



Effects of free metal ions and organo-metal complexes on the absorption of lead and cadmium by plants

Mina Lee¹ · Byounghwan Seo² · Kwon-Rae Kim¹

식물에 의한 납, 카드뮴 흡수 기작에 미치는 자유이온 및 유기산-중금속 복합체의 영향

이미나¹ · 서병환² · 김권래¹

Received: 19 April 2021 / Accepted: 25 May 2021 / Published Online: 30 June 2021
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2021

Abstract Heavy metals exist in soils in various chemical forms including free metal ions and organo-metal complexes. The ratio of free metal ions has been known to be highly associated with the plant absorption of heavy metals. This study aims to understand the effect of free ions and organo-metal complexes on the absorption of lead (Pb) and cadmium (Cd) by plants. For this, lettuce grown in a hydroponic system for 28 days was consequently grown another 48 hours using Pb and Cd solutions. The ratios of free ion to organo-metal complexes in the solutions were adjusted at 100:0, 90:10, 70:30, 60:40 by four different organic acids (citric, oxalic, acetic, and humic acid). After that, the concentration of Pb and Cd in lettuce were analyzed. The Pb and Cd absorption by lettuce was more relied on the types of organic acids treated and the type of metals rather than the ratio of free metal ions. For example, citric acid increased the Pb absorption

while it decreased the Cd absorption by lettuce. There was no significant relationship between free metal ion ratios and both Pb and Cd uptake by lettuce. It could be explained that citric acid, a relatively higher molecular weight organic acid, has higher ion binding capacity, so it forms organo-Pb complex easily due to the higher affinity of Pb on the binding site in comparison with Cd. Consequently, this complexation would assist Pb uptake by lettuce.

Keywords Cadmium · Free metal ions · Lead · Organic acids · Organo-metal complexes

서 론

토양 중 중금속은 생태계와 인간의 건강에 부정적인 영향을 미치기 때문에 최근 중요한 연구주제로 다루어 지고 있다. 중금속은 토양에서 다양한 형태로 존재하는데 이 중 식물이 흡수할 수 있는 형태의 중금속을 중금속 유효태라 한다. 중금속 유효태 함량은 토양 pH, 유기물 함량, 점토 함량, 염도 등 다양한 환경 인자들의 영향을 받는다[1,2]. 토양 중 유기산도 중금속 유효도와 밀접한 관련이 있다. 토양 중 유기산은 토양에 유입된 유기물이 분해되는 과정에서 생성되며 매우 안정된 저분자 물질이다[3]. 또한, 유기산은 식물뿌리에서 나오는 분비액의 성분 물질 중 하나이다[4]. 시트르산, 옥살산, 아세트산 등과 같은 저분자유기산이 식물뿌리에서 분비되며, 식물의 중금속 흡수에 많은 영향을 미친다[5-7]. 토양 중 중금속은 대부분 용해되지 않은 형태로 존재하며[8] 이러한 불용성 중금속은 식물 유효도가

Mina Lee and Byounghwan Seo are equally contributed as primary authors.

Kwon-Rae Kim (✉)
E-mail: kimkr419@gnu.ac.kr

¹Department of Smart Agro-Industry, Gyeongsang National University, Jinju 52725, Republic of Korea

²Soil & Fertilizer Management Division, Department of Agricultural Environment, National Institute of Agricultural Science, Rural Development Administration, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

났다[9]. 유기산은 일반적인 토양조건에서 보통 음으로 하전되어 있어 토양 입자에 부착되어 있거나 토양 수분 중에 존재하는 중금속 양이온과 강한 결합 반응을 일으킨다[10]. 토양입자보다 유기산이 중금속과 친밀도(affinity)가 더 높기 때문에 토양에 부착되어 있던 중금속이 떨어져 나와 유기산과 결합하는 것이다[11]. 토양에 흡착된 중금속은 불용성이지만 유기산과 결합한 유기산-중금속 복합체는 용해도가 높아서 중금속 유효도에 변화를 준다[12].

유기산이 중금속 용액에 존재하면 중금속 이온은 대부분 유기산과 킬레이트를 형성한다[13]. 여러 논쟁이 있지만 식물체는 중금속을 흡수할 때 자유이온 형태만을 흡수한다고 알려져 있다[14]. 기존 연구에 따르면, 유기산-중금속 복합체는 크기가 너무 크고 극성이 강하기 때문에 복합체 형태 그대로 뿌리 세포의 원형질 막을 통과하기 어렵다[15]. 그래서 식물의 중금속 흡수에서 중금속의 화학종, 특히 자유이온의 양은 아주 중요한 인자이다[14]. 유기산이 토양 중 중금속에 미치는 영향은 다양하게 연구되어 왔으나 토양 중 유기산이 식물의 중금속 흡수에 미치는 영향은 매우 복잡하며 중금속 종류별, 유기산 종류별, 식물 종류별로 각각 다르게 나타난다[16]. 선행 연구에서 말릭산과 아세트산을 옥수수에 처리했을 때 말릭산 처리구보다 아세트산 처리구에서 옥수수 체내 카드뮴이 더 높게 나타났다[13]. 또한, 시트르산은 *Sedum alfredii*의 카드뮴 흡수, 체내 이동, 내성에 종합적으로 관련이 있었지만 주석산은 뿌리 흡수에만 영향이 있었다[16]. 그러므로 중금속과 토양, 식물 간 상호작용과 각종 기작들을 이해하려면 중금속에 대한 여러 유기산의 영향을 연구할 필요가 있다. 본 연구는 세계적으로 널리 소비되고 있는 상추(*Lactuca sativa* L.)를 이용하여[17], 유기산으로 양액 중 납과 카드뮴의 화학종 비율을 다르게 처리했을 때, 상추 잎과 뿌리의 이들 중금속 농도 변화를 통해 유기산이 납과 카드뮴의 흡수와 이동에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위한 목적으로 수행되었다.

재료 및 방법

처리구 조성

양액을 이용하여 상추를 재배하면서 유기산 처리에 따라 상추에 의한 이들 중금속의 흡수율 변화를 살펴보았다. 이를 위해서 순환식 양액재배 장치에서 Hoagland 배양액을 사용하여 상

추를 28일 동안 키운 후, 0.5 mg kg^{-1} 농도의 납 용액과 카드뮴 용액을 이용하여 중금속 흡수 실험을 하였다. 상추는 온실 안에서 재배하였으며 온실 안 재배 온도는 $20\sim 25^\circ\text{C}$ 였다. 배양액 pH는 $6.5\sim 7.0$ 사이로 조절하였고 1주일에 한번씩 배양액을 교체하였다. 각 중금속 용액에 시트르산(C), 옥살산(O), 아세트산(A)과 휴믹산(H)을 처리하여 납 용액과 카드뮴 용액 중 중금속 자유이온과 유기-중금속 복합체 비율이 100:0, 90:10, 70:30, 40:60이 되도록 조절하였다. 각 처리구에 들어간 유기산의 농도는 목표로 하는 자유이온:유기-중금속 복합체 비율이 되도록 Visual MINTEQ 3 프로그램을 이용하여 계산하였다. 처리구별 유기산 처리량을 Table 1에 나타냈다. 처리구의 이름은 유기산의 이름과 유기산-중금속 복합체의 비율을 결합하여 C0, O10, A30, H60 등으로 명명하였다. 유기산을 처리한 중금속 용액 500 mL를 플라스틱 bottle에 넣어 4주간 키운 상추를 48시간 동안 뿌리가 용액에 잠기도록 침지시켜 중금속을 흡수하도록 하였다. 각 처리구는 12반복으로 실험을 진행하였다.

시료채취 및 분석

48시간 뒤 상추 뿌리와 잎을 분리하여 채취하였다. 채취한 상추의 뿌리와 지상부를 흐르는 물에 한 번, 증류수로 두 번 세척한 후 60°C 건조기에서 3일간 건조시킨 후 막자사발로 갈아 분석용 시료를 준비하였다. 식물체 내 카드뮴과 납을 분석하기 위해서 준비된 시료 0.2 g을 분해용 테프론 용기에 담고 여기에 9 mL 질산과 2 mL 과염소산을 넣어 흑연블럭(OD-98-001, ODLAB, Gwangmyeong-si, Korea)을 이용해 160°C 에서 16시간동안 분해하였다. 분해액을 50 mL volumetric flask에 넣어 표선까지 증류수를 채운 후 $0.45 \mu\text{m}$ 주사기 필터로 걸러주었다. 필터로 거른 분해액 중 납과 카드뮴 이온 농도는 ICP-OES (8300DV, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA)를 이용하여 분석하였다. 분석과정 정도관리를 위해서 표준시료(Spinach leaves, NIST 1570a)를 분석 전 과정에 포함시켜 최종 회수율을 확인하였다.

데이터 분석

유기산 처리 후 카드뮴, 납의 자유이온과 유기산-중금속 복합체의 비율에 따른 상추 체 내 축적 농도의 차이는 12반복구의 평균수치를 구하여 비교하였다. 또한 처리구별 카드뮴과 납이 뿌리에서 지상부로 이동한 정도를 파악하기 위하여 다음 식으로 각 중금속의 이동인자(Translocation factor)를 계산하여 비교하

Table 1 The amount of organic acid treated in each treatment

Ratio %	Citrate acid	Oxalic acid	Acetic acid	Humic acid
Organo-Pb complex 0	0	0	0	0
Organo-Pb complex 10	3	0.3	28	0.4
Organo-Pb complex 30	10	1.2	100	1.3
Organo-Pb complex 60	32	4	340	3.3
Organo-Cd complex 0	0	0	0	0
Organo-Cd complex 10	12	4.5	110	15.5
Organo-Cd complex 30	38	16	450	44
Organo-Cd complex 60	84	50	1800	110

였다. 데이터 유의차 분석은 Minitab 18의 LSD (Least significant difference, $p < 0.05$) ANOVA (One way analysis of variance) 테스트를 이용하여 분석하였다.

$$\text{Heavy metal translocation factor} = \frac{\text{Heavy metal concentration in ground tissues}}{\text{Heavy metal concentration in roots}}$$

결 과

상추 잎과 뿌리에 축적된 납과 카드뮴 농도를 Fig. 1에 나타냈다. 자유이온 비율 변화에 따른 상추 내 납 농도는 일정한 경향을 나타내지 않았다. 자유이온 비율보다는 유기산의 종류가 상추의 납 농도에 더 큰 영향을 미쳤다. 자유이온의 비율이 같을 때 상추 잎에서는 시트르산 > 옥살산 > 휴믹산 > 아세트산 순으로 납 농도가 높았다. 시트르산과 옥살산 처리구에서는 대조구보다 상추 잎의 납 농도가 1.5~3배 높게 나타났으며 아세트산과 휴믹산은 대조구의 20~80% 수준이거나 대조구와 비슷한 수치를 보였다. 상추 뿌리에서는 같은 자유이온 비율에서 시트르산 > 휴믹산 > 옥살산 > 아세트산 순으로 납 농도가 높았다. 시트르산과 옥살산은 뿌리에서도 마찬가지로 대조구보다 2~3배 높은 납 농도를 보여 뿌리에서 증가한 납 흡수가 잎의 납 농도

도 높은 것으로 볼 수 있다. 하지만 아세트산과 휴믹산 처리구는 뿌리의 납 농도가 대조구보다 1.5~3배 높아 잎에서의 결과와 다른 양상을 보였다. Fig. 2는 상추 뿌리에서 잎으로의 납과 카드뮴 translocation factor를 나타내는데 대조구와 비교했을 때 납은 모든 아세트산 처리구와 H10, H30 처리구에서 translocation factor가 유의하게 낮았다. 그러므로 아세트산과 휴믹산은 상추 뿌리의 납 흡수는 증가시켰지만 뿌리에서 잎으로의 납 이동은 감소시킨 것으로 판단된다.

카드뮴을 이용한 실험에서도 배양액 중 카드뮴 자유이온 비율은 상추의 카드뮴 축적과 관련이 없었다. 유기산 처리에 따른 상추의 납 흡수 양상과는 달리 카드뮴을 이용한 실험에서는 모든 유기산 처리구에서 상추 잎에 축적된 카드뮴 농도가 대조구의 10~60% 수준으로 대조구보다 유의하게 낮았다(Fig. 1). 같은 자유이온 비율에서 유기산 종류별 상추의 카드뮴 농도 순서가 일정하지 않았으나 아세트산 처리구에서는 모든 비율에서 상추 잎의 카드뮴 농도가 대조구의 10~20%로 가장 낮았다. 상추 뿌리에서도 유기산 처리구 대부분이 대조구보다 낮은 카드뮴 농도를 보였으나 모든 휴믹산 처리구와 O60에서만 대조구와 유의한 차이가 있었다. 이는 모든 휴믹산 처리구가 상추뿌리에서 대조구보다 유의하게 높은 값을 보인 납 실험과 반대되는 결과이다. 그러므로 유기산 종류 뿐 만이 아니라 중금속 종류도 식물체내 중금속 흡수 및 축적에 중요한 영향을 미친다고 볼 수 있다. 휴믹산과 O60를 제외한 나머지 처리구는 대조구의 70~95

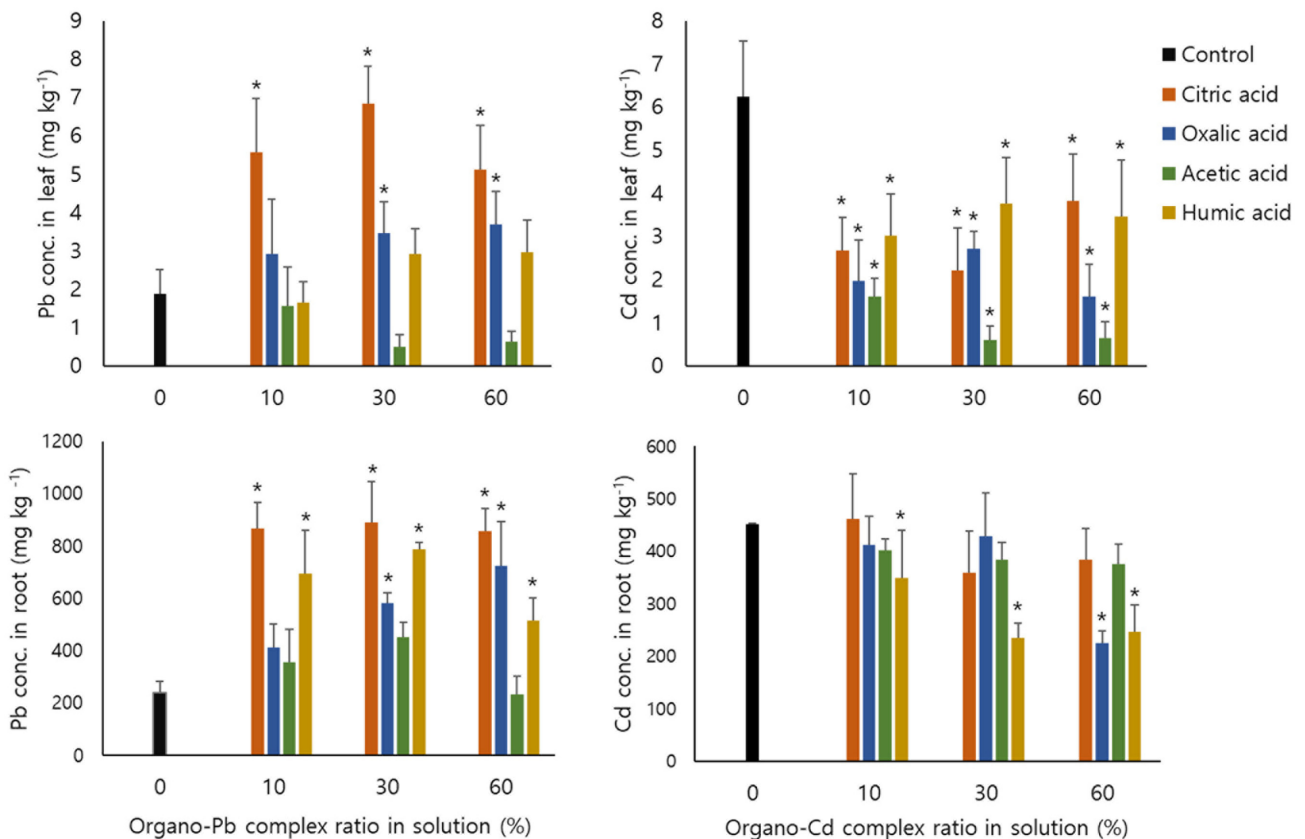


Fig. 1 Heavy metal concentration in lettuce leaf and root at different organo-metal complex ratios in solutions with the application of four different organic acids. A symbol (*) means significant difference compare to the values of control

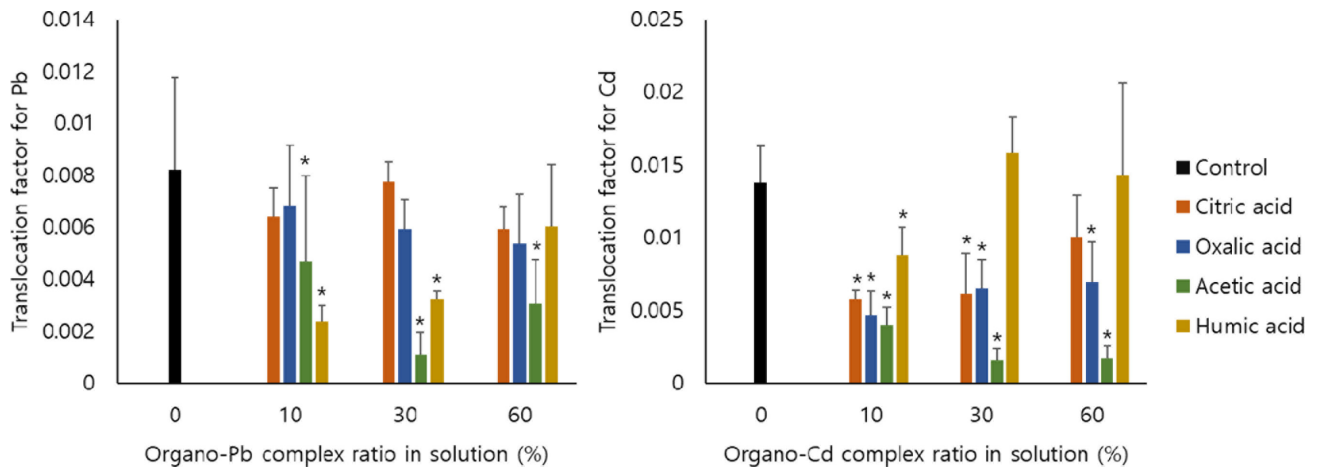


Fig. 2 Translocation factors for Pb and Cd in lettuce at different organo-metal complex ratios in solutions with the application of four different organic acids. A symbol (*) means significant difference compare to the values of control

% 수준으로 상추 잎보다는 대조구와의 차이가 작았다. 카드뮴의 식물체내 이동은 자유이온 비율의 영향을 받은 것으로 보인다. Fig. 2에서 유기산-중금속 복합체의 비율이 낮을수록 대조구보다 translocation factor가 유의하게 낮은 처리구가 많았다. 유기산-중금속 복합체 비율이 10일 때는 모든 유기산 처리구에서 translocation factor가 대조구의 30~40% 수준으로 유의하게 낮았다. 복합체 비율이 30일 때는 휴믹산을 제외한 세 가지 처리구만, 복합체 비율이 60일 때는 휴믹산과 시트르산을 제외한 두 가지 처리구만 대조구보다 유의하게 낮았다. 즉, 자유이온 비율이 높을수록 뿌리에서 잎으로 카드뮴 이동이 더 감소하는 경향을 보인 것이다. 아세트산 처리구는 복합체 비율이 높아질수록 translocation factor 값이 낮아지는 경향을 보여 이 또한 유기산 종류별로 식물체내 중금속 이동에 다른 영향을 미치는 증거로 볼 수 있다. 아세트산 처리구는 납과 카드뮴 실험 모두에서 비율에 관계없이 대조구보다 낮은 translocation factor를 나타내 식물체 내 중금속 이동을 감소시키는 영향이 가장 큰 것으로 나타났다.

고찰

유기산-중금속 복합체는 뿌리 세포의 원형질 막을 통과할 수 없기 때문에 [15] 자유이온 비율이 식물 중금속 흡수에 중요한 것으로 인식되어 왔다 [14]. 하지만 많은 연구에서 유기산을 처리하여 유기산-중금속 복합체가 형성되었을 때 식물체의 납과 카드뮴 흡수가 증가된다고 보고하였다 [5,9,13,14,18,19]. 이는 유기산-중금속 복합체가 뿌리 표면에서 중금속 자유이온으로 분리되어 식물체에 흡수되기 때문이다 [9,13,20]. 유기산-중금속 복합체는 중금속 자유이온보다 전하밀도가 낮기 때문에 토양 중 이동성이 높아 식물 뿌리 근처로 더 많이 이동할 수 있다 [9]. 그러므로 유기산이 토양 입자에 붙은 불용성 형태의 중금속을 용해가능한 유기산-중금속 복합체 형태로 전환한 뒤 식물의 뿌리 근처로 더 쉽게 이동시켜 식물이 중금속을 더 많이 흡수하도록 만들어 주는 역할을 하는 것이다. 또한, 용액 중 유기산-중금속

복합체 비율이 높으면 이 복합체가 버퍼와 같은 역할을 하여 중금속 자유이온의 농도가 희박해질 때 중금속 자유이온을 내놓는 역할을 한다 [13]. 즉, 중금속-유기산 복합체 비율이 높을수록 뿌리 주변에 중금속 자유이온의 공급이 원활해지고 따라서 식물체에 흡수되는 중금속 양도 증가하는 것이다. Wang 등 [9]은 유기산-중금속 복합체의 비율과 식물의 중금속 흡수율과의 관계를 뿌리 주변에 형성되는 unstirred layer를 이용하여 설명하였다. 식물 뿌리는 마이너스 전극을 띄고 있으며 식물 뿌리 주변에는 전극의 평형을 맞추기 위해 양이온이 밀집하면서 unstirred layer가 형성된다. Unstirred layer의 두께가 얇아질수록 양이온은 식물 뿌리에 더 쉽게 흡수되지만 unstirred layer가 일정 수준 이상으로 더 얇아지면 양이온이 끌려오는 힘이 약해지면서 양이온 흡수가 감소한다. 토양에 유기산을 처리했을 때 unstirred layer가 얇아지면서 납 이온의 흡수가 증가하였지만 유기산 농도가 일정수준 이상 높아지자 unstirred layer가 더 얇아지면서 납 흡수가 감소하였다 [9]. 다른 연구에서 카드뮴도 유기산 농도가 증가하는 초반에는 식물 뿌리로의 흡수가 증가하였으나 일정 수준 이상으로 유기산 농도가 높아지자 카드뮴 흡수량이 감소하였다 [13]. 이를 적용하자면 본 연구에서도 각 유기산마다 중금속 흡수율이 최고점에 이르는 유기산-중금속 복합체 비율이 각각 존재했을 것으로 판단된다. 하지만 실험 비율이 0, 10, 30, 60% 네 가지밖에 되지 않아 이를 확인할 수는 없었다.

본 연구에서는 자유이온의 비율보다 유기산 종류에 따라 상추 체내 납과 카드뮴 흡수율이 다르게 나타났다. 일반적으로 아세트산-중금속 복합체는 시트르산이나 옥살산 복합체에 비해 결합 강도가 약하고 불안정한 것으로 알려져 있다 [21]. 유기산-납 복합체의 안정성을 수치화했을 때, 같은 조건에서 시트르산 4.08, 옥살산 4.00, 아세트산 2.15로, 아세트산 복합체가 다른 두 유기산의 절반 수준이었다 [22]. 앞서 유기산-중금속 복합체는 뿌리 부근에서 다시 중금속 자유이온으로 분리된다고 하였는데 이는 결합력이 약하여 안정성이 떨어지는 복합체일수록 식물이 중금속 이온을 더 많이 흡수할 수 있음을 의미한다 [13]. 하지만 본 연구에서는 안정성이 가장 낮은 아세트산 처리구가 다른 처

리구에 비해서 상추의 납, 카드뮴 흡수가 더 낮은 경향을 보였다. 실험에 사용된 네 가지 유기산의 분자량 크기는 시트르산 > 옥살산 > 아세트산이며 휴믹산은 다양한 분자량을 가진 복합적인 물질들로 구성되어 있다. 분자량이 큰 시트르산이 존재할 때 뿌리와 잎에서 중금속의 농도가 평균적으로 더 높았다. 이는 분자량이 클수록 유기산이 중금속을 부착할 수 있는 용량이 더 크기 때문으로 생각된다. 아세트산은 분자량이 작아 중금속을 결합할 수 있는 용량도 가장 작을 것이다. 아세트산의 약한 결합력으로 중금속 자유이온을 쉽게 내놓을 수는 있지만 아세트산에 결합하는 중금속의 양 자체가 작다면 다른 유기산보다 식물체 뿌리 근처로 중금속을 이동시키는 양도 적을 것이다. 유기산의 분자량이 크면 중금속 결합용량은 많지만 복합체의 결합력이 높아 중금속 자유이온을 많이 내놓을 수 없다. 하지만 본 연구의 결과를 보면 중금속 결합력보다는 중금속 결합용량이 식물의 중금속 흡수를 증가시키는데 더 큰 영향을 미치는 것으로 보인다.

유기산 종류는 식물체 내 중금속 이동과도 관계가 있었다(Fig. 2). 식물체 내부의 유기산은 식물의 내성 기작, 뿌리에서 지상부로의 중금속 이동에 깊은 관련이 있는 것으로 알려져 있다 [23]. 식물체 뿌리로 흡수된 중금속은 뿌리 세포 내에서 다양한 형태로 존재한다. 이 중 pectate-와 protein- 등과 같은 형태로 존재하는 중금속은 이동성이 낮고, 유기산과 복합체를 형성한 중금속은 용해도가 높기 때문에 체내 이동성이 매우 높다[24,25]. 즉, 뿌리에서 지상부로의 중금속 이동은 체내에서 중금속이 어떤 물질과 복합체를 이루는지에 따라 달라지는 것이다. 뿌리 밖의 유기산이 뿌리를 통해 얼마나 흡수되는지, 그에 따라 뿌리 내부의 중금속 복합형태에 어떤 영향을 미치는지에 대해서는 알려진 바가 거의 없다. 하지만 본 연구에서 중금속 종류 및 유기산-중금속 복합체 비율과 상관없이 모든 아세트산 처리구에서 translocation factor가 대조구보다 유의하게 낮았다. 이는 뿌리 밖의 유기산 종류에 따라 식물체 내 중금속 이동이 영향을 받는다는 사실을 분명히 보여준다.

초 록

토양 중 중금속은 자유이온, 유기산-중금속 복합체를 포함한 다양한 화학종으로 존재한다. 이 중 중금속 자유이온 비율은 식물체의 중금속 흡수와 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구는 중금속 자유이온과 유기산-중금속 복합체 존재 비율이 식물의 납, 카드뮴 흡수에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위하여 수행되었다. 이를 위해 순환식 양액재배 장치에서 28일간 키운 상추를 48시간 동안 납과 카드뮴 용액에 침지시키는 실험을 진행하였다. 침지 전 시트르산, 옥살산, 아세트산, 휴믹산을 이용해 납과 카드뮴 용액의 중금속 자유이온과 유기산-중금속 복합체의 비율이 100:0, 90:10, 70:30, 60:40이 되도록 조절하였다. 침지 후 상추 뿌리와 잎의 납, 카드뮴 농도를 분석한 결과, 용액 중 중금속 자유이온의 비율과 식물이 흡수한 납, 카드뮴 농도는 상관관계를 보이지 않았다. 반면에 처리한 유기산의 종류와 중금속 종류에 따른 차이가 더 큰 것으로 나타났다. 시트르산은 납 흡수는 증가시켰지만 카드뮴 흡수는 감소시켰다. 시트르산은 다른 유기산보다 상추의 납 흡수율을 높였는

데 이는 시트르산이 분자량이 크기 때문에 중금속 이온과 복합체를 형성할 수 있는 용량이 더 크기 때문인 것으로 보인다. 그러므로 본 연구 결과는 식물에 의한 중금속 흡수가 단순히 자유이온의 양에 따라 달라지기 보다는 존재하는 유기산의 분자량에 의한 결합용량 차이가 중금속 종류에 따라 달리 작용하여 결정된다는 것을 보여준다.

Keywords 납 · 유기산 · 유기산-중금속 복합체 · 중금속 자유이온 · 카드뮴

감사의 글 이 논문은 2020년도 경남과학기술대학교 박사후연수과정 지원 사업의 지원을 받아 연구되었음.

References

- Sungur A, Soylak M, Ozcan H (2014) Investigation of heavy metal mobility and availability by the BCR sequential extraction procedure: Relationship between soil properties and heavy metals availability. *Chem Speciat Bioavailab* 26: 219–230. doi: 10.3184/095422914X14147781158674
- Wang L, Sun X, Li S, Zhang T, Zhang W, Zhai P (2014) Application of organic amendments to a coastal saline soil in north China: Effects on soil physical and chemical properties and tree growth. *PLOS ONE* 9: e89185. doi: 10.1371/journal.pone.0089185
- Stevenson FJ (1994) *Humus chemistry-genesis, composition, reactions*, 2nd ed. Wiley, New York. doi: 10.1371/journal.pone.0089185
- Dalvi AA, Bhalerao SA (2013) Response of plants towards heavy metal toxicity: An overview of avoidance tolerance and uptake mechanism. *Ann Plant Sci* 2: 362–368
- Gul I, Manzoor M, Hashmi I, Bhatti MF, Kallerhoff J, Arshad M (2019) Plant uptake and leachig potential upon application of amendments in soil spiked with heavy metals (Cd and Pb). *J Environ Manage* 249: 1–6
- Meier S, Alvear M, Borie F, Aguilera P, Ginocchio R, Cornejo P (2012) Influence of copper on root exudate patterns in some metallophytes and agricultural plants. *Ecotoxicol Environ Saf* 75: 8–15. doi: 10.1016/j.ecoenv.2011.08.029
- Jia H, Lu H, Dai M, Hong H, Liu J, Yan C (2016) Effect of root exudates on sorption, desorption, and transport of phenanthrene in mangrove sediments. *Mar Pollut Bull* 15: 171–177. doi: 10.1016/j.marpolbul.2016.06.004
- Sauvé S, McBride M, Hendershot W (1998) Soil solution speciation of lead(II): Effects of organic matter and pH. *Soil Sci Soc Am J* 62: 618–621. doi: 10.2136/sssaj1998.03615995006200030010x
- Wang H, Shan X, Liu T, Wie Y, Wen B, Zhang S, Han F, van Genuchten MT (2007) Organic acids enhance the uptake of lead by wheat roots. *Planta* 225: 1483–1494. doi: 10.1007/s00425-006-0433-7
- Clarholm M, Skjyllberg U, Rosling A (2015) Organic acid induced release of nutrients from metal-stabilized soil organic matter-The unbutton model. *Soil Biol Biochem* 84: 168–176. doi: 10.1016/j.soilbio.2015.02.019
- Onyatta JO, Huang PM (2003) Kinetics of cadmium release from selected tropical soils from Kenya by low-molecular-weight organic acids. *Soil Sci* 168: 234–252. doi: 10.1097/01.ss.0000064888.94869.37
- Kim HS, Kim KR, Kim HJ, Yoon JH, Yang JE, Ok YS, Owens G, Kim KH (2015) Effect of biochar on heavy metal immobilization and uptake by lettuce (*Lactuca sativa* L.) in agricultural soil. *Environ Earth Sci* 74: 1249–1259
- Han F, Shan X, Zhang S, Wen B, Owens G (2006) Enhanced cadmium accumulation in maize roots - The impact of organic acids. *Plant Soil* 289: 355–368
- Kim KR, Owens G, Naidu R, Kwon SI, Kim KH (2009) Lead induced

- organic acid exudation and citrate enhanced Pb uptake in hydroponic system. *Korean J Environ Agric* 28: 146–157. doi: 10.5338/KJEA.2009.28.2.146
15. Berne RM, Levy MN (1998) *Physiology*. Mosby, St Louis
 16. Lu L, Tian SK, Yang XE, Peng HY, Li TQ (2013) Improved cadmium uptake and accumulation in the hyperaccumulator *Sedum alfredii*: the impact of citric and tartaric acid. *J Zhejiang Univ Sci B* 14: 106–114. doi: 10.1631/jzus.B1200211
 17. Kim MJ, Moon Y, Tou JC, Mou B, Waterland NL (2016) Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa L.*). *J Food Compos Anal* 49: 19–34. doi: 10.1016/j.jfca.2016.03.004
 18. Park S, Kim KS, Kang D, Yoon H, Sung K (2013) Effects of humic acid on heavy metal uptake by herbaceous plants in soils simultaneously contaminated by petroleum hydrocarbons. *Environ Earth Sci* 68: 2375–2384
 19. Shahid M, Pinelli E, Dumat C (2012) Review of Pb availability and toxicity to plants in relation with metal speciation; role of synthetic and natural organic ligand. *J Hazard Mater* 219–220: 1–12. doi: 10.1016/j.jhazmat.2012.01.060
 20. Nor YM, Cheng HH (1986) Chemical speciation and bioavailability of copper: Uptake and accumulation by eichornia. *Environ Toxicol Chem* 5: 941–947. doi: 10.1002/etc.5620051102
 21. Oustan S, Heidari S, Neyshabouri MR, Reyhanitabar A, Bybordi A (2011) Removal of heavy metals from a contaminated calcareous soil using oxalic and acetic acids as chelating agents. *Ipcbee* 8: 152–155
 22. Kim JO, Lee YW, Chung J (2013) The role of organic acids in the mobilization of heavy metals from soil. *KSCE J Civ Eng* 17: 1596–1602
 23. Mnasri M, Ghabriche R, Fourati E, Zaier H, Sabally K, Barrington S, Lutts S, Abdelly C, Ghnaya T (2015) Cd and Ni transport and accumulation in the halophyte *Sesuvium portulacastrum*: Implication of organic acids in these processes. *Front. Plant Sci* 6: 156. doi: 10.3389/fpls.2015.00156
 24. Wang ST, Dong Q, Wang ZL (2017) Differential effects of citric acid on cadmium uptake and accumulation between tall fescue and Kentucky bluegrass. *Ecotoxicol Environ Saf* 145: 200–206. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.07.034
 25. Wu FB, Dong J, Qiong QQ, Zhang GP (2005) Subcellular distribution and chemical form of Cd and Cd-Zn interaction in different barley genotypes. *Chemosphere* 60: 1437–1446. doi: 10.1016/j.chemosphere.2005.01.071