

生物质炭对长期铅镉复合污染土壤微生物群落丰度及活性的影响

邵佳, 赵远来, 冯琰玉, 潘洋, 于金珠, 秦华, 陈俊辉

引用本文:

邵佳, 赵远来, 冯琰玉, 等. 生物质炭对长期铅镉复合污染土壤微生物群落丰度及活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(1): 66–74.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0478>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

有机质添加对铅污染农田土生态功能稳定性的影响研究

杨惠子, 陈明龙, 周怡然, 李璇, 穆清, 王丽娜, 王贵鑫, 张园

农业环境科学学报. 2017, 36(4): 694–701 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1383>

钝化材料对农田土壤Cd形态及微生物群落的影响

兰玉书, 袁林, 杨刚, 程蓉, 石楷岐, 高本汗

农业环境科学学报. 2020, 39(12): 2743–2751 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0637>

四种生物炭对潮土土壤微生物群落结构的影响

陈义轩, 宋婷婷, 方明, 于志国, 李洁, 赖欣, 张贵龙

农业环境科学学报. 2019, 38(2): 394–404 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0966>

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

周显勇, 刘鸿雁, 刘艳萍, 刘青栋, 涂宇, 顾小凤, 吴龙华

农业环境科学学报. 2019, 38(6): 1248–1255 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0029>

电子垃圾不当处置的重金属和多氯联苯污染及其生态毒理效应

张金莲, 丁疆峰, 林浩忠, 党志, 易筱筠, 卢桂宁

农业环境科学学报. 2017, 36(5): 891–899 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1616>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

邵佳, 赵远来, 冯琰玉, 等. 生物质炭对长期铅镉复合污染土壤微生物群落丰度及活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(1): 66–74.

SHAO J, ZHAO Y L, FENG Y Y, et al. Effects of biochar on microbial community abundance and activity in long-term Pb and Cd contaminated soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(1): 66–74.



开放科学 OSID

生物质炭对长期铅镉复合污染土壤微生物群落丰度及活性的影响

邵佳^{1,2}, 赵远来², 冯琰玉², 潘洋¹, 于金珠², 秦华², 陈俊辉^{2*}

(1. 安徽省交通航务工程有限公司, 合肥 230011; 2. 浙江农林大学环境与资源学院, 杭州 311300)

摘要: 采集3种不同程度(低、中、高)铅(Pb)和镉(Cd)长期复合污染农田土壤进行90 d盆栽试验,研究了2%和4%(炭/土质量比)生物质炭施用对土壤养分、重金属含量、土壤微生物丰度和活性的影响,旨在探明生物质炭对长期重金属污染抑制土壤微生物活性的缓解作用。结果表明:相比低水平铅镉污染土壤,长期中、高水平铅镉污染显著降低了土壤微生物磷脂脂肪酸(PLFA)总量(降幅分别为14%和24%)、革兰氏阴性细菌数量(34%和47%)和真菌数量(56%和57%),提高了细菌胁迫指数(增幅分别为178%和163%)和土壤基础呼吸(51%和73%),且微生物活性受重金属抑制作用随污染程度提高而加剧;相反,生物质炭添加使3种污染土壤可提取态铅和镉的含量分别降低了65%~71%和28%~52%,显著提高了土壤革兰氏阳性(平均14%)和阴性细菌(30%)、真菌数量(32%)、脱氢酶活性(426%)和底物诱导呼吸速率(99%),降低了细菌胁迫指数(20%)。铅镉污染和生物质炭处理均改变了土壤微生物群落结构,且两者具有显著的交互效应。冗余分析表明,土壤铅、镉总量和可提取态含量是影响土壤微生物群落结构变异的主导因素。可提取态铅和镉的含量与微生物丰度呈显著负相关,而土壤pH、有机碳和全氮含量与微生物丰度呈显著正相关。研究表明,生物质炭施用可减轻重金属污染对土壤微生物活性的胁迫作用,促进微生物生长及其潜在的养分周转功能。

关键词: 重金属污染; 磷脂脂肪酸; 生物质炭; 土壤呼吸

中图分类号: X53 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2022)01-0066-09 doi:10.11654/jaes.2021-0478

Effects of biochar on microbial community abundance and activity in long-term Pb and Cd contaminated soils

SHAO Jia^{1,2}, ZHAO Yuanlai², FENG Yanyu², PAN Yang¹, YU Jinzhu², QIN Hua², CHEN Junhui^{2*}

(1. Anhui Traffic Harbor Engineering Co., Ltd., Hefei 230011, China; 2. College of Environmental and Resource Science, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China)

Abstract: A pot experiment was performed to investigate whether biochar amendment could alleviate the inhibiting effect of long-term Pb and Cd contamination on microbial activity. Soil samples were collected from a field that have been subjected to low, moderate, and high levels of contamination, and were amended with biochar at ratios of 0, 2%, and 4% (biochar/soil weight). Changes in soil properties, heavy metal contents, microbial community abundance, and activity were investigated after 90 days. The results showed that, compared with the low-level pollution, long-term moderate- and high-level heavy metal pollution significantly decreased the total microbial biomass (by 14%

收稿日期: 2021-04-22 录用日期: 2021-06-28

作者简介: 邵佳(1971—), 男, 高级工程师, 从事土壤环境生态修复研究。E-mail: sjanjh@126.com

*通信作者: 陈俊辉 E-mail: junhui5@126.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(41977083); 浙江省省属高校基本科研业务费专项资金(2020YQ004); 浙江农林大学学生科研训练项目(2020KX0050)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(41977083); Fundamental Research Funds for the Provincial Universities of Zhejiang(2020YQ004); Students Research Trainings of Zhejiang A&F University(2020KX0050)

and 24%, respectively), gram-negative bacteria (by 34% and 47%), and fungi abundance (by 56% and 57%) as indicated by phospholipid fatty acids (PLFAs) analysis, and enhanced the soil basal respiration (by 51% and 73%) and the stress index of bacteria to pollution (by 178% and 163%). In contrast, biochar addition significantly decreased extractable Pb and Cd contents of the soil, by 65%~71% and 28%~52%, and increased the abundances of gram-positive (by 14% on average) and gram-negative bacteria (by 30%) and fungi (by 32%), as well as the activity of dehydrogenase (by 426%). Biochar addition also decreased the stress of bacteria by 20% in response to pollution but increased the soil substrate-induced respiration (by 99%). Heavy metal pollution, biochar, and their interaction significantly affected the microbial community structure of soil. Redundancy analysis (RDA) indicated that total and extractable Pb and Cd contents of soil were key factors driving community structure shifts. Correlation analysis suggested that the increased microbial PLFAs exhibited significantly negative correlations with the extractable Pb and Cd contents, but positive correlations with soil pH, organic carbon, and total nitrogen. Therefore, biochar amendment can alleviate the inhibiting effect of long-term Pb and Cd contamination on microbial activity and may potentially stimulate soil nutrient cycling.

Keywords: heavy metal pollution; phospholipid fatty acids; biochar; soil respiration

铅(Pb)、镉(Cd)是两种毒性高、隐蔽性强的重金属元素,可在生物体内富集,进而通过食物链等途径危害人体健康。铅镉污染可改变植物细胞膜透性和细胞结构,损害植物生长,造成作物减产和粮食重金属含量超标^[1-2]。据《全国土壤污染状况调查公报》显示,我国土壤环境状况总体不容乐观,总超标率为16.1%,而以重金属为代表的无机污染物超标点位占全部超标点位的82.8%,其中土壤铅、镉点位超标率分别达1.5%和7.0%。可见,我国土壤重金属污染形势较为严峻,因此如何高效修复铅镉污染土壤、提升作物生产力,对保障粮食安全和耕地可持续发展具有重要意义。

生物质炭具有较好的土壤改良作用和较强的重金属固定能力,已被学者们广泛关注。生物质炭通常呈碱性、具有高度孔隙结构且富含芳香类有机物,有利于增加土壤有机碳,改善土壤结构和微生物生境,提高土壤微生物生物量和活性^[3]。巨大的比表面积、丰富的化学官能团和较强的离子交换能力等特性也赋予生物质炭较强的重金属和有机污染物固定能力,从而使其可以降低污染物有效性,消减污染物对生态环境的危害效应^[4]。然而,生物质炭对土壤重金属的修复效果与制备材料、热解温度、添加比例以及土壤性质等密切相关^[5]。目前,生物质炭施用对不同污染程度下土壤重金属迁移性和生物有效性、作物累积重金属特征的影响及其缓解植物重金属胁迫等方面的作用已有广泛报道^[2,5-6]。尽管多数研究表明生物质炭短期内可有效吸附和固定土壤中的重金属^[6],但其是否能有效缓解长期(如数十年)铅镉污染对土壤微生物活性的抑制作用、恢复微生物功能尚缺乏深入研究。

土壤微生物在养分转化、提高作物生产力和重金属修复等方面具有重要作用^[7]。土壤微生物对重金属胁迫响应敏感,常用于指示土壤环境质量的变

化^[8]。研究表明,重金属污染可显著抑制土壤微生物的生长与繁殖,改变群落组成,降低群落多样性^[9]。重金属污染进一步抑制土壤微生物活性,破坏其养分循环和物质分解功能^[10]。ZHU等^[5]总结发现,生物质炭可以促进细菌与重金属之间的电子传递作用,进而促进重金属的转化,降低重金属对土壤微生物的毒性。然而,不同类群微生物对重金属污染和生物质炭添加的响应有所不同。LIANG等^[11]通过98 d的水稻盆栽试验发现,猪粪生物质炭对细菌较真菌、革兰氏阴性菌较阳性菌类群有更好的促进作用,且显著降低了稻米和秸秆中铅、铜和砷的含量。张迪等^[12]的研究表明,生物质炭添加减轻了萝卜和小白菜可食部位对镉、铅的富集,而且未影响土壤微生物群落多样性。因此,阐明生物质炭修复重金属污染过程对微生物组成和活性的影响特征,有助于更好地发挥生物质炭和土壤微生物在协同修复重金属污染土壤方面的生态功能。

为此,本研究采集了3种长期(近50 a)受不同程度铅镉复合污染的农田土壤,通过盆栽试验分析了生物质炭施用对土壤养分含量、铅镉有效性、土壤微生物丰度和活性的影响,旨在探明生物质炭对铅镉污染抑制土壤微生物活性的缓解作用,为生物质炭应用于污染土壤生态修复提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 土壤样品采集与生物质炭制备

土壤样品采自江苏省宜兴市宜丰镇一块稻麦轮作农田,该农田处于20世纪60年代末发展起来的一个金属冶炼和加工产业区的下风向,受到长期不同程度的铅镉复合污染。该区域土壤类型为太湖地区第四纪湖积物发育的典型脱潜型水稻土——乌泥土。根据前期污染区域调研,在田块中选择低污染(LP)、

中污染(MP)和高污染(HP)的3个区域,采集表层0~20 cm土壤,放入无菌塑料袋,带回实验室。土壤样品挑去植物残体,自然风干后过2 mm筛,混匀备用。

以当地丰富的山核桃蒲壳废弃物为原料,将原料置于特制的密闭容器中,在马弗炉中350℃限氧热裂解4 h制备成试验用生物质炭。制得的生物质炭磨细,通过1 mm筛,混合均匀后备用。

供试土壤和生物质炭基本性质如表1所示。

1.2 试验设计

试验设置铅镉污染(P)和生物质炭(C)两个因子,其中铅镉污染设3个水平:低污染(LP)、中污染(MP)和高污染(HP);生物质炭添加处理设3个水平:0(C0)、2%(C1)和4%(C2)(炭/土质量比),共得到9个处理。将生物质炭分别以0、2%和4%(炭/土质量比)的比例分别与上述3种土壤充分混合,装入塑料盆(盆高和内径均为20 cm),每盆装土3 kg,每个处理3次重复。每盆播种20粒大小均匀饱满的黑麦草种子作为指示植物,黑麦草种子萌发一周后,每盆间苗至8株。用去离子水调节土壤湿度至60%田间最大持水量(WHC)。盆栽试验培养时间为90 d,培养期间不添加肥料以免混淆生物质炭对土壤微生物和植物的影响,定期补充去离子水。

1.3 土壤化学性质分析

盆栽结束后收集黑麦草地上部分,60℃烘干称质量。采集土壤样品,过2 mm筛,混匀,分成3份:一份自然风干,用于土壤化学性质测定;一份放在4℃冰箱保存,用于土壤呼吸和酶活性分析;剩余的一份冷冻干燥后保存至-70℃冰箱。土壤pH、有机碳(SOC)、全氮(TN)、碱解氮(AP)含量分析参照鲁如坤^[13]的方法进行。土壤总铅、总镉含量采用HF-HNO₃-HClO₄(10:2.5:2.5, V:V:V)消煮,有效态铅、镉含量采用0.1 mol·L⁻¹ CaCl₂浸提,然后均用电感耦合等离子色谱仪(ICP-OES)测定^[14]。

1.4 土壤微生物磷脂脂肪酸分析

土壤微生物磷脂脂肪酸(PLFA)分析参考吴愉

萍^[15]报道的方法。取4.0 g冷冻干燥后的土壤,用单相提取剂抽提土壤的脂质,采用SPE柱分馏出各类型的脂质,经过对极性脂肪的甲酯化,形成磷脂脂肪酸甲酯。通过气相色谱(Agilent 6890 N,美国)结合MIDI Sherlocks微生物识别软件(Version 4.5, MIDI,美国)将PLFAs进行定量和鉴别。用C_{i-14:0}、C_{i-15:0}、C_{a-15:0}、C_{i-16:0}、C_{i-17:0}和C_{a-17:0}表征革兰氏阳性细菌(G⁺),C_{cy-17:0}、C_{cy-19:0}、C_{16:1 ω9c}、C_{16:1 ω7c}、C_{18:1 ω5c}和C_{18:1 ω7c}表征革兰氏阴性细菌(G⁻),C_{10Me 16:0}、C_{10Me 17:0}和C_{10Me 18:0}表征放线菌,C_{18:1 ω9c}和C_{18:2 ω6,9c}表征真菌^[16-17]。本研究中PLFAs总量为所列PLFA含量之和,F/B表示真菌与细菌的PLFA含量之比,C_{cy-17:0}/C_{16:1 ω7c}表示对细菌的胁迫效应^[17-18]。

1.5 土壤脱氢酶活性、基础呼吸和底物诱导呼吸的测定

土壤脱氢酶采用氯化三苯基四氮唑还原法^[18]测定,结果以每小时每克土壤中生成的三甲基甲臞量(μg·g⁻¹·h⁻¹)表示。土壤基础呼吸测定参照CHEN等^[19]报道的方法:称10 g土壤放入120 mL培养瓶中,调整土壤含水量至60% WHC,25℃恒温好氧培养1 d。培养结束后采集CO₂气体,气体样品采用岛津(Shimadzu, GC-2014, 日本)气相色谱仪测定(FID检测器)。生成的CO₂用μg·g⁻¹·h⁻¹来表示。底物诱导呼吸测定方法参考基础呼吸,开始培养前在每克土壤中加入30 mg葡萄糖(溶解在蒸馏水中),培养6 h后测定CO₂浓度。

1.6 数据处理与统计分析

采用SPSS 18.0软件进行双因素方差分析(Two-way ANOVA)(以重金属污染和生物质炭处理为因子),Duncan法多重比较检验各因素处理间的差异显著性,显著性水平设为0.05。采用CANOCO软件(CANOCO for Windows 4.5),利用土壤微生物PLFA含量数据进行群落结构与环境因子冗余分析(RDA)。采用置换多元方差分析(Permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA)检验铅镉污染(P)

表1 供试土壤和生物质炭基本性质
Table 1 Basic properties of tested soil and biochar

样品 Sample	pH	有机碳 SOC/(g·kg ⁻¹)	全氮 TN/(g·kg ⁻¹)	铅 Pb/(mg·kg ⁻¹)	镉 Cd/(mg·kg ⁻¹)	灰分 Ash/%	比表面积 Specific surface area/(m ² ·g ⁻¹)
低污染土壤(LP)	5.76	24.30	1.85	37	0.53		
中污染土壤(MP)	6.29	24.81	1.77	120	1.57		
高污染土壤(HP)	5.91	19.52	1.97	362	11.17		
生物质炭(C)	10.26	337.10	5.24			11.22	2.58

和生物质炭(C)处理及其交互作用($P \times C$)对微生物群落结构影响的显著性。

2 结果与分析

2.1 土壤重金属含量变化

双因素方差分析结果表明,3种污染土壤中铅、镉总量和 CaCl_2 可提取态含量差异极显著($P < 0.001$);生物质炭添加显著降低了土壤总铅含量,而对总镉含量无影响(图1)。生物质炭极显著($P < 0.001$)降低了可提取态铅和可提取态镉的含量,与C0相比,C1和C2在3种土壤中使可提取态铅平均降低了65%和71%,使可提取态镉平均降低了28%和52%。

2.2 土壤化学性质和黑麦草生物量变化

双因素方差分析结果表明,铅镉污染和生物质炭对SOC有显著影响(表2)。生物质炭添加均显著提高了3种土壤的pH、SOC、TN和C/N($P < 0.001$)。铅镉污染与生物质炭对SOC和C/N具有显著的交互效应,生物质炭施用对高污染土壤中SOC和C/N的提高程度更显著。重金属污染和生物质炭均显著($P < 0.001$)降低了土壤碱解氮含量,但两者无交互效应。高、中浓度铅镉污染显著($P < 0.001$)降低了黑麦草生物量(分别平均降低28%和22%),但两者间无显著差异;生物质炭添加显著($P < 0.001$)提高了黑麦草生物量,

且 $C2 > C1$,铅镉污染与生物质炭两者无显著交互效应。

2.3 土壤微生物 PLFAs 含量变化

双因素方差分析显示,与低污染土壤相比,中、高水平铅镉污染极显著($P = 0.001$)降低了土壤PLFAs总量,降低幅度平均分别为14%和24%(图2)。相反,生物质炭添加极显著($P < 0.001$)提高了PLFAs总量,与C0相比,C1和C2使PLFAs总量平均提高了14.7%和30.8%。长期中、高水平铅镉污染显著降低了土壤微生物PLFAs总量(分别为14%和24%)、 G^- (34%和47%)和真菌数量(56%和57%),而生物质炭添加提高了上述菌群PLFAs含量。长期中、高水平铅镉污染显著提高了细菌胁迫指数(178%和163%)和细菌/真菌比值(101%和82%)。相反,C1和C2两种生物质炭处理显著降低了细菌胁迫指数(14%和27%)和细菌/真菌比值(8%和19%)。

2.4 土壤微生物群落结构变化

双因素置换多元方差分析表明,铅镉污染极显著($P < 0.001$)改变了土壤微生物群落结构(图3),生物质炭处理对土壤微生物群落结构也具有显著($P = 0.026$)影响,但影响程度较铅镉污染小,两者具有显著的交互作用($P = 0.031$)。冗余分析表明,第一、第二轴分别解释了土壤微生物PLFAs含量变异的72.5%和8.8%,

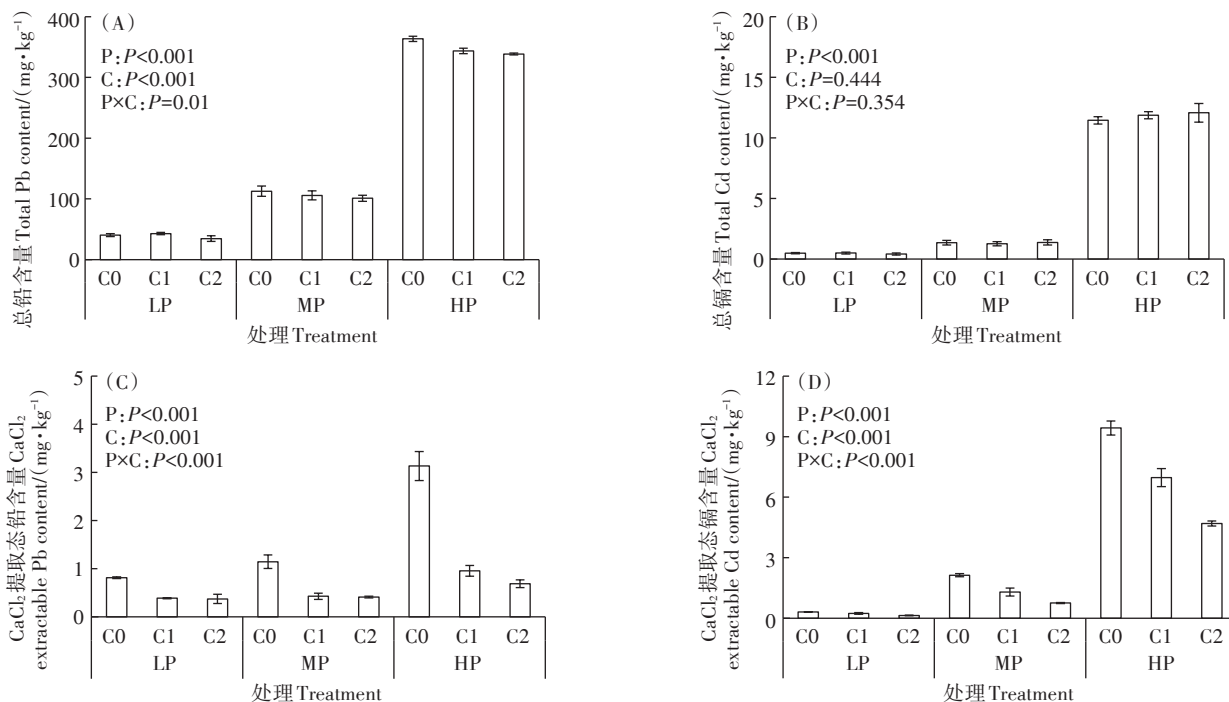


图1 生物质炭添加下3种污染土壤铅镉含量变化及双因素方差分析结果

Figure 1 Changes in Pb and Cd contents in three contaminated soils with biochar addition and results of two-way ANOVA

表2 生物质炭处理下铅镉污染土壤化学性质和黑麦草生物量变化

Table 2 Changes in soil properties and ryegrass biomass under Pb and Cd contamination and biochar treatments

铅镉污染 Pollution	生物质炭 Biochar	pH	有机碳 SOC/(g·kg ⁻¹)	全氮 TN/(g·kg ⁻¹)	碳氮比 C/N	碱解氮 Available N/(mg·kg ⁻¹)	黑麦草生物量 Ryegrass biomass/g
LP	C0	5.59±0.14	26.43±1.85	1.80±0.21	14.69±0.85	149.33±9.00	1.60±0.33
	C1	6.09±0.06	28.81±4.03	2.02±0.03	14.23±1.80	144.20±10.10	2.06±0.24
	C2	6.64±0.35	31.33±0.28	2.28±0.10	13.74±0.48	132.30±6.30	2.34±0.11
MP	C0	6.44±0.17	27.38±2.41	1.89±0.14	14.47±0.47	159.60±7.00	1.11±0.11
	C1	6.75±0.15	31.33±3.37	2.19±0.10	14.28±0.87	139.77±7.29	1.53±0.19
	C2	7.29±0.05	37.60±2.75	2.41±0.06	15.57±0.82	136.73±2.83	1.69±0.09
HP	C0	5.81±0.51	22.38±2.47	1.90±0.06	11.76±1.10	142.57±9.81	1.05±0.11
	C1	6.84±0.04	36.40±2.81	2.02±0.13	18.00±0.35	123.20±2.80	1.43±0.07
	C2	7.21±0.10	39.42±1.71	2.32±0.10	16.99±0.23	114.80±3.50	2.20±0.19
	P*	P<0.001	P=0.012	P=0.081	P=0.016	P<0.001	P<0.001
	C	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001
	P×C	P=0.106	P=0.003	P=0.763	P<0.001	P=0.349	P=0.051

注:a表示以重金属污染(P)和生物质炭(C)为因子的双因素方差分析结果。

Note:a, the results of two-way ANOVA with Pb and Cd contamination and biochar as factors.

两者累积解释度为81.3%。高污染土壤的微生物群落结构在第一轴上与其他两种土壤具有明显差异,且土壤铅、镉总量和CaCl₂提取态含量以及碱解氮含量是影响土壤微生物群落结构变异的主要因素。

2.5 土壤脱氢酶活性、基础呼吸和底物诱导呼吸变化

如图4所示,中、高污染土壤的基础呼吸速率、底物诱导呼吸速率和脱氢酶活性比低污染土壤平均提高了48%、44%和190%。生物质炭添加也显著提高了底物诱导呼吸和脱氢酶活性,但对土壤基础呼吸速率无影响。生物质炭添加与铅镉污染对脱氢酶活性存在显著的互作效应。

2.6 微生物活性与环境因子相关性分析

如表3所示,总铅、总镉、可提取态铅和镉含量与PLFAs总量(总镉除外)和G⁺/G⁻比值呈显著负相关($P<0.05$),而与细菌胁迫指数和细菌/真菌比值呈显著正相关($P<0.05$)。土壤pH、SOC、TN和C/N与底物诱导呼吸和脱氢酶活性呈显著正相关($P<0.01$, C/N与底物诱导呼吸除外)。

3 讨论

3.1 生物质炭对铅镉污染土壤重金属和养分含量的影响

本研究所采集的土壤于20世纪60年代末受到冶金废水污染,历经半个多世纪,土壤中铅、镉含量及有效态含量依然较高,尤其是高污染土壤,其铅镉含量超过农田土壤环境质量标准数倍。本研究测得的3种土壤铅、镉总量及可提取态铅、镉含量与LIU等^[20]

在该地区发现的重金属含量较为一致,因此能较好地表征长期不同铅镉污染程度。可提取态重金属的生物有效性较高,其含量降低对减弱植物对重金属的吸收和积累及保障稻米安全具有重要意义。本研究发现,添加2%和4%质量比例的生物质炭均显著降低了不同污染程度土壤中可提取态镉和铅的含量,表明生物质炭可有效降低铅镉的生物有效性。张迪等^[12]的研究表明,添加2.5%和5%质量比例的水稻秸秆生物质炭可使有效态镉和铅含量大幅度下降,并且促进镉和铅由酸溶态向还原态和残渣态转化。UCHIMIYA等^[21]的研究表明,生物质炭施用显著提高了土壤对可溶态重金属(铜、镉、镍)的固定,特别是提高了对铅的固定。生物质炭降低可提取态镉和铅含量,一方面与其吸附固定能力有关,另一方面与其提高土壤的pH有关。生物质炭表面含有丰富的含氧官能团(如羧基、酚基、羰基、羟基、醌类物质等),具有较大的比表面积和较高的阳离子交换量,可以与重金属形成表面络合物以增加土壤对重金属的专性吸附量,降低重金属迁移率和生物有效性^[22]。提高土壤pH一方面可以促进土壤胶体和黏粒负电荷对重金属离子的吸附能力,另一方面可以促进Cd²⁺、Pb²⁺与溶液中多余的OH⁻形成沉淀,从而降低重金属的有效性^[23]。

本研究发现,尽管3种污染土壤具有相近的土壤肥力状况,但长期铅镉污染显著降低了黑麦草生物量(表2),这可能与高水平铅镉污染提高了对植物的毒害作用,降低了土壤微生物数量和活性及养分周转能力有关。有研究表明,重金属污染可以通过抑制植物

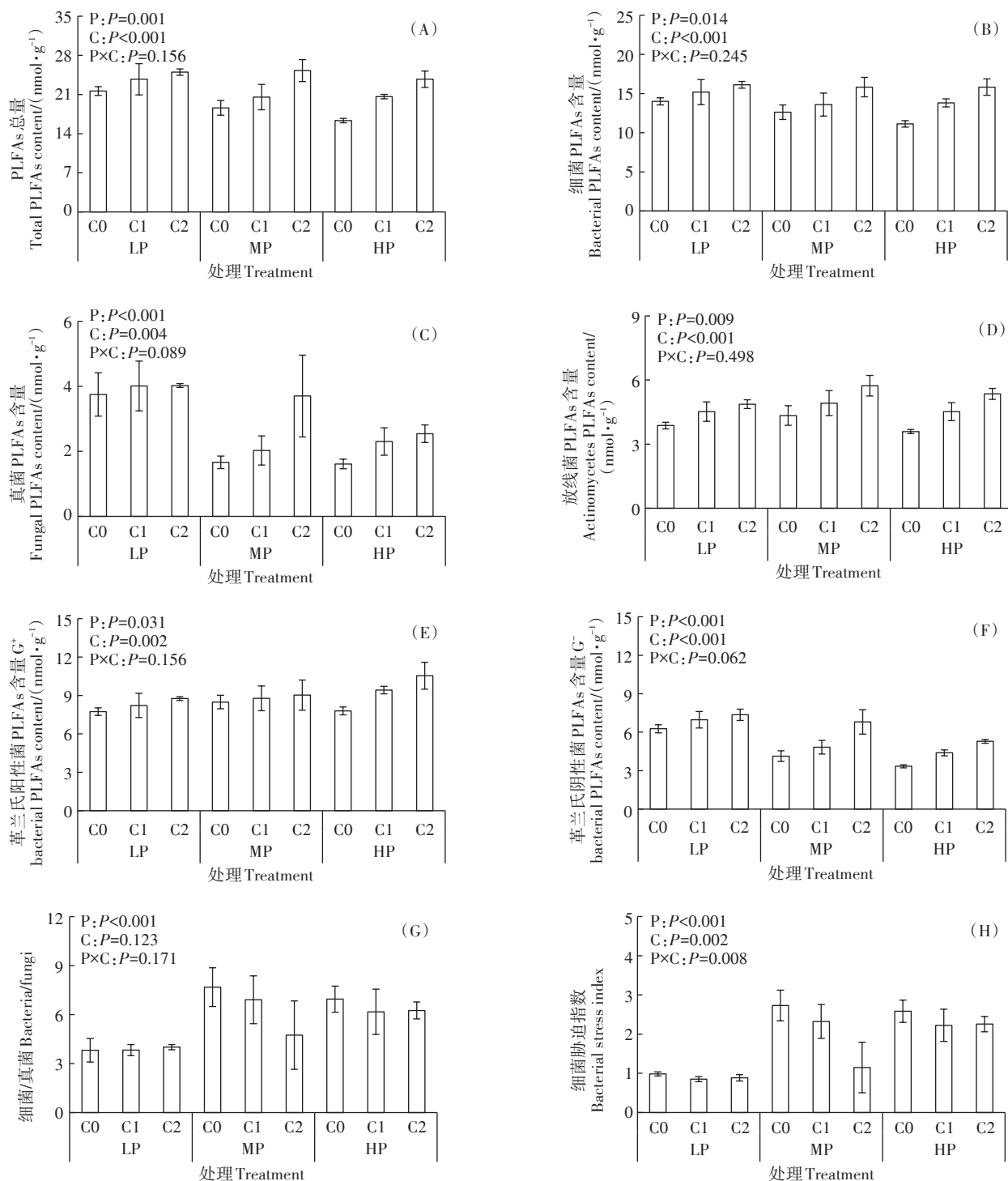


图2 生物质炭添加下3种铅镉污染土壤磷脂脂肪酸含量变化及双因素方差分析结果

Figure 2 Changes in phospholipid fatty acid (PLFA) contents in three Pb and Cd contaminated soils with biochar addition and results of two-way ANOVA

生长从而降低植物凋落物和根系分泌物等有机物输入;另外也可以通过影响土壤微生物的活性和功能反过来降低土壤碳氮转化速率,进而影响土壤有机质和氮素含量^[24-25]。ZHOU等^[26]利用整合分析发现,长期重金属污染使土壤有机碳和全氮降低5%和17.9%,

导致植物生长受到明显抑制。本研究,重金属污染虽然使土壤有机碳有一定程度积累,但显著降低了土壤微生物数量,如PLFAs总量和各个类群的丰度,因此可能影响了土壤微生物的养分周转作用,进而使得黑麦草生长受到抑制。相反,活跃的微生物和土壤酶

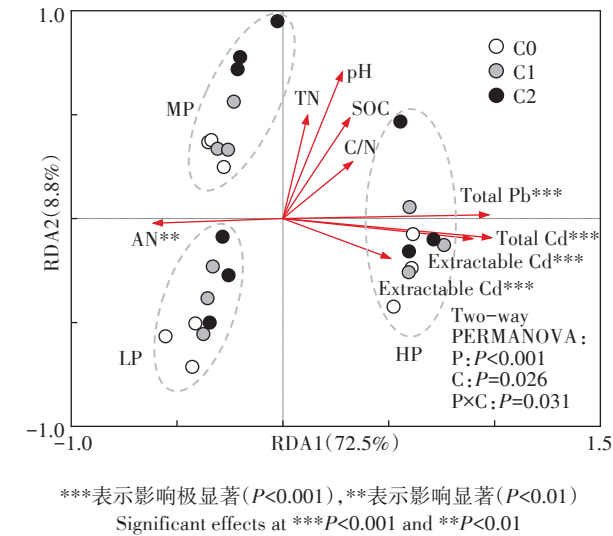


图3 生物质炭添加下3种铅镉污染土壤微生物群落结构冗余分析

Figure 3 Redundancy analysis of soil microbial community under biochar addition in three Pb and Cd polluted soils

活性有助于有机质矿化过程,保持土壤较高的养分周转和供应^[27]。尽管长期铅镉污染对黑麦草生长具有抑制作用,但生物质炭添加显著提高了污染土壤的黑麦草生物量,土壤有机碳、全氮,以及微生物丰度,表明生物质炭可通过改善和提高土壤肥力,降低铅镉有效性,从而降低重金属对植物和微生物的毒害^[2]。

3.2 生物质炭对铅镉污染土壤微生物丰度和活性影响

有文献报道,在重金属污染初期,土壤微生物生物量显著降低;而长期污染条件下这种抑制作用会逐渐减弱,但效果取决于污染物的种类和浓度^[28]。本研究发现,随着铅镉污染程度的升高,土壤微生物PLFAs总量和各个类群的丰度均显著降低,不同污染程度土壤微生物群落结构差异显著,说明长期的重金属污染对土壤微生物生长仍具有明显的抑制作用,并

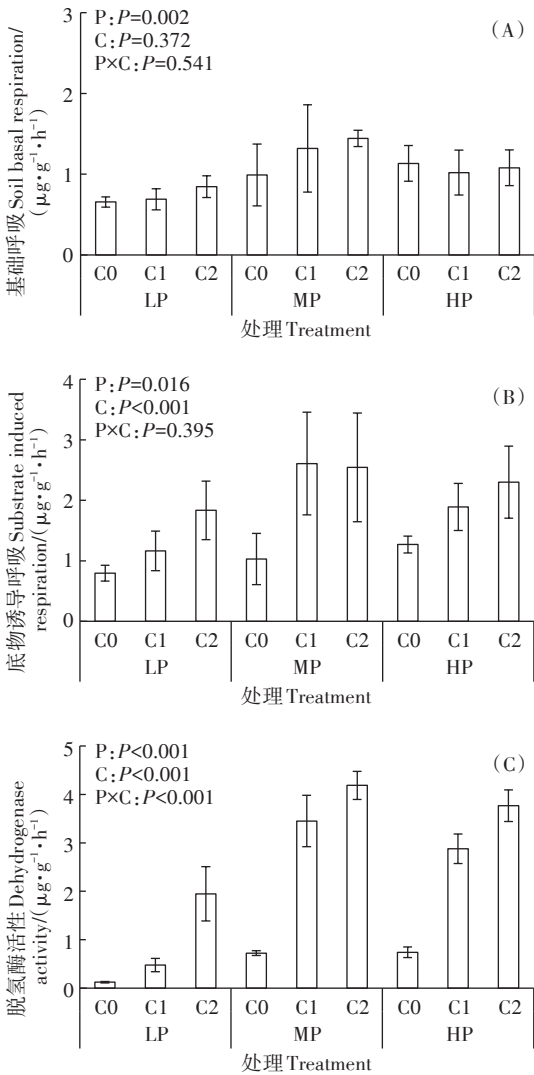


图4 生物质炭添加下3种铅镉污染土壤基础呼吸、底物诱导呼吸和脱氢酶活性及双因素方差分析

Figure 4 Changes in soil basal respiration, substrate-induced respiration and dehydrogenase activity under biochar addition and the results of two-way ANOVA

表3 微生物活性与环境因子相关性分析

项目 Item	pH	有机碳 SOC	全氮 TN	碳氮比 C/N	碱解氮 Available N	总铅 Total Pb	总镉 Total Cd	可提取态铅 Extractable Pb	可提取态镉 Extractable Cd
基础呼吸	0.54**	0.29	0.29	0.16	-0.06	0.24	0.15	0.08	0.19
底物诱导呼吸	0.73**	0.58**	0.65**	0.29	-0.48*	0.15	0.13	-0.32	-0.02
脱氢酶活性	0.89**	0.81**	0.78**	0.49**	-0.63**	0.27	0.25	-0.38	0.03
PLFAs 总量	0.42*	0.55**	0.57**	0.31	-0.29	-0.42*	-0.34	-0.74**	-0.60**
细菌胁迫指数	0.17	-0.05	-0.11	<0.01	-0.06	0.60**	0.51**	0.47*	0.60**
G/G ⁺	-0.15	0.01	0.19	-0.12	0.15	-0.78**	-0.70**	-0.57**	-0.77**
细菌/真菌	0.17	-0.11	-0.11	-0.05	-0.04	0.49**	0.40*	0.41*	0.51**

注:**表示 $P < 0.01$; *表示 $P < 0.05$ 。
Note: Significant correlation at ** $P < 0.01$, $P < 0.05$.

且会进一步改变微生物群落结构。尽管细菌和真菌等的PLFAs含量在重金属污染下均有显著下降,但是细菌/真菌比值却显著提高,表明真菌更易受到铅镉长期污染的影响,其对铅镉的胁迫耐受力较低。此外, G^- 随铅镉污染程度升高而显著下降,表明 G^- 细菌更易受铅镉污染抑制,而 G^+ 细菌反而更加适应了污染胁迫。 $C_{cy17:0}/C_{16:1\omega7c}$ 比值常用来指示细菌遭受环境胁迫的程度,其比值越大表示受环境胁迫越强^[16-17]。本研究中细菌胁迫指数随铅镉污染程度加剧显著提高,进一步表明铅镉污染对细菌类群存在明显的抑制作用。与重金属污染的胁迫作用截然相反,两种水平的生物质炭添加均显著提高了微生物PLFAs总量和各类群丰度,显著降低了细菌胁迫指数和细菌/真菌比值,且这种改善作用在高污染土壤中更加明显(图2)。这些结果说明生物质炭施用可有效减轻长期重金属污染对土壤微生物丰度的抑制作用。生物质炭施用通过改善土壤养分状况和物理性质而提高农田土壤微生物丰度的研究已被广泛报道^[3,29-30],但长期重金属污染胁迫下土壤微生物生物量的恢复和提高,一方面与生物质炭吸附和固定土壤中重金属含量有关,尤其是生物有效态含量降低可直接减轻重金属离子对微生物细胞的毒性^[5]。微生物PLFAs总量与可提取态铅、镉含量呈显著负相关进一步印证了这一解释。另一方面,生物质炭降低重金属对土壤微生物的胁迫作用可能与生物质炭丰富的孔隙结构和较强的土壤养分固持能力有关。生物质炭的多孔隙结构及养分固持作用不仅给微生物提供了各种碳源、能源和矿物养分,而且营造了一个非常适宜的微生境^[31],从而缓解重金属的胁迫作用。

土壤呼吸和脱氢酶活性常用于表征土壤微生物的活性^[32]。ROMERO-FREIRE等^[33]发现,短期的重金属污染可以显著抑制土壤呼吸,而长期重金属污染下土壤呼吸可恢复甚至提高。与短期的重金属污染抑制作用不同,本研究发现,长期重金属污染显著提高了土壤基础呼吸和底物诱导呼吸(图4)。这可能是因为,长期的重金属污染胁迫使得土壤微生物为了保持基本的代谢和繁殖水平,需要额外付出更多的能量以抵抗这种胁迫,从而以更高的呼吸速率反映出来^[28]。脱氢酶是一种胞内酶,其活性与微生物生物量有关^[18]。铅镉污染使脱氢酶活性提高也反映了土壤微生物对长期污染胁迫的适应性。生物质炭添加后土壤脱氢酶和底物诱导呼吸显著提高,说明生物质炭能进一步解除重金属的抑制作用,提高微生物活性。

土壤呼吸与PLFAs的比值可表征单位微生物量的呼吸强度^[17]。本试验结果发现,铅镉污染使单位微生物量的呼吸强度显著增加,而生物质炭施用的结果相反,表明生物质炭施用减轻重金属对土壤微生物活性的抑制作用,使得微生物不需要额外消耗能量去克服重金属胁迫,因此并不会导致生物质炭作用下土壤基础呼吸加速。这一结果与细菌胁迫指数变化结果相印证。

4 结论

尽管长期(近50 a)铅镉污染对土壤微生物数量和活性具有明显的抑制作用,但短期的生物质炭施用显著降低了铅镉生物有效性,改善了微生物生境,显著提高了微生物丰度,从而缓解了铅镉污染对微生物活性的抑制作用。因此,生物质炭不仅可以钝化重金属,而且有利于土壤微生物生态功能发挥,提高土壤生产力,可作为土壤重金属污染修复材料。

参考文献:

- [1] RIZWAN M, MEUNIER J D, MICHE H, et al. Effect of silicon on reducing cadmium toxicity in durum wheat (*Triticum turgidum* L. cv. Claudio W.) grown in a soil with aged contamination[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 209/210:326-334.
- [2] 杨文浩,李佩,周碧青,等.生物炭缓解污染土壤中植物的重金属胁迫研究进展[J].福建农林大学学报(自然科学版),2019,48(6):695-705. YANG W H, LI P, ZHOU B Q, et al. Biochar-mediated alleviation of heavy metal stress in plants growing in contaminated soils: A review[J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University(Natural Science Edition)*, 2019, 48(6):695-705.
- [3] LEHMANN J, RILLIG M C, THIES J, et al. Biochar effects on soil biota: A review[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(9):1812-1836.
- [4] YIN D, WANG X, CHEN C, et al. Varying effect of biochar on Cd, Pb and As mobility in a multi-metal contaminated paddy soil[J]. *Chemosphere*, 2016, 152:196-206.
- [5] ZHU X, CHEN B, ZHU L, et al. Effects and mechanisms of biochar-microbe interactions in soil improvement and pollution remediation: A review[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 227:98-115.
- [6] 李鸿博,钟怡,张昊楠,等.生物炭修复重金属污染农田土壤的机制及应用研究进展[J].农业工程学报,2020,36(13):173-185. LI H B, ZHONG Y, ZHANG H N, et al. Mechanism for the application of biochar in remediation of heavy metal contaminated farmland and its research advances[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2020, 36(13):173-185.
- [7] 林先贵,胡君利.土壤微生物多样性的科学内涵及其生态服务功能[J].土壤学报,2008,45(5):892-900. LIN X G, HU J L. Science connotation and ecological service function of soil microbial diversity

- [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2008, 45(5):892-900.
- [8] 刘沙沙, 付建平, 蔡信德, 等. 重金属污染对土壤微生物生态特征的影响研究进展[J]. *生态环境学报*, 2018, 27(6):1173-1178. LIU S S, FU J P, CAI X D, et al. Effect of heavy metals pollution on ecological characteristics of soil microbes: A review[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2018, 27(6):1173-1178.
- [9] BÅÅTH E, DI'AZ-RAVIN A M, FROSTEGÅRD Å, et al. Effect of metal-rich sludge amendments on the soil microbial community[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(1):238-245.
- [10] 陈欣瑶, 杨惠子, 陈楸健, 等. 重金属胁迫下不同区域土壤的生态功能稳定性与其微生物群落结构的相关性[J]. *环境化学*, 2017, 36(2):356-364. CHEN X Y, YANG H Z, CHEN Q J, et al. Correlation between microbial community structure and soil ecosystem functional stability under heavy metal stress[J]. *Environmental Chemistry*, 2017, 36(2):356-364.
- [11] LIANG X, CHEN L, LIU Z, et al. Composition of microbial community in pig manure biochar-amended soils and the linkage to the heavy metals accumulation in rice at harvest[J]. *Land Degradation & Development*, 2018, 29:2189-2198.
- [12] 张迪, 李婷, 方炫, 等. 钝化剂对土壤镉铅有效性和微生物群落多样性影响[J]. *农业环境科学学报*, 2019, 38(12):2729-2737. ZHANG D, LI T, FANG X, et al. Effects of passivating agents on the availability of Cd and Pb and functional diversity of the microbial community in contaminated soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(12):2729-2737.
- [13] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000. LU R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000.
- [14] YANG X, LU K, MCGROUTHER K, et al. Bioavailability of Cd and Zn in soils treated with biochars derived from tobacco stalk and dead pigs[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2017, 17:751-762.
- [15] 吴愉萍. 基于磷脂脂肪酸(PLFA)分析技术的土壤微生物群落结构多样性的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2009. WU Y P. Studies on soil microbial community structure based on phospholipid fatty acid (PLFA) analysis[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2009.
- [16] ZELLES L. Phospholipid fatty acid profiles in selected members of soil microbial communities[J]. *Chemosphere*, 1997, 35(1/2):275-294.
- [17] MITCHELL P J, SIMPSON A J, SOONG R, et al. Shifts in microbial community and water-extractable organic matter composition with biochar amendment in a temperate forest soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 81:244-254.
- [18] SERRA-WITTLING C, HOUOT S, BARRIUSO E. Soil enzymatic response to addition of municipal solid-waste compost[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1996, 20:226-236.
- [19] CHEN J, HE F, ZHANG X, et al. Heavy metal pollution decreases microbial abundance, diversity and activity within particle-size fractions of a paddy soil[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, 87(1):164-181.
- [20] LIU Y, ZHOU T, CROWLEY D, et al. Decline in topsoil microbial quotient, fungal abundance and c utilization efficiency of rice paddies under heavy metal pollution across south China[J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(6):e38858.
- [21] UCHIMIYA M, CHANG S C, KLASSON K T. Screening biochars for heavy metal retention in soil: Role of oxygen functional groups[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 190(1):432-441.
- [22] ZHANG X, WANG H, HE L, et al. Using biochar for remediation of soils contaminated with heavy metals and organic pollutants[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, 20(12):8472-8483.
- [23] 邹紫今, 周航, 吴玉俊, 等. 羟基磷灰石+沸石对稻田土壤中铅镉有效性及糙米中铅镉累积的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2016, 35(1):45-52. ZOU Z J, ZHOU H, WU Y J, et al. Effects of hydroxyapatite plus zeolite on bioavailability and rice bioaccumulation of Pb and Cd in soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(1):45-52.
- [24] CHENG S P. Effects of heavy metals on plants and resistance mechanisms[J]. *Environmental Science & Pollution Research*, 2013, 10:256-264.
- [25] GILLER K E, WITTER E, MCGRATH S P. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: A review[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1998, 30:1389-1414.
- [26] ZHOU T, LI L, ZHANG X, et al. Changes in organic carbon and nitrogen in soil with metal pollution by Cd, Cu, Pb and Zn: A meta-analysis[J]. *European Journal of Soil Science*, 2016, 67(2):237-246.
- [27] 吴涛, 冯歌林, 曾珍, 等. 生物质炭对盆栽黑麦草生长的影响及机理[J]. *土壤学报*, 2017, 54(2):525-534. WU T, FENG G L, ZENG Z, et al. Effect of biochar addition on ryegrass growth in a pot experiment and its mechanism[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2017, 54(2):525-534.
- [28] GILLER K E, WITTER E, MCGRATH S P. Heavy metals and soil microbes[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(10):2031-2037.
- [29] PALANSOORIYA K N, WONG J T F, HASHIMOTO Y, et al. Response of microbial communities to biochar-amended soils: A critical review[J]. *Biochar*, 2019, 1(1):3-22.
- [30] CHEN J, CHEN D, XU Q, et al. Organic carbon quality, composition of main microbial groups, enzyme activities, and temperature sensitivity of soil respiration of an acid paddy soil treated with biochar[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2019, 55(2):185-197.
- [31] WARNOCK D, LEHMANN J, KUYPER T, et al. Mycorrhizal responses to biochar in soil: Concepts and mechanisms[J]. *Plant and Soil*, 2007, 300(1):9-20.
- [32] INSAM H, HUTCHINSON T C, REBER H H. Effects of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28(4/5):691-694.
- [33] ROMERO-FREIRE A, SIERRA ARAGON M, MARTINEZ GARZON F J, et al. Is soil basal respiration a good indicator of soil pollution[J]. *Geoderma*, 2016, 263:132-139.