

# 改良剂施用对重金属污染土壤溶液化学性质 及豇豆生理特性的影响研究<sup>①</sup>

王意锟<sup>1,2</sup>, 郝秀珍<sup>1</sup>, 周东美<sup>1\*</sup>, 方升佐<sup>2</sup>, 朱强根<sup>2</sup>, 张焕朝<sup>2</sup>

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室 (中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008;

2 南京林业大学森林资源与环境学院, 南京 210037)

**摘要:** 本文研究了在不同生长时期凹凸棒土、硅藻土、泥炭、腐植酸对土壤重金属的钝化及豇豆生理特性的影响。结果表明: 由于土壤的缓冲性, 4 种改良剂对土壤溶液pH影响较小; 泥炭、腐植酸对Zn、Cu的钝化效果比凹凸棒土、硅藻土好, 但 4 种改良剂对土壤溶液Pb和Cd浓度影响不明显; 腐植酸、凹凸棒土均在不同程度上提高了豇豆叶片超氧化物歧化酶、过氧化物酶的活性, 其中腐植酸的作用最为明显。除泥炭外, 3 种改良剂均使豇豆叶片的丙二醛、脯氨酸含量降低。受叶片衰老的影响, 成熟期各改良剂对豇豆生理特性的作用不如苗期明显; 冗余分析表明: 4 种改良剂对重金属的钝化效果依次为腐植酸、泥炭、凹凸棒土、硅藻土。本次试验结果说明有机物料腐植酸、泥炭可作为缓解豇豆重金属Zn、Cu胁迫的改良剂。

**关键词:** 重金属; 生理特性; 冗余分析

**中图分类号:** X131.3; Q945.78

目前, 土壤重金属污染的现象普遍存在, 通过添加某些改良剂进行离子交换、吸附、沉淀等钝化作用<sup>[1-2]</sup>, 可以改变重金属在土壤中的存在形态, 降低其在土壤中的生物有效性, 缓解重金属通过食物链对人体健康的威胁。有机物料、黏土矿物因其取材方便、廉价易得、适用范围广等优点, 具有较好的实际应用前景。目前有关重金属胁迫下植物生理特性变化的研究较多<sup>[3-5]</sup>, 而改良剂钝化修复重金属污染土壤过程中, 植物生理特性变化的研究还不多, 本试验研究了添加凹凸棒土、硅藻土、泥炭、腐植酸后, 土壤溶液重金属浓度及豇豆生理特性在不同时期的变化, 为改良剂的筛选及重金属污染土壤的利用提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

试验土壤为采自浙江富阳某重金属复合污染区, 土样风干磨碎过 60 目筛, 供试土壤的基本理化性质见表 1, 豇豆品种为美国无架豇豆, 改良剂选用凹凸棒

土(购自南京振博工贸有限责任公司, 产地江苏盱眙)、硅藻土(上海惠兴生化试剂有限公司, 80 目)、泥炭(产地黑龙江, 由芦苇、小叶章等沼泽植物残体多年累积形成, 含腐植酸 40%)、腐植酸(化学试剂), 原位土壤溶液采样器为实验室自制。

### 1.2 盆栽试验

盆栽试验设 5 个处理: CK、凹凸棒土 (25 g/kg)、硅藻土 (25 g/kg)、泥炭 (25 g/kg)、腐植酸 (4 g/kg)。每个处理 4 个重复。每盆装土 2.5 kg, 加入各改良剂与其充分混匀, 并在土深 6 cm 处理设土壤溶液采样器<sup>[6]</sup>。保持土壤含水量约为田间持水量的 60%, 平衡一周后播种豇豆种子, 于苗期 (播种后 27 天)、成熟期 (播种后 86 天) 抽取土壤溶液, 并采叶片分析生理指标。

### 1.3 测定方法

土壤溶液测定: 取样前一天, 使土壤含水量达田间最大持水量 70%, 平衡一夜, 每个处理第二天抽土壤溶液 15 ml, pHS-3B 精密 pH 计测定 pH 值; 重金属

表 1 供试土壤基本理化性质

Table 1 Basic physical and chemical properties of tested soil

pH	有机质 (g/kg)	全 Cu (mg/kg)	全 Zn (mg/kg)	全 Pb (mg/kg)	全 Cd (mg/kg)	CEC (cmol(+)/kg)	黏粒含量 (g/kg)
7.34	38.0	559	4 000	1 011	6.21	11.9	221

①基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (kzcx2-yw-404)、国家自然科学基金项目 (30700480) 和重大科学研究计划项目 (2007CB936604) 资助。

\* 通讯作者 (dmzhou@issas.ac.cn)

作者简介: 王意锟 (1984—), 男, 江苏扬州人, 博士研究生, 主要从事森林培育、环境修复研究。E-mail: wykknjfu@163.com

浓度采用原子吸收法测定；植物生理指标：过氧化物酶（POD）活性采用愈创木酚法测定，丙二醛（MDA）采用三氯乙酸-硫代巴比妥酸法测定，超氧化物歧化酶（SOD）活性采用氮蓝四唑法测定，脯氨酸采用水杨酸法测定<sup>[7]</sup>。

#### 1.4 数据处理

方差分析及多重对比由 SPSS13.0 统计软件完成，主成分、冗余分析由 Canoco4.5 统计软件完成，绘图由 Origin6.0 软件完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 改良剂对土壤溶液 pH 的影响

土壤 pH 不仅影响土壤对重金属的吸附，还会影响重金属在土壤中的存在形态及植物对重金属的吸收<sup>[8-9]</sup>。从表 2 可以看到，豇豆苗期时，添加硅藻土、泥炭、腐植酸后，土壤溶液 pH 有所升高，但变化并不大，这和 Herwijnen 等<sup>[10]</sup>研究的结果是一致的，可能与土壤缓冲能力较大有关，从而使得改良剂对土壤的 pH 影响减弱。和苗期相比，成熟期 pH 变化也不大，但腐植酸处理的 pH 存在下降的趋势，可能是矿质化作用产生 CO<sub>2</sub> 及有机酸导致的。

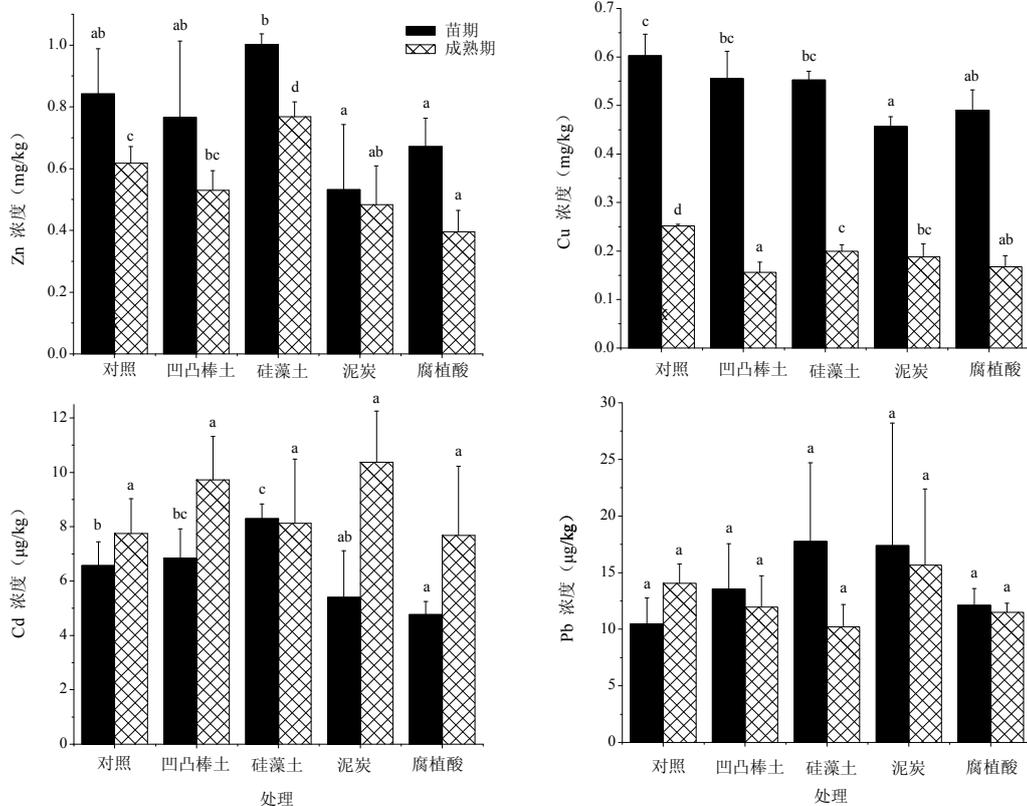
表 2 不同处理下土壤溶液 pH 值

Table 2 Soil solution pH under different treatments

处理	苗期土壤溶液	成熟期土壤溶液
CK	7.76 ± 0.07	7.83 ± 0.14
凹凸棒土	7.77 ± 0.10	7.98 ± 0.09
硅藻土	7.93 ± 0.11	7.94 ± 0.06
泥炭	7.86 ± 0.13	7.85 ± 0.11
腐植酸	7.92 ± 0.11	7.85 ± 0.04

### 2.2 改良剂对土壤溶液重金属含量的影响

从图 1 可以看到，随着时间的推移，各处理土壤溶液中的 Zn、Cu 浓度均有所下降，这是由于土壤中重金属的老化、溶液抽取以及植物吸收等多种因素导致的。与对照相比，添加泥炭、腐植酸后，土壤溶液中的 Zn 在豇豆苗期分别降低了 36.5% 和 21.3%，而在成熟期降低了 20.3% 和 35.9%。凹凸棒土使溶液中的 Zn 略有降低，而硅藻土的加入使溶液中的 Zn 反而高于对照。说明有机物料对 Zn 的钝化效果比黏土矿物好。这和前人研究是一致的。Sauve 等<sup>[11]</sup>发现，有机质对重金属的吸附能力比黏土矿物强 30 倍，Clemente 等<sup>[12]</sup>也发现，堆肥可有效降低土壤中 Pb、Zn 的活性。



(同一生长期各处理间的字母不同，表示处理间差异显著 ( $p < 0.05$ )，下同)

图 1 豇豆不同生长时期土壤溶液 Zn、Cu、Pb、Cd 浓度变化

Fig. 1 Changes of soil solution Zn, Cu, Pb, and Cd at different periods of cowpea growth

豇豆苗期时, 泥炭、腐植酸对Cu的吸附、络合使土壤溶液中的Cu显著低于对照, 成熟期时钝化作用有所减弱, 这可能和有机质的分解有关。研究表明<sup>[13]</sup>, 有机肥对重金属的作用只能维持一段时间, 随着有机质的不断消耗, 其固定的重金属会重新释放出来。有机物料分解产生的低分子量溶解性有机物也会对Cu、Pb产生一定的活化作用<sup>[14]</sup>。苗期时, 凹凸棒土、硅藻土对Cu的作用不如泥炭、腐植酸。但到成熟期时, 4种处理Cu的浓度差异不大, 凹凸棒土处理Cu的浓度甚至还低于泥炭、腐植酸处理。说明黏土矿物对Cu的钝化需要一定时间, 尽管在初期的效果不如有机物料, 而到后期修复效果和有机物料相近。

土壤溶液中Pb的浓度很小, 这可能是由于Pb在碱性土壤中容易被固定, 同时Pb还易与有机质中的难溶性盐形成沉淀<sup>[15]</sup>。土壤中Cd的全量为 6.21 mg/kg, 而土壤溶液中Cd浓度也很小, 因此土壤溶液中Pb和Cd浓度变化不明显。

### 2.3 改良剂对豇豆叶片生理特性的影响

**2.3.1 改良剂对豇豆叶片 SOD 活性的影响** 植物在重金属作用下, 细胞内自由基产生和清除的平衡被破坏, 从而产生大量的活性氧自由基伤害植物。植物体内存在超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 等清除活性氧自由基的抗氧化酶系统。

SOD 是氧自由基的清除剂, 可以歧化  $O_2^-$  为  $H_2O_2$  和  $O_2$ , 影响着植物体的浓度, 防止生物膜脂质过氧化, 对生物膜起保护作用。从图 2 可知, 除硅藻土外, 豇豆叶片在成熟期的 SOD 活性小于苗期, 这可能是重金属胁迫导致的, 也可能与叶片衰老有关。研究表明<sup>[3,5]</sup>, 在一定重金属浓度范围内, SOD 活性可以随着重金属胁迫程度的增加而增加, 这是相对于  $O_2^-$  增加的一种急性解毒措施, 使细胞免受毒害的调节反应, 但这种调节能力是临时和有限的。当长时间受到胁迫, 细胞内的活性物质包括酶亦会受到损伤而使活性下降。在豇豆苗期、成熟期, 泥炭、腐植酸的加入均能明显提高叶片 SOD 的活性, 并使之高于对照, 这可能就是因为对照在较高浓度重金属的胁迫下, 随着毒害时间的延长, 酶系统的分子结构、空间结构受到干扰,  $O_2^-$  和  $H_2O_2$  在植物体内的积累速度快于酶系统的清除速度, 导致活性氧的产生与清除之间的平衡被破坏<sup>[16]</sup>, 而泥炭、腐植酸的加入缓解了重金属的毒害, 从而提高了 SOD 活性。凹凸棒土、硅藻土的加入并不能明显提高豇豆叶片 SOD 活性, 且硅藻土在苗期使 SOD 活性反而显著低于对照。

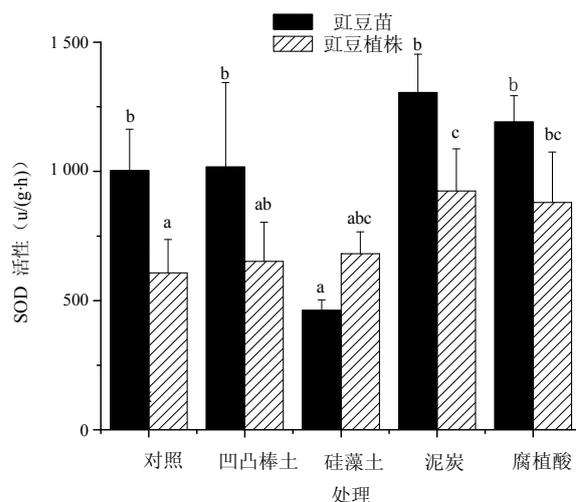


图 2 不同改良剂对豇豆叶片 SOD 活性的影响

Fig. 2 Effects of different amendments on SOD activity in leaf of cowpea

**2.3.2 改良剂对豇豆叶片 POD 活性的影响** POD 是一种含Fe金属蛋白质, 能催化  $H_2O_2$  氧化酶类的反应, 使细胞免于毒害。从图 3 中可以看到, 硅藻土、泥炭对豇豆苗期叶片中的 POD 活性的影响不显著, 而凹凸棒土、腐植酸可使苗期叶片中的 POD 活性明显提高, 且腐植酸使 POD 的活性增加了近一倍。与 SOD 活性的变化相似, 长期重金属胁迫也使 POD 活性出现一个先升高后下降的变化<sup>[4,17]</sup>, 而改良剂的加入缓解酶系统损伤, 从而使 POD 活性高于对照。成熟期的 POD 活性显著低于苗期, 且成熟期各处理间的差异不大, 这与叶片衰老有关。

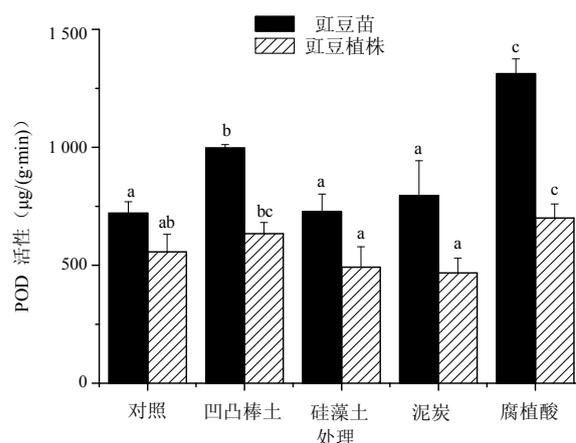


图 3 不同改良剂对豇豆叶片 POD 活性的影响

Fig. 3 Effects of different amendments on POD activity in leaf of cowpea

**2.3.3 改良剂对豇豆叶片 MDA 含量的影响** 重金属胁迫会导致植物细胞内活性氧的积累, 从而引发膜

脂过氧化。丙二醛 (MDA) 是膜脂过氧化主要产物之一, 它在细胞内浓度的大小表示膜系统受伤害的程度<sup>[18]</sup>。

从图 4 可知, 腐植酸缓解豇豆叶片膜脂过氧化的作用最为显著, 在豇豆的苗期、成熟期使叶片 MDA 含量分别比对照降低了 22.4% 和 26.8%。凹凸棒土、硅藻土的加入也使叶片的 MDA 含量明显低于对照, 这是因为有机物料、黏土矿物的加入降低了土壤重金属的活性导致的。研究表明<sup>[19]</sup>, 土壤中的重金属会显著增加植物 MDA 含量; 陶毅明等<sup>[20]</sup>也发现 Cd 会引起木榄幼苗体内膜脂过氧化, 且 MDA 含量随 Cd 浓度的升高而增大。泥炭在加入初期使叶片中 MDA 含量反而高于对照, 但随着豇豆的生长, 叶片中 MDA 含量迅速下降, 至成熟期时显著低于对照。

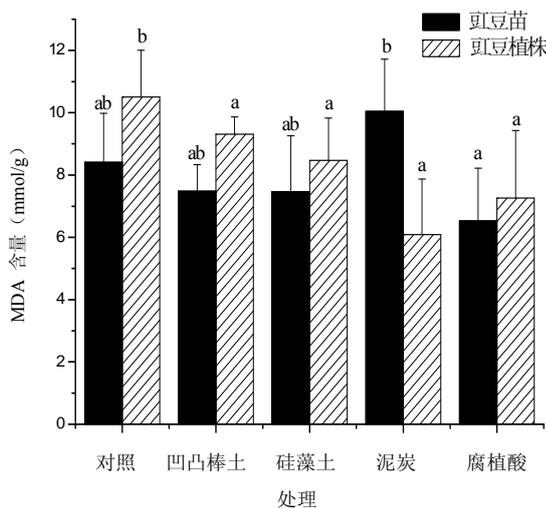


图 4 不同改良剂对豇豆叶片 MDA 含量的影响

Fig. 4 Effects of different amendments on MDA activity in leaf of cowpea

除泥炭处理, 豇豆成熟期叶片的 MDA 含量明显高于苗期, 这可能是因为重金属对 MDA 含量的影响需要一定时间才能表现出来, 也可能与成熟期时叶片的衰老有关, 潘静娴等<sup>[21]</sup>发现在 Cd 毒害下, 茼蒿叶片的 MDA 含量在生长后期显著高于前中期, 且随着 Cd 浓度的增加, 这种现象更为明显。

**2.3.4 改良剂对豇豆叶片脯氨酸含量的影响** 游离脯氨酸的积累是植物对不良环境的一种生理适应, 研究发现<sup>[22]</sup>, 0.1 mg/L 的 Cd 就能使脯氨酸在根中显著积累, 且随着 Cd 浓度增大, 脯氨酸积累的量也不断增多。在豇豆苗期, 4 种处理均可使叶片脯氨酸含量明显降低。从图 5 可知, 与对照相比, 凹凸棒土、腐植

酸、泥炭、硅藻土分别使叶片脯氨酸含量下降了 61.5%、51.0%、37.7% 和 20.0%, 这是因为改良剂的加入缓解了重金属对豇豆的毒害。豇豆成熟期后, 叶片脯氨酸的含量明显高于苗期, 这应该与成熟期叶片的衰老有关, 这种现象在硅藻土、凹凸棒土处理中更为明显。

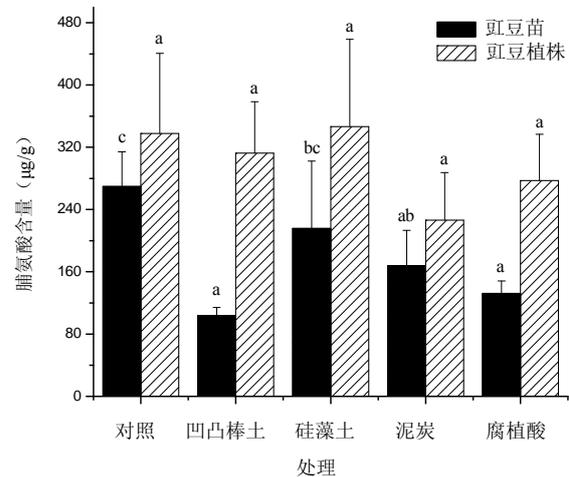


图 5 不同改良剂对脯氨酸含量的影响

Fig. 5 Effects of different amendments on proline content in leaf

## 2.4 几种改良剂作用的分析

CANOCO 软件能完成复杂数据的多元分析, 并能把大量数据中包含的信息以直观的图形来表示。通过主成分分析和冗余分析, 研究了 4 种改良剂的作用。

主成分分析能通过少数几个主成分变量来反映数据中的大部分信息。从图 6 可知, 第一主成分和第二主成分的贡献率分别为 62.0%、37.1%, 说明它们可以解释 99.1% 以上原变量的特征。无论豇豆在苗期还是成熟期, 泥炭、腐植酸的作用特征较为接近, 均聚集在 PC1 的负轴方向, 而对照、凹凸棒土及硅藻土的作用特征发生了较大的偏移, 落在 PC1 的正轴方向。说明主成分 1 可以区分不同改良剂对土壤重金属活性及豇豆生理特性的影响。和对照、凹凸棒土相比, 苗期硅藻土的作用特征向 PC1 的正轴方向漂移, 这是因为硅藻土的加入使豇豆苗期土壤溶液的 Zn 含量明显增加。不同生长时期导致各改良剂的作用向 PC2 轴的两端漂移, 说明主成分 2 可以区分不同生长时期对改良剂作用的影响。

主成分分析的目的是为了通过少数变量来反映数据中的大部分变异, 而那些少数变量 (即主成分) 实际上是假定存在的变量。通过冗余分析可以得到凹凸棒土、硅藻土、泥炭、腐植酸 4 个处理与重金属含量之间的关系, 及它们在多大程度上反映了重金属含量

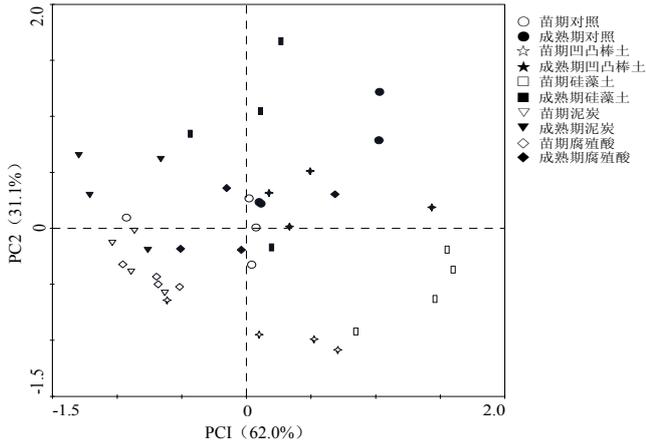


图 6 不同处理的主成分分析

Fig. 6 Principal component analysis of effects of different treatments

上的变异。从图 7 可知，泥炭、腐植酸对 Zn、Cu、Pb、Cd 的含量有明显的负效应，建立协变量，可以得到二者对重金属含量变异量的解释分别为 3.5%、4.2%，尽管凹凸棒土与 Cu 存在明显的负相关，但同时也与 Pb、Cd 存在正相关，使土壤溶液 Pb、Cd 含量增加，因此对重金属含量变异量的解释仅为 1.5%，硅藻土效果较差，对 Zn、Pb、Cd 的含量均有明显的正相关。不同生长时期对改良剂作用也有影响，Zn、Cu 与苗期的相关性较好，说明改良剂对 Zn、Cu 的影响在苗期较为明显。总的来说，4 种改良剂对重金属的钝化效果依次为：腐植酸、泥炭、凹凸棒土、硅藻土。

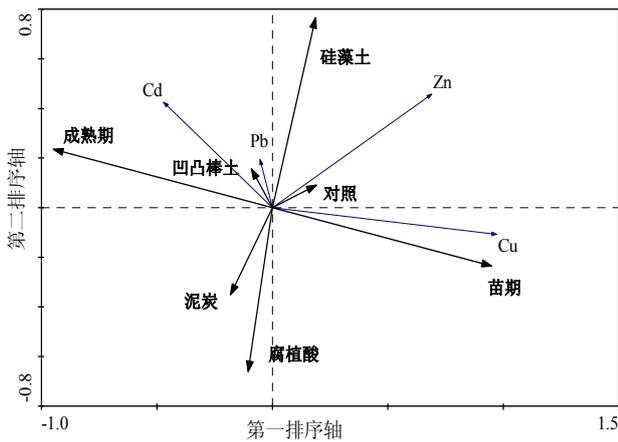


图 7 不同处理对重金属影响的冗余分析 (RDA)

Fig. 7 Redundancy analysis of effects of different treatments

### 3 结论

(1) 有机物料对 Zn、Cu 的钝化效果比黏土矿物好，但 4 种改良剂对土壤溶液 Pb 和 Cd 浓度变化的影

响均不明显，由于土壤的缓冲性，4 种改良剂对土壤溶液 pH 影响较小。

(2) 腐植酸、凹凸棒土均在不同程度上提高了豇豆叶片 SOD、POD 的活性，其中腐植酸的作用最为明显。除泥炭外，几种改良剂均使豇豆叶片的 MDA、脯氨酸含量明显降低。受叶片衰老的影响，成熟期各改良剂对豇豆生理特性的作用不如苗期明显。

(3) 冗余分析表明：4 种改良剂对重金属的钝化效果依次为腐植酸、泥炭、凹凸棒土、硅藻土。

### 参考文献:

[1] Mule P, Melis P. Methods for remediation of metal-contaminated soils: Preliminary results. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2000, 31: 3 193-3204

[2] Román R, Fortun C, Sá GLD, Almendros G. Successful soil remediation and reforestation of a calcic regosol amended with composted urban waste. *Arid Land Research and Management*, 2003, 17: 297-311

[3] 孔祥生, 郭秀璞, 张妙霞. 镉胁迫对玉米幼苗生长及生理生化的影响. *华中农业大学学报*, 1999, 18(2): 111-113

[4] 周长芳, 吴国荣, 施国新, 陆长梅, 顾龚平, 宰学明, 魏锦城. 水花生抗氧化系统在抵御 Cu<sup>2+</sup> 胁迫中的作用. *植物学报*, 2002, 43(4): 389-394

[5] 吴甘霖. 镉对花生幼苗生长及生理生态特性的影响. *生物学杂志*, 2008, 25(5): 31-33

[6] 罗小三, 仓龙, 郝秀珍, 李连祯, 周东美. 原位土壤溶液采样及可溶性有机碳 (DOC) 的紫外吸收光谱直接测定探讨. *土壤*, 2007, 39(6): 943-947

[7] 高俊凤. *植物生理学实验指导*. 北京: 高等教育出版社, 2006

[8] Kuo S, Huang B, Bembenek R. The availability to lettuce of zinc and cadmium in a zinc fertilizer. *Soil Science*, 2004, 169: 363-373

[9] Kirkham MB. Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendments. *Geoderma*, 2006, 137: 19-32

[10] Herwijnen R, Hutchings TR, Tabbaa AA, Moffat AJ, Johns ML, Ouki SK. Remediation of metal contaminated soil with mineral-amended composts. *Environmental Pollution*, 2007, 150: 347-354

[11] Sauve S, Manna S, Turmel MC, Roy AG, Courchesne F. Solid solution partitioning of Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn in the organic horizons of a forest soil. *Environmental Science and Technology*, 2003, 37: 5 191-5 196

[12] Clemente R, Escolar Á, Bernal MP. Heavy metals fractionation

- and organic matter mineralization in contaminated calcareous soil amended with organic materials. *Bioresource Technology*, 2006: 1 894-1 901
- [13] 王凯荣, 张玉烛, 胡荣桂. 不同土壤改良剂对降低重金属污染土壤上水稻糙米铅镉含量的作用. *农业环境科学学报*, 2007, 26(2): 476-481
- [14] Bradl HB. Adsorption of heavy metal ions on soils and soils constituents. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2004, 277: 1-18
- [15] Walker DJ, Clemente R, Roig A, Bernal MP. The effects of soil amendments on heavy metal bioavailability in two contaminated Mediterranean soils. *Environmental Pollution*, 2003, 122: 303-312
- [16] 任艳芳, 何俊瑜, 刘畅, 罗辛灵, 黄天兴. 镉胁迫对莴苣幼苗生长及抗氧化酶系统的影响. *生态环境学报*, 2009, 18(2): 494-497
- [17] 铁柏清, 孙健, 钱湛, 杨余维, 赵婷, 毛晓茜, 青山勋, 罗荣. 重金属复合污染对灯心草的生态毒性效应及重金属积累特性的影响. *农业环境科学学报*, 2006, 25(3): 629-636
- [18] 阎成士, 李德全, 张建华. 植物叶片衰老与氧化胁迫. *植物学通报*, 1999, 16(4): 398-404
- [19] 王辉, 张文会. 不同浓度的镉胁迫对大豆幼苗生长的影响. *聊城大学学报(自然科学版)*, 2008, 21(3): 76-78
- [20] 陶毅明, 陈燕珍, 梁士楚, 梁杨琳. 镉等胁迫下红树植物木榄幼苗的生理生化特性. *生态学杂志*, 2008, 27(5): 762-766
- [21] 潘静娴, 戴锡玲, 宋莲花. Cd 对萹蒿生理生化及叶片超微结构的影响. *广西植物*, 2008, 28(6): 837-841
- [22] 秦天才, 吴玉树, 王焕校. 镉、铅及其相互作用对小白菜生理生化特性的影响. *生态学报*, 1994, 14(1): 46-50

## Amendments on Chemical Characteristics of Soil Solution in Heavy Metal Contaminated Soil and on Physiological Characteristics of Cowpea

WANG Yi-kun<sup>1,2</sup>, HAO Xiu-zhen<sup>1</sup>, ZHOU Dong-mei<sup>1</sup>, FANG Sheng-zuo<sup>2</sup>, ZHU Qiang-gen<sup>2</sup>, ZHANG Huan-chao<sup>2</sup>

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China;

2 College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

**Abstract:** The influence of four kinds of amendments on physiological characteristics of cowpea and soil solution heavy metal concentrations at different growth stages were studied with pot experiments. The results showed that four amendments had no significant effect on pH value in soil solution because of soil buffer capacity. Peat and humic acid were more effective than palygorskite and diatomite in decreasing soil solution Zn and Cu concentrations, but no significant difference was found in Pb and Cd among four amendments. Peat, palygorskite, particularly humic acid, increased the activity of SOD and POD in cowpea leaves. The amendments except peat decreased the contents of MDA and proline in the leaves. The effects of amendments on physiological characteristics of cowpea were significantly weakened at the mature stage as a result of leaf senescence. Redundancy analysis indicated the inactivation effects of four amendments were in an order of humic acid > peat > palygorskite > diatomite.

**Key words:** Heavy metal, Physiological characteristics, Redundancy analysis