>1S-1E</sub>)、0.10 mmol · L<sup>-1</sup>SNP-0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS(T<sub>2S-1E</sub>)、0.20 mmol · L<sup>-1</sup>SNP-0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS(T<sub>3S-1E</sub>)、0.30 mmol · L<sup>-1</sup>SNP-0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS(T<sub>4S-1E</sub>)、0.05 mmol · L<sup>-1</sup>SNP-1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS(T<sub>1S-2E</sub>)、0.10 mmol · L<sup>-1</sup>SNP-1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS(T<sub>2S-2E</sub>)、0.20 mmol · L<sup>-1</sup>SNP-1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS(T<sub>3S-2E</sub>)和0.30 mmol · L<sup>-1</sup>SNP-1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS(T<sub>4S-2E</sub>)。以不施用SNP和EDDS的Cd处理为对照(T<sub>CK</sub>)。

根据上述实验设计配制不同浓度SNP和EDDS溶液,分别取100 mL SNP溶液喷施于紫苜蓿地上部分,取100 mL EDDS溶液施入土壤中,对照则施用同体积超纯水。每处理3盆,每盆视为1个重复,处理7 d后测定各指标。

1.2.3 生长指标及根系活力和叶片光合色素含量测定 在不同处理的每个盆中各取5株完整植株,抖落根系土壤,依次用自来水和超纯水分别冲洗3次,吸干表面水分,用直尺(精度1 mm)测量主根长和株高;将地上部与地下部分开,使用FA2204B型万分之一电子天平(上海越平科学仪器有限公司)称量地上部和地下部的鲜质量;随后于105℃杀青30 min,并于75℃烘干至恒质量,冷却后分别称量地上部和地下部的干质量<sup>[18]</sup>。称取紫苜蓿幼苗新鲜根系0.5 g,参照李合生<sup>[19]</sup>的方法测定根系活力;称取紫苜蓿幼苗鲜叶0.2 g,参照李玲<sup>[20]</sup>的方法测定叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素和类胡萝卜素的含量。

1.2.4 植物和土壤中Cd含量测定 将烘干的地上部和地下部研磨成粉末,过孔径0.18 mm筛,分别称取0.5 g,参照文献[21]中的方法,采用HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>4</sub>体系进行消解处理,并用超纯水定容至25 mL,用于

Cd 含量测定。

采用四分法采集盆中土壤,风干后研碎,过孔径 0.25 mm 筛;称取土壤样品 0.5 g,参照文献[22]中的方法,采用  $\text{HNO}_3\text{-HCl-HF-HClO}_4$  体系进行消解处理,并用超纯水定容至 50 mL,用于 Cd 含量测定。

用 220 型火焰原子吸收分光光度计(美国 Nicolet 公司)测定植物和土壤样品的 Cd 含量<sup>[23]</sup>,并计算 Cd 富集系数、Cd 转运系数和 Cd 修复效率,其中,Cd 富集系数=植物 Cd 含量/处理后土壤 Cd 含量;Cd 转运系数=植物地上部 Cd 含量/植物地下部 Cd 含量;Cd 修复效率=[(处理前土壤 Cd 含量-处理后土壤 Cd 含量)/处理前土壤 Cd 含量] $\times 100\%$ 。

**1.2.5 不同亚细胞组分中 Cd 含量测定** 参照徐君等<sup>[24]</sup>的方法测定不同亚细胞组分中 Cd 含量并略加改动:取不同处理的完整植株,先用自来水冲洗干净,再用  $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Na}_2\text{-EDTA}$  溶液交换 15 min,以除去根表面吸附的  $\text{Cd}^{2+}$ ,用超纯水洗净并吸干植株表面水分,将地上部和地下部分开,分别称取 2 g,加入 5 mL 预冷的提取液[含  $250\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  蔗糖、 $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Tris-HCl (pH 7.4)、 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  二硫赤藓糖醇 ( $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2\text{S}_2$ ),  $4\text{ }^\circ\text{C}$ ],冰浴研磨至匀浆,于  $4\text{ }^\circ\text{C}$  下  $600\text{ g}$  离心 10 min,沉淀为细胞壁组分;上清液于  $4\text{ }^\circ\text{C}$  下  $1\text{ }000\text{ g}$  离心 20 min,沉淀为细胞器组分;上清液于  $4\text{ }^\circ\text{C}$  下  $10\text{ }000\text{ g}$  离心 20 min,沉淀为线粒体组分;上清液为可溶部分(含细胞质、细胞液、核糖和各类蛋白质等),可直接用于 Cd 含量测定。细胞壁、细胞器和线粒体组分则参照文献[21]中的方法,采用  $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$  体系进行消解处理,并用超纯水定容至 25 mL;用 220 型火焰原子分光光度计分别测定各亚细胞组分中的 Cd 含量。

### 1.3 数据统计与分析

采用 EXCEL 2019 软件进行数据处理;采用 SPSS 23.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA)、Duncan's 多重比较及 Pearson 相关性分析(双尾检验)。

## 2 结果和分析

### 2.1 土壤 Cd 胁迫条件下 SNP 和 EDDS 处理对紫苜蓿生长的影响

土壤 Cd 胁迫条件下经不同浓度 SNP 和 EDDS 处理后紫苜蓿株高、根长以及地上部和地下部的鲜质

量和干质量的差异见表 1。

结果显示:土壤 Cd 胁迫条件下,不同浓度 SNP 单一处理使紫苜蓿的株高、主根长、地上部的鲜质量和干质量、地下部的鲜质量和干质量均高于对照,其中,株高与对照差异显著( $P < 0.05$ ),0.10 和  $0.20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  SNP 单一处理组地上部鲜质量与对照差异显著,0.20 和  $0.30\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  SNP 单一处理组地下部的鲜质量和干质量以及 0.10、0.20 和  $0.30\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  SNP 单一处理组地上部干质量也与对照差异显著,但 4 个 SNP 单一处理组的主根长与对照无显著差异。随 SNP 浓度的升高,各项生长指标均呈先升高后降低的变化趋势,其中, $0.20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  SNP 单一处理组各项生长指标均最高,较对照分别增加了 75.81%、106.23%、108.06%、79.78% 和 229.17%。

由表 1 可以看出:土壤 Cd 胁迫条件下, $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  EDDS 单一处理使紫苜蓿株高、地上部的鲜质量和干质量、地下部的鲜质量和干质量均不同程度提高,较对照分别增加了 35.48%、30.03% 和 66.13%、35.96% 和 95.83%,而主根长则较对照减小,但无显著差异。经不同浓度 SNP 与  $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  EDDS 复合处理后,紫苜蓿的各项生长指标总体上随 SNP 浓度升高呈先升高后降低的变化趋势。其中,SNP 浓度为  $0.10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,紫苜蓿的株高、主根长、地上部鲜质量和地下部干质量最高,较  $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  EDDS 单一处理组分别增加了 47.05%、29.82%、59.91% 和 72.34%;SNP 浓度为  $0.20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,紫苜蓿的地上部干质量和地下部鲜质量最高,较  $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  EDDS 单一处理组分别增加了 49.51% 和 51.24%。

由表 1 还可以看出:土壤 Cd 胁迫条件下, $1.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  EDDS 单一处理使紫苜蓿株高、地上部的鲜质量和干质量、地下部的鲜质量和干质量均不同程度提高,较对照分别增加了 31.94%、70.82 和 53.23%、25.84% 和 100.00%,而主根长则较对照减小,但无显著差异。经不同浓度 SNP 与  $1.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  EDDS 复合处理后,紫苜蓿的株高、主根长、地上部的鲜质量和干质量、地下部鲜质量均随 SNP 浓度升高呈先升高后降低的变化趋势,而地上部鲜质量随 SNP 浓度升高大体呈逐渐降低的变化趋势。其中,SNP 浓度为  $0.10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,紫苜蓿的株高、地上部干质量和地下部鲜质量最高,较  $1.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  EDDS 单一处理组分别增加了 33.25%、35.79% 和 25.00%;SNP 浓度

为  $0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,主根长和地下部干质量最高,较  $1.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS 单一处理组分别增加了 20.25% 和 25.00%。

比较可见,经 SNP 与  $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS 复合处理,紫苜蓿的多项生长指标高于同浓度 SNP 与  $1.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS 复合处理组,部分指标也高于

同浓度 SNP 单一处理组。 $0.10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP 与  $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS 复合处理组的株高、地上部鲜质量和地下部干质量在所有处理组中最高,而  $0.20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP 与  $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS 复合处理组的地上部干质量和地下部鲜质量在所有处理组中最高。

表1 土壤Cd胁迫条件下SNP和EDDS处理对紫苜蓿生长的影响( $\bar{x} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

Table 1 Effects of SNP and EDDS treatments on growth of *Medicago sativa* Linn. under soil Cd stress condition ( $\bar{x} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

处理组 <sup>2)</sup> Treatment group <sup>2)</sup>	浓度/( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) Concentration		株高/cm Height	主根长/cm Main root length	鲜质量/g Fresh mass		干质量/g Dry mass	
	SNP	EDDS			地上部	地下部	地上部	地下部
					Above-ground part	Under-ground part	Above-ground part	Under-ground part
T <sub>CK</sub>	0.00	0.00	15.50±2.50c	9.40±0.34a	0.353±0.057c	0.089±0.017c	0.062±0.010c	0.024±0.006b
T <sub>1S</sub>	0.05	0.00	23.86±2.45ab	10.15±1.07a	0.425±0.138bc	0.109±0.026bc	0.070±0.019c	0.037±0.009b
T <sub>2S</sub>	0.10	0.00	24.03±2.80ab	11.30±0.22a	0.580±0.116b	0.125±0.046bc	0.105±0.016ab	0.041±0.010b
T <sub>3S</sub>	0.20	0.00	27.25±1.73a	11.68±2.69a	0.728±0.137a	0.160±0.063a	0.129±0.043a	0.079±0.036a
T <sub>4S</sub>	0.30	0.00	21.63±1.96b	10.15±1.81a	0.553±0.085bc	0.149±0.059ab	0.099±0.019b	0.078±0.015a
T <sub>CK</sub>	0.00	0.00	15.50±2.50d	9.40±0.34ab	0.353±0.057c	0.089±0.017b	0.062±0.010c	0.024±0.006c
T <sub>1E</sub>	0.00	0.50	21.00±2.22cd	8.15±1.16b	0.459±0.091bc	0.121±0.036ab	0.103±0.022bc	0.047±0.015bc
T <sub>1S-1E</sub>	0.05	0.50	22.70±1.78bc	9.55±0.87ab	0.565±0.155ab	0.127±0.029ab	0.123±0.031ab	0.052±0.019abc
T <sub>2S-1E</sub>	0.10	0.50	30.88±5.58a	10.58±2.44a	0.734±0.071a	0.148±0.035ab	0.144±0.020ab	0.081±0.025a
T <sub>3S-1E</sub>	0.20	0.50	27.18±2.66ab	9.73±0.26ab	0.708±0.097a	0.183±0.060a	0.154±0.023a	0.062±0.013ab
T <sub>4S-1E</sub>	0.30	0.50	27.80±3.32ab	8.65±0.79ab	0.607±0.190ab	0.135±0.030ab	0.125±0.040ab	0.053±0.018abc
T <sub>CK</sub>	0.00	0.00	15.50±2.50c	9.40±0.34a	0.353±0.057c	0.089±0.017bc	0.062±0.010b	0.024±0.006b
T <sub>2E</sub>	0.00	1.50	20.45±4.15bc	8.15±0.87a	0.603±0.077a	0.112±0.021ab	0.095±0.023ab	0.048±0.010a
T <sub>1S-2E</sub>	0.05	1.50	21.85±1.74ab	9.80±2.20a	0.537±0.109ab	0.132±0.018a	0.127±0.018ab	0.060±0.022a
T <sub>2S-2E</sub>	0.10	1.50	27.25±2.11a	9.30±0.98a	0.344±0.132c	0.140±0.047a	0.129±0.031a	0.056±0.008a
T <sub>3S-2E</sub>	0.20	1.50	21.50±4.95ab	8.13±0.82a	0.312±0.130c	0.066±0.015c	0.101±0.033ab	0.022±0.006b
T <sub>4S-2E</sub>	0.30	1.50	21.28±3.78bc	7.93±0.79a	0.469±0.202b	0.051±0.011c	0.077±0.019ab	0.018±0.005b

<sup>1)</sup> 同列中不同小写字母表示在同一浓度EDDS处理下不同浓度SNP处理间差异显著( $P < 0.05$ ) Different lowercases in the same column indicate the significant ( $P < 0.05$ ) difference among treatments of different concentrations of SNP under the same concentration of EDDS treatment.

<sup>2)</sup> 所有处理组的土壤Cd质量浓度均为  $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  Mass concentrations of Cd in soil of all treatment groups are  $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ .

## 2.2 土壤Cd胁迫条件下SNP和EDDS处理对紫苜蓿根系活力和叶片光合色素含量的影响

土壤Cd胁迫条件下经不同浓度SNP和EDDS处理后紫苜蓿根系活力及叶片光合色素含量的差异见表2。

结果显示:土壤Cd胁迫条件下,不同浓度SNP单一处理使紫苜蓿根系活力和叶片光合色素含量高于对照,其中,经  $0.10 \sim 0.30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP单一处理后根系活力和各项叶绿素含量指标均显著高于对照,但类胡萝卜素含量无显著差异。随SNP浓度的升高,紫苜蓿根系活力和类胡萝卜素含量逐渐增高,在SNP浓度为  $0.30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时达到最大值,较对照分别增加了 110.01% 和 24.81%;叶绿素a、叶绿素b和

总叶绿素含量随SNP浓度升高呈先升高后降低的变化趋势,在SNP浓度为  $0.20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时最高,较对照分别增加了 37.67%、26.06% 和 34.06%。

由表2可以看出:土壤Cd胁迫条件下,  $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS单一处理使紫苜蓿叶绿素b和总叶绿素含量显著减少,较对照分别减少了 12.96% 和 5.76%;而根系活力、叶绿素a含量和类胡萝卜素含量则与对照无显著差异。经不同浓度SNP与  $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS复合处理后,紫苜蓿根系活力和光合色素含量高于对照和  $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS单一处理组,且总体上差异显著。随SNP浓度升高,SNP与  $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS复合处理组的根系活力和光合色素含量均呈先升高后降低的变化趋势。其

中,SNP浓度为 $0.10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,根系活力以及叶绿素 $a$ 、叶绿素 $b$ 、类胡萝卜素和总叶绿素的含量均最高,较 $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS单一处理组分别增加了149.68%、44.82%、57.96%、38.09%和48.58%。

由表2还可以看出:土壤Cd胁迫条件下, $1.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS单一处理使紫苜蓿叶绿素 $a$ 和类胡萝卜素含量较对照分别增加了8.02%和12.52%,且差异显著;而叶绿素 $b$ 含量较对照降低了5.46%,且差异显著;根系活力和总叶绿素含量高于对照,但差异不显著。经 $0.05\sim 0.20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP与 $1.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS复合处理后,紫苜蓿的根系活力及

光合色素含量总体上均高于对照和 $1.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS单一处理组,且差异显著。随SNP浓度升高,SNP与 $1.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS复合处理组的根系活力和光合色素含量总体上呈先升高后降低的变化趋势。其中,SNP浓度为 $0.20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,根系活力最高,较 $1.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS单一处理组增加了52.67%;在SNP浓度为 $0.05\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,叶绿素 $a$ 、叶绿素 $b$ 、类胡萝卜素和总叶绿素的含量均最高,较 $1.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS单一处理组分别增高了19.60%、29.21%、13.16%和22.32%。

表2 土壤Cd胁迫条件下SNP和EDDS处理对紫苜蓿根系活力和叶片光合色素含量的影响( $\bar{X}\pm SD$ )<sup>1)</sup>

Table 2 Effects of SNP and EDDS treatments on root activity and contents of photosynthetic pigments in leaf of *Medicago sativa* Linn. under soil Cd stress condition ( $\bar{X}\pm SD$ )<sup>1)</sup>

处理组 <sup>2)</sup> Treatment group <sup>2)</sup>	浓度/ $(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$ Concentration		根系 活力/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ Root activity	叶绿素含量/ $(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$ Chlorophyll content			类胡萝卜素 含量/ $(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$ Carotenoid content
	SNP	EDDS		叶绿素 $a$ Chlorophyll $a$	叶绿素 $b$ Chlorophyll $b$	总计 Total	
T <sub>CK</sub>	0.00	0.00	46.133±1.179c	15.571±0.777d	7.015±0.326c	22.586±1.083d	2.979±0.113ab
T <sub>1S</sub>	0.05	0.00	50.717±2.885c	17.257±0.631c	7.598±0.378b	24.855±0.818c	2.633±0.944b
T <sub>2S</sub>	0.10	0.00	64.967±2.388b	18.122±0.655bc	7.923±0.454b	26.045±1.096b	3.584±0.427a
T <sub>3S</sub>	0.20	0.00	71.300±0.471b	21.436±0.273a	8.843±0.016a	30.279±0.273a	3.598±0.327a
T <sub>4S</sub>	0.30	0.00	96.883±2.455a	18.832±0.795b	8.085±0.179b	26.916±0.869b	3.718±0.395a
T <sub>CK</sub>	0.00	0.00	46.133±1.179e	15.571±0.777d	7.015±0.326e	22.586±1.083d	2.979±0.113b
T <sub>1E</sub>	0.00	0.50	50.050±2.699de	15.179±0.609d	6.106±0.016f	21.285±0.614e	2.990±0.169b
T <sub>1S-1E</sub>	0.05	0.50	78.522±1.347b	20.478±0.857b	8.518±0.065c	28.996±0.870b	3.773±0.434a
T <sub>2S-1E</sub>	0.10	0.50	124.967±1.886a	21.982±0.451a	9.645±0.306a	31.626±0.755a	4.129±0.070a
T <sub>3S-1E</sub>	0.20	0.50	62.217±3.178c	20.949±1.046ab	8.880±0.028b	29.829±1.043b	3.903±0.481a
T <sub>4S-1E</sub>	0.30	0.50	51.189±2.009d	18.958±0.471c	7.607±0.229d	26.565±0.697c	3.826±0.063a
T <sub>CK</sub>	0.00	0.00	46.133±1.179e	15.571±0.777d	7.015±0.326c	22.586±1.083c	2.979±0.113d
T <sub>2E</sub>	0.00	1.50	50.633±2.494de	16.820±0.078c	6.632±0.044d	23.451±0.099c	3.352±0.026bc
T <sub>1S-2E</sub>	0.05	1.50	54.050±2.602cd	20.116±0.181a	8.569±0.097a	28.685±0.265a	3.793±0.030a
T <sub>2S-2E</sub>	0.10	1.50	61.800±0.707b	18.004±0.473b	7.227±0.203c	25.231±0.658b	3.478±0.118b
T <sub>3S-2E</sub>	0.20	1.50	77.300±1.414a	18.481±0.401b	7.713±0.236b	26.194±0.625b	3.597±0.072ab
T <sub>4S-2E</sub>	0.30	1.50	56.633±1.826bc	16.641±0.622c	6.526±0.078d	23.167±0.698c	3.156±0.364dc

<sup>1)</sup> 同列中不同小写字母表示在同一浓度EDDS处理下不同浓度SNP处理间差异显著( $P<0.05$ ) Different lowercases in the same column indicate the significant ( $P<0.05$ ) difference among treatments of different concentrations of SNP under the same concentration of EDDS treatment.

<sup>2)</sup> 所有处理组的土壤Cd质量浓度均为 $15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  Mass concentrations of Cd in soil of all treatment groups are  $15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

比较可见, $0.10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP与 $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS复合处理组的根系活力和光合色素含量在所有处理组中均最高。

### 2.3 土壤Cd胁迫条件下SNP和EDDS处理对紫苜蓿Cd积累及Cd转运和修复效率的影响

土壤Cd胁迫条件下经不同浓度SNP和EDDS处理后紫苜蓿Cd含量、Cd转运系数和Cd富集系数以及土壤Cd含量和Cd修复效率见表3。

结果显示:土壤Cd胁迫条件下,不同浓度SNP单一处理使紫苜蓿地上部和地下部Cd含量、Cd转运系数、地上部和地下部的Cd富集系数以及Cd修复效率均高于对照,土壤Cd含量均低于对照,且差异显著。随SNP浓度升高,地上部的Cd含量和Cd富集系数均呈逐渐升高的变化趋势,而地下部的Cd含量和Cd富集系数以及Cd修复效率均呈先升高后降低的变化趋势,土壤Cd含量呈先降低后升高的变化

趋势。其中,SNP浓度为 $0.30\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,地上部的Cd含量和Cd富集系数以及Cd转运系数均最高,较对照分别增加了82.29%、29.03%和85.58%;地下部的Cd含量和Cd富集系数以及Cd修复效率也较高,较对照分别增加了42.57%、45.62%和66.89%;土壤Cd含量较对照减少了1.99%。

表3 土壤Cd胁迫条件下SNP和EDDS处理对紫苜蓿Cd含量、Cd转运系数和Cd富集系数以及土壤Cd含量和Cd修复效率的影响( $\bar{X}\pm SD$ )<sup>1)</sup>  
Table 3 Effects of SNP and EDDS treatments on Cd contents in *Medicago sativa* Linn., Cd translocation coefficient, Cd concentration coefficient, and Cd content in soil and Cd remediation efficiency under soil Cd stress condition ( $\bar{X}\pm SD$ )<sup>1)</sup>

处理组 <sup>2)</sup> Treatment group <sup>2)</sup>	浓度/( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) Concentration		Cd含量/( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) Cd content		Cd转运系数 Cd translocation coefficient	Cd富集系数 Cd concentration coefficient		土壤Cd 含量/( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) Cd content in soil	Cd修复 效率/% Cd remediation efficiency
	SNP	EDDS	地上部 Above-ground part	地下部 Under-ground part		地上部 Above-ground part	地下部 Under-ground part		
T <sub>CK</sub>	0.00	0.00	15.08±0.67d	48.18±2.55d	0.31±0.03b	1.04±0.04d	3.31±0.58d	14.56±0.12a	2.93±0.80c
T <sub>1S</sub>	0.05	0.00	20.25±0.62c	53.66±2.66c	0.38±0.03a	1.41±0.06c	3.75±0.17c	14.32±0.14b	4.53±0.96b
T <sub>2S</sub>	0.10	0.00	21.84±0.42c	58.80±2.24b	0.37±0.02a	1.53±0.03c	4.13±0.17b	14.25±0.08c	4.98±0.56a
T <sub>3S</sub>	0.20	0.00	24.81±1.12b	69.71±2.57a	0.36±0.03a	1.74±0.10b	4.88±0.15a	14.29±0.18b	4.71±1.26b
T <sub>4S</sub>	0.30	0.00	27.49±1.44a	68.69±2.65a	0.40±0.01a	1.93±0.08a	4.82±0.14a	14.27±0.14c	4.89±0.94a
T <sub>CK</sub>	0.00	0.00	15.08±0.67c	48.19±2.56d	0.31±0.01e	1.04±0.04f	3.31±0.58d	14.56±0.12a	2.93±0.80c
T <sub>1E</sub>	0.00	0.50	24.60±0.22d	49.95±1.72d	0.49±0.01a	1.72±0.02e	3.48±0.10d	14.35±0.12ab	4.36±0.81b
T <sub>1S-1E</sub>	0.05	0.50	26.44±0.31c	64.77±1.46c	0.41±0.01b	1.86±0.03d	4.55±0.09c	14.24±0.18b	5.07±1.22ab
T <sub>2S-1E</sub>	0.10	0.50	32.52±0.74a	99.76±2.97a	0.35±0.02d	2.21±0.07b	6.30±0.24a	14.25±0.14b	4.98±0.94ab
T <sub>3S-1E</sub>	0.20	0.50	32.87±0.24a	86.97±1.89a	0.38±0.01c	2.34±0.04a	6.18±0.20a	14.07±0.15c	6.22±1.01a
T <sub>4S-1E</sub>	0.30	0.50	28.15±0.40b	78.99±2.05b	0.36±0.01cd	1.99±0.05c	5.58±0.11b	14.15±0.12bc	5.69±0.81ab
T <sub>CK</sub>	0.00	0.00	15.08±0.67c	48.19±2.66c	0.31±0.03c	1.04±0.04c	3.31±0.58c	14.56±0.12a	2.93±0.80c
T <sub>2E</sub>	0.00	1.50	32.36±0.20a	59.37±2.02b	0.54±0.02a	2.29±0.02a	4.19±0.17b	14.16±0.10c	5.60±0.71a
T <sub>1S-2E</sub>	0.05	1.50	32.28±0.72a	58.61±1.18b	0.55±0.02a	2.28±0.07a	4.14±0.13b	14.15±0.16c	5.69±1.11a
T <sub>2S-2E</sub>	0.10	1.50	32.45±0.34a	87.19±1.86a	0.39±0.01b	2.29±0.05a	5.91±0.23a	14.29±0.22b	4.71±1.52b
T <sub>3S-2E</sub>	0.20	1.50	30.80±1.62ab	89.40±1.70a	0.37±0.02b	2.14±0.11ab	5.74±0.23a	14.40±0.10ab	4.00±0.71b
T <sub>4S-2E</sub>	0.30	1.50	29.60±2.92b	86.19±2.08a	0.36±0.05b	2.06±0.21b	5.76±0.22a	14.36±0.10b	4.27±0.71b

<sup>1)</sup> 同列中不同小写字母表示在同一浓度EDDS处理下不同浓度SNP处理间差异显著( $P<0.05$ ) Different lowercases in the same column indicate the significant ( $P<0.05$ ) difference among treatments of different concentrations of SNP under the same concentration of EDDS treatment.

<sup>2)</sup> 所有处理组的土壤Cd质量浓度均为 $15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  Mass concentrations of Cd in soil of all treatment groups are  $15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

由表3可以看出:土壤Cd胁迫条件下, $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS单一处理使紫苜蓿地上部和地下部的Cd含量、Cd转运系数、地上部和地下部的Cd富集系数以及Cd修复效率均高于对照,其中,地上部Cd含量、Cd转运系数、地上部Cd富集系数以及Cd修复效率均与对照差异显著。经不同浓度SNP与 $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS复合处理后,紫苜蓿地上部和地下部Cd含量、地上部和地下部Cd富集系数及Cd修复效率均高于对照和 $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS单一处理组;而Cd转运系数则高于对照但低于 $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS单一处理组,且差异显著;土壤Cd含量低于对照和 $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS单一处理组,且与对照差异显著。其中,SNP浓度为 $0.10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,地下部的Cd含量和Cd富集系数均最高,较 $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS单一处理组分别增加了

99.72%和81.03%;SNP浓度为 $0.20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,地上部的Cd含量和Cd富集系数以及Cd修复效率均最高,较 $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS单一处理组分别增加了33.62%、36.05%和42.66%,土壤Cd含量最低,较 $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS单一处理组降低了1.95%。

由表3还可以看出:土壤Cd胁迫条件下, $1.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS单一处理使紫苜蓿地上部和地下部的Cd含量、Cd转运系数、地上部和地下部的Cd富集系数以及Cd修复效率均高于对照,而土壤Cd含量低于对照,且差异显著。经不同浓度SNP与 $1.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS复合处理后,紫苜蓿地上部和地下部的Cd含量、地上部和地下部的Cd富集系数和Cd修复效率均高于对照,且差异显著。与 $1.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS单一处理组相比, $0.05\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP与 $1.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDDS复合处理组的各项指标

均无显著差异,而其他复合处理组各项指标均较 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理组存在不同程度差异。其中,经 0.10~0.30 mmol · L<sup>-1</sup>SNP 与 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 复合处理后,紫苜蓿地下部的 Cd 含量和 Cd 富集系数及土壤 Cd 含量均高于 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理组,而 Cd 转运系数和 Cd 修复效率则均低于后者,且差异显著;仅 0.30 mmol · L<sup>-1</sup>SNP 与 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 复合处理组地上部的 Cd 含量和 Cd 富集系数显著低于 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理组。

比较可见,1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理组地上部和地下部的 Cd 含量和 Cd 富集系数以及 Cd 转运系数和 Cd 修复效率均高于 0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理组,土壤 Cd 含量则低于 0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理组。0.10 mmol · L<sup>-1</sup>SNP 与 0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 复合处理组的地下部 Cd 含量和 Cd 富集系数在所有处理组中均最高,0.20 mmol · L<sup>-1</sup>SNP 与 0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 复合处理组的地上部 Cd 含量和 Cd 富集系数以及 Cd 修复效率在所有处理组中均最高,而土壤 Cd 含量在所有处理组中最低。

总体上看,紫苜蓿地下部的 Cd 含量和 Cd 富集系数大幅度高于地上部,表明根系是紫苜蓿吸收和积累 Cd 的主要器官。

#### 2.4 土壤 Cd 胁迫条件下 SNP 和 EDDS 处理对紫苜蓿不同亚细胞组分中 Cd 含量的影响

土壤 Cd 胁迫条件下经不同浓度 SNP 和 EDDS 处理后紫苜蓿地上部和地下部不同亚细胞组分中 Cd 含量的差异分别见表 4 和表 5。

2.4.1 地上部亚细胞组分中 Cd 含量的差异 结果显示:在土壤 Cd 胁迫条件下,不同浓度 SNP 单一处理总体上使紫苜蓿地上部各亚细胞组分的 Cd 含量较对照显著增加。随 SNP 浓度升高,地上部各亚细胞组分的 Cd 含量总体上呈逐渐升高的变化趋势,SNP 浓度为 0.30 mmol · L<sup>-1</sup>时,地上部细胞壁、细胞器和可溶部分的 Cd 含量均最高,较对照分别增加了 64.81%、52.41%和 95.36%。

由表 4 可以看出:土壤 Cd 胁迫条件下,0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理以及不同浓度 SNP 与 0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 复合处理均可使紫苜蓿地上部各亚细胞组分的 Cd 含量较对照显著增加。经不同浓度

表 4 土壤 Cd 胁迫条件下 SNP 和 EDDS 处理对紫苜蓿地上部的亚细胞组分中 Cd 含量的影响 ( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

Table 4 Effects of SNP and EDDS treatments on Cd content in subcellular fractions of above-ground part of *Medicago sativa* Linn. under soil Cd stress condition ( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

处理组 <sup>2)</sup> Treatment group <sup>2)</sup>	浓度/(mmol · L <sup>-1</sup> ) Concentration		各亚细胞组分的 Cd 含量/(mg · kg <sup>-1</sup> ) Cd content in each subcellular fraction			
	SNP	EDDS	细胞壁 Cell wall	细胞器 Organelle	线粒体 Mitochondria	可溶部分 Soluble fraction
T <sub>CK</sub>	0.00	0.00	7.067±0.234d	1.372±0.203b	0.779±0.032c	5.629±0.278e
T <sub>1S</sub>	0.05	0.00	9.977±0.094c	1.861±0.246a	0.887±0.116bc	8.143±0.411d
T <sub>2S</sub>	0.10	0.00	10.409±0.206c	1.853±0.082a	0.969±0.043b	9.143±0.463c
T <sub>3S</sub>	0.20	0.00	11.023±0.287b	1.991±0.101a	1.156±0.045a	10.301±0.239b
T <sub>4S</sub>	0.30	0.00	11.647±0.338a	2.091±0.047a	1.141±0.048a	10.997±0.228a
T <sub>CK</sub>	0.00	0.00	7.067±0.234d	1.372±0.203c	0.779±0.032c	5.629±0.278e
T <sub>1E</sub>	0.00	0.50	11.708±0.309c	2.341±0.060ab	1.171±0.031ab	10.011±0.123d
T <sub>1S-1E</sub>	0.05	0.50	12.516±0.296b	2.305±0.142ab	1.289±0.092a	11.141±0.403c
T <sub>2S-1E</sub>	0.10	0.50	13.372±0.412a	2.375±0.052ab	1.253±0.060a	13.267±0.348b
T <sub>3S-1E</sub>	0.20	0.50	13.744±0.236a	2.495±0.050a	1.147±0.066ab	14.940±0.231a
T <sub>4S-1E</sub>	0.30	0.50	12.489±0.153b	2.271±0.084b	1.039±0.052b	13.481±0.349b
T <sub>CK</sub>	0.00	0.00	7.067±0.234b	1.372±0.203b	0.779±0.032d	5.629±0.278d
T <sub>2E</sub>	0.00	1.50	13.773±0.221a	3.032±0.254a	1.297±0.089a	14.209±0.207bc
T <sub>1S-2E</sub>	0.05	1.50	13.570±0.244a	2.948±0.177a	1.243±0.038ab	14.531±0.329b
T <sub>2S-2E</sub>	0.10	1.50	13.541±0.125a	2.932±0.165a	1.173±0.068bc	15.485±0.259a
T <sub>3S-2E</sub>	0.20	1.50	12.856±0.278a	3.000±0.102a	1.183±0.061bc	14.584±0.495b
T <sub>4S-2E</sub>	0.30	1.50	12.112±0.275a	2.769±0.096a	1.099±0.034c	13.815±0.221c

<sup>1)</sup> 同列中不同小写字母表示在同一浓度 EDDS 处理下不同浓度 SNP 处理间差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different lowercases in the same column indicate the significant ( $P < 0.05$ ) difference among treatments of different concentrations of SNP under the same concentration of EDDS treatment.

<sup>2)</sup> 所有处理组的土壤 Cd 质量浓度均为 15 mg · kg<sup>-1</sup> Mass concentrations of Cd in soil of all treatment groups are 15 mg · kg<sup>-1</sup>.

SNP与0.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS复合处理后,紫苜蓿地上部细胞壁和可溶部分的Cd含量均较0.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS单一处理组显著增加,且随SNP浓度升高均呈先升高后降低的变化趋势,在SNP浓度为0.20 mmol·L<sup>-1</sup>时最高,较0.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS单一处理组分别增加了17.39%和49.24%;而细胞器和线粒体的Cd含量总体上与后者无显著差异。

由表4还可以看出:土壤Cd胁迫条件下,1.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS单一处理以及不同浓度SNP与1.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS复合处理均可使紫苜蓿地上部各亚细胞组分的Cd含量较对照显著增加。经不同浓度SNP与1.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS复合处理后,紫苜蓿地上部细胞壁、细胞器和线粒体的Cd含量均低于1.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS单一处理组,且总体上随SNP浓度升高呈逐渐降低的变化趋势,其中,与1.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS单一处理组相比,细胞壁和细胞器的Cd含量无显著差异,0.10~0.30 mmol·L<sup>-1</sup>SNP与1.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS复合处理组的线粒体Cd含量则差异显著;可溶部分Cd含量随SNP浓度升高呈先升高后降低的变化趋势,在SNP浓度为

0.10 mmol·L<sup>-1</sup>时最高,较1.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS单一处理组增加了8.98%。

总体上看,在所有处理组中,紫苜蓿地上部细胞壁、细胞器和线粒体的Cd含量均以1.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS单一处理组最高,可溶部分Cd含量则以0.10 mmol·L<sup>-1</sup>SNP与1.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS复合处理组最高。

2.4.2 地下部亚细胞组分中Cd含量的差异 由表5可见:在土壤Cd胁迫条件下,不同浓度SNP单一处理总体上可使紫苜蓿地下部细胞器和可溶部分的Cd含量较对照显著升高,但线粒体的Cd含量与对照无显著差异;而细胞壁的Cd含量则在SNP浓度为0.05和0.10 mmol·L<sup>-1</sup>时显著低于对照,在SNP浓度为0.20 mmol·L<sup>-1</sup>时显著高于对照。随SNP浓度升高,地下部各亚细胞组分的Cd含量总体上呈波动升高的变化趋势。其中,SNP浓度为0.20 mmol·L<sup>-1</sup>时,细胞壁和可溶部分的Cd含量最高,较对照分别增加了3.39%和141.86%。

由表5可以看出:在土壤Cd胁迫条件下,0.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS单一处理使紫苜蓿地下部细胞器、

表5 土壤Cd胁迫条件下SNP和EDDS处理对紫苜蓿地下部的亚细胞组分中Cd含量的影响( $\bar{X}\pm SD$ )<sup>1)</sup>

Table 5 Effects of SNP and EDDS treatments on Cd content in subcellular fractions of under-ground part of *Medicago sativa* Linn. under soil Cd stress condition ( $\bar{X}\pm SD$ )<sup>1)</sup>

处理组 <sup>2)</sup> Treatment group <sup>2)</sup>	浓度/(mmol·L <sup>-1</sup> ) Concentration		各亚细胞组分的Cd含量/(mg·kg <sup>-1</sup> ) Cd content in each subcellular fraction			
	SNP	EDDS	细胞壁 Cell wall	细胞器 Organelle	线粒体 Mitochondria	可溶部分 Soluble fraction
T <sub>CK</sub>	0.00	0.00	30.933±0.418b	3.559±0.172b	2.939±0.243a	12.029±0.528d
T <sub>1S</sub>	0.05	0.00	28.244±0.497c	4.139±0.344a	3.020±0.230a	17.729±0.395c
T <sub>2S</sub>	0.10	0.00	27.209±0.707d	3.957±0.195ab	3.193±0.265a	23.409±0.622b
T <sub>3S</sub>	0.20	0.00	31.983±0.646a	4.157±0.253a	3.143±0.175a	29.093±1.109a
T <sub>4S</sub>	0.30	0.00	31.627±0.406ab	4.244±0.252a	3.165±0.086a	28.227±0.545a
T <sub>CK</sub>	0.00	0.00	30.933±0.418e	3.559±0.172c	2.939±0.243b	12.029±0.528e
T <sub>1E</sub>	0.00	0.50	28.757±0.841f	4.416±0.394a	3.437±0.255a	14.811±1.357d
T <sub>1S-1E</sub>	0.05	0.50	32.516±0.296d	3.831±0.223bc	3.829±0.263a	23.367±0.899c
T <sub>2S-1E</sub>	0.10	0.50	47.505±0.858a	4.191±0.233b	3.787±0.264a	33.267±1.148b
T <sub>3S-1E</sub>	0.20	0.50	40.532±0.694b	3.849±0.185bc	3.835±0.280a	36.963±1.127a
T <sub>4S-1E</sub>	0.30	0.50	36.049±0.546c	3.925±0.148bc	3.781±0.267a	35.880±0.371a
T <sub>CK</sub>	0.00	0.00	30.933±0.418b	3.559±0.172b	2.939±0.243c	12.029±0.528c
T <sub>2E</sub>	0.00	1.50	31.000±1.223b	3.045±0.259b	2.833±0.109c	24.729±1.241b
T <sub>1S-2E</sub>	0.05	1.50	31.171±1.207b	2.881±0.185c	3.125±0.172bc	25.075±0.893b
T <sub>2S-2E</sub>	0.10	1.50	40.025±0.430a	4.047±0.260a	4.035±0.071a	36.205±1.222a
T <sub>3S-2E</sub>	0.20	1.50	41.079±1.052a	3.260±0.135b	3.343±0.266b	36.184±1.612a
T <sub>4S-2E</sub>	0.30	1.50	40.421±0.414a	2.996±0.197b	3.765±0.239a	35.939±1.162a

<sup>1)</sup> 同列中不同小写字母表示在同一浓度EDDS处理下不同浓度SNP处理间差异显著( $P<0.05$ ) Different lowercases in the same column indicate the significant ( $P<0.05$ ) difference among treatments of different concentrations of SNP under the same concentration of EDDS treatment.

<sup>2)</sup> 所有处理组的土壤Cd质量浓度均为15 mg·kg<sup>-1</sup> Mass concentrations of Cd in soil of all treatment groups are 15 mg·kg<sup>-1</sup>.

线粒体和可溶部分的 Cd 含量显著高于对照,但细胞壁的 Cd 含量显著低于对照。经不同浓度 SNP 与 0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 复合处理,地下部细胞壁和可溶部分的 Cd 含量显著高于对照和 0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理组,且随 SNP 浓度升高均呈先高后低的变化趋势;线粒体的 Cd 含量显著高于对照,但与 0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理组无显著差异;而细胞器的 Cd 含量显著低于 0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理组,且仅 0.10 mmol · L<sup>-1</sup>SNP 与 0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 复合处理组的 Cd 含量显著高于对照,其他复合处理组与对照无显著差异。SNP 浓度为 0.20 mmol · L<sup>-1</sup>时,地下部可溶部分 Cd 含量最高,较 0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理组增加了 149.56%; SNP 浓度为 0.10 mmol · L<sup>-1</sup>时,地下部细胞壁的 Cd 含量最高,较 0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理组增加了 65.19%。

由表 5 还可以看出:在土壤 Cd 胁迫条件下,经 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理后紫苜蓿地下部可溶部分的 Cd 含量显著高于对照,但细胞壁、细胞器和线粒体的 Cd 含量与对照无显著差异。经不同浓度 SNP 与 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 复合处理,地下部各亚细胞组分的 Cd 含量均随 SNP 浓度升高呈“降低—升高—降低”的变化趋势;0.10~0.30 mmol · L<sup>-1</sup>SNP 与 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 复合处理组地下部细胞壁、线粒体和可溶部分的 Cd 含量显著高于对照和 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理组;与对照和 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理组相比,0.05 mmol · L<sup>-1</sup>SNP 与 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 复合处理组地下部细胞壁和线粒体的 Cd 含量无显著差异,但细胞器的 Cd 含量显著降低,可溶部分的 Cd 含量较对照显著增加,但与 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理组无显著差异。SNP 浓度为 0.10 mmol · L<sup>-1</sup>时,地下部细胞器、线粒体和可溶部分的 Cd 含量均最高,较 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理组分别增加了 32.91%、42.43% 和 46.41%;SNP 浓度为 0.20 mmol · L<sup>-1</sup>时地下部细胞壁的 Cd 含量最高,较 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 单一处理组增加了 32.51%。

总体分析发现,不论是地上部还是地下部,细胞壁和可溶部分的 Cd 含量均大幅度高于细胞器和线粒体的 Cd 含量,Cd 含量从高至低依次为细胞壁、可溶部分、细胞器、线粒体,表明 Cd 主要沉积于细胞壁和细胞质(液泡)中;且地下部各亚细胞组分的 Cd 含量明显高于地上部,表明根系是紫苜蓿 Cd 吸收和积

累的主要器官。比较可见,SNP 与 0.50 和 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 复合处理后,各亚细胞组分的 Cd 含量大多高于同浓度 SNP 单一处理组。

## 2.5 紫苜蓿生长和 Cd 积累指标间及其与 SNP 和 EDDS 浓度的相关性

在土壤 Cd 胁迫条件下,紫苜蓿地上部和地下部生长和 Cd 积累指标间及其与不同处理组 SNP 浓度和 EDDS 浓度的相关系数分别见表 6、表 7 和表 8。

表 6 土壤 Cd 胁迫条件下 SNP 和 EDDS 处理后紫苜蓿地上部生长和 Cd 积累指标间的相关系数<sup>1)</sup>

Table 6 Correlation coefficients among indexes of growth and Cd accumulation of above-ground part of *Medicago sativa* Linn. after SNP and EDDS treatments under soil Cd stress condition<sup>1)</sup>

指标 Index	SNP 单一处理下的相关系数 Correlation coefficient under SNP single treatment			
	株高 Height	鲜质量 Fresh mass	干质量 Dry mass	Cd 含量 Cd content
鲜质量 Fresh mass	0.823			
干质量 Dry mass	0.776	0.996 **		
Cd 含量 Cd content	0.659	0.759	0.753	
BCF <sup>2)</sup>	0.661	0.762	0.757	0.999 **
指标 Index	EDDS 单一处理下的相关系数 Correlation coefficient under EDDS single treatment			
	株高 Height	鲜质量 Fresh mass	干质量 Dry mass	Cd 含量 Cd content
鲜质量 Fresh mass	0.764			
干质量 Dry mass	0.996	0.699		
Cd 含量 Cd content	0.849	0.989	0.796	
BCF <sup>2)</sup>	0.845	0.990	0.791	1.000 **
指标 Index	SNP 与 0.50 mmol · L <sup>-1</sup> EDDS 复合处理下的相关系数 Correlation coefficient under SNP and 0.50 mmol · L <sup>-1</sup> EDDS combined treatment			
	株高 Height	鲜质量 Fresh mass	干质量 Dry mass	Cd 含量 Cd content
鲜质量 Fresh mass	0.907 *			
干质量 Dry mass	0.772	0.961 **		
Cd 含量 Cd content	0.859	0.977 **	0.971 **	
BCF <sup>2)</sup>	0.810	0.954 *	0.984 **	0.988 **
指标 Index	SNP 与 1.50 mmol · L <sup>-1</sup> EDDS 复合处理下的相关系数 Correlation coefficient under SNP and 1.50 mmol · L <sup>-1</sup> EDDS combined treatment			
	株高 Height	鲜质量 Fresh mass	干质量 Dry mass	Cd 含量 Cd content
鲜质量 Fresh mass	-0.561			
干质量 Dry mass	0.658	-0.196		
Cd 含量 Cd content	0.383	0.255	0.784	
BCF <sup>2)</sup>	0.366	0.316	0.759	0.997 **

<sup>1)</sup> \*: 在 0.05 水平(双侧)显著相关 Significant correlation at 0.05 level (two-tailed); \*\*: 在 0.01 水平(双侧)显著相关 Significant correlation at 0.01 level (two-tailed).

<sup>2)</sup> BCF: Cd 富集系数 Cd concentration coefficient.

表 7 土壤 Cd 胁迫条件下 SNP 和 EDDS 处理后紫苜蓿地下部生长和 Cd 积累指标间的相关系数<sup>1)</sup>

Table 7 Correlation coefficients among indexes of growth and Cd accumulation of under-ground part of *Medicago sativa* Linn. after SNP and EDDS treatments under soil Cd stress condition<sup>1)</sup>

指标 Index	SNP 单一处理下的相关系数 Correlation coefficient under SNP single treatment			
	主根长 Main root length	鲜质量 Fresh mass	干质量 Dry mass	Cd 含量 Cd content
鲜质量 Fresh mass	0.722			
干质量 Dry mass	0.533	0.968 **		
Cd 含量 Cd content	0.650	0.994 **	0.983 **	
BCF <sup>2)</sup>	0.659	0.994 **	0.979 **	1.000 **
指标 Index	EDDS 单一处理下的相关系数 Correlation coefficient under EDDS single treatment			
	主根长 Main root length	鲜质量 Fresh mass	干质量 Dry mass	Cd 含量 Cd content
鲜质量 Fresh mass	-0.962			
干质量 Dry mass	-0.999 *	0.951		
Cd 含量 Cd content	-0.621	0.384	0.650	
BCF <sup>2)</sup>	-0.649	0.417	0.677	0.999 *
指标 Index	SNP 与 0.50 mmol · L <sup>-1</sup> EDDS 复合处理下的相关系数 Correlation coefficient under SNP and 0.50 mmol · L <sup>-1</sup> EDDS combined treatment			
	主根长 Main root length	鲜质量 Fresh mass	干质量 Dry mass	Cd 含量 Cd content
鲜质量 Fresh mass	0.534			
干质量 Dry mass	0.887 *	0.494		
Cd 含量 Cd content	0.818	0.674	0.893 *	
BCF <sup>2)</sup>	0.747	0.765	0.781	0.976 **
指标 Index	SNP 与 1.50 mmol · L <sup>-1</sup> EDDS 复合处理下的相关系数 Correlation coefficient under SNP and 1.50 mmol · L <sup>-1</sup> EDDS combined treatment			
	主根长 Main root length	鲜质量 Fresh mass	干质量 Dry mass	Cd 含量 Cd content
鲜质量 Fresh mass	0.827			
干质量 Dry mass	0.837	0.987 **		
Cd 含量 Cd content	-0.357	-0.506	-0.626	
BCF <sup>2)</sup>	-0.311	-0.443	-0.566	0.993 **

<sup>1)</sup> \* : 在 0.05 水平 (双侧) 显著相关 Significant correlation at 0.05 level (two-tailed); \*\* : 在 0.01 水平 (双侧) 显著相关 Significant correlation at 0.01 level (two-tailed).

<sup>2)</sup> BCF: Cd 富集系数 Cd concentration coefficient.

2.5.1 地上部生长和 Cd 积累指标间的相关性 由表 6 可见:在 SNP 单一处理条件下,紫苜蓿地上部干质量与鲜质量呈极显著正相关,Cd 含量与 Cd 富集系数也呈极显著正相关。经不同浓度 SNP 与 0.50

mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 复合处理后,仅株高与地上部干质量、Cd 含量和 Cd 富集系数的相关性未达显著水平,其他指标间均呈极显著或显著正相关。在 EDDS 单一处理和不同浓度 SNP 与 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 复合处理条件下,仅 Cd 含量与 Cd 富集系数呈极显著正相关,其他指标间的相关性均未达显著水平。

2.5.2 地下部生长和 Cd 积累指标间的相关性 由表 7 可见:在 SNP 单一处理条件下,紫苜蓿地下部仅主根长与其他指标间的相关性未达显著水平,其他 4 个指标间均呈极显著正相关。在 EDDS 单一处理条件下,仅主根长与干质量呈显著负相关,Cd 含量与 Cd 富集系数呈显著正相关;经不同浓度 SNP 与 0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 复合处理后,仅干质量与主根长和 Cd 含量呈显著正相关,Cd 含量与 Cd 富集系数呈极显著正相关;经不同浓度 SNP 与 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>

表 8 土壤 Cd 胁迫条件下 SNP 和 EDDS 处理浓度与紫苜蓿地上部和地下部生长和 Cd 积累指标的相关系数<sup>1)</sup>

Table 8 Correlation coefficients between concentrations of SNP and EDDS and indexes of growth and Cd accumulation of above- and under-ground parts of *Medicago sativa* Linn. under soil Cd stress condition<sup>1)</sup>

指标 Index	地上部指标间的相关系数 Correlation coefficient among indexes of above-ground part			
	C <sub>S</sub>	C <sub>S1</sub>	C <sub>S2</sub>	C <sub>E</sub>
株高 Height	0.446	0.599	-0.077	0.693
鲜质量 Fresh mass	0.681	0.482	-0.504	0.995
干质量 Dry mass	0.690	0.469	-0.584	0.623
Cd 含量 Cd content	0.957 *	0.451	-0.947 *	0.969
Cd 富集系数 Cd concentration coefficient	0.957 *	0.521	-0.954 *	0.971
指标 Index	地下部指标间的相关系数 Correlation coefficient among indexes of under-ground part			
	C <sub>S</sub>	C <sub>S1</sub>	C <sub>S2</sub>	C <sub>E</sub>
主根长 Main root length	0.379	0.023	-0.511	-0.756
鲜质量 Fresh mass	0.897 *	0.457	-0.837	0.549
干质量 Dry mass	0.947 *	0.100	-0.863	0.780
Cd 含量 Cd content	0.939 *	0.520	0.778	0.983
Cd 富集系数 Cd concentration coefficient	0.938 *	0.654	0.756	0.989

<sup>1)</sup> C<sub>S</sub>: SNP 单一处理组的 SNP 浓度 Concentration of SNP in SNP single treatment group; C<sub>S1</sub>: SNP 与 0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 复合处理组的 SNP 浓度 Concentration of SNP in SNP and 0.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS combined treatment group; C<sub>S2</sub>: SNP 与 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS 复合处理组的 SNP 浓度 Concentration of SNP in SNP and 1.50 mmol · L<sup>-1</sup>EDDS combined treatment group; C<sub>E</sub>: EDDS 单一处理组的 EDDS 浓度 Concentration of EDDS in EDDS single treatment group. \* : 在 0.05 水平 (双侧) 显著相关 Significant correlation at 0.05 level (two-tailed).

EDDS 复合处理后,仅鲜质量与干质量以及 Cd 含量与 Cd 富集系数呈极显著正相关。

2.5.3 生长和 Cd 积累指标与 SNP 和 EDDS 处理浓度的相关性 由表 8 可见,在 SNP 单一处理条件下,紫苜蓿地上部 Cd 含量和 Cd 富集系数均与 SNP 浓度呈显著正相关,地下部的鲜质量、干质量、Cd 含量和 Cd 富集系数也与 SNP 浓度呈显著正相关。经 SNP 与  $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS 复合处理后,SNP 浓度与地上部和地下部的各项生长指标均呈正相关,但相关性未达显著水平;而经 SNP 与  $1.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS 复合处理后,SNP 浓度与地上部和地下部的各项生长指标均呈不显著负相关,与地上部的 Cd 含量和 Cd 富集系数呈显著负相关,与地下部的 Cd 含量和 Cd 富集系数呈不显著正相关。在 EDDS 单一处理条件下,紫苜蓿地上部和地下部的各项生长和 Cd 积累指标均与 EDDS 浓度无显著相关性。

### 3 讨论和结论

#### 3.1 外源 NO 和 EDDS 处理对土壤 Cd 胁迫条件下紫苜蓿生长的影响效应

修复植物的生物量是权衡修复效率及筛选修复植物的重要因子和指标。作者在前期研究中<sup>[25]</sup>发现,与对照相比,低浓度 Cd 处理能促进紫苜蓿幼苗根和茎的生长,提高叶片叶绿素含量,增强 SOD 和 POD 活性,并以此缓解 Cd 胁迫造成的膜脂过氧化损伤。本研究中,在土壤  $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  Cd 胁迫条件下,单施不同浓度 SNP 和 EDDS 也能够促进紫苜蓿地上部的生长及地上部和地下部的干物质积累,但随 SNP 和 EDDS 浓度的升高,这种促进作用减弱,这与周万海等<sup>[26]</sup>的研究结果一致。

研究表明:SNP 与 EDDS 复合处理对紫苜蓿生长及部分生理指标的影响效应因 SNP 与 EDDS 浓度不同存在明显差异,其中, $0.10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP 与  $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS 复合处理对紫苜蓿的株高、主根长、地上部和地下部的鲜质量和干质量,以及根系活力及光合色素含量均有不同程度的促进作用,但若 SNP 和 EDDS 浓度分别超过  $0.20$  和  $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,二者复合处理对紫苜蓿的生长指标、根系活力以及光合色素含量具有不同程度的抑制作用,说明适宜浓度的 SNP 与 EDDS 复合处理具有“协同作用”,能有效促进紫苜蓿幼苗的生长。杨波等<sup>[8]</sup>的研究结果也表

明: Cd 胁迫条件下,使用较低浓度的 EDDS 有利于三叶鬼针草幼苗的生长;蒋文博等<sup>[27]</sup>认为,在低盐胁迫下,SNP 浓度超过一定量时对植物生物量有显著抑制作用。造成上述结果的原因可能是高浓度 EDDS 可增强重金属的溶解性,破坏植株体内的矿质元素平衡,从而导致生物膜结构破坏、细胞代谢紊乱,使光合色素的合成和积累减少,抑制光合作用,最终影响植株的生长发育<sup>[28]</sup>;此外,过量的外源 NO 也可抑制光合色素合成,破坏光合电子传递链,造成 DNA 损伤,并抑制植株的生长发育<sup>[29]</sup>。

#### 3.2 外源 NO 和 EDDS 处理对土壤 Cd 胁迫条件下紫苜蓿 Cd 吸收和积累的影响效应

将螯合剂应用于重金属污染土壤的植物修复,主要是因为螯合剂能够使土壤中的重金属解吸,或螯合剂与重金属离子螯合,增加金属流动性,或促进土壤中不易被生物吸收的重金属形态向生物有效态转化,从而增加植物对重金属的吸收<sup>[4,5]</sup>。本研究中,土壤 Cd 胁迫条件下,单施不同浓度 SNP 或 EDDS 后,紫苜蓿地上部和地下部 Cd 含量总体上升高,且 SNP 和 EDDS 浓度越高,Cd 含量也越高;相关性分析结果也显示紫苜蓿地上部和地下部的 Cd 含量及富集系数均与 SNP 浓度呈显著正相关,与 EDDS 浓度呈正相关,说明单独施加外源 NO 或 EDDS 均能促进紫苜蓿对 Cd 的吸收富集。

研究表明:不同浓度 SNP 与 EDDS 复合处理能进一步提高紫苜蓿不同部位的 Cd 含量,但不同浓度 EDDS 的影响效应不同。其中,SNP 与  $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS 复合处理时,随 SNP 浓度升高,紫苜蓿地上部和地下部 Cd 含量呈先升高后降低的变化趋势;SNP 与  $1.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDDS 复合处理时,随 SNP 浓度升高地上部 Cd 含量总体下降,而地下部 Cd 含量则先升高后降低,说明采用适宜浓度的 SNP 与 EDDS 复合处理能对紫苜蓿吸收 Cd 产生“协同作用”。冉烈等<sup>[30]</sup>对东南景天(*Sedum alfredii* Hance)和袁菊红等<sup>[31]</sup>对彩叶草(*Coleus hybridus* Hort. ex Cobeau)的相关研究也获得了类似的结论。因而,根据植物对重金属的解毒机制<sup>[32]</sup>,在相同 EDDS 浓度条件下,添加适宜浓度的 SNP 有利于紫苜蓿不同部位对 Cd 的解毒作用。

高浓度 SNP 与 EDDS 复合处理使紫苜蓿对 Cd 的富集作用减弱,可能是因为 SNP 与 EDDS 作为外源化学制剂,施用浓度超过了植物的耐受限度,对植

物造成了损伤,引起代谢失调、细胞膜系统受损,使植物生长受到抑制,进而对Cd的吸收减少<sup>[3,8]</sup>。而适宜浓度的SNP与EDDS联合施用则对提升紫苜蓿的Cd富集能力和转运能力具有“协同作用”,其中,0.20 mmol·L<sup>-1</sup>SNP与0.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS复合处理时,紫苜蓿地上部和地下部的Cd富集系数在所有处理组中均最高,对Cd的修复效率也达到最大(6.22%)。相关性分析结果表明:SNP与0.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS复合处理时,地上部和地下部的Cd富集系数均与SNP浓度正相关,而SNP与1.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS复合处理时,地上部Cd富集系数与SNP浓度显著负相关,说明SNP和EDDS浓度的变化对紫苜蓿不同部位对Cd的吸收和积累有较大影响,从而影响紫苜蓿不同部位的Cd含量,进而影响其修复效率。

### 3.3 外源NO和EDDS处理下紫苜蓿Cd吸收和积累的细胞学机制

细胞壁是重金属离子进入植物细胞的第一道屏障,其金属沉淀作用可能是一些植物耐重金属的原因之一;液泡含有的蛋白质、糖、有机酸、有机碱等物质都能与重金属离子结合,起到解毒作用,因而液泡常被认为是分隔重金属离子的重要细胞器<sup>[33]</sup>。本研究中,不同处理条件下,紫苜蓿富集的Cd主要集中在细胞壁和可溶部分,这与作者前期的研究结果一致<sup>[25]</sup>。经适宜浓度的SNP与EDDS复合处理,当细胞壁上Cd的结合位点达到饱和时,Cd离子透过细胞膜转运到原生质中,此时大量Cd离子累积在细胞质(含液泡),实现了对Cd的区隔化作用;而细胞器和线粒体中的Cd含量明显降低,避免了Cd对细胞器和线粒体的毒害,可见细胞壁的固持作用和液泡的区隔化作用是紫苜蓿应对Cd胁迫的重要防御机制之一。但是,当SNP和EDDS浓度超过一定范围时,这种防御作用受到抑制。

### 3.4 结论

对上述研究结果进行综合归纳和分析,结果表明:在土壤Cd胁迫条件下,单施SNP或EDDS均能促进紫苜蓿的生长,提高根系活力和叶绿素含量,促进地上部与地下部对Cd的吸收。适宜浓度的SNP与EDDS联合施用能进一步促进紫苜蓿的生长和Cd富集,其中,在0.10 mmol·L<sup>-1</sup>SNP与0.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS复合处理条件下,紫苜蓿的地下部Cd含量和Cd富集系数在所有处理组中均最高,其株高、地上部鲜质量、地下部干质量、根系活力以及光合色素含量

也均最高;在0.20 mmol·L<sup>-1</sup>SNP与0.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS复合处理条件下,紫苜蓿地上部Cd含量和Cd富集系数以及Cd修复效率在所有处理组中均最高,其地下部鲜质量和地上部干质量也均最高。因此,综合考虑植株的生长状况以及Cd吸收积累效应和修复效率,初步建议选用0.10~0.20 mmol·L<sup>-1</sup>SNP与0.50 mmol·L<sup>-1</sup>EDDS联合施用,以强化紫苜蓿对Cd污染土壤的修复功能。

在亚细胞水平上,紫苜蓿细胞壁和可溶部分的Cd含量明显高于细胞器和线粒体,表明紫苜蓿通过细胞壁的屏障作用增强其对Cd的耐性,并通过液泡的解毒作用降低Cd毒害,而施加SNP和EDDS有助于细胞壁中的Cd向可溶部分转移及降低细胞器和线粒体中的Cd含量,说明SNP和EDDS的施用有利于紫苜蓿细胞对吸收的Cd进行解毒。

紫苜蓿对Cd的富集虽未达到Cd超富集植物的临界标准,但从植株生长量、耐Cd能力及对Cd的吸收和转化能力等方面综合考虑,紫苜蓿在Cd污染土壤的植物修复中具备潜在的应用价值。

由于本文的实验设计存在一定的不足,尤其是EDDS的浓度水平设置较为粗放,因而,在后续研究中将以本研究结果为基础,采用正交实验设计等更为科学的实验设计方法,筛选出较为精准且易于实际应用的SNP和EDDS复合处理浓度,并采用分子生物学以及代谢组学等方法进一步研究SNP和EDDS联合施用对紫苜蓿生长和Cd吸收积累的作用机制。

### 参考文献:

- [1] CAO X R, WANG X Z, LU M, et al. The Cd phytoextraction potential of hyperaccumulator *Sedum alfredii*-oilseed rape intercropping system under different soil types and comprehensive benefits evaluation under field conditions [J]. *Environmental Pollution*, 2021, 285: 117504.
- [2] SUN S, ZHOU X F, CUI X Y, et al. Exogenous plant growth regulators improved phytoextraction efficiency by *Amaranthus hypochondriacus* L. in cadmium contaminated soil [J]. *Plant Growth Regulation*, 2020, 90(1): 29-40.
- [3] GUO J K, LV X, JIA H L, et al. Effects of EDTA and plant growth-promoting rhizobacteria on plant growth and heavy metal uptake of hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2020, 88: 361-369.
- [4] LI F L, QIU Y H, XU X Y, et al. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metals from sludge soil by Italian ryegrass (*Lolium perenne* L.) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 191: 110185.

- [5] XU L, LI J J, NAJEEB U, et al. Synergistic effects of EDDS and ALA on phytoextraction of cadmium as revealed by biochemical and ultrastructural changes in sunflower (*Helianthus annuus* L.) tissues [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 407: 124764.
- [6] LAN J C, ZHANG S R, LIN H C et al. Efficiency of biodegradable EDDS, NTA and APAM on enhancing the phytoextraction of cadmium by *Siegesbeckia orientalis* L. grown in Cd-contaminated soils [J]. *Chemosphere*, 2013, 91(9): 1362-1367.
- [7] HSEU Z Y, JIEN S H, WANG S H, et al. Using EDDS and NTA for enhanced phytoextraction of Cd by water spinach[J]. *Journal of Environmental Management*, 2013, 117: 58-64.
- [8] 杨波, 陈银萍, 柯昀琪, 等. EDDS对Cd胁迫下三叶鬼针草生长和抗氧化酶系统及Cd积累的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2018, 37(5): 875-882.
- [9] JARRAH M, GHASEMI-FASAEI R, KARIMIAN N, et al. Investigation of *Arbuscular mycorrhizal* fungus and EDTA efficiencies on lead phytoremediation by sunflower in a calcareous soil [J]. *Bioremediation Journal*, 2014, 18(1): 71-79.
- [10] LI Z W, ZHANG R S, ZHANG H M. Effects of plant growth regulators (DA-6 and 6-BA) and EDDS chelator on phytoextraction and detoxification of cadmium by *Amaranthus hybridus* Linn. [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2018, 20(11): 1121-1128.
- [11] 罗洋, 孙丽, 刘方, 等. DA-6和EDDS施用对龙葵生长、Cd吸收和土壤细菌群落结构的影响[J]. *环境科学*, 2022, 43(3): 1641-1648.
- [12] 王勇, 鲜靖苹, 王海龙, 等. 外源NO对镉胁迫下草地早熟禾种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. *核农学报*, 2020, 34(1): 169-176.
- [13] KAYA C, POLAT T, ASHRAF M, et al. Endogenous nitric oxide and its potential sources regulate glutathione-induced cadmium stress tolerance in maize plants [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2021, 167: 723-737.
- [14] XU J, WANG W Y, SUN J H, et al. Involvement of auxin and nitric oxide in plant Cd-stress responses[J]. *Plant and Soil*, 2011, 346: 107-119.
- [15] KHATOR K, SAXENA I, SHEKHAWAT G S. Nitric oxide induced Cd tolerance and phytoremediation potential of *B. juncea* by the modulation of antioxidant defense system and ROS detoxification[J]. *Biometals*, 2021, 34: 15-32.
- [16] 陈银萍, 蓬苗苗, 苏向楠, 等. 外源一氧化氮对镉胁迫下紫花苜蓿幼苗活性氧代谢和镉积累的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2015, 34(12): 2261-2271.
- [17] 王芳, 常盼盼, 陈永平, 等. 外源NO对镉胁迫下玉米幼苗生长和生理特性的影响[J]. *草业学报*, 2013, 22(2): 178-186.
- [18] 孙群, 胡景江. 植物生理学研究技术[M]. 杨凌: 西北农林科技大学出版社, 2006: 138-139.
- [19] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 119-120.
- [20] 李玲. 植物生理学模块实验指导[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 37-38.
- [21] 陈春强, 李明顺, 赖燕平. 火焰原子吸收光谱法测定锰矿恢复区植物中重金属[J]. *环境监测管理与技术*, 2009, 21(3): 48-49.
- [22] 徐伊莎, 夏新, 李欣, 等. 消解体系对土壤重金属测定的影响[J]. *环境工程*, 2019, 37(5): 66-69.
- [23] 刘柿良, 潘远智, 杨容子, 等. 外源一氧化氮对镉胁迫下长春花质膜过氧化、ATPase及矿质营养吸收的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2014, 20(2): 445-458.
- [24] 徐君, 贾荣, 施国新, 等. 镉在水花生叶片中的亚细胞分布及其毒理学[J]. *应用生态学报*, 2012, 23(4): 1070-1076.
- [25] 闫志强, 陈银萍, 蓬苗苗, 等. 镉胁迫对紫花苜蓿幼苗生理特性和镉富集的影响[J]. *广西植物*, 2019, 39(2): 218-227.
- [26] 周万海, 冯端章, 师尚礼, 等. NO对盐胁迫下苜蓿根系生长抑制及氧化损伤的缓解效应[J]. *生态学报*, 2015, 35(11): 3606-3614.
- [27] 蒋文博, 陈钊, 曹新龙, 等. 外源NO对盐胁迫下紫花苜蓿生长及膜脂过氧化的影响[J]. *草业科学*, 2019, 36(10): 2580-2593.
- [28] 罗艳, 张世熔, 徐小逊, 等. 可降解螯合剂对镉胁迫下籽粒苋根系形态及生理生化特征的影响[J]. *生态学报*, 2014, 34(20): 5774-5781.
- [29] BELIGNI M V, LAMATTINA L. Nitric oxide in plants: the history is just beginning [J]. *Plant, Cell and Environment*, 2001, 24: 267-278.
- [30] 冉烈, 李会合, 田秀英. 外源NO对镉胁迫下东南景天生长和镉累积的影响[J]. *中国农学通报*, 2012, 28(19): 60-64.
- [31] 袁菊红, 胡绵好. EDDS处理对晒胁迫下彩叶草根系FTIR-ATR/SEM-EDXS特征及生理特性的影响[J]. *植物科学学报*, 2014, 32(6): 620-629.
- [32] WU Q, ZHU X F, ZHAO X S, et al. Potassium affects cadmium resistance in *Arabidopsis* through facilitating root cell wall Cd retention in a nitric oxide dependent manner [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2020, 178: 104175.
- [33] 陈镔, 谭淑端, 董方旭, 等. 重金属对植物的毒害及植物对其毒害的解毒机制[J]. *江苏农业科学*, 2019, 47(4): 34-38.

(责任编辑: 吴蕊夷, 惠红)