

镉污染土壤中添加蚯蚓对油菜生长及土壤特性的影响

白婧, 刘宏辉, 卢丹, 农州, 马江涛, 陈琳玉, 郑玉, 向国红, 段仁燕

引用本文:

白婧, 刘宏辉, 卢丹, 农州, 马江涛, 陈琳玉, 郑玉, 向国红, 段仁燕. 镉污染土壤中添加蚯蚓对油菜生长及土壤特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(9): 1945–1955.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-1153>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

蚯蚓对金霉素污染土壤酶活性和微生物群落的影响

杨思德, 常兴平, 潘政, 李明堂, 翁莉萍, 李永涛, 赵丽霞

农业环境科学学报. 2021, 40(6): 1268–1280 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1470>

赤子爱胜蚓对乙草胺污染土壤微生物群落的影响

郝月崎, 孙扬, 李晓晶, 周斌, 翁莉萍, 李永涛, 赵丽霞

农业环境科学学报. 2018, 37(11): 2456–2466 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0504>

镉胁迫对桑树生理指标及富集转运特征的影响

耿丽莎, 杨再福, 许志楠, 舒文君, 朱彤

农业环境科学学报. 2020, 39(8): 1667–1674 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0030>

不同水稻品种甲烷排放与土壤酶的关系

周文涛, 戈家敏, 王勃然, 龙攀, 徐莹, 傅志强

农业环境科学学报. 2020, 39(11): 2675–2682 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0517>

模拟酸雨及秸秆添加对农田土壤微生物呼吸及酶活性的影响

张旭, 陈书涛, 陈桂发, 蔡敏, 周丽, 崔娜欣, 邹国燕

农业环境科学学报. 2021, 40(4): 823–832 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1230>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

白婧, 刘宏辉, 卢丹, 等. 镉污染土壤中添加蚯蚓对油菜生长及土壤特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(9): 1945–1955.

BAI J, LIU H H, LU D, et al. Effects of earthworms in antimony-contaminated soil on rape growth and soil characteristics[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(9): 1945–1955.

镉污染土壤中添加蚯蚓对油菜生长及土壤特性的影响

白婧^{1,2}, 刘宏辉¹, 卢丹¹, 农州¹, 马江涛¹, 陈琳玉¹, 郑玉^{1,2}, 向国红^{1,2}, 段仁燕^{1,2*}

(1. 湖南人文科技学院农业与生物技术学院, 湖南 娄底 417000; 2. 湘中特色农业资源开发利用与质量安全控制湖南省高校重点实验室, 湖南 娄底 417000)

摘要:为探究蚯蚓对镉污染土壤中油菜的生长及根际土壤特性的影响,通过盆栽培养试验,研究了赤子爱胜蚓添加后镉污染下油菜幼苗生物量、富集系数的变化,并从根际土壤养分、酶活性和细菌群落结构3个方面初探了镉污染状况下蚯蚓对油菜富集镉的影响机制。结果表明:镉污染土壤中,赤子爱胜蚓可以提高油菜的生物量以及镉的富集,南油杂1号镉的富集含量达到358.30 mg·kg⁻¹;镉显著抑制了过氧化氢酶、蔗糖酶和脲酶活性($P<0.05$),蚯蚓显著提高了镉胁迫下两个油菜品种根际土壤的过氧化氢酶、蔗糖酶和脲酶活性($P<0.05$),最大激活率分别为13%~31%、15%~48%和24%~44%;冗余分析表明全磷、全氮、碱解氮是影响土壤酶活性变化的重要因子;添加蚯蚓未改变油菜根际土壤中优势菌门的组成,主要增加了Bacteroidetes、Cyanobacteria和Chloroflexi的丰富度,其中Bacteroidetes与过氧化氢酶、脲酶活性呈极显著正相关($P<0.01$)。研究表明,蚯蚓-油菜联合能降低农田土壤中镉的含量,起到一定的生态修复效果,南油杂1号的修复潜能大于沔油958。

关键词:镉;油菜;赤子爱胜蚓;土壤酶;生物多样性

中图分类号:S565.4;X53 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2023)09-1945-11 doi:10.11654/jaes.2022-1153

Effects of earthworms in antimony-contaminated soil on rape growth and soil characteristics

BAI Jing^{1,2}, LIU Honghui¹, LU Dan¹, NONG Zhou¹, MA Jiangtao¹, CHEN Linyu¹, ZHENG Yu^{1,2}, XIANG Guohong^{1,2}, DUAN Renyan^{1,2*}

(1. College of Agriculture and Biotechnology, Hunan University of Humanities, Science and Technology, Loudi 417000, China; 2. Hunan Provincial Key Laboratory for the Development, Utilization and Safety Control of Characteristic Agricultural Resources, Loudi 417000, China)

Abstract: To explore the effects of earthworms on the growth and enrichment in oilseed rape under antimony stress, the effects of *Eisenia fetida* on the biomass and heavy metal bioconcentration of oilseed rape in antimony-contaminated soil were studied via a pot experiment. The rhizosphere soil characteristics of oilseed rape under antimony pollution and the effects of *E. fetida* were analyzed from three perspectives: soil nutrients, enzyme activities, and bacterial communities. The results showed that: in antimony-contaminated soil, *E. fetida* could increase the biomass of oilseed rape and promote the enrichment of antimony in oilseed rape. The enrichment content of antimony in Nanyouza No.1 reached 358.30 mg·kg⁻¹. Antimony significantly inhibited the activities of catalase, sucrase, and urease ($P<0.05$). *E. fetida* significantly increased these activities in the rhizosphere soil of the two cultivars of oilseed rape. The maximum activation rates were 13%–31%, 15%–48% and 24%–44%, respectively. Redundancy analysis showed that total phosphorus, total nitrogen, and available nitrogen were important factors affecting soil enzyme activity. The addition of *E. fetida* did not change the composition of

收稿日期:2022-11-11 录用日期:2023-02-14

作者简介:白婧(1988—),女,博士,副教授,主要从事土壤生态修复研究。E-mail:jingbai@outlook.com

*通信作者:段仁燕 E-mail:duanrenyan78@163.com

基金项目:国家自然科学基金项目(41907037, 32371589);湖南省教育厅科学研究重点项目(22A0608);湖南省重点研发项目(2021NK2030);湖南省农业科技创新资金项目(2020CX84);湖南省高新技术产业科技创新引领计划项目(2020NK2001)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(41907037, 32371589); Research Foundation of Education Bureau of Hunan Province, China(22A0608); Hunan Province Key Research and Development Project(2021NK2030); Hunan Agricultural Science and Technology Innovation Fund Project(2020CX84); Hunan High Tech Industry Science and Technology Innovation Leading Plan Project(2020NK2001)

dominant bacteria in the rhizosphere soil of oilseed rape, but mainly increased the abundance of Bacteroidetes, Cyanobacteria, and Chloroflexi. Among them, Bacteroidetes were significantly correlated with catalase and urease activity. The combination of earthworms and oilseed rape might lower the level of antimony in agricultural soil and contribute in certain ways to remediation. Compared to Fengyou 958, Nanyouza 1 has a greater potential for antimony removal.

Keywords: antimony; oilseed rape; *Eisenia fetida*; soil enzyme; microorganism diversity

锑(Sb)是一种稀有且不可再生的有色金属元素,具有冷胀热缩的独特属性,位列我国四大战略资源之首^[1]。我国锑储量和产量均位居世界第一,锑矿主要分布在湖南、广西、西藏、贵州、云南等地区。长期以来锑矿开采、冶炼和废弃矿渣的无序堆置,导致我国土壤、水体和大气中的锑浓度持续升高,据统计,“世界锑都”锡矿山地区受重金属污染耕地面积共有2 054.9 hm²,其中已不再适合作为耕地利用的重度污染土壤面积达1 112.3 hm²,锑污染成为备受人们关注的环境问题^[2-3]。锑作为一种具有长距离传输特点的全球性污染物,可在陆地生态系统中富集和传递,并通过食物链在人体内积累,最终影响蛋白质及糖的代谢,损害肝脏、心脏、呼吸和神经系统^[4]。本课题组调查发现锡矿山矿区72.64%的土壤样点具有极高生态风险,农田土壤样点锑含量高达2 124.00 mg·kg⁻¹,远超世界卫生组织建议接受土壤中锑的最大允许污染物含量(36 mg·kg⁻¹)^[5]。矿区周边水体锑质量浓度平均达到10.51 μg·L⁻¹^[6]。因此,针对锑污染研发对应的修复技术对于保障锑污染农田的安全生产和利用具有重要意义。

油菜(*Brassica napus* L.)是我国重要的经济作物,主要种植区域集中于长江流域,与锑矿主要分布地区重合。油菜生物量大、根系发达,对重金属胁迫有一定耐性,地上部组织可累积较多含量的重金属,被称为是重金属累积植物^[7]。诸多研究表明油菜具有修复土壤重金属镉和铅污染的能力^[8-9]。相比于根、茎、叶,籽粒中重金属富集量较低,地上部富集量高于地下部,机械化收割时即可实现边修复边生产^[10-11]。因此,探究油菜对锑污染农田的修复潜力对推广植物修复技术具有应用价值。

蚯蚓被誉为陆地生态系统“工程师”,其活动能显著影响土壤生态系统的物理、化学、生物学性质,从而改变植物生长的生态环境,增强土壤微生物活性,影响土壤有机物转化,为污染土壤生态修复提供良好的环境条件^[12]。此外,蚯蚓对重金属胁迫具有较高的耐性,在受重金属污染土壤中可存活和再生繁殖,这是其应用于植物-动物联合修复污染土壤的基本前

提^[13]。研究表明,蚯蚓通过影响微生物和酶活性、微生物群落结构,降低了铬、铅、镍、镉和铜等多种重金属的生物有效性,强化了重金属修复的去除效果^[14-15]。锑污染情况下,蚯蚓对油菜积累锑的影响机制研究还鲜见报道。

本文通过探究赤子爱胜蚓(*Eisenia fetida* Savigny, *E. fetida*)对油菜富集锑能力的影响效应,在分析锑胁迫下土壤酶活性、细菌群落多样性和结构响应的基础上,探究蚯蚓-油菜复合体系对土壤锑污染的修复潜力,为开发动物-植物联合修复重金属污染土壤技术提供支撑。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤采自湖南人文科技学院九耳校外基地(27°46′26.96″N, 112°01′30.30″E),土样经自然风干、捣碎、剔除杂质,过2 mm尼龙筛后备用。土壤pH为7.28,有机质为22.34 g·kg⁻¹,全氮为1.27 g·kg⁻¹,碱解氮为128.53 mg·kg⁻¹,全磷为0.96 g·kg⁻¹,速效磷为43.63 mg·kg⁻¹,全钾为15.79 g·kg⁻¹,速效钾为185.15 mg·kg⁻¹,锑为33.57 mg·kg⁻¹。

供试蚯蚓品种为赤子爱胜蚓,购买于江苏省句容市王军蚯蚓养殖场。选用同一批次繁殖的赤子爱胜蚓作为受试生物,蚯蚓在供试土壤中驯化2周。选取个体相似、体色鲜亮,有明显生殖环的蚯蚓于室温下清肠24 h后用于试验。

供试油菜品种为甘蓝型杂交油菜南油杂1号和沔油958,由娄底市农业科学研究所提供,两品种油菜在前期大田和室内筛选试验中表现出较强的锑富集能力。

半水酒石酸锑钾[C₄H₄KO₃Sb·1/2H₂O, Sb(Ⅲ)],分析纯,生产厂家为西陇科学有限公司。试验过程中所用的其他试剂均为分析纯。

1.2 试验设计

试验设计如表1所示,共设6个处理,每个处理3个重复。锑浓度和油菜品种的设置均根据课题组前期在锑矿区调查结果以及室内品种筛选试验确定。油菜南

表1 试验处理样品设计
Table 1 Test treatment sample design

处理 Treatment	土壤 Soil/kg	土壤镉含量 Sb concentration in soil/(mg·kg ⁻¹)	赤子爱胜蚓 <i>E. fetida</i> /条	油菜品种 Oilseed rape variety
N	1.8	0	0	南油杂1号
NSb	1.8	2 000	0	南油杂1号
NSbE	1.8	2 000	20	南油杂1号
F	1.8	0	0	沔油958
FSb	1.8	2 000	0	沔油958
FSbE	1.8	2 000	20	沔油958

油杂1号和沔油958对镉均具有较高的抗性,镉含量达到2 000 mg·kg⁻¹时,未对其生长产生明显抑制。

1.3 试验方法

准确称取1.8 kg土壤至于花盆(12 cm×14 cm,直径×深度)中。在播种前半个月将配好的半水合酒石酸镉钾水溶液随水施入土壤中充分混合,土壤平衡老化14 d。播种时将土壤再次拌匀,防止镉在土壤中分布不均,定期浇水,保持土壤含水量为田间持水量的60%~70%。油菜种子于2021年10月2日播种,每盆点播10粒种子,播种深度3 cm,每盆放入赤子爱胜蚓20条,定期观测油菜苗生长情况。于2021年11月17日破盆取样,测定作物的生理指标(株高、生物量),从盆栽土壤的10~30 cm土层选取带有完整根系的土块,轻轻抖落土壤,紧附在根系表面且不易被抖落的土壤即为根际土壤。再去掉土壤中的根系和小石块,一部分过筛至2 mm,一部分装于无菌封口袋中,冰上放置带回实验室后保存在-80℃冰箱中。

1.4 测定指标和方法

1.4.1 生长指标

每个处理取3株油菜苗,用蒸馏水洗净,吸水纸吸干,装袋后于烘箱105℃杀青30 min,然后65℃烘干至质量恒定,取平均值记作干质量。

1.4.2 镉含量测定

土壤样品置于室内经自然风干、除杂后过100目尼龙网筛,装入聚乙烯密封袋中4℃密封保存备用。油菜用自来水将表面的泥土冲洗干净,再用去离子水反复清洗后置于室内自然晾干。重金属镉含量用原子荧光光度计(型号:AFS-2100)测定,检测限值为0.01 mg·kg⁻¹。设置质量控制、空白控制和标准参考土壤(GBW07407,中国标准物质检定中心)。质量控制样品的回收率在92%~108%之间,平行样品的偏差在10%以内。

富集系数(BCF)为植株体内总镉含量与相对应的土壤中镉含量之比,表示植物从土壤中吸收和富集镉的能力。

1.4.3 土壤养分的测定

土壤pH采用电极法测定,全氮采用凯氏定氮法测定,全磷采用钼锑抗比色法测定,全钾采用原子吸收分光光度法测定,碱解氮采用扩散法测定,速效磷采用NaHCO₃提取法测定,速效钾采用NH₄Ac火焰光度法测定,有机质采用重铬酸钾容量法(外加热法)测定,具体方法参照《土壤农化分析》^[16]。

1.4.4 土壤酶活性测定

蔗糖酶(IN)活性采用3,5-二硝基水杨酸比色法测定,脲酶(UE)活性采用苯酚钠-次氯酸钠比色法测定,中性磷酸酶(NP)活性采用磷酸苯二钠比色法测定,过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外分光光度法测定。土壤酶活性测定试剂盒由苏州科铭生物科技有限公司提供。

1.4.5 微生物多样性测定

利用TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit提取根际土壤总DNA,使用Nanodrop对DNA进行定量检测。利用338F:5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3'和806R:5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'对16S rRNA的V3~V4区进行扩增,将扩增产物回收纯化后,送至上海派森诺生物科技股份有限公司的Illumina MiSeq平台进行高通量测序。

1.4.6 数据处理

利用SPSS 23.0对数据进行统计分析,数据以平均值±标准差的形式表示,不同处理之间采用单因素方差分析($P<0.05$)和方差齐性检验。使用QIIME软件和R软件分析土壤微生物多样性,利用分类操作单元(OTU)表计算根际土壤微生物群落的 α 多样性分析指数。利用GraphPad Prism 8制图,Origin 2019b进行主成分分析(PCA)。

2 结果与分析

2.1 蚯蚓对油菜生物量及富集镉能力的影响

添加蚯蚓使油菜的生物量和镉含量均显著增加(表2)。与空白对照(N、F)相比,添加镉(NSb和FSb)处理的油菜干质量均显著下降($P<0.05$)。加入蚯蚓(NESb和FESb)处理中的油菜干质量较未加蚯蚓(NSb和FSb)处理显著提高($P<0.05$),分别增加了59.84%和81.25%。NSb处理中油菜对镉的平均吸收量显著高于FSb处理($P<0.05$),但两处理富集系数之

表 2 不同处理的油菜生物量及其对镉的富集能力

Table 2 Biomass and enrichment coefficient of oilseed varieties under different treatments

处理 Treatment	干质量 Dry weight/g	植株镉含量 Sb concentration in rape/(mg·kg ⁻¹)	土壤镉含量 Sb concentration in soil/(mg·kg ⁻¹)	富集系数 Bioconcentration factor
N	1.76±0.21ab	3.05±1.33e	25.55±4.31e	0.12±0.03d
NSb	1.22±0.15c	349.28±2.76b	1 425.31±15.81a	0.25±<0.01bc
NESb	1.95±0.12a	358.30±2.85a	1 170.31±9.40d	0.31±<0.01a
F	1.63±0.15b	3.68±0.77e	26.50±3.89e	0.14±0.01d
FSb	1.12±0.18c	307.11±6.07d	1 401.47±4.08b	0.22±<0.01c
FESb	2.03±0.08a	324.40±6.85c	1 311.89±12.48c	0.25±0.01b

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences among treatments ($P<0.05$). The same below.

间无显著差异。添加蚯蚓处理中油菜对镉的吸收量均分别高于相对应的未添加蚯蚓处理,NESb处理中南油杂 1 号对镉的平均吸收量达到 358.30 mg·kg⁻¹,显著高于其他处理($P<0.05$),富集系数也呈现同一趋势。结果表明,油菜品种南油杂 1 号对镉的富集能力要高于沔油 958,蚯蚓可以提高油菜的生物量以及镉的富集量。

2.2 蚯蚓和油菜对镉污染土壤理化性质和酶活性的影响

由表 3 可知,根际土 pH 范围为 7.96~8.45,呈弱碱性,其中 FESb 处理的 pH 最大,显著高于其余各处理($P<0.05$)。NSb 和 FSb 处理中土壤全钾和速效钾含量显著高于对照处理($P<0.05$)。培养周期内,蚯蚓的加入(NESb 和 FESb)提高了有机质、全磷、速效钾的含量,有机质含量分别达到 28.36 g·kg⁻¹和 28.14 g·kg⁻¹,显著高于未加蚯蚓处理,但两个油菜品种间差异不显著($P>0.05$)。

如图 1 所示,镉和蚯蚓对油菜根际土壤的过氧化氢酶、蔗糖酶、中性磷酸酶、脲酶活性影响作用有差异。添加镉后,NSb、FSb 处理中土壤过氧化氢酶、蔗糖酶(除 FSb 处理)和脲酶活性显著降低($P<0.05$),

NSb 处理中的中性磷酸酶活性较 N 处理增加了 2%,两者之间差异不显著($P>0.05$)。蚯蚓显著提高了两种油菜根际土壤中的过氧化氢酶、蔗糖酶和脲酶活性($P<0.05$),最大激活率分别为 13%~31%、15%~48%和 24%~44%。

通过冗余分析探究土壤酶和土壤理化性质间的关系,结果见图 2。第一轴解释了所有信息的 53.57%,第二轴解释了 26.66%,累计解释信息量为 80.23%。土壤酶活性与土壤理化性质的关系主要由第一轴决定,全磷、全氮、碱解氮是影响土壤酶活性变化的重要因子。未添加蚯蚓的处理(N、NSb、FSb)主要分布在 RDA1 负方向,添加蚯蚓的处理分布在 RDA1 正方向。中性磷酸酶和过氧化氢酶位于第一象限,与全磷、全氮和 pH 方向相同且夹角较小,均呈正相关关系,与土壤中镉含量呈负相关关系。脲酶和蔗糖酶位于第四象限,与有机质、碱解氮、富集系数方向相同,呈正相关关系。

2.3 蚯蚓和油菜对镉污染根际土壤细菌群落多样性的影响

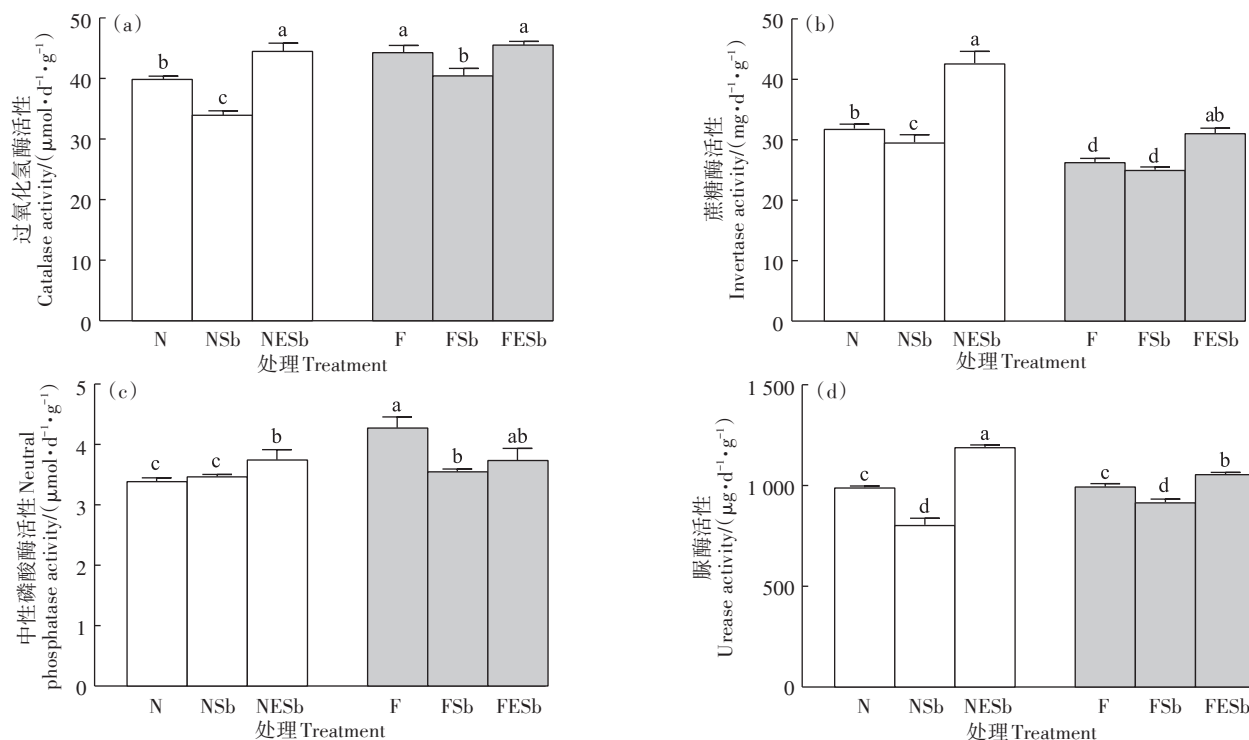
2.3.1 样品中所含 OUT 数目分析

以 97% 相似性水平划分标准 OTUs,对 6 组处理

表 3 不同处理油菜根际土壤的理化性质

Table 3 Physicochemical properties of oilseed rhizosphere soil under different treatments

处理 Treatment	pH	养分含量 Nutrient content						
		有机质 Organic matter/ (g·kg ⁻¹)	全氮 Total nitrogen/ (g·kg ⁻¹)	全磷 Total phosphorus/ (g·kg ⁻¹)	全钾 Total potassium/ (g·kg ⁻¹)	碱解氮 Available nitrogen/ (mg·kg ⁻¹)	速效磷 Available phosphorus/(mg·kg ⁻¹)	速效钾 Available potassium/ (mg·kg ⁻¹)
N	8.04±0.26b	23.77±0.15d	1.38±0.05ab	0.75±0.05d	19.79±1.37b	126.90±5.50c	57.64±3.38b	189.92±4.21d
NSb	8.11±0.14b	27.18±0.26bc	1.37±<0.01ab	0.85±0.05cd	37.78±1.21a	138.84±1.75b	67.63±3.90a	666.78±11.93c
NESb	7.96±0.01b	28.36±0.57a	1.40±0.04a	1.07±0.12b	39.18±1.42a	146.39±3.93a	75.23±3.28a	704.26±13.41b
F	8.12±0.06b	24.09±0.72d	1.43±0.02a	1.11±0.12b	20.35±1.85b	133.15±2.20b	70.05±4.29a	204.74±8.61d
FSb	8.08±0.18b	26.50±1.03c	1.30±0.09b	0.97±0.06bc	38.22±1.09a	135.66±2.21b	48.47±3.33c	666.98±11.35c
FESb	8.45±0.24a	28.14±0.18ab	1.38±0.03ab	1.28±0.06a	39.05±1.04a	134.11±2.04b	56.94±5.17b	756.65±11.85a

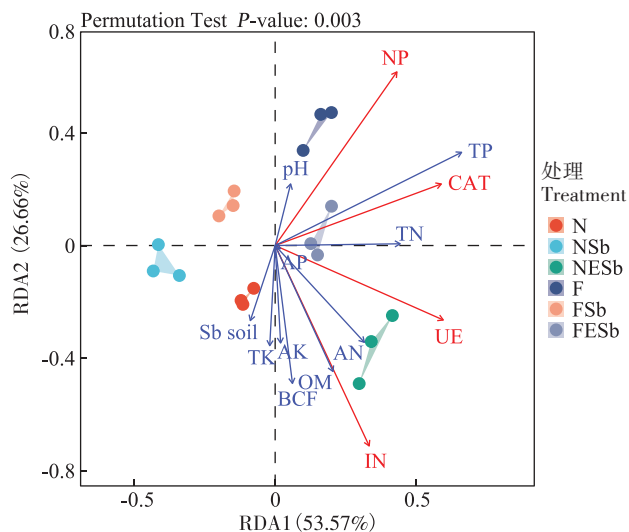


不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$).

图1 蚯蚓和油菜对镉污染土壤过氧化氢酶、蔗糖酶、中性磷酸酶、脲酶活性的影响

Figure 1 Effects of earthworm and oilseed on catalase, invertase, neutral phosphatase, and urease activity in antimony contaminated soil



NP: 中性磷酸酶, IN: 蔗糖酶, UE: 脲酶, CAT: 过氧化氢酶, TN: 全氮, TP: 全磷, TK: 全钾, AN: 碱解氮, AP: 速效磷, AK: 速效钾, OM: 有机质, pH: 土壤酸碱度, Sb soil: 土壤镉含量, BCF: 富集系数。下同。
NP: neutral phosphatase, IN: Invertase, UE: urease, CAT: catalase, TN: total nitrogen, TP: total phosphorus, TK: total potassium, AN: available nitrogen, AP: available phosphorus, AK: available potassium, OM: organic matter, pH: soil pH, Sb soil: soil antimony content, BCF: bioconcentration factor. The same below.

图2 土壤酶活性与环境因子的冗余分析

Figure 2 Redundancy analysis for environmental factors associated with soil enzymatic activities

独有的 OTUs 和组间样品共有的 OTUs 进行韦恩图分析 (图 3)。6 组处理根际土壤共有 OTUs 数 1 471 个, 低于各处理独有的 OTUs, 分别占处理 N、F、NSb、FSb、NESb 和 FESb 细菌总 OTUs 数目的 27.53%、26.04%、31.17%、29.27%、29.71% 和 29.38%, 说明油菜根际细菌群落在镉和蚯蚓的外界扰动下, 其组成仍保持了一定的相似性。

2.3.2 油菜根际土壤细菌 α 多样性分析

不同处理油菜根际细菌群落丰富度指数和多样

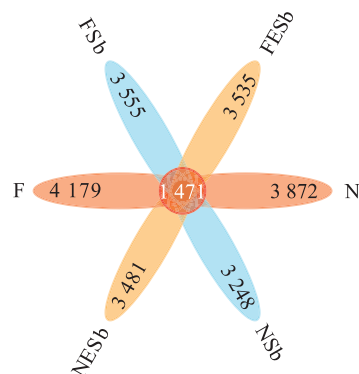


图3 不同处理中根际土壤细菌群落的 OTUs 数目韦恩图

Figure 3 Venn diagram of OTUs numbers of bacterial communities of oilseed rhizosphere soil under different treatments

性指数分析结果见表4。蚯蚓和镉对根际土壤细菌群落多样性具有一定的影响,但处理间差异均不显著($P>0.05$)。所有处理的 Good's coverage 指数均超过了 0.973,表明测序结果能完整反映各处理根际土壤微生物群落组成信息。N 处理的 Chao1、Pielou's evenness、Shannon、Simpson 指数均高于其他处理,分别达到 4 835.8、0.916 2、11.026 和 0.999 1, F 处理的 Good's coverage 指数高于其他处理,表明镉胁迫下添加蚯蚓会降低油菜根系细菌群落的多样性。

2.4 蚯蚓和油菜系统对镉污染根际土壤细菌群落结构的影响

2.4.1 油菜根际土壤细菌群落组成的差异分析

在门水平上(图4a),相对丰度排在前10的菌门从大到小排列为 Proteobacteria(变形菌门)>Actinobacteria(放线菌门)>Acidobacteria(酸杆菌门)>Chloroflexi(绿弯菌门)>Bacteroidetes(拟杆菌门)>Gemmatimonadetes(芽孢杆菌门)>Firmicutes(厚壁菌门)>

Rokubacteria(棒状杆菌门)>Cyanobacteria(蓝细菌门)>Verrucomicrobiota(疣微杆菌门)。与对照相比,添加镉主要降低了油菜根际土壤 Actinobacteria、Chloroflexi 和 Acidobacteria 的相对丰度,提高了 Proteobacteria、Firmicutes 和 Rokubacteria 的相对丰度。进一步添加蚯蚓后,根际土壤中 Actinobacteria、Proteobacteria 和 Acidobacteria 的相对丰度降低, Bacteroidetes、Cyanobacteria 和 Chloroflexi 的相对丰度增加。

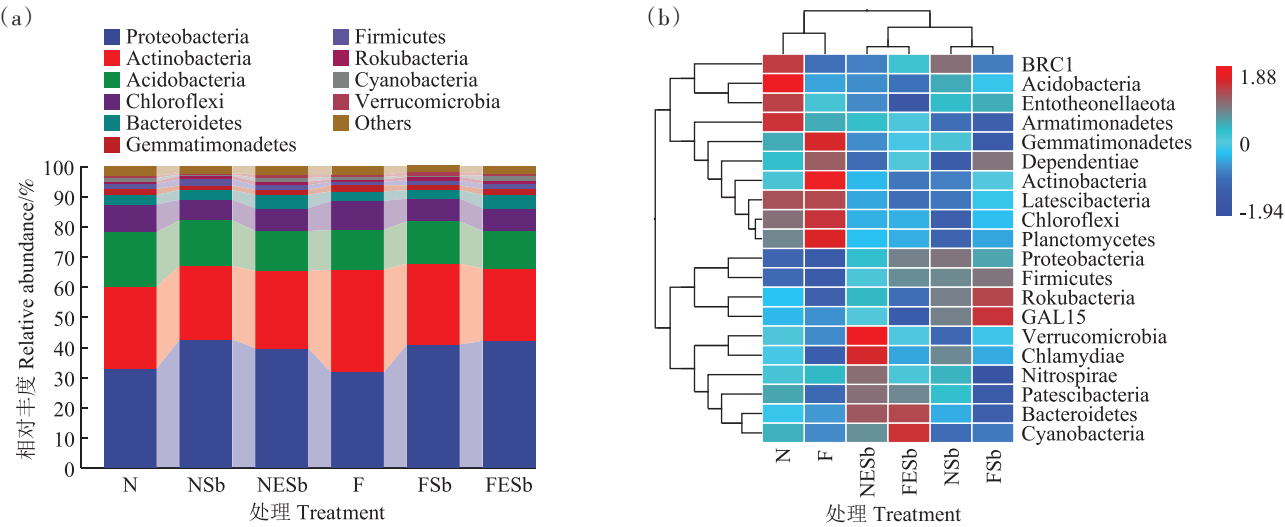
为了进一步比较样本间的物种组成差异,明确各样本的物种丰度分布趋势,将相对丰度排名前20的微生物的丰度值绘制热图进行物种组成分析(图4b)。在门水平下,6个样品聚合为3类。施加镉处理的 NSb、FSb 处理聚为一类,镉加入影响了油菜根际土的微生物群落结构。添加蚯蚓处理后的样品 NESb、FESb 处理聚为一类,说明蚯蚓进一步改变了镉胁迫下油菜根际土壤细菌的群落组成成分分布。

从根际土壤的细菌群落中选取相对丰度均存在

表4 不同处理对细菌群落α多样性的影响

Table 4 Effects of different treatment on α diversity of bacterial community

处理 Treatment	Chao1 指数 Chao1 index	Good's coverage 指数 Good's coverage index	Pielou's evenness 指数 Pielou's evenness index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index
N	4 835.8±283.8	0.974 2±0.004 0	0.916 2±0.006 2	11.026±0.033	0.999 1±0.000 1
NSb	4 497.4±114.4	0.975 6±0.000 3	0.898 1±0.009 2	10.702±0.143	0.998 5±0.000 3
NESb	4 729.1±259.4	0.974 4±0.002 5	0.906 9±0.001 9	10.885±0.031	0.998 7±0.000 1
F	4 430.0±746.7	0.978 9±0.006 5	0.910 8±0.005 7	10.899±0.256	0.998 9±0.000 2
FSb	4 728.8±291.5	0.973 0±0.001 9	0.896 3±0.020 5	10.737±0.312	0.998 4±0.000 9
FESb	4 712.4±521.0	0.973 2±0.003 5	0.878 9±0.044 6	10.525±0.668	0.993 4±0.009 1



图a为相对丰度>1%的菌门,图b为聚类分析热图。
Figure a shows the phyla with relative abundance >1%, figure b shows the heat map of cluster analysis.

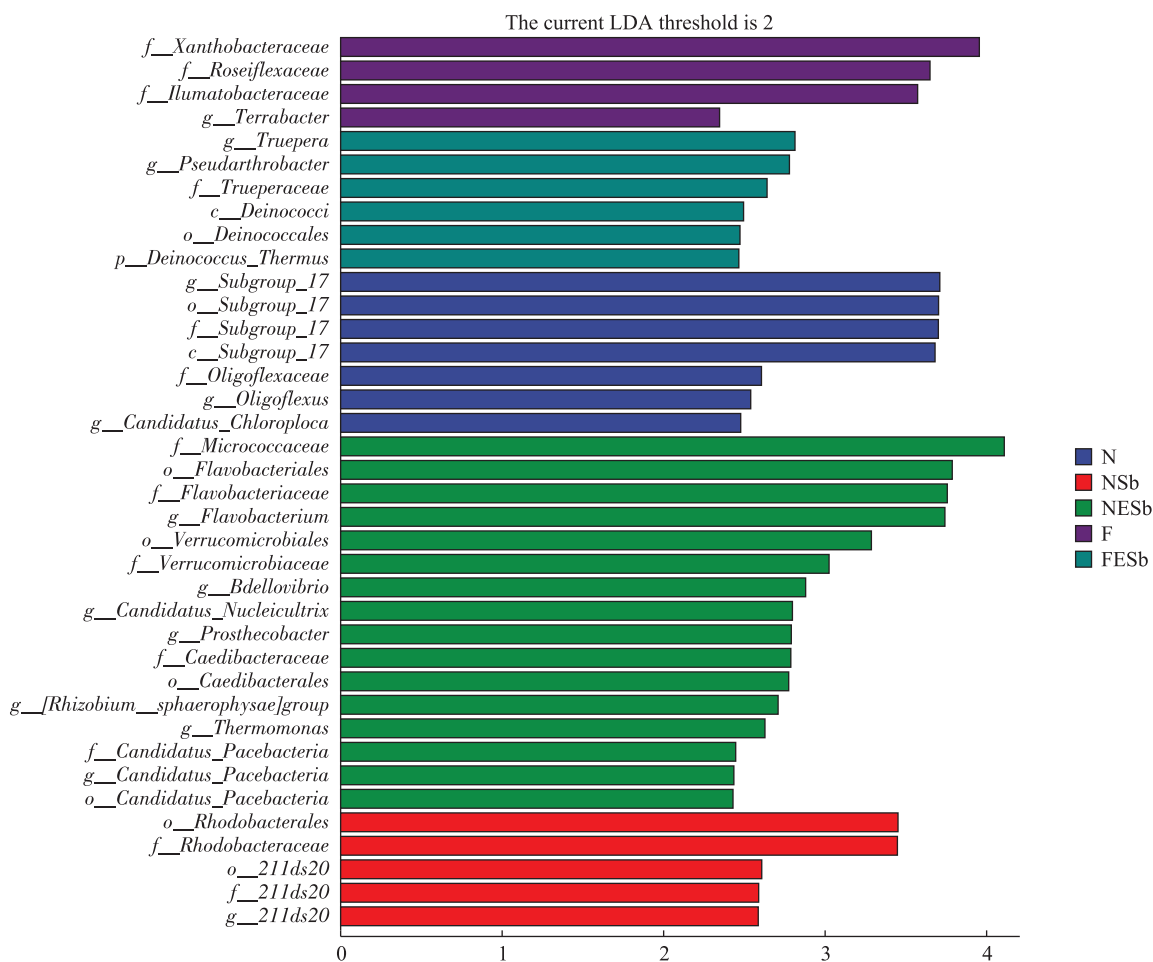
图4 不同处理在门水平的细菌群落结构

Figure 4 Bacterial community structure of different treatments at the phyla level

显著富集的物种进行细菌群落组成差异分析,由图5可知,从门水平到属水平各个分类单位设定线性判别分析(LDA)阈值为2。N处理存在显著富集的物种有 *Subgroud_17*、*Oligoflexus* 和 *Candidatus_Chloroploca*, F处理下显著富集的物种有 *Xanthobacteraceae*、*Roseiflexaceae*、*Ilumatobacteraceae* 和 *Terrabacter*。NSb处理存在显著富集的物种有 *Rhodobacteraceae*、*211ds20*。FESb处理下存在显著富集的物种是 *Truepera*、*Pseudarthrobacter* 等。NESb处理下达到显著富集的物种有16种,归属于 *Actinobacteria* 的 *Micrococcaceae*, 归属于 *Bacteroidetes* 的 *Flavobacterium*, 归属于 *Verrucomicrobia* 的 *Verrucomicrobiaceae*, 以及 *Bdellovibrio*、*Candidatus_Nucleicultrix*、*Prostheco bacter*、*Thermomonas* 和 *Candidatus_Pacebacteria*。

2.4.2 油菜根际土壤细菌群落组成与环境因子的关系

对根际土壤细菌群落相对丰度排名前10的菌门和土壤环境因子进行相关性热图分析(图6)。排名前10的优势菌门中有5个优势菌门丰度与土壤环境因子呈显著相关, *Actinobacteria* 和 *Acidobacteria* 与土壤环境因子主要呈负相关关系。 *Actinobacteria* 与速效钾和有机质呈极显著负相关($P<0.01$), *Acidobacteria* 与中性磷酸酶和全磷呈极显著负相关($P<0.01$)。 *Proteobacteria* 与碱解氮、速效钾、有机质、土壤镉含量和富集系数呈极显著正相关($P<0.01$), *Bacteroidetes* 与过氧化氢酶、脲酶呈极显著相关($P<0.01$), *Firmicutes* 与全钾呈极显著正相关($P<0.01$)。镉胁迫下,添加蚯蚓提高了土壤中 *Bacteroidetes* 的相对丰度以及土壤酶中的脲酶和过氧化氢酶的活性,同时在提



条形图的颜色指示了该分类单元所对应的丰度最高的样本分组。纵坐标为组间具有显著差异的分类单元,横坐标则以条形图直观地展示各分类单元的LDA分析对数得分值。

The color of the bar chart indicates the sample group with the highest abundance corresponding to the taxon. The ordinate is the taxon with significant difference between groups, and the abscissa displays the LDA analysis logarithmic score of each taxon intuitively with a bar chart.

图5 不同处理土壤细菌群落相对丰度差异物种条形图

Figure 5 Bar graph of species with different relative abundance of soil bacterial communities under different treatments

升 *Proteobacteria* 的相对丰度时促进了土壤养分的转化。

2.4.3 油菜根际土壤细菌群落组成与环境因子的主成分分析

对表征土壤特性的土壤养分、酶活性和细菌群落因子进行主成分分析,结果见图7。主坐标的前两轴总共解释了所有信息的54.33%(PC1和PC2分别解释了36.04%和18.29%的信息)。PC1主要综合了速效钾、全钾、土壤镭含量、富集系数、*Proteobacteria*、*Actinobacteria* 的信息,即PC1正方向与土壤的污染程度有关,PC1负方向与微生物群落有关,PC2综合了过氧化氢酶、脲酶、中性磷酸酶、全磷、全氮的信息,与土壤酶活性及养分转化有关。

6组样品分布在不同区域,处理间样点离散程度较大。N、F处理聚集在主坐标第一轴的左侧,添加镭的处理位于PC1正方向。N、F样点与 *Actinobacteria* 丰度、*Chloroflexi* 丰度、Shannon 指数、Simpson 指数之间夹角较小,说明在未受镭胁迫的自然环境中,南油杂1号和沔油958根际土壤的特性中主要的差异来自微生物群落结构及多样性。NSb、FSb样点位于第四象限,在速效钾、全钾、土壤镭含量上载荷量较高,表明酒石酸镭钾作为外源镭污染物添加后,土壤中钾、镭含量以及 *Proteobacteria* 丰度增加, *Actinobacteria*、*Chloroflexi* 丰度减少。NESb、FESb样点聚集在第一象限,与未添加蚯蚓的NSb、FSb样点在PC2上分异明显,其中过氧化氢酶、脲酶、中性磷酸酶有较高的载荷,说明蚯蚓添加主要影响镭污染土壤中酶的活性。

3 讨论

3.1 镭污染土壤中添加蚯蚓对油菜生长和富集的影响

南油杂1号中富集镭的含量及富集系数均显著

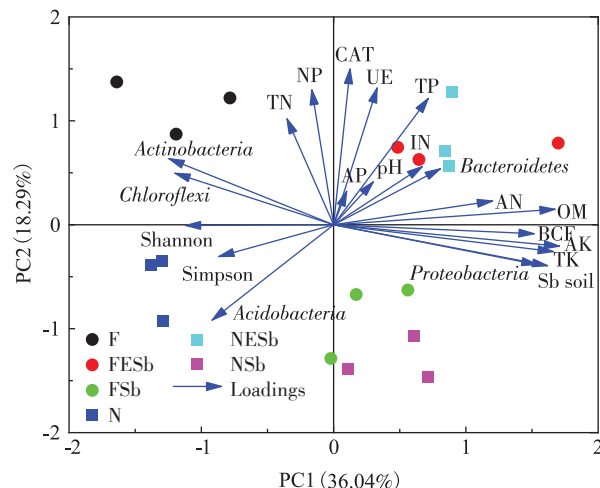


图7 细菌群落结构、土壤养分和酶活性的主成分分析

Figure 7 Principal component analysis of bacterial community structure, soil nutrients and enzyme activity under different treatments

高于沔油958 ($P < 0.05$) (表2)。不同品种油菜对同种重金属的积累能力差异较大,部分甘蓝型油菜品种对镭的积累能力主要受从根到地上部的转运过程影响^[17]。重金属积累是多细胞、多组织和多器官协同作用的复杂生理过程^[18]。韧皮部运输是水稻籽粒中镭的主要运输途径,大于90%的镭来自韧皮部运输^[19]。镭在油菜中的富集转运机理还鲜有报道,下一步可利用南油杂1号开展镭累积特性的分子机制研究。

添加蚯蚓使镭胁迫下油菜的生物量和镭富集系数均有显著增加,表明蚯蚓可促进油菜生长和增进土壤镭向油菜体内转移。研究表明,接种蚯蚓后印度芥菜地上部生物量增加了22.6%~88.6%,并显著促进了植株地上部锌和铅的积累^[20]。环境中镭主要以Sb(Ⅲ)和Sb(Ⅴ)两种无机态形式存在,Sb(Ⅲ)比Sb(Ⅴ)更容易吸附在金属或矿物的表面并固定,其有

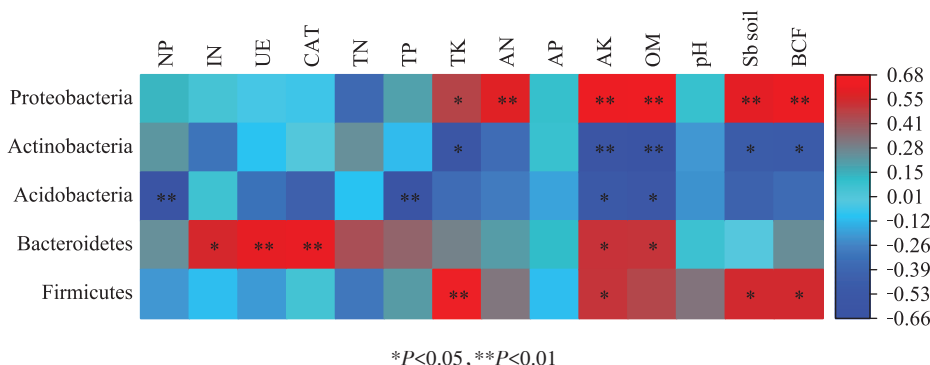


图6 土壤环境因子与根际细菌群落组成相关性热图

Figure 6 Correlation heatmap between soil physicochemical properties and bacterial community compositions

效性降低,而Sb(V)的溶解性较强,Sb(III)的氧化对镉的移动起着至关重要的作用^[21]。蚯蚓主要通过排泄蚓粪及挖掘活动形成的蚓穴影响土壤结构,增加土壤团聚体及孔隙度^[22]。蚯蚓扰动形成的好氧环境,促进了Sb(III)氧化成Sb(V),增加了镉的移动性^[23],这可能是蚯蚓促进镉从土壤向油菜转移的因素之一,当然这其中的驱动因子还不明确。

3.2 镉污染土壤中添加蚯蚓对土壤养分的影响

蚯蚓作为“生态系统的工程师”,在农田生态系统中起着改善土壤物理结构、调节土壤pH、破碎粗有机物、促进养分循环等的作用^[24-25]。本试验中,添加蚯蚓显著增加了镉胁迫下土壤有机质的含量。其原因可能是由于当镉含量达到2 000 mg·kg⁻¹时,镉对蚯蚓产生了一定的毒性效应,蚯蚓死亡率达28.25%~30.00%,死亡的蚯蚓经微生物分解增加了土壤有机质含量^[26]。镉含量偏高对蚯蚓活性产生一定的抑制作用,减少了土壤有机质的消耗。再者,蚯蚓吞吐过程形成的微团粒结构,使有机碳得到保存,并未引起显著的激发效应,使有机碳矿化和固存作用之间的平衡没有被打破^[27-28]。后期试验中,应考虑降低镉含量,明确中低污染农田中蚯蚓-植物联合修复效果。

本试验结果显示,添加蚯蚓显著增加了镉胁迫下南油杂1号根际土壤中碱解氮和全磷的含量。诸多研究表明,蚯蚓能够影响土壤氮素循环,促进土壤有机氮的矿化过程,使矿质氮、NO₃⁻和微生物量氮含量均提高^[29]。蚯蚓可以增加土壤的生物有效态磷含量^[30],主要途径是通过促进磷酸酶的活性而间接改变土壤磷形态,提高磷活性^[31]。

3.3 镉污染土壤中添加蚯蚓对土壤生物特性的影响

土壤酶在维持土壤健康和养分循环方面发挥着重要作用,可以作为衡量土壤质量的生物指标^[32]。蚯蚓提高了过氧化氢酶、蔗糖酶、中性磷酸酶和脲酶活性(图1),且过氧化氢酶与镉含量呈显著负相关,蔗糖酶与有机质呈显著正相关,中性磷酸酶与全磷呈正相关,脲酶与全氮和碱解氮呈正相关(图2)。

过氧化氢酶活性能在一定程度上反映重金属的污染程度,与土壤铜和锌含量呈显著性负相关^[33]。赤子爱胜蚓属于表栖型蚯蚓,主要以地表的枯枝落叶和腐殖质为食,能刺激与土壤碳循环紧密联系的蔗糖酶的活性,进而促进蔗糖水解产生更易被吸收的葡萄糖和果糖,在可溶性营养物质的生产中发挥着重要作用^[34]。脲酶与氮循环有关,能够催化尿素分解生成氨、二氧化碳和水,为植物提供氮素营养,与有效氮含

量密切相关^[35]。因此,蚯蚓改善了土壤质量,在镉胁迫下促进了油菜根际土壤养分的转化,从而提高了土壤酶活性。

重金属在土壤中的积累会造成土壤中原微生物群落结构的改变,使得土壤肥力和质量降低,土壤中微生物的多样性减少^[36]。也有研究表明,重金属污染对土壤微生物群落结构影响较小^[37]。蚯蚓通过蚓触圈,对有机残留物和矿质土壤进行摄取和扰动,可直接影响生态系统的结构和功能,改变土壤的结构及特性,进而影响土壤细菌群落的组成^[38]。蚯蚓增加土壤中细菌数量造成优势菌群丰度变化的原因可能是蚯蚓选择性吞食菌种以及肠道环境对微生物的刺激作用^[39]。

镉添加提高了油菜根际土壤中Proteobacteria的丰度,且土壤中镉含量与Proteobacteria呈极显著正相关($P<0.01$),表明镉污染土壤中,Proteobacteria耐性较强,这与前人研究结果一致^[40]。Proteobacteria是土壤圈层中相对丰度最高的一类细菌,携带有大量关于DNA修复和重金属抗性的基因,是最耐胁迫的细菌^[41]。研究证实,在镉矿场筛选出的8株耐镉细菌均来自Proteobacteria,其可将Sb(III)氧化为Sb(V)从而降低土壤毒性^[42],变形菌门中的 α -、 β -和 γ -变形菌纲细菌也可将与镉同主族的As(III)氧化为As(V),从而降低砷的有效性^[43]。

蚯蚓未改变镉胁迫下油菜根际土壤中优势菌门的组成,而主要影响其丰度占比,增加了Bacteroidetes、Cyanobacteria和Chloroflexi的丰度。Bacteroidetes含有较多的重金属抗性和还原基因,适应性较强^[44]。在重金属复合污染土壤中,蚯蚓肠道微生物中Bacteroidetes丰度达到18.8%^[45]。归属Bacteroidetes的*Sphingobacterium*属已被证明与超富集植物东南景天联合可有效修复镉污染土壤^[46]。图5中,添加蚯蚓后(NESb),南油杂1号根际土壤微生物群落中归属于Bacteroidetes的*Flavobacterium*丰富度显著高于其他处理($P<0.05$),这与相关研究结果一致^[47]。*Flavobacterium*是蚯蚓肠道中重要的反硝化细菌,能促进氮循环中N₂O的释放^[48]。Bacteroidetes与土壤脲酶呈极显著正相关($P<0.01$,图6)。因此,镉胁迫下蚯蚓对土壤氮素循环相关酶和微生物的作用,及其对镉胁迫的响应机制应引起关注。

4 结论

(1) 镉污染土壤中,添加蚯蚓可以提高油菜的生

物量并促进其对镉的富集。

(2) 镉能显著降低油菜根际土壤中过氧化氢酶、中性磷酸酶、脲酶的活性, 提高 Proteobacteria、Firmicutes 和 Rokubacteria 的丰度; 添加蚯蚓可以促进镉胁迫下油菜根际土壤养分循环, 提高土壤酶活性, 增加 Bacteroidetes、Cyanobacteria 和 Chloroflexi 的丰度。

(3) 从土壤生态的角度初步得出, 蚯蚓-油菜联合能降低农田土壤中镉的含量, 起到一定生态修复的效果, 且南油杂 1 号的修复潜能大于沱油 958。

参考文献:

- [1] DING J, ZHANG Y, MA Y, et al. Metallogenic characteristics and resource potential of antimony in China[J]. *Journal of Geochemical Exploration*, 2021, 230: 106834.
- [2] 任杰, 刘晓文, 李杰, 等. 我国镉的暴露现状及其环境化学行为分析[J]. *环境化学*, 2020, 39(12): 3436-3449. REN J, LIU X W, LI J, et al. Analysis of exposure status quo and environmental chemical behaviors of antimony in China[J]. *Environmental Chemistry*, 2020, 39(12): 3436-3449.
- [3] LI J Y, ZHENG B H, HE Y Z, et al. Antimony contamination, consequences and removal techniques: a review[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 156: 125-134.
- [4] TSCHAN M, ROBINSON B H, SCHULIN R. Antimony in the soil - plant system: a review[J]. *Environmental Chemistry*, 2009, 6(2): 106-115.
- [5] BAI J, ZHANG W, LIU W Y, et al. Implications of soil potentially toxic elements contamination, distribution and health risk at Hunan's Xikuangshan mine[J]. *Processes*, 2021, 9(9): 1532.
- [6] 刘文辉, 马腾, 李俊琦, 等. 资江河口区农田土壤重金属污染评价及来源分析[J]. *地质科技通报*, 2021, 40(2): 138-146. LIU W H, MA T, LI J Q, et al. Pollution assessment and source analysis of heavy metals in agricultural soil around Zijiang River estuary[J]. *Bulletin of Geological Science and Technology*, 2021, 40(2): 138-146.
- [7] WU Z, ZHAO X, SUN X, et al. Xylem transport and gene expression play decisive roles in cadmium accumulation in shoots of two oilseed rape cultivars (*Brassica napus*) [J]. *Chemosphere*, 2015, 119: 1217-1223.
- [8] ZHANG J W, CAO X R, YAO Z Y, et al. Phytoremediation of Cd-contaminated farmland soil via various *Sedum alfredii*-oilseed rape cropping systems: efficiency comparison and cost-benefit analysis[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 419: 126489.
- [9] CAO X R, WANG X Z, TONG W B, et al. Accumulation and distribution of cadmium and lead in 28 oilseed rape cultivars grown in a contaminated field[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2020, 27(2): 2400-2411.
- [10] 孙刚, 刘针延, 王琪, 等. 不同油菜品种对有色金属冶炼区土壤重金属吸收累积研究[J/OL]. *分子植物育种*, 2022: 1-11.[2022-10-20]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220324.1643.016.html>. SUN G, LIU Z Y, WANG Q, et al. Effects of different rape cultivars on the absorption and accumulation of heavy metals in soils of non-ferrous metal smelting area[J/OL]. *Molecular Plant Breeding*, 2022: 1-11.[2022-10-20]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220324.1643.016.html>.
- [11] 史新杰, 李卓, 庄文化, 等. 土壤中水分和镉供应量对油菜器官中镉分布特征的影响[J]. *核农学报*, 2019, 33(2): 389-397. SHI X J, LI Z, ZHUANG W H, et al. Effect of soil water and cadmium content on distribution characteristics of cadmium in oilseed rape[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2019, 33(2): 389-397.
- [12] 唐浩, 朱江, 黄沈发, 等. 蚯蚓在土壤重金属污染及其修复中的应用研究进展[J]. *土壤*, 2013, 45(1): 17-25. TANG H, ZHU J, HUANG S F, et al. Review on application of earthworm in soil heavy metal pollution and remediation[J]. *Soils*, 2013, 45(1): 17-25.
- [13] HOMA J, STÜRZENBAUM S R, MORGAN A J, et al. Disrupted homeostasis in coelomocytes of *Eisenia fetida* and *Allolobophora chlorotica* exposed dermally to heavy metals[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2007, 43: S273-S280.
- [14] CHAKRABORTY P, SARKAR S, MONDAL S, et al. *Eisenia fetida* mediated vermi-transformation of tannery waste sludge into value added eco-friendly product: an insight on microbial diversity, enzyme activation, and metal detoxification[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 348: 131368.
- [15] HULLOT O, LAMY I, TIZIANI R, et al. The effect of earthworms on plant response in metal contaminated soil focusing on belowground-aboveground relationships[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 274: 116499.
- [16] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 三版. 北京: 中国农业出版社, 2000. BAO S D. Soil and agricultural chemistry analysis[M]. 3rd Edition. Beijing: China Agricultural Press, 2000.
- [17] XUE M, ZHOU Y, YANG Z Y, et al. Comparisons in subcellular and biochemical behaviors of cadmium between low-Cd and high-Cd accumulation cultivars of pakchoi (*Brassica chinensis* L.) [J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2014, 8(2): 226-238.
- [18] 王璐瑶, 陈睿, 赵守清, 等. 水稻镉积累特性的生理和分子机制研究概述[J]. *植物学报*, 2022, 57(2): 236-249. WANG L Y, CHEN J, ZHAO S Q, et al. Research progress of the physiological and molecular mechanisms of cadmium accumulation in rice[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2022, 57(2): 236-249.
- [19] RODDA M S, LI G, REID R J. The timing of grain Cd accumulation in rice plants: the relative importance of remobilisation within the plant and root Cd uptake post-flowering[J]. *Plant and Soil*, 2011, 347(1/2): 105-114.
- [20] 徐坤, 刘雅心, 成杰民, 等. 蚯蚓对印度芥菜修复 Zn、Pb 污染土壤的影响[J]. *土壤通报*, 2019, 50(1): 203-210. XU K, LIU Y X, CHENG J M, et al. Effects of earthworms on the phytoremediation of Indian mustard for soil contaminated by Zn and Pb[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2019, 50(1): 203-210.
- [21] HOCKMANN K, LENZ M, TANDY S, et al. Release of antimony from contaminated soil induced by redox changes[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 275: 215-221.
- [22] KUZYAKOV Y, BLAGODATSKAYA E. Microbial hotspots and hot moments in soil: concept & review[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 83: 184-199.
- [23] HE M, WANG N, LONG X, et al. Antimony speciation in the environment: recent advances in understanding the biogeochemical processes

- and ecological effects[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2019, 75: 14–39.
- [24] 王丹丹, 巫丽俊, 戴莹, 等. 蚯蚓对锌污染土壤养分状况及锌形态的影响[J]. *土壤*, 2013, 45(6): 1048–1054. WANG D D, WU L J, DAI Y, et al. Effects of earthworm on soil nutrients and Zn chemical forms in Zn contaminated[J]. *Soils*, 2013, 45(6): 1048–1054.
- [25] DRAKE H L, HORN M A. As the worm turns: the earthworm gut as a transient habitat for soil microbial biomes[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2007, 61(1): 169–189.
- [26] JOUQUET P, THI P N, HONG H N, et al. Laboratory investigation of organic matter mineralization and nutrient leaching from earthworm casts produced by *Amyntas khami*[J]. *Applied Soil Ecology*, 2011, 47(1): 24–30.
- [27] ZHANG W, HENDRIX P F, DAME L E, et al. Earthworms facilitate carbon sequestration through unequal amplification of carbon stabilization compared with mineralization[J]. *Nature Communications*, 2013, 4(1): 2576.
- [28] 邵元虎, 张卫信, 刘胜杰, 等. 土壤动物多样性及其生态功能[J]. *生态学报*, 2015, 35(20): 6614–6625. SHAO Y H, ZHANG W X, LIU S J, et al. Diversity and function of soil fauna[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(20): 6614–6625.
- [29] LUBBERS I M, BRUSSAARD L, OTTEN W, et al. Earthworm-induced N mineralization in fertilized grassland increases both N₂O emission and crop-N uptake[J]. *European Journal of Soil Science*, 2011, 62(1): 152–161.
- [30] PINGREE M R A, MAKOTO K, DELUCA T H. Interactive effects of charcoal and earthworm activity increase bioavailable phosphorus in sub-boreal forest soils[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2017, 53(8): 873–884.
- [31] NAHIDAN S, GHASEMZADEH M. Biochemical phosphorus transformations in a calcareous soil as affected by earthworm, cow manure and its biochar additions[J]. *Applied Soil Ecology*, 2022, 170: 104310.
- [32] WANG Y, MA Z, WANG X, et al. Effects of biochar on the growth of apple seedlings, soil enzyme activities and fungal communities in replant disease soil[J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 256: 108641.
- [33] 王盼盼, 郭海峰, 许江环, 等. 湛江沿海盐渍田土壤-稻米系统重金属含量与土壤酶活性的特征及其相关分析[J]. *生态环境学报*, 2021, 30(4): 857–865. WANG P P, GUO H F, XU J H, et al. Characteristics and correlation analysis of heavy metal content and soil enzyme activity in soil-rice system of Zhanjiang coastal salinized farmland[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2021, 30(4): 857–865.
- [34] TENG Y, ZHOU Q. Response of soil enzymes, functional bacterial groups, and microbial communities exposed to sudan I–IV[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 166: 328–335.
- [35] 罗舒文, 甄珍, 李文清, 等. 两种生态型蚯蚓对四环素污染土壤中酶活性和细菌群落结构的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2020, 39(2): 321–330. LUO S W, ZHEN Z, LI W Q, et al. Ecological effects of two earthworms on the enzymic activity and bacterial community structure in tetracycline-contaminated soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(2): 321–330.
- [36] KENAROVA A, RADEVA G, TRAYKOV I, et al. Community level physiological profiles of bacterial communities inhabiting uranium mining impacted sites[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2014, 100: 226–232.
- [37] NIKLINSKA M, CHODAK M, LASKOWSKI R. Characterization of the forest humus microbial community in a heavy metal polluted area[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37(12): 2185–2194.
- [38] BYZOV B A, KHOMYAKOV N V, KHARIN S A, et al. Fate of soil bacteria and fungi in the gut of earthworms[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2007, 43: S149–S156.
- [39] TIUNOV A V, SCHEU S. Microfungal communities in soil, litter and casts of *Lumbricus terrestris* L. (Lumbricidae): a laboratory experiment[J]. *Applied Soil Ecology*, 2000, 14(1): 17–26.
- [40] XIE X, GU S, HAO L, et al. Rhizosphere microbial communities and geochemical constraining mechanism of antimony mine waste-adapted plants in southwestern China[J]. *Microorganisms*, 2022, 10(8): 1507.
- [41] YAN C, WANG F, GENG H, et al. Integrating high-throughput sequencing and metagenome analysis to reveal the characteristic and resistance mechanism of microbial community in metal contaminated sediments[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 707: 136116.
- [42] NGUYEN V K, LEE J. Antimony-oxidizing bacteria isolated from antimony-contaminated sediment: a phylogenetic study[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2015, 32(1): 50–58.
- [43] FAHY A, GILOTEAUX L, BERTIN P, et al. 16S rRNA and As-related functional diversity: contrasting fingerprints in arsenic-rich sediments from an acid mine drainage[J]. *Microbial Ecology*, 2015, 70(1): 154–167.
- [44] 苏倩倩, 李莲芳, 朱昌雄, 等. 蚯蚓/铈改性生物炭对As污染红壤中细菌多样性和群落结构的影响[J]. *环境科学*, 2022, 43(3): 1630–1640. SU Q Q, LI L F, ZHU C X, et al. Effects of earthworms/biochar on bacterial diversity and community in As-contaminated red soil[J]. *Environmental Science*, 2022, 43(3): 1630–1640.
- [45] LIU P, YANG Y, LI M. Responses of soil and earthworm gut bacterial communities to heavy metal contamination[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 265: 114921.
- [46] FANG H, ZHOU W, CAO Z, et al. Combined remediation of DDT congeners and cadmium in soil by *Sphingobacterium* sp. D-6 and *Sedum alfredii* Hance[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2012, 24(6): 1036–1046.
- [47] XU Z, YANG Z, ZHU T, et al. Ecological improvement of antimony and cadmium contaminated soil by earthworm *Eisenia fetida*: soil enzyme and microorganism diversity[J]. *Chemosphere*, 2021, 273: 129496.
- [48] HORN M A, IHSEN J, MATTHIES C, et al. *Dechloromonas denitrificans* sp. nov., *Flavobacterium denitrificans* sp. nov., *Paenibacillus anaericanus* sp. nov. and *Paenibacillus terrae* strain MH72, N₂O-producing bacteria isolated from the gut of the earthworm *Aporrectodea caliginosa*[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55(3): 1255–1265.

(责任编辑:李丹)