

贺卓, 殷涂童, 葛占标, 等. *Bacillus thuringiensis* P34 与海泡石联合阻控蔬菜积累铅和改良土壤的作用[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(6): 1240–1247.

HE Zhuo, YIN Tu-tong, GE Zhan-biao, et al. Synergistic effect of *Bacillus thuringiensis* P34 and sepiolite on lead uptake of vegetables and remediation in Pb-contaminated soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(6): 1240–1247.

## *Bacillus thuringiensis* P34 与海泡石联合 阻控蔬菜积累铅和改良土壤的作用

贺卓, 殷涂童, 葛占标, 盛下放, 何琳燕\*

(农业部农业环境微生物重点实验室, 南京农业大学生命科学学院, 南京 210095)

**摘要:**本研究为建立微生物-吸附剂联合钝化修复技术, 以期为重金属污染农田的修复和蔬菜安全生产提供试验依据。在南京市栖霞区某矿区周边农田开展田间试验, 探究了 *Bacillus thuringiensis* P34 及海泡石(S)对辣椒(苏椒五号)和茄子(苏琦一号)的生长、Pb 积累和营养品质的影响, 评估复配处理(P34+S)改良蔬菜根际土壤理化性质的作用。结果表明, 与对照相比, 海泡石可显著降低蔬菜果实 Pb 含量, 菌株 P34 和海泡石复配可进一步显著降低辣椒和茄子果实 Pb 含量(58% 和 26%)。与对照相比, 复配处理可显著使辣椒果实生物量增加 1.5 倍, 改善蔬菜的营养品质, 还能提高根际土壤 pH、芽孢细菌数量、蔗糖酶和脲酶活性, 显著降低根际土壤 DTPA 提取态 Pb 含量, 并显著增加 >1 mm 团聚体的比例、显著减少 <0.25 mm 团聚体的比例。将 *B. thuringiensis* P34 与海泡石联合施用于 Pb 污染土壤, 可显著阻控茄果类蔬菜积累 Pb 并提高其营养品质, 显著改善根际土壤的理化性质, 具有修复 Pb 污染土壤、保障蔬菜安全生产的潜力。

**关键词:**芽孢杆菌; 海泡石; 复配菌剂; 蔬菜; 铅; 田间试验

中图分类号: X53 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2019)06-1240-08 doi:10.11654/jaes.2018-1286

### Synergistic effect of *Bacillus thuringiensis* P34 and sepiolite on lead uptake of vegetables and remediation in Pb-contaminated soils

HE Zhuo, YIN Tu-tong, GE Zhan-biao, SHENG Xia-fang, HE Lin-yan\*

(Key Laboratory of Agricultural and Environmental Microbiology, Ministry of Agriculture, College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** In this study, a microbe-adsorption immobilization method was used to test the *in situ* remediation and safe production of vegetables in heavy metal contaminated farmlands. Field experiments were carried out on a lead-contaminated farmland adjacent a mine region in Qixia, Nanjing. The effects of *Bacillus thuringiensis* P34, sepiolite(S), and P34+S treatment on the growth, Pb accumulation, and nutritional quality of eggplants(SQ-1) and peppers(SJ-V), were assessed. The influence of the treatments on the physical and chemical properties of the plant rhizosphere soil was also analyzed. The Pb content of the eggplant and pepper fruits was significantly reduced by sepiolite, compared to the control. Furthermore, the P34+S treatment significantly reduced the Pb content of pepper and eggplant fruits by 58% and 26%, respectively. The biomass and nutritional quality of pepper fruits increased. Notably, the P34+S treatment significantly increased the pH, the number of spore-forming bacteria, the urease-sucrase activities and the amount of >1 mm aggregates in plant rhizosphere soils. On the other hand, it decreased the DTPA-extracted Pb content and the amount of <0.25 mm aggregates in plant rhizosphere soils. Our results show that the synergistic amendment of P34 and sepiolite can be used efficiently to stabilize and reclaim Pb-contaminated farmlands, inducing a low Pb uptake by vegetables and improving soil quality.

**Keywords:** *Bacillus thuringiensis*; sepiolite; synergistic amendment; vegetable; lead; field experiment

收稿日期: 2018-10-14 录用日期: 2018-12-13

作者简介: 贺卓(1992—), 男, 河南浚县人, 硕士研究生, 从事微生物-植物联合修复重金属污染研究。E-mail: 2015116059@njau.edu.cn

\*通信作者: 何琳燕 E-mail: helyan0794@njau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目(41471273)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(41471273)

铅(Pb)是我国污染范围和程度均较大的重金属,在Pb污染的农田上种植的农作物易受到毒害而减产、品质下降,蔬菜类作物还会积累Pb造成蔬菜Pb超标事件。Pb经食物链进入人体后会损坏中枢神经、肾脏,还会影响血液循环,对于儿童危害尤其严重<sup>[1]</sup>。因此,开展治理修复Pb等重金属污染土壤的研究显得十分重要。

重金属污染土壤钝化解毒修复技术可使土壤边生产边修复,可操作性强,近年来备受关注。在农田土壤中施用某些具有离子吸附特性的吸附剂可实现重金属钝化解毒修复的功效。海泡石(Sepiolite, S)是一种链式层状分子结构的富含镁的硅酸盐黏土矿物,理论化学分子式为 $Mg_8(H_2O)_4(Si_6O_{15})_2(OH)_4 \cdot 8H_2O$ ,其具有巨大的比表面积和较高的孔隙度,对重金属离子具有很强的吸附性和交换能力<sup>[2]</sup>,因此在重金属钝化修复领域备受关注。有研究者在常年污灌的菜地中按5%的比例添加海泡石后,土壤pH值显著提高,并使菠菜可食用组织Cd含量达到了国家安全标准<sup>[3]</sup>。但是许多修复剂(如石灰、黏土类钝化修复剂)会显著影响土壤的结构和理化性质,施用量较大时可能产生二次污染、阻碍植物微量元素吸收等不利影响,这将直接影响吸附剂的可持续应用<sup>[4]</sup>。

利用功能微生物来阻控农作物吸收重金属是生物钝化修复技术中的热点。细菌能够与植物根部竞争吸附土壤中的重金属,或者分泌胞外聚合物、 $H_2S$ 、多胺类物质等降低植物根际重金属的生物有效性。根际细菌还能通过分泌植物激素、分泌铁载体以及溶磷、固氮等作用促进植物生长,使农作物增产<sup>[5]</sup>。关于具有重金属抗性的植物根际促生菌(Plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)被用于生物钝化修复的研究和实践的报道已有许多。Dary等<sup>[6]</sup>在多种重金属复合污染的矿区展开田间试验,发现接种多株功能菌株的混合菌剂(*Bradyrhizobium* sp., *Pseudomonas* sp., *Ochrobactrum cytisi*)不仅能使黄羽扇豆的生物量显著增加,而且可以使其根和地上部Cd、Pb、Zn和Cu的含量显著降低。Wang等<sup>[7]</sup>研究发现功能菌株*Cupriavidus necator* Q2-8能使扬花萝卜根部As、Cd含量显著降低。

一些研究者试图应用细菌与吸附剂的联合作用,前人将一株*Bacillus* sp.与生物炭联合处理碱性土壤中的菜豆,发现二者的协同作用能增加根际土壤中的溶磷细菌数量,并促进菜豆的生长<sup>[8]</sup>。Chen等<sup>[9]</sup>研究发现菌株*Neorhizobium huautlense* T1-17与蛭石或草

炭复配可显著促进重金属重度污染土壤中的辣椒的生长,显著提高果实产量,同时有效阻控果实对Pb、Cd的积累。目前关于细菌与吸附剂联合阻控蔬菜吸收重金属的研究还不够深入。

本研究在南京市栖霞区铅锌银矿周边农田开展田间试验,以本实验室保藏的一株植物促生细菌*B. thuringiensis* P34作为供试菌株,以海泡石作为吸附剂,考察在Pb污染农田中供试菌株和海泡石对辣椒、茄子的生长、Pb积累及营养品质的影响,探究不同处理对蔬菜根际土壤理化性质的影响,旨在为今后微生物-吸附剂联合钝化修复技术在重金属污染农田安全生产中的应用提供试验基础和技术支持。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

供试蔬菜选择辣椒(*Capsicum annuum*, 苏椒五号)、紫茄(*Solanum melongena*, 苏琦一号),种子购自江苏省农科院种子站。供试菌株为本实验室保藏的*B. thuringiensis* P34(KY368122)。供试吸附剂为海泡石,选购于湘潭建联丰禾生物科技有限责任公司,使用前经过研磨并过200目筛。

### 1.2 发酵液和菌剂的制备

供试菌株P34单菌落经活化,再按0.5%的比例接种于液体培养基(酵母膏20.0 g,蔗糖20.0 g,NaCl 1.0 g,pH 5.5,水1000 mL)中,置于30℃、160 r·min<sup>-1</sup>摇床上培养24 h,即得到新鲜发酵液。将海泡石经121℃、60 min高压蒸汽灭菌后与新鲜发酵液(1 g:1.5 mL)混合,置于摇床上160 r·min<sup>-1</sup>振荡吸附1 h,37℃烘干,即得到复配菌剂<sup>[10]</sup>。

### 1.3 田间试验

田间试验在江苏省南京市栖霞山铅锌银矿周边一处农田(32°9.7' N,118°56.8' E)开展,土壤基本性质为:Pb(446±19.5) mg·kg<sup>-1</sup>,有机质(9.01±0.14) g·kg<sup>-1</sup>,pH(6.71±0.05)(土:水=1 g:2.5 mL),肥力适中。试验进行前将选定区域除去杂草和石块,翻耕,平整。选择4个约1 m<sup>2</sup>的矩形区块,区块间隔约30 cm。蔬菜种子经75%酒精表面消毒5 min后,播种至装有营养土的穴盘,置于光照温室培养,定期间苗补水。育苗周期为15 d。幼苗移栽前将菌剂或吸附剂与相应区块的表层土壤混匀。设置4个处理组,分别为:①不添加吸附剂或菌剂(CK),②添加75 g·m<sup>-2</sup>海泡石(S),③添加115 mL·m<sup>-2</sup> P34菌液(P34),④添加75 g·m<sup>-2</sup>复配菌剂(P34+S)。混匀后平衡3 d。移栽时处理

②和④的幼苗分别用10 mL菌液浸根。移栽后每种蔬菜留苗至少4株,作为4个重复。常规田间管理,于蔬菜花期追施有机肥。种植时间为2017年7月至9月。收获时铲去地表落叶层,将蔬菜植株连根拔出,轻轻抖落非根际土壤,用毛刷刷落黏附于根须上的土壤,即为根际土壤。妥善保存蔬菜植株、果实以及土壤样品。

## 1.4 土壤和植物样品的分析

### 1.4.1 蔬菜生物量

将辣椒、茄子的果实和植株清洗干净并沥干,称量鲜质量。将果实和茎叶组织在100℃下杀青30 min,然后在75℃下烘干至恒质量,称量干质量。

### 1.4.2 可食用组织Pb含量

将辣椒和茄子的果实作为可食用组织。将烘干的植物组织粉碎,准确称取0.300 g于微波消解仪中进行消解,5% HNO<sub>3</sub>定容后用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES)测定Pb浓度。

### 1.4.3 可食用组织营养品质

将新鲜的蔬菜果实研磨成匀浆,稀释后离心并去掉沉淀。上清液中V<sub>c</sub>浓度参考刘绍俊等<sup>[11]</sup>的方法,用钼蓝比色法测定;可溶性蛋白质浓度参考焦洁等<sup>[12]</sup>的方法,用考马斯亮蓝G-250法测定;可溶性糖的浓度参考单会姣等<sup>[13]</sup>的方法,用苯酚-硫酸法测定。计算每100 g新鲜可食用组织中各营养成分的含量。

### 1.4.4 芽孢细菌计数

准确称取1.000 g风干后研磨过200目筛的根际土壤,加10 mL无菌去离子水并充分振荡成土壤悬液。土壤悬液经80℃处理15 min后,稀释平板涂布法测定根际土壤中芽孢细菌的丰度。

### 1.4.5 根际土壤酶活性

土壤蔗糖酶和脲酶活性测定参照关松荫等<sup>[14]</sup>的方法进行。

### 1.4.6 根际土壤有效态Pb含量

DTPA提取剂的配制参照Li等<sup>[15]</sup>的方法进行。准确称取风干后研磨过200目筛的根际土壤,将其与DTPA提取剂按1:2的质量体积比混合,置于160 r·min<sup>-1</sup>摇床上室温振荡2 h,5000 r·min<sup>-1</sup>离心后取上清液,用ICP-OES测定上清液中Pb浓度,并计算每千克土壤样品中DTPA提取态Pb的含量。

### 1.4.7 根际土壤pH值

将风干并研磨过200目筛的根际土壤与去离子水按1:2.5的质量体积比混合,置于160 r·min<sup>-1</sup>摇床上室温振荡2 h,静置30 min,用pH计测定土壤pH。

## 1.4.8 根际土壤水稳性团聚体分布

采用湿筛法测定根际土壤的水稳性团聚体分布,参考Kemper等<sup>[16]</sup>的方法并稍作修改。具体方法为:准确称取风干过的块状根际土壤30~40 g,置于套筛顶部(套筛孔径从上至下依次为2、1、0.5、0.25 mm),用绳子将整个套筛固定好并将其缓缓放入水桶中,使水面漫过顶部套筛约5 cm,静置浸泡10 min后,手提套筛在水中以约30次·min<sup>-1</sup>的频率上下振动2 min,振幅控制在3 cm以内,振动结束后将套筛缓缓提出水桶,沥干水后测量每层套筛上及底盒中的土壤质量。计算粒径在>2、2~1、1~0.5、0.5~0.25、<0.25 mm范围内的团聚体所占的比例。

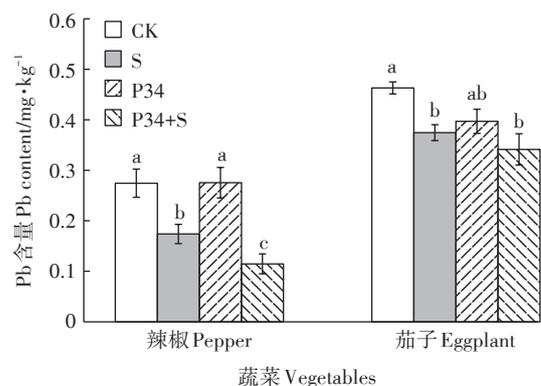
## 1.5 数据处理

本研究各处理均重复4次。试验数据利用SPSS 22.0软件进行单因素方差分析,Duncan's测验法进行差异显著性分析,并采用Microsoft Office 2016软件制表、作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理对辣椒和茄子生长和果实Pb含量及品质的影响

图1为各处理组辣椒和茄子可食用组织中的Pb含量。在Pb污染土壤上,苏椒五号辣椒果实的Pb含量低于苏琦一号茄子。与CK组相比,菌株P34对辣椒和茄子果实Pb含量均无显著降低作用,海泡石可显著降低蔬菜果实Pb含量,将菌株P34和海泡石复



误差线表示标准偏差;同一蔬菜品种带有不同小写字母表示在0.05水平差异显著。下同  
Error bars mean standard deviation; Different small letters indicate significant difference in the same variety of vegetables at 0.05 level. The same below

图1 不同处理对辣椒和茄子果实Pb含量的影响  
Figure 1 Effects of different treatments on Pb concentration in the vegetable fruits

配可进一步阻控辣椒积累Pb,与CK组相比,P34+S处理组辣椒和茄子果实Pb含量分别显著降低58%和26% ( $P<0.01$ ),辣椒果实Pb含量降低至 $0.11\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,较其他处理组更为接近国家食品安全标准(GB 2762—2017)中蔬菜果实的Pb限量 $0.10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

如图2所示,与CK组相比,供试菌株P34对蔬菜具有较强的促生效果,可使辣椒的地上部植株和果实生物量分别显著增加96.7%和296%,茄子地上部植株干质量显著增加148% ( $P<0.05$ )。同时,海泡石也可显著促进茄子地上部植株的生长。P34+S的处理对两种蔬菜植株均无明显促生效果,但能使辣椒果实显著增产1.5倍 ( $P<0.05$ )。

各处理组辣椒和茄子果实的营养品质状况如图3所示。苏椒五号辣椒的营养物质含量远高于苏琦一号茄子。与CK组相比,P34和海泡石复配处理后,

辣椒Vc、可溶性蛋白和可溶性糖含量分别显著增加7.1%、36.6%和27.8%,茄子可溶性蛋白和可溶性糖含量分别显著增加23.8%和28.8% ( $P<0.05$ )。供试菌株P34可显著提高茄子果实中Vc和可溶性糖含量、辣椒果实中可溶性蛋白含量。海泡石仅能增加辣椒和茄子果实的可溶性糖含量(10%和14.3%),对Vc和可溶性蛋白含量均无显著影响。

## 2.2 不同处理对辣椒和茄子根际土壤芽孢细菌数量和酶活性的影响

由表1可知,与CK组相比,接种供试菌株P34可使蔬菜根际土壤中芽孢细菌数量极显著上升,海泡石的施用则没有影响。P34+S复配处理可显著提高蔬菜根际土壤细菌芽孢丰度,可使辣椒和茄子根际土壤中细菌芽孢数量较CK组分别增加1.67倍和1.32倍,较海泡石处理组增加2.07倍和1.46倍 ( $P<0.05$ )。

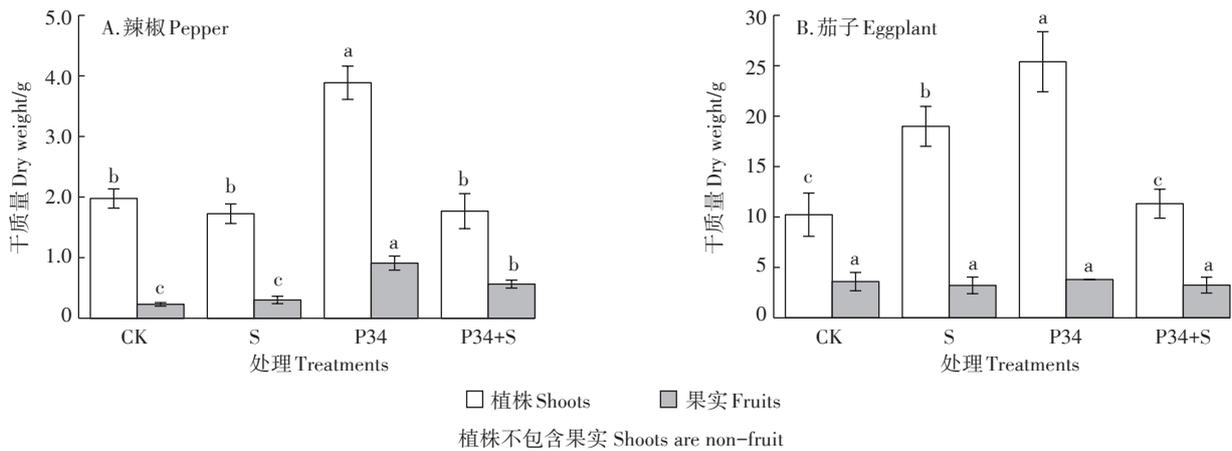


图2 不同处理对辣椒和茄子植株、果实生物量的影响

Figure 2 Effects of different treatments on biomass of vegetable shoots and fruits

表1 不同处理对辣椒和茄子蔬菜根际土壤性质的影响

Table 1 Effects of different treatments on rhizosphere soil properties of vegetables

蔬菜品种 Vegetable varieties	处理组 Treatments	芽孢细菌数量 Spore-producing bacteria amount/ $10^4\text{ CFU}\cdot\text{g}^{-1}$	蔗糖酶活性 Invertase activity/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot 24\text{ h}^{-1}$	脲酶活性 Urease activity/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot 24\text{ h}^{-1}$	DTPA提取态Pb含量 DTPA-extracted Pb content/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	pH
辣椒 Pepper	CK	$3.06\pm 0.16\text{c}$	$12.14\pm 0.33\text{d}$	$0.205\pm 0.010\text{c}$	$75.96\pm 0.35\text{a}$	$6.69\pm 0.03\text{b}$
	S	$2.66\pm 0.37\text{c}$	$13.94\pm 0.96\text{c}$	$0.156\pm 0.005\text{d}$	$75.92\pm 0.47\text{a}$	$6.71\pm 0.02\text{b}$
	P34	$6.92\pm 0.45\text{b}$	$15.34\pm 0.34\text{b}$	$0.331\pm 0.012\text{a}$	$74.90\pm 0.44\text{a}$	$6.70\pm 0.06\text{b}$
	P34+S	$8.16\pm 0.48\text{a}$	$24.90\pm 0.49\text{a}$	$0.287\pm 0.012\text{b}$	$68.74\pm 1.70\text{b}$	$6.83\pm 0.04\text{a}$
茄子 Eggplant	CK	$2.84\pm 0.54\text{b}$	$12.30\pm 0.60\text{b}$	$0.278\pm 0.015\text{b}$	$74.90\pm 0.27\text{b}$	$6.65\pm 0.03\text{c}$
	S	$2.68\pm 0.18\text{b}$	$11.34\pm 0.40\text{c}$	$0.278\pm 0.016\text{b}$	$77.89\pm 0.49\text{a}$	$6.71\pm 0.02\text{b}$
	P34	$7.31\pm 1.48\text{a}$	$19.77\pm 0.33\text{a}$	$0.343\pm 0.020\text{a}$	$74.61\pm 0.50\text{bc}$	$6.78\pm 0.02\text{a}$
	P34+S	$6.59\pm 0.28\text{a}$	$19.78\pm 0.49\text{a}$	$0.329\pm 0.013\text{a}$	$73.71\pm 0.71\text{c}$	$6.80\pm 0.03\text{a}$

注:结果用“平均值±标准偏差”的形式表示;用测定反应结束时土壤中酶促反应产物浓度代表酶活性。

Note: The results is showed in the format of “Mean value ± Standard deviation”; Enzyme activity means the enzymatic reaction product content in the tested soil.

各组处理对蔬菜根际土壤酶活性的影响如表1所示。接种供试菌株P34可使蔬菜根际土壤蔗糖酶和脲酶活性显著上升,海泡石的施用则基本没有影响。P34+S复配处理可显著提高蔬菜根际土壤酶活性,与CK组相比,使辣椒土壤蔗糖酶和脲酶活性分别提高1.0倍和0.4倍,使茄子根际土壤两种酶活性分别提高0.61倍和1.18倍( $P<0.05$ )。

### 2.3 不同处理对辣椒和茄子根际土壤pH和有效态Pb含量的影响

田间试验中蔬菜根际土壤pH值如表1所示。与CK组相比,海泡石和菌株P34对辣椒根际土壤pH均

无影响,而P34+S复配处理使其升高了0.14个单位( $P<0.05$ )。对于茄子而言,海泡石的添加可显著提高根际土壤pH( $P<0.05$ ),菌株P34与海泡石的复配处理则使其进一步提高,较CK处理组分别升高0.13个和0.15个单位。

蔬菜根际土壤中的DTPA提取态Pb含量如表1所示。与CK组相比,海泡石和菌株P34对蔬菜根际土壤有效态Pb含量均无降低效果,而菌株P34与海泡石的复配处理则可使辣椒和茄子根际土壤DTPA提取态Pb含量分别降低90.5%和98.4%( $P<0.05$ )。

### 2.4 不同处理对辣椒和茄子根际土壤水稳性团聚体比例的影响

田间试验结束时蔬菜根际土壤的0.25~2 mm级水稳性团聚体分布的情况如图4所示,与CK组相比,海泡石对蔬菜根际土壤的水稳性团聚体分布影响整体较小。菌株P34显著增加了辣椒根际土壤中中等粒径(1~0.5 mm)团聚体的比例,而P34与海泡石复配处理可使1 mm以上团聚体的比例增加16.2%,并使0.25 mm以下团聚体的比例减少29.6%( $P<0.01$ ),呈现团聚体粒径由小向大转化的趋势。对于茄子而言,菌株P34及复配处理可显著增加其根际土壤大粒径

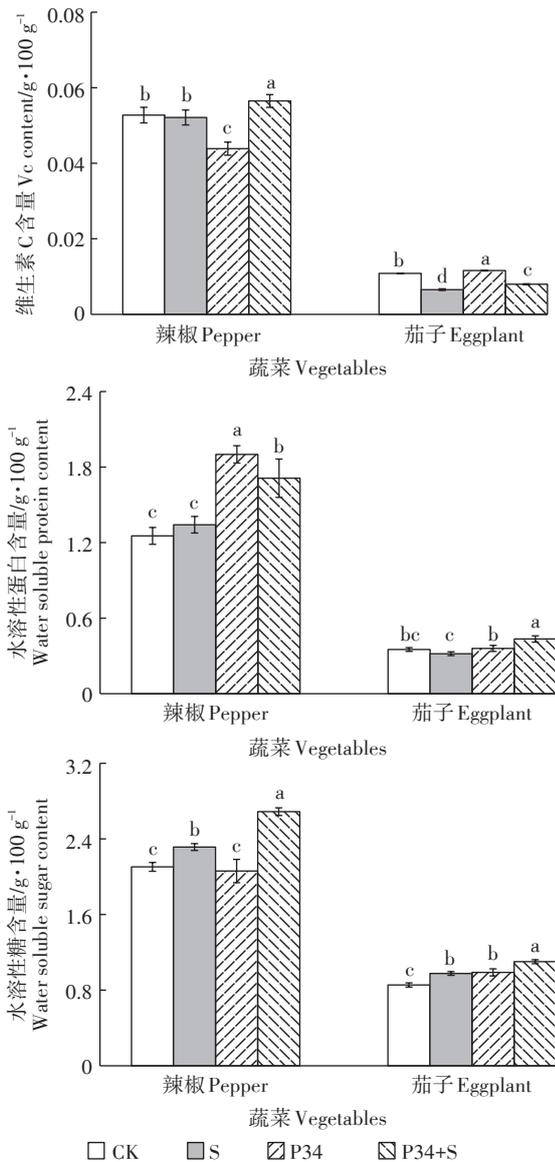


图3 不同处理对辣椒和茄子果实中维生素C、水溶性蛋白和水溶性糖含量的影响

Figure 3 Effects of different treatments on Vc, water soluble protein, water soluble sugar content of vegetable fruits

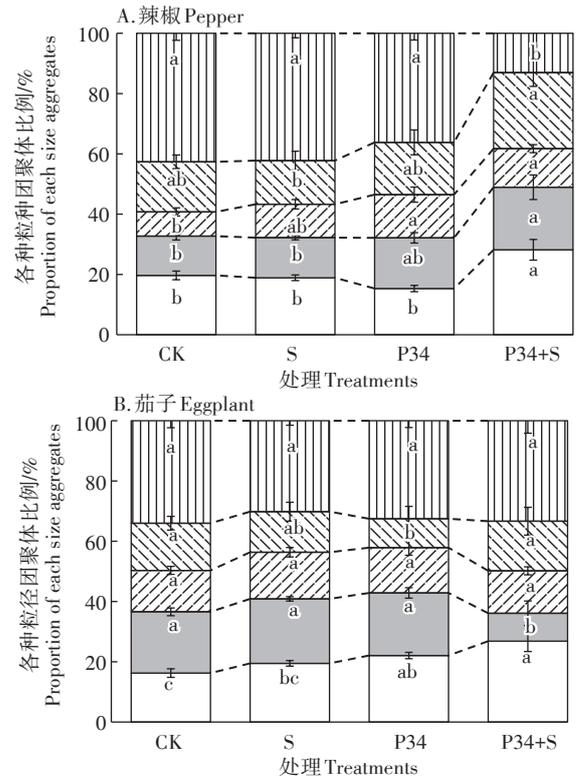


图4 不同处理对辣椒和茄子根际土壤团聚体比例的影响

Figure 4 Effects of treatments on soil aggregate distribution

(大于2 mm)团聚体的比例,而对小粒径(小于0.25 mm)团聚体比例则无显著影响。

### 3 讨论

土壤中的Pb元素会随着矿质元素一同被植物根部吸收,从而对植物的生长发育产生毒害,或降低其可食用组织的营养品质和安全性。过量的Pb元素还会改变农田土壤的理化性质和微生物生态,使其变得不适宜耕作。在本研究中,添加海泡石的处理有效降低了蔬菜果实中的Pb含量。方至萍等<sup>[17]</sup>的研究结果也表明海泡石可以有效减少植物积累Pb元素:当海泡石的添加量为 $9\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,可使水稻籽粒对Pb的富集系数下降约80%,并使籽粒Pb含量降至国家安全标准以下。本研究中的P34+S复配处理对Pb的阻控效果明显优于仅添加海泡石处理,并使Pb重度污染农田中的辣椒果实Pb含量更为接近国家食品安全标准(GB 2762—2017)中的相关规定,比Chen等<sup>[9]</sup>研究中的根瘤菌T1-17与蛭石或草炭复配处理低。

许多研究表明,污染土壤中的Pb会对植物生长产生显著的阻碍效应。细菌不仅能通过自身和代谢产物吸附Pb元素,阻碍植物吸收Pb从而缓解毒害,还能分泌植物激素或通过溶磷固氮作用促进植物生长<sup>[18]</sup>。在Esitken等<sup>[19]</sup>的研究中,两株芽孢杆菌OSU-142和M-3均能显著增加草莓果实的产量;Neiverth等<sup>[20]</sup>研究发现一株内生固氮菌SmR1能显著促进基因型CD120小麦的根毛伸长并使其增产。在本研究中菌株P34能够极显著促进辣椒和茄子地上部植株的生长,并显著使辣椒果实增产约300%,与其具有分泌铁载体、吡啶乙酸等植物促生特性有关<sup>[21]</sup>,说明接种菌株P34有效地缓解了Pb重度污染土壤中蔬菜所受到的抑制。Wang等<sup>[22]</sup>研究发现菌株*B. subtilis* 38与NovoGro肥混合施用可极显著阻控生菜吸收土壤中的Pb,并使其地上部生物量增加约40%,与本研究混合菌剂降低辣椒果实Pb含量并提高其生物量的结果相似。维生素C、蛋白质和可溶性糖含量均为蔬菜的重要营养品质,还可以视为植物受重金属胁迫程度的指标。菌株P34、海泡石均能不同程度地提高蔬菜的Vc、水溶性蛋白、水溶性糖含量,其中P34+S复配处理能显著提升辣椒果实的营养成分含量。关于功能细菌提升蔬菜营养品质的报道并不多见,刘晚苟等<sup>[23]</sup>研究普通化肥与微生物菌肥对蔬菜生长的影响,发现微生物菌肥能更多地提高辣椒果实中的维生素C、可溶性糖和叶绿素含量。

菌株P34属于芽孢杆菌属,芽孢抗逆性较强,比较根际土壤中芽孢细菌数量的变化可以间接、定性地反映供试菌株在农田土壤中定殖存活情况,并能够反映土壤是否适宜微生物生存。在本研究中,菌株P34和P34+S复配处理都使蔬菜根际土壤中的芽孢细菌数量显著增加,说明菌株P34在植物根际土壤中能有效定殖,或能显著影响并改善土壤环境,使芽孢菌的数量增加。韩美哲等<sup>[24]</sup>研究发现,施用苏云金芽孢杆菌菌剂能使棉花根际土壤中芽孢杆菌数量显著增加,且不会对土壤细菌群落结构产生负面影响。本研究中,单独施用海泡石对蔬菜根际土壤酶活性影响甚微,接种菌株P34和P34+S复配处理则可显著使土壤蔗糖酶和脲酶活性提高,与尹淑丽等<sup>[25]</sup>研究的结果相似。武志海等<sup>[26]</sup>研究发现,在黑土和盐碱土的混合土上接种*Pseudomonas* sp. wj1和*Enterobacter* sp. wj3可使大豆鼓粒期根际土壤蔗糖酶和脲酶活性均显著增加。蔗糖酶和脲酶的活性越高,农田土壤中有机物分解代谢作用越强,土壤肥力就越高。

植物从土壤中吸收并积累Pb受许多因素的影响,土壤的酸碱性、Pb的有效态含量、疏松程度都包括在内。土壤pH值是土壤的重要理化性质之一,同时也直接影响着重金属元素在土壤中的赋存形态。海泡石本身具有碱性,会提高蔬菜根际环境的土壤pH<sup>[27]</sup>。海泡石还具有较大的比表面积,加之其层状结构中含有大量的可交换阳离子,如Ca、Mg、Si等,因此海泡石极易吸附重金属离子,从而使土壤中生物可利用的重金属含量降低<sup>[27]</sup>。另一方面,细菌的代谢过程会产生碱性的多胺类物质并释放到环境中,引起环境pH升高。也有研究表明芽孢杆菌细胞壁上的-OH、-NH、-CO和-CO-NH-等官能团能络合重金属离子,使其变为非有效态<sup>[28]</sup>。细菌还能通过溶出磷酸和磷酸盐促使重金属向难溶的含磷化合物沉淀转变<sup>[29]</sup>。Touceda-Gonzalez等<sup>[30]</sup>研究表明,*Burkholderia phytofirmans* PsJN与钝化剂砾石污泥和菱铁矿协同作用可有效降低玉米品种Falkone和Fuxxol的根际土壤中 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 提取态Cd含量,与本研究结果相似。菌株P34和P34+S复配处理使茄子和辣椒根际土壤pH升高,生物有效态Pb含量显著下降,有效降低了辣椒和茄子受Pb污染的风险。因此还需进一步探究P34的代谢物是否含有碱性物质及其影响Pb有效性的机制。

团聚体是土壤的重要组成部分,影响着土壤空气、养分和水分的保持,并与土壤中重金属的生物有

效性有显著相关性。微生物及其代谢产物是影响土壤团聚体分布的重要因素。彭思利等<sup>[31]</sup>研究丛枝菌根对紫色土土壤性质的影响时发现, *G.intraradices* 和 *G.mosseae* 能显著提高土壤大粒径团聚体的比例。本研究中, P34+S 复配处理使辣椒根际土壤中粒径在 0.25 mm 以上的团聚体比例显著上升, 0.25 mm 以下的团聚体比例显著下降。海泡石较大的比表面积和较强的吸附性能促进微团聚体向中团聚体和大团聚体转化<sup>[32]</sup>, 此外, 细菌多糖或其他有机物对土壤颗粒的胶结作用使团聚体更加稳定; 细菌自身带有的负电荷能使土壤颗粒彼此连接; 细菌加快了土壤有机质的分解转化, 为团聚体的形成提供物质基础<sup>[33]</sup>。因此, 细菌与海泡石的复合处理更有利于大粒径土壤团聚体的形成。在一定范围内, 土壤团聚体粒径越大, 土壤越疏松, 越有利于植物的生长和土壤微生物的代谢活动, Pb 等重金属离子被包裹在土壤胶体颗粒内部的概率就越大, 这有利于阻控植物对重金属的吸收。

#### 4 结论

在严重 Pb 污染的田间环境下, 菌株 *B. thuringiensis* P34 与海泡石联合有效阻控辣椒和茄子积累 Pb, 改善果实品质, 提高了蔬菜根际土壤 pH、大粒径团聚体比例、芽孢细菌数量、蔗糖酶和脲酶活性, 显著降低根际土壤 DTPA 提取态 Pb 含量。

#### 参考文献:

- [1] 刘小燕, 陈棉彪, 李良忠, 等. 云南会泽铅锌冶炼厂周边土壤重金属污染特征及健康风险评估[J]. 农业资源与环境学报, 2016, 33(3): 221-229.  
LIU Xiao-yan, CHEN Mian-biao, LI Liang-zhong, et al. Contaminant characteristics and health risk assessment of heavy metals in soils from lead-zinc melting plant in Huize County, Yunnan Province, China[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2016, 33(3): 221-229.
- [2] 徐应明, 梁学峰, 孙国红, 等. 酸和热处理对海泡石结构及吸附 Pb<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>性能的影响[J]. 环境科学, 2010, 31(6): 1560-1567.  
XU Ying-ming, LIANG Xue-feng, SUN Guo-hong, et al. Effects of acid and heating treatments on the structure of sepiolite and its adsorption of lead and cadmium[J]. *Environmental Science*, 2010, 31(6): 1560-1567.
- [3] Sun Y, Sun G, Xu Y, et al. Assessment of sepiolite for immobilization of cadmium-contaminated soils[J]. *Geoderma*, 2013, 194: 149-155.
- [4] 罗涛, 黄东风, 何盈. 土壤重金属钝化剂的筛选及蔬菜降污专用肥应用效果研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(4): 1390-1395.  
LUO Tao, HUANG Dong-feng, HE Ying. Heavy metal passivators screening and the application effect of special fertilizer for reducing heavy metal pollution in vegetable[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(4): 1390-1395.
- [5] Solanki M K, Singh R K, Srivastava S, et al. Isolation and characterization of siderophore producing antagonistic rhizobacteria against *Rhizoctonia solani*[J]. *Journal of Basic Microbiol*, 2014, 54: 585-597.
- [6] Dary M, Chamber-Pérez M A, Palomares A J, et al. "In situ" phytostabilisation of heavy metal polluted soils using *Lupinus luteus* inoculated with metal resistant plant-growth promoting rhizobacteria[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 177: 323-330.
- [7] Wang X H, Nie Z W, He L Y, et al. Isolation of As-tolerant bacteria and their potentials of reducing As and Cd accumulation of edible tissues of vegetables in metal (loid)-contaminated soils[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 579: 179-189.
- [8] Saxena J, Rana G, Pandey M. Impact of addition of biochar along with *Bacillus* sp. on growth and yield of French beans[J]. *Scientia Horticulturae*, 2013, 162: 351-356.
- [9] Chen L, He L Y, Wang Q, et al. Synergistic effects of plant growth-promoting *Neorhizobium huautlense* T1-17 and immobilizers on the growth and heavy metal accumulation of edible tissues of hot pepper[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 312: 123-131.
- [10] Wang Q, Chen L, He L Y, et al. Increased biomass and reduced heavy metal accumulation of edible tissues of vegetable crops in the presence of plant growth-promoting *Neorhizobium huautlense* T1-17 and biochar[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2016, 228: 9-18.
- [11] 刘绍俊, 牛英, 刘冰浩, 等. 钼蓝比色法测定沙田柚果肉中还原型维生素 C 含量的研究[J]. 北方园艺, 2011(1): 8-12.  
LIU Shao-jun, NIU Ying, LIU Bing-hao, et al. Study on determination of the content of reduction-type Vc in Chinese grapefruit's sarcocarp with phosphomolybdate - blue spectrophotometry[J]. *Northern Horticulture*, 2011(1): 8-12.
- [12] 焦洁. 考马斯亮蓝 G-250 染色法测定苜蓿中可溶性蛋白含量[J]. 农业工程技术, 2016, 6: 33-34.  
JIAO Jie. Study on determination of soluble protein content in alfalfa with Comus brilliant blue G-250[J]. *Agricultural Engineering Technology*, 2016, 6: 33-34.
- [13] 单会娇, 王冰. 龙葵药材中可溶性糖的动态积累[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9): 100-102.  
SHAN Hui-jiao, WANG Bing. *Solanum nigrum* in dynamic accumulation of soluble sugar[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2010, 16(9): 100-102.
- [14] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 274-276, 294-297.  
GUAN Song-yin. Soil enzyme and its research methods[M]. Beijing: Agriculture Press, 1986: 274-276, 294-297.
- [15] Li S J, Zhang T, Li J F, et al. Stabilization of Pb(II) accumulated in biomass through phosphate-pretreated pyrolysis at low temperatures[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 324: 464-471.
- [16] Kemper W D, Rosenau R C. Methods of soil analysis[M]/Part 1: Physical and mineralogical methods. 2<sup>nd</sup> ed, Madison: America Society of Agronomy, 1986: 425-442.
- [17] 方至萍, 廖敏, 张楠, 等. 施用海泡石对铅、镉在土壤-水稻系

- 统中迁移与再分配的影响[J]. 环境科学, 2017, 38(7):3028-3035.
- FANG Zhi-ping, LIAO Min, ZHANG Nan, et al. Effect of sepiolite application on the migration and redistribution of Pb and Cd in soil rice system in soil with Pb and Cd combined contamination[J]. *Environmental Science*, 2017, 38(7):3028-3035.
- [18] Ying M, Rajkumar M, Chang Z, et al. Inoculation of *Brassica oxyrrhina* with plant growth promoting bacteria for the improvement of heavy metal phytoremediation under drought conditions[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 320:36-44.
- [19] Estiken A, Yildiz H E, Ercisli S, et al. Effect of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry[J]. *Scientia Horticulturae*, 2010, 124:62-66.
- [20] Neiverth A, Delai S, Garcia D M, et al. Performance of different wheat genotypes inoculated with the plant growth promoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae*[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2014, 64: 1-5.
- [21] 庞海东, 贺卓, 燕传明, 等. 耐重金属的植物促生芽孢杆菌筛选及其强化香蒲去除Cd的作用[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(11):2314-2321.
- PANG Hai-dong, HE Zhuo, YAN Chuan-ming, et al. Isolation of heavy metal resistant and plant growth promoting *Bacillus* strains and effects on cadmium removal by *Typha angustifolia*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(11):2314-2321.
- [22] Wang T, Sun H W, Mao H J, et al. The immobilization of heavy metals in soil by bioaugmentation of a UV-mutant *Bacillus subtilis* 38 assisted by NovoGro biostimulation and changes of soil microbial community[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 278:483-490.
- [23] 刘晚苟, 陈月女, 张燕群, 等. 微生物菌肥及施肥方式对辣椒品质的影响[J]. 热带农业科学, 2014, 34(12):5-8.
- LIU Wan-gou, CHEN Yue-nv, ZHANG Yan-qun, et al. Effects of microbial fertilizer and its application methods on quality of pepper[J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2014, 34(12):5-8.
- [24] 韩美哲, 王小显, 刘常宏, 等. 苏云金芽孢杆菌菌剂对棉花根际土壤细菌数量及多样性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2013, 21(10):1277-1283.
- HAN Mei-zhe, WANG Xiao-xian, LIU Chang-hong, et al. Effects of *Bacillus thuringiensis* agent on bacterial population and diversity in cotton rhizosphere soil[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2013, 21(10):1277-1283.
- [25] 尹淑丽, 张丽萍, 张根伟, 等. 复合微生态菌剂对黄瓜根际土壤微生物数量及酶活的影响[J]. 微生物学杂志, 2012, 32(1):23-27.
- YIN Shu-li, ZHANG Li-ping, ZHANG Gen-wei, et al. Effects of complex microbial agents on cucumber rhizosphere soil microbial quantity and enzyme activity[J]. *Journal of Microbiology*, 2012, 32(1):23-27.
- [26] 武志海, 刘晶晶, 付丽, 等. 溶磷菌对大豆根际土壤酶活性及微生物群落的影响[J]. 中国农业大学学报, 2017, 22(11):58-67.
- WU Zhi-hai, LIU Jing-jing, FU Li, et al. Effect of phosphate-solubilizing bacteria on the soil enzyme activities and microecology of soybean rhizosphere[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2017, 22(11):58-67.
- [27] 王林, 徐应明, 孙国红, 等. 海泡石和磷酸盐对镉铅污染稻田土壤的钝化修复效应与机理研究[J]. 生态环境学报, 2012, 21(2):314-320.
- WANG Lin, XU Ying-ming, SUN Guo-hong, et al. Effect and mechanism of immobilization of paddy soil contaminated by cadmium and lead using sepiolite and phosphate[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2012, 21(2):314-320.
- [28] 刘红娟, 张慧, 党志. 一株耐镉细菌的分离及其富集Cd的机理[J]. 环境工程学报, 2009, 3(2):367-371.
- LIU Hong-juan, ZHANG Hui, DANG Zhi. Isolation and bio-accumulation mechanisms of a Cd-resisting bacterium[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2009, 3(2):367-371.
- [29] Cao X, Wahbi A, Ma L, et al. Immobilization of Zn, Cu, and Pb in contaminated soil using phosphate rock and phosphoric acid[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 164:555-564.
- [30] Touceda-Gonzalez M, Brader G, Antonielli L, et al. Combined amendment of immobilizers and the plant growth-promoting strain *Burkholderia phytofirmans* PsJN favours plant growth and reduces heavy metal uptake[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2015, 91:140-150.
- [31] 彭思利, 申鸿, 袁俊, 等. 丛枝菌根真菌对中性紫色土壤团聚体特征的影响[J]. 生态学报, 2011, 32(2):498-505.
- PENG Si-li, SHEN Hong, YUAN Jun, et al. Impacts of arbuscular mycorrhizal fungi on soil aggregation dynamics of neutral purple soil[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 32(2):498-505.
- [32] 王润珑, 王农, 徐应明, 等. 海泡石对镉污染土壤团聚体稳定性和有机碳含量的影响[J]. 水土保持学报, 2017, 31(6):176-182.
- WANG Run-long, WANG Nong, XU Ying-ming, et al. Effect of sepiolite on the stability of aggregate and content of organic carbon in Cd contaminated soil[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2017, 31(6):176-182.
- [33] 文倩, 关欣. 土壤团聚体形成的研究进展[J]. 干旱地区研究, 2004, 21(4):434-438.
- WEN Qian, GUAN Xin. Progress in the study on soil aggregate formation[J]. *Arid Zone Research*, 2004, 21(4):434-438.