

杜志敏, 郭雪白, 王继雯, 等. 石灰与黑麦草对 Cu 污染土壤的修复及对微生物群落的影响[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(3): 515–521.

DU Zhi-min, GUO Xue-bai, WANG Ji-wen, et al. Remediation of Cu contaminated soil and microbial community as affected by combining lime with ryegrass[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2017, 36(3): 515–521.

石灰与黑麦草对 Cu 污染土壤的修复 及对微生物群落的影响

杜志敏^{1,2}, 郭雪白³, 王继雯^{1,2}, 岳丹丹^{1,2}, 周静⁴, 巩涛^{1,2}, 杨文玲^{1,2},
甄静^{1,2}, 慕琦¹, 陈国参^{1,2*}

(1.河南省科学院生物研究所有限责任公司, 郑州 450008; 2.河南省微生物工程重点实验室, 郑州 450008; 3.郑州工商学院, 郑州 450000; 4.中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

摘要:通过盆栽试验研究了 Cu 污染土壤中添加不同剂量石灰(质量分数分别为 0.1%、0.2% 和 0.4%, 编号 SH1、SH2 和 SH3)对黑麦草(*Secale cereale*)生长及 Cu 吸收、土壤 Cu 形态转化、土壤微生物群落变化等的影响, 以此评价石灰对 Cu 污染土壤的修复效果。试验结果表明, 石灰处理后黑麦草生物量及 Cu 吸收量均显著增加, 黑麦草地上部及根系 Cu 含量均显著降低; SH1、SH2 和 SH3 处理与对照相比, 土壤 pH 显著升高, 土壤可交换态 Cu 含量分别显著降低了 58.47%、87.51% 和 74.54%, 而碳酸盐结合态 Cu 含量显著增加, 分别达到对照处理的 1.36、1.93、1.56 倍。Biolog 测试结果表明, 培养 72 h 时, 石灰处理后土壤微生物 AWCD 值、基质丰富度 S、Shannon、Simpson 和 McIntosh 指数均有不同程度增加, 表现为 SH2>SH3>SH1>CK; 石灰处理后土壤微生物群落的碳源利用模式发生明显变化, SH2 处理可利用的碳源种类最多, 碳源利用程度最高。研究表明, 施用质量分数 0.2% 石灰并种植黑麦草对该 Cu 污染土壤具有较好修复效果。

关键词:石灰; 黑麦草; 修复; Cu; 污染; Biolog

中图分类号: X53 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2017)03-0515-07 doi:10.11654/jaes.2016-1297

Remediation of Cu contaminated soil and microbial community as affected by combining lime with ryegrass

DU Zhi-min^{1,2}, GUO Xue-bai³, WANG Ji-wen^{1,2}, YUE Dan-dan^{1,2}, ZHOU Jing⁴, GONG Tao^{1,2}, YANG Wen-ling^{1,2}, ZHEN Jing^{1,2}, MU Qi¹, CHEN Guo-can^{1,2*}

(1. Henan Academy of Sciences Institute of Biology, Zhengzhou 450008, China; 2. Key laboratory of Microbial Engineering of Henan Province, Zhengzhou 450008, China; 3. Zhengzhou Technology and Business University, Zhengzhou 450000, China; 4. Institute of Soil Science, Chinese Academy Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract: A pot experiment was set up to test the remediation effects in a Cu contaminated soil by applying of lime (SH1, SH2 and SH3, dosages of 0.1%, 0.2% and 0.4%, respectively) and ryegrass (*Secale cereale*), according to the determination of growth and Cu accumulation of ryegrass, transformation of Cu speciation in soil, and soil microbial community. The results showed that lime significantly increased

收稿日期: 2016-10-11

作者简介: 杜志敏(1985—), 女, 河南武陟人, 助理研究员, 博士, 主要从事土壤重金属污染修复研究。E-mail: duzhimin324@163.com

* 通信作者: 陈国参 E-mail: swschengc@sina.com

基金项目: 2017 年河南省科学院基本科研业务费专项(铜尾矿耐性菌株的筛选及其对黑麦草生长影响研究); 2016 年河南省科学院基本科研业务费专项(石灰对铜污染土壤微生物群落的影响研究); 2012 年河南省重大科技专项(121100110100); 2014 年河南省转制机构研究发展专项[豫财政(2014)383号]

Project supported: The Fundamental Research Funds for Henan Academy of Sciences Institute in 2017; The Fundamental Research Funds for Henan Academy of Sciences Institute in 2016; Major science and technology projects in Henan Province in 2012 (121100110100); Research and development projects of Henan special transformation of institutions in 2014(383)

biomass and Cu accumulation of ryegrass and soil pH, but decreased Cu concentration of aboveground and root of ryegrass. Compared to control, SH1, SH2 and SH3 decreased exchangeable Cu by 58.47%, 87.51% and 74.54%, while increased carbonate bound Cu to 1.36, 1.93 and 1.56 times than control, respectively. The Biolog analysis at 72 h showed that lime had the ability to increase AWCD (average well color development), *S* (substrate richness), Shannon's, Simpson, and McIntosh diversity index in the descending order of SH2, SH3, SH1 and CK. Lime changed the carbon source utilization patterns of soil microbial communities obviously. SH2 had the highest level of the carbon source utilization. In conclusion, combining lime of dosage of 0.2% with ryegrass could remediate the Cu contaminated soil.

Keywords: lime; ryegrass; remediation; copper; contaminate; Biolog

随着我国城市化、工业化进程加快,以及农药、化肥的不合理施用,土壤重金属污染日益严重,已成为影响我国社会、经济发展的重要环境问题。土壤重金属污染物具有移动性差、滞留时间长、不易被微生物降解等特点,因此治理和修复难度大^[1-2]。2016年5月28日,国务院印发了《土壤污染防治行动计划》,要求加强涉重金属行业污染防控。重金属污染土壤修复方法包括物理修复、化学修复和生物修复,其中生物修复中的植物修复技术以其成本低廉、环境扰动小、二次污染小、不破坏景观、可激发微生物活动等优点而成为研究热点^[3-4]。无法直接实施植物修复的重金属重度污染区,可通过施加外源改良剂,减少重金属对植物的毒害作用^[5],最终建立“改良剂-植物”综合修复体系。

Cu是动植物生长必需的微量元素,同时也是重要的重金属污染物,土壤Cu污染严重影响植物、土壤微生物的生长发育,甚至通过饮用水或食物链危害人类健康。本研究选取冶炼厂周边的Cu污染田块,通过为期一年的盆栽试验,建立“石灰-黑麦草”联合修复体系,进而考察联合修复对黑麦草生长、黑麦草Cu吸收、土壤Cu形态转化以及土壤微生物群落变化等的影响,评估石灰与黑麦草对Cu污染土壤的修复效果。

1 材料与方法

1.1 供试材料

土壤:采集自江西省贵溪市滨江乡一处污染田块(28°12'N, 116°55'E)的表层土壤(0~20 cm)。该区域常年受到某冶炼厂排放的含重金属废水、废渣、废气的污染,且有明显沙化现象,田块已废弃多年。土壤采

集后,自然风干,去除植物碎片、根系、石子等杂物,过筛备用并测定其理化指标。供试土壤基本理化性质如表1所示。

改良剂:石灰,购自郑州建材大市场,pH 12.4,Cu含量 1.09 mg·kg⁻¹,粒径 0.25 mm。

植物:“冬牧70”牌黑麦草(*Secale cereale*),能够耐受并积累Cu、Zn等重金属,购自河南秋乐种业科技股份有限公司。

复合肥:河南“心连心”牌,(N、P₂O₅、K₂O各为15%,总养分45%),购自河南新乡心连心化肥有限公司。

1.2 试验设计

选取石灰为Cu污染土壤改良剂,以黑麦草为修复植物进行盆栽试验研究,试验共设置4个处理,每个处理设置3次重复。不添加改良剂的对照处理记为CK,添加低、中、高剂量石灰(石灰占试验土壤质量百分比分别为0.1%、0.2%和0.4%)的处理分别记为SH1、SH2和SH3。

2015年11月12日开始装盆(塑料花盆直径32 cm,高23 cm),每盆称取风干土4.00±0.01 kg,复合肥2 g,施入相应剂量石灰后充分混匀。隔天浇水至土壤田间持水量的70%并平衡1周。2015年11月20日,每盆数取催芽1 d后的黑麦草种子50粒,均匀种植于土壤表层0.5 cm左右。此后,根据土壤干湿情况适时浇水,每盆浇水量保持一致。2016年4月24日,在黑麦草刚开始抽穗时,采集黑麦草地上部和根系,同时采集根际土壤样品并装入无菌自封袋中。植物样品按照杜志敏等^[6]的方法进行处理,土壤样品一部分去除杂物并过尼龙筛后测定土壤微生物功能多样性,另一部分风干后过筛并测定其pH值及各形态Cu含量。

表1 供试土壤基本理化性质

Table 1 Basic physical-chemical properties of the test soil

有机质/ g·kg ⁻¹	全氮/ g·kg ⁻¹	速效磷/ mg·kg ⁻¹	速效钾/ mg·kg ⁻¹	铜含量/ mg·kg ⁻¹	锌含量/ mg·kg ⁻¹	铅含量/ mg·kg ⁻¹	砷含量/ mg·kg ⁻¹	pH	容重/ g·cm ⁻³	机械组成/%		
										2~0.05 mm	0.05~0.002 mm	<0.002 mm
16.1	0.86	68.1	41.8	907.0	45.0	59.6	32.3	5.7	1.31	62.6	24.6	12.8

1.3 样品分析

土壤样品分析采用鲁如坤^[7]的方法。土壤 pH 值按土水质量比 1:2.5, 酸度计(pH S-2C, 上海康仪公司)测定。黑麦草植株 Cu 含量采用硝酸-高氯酸消煮, 土壤 Cu 化学形态分级及提取采用朱熹婉等^[8]修改后的 Tessier 连续提取法, 原子吸收分光光度计法(WFX110A, 北分瑞利)测定。

1.4 数据处理

采用 Microsoft excel 2010 和 Windows SPSS 19.0 进行数据的统计分析, 采用 CANOCO 4.5 对 Biolog 微平板吸光度进行主成分分析(PCA)。

2 结果与讨论

2.1 石灰对黑麦草生物量及其 Cu 吸收的影响

表 2 显示了施用不同剂量石灰对黑麦草生长及其 Cu 吸收的影响。各处理黑麦草均能出苗, 1 周后对照处理的部分黑麦草嫩苗失绿、发黄、根部腐烂直至死亡, 为典型的 Cu 中毒症状^[9]。2016 年 4 月 24 日, 对照处理黑麦草的地上部和根系生物量均最低, 施入低、中、高剂量石灰后均显著提高了黑麦草生物量。其中 SH2 处理黑麦草地上部和根系生物量增加效果最显著, 分别达到对照处理的 47.3 倍和 32.4 倍。同一处理下黑麦草不同部位 Cu 含量分布规律为根系>地上部。这是由于植物受 Cu 毒害的最初部位是根^[10], Cu 进入植物体后与体内有机组分结合生成稳定的配位化合物, 其中很大部分富集于根部, 不易向地上部运输^[11]。施用低、中、高剂量石灰均显著降低了黑麦草地上部和根系 Cu 浓度, 表明石灰对土壤中 Cu 的钝化效果明显。不同处理间黑麦草地上部或根系 Cu 浓度均表现为 CK>SH1>SH3>SH2, 其中 SH2 处理黑麦草地上部和根系 Cu 浓度与对照处理相比降幅最大, 分别降低了 68.4%和 49.7%。石灰常作为重金属污染土壤改良剂, 具有降低重金属毒性, 减少植物对重金属

吸收的作用^[6,12]。施用低、中、高剂量石灰后, 黑麦草地上部及根系 Cu 吸收量均显著高于对照处理, 大小顺序均表现为 SH2>SH3>SH1>CK, 其中 SH1、SH2 和 SH3 处理间地上部 Cu 吸收量无显著差异, 而 SH1、SH2 和 SH3 根系 Cu 吸收量两两之间均有显著性差异。以对照处理自然修复过程黑麦草地上部分和根系 Cu 吸收量总和为 1, 不同处理与对照处理黑麦草 Cu 吸收量总和的比值即为其吸收量相对值, 添加低、中、高剂量石灰处理的 Cu 吸收量相对值分别为对照处理的 18.2、37.6、30.9 倍。

2.2 石灰对土壤 pH 值及 Cu 化学形态的影响

石灰等改良剂对土壤重金属化学形态的影响除吸附解吸、氧化还原等作用外, 改变土壤 pH 值是其重要的机制。土壤 pH 值增加, 一方面降低了土壤溶液中氢离子的浓度, 氢离子与重金属离子的竞争能力减弱, 土壤中碳酸盐、有机质、铁锰氧化物等与重金属离子的结合更加牢固, 土壤中生物有效性低的碳酸盐结合态、有机结合态和铁锰氧化物结合态等重金属含量增加; 另一方面, 增加了土壤胶体表面的可变负电荷, 促进土壤胶体对带正电荷的重金属离子的吸附, 并降低吸附态重金属的解析量^[13-14]。施用石灰后 Cu 污染土壤 pH 值的变化情况如图 1 所示。对照处理土壤 pH 值较低, 施用石灰后土壤 pH 值显著增加, 且增幅随添加剂量增加而增大, 其中 SH2、SH3 处理土壤 pH 值较对照分别增加了 0.9、1.1 个单位。Tessier 逐级提取法^[15]将土壤重金属划分为可交换(EX)态、碳酸盐结合(CAB)态、铁锰氧化物结合(OxiB)态、有机结合(OrgB)态和残渣(ResB)态, 土壤中重金属形态分布与其毒性及生物有效性密切相关^[16]。由图 2 可知, 对照处理土壤 EX 态 Cu 含量占总量 20.2%, 显著高于其他处理, 结合对照处理黑麦草生物量最低, 进一步验证 EX 态 Cu 的生物有效性高, 对植物的毒害性大。施用石灰显著降低了土壤 EX 态 Cu 含量, 并显著增

表 2 石灰对黑麦草生长及其 Cu 含量的影响

Table 2 Effect of lime on growth and concentrations of Cu of ryegrass

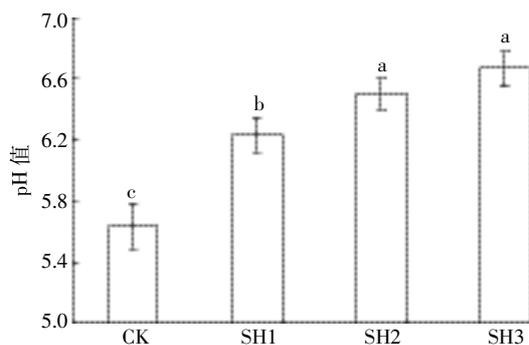
处理	生物量/g·m ⁻²		Cu 浓度/mg·kg ⁻¹		Cu 吸收量/mg·m ⁻²		吸收量相对值
	地上部	根系	地上部	根系	地上部	根系	
CK	1.2±0.7d	5.5±1.8d	413.2±23.3a	3 018.3±89.1a	0.5±0.4b	16.6±6.8d	1
SH1	37.1±1.1c	120.5±16.1c	384.7±23b	2 480.8±138.9b	14.3±1.1a	297.5±27c	18.2
SH2	110.3±4.8a	405.2±24.5a	162.4±10.5d	1 545.3±56.9d	17.9±1.7a	625.4±24.7a	37.6
SH3	65.9±12.4b	244.0±52.6b	219.3±20.8c	2 116.1±203.9c	14.6±4.1a	514.2±101.7b	30.9

注: 数据表示平均值±标准差(n=3)。同一列中字母相同表示处理间无显著差异, 字母不同表示有显著性差异(P<0.05)。下同。

Note: Data in Mean±SD(n=3). Different letters in a row indicate significant differences(P<0.05). The same below.

加了土壤 CAB 态 Cu 含量,即石灰促进 Cu 由生物有效性高的形态向低的形态转化。与对照处理相比,SH1、SH2、SH3 处理土壤 EX 态 Cu 含量分别降低了 58.5%、87.7%和 74.8%,而 CAB 态 Cu 含量分别增加了 36.3%、93.4%和 56.1%。与对照处理相比,SH2 和 SH3 处理显著增加了土壤 OxiB 态 Cu 含量,并降低了 ResB 态 Cu 含量。

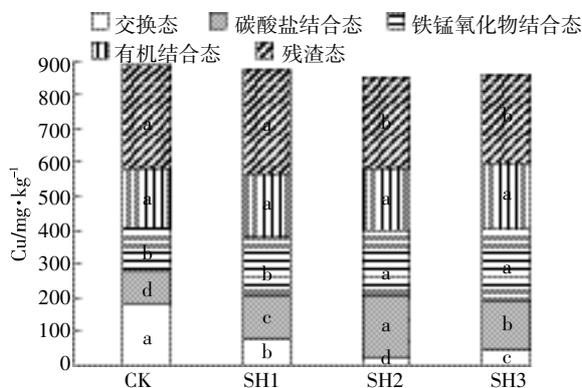
土壤 EX 态 Cu 含量与黑麦草生物量及 Cu 吸收相关性分析结果表明,土壤 EX 态 Cu 含量与黑麦草地上部、根系 Cu 浓度均达到极显著正相关关系,相关系数分别为 0.833、0.919($n=12, P<0.01$);土壤 EX 态 Cu 含量与黑麦草地上部、根系生物量均达到极显著负相关关系,相关系数分别为 0.904、0.890($n=12, P<0.01$)。这进一步验证了土壤 EX 态 Cu 含量的生物有效性高,极易被植物吸收,其对植物毒害作用很大,严重影响植物生长发育^[17-18]。



$n=3$, 不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$)
 $n=3$, different letters indicate significant differences between treatments($P<0.05$)

图 1 石灰对土壤 pH 值的影响

Figure 1 Effect of lime on soil pH



$n=3$, 不同处理同系列间不同字母表示差异显著($P<0.05$)
 $n=3$, different letters under the same forms indicate significant differences between treatments($P<0.05$)

图 2 石灰对铜污染土壤铜各形态含量的影响

Figure 2 Effects of lime on the concentrations of Cu forms in soil

2.3 石灰对污染土壤微生物功能多样性的影响

Biolog 法是研究微生物功能多样性的有效方法^[19],已被应用于土壤重金属污染监测与修复等环境微生物生态学研究^[20-23]。不同处理土壤微生物在 168 h 培养时间内的 AWCD 值(每孔平均吸光度变化)如图 3 所示。在培养初期的 24 h 里,土壤微生物 AWCD 值增加不明显,且不同处理间没有显著差异,随着培养时间延长,4 种处理 AWCD 值有不同程度增加,120 h 之后增幅逐渐减缓,并于 144 h 附近趋于稳定。在 48~168 h 的培养时间里,不同处理 AWCD 值大小均表现为 SH2>SH3>SH1>CK,且两两处理间均达到显著差异水平。

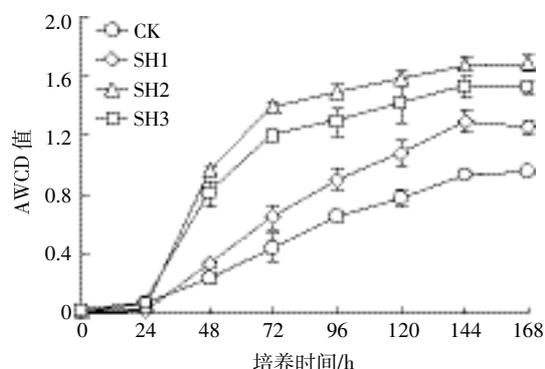


图 3 石灰对土壤微生物每孔平均吸光度变化(AWCD 值)的影响
Figure 3 Effect of lime on average well color development(AWCD)

BIOLOG ECO 板在培养 72 h 时数据主要表现为细菌的增长,且增长速度通常最高^[24-25],故本研究选取 72 h 时的 BIOLOG 测试数据进行微生物群落功能多样性指数计算(表 3)及主成分分析(图 4)。土壤微生物多样性指数种类很多,但不同指数反映了群落组成的不同方面。Shannon 指数是评估微生物群落丰富度和均匀度的综合指标,种类数目越多,种类间个体分配均匀性越大,则多样性越高;Simpson 指数用于评估群落内最常见种的优势度;McIntosh 指数则用于衡量群落中物种的均一性^[26-27]。本研究选用 Shannon、Simpson 和 McIntosh 指数来对试验设计中土壤微生物群落进行评价。

表 3 石灰对土壤微生物功能多样性指数的影响(72 h)

Table 3 Effects of lime on soil microbial diversity indices(72 h)

处理	S 丰富度	Shannon 指数	Simpson 指数	McIntosh 指数
CK	25.67±3.61b	2.55±0.07c	37.5±8.44b	4.33±0.76c
SH1	28.33±2.08ab	2.86±0.07b	43.57±2.26ab	5.27±0.49b
SH2	30.33±0.58a	3.23±0.06a	53.31±1.13a	8.94±0.09a
SH3	29.33±1.15ab	3.16±0.11a	49.98±5.64a	8.61±0.49a

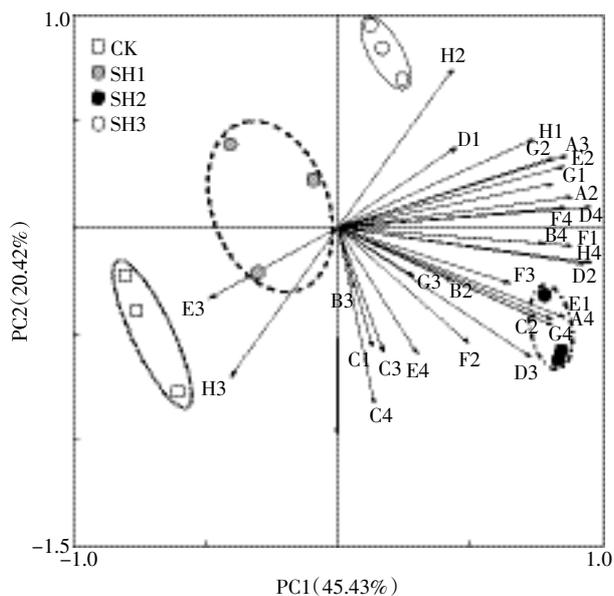


图4 不同处理土壤微生物培养72h的主成分分析
Figure 4 Principal components analysis of biological data of different treatments (72 h)

由表3可知,SH1、SH2、SH3处理的基质丰富度指数S与对照相比分别增加了2.66、4.66、3.66个单位,其中SH2与对照达到了显著差异水平,表明石灰不同程度地增加了土壤微生物可利用碳源的种类。石灰不同程度地增大了土壤微生物Shannon、Simpson和McIntosh指数,整体表现为SH2>SH3>SH1>CK。与对照处理相比,SH1、SH2、SH3处理的Shannon指数分别提高了0.31、0.68、0.61,且均达到显著差异水平;SH2、SH3处理的Simpson指数分别提高了15.81、12.48,且均达到显著差异水平;SH1、SH2、SH3处理的McIntosh指数分别提高了0.94、4.61、4.28,且均达到显著差异水平。

土壤微生物是土壤系统中活性最高的组分之一,对环境变化极为敏感。表4是土壤微生物功能多样性指数(72h)与黑麦草生物量、土壤Cu形态的相关性系数,结果表明土壤微生物AWCD值、基质丰富度指数S、Shannon、Simpson和McIntosh多样性指数与黑麦草地上部及根系生物量均呈极显著正相关关系,与土壤EX态Cu含量均呈极显著负相关关系。石灰处理后土壤微生物多样性的增加,一方面归因于黑麦草生物量的增加,植物残体进入土壤后可作为营养物质促进微生物生长繁殖,此外植物根系还可分泌细胞脱落物和裂解物、高分子量的凝胶状物、低分子量的有机化合物等根系分泌物,这些均可促进土壤微生物生长繁殖^[28-29];另一方面则由于石灰降低了土壤Cu生

表4 土壤微生物功能多样性与黑麦草生物量、土壤EX态Cu含量的相关系数

Table 4 Correlation coefficients of soil microbial community diversity indices and biomass of ryegrass and exchangeable Cu in soil

相关系数	地上部生物量	根系生物量	EX态Cu
AWCD值	0.949**	0.949**	-0.874**
丰富度指数S	0.731*	0.745*	-0.770*
Shannon指数	0.933**	0.923**	-0.937**
Simpson指数	0.827**	0.816**	-0.769*
McIntosh指数	0.902**	0.908**	-0.851**

注:n=12,*表示P<0.05水平显著相关,**表示P<0.01水平极显著相关。

Note:n=12,* and ** indicate significant correlation in P<0.05 and P<0.01 level, respectively.

物有效性,减少了重金属Cu对微生物生长的毒害作用。这与前人^[21,30]的研究结果一致。

2.4 土壤微生物碳源利用主成分分析

BIOLOG数据分析中的AWCD值、群落功能多样性指标等主要在“量”的角度对碳源利用模式进行解读,要从“质”的角度对数据进行深入分析解读,常用主成分分析(PCA)方法^[31]。BIOLOG数据主成分分析所提取出的主成分是原始变量的线性组合,能够代表大部分原始数据的信息。主成分分析可将大量的复杂数据通过二维或三维的图标表现出来,相似的样点分布位置相近,能够直观地体现微生物群落的差异。将土壤微生物碳源代谢72h的BIOLOG数据进行主成分分析,分析提取的前4个主成分因子的贡献率及累积贡献率如表5所示。变换后前4个主成分可以解释82%以上原变量的特征。取第一主成分(PC1,可解释变量总方差的45.43%)和第二主成分(PC2,可解释变量总方差的20.42%)作主成分分析图,以表征微生物的代谢特征(图4)。

在主成分分析图中,不同样点之间的距离代表样点在碳源利用方面的相似性^[32]。如图4所示,本试验4种处理样点均能不同程度地聚类,表明同一处理的重复样点之间的重现性较好,碳源利用模式相似;此外,

表5 前4个主成分因子的贡献率与累积贡献率

Table 5 Contribution rates and accumulative contribution rates of the first 4 principal components

主成分	贡献率/%	累积贡献率/%
PC1	45.43	45.43
PC2	20.42	65.85
PC3	9.26	75.11
PC4	7.49	82.60

CK 和 SH1 处理的样点投影点较分散,而 SH2 和 SH3 处理样点相对比较集中,反映出中、高剂量石灰处理对重金属 Cu 毒性的降低效果好,微生物群落结构也呈现出稳态发展。主成分分析图中不同处理的投影点之间有明显差异,除 SH1 分布在第二、第三象限外,其余 CK、SH2、SH3 处理分别处于第三、第四、第一象限,表明不同处理下的土壤微生物群落在碳源利用上有明显差异。

主成分分析图中样点到表征碳源因子箭头的投影点,可以表示样点对该碳源的利用情况^[32]。结果显示 CK 处理能够利用的碳源种类最少,且利用程度很低;SH1 处理能够利用的碳源种类较少,主要有 H2、D1、E3、H3,但利用程度均较低;SH3 处理可以利用的碳源主要分布在第一象限,主要包括 H2、D1、H1、G2、A3、E2 等;SH2 处理可以利用的碳源种类和数量最多,分布在第一象限和第四象限的碳源绝大多数能被较好地利用,其中 F2、D3、C2、G4、A4、E1、F3、D2、H4、F1、B4 等碳源的利用程度最高。SH2 处理土壤中毒性较高的 EX 态 Cu 含量最低,一方面降低了对土壤微生物的直接毒害作用,另一方面通过增加黑麦草根分泌物及凋落物残体间接促进了土壤微生物的生长繁殖。

3 结论

(1) 重金属 Cu 污染土壤施用石灰能显著提高黑麦草地上部和根系的生物量,增加黑麦草地上部及根系的 Cu 吸收量,SH1、SH2、SH3 处理的 Cu 吸收量相对值与对照相比分别提高了 18.2、37.6、30.9 倍,其中 SH2 处理的修复效果最好。

(2) 施用石灰显著提高了土壤 pH 值,并使土壤 Cu 由生物有效性高的 EX 态向生物有效性低的 CAB 态、OxiB 态和 OrgB 态转化。与对照处理相比,SH1、SH2、SH3 处理土壤 EX 态 Cu 含量分别降低了 58.5%、87.7%和 74.8%,而 CAB 态 Cu 含量分别增加了 36.3%、93.4%和 56.1%。

(3) 石灰处理后土壤微生物 AWCD 及 Shannon、Simpson 和 McIntosh 指数较对照均有所提高,整体表现为 SH2>SH3>SH1>CK,表明石灰提高了土壤微生物对碳源的利用能力,增加了土壤中能利用相应单一碳源的微生物种类和数量。

(4) 主成分分析结果表明,石灰处理后土壤微生物群落的碳源利用模式发生了明显变化,4 种处理土壤微生物群落在碳源利用上出现明显差异,SH2 处理

可利用的碳源种类、数量最多,其次是 SH3 处理,SH1 和 CK 处理可利用的碳源种类与数量最少。

(5) 以植被恢复、植物吸收、化学提取和微生物群落恢复作为修复效果评价指标,本试验设置的中剂量石灰(质量分数 0.2%)和黑麦草的联合修复方法对 Cu 污染土壤修复效果最好,适宜在酸性 Cu 污染土壤上推广应用。

参考文献:

- [1] 崔德杰, 张玉龙. 土壤重金属污染现状与修复技术研究进展[J]. 土壤通报, 2004, 35(3): 366-370.
CUI De-jie, ZHANG Yu-long. Current situation of soil contamination by heavy metals and research advances on the remediation techniques [J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2004, 35(3): 366-370.
- [2] 王立群, 罗磊, 马义兵, 等. 重金属污染土壤原位钝化修复研究进展[J]. 应用生态学报, 2009, 20(5): 1214-1222.
WANG Li-qun, LUO Lei, MA Yi-bing, et al. *In situ* immobilization-remediation of heavy metals-contaminated soils: A review [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(5): 1214-1222.
- [3] 骆永明. 金属污染土壤的植物修复[J]. 土壤, 1999, 31(5): 261-265.
LUO Yong-ming. Phytoremediation of metal contaminated soil [J]. *Soils*, 1999, 31(5): 261-265.
- [4] 韦朝阳, 陈同斌. 重金属污染植物修复技术的研究与应用现状[J]. 地球科学发展, 2002, 17(6): 833-839.
WEI Chao-yang, CHEN Tong-bin. An preview on the status of research and application of heavy metal phytoremediation [J]. *Advance in Earth Sciences*, 2002, 17(6): 833-839.
- [5] 钟晓兰, 周生路, 李江涛, 等. 长江三角洲地区土壤重金属生物有效性的研究: 以江苏昆山市为例[J]. 土壤学报, 2008, 45(2): 240-248.
ZHONG Xiao-lan, ZHOU Sheng-lu, LI Jiang-tao, et al. Bioavailability of soil heavy metals in the Yangtze River Delta [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2008, 45(2): 240-248.
- [6] 杜志敏, 郝建设, 周静, 等. 四种改良剂对铜和镉复合污染土壤的田间原位修复研究[J]. 土壤学报, 2012, 49(3): 508-517.
DU Zhi-min, HAO Jian-she, ZHOU Jing, et al. Field *in-situ* remediation of Cu-Cd polluted soil by four amendments [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2012, 49(3): 508-517.
- [7] 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: 1999: 12-212.
LU Ru-kun. Analytical methods of soil and agro-chemistry [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1999: 12-212.
- [8] 朱熹婉, 沈壬水, 钱钦文. 土壤中金属元素的五个组分的连续提取法[J]. 土壤, 1989, 21(3): 163-166.
ZHU Yan-wan, SHEN Ren-shui, QIAN Qin-wen, et al. Successive extraction method of five fractions of heavy metals in soils [J]. *Soils*, 1989, 21(3): 163-166.
- [9] 王宏康, 阎寿沧. 污泥施肥时铜对农作物的污染[J]. 环境科学, 1990, 11(3): 6-11.
WANG Hong-kang, YAN Shou-cang. The pollution of copper on crops when using sludge as a fertilizer [J]. *Environmental Sciences*, 1990, 11(3): 6-11.

- (3):6-11.
- [10] Yoon J, Cao X D, Zhou Q X, et al. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site[J]. *Science of the Total Environment*, 2006, 368(2/3):456-464
- [11] 康立娟, 赵明宪, 赵成爱. 铜对水稻的影响及迁移积累规律的研究[J]. 广东微量元素科学, 1999, 6(4):43-44.
KANG Li-juan, ZHAO Ming-xian, ZHAO Cheng-ai. Study on effect of Cu on rice and its migration accumulation behavior[J]. *Guangdong Trace Elements Science*, 1999, 6(4):43-44.
- [12] 李士平, 李福燕. 剑麻与石灰对铜污染土壤的修复[J]. 中国农学通报, 2007, 23(8):444-447.
LI Shi-ping, LI Fu-yan. Study of soil remediation of sisal and lime on Cu-contaminated soil[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2007, 23(8):444-447.
- [13] Cotter-Howells J, Caporn S. Remediation of contaminated land by formation of heavy metal phosphates[J]. *Applied Geochemistry*, 1996, 11(1/2):335-342.
- [14] Naidu R, Bolan N S, Kookana R S, et al. Ionic-strength and pH effects on the sorption of cadmium and the surface charge of soils[J]. *European Journal of Soil Science*, 1994, 45(4):419-429.
- [15] Tessier A, Campbell P G C, Bisson M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals[J]. *Analytical Chemistry*, 1979, 51(7):844-851.
- [16] 雷 鸣, 廖柏寒, 秦普丰. 土壤重金属化学形态的生物可利用性评价[J]. 生态环境学报, 2007, 16(5):1551-1556.
LEI Ming, LIAO Bo-han, QIN Pu-feng, et al. Assessment of bioavailability of heavy metal in contaminated soils with chemical fractionation[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2007, 16(5):1551-1556.
- [17] 章明奎, 方利平, 周 翠. 污染土壤重金属的生物有效性和移动性评价:四种方法比较[J]. 应用生态学报, 2006, 17(8):1501-1504.
ZHANG Ming-kui, FANG Li-ping, ZHOU Cui. Evaluation of heavy metals bioavailability and mobility in polluted soils: A comparison of four methods[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(8):1501-1504.
- [18] Randhawa H S, Singh S P. Zinc fractions in soils and their availability to maize[J]. *Journal of the Indian Society of Soil Science*, 1995, 43(2):293-294.
- [19] 田雅楠, 王红旗. Biolog 法在环境微生物功能多样性研究中的应用[J]. 环境科学与技术, 2011, 34(3):50-57.
TIAN Ya-nan, WANG Hong-qi. Application of biolog to study of environmental microbial function diversity[J]. *Environmental Science and Technology*, 2011, 34(3):50-57.
- [20] Wünsche L, Brüggemann L, Babel W. Determination of substrate utilization patterns of soil microbial communities: An approach to assess population changes after hydrocarbon pollution[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1995, 17(4):295-305.
- [21] 崔红标, 范玉超, 周 静, 等. 改良剂对土壤铜镉有效性和微生物群落结构的影响[J]. 中国环境科学, 2016, 36(1):197-205.
CUI Hong-biao, FAN Yu-chao, ZHOU Jing, et al. Availability of soil Cu and Cd and microbial community structure as affected by applications of amendments[J]. *China Environmental Science*, 2016, 36(1):197-205.
- [22] Lawlor K, Knight B P, Barbosa-Jefferson V L, et al. Comparison of methods to investigate microbial populations in soils under different agricultural management[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, 33(2):129-137.
- [23] Du Z M, Xie Y, Hu L Q, et al. Effects of fertilization and clipping on carbon, nitrogen storage, and soil microbial activity in a natural grassland in Southern China[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6):e99385.
- [24] Classen A T, Boyle S I, Haskins K E, et al. Community-level physiological profiles of bacteria and fungi: Plate type and incubation temperature influences on contrasting soils[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 44(3):319-328.
- [25] Garland J L. Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28(2):213-221.
- [26] Atlas R M. Diversity of microbial community[J]. *Advances in Microbial Ecology*, 1984, 7:1-47.
- [27] Magurran A E. Ecological diversity and its measurement[M]. Princeton: Princeton University Press, 1988:141-162.
- [28] 陆松柳, 张 辰, 徐俊伟. 植物根系分泌物分析及对湿地微生物群落的影响研究[J]. 生态环境学报, 2011, 20(4):676-680.
LU Song-liu, ZHANG Chen, XU Jun-wei. Root exudates of wetland plants and the influence on the microbial community in constructed wetlands[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20(4):676-680.
- [29] Hirsch A M, Dietz Bauer W, Bird D M, et al. Molecular signals and receptors: Controlling rhizosphere interactions between plants and other organisms[J]. *Ecology*, 2003, 84(4):858-868.
- [30] 张燕燕, 曲来叶, 陈利顶. Biolog EcoPlate™ 实验信息提取方法改进[J]. 微生物学通报, 2009, 36(7):1083-1091.
ZHANG Yan-Yan, QU Lai-Ye, CHEN Li-Ding. An amendment on information extraction of Biolog EcoPlate™[J]. *Microbiology*, 2009, 36(7):1083-1091.
- [31] Ter Braak C J F, Šmilauer P. CANOCO reference manual and CanoDraw for Windows user's guide: Software for canonical community ordination (version 4.5)[R]. New York: Ithaca, 2002.
- [32] 杜志敏, 郝建设, 周 静, 等. 四种改良剂对 Cu、Cd 复合污染土壤中 Cu、Cd 形态和土壤酶活性的影响[J]. 生态环境学报, 2011, 20(10):1507-1512.
DU Zhi-min, HAO Jian-she, ZHOU Jing, et al. Effects of four amendments on Cu and Cd forms and soil enzyme activity in Cu-Cd polluted soil[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20(10):1507-1512.