

3 种有机酸对伴矿景天修复效率及土壤微生物数量的影响

柏佳^{1,2}, 谭长银^{1,2}, 曹雪莹^{1,2}, 周青^{1,2},
黄硕霈^{1,2}, 彭曦^{1,2}, 邓月强^{1,2}, 孙丽娟^{1,2}

(1.湖南师范大学资源与环境科学学院,长沙 410081;

2.湖南师范大学环境重金属污染机理及生态修复重点实验室,长沙 410081)

摘要:伴矿景天(*Sedum plumbizincicola*)是一种 Cd 和 Zn 的超积累植物,常用于 Cd 污染土壤的植物修复。有机酸能够提高土壤重金属的有效性,促进植物对重金属的积累,对重金属污染土壤的植物修复效率具有强化作用,并对土壤微生物数量有重要影响。以河潮土和红黄泥为供试土壤,探讨了乙二胺四乙酸(EDTA)、柠檬酸、草酸对伴矿景天修复效率和土壤微生物数量的影响。结果表明,有机酸能显著提高土壤有效态 Cd 含量,柠檬酸处理的效果最好,河潮土和红黄泥中有效态 Cd 含量较单种伴矿景天分别增加 72.73%,12.99% ($P<0.05$);伴矿景天地上部 Cd 含量在河潮土和红黄泥中以 EDTA 处理最高,在河潮土和红黄泥中分别比单种伴矿景天增加 99.24%和 33.32%;与单种伴矿景天相比,添加有机酸处理河潮土和红黄泥中伴矿景天修复效率显著提高。添加有机酸比单种伴矿景天显著增加土壤中微生物数量,其中柠檬酸处理河潮土中细菌和真菌数量分别增加 34.38%和 68.42% ($P<0.05$),草酸处理红黄泥中放线菌数量增加 150.00%。研究结果可为重金属污染土壤的植物强化修复提供理论支撑。

关键词:有机酸;伴矿景天;植物修复;微生物数量;重金属有效性;水稻土

中图分类号:X172; X53

文献标识码:A

文章编号:1009-2242(2020)02-0318-07

DOI:10.13870/j.cnki.stbcxb.2020.02.045

Effect of Three Organic Acids on the Remediation Efficiency of *Sedum Plumbizincicola* and Soil Microbial Quantity

BAI Jia^{1,2}, TAN Changyin^{1,2}, CAO Xueying^{1,2}, ZHOU Qing^{1,2},

HUANG Shuopei^{1,2}, PENG Xi^{1,2}, DENG Yueqiang^{1,2}, SUN Lijun^{1,2}

(1.College of Resources and Environmental Science, Hunan Normal University, Changsha 410081; 2. Key Laboratory of Environmental Heavy Metal Pollution Mechanism and Ecology Remediation, Hunan Normal University, Changsha 410081)

Abstract: *Sedum plumbizincicola* is a hyperaccumulator of Cd and Zn, and commonly used for the remediation of Cd-contaminated soil. Organic acids can increase the availability of heavy metals in soil, and enhance the accumulation of heavy metals in plants, and thus increase the plant remediation efficiency of heavy metal-contaminated and influence microbial quantity in soil. In this study, alluvial soil and reddish clay soil were used as test soils, and the effects of EDTA, citric acid, oxalic acid on remediation efficiency of *Sedum plumbizincicola* and soil microbial quantity were discussed. The results showed that organic acid could significantly increase the soil available Cd content, with the best effect given by citric acid. The available Cd contents in alluvial soil and reddish clay soil increased by 72.73% and 12.99% respectively compared to SCK ($P<0.05$). *Sedum plumbizincicola* in planted in two soils treated with EDTA had the highest shoot Cd content, which increased by 99.24% and 33.32% in the alluvial soil and reddish clay soil, respectively. The remediation efficiency of *Sedum plumbizincicola* cultivated in two soils treated with organic acid increased significantly compared with SCK. The application of organic acids increased significantly the quantity of microorganisms in soil compared with SCK, in which citric acid increased the quantity of bacteria and fungi in alluvial soil by 34.38% and 68.42% ($P<0.05$) respectively, and oxalic acid treatment increased the quantity of actinomycetes in reddish clay soil by 150.00%. This study could provide theoretical support for plant enhancement remediation technology used in heavy metal contaminated soils.

收稿日期:2019-08-05

资助项目:湖南省科技计划重点项目(2017NK2141);湖南省国内一流培育学科建设项目(湘政发[2017]3号)

第一作者:柏佳(1994—),男,在读硕士研究生,主要从事土壤环境与农产品安全研究。E-mail: baijhnsd@163.com

通信作者:谭长银(1966—),男,教授,博士生导师,主要从事土壤环境与农产品安全研究。E-mail: chytan@hunnu.edu.cn

Keywords: organic acids; *Sedum plumbizincicola*; phytoremediation; microbial quantity; availability of heavy metal; paddy soil

镉在农田环境中的迁移性强、毒性大,可对农产品安全和人体健康造成威胁,对 Cd 污染土壤的修复一直受到国内外学者^[1]的广泛关注。与土壤重金属污染的物理、化学修复技术相比,植物修复以其成本低、对环境扰动小、二次污染风险小等特点,被认为是最具有前景的修复方式^[2]。但在利用植物修复重金属污染土壤的过程中,土壤重金属有效态含量较低,植物对重金属的积累量少。因此,采取有效措施,增加土壤中有效态重金属的含量,是提高植物修复效率的重要途径^[3]。

已有研究^[4]表明,有机酸能够活化土壤中的重金属,提高土壤中有效态重金属含量,从而促进植物(特别是超积累植物)对重金属的吸收。EDTA 作为一种人工合成的有机酸,在植物修复中被用于提高土壤中 Cd、Zn、Pb 有效态的浓度,促进植物对重金属的吸收转运^[5]。Ebrahimi 等^[6]研究不同浓度的 EDTA 对红心藜修复土壤 Pb 的强化作用表明,EDTA 能提高红心藜对 Pb 的修复效率,其中 3 mmol/kg EDTA 处理红心藜根部 Pb 含量最大,9 mmol/kg EDTA 处理红心藜地上部 Pb 含量最大。天然有机酸主要通过植物根系的分泌和微生物作用产生,含有一个或多个羧基,能够提高有效态重金属的含量,促进植物对重金属的积累^[7]。陈立等^[8]通过不同浓度的有机酸对芥菜富集 Cd 的研究表明,有机酸对 Cd 的活化随浓度升高而增加,草酸促进 Cd 的转运效果优于柠檬酸,转运系数最大为对照组的 144.59%。有机酸能够强化植物对土壤中重金属的积累,但有机酸的种类和土壤的类型都是重要的影响因素。因此,研究有机酸对植物积累不同污染土壤中重金属的影响,可以为提高重金属污染土壤植物修复效率提供依据。

有机酸可以为土壤微生物生长提供所需的能源,而土壤微生物的数量一定程度上反映了土壤环境质量和土壤生态功能多样性^[9]。土壤重金属胁迫能够导致土壤微生物数量减少,以及群落结构稳定性的降低,其中土壤 Cd 污染是导致微生物群落变化的原因之一^[10]。有机酸能够与重金属结合,缓解对微生物的胁迫,也可以被土壤中的微生物当作能源物质吸收,影响土壤中微生物的群落结构。已有关于有机酸强化植物修复土壤重金属污染的研究中,更多的是关注超积累植物提取土

壤中重金属效率,而从机理上对修复过程中有机酸对土壤中微生物数量和群落结构多样性的影响研究鲜有报道。本研究选用 EDTA、柠檬酸、草酸 3 种有机酸作为添加剂,通过盆栽试验探讨不同污染土壤中有有效态 Cd 的变化、伴矿景天对不同污染土壤中 Cd 积累的影响,以及土壤微生物数量和群落结构多样性的变化,旨在为有机酸强化植物修复 Cd 污染土壤,改善植物根际微生物多样性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤采自湖南省醴陵市和株洲县休耕农田,休耕前长期种植双季稻,取表层(0—20 cm)土壤,剔除植物根茎后自然风干,过 2 mm 尼龙筛备用。土壤基本性质见表 1。伴矿景天采自湖南省湘潭市某试验基地,选取长势均匀的健康枝条,剪成 15 cm 左右进行扦插。供试试剂分别为 EDTA、柠檬酸和草酸,均为分析纯试剂。

表 1 供试土壤基本性质

土壤类型	pH	有机质含量/ (g·kg ⁻¹)	全 Cd 含量/ (mg·kg ⁻¹)	有效态 Cd 含量/ (mg·kg ⁻¹)
河潮土	4.70±0.25	36.33±3.03	0.55±0.07	0.28±0.02
红黄泥	4.96±0.34	30.83±2.80	1.85±0.09	1.13±0.05

注:表中数据为平均值±标准差。

1.2 试验设计

盆栽试验选用 12 cm×15 cm 规格的 PVC 圆形花盆,将土壤充分混合均匀后,每盆装土壤 1.0 kg,保持含水量为田间持水量的 70%左右,静置平衡 15 天后扦插处理好的伴矿景天枝条,每盆 4 株,各设置 5 个处理,其中对照(CK)既不种植伴矿景天,也不添加有机酸,单种植物处理(SCK)仅种植伴矿景天,不添加有机酸,剩余 3 个处理均种植伴矿景天。综合考虑已有的研究结果、不同有机酸的性质及伴矿景天的耐受性,确定添加有机酸的添加量为 1 mmol/L,试验设计见表 2。每个处理 3 次重复,共 30 盆,随机区组排列。植物培养于 2018 年 1 月 27 日在湖南长沙某实验室楼顶玻璃房内开始。有机酸充分溶解后,分别于收获前 30 天(4 月 1 日)和收获前 15 天(4 月 16 日)各加入 0.5 mmol/L,CK(CK1、CK2)和 SCK(SCK1、SCK2)各加入等量的水。

表 2 试验设计

土壤类型	对照(CK)	单种伴矿景天(SCK)	伴矿景天+EDTA(SP)	伴矿景天+柠檬酸(SO)	伴矿景天+草酸(SC)
河潮土	CK1	SCK1	SP1	SO1	SC1
红黄泥	CK2	SCK2	SP2	SO2	SC2

1.3 样品采集与处理

试验于 2018 年 1 月 12 日至 4 月 30 日进行。收获时采集伴矿景天地上部,用去离子水冲洗干净,105℃杀青 30 min,70℃烘至恒重,称重,粉碎过 60 目尼龙筛,备用。每盆土壤样品混匀,采集土壤鲜样,混匀后装入自封袋中。一部分土壤鲜样置于 4℃冰箱中,用于测定土壤微生物数量;剩余部分土壤样品自然风干,过 10,60,100 目尼龙筛,备用。

1.4 样品测定

土壤 pH 以土水比为 1:2.5(*m*:*V*)比例提取,采用 PHs-4CT 型数字酸度计测定^[11];土壤有机质含量采用丘林法测定^[12]。

土壤和植物重金属全量测定采用美国 EPA 标准方法(US EPA3051a)消解,以 HNO₃ 和 HCl 消化土壤和植物样品,微波消解仪(CEM MAR S6, Matthews, NC, USA)中消解。土壤有效态 Cd 采用 0.05 mol/L DTPA(pH 7.3±0.2,土液比 1:5)浸提^[12]。重金属含量采用原子吸收光谱仪(PinAAcle 900T(火焰和石墨炉))测定,用国家标准物质(GSS-27-1,GBE-361)进行质量控制。

土壤微生物数量测定采用平板稀释计数法^[13],细菌采用 NB 培养基,真菌采用孟加拉红培养基,放线菌采用 HV 培养基。

1.5 数据处理

采用 SPSS 20.0 软件进行数据处理,运用 Duncan 进行差异显著性检验及 Pearson 相关性分析,使用 Origin 9.0 软件绘图;采用 Shannon 多样性指数、Margalef 丰富度指数、Pieluo 均匀度指数、Simpson 优势度指数等对土壤微生物多样性进行分析。

Shannon 多样性指数: $H' = -\sum P_i \ln P_i$

Margalef 丰富度指数: $M = (S - 1) / \ln N$

Pieluo 均匀度指数: $J = H' / \ln S$

Simpson 优势度指数: $C = \sum (n_i / N)^2$

式中: $P_i = n_i / N$ 。 n_i 为第 *i* 个类群的密度数;*S* 为类群数;*N* 为所有类群的密度数。

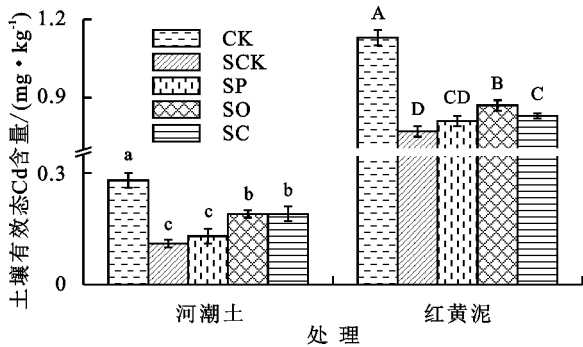
伴矿景天对土壤 Cd 的修复效率计算公式为:

修复效率(%)=(修复前土壤 Cd 全量-修复后土壤 Cd 全量)/修复前土壤 Cd 全量×100%

2 结果与分析

2.1 有机酸对土壤有效态 Cd 含量及 Cd 有效性的影响

由图 1 可知,单种伴矿景天较对照显著降低土壤有效态 Cd 含量,河潮土和红黄泥单种伴矿景天土壤有效态 Cd 含量较对照分别降低 60.71%和 31.86%。有机酸能够提高土壤中有效态 Cd 含量,在河潮土中,有机酸处理的土壤有效态 Cd 含量为 0.11~0.19 mg/kg,与 SCK1 相比,柠檬酸和草酸处理使土壤有效态 Cd 含量均增加了 72.73%(*P*<0.05),而 EDTA 处理增加幅度不明显。在红黄泥中,有机酸处理土壤有效态 Cd 含量为 0.81~0.87 mg/kg,与 SCK2 相比,柠檬酸和草酸处理的土壤有效态 Cd 含量分别提高了 12.99%和 7.80%(*P*<0.05),而 EDTA 处理的土壤有效态 Cd 含量增加效果不明显。



注:图中不同大小写字母表示同一类型土壤中不同处理之间同一指标的差异显著性(*P*<0.05)。下同。

图 1 有机酸对土壤有效态 Cd 的影响

重金属生物有效性可以表示为重金属有效态与其全量比值的百分数,较有效态含量和全量更明确地指示重金属污染对土壤环境的影响。表 3 为土壤 Cd 有效性,与 CK 相比,经过单种伴矿景天修复后,河潮土和红黄泥中 Cd 生物有效性分别降低 23.58%和 8.53%(*P*<0.05)。有机酸处理提高了土壤 Cd 生物有效性。河潮土中,与 SCK1 相比,有机酸处理土壤 Cd 有效性增加 10.72%~26.35%,其中柠檬酸和草酸处理差异显著(*P*<0.05)。红黄泥中,与 SCK2 相比,柠檬酸和草酸处理的土壤 Cd 生物有效性分别增加 14.01%和 15.75%(*P*<0.05),EDTA 处理差异不显著。不同有机酸处理,河潮土 Cd 生物有效性均低于红黄泥,其中柠檬酸处理的 2 种土壤 Cd 生物有效性相差最大为 18.7%。

表 3 土壤 Cd 生物有效性 单位: %

土壤类型	CK	SCK	SP	SO	SC
河潮土	50.91±2.30a	27.33±2.20c	37.60±4.30bc	47.86±5.20ab	53.68±5.40a
红黄泥	61.08±1.80AB	52.55±5.20C	56.00±1.80BC	66.56±1.10A	68.30±2.20A

注:表中不同大小写字母表示同一类型土壤中不同处理之间同一指标的差异显著性(*P*<0.05)。下同。

2.2 有机酸对伴矿景天生物量和 Cd 含量的影响

2.2.1 有机酸对伴矿景天生物量的影响 从图 2 可以看出,在河潮土中有机酸处理的伴矿景天生物量为

6.71~10.39 g/pot,与 SCK1(10.54 g/pot)相比,降低 1.42%~36.34%,表现为 EDTA>草酸>柠檬酸,其中 EDTA 处理差异显著。在红黄泥中,有机酸处理

伴矿景天生物量为 5.93~7.07 g/pot,其中柠檬酸处理伴矿景天生物量最大,但比 SCK2(7.82 g/pot)降低 9.60%;而 EDTA 处理伴矿景天生物量比 CK2 降低 24.17%($P<0.05$)。

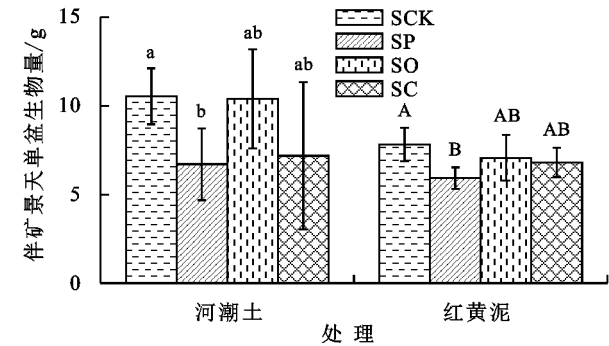


图 2 伴矿景天生物量

2.2.2 有机酸对伴矿景天 Cd 含量的影响 有机酸能够促进伴矿景天对 Cd 的吸收。由图 3 可知,在河潮土中,有机酸处理的伴矿景天地上部 Cd 含量为 33.99~65.67 mg/kg,与 SCK1(32.96 mg/kg)相比,EDTA 和草酸处理均达到显著差异($P<0.05$),其中 EDTA 处理伴矿景天 Cd 含量最大,为 SCK1 的 1.99 倍。在红黄泥中,添加有机酸的处理伴矿景天 Cd 含量均在 266.18 mg/kg 以上,与 SCK2(220.44 mg/kg)相比,有机酸处理的伴矿景天 Cd 含量增加 20.75%~33.31%,各处理差异显著($P<0.05$),其中 EDTA 处理伴矿景天地上部 Cd 含量最大,为 293.89 mg/kg。河潮土和红黄泥中有机酸对伴矿景天积累 Cd 的强化作用均表现为 EDTA>草酸>柠檬酸。

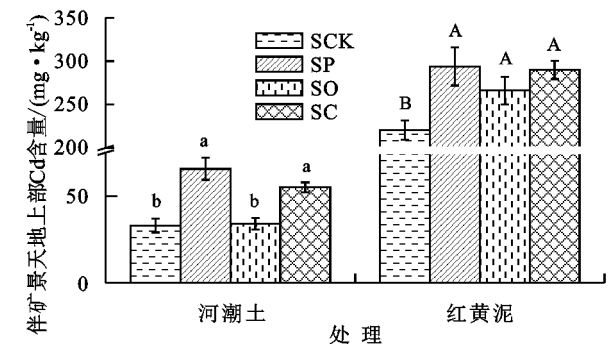


图 3 有机酸对伴矿景天地上部 Cd 含量的影响

2.3 有机酸对土壤 Cd 全量和修复效率的影响

从表 4 可以看出,河潮土中,与 CK1 相比,SCK1 土壤 Cd 全量降低 26.81%($P<0.05$)。有机酸处理的土壤 Cd 全量为 0.34~0.39 mg/kg,与 SCK1 相比,伴矿景天对河潮土中 Cd 的修复效率提高 1.01%~10.34%,其中 EDTA 处理后土壤 Cd 全量最低;另外,草酸处理的土壤 Cd 修复效率提高 8.83%($P<0.05$),而柠檬酸处理差异不显著。红黄泥中,与 CK2 相比,SCK2 土壤 Cd 全量降低 20.79%($P<0.05$)。有机酸处理的土壤 Cd 全量为 1.22~1.45 mg/kg,与 SCK2 相比,伴

矿景天的修复效率提高 1.03%~13.52%,其中草酸和柠檬酸处理后土壤 Cd 全量分别为 1.22,1.31 mg/kg,均显著低于 SCK2($P<0.05$),EDTA 处理土壤 Cd 全量为 1.45 mg/kg,与 SCK2 差异不显著。

表 4 土壤 Cd 全量和伴矿景天对土壤 Cd 的修复效率

土壤类型	处理	土壤 Cd 全量/ (mg · kg ⁻¹)	修复 效率/%
河潮土	CK1	0.55±0.07a	—
	SCK1	0.40±0.02b	26.81±2.09b
	SP1	0.34±0.03c	37.15±1.83a
	SO1	0.39±0.02b	27.82±2.83b
	SC1	0.35±0.01c	35.64±1.93a
红黄泥	CK2	1.85±0.09A	—
	SCK2	1.47±0.08B	20.79±0.32C
	SP2	1.45±0.06B	21.82±0.13C
	SO2	1.31±0.03C	29.35±0.83B
	SC2	1.22±0.04D	34.31±0.94A

2.4 有机酸对土壤微生物数量的影响

2.4.1 土壤微生物数量 单种伴矿景天和不同有机酸对土壤细菌、真菌、放线菌数量影响较大(图 4)。与 CK(CK1、CK2)相比,单种伴矿景天处理显著增加河潮土和红黄泥中细菌的数量,分别增加 77.78%和 130.77%。在河潮土中,与 SCK1 相比,添加有机酸的土壤中细菌数量显著增加,各处理土壤细菌数量为 39×10⁵~43×10⁵ cfu/g 土,其中柠檬酸处理河潮土中细菌数量最多(43×10⁵ cfu/g 土),比 SCK1 增加 34.38%。在红黄泥中,有机酸处理土壤细菌数量为 31×10⁵~35×10⁵ cfu/g 土,比 SCK2 增加了 3.33%~16.67%,但均未达到显著差异。

有机酸处理的土壤真菌数量变化规律和细菌相似,表现为柠檬酸>草酸>EDTA。有机酸处理的河潮土中真菌数量为 16×10³~33×10³ cfu/g 土,其中柠檬酸处理真菌数量最高(33×10³ cfu/g 土)。与 SCK1 相比,柠檬酸和草酸处理土壤真菌数量差异显著,EDTA 使土壤中真菌数量降低 15.79%,但差异不显著。红黄泥中,有机酸对土壤真菌数量的影响与河潮土中一致,但仅有柠檬酸处理的效果显著($P<0.05$),与 SCK2 相比增加 68.42%,草酸处理土壤真菌数量为 22×10³ cfu/g 土,但增加不明显,EDTA 处理土壤真菌数量最低,因为 EDTA 电离出的 H⁺ 数量较多,使土壤酸化,不利于土壤真菌的生长。

由图 4 可知,与 CK1 相比,SCK1 放线菌的数量显著增加($P<0.05$),是 CK1 的 166.67%,而在红黄泥中 SCK2 的土壤放线菌数量则略有减少,但与 CK2 差异不显著。与单种伴矿景天处理相比,有机酸对土壤中放线菌数量增加的效果显著,呈现出草酸>柠檬酸>EDTA 的规律。在河潮土中,有机酸处理的放线菌数量

在 $37\times 10^4\sim 76\times 10^4$ cfu/g 土,与 SCK1 相比,柠檬酸和草酸处理土壤中放线菌数量显著提高,其中草酸处理土壤中放线菌数量最多,比 SCK1 增加了 90%。红黄泥中,有机酸处理土壤中放线菌数量为 $54\times 10^4\sim 75\times$

10^4 cfu/g 土,3 种有机酸处理均显著高于 SCK2,其中草酸处理土壤放线菌数量最多,比 SCK2 增加 150%,柠檬酸和 EDTA 处理效果相近,分别为 54×10^4 cfu/g 土和 57×10^4 cfu/g 土。

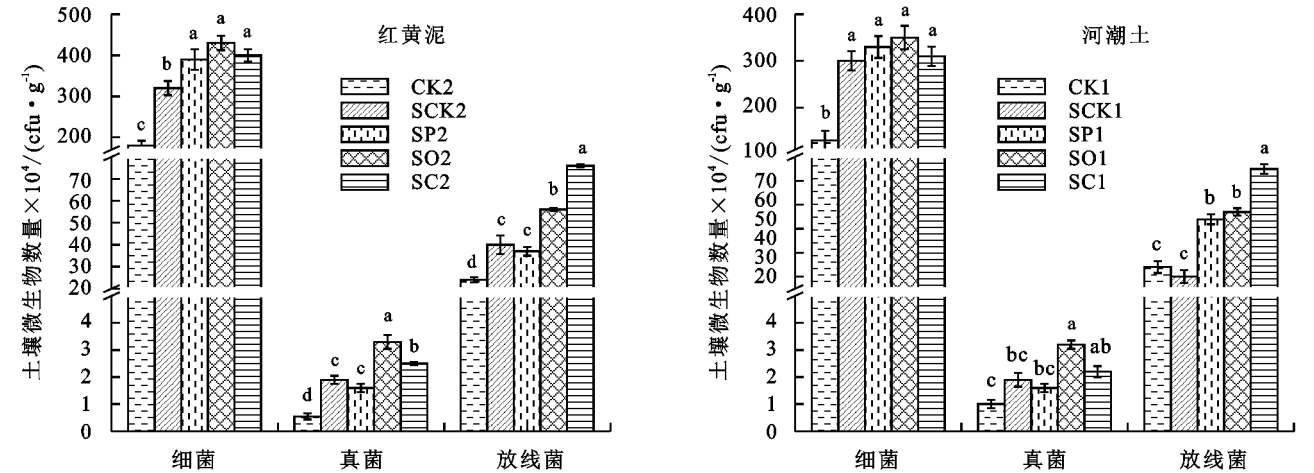


图 4 有机酸对土壤细菌、真菌、放线菌数量的影响

2.4.2 土壤微生物多样性指数特征 土壤环境胁迫使微生物群落稳定性降低,土壤微生物多样性指数可用于表示环境质量的变化,分析群落的稳定性。从表 5 可以看出,与 CK1 相比,单种伴矿景天对河潮土微生物的 H' 和 J 增加效果不明显,但显著降低 M 和 C ($P<0.05$);红黄泥中,单种伴矿景天处理对土壤微生物多样性指数的影响显著,其中优势度指数变化最大,比 CK2 降低 22.22%。在有机酸强化伴矿景天修复 Cd 污染土壤的过程中,土壤微生物多样性降低。河潮土中,草酸和柠檬酸处理的土壤中微生物丰富度指数与 SCK1 差异显著 ($P<0.05$),其他处理的

多样性指数差异均不显著;红黄泥中,草酸和 EDTA 处理土壤微生物多样性特征指数与 SCK2 差异显著 ($P<0.05$),而柠檬酸处理对土壤中微生物多样性影响较小。

通过对土壤有效态 Cd 含量和土壤微生物多样性进行相关分析(表 6)发现,土壤微生物的 H' 和 J 与土壤有效态 Cd 含量呈负相关,其中河潮土中 H' 和 J 均显著负相关,红黄泥中 2 个指标均未达到显著水平。土壤微生物 M 和 C 与土壤有效态 Cd 含量显著正相关,其中红黄泥中的 M 与土壤有效态 Cd 含量呈极显著相关。

表 5 有机酸对土壤微生物多样性的影响

土壤类型	处理	H'	M	J	C
河潮土	CK1	$0.94\pm 0.09b$	$0.52\pm 0.02a$	$0.86\pm 0.08b$	$0.42\pm 0.04a$
	SCK1	$1.06\pm 0.01ab$	$0.44\pm 0.01b$	$0.96\pm 0.01ab$	$0.36\pm 0.01b$
	SP1	$1.03\pm 0.02ab$	$0.44\pm 0.01b$	$0.94\pm 0.02ab$	$0.37\pm 0.01ab$
	SO1	$1.07\pm 0.01a$	$0.41\pm 0c$	$0.98\pm 0.01a$	$0.35\pm 0.01b$
	SC1	$0.99\pm 0.03ab$	$0.40\pm 0c$	$0.90\pm 0.03ab$	$0.41\pm 0.02ab$
红黄泥	CK2	$0.94\pm 0.04c$	$0.49\pm 0.01a$	$0.85\pm 0.03c$	$0.45\pm 0.02a$
	SCK2	$1.08\pm 0.01a$	$0.46\pm 0.01b$	$0.98\pm 0.01a$	$0.35\pm 0.01c$
	SP2	$0.98\pm 0.04bc$	$0.43\pm 0.01c$	$0.89\pm 0.04bc$	$0.41\pm 0.03ab$
	SO2	$1.06\pm 0.01ab$	$0.41\pm 0c$	$0.97\pm 0.01ab$	$0.36\pm 0.01bc$
	SC2	$0.95\pm 0.05c$	$0.41\pm 0.01c$	$0.86\pm 0.04c$	$0.44\pm 0.03a$

注: H' 为 Shannon 多样性指数; M 为 Margalef 丰富度指数; J 为 Pieluo 均匀度指数; C 为 Simpson 优势度指数。下同。

表 6 土壤有效态 Cd 含量与微生物多样性的相关性

土壤类型	H'	M	J	C
河潮土	-0.576 *	0.539 *	-0.700 **	0.558 *
红黄泥	-0.492	0.649 **	-0.492	0.531 *

注: * 表示显著相关 ($P<0.05$); ** 表示极显著相关 ($P<0.01$)。

3 讨论

3.1 有机酸对 Cd 有效性及修复效率的影响

有机酸能够增加土壤中重金属有效态含量,提高重金属生物有效性,促进植物对重金属的转运和富集,提高植物修复效率。本研究表明,向 2 种土壤中

添加柠檬酸和草酸,均促进了伴矿景天对 Cd 的积累,同时显著增加了土壤 Cd 有效性。对伴矿景天 Cd 积累量(Y)与土壤 Cd 有效性(X)之间进行回归分析,得到回归方程: $Y=1.07X-0.217(R^2=0.801, P<0.01)$,可知伴矿景天 Cd 积累量与土壤 Cd 有效性呈显著正相关,说明通过有机酸增加土壤 Cd 有效性,能够显著提高伴矿景天 Cd 积累。对伴矿景天修复效率(y)与伴矿景天 Cd 积累量(x_1)和土壤 Cd 有效性(x_2)之间进行回归分析,得到回归方程: $y=0.108-0.25x_1+0.50x_2(R^2=0.806, P<0.05)$,说明伴矿景天 Cd 积累量和土壤 Cd 有效性对修复效率的影响较大。本试验向土壤中添加有机酸提高了伴矿景天的修复效率,其中草酸对土壤 Cd 有效性和红黄泥中伴矿景天 Cd 积累量提高幅度最大,EDTA 对河潮土中伴矿景天 Cd 积累量提高效果最好。Duarte 等^[14]研究发现,柠檬酸能够显著增加土壤中 Cd、Zn 的生物有效性,植物对 Cd、Zn 的积累量分别比对照增加 65% 和 85%;Onireti 等^[15]通过柠檬酸、草酸、苹果酸对 6 种复合污染土壤中 As、Pb 的活化研究发现,柠檬酸显著提高土壤 As、Pb 的有效性;刘金等^[16]通过 EDTA 强化苎麻修复 Cd/Pb 污染土壤的研究发现,EDTA 能够增加 Cd 的有效性,增幅为 5.3%~42.0%,提高了苎麻的修复效率。有机酸处理提高土壤中 Cd 等重金属的有效态,对伴矿景天生物量产生抑制作用,与黎诗宏等^[17]研究柠檬酸和 EDTA 对龙葵修复 Cd 污染土壤的研究结果一致。本研究中添加 EDTA 虽增加了土壤有效态 Cd 含量,但与单种伴矿景天处理差异不显著,可能是 EDTA 能促进铁锰氧化态 Cd 向可交换态 Cd 转化,而柠檬酸则促进铁锰氧化态 Cd 向可交换态 Cd 和碳酸结合态 Cd 2 种形态转化^[18],导致 DTPA 提取态 Cd 含量增加更显著。有机酸通过质子酸效应和有机酸阴离子络合效应增加土壤中重金属元素的有效态含量,提高土壤中重金属的有效性,但效果受有机酸种类和添加量的影响。

3.2 有机酸对土壤微生物数量的影响

土壤微生物在评价土壤重金属污染方面具有良好的潜力,重金属污染会导致土壤中微生物数量减少,多样性降低^[19]。有机酸能够促进土壤中难溶性矿物的溶解,为微生物生长提供能源物质,缓解重金属对土壤微生物的毒害作用,增加土壤微生物数量。本研究向土壤中添加柠檬酸对细菌和真菌数量的提高效果最好,而草酸对放线菌数量的提高效果最好。刘强等^[20]通过向菌肥中添加柠檬酸研究土壤中微生物数量的变化发现,在 0—20 cm 土层中细菌和放线菌的数量最多比对照增加 232.0% 和 185.7%,在 20—40 cm 土层中放线菌比对照最多增加 864.9%。

有机酸的添加浓度也是影响土壤微生物数量的重要因素,孔涛等^[21]研究显示,随草酸和柠檬酸浓度升高,细菌数量持续增加,真菌数量持续减少,其中在高浓度下(100 mmol/kg)细菌数量分别比对照增加 234.4% 和 181.3%,而放线菌数量在低浓度时被促进,高浓度时被抑制。土壤环境的酸碱性和微生物数量有显著影响,有研究^[21]表明,土壤真菌数量随土壤 pH 降低而减少,放线菌更适合弱碱性环境生长。本试验添加 EDTA 处理的土壤真菌数量低于柠檬酸和草酸,草酸处理的土壤中放线菌数量高于 EDTA 和柠檬酸。这是因为添加的有机酸因含有羧基数不同,其电离的 H^+ 也有差异,电离强度总体上为四元羧酸(EDTA)>三元羧酸(柠檬酸)>二元羧酸(草酸)。

3.3 土壤有效态 Cd 含量与土壤微生物多样性的关系

土壤 Cd 污染能够减少土壤微生物数量,导致土壤微生物群落结构失衡^[22]。本研究对土壤有效态 Cd 和土壤微生物多样性进行相关分析发现,土壤有效态 Cd 含量与多样性指数(H')和均匀度指数(J)呈负相关,与丰富度指数(M)和优势度指数(C)呈显著正相关,说明有效态 Cd 含量越高,土壤中微生物群落结构越单一。重金属污染会对土壤微生物产生毒害,对重金属耐受性较高的微生物存活下来,并逐渐形成优势种群^[19]。Azarbad 等^[23]通过 16S rRNA 技术对重金属污染土壤中微生物群落进行检测发现,重金属污染导致土壤中酸杆菌、放线菌、拟杆菌等微生物的相对丰度发生变化,并且变形菌在土壤中占主要优势。本研究结果显示,伴矿景天修复后,土壤微生物数量增加,导致土壤微生物多样性比修复前提高。但是添加有机酸增加了土壤有效态 Cd 含量,与 SCK 相比,有机酸处理导致土壤微生物多样性一定程度上降低。崔红标等^[24]研究表明,土壤有效态 Cd、Cu 与土壤微生物群落多样性存在显著负相关关系。另外,Wood 等^[25]通过对超积累植物根际微生物群落结构变化的研究发现,土壤 Cd 增加显著降低土壤微生物的多样性和均匀度。因此,土壤微生物多样性不仅与土壤有效态 Cd 含量相关,还受到土壤 Cd 全量的影响。

4 结论

(1) 试验条件下,单种伴矿景天对河潮土和红黄泥中 Cd 的修复效率分别为 26.81% 和 20.79%,与单种伴矿景天处理相比,添加 EDTA 和草酸分别使伴矿景天对河潮土中的修复效率显著提高 10.34% 和 8.83%,添加柠檬酸和草酸分别使伴矿景天对红黄泥中的修复效率显著提高 8.56% 和 13.52%。

(2) 与单种伴矿景天相比,柠檬酸处理的土壤中细菌和真菌数量显著增加,河潮土中分别增加 34.38% 和 73.68%,红黄泥中分别增加 16.67% 和 68.42%。草

酸处理的土壤中放线菌数量增加显著,河潮土中增加 90.00%,红黄泥中增加 150.00%。

(3)与单种伴矿景天相比,添加有机酸能够提高河潮土和红黄泥中有效态 Cd 含量,增加河潮土中重金属淋失的风险,降低土壤微生物多样性。因此,添加有机酸作为伴矿景天修复农田 Cd 污染的强化措施时,需要进一步考虑有机酸可能带来的环境风险。

参考文献:

- [1] 曾希柏,徐建明,黄巧云,等.中国农田重金属问题的若干思考[J].土壤学报,2013,50(1):186-194.
- [2] 杨启良,武振中,陈金陵,等.植物修复重金属污染土壤的研究现状及其水肥调控技术展望[J].生态环境学报,2015,24(6):1075-1084.
- [3] Santos F S, Javier Hernández-Allica, José M. Becerril, et al. Chelate-induced phytoextraction of metal polluted soils with *Brachiaria decumbens*[J].Chemosphere,2006,65(1):43-50.
- [4] 胡亚虎,魏树和,周启星,等.螯合剂在重金属污染土壤植物修复中的应用研究进展[J].农业环境科学学报,2010,29(11):2055-2063.
- [5] Luo J, Qi S H, et al. An evaluation of EDTA additions for improving the phytoremediation efficiency of different plants under various cultivation systems[J].Ecotoxicology,2016,25(4):646-654.
- [6] Ebrahimi M. Enhanced phytoremediation capacity of *chenopodium album* L. grown on Pb-contaminated soils using EDTA and reduction of leaching risk[J].Journal of Soil Contamination,2016,25(6):652-667.
- [7] 刘江,白雪,黄京晶,等.小分子有机酸对紫色土中 Pb 的活化机理研究[J].水土保持学报,2014,28(6):309-313,324.
- [8] 陈立,王丹,龙婵,崔正旭.三种螯合剂对芥菜修复铀镉复合污染土壤的影响[J].农业环境科学学报,2018,37(8):1690-1697.
- [9] 周际海,陈晏敏,吴雪艳,等.黑麦草与施肥对石油-铅-镉复合污染土壤微生物活性的影响[J].水土保持学报,2019,33(1):334-339.
- [10] Zhang C, Nie S, Liang J, et al. Effects of heavy metals and soil physicochemical properties on wetland soil microbial biomass and bacterial community structure[J].Science of the Total Environment, 2016,557/558:785-790.
- [11] 何其辉,谭长银,曹雪莹,等.肥料对土壤重金属有效态及水稻幼苗重金属积累的影响[J].环境科学研究,2018,31(5):942-951.
- [12] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2005.
- [13] 李振高.土壤与环境微生物研究法[M].北京:中国科学出版社,2008.
- [14] Duarte B, Freitas J, Caçador I. The role of organic acids in assisted phytoremediation processes of salt marsh sediments [J].Hydrobiologia,2011,674(1):169-177.
- [15] Onireti O O, Lin C, Qin J. Combined effects of low-molecular-weight organic acids on mobilization of arsenic and lead from multi-contaminated soils[J].Chemosphere,2017,170:161-168.
- [16] 刘金,殷宪强,孙慧敏,等.EDDS 与 EDTA 强化苧麻修复镉铅污染土壤[J].农业环境科学学报,2015,34(7):1293-1300.
- [17] 黎诗宏,梁斌,李忠惠.螯合剂对龙葵修复成都平原 Cd 污染土壤的影响[J].农业环境科学学报,2016,35(10):1917-1922.
- [18] 刘婕,朱宇恩,刘娜,等.EDTA 和柠檬酸对反枝苋 (*Amaranthus retroflexus* L.) Cu 迁移富集影响研究[J].生态环境学报,2015,24(8):1399-1405.
- [19] Xie Y, Fan J, Zhu W, et al. Effect of heavy metals pollution on soil microbial diversity and bermudagrass genetic variation[J].Frontiers in Plant Science,2016,7:775.
- [20] 刘强,姚拓,马晖玲.菌肥与柠檬酸互作对石灰性土壤生物学特性及草坪质量的影响[J].草业学报,2014,23(5):223-230.
- [21] 孔涛,刘民,淑敏,等.有机酸对土壤微生物数量和酶活性的影响[J].环境化学,2016,35(2):348-354.
- [22] 李艳春,李兆伟,林伟伟,等.施用生物质炭和羊粪对宿根连作茶园根际土壤微生物的影响[J].应用生态学报,2018,29(4):1273-1282.
- [23] Azarbad H, Niklinska M, Laskowshir, et al. Microbial community composition and functions are resilient to metal pollution along two forest soil gradients [J].FEMS Microbiology Ecology,2015,91(1):1-11.
- [24] 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.
- [25] Wood J L, Zhang C, Mathews E R, et al. Microbial community dynamics in the rhizosphere of a cadmium hyper-accumulator[J].Scientific Reports,2016,6:36067.