Vol. 37, No. 3 March 2018

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2017072402

黄荣,徐应明,黄青青,等.不同水分管理下施用尿素对土壤镉污染钝化修复效应及微生物结构与分布影响[J].环境化学,2018,37(3):523-533.

HUANG Rong, XU Yingming, HUANG Qingqing, et al. Effects of urea on in-situ remediation of Cd polluted paddy soil and the structure and distribution of soil microbes under different water management [J]. Environmental Chemistry, 2018, 37(3):523-533.

不同水分管理下施用尿素对土壤镉污染钝化修复效应 及微生物结构与分布影响*

黄 荣 徐应明** 黄青青 秦 旭 赵立杰 梁学峰 刘艺芸

(农业部环境保护科研监测所农田重金属污染修复创新团队,农业部产地环境污染防控重点实验室/ 天津市农业环境与农产品安全重点实验室,天津,300191)

摘 要 通过水稻盆栽实验,开展了全生育期淹水灌溉和湿润灌溉二种水分管理模式条件下,施用不同量尿素对土壤镉污染钝化修复效应及微生物结构与分布影响研究.结果表明,海泡石钝化修复下,淹水灌溉和湿润灌溉处理时,施用不同量尿素对土壤中 0.025 mol·L⁻¹HCl 浸提态 Cd 含量无明显影响;但二乙基三胺五乙酸浸提态 Cd 含量均显著性降低.与海泡石单一钝化处理相比,淹水灌溉和湿润灌溉下海泡石钝化处理时,施用不同量尿素可使水稻根系铁氧化物胶膜中的 Fe 含量分别降低 39.61%—55.59%和 22.51%—53.63%.淹水管理下施用尿素对水稻根膜吸附土壤中 Cd 有抑制作用,而湿润管理下施用尿素对水稻根膜吸附土壤中 Cd 有激活作用.淹水灌溉和湿润灌溉下海泡石钝化处理时,施用不同量尿素可使水稻根系中的 Cd 含量分别增加 36.11%—71.30%和 58.20%—89.42%,水稻根系中还原型谷胱甘肽活性则分别降低 30.82%—41.97%和13.47%—62.36%.淹水灌溉下海泡石钝化处理时,施用不同量尿素可以降低水稻根系中非蛋白巯基化合物含量,降幅可达13.02%—29.54%;但在湿润灌溉下海泡石钝化处理时并无明显影响.与海泡石单一钝化处理相比,淹水灌溉下钝化处理时,施用低量尿素和中量尿素时可使糙米中 Cd 含量分别增加 28.89%和 8.89%,而施用高量尿素时则使糙米中 Cd 含量降低 22.22%;湿润灌溉下钝化处理时,施用低量尿素、中量尿素和高量尿素时糙米 Cd 含量与海泡石单一处理间并无明显差异.土壤微生物的非加权组平均法和主成分分析表明,实验条件下的钝化处理不会对土壤中微生物的结构与分布产生明显影响.

关键词 土壤,镉污染,海泡石,钝化,尿素,水分管理.

Effects of urea on in-situ remediation of Cd polluted paddy soil and the structure and distribution of soil microbes under different water management

HUANG Rong XU Yingming** HUANG Qingqing QIN Xu ZHAO Lijie LIANG Xuefeng LIU Yiyun

(Innovative Team of Remediation for Heavy Metal Contaminated Farmland, Ago-Environmental Protection Institute,

Supported by Agricultural Science and Technology Innovation Project of Chinese Acadamic of Agricultural Sciences (2016-exge-xym), Agricultural Eco-Environmental Protection Project of the Ministry of Agriculture (2016-sthj-xym), China Agriculture Research System (CARS-03), Tianjin Science and Technology Support Project (14ZCZDSF00004) and Tianjin Agricultural Science and Technology Achievement Transformation and Promotion Project (201404100).

* * 通讯联系人, Tel: 022-23618060, E-mail: ymxu1999@126.com

Corresponding author, Tel:022-23618060, E-mail: ymxu1999@ 126.com

²⁰¹⁷年7月24日收稿(Received: July 24,2017).

^{*}中国农业科学院农业科技创新工程项目(2016-cxgc-xym),农业部农业生态环境保护项目(2016-sthj-xym),国家现代农业产业技术 体系(CARS-03),天津市科技支撑计划项目(14ZCZDSF00004)和天津市农业科技成果转化与推广项目(201404100)资助.

Ministry of Agriculture, Key Laboratory of Original Agro-Environmental Pollution Prevention and Control, Ministry of Agriculture/Tianjin Key Laboratory of Agro-environment and Food Safety, Tianjin, 300191, China)

Abstract: Pot experiments were conducted to investigate the effects of urea on in-situ remediation of Cd polluted paddy soil under different water management. The experimental results showed that with flooded and non-flooded water management, urea addition did not change the exchangeable Cd concentration by 0.025 mol·L⁻¹ HCl significantly under the immobilization remediation of sepiolite, but it decreased the exchangeable Cd content by diethylenetriaminepentaacetic acid leaching significantly. Compared with the immobilization remediation of sepiolite, the Fe concentration of dithionite-citrate-bicarbonate leach liquor after urea addition was decreased by 39.61%—55.59% and 22.51%—53.63% under flooded and non-flooded management, respectively. Urea had a positive effect on soil Cd adsorption by root iron plaque under the flooded management, but have a negative effect under the non-flooded management. The Cd concentration of root was increased by 36.11%— 71.30% and 58.20%-89.42% in the two water management, and the reduced glutathione concentration was decreased by 30.82%-41.97% and 13.47%-62.36%, respectively. The nonprotein thiol concentration was decreased by 13.02%-29.54% after adding urea under flooded management, but had no significant change in non-flooded management. Under flooded management, adding low and medium dosage urea increased the Cd concentration in brown rice, but the concentration decreased after adding high dosage urea. The Cd concentration did not change significantly after adding different dosage urea under non-flooded water management. Unweighted pair-group method with arithmetic means and principal component analysis were used to analyze the soil microbial biomass. The results showed that immobilization remediation had no obvious influence on soil microbial structure and distribution under different experimental conditions.

Keywords: soil, cadmium pollution, sepiolite, immobilization remediation, urea, water management.

据 2014 年环境保护部和国土资源部联合发布的《全国土壤污染状况公报》显示我国土壤环境状况总体不容乐观,部分耕地土壤质量堪忧,其中耕地土壤重金属镉点位超标率达 7.0%,位居无机污染物之首^[1].镉对动植物而言是一种非必需元素,对人体具有致癌作用,潜在健康危害极大.水稻是我国第一大粮食作物,种植面积大,分布范围广,而水稻对镉的吸收累积能力较强,容易在籽粒中富集,并可通过食物链进入人体影响人类健康^[2].自 2013 年湖南"镉大米"事件后,农田重金属镉污染以及稻米质量安全引起了全社会的广泛关注.

水肥管理是水稻种植中的重要农艺措施,不同的水肥管理方式对水稻田土壤重金属镉形态和稻米吸收重金属镉具有重要影响^[3-5].农田土壤重金属镉污染钝化技术具有修复速率快、效果好、稳定性高、操作简便,不影响农业生产等优点^[6-8].有关不同水分管理对水稻土镉污染钝化修复效应影响已有较多文献报道,研究表明淹水可以明显提高酸性水稻土 pH,降低土壤有效态镉含量^[9-10];而相关研究同样表明,施用无机肥或有机肥对土壤重金属生物有效性和植株中重金属的富集均存在不同程度的影响^[11-12]. 尿素是氮肥的主要形式,已占我国氮肥产量的 60%以上. 尿素是水稻生长过程中施用的最重要氮肥,尿素施入水稻田后可引起土壤 pH 的变化和重金属镉形态的转化,进而改变重金属镉有效性^[13-14]. 尿素对土壤重金属镉有效性的影响随着尿素施用量的不同而变化^[15-16]. 研究表明,施用尿素可引起土壤 pH 下降,提高土壤中交换态镉含量^[17],但也有研究显示施用尿素显著降低了土壤有效态镉的含量^[18]. 在镉污染水稻田实际钝化修复中,水肥管理基本上是同步进行的. 因此, 研究水肥措施共同作用下对水稻土镉污染钝化效应影响行为,对于指导在钝化修复同时进行科学合理的水肥管理具有重要作用.

本文通过采用全生育期淹水和湿润灌溉二种水分管理模式,研究施用不同量尿素对水稻土重金属镉污染海泡石钝化效应影响特征及其机制,并进一步探讨了不同处理对土壤微生物的结构与分布影响. 为水稻田重金属镉污染高效钝化修复下合理的水肥管理提供科学依据.

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 试验材料

供试土壤为湖南省某地镉污染水稻田土壤,pH 值为 6.56,CEC 为 16.6 cmol·kg⁻¹,全氮 1.29 g·kg⁻¹,总磷 0.68 g·kg⁻¹,总 Cd 含量为 1.58 g·kg⁻¹,所用钝化材料海泡石为天然黏土矿物材料,含少量的滑石和白云石,pH 10.1,孔径 1.4 nm,BET 比表面积为 22.3 m²·kg⁻¹,CEC(阳离子交换量)含量为 18 cmol·kg⁻¹,X 射线衍射分析表明主要成分为 41.7% CaO、16.8% MgO、7.4% Al₂O₃、32.5% SiO₂. 尿素为分析纯试剂,纯度大于 99%,含 N 量为 42.8%. 供试作物为水稻,品种为欣荣优华占.

1.2 试验设计

钝化材料海泡石(S)添加量为 10 g·kg^{-1} (海泡石/土),实验所用钝化材料海泡石是在前期研究工作基础上进行的 $^{[6-10]}$,添加量为项目前期通过大量实验研究获得的较好使用剂量,本实验中不再进行钝化材料不同添加剂量研究,主要探讨 2 种水分管理模式下,施用不同量尿素(N)对水稻土镉污染钝化效应影响特征及其机制.尿素设置 3 种添加量,分别为低量(L) 0.1 g·kg^{-1} 土、中量(M) 0.2 g·kg^{-1} 土和高量(H) 0.4 g·kg^{-1} 土,其含量以含氮量计,施用时间为盆栽水稻插秧前;水分管理设置为长期淹水灌溉(ys)和湿润灌溉(fys)两种水分管理模式,其中全生育期淹水灌溉为在水稻整个生育期内盆栽土壤表面始终保持无积水状态.实验共设置 16 个处理:①长期淹水灌溉下对照(CK_{ys}),湿润灌溉下对照(CK_{ys}),②长期淹水灌溉下海泡石钝化处理(S_{ys}),湿润灌溉下海泡石钝化处理(S_{ys}),湿润灌溉下海泡石钝化处理(S_{ys}),湿润灌溉下海泡石钝化处理(S_{ys}),湿润灌溉下施用低量尿素(N.L_{ys}),湿润灌溉下施用低量尿素(N.M_{fys});⑥长期淹水灌溉下纯用低量尿素(N.M_{fys});⑥长期淹水灌溉下钝化处理时施用低量尿素(S.N.L_{ys}),湿润灌溉下钝化处理时施用低量尿素(S.N.L_{ys}),湿润灌溉下钝化处理时施用用量尿素(S.N.L_{ys}),湿润灌溉下钝化处理时施用中量尿素(S.N.L_{fys});⑥长期淹水灌溉下钝化处理下施用中量尿素(S.N.H_{ys}),湿润灌溉下钝化处理时施用中量尿素(S.N.H_{fys});⑧长期淹水灌溉下钝化处理下施用高量尿素(S.N.H_{ys}),湿润灌溉下钝化处理时施用中量尿素(S.N.H_{fys}))

1.3 样品分析

水稻成熟后收获,将水稻分为根、秸秆、籽粒等 3 部分,洗净、风干后粉碎保存用于后续测定,根系洗净保存鲜样用于后续根系铁氧胶膜及根系抗氧化物酶活性的测定.待水稻收获后采集新鲜土壤样品,采用 50 mL 的离心管取 15 g 新鲜土样,在 10000 r·min^{-1} 转速下离心 5 min,保存于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中用于后续土壤微生物多样性的测定、剩余土样风干后过 1 mm 筛,混匀保存待测.

土壤微生物的结构和分布采用 16S rRNA 的高通量测序分析.使用 CTAB/SDS 方法从土壤样品中提取总基因组 DNA, DNA 浓度和纯度用无菌水稀释 1 ng· μ L⁻¹, 并在 1%琼脂糖凝胶上进行检测.使用具有条形码的特异性引物 515F-806R 扩增 16S rRNA 基因 (16S V4)的不同区域. 所有 PCR 反应均用 Phusion® 高保真 PCR Master Mix (New England Biolabs)进行,然后定性和定量分析 PCR 产物,混合并纯化.最后通过 Qubit 和 Q-PCR 测试后在 HiSeq2500 PE250 上对文库进行测序 [22].

1.4 数据分析

所有数据均采用3次重复的平均值±标准偏差来表示,应用SPSS 20 对数据进行相关统计分析,检

验不同处理间的差异程度,文图中不同小写字母表示差异具有统计学意义(P<0.05).所有图均采用OriginPro 8.5 制作.

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 不同处理对糙米镉含量的影响

图 1 是不同处理下水稻糙米中 Cd 含量.由图 1 可见,长期淹水条件下水稻糙米 Cd 含量比湿润管理低 52.38%;淹水和湿润两种水分条件下,S 处理时水稻糙米 Cd 含量显著降低,与 CK 相比分别降低 31.47%和 48.68%,其中淹水条件下水稻糙米 Cd 含量比湿润管理低 33.33%.与 CK 相比,N.L_{ys}和 N.M_{ys}及 N.L_{fys}和 N.M_{fys}处理时水稻糙米 Cd 含量无显著差异,但 N.H_{ys}和 N.H_{fys}处理时水稻糙米 Cd 含量明显增加,说明尿素在一定程度上促进了水稻糙米对 Cd 的吸收累积量,特别是在湿润水分管理下水稻糙米 Cd 含量增加更为显著,该实验结果与甲卡拉铁研究结果一致^[23].与 S_{ys}处理相比,S.N.L_{ys}和 S.N.M_{ys}可以使糙米中 Cd 含量分别增加 28.89%和 8.89%,而 S.N.H_{ys}处理可以使糙米中 Cd 含量降低 22.22%;湿润水分管理下,施用尿素时水稻糙米 Cd 含量与 S_{fys}处理间无明显差异.这可能是由于在淹水管理下,施用高量尿素时,水稻根系中 Fe 含量比施用低、中量尿素偏高(图 2a),而相关研究认为植物根系对 Cd 的吸收借助于 Fe 的运输蛋白,而淹水管理下水稻根系表面大量的 Fe²+与 Fe 的运输蛋白优先结合,这将极大地降低 Cd 与其结合的几率,从而减少了水稻对 Cd 的吸收累积^[8].

从图 2c 中同样可以看出,在钝化的条件下施用高量尿素时水稻根系中 Cd 含量低于施用低、中量尿素,而 DCB 浸提液 Cd 含量(图 2b)则无明显差异.Liu 等^[24]研究认为水稻根系中的 Cd 含量远远超过了 DCB 浸提液和地上部分中 Cd 含量,根部吸收了大量的 Cd,所以水稻根组织应是 Cd 吸收转运的主要屏障.在本研究中淹水处理时土壤的还原性要明显强于湿润处理,使得水稻根系铁氧胶膜中 Fe 的含量(图 2a)显著高于湿润处理,因此湿润处理中水稻糙米的 Cd 含量显著高于淹水处理.添加尿素使土壤中的有效态 Cd 含量略有降低(图 3),但是尿素却显著的增加了水稻糙米中的 Cd 含量,这可能是施用尿素增强了土壤的氧化性,导致水稻根系铁氧化物胶膜中的 Fe 含量显著下降(图 2a).这进一步论证了水稻对 Cd 的吸收受多种因素的综合影响.

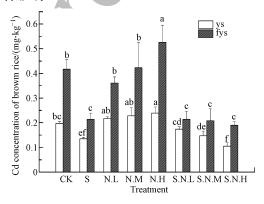


图 1 不同处理下水稻糙米中 Cd 含量

Fig.1 The Cd concentration in brown rice in different treatment

2.2 不同处理对水稻根系中 Cd 含量以及铁氧胶膜中 Fe 和 Cd 含量的影响

图 2 是不同处理对水稻根系中 DCB 浸提液中 Fe、Cd 含量及水稻根系中 Cd 含量的影响.由图 2(a) 可见,长期淹水和湿润管理下,与 CK 相比, S_{ys} 和 S_{fys} 处理可使水稻根系铁氧化物胶膜中 Fe 含量分别增加 2.86%和 79.26%,其中 S_{ys} 处理与 CK 相比无显著差异;而长期淹水和湿润管理下,施用不同量尿素可显著降低水稻根系中铁氧化物胶膜中的 Fe 含量 (P<0.05),其降幅分别可达 23.52%—55.69%和 45.69%—67.23%.在 S 处理下,施用不同量尿素同样可使水稻根系铁氧化物胶膜中的 Fe 含量产生明显下降, S_{ys} 和 S_{fys} 处理时的降幅分别为 39.61%—55.59%和 22.51%—53.63%.

由图 2(b)可见,与 CK 相比,在长期淹水和湿润管理下,S 钝化处理均可降低水稻根膜中 Cd 含量,

降幅分别为 65.43%和 32.80%.在淹水管理下,施用低、中和高量尿素可不同程度地降低水稻根膜中 Cd 含量,降幅分别为 65.34%、32.38%和 30.56%;在湿润管理下,施用低、中和高量尿素可不同程度地增加水稻根膜中 Cd 含量,增幅分别为 3.15%、79.98%和 21.88%,但只有施用中量尿素时达到显著性水平 (P<0.05).说明长期淹水管理下,施用尿素对水稻根膜吸附土壤中 Cd 有抑制作用,而湿润管理时施用尿素对水稻根膜吸附土壤中 Cd 有激活作用.在淹水和和湿润管理下,施用低、中和高量尿素对 S 处理时水稻根膜中 Cd 含量均无显著影响,这与 S 处理下钝化作用起主导作用有关.

由图 2(c) 可知,水稻根系中的 Cd 含量显著的高于铁氧胶膜中的 Cd 含量.在淹水和湿润管理下,施用尿素可以显著增加水稻根系中 Cd 含量 (P<0.05),与 CK 相比增幅分别为 42.11%—77.63% 和 96.56%—240.39%; S_{ys} 和 S_{fys} 处理时施用不同量尿素均可以明显增加水稻根系中的 Cd 含量,增幅分别为 36.11%—71.30%和 58.20%—89.42%,说明在两种水分管理下,无论是未钝化和钝化处理,施用尿素均可以显著地增加水稻根系中 Cd 吸收量.

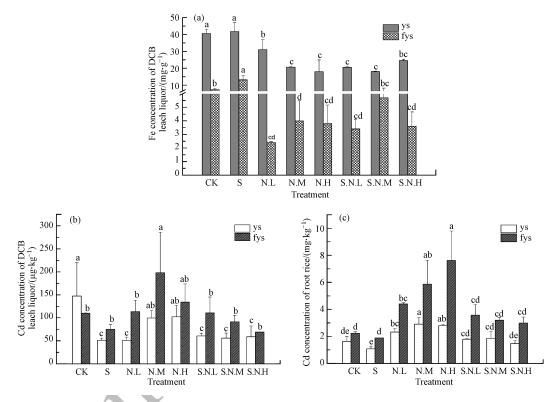


图 2 不同处理对水稻根系中 DCB 浸提液中 Fe(a)、Cd(b)含量及水稻根系中 Cd 含量(c)的影响 Fig.2 Effects of different treatments on Fe(a), Cd(b) content in rice root extract in DCB extraction solution and Cd content(c) in rice root

研究表明,铁氧化物胶膜的厚度和介质中元素离子浓度影响着水稻根系对这些元素的吸收[3].一定厚度的铁膜可促进水稻根系对土壤中元素的吸收,如果厚度太大,铁膜则成为元素吸收的阻碍层.当水稻根表铁膜较薄时,可以促进水稻对 Cd 的吸收,在铁膜数量达到 20825 $\mathrm{mg}\cdot\mathrm{kg}^{-1}$ 根干重时,这种促进作用达到最大;而后随着铁膜数量的继续增加,将会阻碍水稻根系对 Cd 的吸收.实验表明,在淹水管理下, CK_{ys}及 S_{ys}、N.L_{ys}和 S.N.H_{ys}处理水稻根膜中 Fe 含量均显著高于 20825 $\mathrm{mg}\cdot\mathrm{kg}^{-1}$ 根干重值,而其它处理水稻根膜中 Fe 含量与该临界值并无明显差异;但在未钝化下随着施加尿素量的增加,水稻根膜中 Fe 含量逐渐下降,特别是在 S 处理下,施用尿素可以显著降低水稻根膜中 Fe 含量.在湿润管理下,包括 CK 在内的各处理水稻根膜中 Fe 含量均显著低于 20825 $\mathrm{mg}\cdot\mathrm{kg}^{-1}$ 根干重值.说明淹水管理是导致水稻根膜中 Fe 含量显著增加的主要因素,但施用尿素可以显著降低水稻根膜中 Fe 含量.从图 2 可以发现,在淹水和湿润管理下,随着水稻根膜中 Fe 含量的降低,水稻根膜和根系中的 Cd 含量总体呈增加趋势;但在 S 处理下,施用低、中和高量尿素时,水稻根膜和根系中的 Cd 含量间并无显著性差异(P>0.05).

2.3 不同处理对土壤有效态镉含量影响

图 3 是不同处理对水稻土交换态 Cd 含量的影响.由图 3 可知,与 CK 相比,添加海泡石均能降低土壤中0.025 mol·L⁻¹ HCl 浸提态 Cd 和 DTPA 浸提态 Cd 含量,其中淹水管理下的降低率分别为 58.44%和 21.82%;湿润管理下的降低率分别为 47.21%和 3.37%.在未钝化处理下,施用不同量尿素后,淹水和湿润管理下的土壤 0.025 mol·L⁻¹ HCl 浸提态 Cd 含量均产生显著降低;而 DTPA 浸提态 Cd 含量在淹水下降低显著,在湿润管理下,施用低中量尿素时 DTPA 浸提态 Cd 含量降低明显,但施用高量尿素与 CK 间无明显差异.相关研究同样表明,施用尿素显著降低了土壤水溶态镉和 1 mol·L⁻¹醋酸铵浸提态 Cd 的含量;而 60%田间持水量条件下,尿素对两种形态镉的抑制效应逐渐转为正效应^[19],与本实验结果基本一致.

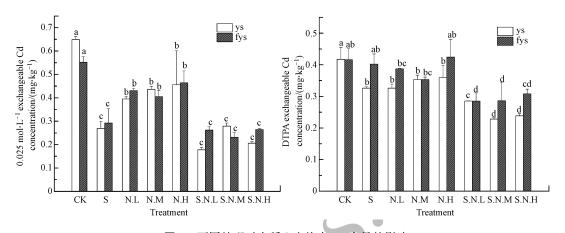


图 3 不同处理对水稻土交换态 Cd 含量的影响

Fig.3 Effect of different treatment on the exchangeable Cd concentration

在海泡石钝化处理时,全生育期淹水与湿润二种管理模式下,施加不同量尿素对土壤中0.025 mol·L⁻¹ HCl 浸提态 Cd 含量无明显影响;但 DTPA 浸提态 Cd 含量均显著降低(P<0.05).相关研究表明^[25],DTPA 提取的有效态 Cd、Pb 含量与糙米中相对应的重金属含量线性相关是包括 HCl 酸、醋酸铵、DTPA 在内的7种提取剂中最高的.此外,研究显示 DTPA 提取紫泥田 Cd 的量与糙米中 Cd 生物累积量相关系数同样是 HCl 酸、EDTA 和 DTPA 等3种提取剂中最大的^[26].DTPA 比较适应于中性-碱性土,而 HCl 酸提取一般适应于酸性土壤.实验中所用土壤取自湖南省某地镉污染水稻田土壤,pH 值为 6.56,在淹水和加入钝化材料后,土壤 pH 值偏中性-弱碱性(图 4).因此,从实验结果可以发现,DTPA 浸提态Cd 含量能够更好地反映土壤有效态 Cd 变化状况.

2.4 不同处理对土壤 pH 和 Eh 的影响

图 4 是不同处理下水稻土 pH 值的影响.由图 4 可见,无论是淹水还是湿润管理,添加海泡石钝化处理均可显著提高土壤 pH 值,其中淹水和湿润管理下土壤 pH 值分别增加 1.17—1.24 和 1.05—1.22.这主要是由于海泡石自身呈碱性,加入后导致土壤 pH 值升高的缘故.在未钝化处理时,淹水管理下低中量尿素对土壤 pH 未产生显著性影响,高量尿素使得土壤 pH 值下降 0.12,湿润管理下施用高量的尿素可使土壤 pH 值下降 0.03,而施用低量和中量尿素分别使土壤 pH 值增加 0.05 和 0.02.土壤施入尿素后,由于尿素水解消耗土壤溶液中的氢离子短时间内可使土壤 pH 值升高[16].

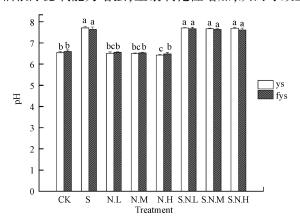
$$CO(NH_2)_2 + 2H_2O \longrightarrow (NH_4)_2CO_3$$

 $(NH_4)_2CO_3 + 2H_2O \longrightarrow NH_4HCO_3 + NH_4OH$

随着尿素施入土壤中时间的延长,土壤中尿素水解产生的 NH⁺,可以通过细菌的作用转化为亚硝酸或硝酸盐,并产生 H⁺,导致土壤 pH 值进一步降低^[17].尿素属于酰胺态氮肥,在施入土壤后经历了产碱、产酸的阶段,使得土壤 pH 值出现了显著上升与下降的两个相反过程^[15],本实验中测定的 pH 值为盆栽水稻收获时土壤 pH 值,说明在淹水和湿润管理下,未添加海泡石钝化处理的土壤 pH 值受到施用不同量尿素的一定影响.一般酸性或弱碱性水稻土淹水后,其 pH 值向中性变化,即 pH 值从 4.6—8.0 变化到6.5—7.5.由于实验中采用的水稻土 pH 值为 6.56,接近中性,此时淹水处理对土壤 pH 值增加影响并不

显著,所以淹水处理与湿润处理的土壤 pH 值并无明显差异.在海泡石钝化处理时,施用不同量尿素对土壤 pH 值并无明显影响,这主要是由于添加的钝化材料海泡石呈碱性,加入后可以提高土壤 pH 值,从而抵消了添加尿素有可能导致土壤 pH 值的变化影响.

图 5 是水稻不同生育期土壤 Eh 的动态变化情况.由图 5 可见,在水稻生育前期不同处理间土壤的 Eh 值相差较小,但随着生长时间的增加,淹水管理下的土壤 Eh 呈下降趋势;而湿润管理下的土壤 Eh 呈上升趋势,至水稻成熟期淹水管理下的土壤 Eh 值在-163.25—-25.75 mV 范围内,而湿润管理下的土壤 Eh 值在 82.70—254.85 mV 范围内,远高于淹水管理.在湿润管理下,土壤施入尿素后,在脲酶的作用下水解成铵态氮,随水稻生长时间的延长,铵态氮在土壤中氧气的作用下发生硝化作用^[18].由于钝化材料海泡石自身呈碱性,添加后导致土壤 pH 升高,而引起 Eh 明显下降.在海泡石钝化处理时,土壤 Eh 的变化与 pH 并无明显关系.在湿润管理下,海泡石钝化处理时添加不同剂量尿素造成的土壤 Eh 变化波动与土壤复杂环境体系有关.由图 5 同样可以发现,在水稻湿润灌溉处理生长 20—70 d 阶段,各处理下土壤 Eh 总体逐渐升高,这可能与该生长阶段水稻生长逐渐变得旺盛,地上部向根际输送氧气量增加,导致水稻根际泌氧能力增强,土壤氧化性增加,从而导致土壤 Eh 迅速上升有关^[27].



**N.Hys **S.N.Lys **S.N.Mys **S.N.Hys **CKfys **S.N.S.N.Hys **N.Lfys **N.Mfys **S.N.Mfys **S.N.Mfys

图 4 不同处理对水稻土 pH 的影响 Fig.4 The soil pH in treatment

图 5 水稻不同生育期土壤 Eh 的动态变化 Fig.5 Soil Eh value at different growth period

在水稻全生育期淹水管理下,土壤 Eh 显著低于湿润灌溉处理,特别是在淹水 20 d 后.但在添加钝化材料海泡石土壤 Eh 与 CK, 相比略有上升,而添加不同量尿素情况下,土壤 Eh 总体上同样呈现升高趋势.这是因为尿素水解消耗土壤中 H⁺,短时间内可以提高土壤 pH,增加土壤 Eh.但随着尿素施用量的增加,土壤硝化作用增强, Eh 也随之降低(图 5).一般情况下,水稻田 Eh 值在 200—400 mV 之间,若 Eh 经常在 180 mV 以下或低于 100 mV,则水稻分蘖或生长发育将受阻;若土壤通气性良好, Eh 可增至500 mV以上,但水稻作为耐浸水作物的重要特征之一是根系具有较强的氧化能力,能把大气中的氧高效率地输送到根尖,使根际处于氧化状态^[28-29].本实验结果表明,全生育期淹水管理对水稻正常生长发育会产生一定的不利影响,造成水稻稻谷减产.

2.5 不同处理对水稻根系谷胱甘肽和非蛋白巯基化合物含量的影响

图 6 是不同处理对水稻根系谷胱甘肽(GSH)和非蛋白巯基化合物(NPT)含量的影响.由图 6(a)所示,两种水分管理条件下,除了施用低量尿素外,施用中、高量的尿素均可显著增加水稻根系中 GSH 活性(P<0.05),其增幅分别为 32.46%—36.03%和 19.75%—33.03%.但在 S 处理下,施用尿素却降低了水稻根系中 GSH 活性,淹水和湿润管理下降幅分别为 30.82%—41.97%和 13.47%—62.36%.除 S.N.L 处理外,其它处理中淹水管理下水稻根系中 GSH 浓度均高于湿润处理.

由图 6(b)所示,淹水和湿润两种水分管理下,水稻根系中 NPT 含量在 CK 及 S、N.L、N.M 和 N.H 处理时无显著性差异.与 S_{ys} 处理相比,S.N.L $_{ys}$ 、S.N.M $_{ys}$ 和 S.N.H $_{ys}$ 处理均可以降低了水稻根系中 NPT 含量,降幅为 13.02%—29.54%;与 S_{fys} 处理相比,S.N.L $_{fys}$ 和 S.N.H $_{fys}$ 处理使水稻根系中 NPT 略有增加,S.N.M $_{fys}$ 处理使水稻根系中 NPT 略有降低,但均未达到显著水平(P>0.05).

相关研究表明,水稻植株中 GSH 的活性随着水胁迫时间的延长显著增加[30],随着外源 Cd 处理浓

度的增加,两基因型水稻植株内的 NPT 含量上升而 GSH 含量下降^[31].实验中与施用低、中量尿素相比,在施用高量尿素下,水稻根系中 GSH 活性显著上升,而 NPT 含量明显降低,这与施用高量尿素增加了水稻根系中镉吸收量有关.重金属 Cd 对水稻正常生长产生了一定的胁迫作用,为了消除或减轻重金属 Cd 对水稻的胁迫,水稻根系增强自动清除胁迫的保护系统,使得水稻根系 GSH 和 NPT 的浓度增加^[32-33].因此,植物体内 GSH 和 NPT 的含量变化可以作为植物遭受胁迫的生理响应.

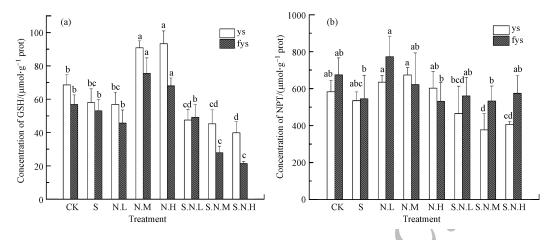


图 6 不同处理对水稻根系谷胱甘肽(a)和非蛋白巯基化合物(b)含量的影响

Fig.6 Effects of different treatments on the contents of GSH (a) and NPT (b) in rice roots

2.6 水稻糙米中 Cd 含量与不同参数间的相关性分析

相关性分析表明:水稻糙米中 Cd 含量与根系中 Cd 含量、土壤 Eh、土壤 pH、0.025 mol·L⁻¹ HCl 浸提态 Cd 含量、DTPA 浸提态 Cd 含量、DCB 浸提液中 Fe 含量、DCB 浸提液中 Cd 含量、水稻根系中 NPT 含量等均存在极显著相关性(P<0.01),其中与土壤 pH、DCB 浸提液中 Fe 含量呈极显著负相关性(P<0.01),与其他指标呈极显著正相关(P<0.01).土壤 pH 值、0.025 mol·L⁻¹ HCl 浸提态 Cd 含量、DTPA 浸提态 Cd 含量、DCB 浸提液中 Fe 含量、DCB 浸提液中 Cd 含量、水稻根系中 NPT 和 GSH 含量呈极显著的负相关关系(P<0.01).根系-Cd 含量与 DCB 浸提液中 Cd 含量呈极显著正相关关系(P<0.01),与 DCB 浸提液中 Fe 含量呈极显著的负相关关系(P<0.01).

表 1 水稻糙米中 Cd 含量与不同参数间的相关性分析

	糙米-Cd	根系-Cd	土壤 pH	土壤 Eh	HCl-Cd	DTPA-Cd	DCB-Fe	DCB-Cd	GSH	NPT
糙米-Cd	1	0.709 **	-0.654**	0.687 **	0.506 **	0.574 **	-0.536 **	0.506 **	0.283	0.430 **
根系-Cd		1	-0.400**	0.558 **	0.225	0.343 *	-0.615 **	0.570 **	0.200	0.215
土壤 pH			1	-0.127	-0.876 **	-0.670 **	-0.008	-0.563 **	-0.707 **	-0.520**
土壤 Eh		/		1	0.040	0.233	-0.810 **	0.369 **	-0.214	0.440 **
HCl-Cd					1	0.772 **	0.136	0.443 **	0.528 **	0.426 **
DTPA-Cd						1	-0.049	0.372 **	0.406**	0.375 **
DCB-Fe							1	-0.302 *	0.225	-0.164
DCB-Cd								1	0.428 **	0.387 **
GSH									1	0.265
NPT										1

Table 1 Correlation analysis between Cd content and different parameters in rice brown rice

2.7 不同处理对土壤中微生物的分布与结构影响

农田重金属镉污染钝化修复主要是通过向土壤中添加钝化材料,在充分混合的基础上,使其与土壤中重金属镉发生物理、化学等作用,将镉离子转化为化学性质不活泼形态,降低镉在土壤环境中的迁移和生物有效性,阻断土壤中镉进入作物可食部位的一种修复技术.钝化材料对土壤环境质量,特别是土壤微生物群落结构及其生物多样性分布的影响将在一定程度上影响农作物的正常生长.因此,钝化材料的环境友好性是评价钝化修复技术效应的重要指标之一.

一般情况下,土壤中微生物对环境的变化具有较敏感的反应,因此土壤微生物的分布与结构能够作为土壤生态系统的主要评价因子^[34-35].图 7 为采用非加权组平均法(UPGMA)和主成分分析(PCA),获得的结合门水平 Top 10 的物种组组成分布的实验土壤样品聚类树图 7(a)和土壤微生物的主成分分析(PCA)图 7(b).

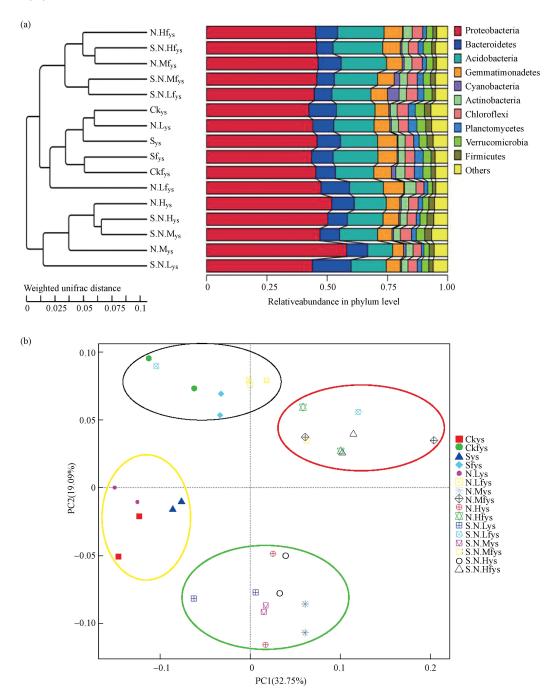


图 7 结合门水平 Top 10 的物种组组成分布的样品聚类树图(a)和土壤微生物的主成分分析(PCA)图(b) Fig.7 A sample clustering tree diagram(a) and a soil microbial principal component analysis (PCA) map(b) generated base on top 10 at phylum level

由图 7(a)可见,土壤中最具有优势的前 10 种微生物占总微生物 93.38%—95.54%.因此,土壤中前 10 类微生物的分布能够反映土壤微生物的总体分布状况.在门水平上不同处理土壤中微生物的优势种群大致相同,且不同处理中同一种微生物的差异较小.图 7(b)为不同处理的土壤样品的主坐标分析,分别对 16 个土壤样品做了第一、第二主坐标分析,两个主坐标的解释度分别为 32.75%和 19.05%,可将其

分为四大类,其中第一类为 CK_{fys} 、 S_{fys} 和 $N.L_{fys}$ 3 个处理;第二类为 $N.L_{fys}$ 、 $N.M_{fys}$ 、 $S.N.L_{fys}$ 、 $S.N.L_{fys}$ $S.N.M_{fys}$ 和 $S.N.H_{fys}$ 5 个处理;其中第三类为 CK_{ys} 、 S_{ys} 和 $N.L_{ys}$ 3 个处理;第四类为 $N.L_{ys}$ 、 $N.M_{ys}$ $S.N.L_{ys}$ $S.N.L_$

3 结论(Conclusion)

- (1)在海泡石钝化处理时,施用不同量尿素对土壤 pH 并无明显影响.淹水灌溉下,施用尿素对水稻根膜吸附土壤中 Cd 有抑制作用,而湿润灌溉时施用尿素对水稻根膜吸附土壤中 Cd 有激活作用.在淹水灌溉和湿润灌溉下,施用低、中和高量尿素对钝化处理时水稻根膜中 Cd 含量均无显著影响.
- (2)单施尿素时,总体上随着尿素施用量的增加促进了水稻糙米 Cd 的吸收累积量,特别是在湿润灌溉下水稻糙米 Cd 含量增加较为显著.与单一钝化处理相比,淹水灌溉下,施用不同量尿素对钝化处理时水稻糙米 Cd 吸收累积量存在一定的不利影响;但湿润灌溉下,施用不同量尿素对钝化处理时水稻糙米 Cd 吸收累积量影响并不明显.
- (3)土壤微生物的聚类分析和主成分分析表明,在实验条件下的钝化处理均不会对土壤中微生物的结构与分布产生明显影响.

参考文献(References)

- [1] 环境保护部,国土资源部.全国土壤污染状况调查公报[R].中国环保产业,2014,5:10-11.

 Ministry of Environmental Protection, Ministry of land and resources of China[R]. National Survey of Soil Pollution Bulletin. Beijing. 2014, 5:10-11 (in Chinese).
- [2] 顾继光,林秋奇,胡韧,等. 土壤—植物系统中重金属污染的治理途径及其研究展望[J]. 土壤通报, 2005, 36(1): 128-133. GU J G, LIN Q Q, HU R, et al. Heavy metals pollution in soil-plant ssytem and its research prospect[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2005, 36(1): 128-133 (in Chinese).
- [3] 纪雄辉, 梁永超, 鲁艳红, 等. 污染稻田水分管理对水稻吸收积累镉的影响及其作用机理[J]. 生态学报, 2007, 27(9): 3930-3039.
 - JI X H, LIANG Q C, LU Y H, et al. The effect of water management on the mechanism and rate of up take and Accumulation of cadmium by rice growing in polluted paddy soil[J]. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(9):3930-3039 (in Chinese).
- [4] 张丽娜, 宗良纲, 付世景, 等. 水分管理方式对水稻在 Cd 污染土壤上生长及其吸收 Cd 的影响[J]. 安全与环境学报, 2006, 6 (5):49-52.
 - ZHANG L N, ZONG L G, FU S J, et al. Effects of water control on rice growth and its intake of cadmium on Cd contaminated soil[J]. Journal of Safety and Environment, 2006, 6(5):49-52 (in Chinese).
- [5] 邓林,李柱,吴龙华,等、水分及干燥过程对土壤重金属有效性的影响[J]. 土壤, 2014, 46(6): 1045-1051.

 DENG L, LI Z, WU L H, et al. Influence of moisture and drying process on soil heavy metal availability[J]. Soils, 2014, 46(6): 1045-1051(in Chinese).
- [6] LIANG X F, HAN J, XU Y M, et al. In situ field-scale remediation of Cd polluted paddy soil using sepiolite and palygorskite [J]. Geoderma, 2014, 235-236; 9-18.
- [7] LIANG X F, XU Y, XU Y M, et al. Two-year stability of immobilization effect of sepiolite on Cd contaminants in paddy soil [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(13), 12922-12931.
- [8] 孙约兵,王朋超,徐应明,等. 海泡石对镉-铅复合污染钝化修复效应及其土壤环境质量影响研究[J]. 环境科学, 2014, 35(12): 4720-4726.
 - SUN Y B, WANG P C, XU Y M, et al. Immobilization remediation of Cd and Pb contaminated soil; Remediation potential and soil environmental quality [J]. Environmental Science, 2014, 35(12);4720-4726 (in Chinese).
- [9] 李剑睿,徐应明,林大松,等.水分调控和钝化剂处理对水稻土镉的钝化效应及其机理[J].农业环境科学学报,2014,33(7):1316-1321.
 - LIJR, XUYM, LINDS, et al. Immobilization of cadmium in a paddy soil using moisture management and amendments[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2014, 33(7): 1316-1321 (in Chinese).
- [10] 孙国红,李剑睿,徐应明,等.不同水分管理下镉污染红壤钝化修复稳定性及其对氮磷有效性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(11): 2105-2113.
 - SUN G H, LI J R, XU Y M, et al. Effects of water management on cadmium stability and nitrogen and phosphorus availability in cadmium polluted red soil after immobilization remediation [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2015, 34(11): 2105-2113 (in Chinese).
- [11] 胡坤, 喻华, 冯文强, 等. 不同水分管理方式下 3 种中微量元素肥料对水稻生长和吸收镉的影响 [J]. 西南农业学报, 2010, 23 (3): 772-776.
 - HU K, YU H, FENG W Q, et al. Effects of water management methods and three and micro element on rice growth and cadmium uptake [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2010, 23(3): 772-776 (in Chinese).
- [12] KASHEM M A, SINGH B R. Metal availability in contaminated soils. II. Uptake of Cd, Ni and Zn in rice plants grown under flooded culture with organic matter addition [J]. Nutrient Cycling in AgroecoSsytems, 2001, 61(3): 257-266.

- [13] YANG M, WANG HY, ZHOU JM, et al. Effects of appling nitrogen fertilizers on transformation of external cadmium in the paddy soil with different soil moisture [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2006, 25(5): 1202-1207.
- [14] 梁佩筠,许超,吴启堂,等. 淹水条件下控释氮肥对污染红壤中重金属有效性的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(9): 2919-2929. LIANG P J, XU C, WU Q T, et al. Effect of different controlled-release nitrogen fertilizers on availability of heavy metals in contaminated red soils under waterlogged conditions[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(9): 2919-2929 (in Chinese).
- [15] 甲卡拉铁,喻华,冯文强,等.淹水条件下不同氮磷钾肥对土壤 pH 和镉有效性的影响研究[J]. 环境科学,2009,30(11);3414-3421.
 JIA K T, YU H, FENG W Q, et al. Effect of different N, P and K fertilizers on soil pH and available Cd under waterlogged conditions[J]. Environmental Science, 2009, 30(11); 3414-3421 (in Chinese).
- [16] 周细红,曾清如,蒋朝辉,等. 尿素施用对土壤 pH 值和模拟温室箱内 NH₃ 和 NO₂ 浓度的影响[J]. 土壤通报, 2004, 35(3): 374-376. ZHOU X H, ZENG Q R, JIANG Z H, et al. Effects of Urea on Soil pH and the Accumulation of NH₃ and NO₂ in a simulative greenhouse [J]. Chinese Journal of Soil Science, 2004, 35(3): 374-376 (in Chinese).
- [17] 鲁如坤,时正元,赖庆旺. 红壤养分退化(Ⅱ)—尿素和碳铵在红壤中的转化[J]. 土壤通报, 1995, 26(6):241-243. LURK, SHIZY, LAIQW. Red soil nutrient degradation(Ⅱ)-urea and producyion transformation in red soil[J]. Chinese Journal of Soil Science, 1995, 26(6):241-243 (in Chinese).
- [18] 杨锚, 王火焰, 周健民, 等. 不同水分条件下几种氮肥对水稻土中外源镉转化的动态影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(5): 1202-1207.

 YANG M, WANG H Y, ZHOU J M, et al. Effects of appling nitrogen fertilizer s on transformation of external cadmium in the paddy soil with different soil moisture[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2006, 25(5):1202-1207 (in Chinese).
- [19] 肖振林,王果,黄瑞卿,等. 酸性土壤中有效态镉提取方法研究[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(2): 795-800, XIAO Z L, WANG G, HUANG R Q, et al. Extraction method for available cadmium in acid soils [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2008, 27(2): 795-800(in Chinese).
- [20] TAYLOR G J, CROWDER A A. Use of the DCB technique for extraction of hydrous iron oxides from roots of wetland plants[J]. American Journal of Botany, 1983, 8: 1254-1257.
- [21] TOMMASI F, PACIOLLA C, PINTO M C D. A comparative study of glutathione and ascorbate metabolism during germination of Pinus pinea L. seeds[J]. Journal of Experimental Botany, 2001, 361: 1647-1654.
- [22] JIAO S, LIU Z, LIN Y, YANG J, et al. Bacterial communities in oil contaminated soils: Biogeography and co-occurrence patterns [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2016, 98, 64-73.
- [23] 甲卡拉铁, 喻华, 冯文强, 等. 氮肥品种和用量对水稻产量和镉吸收的影响研究[J]. 中国生态农业学报, 2010, 18(2): 281-285. JIAKA La-Tie, YU Hual, FENG Wen-Qiang, et al. Effect of nitrogen fertilizer type and application rate on cadmium uptake and grain yield of paddy rice[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2010, 18(2): 281-285 (in Chinese).
- [24] LIU H, ZHANG J, CHRISTIE P et al. Influence of iron plaque on uptake and accumulation of Cd by rice (Oryza sativa L.) seedlings grown in soil[J]. Science of the Total Environment, 2008, 2(3): 361-368.
- [25] 徐亚平,刘凤枝,蔡彦明,等. 土壤中铅镉有效态提取剂的选择[J]. 监测分析, 2005, 22 (4):46-48.

 XU Yaping, LIU Fengzhi, CAI yanming, et al. The selection of available cadmium and lead extractants in contaminated soil [J].

 Monitoring and Analysis, 2005, 22(4):46-48 (in Chinese).
- [26] 甘国娟,刘妍,朱晓龙,等. 3 种提取剂对不同类型土壤重金属的提取效果[J]. 中国农学通报, 2013, 29(2):148-153. Gan Guojuan, Liu Yan, Zhu Xiaolong, et al. The Extraction efficiency of three extracting agents for heavy metals in different types of soil [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2013, 29(2):148-153 (in Chinese).
- [27] 徐奕,李剑睿,徐应明,等. 膨润土钝化与不同水分灌溉联合处理对酸性稻田土镉污染修复效应及土壤特性的影响[J]. 环境化学,2017,36(5):1026-1035.

 XU Y, LI J R, XU Y M, et al. Effects of bentonite combined with different water management on immobilization remediation and soil properties of cadmium contaminated paddy soils[J]. Environmental Chemistry, 2017, 36(5):1026-1035 (in Chinese).
- [28] 孔妤, 王忠, 孔蕴洁, 等. 植物根内通气组织形成的研究进展[J]. 植物学通报, 2008, 25(2): 248-253. KONG Y, WANG Z, KONG W J, et al. Research progress on aerenchyma formation in plant roots[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2008, 25(2): 248-253 (in Chinese).
- [29] 李奕林. 水稻根系通气组织与根系泌氧及根际硝化作用的关系[J]. 生态学报, 2012, 32(7):2066-2074. LIYL. Relationship among rice root aerechyma, root radial oxygen loss and rhizosphere nitrification[J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32 (7): 2066-2074 (in Chinese).
- [30] 王凯,郭蕾蕾,刘文,等. 水胁迫下转基因水稻抗坏血酸-谷胱甘肽循环系统的变化[J]. 江苏农业科学, 2011, 39(2):111-114. WANG K, GOU L L, LIU W, et al. Changes of Ascorbate-Glutathione circulating cystem in transgenic rice under water stress[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2011, 39(2):111-114 (in Chinese).
- [31] 徐强. 不同基因型水稻耐镉的生理响应机制研究[D]. 四川:四川农业大学, 2014. XU Q. Physiological responses of different rice (*Oryza sativa* L.) genotypics under cadmium stress[D]. Sichuan Agriculture University, 2014 (in Chinese).
- [32] YI T H, KAO C H. Toxicity in leaves of rice exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation [J]. Plant and Soil, 2007, 298 (1/2): 231-241.
- [33] JIANG J, QIN C, SHU X, CHEN R, et al. Effects of copper on induction of thiol-compounds and antioxidant enzymes by the fruiting body of Oudemansiella radicata[J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 2015, 111; 60-65.
- [34] LEE S H, LEE J S, CHOI Y J, et al. In situ stabilization of cadmium-, lead-, and zinc-contaminated soil using various amendments [J]. Chemosphere, 2009 77; 1069-1075.
- [35] SUN Y B, SUN G H, XU Y M, et al. Evaluation of the effectiveness of sepiolite, bentonite, and phosphate amendments on the stabilization remediation of cadmiumcontaminated soils[J]. Journal of Environmental Management, 2016, 166: 204-210.