

先锋修复植物对土法炼锌废渣基质养分及微生物学特性的影响

邢容容¹, 吴永贵^{1,2,3}, 罗有发¹, 姚 璵¹, 舒 洁¹, 吴芷雪¹, 万祖荣¹

(1. 贵州大学 资源与环境工程学院, 贵阳 550025; 2. 贵州省喀斯特环境生态工程研究中心, 贵阳 550025; 3. 贵州省环境功能材料与设备研发研究生工作站, 贵阳 550025)

摘 要:为综合评价先锋修复植物对黔西北土法炼锌废渣基质的生态修复效应,通过野外采样及室内分析研究改良的土法炼锌废渣上自然定居植物土荆芥(*Chenopodium ambrosioides*)和大叶醉鱼草(*Buddleja davidii*)以及先锋修复植物白三叶草(*Trifolium repens*)和黑麦草(*Perennial ryegrass*)对废渣基质的养分、酶活性及微生物活性的改善效果。结果表明:与无植被修复的裸露废渣相比,4 种修复植物具有明显的根际效应,表现为根际废渣 pH 值降低,且 4 种修复植物可显著($p < 0.05$)增加根际废渣基质的养分(N、P、K、有机质)、酶活性(脲酶、蔗糖酶、磷酸酶、过氧化氢酶)、微生物活性(细菌、真菌、放线菌、微生物量、呼吸作用强度)。相关性分析表明,植物根际废渣养分、酶活性和微生物活性之间总体上呈正相关关系,其中有效氮与蔗糖酶和磷酸酶之间,全氮与细菌之间均呈极显著($p < 0.01$)相关,而有效钾与呼吸作用强度、微生物量和真菌之间,真菌与脲酶和蔗糖酶之间及微生物量与脲酶、蔗糖酶、磷酸酶、过氧化氢酶之间均呈显著相关($p < 0.05$)。通过主成分分析计算的综合肥力指标表明,三叶草修复铅锌冶炼废渣基质的综合肥力最高,而无植被存在的裸露废渣肥力指标最低。可见,在 4 种先锋修复植物中,三叶草作为先锋植物对土法炼锌废渣基质的修复效果最好。因此,在土法炼锌废渣堆场生态修复过程中,可选择三叶草作为先锋植物显著改良炼锌废渣的植生特性,为在废渣堆场上快速引进其他植物提供了有利条件。

关键词:先锋植物; 土法炼锌废渣; 养分; 酶活性; 微生物

中图分类号:S154.3;X171.5

文献标识码:A

文章编号:1005-3409(2018)05-0103-09

Effect of Pioneer Phytoremediation on Indigenous Zinc Smelting Slag Matrix Nutrients and Microbial Properties

XING Rongrong¹, WU Yonggui^{1,2,3}, LUO Youfa¹, YAO Cong¹, SHU Jie¹, WU Zhixue¹, WAN Zurong¹

(1. College of Resources and Environmental Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Karst Eco-Environmental Engineering Research Center of Guizhou Province, Guiyang 550025, China; 3. Graduate Workstation of Environment Function Material and Equipment Research and Development, Guizhou Province, Guiyang 550025, China)

Abstract: In order to comprehensively evaluate the effect of ecological restoration of pioneer restoration plant on indigenous zinc smelting slag matrix, in northwest Guizhou. Through field sampling and laboratory analysis, the improvement effect of modified natural colonized plants (*Chenopodium ambrosioides*, *Buddleja davidii*) and pioneer restoration plants (*Trifolium repens*, *Perennial ryegrass*) on residue matrix nutrient, enzyme activity and microbial activity was examined. The results showed that four pioneer restoration plants presented an obvious rhizosphere effect compared with the exposed slag without vegetation restoration, performance of rhizosphere slag decreased pH, and significantly increased ($p < 0.05$) residue matrix nutrients (N, P, K), organic matter, enzyme activities (urease, invertase, phosphatase, catalase), microorganism (bacteria, fungi, actinomycetes, microbial biomass, respiration intensity) of rhizosphere. Correlation analysis showed that

收稿日期:2017-09-27

修回日期:2017-11-27

资助项目:国家自然科学基金—贵州省联合资助项目(U1612442-3);国家自然科学基金(41663009);贵州省教育厅自然科学研究项目[黔教合 KY 字[2016]011];贵州省教育厅研究生教育创新计划项目[黔教研合 GZZ 字[2016]07]

第一作者:邢容容(1992—),女,贵州盘县人,硕士研究生,研究方向为污染控制与生态修复。E-mail:xingrongrong19@163.com

通信作者:吴永贵(1972—),男,贵州纳雍人,教授,博士生导师,博士,主要从事污染生态效应,污染生态控制及环境生态修复方面的教学工作。E-mail:ygwu72@126.com

residue matrix nutrients, enzyme activities and microbial activity of the four plants rhizosphere were positively correlated in general, the residue matrix available N was significantly correlated with residue matrix invertase and phosphatase, total nitrogen was significantly correlated with bacteria ($p < 0.01$). Available K had significant correlations with actinomycetes, microbial biomass and fungi, fungi had significant correlations with urease and invertase, microbial biomass was significant correlated with urease, invertase, phosphatase and catalase ($p < 0.05$). The results of principal component analysis showed that, the fertility of zinc smelting slag matrix repaired by *Trifolium repens* was the highest, the control was lowest. Obviously, *Trifolium repens* as to the repair effect of pioneer plant wastes residue matrix was the best in the four pioneer restoration plants. Therefore, in the process of ecological restoration of indigenous zinc smelting slag yard, using *Trifolium repens* as the characteristics of planting pioneer plants could significantly improve the zinc slag, provides favorable conditions for the rapid introduction of other plants in the waste residue yard.

Keywords: pioneer species; indigenous zinc smelting slag; nutrients; enzyme activities; microbes

贵州省铅锌矿产资源丰富,其产量占全国铅锌产量的 10% 左右^[1],主要分布在黔西北地区的水城、威宁、赫章等县。黔西北地区土法炼锌已具有 300 多年的冶炼历史,由于该工艺简单,Zn 回收率低,致使大部分未回收的 Zn 及其他伴矿重金属(Pb,Cu,Cd,As 等)残留于土法炼锌废渣中,大量未经任何处理的铅锌冶炼废渣堆积在环境中,废渣中高含量的重金属极易通过地表径流、风力扩散等途径扩散至周围环境介质中,对周边及下游的水环境质量、农产品产量和质量、人体健康产生严重影响。因此,近年来,土法炼锌废渣堆积产生的环境问题备受专家学者及政府的广泛关注。迄今为止,关于土法炼锌废渣的研究集中于重金属的地球化学特征^[2-3]、重金属风险评价^[4-5]、废渣基质改良^[6-7]、生态修复^[6,8-9]等方面,而对于植生条件极差的废渣堆场(物理结构差、养分贫瘠、重金属含量高、生物活性低等)上自然定居的先锋植物研究较少^[10],对于野外现场进行基质改良后生态修复的先锋草本植物及随后自然定居的先锋植物的研究尚未见报道。

根—土界面的根际微域因其特殊的物理、化学及生物学特性,已成为研究植物—土壤—微生物之间相互联系的重要领域^[11-12],研究根际微域土壤养分、酶活性、微生物数量对于评价土壤生态修复效应也具有重要意义^[13]。有研究表明,根际微域在植物生态修复过程中,对重金属的生物地球化学过程^[14-15]及改善基质的理化与生物学特性^[16]方面具有重要的影响。本文以贵州省威宁县猴场镇群发村土法冶炼废渣堆场为研究区域,选择经基质改良后生态修复的豆科车轴草属白三叶草(*Trifolium repens*)、禾本科黑麦草属黑麦草(*Perennial ryegrass*),以及随着基质植生条件改善后自然定居的藜科藜属植物土荆芥(*Chenopodium ambrosioides*)和小灌木的玄参科醉鱼草属

大叶醉鱼草(*Buddleja davidii*)等先锋修复植物为研究对象,探讨 4 种类型植被的先锋修复植物对土法炼锌废渣基质的理化性质、酶活性、微生物数量和活性的影响,并对其现场修复效果进行肥力综合评价,以期为指导土法炼锌废渣堆场的生态修复或植被重建提供科学依据。

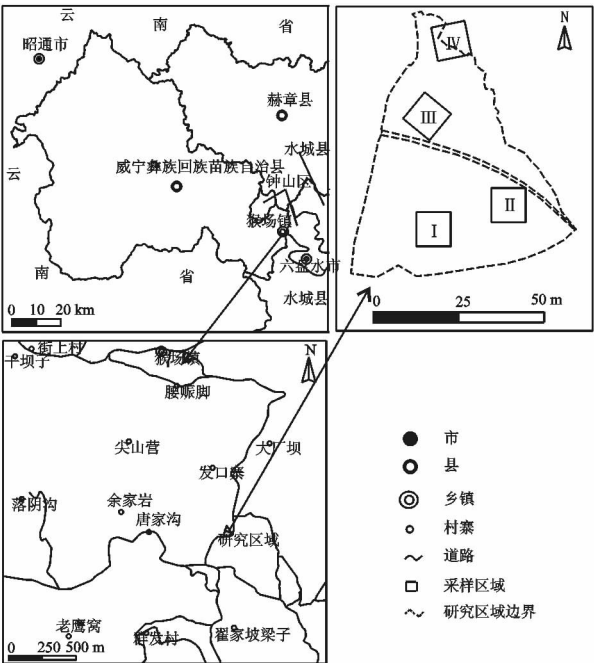
1 材料与方法

1.1 研究区概况及样品采集处理

研究区域以贵州省黔西北威宁县猴场镇群发村某一历史遗留土法炼锌废渣堆场作为生态修复试验场地(北纬 26°41'14",东经 104°43'45"),平均海拔 2 200 m,年平均气温 10℃ 左右(冬无严寒,夏无酷暑),属亚热带季风气候带,无霜期 180 d,年均日照时数为 1 800 h,年均降水量 890 mm。2012 年本课题组对植物立地条件极差的该废渣堆场进行必要的植生特性改良,并选择两种一年生或多年生的草本植物(黑麦草和三叶草)作为先锋植物开展渣场生态修复示范,随着废渣堆场植生特性的改善,生物量较大的非人工种植小灌木玄参科醉鱼草属大叶醉鱼草及藜科藜属土荆芥两种先锋植物在废渣场上自然定居,且 4 种先锋植物(三叶草、黑麦草、土荆芥、大叶醉鱼草)已在堆场表面上正常生长 4 a(2012—2015 年),其中 4 种植物在堆场上的分布情况为黑麦草和三叶草分别成片生长,且两种植物生长区域无其他植物存在。随着植物群落的演替,一年生的黑麦草和三叶草逐渐枯落,土荆芥和大叶醉鱼草生长区域内无黑麦草和三叶草存在。

2015 年 10 月选择生态修复示范区域中成片生长的三叶草、黑麦草、土荆芥、大叶醉鱼草作为研究对象,根据 4 种植物的分布特点划分为 3 个采样区域

(如图 1 中 I, II, III 所示),在每个采样区域(各采样区域中均有大叶醉鱼草、土荆芥、黑麦草和三叶草的单一聚集生长群)中分别设置 4 m×4 m,1 m×1 m 的样方采集灌木及草本植物样品,分别在每个样方中随机选择 3 株长势基本相同且呈单一聚群分布的大叶醉鱼草、土荆芥、黑麦草和三叶草(植物间无相互影响),在尽量不损害根系的情况下,在每个样方中挖取且具有完整根系的废渣基质,轻轻抖落不含根系的废渣基质,收集其作为非根际废渣基质,然后用力将根表面附着的废渣基质全部抖落下来,收集其作为根际废渣基质,将每个样方中采集的每种植物的根际和非根际废渣基质分别混匀,按四分法缩分得到每种植物对应的 1 个综合样品。在 3 个采样区域内设置的样方中共获得每种植物对应的根际及非根际废渣基质样品各 3 个,4 种植物共采集样品 24 个。同时在该研究区域内选择无植被生长的裸露废渣区域(如图 1 中 IV 所示)为对照,按照“S”型路线采集 5 个 0—20 cm 的表层裸露废渣样品混匀后作为 1 个对照样品,共采集 3 个对照样品。由于对照废渣无植被生长,故不区分根际与非根际废渣。采集后的废渣基质装入无菌袋密封保存带回实验室,将采回的废渣去除其中的大颗粒石子及植物根系后采用四分法缩分成两份,一份废渣置于 4℃ 冰箱中保存,用于废渣基质酶活性、呼吸作用强度、微生物数量等生物学指标的测定;另一份废渣放在室内通风处自然风干后研磨、过筛,用于土法炼锌废渣理化性质的测定。



注: I, II, III, IV 分别代表采样区域 1, 采样区域 2, 采样区域 3, 采样区域 4(裸地对照)

图 1 研究区示意图

1.2 测定指标及方法

废渣基质化学性质测定参照鲍士旦^[17]编著的《土壤农化分析》进行,其中 pH 值和电导率分别采用玻璃电极法(废渣基质:水=1:2.5)和原位电极法测定;有效氮采用碱解扩散法测定,有效磷采用 0.5 mol/L NaHCO₃ 溶液浸提—钼锑抗比色法测定,全氮采用半微量凯氏定氮法测定,全磷采用 H₂SO₄-HClO₄ 消煮—钼锑抗比色法测定,有机质采用高温外加热重铬酸钾氧化—容量法测定,有效钾含量采用 1 mol/L 乙酸铵浸提—原子吸收分光光度法测定。

废渣基质酶活性测定方法根据关松荫等^[18]编著的《土壤酶及其研究方法》进行:采用靛酚蓝比色法测定基质脲酶活性,酶活性以 24 h 后 1 g 废渣基质生成的 NH₄⁺-N 的质量表示;蔗糖酶活性用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定,结果以 24 h 后 1 g 废渣基质中葡萄糖的质量表示;磷酸酶活性用磷酸苯二钠比色法测定,测定结果以 24 h 后 1 g 废渣基质产生的酚的质量表示;过氧化氢酶活性用高锰酸钾滴定法测定,测定结果以单位质量废渣基质消耗的高锰酸钾体积表示。废渣基质的微生物量采用脂磷法(氯仿—甲醇—水萃取,钼酸盐比色)^[19],基质呼吸作用强度采用静止培养—碱液吸收滴定法测定^[20]。用稀释平板法测定基质中的微生物数量,分别采用牛肉膏蛋白胨琼脂培养基、察氏培养基和改良高氏一号培养基培养细菌、真菌和放线菌^[21]。

1.3 数据处理

采用 Excel 2010 及 IBM SPSS Statistics 22.0 软件进行统计分析,Origin 8.6 软件进行绘图。采用单因素方差分析法(one-way ANOVA)对废渣酶活性、养分、微生物活性进行方差分析和差异显著性检验($p=0.05$),并采用 Duncans 法进行多重比较。废渣酶活性、养分、微生物数量间的相关性采用 Pearson 相关系数分析。用主成分分析法提取累计方差贡献率≥85%的公因子,用回归法计算对照、不同植物根际和非根际的公因子得分。

2 结果与分析

2.1 先锋修复植物根际和非根际土法炼锌废渣基理化性质

由表 1 可知,4 种修复植物的根际和非根际 pH 值较对照(无植物生长的裸露废渣)显著降低($p<0.05$),表现为明显的酸化现象,而 4 种植物根际和非根际废渣基质之间的 pH 值变化范围较小(7.27~7.40)无显著差异($p<0.05$)。而修复植物的存在对废渣电导率的影响与 pH 值的变化规律相反,即植被

的存在可不同程度地增加废渣基质中的离子浓度,表现为:非根际>根际>裸地(除黑麦草根际废渣的 EC 低于对照外),三叶草和黑麦草根际废渣的电导率与对照间无显著差异($p<0.05$),而大叶醉鱼草和土荆芥根际废渣电导率则显著高于对照($p<0.05$)。

表 1 结果表明,与对照相比,4 种修复植物均可显著($p<0.05$)增加炼锌废渣基质养分(全磷、全氮、有效磷、有效氮、有效钾和有机质)含量。在 4 种修复植物中,三叶草根际废渣基质中全磷、全氮、有效磷和有效氮含量显著高于另外 3 种修复植物($p<0.05$),其根际废渣基质中的全磷、全氮、有效磷和有效氮含量分别是对照的 4.10、2.59、16.06、6.15 倍;就有效钾而言,大叶醉鱼草和三叶草根际废渣基质有效钾含量显著高于其他 2 种植物及对照($p<0.05$),但三叶草与大叶醉鱼草根际有效钾含量无显著差异($p>0.05$);就有机质而言,4 种修复植物根际对废渣基质的有机质的影响作用大小依次为土荆芥>三叶草>黑麦草>大叶醉鱼草,其中黑麦草根际与非根际有机质差异显著,而其他 3 种植物根际与非根际间无显著差异($p<0.05$)。

2.2 先锋修复植物根际和非根际土法炼锌废渣基质中酶活性特征

由图 2 可知,无植被存在的裸露废渣的酶活性极低,其脲酶、蔗糖酶、磷酸酶、过氧化氢酶活性分别为 0.05 mg/(g·d),0.31 mg/(g·d),0.12 mg/(g·d),1.24 mL/(g·h)。与对照相比,4 种先锋修复植物存在可明显增加根际废渣基质酶活性(脲酶、蔗糖酶、磷酸酶和过氧化氢酶),且均表现为:根际>非根际>对照,其中 4 种植物根际废渣基质酶活性显著($p<0.05$)高于非根际(除过氧化氢酶外),表现出明显的根际效应。4 种修复植物的存在对废渣基质酶活性

的影响作用不同,其中,根际废渣脲酶和蔗糖酶活性方面表现为:三叶草>大叶醉鱼草>黑麦草>土荆芥;根际废渣磷酸酶活性方面表现为:三叶草>黑麦草>大叶醉鱼草>土荆芥;4 种植物根际废渣过氧化氢酶活性表现为:黑麦草>三叶草>大叶醉鱼草>土荆芥,其中黑麦草存在下的废渣过氧化氢酶活性显著高于大叶醉鱼草和土荆芥($p<0.05$)。

2.3 先锋修复植物根际和非根际土法炼锌废渣基质中微生物数量及活性特征

由表 2 可见,与植被修复的废渣相比,无植被恢复的裸露废渣(对照)的三大微生物类群(细菌、真菌、放线菌)数量、微生物活性(呼吸作用强度)、微生物量含量均极低。而 4 种先锋修复植物的存在则可明显改善土法炼锌废渣基质中的微生物数量及活性。与对照相比,4 种植被的存在可显著增加废渣基质细菌、真菌和放线菌的数量,表现为:根际>非根际>裸地对照,其中,4 种植物存在下废渣基质的细菌、真菌和放线菌数量分别是对照的 140.63~9 375、46.32~1 110.29、65.22~19 927.52 倍。其中,三叶草根际废渣中细菌的数量、大叶醉鱼草根际废渣基质中的真菌和放线菌数量均为最高,且均分别与其余 3 种植物根际废渣中的微生物数量存在显著($p<0.05$)差异。

与无植被覆盖的裸露废渣相比,4 种植物根际和非根际废渣基质的呼吸作用强度和微生物量含量均高于对照,且根际与对照间存在显著($p<0.05$)差异,根际聚集效应明显。4 种植被根际废渣基质中呼吸作用强度及微生物量含量大小依次分别为大叶醉鱼草>土荆芥>黑麦草>三叶草和三叶草>黑麦草>大叶醉鱼草>土荆芥。

表 1 4 种先锋修复植物根际和非根际土法冶炼废渣基质理化性质

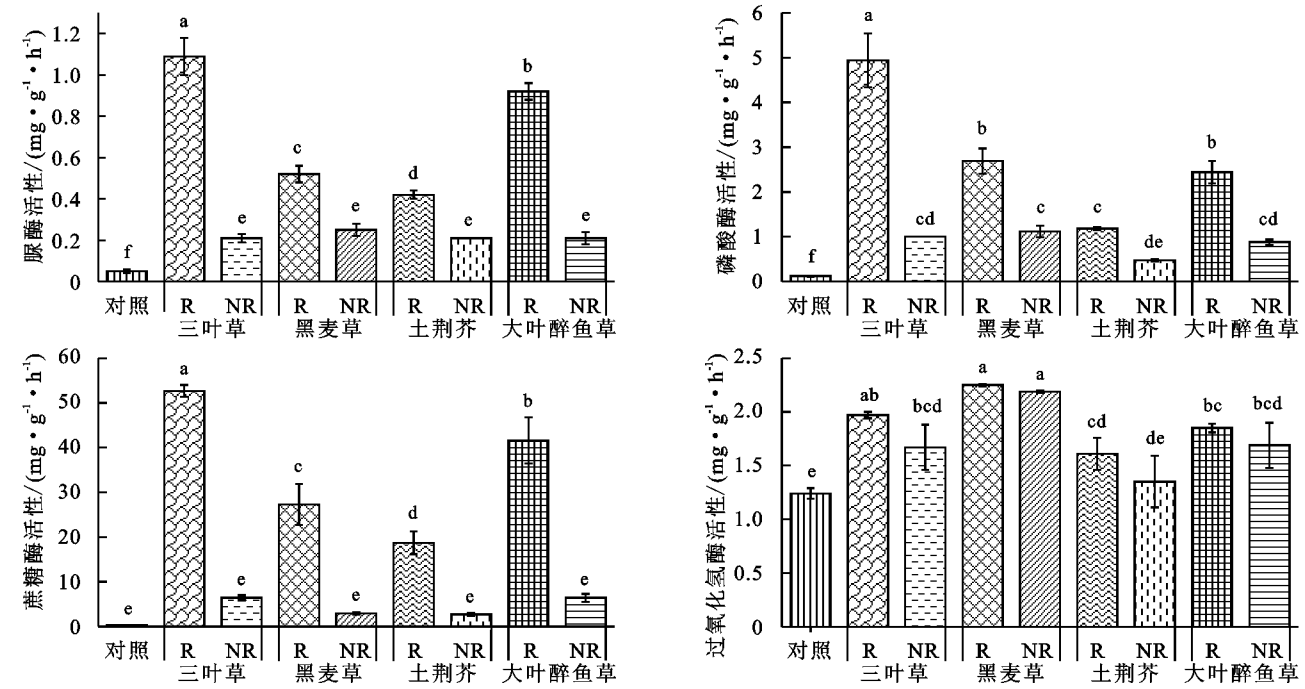
植物	部位	pH 值	EC/ ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	全磷/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	全氮/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	有效磷/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	有效氮/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	有效钾/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	有机质/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
对照		7.94±0.16a	206.00±2.83e	0.31±0.03f	1.47±0.06e	2.40±0.34e	11.55±1.11f	87.54±12.67e	80.30±0.52d
三叶草	R	7.27±0.12b	235.00±8.49e	1.27±0.11a	3.80±0.23a	38.55±5.57a	71.05±5.02a	258.03±27.28ab	121.65±6.45b
	NR	7.32±0.04b	389.50±19.09b	0.54±0.05cd	2.14±0.09b	9.68±0.91d	31.50±4.52c	173.38±7.63d	110.50±10.26bc
黑麦草	R	7.36±0.05b	189.55±7.99e	0.54±0.05cd	2.02±0.14bc	11.25±1.22d	43.75±5.67b	231.25±29.47bc	116.16±10.50bc
	NR	7.36±0.08b	228.70±15.98e	0.49±0.09de	1.61±0.13de	7.75±0.42d	22.75±2.47de	198.76±8.10cd	84.70±2.29d
土荆芥	R	7.40±0.01b	344.50±20.51c	0.98±0.04b	2.03±0.15bc	28.23±1.96b	27.30±4.43cd	236.24±43.52bc	153.18±3.63a
	NR	7.34±0.02b	472.00±35.36a	0.41±0.02e	1.83±0.14cd	11.40±1.61d	18.90±2.97e	199.42±37.12cd	140.30±9.49a
大叶醉鱼草	R	7.29±0.05b	297.00±21.21d	0.61±0.10c	1.98±0.10bc	17.98±2.59c	45.67±2.99b	292.60±23.22a	105.52±12.63bc
	NR	7.30±0.33b	326.50±19.09cd	0.40±0.04ef	1.55±0.11e	8.30±1.06d	20.13±1.75e	212.30±14.61cd	103.87±12.19c
Sig.		0.016	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:表中 R 代表根际, NR 代表非根际,表中数据为平均值±标准差,不同小写字母表示同一列 4 种植物根际、非根际及对照间存在差异显著性($p<0.05$),下同。

2.4 先锋修复植物根际土法炼锌废渣的养分与酶活性、微生物活性的相关性分析

由表 3 可看出,4 种先锋修复植物根际废渣基质养分与酶活性、微生物数量整体上呈正相关关系。其中,全氮与细菌及磷酸酶分别呈极显著($p<0.01$)及显著($p<0.05$)相关;有效氮与蔗糖酶和磷酸酶呈极显著相关($p<0.01$),与脲酶和微生物量呈显著相关($p<0.05$);有效钾与真菌、呼吸作用强度

及微生物量呈显著相关($p<0.05$)。而有机质与酶活性、微生物活性均无显著相关。4 种植物根际废渣基质酶活性与微生物活性均呈正相关,且具有较高的相关系数,其中 4 种酶(脲酶、蔗糖酶、磷酸酶和过氧化氢酶)与微生物量均显著相关($p<0.05$),脲酶、蔗糖酶与真菌显著相关($p<0.05$),说明 4 种先锋修复植物根际废渣基质酶活性与微生物活性关系密切。



注:图中 R 代表根际,NR 代表非根际,4 种酶活性 Sig<0.001。不同小写字母表示 4 种植物根际、非根际及对照间存在差异显著性($p<0.05$)。

图 2 4 种先锋修复植物根际和非根际土法炼锌废渣基质酶活性
表 2 4 种先锋修复植物根际和非根际土法炼锌废渣基质微生物活性特征

植物	部位	细菌/ (万个·g ⁻¹)	真菌/ (万个·g ⁻¹)	放线菌/ (万个·g ⁻¹)	呼吸作用强度/ CO ₂ (mL·kg ⁻¹)	微生物量/ (nmolP·g ⁻¹)
对照		0.32±0.04e	0.34±0.05g	0.23±0.04d	8.81±1.00f	4.91±0.40e
三叶草	R	3000.00±309.85a	324.42±43.40b	1930.00±204.16b	40.03±6.12bc	64.56±9.04a
	NR	45.00±5.01e	15.75±2.03fg	15.00±2.36d	22.72±3.73e	27.80±3.21bc
黑麦草	R	261.11±24.89bcd	163.33±27.89d	589.17±36.96c	42.50±0.00bc	55.51±9.57a
	NR	94.17±7.21de	41.67±4.08ef	131.67±2.36cd	25.66±1.53de	20.02±2.16cd
土荆芥	R	414.17±64.49b	210.00±27.08c	265.83±35.36cd	49.23±6.67b	35.06±2.02b
	NR	55.00±2.36de	53.33±9.13e	31.11±5.97d	35.63±6.46cd	31.93±4.33b
大叶醉鱼草	R	348.33±21.21bc	377.50±36.35a	4583.33±781.50a	63.06±7.65a	55.08±5.30a
	NR	185.83±21.50cde	50.83±6.95ef	119.17±18.93cd	27.36±3.93de	14.70±2.44de
Sig		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.5 不同先锋修复植物根际和非根际废渣肥力评价
为了更好地评价 4 种先锋修复植物修复对土法炼锌废渣的肥力状况的影响,选择冶炼废渣的 pH、EC、微生物量、呼吸作用强度、养分、微生物数量和酶活性共 17 个相关指标进行主成分分析。由表 4 可以看出,第一主成分的方差贡献率最大,为 63.25%,涵盖了一半以上的

信息,对铅锌冶炼废渣的肥力状况起主导作用。4 个主成分的累积方差贡献率达到了 94.47%,能反映出 4 种先锋修复植物根际与非根际废渣各指标的相对重要性及其之间的相互关系。
对 17 个铅锌冶炼废渣基质肥力因子在各主成分上的因子载荷分析(表 4)表明,土法炼锌废渣基质脲

酶、蔗糖酶、有效氮、磷酸酶、微生物量、真菌、有效磷和有效钾对第一主成分影响较大,综合了绝大部分酶活性、微生物及养分信息,其中脲酶、蔗糖酶和磷酸酶的载荷均较高,集中反映了基质水解酶活性状况,可命名为水解酶活性因子(F_1)。第二主成分包含 EC、有机质等信息,其中 EC 的载荷较高,集中反映了基

质的可溶性盐溶解状况,故可命名为 EC 因子(F_2)。第三主成分中,放线菌和细菌的载荷较其他因子高,集中反映了基质中微生物活性,可命名为微生物因子(F_3)。第四主成分中,过氧化氢酶的载荷相对较高,集中反映了基质过氧化氢酶活性,可命名为过氧化氢酶活性因子(F_4)。

表 3 4 种先锋修复植物根际废渣基质养分与酶活性、微生物活性间的相关系数

相关系数	全氮	有效磷	有效氮	有效钾	有机质	脲酶	蔗糖酶	磷酸酶	过氧化氢酶	细菌	真菌	放线菌	呼吸作用 强度	微生物量
全磷	0.872	0.992 * *	0.712	0.580	0.710	0.679	0.683	0.714	0.325	0.840	0.615	0.124	0.399	0.600
全氮	1	0.856	0.890 *	0.487	0.331	0.786	0.806	0.914 *	0.460	0.988 * *	0.581	0.220	0.218	0.689
有效磷		1	0.736	0.658	0.706	0.741	0.738	0.725	0.342	0.818	0.705	0.242	0.494	0.644
有效氮			1	0.744	0.280	0.942 *	0.967 * *	0.994 * *	0.753	0.830	0.784	0.510	0.513	0.926 *
有效钾				1	0.577	0.854	0.853	0.678	0.721	0.372	0.944 *	0.689	0.954 *	0.901 *
有机质					1	0.282	0.299	0.259	0.332	0.239	0.409	-0.112	0.577	0.420
脲酶						1	0.995 * *	0.903 *	0.643	0.726	0.937 *	0.741	0.687	0.907 *
蔗糖酶							1	0.935 *	0.705	0.739	0.913 *	0.692	0.673	0.937 *
磷酸酶								1	0.746	0.860	0.715	0.428	0.429	0.898 *
过氧化氢酶									1	0.334	0.553	0.308	0.593	0.898 *
细菌										1	0.505	0.184	0.098	0.582
真菌											1	0.827	0.872	0.843
放线菌												1	0.691	0.565
呼吸作用强度													1	0.748

注: * * 表示在 0.01 水平(双侧)上极显著相关,* 表示在 0.05 水平(双侧)上显著相关。

表 4 主成分因子载荷矩阵及主成分特征根

项目	F_1	F_2	F_3	F_4
pH	-0.595	-0.471	0.224	0.543
EC	-0.182	0.897	0.176	0.013
全磷	0.840	0.016	0.450	-0.021
全氮	0.833	-0.148	0.485	-0.080
有效磷	0.875	0.140	0.398	0.068
有效氮	0.949	-0.207	0.066	-0.087
有效钾	0.844	0.334	-0.366	-0.117
有机质	0.395	0.776	0.342	-0.032
脲酶	0.975	-0.108	-0.093	0.146
蔗糖酶	0.967	-0.149	-0.060	0.165
磷酸酶	0.935	-0.295	0.082	-0.118
过氧化氢酶	0.526	-0.330	-0.432	-0.627
细菌	0.794	-0.277	0.490	-0.019
真菌	0.920	0.042	-0.200	0.315
放线菌	0.688	-0.042	-0.494	0.469
呼吸作用强度	0.755	0.435	-0.415	0.163
微生物量	0.935	0.064	-0.112	-0.043
特征根	10.752	2.328	1.847	1.132
方差贡献率/%	63.25	13.70	10.86	6.66
累积贡献率/%	63.25	76.94	87.81	94.47

将因子载荷换算为规格化特征向量^[22]后,可以得到反映土壤肥力水平的 4 个主成分表达式:

$$F_1=-0.181x_1-0.056x_2+0.256x_3+0.254x_4+0.267x_5+0.289x_6+0.257x_7+0.120x_8+0.297x_9+0.295x_{10}+0.285x_{11}+0.160x_{12}+0.242x_{13}+0.281x_{14}+0.210x_{15}+0.230x_{16}+0.285x_{17}$$

$$F_2=-0.309x_1+0.588x_2+0.010x_3-0.097x_4+0.092x_5-0.136x_6+0.219x_7+0.509x_8-0.071x_9-0.098x_{10}-0.193x_{11}-0.216x_{12}-0.182x_{13}+0.028x_{14}-0.028x_{15}+0.285x_{16}+0.042x_{17}$$

$$F_3=0.165x_1-0.130x_2+0.331x_3+0.357x_4+0.293x_5+0.049x_6-0.269x_7+0.252x_8-0.068x_9-0.044x_{10}+0.060x_{11}-0.318x_{12}+0.361x_{13}-0.147x_{14}-0.363x_{15}-0.305x_{16}-0.082x_{17}$$

$$F_4=0.510x_1+0.012x_2-0.020x_3-0.075x_4+0.064x_5-0.082x_6-0.110x_7-0.030x_8+0.137x_9+0.155x_{10}-0.111x_{11}-0.589x_{12}-0.018x_{13}+0.296x_{14}+0.441x_{15}+0.153x_{16}-0.040x_{17}$$

式中: x_1,x_2,\cdots,x_{17} 分别代表 pH 值、EC、全磷、全氮、有效磷、有效氮、有效钾、有机质、脲酶、蔗糖酶、磷酸酶、过氧化氢酶、细菌、真菌、放线菌、呼吸作用强度和微生物量。将裸地对照、根际和非根际废渣的上述

17 个指标分别代入表达式,计算各主成分的得分,再以各主成分的方差贡献率为权数,对所提取的得分进行加权求和,得到 4 种先锋修复物根际废渣和非根际废渣反映土法炼锌废渣肥力水平的综合得分(表 5)。

表 5 主成分因子得分及土法炼锌废渣基质肥力水平综合得分

植物	部位	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	综合得分	综合排名
对照		-4.644	-2.187	0.830	1.691	-3.034	9
三叶草	R	6.220	-1.340	1.986	-0.115	3.959	1
	NR	-1.598	0.528	0.575	-0.712	-0.923	6
黑麦草	R	1.237	-0.869	-1.139	-1.007	0.473	4
	NR	-1.716	-1.178	-0.941	-1.341	-1.438	8
土荆芥	R	0.919	1.853	0.952	0.398	0.965	3
	NR	-1.760	2.433	0.596	0.123	-0.707	5
大叶醉鱼草	R	3.299	0.405	-2.496	1.536	1.973	2
	NR	-1.956	0.355	-0.363	-0.573	-1.266	7

结果表明,土法炼锌废渣基质肥力水平综合得分总体上表现出:根际>非根际>对照。说明此 4 种先锋植物修复能明显改善土法炼锌废渣基质的肥力状况,其中,三叶草根际废渣基质肥力综合得分最高,其次是大叶醉鱼草,而对照废渣的最低。说明植物的存在明显改善了冶炼废渣基质的肥力状况,且在 4 种先锋修复植物中,三叶草作为先锋草本植物对土法炼锌废渣基质的修复效果最好。

3 讨论

黔西北土法炼锌废渣极端的立地条件(物理结构差、养分贫瘠、重金属含量高等)是造成废渣场鲜有植被生长的主要原因^[9],有研究表明,环境条件极端的介质经过基质改良并种植合适的植物后可显著改善介质的物理、化学、生物特性^[23]。本研究表明,在裸露的土法炼锌废渣上恢复植被具有明显的酸化现象,主要表现为植物根际和非根际废渣基质的 pH 值低于无植物存在的裸露废渣,这可能是修复植物在响应环境胁迫过程中释放的根系分泌物具有一定酸化作用。此外,4 种植物根际和非根际间的 pH 值无显著差异,且大叶醉鱼草和土荆芥的根际废渣 pH 值略高于非根际,这与前人的研究结论不一致^[24]。一方面可能是由于在进行渣场生态修复前期,一年生或多年生的黑麦草及三叶草在废渣场上以全覆盖的形式生长,随着植物群落的演替,一年生黑麦草枯落,虽然大叶醉鱼草和土荆芥生长区域无黑麦草和三叶草生长,但所采集的远离大叶醉鱼草和土荆芥根系的非根系废渣仍可能是黑麦草和三叶草前期改良过的废渣,且生物量较大的大叶醉鱼草和土荆芥根系大量吸收

硝态氮后植物体内硝态氮还原过程中需消耗质子,故根必须分泌出 OH⁻ 或 HCO₃⁻ 以维持电荷平衡,进而呈现根际废渣 pH 值接近或高于非根际的现象^[24]。植被存在酸化根际废渣的同时伴随废渣矿物质的溶解过程,本研究表明,除黑麦草外,植物根际废渣溶液中的离子浓度(EC)均高于对照,这可能与植物生长过程中植物根系释放分泌物质增加废渣矿物质的溶解有关,也与根际有机质输入(死亡的植物细根)吸附大量的离子和电子的共同作用为根际离子富集创造了条件有关。

本研究表明,4 种先锋修复植物根际废渣基质养分(全磷、全氮、有效磷、有效氮、有效钾和有机质)含量均高于非根际和裸地废渣,呈现明显的根际聚集现象。一方面可能是因为植物在受到外界因素胁迫(养分贫瘠、重金属含量高)条件下,根际分泌的低分子有机化合物在养分活化方面作用突出,即这些低分子有机化合物可通过改变根际土壤的 pH 值,Eh 条件或通过螯合作用和还原作用来增加某些养分的溶解度和移动性,进而促进植物对这些养分的吸收,使根际土壤养分含量明显提高^[25-26];另一方面,植物的根系分泌物中含有较高浓度碳水化合物、氨基酸等物质,是根际微生物生存与繁殖所需碳源和氮源的重要来源,促进根际微生物大量繁殖,微生物的存在又可以大大促进根系分泌物的释放及自身有机酸等活化根际矿物养分物质的分泌,并将植物根系周围的养分向根际聚集、吸收,构成良性循环,但该过程受根际环境和生物综合因素的影响和制约程度较大^[25]。本研究中,无植被覆盖的裸地的有机质含量数据显示其具有较高含量有机质,这与废渣物理结构差、养分贫瘠的现实相矛盾,这种有机质存在“虚高”的现象可能与土法炼锌废渣基质中含有的未完全燃烧的单质碳(即作为燃料的煤,很难被生物直接利用)及其他还原性物质有关,因为利用本研究中有有机质的测试方法易将非有机质部分的氧化作用误判为有机质的含量的增加,从而造成废渣基质有机质含量呈现“虚高”现象^[7]。

4 种先锋植物存在对土法炼锌废渣基质酶活性具有较大的改善作用,主要表现为 4 种植物根际废渣基质的酶活性(脲酶、蔗糖酶和磷酸酶活性)显著高于非根际。这与孟令军^[27]、张学利^[28]等的研究结果相似。根际废渣基质中酶活性的变化主要有两方面的原因:一是根系因自身的生理活动及周围环境胁迫的影响而向根际废渣基质分泌大量的酶^[29];二是植物根际土壤微域是微生物特殊的生境,根际微生物数量

总是比非根际要高得多(表2),当微生物受到根际微域环境因素刺激时,便不断向周围介质分泌酶,使根际内外酶活性存在很大的差异^[30]。

4种先锋植物的存在对促进土法炼锌废渣基质的微生物数量及活性具有重要作用,且废渣基质的微生物活性具有明显的根际聚集现象,即废渣基质的微生物活性均表现为:根际>非根际>对照,这与杨期和等^[16]的研究结果相似。这可能与植物根系对土法炼锌废渣重金属的吸收降低了根际环境重金属含量、以及先锋植物相关的有机质的输入(如根系分泌物、凋落物)降低重金属的生物有效性,最终为根际微生物的生存与繁殖提供了有利的环境条件有关。

大量研究表明,土壤养分、酶活性及微生物数量之间存在密切关系^[31-32]。土壤中脲酶、磷酸酶等酶活性可以一定程度反映土壤中C、N、P、K的转化强度,在营养元素物质交换过程中占据着非常重要的地位^[33]。本研究表明,4种植物根际废渣养分与酶活性呈正相关,其中总氮与磷酸酶、有效氮与脲酶显著相关,有效氮与蔗糖酶、磷酸酶极显著相关,这与王笛等^[31]、银秋玲等^[34]的研究结果一致。说明废渣基质脲酶、蔗糖酶和磷酸酶活性有利于废渣基质中氮素的转化及分解,提高其中氮素的有效性。根际废渣基质养分与微生物活性之间具有不同程度的相关性,其中总氮与细菌极显著相关,有效氮与微生物量,有效钾与真菌、呼吸作用强度、微生物量均显著相关,这可能是由于植被存在可有效改善废渣基质水热条件和通气状况,为根际微生物活动创造了良好的环境条件,微生物又可以通过分解动植物残体而参与土壤系统中的能量流动和物质循环^[35]。4种先锋修复植物根际废渣基质的酶活性(脲酶、蔗糖酶、磷酸酶和过氧化氢酶)与微生物量,脲酶、蔗糖酶与真菌均显著正相关。一般认为土壤中的酶主要来自土壤微生物的代谢过程、植物根系分泌物和动植物残体腐解过程中释放的酶^[36],故当土壤微生物数量增加时,土壤酶活性增强,这与大多数认为土壤酶活性与土壤微生物数量总体呈正相关的研究结论一致^[31-32]。土壤酶活性增强又有助于提高土壤有效肥力,从而使土壤养分—微生物—酶活性间构成良性循环,促进土壤环境朝着良性方向发展,土壤质量得到逐步提高。

主成分分析表明,第一主成分方差贡献率高达63.25%,其中有效氮、脲酶和蔗糖酶活性载荷均较高,而有效氮与脲酶、蔗糖酶显著相关和极显著相关,说明植被改善土法炼锌废渣基质综合肥力状况的过

程中氮素发挥了重要作用。从4种先锋修复植物根际和非根际废渣基质综合肥力来看,根际废渣均高于非根际和裸地,其中,白三叶草根际肥力状况最佳。白三叶草作为豆科三叶草属牧草,具有发达的侧根系,可大量固定空气中的N素,改变其根际废渣的养分状态,从而影响酶活性及微生物活性,此外,也有研究表明三叶草作为尾矿库的优势植物,对重金属具有较强的耐性^[37],故可选择三叶草作为土法炼锌废渣堆场的先锋植物进行植生特性改良。

4 结论

(1) 无植被覆盖的土法炼锌裸地废渣呈中性—微碱性且养分贫瘠等特征,4种先锋修复植物能够有效的改善铅锌冶炼废渣基质的化学特性和养分特性。总体上,与无植被覆盖的裸地相比,先锋修复植物能明显增加废渣基质中全氮、全磷、有效氮、有效磷、有效钾和有机质含量,表现出明显的根际聚集及酸化现象。

(2) 无植被覆盖的土法炼锌裸地废渣基质酶活性、微生物活性均较低,先锋修复植物定居能显著改善废渣基质的微生物学特性。同对照区域的废渣相比,先锋植物定居可在一定程度上增加4种酶活性(脲酶、蔗糖酶、磷酸酶和过氧化氢酶)、三大微生物类群(细菌、真菌、放线菌)数量、废渣基质呼吸作用强度和微生物量。

(3) 4种先锋修复植物炼锌废渣基质养分、酶活性及微生物活性之间具有密切的相关性,其中有效氮与蔗糖酶和磷酸酶极显著相关($p < 0.01$),有效钾与真菌、呼吸作用强度及微生物量显著相关($p < 0.05$),4种酶与微生物量显著相关($p < 0.05$)。

(4) 主成分分析表明,4种先锋修复植物能有效改善废渣基质的肥力状况,三叶草根际废渣基质肥力综合得分最高,对土法炼锌废渣基质的修复效果最好,因此,在土法炼锌废渣堆场生态修复过程中,可选择三叶草作为先锋植物改良废渣植生特性,以为其他植物的大量着生提供有利条件。

参考文献:

- [1] 王海峰,张元福,张中可. 贵州锌工业现状及发展对策[J]. 贵州科学,2000,18(3):229-234.
- [2] 吴攀,刘丛强,杨元根,等. 土法炼锌废渣堆中的重金属及其释放规律[J]. 中国环境科学,2002,22(2):109-113.
- [3] 林文杰,肖唐付,周晚春,等. 黔西土法炼锌区 Pb, Zn, Cd 地球化学迁移特征[J]. 环境科学,2009,30(7):2065-2070.
- [4] 吴烈善,莫小荣,曾东梅,等. 废弃铅锌冶炼厂重金属污染场地的健康风险评价[J]. 生态毒理学报,2014,9(3):

- 603-608.
- [5] Zhang X W, Yang L S, Li Y H, et al. Impacts of lead/zinc mining and smelting on the environment and human health in China [J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2012,184(4):2261-2273.
- [6] 彭禧柱,杨胜香,李凤梅,等. 3种工业有机废弃物对铅锌尾矿生物化学性质及植物生长的影响[J]. 环境科学, 2016,37(1):301-308.
- [7] 麻占威,吴永贵,付天岭,等. 不同植物凋落物对土法冶炼铅锌废渣的改良效果[J]. 贵州农业科学, 2014, 42(6):188-192.
- [8] 付天岭,吴永贵,曾艳,等. 水可溶性有机物在铅锌废渣生态修复中的应用[J]. 环境工程学报, 2017,1(2):1178-1184.
- [9] 林文杰,肖唐付. 土法炼锌区基质改良对刺槐生长的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2013,29(6):731-737.
- [10] 邢丹,刘鸿雁,于萍萍,等. 黔西北铅锌矿区植物群落分布及其对重金属的迁移特征[J]. 生态学报, 2012,32(3):796-804.
- [11] 刘建军,陈海滨,田呈明,等. 秦岭火地塘林区主要树种根际微生态系统土壤性状研究[J]. 土壤侵蚀与水土保持学报, 1998,4(3):52-57.
- [12] Lynch J P. Root architecture and plant productivity [J]. Plant Physiology, 1995,109(1):7-13.
- [13] 薛立,邝立刚,陈红跃,等. 不同林分土壤养分、微生物与酶活性的研究[J]. 土壤学报, 2003,40(2):280-285.
- [14] 王友保,张莉,张风美,等. 大型铜尾矿库区节节草(*Hippochaete ramosissima*)根际土壤重金属形态分布与影响因素研究[J]. 环境科学学报, 2006,26(1):76-84.
- [15] 江婧. 根际微域重金属形态变化及其迁移转化研究[D]. 南昌:南昌大学, 2012.
- [16] 杨期和,刘惠娜,李清华,等. 粤东铅锌尾矿区3种优势植物根际土壤微生物的活性研究[J]. 中国农学通报, 2012,28(30):56-64.
- [17] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京:中国农业出版社, 2000:30-106.
- [18] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京:农业出版社, 1986:274-340.
- [19] 于鑫,张晓键,王占生. 饮用水生物处理中生物量的脂磷法测定[J]. 给水排水, 2002,28(5):1-5.
- [20] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科技出版社, 1999:239-240.
- [21] 程丽娟,薛泉宏. 微生物学试验技术[M]. 2版. 北京:科学出版社, 2012:53-56.
- [22] 宇传华. SPSS与统计分析[M]. 北京:电子工业出版社, 2007:491-507.
- [23] 张宏,沈章军,阳贵德,等. 鸡粪改良铜尾矿对3种豆科植物生长及基质微生物量和酶活性的影响[J]. 生态学报, 2011,31(21):6522-6531.
- [24] 张福锁,曹一平. 根际动态过程与植物营养[J]. 土壤学报, 1992,29(3):239-250.
- [25] 陈龙池,廖利平,汪思龙,等. 根系分泌物生态学研究[J]. 生态学杂志, 2002,21(6):57-62.
- [26] Xian X. Effect of chemical forms of cadmium, zinc, and lead in polluted soils on their uptake by cabbage plant [J]. Plant and Soil, 1989,113(2):257-264.
- [27] 孟令军,耿增超,殷金岩,等. 秦岭太白山区6种中草药根际与非根际土壤化学性质及酶活性[J]. 应用生态学报, 2012,23(10):2685-2692.
- [28] 张学利,杨树军,张百习,等. 不同林龄樟子松根际与非根际土壤的对比[J]. 福建林学院学报, 2005,25(1):1-4.
- [29] Yuan L, Huang J G, Yu S Q. Responses of nitrogen and related enzyme activities to fertilization in rhizosphere of wheat [J]. Pedosphere, 1997,7(2):141-148.
- [30] 杨玉盛,何宗明,邹双全,等. 格氏栲天然林与人工林根际土壤微生物及其生化特性的研究[J]. 生态学报, 1998,18(2):198-202.
- [31] 王笛,马风云,姚秀粉,等. 黄河三角洲退化湿地土壤养分、微生物与土壤酶特性及其关系分析[J]. 中国水土保持科学, 2012,10(5):94-98.
- [32] 许景伟,王卫东,李成. 不同类型黑松混交林土壤微生物、酶及其与土壤养分关系的研究[J]. 北京林业大学学报, 2000,22(1):51-55.
- [33] Diamantidis G, Effosse A, Potier P, et al. Purification and characterization of the first bacterial laccase in the rhizospheric bacterium *Azospirillum lipoferum* [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2000,32(7):919-927.
- [34] 银秋玲,黄景,康轩,等. 广西大明山土壤微生物数量及酶活性研究[J]. 南方农业学报, 2012,43(4):472-476.
- [35] 张星杰,刘景辉,李立军,等. 保护性耕作方式下土壤养分、微生物及酶活性研究[J]. 土壤通报, 2009,40(3):542-546.
- [36] Nie M, Zhang X D, Wang J Q, et al. Rhizosphere effects on soil bacterial abundance and diversity in the Yellow River Deltaic ecosystem as influenced by petroleum contamination and soil salinization [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2009,41(12):2535-2542.
- [37] 王友保,张莉,沈章军,等. 铜尾矿库区土壤与植物中重金属形态分析[J]. 应用生态学报, 2005,16(12):2418-2422.