

# 重金属复合污染下红壤微生物活性及其群落结构的变化<sup>\*</sup>

滕 应<sup>1,2</sup> 黄昌勇<sup>1</sup> 骆永明<sup>2</sup> 李振高<sup>2</sup>

(1 浙江大学环境与资源学院, 杭州 310029)

(2 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), 土壤与环境生物修复研究中心, 南京 210008)

**摘 要** 在室内培养条件下,应用 4 因素 5 水平二次正交回归旋转组合设计方案,对重金属复合污染红壤的微生物活性及群落功能多样性进行了研究。结果表明,在 Cu、Zn、Pb、Cd 复合污染生境中重金属的微生物毒性效应发挥主要由 Cd、Cu 两元素决定,其生物毒性顺序表现为: Cd > Cu > Zn > Pb,红砂泥中表现较为突出。与单一镉、单一铅污染处理相比,重金属复合污染对供试红壤微生物生物活性及其群落功能多样性的影响并非仅仅表现出简单的加和作用,同时还存在协同作用和拮抗作用。典型相关分析显示,红壤微生物活性与重金属含量之间关系密切,第一对典型变量的相关系数  $r$  达 0.885 8、0.932 8,均达极显著水平( $p < 0.001$ ),说明重金属复合污染与红壤微生物间存在较为稳定的数量反馈机制,红壤总体微生物活性指标能较好地反映供试红壤重金属复合污染状况,可作为重金属污染红壤环境质量评价及量化分类的有效指标。

**关键词** 重金属复合污染;红壤;微生物活性;群落功能多样性

**中图分类号** S154.36

**文献标识码** A

现实土壤环境中重金属污染更多见的是复合污染。近年来,随着采矿、冶金业的迅速发展,污水灌溉以及农药、化肥的大量使用,我国红壤地区农田土壤重金属复合污染已日趋严重。因此,开展土壤重金属复合污染的研究,既是土壤环境科学发展的趋势,也是现实环境问题的迫切需求。有关这方面的研究,前人多以重金属—植物系统作为研究对象,集中在 2 种或 3 种重金属元素的复合污染,来揭示土壤环境中重金属复合污染的生态效应和各元素的交互作用<sup>[1-4]</sup>。土壤微生物是维持土壤生物活性的重要组成部分,对外界干扰比较灵敏,微生物活性和群落结构的变化能敏感地反映出土壤质量和健康状况,是土壤环境质量评价不可缺少的重要生物学指标<sup>[5]</sup>。近年来,以田间土壤不同来源的复合重金属—微生物体系的研究也逐渐展开<sup>[5-8]</sup>,部分微生物学指标一定程度上指示了重金属复合污染的总体毒性效应。事实上,土壤中重金属复合污染具有多样化而复杂的效应机制,包括协同作用、拮抗作用、竞争作用及加和作用等。但有关这些影响机制的研究并不多见。本文通过添加外源 4 种重金属(铜、锌、铅、

镉)元素,按正交回归旋转组合方案探讨红壤微生物活性及其群落功能多样性的变化,为重金属复合污染红壤环境质量评价及修复提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试土壤

供试土壤为第四纪红色粘土和第三纪红砂岩母质发育的旱地,按《中国土种志》分别命名为红黄泥(红壤亚类粘红泥土属)和红砂泥(红壤亚类红砂泥土属)<sup>[9]</sup>,采自浙江省龙游县境内的桔园旱地 0~20 cm 表层。新鲜土样去除植物残体、砾石,过 2 mm 筛,置于塑料袋内,放于 4℃ 下冰箱内保存备用。土壤基本理化性质见表 1。

### 1.2 试验设计及培养方法

重金属 Cu、Zn、Pb、Cd 各设置 5 个水平,即分别为 Cu 0、100、200、300、400 mg kg<sup>-1</sup>; Zn 0、200、400、600、800 mg kg<sup>-1</sup>; Pb 0、200、400、600、800 mg kg<sup>-1</sup>; Cd 0、15、30、50、100 mg kg<sup>-1</sup>,按二次正交回归旋转组合方案设计(1/2 实施),共 36 个处理。每处理重复 4

<sup>\*</sup> 国家自然科学基金项目(40171054)、国家重点基础研究发展规划项目(2002CB410809/10)、中国博士后基金项目(20040350221)资助

作者简介:滕 应(1975~),男,贵州江口人,博士,主要从事土壤生物与生物化学方面研究。E-mail: yteng@issas.ac.cn

收稿日期:2004-09-29;收到修改稿日期:2005-04-04

表 1 供试土壤基本理化性质

Table 1 Basic physical and chemical properties of the red earths used

土壤类型 Soil type	pH (H <sub>2</sub> O)	有机碳 Organic C (g kg <sup>-1</sup> )	全氮 Total N (g kg <sup>-1</sup> )	碱解氮 Avail. N (mg kg <sup>-1</sup> )	阳离子交 换量 CEC (cmol kg <sup>-1</sup> )	颗粒组成 Size composition (%)		
						2~0.02 mm	0.02~0.002 mm	<0.002 mm
红黄泥 Red clayey earth (RCE)	5.45	17.46	1.92	127.5	12.16	27.12	37.85	35.03
红砂泥 Red sandy earth (RSE)	6.68	7.81	0.65	78.27	6.43	68.54	18.78	12.68

次。重金属来源以醋酸盐形态提供。在试验之前,将供试土样置于 25℃ 条件下的生化培养箱中活化 3 d。称取相当 100 g 干重的新鲜土壤样品,然后根据处理要求将重金属溶液与土壤充分混匀,调节土壤含水量至田间最大持水量的 60%,后装于 250 ml 的塑料烧杯中,用具有透气作用的薄膜封口,于 25℃ 培养箱内培养。培养过程中为了保持土壤湿度不变,用称重差减法每隔 3 天调节一次土壤水分。整个试验培养 1 个月,然后取样分析土壤微生物学指标及生化活性。

### 1.3 土壤微生物活性、区系及群落功能多样性测定

土壤微生物量碳(Soil Microbial Biomass Carbon, SMBC)测定采用氯仿熏蒸—0.5 mol L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 提取法,TOC 自动分析仪测定<sup>[10]</sup>;土壤基础呼吸采用室内密闭培养碱液吸收法测定,土壤细菌数量采用牛肉膏蛋白胨培养基平板培养法<sup>[11]</sup>;土壤微生物群落功能多样性采用 BILOG 测试方法<sup>[12]</sup>。土壤微生物群落 Biolog 代谢剖面的表达:Biolog GN 微平板中酶联免疫分析法(ELISA)反应采用每孔的平均吸光值

(Average Well Color Development, AWCD)来描述<sup>[13]</sup>,计算表达式为:|AWCD 值 = [Σ(C-R)]/95|,其中 C 为所测得 95 个反应孔的吸光值,R 为对照孔的吸光值。土壤微生物群落功能多样性测度采用 Biolog GN 微平板孔中吸光值来计算土壤微生物群落功能多样性指数:Shannon 指数(H),其计算公式为:H = - ∑ p<sub>i</sub>(ln p<sub>i</sub>),式中 p<sub>i</sub> 为第 i 孔相对吸光值(C-R)与整个平板相对吸光值总和的比率。

### 1.4 土壤重金属含量及理化性质分析

土壤 Cu、Zn、Pb、Cd 的有效态含量采用 0.1 mol L<sup>-1</sup> HCl 溶液提取(液:土 = 5:1),待测液用原子吸收分光光度法测定;土壤基本理化性质测定参见文献[14]。

### 1.5 统计分析

所有数据用 Microsoft® Excel 2000 计算处理,线性与非线性回归、相关性分析、方差分析以及主成分分析、典型变量因子分析等多元统计分析采用 SAS6.12、SPSS10.0 及国产数据处理 DPS 统计平台<sup>[15]</sup>。

表 2 土壤中重金属复合污染正交回归旋转组合设计方案

Table 2 Second-order regression orthogonal rotation design for heavy metal combined pollution of red earths

试验因子 Experiment factor	变化间距 Space between	设计水平 Design level (mg kg <sup>-1</sup> )				
		-2	-1	0	1	2
Cu	100	0	100	200	300	400
Zn	200	0	200	400	600	800
Pb	200	0	200	400	600	800
Cd	25	0	25	50	75	100

## 2 结果与分析

### 2.1 重金属复合污染与土壤微生物活性及其群落功能多样性指标间回归模型的建立

根据本试验结果,以土壤微生物活性指标以及

群落功能多样性参数为目标函数,建立上述指标与试验因素(重金属元素)之间的数学模型,利用数学模型分析上述各项指标与试验因子之间的内在关系,从而确定各重金属元素对土壤微生物生态参数的毒性效应及其因子间的互作影响。将供试土壤微生物活性及其群落功能多样性与复合重金属添

加量之间进行多元回归分析,得它们之间的数学模型分别如表 3 和表 4 所示。经回归方程进行显著性测验可知,4 种重金属复合污染对红黄泥和红砂泥的微生物量碳、基础呼吸、代谢商以及细菌数量和微生物群落功能代谢剖面(AWCD)和多样性指标(H)的影响均达到了显著水平( $p < 0.05$ ),这表明上述回归模型的拟合度较好,试验结果与其回归模型基本吻合,说明建立的回归模型能全面反映供试红壤重金属复合污染与其微生物学指标间的相互关

系,可以用来预测重金属污染红壤环境质量的生物学演变。同时,从表 3 中多元回归模型的偏回归系数显著性检验结果也可以看出,Cd、Cu 对土壤微生物活性和群落功能多样性的影响均达极显著水平,而 Zn 则对其达显著水平影响,Pb 元素似乎对供试红壤的一些微生物学指标没有产生明显的毒性作用。由此可见,Cd 和 Cu 是影响供试红壤微生物活性及其微生物群落功能多样性发生变化的主要控制因子。

表 3 供试土壤重金属与微生物生物量及代谢活性的多元回归系数

Table 3 Multivariate regression coefficient between metal contents and soil microbial biomass, metabolic activities

偏回归系数 Partial regression coefficient	红黄泥 Red clayey earth			红砂泥 Red sandy earth		
	微生物量碳 Microbial biomass carbon	土壤基础呼吸 Basal respiration	代谢商 Metabolic quotient	微生物量碳 Microbial biomass carbon	土壤基础呼吸 Basal respiration	代谢商 Metabolic quotient
$X_0$	90.88	0.1200	0.0013	58.14	0.0848	0.00147
$X_1$	-7.52	-0.0055	0.00006	-7.11	-0.0064	0.00005
$X_2$	-3.72	-0.0035	0.00002	-4.59	-0.0042	0.00002
$X_3$	-1.63	-0.0007	0.00002	-1.31	-0.0013	0.00000
$X_4$	-7.69	-0.0056	0.00005	-7.48	-0.0068	0.00006
$X_1^2$	-0.75	-0.0011	0.00000	-1.86	-0.0018	0.00001
$X_2^2$	-2.12	-0.0006	0.00004	-1.28	-0.0013	-0.00001
$X_3^2$	0.977	0.0006	0.00000	1.67	0.0015	-0.00001
$X_4^2$	-2.01	-0.0018	0.00003	-2.62	-0.0023	0.00003
$X_1X_2$	-2.34	-0.0022	0.00001	-2.92	-0.0028	0.00001
$X_1X_3$	-0.57	-0.0013	-0.00001	-1.79	-0.0016	0.00001
$X_1X_4$	0.24	-0.0001	-0.00001	-1.63	-0.0015	0.00001
$X_2X_3$	-4.10	-0.0016	0.00004	-2.50	-0.0023	0.00001
$X_2X_4$	-0.88	-0.0011	-0.00001	-1.82	-0.0016	0.00001
$X_3X_4$	-1.74	-0.0022	0.00001	-2.91	-0.0025	0.00001
F 检验值 Test value	6.20	3.99	5.29	7.69	5.10	8.34
显著性水平 $p$ 值 Markedly $p$ level	0.0005	0.0052	0.0012	0.0003	0.0015	0.0008

注: $X_0$ 为截距; $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$ 分别代表 Cu、Zn、Pb、Cd 的编码值。Note:  $X_0$  is intercept;  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$  is the coding value of Cu, Zn, Pb and Cd, respectively.

表 4 供试土壤重金属与细菌数量及微生物群落功能多样性指数的多元回归系数

Table 4 Multivariate regression coefficient between metal contents and microbial numbers and functional diversity index of microbial community in red earths

偏回归系数 Partial regression coefficient	红黄泥 Red clayey earth			红砂泥 Red sandy earth		
	细菌数量 Bacterial number	代谢剖面 AWCD	Shannon 指数 Shannon index	细菌数量 Bacterial number	代谢剖面 AWCD	Shannon 指数 Shannon index
$X_0$	553.8	0.4250	2.458	363.1	0.1508	1.107
$X_1$	-54.88	-0.0500**	-0.2750**	-34.93**	-0.0117	-0.1067
$X_2$	-35.49	-0.0308	-0.1475	-25.27	-0.0083	-0.0792
$X_3$	-9.186	-0.0042	-0.0433	-7.170	0.0025	0.0075
$X_4$	-58.04	-0.0508**	-0.2875**	-36.12	-0.0150	-0.1292
$X_1^2$	-13.96	-0.0092	-0.0781	-21.19	0.0029	-0.0131
$X_2^2$	-10.45	-0.0017	-0.0606	-14.50	0.0079	0.0344
$X_3^2$	8.415	0.0071	0.0144	7.568	0.0092	0.0231
$X_4^2$	-21.48	-0.0167	-0.0968	-25.51	-0.0021	-0.0406
$X_1X_2$	-26.97	-0.0250	-0.1014	-12.97	-0.0150	-0.0913
$X_1X_3$	-17.69	-0.0113	-0.0175	-4.088	-0.0025	-0.0250
$X_1X_4$	-2.808	-0.0001	-0.0125	-4.727	0.0075	0.0538
$X_2X_3$	-14.86	-0.0125	-0.1438	-3.449	-0.0025	-0.0188
$X_2X_4$	-18.71	-0.0138	-0.0363	-4.691	-0.0075	-0.0425
$X_3X_4$	-24.54	-0.0225	-0.0850	-10.33	-0.0100	-0.0888
F 检验值 Test value	4.28	2.78	5.05	2.48	3.20	6.83
显著性水平 $p$ 值 Markedly $p$ level	0.0037	0.0068	0.0016	0.0427	0.0045	0.0011

注:  $X_0$  为截距;  $X_1, X_2, X_3, X_4$  分别代表 Cu, Zn, Pb, Cd 的编码值 Note:  $X_0$  is intercept;  $X_1, X_2, X_3, X_4$  is the coding value of Cu, Zn, Pb and Cd, respectively

## 2.2 重金属复合污染对红壤微生物活性及其群落多样性的单因素效应和互作效应分析

由方程中的标准偏回归系数的大小可以看出, 4 种重金属元素的添加对供试红壤微生物活性及其群落功能多样性的影响大小不同, 其顺序表现为  $Cd > Cu > Zn > Pb$ , 二次项也为  $Cd > Cu > Zn > Pb$ , 由此可知, Cd, Cu 元素污染, 无论是线性项, 还是二次项对红壤微生物学指标的影响均较大, 是本特定设计重金属复合污染中应重点考虑的污染因子。为进一步明确各种重金属元素对红壤微生物的影响, 将其他因素均固定在零水平(编码值 = 0)使模型降维, 得出一组偏回归解析子模式, 即  $Y_i = B_0 + B_j X_j + B_{jj} X_j^2$ 。同时根据以上子模式求得各重金属元素水平编码值在 -2 至 2 范围内土壤各项微生物学指标变化的预测值(如图 1、图 2 所示)。从图 1、图 2 可以看出, Cd, Cu 对供试红壤各项微生物学指标的毒性影响较为明显, Zn

次之, Pb 的影响最小, 并且在红砂泥中表现较为突出, 其中 Pb 元素的毒性效应较小, 一方面可能因 Cd, Cu, Zn 的复合效应掩蔽了 Pb 的毒性作用所致, 另一方面也可能与红壤中 Pb 及 Cd, Cu, Zn 元素的存在形态有关。这一现象的科学解释还有待于进一步探讨。因此, 在该复合污染生境中重金属的微生物毒性效应发挥主要由 Cd, Cu 两元素决定, 次为 Zn 元素

从图 3 和图 4 可知, 与单一镉、单一铅污染处理相比, 重金属复合污染并非仅仅表现出简单的加和作用, 同时还存在协同作用和拮抗作用。在  $Pb = 400 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $Cd = 50 \text{ mg kg}^{-1}$ , 并有 Cu 存在的情况下, 当  $Zn \leq 400 \text{ mg kg}^{-1}$  时, 红黄泥微生物生物量碳随着 Zn 水平的提高而增加, Zn 与 Cu 间的交互效应对微生物生物量碳表现为协同作用, 而  $Zn > 400 \text{ mg kg}^{-1}$  后对微生物生物量碳表现出抑制作用或拮抗作用(见图 3A); 在  $Zn = 400 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $Cd = 50 \text{ mg kg}^{-1}$ ,

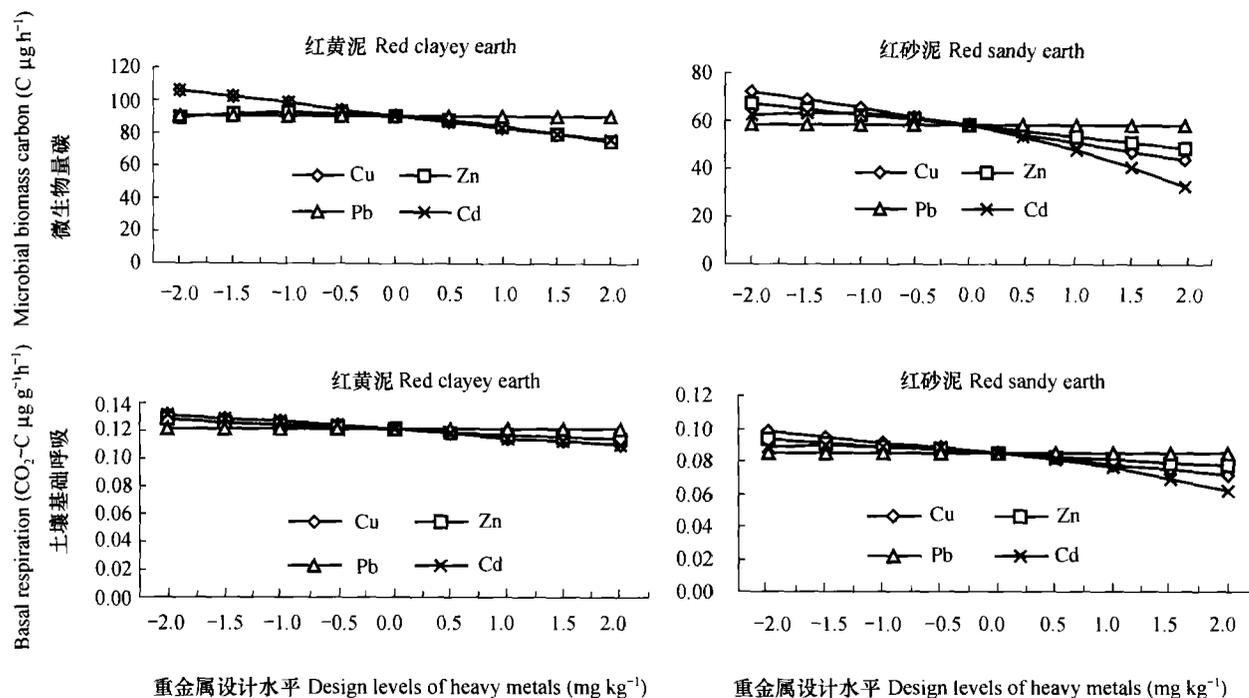


图 1 重金属复合污染对红壤微生物量碳和基础呼吸的单因素效应

Fig.1 Effect of interaction of heavy metals on soil microbial biomass and basal respiration in red earths

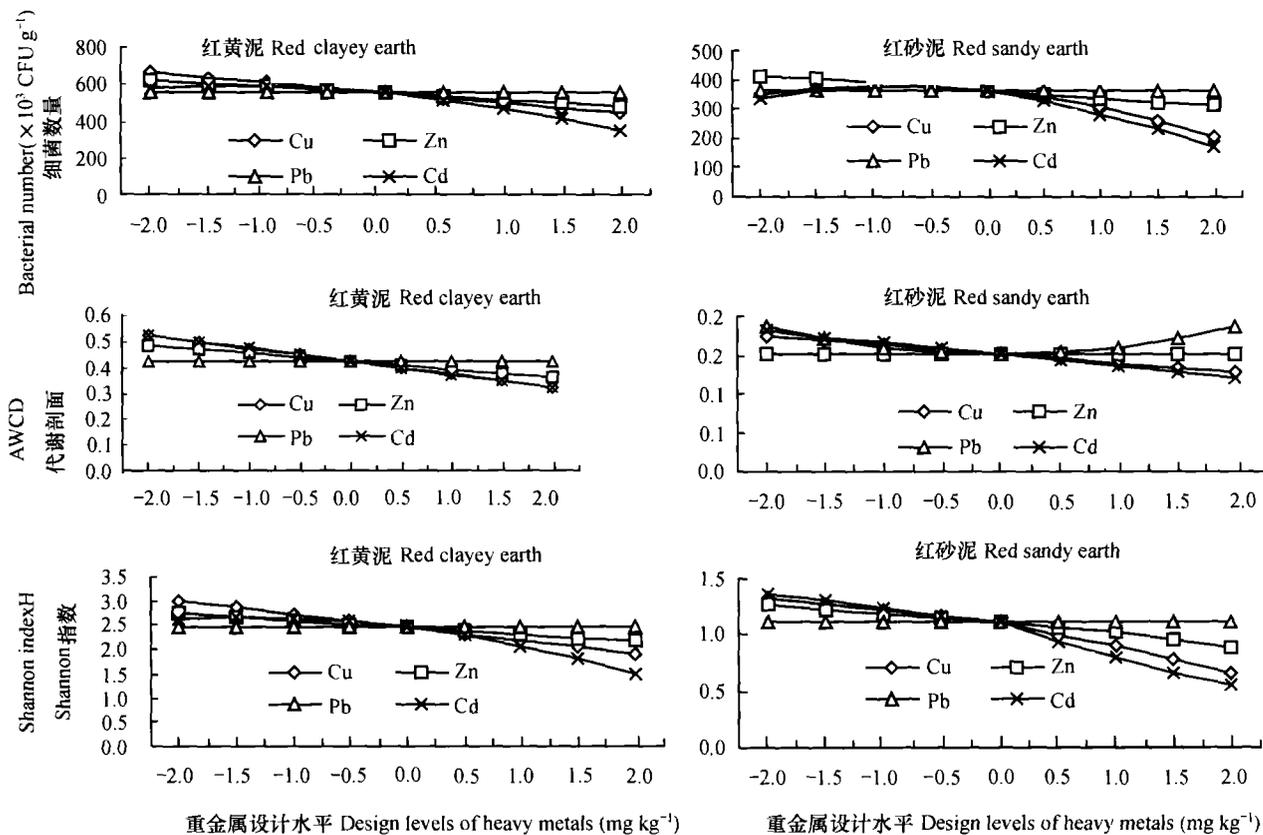


图 2 重金属复合污染对红壤细菌数量及微生物群落功能多样性的单因素效应

Fig.2 Effect of interaction of heavy metals on soil bacteria numbers and community diversity in red earths

并有 Cu 存在的情况下 Pb 的加入对红黄泥微生物生物量碳没有产生明显的抑制或促进作用,即 Cu 与 Pb 间的交互效应可能不存在(见图 3B);在 Zn = 400 mg kg<sup>-1</sup>、Pb = 400 mg kg<sup>-1</sup>,并有 Cd 存在的情况下,红黄泥微生物生物量碳随着 Cu 浓度的增加而呈现下降趋势,说明 Cu 与 Cd 间的交互效应表现为存在拮抗作用(见图 3C);在 Cu = 200 mg kg<sup>-1</sup>、Cd = 50 mg kg<sup>-1</sup>情况下,当 Pb < 100 mg kg<sup>-1</sup>时,红黄泥微生物生物量碳随着 Zn 水平的提高而升高,表现出协同作用,当 Pb > 100 mg kg<sup>-1</sup>时,红黄泥微生物生物量碳随着 Zn 浓度的增加而明显下降,则 Zn 与 Pb 间的交互效应表现为拮抗作用(见图 3D);在 Cu = 200 mg kg<sup>-1</sup>、Pb = 400 mg kg<sup>-1</sup>,并有 Cd 存在的情况下,红黄泥微生物生物量碳随着 Zn 浓度的增加而降低,且在高 Cd 浓度条件下其微生物生物量碳下降较为

明显,说明 Zn 与 Cd 间的交互效应表现为拮抗作用(见图 3E);在 Cu = 200 mg kg<sup>-1</sup>、Zn = 400 mg kg<sup>-1</sup>,并有 Cd 存在的情况下,Pb 元素的加入不论其高低对红黄泥微生物生物量碳均没有产生明显的抑制或促进作用,说明 Zn 与 Cd 间的交互效应没有得到明显体现(见图 3F)。从图 4 可以看出,重金属复合污染下红砂泥微生物生物量碳的变化较红黄泥较为明显,除 Zn-Pb 交互效应存在差异外(见图 4D),其他微生物学指标的变化趋势同红黄泥相似。

### 2.3 重金属复合污染下红壤环境质量评价的微生物学综合指标探讨

上述多元回归分析方法在一定程度上揭示了单一微生物指标与重金属复合污染的关系。但实际上重金属污染土壤环境中,土壤微生物往往是同时受到几种重金属污染的,与单一污染相比反映在微生物

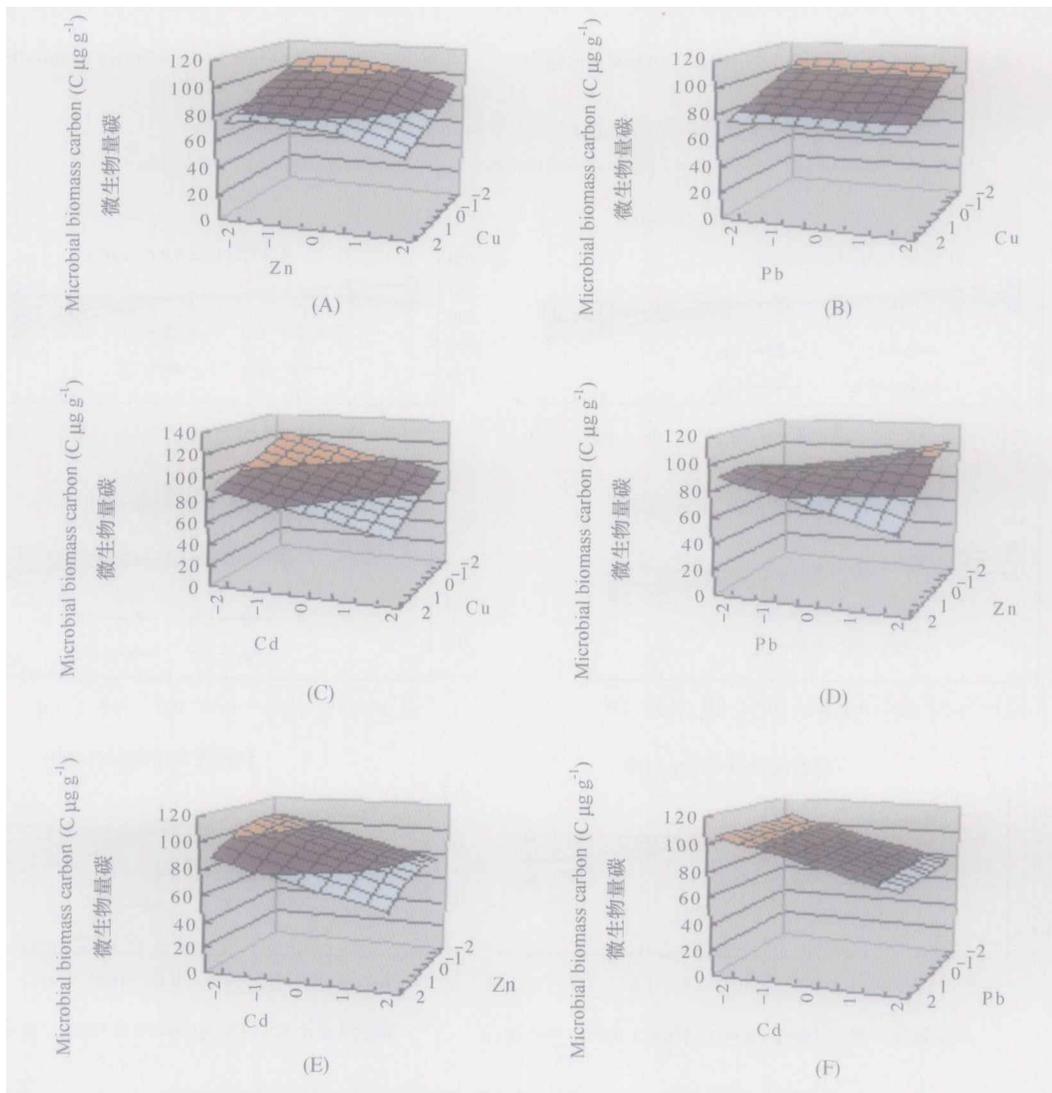


图3 重金属复合污染对供试红黄泥微生物量碳的两因子互作效应

Fig.3 Effect of interaction of heavy metals on soil microbial biomass carbon in red earths

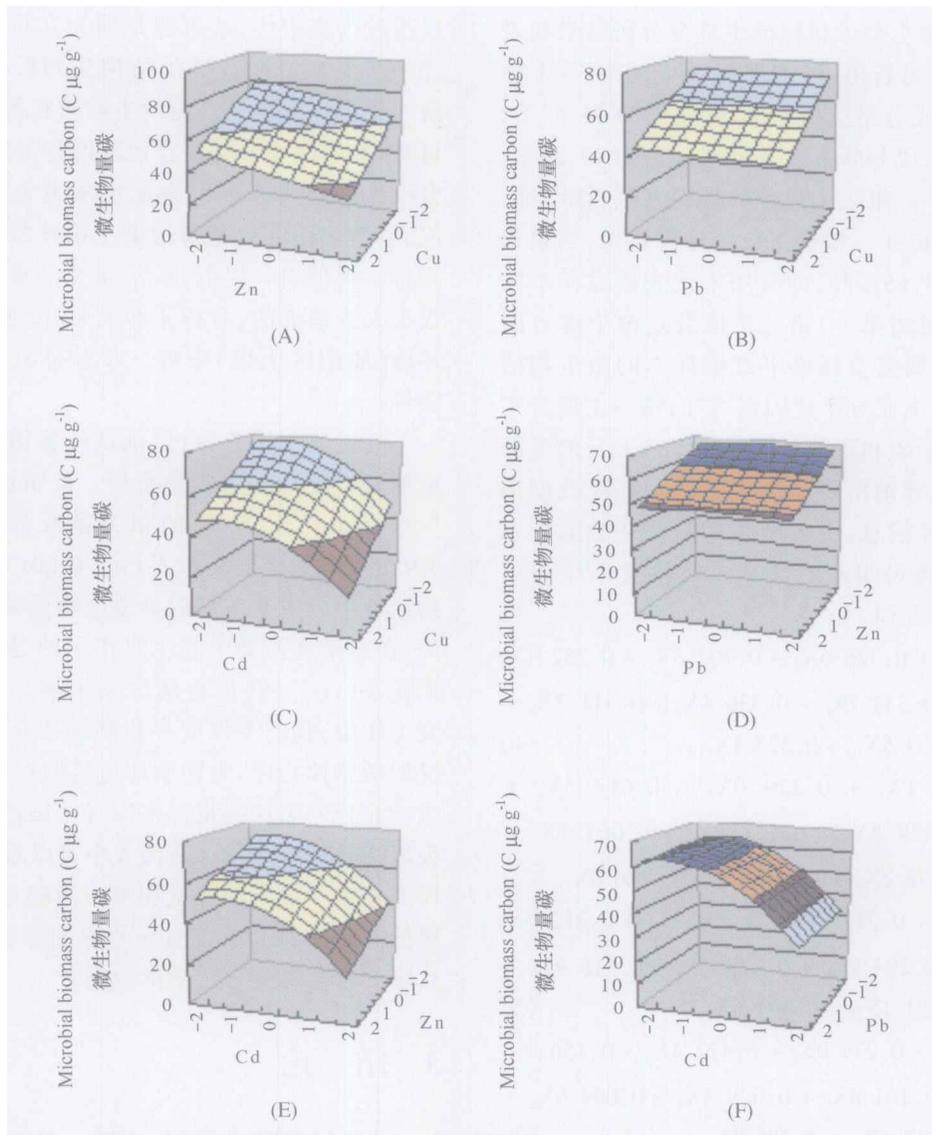


图 4 重金属复合污染对供试红砂泥微生物量碳的两因子互作效应

Fig.4 Effect of interaction of heavy metals on soil microbial biomass carbon in red earths

物指标上也存在着一定的差异。为了探讨土壤重金属复合污染与土壤微生物指标的复杂关系。本研究受作者成功运用土壤总体酶活性来评价土壤污染状况及量化分类可行性的启示<sup>[16]</sup>。在

此采用主因子分析方法将上述红壤微生物学指标转化为少数几个彼此独立的综合性微生物学指标(即总体微生物学指标),来指示红壤重金属复合污染程度。

表 5 重金属复合污染下红壤微生物指标因子分析的特征根和方差贡献率

Table 5 Eigenvalues and percentages of factors in red earths polluted by heavy metals

土壤系统 Soil system	项目 Item	第一主成分 Principal component 1	第二主成分 Principal component 2
红黄泥土壤系统 RCE soil system	特征根 Eigenvalue	8.31	2.12
	方差贡献率 % of variance	75.57	19.24
	累积方差贡献率 Cumulative %	75.57	94.91
红砂泥土壤系统 RSE soil system	特征根 Eigenvalue	8.97	1.00
	方差贡献率 % of variance	81.52	9.11
	累积方差贡献率 Cumulative %	81.52	90.63

供试红壤微生物学指标的主成分分析结果如表 5 所示。从表 5 可看出,红黄泥、红砂泥土壤微生物活性的第一主成分的方差贡献率分别为 75.57%、81.52%,第二主成分的方差贡献率分别为 19.24%、9.11%,而其第一、第二主成分的累积方差贡献率已达 94.91%、90.63%。根据主成分分析原理,当累积方差贡献率大于 85%时,即可用来代表研究样本的变异信息。可见用第一、第二主成分这两个综合因素,可反映重金属复合污染下红壤样本的微生物活性变异情况,由主成分组成因素可知,第一主成分主要反映微生物量碳和群落代谢剖面(AWCD)的变异信息;第二主成分则主要显示土壤基础呼吸及细菌数量变化的变异信息,由各微生物活性变量的权系数和特征根计算可得到红壤微生物信息系统的第二、第二主成分方程。

$$Y_1 = 0.325 5X_1 + 0.326 6X_2 - 0.102 3X_3 + 0.252 4X_4 + 0.265 6X_5 + 0.334 7X_6 + 0.336 4X_7 + 0.311 7X_8 + 0.325 4X_9 + 0.331 5X_{10} + 0.323 1X_{11} \quad (1)$$

$$Y_2 = -0.199 1X_1 + 0.226 0X_2 + 0.617 5X_3 + 0.458 1X_4 + 0.429 8X_5 + 0.141 8X_6 - 0.063 1X_7 - 0.068 4X_8 - 0.178 2X_9 - 0.154 5X_{10} - 0.220 8X_{11} \quad (2)$$

$$M_1 = 0.317 4X_1 + 0.317 8X_2 - 0.294 3X_3 + 0.312 6X_4 + 0.247 5X_5 + 0.294 9X_6 + 0.328 7X_7 + 0.318 8X_8 + 0.293 2X_9 + 0.281 4X_{10} + 0.301 6X_{11} \quad (3)$$

$$M_2 = -2.805X_1 - 0.279 9X_2 + 0.422 4X_3 + 0.156 4X_4 + 0.502 8X_5 + 0.161 8X_6 + 0.029 3X_7 - 0.004 6X_8 - 0.390 2X_9 + 0.337 9X_{10} + 0.306 2X_{11} \quad (4)$$

将红黄泥的微生物活性及群落功能多样性测定值分别代入上述主成分方程(1)、(2),得到红黄泥土壤微生物活性信息系统中各样本的主成分值,并由主成分值大小及各样本间距离进行归类(如图 5 所示)。其结果将 CK(37 号)归为 I 类,属于总体微生物活性较高的区域;1、18、20、24 号土样归类为 II 类,属于总体微生物活性较中等水平的区域;其他土样归为 III 类,即为总体微生物活性相对较低的区域。同理,将红砂泥土壤的微生物指标值分别代入上述主成分方程(3)、(4),得到红砂泥土壤微生物信息系统中各样本的主成分值,并由主成分值大小及各样本间距离进行归类,其结果将 37 号归为 I 类,属于总体微生物活性较高的区域;1、18、20、24 号土样归类为 II 类,属于总体微生物活性中等水平的区域;其他土样归为 III 类,即为总体微生物活性相对较低的区域,但是这些土壤样本比在红黄泥的坐标平面上

显得较为集中些,这可能是因为重金属污染红砂泥中微生物活性及群落结构受到影响较为明显所致。根据以上供试红壤微生物信息系统的分类结果可知,在类似重金属复合污染的特定生境下,土壤综合微生物学指标可以表征土壤重金属复合污染状况,可作为评价重金属污染土壤环境质量的生物学指标。但值得一提的是,本研究的重金属复合污染仅为人为造成的,有待于将其运用到类似自然土壤环境(如矿区土壤)中进一步验证其可操作性和实践性。

通过典型相关分析,供试红壤微生物活性与重金属复合含量之间关系密切。红黄泥、红砂泥中第一对典型变量(CV1)的相关系数分别达 0.885 8、0.932 8,均达极显著水平( $p < 0.001$ )。在红壤微生物活性中起主要贡献的是微生物量碳和群落代谢剖面,在重金属污染中起主要作用的是镉元素(Cd)和铜元素(Cu)。在重金属污染土壤环境质量评价研究工作中,我们不仅要寻找能够表征重金属污染状况的敏感性指标,为污染环境监测提供依据,同时也应该充分利用这些指标来探寻污染环境重金属胁迫程度进行综合评价。从图 6 中可以看出以供试红壤样点在第一对典型变量和第二对典型变量(CV2)构建的坐标平面上存在明显的空间差异,反映了供试红壤受重金属复合污染的程度。

### 3 结 论

在室内培养条件下,应用 4 因素 5 水平二次正交回归旋转组合设计方案,对重金属复合污染红壤环境微生物活性及群落功能多样性进行了研究,获得如下初步结论:

1) Cu、Zn、Pb、Cd 重金属复合污染对红壤微生物活性及群落功能多样性指标的影响达显著或极显著性水平;Cd、Cu 对供试红壤各项微生物学指标的毒性影响较为明显,Zn 次之,Pb 的影响最小,并且在红砂泥中表现较为突出。

2) 与单一镉、单一铅污染处理相比,重金属复合污染对供试红壤微生物活性及其群落功能多样性的影响并非仅仅表现出简单的加和作用,同时还存在协同作用和拮抗作用。

3) 用主成分分析方法建立的红壤总体微生物活性指标能较好地反映供试红壤重金属复合污染状况,可作为重金属污染红壤环境质量评价及量化分类的有效指标。

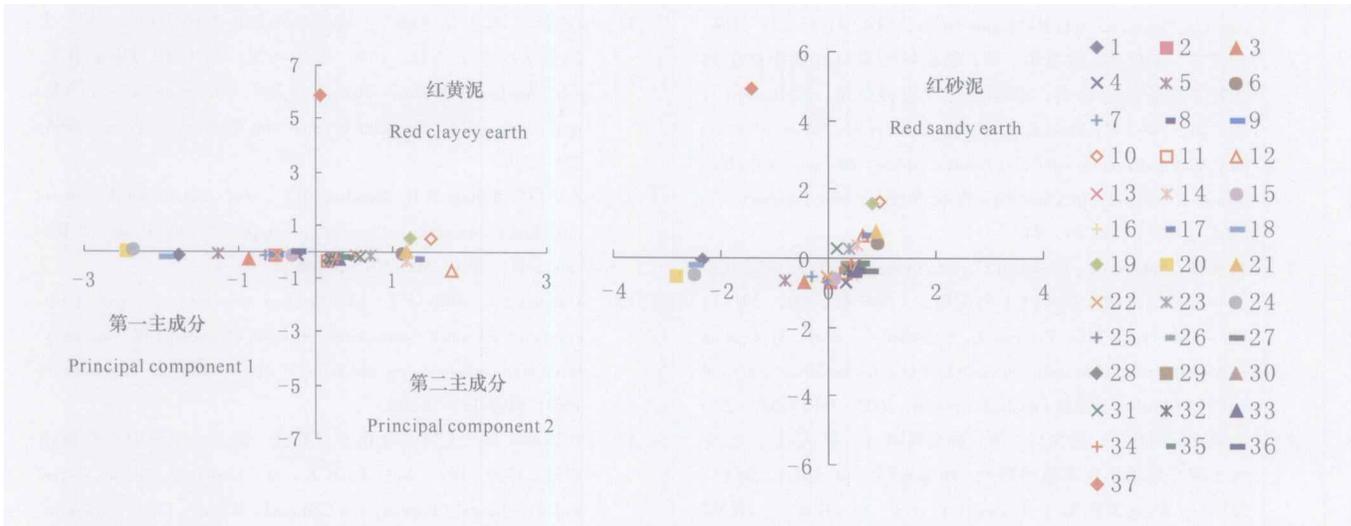


图 5 重金属复合污染下红壤微生物指标的主成分分析

Fig.5 Principal component analysis of soil microbial activity and metabolic profile of community in red earths polluted by heavy metals

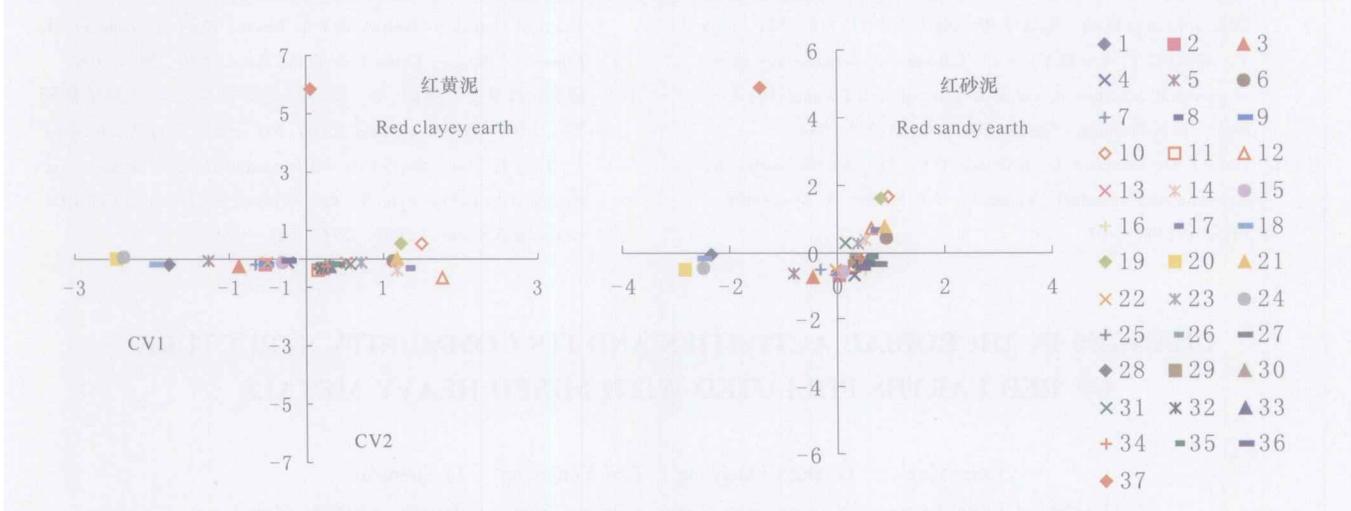


图 6 红壤中重金属复合污染与微生物指标间的典型变量相关分析

Fig.6 Canonical variate analysis between heavy metals pollution and soil microbial activities and community diversity in red earths

4) 通过典型相关分析,红壤微生物活性与重金属含量之间关系密切,第一对典型变量的相关系数达 0.885 8、0.932 8,均达极显著水平( $p < 0.001$ ),说明重金属复合污染与红壤微生物间存在较为稳定的数量反馈机制。

参 考 文 献

[ 1 ] 高拯民主编. 土壤—植物系统污染生态的研究. 北京: 中国科学技术出版社, 1986. Gao Z M. ed. Research on Pollution Ecology of Soil-Plant System (In Chinese). Beijing: Chinese Science and Technology Press, 1986

[ 2 ] 郑春荣, 陈怀满. 土壤—水稻体系中污染重金属的迁移及其对水稻的影响. 环境科学学报, 1990, 10(2):145 ~ 151. Zheng C R, Chen H M. Transfer of heavy metals through soil-plant system

and its influence on the growth of rice (In Chinese). Acta Scientiae Circumstantiae, 1990, 10(2):145 ~ 151

[ 3 ] 周启星, 高拯民. 土壤—水稻系统 Cd-Zn 的复合污染及其衡量指标的研究. 土壤学报, 1995, 32(4):430 ~ 436. Zhou Q X, Gao Z M. Combined pollution and its indexes of Cd and Zn in soil-rice systems (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 1995, 32(4):430 ~ 436

[ 4 ] 吴燕玉, 王新, 陈怀满, 等. Cd、Pb、Cu、Zn、As 复合污染在农田生态系统的迁移动态研究. 环境科学学报, 1998, 18(4): 408 ~ 412. Wu Y Y, Wang X, Chen H M, et al. Dynamic migration of Cd, Pb, Cu, Zn and As in agricultural ecosystem (In Chinese). Acta Scientiae Circumstantiae, 1998, 18(4):408 ~ 412

[ 5 ] 滕应, 黄昌勇, 骆永明, 等. 铅锌银尾矿区土壤微生物活性及其群落功能多样性研究. 土壤学报, 2004, 41(1):113 ~ 119. Teng Y, Huang C Y, Luo Y M, et al. Microbial activities and functional diversity of community in soils polluted with Pb-Zn-Ag mine tail-

- ings (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(1):113~119
- [ 6 ] 谢正苗, 卡里德, 黄昌勇, 等. 镉铅锌污染对红壤中微生物生物量碳氮磷的影响. *植物营养与肥料学报*, 2000, 6(1): 69~74. Xie Z M, Khan K S, Huang C Y, *et al.* Effect of cadmium, lead and zinc on microbial biomass carbon, nitrogen, and phosphorus in red soil (In Chinese). *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2000, 6(1): 69~74
- [ 7 ] 杨元根, Paterson E, Campbell C, 等. Biolog 方法在区分城市土壤与农村土壤微生物特性上的应用. *土壤学报*, 2002, 39(4): 582~589. Yang Y G, Paterson E, Campbell C, *et al.* Application of BIOLOG method to study on microbial features in urban and rural soils(In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2002, 39(4):582~589
- [ 8 ] 王秀丽, 徐建民, 姚槐应, 等. 重金属铜、锌、镉、铅复合污染对土壤环境微生物群落的影响. *环境科学学报*, 2003, 23(1): 22~27. Wang X L, Xu J M, Yao H Y, *et al.* Effects of Cu, Zn, Cd and Pb compound contamination on soil microbial community(In Chinese). *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2003, 23(1): 22~27
- [ 9 ] 滕应, 黄昌勇, 姚槐应, 等. 不同相伴阴离子对镉污染红壤的微生物活性影响. *土壤学报*, 2003, 40(5):738~744. Teng Y, Huang C Y, Yao H Y, *et al.* Influence of accompanying anions on microbial activities in red soils polluted with cadmium(In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 40(5):738~744
- [ 10 ] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D C. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology & Biochemistry*, 1987, 19:703~707
- [ 11 ] 许光辉, 郑洪元主编. 土壤微生物分析方法手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1986. 226~228. Xu G H, Zheng H Y, eds. *Analytical Methods Manual of Soil Microorganisms* (In Chinese). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1986. 226~228
- [ 12 ] Zak J C, Willing M R, Moorhead D L, *et al.* Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach. *Soil Biology & Biochemistry*, 1994, 26:1 101~1 108
- [ 13 ] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1991, 57:2 351~2 359
- [ 14 ] 鲁如坤主编. 土壤农业化学分析法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999. 107~240. Lu R K, ed. *Analytical Methods of Soil and Agricultural Chemistry* (In Chinese). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1999. 107~240
- [ 15 ] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其计算机处理平台. 北京: 中国农业出版社, 1997. 56~108. Tang Q Y, Feng M G, eds. *Practical Statistical Analysis and Its Process Plate of Computer* (In Chinese). Beijing: China Agricultural Press, 1997. 56~108
- [ 16 ] 滕应, 黄昌勇, 龙健, 等. 铅锌银尾矿污染区土壤酶活性研究. *中国环境科学*, 2002, 22(6):551~555. Teng Y, Huang C Y, Long J, *et al.* Studies on soil enzymatic activities in areas contaminated by tailings from Pb, Zn, Ag mine(In Chinese). *China Environmental Science*, 2002, 22(6):551~555

## CHANGES IN MICROBIAL ACTIVITIES AND ITS COMMUNITY STRUCTURE OF RED EARTHS POLLUTED WITH MIXED HEAVY METALS

Teng Ying<sup>1,2</sup> Huang Changyong<sup>1</sup> Luo Yongming<sup>2</sup> Li Zhengao<sup>2</sup>

(1 College of Natural Resources and Environmental Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

(2 State Key Laboratory of Soil and Agricultural Sustainable Development (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Soil and Environment Bioremediation Research Centre, Nanjing 210008, China)

**Abstract** An incubation experiment designed by second-order regression orthogonal rotation was conducted to study soil microbial activities and functional diversity of microbial community in red earths polluted by copper, zinc, lead and cadmium compound state. The results showed that soil microbial activities and functional diversity of microbial community were inhibited very significantly or significantly by heavy metals compound pollution. Moreover, soil microbial biomass carbon (SMBC), soil basal respiration and functional diversity of microbial community are very sensitive to the level of heavy metals pollution. At the same time, the relative biological toxicity of heavy metals to soil microbial parameters were in the order: cadmium > copper > zinc > lead. The results of canonical correlation analysis showed that the first ( $r = 0.8858$ ) and second ( $r = 0.9328$ ) canonical correlation coefficients were significant, which suggested that there exists a stable feed-back mechanism between soil microorganism and heavy metals contents in red earths. The main factors analysis opened out that the total microbial ecological index might be a useful parameter to assess changes in soil quality with management of these highly contaminated soils. So it is feasible to use soil total microbial parameters as primary biochemical index to evaluate the effect of heavy metals compound pollution on red earth environmental quality.

**Key words** Mixed heavy metal pollution; Red earth; Microbial activity; Functional diversity of soil microbial communities