

磷灰石联合黑麦修复铜污染土壤研究^①

杜志敏¹, 郭雪白², 甄静¹, 罗宏基³, 周静⁴, 王继雯¹, 岳丹丹¹,
巩涛¹, 杨文玲^{1*}, 陈国参¹

(1 河南省科学院生物研究所有限责任公司, 郑州 450008; 2 郑州工商学院, 郑州 450000; 3 四川长虹格润环保科技股份有限公司, 成都 610404; 4 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

摘要: 通过田间试验研究了不同剂量磷灰石(10、20、30、50 g/kg, 编号分别为 LH1、LH2、LH3 和 LH4)与黑麦联合作用对 Cu 污染土壤的修复效果, 重点考察了磷灰石对黑麦生物量及 Cu 吸收、土壤 pH 及 Cu 形态转化、土壤酶活性、植物生理指标等的影响。试验结果表明, 磷灰石显著提高了土壤 pH、黑麦生物量及其 Cu 吸收量, 显著降低了黑麦地上部分及根系 Cu 含量, 其中 LH3 处理黑麦 Cu 吸收量最高, 达到对照处理的 33.38 倍; 与对照相比, LH1、LH2、LH3 和 LH4 处理土壤可交换态 Cu 含量显著降低了 37.0%、58.9%、89.0% 和 83.3%, 碳酸盐结合态 Cu 含量显著增加了 46.6%、63.1%、78.0% 和 93.3%; 与对照相比, LH2、LH3 和 LH4 处理显著提高了土壤磷酸酶、过氧化氢酶和脲酶活性, 显著提高了黑麦 SOD 和 POD 酶活性, 显著降低了黑麦 MDA 含量。综合而言, 施用 30 g/kg 的磷灰石并种植黑麦能够很好地修复 Cu 污染土壤。

关键词: 磷灰石; 黑麦; 修复; 铜; 土壤酶活性; 植物生理指标

中图分类号: X53 文献标识码: A

随着城市化、工业化进程加快, 及农业集约化的发展, 土壤重金属污染日益严重, 已成为影响我国社会、经济发展的重要环境问题。土壤重金属污染物具有长期性、隐蔽性、表聚性和不可逆转性的特点, 治理和修复难度很大^[1-2]。重金属元素还可通过饮用水和食物链进入人体, 严重危害人类健康。Cu 是生物生长发育所必需的微量营养元素之一, 过量时可造成土壤环境污染, 对动植物及微生物生长产生毒害作用。2014 年我国环境保护部和国土资源部公布的《全国土壤污染状况调查公报》指出, 全国土壤总的超标率为 16.1%, 污染类型以无机型为主, 其中 Cu 的点位超标率达到 2.1%, Cu 污染土壤的修复和治理刻不容缓。

土壤酶是最活跃的土壤有机成分之一, 可表征土壤物质能量代谢程度高低, 是土壤肥力、生态环境质量重要的生化评价指标^[3]。土壤酶活性大小与土壤重

金属污染存在着显著或极显著的相关关系^[4]。环境胁迫下植物常表现出膜脂过氧化, 过氧化强弱可用丙二醛(MDA)含量反映^[5]。此外, 植物的保护酶系统可以清除自由基, 减轻膜脂的氧化程度, 使膜脂免受伤害, 其中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性常被用作鉴定指标^[6]。

重金属污染土壤修复方法包括物理修复、化学修复和生物修复, 其中植物修复是重要的生物修复技术, 具有成本低、环境扰动小、二次污染少、利于景观恢复、能激发微生物等优点, 近年来成为研究热点^[2,7]。牧草具有生物量大、生长迅速等特征, 同时具有良好的生态环境修复作用, 因此牧草修复重金属土壤污染具有良好的应用前景。而施用磷灰石等改良剂的化学固定技术可有效降低土壤中重金属的生物有效性, 为中、重度污染区域植物生长创造条件, 促进植物修复更好地开展, 因此可通过建立“改良剂-植物”联合

基金项目: 国家自然科学基金项目(31800361); 2019 年河南省科学院基本科研业务费项目(190605019); 2017 年河南省科学院基本科研业务费项目(铜尾矿耐性菌株的筛选及其对黑麦草生长影响研究); 2017 年河南省科学院预先研究项目(改良剂对铜镉污染土壤的修复及其对微生物多样性的影响研究); 2016 年河南省科技攻关项目(162102110164); 河南省科学院重大科研聚焦专项(190108003); 2012 年河南省重大科技专项(121100110100)和 2018 年河南省科技开放合作项目(182106000053)资助。

* 通讯作者(yangwenling2016@163.com)

作者简介: 杜志敏(1985—), 女, 河南武陟人, 博士, 助理研究员, 主要从事土壤重金属污染修复研究。E-mail: duzhimin324@163.com

修复体系对重金属污染土壤进行有效治理。前人在利用改良剂修复重金属污染土壤方面,已做了大量研究,但污染土壤多为人为添加重金属^[8],或主要开展了相应的室内试验或盆栽试验^[2,7,9]。本研究在选取改良剂和植物构建联合修复体系时,重点考虑改良剂价格低廉、植物环境适应性强、修复体系易实施、重金属去除率高等方面因素,并选取重金属污染区域进行了相应的田间原位修复试验。本研究选取 Cu 冶炼厂周边的污染土壤,进行为期一年的田间试验,建立“磷灰石-黑麦”联合修复体系,通过考察修复体系对黑麦生物量、黑麦 Cu 吸收、土壤 Cu 形态、土壤酶活性、植物生理指标等的影响,确定磷灰石的最适添加剂量并种植黑麦,对 Cu 污染土壤进行修复。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤:试验选择江西省贵溪市一处 Cu 污染田块,该区域常年受到贵溪某冶炼厂排放的含重金属“三废”的污染,且有明显沙化现象,田块已废弃多年。0~20 cm 耕层土壤基本理化性质为:有机质 16.1 g/kg,全氮 0.86 g/kg,有效磷 68.1 mg/kg,速效钾 41.8 mg/kg,全 Cu 907.0 mg/kg,全 Zn 45.0 mg/kg,全 Pb 59.6 mg/kg,全 As 32.3 mg/kg,pH(土水质量比 1:2.5)5.7,容重 1.31 g/cm³;机械组成(g/kg):2~0.05 mm,626;0.05~0.002 mm,246;<0.002 mm,128。

供试改良剂:磷灰石,购自郑州建材大市场,磷含量约 360 g/kg,pH 为 8.0,Cu 含量 7.59 mg/kg,粒径 0.14 mm。供试复合肥:山东“史丹利”牌(掺混肥料 N、P₂O₅、K₂O 各为 170 g/kg,总养分 510 g/kg)。供试植物:“冬牧 70”牌黑麦(*Secale cereale*),能够耐受并积累 Cu、Zn 等重金属,购自河南秋乐种业科技股份有限公司。

1.2 试验设计

采用随机区组试验设计,共设置 5 个处理,每个处理重复 3 次,共计 15 个试验小区。各小区面积 3 m × 3 m,小区四周田埂用聚乙烯塑料薄膜包裹,使各小区土壤及水流与小区外隔离开。各处理均种植相同量的黑麦,施入相同质量的复合肥,在耕层(0~20 cm)土壤中添加不同剂量磷灰石,磷灰石剂量为 10、20、30、50 g/kg,处理编号分别记为 LH1、LH2、LH3 和 LH4,不添加磷灰石的处理记为 CK。

2016 年 11 月 12 日,布置试验小区,各小区施入相应剂量的磷灰石,并施入 0.6 t/hm² 复合肥,用

耙翻耕使磷灰石和复合肥与耕层土壤充分混匀,浇水至土壤田间持水量的 70%,平衡 1 周。播种催芽后的“冬牧 70”黑麦种子 0.15 t/hm² 并覆上薄土。此后,根据土壤干湿情况适时浇水,各处理小区浇水量保持一致。2017 年 4 月 22 日,在黑麦生长至开始抽穗时(黑麦生长约 5 个月后),在试验小区内按对角线法选取 5 个取样点,每个取样点随机取 10 株黑麦,50 株黑麦混合后成为一个混合植物样品。黑麦地面以上部分记为地上部分,黑麦地面以下部分记为根系,去离子水清洗干净后,用滤纸吸干水分并分别称量混合植物样品地上部分和根系鲜重,取部分混合植物样品测定叶片丙二醛(MDA)含量,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性,另取部分混合植物样品按照杜志敏等^[10]的方法烘干研磨后测定其 Cu 含量。采集黑麦根系的同时,使用抖根法去除非根际土壤,再用刷子将根上剩余土壤刷下作为根际土壤样品,5 个取样点处根际土壤样品混合后成为一个混合土壤样品,自然风干后过 20 目尼龙筛,测定其 pH 和土壤酶活性,并测定土壤可交换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态、有机结合态和残渣态 Cu 含量。采集其余黑麦地上部分和根系样品并分别称量其鲜重,随机取一部分黑麦地上部分和根系样品,105℃ 杀青 30 min,75℃ 烘干至恒重,分别计算黑麦地上部分和根系含水量。各试验小区黑麦地上部分生物量指所有黑麦的地上部分干物质量:包括 50 株混合植物样品的总地上部分鲜物质量×(1-黑麦地上部分含水量),根系生物量指所有黑麦的根系干物质量:包括 50 株混合植物样品的总根系鲜物质量×(1-黑麦根系含水量)。

1.3 样品分析

土壤 pH、黑麦 Cu 含量按鲁如坤^[11]的方法测定。土壤 Cu 形态含量测定按朱婉婉等^[12]的方法测定。植物 MDA 含量,SOD、POD 和 CAT 酶活性采用陈建勋和王晓峰^[13]的方法测定。土壤磷酸酶、过氧化氢酶和脲酶活性采用关松荫^[14]的方法测定。

1.4 数据处理

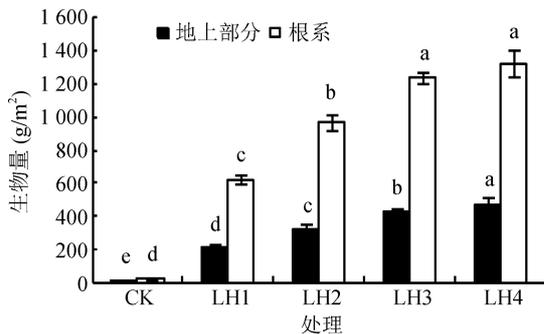
采用 Microsoft Excel 2010 对试验数据进行统计分析和作图,采用 SPSS 19.0 对试验数据进行方差分析。

2 结果与讨论

2.1 磷灰石对黑麦生物量的影响

磷灰石处理后黑麦的生物量变化情况如图 1 所示。对照及施加磷灰石处理的黑麦均能出苗,7~9 d

后对照处理的部分黑麦嫩苗失绿、发黄、根部腐烂直至死亡,表现出典型的 Cu 中毒症状^[15]。同一处理下黑麦根生物量均高于地上部分生物量。对照处理黑麦地上部分和根系生物量均最低,施入磷灰石后黑麦地上部分及根系生物量显著升高,且增加幅度均随磷灰石添加剂量增加而增大。植物受 Cu 毒害最直接的表现是生长受阻和减产^[15-16],试验结果表明随着磷灰石添加剂量增加,黑麦受到 Cu 的毒害作用逐渐减弱。其中磷灰石剂量 50 g/kg(LH4)处理黑麦地上部分和根系生物量增加效果最显著,分别达到对照处理的 30.0 倍和 46.6 倍。



(图中小写字母不同表示黑麦地上部或地下部生物量处理间差异显著 ($P < 0.05$), $n = 3$)

图 1 磷灰石对黑麦生物量的影响
Fig. 1 Effect of apatite on rye biomass

2.2 磷灰石对黑麦 Cu 吸收的影响

表 1 显示了磷灰石对黑麦地上部分和根系 Cu 吸收的影响。同一处理下,黑麦根系 Cu 含量远大于

地上部分 Cu 含量,根系 Cu 吸收量远大于地上部分 Cu 吸收量。这是由于根系是植物受 Cu 毒害的最初部位^[17],过量的 Cu 进入植物体后与有机组分结合生成稳定的配位化合物,大部分积累于根部,不宜向地上部输送^[16,18]。对照处理黑麦地上部分及根系 Cu 含量最高,施入磷灰石后逐渐降低,且降低幅度随着磷灰石添加剂量增加而增大,除 LH1 处理地上部分 Cu 含量与对照间差异不显著外,其余均与对照处理达到显著差异水平 ($P < 0.05$)。Cu 污染土壤施入磷灰石后,虽然黑麦地上部分和根系 Cu 含量降低了,但黑麦生物量增加倍数大于黑麦 Cu 含量降低倍数,综合表现为施入磷灰石显著增加了黑麦地上部分及根系 Cu 吸收量 (Cu 吸收量 = Cu 含量 × 生物量)。地上部分或根系 Cu 吸收量在不同处理间的大小规律均表现为: $CK < LH1 < LH4 < LH2 < LH3$,其中 LH3 处理增加幅度最大,分别达到对照处理的 17.3 倍和 34.5 倍。本研究采用黑麦 Cu 吸收量相对值粗略比较不同处理对污染土壤的修复效率,以对照处理自然修复过程黑麦 Cu 吸收量总和 (即黑麦地上部分和根 Cu 吸收量的总和) 为 1,不同处理与对照处理黑麦 Cu 吸收量总和的比值即为其吸收量相对值。磷灰石添加剂量不高于 30 g/kg 时,Cu 吸收量相对值随磷灰石添加剂量增加而增大,Cu 污染土壤的修复效率逐渐增高,其中 LH3 处理的修复效率最高,达到对照处理的 33.38 倍。LH4 处理的 Cu 污染土壤修复效率为对照处理的 22.58 倍,相对于 LH3 处理有所降低。

表 1 磷灰石对黑麦 Cu 吸收的影响
Table 1 Effect of apatite on Cu accumulation in rye

处理	Cu 含量 (mg/kg)		Cu 吸收量 (mg/m²)		吸收量相对值
	地上部分	根	地上部分	根	
CK	387.95 ± 26.98 a	3 087.70 ± 190.79 a	6.13 ± 0.88 c	87.40 ± 5.37 e	1.00
LH1	350.38 ± 31.10 a	2 815.17 ± 145.20 b	78.36 ± 7.77 b	1 756.09 ± 20.94 d	19.61
LH2	289.11 ± 5.46 b	2 453.40 ± 74.27 c	92.35 ± 6.14 a	2 383.59 ± 141.03 b	26.47
LH3	247.42 ± 16.53 c	2 443.83 ± 50.72 c	105.75 ± 9.34 a	3 016.07 ± 72.90 a	33.38
LH4	201.50 ± 14.80 d	1 527.73 ± 54.82 d	95.96 ± 2.16 a	2 015.71 ± 67.17 c	22.58

注:数据表示平均值 ± 标准差 ($n = 3$);同一列数据小写字母不同表示处理间差异显著 ($P < 0.05$),下表同。

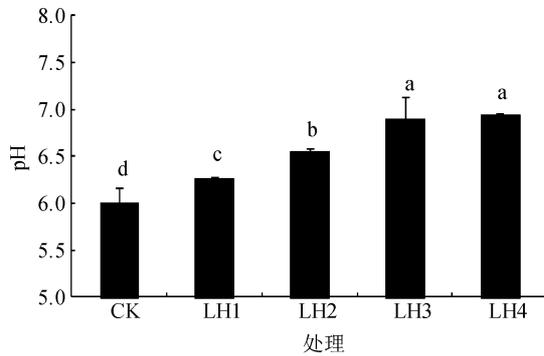
2.3 磷灰石对土壤 pH 及 Cu 化学形态的影响

磷灰石对 Cu 污染土壤 pH 的影响如图 2 所示。对照处理土壤 pH 为 6.0,施入磷灰石后土壤 pH 有不同程度提高,且均与对照处理达到显著差异水平 ($P < 0.05$)。土壤 pH 的提高幅度随着磷灰石添加剂量增加而增大,除 LH3 和 LH4 之间未有显著差异外,其余两两处理之间均达到显著差异水平 ($P < 0.05$)。

Tessier 等^[23]的化学形态连续提取法将土壤重金

属分为可交换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态、有机结合态和残渣态 5 种形态。不同形态重金属的生物可利用性由高到低依次为:可交换态 > 碳酸盐结合态 > 铁锰氧化物结合态 > 有机结合态 > 残渣态^[22]。土壤重金属化学形态提取法分析,能够有效推测重金属有效性控制因素和生成的重金属-盐类沉淀或络合物形式^[24],因此普遍应用于土壤化学分析研究中。

磷灰石对土壤中 Cu 化学形态转化的影响如图 3



(图中小写字母不同表示处理间差异显著 ($P < 0.05$), $n=3$, 下同)

图 2 磷灰石对土壤 pH 的影响

Fig. 2 Effect of apatite on soil pH

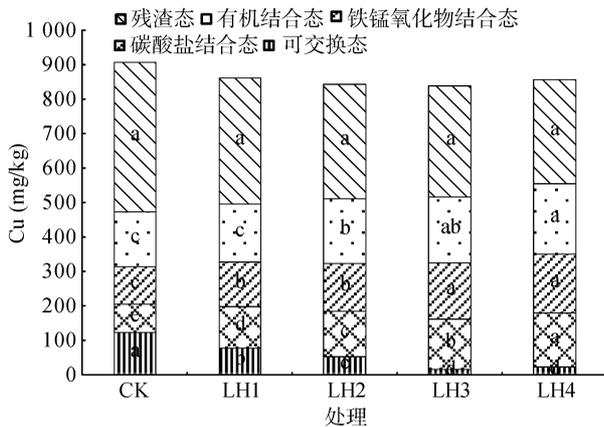


图 3 磷灰石对土壤 Cu 各形态含量的影响

Fig. 3 Effects of apatite on concentrations of different Cu forms in soil

所示。土壤可交换态 Cu 含量对照处理最高, 施入磷灰石后显著降低, 且降低幅度随磷灰石添加剂量增加而增大, 其中 LH3、LH4 处理下土壤可交换态 Cu 含量降低幅度最大, 较对照处理分别降低了 89.0% 和 83.3%。土壤可交换态 Cu 生物有效性最高^[25], 最易被植物吸收, 对植物毒害性最强, 磷灰石处理对可交换态 Cu 含量的降低是黑麦长势变好和生物量提高的主要原因, 这与前期研究^[26]结果类似。土壤碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态 Cu 含量对照处理较低, 施入磷灰石后均有不同程度增加, 且均与对照处理达到显著差异水平 ($P < 0.05$)。与对照处理相比, LH3 处理土壤碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态 Cu 含量分别增加了 78.0% 和 50.7%, LH4 处理土壤碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态 Cu 含量分别增加了 93.3% 和 58.2%。磷灰石对土壤 Cu 化学形态转化影响整体表现为: 降低土壤可交换态 Cu 含量, 增加碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态 Cu 含量, 对有机结合态和残渣态 Cu 含量的影响不显著, 即磷灰石促进土壤 Cu 由生物有效性高的形

态(可交换态)转化为生物有效性低的形态(碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态)。

2.4 磷灰石对土壤酶活性的影响

土壤酶活性对土壤物理性质、化学性质和生物活性等环境变化敏感, 可对土壤环境状况起到一定指示作用, 常用于土壤质量的评价^[27]。重金属抑制土壤酶活性主要有两方面原因: 一方面重金属通过占据土壤酶活性中心或与酶分子基团结合, 破坏酶活性基团空间结构, 抑制酶的催化能力及其酶的合成; 另一方面重金属通过影响土壤微生物的生长繁殖, 减少微生物体内酶的合成和分泌, 间接影响土壤酶活性^[28]。

磷灰石对 Cu 污染土壤磷酸酶、过氧化氢酶和脲酶活性的影响如图 4 所示。对照处理土壤磷酸酶活性最低, 施用磷灰石后土壤磷酸酶活性有不同程度提高, 且提高幅度随磷灰石添加剂量增加而增大。LH2、LH3 和 LH4 处理土壤磷酸酶活性分别达到对照处理的 3.73 倍、4.10 倍和 4.74 倍, 且均与对照处理达到显著差异水平 ($P < 0.05$), 但 3 种处理间未有显著差异。对照处理土壤过氧化氢酶活性为 0.23 ml/g, 施入磷灰石后土壤过氧化氢酶活性均显著提高, 且提高幅度随磷灰石添加剂量增加而增大。与对照处理相比, LH1、LH2、LH3 和 LH4 处理土壤过氧化氢酶活性分别达到对照处理的 3.00 倍、4.36 倍、5.29 倍和 8.50 倍。除了 LH2 和 LH3 处理间未有显著差异外, 其余两两处理间均达到显著差异水平 ($P < 0.05$)。对照处理土壤脲酶活性最低, 施入磷灰石后土壤脲酶活性显著提高, LH1、LH2、LH3 和 LH4 处理土壤脲酶活性分别达到对照处理的 1.57 倍、1.77 倍、2.51 倍和 2.32 倍。研究表明, 磷灰石处理能够显著提高土壤磷酸酶、过氧化氢酶和脲酶活性, 这可能是由于磷灰石提高了 Cu 污染土壤 pH, 与 Cu 形成了稳定的重金属磷酸盐矿物沉淀, 降低了土壤中 Cu 的活性, 减轻了 Cu 对土壤酶活性的抑制作用^[20-21]; 其次, 土壤 Cu 生物活性降低后, 土壤微生物群落结构发生变化, 且微生物生长繁殖增强, 间接提高了土壤酶活性^[30-32]; 再次, 随着磷灰石对黑麦生长的促进, 黑麦根系分泌物、凋落物、腐烂根系等增多, 间接促进了土壤酶活性的提高。

2.5 磷灰石对植物生理指标的影响

磷灰石对黑麦 MDA 含量和 SOD、POD、CAT 酶活性的影响如图 5 所示。对照处理黑麦 MDA 含量最高, 施用磷灰石后黑麦 MDA 含量有不同程度降低, 降低幅度随磷灰石添加剂量增加而增大, LH2、LH3

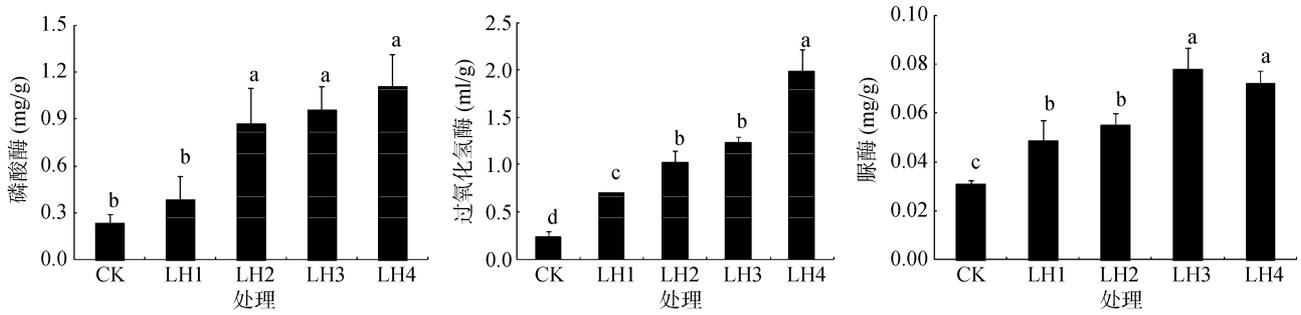


图 4 磷灰石对土壤酶活性的影响

Fig. 4 Effects of apatite on activities of soil enzymes

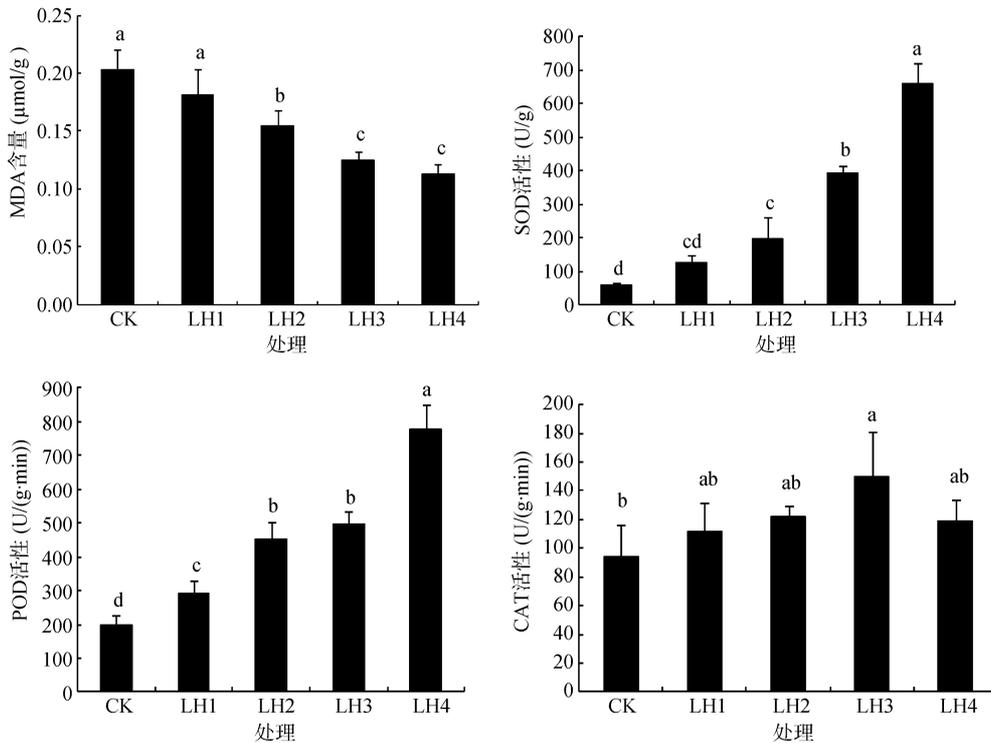


图 5 磷灰石对黑麦 MDA 含量和 SOD、POD、CAT 酶活性的影响

Fig. 5 Effects of apatite on MDA content and activities of SOD, POD and CAT of rye

和 LH4 处理黑麦 MDA 含量与对照相比分别降低了 24.2%、38.5% 和 44.4%，均与对照达到显著差异水平 ($P < 0.05$)。MDA 含量是膜脂过氧化程度强弱的重要指标，当植物受重金属等环境胁迫增强时，MDA 含量常表现为增加^[3]。本试验中土壤活性态 Cu 含量随磷灰石添加剂量增加而降低，Cu 对黑麦的胁迫程度逐渐降低，因此 MDA 含量呈下降趋势。植物 SOD、POD 和 CAT 酶属于植物抗氧化酶系统，能使植物对逆境产生防御功能^[4]。植物抗氧化酶活性在低浓度重金属胁迫时常表现为增加，但当重金属胁迫过重时，其毒害作用会使酶失活、变性，甚至被破坏，酶活性会受到抑制而降低^[33-34]。对照处理黑麦 SOD 和 POD 酶活性均最低，施入磷灰石后酶活性逐渐提高，且提高幅度均随磷灰石添加剂量增加而增大。LH2、LH3 和

LH4 处理黑麦 SOD 酶活性分别达到对照处理的 3.37 倍、6.66 倍和 11.18 倍，均与对照达到显著差异水平 ($P < 0.05$)；LH1、LH2、LH3 和 LH4 处理黑麦 POD 酶活性分别达到对照处理的 1.45 倍、2.26 倍、2.49 倍和 3.89 倍，均与对照达到显著差异水平 ($P < 0.05$)。对照处理黑麦 CAT 酶活性最低，LH3 处理与对照相比显著提高，达到对照处理的 1.59 倍，而 LH1、LH2 和 LH4 处理均未与对照形成显著差异。该试验结果表明对照处理黑麦受重金属 Cu 胁迫最重，植物酶活性受到严重抑制，而随着磷灰石添加剂量增加，黑麦 SOD、POD 酶均呈现上升趋势，表明随磷灰石剂量增加，黑麦受 Cu 胁迫程度逐渐减轻，SOD、POD 酶活性受抑制程度降低，且黑麦 CAT 酶对 Cu 胁迫的敏感程度略低于 SOD 和 POD 酶。

2.6 土壤 pH、Cu 含量与植物 Cu 含量、土壤酶活性、植物生理指标的相关性分析

利用 SPSS 软件对污染土壤 pH、Cu 含量与植物 Cu 含量、土壤酶活性和植物生理指标进行相关性分析(表 2)。结果显示,在本试验 Cu 污染土壤 pH 范围内(6.0~6.9),土壤 pH 与黑麦地上部分和根系 Cu 含量均呈极显著负相关关系($P<0.01$),相关系数分别为 -0.889 和 -0.796;与土壤脲酶、磷酸酶和过氧化氢酶活性均呈极显著正相关关系($P<0.01$),相关系数分别为 0.937、0.886 和 0.863;与黑麦 SOD、POD、CAT 酶活性呈显著或极显著正相关关系,相关系数分别为 0.856、0.850 和 0.625;与黑麦 MDA 含量呈极显著负相关关系,相关系数为 -0.926。这表明 pH 范围为 6.0~6.9 的 Cu 污染土壤,土壤 pH 升高能促进土壤 Cu 由生物活性高的形态向生物活性低的形态转化,从而减少植物体 Cu 含量,降低 Cu 对土壤酶及植物

生理的毒性。这与邹富桢等^[7]研究的 4 种有机-无机混合改良剂对重金属污染土壤的修复研究结果一致;杜志敏等^[10, 26]在前期研究中也发现石灰、磷灰石等改良剂可有效提高土壤 pH 并降低土壤 Cu 生物活性,从而减少植物体 Cu 含量,增加土壤酶活性。磷灰石是常见的基肥,可增加土壤磷元素含量,并存在表面吸附和络合作用,能增加土壤表面负电荷,增加重金属的吸附量^[19-21]。此外,磷灰石作为常见的碱性改良剂,其对土壤中 Cu 行为的影响还通过提高土壤 pH 来实现。土壤 pH 提高,一方面土壤溶液中氢离子浓度降低,氢离子对碳酸盐、有机质和铁锰氧化物等重金属吸附载体的竞争作用减弱,吸附载体与重金属结合更为牢固,重金属的生物有效性降低;另一方面,土壤表面可变负电荷增加,促进了土壤胶体对重金属离子的吸附,降低了吸附态重金属的解析量^[19, 22]。

表 2 土壤 Cu 含量、pH 与土壤酶活性、植物生理指标的相关性分析
Table 2 Correlation coefficients between soil Cu content, pH and soil enzyme activities, plant physiological indexes

	植物 Cu 含量		土壤酶活性			植物生理指标			
	地上部分	根系	脲酶	磷酸酶	过氧化氢酶	SOD	POD	CAT	MDA
土壤 pH	-0.889**	-0.796**	0.937**	0.886**	0.863**	0.856**	0.850**	0.625*	-0.926**
土壤全 Cu	0.631*	0.450	-0.587*	-0.523*	-0.458	-0.394	-0.472	-0.448	0.424
土壤可交换态 Cu	0.944**	0.830**	-0.927**	-0.888**	-0.902**	-0.837**	-0.873**	-0.593*	0.906**

注: * 表示相关性达到 $P<0.05$ 显著水平, ** 表示相关性达到 $P<0.01$ 显著水平, $n=12$ 。

土壤全 Cu 含量与黑麦地上部分 Cu 含量呈显著正相关关系($P<0.05$),相关系数为 0.631,而与黑麦根部 Cu 含量无显著相关关系;土壤可交换态 Cu 含量与黑麦地上部分和根系 Cu 含量均呈极显著正相关关系($P<0.01$),相关系数分别为 0.944 和 0.830。这也验证了化学分级法中的可交换态重金属可较好反映土壤重金属的生物有效性和移动性^[25],更易被植物体吸收,对植物产生的毒害作用更强。土壤全 Cu 含量与土壤脲酶活性和磷酸酶活性均呈显著负相关关系($P<0.05$),而与土壤过氧化氢酶活性未达到显著相关关系;土壤可交换态 Cu 含量与土壤脲酶、磷酸酶和过氧化氢酶活性均呈极显著负相关关系($P<0.01$),相关系数分别达到 -0.927、-0.888 和 -0.902。土壤全 Cu 含量与植物生理指标无显著相关关系,土壤可交换态 Cu 含量与黑麦 SOD、POD 酶活性均呈极显著负相关关系($P<0.01$),与黑麦 CAT 酶活性呈显著负相关关系($P<0.05$),与黑麦 MDA 含量呈极显著正相关关系。这与杜志敏等^[15]前期研究结果一致,进一步验证土壤可交换态 Cu 毒性较大,显著影响土壤酶活性、植物酶活性和植物 MDA 含量,因而在研究土

壤酶活性及植物生理指标影响因素时,重金属形态分析比直接使用重金属全量更为准确。

3 结论

1)本试验 Cu 污染土壤施用磷灰石能显著提高黑麦地上部分及根系生物量,并增加黑麦地上部分及根系 Cu 吸收量, LH1、LH2、LH3 和 LH4 处理黑麦 Cu 吸收量相对值分别达到对照处理的 19.61 倍、26.47 倍、33.38 倍和 22.58 倍,其中 LH3 处理下 Cu 污染土壤修复效率最高。

2)本试验 Cu 污染土壤施用磷灰石显著提高了土壤 pH,促进土壤 Cu 由生物有效性高的可交换态向生物有效性低的碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态转化。与对照处理相比,施用 20~50 g/kg 磷灰石后,土壤磷酸酶、过氧化氢酶和脲酶活性均显著提高,黑麦 MDA 含量显著降低,黑麦 SOD 和 POD 酶活性均显著提高。

3)土壤 pH 与土壤酶活性、植物酶活性均呈显著或极显著正相关关系,与黑麦 MDA 含量呈极显著负相关关系。土壤可交换态 Cu 含量与土壤脲酶、磷酸

酶和过氧化氢酶活性均呈极显著负相关关系,与黑麦 SOD、POD、CAT 酶活性呈显著或极显著负相关关系,与黑麦 MDA 含量呈极显著正相关关系。

4)以黑麦生物量及 Cu 吸收、土壤 Cu 形态转化、土壤酶活性、植物生理指标作为 Cu 污染土壤修复效果评价指标,施用 30 g/kg 的磷灰石并种植黑麦的联合修复方法对本试验 Cu 污染土壤修复效果最优。施用磷灰石并种植黑麦的联合修复方法实施简单、修复效率高、材料价格低廉、材料易得、适应性广,适宜在偏酸性重金属污染土壤上推广应用。

参考文献:

- [1] Puschenreiter M, Stöger G, Lombi E, et al. Phytoextraction of heavy metal contaminated soils with *Thlaspi goesingense* and *Amaranthus hybridus*: Rhizosphere manipulation using EDTA and ammonium sulfate[J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2015, 164(6): 615–621
- [2] 李磊, 陈宏, 潘家星, 等. 改良剂对红蛋植物修复污染土壤重金属铅和镉效果的影响[J]. 生态环境学报, 2010, 19(4): 822–825
- [3] 赵菲佚, 翟禄新, 陈莹, 等. Cd Pb 复合处理下对植物膜的伤害初探[J]. 兰州大学学报(自然科学版), 2002, 38(2): 115–120
- [4] 林义章, 徐磊. 铜污染对高等植物的生理毒害作用研究[J]. 中国生态农业学报, 2007, 15(1): 201–204
- [5] 骆永明. 金属污染土壤的植物修复[J]. 土壤, 1999, 31(5): 261–265, 280
- [6] 韦朝阳, 陈同斌. 重金属污染植物修复技术的研究与应用现状[J]. 地球科学进展, 2002, 17(6): 833–839
- [7] 邹富桢, 龙新宪, 余光伟, 等. 混合改良剂钝化修复酸性多金属污染土壤的效应——基于重金属形态和植物有效性的评价[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(9): 1787–1795
- [8] 陈杰, 宋靖珂, 张晶, 等. 不同钝化剂对铜污染土壤原位钝化修复[J]. 土壤, 2016, 48(4): 742–747
- [9] 许剑臣, 李晔, 肖华锋, 等. 改良剂对重金属复合污染土壤的修复效果[J]. 环境工程学报, 2017, 11(12): 6512–6517
- [10] 杜志敏, 郝建设, 周静, 等. 四种改良剂对铜和镉复合污染土壤的田间原位修复研究[J]. 土壤学报, 2012, 49(3): 508–517
- [11] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999: 12–212
- [12] 朱熹婉, 沈壬水, 钱钦文. 土壤中金属元素的五个组分的连续提取法[J]. 土壤, 1989, 21(3): 163–166
- [13] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 2 版. 广州: 华南理工大学出版社, 2006: 54–76
- [14] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 294–327
- [15] 杜志敏, 郭雪白, 王继雯, 等. 石灰与黑麦草对 Cu 污染土壤的修复及对微生物群落的影响[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(3): 515–521
- [16] 黄细花, 赵振纪, 刘永厚, 等. 铜对紫云英生长发育影响的研究[J]. 农业环境保护, 1993, 12(1): 1–6
- [17] Yoon J, Cao X D, Zhou Q X, et al. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site[J]. Science of the Total Environment, 2006, 368(2/3): 456–464
- [18] 康立娟, 赵明宪, 赵成爱. 铜对水稻的影响及迁移积累规律的研究[J]. 广东微量元素科学, 1999, 6(4): 43–44
- [19] 张茜, 徐明岗, 张文菊, 等. 磷酸盐和石灰对污染红壤与黄泥土中重金属铜锌的钝化作用[J]. 生态环境, 2008, 17(3): 1037–1041
- [20] Cao R X, Ma L Q, Chen M, et al. Phosphate-induced metal immobilization in a contaminated site[J]. Environmental Pollution, 2003, 122(1): 19–28
- [21] Cao X D, Ma L Q, Rhue D R, et al. Mechanisms of lead, copper, and zinc retention by phosphate rock[J]. Environmental Pollution, 2004, 131(3): 435–444
- [22] 雷鸣, 廖柏寒, 秦普丰. 土壤重金属化学形态的生物可利用性评价[J]. 生态环境, 2007, 16(5): 1551–1556
- [23] Tessier A, Campbell P G C, Bisson M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals[J]. Analytical Chemistry, 1979, 51: 844–851
- [24] Yang J, Mosby D. Field assessment of treatment efficacy by three methods of phosphoric acid application in lead-contaminated urban soil[J]. Science of the Total Environment, 2006, 366: 136–142
- [25] 章明奎, 方利平, 周翠. 污染土壤重金属的生物有效性和移动性评价: 四种方法比较[J]. 应用生态学报, 2006, 17(8): 1501–1504
- [26] 杜志敏, 郝建设, 周静, 等. 四种改良剂对 Cu、Cd 复合污染土壤中 Cu、Cd 形态和土壤酶活性的影响[J]. 生态环境学报. 2011, 20(10): 1507–1512
- [27] Wasilkowski D, Mroziak A, Piotrowska-Seget Z, et al. Changes in enzyme activities and microbial community structure in heavy metal-contaminated soil under in situ aided phytostabilization[J]. CLEAN-Soil, Air, Water, 2015, 42(11): 1618–1625
- [28] 高秀丽, 邢维芹, 冉永亮, 等. 重金属积累对土壤酶活性的影响[J]. 生态毒理学报, 2012, 7(3): 331–336
- [29] 李德生, 孟丽, 李海茹. 重金属污染对土壤酶活性的影响研究进展[J]. 天津理工大学学报, 2013, 29(2): 60–64
- [30] Baath E. Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations (a review)[J]. Water Air and Soil Pollution, 1989, 47(3/4): 335–379
- [31] 周礼恺, 张志明, 曹承绵, 等. 土壤的重金属污染与土壤酶活性[J]. 环境科学学报, 1985, 5(2): 176–183
- [32] 杨志新, 刘树庆. 重金属 Cd、Zn、Pb 复合污染对土壤酶活性的影响[J]. 环境科学学报, 2001, 21(1): 60–63
- [33] 王开峰, 廖柏寒, 刘红玉, 等. 模拟酸雨和 Zn 复合污染对蚕豆生长及其生理生化特性的影响[J]. 环境科学学报, 2005, 25(2): 203–207

[34] 袁霞, 李艳梅, 张兴昌. 铜对小青菜生长和叶片保护酶

活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(2): 467-471

Study on Apatite Combined Rye on Remediation of Cu Contaminated Soil

DU Zhimin¹, GUO Xuebai², ZHEN Jing¹, LUO Hongji³, ZHOU Jing⁴, WANG Jiwen¹,
YUE Dandan¹, GONG Tao¹, YANG Wenling^{1*}, CHEN Guocan¹

(1 Institute of Biology Co. Ltd., Henan Academy of Sciences, Zhengzhou 450008, China; 2 Zhengzhou Technology and Business University, Zhengzhou 450000, China; 3 Sichuan Changhong Green Environmental Science and Technology Co. Ltd., Chengdu 610404, China; 4 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract: A field experiment was conducted to test the remediation effects in a Cu contaminated soil by applying apatite (LH1, LH2, LH3 and LH4, dosages of 10, 20, 30 and 50 g/kg, respectively) and rye (*Secale cereale*), the biomass and Cu accumulation of rye, soil pH and Cu speciation, enzyme activities, and plant physiological indexes were measured. The results showed that apatite significantly increased soil pH, biomass and Cu accumulation of rye, but decreased Cu concentrations in shoots and roots of rye. Compared to control, LH3 increased Cu absorption of rye by 33.38 times of control, which was the highest treatment. Compared to control, LH1, LH2, LH3 and LH4 significantly decreased soil exchangeable Cu by 37.0%, 58.9%, 89.0% and 83.3%, while increased carbonate-bound Cu by 46.6%, 63.1%, 78.0% and 93.3%, respectively. LH2, LH3 and LH4 increased soil phosphatase, catalase, and urease activities, and increased SOD and POD activities of rye, but decreased MDA content of rye. In general, combining apatite of 30 g/kg with rye could remediate effectively Cu contaminated soil.

Key words: Apatite; Rye; Remediation; Cu; Soil enzyme activities; Plant physiological index