

重金属污染土壤的植物修复研究^①

II. 金属富集植物 *Brassica juncea* 根际土壤中微生物数量的变化

吴胜春 骆永明 蒋先军 李振高 赵其国 吴龙华 乔显亮 宋 静

(中国科学院南京土壤研究所 南京 210008)

摘 要 本文在盆栽试验的基础上研究了在不同程度的外源重金单一及复合污染下富金属植物印度芥菜(*Brassica juncea*)根际土壤中微生物数量的变化。研究结果表明,根际中细菌的数量明显多于放线菌、真菌。细菌生长对重金属和植物生长最敏感,其次为放线菌。含高镉(200mg/kg)的金属复合污染处理对细菌、放线菌的生长有抑制作用;加铜(250mg/kg)对细菌有刺激效果。在低于重金属致死临界浓度时,植物根系的存在对细菌的数量的影响会大于重金属元素的影响。印度芥菜根际土壤中微生物数量的变化与微生物种类、重金属元素及组合和植物生长有关。

关键词 植物修复;印度芥菜;重金属;根际土壤;微生物

污染土壤的植物修复经常被认为是一种土壤—植物系统中根际微生物的处理过程^[1,2]。业已证明,这种处理过程对降解土壤中的有机污染物质起着重要作用^[3]。土壤中的微生物种类繁多,数量庞大,有的不仅参与土壤中污染物循环过程,而且作为环境载体吸持重金属等污染物^[4,5],因而对污染土壤中重金属的迁移与释放产生影响,从而也就可能左右重金属的植物有效性。虽然有人认为土壤重金属的溶解、释放与死亡微生物残体分解有关^[6],但对这样的关系有待进一步阐明。超积累植物的重金属含量比一般植物高出百倍,甚至千倍^[7]。目前,对这种植物在从土壤中吸收、富集重金属过程中根际土壤微生物的作用如何罕见报道,贡献怎样未作估计。近十年来,鉴于低等生物体对环境因子变化较为敏感^[7,8],随着重金属对土壤微生物的生物量及其他生物生化活性诸如代谢熵、硝化反硝化作用和固氮作用等影响^[9~11]的了解加深,应用微生物学指标评价重金属污染土壤的质量已成为当今土壤环境生物学的研究热点之一。但对于在不同重金属单一或复合污染胁迫下土壤微生物种群数量、区系及多样性指数分析的系统研究鲜见报道。

本文将在前文^[12]的基础上系统分析在不同程度的外源重金属单一及复合污染下富金属植物印度芥菜根际土壤中微生物种群的数量变化,为今后进行微生物区系的分析、微生物污染指标的确定和植物修复的微生物学调控提供科学依据。

1 材料与方 法

供微生物分离研究用的土壤样品为盆栽试验^[13]结束时各处理的新鲜土壤。盆栽试验土壤有种植物(印度芥菜)的和不种植物的两种。种植物的土壤作为根际土壤,不种植物的为非根际土壤。无论是种植物的还是不种植物的,其试验处理都有 9 个,分别为,1)对照,不

① 中国科学院院长特别基金,国家自然科学基金(49871042 和 49831070),江苏省青年科技基金(BQ98050),中国科学院南京土壤研究所土壤圈物质循环开放研究实验室基金和土壤与环境联合开放研究实验室基金项目资助。

加重金属; 2) 加 Zn, 500mg/kg (干土计); 3) Zn 1000mg/kg; 4) Cd 200mg/kg; 5) Pb, 500mg/kg; 6) Cu, 250mg/kg; 7) Zn500+ Cd200mg/kg; 8) Zn 500+ Cd200+ Cu250mg/kg; 9) Zn500+ Cd200+ Cu250+ Pb500mg/kg。种植物的各处理都有 4 次重复, 但不种植物的未设重复。土壤基本性质和盆栽试验方案见前文^[12]。

微生物分离方法和培养基为: 细菌, 牛肉膏蛋白胨琼脂平板表面涂布法; 真菌, 马丁氏 (Martin) 培养基平板表面涂布法; 放线菌, 改良高氏一号合成培养基平板表面涂布法^[13]。

本文非根际土壤各处理的结果为样品 4 份平行样的平均值, 根际土壤各处理的结果为 4 次重复的平均值, 数据经方差分析, 用新复极差法作多重比较。

2 结果与讨论

2.1 富金属植物印度芥菜根际土壤细菌数量的变化

在富金属植物印度芥菜根际土壤中细菌的数量与铜、锌、镉、铅单一或复合污染有关 (图 1), 变幅于 $1.43 \sim 4.96 \times 10^7$ cfu/克干土, 平均为 3.07×10^7 cfu/克干土。如图 1 所示, 根际土壤中, 加铜 (250mg/kg) 处理的细菌数量最大, 锌镉复合处理 (Zn 500+ Cd200mg/kg) 时最小。与对照相比, 锌镉、锌镉铜铅复合和镉单一 (Cd200mg/kg) 处理的细菌数量都显著地减小 ($p < 0.05$); 虽然加铜和加锌 (500mg/kg) 处理的有所增加, 但未达显著水平; 而其余各处理的虽然降低, 但同样未达显著水平。锌含量从 500mg/kg 增加到 1000mg/kg 对细菌数量无显著影响, 然而在加锌 (500mg/kg) 后再加镉处理, 根际土壤中的细菌数量大幅度下降 ($p < 0.05$), 仅占加单锌 (500mg/kg) 处理的 63.6%。再比较单铜和锌镉、铜锌镉复合三处理的结果, 后两者细菌数量明显递减, 只占前者的 54.0% 和 28.8%。从上述结果可见, 本试验条件下, 印度芥菜根际土壤中细菌的数量受铜的刺激作用而增加, 因镉的抑制作用而减小, 也可能因锌镉的交互作用而进一步减小。Fliebbach 等人认为低浓度的重金属能刺激微生物的生长与微生物的活性^[8], 这支持了本实验观察到的单铜处理的结果。镉导致细菌数量下降可能是由于其抑制蛋白酶和水解酶的活性而影响了细菌的正常代谢过程之故^[14]。

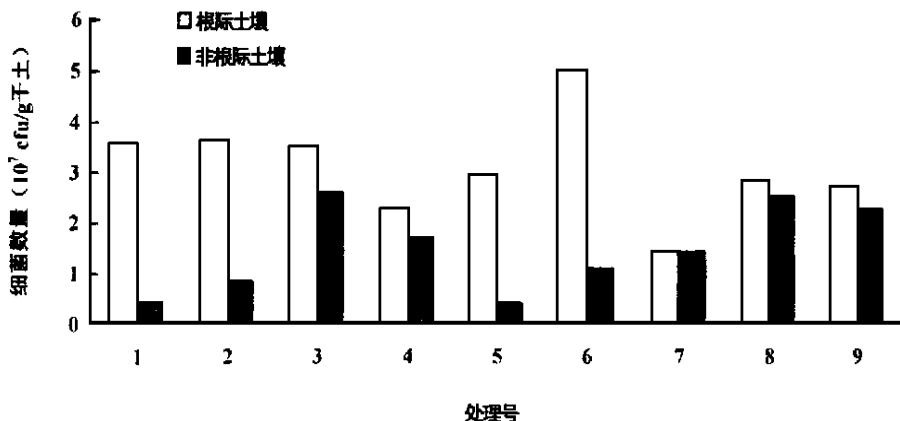


图 1 在重金属胁迫下印度芥菜根际土壤与非根际土壤中细菌数量的变化

(图中处理号: 1: 对照; 2: Zn 500; 3: Zn 1000; 4: Cd 200; 5: Pb 500; 6: Cu 250; 7: Zn 500+ Cd 200; 8: Zn500+ Cd200+ Cu250; 9: Zn500+ Cd200+ Cu250+ Pb500; 金属元素后面为加入剂量, 单位均为 mg/kg (干土计))。

与未种植株的非根际土壤相比较, 种植株的根际土壤各处理的细菌数量较多, 加铜单一

处理的高出最多,达 3.85×10^7 cfu/克干土;其次为对照达 3.11×10^7 cfu/克干土;然后依次为低锌 2.74×10^7 cfu/克干土,单铜(500mg/kg) 2.50×10^7 cfu/克干土,高锌 0.86×10^7 cfu/克干土,单镉 0.55×10^7 cfu/克干土。金属复合处理的最少,均小于 0.50×10^7 cfu/克干土。这种差异趋势与前文报道的处理间植株生物量的差异相一致^[12]。这表明在低于重金属致死临界浓度时,植物生长对土壤中细菌生存与繁殖具有更为重要的意义。这也与 Hoflich 和 Metz 的结果吻合,他们发现植被覆盖对细菌和影响会大于重金属的影响^[15]。对于这种现象,可能的解释是由于重金属前期使土壤中原有的大量金属敏感性细菌死亡后残体分解,加上植物根系提供有机碳源,造成土壤中细菌生长所必需的有机物质来源增加,从而导致了金属非敏感性菌数量^[15,16] 的上升。类似这种细菌数量骤增的现象在经氯仿熏蒸土壤的再接种培育试验中也可观察到^[17]。另外,也不排除金属的胁迫效应造成细菌的生理生化特性发生变异,而使数量增加的可能。

2.2 富金属植物印度芥菜根际土壤放线菌数量的变化

在富金属植物印度芥菜根际土壤中放线菌的数量明显小于细菌的数量,平均为 4.34×10^6 cfu/克干土,变幅于 $3.32 \sim 5.10 \times 10^6$ cfu/克干土,这变化幅度显然比细菌的小(图 2)。如图 2 所示,与细菌变化不同的是,根际土壤中,加铜单一处理的放线菌数量最大,锌镉铜铅复合处理时最小。相同的是,与对照相比,锌镉和锌镉铜铅复合处理的放线菌数量也都显著地减小($p < 0.05$),分别降低 26.7%和 32.4%;虽然加铅单一处理的有所增加,但与其余各处理一样均未达显著水平。锌含量从 500mg/kg 增加到 1000mg/kg 对放线菌数量也无显著影响。值得注意的是,尽管含镉的复合处理间无显著差异,但其放线菌数量在所有处理中都较少。不难看出,印度芥菜根际土壤中放线菌的生长受到含金属镉复合污染或金属间交互作用的抑制,有可能受铅的刺激,但不受铜、锌、镉单一处理的影响;与细菌相比,放线菌对本试验重金属的敏感程度较低。前人也有类似的报道^[4]。

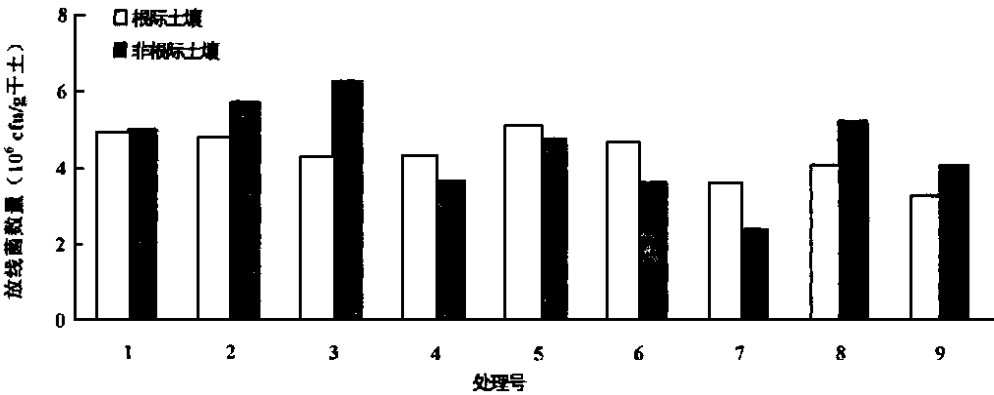


图 2 在金属胁迫下印度芥菜根际土壤和非根际土壤中放线菌数量的变化(图中处理号同图 1)

植物生长或根系的存在对土壤中放线菌数量有正、负效应的影响,视处理而异(图 2)。与非根际土壤相比较,根际土壤的放线菌数量在铜、镉、铅单一和锌镉复合处理中有所增加,而在锌、锌镉铜、锌镉铜铅处理中明显减小,但在对照土壤中非常接近。放线菌的这种变化不同于细菌。

2.3 富金属植物印度芥菜根际土壤真菌数量的变化

在富金属植物印度芥菜根际土壤中真菌的数量比细菌、放线菌的更小,平均为 $1.66 \times$

10^5 cfu/克干土, 变幅于 $1.49 \sim 1.96 \times 10^5$ cfu/克干土, 这变化幅度比放线菌的还要小(图 3)。这可能与作为初级真核生物的真菌对环境的适应力和抗逆性要强于细菌和放线菌这些原核生物^[4]有关。如图 3 所示, 与细菌、放线菌变化不同, 根际土壤中加入铜单一处理的真菌数量最小, 锌镉铜复合处理的最多; 与对照相比, 各处理间真菌的数量变化几乎没有任何显著性差异($p < 0.05$), 但是高锌较低锌、金属复合较单一处理的真菌数量都要高, 这似乎较高重金属浓度对较高等的真菌生长有刺激作用。根际土壤与非根际土壤间的真菌数量没有明显差异, 这表明印度芥菜根际土壤中真菌的生长受该植物生长的影响不大。可见, 真菌对重金属和植物生长或根际效应比放线菌更不敏感。

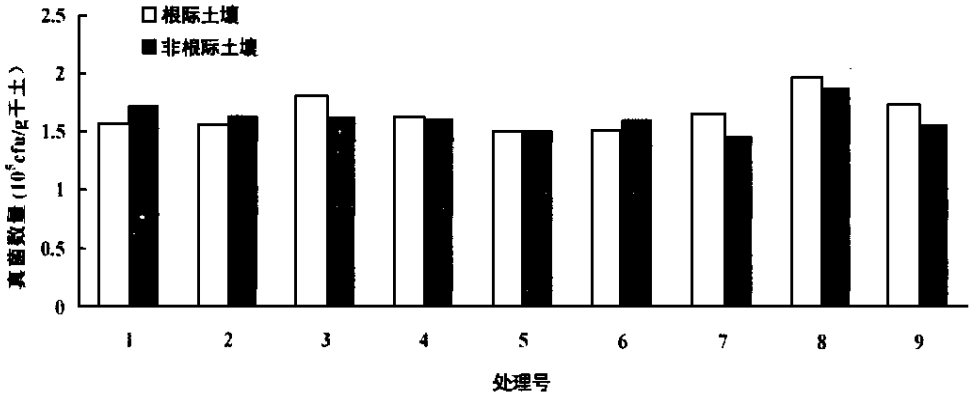


图 3 在金属胁迫下印度芥菜根际土壤和非根际土壤中真菌数量的变化(图中处理号同图 1)

3 结 语

通过本文的研究, 我们认为在富金属植物印度芥菜根际土壤中微生物数量的变化与微生物种群、重金属元素及组合和植物生长有关。细菌的数量大于放线菌、真菌, 表现出对重金属和植物生长最敏感。不同的微生物种群对于不同的重金属胁迫所产生的反应可能与其独特的生物特异性有关。重金属污染的生物抑制或刺激效果还与植物生长相关, 并非一成不变; 在低于重金属致死临界浓度时, 植物根系的存在对微生物尤其是细菌的数量的影响有时会大于重金属元素的影响; 同时复合金属污染的生物毒性不是各单独金属所产生的效应的简单叠加或消减。这与 Milosevic 等研究者(1997)的观点, 即金属污染的生物效应是随不同的生物受体以及不同的环境条件变化而不断波动的^[14]是一致的。对于这样的波动在富金属植物印度芥菜根际土壤中的规律、微生物优势种群细菌的敏感区系的鉴别及其对重金属污染的指示和在植物修复上的应用尚待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 骆永明. 金属污染土壤的植物修复. 土壤, 1999, 31(5): 261~265
- 2 Baker A J M and Brooks R R. Biorecovery, 1989, 1: 81~126

(下转第 98 页)

- 2 Rimmer D L and Luo Y M. *Pedosphere*, 1996, 6: 335~340
- 3 Luo Y M and Rimmer D L. *Environmental Pollution*, 1995, 88: 79~83
- 4 Yan W D, Luo Y M and Christie P. *Pedosphere*, 1998, 8: 135~142
- 5 Luo Y M and Christie P. In: *Proceedings of the Fourth International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements* (Edited by I. K. Iskandar et al.), pp. 229~230, University of California, Berkeley, 1997
- 6 Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. *The Analysis of Agricultural Materials*. MAFF/ADAS Reference Book 427, HMSO, London, 1986
- 7 Ministry of Agriculture, Fisheries and Food/ Department of the Environment, *Review of the Rules for Sewage Sludge Application to Agricultural Land: Soil Fertility Aspects of Potentially Toxic Elements*. Report of the Independent Scientific Committee. MAFF Publications, London, 1993
- 8 Jackson, N E, Corey, J C, Frederick, L R and Picken, J C. *Soil Science Society of America Proceedings* 1967, 31: 491~494
- 9 吴龙华, 骆永明. 根际土壤溶液取样器—介绍一种新型原位土壤溶液采集装置. *土壤*, 1999, 31(1): 54~56



(上接第 78 页)

- 3 骆永明. 污染土—水环境的植物修复——一种绿色净化技术. 迈向 21 世纪的土壤科学, 中国土壤学会编, 2000: 135~138
- 4 许光辉, 李振高编著. 微生物生态学. 东南大学出版社, 1991
- 5 Lester J N. In: *Heavy Metals in Wastewater and Sludge Treatment Processes*. Vol. II. Treatment and Disposal (Edited by J. N. Lester). CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 1987, 15~40
- 6 Luo Y M and Christie P. In: *Proceedings of the Fourth International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements* (Edited by I. K. Iskandar et al.), University of California, Berkeley 1997, 299~230
- 7 Doleman P et al., *Biol. Fertil. Soils*, 1994, 17: 177~184
- 8 Filebbach A et al., *Soil Biol. Biochem.*, 1994, 26: 1201~1205
- 9 Baath E., *Water, Air and Soil Pollution*, 1989, 47: 189~215
- 10 Duxbery T. and Bicknell B. *Soil Biol. Biochem.*, 1983, 15: 243~250
- 11 Chander K. and Brookes P C. *Soil Biol. Biochem.*, 1991, 23: 909~915
- 12 蒋先军等. 重金属污染土壤的植物修复研究. I. 金属富集植物 *Brassica Juncea* 对铜、锌、镉、铜污染的响应. *土壤*, 2000, 32(2): 71~74
- 13 中国科学院南京土壤所微生物室编著. 土壤微生物研究法. 科学出版社, 1985
- 14 Milosevic N. et al., *Acta Horticulturae*, 1997, 462: 133~137
- 15 Hoflich G. and Metz R. *Bodenkultur*, 1997, 48(4): 239~247
- 16 Palmborg C. et al., *Soil Biol. Biochem.* 1998, 30(3): 345~357
- 17 Brookes P C and McGrath S P. *Journal of Soil Science*, 1984, 35: 341~346