



请通过网上投稿系统投稿 网址:http://www.aes.org.cn

光合细菌和生物炭对污染土壤中铬的稳定化效果及小白菜生长的影响

任晓斌, 白红娟, 卫燕红, 马瑞, 贾万利, 杨官娥

引用本文:

任晓斌, 白红娟, 卫燕红, 等. 光合细菌和生物炭对污染土壤中铬的稳定化效果及小白菜生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(10): 2141-2149.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0162

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

改良剂对镉污染土壤上小白菜镉积累转运及生理特性的影响

李松, 孙向阳, 李素艳, 马其雪, 刘源鑫, 周文洁 农业环境科学学报. 2021, 40(6): 1229-1235 https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1182

鸡粪生物炭对土壤铜和锌形态及植物吸收的影响

张艺腾, 范禹博, 徐笑天, 张秀芳, 李明堂 农业环境科学学报. 2018, 37(11): 2514-2521 https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0390

生物质炭对小白菜吸收多环芳烃的影响

彭碧莲, 刘铭龙, 隋凤凤, 潘志平, 李恋卿, 潘根兴, 程琨 农业环境科学学报. 2017, 36(4): 702-708 https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1564

不同改良剂对石灰性镉污染土壤的镉形态和小白菜镉吸收的影响

李丹,李俊华,何婷,蒙佩佩 农业环境科学学报.2015(9):1679-1685 https://doi.org/10.11654/jaes.2015.09.008

组配钝化剂对镉铅复合污染土壤修复效果研究

张迪,丁爱芳 农业环境科学学报.2018,37(12):2718-2726 https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0881



关注微信公众号,获得更多资讯信息

任晓斌, 白红娟, 卫燕红, 等. 光合细菌和生物炭对污染土壤中铬的稳定化效果及小白菜生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(10): 2141-2149.

REN X B, BAI H J, WEI Y H, et al. Effects of photosynthetic bacteria and biochar on chromium stabilization in polluted soil and the growth of pakchoi[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2021, 40(10): 2141–2149.



光合细菌和生物炭对污染土壤中铬的 稳定化效果及小白菜生长的影响

任晓斌¹, 白红娟^{1*}, 卫燕红¹, 马瑞¹, 贾万利¹, 杨官娥² (1.中北大学环境与安全工程学院, 太原 030051; 2.山西医科大学药学院, 太原 030001)

摘 要:为了研究光合细菌和生物炭对铬污染土壤的修复效果,采用光合细菌球形红细菌(Rhodobacter sphaeroides)H菌株和生物炭为修复材料,模拟铬污染土壤为研究对象,通过盆栽试验研究了H菌株、生物炭、H菌株和生物炭联合对铬污染土壤中铬的稳定化效果以及对小白菜的株高、根长、叶绿素和可溶性糖含量的影响。结果表明:修复30d后,H菌株和生物炭联合修复的效果要优于单施H菌株和生物炭,并且当菌株添加量为10°CFU·g⁻¹和生物炭添加量(质量比)为1%即T6处理时,修复效果最好,较单加H菌株和生物炭,烙的生物可利用性分别降低了8.03%和9.11%,土壤中的过氧化氢酶、脲酶、转化酶和碱性磷酸酶活性比不添加菌株和生物炭即CK处理分别升高了58.72%、98.25%、136.58%和61.03%。T6处理对铬胁迫下小白菜的促生效果显著,与CK组相比,小白菜植株地上部分和根系的铬含量分别降低了26.67%和14.84%,极大地促进了铬胁迫下小白菜植株的生长,叶片的叶绿素和可溶性糖含量分别升高了30.08%和17.39%。经XPS和XRD分析结果推测H菌株和生物炭的主要修复机制为混合还原和静电吸附,二者对铬污染土壤具有较好的修复效果,且对小白菜具有较好的促生效果。

关键词:球形红细菌;生物炭;铬;土壤;小白菜

中图分类号:8634.3;X53 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2021)10-2141-09 doi:10.11654/jaes.2021-0162

Effects of photosynthetic bacteria and biochar on chromium stabilization in polluted soil and the growth of pakchoi

REN Xiaobin¹, BAI Hongjuan^{1*}, WEI Yanhong¹, MA Rui¹, JIA Wanli¹, YANG Guane²

(1. School of Environment and Safety Engineering, North University of China, Taiyuan 030051, China; 2. College of Pharmacy, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

Abstract: This study aimed to investigate the remediation effects of photosynthetic bacteria and biochar on chromium contaminated soil, using photosynthetic bacteria *Rhodobacter sphaeroides* H strain and biochar as remediation materials, simulating chromium contaminated soil as a research object. Therefore, potted experiments were conducted to study how the H strain, biochar, and their combination could affect chromium stabilization in the chromium–contaminated soil, just as well as plant height, root length, and the chlorophyll and soluble sugar content of pakchoi. The experimental results showed that the combined remediating effect of the H strain and biochar yielded better results after 30 days of remediation than that of the separate application of H strain and biochar. The best remediation effect could be

收稿日期:2021-02-07 录用日期:2021-05-25

作者简介:任晓斌(1995—),男,山西朔州人,硕士研究生,主要从事环境微生物技术研究。E-mail:765501069@qq.com

^{*}通信作者:白红娟 E-mail:bhj44871@163.com

基金项目:山西省重点研发计划项目(201903D321083);中央引导地方科技发展资金项目(YDZX20201400001443);中北大学研究生科技立项 (20201767)

Project supported: The Key Reasearch and Development Program of Shanxi Province (201903D321083); The Central Government Guides Local Science and Technology Development Fund Projects (YDZX20201400001443); The Postgraduate Science and Technology Project of North University of China(20201767)

observed when the amount of the supplemented H strain reached $10^8 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ and that of the biochar 1%(mass ratio)(T6). Compared with the H strain and biochar only, the bioavailability of chromium was reduced by 8.03% and 9.11%, respectively, while the catalase, urease, invertase, and alkaline phosphatase activities in the soil were 58.72%, 98.25%, 136.58%, and 61.03% higher than those in the CK group (without H strain and biochar), respectively. The T6 group exhibited a significantly affected the growth of pakchoi under chromium stress. Compared with the CK group, the chromium content of the aerial part and root of the pakchoi plant were reduced by 26.67% and 14.84%, respectively, significantly promoting the growth of pakchoi under chromium stress, yielding an increase in the chlorophyll and soluble sugar content of the leaves by 30.08% and 17.39%, respectively. According to the results of the XPS and XRD analysis, we hypothesize that the main repair mechanism of H strain and biochar involves mixed reduction and electrostatic adsorption. And the two have good repair and growth-promoting effects on contaminated soil and pakchoi.

Keywords: Rhodobacter sphaeroides; biochar; chromium; soil; pakchoi

随着铬酸盐生产、电镀、制革等工业活动的发展^[1],越来越多的铬废弃物、铬渣排入土壤中。铬在 土壤中最常见的化合物是以三价和六价形态存在,而 六价铬一般不易被土壤中的有机物和胶体吸附,其在 土壤中活性较高,与三价铬相比更容易被植物吸收, 而且其还会通过食物链影响人类健康。三价铬主要 以Cr(H₂O)³⁺、Cr(H₂O)³⁺、CrO²等形式存在于环境中, 相比六价铬,三价铬流动性小,对环境的危害较 弱^[2-3]。因此,近几年环境介质中六价铬污染的去除 受到众多学者关注^[4-7]。

对于铬污染土壤,现在主要的修复方法有电动修 复法、化学还原法和微生物修复法。其中微生物修复 法是一种环境友好、成本低的治理技术,具有较好的 发展前景。许多微生物如枯草芽孢杆菌(Bacillus subtilis)、蜡样芽孢杆菌(Bacillus cereus)^[8-9]已被分离出来 并发现对 Cr(VI)污染土壤有良好的修复效果。熊智 慧等^[10]的研究发现,接种Alcaligenes sp. qz-1改善了铬 (Cr₂O²⁺)胁迫下玉米的生长特性,增加了玉米根部对 铬(Cr₂O²⁺)的吸收,降低了铬(Cr₂O²⁺)对玉米的毒害。 杜艳影等^[11]通过实验证实,S. oneidensis MR-1在对 Cr (VI)进行还原的同时也伴有少量的吸附作用。

生物炭(Biochar)是近年来新兴的一种新型高效 土壤改良材料,含碳丰富,可增加农田土壤碳汇,提高 土壤肥力。而且其孔隙度和比表面积较大,具有很好 的吸附性能,能够为微生物提供附着载体,也为微生 物的生长提供碳源和营养源,对土壤重金属污染的钝 化具有良好的效果。研究表明,施加生物炭可以显著 降低土壤重金属活性^[12],并减少农作物对重金属的吸 收^[13]。此外,生物炭改良土壤后不会造成二次污染, 也不易发生反弹,即生物炭对土壤重金属的修复具有 持久性^[14]。因此,利用微生物和生物炭联合修复重金 属污染土壤受到了众多学者的重视,夏梦莲等^[6]的研 究发现,巴氏芽孢杆菌菌液与生物炭复合修复铬污染 土壤的效果要优于菌液和生物炭的单独修复。姜庆 宏等^{III}的研究发现,利用生物炭-藤黄微球菌复合材 料修复Cr(VI)污染土壤,能有效降低土壤中Cr(VI) 含量,而且对玉米的促生效果显著。

光合细菌是具有原始光能合成体系的原核生物, 能在厌氧光照条件下进行不放氧光合作用。特别是 紫色非硫细菌中的球形红细菌(Rhodobacter sphaeroides),其不仅能在厌氧光照条件下光能自养生长,而 且还能在好氧黑暗条件下利用有机物生长,这种随着 生活环境而灵活改变代谢类型的特征,使其较其他微 生物具有优越性^[15],同时,该菌还是一种益生菌。LI 等^{16]}和FAN等^{17]}利用球形红细菌修复镉或铅污染的 土壤,修复后的土壤上种植的小麦根和叶中镉和铅的 积累都有所减少。前期研究工作表明球形红细菌H 菌株能有效还原水中Cr(Ⅵ),其机制包括生物还原 和积累[18]。但有关球形红细菌 H 菌株和生物炭联合 修复铬污染土壤的研究鲜有报道,基于此,本研究采 用球形红细菌H菌株和生物炭为修复材料,模拟铬污 染土壤为研究对象,在H菌株处理过程中辅以添加生 物炭,通过盆栽试验研究了H菌株、生物炭及H菌株 与生物炭联合对铬污染土壤中铬的稳定化效果以及 对小白菜生长的影响,以期为光合细菌和生物炭在铬 污染土壤修复方面提供理论和实践依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验土样取自山西省太原市尖草坪区上兰村, 0~20 cm 土层,按照国际制土壤质地分类属于壤土。 土样取回实验室后去除杂质,风干磨碎过2 mm 尼龙 筛,将一定量的K₂Cr₂O₇(分析纯)溶解于去离子水中, 搅拌均匀,配制成铬浓度为50 mg·kg⁻¹的土壤,平衡 30 d,备用。试验所用光合细菌H菌株系紫色非硫菌 群红细菌属的球形红细菌(*Rhodobacter sphaeroides*), 由本实验室提供。研究所用生物炭购自江苏华丰农 业生物工程有限公司,是由小麦秸秆在裂解炉600℃ 限氧环境下热裂解2h所得,将其磨细过1mm筛备用, 生物炭理化性质由公司提供。供试作物选用四季小 白菜。土壤和生物炭的基本性质见表1和表2。

1.2 试验方法

菌种培养:在光合细菌液体培养基中接种一定量的指数生长期的菌体培养液,置于人工气候箱(温度为30℃、光照强度为2500 lx)培养至OD_{590 m}为1.2, 经5000 r・min⁻¹离心分离30 min,弃上清液,加入等量超纯水制备成菌悬液(1.0×10° CFU・mL⁻¹),备用。CK组不添加生物炭和菌悬液,用等量的超纯水代替菌悬液。

将平衡好的土壤平均分装到塑料花盆中(规格为 上口径20 cm,下口径12 cm,高8 cm),每盆中的土壤 质量为1 kg,将生物炭和制备好的菌悬液按照试验设 计加入到土壤中,混合均匀,具体设计见表3。将每 个花盆用保鲜膜密封,并在人工气候箱中(温度为 30℃、光照强度为2 500 k)培养30 d,试验过程中每 隔2 d加入超纯水保持土壤含水率为60%(烘干-称量 法测定),1个月后,测定土壤中酶活性、H菌株的数量 以及铬的形态含量。

1.3 盆栽试验

选取饱满、大小一致的小白菜种子浸种、催芽后 均匀种植于上述花盆中,每盆定植5棵白菜,间隔均 匀,每组3个平行,试验过程中每隔2d加入超纯水保 持土壤含水率为60%(烘干-称量法测定),随机置于 室内自然光下生长,40d后收获小白菜。先用自来水 将植株冲洗干净,再用去离子水润洗,吸干表面水分 后分成地上部分和地下部分,保存,待测。

1.4 测定项目与方法

土壤酶活性的测定参照文献[19]中的方法:过氧 化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法测定;脲酶活性采用

amount in different treatment groups						
处理Treatment	生物炭(质量比)Biochar/%	菌株 Strain/(CFU • g ⁻¹)				
СК	0	0				
T1		107				
T2		10 ⁸				
Т3		10 ⁹				
Τ4	1	0				
Т5		107				

Т6

Т7

Τ8

Т9

T10

T11

表 3 不同处理组中生物炭和菌株的添加量 Table 3 Correspondence table of biochar and strain addition

苯酚钠-次氯酸钠比色法测定;转化酶活性采用二硝 基水杨酸比色法测定;碱性磷酸酶活性采用磷酸苯二 钠比色法测定。

3

菌液和土壤中H菌株的数量测定:采用稀释平板 培养法计数。

土壤中5种形态铬的提取方法及测定:称取部分 烘干土样,采用Tessier连续提取法^[20],分别提取可交 换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态、有机质结合 态、残渣态,土壤样品用HNO₃-HCI-HCIO4电热板消 解,采用ICP-OES进行铬含量的测定。生物可利用 性=(可交换态+碳酸盐结合态)/5种形态总和×100%

对 CK、T6 处理组采用 X 射线光电子能谱仪分析 Cr(W)污染土壤修复前后的元素组成与价态变化;利 用 XRD 衍射分析仪分析 Cr(W)污染土壤修复前后的 晶体结构。

植株中铬含量的测定:收获植株的根、茎、叶于 105℃下杀青0.5 h,75℃烘干至恒质量,称取适量的

全氣 全磷 速效磷 速效钾 有机质 铬 Total N/(g·kg ⁻¹) Total P/(g·kg ⁻¹) Available P/(mg·kg ⁻¹) Available K/(mg·kg ⁻¹) Organic matter/(g·kg ⁻¹) Cr/(mg·kg ⁻¹) 7.81 0.83 0.75 18.5 125 16.5 未检出	Table 1 The basic properties of the tested soil						
7.81 0.83 0.75 18.5 125 16.5 未检出	рН	全氮 Total N/(g·kg ⁻¹)	全磷 Total P/(g·kg ⁻¹)	速效磷 Available P/(mg•kg ⁻¹)	速效钾 Available K/(mg•kg ⁻¹)	有机质 Organic matter/(g・kg ⁻¹)	铬 Cr/(mg·kg ⁻¹)
	7.81	0.83	0.75	18.5	125	16.5	未检出

表1 供试土壤的基本性质

Table 2 Physical-chemical properties of biochar

供试生物炭 Test biochar	рН	灰分 Ash/%	挥发分 Volatile/%	比表面积 BET/(m ² ·g ⁻¹)	阳离子交换量 CEC/(cmol·kg ⁻¹)	碳含量 Carbon content/%
小麦秸秆生物炭	8.53	9.62	10.21	36.8	47.6	63.1

 10^{8}

 10^{9}

0

 10^{7}

 10^{8}

 10^{9}

www.ger.org.cn

农业环境科学学报 第40卷第10期

地上部分和根系干质量,用HNO₃:HClO₄=4:1进行消 解,消解液中铬含量采用电感耦合等离子体发射光谱 仪(ICP-OES)测定。采用转移系数(TF)表示铬在小白 菜各部位中的迁移特性。TF=植株地上部分的铬含量 (mg·kg⁻¹)/植株根系的铬含量(mg·kg⁻¹)

小白菜的株高和根长:收获小白菜后,用自来水 清洗植株和根部,测量3次株高和根长,并取平均值。

植物中叶绿素含量的测定采用丙酮浸提法^[21]。 可溶性糖含量的测定采用苯酚硫酸法^[22]。

1.5 数据处理与分析

试验数据采用 Microsoft Excel 2010 和 Origin 8.5 软件分析与作图,并使用 SPSS 22.0 软件进行数据统 计分析,采用 Duncan 双因素方差分析进行处理间差 异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同处理对铬污染土壤中酶活性和H菌株数量 的影响

土壤中的酶活性与土壤肥力水平密切相关,本研 究对铬污染土壤中修复后的酶活性和培养30d的H 菌株的数量进行测定,结果见表4。与CK组相比,只 添加H菌株时,4种酶活性在T2处理组增加效果最显 著,只添加生物炭时,T4处理组效果最佳,可见,H菌 株和生物炭均有助于土壤酶活性的提高。当利用二 者联合修复后, 铬污染土壤中4种酶活性均显著升高, 过氧化氢酶变化趋势表现为T6>T7>T5>T10>T11> T9、脲酶为T6>T7>T5>T10>T11>T9、脲酶为T6>T7>T5>T10>T11>T9、脲酶为T6>T7>T5>T9、碱性磷酸酶为T6>T7>T10>T11> T5>T9。T6处理组变化最显著(P<0.05), 过氧化氢 酶、脲酶、转化酶和碱性磷酸酶活性比CK组分别升高 了58.72%、98.25%、136.58%和61.03%。结果表明H 菌株和生物炭的联合作用对土壤酶活性有显著影响 (P<0.05)。另外, H菌株添加到铬污染土壤中30 d 后, 菌落数量有所减少。

2.2 不同处理对污染土壤中铬形态分布的影响

图1是不同处理对污染土壤中铬形态分布的影响。由图1可知,H菌株和生物炭单一及联合施用都 会改变土壤中铬的形态分布,CK组土壤中铬以残渣 态和可交换态为主。经修复剂处理后,各处理组土壤 中铬的碳酸盐结合态和可交换态含量降低,残渣态和 有机结合态含量增加,铁锰氧化物结合态含量变化较 小。单加H菌株时,T2处理组效果最好,生物可利用 性比CK组降低了11.39%;单加生物炭时,T4处理组 效果最佳,生物可利用性比CK组降低了10.31%;当 H菌株和生物炭联合修复时,T5、T6、T7、T9、T10和 T11处理与CK组相比,生物可利用性分别降低了 13.03%、17.42%、15.11%、11.47%、14.41%和12.93%, 可见,生物可利用性在H菌株和生物炭的联合作用下

表4 不同处理对铬污染土壤中酶活性和日菌株数量的影响

处理	过氧化氢酶	脲酶	转化酶	碱性磷酸酶	菌落数
Treatment	$Catalase/(mL{\boldsymbol{\cdot}}g^{1})$	$Urease/(mg{\boldsymbol{\cdot}}g^{1})$	$Invertase/(mg{\boldsymbol{\cdot}}g^{1})$	Alkaline phosphatase/($mg \cdot g^{-1}$)	Number of colonies/($\text{CFU} \boldsymbol{\cdot} \text{g}^{\text{-1}})$
СК	7.34±0.11Dc	1.72±0.08Cc	0.41±0.04Cc	2.13±0.03Db	0
T1	8.13 ± 0.08 Cb	$1.96{\pm}0.12\mathrm{Bb}$	$0.63{\pm}0.05{\rm BCb}$	2.37±0.07Cc	$1.3 \times 10^{4} Cc$
T2	$9.73{\pm}0.04{\rm Ab}$	$2.38{\pm}0.06{\rm Ab}$	0.92±0.08Aa	3.34±0.09Aa	3.2×10 ⁵ Bc
Т3	9.34±0.13Bab	$2.02{\pm}0.09{\rm Bb}$	$0.83 \pm 0.06 \mathrm{Bab}$	3.12±0.05Bab	5.1×10 ⁵ Ab
Τ4	8.98±0.05Ca	2.27±0.14Ca	0.62±0.03Ca	2.24±0.11Ca	0
Т5	9.32±0.07Ba	3.17±0.07Ba	0.76±0.05Ba	2.64±0.08Ba	1.7×10 ⁴ Ca
Т6	11.65±0.06Aa	3.41±0.13Aa	0.97±0.01Aa	3.43±0.13Aa	8.5×10 ⁵ Ba
Τ7	11.28±0.14ABa	3.19±0.05Ba	0.85±0.02Ba	3.27±0.09ABa	1.4×10 ⁶ Aa
Т8	$8.47 \pm 0.08 \text{Cb}$	$2.01{\pm}0.07{\rm Bb}$	$0.52 \pm 0.07 \mathrm{Cb}$	2.18 ± 0.02 Bb	0
Т9	8.92±0.16Bab	2.11 ± 0.17 ABb	$0.69 \pm 0.04 \mathrm{Bab}$	$2.46 \pm 0.04 \mathrm{ABb}$	$1.6 \times 10^4 \text{Bb}$
T10	9.24±0.09Ac	$2.25{\pm}0.08{\rm Ab}$	$0.78 \pm 0.09 \mathrm{Ab}$	2.95±0.01Ab	5.2×10 ⁵ Ab
T11	$9.19{\pm}0.03{ m Ab}$	$2.19{\pm}0.04{ m Ab}$	$0.80{\pm}0.05{ m Ab}$	2.91±0.13Ab	4.7×10 ⁵ Ac

注:同列数据后不同大写字母表示生物炭添加量相同、H菌株添加量不同的各处理间差异显著(P<0.05);不同小写字母表示H菌株添加量相同、生物炭添加量不同的各处理间差异显著(P<0.05)。下同。

Note: Different capital letters indicate that the addition amount of biochar is the same, and the addition amount of H strain is different, the difference between the treatments is significant (P<0.05). Different lowercase letters indicate that the addition amount of H strain is the same, and the addition amount of biochar is different, the difference between the treatments is significant (P<0.05). The same below.



图1 不同处理对污染土壤中铬形态分布的影响

Figure 1 Effects of different treatment groups on morphology distribution of chromium in contaminated soil

显著降低,并且T6处理修复效果最好(P<0.05)。

2.3 机理分析

为了探究 H 菌株和生物炭对铬污染土壤的修复 机制,对修复前后的土壤进行 XPS分析和 XRD分析。 图 2a 和图 2b分别为铬污染土壤修复前后的 XPS 全谱 图和修复后土壤中 Cr 元素的 XPS 窄谱图。由图 2 可 以看出,修复前后土壤中主要含 C、O、Cr 和 N 元素, Cr 元素(580.7 eV)为 Cr(Ⅵ),且修复后的土壤在 578.5 eV 处有新峰出现,该峰已被证实是 Cr₂O₃的峰,说明 在 Cr(Ⅵ)污染土壤的修复过程中,部分 Cr(Ⅵ)被还 原为 Cr(Ⅲ)。

图 3 是 Cr(\II) 污染土壤修复前后的 XRD 图,由 图 3 可知,修复前土壤中铬主要以 K₂Cr₂O₇的形式存在, 其衍射峰出现在 2θ 为 26.7°和 29.5°处,修复后 Cr(\II) 污染土壤在 2θ 为 24.5°、33.6°、36.1°、39.9°和 54.9°处 出现了 Cr₂O₃沉淀峰,在 2θ 为 49.1°处还出现了 HCrO₂ 的峰,这是造成土壤中 Cr(Ⅲ)存在的主要原因。并 且修复后土壤中 K₂Cr₂O₇含量减少,其中一部分转化 为 Cr₂O₃。





图3 Cr(VI)污染土壤修复前后的XRD图

Figure 3 XRD patterns of Cr(M) contaminated soil before and after remediation

2.4 盆栽试验结果

2.4.1 不同处理对铬污染土壤中小白菜各组织铬含量 的影响

不同处理对铬污染土壤中小白菜各组织铬含量 的影响见表5。由表5可知,各处理中根系的铬含量 要高于地上部分,即铬主要在根中积累;经修复剂处



图 2 Cr(\II)污染土壤的XPS全谱图(a)和Cr2p的窄轨道谱图(b) Figure 2 XPS spectra(a) and Cr2p(b) of Cr(\II) contaminated soil

www.aer.org.cn

表5 不同处理对铬污染土壤中小白菜各组织 铬含量的影响(mg·kg⁻¹)

Table 5 Effects of different treatment groups on the chromium content of pakchoi tissues in chromium contaminated soil($mg \cdot kg^{-1}$)

处理	地上部分	根系	转移系数
Treatment	Aboveground	Root	Transfer coefficient
СК	0.30±0.02Aa	3.64±0.08Aa	0.083
T1	0.28±0.01Ba	3.54±0.06ABa	0.079
T2	0.25±0.03Ca	3.35±0.12Ca	0.074
Т3	0.28±0.02Ba	3.41±0.15Ba	0.082
Τ4	$0.27{\pm}0.02{\rm Ab}$	$3.38{\pm}0.08{ m Ac}$	0.080
Т5	$0.26{\pm}0.01{\rm Ab}$	$3.32{\pm}0.10{ m Bb}$	0.078
Т6	$0.22{\pm}0.03{\rm Bb}$	$3.10{\pm}0.09{\rm Dc}$	0.071
Τ7	$0.24{\pm}0.01{\rm ABc}$	$3.24 \pm 0.07 \mathrm{Cc}$	0.074
Т8	$0.28{\pm}0.03{\rm Ab}$	$3.45 \pm 0.13 \mathrm{Ab}$	0.081
Т9	$0.27 \pm 0.02 \mathrm{ABab}$	$3.35{\pm}0.09{\rm Bb}$	0.080
T10	0.25±0.04Ba	$3.29{\pm}0.17{\rm Cb}$	0.076
T11	$0.26{\pm}0.02{\rm ABb}$	$3.32 \pm 0.04 \text{Bb}$	0.078

理后,小白菜各组织铬含量均有所下降,相应的转移 系数也在降低。在相同生物炭添加量条件下,H菌 株添加量为10°CFU·g⁻¹时,小白菜地上部分和根系 的铬含量降低显著(P<0.05),相同H菌株添加量条 件下,生物炭添加量为1%的效果较好,同时,在H菌 株和生物炭的联合作用下效果更加显著(P<0.05), 并且在T6处理时,两者达到最佳配施量,与CK组相 比,地上部分和根系铬含量分别降低了26.67%和 14.84%。

2.4.2 不同处理对铬污染土壤中小白菜株高和根长的 影响

不同处理对铬污染土壤中小白菜株高和根长的 影响见图4。由图4可知,单加H菌株时,小白菜的株 高和根长随着菌株添加量的增加先升高后降低,并且 在添加量为10°CFU·g⁻¹时效果最好,此时与CK组相 比,株高和根长分别增加了6.5%和5.92%;单加生物 炭时也表现出相同的规律,在生物炭添加量为1%时 效果最好,株高和根长较CK组提高了5.26%和 4.37%,生物炭添加量为3%的处理对小白菜生长的 促进作用减弱,但始终高于CK组。当H菌株和生物 炭联合修复时,相同H菌株添加量条件下,生物炭添 加量为1%的效果要优于3%,相同生物炭添加量条件 下,H菌株添加量为10°CFU·g⁻¹时效果显著(P<0.05), 并且在H菌株添加量为10°CFU·g⁻¹目生物炭添加量 为1%时,小白菜的株高和根长增加最显著(P<0.05), 分别比CK组增加了13.25%和10.63%。



不同大写字母表示生物炭添加量相同、H菌株添加量不同的处理间差 异显著(P<0.05);不同小写字母表示H菌株添加量相同、生物炭添加 量不同的处理间差异显著(P<0.05)。下同

Different capital letters indicate that the addition amount of biochar is the same, and the addition amount of H strain is different, the difference between the treatments is significant(P<0.05). Different lowercase letters indicate that the addition amount of H strain is the same, and the addition amount of biochar is different, the difference between the treatments is significant(P<0.05). The same below

图 4 不同处理对铬污染土壤中小白菜株高和根长的影响 Figure 4 Effect of different treatment groups on plant height and

root length of pakchoi in chromium contaminated soil

2.4.3 不同处理对铬污染土壤中小白菜叶绿素和可溶 性糖含量的影响

不同处理对铬污染土壤中小白菜叶绿素和可溶性糖含量的影响见图5。由图5可知,一定浓度的H菌株可以促进铬污染土壤中小白菜叶绿素和可溶性糖含量升高,且最适添加量为10°CFU·g⁻¹,与CK组相比,叶绿素和可溶性糖含量分别增加了10.81%和11.21%;而且添加适量的生物炭也会对小白菜的生长有利,当生物炭添加量为1%时,表现出较好的效果,与CK组相比,小白菜的叶绿素和可溶性糖含量分别增加了9.84%和10.38%;当H菌株和生物炭联合修复时,相同H菌株添加量条件下,生物炭添加量为1%时效果显著,相同生物炭添加量条件下,用菌株添加量为



图 5 不同处理对铬污染土壤中小白菜叶绿素和可溶性糖含量的影响

Figure 5 Effects of different treatment groups on chlorophyll and soluble sugar content of pakchoi in chromium contaminated soil10⁸ CFU·g⁻¹和生物炭添加量为1%时,小白菜的叶绿庆宏等^[7]通过实验得出,藤黄微球菌和生物炭复素和可溶性糖含量增加最显著(P<0.05),分别比CK</td>对Cr(VI)污染土壤修复效果显著,各个处理均得组增加了 30.08%和17.39%。了玉米地上、地下部分对铬的吸收,降低了铬通

3 讨论

土壤酶参与土壤中各种生物化学过程,是判断土 壤生物化学过程强度及评价土壤肥力的重要指标之 一^[23]。本试验结果显示,H菌株和生物炭及其联合作 用对土壤中的酶活性显著提高,特别是在两者共施条 件下的促进作用更加明显,这与李琋等四利用微生物 协同生物炭修复石油烃-镉复合污染土壤得出的结 论一致,可能原因是H菌株以加入的生物炭为能源在 土壤中进行细胞代谢,加快土壤中氮素循环和有机磷 的水解,增加了全氮、速效氮和速效磷含量,进而对脲 酶和碱性磷酸酶活性产生了显著影响。蔗糖酶活性 可以表征土壤有机碳的转化情况^[19],本研究中,施用 生物炭增加了蔗糖酶含量,有利于土壤有机质的提 高,促进了过氧化氢酶的活性。同时,铬化学形态的 改变对土壤酶活性也有不同程度的影响,结合图1可 知,H菌株和生物炭可以使土壤中铬的生物毒性降 低,因此有利于土壤中酶活性的升高。本研究结果也 表明(表4),添加适量的生物炭会促进H菌株数量的 增加,主要原因是生物炭独特的结构能够为H菌株提 供有利的繁殖场所,且其含有的丰富营养物质有利于 H菌株的生长^[25]。

除此之外,微生物和生物炭还可以通过改变土壤 中重金属的形态分布来降低其生物有效性,进而减少 植物对重金属的积累。张海波等^[26]的研究发现,菌糠 生物炭可促进土壤中的Pb、Cd由活性较高的形态向 较稳定的形态转化,降低Pb、Cd的生物有效性,进而 减少甜菜各部位对Pb、Cd的吸收,促进甜菜生长。姜 庆宏等¹⁷通过实验得出,藤黄微球菌和生物炭复合, 对Cr(VI)污染土壤修复效果显著,各个处理均减少 了玉米地上、地下部分对铬的吸收,降低了铬通过食 物链对人体产生的危害。本研究结果显示,H菌株和 生物炭及其联合作用下铬污染土壤中小白菜各组织 铬含量均显著减少,且铬的5种形态含量也发生明显 变化,即由不稳定态铬转化为稳定态铬。这和夏梦莲 等¹⁰和李冉等¹²⁷的研究结果类似。

多数研究表明[28-30],施用微生物和生物炭不仅可 以降低重金属生物有效性、提高土壤肥力,还可以促 进作物生长并提高产量,并且两者联合修复的效果更 好。MARYEM 等四的研究表明,在生物炭和细菌 (Pseudomonas japonica 和 Bacillus cereus)联合修复过 的Cr(Ⅵ)污染土壤上种植小麦,小麦的株高和生物 量显著增加。也有研究证明,添加光合细菌与猪场粪 污能提高生菜的生长与品质指标,相比单独添加光合 细菌和猪场粪污具有更好的效果[32]。本研究结果表 明,添加H菌株和生物炭对铬胁迫下小白菜的促生效 果显著,并且在T6处理组小白菜的株高、根长、叶绿 素和可溶性糖含量均达到最大值,说明此时土壤孔隙 中的H菌株和生物炭添加量基本趋于饱和,继续添加 不仅会加剧微生物之间的竞争,还会影响根系对矿质 营养元素的吸收[33]。最适添加量条件下,微生物和生 物炭可以提高土壤水分和养分的保持能力,增加土壤 中有机质的含量,从而促进植物的生长^[34]。同时,H 菌株对Cr(Ⅵ)具有一定的生物还原作用[18],土壤中的 部分Cr(M)被有效还原为Cr(M),降低了铬的毒性, 增强了合成叶绿素有关酶的活性:生物炭能够吸附重 金属污染物,改善土壤环境[35],为微生物的生长繁殖 提供营养物质和栖息场所,促进铬胁迫下小白菜的生 长,提高其叶绿素和可溶性糖含量。

www.ger.org.cn

综上所述,推测H菌株和生物炭修复Cr(Ⅵ)污 染土壤的机理如图6所示:首先,球形红细菌H菌株 以生物炭为能源^[36-37],增强了对土壤中某些碳源的利 用能力,从而诱导自身产生Cr(Ⅵ)还原酶,并且将该 酶排出体外,将土壤中的部分Cr(Ⅵ)还原为Cr (Ⅲ)^[38],还原后的Cr(Ⅲ)主要以Cr₂O₃和少量HCrO₂ 的形式存在于土壤环境中;另一方面,生物炭表面带 正电荷的官能团对带负电荷的六价铬基团(Cr₂O²₇) 具有静电吸附作用^[39],从而限制了重金属离子的游离 状态,降低了其生物有效性,改变了土壤中铬的形态 分布,使土壤中的铬向稳定态转化,最终降低土壤的 毒性,促进小白菜的生长。



图6 推测机理示意图

Figure 6 Schematic diagram of speculation mechanism

4 结论

(1)球形红细菌 H 菌株和生物炭单一及联合修 复铬污染土壤 30 d 的研究表明,联合处理组的修复 作用明显优于单一处理组,使土壤中铬的生物可利 用性和毒性大幅度下降,土壤酶活性显著升高,并且 当菌株添加量为 10⁸ CFU·g⁻¹和生物炭添加量为 1% 时,修复效果最好。

(2)盆栽试验结果表明,添加H菌株和施加生物 炭均对小白菜的生长有明显的促生作用,且两者联 合作用的效果更加显著(P<0.05)。说明H菌株和生 物炭对铬污染土壤和小白菜具有较好的修复和促 生效果。

参考文献:

- [1] SU H J, FANG Z Q, POKEUNG E T, et al. Remediation of hexavalent chromium contaminated soil by biochar supported zero-valent iron nanoparticles[J]. Journal of Hazardous Materials, 2016, 318:533-540.
- [2] ELENI V, PETROS G J. Effects of chromium on activated sludge and on the performance of wastewater treatment plants: A review[J]. Water Research, 2012, 46(3):549–570.
- [3] YOSHINAGA M, NINOMIYA H, HOSSAIN M A, et al. A comprehensive study including monitoring, assessment of health effects and de-

velopment of a remediation method for chromium pollution[J]. Chemosphere, 2018, 201:667-675.

- [4] BJØRKLUND G, AASETH J, SKALNY A V, et al. Interactions of iron with manganese, zinc, chromium, and selenium as related to prophylaxis and treatment of iron deficiency[J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2017, 41:41–53.
- [5] 叶斌晖,罗亚婷,龙碧波,等.草酸青霉 SL2 对高浓度铬污染土壤的 生物淋洗及胞内铬形态转化研究[J].环境科学学报,2018,38(7): 2825-2832. YE B H, LUO Y T, LONG B B, et al. Research on bioleaching of soils contaminated by high concentration of chromium with *Penicillium oxalicum* SL2 and the intracellular speciation transformation of chromium[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2018, 38 (7): 2825-2832.
- [6] 夏梦莲, 樊杰, 雷学文, 等. 微生物与生物炭复合修复铬污染土壤 的室内试验研究[J]. 科学技术与工程, 2020, 20(18):7567-7572. XIA M L, FAN J, LEI X W, et al. Experimental study on the remediation of chromium contaminated soil by microorganism and biochar[J]. *Science Technology and Engineering*, 2020, 20(18):7567-7572.
- [7] 姜庆宏, 宋玉艳, 韩剑宏, 等. 生物炭-微生物复合材料修复 Cr(\I) 污染土壤条件优化及促生效果[J]. 环境污染与防治, 2020, 42(8): 964-970. JIANG Q H, SONG Y Y, HAN J H, et al. Conditions optimization of biochar-microbial composites for repairing Cr(\I) contaminated soil and its promoting growth effects[J]. *Environmental Pollution* & Control, 2020, 42(8):964-970.
- [8] ZHENG Z, LI Y B, ZHANG X W, et al. A Bacillus subtilis strain can reduce hexavalent chromium to trivalent and an nfrA gene is involved [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2015, 97:90-96.
- [9] 焦仕林,朱培蕾,姜朴,等. 蜡样芽孢杆菌还原六价铬效果分析[J]. 中国公共卫生,2016,32(10):1326-1329. JIAO S L, ZHU P L, JI-ANG P, et al. Reduction of hexavalent chromium by *Bacillus cereus* Cr4-1[J]. *Chinese Journal of Public Health*, 2016, 32(10):1326-1329.
- [10] 熊智慧,朱莹莹,周清,等.产碱菌Alcaligenes sp. qz-1对铬污染土 壤中玉米生长和铬累积的影响研究[J]. 生态科学, 2018, 37(4): 52-58. XIONG Z H, ZHU Y Y, ZHOU Q, et al. Effects of chromium (Ⅵ) tolerant bacteria Alcaligenes sp. qz-1 on growth and uptake of chromium(Ⅵ) in maize Zea mays L.[J]. Ecological Science, 2018, 37 (4):52-58.
- [11] 杜艳影, 刘小红, 李劲, 等. Shewanella oneidensis MR-1对 Cr(II) 的还原及其影响因素[J]. 中国环境科学, 2018, 38(7):2740-2745.
 DU Y Y, LIU X H, LI J, et al. Reduction of Cr(II) by Shewanella oneidensis MR-1 and its influencing factors[J]. China Environmental Science, 2018, 38(7):2740-2745.
- [12] NIE C, YANG X, NIAZI N K, et al. Impact of sugarcane bagasse-derived biochar on heavy metal availability and microbial activity: A field study[J]. *Chemosphere*, 2018, 200:274–282.
- [13] HOUBEN D, EVRARD L, SONNET P. Beneficial effects of biochar application to contaminated soils on the bioavailability of Cd, Pb and Zn and the biomass production of rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2013, 57:196–204.
- [14] 戴静,刘阳生.生物炭的性质及其在土壤环境中应用的研究进展
 [J]. 土壤通报, 2013, 44(6):1520-1525. DAI J, LIU Y S. Review of research on the properties of biochar and its applications in soil[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2013, 44(6):1520-1525.
- [15] 李可峰, 陈海涛, 吴龙飞, 等. 细菌的光响应及其机制研究进展[J].

微生物学通报, 2018, 45(7):1574-1587. LIKF, CHENHT, WULF, et al. Behavior and mechanism of bacterial response to light illumination[J]. *Microbiology China*, 2018, 45(7):1574-1587.

- [16] LI X M, PENG W H, JIA Y Y, et al. Bioremediation of lead contaminated soil with *Rhodobacter sphaeroides*[J]. *Chemosphere*, 2016, 156: 228–235.
- [17] FAN W H, JIA Y Y, LI X M, et al. Phytoavailability and geospeciation of cadmium in contaminated soil remediated by *Rhodobacter sphaeroides*[J]. *Chemosphere*, 2012, 88:751–756.
- [18] 康鹏洲,白红娟,罗征,等.球形红细菌对六价铬的生物还原与三价铬积累[J].国际药学研究杂志,2018,45(5):380-386. KANG P Z, BAI H J, LUO Z, et al. Biological reduction of hexavalent chromium and trivalent chromium accumulation by *Rhodobacter sphaeroides*[J]. International Journal of Pharmaceutical Research, 2018, 45(5): 380-386.
- [19] 关松荫. 土壤酶及其研究方法[M]. 北京:中国农业出版社, 1986:
 47-59. GUAN S Y. Soil enzymes and their research methods[M]. Beijing:China Agriculture Press, 1986:47-59.
- [20] TESSIER A, CAMPBELL P G C, BISSON M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metal[J]. *Analytica Chemistry*, 1979, 51(7):844–851.
- [21] ARNON D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*[J]. *Plant Physiology*, 1949, 24:1–15.
- [22] EVSTIGNEYEV E I. Quantification of polysaccharides in vegetable raw materials and lignin preparations[J]. Russian Journal of Bioorganic Chemistry, 2017, 43(7):732-736.
- [23] 蒲生彦, 王宇, 陈文英, 等. 植物根际土壤酶对重金属污染的响应 机制研究综述[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(4):11-20. PU S Y, WANG Y, CHEN W Y, et al. Review on the mechanism of plant rhizosphere soil enzyme response to heavy metal pollution[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(4):11-20.
- [24] 李琦, 王雅璇, 罗廷, 等. 利用生物炭负载微生物修复石油烃-镉复 合污染土壤[J]. 环境工程学报, 2021, 15(2):677-687. LI X, WANGY X, LUO T, et al. Remediation of petroleum hydrocarboncadmium co-contaminated soil by biochar loaded microorganisms[J]. *Chinese Journal of Envionmental Engineering*, 2021, 15(2):677-687.
- [25] RILLIG M C, WAGNER M, SALEM M, et al. Material derived from hydrothermal carbonization: Effects on plant growth and arbuscular mycorrhiza[J]. *Applied Soil Ecology*, 2010, 45(3):238-242.
- [26] 张海波, 闫洋洋, 程红艳, 等. 菌糠生物炭对土壤铅镉形态及甜菜 生长的影响[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2021, 41(1): 103-112. ZHANG H B, YAN Y Y, CHENG H Y, et al. Effects of spent mushroom substrate biochar on soil lead and cadmium forms and sugar beet growth[J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2021, 41(1):103-112.
- [27] 李冉, 孟海波, 赵立欣, 等. 微生物和生物炭联用对猪粪堆肥后重 金属 Pb和 Cd 的钝化效果[J]. 农业工程学报, 2018, 34(23):164– 169. LI R, MENG H B, ZHAO L X, et al. Immobilization effect of Pb and Cd during composting of pig manure by combination of biochar and microbial agent[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2018, 34(23):164–169.

- [28] 陈丽洁, 苏品, 张卓, 等. 一株耐盐类球红细菌的分离鉴定及其对 不同作物的促生作用[J]. 南方农业学报, 2019, 50(5):964–973. CHEN L J, SU P, ZHANG Z, et al. Isolation and identification of one salt-tolerant strain of *Rhodobacter sphaeorides* and its growth promoting effect on different crops[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2019, 50(5):964–973.
- [29] 孙康, 缪存标, 何跃. 生物质炭在重金属污染土壤修复中的应用研究现状[J]. 生物质化学工程, 2017, 51(4):66-74. SUN K, MIAO C B, HE Y. Prospects for the utilization of biochar on remediating soils polluted by heavy metal[J]. *Biomass Chemical Engineering*, 2017, 51(4):66-74.
- [30] VAN ZWIETEN L, KIMBER S, MORRIS S, et al. Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility[J]. *Plant and Soil*, 2010, 327:235–246.
- [31] MARYEM A, AQIB H A K, IMRAN H, et al. The reduction of chromium (VI) phytotoxicity and phytoavailability to wheat (*Triticum aestivum* L.) using biochar and bacteria[J]. *Applied Soil Ecology*, 2017, 114:90–98.
- [32] 赵芮晗,张欢,卢海凤,等.追施光合细菌与猪场粪污对生菜生长效果的研究[J].河南农业大学学报,2020,54(5):786-792. ZHAO R H, ZHANG H, LU H F, et al. Study on the effect of applying photosynthetic bacteria and pig farm manure on the growth of lettuce [J]. Journal of Henan Agricultural University, 2020, 54(5):786-792.
- [33] 蒋欣梅, 薛冬冬, 于锡宏, 等. 玉米秸秆生物炭对镉污染土壤中小白 菜生长的影响[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(4):1000-1006. JIANG X M, XUE D D, YU X H, et al. Effects of corn-stalk biochar on the growth of Chinese cabbage in cadmium contaminated soil[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 36(4):1000-1006.
- [34] GODLEWSKA P, SCHMIDT H P, OK Y S, et al. Biochar for composting improvement and contaminants reduction. A review[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 246:193–202.
- [35] 黄连喜,魏岚,刘晓文,等.生物炭对土壤-植物体系中铅镉迁移累积的影响[J].农业环境科学学报,2020,39(10):2205-2216. HUANG L X, WEI L, LIU X W, et al. Effects of biochar on the migration and accumulation of lead and cadmium in soil-plant systems[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(10):2205-2216.
- [36] ANDREW R, ZIMMERMAN. Abiotic and microbial oxidation of laboratory-produced black carbon (biochar) [J]. Environmental Science & Technology, 2010, 44(4): 1295–1301.
- [37] 高文翠,杨卫君,贺佳琪,等.生物炭添加对麦田土壤微生物群落 代谢的影响[J]. 生态学杂志, 2020, 39(12):3998-4004. GAO W C, YANG W J, HE J Q, et al. Effects of biochar on soil microbial community metabolism in wheat field[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2020, 39(12):3998-4004.
- [38] DAS S, MISHRA J, DAS S K, et al. Investigation on mechanism of Cr(VI) reduction and removal by *Bacillus amyloliquefaciens*, a novel chromate tolerant bacterium isolated from chromite mine soil[J]. *Chemosphere*, 2014, 96(2):112-121.
- [39] AHMAD M, RAJAPAKSHA A U, LIM J E, et al. Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: A review[J]. *Chemo-sphere*, 2014, 99(3):19–33.