

植物修复对重金属镍污染土壤微生物群落的影响*

蔡信德² 仇荣亮^{1†} 陈桂珠¹ 曾晓雯¹ 方晓航¹

(1 中山大学环境科学与工程学院, 广州 510275)

(2 国家环境保护总局华南环境科学研究所, 广州 510655)

摘要 采用室内盆栽试验方法,研究了外源镍污染土壤的植物修复对土壤微生物群落的影响。试验用水稻土中添加 $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($100 \sim 1\,600 \text{ mg kg}^{-1}$) 经过 12 周的驯化培养后,种植了 2 种超积累植物和 1 种耐性植物,经 110 d 的试验后进行了植物修复后土壤微生物活性的分析。结果表明,非根区土中添加镍的质量分数为 100 mg kg^{-1} 时,对土壤中细菌、真菌和放线菌总数有一定的促进作用,土壤中微生物生物量最大;当添加镍的质量分数大于 100 mg kg^{-1} 时,将对土壤微生物群落造成不利的影响。在植物修复过程中,通过植物的减毒(吸收重金属)作用和根系分泌物的作用,改善了土壤微生物的生存环境,提高了土壤微生物的数量和生物量。经过植物修复后,根区土壤微生物较非根区土壤的丰富,土壤微生物群落总 DNA 序列多样性指数相应增加,但不同植物对根区土壤微生物的贡献是不同的。

关键词 土壤;镍;植物修复;微生物群落

中图分类号 X171 **文献标识码** A

重金属污染土壤的生态效应及其修复措施研究已被许多研究者关注。在长期受重金属胁迫的条件下,土壤中微生物的生物量显著下降,基础呼吸和代谢熵明显升高^[1];一些敏感性种群数量下降或消失,而一些耐性强的种群得以生长和繁殖。植物修复是一种在不破坏土壤结构下对土壤中的重金属进行提取或稳定土壤中重金属的方法。目前,已发现的镍超积累植物超过 300 种^[2]。随着对镍超积累植物富集机理研究的深入和它们在污染土壤修复中的应用,镍污染对土壤—植物系统的生态效应的研究也将会得到加强。本文通过室内试验,研究了 2 种镍超积累植物和 1 种耐性植物在对外源镍污染土壤的修复中,土壤微生物的种群数量、生物量碳、土壤基础呼吸和微生物群落 DNA 序列多样性的变化,探讨

了植物修复对上述这些变化的作用。可为今后土壤环境质量标准的修订、土壤微生物区系的分析、植物修复的微生物学调控等提供基础资料和科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验土壤 供试水稻土采自广东省农业科学研究院水稻研究所的试验田(耕作层土),水稻土加 $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 处理后(添加镍的质量分数为 0、100、200、300、400、800 和 $1\,600 \text{ mg kg}^{-1}$),加去离子水保持土壤湿润,然后置于带盖的小型塑料桶内密封驯化培养,经过 12 周后,风干备用。土壤(原土)基本组成见表 1。

表 1 供试土壤的性质和重金属含量

Table 1 Selected soil properties and nickel concentration

pH	总氮 Total N (g kg^{-1})	总碳 Total C (g kg^{-1})	总镍 Total Ni (mg kg^{-1})	EX-Ni ¹⁾ (mg kg^{-1})	CAB-Ni ²⁾ (mg kg^{-1})	OX-Ni ³⁾ (mg kg^{-1})	OM-Ni ⁴⁾ (mg kg^{-1})	RES-Ni ⁵⁾ (mg kg^{-1})	CEC ⁶⁾ (cmol kg^{-1})
6.37	1.42	18.43	12.51	0.04	0.18	0.48	0.64	11.17	1.74

1) EX-Ni:可交换态镍 Exchangeable Ni; 2) CAB-Ni:弱专性吸附态镍 Carbonate Ni; 3) OX-Ni:铁锰氧化物结合态镍 Fe/Mn oxides-Ni; 4) OM-Ni:有机质结合态镍 Organic matter-Ni; 5) RES-Ni:残渣态镍 Residual Ni; 6) CEC:阳离子交换量 Cation exchangeable capacity

* 国家自然科学基金项目(20177035)、广东省自然科学基金重点项目(051018242)和教育部新世纪优秀人才计划项目(NCET04-0790)资助

† 通讯作者, E-mail: eesqrl@mail.sysu.edu.cn

作者简介:蔡信德(1965~),男,汉族,广东人,博士,高级工程师,从事土壤重金属污染生物修复。E-mail: xindecai@scies.com.cn

收稿日期:2005-08-05;收到修改稿日期:2006-03-22

1.1.2 植物 种植的植物为 *Alyssum corsicum*、*Alyssum murale* 和芥菜 (*Brassica juncea* L. Loss)。

1.2 试验设计

将添加外源镍处理后的土壤装入塑料盆内,每盆约 500 g。每种植物设 3 个重复,不种植物的土壤(非根区土)未设重复(作对照用)。由于芥菜未能在 400 mg kg⁻¹及以上处理中生长,故最后试验盆数为 61 盆。

植物种子先在营养土中发芽,待 *A. corsicum*、*A. murale* 幼苗有 5~6 片叶时移栽到塑料盆内,每盆植 4 株。每日浇去离子水,用水量根据实际需要量确定。每月施肥 1 次,每盆复合肥(N 15, P 15, K 15)用量为 0.4 g 次⁻¹,移栽后生长期为 110 d。芥菜的种植时间较迟,移栽后生长期为 40 d。

1.3 分析方法

1.3.1 样品采集 供微生物分离研究用的土壤样品为盆栽试验结束时的新鲜土壤。根区土壤为种植 *A. corsicum*、*A. murale* 和 *B. juncea* (芥菜)的土壤,非根区土壤为不种植物的土壤(对照土壤)。植物收获时,用消毒的竹筷将根区土壤松动后,将植株连根带土拔出置于消毒后的牛皮纸上混合。同一处理内每盆各选 1 植株的根区土约 120 g 进行等量混合,以混合后的土壤样品进行微生物指标的分析。同时,测定混合后土壤样品的含水量。用于 DNA 分析的样品置 -20 保存。盆内其他土壤用于测定土壤重金属含量等。

1.3.2 土壤性质和重金属含量测定^[3] 土壤 pH 采用土水比 1:2.5 进行浸提测定。土壤镍总量采用 HNO₃ + HClO₄ + HF 消煮,有效态镍用 0.005 mol L⁻¹ DTPA 20 ml 在 150 r min⁻¹ 室温振荡 2 h 浸提,用原子吸收分光光度法(Hitachi Z-5000)测定。总氮用半微量凯氏法。总碳用重铬酸钾氧化—油浴加热法。

阳离子交换量用乙酸铵交换法。

1.3.3 微生物分析^[4~6] 细菌总数、真菌总数、放线菌总数的测定采用平板混菌法。微生物碳的测定采用熏蒸浸提法。土壤基础呼吸的测定采用密闭静置培养测 CO₂ 法。

土壤微生物总 DNA 序列多样性的测定采用 RADP-PCR 法。土壤微生物总 DNA 的提取采用 SDS 法,玻璃珠通用 DNA 纯化试剂盒纯化。从系列引物 SBS A 中筛选出 SBS A02、SBS A03、SBS A11、SBS A19、SBS A20 等 5 条扩增条带较清晰的引物用于 PCR 的扩增。电泳胶在电脑成像系统(UVP, INC.)判读,然后计算 DNA 序列的 Shannon-Weaver 多样性指数^[7]。

2 结果与分析

2.1 植物修复对土壤 DTPA 提取态镍的影响

植物修复后根区和非根区土壤总镍量见表 2,根区土壤中 DTPA 提取态镍的变化与非根区土壤中的对比见图 1。从表 2 看,镍污染土壤经过植物修复后,土壤镍总量有所下降,有些处理中的下降达到显著水平(如序号 1 和序号 7);从图 1 看,根区土壤中 DTPA 提取态镍的质量分数均小于非根区土壤中的,并在添加镍的质量分数较大时特别明显,这可能与超积累植物对镍的吸收有关。

一般认为,采用 0.005 mol L⁻¹ DTPA 提取的土壤重金属含量可反映出土壤重金属的有效性^[8]。水稻土中添加的硫酸镍,虽然与土壤中各组分相互作用发生形态的再分配^[9],但 DTPA 提取态的含量仍较高,并随着添加镍量的增加,DTPA 提取态镍含量也增加。土壤中较高的 DTPA 提取态,有利于超积累植物的吸收^[10, 11]。

表 2 根区与非根区土壤总镍含量¹⁾

Table 2 Total Ni concentration in rhizospheric and non-rhizospheric soils

序号 No.	非根区 Control (mg kg ⁻¹)	<i>A. corsicum</i> (mg kg ⁻¹)	<i>A. murale</i> (mg kg ⁻¹)	<i>B. juncea</i> (mg kg ⁻¹)
1	12.2 ±0.5A	11.4 ±0.6AB	9.5 ±1.0C	10.2 ±0.9BC
2	110.5 ±1.7A	112.3 ±2.4A	111.0 ±2.0A	110.8 ±1.0A
3	210.9 ±1.9A	209.0 ±0.8A	208.9 ±3.3A	208.6 ±3.9A
4	311.3 ±1.7A	310.8 ±1.2A	308.0 ±3.0A	310.4 ±2.3A
5	411.4 ±0.6A	407.5 ±2.5A	407.3 ±3.0A	
6	810.5 ±2.2A	805.0 ±4.1A	807.4 ±3.6A	
7	1 600 ±7A	1 550 ±5B	1 544 ±6B	

1) 平均值 ±标准差;同一列数据后面的字母不同者表示差异显著 Means ±SD. Different letters in same line indicate statistically significant differences by one-way ANOVA and LSD method ($p < 0.05$) between treatments

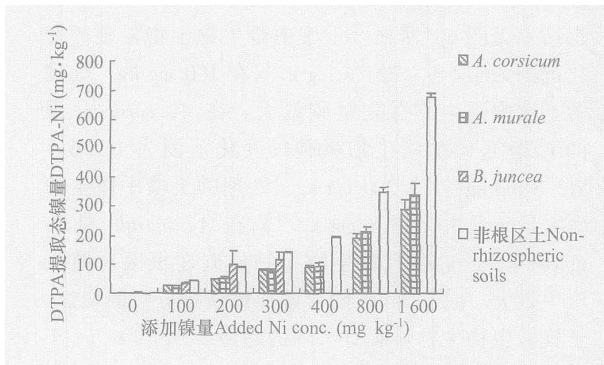


图1 根区土壤与非根区土壤中 DTPA 提取态镍的变化
Fig. 1 Changes in DTPA-extractable Ni concentration in rhizospheric and non-rhizospheric soils

2.2 植物修复对土壤微生物数量的影响

根区土壤与非根区土壤中细菌、真菌和放线菌数量变化见图 2~图 4。

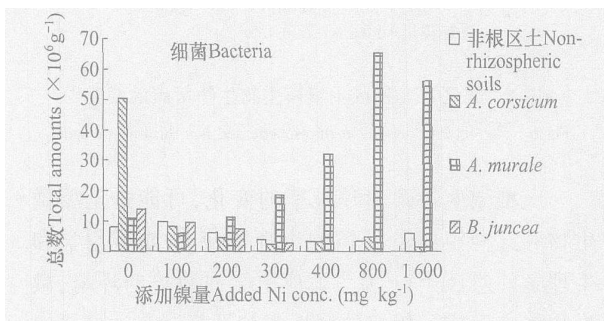


图2 根区土壤与非根区土壤中细菌数量的变化
Fig. 2 Populations of bacteria in rhizospheric and non-rhizospheric soils

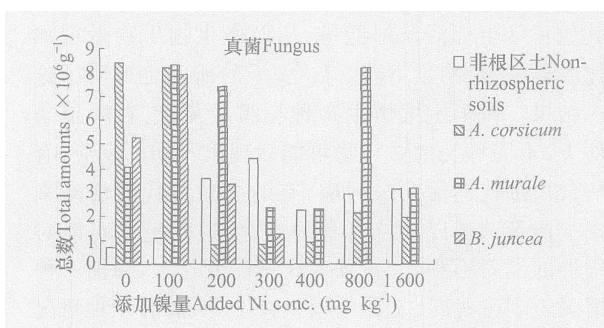


图3 根区土壤与非根区土壤中真菌数量的变化
Fig. 3 Populations of fungus in rhizospheric and non-rhizospheric soils

细菌:根区土壤中,*A. corsicum* 和 *B. juncea* 根区的细菌总数在对照土壤中最高,分别为 50.30×10^6 个 g^{-1} 和 13.76×10^6 个 g^{-1} ; *A. murale* 的则是 800 mg kg^{-1} 处理的为最高 (65.34×10^6 个 g^{-1});而非根区土壤中,则是 100 mg kg^{-1} 处理的最高 (9.71×10^6 个 g^{-1})。非根区土壤的细菌数量随土壤镍量的增加呈下降趋势;而根区土壤中各处理间的变化因植物种类而异。

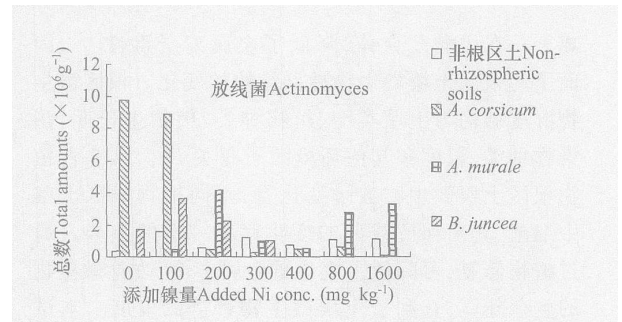


图4 根区土壤与非根区土壤中放线菌数量的变化
Fig. 4 Populations of actinomycetes in rhizospheric and non-rhizospheric soils

真菌:*A. murale* 和 *B. juncea* 在 100 mg kg^{-1} 处理土壤中数量最大,分别为 8.30×10^6 个 g^{-1} 、 7.91×10^6 个 g^{-1} ; *A. corsicum* 根区对照土壤中真菌总数最大,为 8.38×10^6 个 g^{-1} 。非根区土壤中,在 400 mg kg^{-1} 处理土壤中的最大。在根区对照和 100 mg kg^{-1} 处理土壤中,真菌数量大于非根区的。

放线菌:*A. corsicum* 的对照根区土壤中放线菌总数最大,为 9.70×10^6 个 g^{-1} ,其次为 100 mg kg^{-1} 处理土壤中的 (8.92×10^6 个 g^{-1}); *A. murale* 在 300 mg kg^{-1} 处理土壤中放线菌总数最大,为 4.14×10^6 个 g^{-1} ; *B. juncea* 在 100 mg kg^{-1} 处理土壤中放线菌总数最大,为 3.60×10^6 个 g^{-1} 。非根区土壤中,在 100 mg kg^{-1} 处理土壤中的最大。

土壤微生物种群结构是表征土壤生态系统群落结构和稳定性的重要参数之一。通常情况下,重金属污染对微生物有两种效应:一是不适应生长的微生物种类数量的减少或灭绝;二是适应生长的微生物种类数量增大与优势化,进而导致微生物种群和群落的分布发生改变^[12]。不同类群微生物对重金属的敏感性不同,其敏感性大小通常是放线菌 > 细菌 > 真菌^[13]。

镍是某些低等生物和植物的必需微量营养元素之一,但也是一种致癌的毒性元素^[14]。在非根区土壤中,细菌总数和放线菌总数均在 100 mg kg^{-1} 处理土壤中最高;真菌总数,在 300 mg kg^{-1} 处理土壤中最高。表明土壤低浓度镍对土壤微生物的数量有刺激作用,但浓度较大时,则有抑制作用。从细菌、真菌和放线菌的总数由增加转为受抑制时所在土壤镍的浓度来看,放线菌和细菌对镍较为敏感,而真菌的耐性相对较高,这一结果与文献报道的结论是一致的。

植物可以向土壤中分泌多种有机化合物,如有机酸等,重金属离子与各种有机酸相结合形成金属

离子—有机酸复合体,降低了金属离子毒性^[12],因而引起根区土壤微生物种群结构的变化。根区微生物群落结构与土壤类型、植物种类、植物生长期、污染物种类、温度和其他环境因子有关^[15]。从3种植物根区土壤微生物数量变化看,不同植物根区土壤中细菌、真菌和放线菌的变化存在一定的差异。通过植物修复,可降低土壤中重金属毒性,改善微生物的生存环境,有利于土壤微生物种群的发展。本试验中细菌、真菌和放线菌总数随土壤镍含量增加出现的波动,与所用的分析试验方法有关^[16, 17],应属于正常的结果。

2.3 植物修复对土壤基础呼吸作用的影响

根区与非根区土壤基础呼吸率见图5。在非根区土壤中,随着添加镍量的增加,土壤基础呼吸率表现出先升高随后下降的趋势,变化范围在 $0.01 \sim 0.09 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 之间。3种植物根区土壤基础呼吸率随镍添加量的变化无明显趋势。与非根区土壤基础呼吸率相比,2种镍超积累植物根区土壤基础呼吸率较非根区的高。

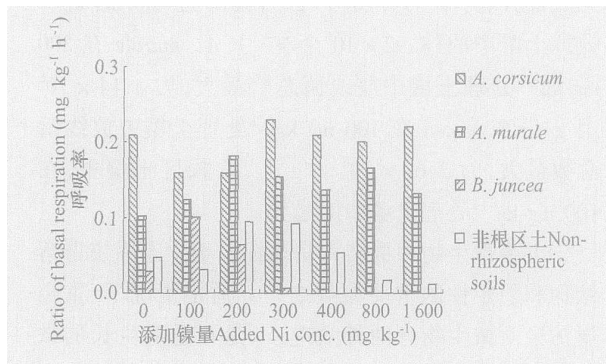


图5 根区与非根区土壤呼吸强度的变化

Fig. 5 Basal respiration in rhizospheric and nonrhizospheric soils

土壤微生物的呼吸作用在评价土壤质量中显得越来越重要^[18, 19]。在长期受重金属胁迫的土壤中,土壤基础呼吸作用因土壤类型、植被种类和环境条件的不同而表现出不同的情形。杨根元等^[1]分析了农村土壤、公园土壤和城市路边土壤的呼吸作用,发现随着土壤重金属含量的增加,呼吸作用增加;Insam等^[20]则报道,随着土壤中重金属含量的增加,有些土壤中的呼吸作用增加,而有些土壤中的则下降。本试验的非根区土中,土壤呼吸作用先升后降,表现出镍对土壤基础呼吸的刺激和抑制效果;在有植物参与时,这一抑制作用有所减缓。

2.4 植物修复对土壤微生物碳的影响

根区土壤与非根区土壤中微生物生物量碳的测

定结果见图6。非根区土壤中微生物生物量碳的变化范围为 $121.9 \sim 224.6 \text{ mg g}^{-1}$,在 100 mg kg^{-1} 处理的土壤中微生物生物量碳最大。在*A. corsicum*根区土壤中,微生物生物量碳的变化范围为 $162.6 \sim 513.8 \text{ mg kg}^{-1}$,在 300 mg kg^{-1} 处理的土壤中微生物生物量碳最大(513.8 mg kg^{-1});在*A. murale*和*B. juncea*根区土壤中,微生物生物量碳在根区对照土壤中最大。总的来看,随着添加镍质量分数的增加,土壤微生物生物量碳有下降的趋势。

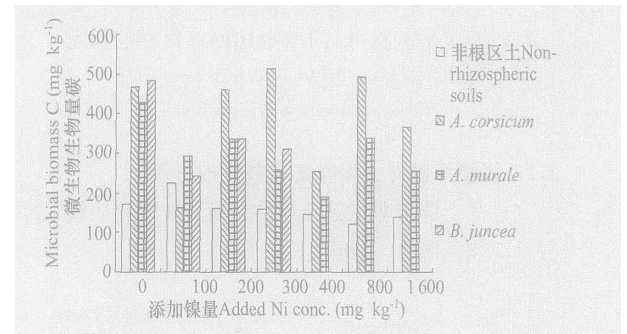


图6 根区与非根区土壤微生物生物量碳的变化

Fig. 6 Microbial biomass C in rhizospheric and nonrhizospheric soils

土壤微生物碳和呼吸率的变化,可能是土壤微生物对这种镍胁迫环境的生理适应^[21]或形态学和生理学的避性^[12]。为了适应重金属胁迫的环境,微生物体内形成了相应的耐性和抗性机制来适应胁迫环境^[22]。微生物的这些生理活动增加了微生物体内能量的消耗,减少了用于转化成微生物生物量和其他正常生理活动的能量,从而微生物生物量增加速度较慢,生物量下降。Li等^[23]的研究也证明了这一结果。由于土壤微生物种类组成复杂,在胁迫条件下,不同种类的微生物可能表现出不同的反应,有的会增加代谢活动来适应;有的会减缓代谢活动来减少能量消耗以维持自身的生存(这种适应可能对种群的发展不利)。在呼吸作用的变化上,当前一种情况表现占优时,土壤呼吸率会上升;而后一种情况占优时,土壤呼吸率会下降。另外,土壤中的营养成分也会导致土壤微生物量的变化。从图6看,根区土壤中微生物生物量碳较非根区土壤中的高,主要是由于在植物的参与下,根区土壤中的物质循环和能量流动方式不同于非根区土壤中的,微生物可以从根系分泌物中获得更多的碳、氮等营养物质,这些营养物质可能促进了根区土壤中微生物生物量的增加。

2.5 植物修复对土壤微生物总DNA序列多样性的影响

对*A. corsicum*根区土、*A. murale*根区土、

B. juncea 根区土和非根区土等 25 个土壤样品(7 种处理、4 种类型)采用 5 种引物进行了 RAPD-PCR 试

验,获得扩增条带 947 条(见表 3),其中 888 条为多态性条带,占 94%;非多态性条带为 59 条,占 6%。

表 3 5 种引物对根区和非根区土微生物群落总 DNA 的扩增结果

Table 3 Summary of the results obtained by amplification with 5 primers

引物 Primers	扩增条带数 (条)	多态性条带数 (条)	非多态性条带数 (条)	多态性条带所占比例 (%)
SBS A02	230	216	14	94
SBS A03	188	149	39	79
SBS A11	201	201	0	100
SBS A19	207	201	6	97
SBS A20	121	121	0	100
总计 Sum	947	888	59	94

Amplified band; Polymorphic amplified band; Non-polymorphic band; Ratio of polymorphic bands to total bands

不同的引物在同一土壤中微生物总 DNA 的扩增数量不同,同一引物在不同土壤中总 DNA 的扩增数量也不同。据统计,土壤微生物总 DNA 扩增条带数由多至少的顺序为:*A. cosicum* 根区土(315 条) > *A. murale* 根区土(284 条) > 非根区土(216 条)。*B. juncea* 根区 4 种不同处理中的扩增条带数为 132 条。因此,根区土壤微生物相对较非根区土壤微生物丰富。根区和非根区土壤中微生物群落总 DNA 的 Shannon-Weaver 指数(SWI)见图 7。从图 7 可见,根区土壤微生物群落 SWI 一般较非根区的高。

的处理和种植不同的植物后,不同处理间土壤微生物群落 DNA 序列存在相同点位基因比例已很小,意即土壤镍污染已经造成群落 DNA 序列的变化。

在非根区土壤中,随添加镍的质量分数的增加,微生物群落 DNA 序列的 SWI 有所减少。事实上,在重金属胁迫条件下,特别是添加镍的质量分数较高时,对土壤微生物的毒害也较大,结果一些敏感种群消亡,而另一些具耐性或抗性的种群可生存下来。因此,出现随土壤镍添加量的增加,SWI 减少的现象。

镍污染土壤中微生物群落 DNA 序列多样性除受镍的影响外,也会因土壤性质、植物种类以及环境因素的影响。陈灏等^[26]采用 PCR-DGGE 调查农田土壤中微生物的种群发现,不同农田土壤间的菌种差异相当显著,种植不同的农作物可能会使农田土壤微生物种群结构发生改变。Griffiths 等^[27]发现,随着土壤中输入根系分泌物混合物的增加,土壤中微生物群落结构不断发生变化,当达到一定数量后,真菌的优势超过细菌;他认为根系分泌物的改变,将影响到根区微生物的结构和功能。从 3 种植物根区土壤和 1 种非根区土壤中 SWI 的变化来看,根区土壤中微生物群落 DNA 序列的多样性指数一般较非根区土壤中的高,表明在受镍污染的植物—土壤复合系统中,根系分泌物对根区土壤中微生物群落 DNA 序列的多样性有正面作用。试验结果也证明了不同植物对根区土壤微生物 DNA 序列多样性的贡献是不相同的。

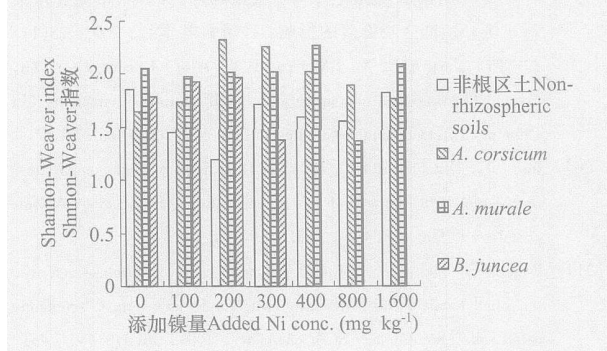


图 7 根区和非根区土壤 Shannon-Weaver 指数

Fig. 7 Shannon-Weaver index of microbial DNA sequence in rhizospheric and non-rhizospheric soils

Baath 等^[24]认为重金属严重污染会降低微生物对单一碳底物的利用能力,减少了微生物群落的多样性。腾应等^[25]通过研究重金属复合污染农田土壤 DNA 的变化,认为复合污染严重的农田土壤中 DNA 含量较低。本试验结果与上述结果是一致的。从表 3 看,非多态性条带占比例少(仅 6%),表明同一类型土壤的不同处理之间相同的基因点位少。试验土壤来自于种植水稻的同一地块,试验前土壤微生物群落 DNA 序列的组成是基本相同的,土壤经过人工添加镍

3 结 论

土壤中镍含量较低时,如添加镍的质量分数低于 100 mg kg^{-1} 时,镍对土壤中细菌、真菌和放线菌有一定的促进作用;随着添加镍质量分数的增加,土

壤微生物总数呈下降趋势,表明镍污染对土壤微生物将造成不利的影响。试验也表明,植物修复可提高土壤微生物的数量,但不同植物对土壤微生物总数的贡献不同。

镍污染对土壤微生物生物量碳、土壤基础呼吸和微生物群落总 DNA 序列多样性产生一定的影响。通过植物修复,降低了镍对土壤微生物的毒性,改善了土壤微生物生存环境,对土壤微生物的生存和发展有一定的促进作用。

参考文献

- [1] 杨元根, Paterson E, Campbell C. 城市土壤中重金属元素的积累及其微生物效应. 环境科学, 2001, 22(3): 44~48. Yang Y G, Paterson E, Campbell C. Accumulation of heavy metals in urban soils and impacts on microorganisms (In Chinese). Environmental Sciences, 2001, 22(3): 44~48
- [2] Brooks R R, Chambers M F, Nicks L J, *et al.* Phytomining. Trends in Plant Science, 1998, 3(9): 359~362
- [3] 鲍士旦. 土壤农化分析. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 2000. Bao S D. Soil and Agricultural Chemistry Analysis (In Chinese). 3rd Ed. Beijing: China Agricultural Press, 2000
- [4] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法. 北京: 科学出版社, 1985. Department of Microorganism, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences. Research Method of Soil Microorganism (In Chinese). Beijing: Science Press, 1985
- [5] 林启美, 吴玉光, 刘焕龙. 熏蒸法测定土壤微生物碳的改进. 生态学杂志, 1999, 18(2): 63~66. Lin Q M, Wu Y G, Liu H L. Modification of fumigation extraction method for measuring soil microbial biomass carbon (In Chinese). Chinese Journal of Ecology, 1999, 18(2): 63~66
- [6] 黄婷婷, 曹慧, 王兴祥, 等. 一种土壤微生物总 DNA 的高效提取方法. 土壤, 2004, 36(6): 662~666. Huang T T, Cao H, Wang X X, *et al.* An efficient method for DNA extraction from soil microorganism (In Chinese). Soils, 2004, 36(6): 662~666
- [7] 姚健, 杨永华, 沈晓蓉, 等. 农用化学品污染对土壤微生物群落 DNA 序列多样性影响研究. 生态学报, 2000, 20(6): 1 021~1 027. Yao J, Yang Y H, Shen X R, *et al.* A preliminary study on DNA sequence diversity of soil microbial community affected by agricultural chemicals (In Chinese). Acta Ecologica Sinica, 2000, 20(6): 1 021~1 027
- [8] 朱波, 青长乐, 牟树森. 紫色土外源锌、镉形态的生物有效性. 应用生态学报, 2002, 13(5): 555~558. Zhu B, Qing C L, Mu S S. Bioavailability of exotic zinc and cadmium in purple soil (In Chinese). Chinese Journal of Applied Ecology, 2002, 13(5): 555~558
- [9] 蔡信德, 仇荣亮, 陈桂珠. 外加镍在土壤中的形态与再分配. 生态环境, 2005, 14(3): 341~344. Cai X D, Qiu R L, Chen G Z. Speciation and redistribution of nickel added in soil (In Chinese). Ecology and Environment, 2005, 14(3): 341~344
- [10] Lombini A, Dinelli E, Ferrari C, *et al.* Plant-soil relationships in the serpentinite screes of Mt. Prinzera (Northern Apennines, Italy). Journal of Geochemical Exploration, 1998, 64(1/3): 19~33
- [11] Ernst W H O. Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants. Applied Geochemistry, 1996, 11(1/2): 163~167
- [12] 王校焕. 污染生态学. 第2版. 北京: 高等教育出版社, 2002. Wang X H. Pollution Ecology (In Chinese). 2nd Ed. Beijing: Higher Education Press, 2002
- [13] 孙铁珩, 周启星, 李培军. 污染生态学. 北京: 科学出版社, 2000. 298~308. Sun T H, Zhou Q X, Li P J. Pollution Ecology (In Chinese). Beijing: Science Press, 2000. 298~308
- [14] 扶惠华, 王煜, 田延亮. 镍在植物生命活动中的作用. 植物生理学通讯, 1996, 32(1): 45~49. Fu H H, Wang Y, Tian Y L. Functions of nickel in plants (In Chinese). Plant Physiology Communications, 1996, 32(1): 45~49
- [15] Kozdroj J, van E, Jan D. Response of the bacterial community to root exudates in soil polluted with heavy metals assessed by molecular and cultural approaches. Soil Biology & Biochemistry, 2000, 32(10): 1 405~1 417
- [16] Hemida S K, Omar S A, Abdel-mallek A Y. Microbial populations and enzyme activity in soil treated with heavy metals. Water, Air and Soil Pollution, 1997, 95(1): 13~22
- [17] Scragg A. Environmental Biotechnology. England: Person Education Limited, 1999. 28~29
- [18] 龚平, 孙铁珩, 李培军. 重金属对土壤微生物的生态效应. 应用生态学报, 1997, 8(2): 218~224. Gong P, Sun T H, Li P J. Ecological effect of heavy metals on soil microbes (In Chinese). Chinese Journal of Applied Ecology, 1997, 8(2): 218~224
- [19] 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
- [20] Insam H, Hutchinson T C, Reber H H. Effects of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora. Soil Biology & Biochemistry, 1996, 28(4/5): 691~694
- [21] Renella G, Mench M, Lelie D van der, *et al.* Hydrolase activity, microbial biomass and community structure in long-term Cd-contaminated soils. Soil Biology & Biochemistry, 2004, 36(3): 443~451
- [22] Bruins M R, Kapil S, Oehme F W. Microbial resistance to metals in the environment. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2000, 45(3): 198~207
- [23] Li Y T, Becquer T, Quantin C, *et al.* Microbial Activity Indices: Sensitive soil quality indicators for trace metal Stress. Pedosphere, 2005, 15(4): 409~416
- [24] Baath E, Diaz R M, Frostegard A, *et al.* Effect of metal-rich sludge amendments on the soil microbial community. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(1): 238~245
- [25] 滕应, 骆永明, 赵祥伟, 等. 重金属复合污染农田土壤 DNA 的快速提取及其 PCR-DGGE 分析. 土壤学报, 2004, 41(3): 343~347. Teng Y, Luo Y M, Zhao X W, *et al.* Rapid extraction and purification of DNA in farmland soils contaminated with mixed heavy metals for PCR-DGGE analysis (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2004, 41(3): 343~347

- [26] 陈灏,唐小树,林洁,等. 不经培养的农田土壤微生物种群构成及系统分类的初步研究. 微生物学报, 2002, 42(4): 478~483. Chen H, Tang X S, Lin J, *et al.* Community constitute and phylogenetic analysis on soil uncultured microorganism (In Chinese). *Acta Microbiologica Sinica*, 2002, 42(4): 478~483
- [27] Griffiths B S, Ritz K, Ebbelwhite N, *et al.* Soil microbial community structure: effects of substrate loading rates. *Soil Biology & Biochemistry*, 1999, 31(1): 145~153

RESPONSE OF MICROBIAL COMMUNITIES TO PHYTOREMEDIATION OF NICKEL CONTAMINATED SOILS

Cai Xinde² Qiu Rongliang^{1†} Chen Guizhu¹ Zeng Xiaowen¹ Fang Xiaohang¹

(1 School of Environmental Science & Engineering, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China)

(2 South China Institute for Environmental Science, SEPA, Guangzhou 510655, China)

Abstract Through pot experiment, effects of phytoremediation on microbial communities in soils different in nickel treatment level were studied. Two Ni hyperaccumulators and one Ni tolerant species were planted in paddy soils different in Ni concentration, ranging from Ni 100 to 1 600 mg kg⁻¹. After 110 days of incubation, soil microbial activities were analyzed. Results show that populations of bacteria, fungus, and actinomycetes and biomass of the microorganisms were stimulated when nickel was added at a rate of Ni 100 mg kg⁻¹ in non-rhizospheric soil. When the rate was over Ni 100 mg kg⁻¹ in the soil, adverse effects on the soils microbial communities were observed. Plantation of hyperaccumulators could increase both the population and biomass of soil microorganisms, because by absorbing nickel from the soil and excreting root exudates, the plants reduced nickel toxicity and improved the living environment of the microbial. However, different plant species had different effects on microorganisms in soil.

Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) with 5 primers was used in this study in 25 soil samples of 4 types of soils. A total of 947 amplified bands were obtained, including 888 bands of polymorphic and 59 bands of non-polymorphic. The results indicated that the composition of microbial DNA sequences had changed because of nickel addition in treated soils. Shannon-Weaver index of soil microbial DNA sequence reduced in nickel contaminated soils with increasing nickel concentration. The changes in Shannon-Weaver index in the 4 types of soils ranged from 1.65 to 2.32 for *A. cosicum*, 1.37 to 2.27 for *A. murale*, 1.37 to 1.96 for *B. juncra*, and 1.19 to 1.85 for non-rhizospheric soil. With the same amount of nickel added to soils, the Shannon-Weaver index in rhizospheric soil with plant was higher than that in non-rhizospheric soil.

Key words Soil; Nickel; Phytoremediation; Microbial community