

磷矿粉、骨炭和油菜秸秆对重金属复合污染土壤细菌和古菌数量的影响

孙晓铎¹, 黄益宗^{1*}, 肖可青¹, 伍文^{1,2}, 钟敏¹, 徐峰¹, 刘崇敏^{1,2}, 于方明²

(1.中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085; 2.广西师范大学环境与资源学院, 桂林 541004)

摘要:微生物的活动在土壤生态系统中发挥着重要的作用,作为检测土壤质量的敏感指标,其基因拷贝数的变化是响应外界环境的一种方式。通过土壤盆栽试验,结合 Real-time PCR 技术研究不同改良剂添加对重金属复合污染土壤细菌和古菌 16S rRNA 基因拷贝数的影响。结果表明:各处理中土壤细菌 16S rRNA 基因拷贝数在每克干土 $6.02 \times 10^9 \sim 1.82 \times 10^{10}$ 个之间,古菌在每克干土 $7.99 \times 10^6 \sim 2.97 \times 10^7$ 个之间。污染土壤中添加不同改良剂对土壤中古菌和细菌 16S rRNA 基因拷贝数的影响有差异,种植玉米与否也影响这两种微生物在土壤的基因拷贝数。不种植玉米时,与对照相比,添加磷矿粉、骨炭和油菜秸秆处理导致土壤细菌基因拷贝数提高 116.8%~163.2%;磷矿粉和骨炭处理导致土壤古菌基因拷贝数分别提高 171.1%和 224.8%。种植玉米时,添加骨炭和油菜秸秆处理导致土壤细菌的基因拷贝数分别比对照处理提高 104.2%和 92.0%;土壤中古菌的基因拷贝数除了添加骨炭处理显著比对照处理提高 231.3%外,其他处理对土壤古菌基因拷贝数均没有影响。

关键词:土壤;重金属;改良剂;细菌;古菌;定量 PCR

中图分类号:X172 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)03-0565-07 doi:10.11654/jaes.2013.03.023

Effects of Phosphate Rock, Bone Char and Rape Straw on Quantity of Bacteria and Archaea in Soils Combined Polluted by Heavy Metals

SUN Xiao-hua¹, HUANG Yi-zong^{1*}, XIAO Ke-qing¹, WU Wen^{1,2}, ZHONG Min¹, XU Feng¹, LIU Chong-min^{1,2}, YU Fang-ming²

(1. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. Environmental and Resource Institute, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

Abstract: The activity of microorganisms played an important role in soil ecosystem. As one of the sensitive indicators of monitoring the quality of soil, the gene copies numbers of microorganisms were more and more used to diagnose the change of soil environment. Effects of different amendments on the 16S rRNA gene copies numbers of bacteria and archaea in soil combined polluted by heavy metals were studied by using real-time polymerase chain reaction. The results showed that the range of 16S rRNA gene copies numbers of bacteria and archaea were $6.02 \times 10^9 \sim 1.82 \times 10^{10}$ and $7.99 \times 10^6 \sim 2.97 \times 10^7$ copies per gram of dry soil, respectively. Addition of different amendments and planting maize could influence the 16S rRNA gene copies numbers of bacteria and archaea in soil contaminated by heavy metals. For the treatments without maize, addition of phosphate rock, bone char and rape straw led to the increase of gene copies of bacteria in soil by 116.8%~163.2% comparing with the control treatment, and the phosphate treatment and bone char treatment led to the increase of the gene copies of archaea in soil by 171.1% and 224.8% respectively. For the treatments planting maize, addition of bone char and rape straw led to the gene copies of bacteria in soil increase by 104.2% and 92.0% respectively comparing with the control treatment. Except for the gene copies of archaea in soil increase of 231.3% by adding bone char, there was no significant effect on the gene copies of archaea in soil by adding other amendments comparing with the control treatment.

Keywords: soils; heavy metal; amendments; bacteria; archaea; real-time polymerase chain reaction

收稿日期:2013-01-16

基金项目:国家重金属污染治理专项“广西环江县大环江流域土壤重金属污染治理工程项目”;国家水体污染控制与治理科技重大专项(2009ZX07212-001-05)

作者简介:孙晓铎(1989—),女,河南周口人,硕士研究生,主要从事重金属污染修复研究。

*通信作者:黄益宗 E-mail:hyz@rcees.ac.cn

土壤重金属污染问题与人民的生活健康息息相关,随着土壤污染引发的生态环境破坏,人民健康受到威胁等事件的发生,土壤重金属污染问题日趋受到重视,国家对污染土壤治理和修复的人力、物力等方面的投入逐年增加。同时土壤重金属污染问题也成为环境和土壤科学研究者关注的热点问题。根据国内外相关研究报道^[1-3],土壤污染的三大来源主要是工矿企业、农业生产和交通运输。不同来源的重金属进入土壤系统后,针对其不能被微生物所降解,移动性差、滞留时间长等特点,物理、化学和生物修复技术相继被研发,其中化学修复技术是根据土壤和重金属的性质,选择合适的化学修复剂(比如改良剂、沉淀剂等)加入土壤,通过对重金属的吸附、氧化还原、沉淀和萃取等,降低重金属的生物有效性^[4-5]。由于化学修复技术具有投入低、效率高、修复快速和操作简单等特点,得到了人们的广泛关注,尤其是对大面积污染土壤的修复具有较好的应用前景。

微生物作为土壤中最活跃的部分,是土壤分解系统的主要成分。微生物可作为监测土壤质量变化的敏感指标,它们在评价生态系统、维护生态平衡中发挥了巨大的作用^[6]。微生物常常被应用于指示污染物对生态系统个体、群体和系统水平的结构、功能的损伤程度。其中细菌是普遍存在于土壤系统中的一种微生物,在土壤环境中所占的比重非常高,而古菌尽管在生态系统中的分布和数量已被广泛研究,但添加改良剂对重金属污染土壤古菌数量特征的研究还甚少^[7]。有研究发现,低浓度重金属对微生物数量有促进作用,高浓度重金属对微生物活性有抑制作用,并且不同类群的微生物敏感程度不一样。重金属污染对植物生长、土壤微生物群落多样性等方面均产生一定的负面影响^[8-10]。因此定量描述土壤微生物的结构和功能非常有必要。基于此而发展起来的 Real-time PCR 技术^[11]作为核酸定量的检测技术,为人们研究重金属污染土壤微生物群落的数量和丰度等提供了有力的工具。

尽管许多研究^[9,12-15]证明了添加改良剂可以降低污染土壤中重金属的移动性和生物有效性,但是从微生物的角度探讨改良剂添加对重金属复合污染土壤微生物群落多样性影响的研究还未见报道。本文采用 Real-time PCR 技术研究添加磷矿粉、骨炭和油菜秸秆对土壤中细菌和古菌基因拷贝数以及植物生长的影响,为污染土壤修复效果评价提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤及改良剂

供试土壤采自广西矿区复合重金属污染的赤红壤,土壤属于粉砂质壤土,风干、过 2 mm 筛后备用,其基本理化性质见表 1。磷矿粉购自湖南省浏阳市湘发钙镁硅肥厂,骨炭购自山东省滕州化工厂,油菜秸秆采自广西环江县无污染的油菜种植基地,这 3 种改良剂使用前均磨细,过 0.149 mm 筛。土壤和改良剂 pH 值以水土比 2.5:1 法进行处理,采用 DELTA 320 pH 仪测定其 pH 值。重金属含量采用王水和高氯酸混酸法消煮,利用 ICP-OES 测定其含量,Pb、Zn、Cu 和 As 的回收率在 85%~119%之间。有机质含量采用低温外热重铬酸钾氧化-比色法测定^[16]。

1.2 供试玉米

玉米种子购自中国农业科学院作物所,为中糯 301 杂交品种。玉米播种之前,先对其进行催芽,具体步骤是:将种子用 30%过氧化氢浸泡 10 min,然后用蒸馏水冲洗 3 次,将其均匀地撒在湿润的滤纸上,放在 27 ℃恒温培养箱中进行催芽。

1.3 实验设计

设 4 个改良剂添加处理:未添加改良剂(CK);添加 5%磷矿粉(PS);添加 5%骨炭(BC)和添加 5%油菜秸秆(RS)。以上处理分别设置种植玉米和未种玉米,因此共有 8 个实验处理。根据设计分别称取不同改良剂与污染土壤(1 kg·盆⁻¹)充分混匀,然后放入直径为 15 cm、高 20 cm 的实验用盆中。每个处理 4 次重复。每盆施入 1.07 g 尿素、0.62 g 硫酸钾和 0.81 g 磷酸二

表 1 土壤和改良剂的基本理化性质
Table 1 The physi-chemical properties of soil and amendments

处理	pH	有机质/g·kg ⁻¹	土壤质地	Zn/mg·kg ⁻¹	Pb/mg·kg ⁻¹	As/mg·kg ⁻¹	Cu/mg·kg ⁻¹
土壤	3.99	19.81	粉砂质壤土	2 473.3	1 053.0	2 742.9	147.7
磷矿粉	7.99	—	—	51.0	2.74	—	—
骨炭	8.89	—	—	159.0	2.12	—	—
油菜秸秆	8.16	—	—	14.8	0.83	—	—

注:“—”表示未检测出。

氢钾作为基肥供植物生长需要,加水平衡 1 周后,将催过芽的玉米种子播到土中,用称重法每隔 2 d 补充水分,使盆内土壤水分保持田间持水量的 70%。玉米幼苗长到 1 周后进行间苗,每盆保留 1 株苗。试验在温室中进行培养。为使玉米生长条件一致,每隔 4 d 重新摆放 1 次,培养 50 d 后收获玉米。

1.4 样品采集及处理

经过 50 d 的培养后,采集每个处理 0~10 cm 表层土,剔除土中的植物残根等杂物,然后混匀土壤采样,采用四分法将土壤分为两份:其中一份立即置于负 80℃冰箱保存,用于对土壤总 DNA 进行提取和分析;另一份风干后,用来测定土壤的重金属含量和基本理化性质。土壤酸可交换态 Zn、Pb 和 Cu 含量用 0.11 mol·L⁻¹ 醋酸提取,土壤专性吸附态 As 含量用 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢铵提取,然后用 ICP-OES 和 ICP-MS 测定溶液中的 Zn、Pb、Cu 和 As 含量。

1.5 土壤 DNA 提取和测定

土壤样品均采用 FastDNA SPIN Kit(Bio101, Inc., USA)试剂盒来提取其总 DNA 含量,提取步骤按试剂盒说明书进行,用浓度为 1%的琼脂糖凝胶电泳确定 DNA 片段大小,并用 ND-1000 Spectrophotometer (Nanodrop)分析仪测定所提取 DNA 的浓度和纯度。

本实验主要研究土壤中细菌和古菌的 16S rRNA 基因,所用引物由英潍捷基(上海)有限公司合成,引物详情见表 2。所有基因扩增均使用 SYBR(R)Pre-mix Ex TaqTM(TaKaRa, Biotechnology)试剂盒,反应条件和引物浓度见表 2。Real-time PCR 反应在型号为 iQ5(Bio-rad, USA)定量 PCR 仪上运行,以测定土壤中细菌和古菌的基因拷贝数。

1.6 数据处理

实验中定量所得的基因拷贝数经对数转换后进行统计分析,根据所得标准曲线计算样品的基因拷贝数,最后以每克干土的基因拷贝数为单位进行分析。采用 Microsoft Excel 和 SPSS 18.0 对不同处理数据进行单因素方差分析(ANOVA)和 Duncan 检验多重比较 ($P<0.05$),数据以平均值±标准误差表示。绘图采用

Sigma11.0 完成。

2 结果与讨论

2.1 改良剂对土壤 pH 值和玉米生物量的影响

对于未种植玉米的各处理,与对照相比,添加磷矿粉和骨炭处理可显著地提高土壤的 pH 值 ($P<0.05$),它们分别使土壤的 pH 值提高了 1.81 个单位和 0.94 个单位,见表 3。对于种植玉米的各处理,与对照相比,添加骨炭和油菜秸秆处理显著地提高土壤 pH 值,分别提高了 0.93 和 0.20 个单位,见表 3。土壤 pH 的变化显著地影响土壤中重金属的存在形态和土壤对重金属的吸附性。一般土壤 pH 越低,土壤重金属的移动性也就越强,其向植物体内迁移的量就越多,pH 值变化对土壤微生物数量变化有一定的影响,并且土壤重金属形态与土壤微生物活性有一定的相关性^[18-20]。

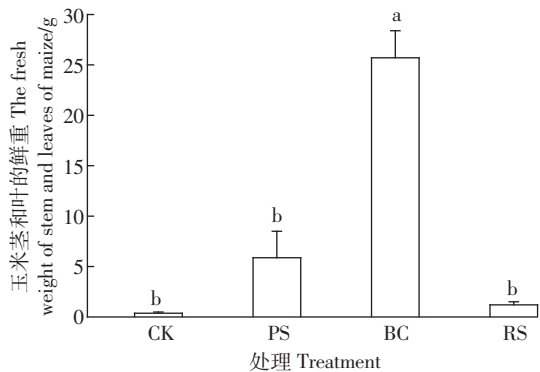
表 3 不同改良剂处理对土壤 pH 的影响		
Table 3 Effect of different amendments on the pH in soil		
处理	种植玉米	未种玉米
CK	3.97±0.09c	3.99±0.10c
PS	4.03±0.06ab	5.80±0.07a
BC	4.90±0.11a	4.93±0.07b
RS	4.17±0.07b	4.11±0.08c

注:平均值±标准误差($n=4$),同列不同字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。

催过芽的玉米种子播入土壤后,各处理均能正常出苗,不过对照处理的玉米幼苗生长受到了抑制,大约过了 1 周后,该处理的玉米幼苗开始枯萎。而添加骨炭和磷矿粉处理的玉米长势较好,尤其添加磷矿粉处理的玉米植株生长最快。但是随着培养时间的推移,骨炭处理的玉米植株在所有处理中长势最好。培养 50 d 收获玉米,3 种土壤改良剂均导致玉米的地上部鲜重比对照处理有不同程度的增加,而添加骨炭处理显著地提高了玉米的地上部鲜重 ($P<0.05$,图 1)。未添加改良剂处理的玉米生长不良,甚至死亡,这可能是由于没有添加改良剂时土壤重金属生物有效性

表 2 普通 PCR 引物、浓度和反应程序
Table 2 Primers and PCR conditions used for the conventional PCR

目标群落	引物	序列(5'-3')	扩增片段	反应程序	参考文献
Target group	Premier	Sequence	Amplicon length(bp)	Thermal profile	Reference
细菌	Ba27f	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	800	94℃预变形 1 min,随后循环 40 次包括 94℃变形 20 s, 59℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,83℃读取荧光强度	[17]
	Ba907r	CCGTCAATTCMTTTRAGTTT			
古菌	Ar109f	ACKGCTCAGTAACACGT	880	94℃预变形 1 min,随后循环 40 次包括 94℃变形 20 s, 59℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,83℃读取荧光强度	[17]
	Ar912rt	GTGCTCCCCGCCAATTCCTTTA			



柱上方不同的小写字母表示不同处理之间存在显著性差异($P<0.05$),下同
The different letters above bars indicate significant differences between treatments at $P<0.05$

图 1 不同改良剂处理对玉米地上部鲜重的影响

Figure 1 Effect of different amendments on the fresh weight of shoot of maize

含量较高^[14,21],在高浓度的重金属复合污染下,植物体内的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)等主要保护酶活性比例失调,导致植物清除活性氧能力降低,造成植物代谢紊乱,加速植物衰老,甚至死亡^[13]。添加骨炭处理玉米生长最好的原因可能与骨炭是含磷物质,它可满足玉米生长发育所需的磷元素及该处理显著性地降低了土壤酸可交换态 Pb、Zn 和 Cu 含量(见表 4)有关^[14]。

2.2 改良剂对土壤酸可交换态重金属的影响

酸可交换态重金属和专性吸附态是重金属在土壤中移动性较强的存在形态,通过降低其含量可以减少重金属在土壤中的移动性,从而降低其向植物体内转移,最终达到减少重金属对植物危害的目的。本研究中未种玉米和种玉米时添加磷矿粉和骨炭处理均可显著地降低土壤中酸可交换态 Zn、Pb 和 Cu 含量(见表 4),与对照相比,其降低的百分比为 7.0%~85.9%。与对照相比,未种玉米时,添加磷矿粉、骨炭和油菜秸秆处理显著性地降低了土壤中酸可交换态

Zn 和 Cu 含量,其降低百分比分别为 14.8%、7.0%、31.1%(Zn 元素含量)和 46.8%、85.9%、58.3%(Cu 元素含量);种玉米时,添加磷矿粉和骨炭处理使土壤中酸可交换态 Zn、Pb 和 Cu 含量分别降低了 30.9%、6.7%(Zn 元素含量),55.1%、64.9%(Pb 元素含量)和 56.2%、83.6%(Cu 元素含量)。但未种植玉米和种植玉米时,各处理均不同程度地提高了土壤中专性吸附态 As 含量,尤其添加磷矿粉处理显著地提高了土壤专性吸附态 As 含量($P<0.05$),这可能是因为磷矿粉的添加导致磷酸根离子与砷酸根离子竞争土壤胶体表面的吸附位点,从而导致砷酸根离子的解吸。

2.3 改良剂对土壤细菌数量的影响

不同改良剂处理中土壤细菌的基因拷贝数在 $6.02\times10^9\sim1.82\times10^{10}$ 个 $\cdot\text{g}^{-1}$ 范围之间。不种植玉米时,与对照相比,添加磷矿粉、骨炭和油菜秸秆处理均显著地提高土壤中的细菌基因拷贝数($P<0.05$),分别提高 163.2%、116.8%和 160.6%,见图 2。种植玉米时,添加骨炭和油菜秸秆处理均显著地提高了土壤中细菌的基因拷贝数,分别比对照处理提高 104%和 91%,而磷矿粉处理对土壤细菌的基因拷贝数影响不显著。

未种植玉米时的磷矿粉、骨炭处理和种植玉米时的骨炭处理均可以提高复合污染土壤细菌基因拷贝数,这与磷矿粉和骨炭可以降低土壤重金属生物有效性有关。本研究中,磷矿粉和骨炭处理均比对照处理显著地降低了土壤中的酸可交换态 Zn、Pb 和 Cu 含量(见表 4),这两个改良剂处理分别导致土壤酸可交换态 Pb 含量降低 64.9%和 65.7%(未种植玉米),55.1%和 64.9%(种植玉米)。进行各指标之间的 Pearson 相关性分析(表 5),发现未种植玉米时,土壤细菌基因拷贝数与酸可交换态 Pb 和 Cu 均呈显著的负相关,而与土壤的专性吸附态 As 呈显著的正相关。种植玉米时,土壤细菌基因拷贝数与 pH 值均呈显著的正相关关系。其他研究者也报道,磷矿粉和骨炭是两种含磷物质,它们可以吸附、固定土壤中的 Pb、Zn、

表 4 不同改良剂对土壤酸可交换态 Zn、Pb 和 Cu 含量以及专性吸附态 As 含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)的影响

Table 4 Effect of different treatments on the concentration of acid extractable Zn, Pb and Cu, and specially-sorbed As in soil

处理	未种玉米				种植玉米			
	Zn	Pb	Cu	As	Zn	Pb	Cu	As
CK	469.1±11.4a	13.1±2.3a	15.6±1.3a	111.8±4.6c	484.7±17.4a	10.7±1.5a	14.6±0.4a	107.2±4.4b
PS	399.9±3.8c	4.6±2.8b	8.3±0.6b	156.8±4.6a	334.9±16.9c	4.8±2.7b	6.4±0.2b	153.8±3.8a
BC	436.4±6.7b	4.5±1.0b	2.2±0.1c	128.6±11.3b	452.4±14.1b	3.8±2.2b	2.4±0.2b	119.0±12.0b
RS	323.0±6.4d	9.0±3.2ab	6.5±0.1b	129.6±6.7b	483.9±7.0a	9.8±2.8ab	8.9±0.9ab	105.1±1.1b

注:平均值±标准误差($n=3$),同列不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

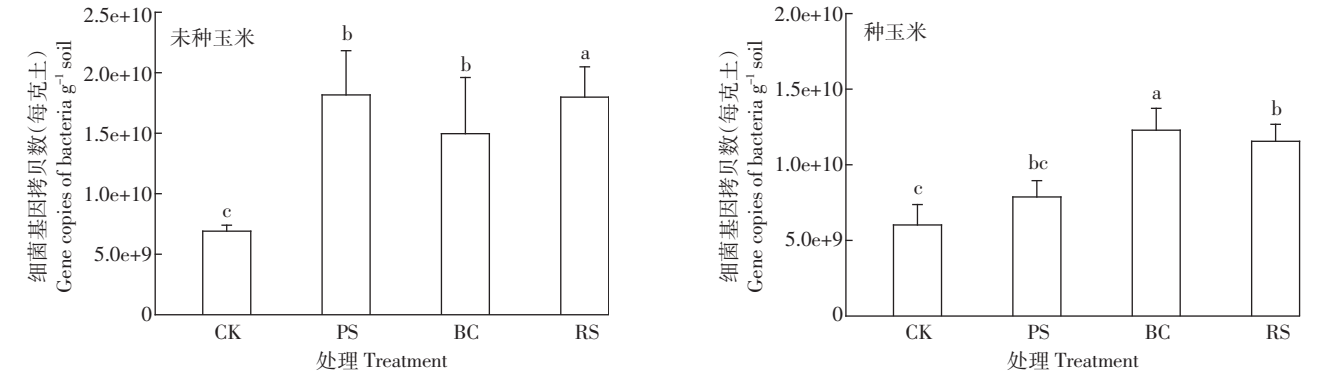


图 2 改良剂对土壤细菌基因拷贝数的影响

Figure 2 Effect of different amendments on quantification of 16S rRNA gene copies of bacteria in soil

表 5 未种玉米时各指标之间的相关性(n=12)

Table 5 Correlation matrix of heavy metals concentrations and the 16S rRNA gene copies numbers of microorganism, and pH at the treatments without maize

	细菌基因拷贝数	古菌基因拷贝数	pH 值	酸可交换态 Zn	酸可交换态 Pb	酸可交换态 Cu	专性吸附态 As
细菌基因拷贝数	1.000						
古菌基因拷贝数	0.247	1.000					
pH 值	0.489	0.760**	1.000				
酸可交换态 Zn	-0.564	0.124	0.227	1.000			
酸可交换态 Pb	-0.607*	-0.671*	-0.719**	0.193	1.000		
酸可交换态 Cu	-0.843*	-0.478	-0.766**	0.392	0.711**	1.000	
专性吸附态 As	0.616*	0.526	0.843**	-0.078	-0.606*	-0.898**	1.000

注:* 表示在 0.05 水平上显著相关,** 表示在 0.01 水平上极显著相关。

Cu 和 Cd,降低其在土壤中的酸可交换态和铁锰氧化物结合态的含量,从而降低其生物可利用性^[22-23]。Robert 等^[24]的研究也发现改良剂可以显著地提高土壤的细菌基因拷贝数,这与我们的研究结果相类似。油菜属于十字花科植物,对硫需要量和吸收量大,因此油菜秸秆含有较多的硫代葡萄糖苷物质,以 2-羟基-3-丁烯基硫苷和苯乙基硫苷为主,而这些硫化合物可与 Cd 等重金属离子产生螯合作用,形成植物络合素(PC)及类金属硫蛋白(MTs)等化合物^[25-26],从而降低重金属离子的毒性,导致油菜秸秆处理提高土壤中的细菌基因拷贝数,而本研究中酸可交换态 Pb 和 Cu 与细菌基因拷贝数呈负相关也证明了这一点。

2.4 改良剂对土壤古菌数量的影响

不同处理中土壤古菌的基因拷贝数在 7.99×10⁶~2.97×10⁷ 个·g⁻¹ 范围之间。不种植玉米时,骨炭处理和磷矿粉处理导致土壤的古菌基因拷贝数分别比对照处理提高 171.1%和 224.8%(图 3),而添加油菜秸秆处理对土壤古菌的基因拷贝数影响不大。种植玉米时,只有添加骨炭处理显著地提高土壤中古菌的基因

拷贝数(P<0.05),比对照处理提高 231.3%,磷矿粉和油菜秸秆处理对土壤中古菌的基因拷贝数影响均不显著。研究结果表明,添加改良剂后各处理中土壤的细菌和古菌基因拷贝数变化规律不一样,这可能是由于细菌和古菌对重金属的敏感程度不同导致土壤微生物结构的变化^[27]。进行各指标之间的 Pearson 相关性分析(表 6),发现未种玉米时,土壤古菌基因拷贝数与 pH 值呈极显著的正相关,与酸可交换态 Pb 呈显著的负相关。种植玉米时,土壤古菌基因拷贝数与酸可交换态 Zn 呈极显著的负相关,而与 pH 值和玉米茎叶鲜重均呈极显著的正相关关系。说明添加改良剂可通过改变土壤的 pH 值、重金属有效性含量来影响土壤古菌的数量。

同一个改良剂添加处理未种植玉米时土壤中的古菌基因拷贝数比种植玉米时有所增加,同时各处理土壤中 pH 值也有所增加,这可能是由于种植玉米时植物根系分泌大量的低分子量酸性有机化合物,植物根系周围土壤被钝化的重金属因酸化等原因可能再次被激活,并对土壤微生物活性产生影响^[28-29]。另外,玉米

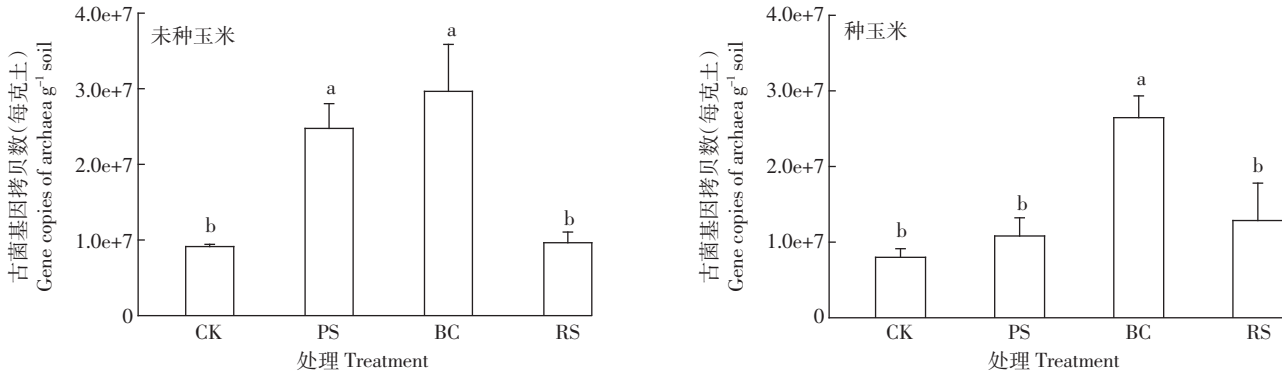


图 3 改良剂对土壤古菌基因拷贝数的影响

Figure 3 Effect of different amendments on quantification of 16S rRNA gene copies of archaea in soil

表 6 种植玉米时各指标之间的相关性(n=12)

Table 6 Correlation matrix of heavy metals concentrations and the 16S rRNA gene copies numbers of microorganism, pH and biomass at the treatments with maize

	细菌基因拷贝数	古菌基因拷贝数	pH 值	酸可交换态 Zn	酸可交换态 Pb	酸可交换态 Cu	专性吸附态 As	茎叶鲜重
细菌基因拷贝数	1.000							
古菌基因拷贝数	0.686*	1.000						
pH 值	0.688*	0.926**	1.000					
酸可交换态 Zn	-0.514	-0.892**	-0.922**	1.000				
酸可交换态 Pb	-0.285	-0.397	-0.425	0.507	1.000			
酸可交换态 Cu	-0.489	-0.555	-0.479	0.570	0.815**	1.000		
专性吸附态 As	-0.177	-0.047	-0.078	-0.164	-0.750**	-0.638*	1.000	
茎叶鲜重	0.545	0.900**	0.952**	-0.988**	-0.543	-0.560	0.140	1.000

注:* 表示在 0.05 水平上显著相关,** 表示在 0.01 水平上极显著相关。

生长高峰期对养分需求强烈,根系活化养分的能力增强,土壤微生物以及土壤酶活性提高,而某些植物根际微生物可以活化土壤的重金属^[30],提高重金属的生物有效态含量,这反过来抑制土壤微生物的生长。

3 小结

添加磷矿粉、骨炭和油菜秸秆等改良剂可不同程度地提高重金属复合污染土壤细菌和古菌的基因拷贝数。这是由于这些改良剂可以固定土壤中的 Zn、Pb 和 Cu,降低其生物有效性。种植玉米与否可影响土壤中古菌和细菌的 16S rRNA 基因拷贝数,种植玉米时,骨炭处理可显著地提高土壤中细菌和古菌的 16S rRNA 基因拷贝数;未种玉米时,磷矿粉、骨炭和油菜秸秆均对土壤细菌和古菌的 16S rRNA 基因拷贝数产生不同的影响。

参考文献:

[1] Nicholson F A, Smith S R, Alloway B J, et al. An inventory of heavy metals inputs to agricultural soils in England and Wales[J]. *Science of the*

Total Environment, 2003, 311(1):205-219.
[2] 骆永明, 滕 应. 我国土壤污染退化状况及防治对策[J]. *土壤*, 2006, 38(5):505-508.
LUO Yong-ming, TENG Ying. Status of soil pollution degradation and countermeasures in China[J]. *Soils*, 2006, 38(5):505-508.
[3] 郭观林, 周启星, 李秀颖. 重金属污染土壤原位化学固定修复研究进展[J]. *应用生态学报*, 2005, 16(10):1990-1996.
GUO Guan-lin, ZHOU Qi-xing, LI Xiu-ying. Advances in research on in situ chemo-immobilization of heavy metals in contaminated soils[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(10):1990-1996.
[4] Vangronsveld J, Van Assche F, Clijsters H. Reclamation of a bare industrial area contaminated by non-ferrous metals; in situ metal immobilization and revegetation[J]. *Environmental Pollution*, 1995, 87:51-59.
[5] Vangronsveld J, Colpaert J V, Van Tichelen K K. Reclamation of a bare industrial area contaminated by non-ferrous metals; Physico-chemical and biological evaluation of the durability of soil treatment and revegetation[J]. *Environmental Pollution*, 1996, 94(2):131-140.
[6] Farrell M, Griffith G W, Hobbs P J, et al. Microbial diversity and activity are increased by compost amendment of metal-contaminated soil [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 71(1):94-105.
[7] 沈菊培, 张丽梅, 贺纪正. 几种农田土壤中古菌、泉古菌和细菌的数量分布特征[J]. *应用生态学报*, 2011, 22(11):2996-3002.
SHEN Ju-pei, ZHANG Li-mei, HE Ji-zheng. Abundance of archaea,

- crenarchaea and bacterial in selected agricultural soils of China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(11):2996-3002.
- [8] Lombi E, Zhao F J, Wisham G, et al. In situ fixation of metals in soils using bauxite residue: Biological effects[J]. *Environmental Pollution*, 2002, 118:445-452.
- [9] Castaldi P, Santona L, Melis P. Heavy metal immobilization by chemical amendments in a polluted soil and influence on white lupin growth[J]. *Chemosphere*, 2005, 60(3):365-371.
- [10] Muhammad A, Xu J, Li Z, et al. Effects of lead and cadmium nitrate on biomass and substrate utilization pattern of soil microbial communities[J]. *Chemosphere*, 2005, 60(4):508-514.
- [11] 张晶, 张惠文, 张成刚. 实时荧光定量PCR及其在微生物生态学中的应用[J]. *生态学报*, 2005, 25(6):1445-1450.
- ZHANG Jing, ZHANG Hui-wen, ZHANG Cheng-gang. Real-time fluorescent quantitative PCR and its application in microbial ecology[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(6):1445-1450.
- [12] 郝晓伟, 黄益宗, 崔岩山, 等. 赤泥和骨炭对酸性土壤As化学形态及其生物可给性的影响[J]. *环境化学*, 2010, 29(3):383-387.
- HAO Xiao-wei, HUANG Yi-zong, CUI Yan-shan, et al. Effect of red mud and bone char addition on fractionation and bio-accessibility of arsenic in contaminated soil[J]. *Environmental Chemistry*, 2010, 29(3):383-387.
- [13] Guo G, Zhou Q, Ma L Q. Availability and assessment of fixing additives for the in situ remediation of heavy metal contaminated soils: A Review[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2006, 116(1):513-528.
- [14] 黄益宗, 胡莹, 刘云霞, 等. 重金属污染土壤添加骨炭对苗期水稻吸收积累重金属的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2006, 25(6):1481-1486.
- HUANG Yi-zong, HU Ying, LIU Yun-xia, et al. Effects of bone char on uptake and accumulation of heavy metals by three rice genotypes (*Oryza sativa* L.)[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(6):1481-1486.
- [15] 高卫国, 黄益宗, 孙晋伟, 等. 赤泥和堆肥对土壤锌形态转化的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2008, 27(3):879-883.
- GAO Wei-guo, HUANG Yi-zong, SUN Jin-wei, et al. Effects of compost and red mud on the transformation of Zn speciation in soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(3):879-883.
- [16] 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 Ru-kun. *Agricultural Chemical Analysis of Soil*[M]. Beijing: Chinese Agricultural Press, 2000.
- [17] Hori T, Noll M, Igarashi Y, et al. Identification of acetate-assimilating microorganisms under methanogenic conditions in anoxic rice field soil by comparative stable isotope probing of RNA[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(1):101-109.
- [18] Kozdroj J, Elsas J D. Structural diversity of microbial communities in arable soils of a heavily industrialised area determined by PCR-DGGE fingerprinting and FAME profiling[J]. *Applied Soil Ecology*, 2001, 17:31-42.
- [19] Suhadolc M, Schroll R, Gattinger A, et al. Effects of modified Pb-, Zn-, and Cd-availability on the microbial communities and on the degradation of isoproturon in a heavy metal contaminated soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(12):1943-1954.
- [20] 余慎, 何振立, 黄昌勇. 重金属胁迫下土壤微生物和微生物过程研究进展[J]. *应用生态学报*, 2003, 14(4):618-622.
- YU Shen, HE Zhen-li, HUANG Chang-yong. Advances in the research of soil microorganisms and their mediated processes under heavy metal stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(4):618-622.
- [21] 郝晓伟, 黄益宗, 崔岩山, 等. 赤泥对污染土壤Pb、Zn化学形态和生物可给性的影响[J]. *环境工程学报*, 2010, 4(6):1431-1435.
- HAO Xiao-wei, HUANG Yi-zong, CUI Yan-shan, et al. Effect of red mud addition on fractionation and bio-accessibility of Pb and Zn in contaminated soil[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2010, 4(6):1431-1435.
- [22] 林爱军, 张旭红, 苏红玉, 等. 骨炭修复重金属污染土壤和降低基因毒性的研究[J]. *环境科学学报*, 2007, 28(2):232-237.
- LIN Ai-jun, ZHANG Xu-hong, SU Hong-yu, et al. Chemical fixation of metals in soil using bone char and assessment of the soil genotoxicity[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2007, 28(2):232-237.
- [23] McGowen S L, Basta N T, Brown G O. Use of diammonium phosphate to reduce heavy metal solubility and transport in smelter-contaminated soil[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2001, 30:493-500.
- [24] Robert M, Chenu C. Interactions between soil minerals and microorganisms[J]. *Soil Biochemistry*, 1992, 7:307-404.
- [25] 王立群, 罗磊, 马义兵, 等. 不同钝化剂和培养时间对Cd污染土壤中可交换态Cd的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(6):1098-1105.
- WANG Li-qun, LUO Lei, MA Yi-bin, et al. Effects of different amendments and incubation times on exchangeable cadmium in contaminated soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(6):1098-1105.
- [26] 李锋, 张春雷, 李光明. 油菜硫苷组分含量及抑菌活性研究[J]. *武汉植物学研究*, 2006, 24(4):351-353.
- LI Feng, ZHANG Chun-lei, LI Guang-ming. Composition and content of Glucosinolates in Rapeseed and in vitro inhibition of Botrytis cinerea Persoon[J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2006, 24(4):351-353.
- [27] Shi K, Wang L, Zhan Y H, et al. Effects of calcium cyanamide on soil microbial communities and fusarium oxysporum f. s. p. cucumerinum[J]. *Chemosphere*, 2009, 75:872-877.
- [28] Dakora F D, Phillips D A. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments[J]. *Plant and Soil*, 2002, 245:35-47.
- [29] Laperche V L, Logan T J, Traina S J, et al. Effect of apatite amendments on plant uptake of lead from contaminated soil[J]. *Environmental Science & Technology*, 1997, 31:2745-2753.
- [30] 姜理英, 杨肖娥, 石伟勇, 等. 植物修复技术中有关土壤重金属活化机制的研究进展[J]. *土壤通报*, 2003, 34(2):154-157.
- JIANG Li-ying, YANG Xiao-e, SHI Wei-yong, et al. Activation of soil heavy metals for phytoremediation[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2003, 34(2):154-157.