

多元复合调理剂对镉砷污染农田土壤微生物群落结构的影响

曾 鹏,蒋 毅,辜娇峰*,周 航,刘 雅,廖柏寒 (中南林业科技大学环境科学与工程学院,湖南 长沙 410004)

摘要: 通过温室盆栽试验,研究多元复合调理剂(石灰石、铁粉、硅肥和钙镁磷肥,简称 LISP)对土壤基本理化性质、Cd 和 As 的生物有效性和微生物群落结构的影响。结果表明,LISP 可改变土壤基本理化性质,降低土壤有效态 Cd 和 As 含量,并改变土壤微生物群落结构。在 0.4% 的 LISP 添加下,土壤 pH 值、有效磷和总磷含量较 CK 处理分别显著($P < 0.05$)提高 0.57 单位、130.6% 和 18.38%,同时土壤有效态 Cd 和 As 含量较对照分别显著($P < 0.05$)降低 21.76% 和 16.39%。高通量测序结果表明,添加 LISP 可维持污染土壤中正常微生物群落的多样性和丰富度,而显著改变土壤微生物群落的组成和结构,其中厚壁菌门、放线菌门和浮霉菌门等门水平物种的相对丰度增加,而绿弯菌门、酸杆菌门和疣微菌门等门水平物种的相对丰度降低。冗余分析和 Mantel 检验分析表明,土壤 pH 值、有效磷以及有效态 Cd 和 As 含量是影响土壤微生物群落结构的主要环境因子。上述结果表明,LISP 是一种有效的、生态安全的调理剂用于农田土壤 Cd 和 As 污染土壤修复。

关键词: 多元复合调理剂(LISP); Cd; As; 农田修复; 土壤微生物群落

中图分类号: X172,X53 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2021)08-3740-09

Effects of the multi-composite amendment on soil microbial community structure in Cd and As-contaminated paddy soil. ZENG Peng, JIANG Yi, GU Jiao-feng*, ZHOU Hang, LIU Ya, LIAO Bo-han (College of Environment Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China). *China Environmental Science*, 2021,41(8): 3740~3748

Abstract: The influence of multi-composite amendment (including limestone, iron powder, silicon fertilizer, and calcium magnesium phosphorus fertilizer, abbreviation for LISP) on soil basic physical and chemical properties, the bioavailability of Cd and As, and the microbial community structure were studied under greenhouse condition. The results showed that the LISP can change the soil basic physical and chemical properties, reduce the available content of Cd and As in soil, and change the soil microbial community structure. With the addition of 0.4% of LISP, soil pH, available phosphorus and total phosphorus were significantly ($P < 0.05$) increased by 0.57units, 130.6%, and 18.38%, respectively, as compared with CK treatment, simultaneously soil available Cd and As content significantly ($P < 0.05$) decreased by 21.76% and 16.39%, respectively. According to high-throughput sequencing results, LISP can maintain normal diversity and richness of the microbial community in the contaminated soil. However, LISP can significantly change the composition and structure of soil microbial community, especially increase the relative abundance of Firmicutes, Actinobacteria, and Planctomycetes, while decrease the relative abundance of Chloroflexi, Acidobacteria, and Verrucomicrobia in soil. Redundancy analysis and Mantel test showed that soil pH, available phosphorus, and available Cd and As were the main environmental factors to affect the soil microbial community structure. The results suggested that LISP is an effective and ecologically safe amendment for the remediation of paddy soil contaminated with Cd and As.

Key words: multi-composite amendment (LISP); Cd; As; paddy soil remediation; microbial community structure

土壤钝化修复技术主要是通过添加化学调理剂改变土壤中重金属的赋存形态来降低农作物对重金属的吸收,是一种有效的农田重金属污染土壤修复技术^[1-3]。目前,常用于重金属污染农田土壤修复的调理剂有碳酸钙^[4]、石灰^[5]、生物炭^[6]、海泡石^[7]等。镉(Cd)和砷(As)是常见的土壤污染元素。一般而言,污染土壤中 Cd 主要以 Cd²⁺,而 As 主要以 AsO₄³⁻ 和 AsO₃³⁻ 形态存在^[8],故这两种元素在土壤中赋存形态的差异使单一土壤调理剂无法同时有效钝化 Cd 和 As,减少农作物对 Cd 和 As 的吸收与转运。因此,大量研究开始转向利用多种调理剂进行复合后用于修复农田 Cd 和 As 复合污染农田土壤。

多元复合调理剂已广泛用于修复农田 As 和 Cd 复合污染土壤^[2,9-10]。研究表明,施用石灰石、海泡石和硫酸铁三元复合调理剂能显著降低土壤可交换态 Cd 和 As 含量和水稻 Cd 和 As 吸收^[9]。施用碳酸钙、偏高岭土和钙镁磷肥元复合调理剂,水稻糙米中 Cd 和 As 含量降低,且与土壤中 Cd 和 As 各形态含量显著相关^[11]。通过原位添加羟基磷灰石、沸石和生物炭三元复合调理剂可有效降低水稻对 Cd 和 As

收稿日期: 2021-01-05

基金项目: 国家自然科学基金(41907126);湖南省自然科学基金(2018JJ3881)

* 责任作者, 副教授, gujiaofeng@csuft.edu.cn

的吸收,并促进水稻增产^[12].碱性肥料和硅钙调理剂组配可降低水稻根系对土壤中 Cd 和 As 吸收,稻米中 Cd 和 As 含量分别显著降低 43.8% 和 32.1%^[10].因此,利用多元调理剂进行复合后可同时控制水稻对 Cd 和 As 的吸收,降低糙米 Cd 和 As 含量.

土壤微生物是维持土壤生物学特性的重要组成部分^[13],其中微生物群落和多样性的变化可用来研究多元调理剂对重金属污染土壤的生态调节作用,并判断多元调理剂对农田土壤生态安全的影响.然而,大量研究仅仅集中于多元调理剂对土壤重金属有效性以及水稻对 Cd 和 As 吸收和富集特征的影响,而忽视了添加的调理剂对土壤中微生物群落和土壤生态安全的影响.有研究表明,石灰配施腐殖酸或生物质炭可对降低土壤中重金属的生物有效性,增强土壤微生物基础呼吸强度和土壤微生物量碳含量^[14].施用海泡石、石灰、秸秆生物炭和螯合铁肥可改变土壤中重金属赋存形态进而改变农田土壤微生物群落结构^[15].施用有机肥和石灰石可显著提高重金属污染土壤的微生物活性^[16].因此,土壤微生物群落结构的变化一定程度可有效反应添加调理剂对农田土壤生态安全的影响.目前,大量研究表明,

石灰石、铁粉、硅肥和钙镁磷肥在调控水稻 Cd 和 As 吸收方面有突出的效果^[11,17-19].然而,基于多元土壤调理剂对污染土壤中微生物群落及其生态安全的影响鲜有研究.

本研究通过温室盆栽试验,研究添加多元土壤调理剂(石灰石、铁粉、硅肥和钙镁磷肥)对土壤基本理化性质、As 和 Cd 的生物有效性、微生物群落结构和农田生态安全的影响,探究多元复合调理剂作用下土壤环境因子与微生物群落结构的联系,评估多元复合调理剂对农田土壤生态环境质量的影响,以期为应用多元复合调理剂原位修复和治理 Cd 和 As 复合污染农田土壤提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 供试土壤与材料

供试土壤采自湖南省郴州市临武县某 Cd 和 As 复合污染的稻田耕作表层土壤(经度 25°19'24",纬度 112°35'22").供试土壤的基本物理化学性质见表 1.与《土壤环境质量农用地土壤污染风险管控标准(试行)》(GB 15618—2018)^[20]风险筛选值相比,该农田土壤属于 Cd 和 As 复合污染.收集的土壤经自然风干后过 5mm 筛后用于盆栽试验.

表 1 供试土壤的基本物理化学性质
Table 1 Basic physicochemical properties of tested soil

pH 值	阳离子交换量 (cmol/kg)	有机质 (g/kg)	碱解氮 (mg/kg)	有效磷 (mg/kg)	总磷 (mg/kg)	总 As (mg/kg)	总 Cd (mg/kg)	有效态 As (mg/kg)	有效态 Cd (mg/kg)
5.73	13.99	33.11	219.12	2.42	169.4	31.08	0.99	0.26	0.32

多元复合调理剂(LISP)按一定质量比的石灰石、铁粉、硅肥和钙镁磷肥混合组成.石灰石采购自天津市大茂化学试剂厂,主要成分为重质碳酸钙.铁粉采购自购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司,主要成分为零价铁.硅肥采购自天津市风船化学试剂科技有限公司,主要成份为 $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$.钙镁磷肥采购自湖南省宁乡县钙镁磷肥厂,其中 P_2O_5 含量为 12%~16%, CaO 含量为 25%~30%, MgO 含量为 8%.石灰石、铁粉、硅肥和钙镁磷肥中原始 Cd 和 As 含量均未检测出.

水稻(*Oryza sativa* L.)品种选用晚稻品种深优 5814(杂交籼稻,湖南金色农丰有限公司).

1.2 试验设计

4kg 过 5mm 筛的土壤装入圆形塑料桶(桶高 29cm,内径 25cm)后,分别添加质量比为 0%(CK)、0.1%(T1)、0.2%(T2) 和 0.4%(T3) 的 LISP 复合调理剂.混合均匀后,每盆加入 1.12g $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 、0.84g $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ 和 0.88g K_2CO_3 作为基肥.每个处理 3 次重复.保持田间持水率下,培养 20d 后,移栽无污染土壤培育、长势良好的水稻幼苗(五叶一心),每盆 1 穴 2 株.水稻种植期浇灌自来水保持一定的水层深度(2~4cm),水稻收割前 2~3d 停止灌溉至表层土壤发白.水稻成熟后,收集水稻根际土壤,一部分用于土壤基本理化性质的测定,一部分新鲜土壤样品用于 DNA 的提取.

1.3 测试与分析

土壤基本物理化学性质(pH 值、阳离子交换量、

有机质、碱解氮、总磷和有效磷)根据鲁如坤^[21]的方法进行分析和测定。土壤总 Cd 采用王水-高氯酸混酸消解^[21],总 As 采用(1+1)王水水浴法消解^[21]。土壤有效态 Cd 和 As 采用 DTPA 浸提^[22-23]。消解和浸提液中 Cd 含量采用 ICP-AES(ICP 6300,Thermo)测定。消解和浸提液中 As 含量均用原子荧光分光光度计(AFS-8220,北京吉天仪器有限公司)测定。国家标准物质土壤(GBW-070009)和空白试验用于样品分析过程的质量控制。Cd 和 As 回收率分别为 90.1%~105.3% 和 90.0%~110.0%。

1.4 土壤 DNA 提取和微生物群落结构分析

采用 NucleoSpin®96Soil 土壤 DNA 提取土壤 DNA,-20℃保存。细菌 V3 V4 可变区采用正向引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3') 和 反 向 引 物 806R(5'-GGACTTACHVGGGTWTCTAA-3') 进行 PCR 扩增(9902,96well PCR 仪,上海吉泰依科赛生物科技有限公司)。PCR 扩增反应条件为:95℃预变形 5min;25 个循环(95℃,30s;50℃,30s;72℃,40s);72℃,7min。PCR 扩增产物经过纯化、定量和均一化形成测序文库,质检合格的文库用 Illumina HiSeq 2500(美国 Illumina 公司)进行测序。

1.5 数据处理

采用 Microsoft Excel 2016 分析数据。采用 SPSS

16.0 对数据进行显著性检验和相关性分析。使用 Mothur(version v1.30)软件,对样品 α-多样性指数进行计算和评估。土壤微生物群落的主成分分析(PCA)、非度量多维标定法(NMDS)、热图和 Mantel 检验分析等在百迈克生物云平台完成。采用 Canoco 5.0 对微生物群落结构进行冗余分析。

2 结果与分析

2.1 LISP 处理下土壤基本理化性质的变化

从表 2 可看出,随着 LISP 添加量的增加,土壤有机质和碱解氮含量无显著变化,但土壤 pH 值、阳离子交换量、有效磷和总磷含量呈现增加趋势。在 T1 和 T2 处理下,土壤 pH 值、阳离子交换量和总磷含量较 CK 相比无明显影响;而在 T3 处理下,土壤 pH 值较 CK 处理显著($P<0.05$)提高 0.57 单位;土壤阳离子交换量较对照显著($P<0.05$)提高 57.64%。与 CK 处理相比,T1 和 T2 处理下土壤有效磷含量分别显著($P<0.05$)提高 26.59% 和 25.00%,尤其在 0.4%LISP 处理下,土壤有效磷和总磷含量分别显著($P<0.05$)提高 130.6% 和 18.38%。本研究结果表明,添加 0.1%~0.2% 的 LISP 对土壤的基本理化性质无明显影响,而 0.4% LISP 处理可有效提高土壤 pH 值、阳离子交换量和土壤磷含量。

表 2 LISP 处理下土壤基本理化性质的变化

Table 2 Change of basic physicochemical properties in the soil under the LISP treatment

处理	pH 值	有机质(g/kg)	阳离子交换量(cmol/kg)	碱解氮(mg/kg)	有效磷(mg/kg)	总磷(mg/kg)
CK	5.85±0.10b	34.78±1.86a	18.58±5.52b	229.5±9.74a	2.52±0.14c	183.3±13.56b
T1	5.74±0.14b	33.22±2.82a	16.39±7.22b	235.9±22.62a	3.19±0.38b	186.6±22.23b
T2	5.93±0.03b	33.15±1.61a	25.9±5.21ab	255.8±6.02a	3.15±0.34b	175.5±8.19b
T3	6.42±0.19a	33.43±1.46a	29.29±6.37a	257.7±19.1a	5.81±0.36a	217.0±4.31a

注:数据为平均值±标准偏差;同列数据不同字母表示处理间具有差异显著($P<0.05$)。CK、T1、T2 和 T3 分别表示 LISP 添加量为 0%、0.1%、0.2% 和 0.4%,下同。

2.2 LISP 对土壤 Cd 和 As 有效性的影响

表 3 土壤 Cd 和 As 有效态含量与土壤基本理化性质的相关性分析

Table 3 The relationship between contents of available Cd and As and basic physicochemical properties in the soil

重金属	pH 值	有机质	阳离子交换量	碱解氮	有效磷	总磷
有效态 Cd	-0.500	0.276	-0.778**	-0.545	-0.428	-0.010
有效态 As	-0.474	0.346	-0.715**	-0.408	-0.644*	-0.258

注:*表示 $P<0.05$;**表示 $P<0.01$ 。

LISP 对土壤 Cd 和 As 有效性的影响见图 1。与对照(CK)相比,T1-T3 处理下土壤有效态 Cd 和 As 含量分别显著($P<0.05$)降低 10.25%~21.76% 和 10.60%~16.39%,表明 LISP 可同时有效降低土壤中 Cd 和 As 的生物有效性。其中,土壤有效态 Cd 含量与 pH 值呈负相关;土壤有效态 As 含量与有效磷含量显著($r=-0.644, P<0.05$)负相关;土壤阳离子交换量分别与有效态 Cd($r=-0.778, P<0.01$)和有效态 As($r=-0.715, P<0.01$)显著负相关(表 3)。

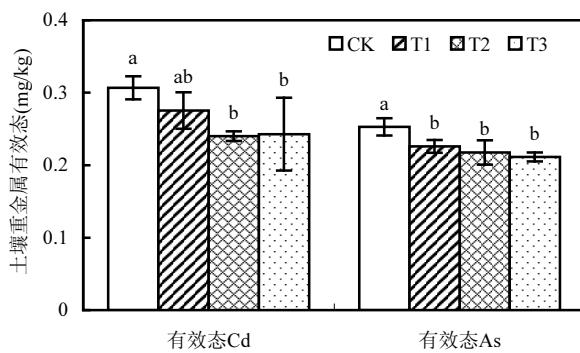


图 1 LISP 处理下土壤中有效态 Cd 和 As 含量的变化
Fig.1 Change of available Cd and As contents in soil under LISP treatment

2.3 LISP 对土壤微生物群落多样性的影响

LISP 处理下土壤微生物群落的 OTUs 数量和多样性指数的变化见表 4。在 T1、T2 和 T3 处理下, 土壤中微生物的 OTUs 数量和 Shannon 多样性指数与 CK 处理相比无显著差异, 而 ACE 和 Chao 指数出现增加趋势, 但差异不显著, 表明 LISP 对土壤中微生物群落的丰富度和多样性的无明显影响。

表 4 LISP 处理下对土壤微生物 α -多样性的影
Table 4 Effects of LISP treatment on soil microbial

α -diversity

处理	丰富度指数			多样性指数
	OTUs 数量	ACE	Chao	
CK	1118±12a	1120±28.3b	1123±29.8b	5.21±0.38a
T1	1147±65a	1157±64.0ab	1164±69.2ab	4.76±0.08a
T2	1180±30a	1204±39.7a	1217±51.3a	5.00±0.13a
T3	1150±10a	1171±6.57ab	1180±8.43ab	5.15±0.16a

基于 OTU 分类水平,采用主成分分析(PCA)和非度量多维标定法(NMDS)研究添加不同量的 LISP 对土壤微生物 β -多样性的影响(图 2)。从 PCA 可看出,PC 轴 1 和 2 的贡献率分别为 70.90% 和 19.06%, 累计贡献率 89.96%, 同时 NMDS 分析的强度小于 0.2, 表明 PCA 和 NMDS 可有效解释不同 LISP 添加量下土壤微生物群落结构的相似性。从图 2 可看出,T1、T2 和 T3 处理下土壤微生物群落与 CK 处理相比具有显著差异, 进一步表明添加 LISP 可有效改变污染土壤微生物群落。且 T1、T2 和 T3 处理之间的土壤微生物群落结构也具备显著差异, 表明 LISP 添加量的差异亦可进一步改变土壤微生物群落结构。

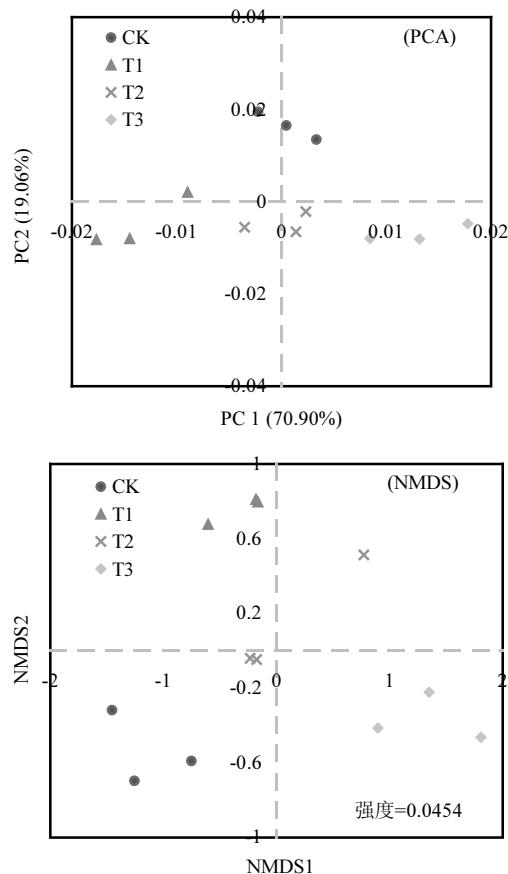


图 2 LISP 处理下对土壤微生物 β -多样性的影响
Fig.2 Effects of LISP treatment on β -diversity of soil microbial community

2.4 LISP 对土壤微生物群落结构的影响

添加 LISP 后, 土壤中的微生物主要隶属于厚壁菌门(Firmicutes, 占比 21.88%~37.51%)、变形菌门(Proteobacteria, 占比 17.36%~22.48%)、绿弯菌门(Chloroflexi, 占比 11.81%~16.94%)、放线菌门(Actinobacteria, 占比 6.61%~13.66%)、酸杆菌门(Acidobacteria, 占比 6.24%~8.48%)、硝化螺旋菌门(Nitrospirae, 占比 5.40%~9.05%)、拟杆菌门(Bacteroidetes, 占比 3.15%~5.82%)、浮霉菌门(Planctomycetes, 占比 1.18%~9.58%)、疣微菌门(Verrucomicrobia, 占比 0.76%~2.07%)等(图 3), 表明上述微生物是污染土壤中主要优势物种。同时, T1-T3 处理下土壤中厚壁菌门、放线菌门和浮霉菌门等门水平物种的相对丰度增加, 而绿弯菌门、酸杆菌门和疣微菌门等门水平物种的相对丰度降低(图 3)。

从属水平可进一步看出, LISP 可影响土壤中微生物群落的组成。在 T3 处理下, 节杆菌属

(*Arthrobacter*)、虚构芽孢杆菌属(*Fictibacillus*)、慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)、*Defluviicoccus*、水球菌属(*Aquisphaera*)、*Singulisphaera*、*Candidatus Udaeobacter*、类芽孢杆菌(*Paenibacillus*)等微生物的相对丰度较对照升高,而地杆菌属(*Geobacter*)、*Syntrophorhabdus*、纤绳菌属(*Leptolinea*)、厌氧粘细菌(*Anaeromyxobacter*)、马赛菌属(*Massilia*)等微生物的相对丰度较对照明显降低(图 4)。

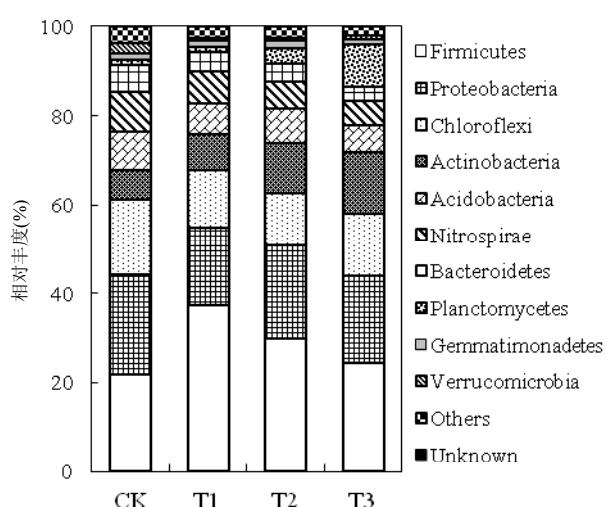


图3 LISP 处理下土壤主要门水平物种分布
 Fig.3 The distribution of main microorganisms at phylum level under LISP treatment

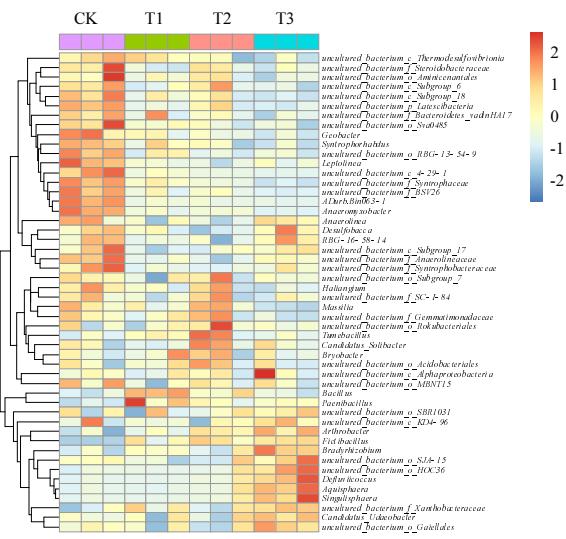


图4 LISP 处理下土壤主要属水平物种分布
 Fig.4 Soil bacterial community at genus level under LISP treatment

2.5 土壤环境因子与微生物群落结构的联系

将细菌主要门水平微生物与土壤环境因子结

合进行冗余分析(RDA),结果如图 5 所示.RDA 分析的轴 1 和轴 2 对土壤细菌群落的解释量分别为 63.07% 和 13.43%, 表明 RDA 分析能有效反应微生物群落与土壤环境因子之间的联系. 从图 5 可看出, 土壤 pH 值、有效磷、总磷、阳离子交换量、以及土壤有效态 As 和 Cd 与土壤微生物群落结构呈现正相关, 其中 pH 值、有效磷和有效态 As 与微生物群落呈显著正相关(表 5).

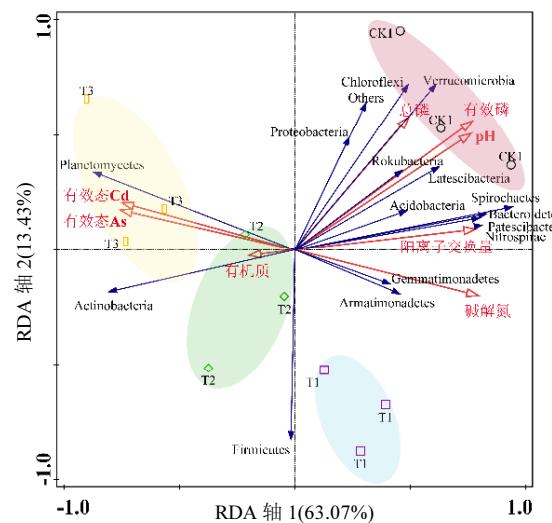


图 5 LISP 处理下土壤微生物群落的冗余分析
 Fig.5 Redundancy analysis of soil microbial community
 under LISP treatment

表 5 土壤环境因子和微生物群落的 Mantel 检验分析
 Table 5 Mantel test analysis of soil environmental factors and
 microbial community

环境因子	Mantel 检验 <i>r</i> 值	<i>P</i> 值
pH 值	0.326	0.019
有机质	-0.048	0.611
阳离子交换量	0.207	0.075
碱解氮	0.154	0.108
有效磷	0.419	0.009
总磷	0.089	0.201
有效态 Cd	0.227	0.053
有效态 As	0.253	0.047

3 讨论

本研究中添加 0.4%LISP 可显著改变土壤的基本理化性质,其中土壤 pH 值、阳离子交换量、有效磷和总磷含量显著提高。土壤 pH 值上升的原因可能与 LISP 中含有碱性的石灰石和钙镁磷肥,可一定程度提高土壤 pH 值。与史磊等^[24]研究发现石灰配施钙

镁磷肥可显著提高土壤 pH 值的研究结果一致。土壤阳离子交换量含量增加的原因则可能与随着 LISP 添加量的增加,进而携带大量的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 等阳离子进入土壤有关。辜娇峰等^[25]发现羟基磷灰石、沸石和改性秸秆炭组成的复合调理剂可显著提高土壤的阳离子交换量,与本研究结果一致。土壤有效磷和总磷提高的原因则与钙镁磷肥是复合调理剂的主要成分,一定程度上提高土壤的磷含量有关。鄢德梅等^[26]研究发现钙镁磷肥分别与石灰、海泡石复合可显著提高土壤有效磷,与本研究结果一致。本研究结果表明,添加 0.4% LISP 处理可显著提高土壤 pH 值、阳离子交换量和土壤磷含量。

LISP 可有效降低土壤中 Cd 和 As 的生物有效性。其中,有效态 Cd 含量与土壤 pH 值和阳离子交换量呈负相关(表 3)。有研究表明,土壤有效态 Cd 含量降低与土壤 pH 值和阳离子交换量的提高有关^[2]。土壤 pH 值升高会增强土壤中带负电荷的胶体和 OH^- 与 Fe、Mn 等离子形成羟基化合物对 Cd 离子的吸附能力,使 Cd^{2+} 形成 $\text{Cd}(\text{OH})_2$ 或 CdCO_3 ,从而降低土壤中 Cd 的生物有效性^[9]。同时,LISP 成分中石灰石和钙镁磷肥所含的 Ca^{2+} 能与 Cd^{2+} 发生共沉淀,从而促进土壤中 Cd 向残渣态 Cd 的转化,降低土壤中 Cd 的生物有效性^[27]。硅也可通过形成硅酸盐络合物和硅醇基(Si-OH)来改变土壤中 Cd 的赋存形态,从而降低 Cd 的生物可利用性^[28]。LISP 复合调理剂成分中石灰石和钙镁磷肥所含的 Ca 亦能与 As 形成砷酸钙等难溶性沉淀,增加土壤吸附 As 的能力,从而影响土壤中 As 的生物有效性^[26]。硅肥可通过专性吸附,钙镁磷肥中的磷酸盐可通过络合反应等方式来降低土壤中 As 的生物有效性^[29-30]。土壤有效态 As 含量与有效磷含量显著($r=0.644, P<0.05$)负相关(表 3)。铁粉可通过氧化还原反应生成 FeOOH ,进一步氧化形成无定形的铁氢氧化合物(am- FeOOH),上述产物可为 Cd 和 As 提供更多的吸附位点^[18]。因此,LISP 中多种材料的相互作用可同时有效钝化污染土壤中的 Cd 和 As。

土壤微生物群落的结构和多样性易受重金属污染的影响,因此土壤微生物多样性被认为是修复重金属污染土壤过程的敏感指标^[31]。LISP 处理对土壤中微生物群落的丰富度和多样性的影响较小。与 Mench 等^[32]研究发现在轻度 Cd 污染土壤中施用棕

色角闪石和铁砂对细菌丰富度无明显影响的结果一致。然而,在螯合铁肥,复合碳酸钙、钙镁磷肥和含硫有机物,以及复合炉渣和生物炭处理下,土壤微生物群落的多样性和丰度均降低而不利于微生物生长^[15,33-34]。因此,添加 LISP 可维持污染土壤中正常微生物群落的多样性和丰富度,对农田土壤的生态安全无明显影响。然而,基于 PCA 和 NMDS 分析表明 LISP 可显著影响土壤微生物群落的 β -多样性,且不同添加量的影响具有显著差异。有研究表明,土壤中添加石灰、有机肥、螯合铁肥等材料可有效改变土壤中微生物群落的形成^[15,35]。Pei 等^[31]也发现海泡石和蚯蚓粪复合调理剂可显著改变污染土壤微生物群落的 β -多样性。因此,添加 LISP 可改变土壤微生物群落的组成和结构,而对土壤微生物的丰富度和多样性影响较小。

LISP 处理下土壤中厚壁菌门、放线菌门和浮霉菌门等门水平物种的相对丰度增加,而绿弯菌门、酸杆菌门和疣微菌门等门水平物种的相对丰度降低(图 3)。兰玉书等^[15]研究发现施加钝化剂后导致土壤厚壁菌门相对丰度增加,而绿弯菌门相对丰度降低,与本研究结果一致。酸杆菌门嗜酸,不利于在碱性环境中生存^[35-36]。添加 LISP 使土壤 pH 值增加,且土壤 pH 值与酸杆菌门呈显著负相关(图 5),可能是导致土壤中酸杆菌门相对丰度降低的原因。因此,添加土壤调理剂和种植过程可改变土壤 pH 值、土壤环境和养分含量,影响土壤中某些微生物的生长和代谢活动,进而影响微生物群落结构^[37]。有研究表明,施用磷肥可导致放线菌门和浮霉菌门相对丰度增加,而绿弯菌门和疣微菌门相对丰度降低^[38]。放线菌门和浮霉菌门具有溶磷作用^[38],因此可将钙镁磷肥中难利用的无机磷转化为作物可吸收利用的磷形态,进而一定程度提高土壤中有效态磷含量。本研究中 LISP 含有钙镁磷肥,可有效提高土壤中有效态磷含量,一定程度影响土壤微生物群落的组成。

在 0.4%LISP 处理下,节杆菌属、虚构芽孢杆菌属、慢生根瘤菌属、*Defluviicoccus*、*Singulisphaera*、类芽孢杆菌等微生物的相对丰度较对照升高,而地杆菌属、厌氧粘细菌、马赛菌属等微生物的相对丰度较对照明显降低。其中地杆菌属、厌氧粘细菌等属于铁还原菌^[39],其相对丰度下降的原因可能是由于施加 LISP 中的铁粉属于还原铁粉,在土壤中通过氧

化反应生产 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} ,从而影响土壤中铁还原菌的生长和繁殖.马赛菌属易受土壤pH值影响^[40],本研究中添加LISP可显著改变土壤pH值而影响马赛菌属的相对丰度.节杆菌属、*Singulisphaera*、类芽孢杆菌和*Defluviicoccus*具有溶磷作用^[38,41-43],表明LISP中的钙镁磷肥可能会促进溶磷细菌的生长,且溶磷细菌分泌有机和无机酸性等物质可提高土壤中磷的有效性.虚构芽孢杆菌属于固氮菌,可显著影响水稻苗期对Cd的吸收^[44].慢生根瘤菌属具备固氮作用,对As的生物有效性有重要影响^[45].研究结果表明,LISP有利于土壤节杆菌属、*Singulisphaera*、*Fictibacillus*、慢生根瘤菌属等微生物的生长和繁殖,在调节土壤物理化学性质和钝化Cd和As等方面发挥重要的作用.

一般而言,土壤中重金属有效性与微生物群落结构呈现负相关^[13,46].本研究中,添加LISP可有效降低土壤Cd和As的生物有效性,来缓解重金属对土壤微生物群落结构的不利影响.研究表明,土壤稳定化修复过程中,土壤pH值和重金属有效性可有效影响重金属污染土壤细菌群落结构^[47],而土壤pH值是影响微生物群落的关键因素^[15,35,46].本研究中,添加LISP可提高土壤有效磷和pH值(表2),表明添加LISP主要通过改变土壤有效磷和pH值来调控土壤微生物群落结构.土壤微生物结构对环境变化较为敏感^[31],且土壤物理化学性质的变化在调节微生物对重金属的适应过程中起着重要作用^[48].因此,添加LISP可提高土壤有效磷和pH值,降低土壤As和Cd的生物有效性,进而调节土壤微生物对重金属污染环境的适应性.

4 结论

4.1 添加LISP可显著改变农田土壤的基本理化性质,降低土壤Cd和As的有效性,且对土壤微生物 α -多样性无明显影响,但显著改变土壤 β -多样性.与CK相比,在0.4%的LISP处理下土壤pH值、土壤有效磷和总磷含量分别显著($P<0.05$)提高0.57单位、130.6%和18.38%,同时土壤有效态Cd和As含量分别显著($P<0.05$)降低21.76%和16.39%.

4.2 高通量测序结果表明,LISP处理下土壤中厚壁菌门、放线菌门和浮霉菌门等门水平物种的相对丰度增加,尤其是有利于土壤中节杆菌属、

Singulisphaera、*Fictibacillus*、慢生根瘤菌属等益生微生物的生长和繁殖.LISP可显著改变土壤微生物群落的组成和结构,其中土壤pH值和有效磷的增加,以及土壤有效态As和Cd含量的降低是调控土壤微生物群落的主要环境因子.因此,多元复合调理剂LISP可提高土壤pH值和磷含量,同时降低Cd和As的生物有效性,对农田土壤的生态安全无明显影响.

参考文献:

- [1] 冉洪珍,郭朝晖,肖细元,等.改良剂连续施用对农田水稻Cd吸收的影响 [J]. 中国环境科学, 2019,39(3):1117-1123.
- [2] Ran H Z, Guo Z H, Xiao X Y, et al. Effects of continuous application of soil amendments on cadmium availability in paddy soil and uptake by rice [J]. China Environmental Science, 2019,39:1117-1123.
- [3] 周航,周航,吴玉俊,等.复合改良剂对稻田Cd、As活性与累积的协同调控 [J]. 中国环境科学, 2016,36(1):206-214.
- [4] Gu J F, Zhou H, Wu Y J, et al. Synergistic control of combined amendment on bioavailability and accumulation of Cd and As in rice paddy soil [J]. China Environmental Science, 2016,36:206-214.
- [5] 周航,周航,曾敏,等.2种组配改良剂对稻田土壤重金属有效性的效果 [J]. 中国环境科学, 2014,34(2):437-444.
- [6] Zhou H, Zhou X, Zeng M, et al. Effects of two combined amendments on heavy metal bioaccumulation in paddy soil [J]. China Environmental Science, 2014,34:437-444.
- [7] 钟倩云,曾敏,廖柏寒,等.碳酸钙对水稻吸收重金属(Pb、Cd、Zn)和As的影响 [J]. 生态学报, 2015,35(4):1242-1248.
- [8] Zhong Q Y, Zeng M, Liao B H, et al. Effects of CaCO₃ addition on uptake of heavy metals and arsenic in paddy fields [J]. Acta Ecologica Sinica, 2015,35:1242-1248.
- [9] 彭惠,邓华健,徐浩然,等.石灰对生物炭和腐殖酸阻控水稻Cd吸收的效果 [J]. 中国环境科学, 2020,40(1):329-337.
- [10] Peng H, Deng H J, Xu H R, et al. Effect of lime on biochar and humic acid controlling cadmium uptake in rice [J]. China Environmental Science, 2020,40:329-337.
- [11] Zhang J, Zhou H, Gu J, et al. Effects of nano-Fe₃O₄-modified biochar on iron plaque formation and Cd accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Environmental Pollution, 2020,260:113970.
- [12] Abad-Valle P, álvarez-Ayuso E, Murciego A, et al. Assessment of the use of sepiolite amendment to restore heavy metal polluted mine soil [J]. Geoderma, 2016,280:57-66.
- [13] Liu G, Meng J, Huang Y, et al. Effects of carbide slag, lodestone and biochar on the immobilization, plant uptake and translocation of As and Cd in a contaminated paddy soil [J]. Environmental Pollution, 2020,266:115194.
- [14] 王英杰,邹佳玲,杨文弢,等.组配改良剂对稻田系统Pb、Cd和As生物有效性的协同调控 [J]. 环境科学, 2016,37(10):4004-4010.
- [15] Wang Y J, Zou J L, Yang W T, et al. Synergetic control of bioavailability of Pb, Cd and As in the rice paddy system by combined amendments [J]. Environmental Science, 2016,37:4004-4010.
- [16] 卢维宏,张乃明,苏友波,等.联合施肥对复合污染农田水稻As、Cd吸收的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2020,39(10):2217-2226.

- Lu W H, Zhang N M, Su Y B, et al. Effects of combined fertilization on the absorption of As and Cd in rice from polluted farmland [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020,39:2217–2226.
- [11] 杨文弢,周 航,邓贵友,等.组配改良剂对污染稻田中铅、镉和砷生物有效性的影响 [J]. *环境科学学报*, 2016,36(1):257–263.
- Yang W T, Zhou H, Deng G Y, et al. Effects of combined amendment on bioavailability of Pb, Cd, and As in polluted paddy soil [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2016,36:257–263.
- [12] Gu J, Zhou H, Tang H, et al. Cadmium and arsenic accumulation during the rice growth period under in situ remediation [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019,171:451–459.
- [13] 曾 鹏,郭朝晖,肖细元,等.构树修复对重金属污染土壤环境质量的影响 [J]. *中国环境科学*, 2018,38(7):2639–2645.
- Zeng P, Guo Z H, Xiao X Y, et al. Effect of phytoremediation with *Broussonetia papyrifera* on the biological quality in soil contaminated with heavy metals [J]. *China Environmental Science*, 2018,38:2639–2645.
- [14] 曾秀君,黄学平,程 坤,等.石灰组配有机改良剂对农田铅镉污染土壤微生物活性的影响 [J]. *环境科学研究*, 2020,33(10):2361–2369.
- Zeng X J, Huang X P, Cheng K, et al. Effects of lime mixed with organic modifiers on microbial activity in lead and cadmium contaminated farmland soil [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2020,33:2361–2369.
- [15] 兰玉书,袁 林,杨 刚,等.钝化材料对农田土壤Cd形态及微生物群落的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 2020,39(12):2743–2751.
- Lan Y S, Yuan L, Yang G, et al. Soil cadmium content and microbial community structure are affected by passivator application [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020,39:2743–2751.
- [16] 杜瑞英.土壤改良剂和红麻联合修复对多金属污染土壤中微生物群落功能的影响 [J]. *生态与农村环境学报*, 2013,29(1):70–75.
- Du R Y. Effects of application of soil amendment and cultivation of red ramie in remedying multi-metal contaminated soils on functions of soil microbial community [J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2013,29:70–75.
- [17] Huang Y, Sheng H, Zhou P, et al. Remediation of Cd-contaminated acidic paddy fields with four-year consecutive liming [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020,188:109903.
- [18] 李 英,商建英,黄益宗,等.镉砷复合污染土壤钝化材料研究进展 [J]. *土壤学报*, 2021;1–12.
- Li Y, Shang J Y, Huang Y Z, et al. Research progress on passivation materials for cadmium–arsenic co-contamination in soil [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2021;1–12.
- [19] 王 昊,张 悅,王 欣,等.硅酸盐调控抑制水稻对富硒水稻土中 Cd 吸收 [J]. *农业工程学报*, 2019,35(22):234–242.
- Wang H, Zhang Y, Wang X, et al. Suppression of silicates regulation on Cd uptaking of rice in Se-rich paddy soils [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2019,35:234–242.
- [20] GB 15618—2018 土壤环境质量农用地土壤污染风险管控标准(试行) [S].
GB 15618—2018 Soil environmental quality Risk control standard for soil contamination of agricultural land [S].
- [21] 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.
- Lu R K. *Soil and agricultural chemistry analysis* [M]. Beijing: China Agriculture S & T Press, 1999.
- [22] GB/T23739—2009 土壤质量 有效态铅和镉的测定 原子吸收法 [S].
GB/T23739—2009 Soil quality—Analysis of available lead and cadmium contents in soils—Atomic absorption spectrometry [S].
- [23] Chang E E, Chiang P C, Lu P H, et al. Comparisons of metal leachability for various wastes by extraction and leaching methods [J]. *Chemosphere*, 2001,45(1):91–99.
- [24] 史 磊,郭朝晖,彭 驰,等.石灰组配土壤改良剂抑制污染农田水稻镉吸收 [J]. *农业工程学报*, 2018,34(11):209–216.
- Shi L, Guo Z H, Peng C, et al. Lime based amendments inhibiting uptake of cadmium in rice planted in contaminated soils [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2018,34(11):209–216.
- [25] 翟娇峰,周 航,贾润语,等.三元土壤调理剂对田间水稻镉砷累积转运的影响 [J]. *环境科学*, 2018,39(4):1910–1917.
- Gu J F, Zhou H, Jia R Y, et al. Effects of a tribasic amendment on cadmium and arsenic accumulation and translocation in rice in a field experiment [J]. *Environmental Science*, 2018,39(4):1910–1917.
- [26] 鄢德梅,郭朝晖,黄凤莲,等.钙镁磷肥对石灰、海泡石组配修复镉污染稻田土壤的影响 [J]. *环境科学*, 2020,41(3):1491–1497.
- Yan D M, Guo Z H, Huang F L, et al. Effect of calcium magnesium phosphate on remediation paddy soil contaminated with cadmium using lime and sepiolite [J]. *Environmental Science*, 2020,41(3):1491–1497.
- [27] Wu Y, Zhou H, Zou Z, et al. A three-year in-situ study on the persistence of a combined amendment (limestone+sepiolite) for remedying paddy soil polluted with heavy metals [J]. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2016,130:163–170.
- [28] Ma C, Ci K, Zhu J, et al. Impacts of exogenous mineral silicon on cadmium migration and transformation in the soil–rice system and on soil health [J]. *Science of the Total Environment*, 2020,143501.
- [29] 郭 娟,罗小丽,姚爱军,等.模拟酸雨条件下铁硅材料和生物炭对土壤镉砷形态及生物有效性的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 2018, 37(7):1495–1502.
- Guo J, Luo X L, Yao A J, et al. Effects of iron–silicon material and biochar on soil Cd and As speciation and vegetable uptake under simulated acid rain condition [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018:1495–1502.
- [30] Liu R, Zhao D. In situ immobilization of Cu(II) in soils using a new class of iron phosphate nanoparticles [J]. *Chemosphere*, 2007,68(10): 1867–1876.
- [31] Pei P, Sun Y, Wang L, et al. In-situ stabilization of Cd by sepiolite co-applied with organic amendments in contaminated soils [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021,208:111600.
- [32] Mench M, Renella G, Gelsomino A, et al. Biochemical parameters and bacterial species richness in soils contaminated by sludge-borne metals and remediated with inorganic soil amendments [J]. *Environmental Pollution*, 2006,144(1):24–31.
- [33] Chen Y, Chen F, Xie M, et al. The impact of stabilizing amendments on the microbial community and metabolism in cadmium-contaminated paddy soils [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 395:125132.

- [34] 周雅心,王晓彤,王广磊,等.炉渣与生物炭施加对稻田土壤细菌多样性及群落组成的影响 [J]. 中国环境科学, 2020,40(3):1213–1223.
- Zhou Y X, Wang X T, Wang G L, et al. Effect of the slag and biochar application on bacterial diversity and community composition of paddy field [J]. China Environmental Science, 2020,40:1213–1223.
- [35] Shi L, Guo Z, Peng C, et al. Immobilization of cadmium and improvement of bacterial community in contaminated soil following a continuous amendment with lime mixed with fertilizers: A four-season field experiment [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019,171:425–434.
- [36] Griffiths R I, Thomson B C, James P, et al. The bacterial biogeography of British soils [J]. Environmental Microbiology, 2011, 13(6):1642–1654.
- [37] 杨胜香,李凤梅,彭禧柱,等.不同碳氮磷源改良剂对铅锌尾矿废弃地土壤微生物群落结构的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2019,38(6): 1256–1264.
- Yang S X, Li F M, Peng X Z, et al. Effects of amendments with different C/N/P ratios on the microbial community structure in Pb-Zn mine tailings [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2019,38(6): 1256–1264.
- [38] 马 垒,郭志彬,王道中,等.长期三水平磷肥施用梯度对砂姜黑土细菌群落结构和酶活性的影响 [J]. 土壤学报, 2019,56(6):1459–1470.
- Ma L, Guo Z B, Wang D Z, et al. Effect of long-term application of phosphorus fertilizer on soil bacterial community structure and enzymatic activity in lime concretion black soil relative to P application rate [J]. Acta Pedologica Sinica, 2019,56(6):1459–1470.
- [39] 罗文齐,徐梦珊,李丹丹,等.蓝藻暴发对太湖梅梁湾底泥中铁氨氧化速率的影响 [J]. 环境科学学报, 2020,40(8):2828–2833.
- Luo W Q, Xu M S, Li D D, et al. Effect of cyanobacteria outbreak on Feammox rates in the sediments of Meiliang Bay,Taihu Lake [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2020,40(8):2828–2833.
- [40] 王晓彤,蓝兴福,安婉丽,等.模拟酸雨对福州平原稻田土壤细菌丰度及多样性的影响 [J]. 中国环境科学, 2019,39(3):1237–1244.
- Wang X T, Lan X F, An W L, et al. Effect of simulated acid rain on paddy soil bacterial abundance and diversity in Fuzhou Plain [J]. China Environmental Science, 2019,39(3):1237–1244.
- [41] Zhou C, Heal K, Tigabu M, et al. Biochar addition to forest plantation soil enhances phosphorus availability and soil bacterial community diversity [J]. Forest Ecology and Management, 2020,455:117635.
- [42] Minari G D, Saran L M, Lima Constancio M T, et al. Bioremediation potential of new cadmium, chromium, and nickel-resistant bacteria isolated from tropical agricultural soil [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020,204:111038.
- [43] Ding B, Luo W, Qin Y, et al. Effects of the addition of nitrogen and phosphorus on anaerobic ammonium oxidation coupled with iron reduction (Feammox) in the farmland soils [J]. Science of the Total Environment, 2020,737:139849.
- [44] 袁 梅,谭适娟,孙建光.水稻内生固氮菌分离鉴定、生物特性及其对稻苗镉吸收的影响 [J]. 中国农业科学, 2016,49(19):3754–3768.
- Yuan M, Tan S J, Sun J G. Isolation and biological properties of endophytic diazotrophs from rice and their influences on rice seedling Cd accumulation [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2016,49:3754–3768.
- [45] 黄博聪,龙 健,刘灵飞,等.锑矿周边稻田土壤垂直剖面锑砷形态与细菌群落结构分布及相互关系 [J]. 环境科学学报, 2019,39(4): 1274–1283.
- Huang B C, Long J, Liu L F, et al. Distribution and correlation of antimony and arsenic species and bacterial community structure in vertical profiles of paddy soils around antimony mine [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2019,39:1274–1283.
- [46] Zeng P, Guo Z, Xiao X, et al. Effects of tree-herb co-planting on the bacterial community composition and the relationship between specific microorganisms and enzymatic activities in metal(loid)-contaminated soil [J]. Chemosphere, 2019,220:237–248.
- [47] 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.
- Cui H B, C F Y, Zhou J, et al. Availability of soil Cu and Cd and microbial community structure as affected by applications of amendments [J]. China Environmental Science, 2016,36:197–205.
- [48] Pan X, Zhang S, Zhong Q, et al. Effects of soil chemical properties and fractions of Pb, Cd, and Zn on bacterial and fungal communities [J]. Science of the Total Environment, 2020,715:136904.

作者简介: 曾 鹏(1992-),男,湖北荆州人,讲师,博士,主要从事重金属污染土壤修复.发表论文 26 篇.