

芹菜与伴矿景天间作对污泥农用锌镉污染土壤化学与微生物性质的影响*

能凤娇^{1,2} 吴龙华^{2**} 刘鸿雁^{1,3} 任婧¹ 刘五星² 骆永明^{2,4}

(¹贵州大学农学院, 贵阳 550025; ²中国科学院南京土壤研究所土壤环境与污染修复重点实验室, 南京 210008; ³贵州大学资源与环境工程学院, 贵阳 550003; ⁴中国科学院烟台海岸带研究所海岸带环境过程重点实验室, 山东烟台 264003)

摘要 采集长期施用污泥导致的锌镉污染菜地土壤, 通过盆栽试验研究芹菜与伴矿景天单作和两者间作模式下连续种植的修复效果. 结果表明: 随着修复次数的增加, 单作处理中的植物生长不良, 而间作处理下伴矿景天生长旺盛; 与芹菜单作和伴矿景天单作相比, 间作处理土壤有机质、速效氮、全氮、全磷显著降低, 而速效钾浓度显著上升, 土壤细菌数量提高 7.9 和 18.4 倍、真菌数量提高 3.7 和 4.3 倍, 但脲酶和过氧化氢酶活性没有明显变化; BIOLOG 结果也显示, 间作处理下土壤微生物碳源利用能力和微生物群落功能多样性指数均显著高于单作处理; 间作处理下土壤中 Zn 和 Cd 全量分别降低 5.8% 和 50.0%, 显著高于单作处理. 表明土壤微生物效应可能是影响植物生长的重要原因之一.

关键词 重金属污染 伴矿景天 芹菜 化学效应 微生物效应

文章编号 1001-9332(2013)05-1428-07 中图分类号 Q948.3 文献标识码 A

Effects of intercropping *Sedum plumbizincicola* and *Apium graveolens* on the soil chemical and microbiological properties under the contamination of zinc and cadmium from sewage sludge application. NAI Feng-jiao^{1,2}, WU Long-hua², LIU Hong-yan^{1,3}, REN Jing¹, LIU Wu-xing², LUO Yong-ming^{2,4} (¹College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, China; ²Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; ³College of Resources and Environmental Engineering, Guizhou University, Guiyang 550003, China; ⁴Key Laboratory of Coastal Zone Environmental Processes, Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, Shandong, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2013, 24(5): 1428-1434.

Abstract: Taking the vegetable soil with zinc- and cadmium contamination from a long-term sewage sludge application as the object, a pot experiment was conducted to study the remediation effect of *Sedum plumbizincicola* and *Apium graveolens* under continuous monoculture and intercropping. With the remediation time increased, both *S. plumbizincicola* and *A. graveolens* under monoculture grew poorly, but *S. plumbizincicola* under intercropping grew well. Under intercropping, the soil organic matter, total N, extractable N, and total P contents decreased significantly while the soil extractable K content had a significant increase, the counts of soil bacteria and fungi increased by 7.9 and 18.4 times and 3.7 and 4.3 times, respectively, but the soil urease and catalase activities remained unchanged, as compared with those under *A. graveolens* and *S. plumbizincicola* monoculture. The BIOLOG ECO micro-plates also showed that the carbon sources utilization level and the functional diversity index of soil microbial communities were higher under intercropping than under monoculture, and the concentrations of soil zinc and cadmium under intercropping decreased by 5.8% and 50.0%, respectively, with the decrements being significantly higher than those under monoculture. It was suggested that soil microbial effect could be one of the important factors affecting plant growth.

Key words: heavy metals contamination; *Sedum plumbizincicola*; *Apium graveolens*; chemical effect; microbial effect.

* 国家自然科学基金项目(41271326)、国家高技术研究发展计划项目(2012AA06A204)、贵阳市社发与民生科技计划项目(筑科合[2012103])和教育部 211 重点学科建设项目(211kst200902)资助.

** 通讯作者. E-mail: lhwu@issas.ac.cn

2012-09-10 收稿, 2013-03-01 接受.

近年来,由于污泥的大量产出及其含有大量植物生长所需营养物质,污泥农用已成为一种有效的处理方式^[1-3]。但是,污泥中也含有大量的重金属等污染物,给土壤带来二次污染问题^[4-6]。陈同斌等^[7]统计分析表明,我国城市污泥中 Cu 和 Zn 是浓度最高的两种元素,分别达到 486 和 1450 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。王宇峰等^[8]对西安 3 个大型污水处理厂污泥的研究发现,污泥中重金属总浓度过高,其中 Zn 超过污泥农用标准 7.4 倍。植物修复技术以其绿色环保被广泛应用于重金属污染的修复研究中。

伴矿景天(*Sedum plumbizincicola*)是一种 Zn、Cd 超积累植物,具有多年生、快速繁殖、生物量大等优点^[9],而芹菜(*Apium graueolens*)是一种根部富集 Zn、Cd 元素但很难向地上部位转移的蔬菜作物^[10]。因此,应用伴矿景天和芹菜进行污泥农用后锌镉污染土壤单作和间作修复试验,可达到高效地边修复边生产的目标。黑亮等^[11]研究发现,利用玉米(*Zea mays*)与超积累植物东南景天(*Sedum alfredii*)套作对污染污泥进行修复,玉米籽粒中的 Zn、Cd、Cu 浓度均符合粮食卫生标准,但东南景天中 Zn、Cd 浓度显著增高,其中 Zn 浓度达到 9910 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。蒋成爱等^[12]研究发现,与玉米和大豆(*Glycine max*)间作的东南景天地上部分吸收 Cd、Pb、Zn 为单作的 1.68 ~ 1.87 倍。本课题组前期研究发现,随着修复次数的增加,单作处理下的伴矿景天和芹菜在连续种植多季后生长状况不良,而间作处理下的伴矿景天生长旺盛。宋尚成等^[13]研究发现,随着西瓜连作年限的增加,土壤中细菌数量逐渐减少,而真菌数量先减少后增加。赵萌等^[14]研究发现,随着西瓜连作年限的增加,真菌数量与脲酶活性呈负相关,细菌数量与脲酶活性呈正相关。植物连作会导致土壤质量下降,其中土壤微生物的数量、种类和结构以及土壤酶活性的变化均影响土壤环境质量^[15]。因此,本研究对各处理的土壤理化性质、细菌与真菌数量、脲酶和过氧化氢酶活性进行测定,并分析土壤微生物群落及多样性变化,以期初步探明单作条件下引起植物生长不良的主要原因,为伴矿景天连续高效修复重金属污染土壤提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤采自浙江宁波某长期施用污泥导致的锌镉污染菜地,将 0 ~ 15 cm 表层土壤风干、过 2 mm 尼龙筛,备用。土壤 pH 为 6.70,有机质 62.1 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,

全量氮、磷、钾分别为 2.86、4.36 和 29.4 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$;全量镉、锌为 0.57 和 606 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;醋酸铵提取态镉、锌分别为 8.02 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 10.6 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

供试芹菜为黄苗实芹,种子购自南京秋田种业研究所;供试伴矿景天种子采自浙江淳安。芹菜在温室内的无污染土壤进行育苗,伴矿景天在基质为蛭石、表面撒有一层珍珠岩的育苗盘中育苗,并用霍格兰营养液进行培育,待幼苗长出 6 片真叶后,挑选生长健壮、长势一致、根系发达的健康植株进行移栽。

1.2 试验设计

盆栽试验在研究所温室进行,共 4 个处理,分别为:1) 不种植物对照(CK);2) 伴矿景天单作(Sed);3) 芹菜单作(Cel);4) 伴矿景天与芹菜间作(S+C)。试验用塑料盆直径 15 cm、高 10.3 cm,每盆装土 1 kg(烘干基),每处理 4 次重复,共 16 盆,随机排列。单作每盆移栽伴矿景天或芹菜苗各 6 株,间作处理则每盆种伴矿景天和芹菜各 3 株,间隔种植。从 2010 年 6 月至 2011 年 9 月在上述处理下连续种植修复 5 次^[16]。修复 5 次后各处理土壤中 Zn、Cd 全量分别是:Sed 处理 534 和 0.34 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;Cel 处理 569 和 0.40 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;S+C 处理 432 和 0.36 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

本试验于 2011 年 12 月 24 日开始,初期因冬季低温植物生长缓慢,2012 年 3 月气温升高后植物生长速度加快。2012 年 1 月 5 日和 3 月 22 日分两次追肥,第一次为每盆尿素 0.4 g、磷酸二氢钾 0.2 g;第二次为每盆尿素 0.25 g、磷酸二氢钾 0.125 g、硫酸钾 0.125 g。

试验所用肥料均为分析纯试剂,浇去离子水保持土壤含水量在田间持水量的 70% 左右。

1.3 样品采集与处理

试验于 2012 年 5 月 13 日收获,采集植物地上部和土壤样品。芹菜和伴矿景天称取鲜质量后分别用自来水、去离子水洗涤,105 $^{\circ}\text{C}$ 杀青 30 min,80 $^{\circ}\text{C}$ 烘干,称量,粉碎,备用。将每盆土壤样品混匀,采集约 200 g 鲜样、混匀、装入密封袋中,立即带回实验室。一部分置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷库中,用于对土壤脲酶和过氧化氢酶以及土壤微生物数量和多样性的测定,剩余部分土壤风干、过 10 目及 100 目尼龙筛,备用。

1.4 测定方法

1.4.1 土壤理化性质测定 鲜土含水量以及土壤 pH、有机质、电导率、速效氮、速效磷、速效钾、全氮、全磷、全钾参照《土壤农化分析》^[17] 进行测定,结果以土壤烘干基计算。土壤重金属全量采用 HCl-HNO₃ (优级纯,体积比 4 : 1) 消化,醋酸铵提取态 Zn、Cd

采用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4\text{OAc}$ (pH 7, 1:5 土液比) 浸提, 原子吸收分光光度计 [Varian SpectrAA 220FS (火焰)、220Z (石墨炉)] 测定. 同时做空白对照, 并采用国家标准参比物质 GSS-4 进行分析质量控制, 测定结果均在标准物质浓度范围内.

1.4.2 土壤脲酶和过氧化氢酶活性测定 过氧化氢酶采用滴定法, 以每克土所消耗的 $0.002 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{KMnO}_4$ 的毫升数表示; 脲酶采用苯酚-次氯酸钠比色法, 以 24 h 后每克土的 NH_4^+-N 的毫克数表示^[18].

1.4.3 土壤细菌和真菌数量测定 细菌和真菌数量测定采用稀释平板计数法, 细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基培养, 真菌采用马丁氏培养基培养 (每 1000 mL 培养基中加 1% 孟加拉红 3.3 mL, 加 1% 链霉素 3 mL)^[19].

1.4.4 土壤微生物群落多样性的 BILOG 分析 在无菌操作室里, 取稀释到 10^{-3} 各处理土壤稀释液 150 μL 分别加到已预热好的 ECO 微平板的 96 孔中, 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱里连续培养 1 周, 每隔 12 h 在 ELISA 微平板读数器上读数一次^[20]. 平均每孔吸光度 $AWCD = \sum (C_i - R) / 31$, 其中: C_i 为第 i 个孔的吸光值; R 为对照孔的吸光值. 代谢多样性指数 $H' = -\sum P_i \ln P_i$, 其中 P_i 为第 i 个孔的相对吸光值与整个平板相对吸光值总和的比值^[21]. Richness 指数即 C_i-R 值, 为大于 0.25 的孔数^[22]. 基于群落物种多样性的 McIntosh 指数 $U = \sqrt{\sum n_i^2}$, 其中, n_i 为第 i 孔的相对吸光值^[23].

1.4.5 植物重金属全量的测定 植物全量 Zn、Cd 采用 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ (优级纯, 体积比 3:2) 消化, 原子吸收分光光度计测定. 同时做空白对照, 并采用国家标准参比物质 GSV-2 进行分析控制, 测定结果均在标准物质浓度范围内.

1.5 数据处理与分析

采用 Excel 2007 和 SPSS 13.0 软件对数据进行相关分析, 用最小显著性差异法 (LSD) 进行显著差异检验 ($\alpha=0.05$).

2 结果与分析

2.1 不同处理植物生物量和土壤锌、镉浓度

相同试验设计下连续修复 6 次后, 间作 (S+C) 处理的伴矿景天生物量显著高于伴矿景天单作 (Sed) 处理 ($P<0.05$) (表 1), 表明芹菜与伴矿景天间作显著增加了伴矿景天的生物量; 但芹菜单作 (Cel) 与间作处理 (S+C) 中芹菜长势不良且其生物

表 1 不同处理芹菜与伴矿景天地上部生物量和土壤重金属浓度

Table 1 Shoot biomass of *Sedum plumbizincicola* and *Apium graeolens* and soil total Zn, Cd concentrations (mean \pm SD)

处理 Treat- ment	植物生物量 Plant biomass (g \cdot pot ⁻¹)		土壤锌、镉全量 Soil total Zn and Cd concentrations (mg \cdot kg ⁻¹)	
	伴矿景天 <i>S. plumbizincicola</i>	芹菜 <i>A. graeolens</i>	Cd	Zn
CK	-	-	0.57 \pm 0.20a	601 \pm 23a
Cel	-	0.21 \pm 0.10a	0.36 \pm 0.03b	551 \pm 4.3b
Sed	0.58 \pm 0.24b	-	0.34 \pm 0.08b	505 \pm 9.5b
S+C	13.6 \pm 3.5a	0.20 \pm 0.03a	0.18 \pm 0.05c	407 \pm 12c

Sed: 伴矿景天单作 *Sedum plumbizincicola* monoculture; Cel: 芹菜单作 *Apium graeolens* monoculture; S+C: 伴矿景天与芹菜间作 *Sedum plumbizincicola* and *Apium graeolens* intercropping. 同列不同字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$) Different letters in the same column indicated significant difference among treatments at 0.05 level. - 无收获 No harvest. 下同 The same below.

量非常小. 在前 5 次修复过程中, 单作种植的伴矿景天和芹菜生物量都出现了明显的下降趋势, 这可能是由于连续修复过程中出现了类似的连作效应, 导致单作植物长势不良, 生物量低下^[24], 而间作处理芹菜生物量较小, 可能是本次试验中伴矿景天生长较快, 而试验开始时芹菜生长较慢并逐渐被伴矿景天遮蔽所致.

与不种植物的 CK 处理相比, 芹菜单作 (Cel)、伴矿景天单作 (Sed)、伴矿景天与芹菜间作处理 (S+C) 土壤 Zn、Cd 浓度都呈下降趋势, 伴矿景天与芹菜间作处理土壤 Zn、Cd 全量显著降低, 连续修复 6 季后, 土壤全量 Cd 浓度分别较 CK 降低 36.8%、40.4%、68.4%, 全量 Zn 浓度分别降低 8.3%、16.0%、34.6%; 且在第 6 次修复中仍可显著吸取污染土壤中 Zn、Cd, 土壤全量 Cd 由 $0.36 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 降至 $0.18 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全量 Zn 由 $432 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 下降至 $407 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 分别下降 50.0% 和 5.8%. 赵冰等^[25] 研究发现, 伴矿景天与小麦间作显著提高了小麦秸秆和籽粒的生物量, 且土壤硝酸钠提取态 Zn、Cd 浓度较小麦单作显著提高, 其中黑土的提取态 Zn 和 Cd 均提高 110%.

2.2 芹菜与伴矿景天地上部锌、镉吸收量

间作处理 (S+C) 中伴矿景天地上部 Zn、Cd 吸收量显著高于单作处理 ($P<0.05$), 且间作处理中芹菜地上部的 Zn、Cd 吸收量低于芹菜单作处理 (Cel) (表 2). 新鲜芹菜中 Zn、Cd 浓度分别为 0.015 和 $49.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 低于国家蔬菜限量标准 (Cd $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、Zn $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 表明芹菜与伴矿

表 2 第 6 次修复时芹菜与伴矿景天地上部锌、镉吸收量
Table 2 Zn and Cd uptake by shoots of *Sedum plumbizincicola* and *Apium graeolens* in the 6th remediation (mean±SD)

处理 Treatment	植物 Plant	Cd ($\mu\text{g} \cdot \text{pot}^{-1}$)	Zn ($\text{mg} \cdot \text{pot}^{-1}$)
Sed	伴矿景天 <i>S. plumbizincicola</i>	0.20±0.08b	0.58±0.24b
Cel	芹菜 <i>A. graeolens</i>	0.24±0.13b	0.27±0.02b
S+C	芹菜 <i>A. graeolens</i>	0.17±0.12b	0.10±0.02b
S+C	伴矿景天 <i>S. plumbizincicola</i>	108±13a	21.7±1.8a

景天间作不但可以促进伴矿景天对 Zn 和 Cd 的吸收,且可降低芹菜地上部对重金属的积累.间作处理(S+C)中每盆伴矿景天地上部的 Zn、Cd 吸收量分别为伴矿景天单作处理的 150 和 37.4 倍,即间作处理(S+C)第 6 次修复时伴矿景天的重金属吸取修复效率最高. Wu 等^[6]发现,将重金属超积累植物与玉米间作,不仅能显著提高超积累植物的重金属吸取效率,且能生产出符合卫生标准的饲料粮食,从而达到边生产边修复的目的.

2.3 土壤理化性质的变化

同一植物修复试验设计下连续种植修复 6 次后,各处理土壤理化性质存在明显变化,各处理 pH 与供试土壤 (pH 6.07) 相比明显降低,这可能与施肥及污泥污染土壤中微生物的酸化作用有关^[26].各处理间土壤电导率没有显著差异,且没有出现盐渍化^[27]现象.与不种植物的对照(CK)处理相比,种植植物的 3 个处理土壤速效氮含量均显著降低,且这 3 个处理间显著差异(表 3),可能是由于植物生长情况不同导致植物对氮素的吸收量不一所致.间作处理(S+C)土壤速效钾含量显著高于其他各处理,可能是由于间作处理的伴矿景天生长旺盛,由植物对钾的活化吸收作用所致. CK 处理土壤全量氮磷钾含量与种植植物的 3 个处理相比明显增高,应是由试验过程中施肥积累所造成.

2.4 土壤微生物数量及酶活性变化

间作处理(S+C)土壤细菌数量显著高于对照(CK)、芹菜单作(Cel)和伴矿景天单作(Sed)处理

(表 4),分别高 19.0、7.9 和 18.4 倍,差异显著.芹菜单作(Cel)处理土壤细菌数量显著高于 CK 和 Sed. 间作处理(S+C)土壤真菌数量显著高于 CK、Cel 和 Sed 处理,分别高 75.1、3.7 和 4.3 倍. CK 处理因长期未种植物,真菌数量显著低于 Cel 和 Sed 处理,而 Cel 和 Sed 处理之间差异不显著,说明伴矿景天和芹菜对污染土壤进行连续修复后,间作处理细菌和真菌数量显著高于单作处理,可促进土壤微生物环境的改善,从而促进植物生长.连续单作后土壤微生物数量显著低于间作处理(S+C),引起土壤质量降低,这可能是影响植物生长的重要原因之一.吴凤芝和王伟^[28]研究发现,大棚番茄的连作会使根际细菌和真菌数量随着连作年限的增加而大量减少;马云华等^[29]研究发现,细菌数量有随连作年限的增加而先增加后减少的现象.因此,连续种植植物后,土壤中微生物数量变化因植物种类的不同而不同.

脲酶是一种酰胺酶,能水解有机分子中的肽键.土壤脲酶活性与土壤微生物和有机质含量呈正相关,所以通常用脲酶活性来表征土壤的氮素情况^[30].过氧化氢是由土壤有机物的生物化学反应和土壤生物呼吸产生,过氧化氢的积累会对土壤产生毒害作用,过氧化氢酶由土壤中的细菌、真菌和根系分泌物产生,可以将过氧化氢分解为水和氧气,从而解除过氧化氢的毒害^[31-32].从表 4 可见,不种植物的 CK 处理脲酶和过氧化氢酶活性最低,Cel、Sed 和 S+C 处理间脲酶活性没有显著差异;Sed 处理的过氧化氢酶活性显著高于 S+C 处理,而 Cel 处理土壤过氧化氢酶活性与 Sed、S+C 差异不显著,说明土壤脲酶活性并不是单作处理植株生长不良的主要原因,而过氧化氢酶活性变化可能部分影响了伴矿景天单作处理下植物的生长.

2.5 土壤微生物群落多样性的 BIOLOG 分析

AWCD 值表示每孔平均吸光度变化,每孔中分别装有不同碳源,颜色的深浅可以反映微生物对碳

表 3 不同处理盆栽土壤的理化性质变化

Table 3 Changes of soil physico-chemical properties in the pot experiment under different treatments (mean±SD)

处理 Treatment	pH	电导率 EC ($\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$)	有机质 OM ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	碱解氮 Available N ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	速效磷 Available P ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	速效钾 Available K ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全氮 Total N ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全磷 Total P ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全钾 Total K ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
CK	4.32±0.05b	2.89±0.70a	59.6±0.3c	2375±143a	226±25b	930±37b	4.17±0.10a	6.46±0.11a	22.2±0.1a
Cel	4.27±0.01b	1.06±0.10bc	71.8±0.5a	1244±14c	277±6a	420±27c	3.35±0.06b	5.90±0.47a	20.1±0.1b
Sed	4.36±0.08ab	1.65±0.10b	63.4±2.4b	1878±52b	257±21ab	630±47c	3.42±0.05b	5.94±0.47a	20.9±1.4b
S+C	4.48±0.03a	0.58±0.03c	55.1±1.5d	616±161d	214±22b	1308±198a	3.00±0.10c	3.74±0.59b	20.2±0.2b

表 4 盆栽土壤微生物数量及酶活性

Table 4 Quantity of microorganism and enzyme activity of soil in the pot experiment (mean±SD)

处理 Treatment	细菌数量 Bacteria ($\times 10^6$ cfu · g ⁻¹)	真菌数量 Fungi ($\times 10^5$ cfu · g ⁻¹)	脲酶活性 Urease activity (mg · 100 g ⁻¹ · 24 h ⁻¹)	过氧化 氢酶活性 Catalase activity (mL · g ⁻¹)
CK	6.27±2.10c	0.02±0.40c	451±142b	1.63±0.14b
Cel	14.1±2.5b	3.75±0.16b	678±18a	1.92±0.55ab
Sed	6.47±1.52c	3.37±1.87b	790±9a	2.18±0.04a
S+C	125±51a	17.7±10.3a	737±63a	1.36±0.20b

源的利用能力,一般认为 AWCD 值变化幅度较大的样品具有较高的碳源利用能力,即具有较高的微生物丰度^[20]。从图 1 可以看出,间作处理的 AWCD 值增加迅速,表明其微生物代谢活性高,微生物丰度较高;相比之下,CK 处理土壤微生物代谢活性最低。土壤微生物活性不仅受外界环境、施肥类型的影响,而且受植物根际分泌物的影响,根际分泌物直接影响到土壤微生物的种类和数量^[33-34]。对照土壤没有种植植物,AWCD 值较低;而芹菜和伴矿景天单作处理的微生物群落多样性明显比间作处理低,说明与间作相比,连续单作土壤的微生物区系发生了较大变化^[23],微生物种群和数量明显降低。

由表 5 可以看出,S+C 处理的土壤微生物功能多样性 Shannon 指数(H')、Richness 指数(S)、McIntosh 指数(U)都显著高于 CK、Cel 和 Sed 处理,说明芹菜与伴矿景天间作使土壤微生物多样性增加,能缓解由于连续种植所造成的对微生物活性和多样性的影响;Cel 和 Sed 处理土壤微生物的 3 个多样性指数差异不明显。说明连续植物修复 6 次后土壤微生物

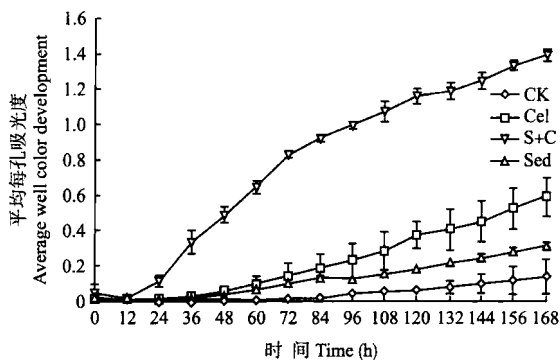


图 1 不同处理 BIOLOG ECO 微平板的 AWCD 值随时间的变化

Fig. 1 Change in AWCD with duration of incubation in BIOLOG ECO plates under different treatments (mean±SD).

Sed: 伴矿景天单作 *Sedum plumbizincicola* monoculture; Cel: 芹菜单作 *Apium graeolens* monoculture; S+C: 伴矿景天与芹菜间作 *Sedum plumbizincicola* and *Apium graeolens* intercropping.

表 5 不同处理对盆栽土壤微生物群落功能多样性指数的影响

Table 5 Effects of different treatments on function diversity indices of soil microbial community in the pot experiment (mean±SD)

处理 Treatment	Shannon 指数 H'	Richness 指数 D	McIntosh 指数 U
CK	1.51±0.31c	0.44±0.19b	0.24±0.10c
Cel	2.25±0.05b	5.00±3.00b	1.74±0.50b
Sed	2.13±0.15b	3.78±2.27b	1.36±0.26b
S+C	2.75±0.11a	15.60±4.60a	6.78±0.49a

物的种群和群落多样性出现明显变化,单作种植模式下的土壤微生物多样性可能遭到了一定的破坏;而 CK 处理土壤微生物种群和群落多样性低则可能是由于土壤持续未种植作物,无法提供微生物必需的碳源等,土壤微生物丰富度下降。

3 讨论

间套种等混作在农业生产中的应用历史悠久,混作可增强作物对土壤养分、水和光等资源的有效利用,从而提高作物产量^[35-37]。用重金属超积累植物与普通作物间作,可达到提高超积累植物的生物量和重金属吸收的效果。本研究发现,将芹菜与超积累植物伴矿景天间作可显著提高超积累植物伴矿景天修复镉污染土壤的效率,间作处理中每盆伴矿景天地上部的 Zn、Cd 吸收量分别为伴矿景天单作处理的 150 和 37.4 倍,间作处理下土壤中 Zn 和 Cd 浓度分别降低 5.8% 和 50.0%,主要是连续修复 6 次后伴矿景天单作处理中伴矿景天长势不良且其生物量非常小,而间作处理中伴矿景天长势旺盛导致。蒋成爱等^[12]研究发现,与大豆和玉米的混作显著增加了东南景天地上部 Zn 和 Pb 的含量,Zn 比各自单作分别增加了 13% 和 22%,而 Pb 比单作分别增加 11.5% 和 24%,与本试验结果一致。

植物的连续种植会出现连作障碍,国内外学者对大豆、棉花、烟草、草莓和黄瓜等作物连作障碍问题进行过大量研究,但研究结果不尽相同,土壤酶活性变化规律因连作年限、取样时间和土壤状况不同而异,土壤酶参与有机质分解和腐殖质形成,是土壤生物活性的综合体现,其活性可作为土壤生物功能多样性的指标,并在一定程度上反映土壤肥力、物质转化和环境的变化^[38]。以往研究表明,随连作年限增加,土壤过氧化氢酶和脲酶活性显著降低^[39]。但是在本研究中,不种植物的 CK 处理脲酶和过氧化氢酶活性最低,而其他各处理间脲酶活性没有显著

差异;Sed 处理的过氧化氢酶显著高于 S+C 间作处理,而其他处理间无显著差异,说明伴矿景天和芹菜的连续种植与不种植植物的 CK 相比并没有引起土壤脲酶活性的显著变化,而过氧化氢酶活性变化有可能部分导致了伴矿景天单作处理下植物的生长不良。

很多研究者发现,连作障碍是由于作物长期连续种植导致土壤微生物群落受到破坏,微生物多样性水平下降,病原拮抗菌数量及种类减少,病原微生物数量增加^[40-41]。本研究发现,S+C 间作处理中土壤细菌数量与 Cel 和 Sed 处理相比分别高 7.9 和 18.4 倍、真菌数量高 3.7 和 4.3 倍,单作处理中的细菌和真菌数量相比间作处理明显降低。BIOLLOG 结果显示,间作处理下土壤微生物碳源利用能力和 Shannon 指数、Richness 指数、McIntosh 指数等均显著高于单作处理;而芹菜和伴矿景天单作处理的微生物群落多样性明显比间作处理低,说明与间作相比,连续单作土壤的微生物区系发生了较大变化,微生物种群和数量明显降低,而芹菜和伴矿景天间作可减缓连作障碍的出现。因此,芹菜和伴矿景天间作对污泥农用锌镉污染土壤可达到边修复边生产的目的,而土壤微生物效应变化可能是影响单作植物生长的重要原因之一。

4 结 论

本研究采用蔬菜作物芹菜与锌镉超积累植物伴矿景天间作修复长期污泥农用导致的锌镉污染土壤。随着修复次数的增加,单作处理中的植株生长不良,而间作处理下伴矿景天生长旺盛。与芹菜单作和伴矿景天单作相比,间作处理土壤养分显著降低,土壤中细菌和真菌数量显著高于两个单作处理,但脲酶和过氧化氢酶活性没有明显变化,间作处理下土壤微生物碳源利用能力和生物多样性指数均显著高于单作处理;间作处理下土壤中 Zn 和 Cd 浓度显著降低。因此,伴矿景天和芹菜间作不仅可显著提高伴矿景天对污泥农用锌、镉污染土壤的修复效率,而且可减缓由于植物连续种植导致的连作效应。

参考文献

- [1] Qin J-F (秦俊芳). The safe disposal of sewage sludge comparison of screening methods. *China Resources Comprehensive Utilization* (中国资源综合利用), 2010 (4): 51-53 (in Chinese)
- [2] Yao J-L (姚金铃), Wang H-Y (王海燕), Yu Y-J (于云江), et al. Pollution status and characteristics of heavy metals in sewage sludge from municipal wastewater

treatment plants. *Research of Environmental Sciences* (环境科学研究), 2010, **23**(6): 676-702 (in Chinese)

- [3] Zheng GD, Chen TB, Gao D, et al. Dynamic of lead speciation during sewage sludge composting. *Water Science Technology*, 2004, **50**: 75-82
- [4] Gao D, Zheng GD, Chen TB, et al. Changes of Cu, Zn and Cd speciation during sewage sludge composting. *Journal Environment Sciences*, 2005, **17**: 975-961
- [5] Zheng G-D (郑国砥), Chen T-B (陈同斌), Gao D (高定), et al. Influence of high temperature aerobic composting treatment on the form of heavy metals in pig manure. *China Environmental Science* (中国环境科学), 2005, **25**(1): 6-9 (in Chinese)
- [6] Wu QT, Hei L, Wong JW, et al. Co-cropping for phyto-separation of zinc and potassium from sewage sludge. *Chemosphere*, 2007, **68**: 1954-1960
- [7] Chen T-B (陈同斌), Huang Q-F (黄启飞), Gao D (高定), et al. Heavy metal concentrations and their decreasing trends in sewage sludge of China. *Acta Scientiae Circumstantiae* (环境科学学报), 2003, **23**(5): 561-569 (in Chinese)
- [8] Wang Y-F (王宇峰), Gao J-F (高俊发), Hou X-F (侯晓峰), et al. Research on heavy metal content and leaching-out toxicity determination and resourceful utilization of sludge. *Applied Chemical Industry* (应用化工), 2008, **37**(5): 576-578 (in Chinese)
- [9] Wu L-H (吴龙华), Zhou S-B (周守标), Bi D (毕德), et al. *Sedum plumbizincicola*: A new species of the crassulaceae from Zhejiang, China. *Soils* (土壤), 2006, **38**(5): 623-633 (in Chinese)
- [10] Liao Q (廖琴), Wang S-L (王胜利), Nan Z-R (南忠仁), et al. Effects of Cd, Pb, Zn and Ni on celery growth and their enrichment and transfer characters in arid oasis soils. *Journal of Arid Land Resources and Environment* (干旱区资源与环境), 2011, **25**(7): 173-177 (in Chinese)
- [11] Hei L (黑亮), Wu Q-T (吴启堂), Long X-X (龙新宪), et al. Effect of co-planting of *Sedum alfredii* and *Zea mays* on Zn-contaminated sewage sludge. *Environmental Science* (环境科学), 2007, **28**(4): 852-858 (in Chinese)
- [12] Jiang C-A (蒋成爱), Wu Q-T (吴启堂), Wu S-H (吴顺辉), et al. Effect of co-cropping *Sedum alfredii* with different plants on metal uptake. *China Environmental Science* (中国环境科学), 2009, **29**(9): 985-990 (in Chinese)
- [13] Song S-C (宋尚成), Zhu F-X (朱凤霞), Liu R-J (刘润进), et al. Effects of straw bio-reactor on microorganism population and soil enzyme activity in the watermelon replant soil. *Microbiology China* (微生物学通报), 2010, **37**(5): 696-700 (in Chinese)
- [14] Zhao M (赵萌), Li M (李敏), Wang M-Y (王森焱), et al. Effect of watermelon replanting on main microflora of rhizosphere and activities of soil enzymes. *Microbiology China* (微生物学通报), 2008, **35**(8): 1251-1254 (in Chinese)
- [15] Li Y-L (李跃林), Peng S-L (彭少麟), Li Z-H (李志辉). Relationship between soil enzyme activities and trace element contents in *Eucalyptus* plantation soil. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报),

- 2003, **14**(3): 345–348 (in Chinese)
- [16] Ren J (任 婧). Soil Zn and Cd Contamination by Sewage Sludge Application and Its Phytoremediation by Intercropping System. Master Thesis. Guiyang: Guizhou University, 2012 (in Chinese)
- [17] Bao S-D (鲍士旦). Analysis of Agricultural Chemistry in Soil. Beijing: China Agriculture Press, 1981 (in Chinese)
- [18] Guan S-Y (关松荫). Soil enzyme and its research methods. Beijing: China Agriculture Press, 1986 (in Chinese)
- [19] Du B-H (杜秉海). Experiment of Microbiology. Beijing: Beijing Agricultural University Press, 1994 (in Chinese)
- [20] Classen AT, Boyl SI, Haskins KE, *et al.* Community-level physiological profiles of bacteria and fungi; Plate type and incubation temperature influences on contrasting soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, **44**: 319–328
- [21] Garland JL. Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology*, 1997, **24**: 289–300
- [22] Rogers BF, Tate RL. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in pine land soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, **33**: 1389–1401
- [23] Zak JC, Willig MR, Moorhead DL. Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, **26**: 1101–1108
- [24] Wu F-Z (吴凤芝), Zhao F-Y (赵凤艳), Liu Y-Y (刘元英). On the reasons of continuous cropping obstacles in vegetable facility gardening. *Journal of Northeast Agricultural University* (东北农业大学学报), 2000, **21**(3): 241–247 (in Chinese)
- [25] Zhao B (赵 冰), Shen L-B (沈丽波), Cheng M-M (程苗苗), *et al.* Effects of intercropping *Sedum plumbizincicola* in wheat growth season under wheat-rice rotation on the crops growth and their heavy metals uptakes from different soil types. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2011, **22**(10): 2725–2731 (in Chinese)
- [26] Chen XY, Wang YP, Lin Q, *et al.* Effect of copper-tolerant rhizosphere bacteria on mobility of copper in soil and copper accumulation by *Elsholtzia splendens*. *Environment International*, 2005, **31**: 861–866
- [27] Sun G-W (孙光闻), Chen R-Y (陈日远), Liu H-C (刘厚诚). Causes and control measures for continuous cropping obstacles in protected vegetable cultivation. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* (农业工程学报), 2004, **21**(14): 184–188 (in Chinese)
- [28] Wu F-Z (吴凤芝), Wang W (王 伟). The study on microbial population in the plastic house tomatoes. *Northern Horticulture* (北方园艺), 1999(3): 1–2 (in Chinese)
- [29] Ma Y-H (马云华), Wei M (魏 珉), Wang X-F (王秀峰). Variation of microflora and enzyme activity in continuous cropping cucumber soil in solar greenhouse. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2004, **15**(6): 1005–1008 (in Chinese)
- [30] Sun B-Y (孙冰玉). Effects of continuous cropping of flue-cured tobacco on the physical and chemical properties and urease activity at the arable layer of soil. *Journal of Anhui Agricultural Sciences* (安徽农业科学), 2010, **38**(4): 1826–1827 (in Chinese)
- [31] Dai W (戴 伟), Bai H-Y (白红英). Correlations of soil catalase activity and its kinetic characteristic with some soil properties. *Journal of Beijing Forestry University* (北京林业大学学报), 1995, **16**(1): 37–40 (in Chinese)
- [32] Chen H (陈 慧), Hao H-R (郝慧荣), Xiong J (熊君). Effects of successive cropping *Rehmannia glutinosa* on rhizosphere soil microbial flora and enzyme activities. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2007, **18**(12): 2755–2759 (in Chinese)
- [33] Wang Y (王 岩), Shen Q-R (沈其荣), Shi R-H (史瑞和). Soil microbial biomass and its ecological effects. *Journal of Nanjing Agricultural University* (南京农业大学学报), 1996, **19**(4): 45–51 (in Chinese)
- [34] Yang F-J (杨凤娟), Wu H-T (吴焕涛), Wei M (魏珉). Effects of rotation and fallowing on the microbial communities and enzyme activities in a solar greenhouse soil under continuous cucumber cropping. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2009, **20**(12): 2983–2988 (in Chinese)
- [35] Liao H (廖 红), Yan X-L (严小龙). Advanced Plant Nutrition. Beijing: Science Press, 2003 (in Chinese)
- [36] Agegnehu G, Ghizaw A, Sinebo W. Yield performance and land-use efficiency of barley and faba bean mixed cropping in Ethiopian highlands. *European Journal of Agronomy*, 2006, **25**: 202–207
- [37] Daellenbach GC, Kerridge PC, Wolfe MS, *et al.* Plant productivity in cassava-based mixed cropping systems in Colombian hillside farms. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2005, **105**: 595–614
- [38] Zhang Y-M (张咏梅), Zhou G-Y (周国逸), Wu N (吴 宁). A review of studies on soil enzymology. *Journal of Tropical and Subtropical Botany* (热带亚热带植物学报), 2004, **12**(1): 83–90 (in Chinese)
- [39] Wu F-Z (吴凤芝), Meng L-J (孟立君), Wang X-Z (王学征). Soil enzyme activities in vegetable rotation and continuous cropping system of under shed protection. *Plant Nutrition and Fertilizer Science* (植物营养与肥料学报), 2006, **12**(4): 554–558 (in Chinese)
- [40] Yang CH, Crowley DE, Menge JA. 16S rDNA fingerprinting of rhizosphere bacterial communities associated with healthy and phytophthora infected avocado roots. *FEMS Microbiology Ecology*, 2001, **35**: 129–136
- [41] Mithfer A. Suppression of plant defence in rhizobia-legume symbiosis. *Trends in Plant Science*, 2002, **7**: 440–444

作者简介 能凤娇,女,1987年生,硕士研究生.主要从事土壤污染与植物修复研究. E-mail: naifengjiao@163.com

责任编辑 肖 红