

Y 1107899

分类号：
密 级：

单位代码：10019
学 号：s05020268

中国农业大学

硕士学位论文

蚯蚓—植物—微生物生态系统 修复土壤镉污染的研究

Research of earthworm-plant-microorganism ecosystem on
remediation of Cd contaminated soil

研 究 生： 马淑敏

指 导 教 师： 孙振钧 教授

申请学位门类级别： 理学硕士

专 业 名 称： 生态学

研 究 方 向： 生态修复

所 在 学 院： 资源与环境学院

2007 年 6 月

摘要

本文以北京西南郊衙门口污灌土为供试土壤，该土壤的污染是由首钢污水灌溉造成的，其中重金属镉、铅和铬均有不同程度的污染，本试验针对污染程度比较严重的重金属镉（土壤全镉含量为 3.45mg/kg）进行了生态系统修复研究。论文选择油菜（京油一号）、黑麦草（意大利黑麦草）和能源植物甜高粱（哈格尼林）三种植物进行了盆栽试验，并外源投加蚯蚓，建立了蚯蚓—植物—微生物人工生态系统，研究了蚯蚓对植物、微生物和土壤环境因素的调控作用以及生态系统对镉污染土壤的修复效果，可为镉污染土壤修复提供新的思路。试验设置对照、盆栽植物、接种蚯蚓和种植植物并投加蚯蚓四个处理，研究蚯蚓对植物生长的影响及对微生物的调控作用，在生态系统水平上研究蚯蚓调控—植物—微生物相互作用过程及对镉污染土壤修复的机理。试验主要结果如下：

1. 蚯蚓对三种植物生长均有促进作用，都不同程度的提高了其地上部和根部生物量，45 天时添加蚯蚓较未加蚯蚓的处理甜高粱地上部与地下部干重分别增加了 16.02% 和 31.52%，油菜分别增加了 70% 和 50%，黑麦草分别增加了 19.9% 和 1.7%。

2. 蚯蚓活动增大土壤微生物数量，研究发现在 0—30 天内呈递增趋势，45 天有所下降；蚯蚓活动能提高土壤呼吸强度，随时间是逐渐增大的；植物加蚯蚓的处理较单一的植物处理土壤微生物数量和呼吸强度提高幅度更大，甜高粱并加蚯蚓的处理中细菌、真菌、放线菌的数量在 30 天时分别为甜高粱处理的 1.48、1.38 和 1.25 倍。

3. 蚯蚓—植物—微生物生态系统改变了土壤的环境，降低了土壤 pH 值，有机质含量也降低，植物并添加蚯蚓的处理比单一植物处理使 pH 值和土壤有机质含量下降幅度大，甜高粱并投加蚯蚓的处理 45 天后 pH 下降幅度比单一甜高粱处理的下降幅度高出 0.35 个 pH 值单位，而甜高粱并投加蚯蚓的处理 45 天时有有机质含量比单一的甜高粱处理下降幅度提高了 8.13%。

4. 蚯蚓—植物—微生物生态系统降低了土壤全镉含量，提高了土壤有效镉含量，随着时间增加全镉含量逐渐降低，有效镉含量逐渐增大；投加蚯蚓后较单一植物处理土壤全镉含量下降幅度增大，而且有效镉含量提高幅度也增大。

关键词：蚯蚓；植物；镉；土壤污染

Abstract

A dirt-irrigated soil in south-west of Beijing was used in the laboratory experiment. The concentration of total cadmium in the soil is 3.45mg/kg. Plants of cole, ryegrass and sweet broomcorn were studied by pot experiment. All the pots were divided into four groups, with four treatments earthworm, sweet broomcorn, combination of earthworms and sweet broomcorn, and without earthworm and sweet broomcorn.

We research the influence of earthworm on plant and microorganism, the regulations of earthworm on remediation of Cd contaminated soil of three kinds of plant in different growth times and the mechanism of ecosystem on remediation of Cd contaminated soil. The mainly results from this study showed as follows:

(1) Earthworm improved the plant growth and the date shows that the biomass of shoot and root was more than CK in different degree.

(2) Earthworm activity could augment the amount of microorganism, and the result of research shows that the amount of microorganism gradually accretion from 0- 30 day, but declined in 45 days; earthworm activity enhanced the breath intensity of soil, and the breath intensity of soil gradually accretion as time goes on; the enhanced extent of the amount of microorganism and the breath intensity of soil by the treatment of combination of earthworms and plant is greater than single plant treatment.

(3) The ecosystem of earthworm-plant-microorganism changes the soil environment factors. The soil pH is depressed and the amount of organic matter is also depressed.

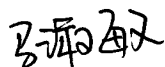
(4) The ecosystem of earthworm-plant-microorganism reduced the concentration of total cadmium in soil and enhanced the concentration of available cadmium, and the concentration of total cadmium gradually reduced and the concentration of available cadmium gradually enhanced as time goes on; the reduced extent of the concentration of total cadmium and the enhanced extent of available cadmium by the treatment of combination of earthworms and plant is greater than single plant treatment.

Key words: Earthworm; Plant; Cadmium; Soil contamination

独创性声明

本人声明所提交的论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得中国农业大学或其它教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示了谢意。

研究生签名：



时间：

2007年6月16日

关于论文使用授权的说明

本人完全了解中国农业大学有关保留、使用学位论文的规定，即：学校有权保留送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。同意中国农业大学可以用不同方式在不同媒体上发表、传播学位论文的全部或部分内容。

(保密的学位论文在解密后应遵守此协议)

研究生签名：

时间：

年 月 日

导师签名：



时间：

年 月 日

第一章 绪论

1.1 国内外研究现状

1.1.1 土壤重金属的污染现状

重金属主要是指生物毒性显著的汞、镉、铅、铬以及类金属砷,还包括具有毒性的重金属锌、铜、钴、镍、锡、钒等污染物。在我国,重金属的污染主要是由采矿、冶炼、电镀、化工、电子、染料等工业产生的三废以及农药、污灌等农业的不合理使用引起的,长期进行污水灌溉和污泥施用造成了土壤中重金属污染日益严重。据统计,1980年我国工业三废污染耕地面积266.7万 hm^2 ,1988年增加到666.7万 hm^2 ,1992年增加到1000万 hm^2 ,而目前,全国遭受不同程度污染的耕地面积已接近2000万 hm^2 ,约占耕地面积的1/5(吴双桃,2005),其中镉污染耕地1.33万 hm^2 ,涉及11个省25个地区。我国每年因重金属污染导致的粮食减产超过1000万t,被重金属污染的粮食多达1200万t,合计经济损失至少200亿元。据农业部环境监测系统近年的调查,我国24个省(市)城郊、污水灌溉区、工矿等经济发展较快地区的320个重点污染区中,污染超标的大田农作物种植面积为60.6万 hm^2 ,占调查总面积的20%,其中重金属含量超标的农作物种植面积约占污染物超标农作物种植面积的80%以上,尤其是Pb、Cd、Hg、Cu及其复合污染最为突出。

土壤重金属污染物在土壤中移动性差、滞留时间长、不能被微生物降解,易于积累转化为毒性更大的甲基化合物。镉是一种有毒有害重金属,易在食物链中积累后进入人体,严重危害人类健康。20世纪初因食用镉污染大米,日本大面积爆发“痛痛病”,有关镉污染及防治研究引起全世界关注(吴双桃,2005)。有害重金属在土壤系统中所产生的污染过程具有隐蔽性、长期性和不可逆性的特点,因此,土壤重金属污染与治理一直为国际上学术界所研究关注(冯凤玲,2006)。许多人开始致力于发展各种方法对重金属污染进行监管、治理和预测,土壤的重金属污染问题是全球最为严重的环境问题之一,已经受到了很大的关注。

1.1.2 土壤重金属的生物学效应

1.1.2.1 土壤重金属对植物的影响

重金属对植物的生物学效应研究在国内外很早就已经广泛开展,Stefanov等人用小麦、谷子等研究了作物在重金属铅(Pb)、镉(Cd)胁迫下的发芽情况,表明不同的重金属污染物对不同作物的发芽产生不同的效应。大量研究证明,过量重金属会影响植物生长,引起黄化、枯萎、产量减少以及产品品质下降等现象,由于不同作物种类或品种对重金属的吸收能力相差很大,因此,在污染土壤的改良和利用方面,植物修复技术具有良好的应用前景,在植物修复技术研究方面,我国仅在极个别作物品种之间对重金属吸收差异性进行了初步的研究(杨正亮,2005)。陈同斌等人(2003)曾对世界各地的40多个水稻品种进行了研究,研究结果证实:重金属(砷)污染的土壤中,不同水稻品种的忍耐能力和重金属吸收量最大可以相差100多倍。吴启堂(2005)研究指出,不同水稻品种对镉的吸收能力有很大差异,台湾学者郭志登等人发现,在受镉污染的土壤中,不同水稻品种吸收镉的能力最大可相差3~10倍。

一般来说,植物如果从污染环境中大量吸收重金属,往往会产生直接或间接伤害。据何新华等(2004)的报告,杨梅在 $5.0\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝酸铅浓度的Hoagland营养液中生长,植株2周后开始出现中毒症状,叶脉坏死,叶片失水干枯。王慧忠等(2003)的研究结果表明:当铅处理浓度大于 $2.5\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,多年生黑麦草、高羊茅及匍匐剪股颖等草坪植物的叶绿素a、叶绿素b以及总叶绿素含量均明显下降。这可能与铅等重金属引起植物矿质营养的缺乏有关,如因缺磷导致叶片失绿变紫。据秦天才等(1998)的报道:培养液中镉浓度超过 $0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以后,小白菜侧根数目减少,根的分枝程度降低,根系生物量和体积下降,根系生长发育受阻,蛋白质降解加快,游离氨基酸积累,造成代谢紊乱,铅可加快这个过程。通过机理研究可知,参与生命代谢活动的重要催化物质—酶,巯基氨基酸与镉结合引起其失活,进而造成体内代谢活动发生紊乱。

1.1.2.2 土壤重金属对微生物影响

(1) 重金属对土壤微生物生物量的影响

土壤的微生物生物量是指土壤中体积小于 $5000\mu\text{m}^3$ 的生物总量(不包括活的植物体),它能代表参与调控土壤中能量和养分循环以及有机质转化所对应生物量的数量,而且微生物生物量氮和碳转化迅速,是比较敏感的评价重金属污染程度的指标(2000)。研究表明,在土壤中加入微量的镉,能使土壤细菌数目由每克土壤 4800×10^4 个减少为2000个(Shweta, 2001)。杨济龙等(2003)的研究表明,蔬菜土壤中的微生物量与重金属浓度有负相关性。杨元根等(2001)在英国阿波丁山市的土壤调查中发现,城市工业污染区土壤的微生物生物量不同程度低于农村。滕应等(2003)的研究表明,浙江铅锌银矿区土壤的微生物量明显偏低,可培养的细菌数量也显著降低。Khan(1998)等试验研究了镉和铅对红壤中微生物的影响,当其浓度分别为 30ng/g 和 150ng/g 时导致生物量显著下降。Nosir(2005)研究发现长期受工业废水污染的土壤,微生物量远低于正常土壤。在重金属复合污染的土壤中,当重金属总量达到 658mg/kg 时,生物量仅为对照的32%,当重金属总量达 3446mg/kg 时,生物量为对照的22%,生物量碳与土壤有机碳比值较对照下降35%(2004)。蔡信德等(2004)的研究表明,某些微生物的必需微量元素镍,浓度略高于正常值便成为一种极毒元素,同种金属对不同种类的微生物影响也不同。

(2) 重金属对微生物种群结构的影响

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,由于土壤微生物通常和土壤粘土矿物和有机质结合在一起,生理及形态差异大,目前对微生物种群进行定量分析还存在很大困难。Bruce(2003)的研究表明在农田土壤中,锌含量超标会大大降低土壤微生物的多样性。各类菌对重金属的敏感程度不同,对污染的耐性也不同,研究表明,一般表现为真菌>细菌>放线菌,这便会引起微生物种群结构的变化(2002)。Suhadolic(2004)等的研究表明,污染重的土壤中耐性细菌比轻污染的土壤中的耐性细菌数量多,土壤受锌、铅污染后,对固氮菌、纤维分解菌、木霉等菌类起抑制作用,但耐性较强的大豆根瘤菌和含脂刚螺菌比无污染和污染较轻的土壤多。杨元根(2002)等的研究表明,在铜浓度高的土壤中,由于其对微生物的损伤有长期性,造成了微生物群落结构发生变异,加入铜的时间越长,这种改变越明显。可见重金属污染导

致群落的变异性增大,而降低了群落的稳定性。一般认为重金属污染会减少微生物对单一碳底物的利用能力,减少群落的多样性。有研究表明,在土壤微生物发生明显变化以前,整个微生物区系已经发生质的变化,不适应的微生物数量下降,适应生长的微生物数量增大并积累(2002)。理论上会有两种或两种以上更具耐性的物种来填补,从而丰富了微生物系统,抗性微生物通常由于生理适应或基因改变而取代敏感种。有人认为在重金属的胁迫下,细胞代谢及微生物功能的改变,引起微生物的生存力和竞争力发生变化而导致种群大小的改变(2005)。因此,重金属胁迫对微生物种群结构产生一定影响。但从微生物进化的角度来看,适当浓度的重金属对物种的多样性,以及提高微生物的抗性、耐性机制,有一定的积极作用。

(3) 重金属对微生物活性的影响

重金属还会导致微生物呼吸强度的一系列改变,微生物代谢熵是指单位重量微生物生物量碳的呼吸量值,一般认为代谢熵随污染程度的增加而上升,它是微生物对逆境的反应机理,因此可以作为微生物生理的一个敏感指标,反映重金属的污染程度。对英国Macaulay 牧场土壤的研究发现,随铜浓度的升高,微生物呼吸速率迅速上升(杨元根,2002),滕应等(2003)对铅锌矿区的生物活性调查也得到相似结果。重金属使微生物呼吸增强,代谢熵增大,是由于在此条件下,在微生物量降低的同时,为维持生存可能需要更多能量,从而使微生物的代谢特性发生不同程度变化,更多地释放CO₂,从而导致土壤基础呼吸和微生物代谢熵的加剧。这也反映了污染后,微生物活动从低水平向高水平,从稳定态向不稳定态的过渡。在实验室的生态毒性研究中,重金属的加入使微生物代谢熵增加,但有人认为这和长期遭受污染的土壤微生物的熵值增加的原理不同,重金属杀死部分微生物,导致微生物细胞分解,增强代谢熵,这也是不全面的,还需进一步研究(王嘉,2006)。

1.1.2.3 土壤重金属污染对蚯蚓的影响

国内外学者在土壤重金属污染对蚯蚓的影响方面进行了大量的研究,主要分两个方面:一方面,重金属污染对蚯蚓生物学特性、生理生化特征以及分类学等方面的影响的研究。如张友梅等(1996)关于土壤污染对蚯蚓的影响的研究,结果表明蚯蚓的种类和数量随着土壤污染程度的增加而减少,污染物在蚯蚓体内明显富集,并随土壤富集量的增加而增加,重金属污染区蚯蚓消化道内氨基酸含量普遍较低;王振中等(1994)研究了重金属污染区蚯蚓的群落结构、污染指示种类、以及污染影响的毒理指标,结果表明,随着重金属污染程度的增加,蚯蚓种类减少,蚯蚓体内重金属元素富集量增加。其中蚯蚓毒理性实验表明,Cd中毒后过氧化物同工酶活性增加,脂酶同工酶活性减弱。Pb中毒后蚯蚓过氧化物酶和同工酶活性均增加;邓继福等(1996)研究了土壤重金属污染对土壤动物群落的生态影响,其文章中也提到了土壤大型动物蚯蚓;宋玉芳等(2002)以重金属污染对蚯蚓的急性毒性效应进行了研究,作者通过测定草甸棕壤条件下,Cu、Zn、Pb、Cd单一/复合污染对蚯蚓的急性致死及亚致死效应,结果表明,Cu、Pb浓度与死亡率显著相关,Cu浓度与生长抑制率显著相关,蚯蚓个体对重金属毒性的耐受程度差别较大,耐性蚯蚓对体内重金属的解毒机制也有大量研究,包括产生金属硫蛋白和金属结合蛋白络合重金属元素(Dallinger,1996;Dallinger,2000)等;另一方面,蚯蚓作为生物学监测的指示生物,可以评价土壤重金属污

染程度(Spurgeon, 2000)。

1.1.2.4 镉对生物有机体的毒性

1) 镉对植物的影响

土壤中的镉向植物体内转移的过程与镉的存在形式含量以及土壤和植物的特性、种类等有关。受镉毒害的植物不能正常生长,并且生物量呈下降趋势(郑世英, 2006),例如,受到镉毒害后,玉米生长迟缓,叶尖黄褐,根尖膨胀发黑,继而腐烂,浓度越高,症状越早(Antonio, 1999),采用其他植物研究结果基本相似。

2) 镉对动物的影响

镉主要通过食物、水、空气等进入动物体内,动物作为消费者,环境中的镉主要通过植物进入动物体内,因此,镉在动物体内的含量与动物所食植物种类、部位和年龄相关(Templeton, 1998)。镉能与含羟基、氨基、巯基高分子有机物结合,使许多酶系统受到抑制,从而影响肝、肾等器官中酶系统的正常功能。另外镉还损伤肾小管,导致糖尿、蛋白尿、氨基酸尿,并使尿钙和尿酸的排出量增加,引起肾功能不全,进而影响维生素D3的活性与吸收(Templeton, 1998)。因此长期食用含镉植物会影响钙和磷的代谢,引起肾、肺、肝等内脏器官的病理变化,诱发骨质疏松软骨化和肾结石等疾病,最终引起“骨痛病”(Lin, 1998)。另外镉对哺乳动物具有较强的致畸、致癌和致突变作用,被有机体吸后,自然排泄十分缓慢,其生物半衰期达930年(Berglund, 2000)。

3) 镉对微生物的影响

微生物作为自然环境中的主要分解者,在土壤沉积物的碳、氮、磷、硫的循环、无机营养的再生和营养物的转化等方面起着重要作用。在受到重金属污染的叶面上微生物的数量和多样性均比未受污染的叶面少(Staessen, 1999),土壤中的重金属尘埃使土壤中的微生物区系数减小,酶活性降低,加入镉会减少微生物的群体,降低呼吸率(张锐, 1999)。

1.1.3 影响重金属生物有效性的环境因素

1.1.3.1 土壤环境的影响

Romkens研究表明(1999),土壤参数pH值、可交换阳离子容量(CEC)、有机物含量、碳酸盐含量、水和Fe/Mn氧化物、氧化还原能力、DOC和温度等这些土壤条件的改变控制着有效金属离子的浓度。土壤有机质可吸附大量的重金属,降低重金属的活性,从而减少其对土壤的污染程度(张敬锁, 1999),在土壤中施入有机肥可减缓Cd污染对作物的危害,有机质对Cd²⁺有强烈的吸附作用,有机质分解产生的腐殖酸可与土壤中的Cd²⁺形成螯合物沉淀,也可与Cd²⁺形成高稳定性的可溶性物质,大大提高土壤中Cd²⁺浓度,形成小分子的可溶性络合物提高植物对Cd的吸收。重金属污染的土壤中,淹水(厌氧)条件下普通植物对土壤中重金属的吸收较非淹水条件下的低,淹水影响土壤的pH和氧化还原条件。Ye等(1998a),发现在施用Pb/Zn尾矿的土壤中淹水条件下

*P.australlis*的生物量降低,但对Zn、Pb、Cu的吸收量明显增加。

1.1.3.2 根际圈对重金属的影响

根际圈是指由植物根系与土壤微生物之间相互作用所形成的独特圈带,它以植物的根系为中心聚集了大量的细菌、真菌等微生物和蚯蚓、线虫等土壤动物,形成了一个特殊的“生物群落”。植物的根系在从土壤中吸收水分、矿质营养的同时,也向根系周围土壤分泌大量的有机物质,而且其本身也产生一些脱落物,这些物质刺激着某些微生物和土壤动物在根系周围大量地繁殖和生长,这使得根际圈内微生物和土壤动物数量远远大于根际圈外的数量,而微生物的生命活动如氮代谢、发酵和呼吸作用及土壤动物的活动等对植物根也产生重要影响,它们之间形成了互生、共生、拮抗及寄生的关系。污染土壤中的植物首先通过根际圈与土壤中污染物质接触,这些污染物质包括不能降解的重金属等无机物,又包括难以降解的多环芳烃(PAHs)等有机污染物。大量研究表明,根际圈通过植物根及其分泌物和微生物、土壤动物的新陈代谢活动对污染物产生吸收、吸附、降解等一系列活动,在污染土壤植物修复中起着重要作用。由于根分泌物的分子量低,可以在土壤中移动,导致根区微生物活性增强。可溶性根分泌物通过络合阳离子,可能会成为金属载体,促进根附近金属的可溶性。土壤受重金属污染后,植物会不同程度地从根际圈内吸收重金属,吸收数量的多少受植物根系生理功能及根际圈内微生物群落组成、pH值、氧化-还原电位、重金属种类和浓度及土壤的理化性质等因素影响,其吸收机理是主动吸收还是被动吸收尚不清楚。

1.1.4 土壤重金属污染修复技术的研究

1.1.4.1 修复技术研究现状

重金属污染土壤的治理途径有两种:一种是将污染物清除,即去污染;另一种是改变重金属在土壤中的存在形态,使其固定,将污染物的活性降低,减少在土壤中的迁移性和生物可利用性,即稳定化(顾继光,2003)。重金属在土壤中具有稳定、易于累积和不易去除的特点,通过食物链对人畜产生慢性中毒。为了降低和消除土壤重金属的污染和危害,人们最初采取改土法、电化法、冲洗络合法等措施降低重金属的溶解性。传统方法往往投资昂贵,需要复杂的设备条件或改变土层结构,而生物修复法能克服传统方法中的缺点,越来越受到重视(周启星,2001),近几年来,微生物、植物及动物3种生物修复技术成为土壤重金属污染修复研究的热点(周启星,2001)。

1.1.4.2 植物修复技术

植物修复可尝试通过以下2种途径予以实现:一种是植物通过根系的吸收作用,将其吸收的重金属累积在根部,或将其大部分运输到地上部,从而减轻毒害(刘登义等,2001);另一种是植物利用根系分泌的特殊有机物,如细胞内的金属硫蛋白、植物螯合肽或者某些有机酸、氨基酸等物质,促进土壤中重金属元素的溶解与根系的吸收(Verkelij,1990)。在自然界的天然种群中,存在着对重金属具有超富集和耐性的植物种类,美国科学家Chaney首次提出了植物修复方法的思想—即利用某些能够富集重金属的植物来消除土壤重金属污染的设想(Chaney,1997)。超积累植物(Hyperaccumulator)是指能够超量吸收和积累重金属的植物,Brooks等人1977年最早提出了

这一概念(Brooks, 1977)。利用超积累植物对重金属的富集比普通植物高出几十倍到几百倍的能力,在美国、澳大利亚、新西兰等国已发现能富集重金属的超积累植物500多种(Cunningham, 1989),其中有360多种是富集Ni的植物,就对Cd而言,公认100DWmg/kg作为其筛选超积累植物的临界标准。Baker(1989)在欧洲中西部发现了能富集Cd高达2130DWmg/kg的十字花科植物天蓝褐蓝菜(*T.caerulescens*)。目前,在世界各地已发现多种对重金属具有强富集能力的超积累植物。植物修复技术是指以植物忍耐和超量富集某种或某些化学元素的理论为基础,利用植物及其共存微生物体系清除环境中的污染物的一门环境污染治理技术(Salt, 1995)。重金属类污染的植物修复技术按其修复的机理和过程可分为植物提取、植物挥发、植物稳定等3种主要方式(韦朝阳, 2002)。

1) 植物稳定

植物稳定(phytostabilization or phytoimmobilization)是利用耐重金属植物降低土壤中有毒金属的移动性,从而减少金属被淋滤到地下水或通过空气扩散进一步污染环境的可能性(Salt, 1998)。植物稳定化使土壤中的重金属可通过如下3种方式稳定下来: 1) 被植物的根吸收并在体内富集; 2) 被吸附到根的表面; 3) 在根际区沉淀下来(刘拥海, 2006)。

研究表明,植物固定土壤中的Pb和Cr是最有应用前景的。这种技术与原位化学钝化技术相结合将会显示出更大的应用潜力。植物稳定技术以后的研究方向应该是促进植物发育,使根系发达,键合和滞留有毒金属于根—土中,将转移到地上部分的金属控制在最小范围。植物稳定的研究与实践主要针对于采矿、冶炼厂废气和污水厂污泥污染土壤的复垦,然而植物稳定没有将环境中的重金属离子去除,只是暂时将金属固定,使其对环境中生物不产生毒害作用,并没有彻底解决环境中的重金属污染问题,如果环境条件发生变化,重金属的生物有效性可能又会发生改变(邓金川, 2005)。

2) 植物挥发

植物挥发(phytovolatilization)是利用植物的吸收、积累和挥发而减少土壤中一些挥发性污染物,即植物将污染物吸收到体内后将其转化为气态物质,释放到大气中(Watanabe, 1997)。也就是利用植物根系分泌的一些特殊物质,使土壤中的汞、硒转化为挥发形态以去除污染的一种方法。该技术只是将污染物从土壤中经植物转移到大气中进行稀释,因此仍存在一定的风险(刘拥海, 2006),目前这方面研究最多的是类金属元素汞和非金属元素硒。

研究发现,一些细菌具有汞还原性酶,能将甲基汞和离子态汞转化成毒性小得多、可挥发的单质汞Hg⁰,这已被作为一种降低汞毒性的生物途径之一。当今的研究目标是利用转基因植物降解生物毒性汞,即运用分子生物学技术将细菌体内对汞的抗性基因(汞还原酶基因)转导到植物(如烟草和郁金香)中,进行汞污染的植物修复。植物挥发为土壤及水体环境中具有生物毒性汞的去除提供了一种潜在可能性。

3) 植物提取

植物提取(phytoextraction)这一概念最早由Chaney(1983)和Baker等(1991)提出来的,植物提取

方法是指种植一些特殊的植物,利用其根系吸收受污染土壤中的有毒有害物质,并将其转移至植物的地上部,最后通过收割地上部物质的方式带走土壤中的污染物。该技术最适合浅层且污染程度较低的土壤修复,这种技术要求所用植物具有生物量大、生长快和抗病虫能力强的特点,还要具备富集多种重金属的能力,植物提取技术在重金属污染修复技术中具有重要地位,也是最有应用前景的(刘拥海,2006)。

植物提取技术依赖一些特异性植物(主要指超积累植物)在其整个生命周期能够吸收、转运、积累和忍耐高含量的重金属,但目前植物提取技术成功与否受制于两个因素(Lasat, 2002; Khan, 2000),第一个因素是超积累植物的生长速度和生物量大小,目前文献所报道的超积累植物(如 *Brassicajuncea*, *Thlaspi rotundifolium*等)虽然体内能积累很高浓度的重金属,但绝大多数生长缓慢、生物量小(Ebbs, 1997; Blaylock, 1997; Reeves and Brooks, 1983; 蒋先军, 2000a),因而限制了植物修复效率。第二个因素是土壤中重金属的生物有效性高低(Ernst, 1996),重金属一旦进入土壤,将通过沉淀、老化、专性吸附等物理、化学过程成为难溶态(袁可能, 1990),而溶解态和易溶态才是植物吸收的主要形态(Man, 1991),因此,重金属的生物有效性往往是植物修复效率的限制因素。由此可见,植物生物量的增加及其吸取重金属能力的提高是植物修复研究和发展工作的关键(骆永明, 1999)。针对这两个限制因素,今后的研究重点除了继续寻找超积累植物及采用转基因技术提高积累能力之外,还要从土壤根际圈角度,研究根际圈中土壤动物、微生物的新陈代谢活动对植物生长和重金属植物有效性的影响(蒋先军等, 2000; Michael, 2000; 魏树和, 2003)。

已有研究发现,在露天堆积的金属尾矿上自然生长的植物,具有很强的耐受重金属胁迫的能力,这类植物有山野豌豆、草木樨、批碱草、酸模、紫苜蓿、羽叶鬼针草,尤其是羽叶鬼针草和酸模,能够富集重金属铅,并对铅具有较强的耐性,不仅其根系和叶片中积累有大量铅,并且地上部迁移量也很大(刘秀梅等, 2002)。夏汉平和束文圣(2001)的研究结果表明:香根草和百喜草在纯尾矿或由尾矿和垃圾组成的混合基质上都能生长,但植物的长势随基质中重金属含量的增加而减弱,其中香根草的生物量所受的影响比百喜草更大,即百喜草有更强的重金属抗性。当开展对金属尾矿的植被恢复时,可选择种植抗性强、覆盖快的百喜草;但如果要对尾矿中的重金属进行生物净化,则应选择种植生物量大的香根草,种植香根草还可以较好地防止重金属的二次污染或生物富集。

1.1.4.3 重金属污染土壤的微生物修复技术

重金属污染土壤的微生物修复是利用微生物的生物活性对重金属亲合吸附或转化为低毒产物,从而降低重金属的污染程度。在长期受某种重金属污染的土壤上,生存有很大数量的、能适应重金属污染环境并能氧化或还原重金属的微生物类群。微生物对重金属首先是吸收作用,由于专性微生物区系能促进重金属参与微生物体组成,从而促进重金属的微生物吸收。

重金属污染土壤的微生物修复主要包括两方面,即生物吸附和生物氧化-还原。生物吸附是重金属被活的或死的生物体所吸附的过程,而生物氧化是利用微生物改变重金属离子的氧化-还原状态降低土壤环境中重金属含量。Weon (2001)研究表明,表面传送的金属绑定缩氨酸细菌吸收剂的生物聚集作用,可以作为一种通用的重金属污染的消除方法。Desjardin (2002)在法国某污染区土壤开展了微生物活性对铬化学形态的影响研究,经过研究发现,土壤在30℃饱和水含葡

葡萄糖和营养物质内培养后,其内天然微生物的活性对将 Cr^{6+} 还原成低迁移率的 Cr^{3+} 有显著的影响,从中分离出还原 Cr^{6+} 的菌种链霉菌属(*Thermocarbox ydus*),当细菌细胞群集或附着到悬浮固体颗粒上,*Thermocarbox ydus*还原 Cr^{6+} 为 Cr^{3+} ,使Cr的活性及毒性降低。抗Hg细菌如假单胞菌、大肠杆菌体内存在特殊的MMR酶系,能将土壤中的甲基汞、乙基汞和硝基汞还原为元素汞,日本有人利用此原理将富汞细菌收集起来,经蒸发、活性炭吸附等方法除去Hg(1997)。微生物可使还原态重金属氧化,如无色杆菌、假单胞菌能使亚砷酸盐氧化为砷酸盐,从而降低As的毒性。在厌氧条件下,微生物通过沉淀作用,利用产 H_2S 细菌产生的 H_2S 与 Cd^{2+} 结合生成 CdS 沉淀,可以降低Cd的毒性。

1.1.4.4 植物-微生物联合修复重金属

采用植物-微生物联合修复,不仅能修复土壤中重金属污染物,还能对其复合存在的有机污染起到一定的降解和修复,这使得生物修复的效果和适用范围有进一步的提高。植物-微生物联合修复是生物修复的一种有效的方式,应加强二者之间的联合修复作用的研究,植物-微生物联合修复污染土壤的关键是根据土壤污染的实际情况寻找合适的植物-微生物的匹配组合。

马溪平(2005)等研究了芥菜、玉米、蓖麻在与所添加的外源微生物的联合作用中,芥菜、玉米减少Cd含量的作用更加显著,有随着微生物菌浓度的增加而降低的趋势,而与蓖麻的联合作用不明显。这表明选用合适的外源微生物及其适宜的浓度能增强植物对污染土壤重金属Cd的生物修复。

1.1.4.5 蚯蚓对土壤重金属的修复

既然耐性蚯蚓能存活于重金属污染土壤,耐性蚯蚓能否对土壤-植物系统中重金属化学行为产生的影响这方面的研究鲜见报道。胡秀仁等(1990)在用蚯蚓处理垃圾时发现加入蚯蚓后重金属的溶出量明显增加。Ieland发现蚯蚓粪中水溶态Pb比重金属污染土壤中增加了50%,Devliegher和Verstraete(1996,1997)研究发现蚯蚓通过肠道消化和养分富集两个过程可以提高土壤中植物养分(Mg, Ca, Fe, Mn)和金属元素(Cr和Cd)的有效性。韩清鹏(2001)研究发现蚯蚓对土壤氮素矿化,硝化和反硝化活性的促进作用不受加锌量(0~400mg/kg)的影响,接种蚯蚓的红壤、高砂土中的矿质氮含量比对照增加了80%和101.2%。戈峰等(2001)研究了蚯蚓在德兴铜矿废弃地生态恢复中的作用,尾矿土和复垦土中加入蚯蚓和蚓粪后,西红柿的茎长、根长和干重均明显高于对照。Abdul(1996 a, b, c)在三种不同浓度的Cd, Cu, Fe, Pb, Zn污染土壤上发现,蚯蚓对重金属的有效性影响不大,但是显著增加了黑麦草地上、地下部分的Cd, Cu, Zn含量,而且增加了黑麦草产量。蚯蚓代谢及其与微生物的相互作用,可产生植物激素类物质,从植物生理方面促进植物生长(胡佩等,2002)。Ma(2002)在用人工无污染土稀释的铅锌矿砂上,发现蚯蚓活动使土壤有效态Pb, Zn含量分别提高了48.2%, 24.8%。Cheng and Wong(2002)在模拟锌污染的红壤、高砂土、黄泥土上培养发现加入蚯蚓使红壤pH降低了0.5个单位,蚯蚓活动显著增加了红壤DTPA提取态锌和黄泥土中的有机结合态锌。俞协治(2003)在模拟Cd、Cu污染的红壤上发现,蚯蚓活动显著增加红壤中DTPA提取态Cu的含量。蚯蚓的确在提高植物生物量和活化重金属方面发挥了积极的作用,蚯蚓不仅能改善土壤条件,促进土壤养分循环,提高植物产量,并且能提高重金属的生物有效性,使解决植物

修复技术难题之一提高土壤中重金属的生物有效性成为可能, 结果表明, 蚯蚓能通过取食、作穴和排泄代谢产物等生命活动过程, 改变土壤性质, 提高土壤中的重金属的生物有效性种种研究迹象表明蚯蚓有可能在提高重金属污染土壤的植物修复效率方面发挥作用, 这对重金属污染土壤的复垦及修复将有重要意义。

1.2 研究目的与意义

随着重金属污染的生物修复技术的发展, 依据植物修复, 蚯蚓诱导-植物修复以及植物-微生物联合修复的研究背景, 设想用蚯蚓对植物和微生物进行调控, 通过蚯蚓调控, 改善植物生长状况, 提高其生物量, 改变微生物数量和活性, 并对土壤环境因素产生的影响, 分析这些因素变化趋势是否更加有利于植物对土壤镉的富集, 从而建立蚯蚓-植物-微生物的生态系统来进行镉污染土壤的修复, 并从生态系统水平上研究蚯蚓-植物-微生物相互作用对镉污染土壤修复的机理。

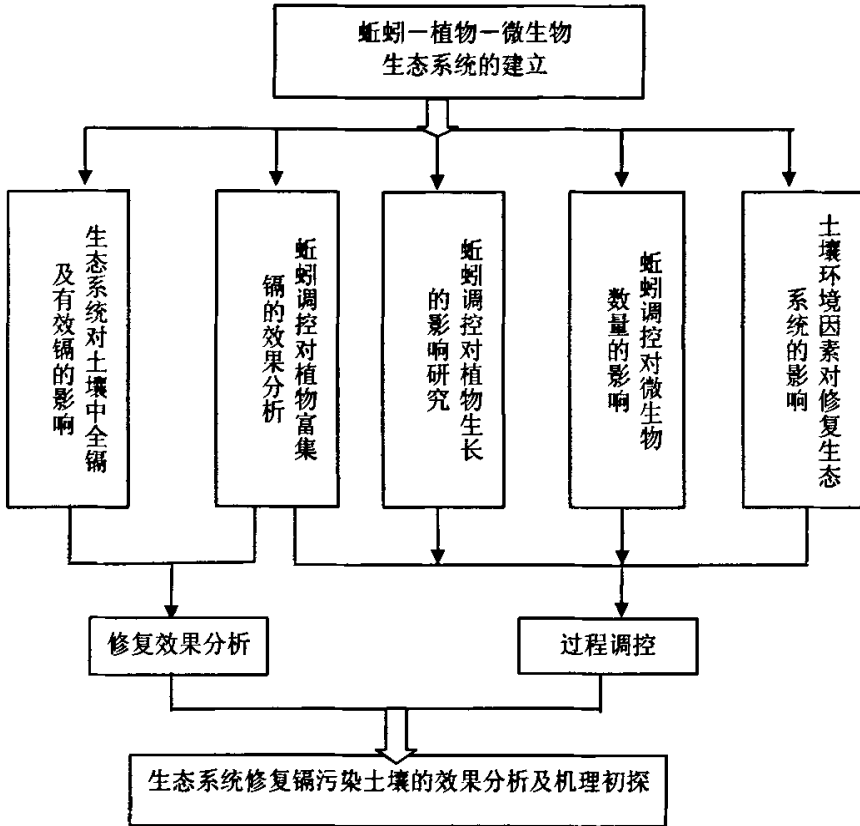
对人工建立的蚯蚓-植物-微生物生态系统修复镉污染进行初步研究不仅使土壤重金属污染的生物修复技术上上了一个新台阶, 而且可以因为蚯蚓的调控作用使多种非超积累植物能够更好的富集重金属, 促进植物修复技术的发展, 并且为以后该生态系统的人工调控及优化作基础。

1.3 研究内容与技术路线

1.3.1 研究内容

- (1) 蚯蚓调控对植物富集镉的效果以及植物生长状况的影响
- (2) 蚯蚓对微生物调控作用及对土壤中全 Cd 及有效镉的影响
- (3) 蚯蚓-植物-微生物修复生态系统的建立对土壤中全 Cd 及有效镉的影响
- (4) 土壤环境因素对蚯蚓-植物-微生物生态系统修复效果的影响

1.3.2 技术路线



第二章 蚯蚓对微生物的调控及对土壤镉的修复作用

蚯蚓作为土壤中的主要动物类群，在农业生态系统中具有重要的功能，它们吞食大量土壤、有机质和土表植物残落物，对蚯蚓食性研究表明，蚯蚓喜食处于腐烂分解状态的有机残体，由于该阶段残体上微生物较多，蚯蚓的取食可能会影响微生物的数量和活性，进而影响有机物质的分解和有效养分的释放；同时，微生物在养分转化中起着枢纽作用，微生物量既是土壤有效养分的供应源又是其储存库，明确蚯蚓对土壤微生物的影响具有重要意义。蚯蚓可以通过与微生物相互作用，调节改善土壤微生物区系组成，从而改变土壤生态系统的功能。本实验研究发现添加蚯蚓的处理明显增加了土壤中细菌、真菌和放线菌的数量，由本实验结果可知，蚯蚓提高了微生物的呼吸强度，已有研究表明，蚯蚓能促进土壤呼吸，呼吸活性的提高与蚯蚓消化道内和蚯蚓粪中较高浓度的水溶性碳水化合物有关。

蚯蚓用于重金属污染的治理，国内外已有研究。戈峰等（2001）报道了蚯蚓在江西德兴铜矿废弃地生态恢复中的作用，结果表明蚯蚓不能在纯尾矿砂中生存，但可以在加入一定量复垦土的尾矿砂中生存。蚯蚓在该环境中长期生存的同时会产生生理上的适应性，在污染区的生存能力也相应提高（Langdon, 1999）。伊文英等研究了重金属污染地蚯蚓种群的生态分布和蚯蚓对不同金属元素的富集能力，发现蚯蚓种群的分布随着土壤受污染程度的增加明显减少，而且耐污染能力强的优势种则表现出更高的优势度。Spurgeon和Hopkin（1996）报道了金属污染对蚯蚓种群的影响，发现蚯蚓的分布密度与土壤中的金属浓度呈现负相关。在所研究的四种金属(Cd、Cu、Pb和Zn)中，只有Zn是蚯蚓分布的限制因子，不同蚯蚓在矿区周围的分布只与它们对Zn的敏感度有关，与土壤中的有机养料无关，因此，蚯蚓还可以作为土壤受污染程度的生物监测指标。不同种蚯蚓的食性也不同，因而在重金属元素的吸收上也具有选择性（Morgan, 1999），故而针对不同的重金属污染地区,应选用相应种类的蚯蚓来进行生态治理。

本文在不添加外源微生物的条件下，研究蚯蚓对土壤本身存在的微生物的影响作用，为蚯蚓通过改善微生物的作用而能够更好的修复重金属污染土壤提供理论依据，同时比较分析了两种不同种类的蚯蚓处理对土壤镉污染修复的效果。

2.1 材料与方法

2.1.1 试验材料

供试土壤：取自北京西南郊衙门口污灌土，其理化性质见表 2-1。

表2-1.供试土壤基本理化性状

Table2-1.The physical and chemical properties of soils for pot test

项目	pH	有机质 (g/kg)	有机碳 (g/kg)	全氮 (g/kg)	速效磷 (g/kg)	CEC (cmol/kg)	全镉 (mg/kg)	有效镉 (mg/kg)
测定值	6.76	24.76	14.37	1.46	0.41	12.60	3.45	0.22

供试蚯蚓：赤子爱胜蚓，取自蚯蚓养殖场；杜拉蚓，采自山东某菜园地。

2.1.2 试验设计

设置对照, 添加赤子爱胜蚓, 添加杜拉蚓三个处理, 每个处理三个重复, 分别在试验的第 0、7、15、30 和 45 天破坏性取土样, 然后测定微生物; 在处理的第 15、30 和 45 天破坏性取蚯蚓样测定其体内富集的镉含量。

2.1.3 试验方法

土壤全镉: 采用 HCl-HNO₃-HF-HClO₄ 消煮, 原子吸收分光光度法测定 (GB/T17471-1997): 准确称取 0.1~0.3g (精确至 0.0002g) 试样于 50ml 聚四氟乙烯坩埚中, 用水湿润后加 5ml 优级纯盐酸, 于通风橱内的电热板上低温加热, 使样品初步分解, 当蒸发至约 2~3ml 时, 取下稍冷, 然后加入 5ml 优级纯硝酸, 4ml 氢氟酸, 2ml 高氯酸, 加盖后于电热板上中温加热一个小时左右, 然后开盖, 继续加热除硅, 为了达到良好的飞硅效果, 应经常摇动坩埚。当加热至冒浓厚高氯酸白烟时, 加盖, 使黑色有机碳化物充分分解。待坩埚上的黑色有机物消失后, 开盖驱赶白烟并蒸至内容物呈粘稠状。视消解情况, 可再加入 2ml 硝酸, 2ml 氢氟酸, 1ml 高氯酸, 重复上述消解过程。当白烟再次基本冒尽且内容物呈粘稠状时, 取下冷却, 用水冲洗坩埚盖和内壁, 并加入 1ml 硝酸溶液 (1+5) 温热溶解残渣。然后将溶液转移至 25ml 容量瓶中, 加入 3ml 磷酸氢二铵溶液 (重量分数为 5%) 冷却后定容摇匀备测。

土壤有效镉的测定: 称取 10g 风干过 20 目尼龙筛的土样放入 150ml 的硬质玻璃三角瓶中, 加入 50.00mlmol/LNH₄Ac(用 HAc 调成 pH=5.0), 用水平振荡器振荡浸提 1.5h, 振荡器频率为每分钟振荡 180 次, 振荡时的温度保持在 25℃, 振荡后过滤, 浸提液用原子吸收分光光度法测定 Cd 的含量, 并转化成以烘干土计的含量。

微生物测定: 分别在处理过程中的第7、15、30、45天取土, 在4℃冰箱内保存鲜样, 测定细菌、真菌、放线菌的活菌数量。土壤微生物培养利用稀释平板计数, 培养基为选择性分离培养基, 细菌选择性培养基为牛肉膏蛋白胨培养基; 真菌选择性培养基为马丁一孟加拉红培养基; 放线菌选择性培养基为改良高氏一号培养基。培养基配方分别为:

细菌, 牛肉膏蛋白胨琼脂平板表面涂布法:

牛肉膏	5.0g	蛋白胨	10.0g
NaCl	5.0g	H ₂ O	1000ml
琼脂	15~20g		
pH 调节到 7.4~7.6			

真菌, 马丁氏(Martin) 培养基平板表面涂布法:

K ₂ HPO ₄	1.0g	葡萄糖	10.0g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5g	琼脂	18.0g
蛋白胨	5.0g	蒸馏水	1000ml
自然 pH 值			

临时时每 100ml 培养基中加 1%链霉素溶液 0.3ml。

放线菌, 改良高氏一号合成培养基平板表面涂布法:

淀粉	20.0g	KNO ₃	1.0g
KH ₂ PO ₄	0.5g	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5g

FeSO₄·7H₂O 0.01g 琼脂 15~20g
 H₂O 1000ml
 pH 调节到 7.4~7.6

临用时在已融化的培养液中加入重铬酸钾溶液，以抑制细菌和霉菌的生长。每 300ml 培养基加 3%重铬酸钾溶液 1ml (100ppm)。以上各培养基配好后于 121℃ 条件下高压湿热灭菌 30min。

微生物呼吸强度测定：称取 30g 新鲜土壤均匀铺在瓶底，同时做空白，瓶内置一小烧杯，杯内放 0.1mol/lNaOH20ml，加 0.1mol/lBaCl₂ 5ml 沉淀吸收的 CO₂，然后盖上瓶盖 25℃ 下放置 24 小时，然后取出烧杯，加 3~4 滴酚酞指示剂，用 0.05mol/lHCl 滴定，空白滴定耗 HCl 体积 V₀，土壤耗 HCl 体积 V，呼吸强度计算公式 = (V₀-V) × 2.2 × 100/M (mgCO₂ · g⁻¹ · 24h⁻¹)

2.1.4 数据分析

采用 Excel, Spass12.0 分析软件。

2.2 结果与分析

2.2.1 蚯蚓对微生物的影响

两种蚯蚓赤子爱胜蚓和杜拉蚓均能增加土壤中细菌、真菌和放线菌的数量，而且两种蚯蚓处理的细菌、真菌和放线菌数量在 0~30 天内均随着时间增加而逐渐升高，30 天时微生物值最高，然后到 45 天时又有所下降。由图可知，在 30 天时，赤子爱胜蚓处理中的细菌值为 15.75 × 10⁶cfu/g 土，真菌为 3.64 × 10⁴cfu/g 土，放线菌为 4.09 × 10⁶cfu/g 土；杜拉蚓处理的细菌、真菌和放线菌数量分别为 17.68 × 10⁶cfu/g 土、4.83 × 10⁴cfu/g 土和 4.21 × 10⁶cfu/g 土。

在蚯蚓处理的各个时间，细菌、真菌和放线菌的数量均是杜拉蚓高于赤子爱胜蚓的处理。30~45 天内，杜拉蚓和爱胜蚓处理的土壤细菌、真菌和放线菌数量均有下降，细菌和真菌下降幅度不大，而赤子爱胜蚓处理的放线菌数量下降趋势较大，但在处理的第 45 天杜拉蚓和爱胜蚓处理的土壤细菌、真菌和放线菌数量均高于对照。

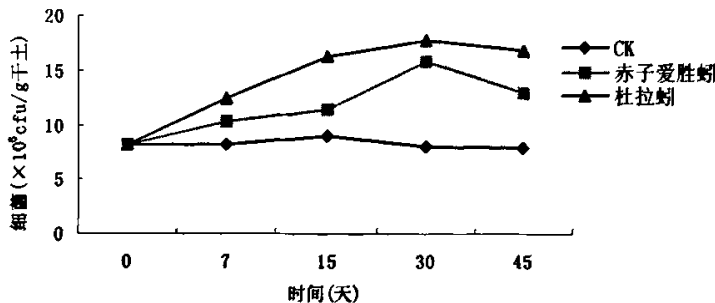


图 2-2 a 细菌数量

Fig.2-2 a The amount of bacterial

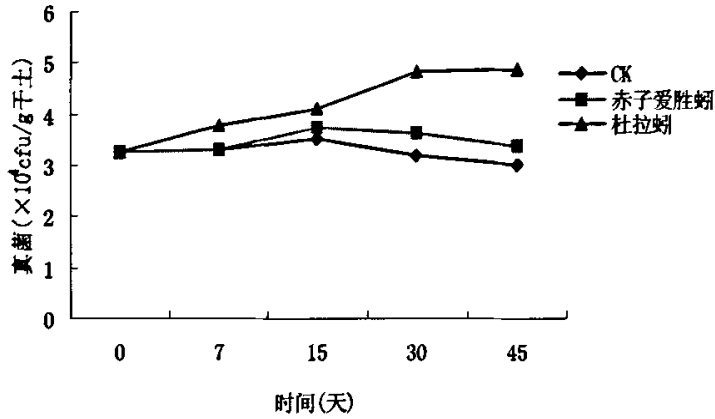


图 2-2 b 真菌数量

Fig.2-2 b The amount of fungi

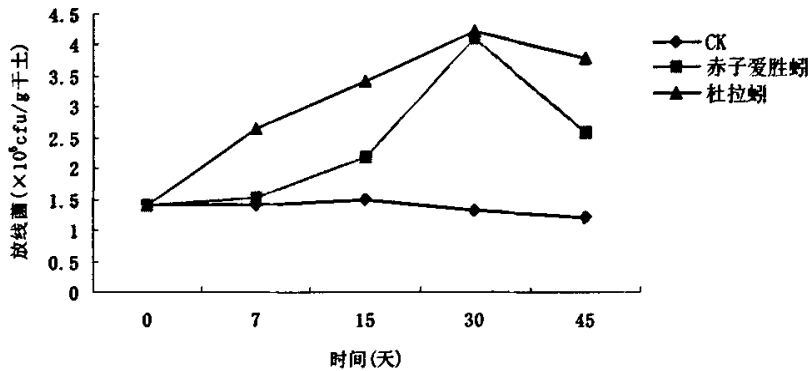


图 2-2 c 放线菌数量

Fig.2-2 c The amount of actinomycete

2.2.2 蚯蚓对微生物呼吸的影响

由图可以看出，杜拉蚓和赤子爱胜蚓均能提高土壤呼吸强度，而且随着时间的增加两种蚯蚓处理的土壤呼吸强度均逐渐增强，杜拉蚓处理的第 15、30 和 45 天时，土壤呼吸强度分别提高到 $58.57 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ 、 $68.12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ 和 $76.56 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ ；赤子爱胜蚓处理对土壤呼吸强度的提高幅度较杜拉蚓大，在第 15、30 和 45 天时分别提高到 $64.47 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ 、 $76.68 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ 和 $81.15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ 。

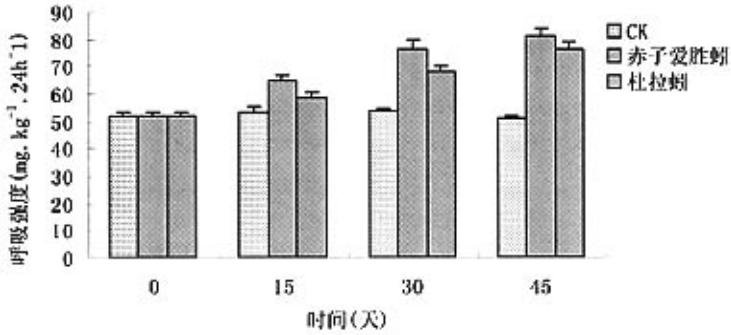


图 2-3 土壤呼吸(mg · kg⁻¹ · 24h⁻¹)

Fig.2-3 Soil breath(mg · kg⁻¹ · 24h⁻¹)

2.2.3 蚯蚓体内镉含量的测定

由图可知，杜拉蚓和赤子爱胜蚓对重金属镉均有一定的吸附作用，随着时间的增加，蚯蚓体内的镉含量逐渐增加，对镉表现出一定富集作用。杜拉蚓在土壤中培养 45 天后体内富集镉含量达到 13.72mg/kg，赤子爱胜蚓达到 18.64mg/kg，赤子爱胜蚓体内镉的富集量较杜拉蚓体内富集的镉含量高。

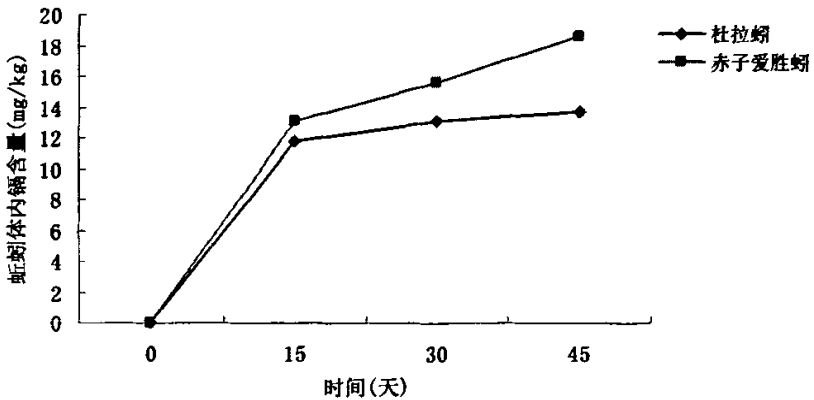


图 2-4 蚯蚓体内的镉含量 (mg/kg)

Fig.2-4The Cd concentrations in earthworms (mg/kg)

2.2.4 蚯蚓对土壤全镉的影响

由图可知，杜拉蚓和赤子爱胜蚓均能够降低土壤中镉的含量，但这两种蚯蚓培养过程中土壤中镉的减少量相差不大，在培养的第 45 天，土壤中镉的减少量赤子爱胜蚓处理较杜拉蚓处理稍大，第 45 天时，杜拉蚓处理的土壤中全镉含量有初始的 3.452mg/kg 减少到 3.328mg/kg，而赤子

爱胜蚓处理减少到 3.319mg/kg。

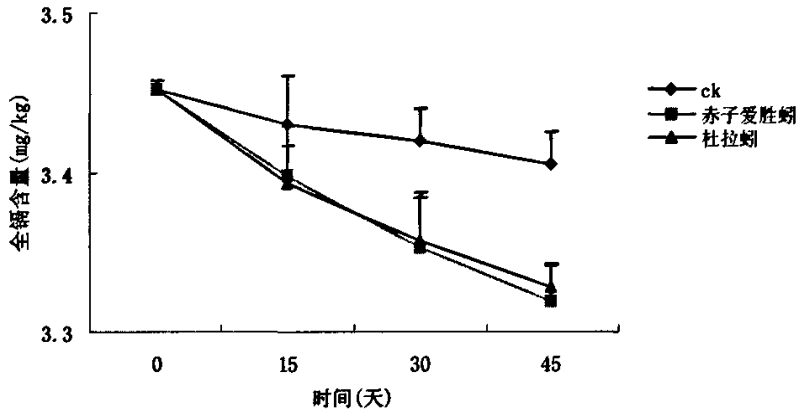


图 2-5 蚯蚓对土壤全镉的影响 (mg/kg)

Fig.2-5 Effect of earthworm on total Cd in soil (mg/kg)

2.2.5 蚯蚓对土壤有效镉的影响

杜拉蚓和赤子爱胜蚓均能提高土壤中 $\text{NH}_4\text{Ac-Cd}$ 的含量，两种蚯蚓处理对土壤有效镉含量的提高幅度相差不大。两种蚯蚓在培养的第 15、30 和 45 天土壤中 $\text{NH}_4\text{Ac-Cd}$ 的含量均高于对照。

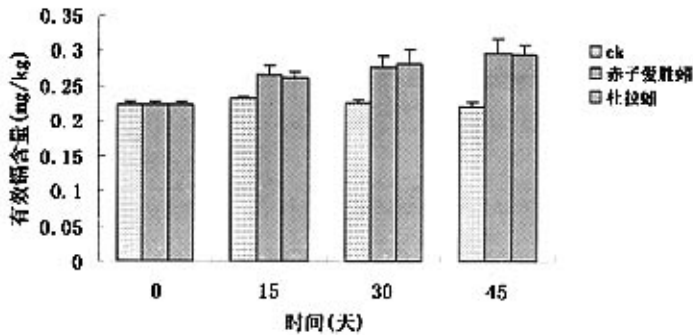


图 2-6 蚯蚓对土壤有效镉的影响 (mg/kg)

Fig.2-6 Effect of earthworm on bioavailability of Cd in soil (mg/kg)

2.3 讨论与小结

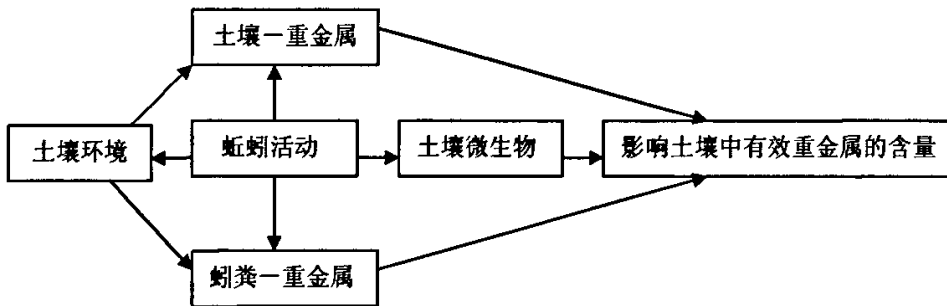
2.3.1 讨论

杜拉蚓和赤子爱胜蚓处理均增大了土壤中细菌、真菌和放线菌的数量，在 0~30 天时呈逐渐

增大的趋势，30天达到最大，在处理的第45天稍有下降，蚯蚓对微生物的影响 Parle 早在1963年就已经报道，通过蚯蚓肠道后，细菌、放线菌的数目大幅度增加，而真菌的数目无变化，Daniel 和 Anderson (1992) 发现蚯蚓排泄物中细菌数目比原土中高，也有研究报道蚯蚓的取食作用降低了土壤微生物量 (Devliegher, 1995)，由此可推断不同蚯蚓种类及不同的外界环境条件蚯蚓对微生物的影响效果不完全相同。本试验发现杜拉蚓和赤子爱胜蚓处理均提高了土壤呼吸强度，而且均随着时间增加呼吸强度逐渐提高，赤子爱胜蚓处理较杜拉蚓处理呼吸强度提高幅度较大，但杜拉蚓处理中微生物数量高于赤子爱胜蚓的处理。

杜拉蚓和赤子爱胜蚓对重金属镉均有富集作用，随时间增加蚯蚓体内镉含量逐渐增加，赤子爱胜蚓体内富集的镉含量较杜拉蚓高。Morgan (1993) 研究已经发现蚯蚓对 Cd、Cu、Zn 等重金属有强烈的忍耐和富集作用。Dallinger (2000) 研究发现蚯蚓通过产生金属结合蛋白络合重金属元素，蚯蚓可通过食物消化以及体表吸收富集重金属 (俞协治, 2003)。

杜拉蚓和赤子爱胜蚓均能降低土壤全镉含量，并提高有效镉的含量，而且随时间增加，土壤中全镉含量呈下降趋势，有效镉含量稍有增大。蒋廷惠 (1985)，Shao xiaohou (1993) 表明DTPA提取的重金属元素主要来自交换态、碳酸盐结合态等，刘德鸿 (2005) 通过研究发现蚯蚓活动能够显著增加高沙土中交换态-Cd和碳酸盐结合态-Cd的含量。蚯蚓活动对土壤中有效态重金属的作用机理，可能如下所示 (俞协治, 2003)：



蚯蚓活动对土壤中重金属生物有效性的影响途径可能是：途径 1：通过影响土壤环境因素，进而影响土壤中重金属的生物有效性。途径 2：通过影响土壤 pH 值，进而影响蚓粪中重金属的生物有效性；至于蚯蚓能否通过食物消化以及体表吸收富集重金属，并通过排泄系统又将部分重金属排出体外，进而增加重金属的生物有效性，有待于通过研究蚓粪中重金属的存在形态进一步证明 (俞协治, 2003)。途径 3：蚯蚓可能通过改变微生物的数量及活性进而影响了重金属生物有效性,关于微生物数量大小及其活性强弱与提高重金属生物有效性是否有直接或间接的关系,还有待于进一步研究证明。

2.3.2 小结

1) 杜拉蚓和赤子爱胜蚓处理均增大了土壤中细菌、真菌和放线菌的数量并提高了土壤呼吸强度,但赤子爱胜蚓处理较杜拉蚓处理呼吸强度提高幅度较大,杜拉蚓处理中微生物数量高于赤子爱胜蚓的处理。

2) 随时间增加杜拉蚓和赤子爱胜蚓体内富集镉含量均逐渐增加,赤子爱胜蚓体内富集的镉含量较杜拉蚓高。

3) 土壤全镉含量随着杜拉蚓和赤子爱胜蚓处理时间的增加呈降低趋势,而且蚯蚓活动提高了土壤有效镉含量。

第三章 生态系统的建立对土壤中镉的修复作用及机理

镉是一种有毒有害重金属,易在食物链中积累后进入人体,严重危害人类健康。20世纪初因食用镉污染大米,日本大面积爆发“痛痛病”,有关镉污染及防治研究引起全世界关注(吴双桃,2005)。有害重金属在土壤系统所产生的污染过程具有隐蔽性、长期性和不可逆性的特点,因此,土壤重金属污染与治理一直是国际上学术界所研究关注(冯凤玲,2006)。

美国科学家Chaney首次提出了植物修复方法的思想,其技术应用成功与否除了与植物本身积累重金属能力有关外,还与超积累植物的生长速度和生物量及土壤中重金属的生物有效性有关,所以要筛选生长快、生物量大的超积累植物品种而且努力改善土壤的水分、养分等条件以提高植物生物量,另外提高土壤中重金属的生物有效性也是关键;利用微生物修复技术修复重金属污染土壤已有很多报道,重金属污染的微生物修复包含两方面的技术即生物吸附和生物氧化还原,微生物本身及其代谢产物都能吸附和转化重金属;蚯蚓在重金属污染土壤中的改良作用,为植物修复的其一限制因素——超积累植物生物量小在一定程度上解决成为可能(成杰民,2005),蚯蚓代谢及其与微生物的相互作用,可产生植物激素类物质,从植物生理方面促进植物生长(Albuzio, 1986; Muscolo, 1993; 胡佩等, 2002);可以通过与微生物相互作用,调节改善土壤微生物区系组成,从而改变土壤生态系统的功能,蚯蚓粪中含有丰富的有机质、多种速效养分以及微生物群落,促进植物生长(Edwards, 1995; 胡锋, 1998)。

基于以上理论及研究基础,本文在盆栽条件下,选择了甜高粱、油菜和黑麦草三种植物进行试验,研究蚯蚓对植物生长状况的影响,为蚯蚓通过改善植物的生长从而提高其修复能力进一步提供依据;在不添加外源微生物的条件下,研究蚯蚓—植物对土壤本身存在的微生物的影响作用,为蚯蚓通过改善微生物的作用而能够更好的修复重金属污染土壤提供理论依据;研究蚯蚓—植物—微生物生态系统对土壤环境因素的影响以及生态系统修复土壤重金属的效果。研究结果发现蚯蚓能够促进植物生长,提高生物量;植物并投加蚯蚓的处理比单一植物处理明显增加了土壤中细菌、真菌和放线菌的数量,而且提高了微生物的呼吸强度;生态系统的建立对土壤重金属含量有较大幅度的降低作用。

3.1 材料与方法

3.1.1 供试材料

供试土壤:取自北京西南郊衙门口污灌区。

供试蚯蚓:杜拉蚓,采自山东某菜园地。

供试植物品种:甜高粱品种为哈格尼林,油菜为京油一号,黑麦草为意大利黑麦草,分别购自中国农业科学院北京鑫农丰农业技术研究所。

供试仪器:高压灭菌锅,聚四氟乙烯坩埚,消煮管,消煮炉,通风橱,原子吸收分光光度计。

试验地点:中国农业大学科技园网室。

3.1.2 试验设计

盆栽植物：将污染土过 10 目筛后装入塑料盆中，油菜黑麦草每盆 1kg 土，甜高粱每盆 4kg 土，试验设置对照，盆栽植物（甜高粱，油菜，黑麦草），盆栽植物并投加蚯蚓（杜拉蚓）处理，每个处理三个重复。将油菜，甜高粱和黑麦草种子播入盆中，出苗后定植，油菜每盆 6 株，黑麦草 30 株，甜高粱 5 株，网室内培养，土壤水分保持田间持水量的 60~70%。

接种蚯蚓：在盆栽植物的塑料钵中接种蚯蚓，油菜黑麦草每盆接种 6 条，甜高粱每盆 12 条，在植物生长的第 15 天、30 天、45 天分别进行破坏性取样然后测定。

3.1.3 试验方法

植物地上部和根部干重、鲜重测定：植物地上部和根洗净，吸干水分后称重即植物鲜重；凉干后装入信封中，90℃杀青 30min 后在 70℃的恒温箱中烘至恒重，称重即其干重。

微生物测定：同 2.1.3

微生物呼吸强度测定：同 2.1.3

土壤全镉：采用 HCl-HNO₃-HF-HClO₄ 消煮，原子吸收分光光度法测定（GB/T17471-1997）。

土壤有效镉的测定：称取 10g 风干过 20 目尼龙筛的土样放入 150ml 的硬质玻璃三角瓶中，加入 50.00ml/LNH₄Ac(用 HAc 调成 pH=5.0)，用水平振荡器振荡浸提 1.5h，振荡器频率为每分钟振荡 180 次，振荡时的温度保持在 25℃，振荡后过滤，浸提液用原子吸收分光光度法测定 Cd 的含量，并转化成以烘干土计的含量。

植株中 Cd 测定：灰化—消化结合法，原子吸收分光光度法测定：称取样品 1g 左右(精确到 0.0001g)于三角瓶中，放入数粒玻璃珠，加入 10ml 优级纯 HNO₃，盖上小漏斗浸泡过夜，第二天在可调式电热板(预热至 200℃)上消解。当 HNO₃ 剩下 1ml 左右时，加入 5ml 混合酸(优级纯 HNO₃：优级纯 HClO₄=4:1)继续加热直至冒白烟。消解完全的消化液应该呈无色透明或略带黄色。如变成棕黑色，表明未消解完全，稍冷后再加入混合酸 5ml，继续加热，直至消解完全。消解完全后将消化液转移到 50ml 容量瓶中，用去离子水少量多次洗涤三角瓶，洗涤液合并于容量瓶中，加入 2 滴硝酸(5:1)定容至刻度，混匀待测定，同时做试剂空白，用原子吸收分光光度计测定消化液中 Cd 的浓度。

3.1.4 数据分析

采用 Excel, Spass12.0 分析软件。

3.2 试验结果与分析

3.2.1 蚯蚓对甜高粱生物量的影响

投加蚯蚓的处理使甜高粱的地上部与地下部生物量在各个时间段均有明显增加，15、30、45 天时投加蚯蚓较未加蚯蚓处理地上部干重生物量分别增加了 21.72%、22.56% 和 16.02%；地下部干重分别增加了 38.83%、34.78% 和 31.52%，加蚯蚓处理前后甜高粱地上部与地下部干重均有极显著性差异($P < 0.01$)。投加蚯蚓较未加蚯蚓处理地上部鲜重生物量在 30 和 45 天时达极显著性差异($P < 0.01$)，而 15 天时差异是显著的($P < 0.05$)；地下部鲜重在 15、30 和 45 天时均有显著性差异($P < 0.05$)，

见表3-1。

表3-1 蚯蚓对甜高粱生物量的影响 (g/盆)
Table3-1 Effect of earthworm on sweet broomcorn yield (g/pot)

处理	鲜重		干重		
	地上部	地下部	地上部	地下部	
15	甜高粱	22.26±5.11a	11.47±3.81a	3.73±0.20A	1.06±0.15A
	甜+蚓	30.20±2.45b	17.78±2.61b	4.54 ±0.09B	1.47 ±0.20B
30	甜高粱	52.56±4.00A	28.98±2.74a	10.33 ±0.57A	3.45±0.31A
	甜+蚓	66.77±1.45B	38.23±4.03b	12.66 ±0.24B	4.65 ±0.56B
45	甜高粱	70.33±3.73A	31.03±4.09a	10.80 ±0.14A	3.68±0.01A
	甜+蚓	83.62±1.35B	46.03±7.71b	12.53 ±0.14B	4.84 ±0.03B

注：同一列不同的大写字母表示差异是极显著的 (p<0.01),小写字母表示差异是显著水平上的 (p<0.05), 字母相同表示差异不显著。

Note: Different letters in the same lines means significant difference, same letters means no difference. p<0.01 or p<0.05.

3.2.2 蚯蚓对油菜生物量的影响

投加蚯蚓的处理使油菜地上部鲜重与干重生物量在处理的第15、30和45天时均有极显著增加 (P < 0.01), 在15、30、45天时投加蚯蚓较未加蚯蚓处理油菜地上部干重生物量分别增加了40.4%, 61.9%和70.0%。投加蚯蚓的处理在15天时对油菜地下部鲜重没有显著影响, 而在30和45天时均有极显著差异(P < 0.01); 投加蚯蚓的地下部干重生物量在15天时也没有显著差异, 在30天时差异是极显著的(P < 0.01), 45天时差异显著(P < 0.05), 投加蚯蚓后油菜地下部干重生物量在15、30、45天时分别增加了23.5%, 42.1%和50.0%, 见表3-2。

表 3-2 蚯蚓对油菜生物量的影响(g/盆)
Table3-2 Effect of earthworm on cole yield (g/pot)

处理	鲜重		干重		
	地上部	地下部	地上部	地下部	
15	油菜	3.44±0.24A	1.56±0.06a	0.47±0.03A	0.17±0.04a
	油+蚯蚓	5.60±0.60B	1.74±0.14a	0.66±0.05B	0.21±0.04a
30	油菜	5.53±0.33A	1.69±0.09A	0.63±0.04A	0.19±0.01A
	油+蚯蚓	11.44±0.85B	2.16±0.16B	1.02±0.09B	0.27±0.02B
45	油菜	10.68±0.68A	2.02±0.22A	0.90±0.06A	0.24±0.02a
	油+蚯蚓	18.51±1.51B	3.16±0.16B	1.53±0.11B	0.36±0.05b

注：同一列不同的大写字母表示差异是极显著的 (p<0.01),小写字母表示差异是显著水平上的 (p<0.05), 字母相同表示差异不显著

Note: Different letters in the same lines means significant difference, same letters means no difference. p<0.01 or p<0.05.

3.2.3 蚯蚓对黑麦草生物量的影响

由表3-3可以看出, 投加蚯蚓的处理显著影响了黑麦草的地上部生物量, 地上部鲜重生物量在

处理的第15、30和45天时均有极显著增加($P < 0.01$); 地上部干重生物量显著增加($P < 0.05$), 在15、30和45天时投加蚯蚓较未加蚯蚓处理地上部干重生物量分别增加了9.3%, 21.3%和19.9%; 黑麦草地下部鲜重和干重生物量均没有显著差异。

表 3-3 蚯蚓对黑麦草生物量的影响(g/盆)

Table3-3 Effect of earthworm on ryegrass yield (g/pot)

处理	鲜重		干重		
	地上部	地下部	地上部	地下部	
15	黑麦草	1.90±0.04A	0.42±0.04a	0.43±0.02a	0.137±0.01a
	草+蚯蚓	2.47±0.07B	0.46±0.06a	0.47±0.012b	0.143±0.01a
30	黑麦草	5.16±0.16A	0.94±0.04a	1.27±0.02a	0.46±0.02a
	草+蚯蚓	6.35±0.12B	0.99±0.09a	1.54±0.02b	0.49±0.02a
45	黑麦草	6.55±0.23A	1.59±0.19a	1.81±0.02a	0.59±0.02a
	草+蚯蚓	8.93±0.13B	1.81±0.21a	2.17±0.01b	0.60±0.01a

注: 同一列不同的大写字母表示差异是极显著的 ($p < 0.01$), 小写字母表示差异是显著水平上的 ($p < 0.05$), 字母相同表示差异不显著
 Note: Different letters in the same lines means significant difference, same letters means no difference. $p < 0.01$ or $p < 0.05$.

3.2.4 蚯蚓-甜高粱系统对土壤微生物的调控作用

(1) 土壤微生物数量的变化

如图 3-4 所示, 甜高粱处理及甜高粱并投加蚯蚓的处理使土壤中的细菌、真菌和放线菌均有增加, 而甜高粱并加蚯蚓的处理中细菌、真菌、放线菌的数量均高于甜高粱处理。各处理中微生物数量都是在 0~30 天内一直呈增加趋势, 30 天时达到最大, 甜高粱的处理中细菌、真菌、放线菌的数量在 30 天时分别由初始 $8.06 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 土, $3.25 \times 10^4 \text{cfu/g}$ 土和 $1.40 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 土增加到 $11.91 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 土, $15.25 \times 10^4 \text{cfu/g}$ 土和 $3.05 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 土; 而甜高粱并加蚯蚓的处理中细菌、真菌、放线菌的数量在 30 天时则分别增加到 $17.61 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 土, $21.00 \times 10^4 \text{cfu/g}$ 土和 $3.81 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 土, 分别为甜高粱处理的 1.48、1.38、1.25 倍。

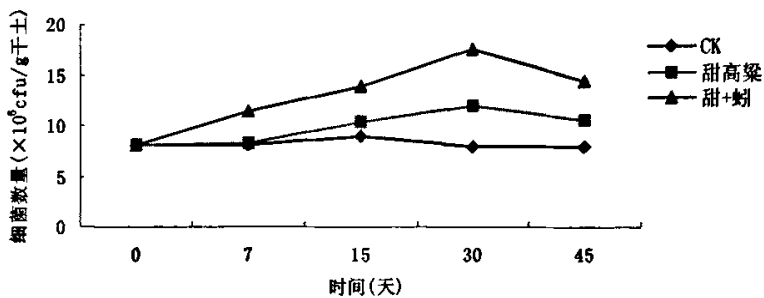


图 3-4 a 细菌数量

Fig.e3-4 a The amount of bacterial

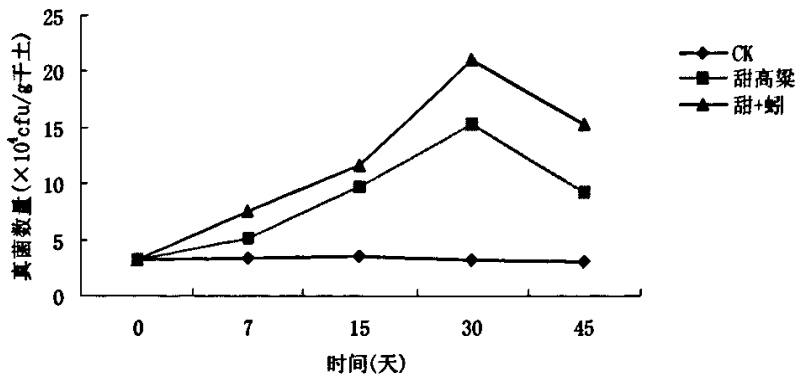


图 3-4 b 真菌数量

Fig.3-4 b The amount of fungi

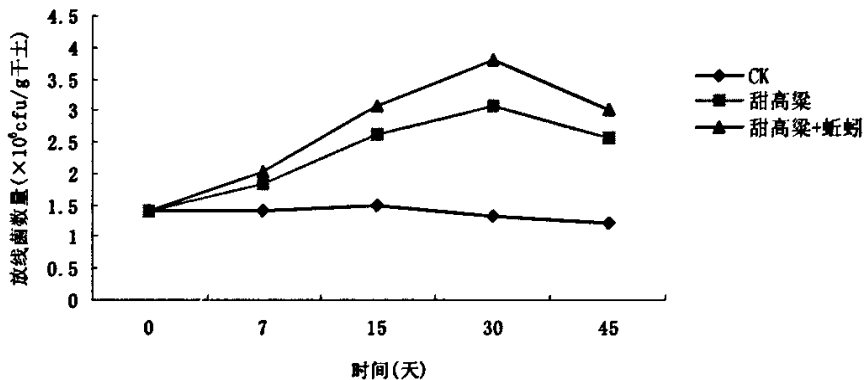


图 3-4 c 放线菌数量

Fig.3-4 c The amount of actinomycete

(2) 微生物呼吸强度变化

由图 3-5 可以看出甜高粱与甜高粱并加蚯蚓的处理在 15、30 和 45 天时均使土壤呼吸强度显著高于对照 ($p < 0.05$), 而且微生物呼吸强度均随着时间增加而逐渐提高, 甜高粱加蚯蚓的处理在各个时期的土壤呼吸强度均显著高于甜高粱处理 ($p < 0.05$), 45 天时甜高粱处理的微生物呼吸由 $52.11 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ 提高到 $99.74 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$, 甜高粱加蚯蚓的处理 45 天时微生物呼吸提高到 $114.41 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$, 比甜高粱处理高出 14.71%.

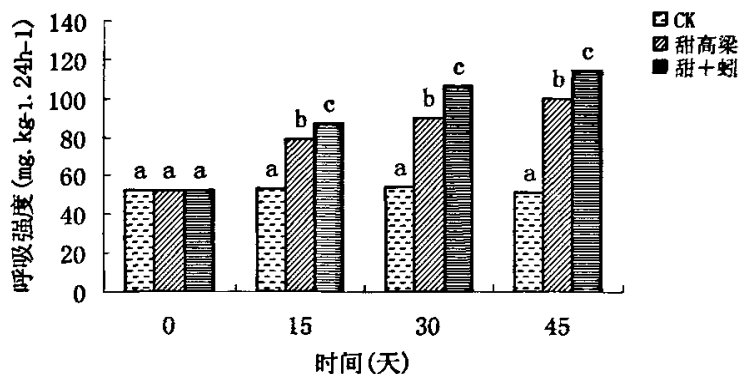


图 3-5 土壤呼吸 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$)

Fig.3-5 soil breath ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$)

3.2.5 蚯蚓-油菜系统对土壤微生物的调控作用

(1) 土壤微生物数量的变化

由图 3-6 可以看出，在蚯蚓-油菜复合系统中，添加蚯蚓与未添加蚯蚓的处理相比较，前者使土壤细菌，真菌，放线菌的数量都得到明显增多。在添加蚯蚓处理前后细菌和放线菌数量的变化较平缓，0-30 天均成增加趋势，然后有所减少，细菌在 45 天时加蚯蚓前后数量趋于相等，处理前后其值分别为 $3.28 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 土和 $3.45 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 土。而真菌在 30 天时添加蚯蚓的处理较未加蚯蚓的处理其数量大幅度增加，添加蚯蚓处理前后其值分别为 $4.96 \times 10^4 \text{cfu/g}$ 土和 $10.72 \times 10^4 \text{cfu/g}$ 土，加蚯蚓后真菌数量增加了 116.13%。

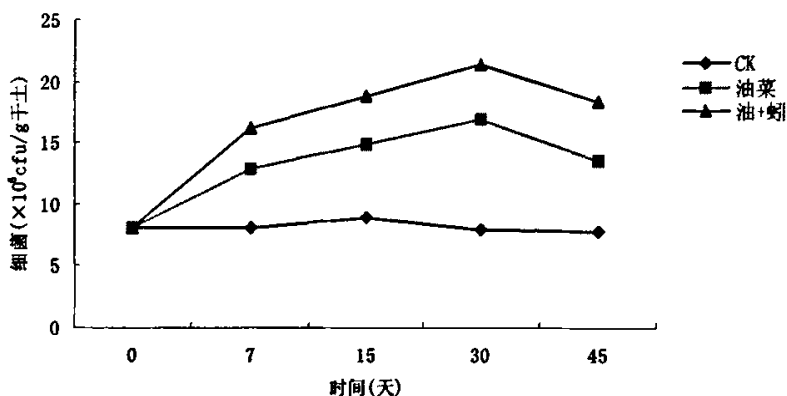


图 3-6 a 细菌数量

Fig.3-6 a The amount of bacterial

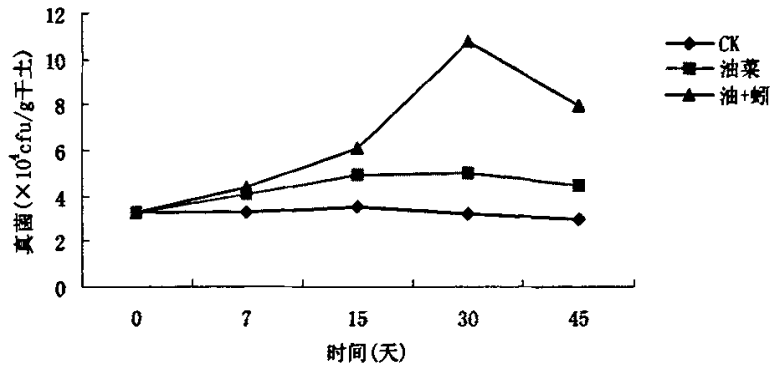


图 3-6 a 真菌数量

Fig.3-6 b The amount of fungi

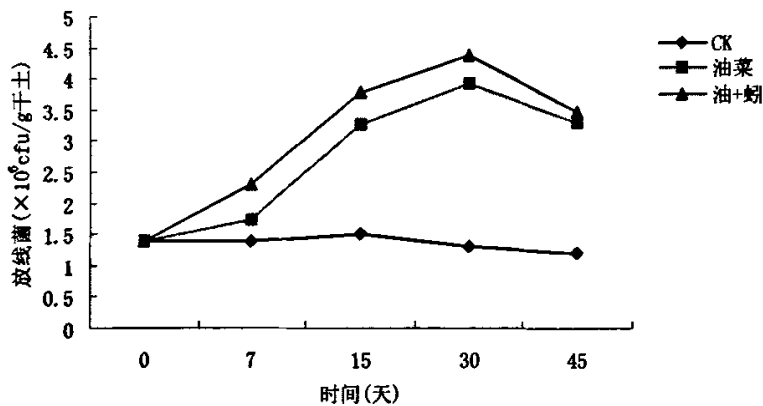


图 3-6 c 放线菌数量

Fig.3-6 c The amount of actinomycete

(2) 土壤呼吸强度的变化

由图 3-7 知，油菜处理与油菜并添加蚯蚓处理均使土壤呼吸强度随着时间增加而逐渐提高，油菜处理与油菜并添加蚯蚓处理的土壤呼吸强度均显著高于对照 ($p < 0.05$)，油菜并添加蚯蚓的处理在 30 和 45 天时土壤呼吸强度显著高于未加蚯蚓的处理 ($p < 0.05$)，添加蚯蚓处理较未加蚯蚓处理土壤呼吸强度分别提高了 10.06% 和 9.74%，但在处理的第 15 天时，添加蚯蚓处理较未加蚯蚓处理土壤呼吸强度提高了 6.04%，没有显著性差异。

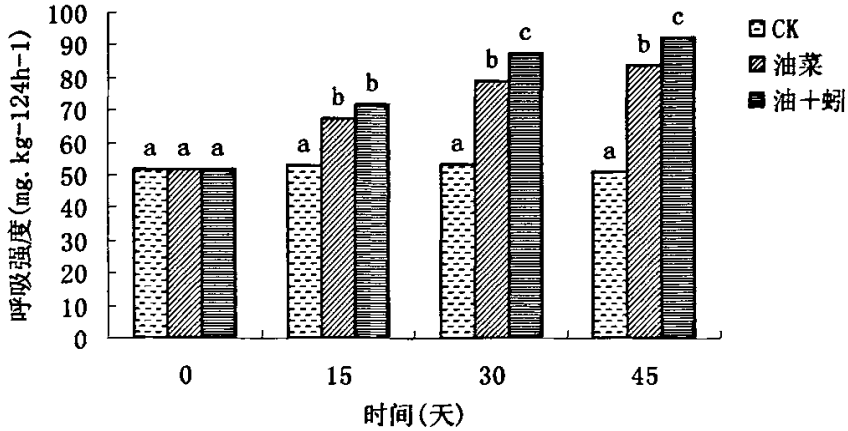


图 3-7 土壤呼吸 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$)

Fig.3-7 Soil breath ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$)

3.2.6 蚯蚓-黑麦草系统对土壤微生物的调控作用

(1) 土壤微生物数量的变化

黑麦草并添加蚯蚓的处理中细菌，真菌，放线菌的数量均高于未加蚯蚓的黑麦草处理。0~30 天均随时间增加呈逐渐增长的趋势，30 天时达最高值，未加蚯蚓处理在 30 时细菌，真菌，放线菌数量分别为 12.6×10^6 ， 5.8×10^4 和 $3.1 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 土，添加蚯蚓处理分别为 14.5×10^6 ， 8.9×10^4 和 $3.8 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 土；到 45 天时微生物数量有所下降，但大大高于初始值。

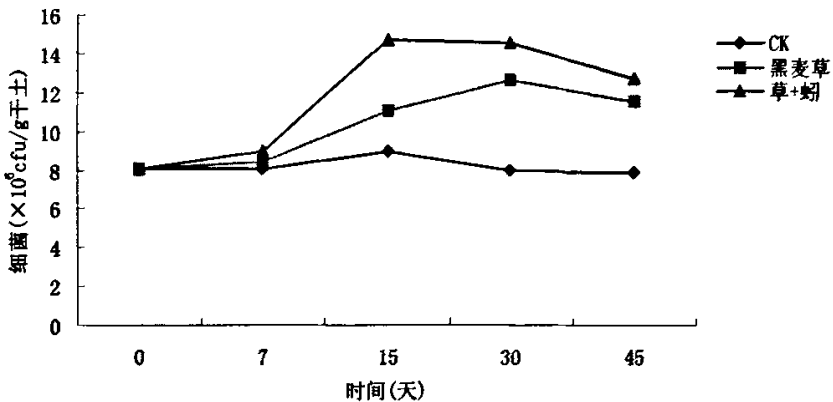


图 3-8 a 细菌数量

Fig.3-8 a The amount of bacterial

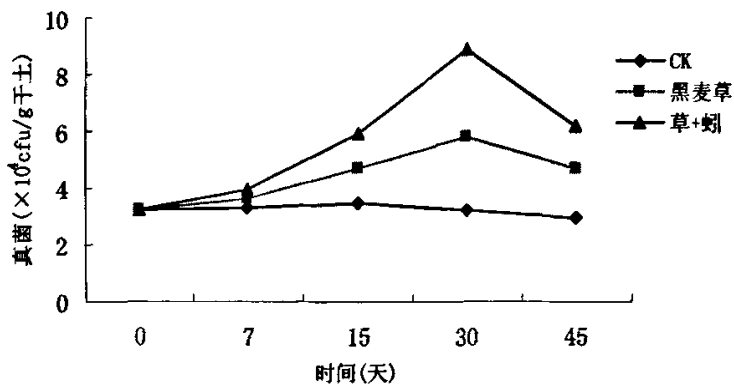


图 3-8 b 真菌数量
Fig.3-8 b The amount of fungi

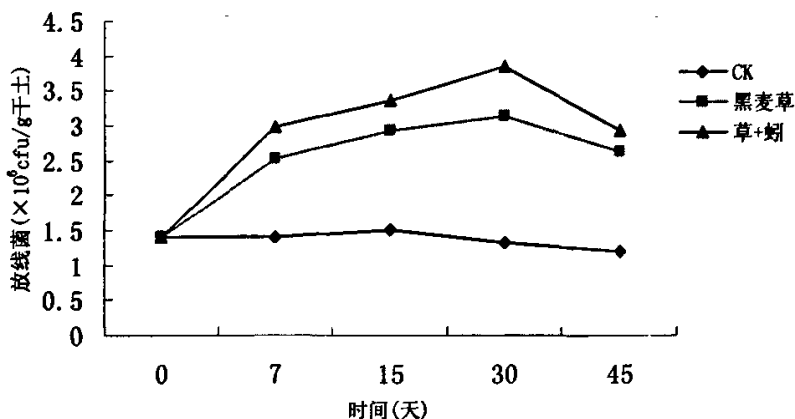


图 3-8 c 放线菌数量
Fig.3-8 c The amount of actinomycete

(2) 土壤呼吸强度的变化

黑麦草处理与黑麦草加蚯蚓的处理，土壤呼吸强度均随着时间增加而增强，而且在处理的各个时间土壤呼吸强度均显著高于对照 ($p < 0.05$)。土壤呼吸强度初始值为 $52.12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ ，在黑麦草处理的第 15、30 和 45 天呼吸分别达到 $62.63 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ 、 $74.72 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ 和 $76.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ ；黑麦草并添加蚯蚓的处理在第 15、30 和 45 天时分别达到 $67.39 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ 、 $80.56 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ 和 $89.26 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ ，黑麦草并添加蚯蚓的处理呼吸强度在 15、30 和 45 天时均显著高于未加蚯蚓处理的呼吸强度 ($p < 0.05$)，而且分别高出了 7.60

%、7.82%和 17.45%。

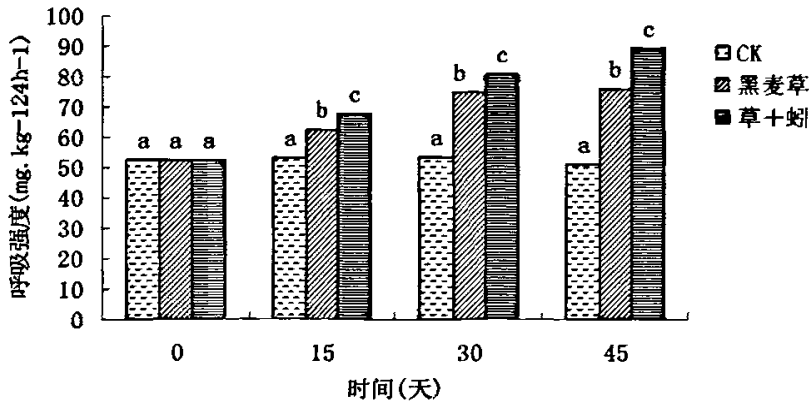


图 3-9 土壤呼吸 (mg.kg⁻¹.24h⁻¹)

Fig.3-9 Soil breath (mg.kg⁻¹.24h⁻¹)

3.2.7 蚯蚓对植物吸附镉的效果的影响

(1) 蚯蚓对甜高粱地上部和地下部镉含量的影响

甜高粱地上部和地下部镉含量均随着时间的增加而增加，且地下部镉含量大大高于地上部。加蚯蚓的处理在各个时期较未加蚯蚓的处理均极显著提高了甜高粱地下部镉的含量(P < 0.01)；对地上部的镉含量在 15 天时没有显著影响，而在 30、45 天时有极显著性差异(P < 0.01)。蚯蚓活动促进了甜高粱对镉的吸收，吸收的镉主要积累于甜高粱根部，在甜高粱生长初期蚯蚓活动对镉由根部向地上部转移没有明显促进作用，随着时间的增加蚯蚓活动对镉由甜高粱根部向地上部转移起到显著的促进作用，见表 3-10。

表3-10 蚯蚓对甜高粱地上、地下部分Cd含量的影响(mg/kg)

Table3-10 Effect of earthworm on Cd concentrations in sweet broomcorn shoots and roots (mg/kg)

处理	15d		30d		45d	
	地上部	地下部	地上部	地下部	地上部	地下部
甜高粱	2.64±0.02a	12.71±0.08A	3.56±0.03A	19.20±0.06A	3.96±0.04A	22.81±0.04A
甜+蚓	2.67±0.02a	19.43±0.37B	3.70±0.03B	23.78±0.03B	4.12±0.03B	26.23±0.08B

注：同一列不同的大写字母表示差异是极显著的 (p<0.01),小写字母表示差异是显著水平上的 (p<0.05), 字母相同表示差异不显著

Note: Different letters in the same lines means significant difference, same letters means no difference. p<0.01 or p<0.05.

(2) 蚯蚓对油菜地上部和地下部镉含量的影响

由表 3-11 知，随着时间增加，油菜地上部和地下部镉的含量均逐渐增多，而且同样地下部的镉含量远远高于地上。加蚯蚓的处理在各个时期较未加蚯蚓的处理均极显著提高了油菜地下部镉

的含量($P < 0.01$);对地上部的镉含量在 15 天时没有显著影响,在 30 天时有显著性差异($P < 0.05$),而在 45 时有极显著性差异($P < 0.01$)。蚯蚓活动能够促进油菜对镉的吸收,吸收的镉主要积累于油菜的根部,在油菜生长初期蚯蚓活动对镉由根部向地上部转移没有明显促进作用,随着时间的增加蚯蚓活动对镉由甜高粱根部向地上部转移起到明显的促进作用。

表3-11 蚯蚓对油菜地上、地下部分Cd含量的影响(mg/kg)

Table3-11 Effect of earthworm on Cd concentrations in cole shoots and roots (mg/kg)

处理	15d		30d		45d	
	地上部	地下部	地上部	地下部	地上部	地下部
油菜	4.62±0.06a	15.26±0.07A	5.58±0.09a	20.68±0.71A	6.05±0.06A	23.28±0.11A
油+蚓	4.71±0.03a	19.34±0.11B	5.76±0.07b	26.83±0.12B	6.39±0.09B	30.83±0.02B

注:同一列不同的大写字母表示差异是极显著的($p < 0.01$),小写字母表示差异是显著水平上的($p < 0.05$),字母相同表示差异不显著
 Note: Different letters in the same lines means significant difference, same letters means no difference. $p < 0.01$ or $p < 0.05$.

(3) 蚯蚓对黑麦草地上部和地下部镉含量的影响

黑麦草地上部与地下部的镉含量均随着时间增加而增加,地下部镉含量远远大于地上部的镉含量。添加蚯蚓的处理在各个时期与未加蚯蚓的处理相比均显著提高了黑麦草地下部镉的含量($P < 0.01$);而对于黑麦草地上部的镉含量在各个时期均无显著影响。蚯蚓活动能够促进黑麦草根部对镉的吸收,但不能对镉由根部向地上部转移起到促进作用。

表3-12 蚯蚓对黑麦草地上、地下部分Cd含量的影响(mg/kg)

Table3-12 Effect of earthworm on Cd concentrations in rye grass shoots and roots (mg/kg)

处理	15d		30d		45d	
	地上部	地下部	地上部	地下部	地上部	地下部
黑麦草	3.38±0.01a	16.45±0.02A	3.95±0.01a	20.45±0.02A	4.10±0.01a	22.03±0.03A
草+蚓	3.39±0.01a	21.89±0.02B	3.96±0.01a	24.51±0.02B	4.12±0.02a	25.01±0.05B

注:同一列不同的大写字母表示差异是极显著的($p < 0.01$),小写字母表示差异是显著水平上的($p < 0.05$),字母相同表示差异不显著
 Note: Different letters in the same lines means significant difference, same letters means no difference. $p < 0.01$ or $p < 0.05$.

3.2.8 生态系统中土壤全镉的变化

(1) 蚯蚓-甜高粱系统对土壤全镉的影响

如图 3-13 所示,种植甜高粱的处理中,土壤全镉含量由最初的 3.452mg/kg 到 45 天后下降到 3.104mg/kg,降低率为 10.08%,而种植甜高粱同时加蚯蚓的处理中,土壤全镉含量由 3.452mg/kg 到 45 天后下降到 2.72mg/kg,降低率分别为 21.2%,添加蚯蚓后较未加蚯蚓的甜高粱处理 45 天时土壤中全镉的降低率提高了 11.12 个百分点;在 15, 30 天时添加蚯蚓的处理土壤中全镉量分别为 3.135mg/kg 和 2.839mg/kg,未加蚯蚓的处理分别为 3.24mg/kg 和 3.126mg/kg,加蚯蚓较未加蚯

蚓处理土壤中全镉的降低率在 15、30 天时分别提高了 3.04% 和 8.32%。

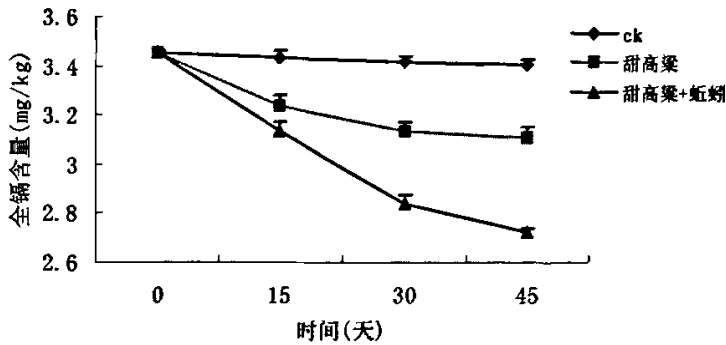


图 3-13 蚯蚓-甜高粱对土壤全镉的影响 (mg/kg)

Fig.3-13 Effect of earthworm- sweet broomcorn on total Cd in soil (mg/kg)

(2) 蚯蚓-油菜系统对土壤全镉的影响

由图 3-14 可以看出, 在 0~45 天, 随着油菜种植时间的增加, 土壤中全镉含量是逐渐减少的, 而且添加蚯蚓的油菜处理土壤中全镉含量下降幅度较大。土壤中全镉初始含量为 3.452mg/kg, 在油菜处理的第 15、30 和 45 天时分别降到 3.386mg/kg、3.274mg/kg 和 3.241mg/kg; 而油菜并添加蚯蚓的处理在 15、30 和 45 天时土壤全镉含量分别降到 3.352mg/kg、3.238mg/kg 和 3.207 mg/kg, 加蚯蚓较未加蚯蚓处理土壤中全镉的降低率分别提高了 0.985%、1.043% 和 0.99%。

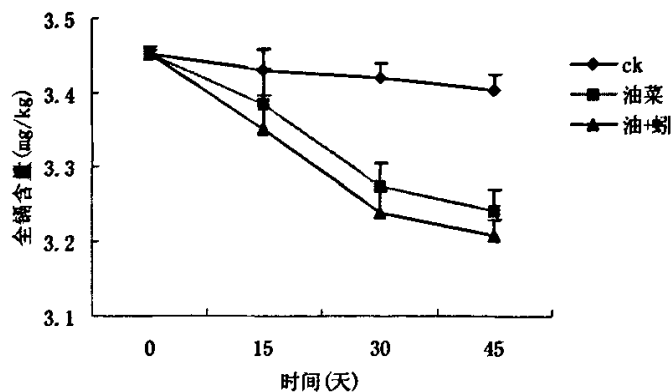


图 3-14 蚯蚓-油菜对土壤全镉的影响(mg/kg)

Fig.3-14 Effect of earthworm- cole on total Cd in soil (mg/kg)

(3) 蚯蚓-黑麦草系统对土壤全镉的影响

由图 3-15 可知，黑麦草能够降低土壤中全镉含量，而且在 0~45 天随着黑麦草种植时间的增加，土壤中全镉含量逐渐减少，添加蚯蚓较未加蚯蚓的黑麦草处理土壤中全镉含量下降幅度较大。黑麦草处理的第 15、30 和 45 天时，土壤中全镉含量由初始的 3.452mg/kg 分别减少到 3.377mg/kg、3.26mg/kg 和 3.23mg/kg；而黑麦草并添加蚯蚓的处理在 15、30 和 45 天时土壤中全镉含量分别减少到 3.314mg/kg、3.201mg/kg 和 3.168mg/kg，添加蚯蚓后土壤中全镉含量降低率在 15、30 和 45 天后分别提高了 1.83%、1.71%和 1.80%。

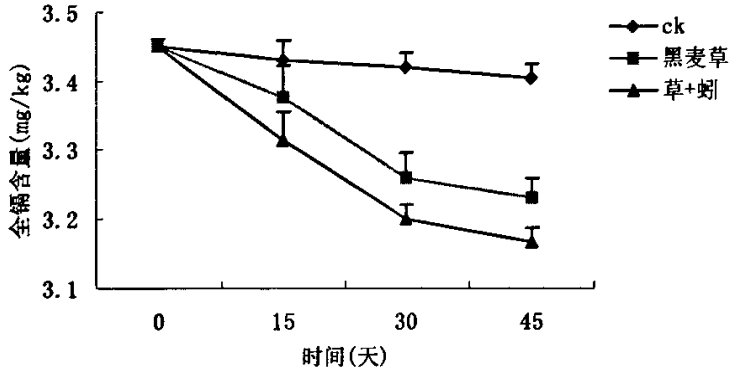


图 3-15 蚯蚓-黑麦草对土壤全镉的影响(mg/kg)

Fig.3-15 Effect of earthworm- ryegrass on total Cd in soil (mg/kg)

3.2.9 生态系统中土壤有效镉的变化

(1) 蚯蚓-甜高粱系统对土壤有效镉的影响

蚯蚓-甜高粱系统能够提高土壤NH₄Ac-Cd的含量，甜高粱处理45天后使土壤有效镉含量由 0.223mg/kg提高到0.327mg/kg，而种植甜高粱同时添加蚯蚓处理45天后使土壤有效镉提高到0.359 mg/kg，种植甜高粱并加蚯蚓较未加蚯蚓的处理45天后使土壤有效镉提高了9.8%。

各个不同处理的土壤有效镉含量均在 0~15 天增加速率最大，甜高粱处理在 15 天时增加速率为 30.94%，甜高粱加蚯蚓处理为 47.53%，随时间增加有效镉增加速率逐渐下降，见图 3-16。

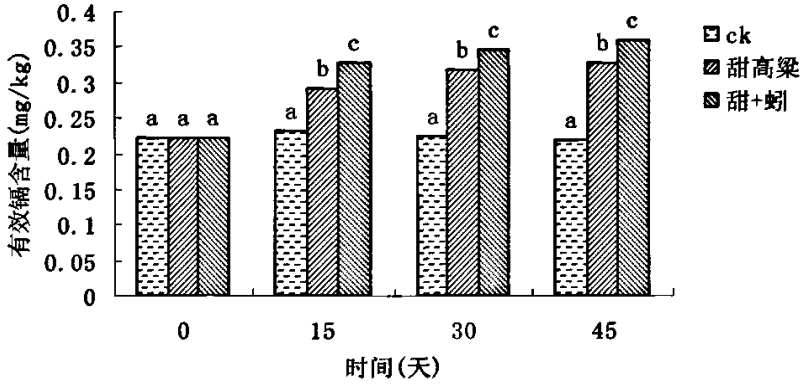


图 3-16 蚯蚓-甜高粱对土壤有效镉的影响(mg/kg)

Fig.3-16 Effect of earthworm-sweet broomcorn on bioavailability of Cd in soil (mg/kg)

(2) 蚯蚓-油菜系统对土壤有效镉的影响

由图 3-17 看出, 油菜提高了土壤中 NH₄Ac-Cd 的含量, 而油菜并添加蚯蚓的处理在各个时期都更大幅度的提高了土壤中 NH₄Ac-Cd 的含量。在油菜种植 45 天时, 与对照相比较土壤有效镉含量提高了 36.4%, 而油菜加蚯蚓处理在 45 天时有效镉含量提高了 41.36%, 油菜加蚯蚓与未加蚯蚓的处理相比, 土壤有效镉含量提高率高出了近五个百分点。

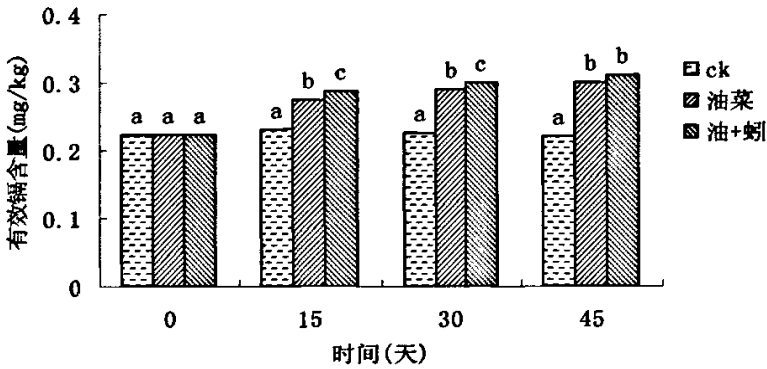


图 3-17 蚯蚓-油菜对土壤有效镉的影响(mg/kg)

Fig.3-17 Effect of earthworm-cole on bioavailability of Cd in soil (mg/kg)

(3) 蚯蚓-黑麦草系统对土壤有效镉的影响

由图 3-18 可知, 黑麦草对土壤中 NH₄Ac-Cd 的含量有一定影响, 在黑麦草处理的各个时期 NH₄Ac-Cd 的含量都有提高, 黑麦草并添加蚯蚓的处理对 NH₄Ac-Cd 的含量提高幅度较大。黑麦

草处理的第 45 天与对照比土壤有效镉含量提高了 40.45%，而黑麦草并添加蚯蚓的处理 45 天时土壤有效镉含量提高了 46.82%，较未加蚯蚓的处理提高了 6.37%。

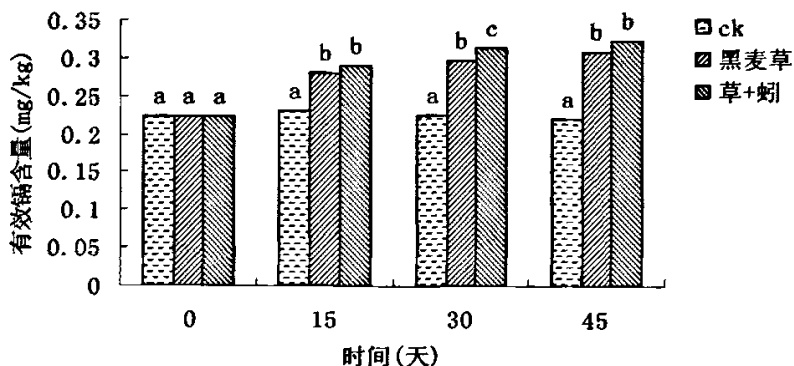


图 3-18 蚯蚓-黑麦草对土壤有效镉的影响(mg/kg)

Fig.3-18 Effect of earthworm-reygrass on bioavailability of Cd in soil (mg/kg)

3.2.10 蚯蚓—植物—微生物生态系统作用对土壤 pH 的影响

(1) 蚯蚓-甜高粱系统对土壤 pH 值的影响

由图 3-19 可以看出，蚯蚓和甜高粱处理使土壤 pH 值均有所降低，土壤 pH 最初为 6.76，甜高粱处理 45 天后下降到 6.68，平均低于对照约 0.1 个 pH 值单位；甜高粱并投加蚯蚓的处理 45 天后 pH 下降到 6.33，比单一甜高粱处理的下降幅度高出 0.35 个 pH 值单位，可以看出，投加蚯蚓后 pH 值下降幅度有了较大提高，因此得知土壤 pH 值的下降主要是蚯蚓的活动引起的。

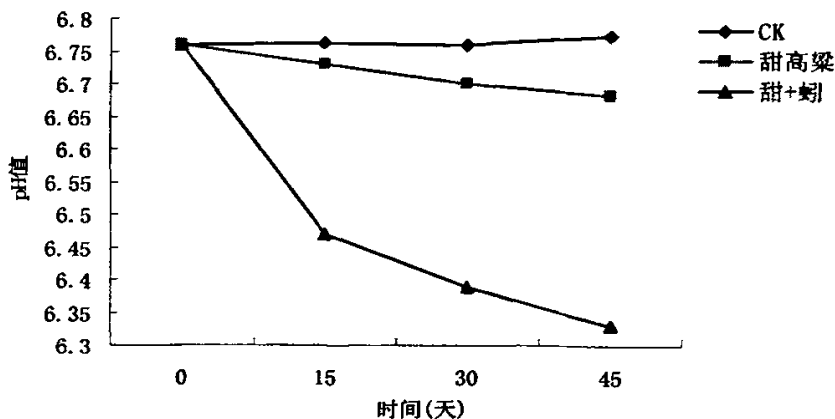


图 3-19 蚯蚓-甜高粱对土壤 pH 的影响

Fig.3-19 Effect of earthworm-sweet broomcorn on pH in soil

(2) 蚯蚓-油菜系统对土壤 pH 值的影响

蚯蚓和油菜处理对土壤 pH 值的影响与蚯蚓和甜高粱处理表现出相同的趋势，土壤 pH 值有所降低，油菜处理的第 15、30 和 45 天土壤 pH 值分别由最初的 6.76 下降到 6.7、6.68 和 6.64，分别平均低于对照约 0.06、0.08 和 0.13 个 pH 值单位；而油菜并投加蚯蚓的处理在 15、30 和 45 天后 pH 下降到 6.45、6.35 和 6.3，分别比单一油菜处理的 pH 值下降幅度提高了 0.25、0.33 和 0.34 个 pH 值单位，同样，油菜并投加蚯蚓的处理比单一油菜处理土壤 pH 值有较大幅度的下降，油菜处理的土壤 pH 值的下降主要是蚯蚓的活动引起的。

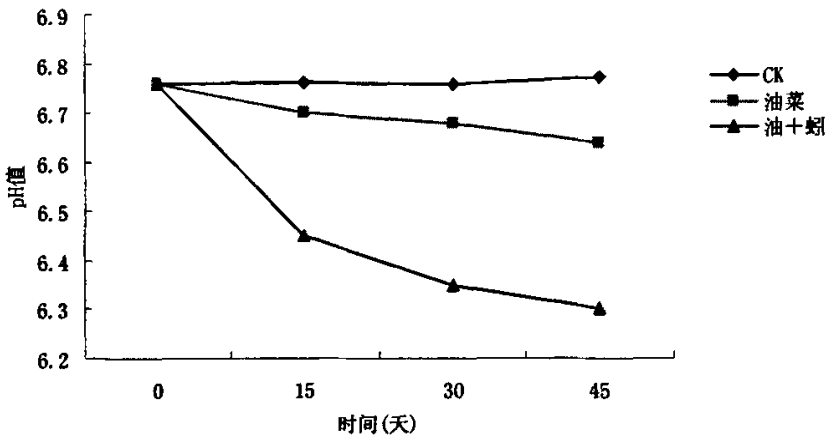


图 3-20 蚯蚓-油菜对土壤 pH 的影响
Fig.3-20 Effect of earthworm-cole on pH in soil

(3) 蚯蚓-黑麦草系统对土壤 pH 值的影响

单一的黑麦草处理和黑麦草并投加蚯蚓的处理均使土壤 pH 值有所下降，单一的黑麦草处理在第 15、30 和 45 天时使土壤 pH 值由最初的 6.76 分别下降到 6.72、6.69 和 6.65，分别平均比对照低 0.04、0.07 和 0.12 个 pH 单位；而黑麦草并投加蚯蚓的处理在 15、30 和 45 天时土壤 pH 值分别下降到 6.5、6.39 和 6.34，分别比单一黑麦草处理下降幅度增大了 0.22、0.30 和 0.31 个 pH 单位，同样黑麦草处理的土壤 pH 值的下降主要是蚯蚓的活动引起的。

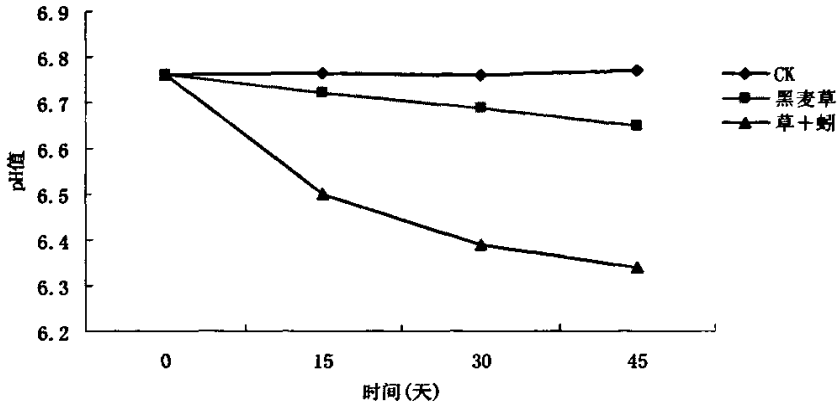


图 3-21 蚯蚓-黑麦草对土壤 pH 的影响

Fig.3-21 Effect of earthworm- ryegrass on pH in soil

3.2.11 蚯蚓—植物—微生物生态系统作用对土壤有机质的影响

(1) 蚯蚓-甜高粱系统对土壤有机质的影响

甜高粱处理和甜高粱并添加蚯蚓的处理在 15、30 和 45 天后土壤有机质含量均下降，均低于对照，而且随着时间的延长有机质含量一直在降低，甜高粱处理 45 天时有有机质含量比对照降低了 17.52%，而甜高粱并投加蚯蚓的处理 45 天时与对照相比有机质含量降低了 25.65%，投加蚯蚓比单一的甜高粱处理下降幅度提高了 8.13%。

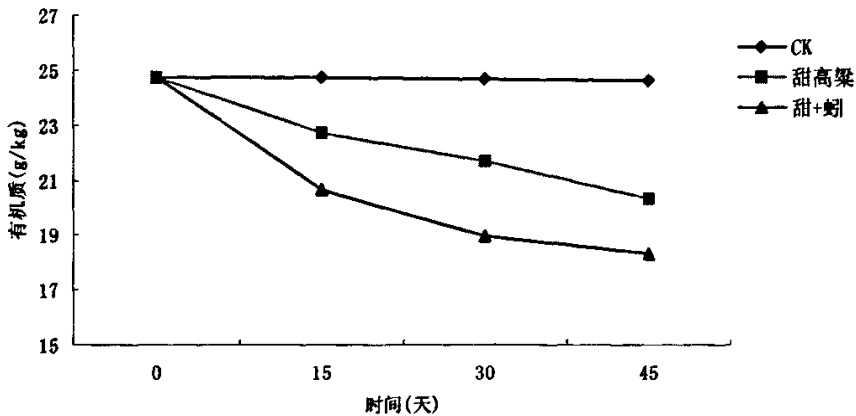


图 3-22 蚯蚓-甜高粱对土壤有机质含量的影响

Fig.3-22 Effect of earthworm-sweet broomcorn on organic matter in soil

(2) 蚯蚓-油菜系统对土壤有机质的影响

油菜处理降低了土壤中有机质含量，而且随时间增加逐渐下降，而油菜并添加蚯蚓的处理使土壤有机质含量的下降幅度增大了。油菜处理 45 天时有有机质含量降低到 19.26g/kg，比对照降低了 21.71%，而油菜并添加蚯蚓的处理 45 天时有有机质含量降低到 18.57g/kg，与对照比降低了 24.51%，添加蚯蚓比单一油菜处理土壤有机质含量的下降幅度提高了 2.8%。

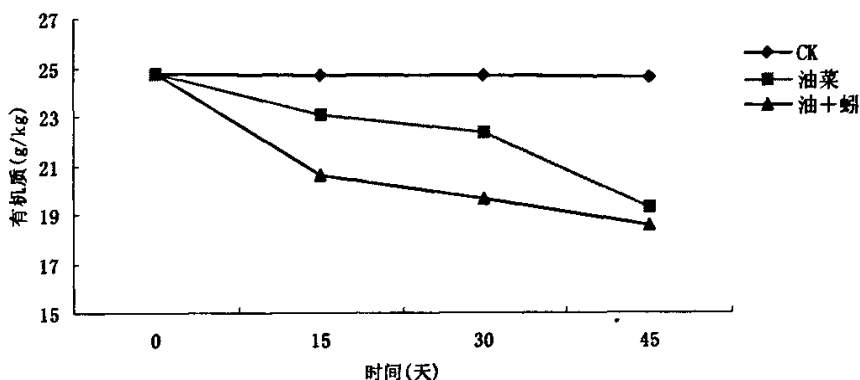


图 3-23 蚯蚓-油菜对土壤有机质含量的影响

Fig.3-23 Effect of earthworm-cole on organic matter in soil

(3) 蚯蚓-黑麦草系统对土壤有机质的影响

黑麦草处理同样能够减少土壤有机质的含量，在投加蚯蚓后土壤有机质的含量的下降幅度增大，由图可以看出投加蚯蚓较单一的黑麦草处理在 15 天时有有机质含量的下降幅度增大了 11.09%，而在 45 天时，黑麦草处理土壤有机质的含量下降到 19.94g/kg，黑麦草并投加蚯蚓的处理土壤有机质的含量下降到 18.63g/kg，分别比对照降低了 18.94%和 24.27%，投加蚯蚓较单一的黑麦草处理 45 天下降幅度提高了 5.33%。

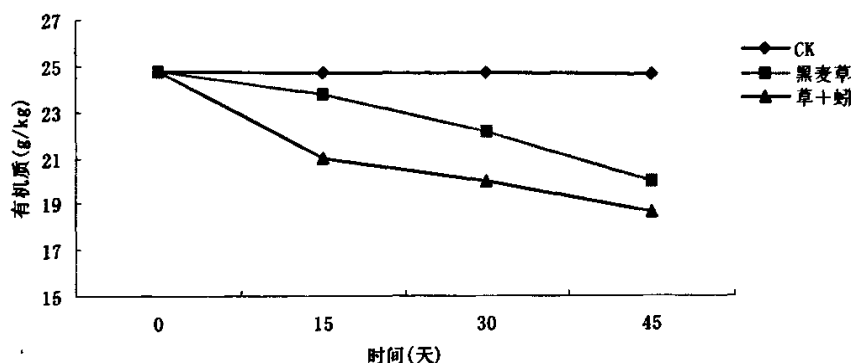


图 3-24 蚯蚓-黑麦草对土壤有机质含量的影响

Fig.3-22 Effect of earthworm-ryegrass on organic matter in soil

3.3 讨论与小结

3.3.1 讨论

蚯蚓活动使三种植物的地上部生物量均有显著的增加,其中甜高粱地上部和根部生物量均有显著提高,油菜根部生物量在不同处理时间蚯蚓的影响显著性也不同,而蚯蚓对黑麦草根部生物量的影响不显著,说明蚯蚓对不同的植物影响作用也是有差异的,这可能与蚯蚓在不同的根际环境下其活性和作用有所不同也有一定关系。刘德鸿(2005)研究发现蚯蚓活动显著增加了高沙土所有Cd处理的高丹草的生物量,而且由试验可以认为蚯蚓活动增加高丹草的生物量,是通过增加土壤中速效养分来实现的。已有很多研究(Rhee, 1976; Lee, 1985; 黄福珍, 1982)证实,蚯蚓能改良土壤、形成土壤团粒结构、提高土壤肥力、改善土壤通气透水性,从而促进植物增产。

蚯蚓活动对油菜、甜高粱和黑麦草的根部吸收镉均有极显著的影响,而对地上部的镉含量影响不一,在甜高粱和油菜的处理的15天时,蚯蚓对镉由根部向地上部转移没有明显的促进作用,而在植物生长的第30和45天时,投加蚯蚓的处理比单一植物处理地上部镉含量有了显著增加,说明在处理的30和45天时蚯蚓活动对镉由根部向地上部转移起到了显著作用;而蚯蚓对黑麦草的地上部镉含量没有显著影响,即对镉由黑麦草根部向地上部转移没有促进作用。

单一植物处理和植物并投加蚯蚓的处理土壤中细菌、真菌和放线菌数量在0~30天均呈逐渐增加的趋势,30天时达最大值,而到45天稍有下降,植物并投加蚯蚓的处理较单一植物处理提高了细菌、真菌和放线菌数量。在重金属污染土壤上,往往富集多种耐重金属的真菌和细菌,微生物可通过多种作用方式影响土壤重金属的毒性及重金属的迁移与释放。蚯蚓体内广泛分布着微生物,已有研究从蚯蚓消化道、肾管中分离出微生物,而蚯蚓肠道内容物的pH近中性,水分和水溶性糖的含量均高于原土壤,为微生物的繁殖提供了条件。Parle早在1963年报道,通过蚯蚓肠道后,细菌、放线菌的数目大幅度增加,而真菌的数目无变化;Daniel和Anderson(1992)发现蚯蚓排泄物中细菌数目比原土中高,而土壤微生物量则两者无差别;也有研究报道蚯蚓的取食作用降低了土壤微生物量(Devliegher, 1995),由此可以知道,不同土壤环境条件土壤对微生物的影响效果也是有差异的。单一植物处理和植物并投加蚯蚓的处理与对照相比土壤呼吸强度均有显著的提高,随着时间增加呈递增的趋势,投加蚯蚓后比单一的植物处理土壤呼吸强度增大,虽然通过蚯蚓消化道后土壤微生物量变化不大,但几乎所有的研究表明,蚯蚓能促进土壤呼吸,呼吸活性的提高与蚯蚓消化道内和蚯蚓粪中较高浓度的水溶性碳水化合物有关,目前尚不清楚这些碳水化合物的来源(张宝贵, 1997)。

蚯蚓-植物-微生物生态系统对土壤环境因素产生影响,植物处理和植物加蚯蚓处理均降低了土壤pH值,随着时间增加呈逐渐下降的趋势。Edwards(1998), Lee(1985)指出,蚯蚓消化道可分泌相当数量的氨,蚯蚓的钙腺可产生CaCO₃,从而使蚓粪的pH升高,但这些研究对象多为无污染土壤。本试验研究结果是在重金属镉污染的土壤上得出的,也可能与土壤性质的不同有关,蚯蚓影响土壤pH的机理有待进一步研究;本试验研究结果还发现植物处理和植物并投加蚯蚓的处理均降低了土壤有机质含量,刘德鸿(2005)指出蚯蚓和微生物联合作用加快了有机质的分解,刘小丽(2003)研究发现随着污泥放置时间的延长,污泥中有机质的含量下降,这是由于污泥中大量微生物和处理中蚯蚓的存在对污泥中的有机质造成的分解作用,并且加入蚯蚓处理后,污泥

中有机质含量低于没有加入蚯蚓处理的污泥中有机质的含量,且部分差异显著,即蚯蚓处理加速了污泥中有机质的分解。这主要是由于蚯蚓在污泥中的活动加速了污泥中有机质的分解,另外还有蚯蚓改善污泥的理化性状,从而使污泥中有机质的分解速度加快。

蚯蚓-植物-微生物生态系统处理后土壤全镉含量有大幅度降低,且随着时间增加一直逐渐下降;土壤中有效镉含量有所提高,随时间增加呈逐渐增加趋势,植物加蚯蚓处理比单一植物处理有效镉含量提高幅度大,而且土壤全镉含量下降幅度也较大。刘德鸿(2005)研究发现蚯蚓活动显著增加了高沙土中交换态和碳酸盐结合态Cd的含量,而高丹草可能通过根际的活化增加了对Cd的吸收量,并得出结论蚯蚓活动和植物根系的协同作用促进了重金属形态由紧密结合态向松结合态转化,从而提高了重金属的有效性。重金属的生物有效性受到土壤性质,如pH、有机质等因子所制约(余贵芬等,2002),而蚯蚓活动能直接或间接的影响上述土壤条件,从而影响金属有效性。蚯蚓本身在取食、消化和分解过程中,一方面把土壤和大量分解的有机物质充分混合,使土壤中重金属与有机质、腐殖质和微生物等充分反应,生成重金属活性物质,富集在团聚体中;另一方面在蚯蚓活动和新陈代谢过程中,分泌大量粘液蛋白,可以络合土壤中重金属,有利于活化重金属(黄福珍,1982)。俞协治(2003)研究结果表明,蚯蚓活动活化了红壤中重金属Cu、Cd,增加了Cu、Cd的生物有效性,与Cheng和Wong(2002)等发现的蚯蚓通过与土壤微生物的相互作用能增加红壤中DTPA-Zn而提高红壤Zn的有效性的结果相吻合。

3.3.2 小结

(1) 蚯蚓能够促进植物的生长,本实验三种植物油菜、黑麦草和甜高粱,在添加杜拉蚓后地上部和根部生物量均有不同程度的增加。其中甜高粱地上部和根部生物量均有显著提高,油菜根部生物量在不同处理时间蚯蚓的影响显著性不同,而蚯蚓对黑麦草根生物量的影响不显著。

(2) 蚯蚓活动对油菜、甜高粱和黑麦草的根部吸收镉均有极显著的影响,而对地上部的镉含量不同植物及不同时间影响不一。

(3) 植物并投加蚯蚓的处理较单一植物处理提高了细菌、真菌和放线菌数量;单一植物处理和植物并投加蚯蚓的处理与对照相比土壤呼吸强度均有显著的提高,随着时间增加呈递增的趋势,投加蚯蚓后比单一的植物处理土壤呼吸强度增大。

(4) 蚯蚓-植物-微生物生态系统对土壤环境因素产生影响,植物处理和植物加蚯蚓处理均降低了土壤pH值,随着时间增加呈逐渐下降的趋势。

(5) 蚯蚓-植物-微生物生态系统处理后土壤全镉含量有大幅度降低,且随着时间增加一直逐渐下降;土壤中有效镉含量有所提高,随时间增加呈逐渐增加趋势,植物加蚯蚓处理比单一植物处理有效镉含量提高幅度大,而且土壤全镉含量下降幅度也较大。

第四章 结论与展望

4.1 结论

(1) 蚯蚓促进植物生长，提高植物生物量

试验结果表明，蚯蚓能够提高油菜、黑麦草和甜高粱地上部和根部生物量，对三种植物的地上部生物量均有显著提高，而对地下部各植物各生长时间影响不同。

(2) 蚯蚓—植物复合系统对土壤微生物的影响

蚯蚓—油菜、蚯蚓—甜高粱和蚯蚓—黑麦草系统均能提高土壤中细菌、真菌和放线菌的数量，而且增大土壤呼吸强度，在处理的第 0—30 天微生物数量逐渐增大，30 天时达到最大，而在 45 天时微生物数量有所下降，土壤呼吸强度随时间增加呈增大趋势。

(3) 蚯蚓—植物—微生物生态系统对土壤环境因素的影响

生态系统的建立使土壤环境因素发生了变化，本试验分析了几个对重金属镉影响作用较大的环境因素，结果发现，土壤 pH 值降低了，土壤有机质含量也降低了，而且两者均是植物并投加蚯蚓的处理比单一的植物处理下降幅度大。

(4) 蚯蚓—植物—微生物生态系统对土壤全镉含量及有效镉的影响

蚯蚓—植物—微生物生态系统降低了土壤中全镉的含量，随着时间增加土壤中全镉含量是逐渐下降的，种植植物并投加蚯蚓的处理比单一的植物处理使土壤全镉含量下降幅度更大；能源作物甜高粱生物量比较大，而且也能吸收重金属镉，所以蚯蚓—甜高粱—微生物生态系统对降低土壤全镉含量效果较好。

蚯蚓—植物—微生物生态系统提高了土壤中有效态镉的含量，而且随着时间增加有效镉含量逐渐增多，在处理第 45 天时甜高粱并投加蚯蚓的处理较单一甜高粱处理有效镉含量有了显著增加，而油菜和黑麦草并投加蚯蚓的处理在第 45 天时较单一植物处理有效镉含量没有显著性差异。

4.2 展望

土壤重金属污染已成为国际上关注的问题，本试验应用生态系统的理念，运用生态修复方法对镉污染土壤进行修复研究，结果证明了外源投加蚯蚓促进了植物生长，而且蚯蚓—植物复合系统增大了土壤微生物数量，提高了土壤微生物呼吸强度，另外，蚯蚓—植物—微生物生态系统对降低土壤全镉含量效果较好。

本试验所研究的生态系统是人工建立的，盆栽条件下进行的定期性的试验，而且蚯蚓是外源加入的，与实际的自然生态系统有很大差异，所以实际的自然生态系统所产生的作用可能不会通过本试验被完全反映出来，因此还需要在以下几方面进行进一步的研究：

- 1) 如果条件允许, 最好能由盆栽试验过渡到大田试验进行研究, 看人工建立的生态系统与自然生态系统的作用是否表现出一致性。
- 2) 盆栽时间再延长一些, 多设几个取样时间点, 以便找出植物吸收镉的最佳生长期, 另外可以得到微生物变化的一个动态趋势。
- 3) 利用能源植物生物量大、资源丰富的优势, 它不但修复土壤污染而且避免了二次环境污染, 在此基础上多选择几种能源植物进行修复试验, 寻找最佳的蚯蚓—植物复合系统, 以优化蚯蚓—植物—微生物生态系统。

参考文献

- 陈怀满,郭春荣,等著.土壤-植物系统中的重金属污染.科学出版社,1996,71-125.
- 城乡建设环境保护部环境保护局主编.环境监测分析方法.北京:中国环境科学出版社,1986.
- 戈峰,刘向辉,潘卫东,等.蚯蚓在德兴铜矿废弃地生态恢复中的作用.生态学报,2001,21(11):1790-1795.
- 何新华,陈力耕,何冰,等.铅对杨梅幼苗生长的影响[J].果树学报,2004,21(1):29-32.
- 黄艺,陈有键等.菌根植物根际环境对污染土壤中Cu、Zn、Pb、Cd形态的影响.应用生态学报,2000,11(3): 431-434.
- 胡佩,刘得辉,胡锋.蚓粪中得植物激素及其对绿豆插条不定根发生得促进作用[J].生态学报,2002,22(8):1211-1214.
- 蒋先军,骆永明,赵其国b.土壤重金属污染的植物提取修复技术及其应用前景.农业环境保护,2000,19(3):179-183.
- 蒋先军,骆永明,赵其国等a. 重金属污染土壤的植物修复研究I金属富集植物*Brassica juncea*对铜、锌、铅、锡污染的响应.土壤,2000,32(20):71-74.
- 骆永明.金属污染土壤的植物修复.土壤,1999, 5: 261-265.
- 李天杰.土壤环境学.北京:高等教育出版社,1995.
- 骆永明. 强化植物修复的螯合诱导技术及其环境风险.土壤,2000,32(20):57-61.
- 刘秀梅,聂俊华,王庆仁.6种植物对Pb的吸收与耐性研究[J].植物生态学报,2002,26(5): 533-537.
- 刘登义,谢建春,杨世勇,等.铜尾矿对小麦生长发育和生理功能的影响[J].应用生态学报, 2001,12(1):126-128.
- 刘威,束文圣,蓝崇钰. 宝山堇菜(*V. iola baoshanensis*) ——一种新的镉超积累植物. 科学通报,2003,48(19):2046-2049.
- 马溪平,付保荣等.植物-微生物联合修复污染土壤的研究.Chin Public Health, 2005,21 (5) .
- 牛明芬,崔玉珍.蚯蚓对垃圾与底泥中福的富集现象.农村生态环境, 1997,13(3):53-54.
- 秦天才,吴玉树,王焕校,等.镉、铅及其相互作用对小白菜根系生理生态效应的研究[J].生态学报,1998,18(3):320-325.
- 宋勇春,冯固,李晓林. 泡囊丛枝菌根对红三叶草根际土壤磷酸酶活性的影响[J]. 应用与环境生物学报,2000,6(2):171-175.
- 史瑞和,土壤农化分析.北京:农业出版社, 1996.
- 唐世荣,黄昌勇,朱祖祥.利用植物修复污染土壤研究进展.环境科学进展, 1996,4(6):10-16.
- 王淑芳,纪有海,王玉兰等.铜、砷、铅、镉对土壤微生物生态的影响及其临界毒害浓度的确定.土壤环境容量及其信息系统(夏增绿等著), 气象出版社.1991, PP: 75-80.
- 王振中,张友梅.土壤重金属污染对蚯蚓影响的研究.环境科学学报, 1994,14(2):236 -243.
- 魏树和,周启星, 张凯松等.根际圈在污染土壤修复中的作用与机理分析.应用生态学报, 2003, 14(1):143-147.
- 吴胜春,骆永明等.重金属污染土壤的植物修复研究II. 金属富集植物*B. rassicaj uncea* 根际土壤中

微生物数量的变化.土壤, 2000.

吴龙华,骆永明,黄焕忠.铜污染土壤修复的有机调控研究Ⅰ.水溶性有机物和EDTA对污染红壤中铜的释放作用.土壤,2000,32(20):62-66.

吴龙华,骆永明,卢晓晖,等.重金属污染土壤的有机调控研究Ⅱ.根际土壤铜的有机活化效应.土壤,2000,32(20):67-70.

王慧忠,何翠屏,赵楠.铅对草坪植物生物量与叶绿素水平的影响[J].草业科学,2003,20(6):73-75.

韦朝阳,陈同斌.重金属污染植物修复技术的研究与应用现状[J].地球科学进展,2002,17(6):833-839.

俞协治,成杰民.蚯蚓对土壤中铜、镉生物有效性的影响.生态学报,2003,23(5):922-928.

杨清.大剂量对小麦生长的影响.农业环境保护,1994,13(2):55-57.

阎晓明,何金柱.重金属污染土壤的微生物修复机理及研究进展.安徽农业科学,2002,30(6):877-879.

张友梅,王振中,郭永灿等.土壤污染对蚯蚓的影响.湖南师范大学自然科学学报,1996,19(3):84-90.

朱铭羲,王淑芝,张成娥.锌对土壤生物活性的影响.农业环境保护,1990,9(2):6-9.

周国英,何小燕等.锌镉污染区植物根际与非根际土壤微生物区系研究.湖南林业科技,2005.

张宝贵.威廉环毛蚯蚓对土壤微生物量及活性的影响.生态学报,2000.

张宝贵,蚯蚓与微生物的相互作用.生态学报,1997,17(5).

张锐,薛彬,魏雪涛等.中国环境科学,1999,19(6):530-535.

周启星,林海芳.污染土壤及地下水修复的PRB技术及展望.环境污染治理技术与设备,2001,2(5):48-53.

周启星,宋玉芳.植物修复的技术内涵及展望.安全与环境学报,2001,1(3):48-53.

张均.污染环境微生物学.昆明:云南大学出版社,1997.

Antonio MT, Corpas I, Leret ML. Toxicology Letters, 1999, 104: 1-9.

Brussaard L. On the mechanisms of interactions between earthworm and plants[J]. Pedobiologia, 1999, 43(6):880-885.

Bonkowski M, Griffiths B S, Ritz K. Food preferences of earthworms for soil fungi [J]. Pedobiologia, 2000, 44: 666-676.

Berglund M, Akesson A, Bjellerup P, et al. Toxicology Letters, 2000, 112-113: 219-225.

Bonkowski M, Griffiths B S, Ritz K. Food preferences of earthworms for soil fungi. Pedobiologia, 2000, 44: 666-676.

CHANEY R L, MALIK Y M, LI Y M, et al. Phytoremediation of soil metal [J]. Current Opinions in Biotechnology, 1997(8):279-284.

Desjardin V. Effect of microbial activity on the mobility of chromium in soils. Waste Manag, 2002, 22(2): 195-200.

FRANKENBERGER JR, JOHANSON JB, NELSON CO. Urease activity in sewage sludge amended soils [J]. Soil Biol Biochem, 1983, 15: 543-549.

Gadd, G. M. Biotechnol. Trends, 1993, 11: 353-359.

Gange A. Translocations of mycorrhizal fungi by earthworms during early succession [J]. Soil Biol Biochem, 1993, 25: 1021-1026.

Huang Y, Chen Y J, Tao S. Effect of rhizosphere environment of VA mycorrhizal plants on forms of

- Cu, Zn, Pb and Cd in polluted soil. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2000, 11(3): 431-434.
- Hu P, Liu D H and Hu F. Plant hormones in earthworm casts and their promotion on adventitious root formation of Mung Bean cutting. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(8): 1211-1214.
- Mc JD, Grigat, and Schroeder D B, *Environmental and Experimental Botany*, 1982, 22(1):1-7.
- Khan A G, Kuek C, Chaudhry T M, et al. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation [J]. *Chemosphere*, 2000, 41: 197- 207.
- Khan A G, Kuek C, Chaudhry T M, et al. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere*, 2000, 41: 197-207.
- Luo YM. Chelate induced enhancing technique for phyto remediation and its environmental risk. *Soils*, 2000, 32(20): 57-61.
- Langdon C J , Pearce T G, Meharg A A , et al. Survival and behavior of the earthworms *Lumbricus rubellus* and *Dendrodrilus rubidus* from arsenate-contaminated and non-contaminated sites. *Soil Biol. Biochem.* , 2001, 33: 1239-1244.
- Lin C J, Yang P C, Hsu MT, et al. *Toxicology*, 1998, 127:157-166.
- Manuel C M. *Ecology: Concepts and Applications*, New York, Mc-Graw-Hill, 2000, 150-153.
- Ma Y, Dickinson N M, Wong MH. Toxicity of Pb/Zn mine tailings to the earthworm *Pheretima* and the effects of burrowing on metal availability [J]. *Biol Fertl Soils*, 2002, 36:79-86.
- P.C.J.van Vliet,S.E.A.T.M.van der Zee a, W.C.Ma. Heavy metal concentrations in soil and earthworms in a food plain grassland. *Environmental Pollution*, 2005(138): 505-516.
- Song Y C, Fen G and Li X L. Effect of VAM fungi on phosphatase activity in the rhizosphere of clover. *Chinese Journal of Applied Environmental Biology*, 2000,6(2): 171-175.
- Staessen JA, Roels H A, Emelianov D, et al. *The Lancet*, 1999, 353:1140-1144.
- Temp leton DM, Wang Z, Miralem T. *Toxicology Letters*, 1998, 95(1): 1-8.
- Tonin C, Vandenkoo rnhuyse P, Joner E J, et al. Assessment of arbuscular mycorrhizal fungi diversity in the rhizosphere of *Viola calaminaria* and effect of these fungi on heavy metal uptake by clover. *Mycorrhiza*, 2001, 10: 161-168.
- VERKELIJ J A C, SCHAT H. Mechanism of metal tolerance in high plants: evolutionary aspects [M]. Boca Raton Florida: CRC Press Inc, 1990: 179-193.
- Wu L H, Luo YM , Huang H Z. Organo-control for the phyto remediation of Copper polluted soil. Release effect of dissolved organic matter and EDTA on Copper in polluted red soil. *Soils*, 2000, 32(20): 62-66.
- Weon B. Genetic engineering of *Escherichia coli* for enhanced uptake and bio accumulation of mercury. *Appl & Environ. Microbiol*, 2001, 67: 5335-5338.
- Xiaoli Liu, Chengxiao Hua, Shuzhen Zhang. Effects of earthworm activity on fertility and heavy metal bioavailability in sewage sludge *Environment International*. 2005,31: 874-879.
- Ma Y, Dickinson N M, Wong M H. Interactions between earthworms, trees, soil nutrition and metal mobility in amended Pb/Zn mine tailings from Guangdong. *China Soil Biology & Biochemistry*. 2003,35: 1369-1379.

Yu X Z, Cheng J M. Effect of earthworm on bioavailability of Cu and Cd in soils. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(5): 922-928.

致谢

本论文是在导师孙振钧教授的悉心指导下完成的。从论文的选题、试验设计、实施到撰写、修改、定稿无不凝聚着孙老师大量的心血。孙老师严谨的学风、敏捷的思维和渊博的知识，使我终身受益，在此论文完成之际，特向我的导师孙老师表示最诚挚的谢意！

两年来王冲老师对我的试验以及论文的完成给予了耐心细致的指导，学习生活中给予了关心和热情的帮助，在此表示衷心的感谢！

感谢本实验室的刘雪莲师姐、郭兴华、李帅章、陈群同学、汤桂兰师姐在整个实验过程中给予的无私帮助！感谢其他师兄、师姐、师弟、师妹在生活和学习上的关心与帮助！

感谢刘永美和大学同学李华、陈瑜、魏元帅以及室友隋晓晨和滑小赞两年来在我的实验及生活上给予的关心和帮助！

特别感谢我的父母、姐姐、姐夫和朋友柳彬，感谢父母一直以来为我无私付出着！感谢父母和姐姐、姐夫对我的学业一如既往的支持！感谢柳彬对我论文工作完成的支持和帮助！

在论文完成之际，谨向我的导师孙振钧教授、师母程老师以及所有关心和帮助过我的老师、同学、亲人和朋友表示最诚挚的敬意和最衷心的感谢！

马淑敏

2007年6月

作者简介

马淑敏，女，1981年10月3日出生，山东德州市人，中国农业大学硕士研究生。2001年9月至2005年7月就读于山东农业大学。

硕士期间从事生态修复方面的研究，主要研究蚯蚓-植物-微生物生态系统修复土壤镉污染。做硕士课题期间发表一篇文章：

马淑敏，孙振钧，王冲.蚯蚓-甜高粱复合系统对土壤镉污染的修复作用及机理初探.农业环境科学学报，2007.

马淑敏

2007年6月