



添加*Delftia* sp. B9对土壤Cd形态分布及水稻吸收积累Cd的影响

刘玉玲, 姚俊帆, 丁司铎, 伍德, 张朴心, 铁柏清, 罗斯

引用本文:

刘玉玲, 姚俊帆, 丁司铎, 伍德, 张朴心, 铁柏清, 罗斯. 添加*Delftia* sp. B9对土壤Cd形态分布及水稻吸收积累Cd的影响[J]. *农业资源与环境学报*, 2023, 40(6): 1339–1348.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13254/j.jare.2022.0704>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

广东典型镉污染稻田土壤镉的生物有效性测定方法及风险管控值初探

李吉宏, 聂达涛, 刘梦楠, 毛小云, 廖宗文, 陈娴

农业资源与环境学报. 2021, 38(6): 1094–1101 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2021.0549>

小麦秸秆生物质炭对碱性土壤中油菜生长和镉吸收的影响

任心豪, 陈乔, 李锦, 贺飞, 吴思沛, 郭军康

农业资源与环境学报. 2021, 38(1): 119–126 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2020.0012>

施加脱硫石膏对紫色土壤-水稻系统重金属累积的影响

胡翔宇, 向秋洁, 罗伯林, 尚二凤, 木志坚

农业资源与环境学报. 2018, 35(5): 459–466 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2018.0044>

环丙沙星和镉复合污染土壤中镉的生物可给性及其动态变化

郭剑波, 常旭卉, 陈龙, 刘小苒, 王淑平

农业资源与环境学报. 2021, 38(2): 185–190 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2020.0174>

膨润土对轻度镉污染土壤钝化修复效应研究

徐奕, 赵丹, 徐应明, 孙约兵

农业资源与环境学报. 2017, 34(1): 38–46 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2016.0208>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

刘玉玲, 姚俊帆, 丁司铎, 等. 添加 *Delftia* sp. B9 对土壤 Cd 形态分布及水稻吸收积累 Cd 的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2023, 40(6): 1339–1348.
LIU Y L, YAO J F, DING S D, et al. Effects of inoculation with the cadmium-resistant bacterium *Delftia* sp. B9 on soil Cd stabilization and reduction of Cd bioaccumulation in rice[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2023, 40(6): 1339–1348.

添加 *Delftia* sp. B9 对土壤 Cd 形态分布及水稻吸收积累 Cd 的影响

刘玉玲^{1,2}, 姚俊帆^{1,2}, 丁司铎¹, 伍德^{1,2}, 张朴心^{1,2}, 铁柏清^{1,2}, 罗斯^{1*}

(1. 湖南农业大学资源环境学院, 长沙 410128; 2. 湖南省灌溉水源水质污染净化工程技术研究中心, 长沙 410128)

摘要:为探究耐镉细菌 *Delftia* sp. B9(菌株 B9)对土壤镉(Cd)形态、水稻吸收 Cd 及土壤微生物群落结构的影响,本研究通过盆栽种植试验,在中度 Cd 污染土壤中施加不同添加量的菌株 B9,并将最佳添加量应用在田间试验中验证菌株 B9 对土壤 Cd 的钝化作用及降低稻米 Cd 含量的效果。结果表明:盆栽试验中,与对照(CK)相比,菌株 B9 不同添加量均可显著提高土壤 pH 值,DTPA 提取有效态 Cd 含量显著降低 4.72%~15.65%,糙米 Cd 含量显著降低 22.87%~59.90%。其中,菌株 B9 添加量为 1.28 g·盆⁻¹(T2)时,土壤 Cd 的钝化效果及降低稻米 Cd 效果最好。与 CK 相比,T2 处理可显著促进土壤弱酸可溶态 Cd 向可还原态、可氧化态及残渣态 Cd 转化。同时,T2 处理显著提高了土壤微生物可操作分类单元(OTU)数,土壤微生物群落多样性及丰富度指数(ACE、Chao1、Shannon)均显著增加,菌株 B9 所属变形菌门(Proteobacteria)相对丰度显著增加。小区(株洲)早晚稻及大区(浏阳)中稻试验中,菌株 B9 添加量为 12.50 g·m⁻²时,稻米中 Cd 含量较对照组降低 28.38%~91.43%。研究表明,添加菌株 B9 可降低土壤 Cd 潜在风险,降低中度 Cd 污染土壤中水稻吸收积累 Cd 的量,使稻米 Cd 含量符合国家食品卫生标准。

关键词: *Delftia* sp. B9; 镉; 形态; 稻米; 微生物群落

中图分类号: X53; X17

文献标志码: A

文章编号: 2095-6819(2023)06-1339-10

doi: 10.13254/j.jare.2022.0704

Effects of inoculation with the cadmium-resistant bacterium *Delftia* sp. B9 on soil Cd stabilization and reduction of Cd bioaccumulation in rice

LIU Yuling^{1,2}, YAO Junfan^{1,2}, DING Siduo¹, WU De^{1,2}, ZHANG Puxin^{1,2}, TIE Baiqing^{1,2}, LUO Si^{1*}

(1. College of Resources and Environment, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Engineering Research Center for Water Pollution Purification of Irrigation Source in Hunan Province, Changsha 410128, China)

Abstract: Bioremediation of Cd-polluted soil using metal-resistant bacteria has received increasing attention. In the present study, pot experiments were conducted to investigate the changes in soil Cd speciations, rice grain Cd accumulation, and soil microbial community structure after different *Delftia* sp. B9 biomass inoculations in the soil. Additionally, the optimum additive amounts of B9 were applied in the field experiments to verify the reductions of Cd in rice grain. The results showed that all different treatments with B9 biomass inoculations significantly increased soil pH and decreased the content of bioavailable Cd (extracted by DTPA) by 4.72%–15.65%. In comparison with CK, treatments with B9 addition decreased the Cd concentration in grains by 22.87%–59.90%; all grain Cd levels in the pot trials were within the acceptable range for food security in China (0.2 mg·kg⁻¹). T2 (B9 application: 1.28 g·pot⁻¹) was the most effective remediation treatment that enhanced soil Cd fractionations into more stable forms and significantly reduced Cd accumulation in rice grains.

收稿日期: 2022-10-08 录用日期: 2023-01-03

作者简介: 刘玉玲(1992—),女,山东泰安人,博士研究生,从事农田重金属污染治理与修复研究。E-mail: 2227283058@qq.com

*通信作者: 罗斯 E-mail: Rose850101@163.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(U20A20108); 国家重点研发计划项目(2022YFD1701002)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China (U20A20108); National Key Research and Development Program of China (2022YFD1701002)

The treatment T2 significantly increased the operational taxonomic units (OTUs) and microbial community richness and diversity indexes (ACE, Chao1, and Shannon). The relative abundance of Proteobacteria (B9 is a member of this phylum) increased significantly. The application rate of B9 was $12.50 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$, which significantly reduced the Cd accumulation by 28.38%–91.43% for rice grains in field conditions. Studies have shown that the application of B9 reduces the potential environmental risks posed by Cd in soils and improves food safety.

Keywords: *Delftia* sp. B9; cadmium; speciation; rice grain; microbial community

土壤重金属污染具有不可降解性、累积性和高毒性^[1],进入土壤后会造成作物质量和产量下降,同时通过食物链在生物体内累积,对生物体造成不可逆的损害^[2-3]。水稻是我国主要的粮食作物之一^[4],近年来,镉(Cd)污染已成为南方地区突出的粮食安全问题。土壤中Cd主要以 Cd^{2+} 形态通过水稻根系进入水稻体内,再经木质部装载并转运至地上部分,被分配至各组织器官后沉积,其毒性作用会造成水稻产量降低、籽粒Cd含量超标^[5]。如何降低土壤中Cd的有效性、降低稻米Cd污染、保证稻米安全生产,是Cd污染地区亟待解决的问题。

近年来,针对土壤Cd污染问题,微生物修复法得到越来越多关注。微生物作为土壤中的活性胶体,具有比表面积大、带电荷、代谢活动旺盛、种类繁多、数量多等特点,土壤微生物不仅参与土壤中污染物的循环过程,还可作为环境载体吸附重金属污染物^[6]。微生物对土壤中重金属的钝化作用主要通过生物吸附、转化、沉淀及溶解作用实现^[7]:①微生物可通过细胞壁表面的官能团(如巯基、羧基和羟基等)以离子或共价键形式吸附Cd^[8];②可通过离子转运系统将Cd吸收到细胞内特定部位并固定^[9];③其代谢产物能与Cd形成胞外络合物,促进生物矿化或沉淀^[10];④具有特定功能的微生物(如硫酸盐还原菌)能够将硫酸盐还原成 S^{2-} 、 HS^- 和 H_2S ,进一步与Cd反应生成难溶性金属硫化物^[11-12]。由此可见,微生物可通过降低土壤中Cd的生物有效性抑制水稻根系对Cd的吸收。另外,具有根际促生能力的菌株通过根表定殖成为拦截水稻吸收转运Cd的一道屏障,降低植物对Cd的吸收和转运,提高植株的总抗氧化能力^[13-14]。

微生物是土壤的重要组分,其群落组成、活性和稳定性对土壤功能非常重要^[15]。外源添加细菌会造成土壤微生物生存环境的改变,导致土壤微生物群落组成和功能发生一系列的变化。分析土壤微生物群落结构组成及多样性等指标可为农田生态系统的修复过程提供有价值的信息。细菌*Delftia* sp. B9是从Cd污染土壤中筛选分离的一株耐Cd细菌^[16],*Delftia*

菌属是1999年由Wen等^[17]建立的菌属,目前对该类菌的研究主要集中于其对有机污染物的降解或对金属的转化^[18-20]。本课题组前期研究已表明菌株B9能改变土壤中的Cd形态,其机理主要是通过蛋白质上的官能团吸附 Cd^{2+} ^[21],减少生物可利用Cd的含量,从而降低水稻对Cd的吸收^[5,22]。但对于该菌株降低土壤有效态Cd含量及减少稻米吸收Cd的适宜用量还未进行研究,不同外源添加量对土壤微生物群落的影响也尚不清楚,且该菌株多用于盆栽试验,还未有研究将其用于环境复杂和条件不可控制的田间试验。

本研究使用耐Cd菌株B9,研究其不同添加量对土壤Cd形态、水稻吸收积累Cd以及土壤微生物群落结构的影响,并结合盆栽试验结果选择合理添加量进行田间试验验证,选择水肥施用更加均匀、日常管理更加精细但面积较小的小区试验,以及面积更大、水肥及日常管理更加贴近于实际农业生产活动的大区试验,为菌株B9的实际应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试菌株

本研究所用耐Cd菌株为*Delftia* sp. B9,分离自湖南省株洲市霞湾地区某冶炼厂周边表层土壤^[16]。基因登录号:MF679148,菌种保藏号:CGMCC No.16073。

试验用菌液按照文献[21]所述方法制备。

1.1.2 供试土壤

盆栽试验土壤采自湖南省株洲县南州镇泗马村稻田,采样深度0~20 cm。土壤理化性质如表1所示。土壤总Cd含量是《土壤环境质量 农用地土壤污染风险管控标准(试行)》(GB 15618—2018)规定Cd污染风险筛选值的3.4倍。

田间试验包括小区试验和大区试验。小区试验位于湖南省株洲县南州镇,大区试验位于湖南省长沙市浏阳市蕉溪乡,其土壤理化性质见表1。

1.1.3 供试水稻

根据当地种植习惯,盆栽及小区试验种植双季早

表 1 供试土壤基本理化性质

Table 1 Basic physicochemical properties of the paddy soils

项目 Item	有机质 Organic matter/ (g·kg ⁻¹)	阳离子交换量 Cation exchange capacity/ (cmol·kg ⁻¹)	全氮 Total N/ (g·kg ⁻¹)	有效磷 Available P/ (mg·kg ⁻¹)	速效钾 Available K/ (mg·kg ⁻¹)	pH	总镉 Total Cd/ (mg·kg ⁻¹)	有效态镉 Available Cd/ (mg·kg ⁻¹)
盆栽试验	34.41	10.69	1.97	26.69	142.18	5.85	1.36	0.89
小区试验	32.32	11.70	1.61	24.30	178.94	5.75	0.93	0.52
大区试验	24.80	5.40	1.48	15.70	96.67	6.02	1.40	0.82

晚稻(早稻:中嘉早 17 号,籼型常规稻;晚稻:浚优 9803,籼型三系杂交稻),大区试验种植单季中稻(晶两优华占,籼型两系杂交稻),试验所用水稻品种均为湖南省农业农村厅推荐的 Cd 低积累水稻品种。

1.1.4 盆栽试验桶

盆栽桶为红色聚乙烯材质,上口直径 36 cm、下口直径 33 cm、桶高 30 cm。每个盆栽桶装入 25 kg 风干土壤。土壤淹水紧实后,土层表面积约为 0.10 m²。

1.2 试验设计

盆栽试验于 2020 年进行,早晚稻移栽及收获与当地种植习惯一致。新鲜菌液于早稻移栽前 7 d 施入盆栽土壤中并混匀,晚稻种植前不再施用。试验设置 4 个处理(表 2),每个处理重复 3 次。水稻移栽前 3 d,根据当地正常的水稻栽培施肥量进行换算,每个试验桶中均匀施加复合肥 6.67 g。肥料与土壤混匀,淹水 3~5 cm。选取长势均匀一致的秧苗移栽至盆内,每盆种植 5 蔸,每蔸 3 株。其他管理措施按当地习惯进行。

田间试验(小区试验和大区试验)于 2021 年进行,根据盆栽试验结果,选取对水稻降 Cd 效果最佳的菌株添加量作为田间试验菌株添加量,新鲜菌液于水稻移栽前 7 d 均匀施入土壤(仅施用一次)。小区试验设置对照组和试验组(表 3),每组试验重复 3 次,共 6 个小区,每个小区面积为 30 m²。小区间作埂高 30 cm,覆盖农膜,并留 30 cm 宽的灌排水沟,单排单灌。在全生育期进行淹水处理,施肥及病虫害管理参照当地习惯进行。大区试验设置对照组和试验组(表 3),每组面积约为 666.67 m²,两组田块间作埂高 30 cm。在全生育期进行淹水处理,施肥及病虫害管理参照当地习惯进行。由于小区及大区试验所需菌液量大,菌株 B9 利用发酵罐培养后进行抽滤浓缩,施用前将新鲜菌液稀释至 12.50 g·L⁻¹ 撒施于土壤并混匀。

1.3 测定指标与方法

盆栽土壤 pH:在水稻分蘖期、抽穗期、成熟期采用氧化还原电位(ORP)去极化法全自动测定仪(FJA-6 型,南京传滴仪器设备有限公司,中国)原位

表 2 盆栽种植试验设计

Table 2 Details of treatments of pot experiments

处理 Treatment	操作规程 Operation
CK	对照,未添加菌悬液,正常水分管理
T1	每盆添加 200 mL 菌悬液(菌体干质量 0.64 g),其余同 CK
T2	每盆添加 400 mL 菌悬液(菌体干质量 1.28 g),其余同 CK
T3	每盆添加 800 mL 菌悬液(菌体干质量 2.56 g),其余同 CK

表 3 田间小区及大区试验设计

Table 3 Details of treatments of field experiments

处理 Treatment	操作规程 Operation
对照组	未添加菌悬液,正常水分管理
株洲小区试验组	添加菌悬液(菌体干质量 12.50 g·m ⁻²),其余同对照组
浏阳大区试验组	添加菌悬液(菌体干质量 12.50 g·m ⁻²),其余同对照组

测定土壤 pH。

水稻根茎叶和籽粒 Cd 含量:盆栽种植试验分别于水稻分蘖期、抽穗期、成熟期采集植株样品,小区及大区试验于水稻成熟期采集稻米样品,植株样品各部位按照文献[22]所述方法进行处理,采用电感耦合等离子体发射光谱(ICP Optima8300,PE 公司,美国)测定 Cd 的含量。

盆栽土壤 Cd 测定:土壤样品与水稻样品同步采集。土壤风干后研磨,过 0.15 mm 的尼龙筛,标记好装入塑料密封袋内保存待用。土壤样品经混合酸 HCl-HNO₃-HClO₄ 消解、定容。土壤有效态 Cd 采用 DTPA 法^[23]提取。土壤 Cd 形态分析采用 BCR 顺序提取法^[24],提取弱酸可溶态、可还原态、可氧化态、残渣态(消解法)。土壤 Cd 含量均采用 ICP 测定。

盆栽土壤细菌群落:土壤(菌株施用于土壤前以及晚稻成熟期土壤)于 -80 °C 条件下保存,用于高通量测序分析土壤细菌群落组成。DNA 提取和 PCR 扩增采用 DNA 提取试剂盒 FastDNA™ SPIN Kit(MP Bio-medicals, Solon, OH, 美国)按照操作说明进行,称取 5 g 土壤,提取土壤样品总 DNA。采用 16S rDNA 基因的 V3~V4 区(515 F-806 R)5'~3': ACTCCTACGGGAG-

GCAGCA, GGACTACHVGGGTWTCTAAT 为测序引物,对稀释后的DNA进行PCR扩增;对PCR产物进行处理、文库构建和上机测序,检测PCR产物并回收产物。利用Qubit 3.0检测试剂盒对回收的DNA精确定量,按照1:1等量混合后测序。

1.4 数据处理及分析

运用IMB SPSS 22.0对数据进行统计分析,差异显著性采用ANOVA单因素方差分析。运用Origin 8.5软件对数据进行图表处理。Pearson相关性分析、冗余分析及聚类分析采用R 3.5.3完成。

2 结果与分析

2.1 添加菌株B9对盆栽土壤pH的影响

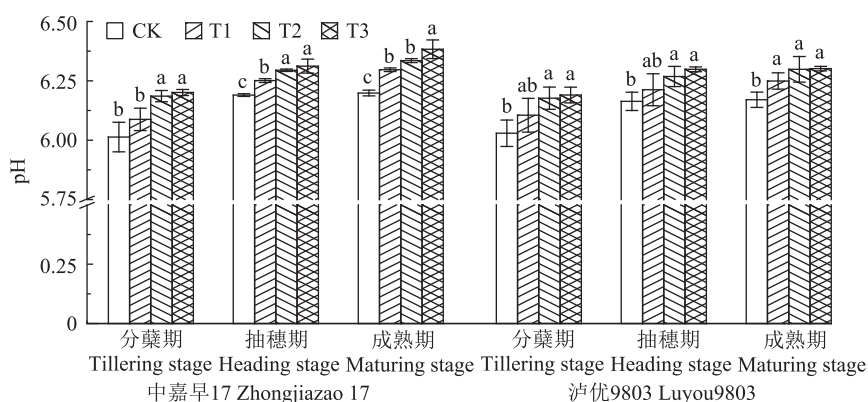
在水稻种植期间,各处理土壤pH值均有升高(图1)。与对照(CK)相比,添加菌株B9的处理(T1、T2、T3)在水稻生长不同时期均能明显提高土壤pH。早

稻成熟期,各处理pH大小表现为T3>T2≈T1>CK;与CK相比,T1、T2、T3分别使土壤pH显著增加1.57%、2.20%、2.97%。晚稻成熟期,T1、T2、T3处理土壤pH无显著性差异,但均显著高于CK;与CK相比,T1、T2、T3分别使土壤pH显著增加1.29%、2.06%、2.13%。

2.2 添加菌株B9对盆栽土壤Cd有效态及各形态分布的影响

添加菌株B9各处理均能降低盆栽土壤有效态Cd含量(图2)。与CK相比,早稻成熟期T1、T2、T3处理土壤有效态Cd含量分别显著降低4.72%、14.57%、11.48%;晚稻成熟期T1、T2、T3处理土壤有效态Cd含量分别显著降低8.06%、15.65%、12.52%。其中,T2处理有效态Cd含量在早晚稻成熟期均显著低于其他处理。

盆栽试验土壤中Cd各形态占比如图3所示:弱



不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同。
Different lowercase letters represent significant differences among treatments ($P<0.05$). The same below.

图1 菌株B9不同添加量对盆栽土壤pH的影响

Figure 1 Effects of biomass content of *Delftia* sp. B9 on soil pH value in pot experiments

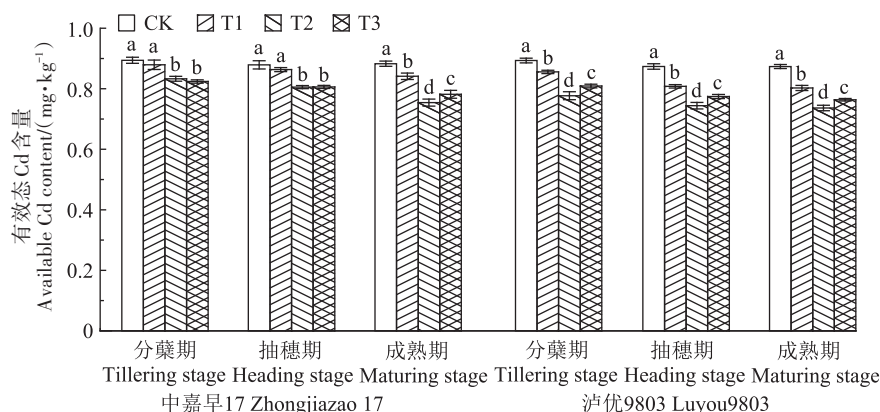


图2 菌株B9不同添加量对盆栽土壤有效态Cd的影响

Figure 2 Effects of biomass content of *Delftia* sp. B9 on soil available Cd in pot experiments

酸可溶态>可还原态>残渣态>可氧化态。与CK相比,T1、T2、T3处理均能使早、晚稻成熟期土壤Cd形态发生改变。其中,弱酸可溶态Cd含量均显著降低,可还原态、可氧化态、残渣态Cd含量均增加。与CK相比,T1、T2、T3处理早、晚稻成熟期弱酸可溶态Cd含量分别显著减少3.33%~10.13%、4.33%~9.77%,弱酸可溶态Cd降幅表现为T2>T3>T1;可还原态Cd含量分别显著增加1.87%~4.33%、3.30%~6.07%;早、晚稻成熟期残渣态Cd含量均显著增加,残渣态Cd增加量表现为T3>T2>T1,但T1、T2、T3处理之间无显著差异;早稻成熟期,T2处理土壤可氧化态Cd含量显著增加;晚稻成熟期,T2、T3处理均能显著增加土壤可氧化态Cd含量。

土壤pH、有效态Cd及Cd形态之间的相关性结果如表4所示。pH与有效态Cd含量呈极显著负相关($P<0.01$),相关系数为-0.70;pH与弱酸可溶态Cd呈极显著负相关($P<0.001$),相关系数为-0.71。pH与可还原态Cd呈极显著正相关($P<0.001$),相关系数为

0.66。有效态Cd含量与可还原态Cd含量、可氧化态Cd含量、残渣态Cd含量均呈极显著负相关($P<0.001$),相关系数分别为-0.92、-0.64、-0.72。

2.3 添加菌株B9对水稻吸收积累Cd的影响

2.3.1 对盆栽种植水稻各部位Cd的影响

与CK相比,添加菌株B9的处理均可以减少盆栽试验早晚稻各部位Cd含量(图4)。与CK相比,T2、T3处理可使早稻(中嘉早17)根部Cd含量分别显著减少32.61%、15.84%(图4a);T1、T2均可显著减少早稻茎和叶中Cd含量;T1、T2、T3均可显著减少早稻谷壳和糙米中Cd含量,糙米中Cd含量分别显著减少55.10%、59.90%、22.87%。在盆栽早稻试验中,所有处理的糙米中Cd含量均低于 $0.20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,均符合《食品安全国家标准 食品中污染物限量》(GB 2762—2017)标准要求。

在盆栽晚稻试验中(图4b),与CK相比,T1、T2、T3处理均可减少晚稻(泸优9803)根、叶、糙米Cd含量,晚稻糙米中Cd含量分别降低33.34%、32.05%、25.05%,糙米中Cd含量均降至 $0.20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 以下,达到国家食品卫生标准允许的Cd含量水平。

2.3.2 对田间小区及大区试验稻米Cd的影响

综合盆栽试验结果可以得出,T2处理对土壤Cd的钝化效果及降低水稻积累Cd的效果最佳,因此,选择T2处理的菌株B9添加量进行小区及大区试验来验证B9在田间试验中的效果。由图5可以看出,在小区试验(株洲早晚稻)及大区试验(浏阳中稻)中,与对照组相比,添加菌株B9均能显著降低水稻糙米中Cd含量。株洲小区试验早、晚稻糙米中Cd含量均未超过 $0.20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,但添加菌株B9的试验组糙米Cd含量与对照组相比分别显著减少28.38%、31.34%。浏阳大区试验(晶两优华占)中,对照组糙米Cd含量达到 $0.35\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,添加菌株B9的试验组糙米Cd含量为

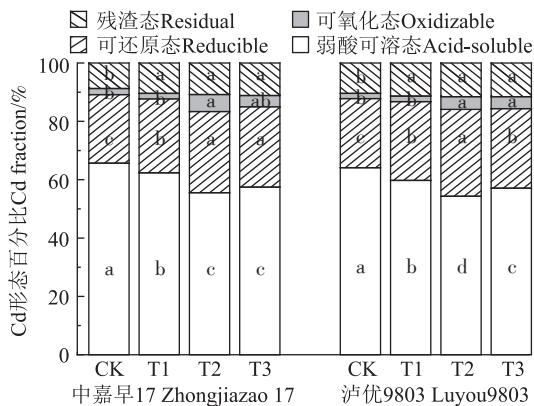


图3 不同菌株B9添加量对盆栽土壤Cd形态的影响

Figure 3 Effects of biomass content of *Delftia* sp. B9 on soil Cd speciations in pot experiments

表4 盆栽土壤中pH与Cd形态间的皮尔森相关性分析

Table 4 Pearson correlation analysis between soil pH and Cd speciations in pot experiments

项目 Item	pH	有效态Cd Available Cd	弱酸可溶态Cd Acid-soluble Cd	可还原态Cd Reducible Cd	可氧化态Cd Oxidizable Cd	残渣态Cd Residual Cd
pH	1	-0.70**	-0.71***	0.66***	0.50*	0.49
有效态Cd Available Cd		1	0.97***	-0.92***	-0.64***	-0.72***
弱酸可溶态Cd Acid-soluble Cd			1	-0.91***	-0.73***	-0.68***
可还原态Cd Reducible Cd				1	0.42	0.73***
可氧化态Cd Oxidizable Cd					1	0.10
残渣态Cd Residual Cd						1

注:*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$,***表示 $P<0.001$ 。

Note:*,**,*** indicate significances between the parameter at $P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$, respectively.

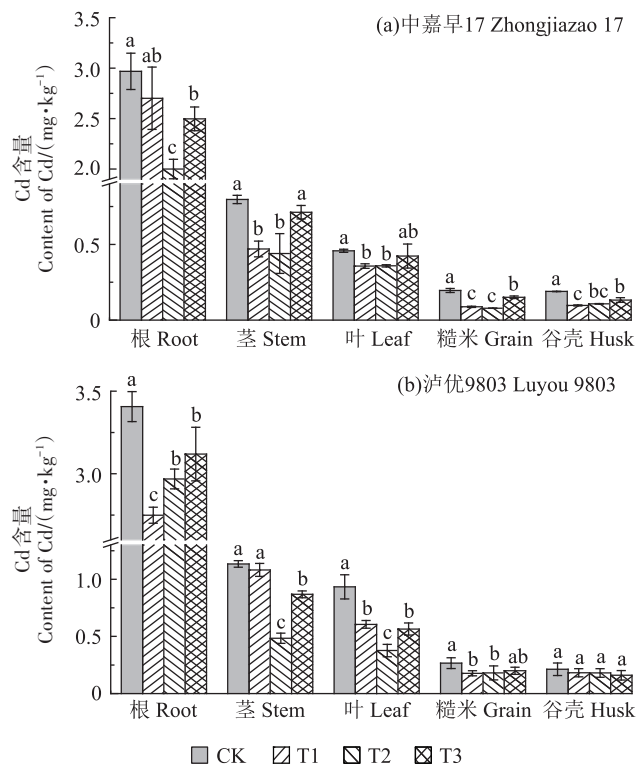


图4 不同菌株添加量对盆栽种植水稻各部位Cd含量的影响
Figure 4 Effects of biomass content of *Delfiia* sp. B9 on Cd content in rice organs

0.03 mg·kg⁻¹, 显著降低91.43%。添加菌株B9的各试验组均可显著减少稻壳中Cd含量。因此,施用12.50 g·m⁻²菌株B9可以显著降低田间试验稻米Cd含量。

2.4 添加菌株B9对盆栽土壤微生物多样性及群落结构的影响

不同B9添加量对土壤微生物多样性指数的影响见表5。各处理高通量测序覆盖率均大于99%,反映测序结果样本中物种覆盖率高。与种植水稻前原始土壤相比,添加菌株B9并种植早晚稻后,各处理土壤群落多样性均显著增加。种植早晚稻后,与CK相比,

表5 盆栽试验土壤微生物多样性指数变化(均值±标准误差, n=3)

Table 5 Changes of microbial community diversity indices in soils under different treatments in pot experiments (mean±SE, n=3)

处理 Treatment	覆盖率 Coverage/%	OTUs	丰富度指数 Richness index		多样性指数 Diversity index	
			Chao1	ACE	Shannon	Simpson
种植前	99.63	1 293±57	1 401±35	1 685±51	8.33±0.12	0.993±0.004
CK	99.23	1 685±85b	1 868±85c	1 884±85b	8.46±0.31b	0.993±0.005a
T1	99.28	1 617±13c	1 813±76d	1 828±113c	8.05±0.46c	0.993±0.004a
T2	99.28	1 816±72a	1 999±92a	2 003±96a	8.73±0.09a	0.991±0.005a
T3	99.24	1 810±86a	1 986±104b	2 000±105a	8.66±0.12a	0.993±0.004a

注:表中同列不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。

Note: Different lowercase letters in a column represent significant differences among treatments (P<0.05).

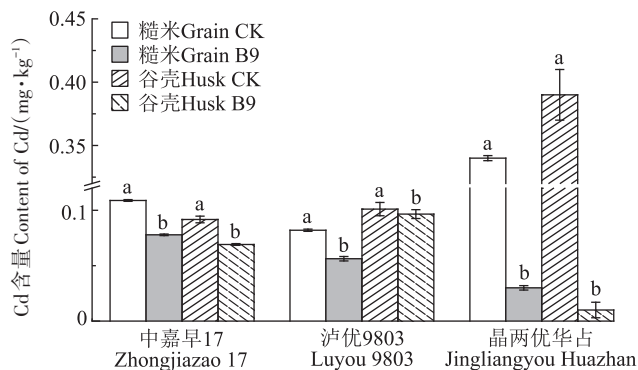


图5 添加菌株对Cd污染稻田水稻籽粒Cd含量的影响
Figure 5 Effects of *Delfiia* sp. application B9 on Cd content in rice grains of Cd-contaminated rice fields

T2、T3处理Shannon指数显著增加,但各处理间Simpson指数无显著差异。从微生物群落丰富度指数来看,与CK相比,T2、T3处理的ACE指数分别显著增加6.32%、6.16%;Chao1指数分别增加7.01%、6.32%;但T1处理的ACE、Chao1指数显著降低。

土壤微生物门水平的相对丰度结果(图6)表明:优势菌门包括变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、酸杆菌门(Acidobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、疣微菌门(Verrucomicrobia)和硝化螺旋菌门(Nitrospirae),相对丰度占比83.74%~90.94%。在所有处理中,变形菌门占比最高,为41.57%~54.01%,其次为拟杆菌门和酸杆菌门。种植水稻后,变形菌门、酸杆菌门和疣微菌门丰度均增加。与CK相比,添加菌株B9的3个处理变形菌门相对丰度均增加,增幅分别为1.49%、10.08%、0.92%。

2.5 土壤微生物群落结构与Cd形态的相关性

通过冗余分析(RDA)进一步揭示微生物群落结构的影响机制,结果见图7。两个坐标轴共解释了微

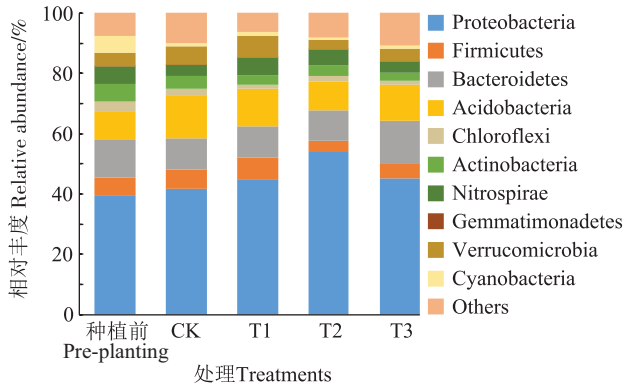


图6 不同处理对盆栽土壤微生物群落门水平相对丰度的影响
Figure 6 Effects of different treatments on the soil microbial community structure at phylum relative abundance in pot experiments

生物群落和土壤理化因子、水稻各部位 Cd 含量总方差的 79.76%,其中横向坐标轴解释 53.29%,纵向坐标轴解释 26.47%。图中蓝色实线表示不同菌门,红色实线表示 pH、有效态 Cd、不同形态 Cd 以及水稻各部位 Cd 含量,箭头间的夹角代表正相关性(锐角)或负相关性(钝角)。菌株 B9 所属的变形菌门(Proteobacteria)与土壤 pH、可还原态 Cd、残渣态 Cd 含量呈正相关,与有效态 Cd、弱酸可溶态 Cd 含量呈负相关,与水稻根、茎、叶部 Cd 含量呈负相关。

通过聚类分析(图 8)可知,10 个主要优势菌门中,Proteobacteria、Bacteroidetes、Nitrospirae、Gemmatimonadetes、Cyanobacteria、Chloroflexi、Acidobacteria 聚

在一起,其中,Gemmatimonadetes 与水稻各部位 Cd 含量均呈极显著($P<0.01$)负相关,Proteobacteria 与土壤有效态 Cd 和弱酸可溶态 Cd 呈极显著($P<0.01$)负相关。Verrucomicrobia、Firmicutes、Acidobacteria 与水稻各部位 Cd 含量呈显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)正相关;Verrucomicrobia 与土壤有效态 Cd 和弱酸可溶态 Cd 呈极显著($P<0.01$)正相关。

3 讨论

3.1 添加菌株 B9 对土壤 Cd 有效态含量及赋存形态的影响

Cd 的有效态含量比总量更能反映其可被水稻吸收的特性^[25]。Cd 的不同赋存形态能反映其环境行为和生态效应,Cd 在土壤中可分为弱酸可溶态(水溶态、可交换态、碳酸盐结合态)、可还原态(铁锰氧化物结合态)、可氧化态(有机结合态、硫化物)以及残渣态(硅酸盐、原生次生矿物)^[26]。当土壤环境条件发生变化时,各形态之间就会发生转变,形成新的平衡。外源添加菌株 B9 并种植水稻后,土壤 Cd 形态由弱酸可溶态向可还原态、可氧化态及残渣态转化(图 3)。菌株 B9 属于革兰氏阴性细菌,其细胞壁结构主要包含磷脂、脂多糖、脂蛋白和肽聚糖。外源添加耐 Cd 菌株 B9 后,细胞壁和胞外聚合物中带负电的官能团,如羧基(—COOH)、羟基(—OH)、羰基(C=O)等,与 Cd 发生配位络合作用,形成离子键或共价键吸附 Cd。同时,Cd 还能进入菌株 B9 细胞内并被固定^[22]。菌株 B9 对 Cd 的胞外吸附及胞内固定可使土壤中弱酸可溶态 Cd 向有机结合态 Cd 转化,使 T2、T3 处理中可氧化态 Cd 含量增加。添加菌株 B9 还可通过改变土壤 pH 改变 Cd 的有效性。土壤 pH 值是影响 Cd 有效态含量的最主要因素之一^[27],pH 与有效态 Cd、弱酸可溶态 Cd 含量均呈极显著负相关(表 4)。与对照相比,添加菌株 B9 的处理能显著提升土壤 pH 值,这可能归因于菌株 B9 自身可产生碱性物质。Li 等^[28-29]、Wang 等^[30]的研究表明,细菌可通过产生碱性物质提高土壤 pH,释放 Cd 结合位点,减少有效态 Cd 含量。添加菌株 B9 使土壤 pH 升高,Eh 降低,增强铁氧(氢氧)化物的溶解,释放出 Fe³⁺并还原为 Fe²⁺,提高与 Cd 结合能力,从而增加铁锰氧化态 Cd,即可还原态 Cd 含量^[31-32]。

与早稻成熟期相比,晚稻分蘖期土壤 pH 略有降低、有效态 Cd 含量略有升高(图 1、图 2),这可能是由于早稻收获前后土壤处于落干状态,至晚稻种植前恢

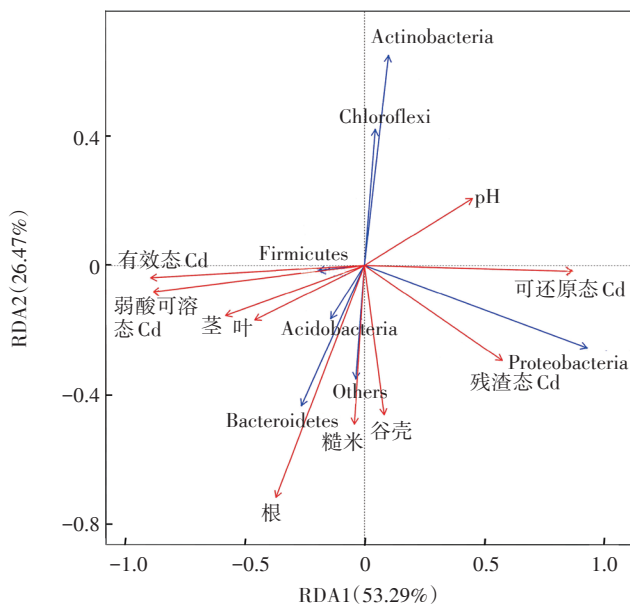
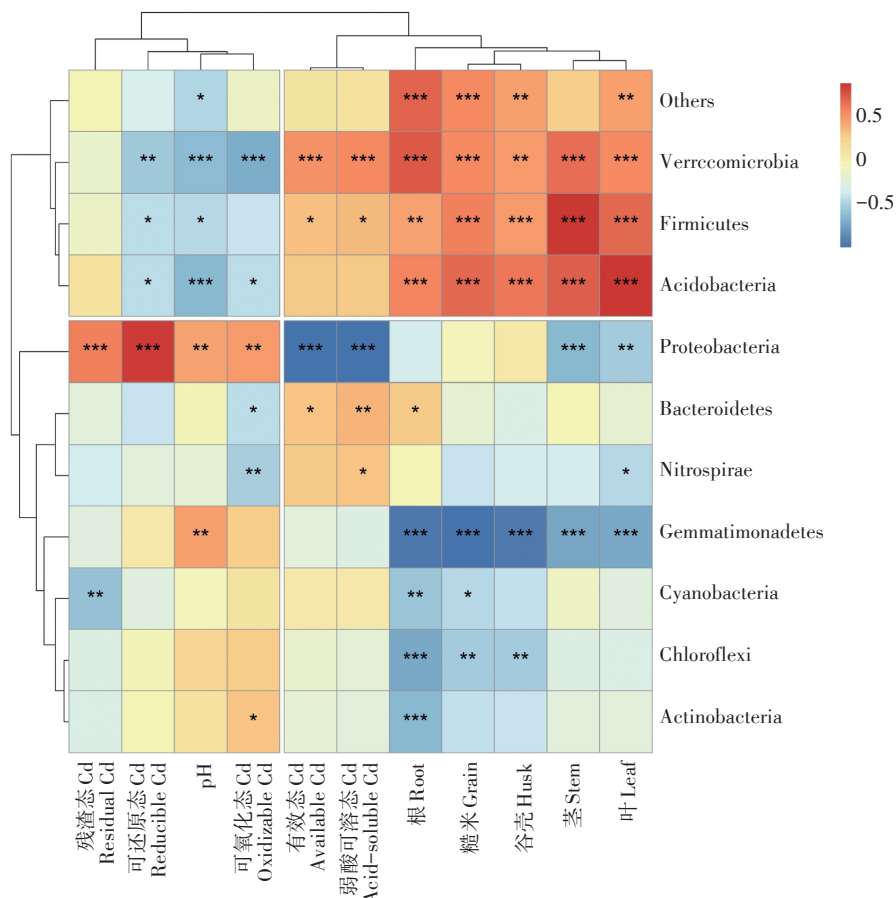


图7 盆栽试验土壤菌门与土壤、水稻 Cd 含量的冗余分析
Figure 7 Redundancy analysis on soil bacteria phylum level and Cd content of soil and rice in pot experiments



*表示显著相关 ($P < 0.1$), **表示显著相关 ($P < 0.05$), ***表示极显著相关 ($P < 0.01$).
 *, **, and *** indicate significances between the parameter at $P < 0.1$, $P < 0.05$, and $P < 0.01$, respectively.

图8 盆栽试验土壤菌门与土壤、水稻 Cd 含量的聚类分析

Figure 8 Cluster heatmap on soil bacteria phylum level and Cd content of soil and rice in pot experiments

复淹水,土壤落干-淹水会导致土壤 pH 变化,从而导致有效态 Cd 含量的变化。另外,盆栽试验中水稻收获后,稻茬及根部仍留在盆栽中,这与田间收获水稻时实际操作一致。水稻对 Cd 的累积量较高,尤其是在根部和茎部(图 4),积累在水稻根部、茎部的 Cd 可能会随着秸秆的腐解而释放,这可能会增加土壤有效态 Cd 含量^[33]。

3.2 添加菌株 B9 对微生物群落的影响

土壤微生物群落是反映土壤稳定性和生态机制的重要指标,良好的微生物种群是适应外界因素和维持土壤肥力的必要因素^[34]。水稻生长环境的干湿交替过程,不仅会影响微生物多样性,还会通过影响 Cd 的生物有效性来影响微生物的群落结构^[35]。在本研究中,土壤中外源添加菌株 B9 并种植水稻后,微生物多样性及相对丰度均增加(表 5),T2 处理中变形菌门(Proteobacteria)丰度增加 10.08%,菌株 B9 属于变形菌门,因此,T2 处理的添加量是菌株 B9 在土壤中发

挥作用的合理用量。有研究表明,变形菌门能够较好地适应重金属胁迫并在维持土壤微生物生态过程中起到重要作用^[34]。另外,变形菌门与土壤 pH 呈显著正相关,与有效态 Cd 含量呈极显著负相关(图 7、图 8),是农田 Cd 污染原位修复的潜在钝化材料^[36]。

与 T2 处理相比,T3 处理菌株 B9 添加量更多,但土壤中有有效态 Cd 含量、水稻各部位 Cd 含量均高于 T2 处理(图 2、图 4)。经过水稻种植后,T3 处理土壤中变形菌门相对丰度(图 6)以及微生物丰富度指数(Chao1、ACE,表 5)明显低于 T2 处理,猜测是由于菌株 B9 具有较高的产铁载体的能力^[22],过量添加菌株 B9 产生的铁载体能更多地溶解释放矿物中的有害金属。铁载体不仅对 Fe^{3+} 具有较高的螯合能力,还可通过多种官能团与重金属离子进行络合,增加土壤重金属的浓度^[37-39],溶解的重金属会对微生物产生毒害作用。外源微生物的施入量会影响菌株功能的发挥和土壤群落的功能,因此需要进一步探究以使菌株在不

影响土壤稳定性的前提下发挥作用。

4 结论

(1) 菌株 B9 (*Delftia* sp. B9) 不同添加量均可显著提高盆栽试验酸性中度 Cd 污染土壤 pH, 显著降低土壤有效态 Cd 含量。菌株 B9 添加量为 $1.28 \text{ g} \cdot \text{盆}^{-1}$ 时, 提升酸性土壤 pH 及降低土壤有效态 Cd 含量的效果最佳, 显著促进弱酸可溶态 Cd 向可还原态、可氧化态及残渣态 Cd 转化。

(2) 盆栽试验中, 菌株 B9 添加量为 $1.28 \text{ g} \cdot \text{盆}^{-1}$ 时, 可显著降低盆栽试验水稻各部位 Cd 含量, 糙米中 Cd 含量均低于 $0.20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

(3) 菌株 B9 添加量为 $12.50 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 时, 可显著降低酸性中度 Cd 污染土壤 (小区及大区试验) 糙米 Cd 含量。株间小区试验中, 早、晚稻糙米 Cd 含量与对照组相比分别显著减少 28.38%、31.34%。浏阳大区试验中, 中稻糙米中 Cd 含量与对照组相比显著降低 91.43%。

参考文献:

[1] 张静静, 朱爽颖, 朱利楠, 等. 不同钝化剂对微碱性土壤镉、镍形态及小麦吸收的影响[J]. 环境科学, 2020, 41(1): 460-468. ZHANG J J, ZHU S G, ZHU L N, et al. Effects of different amendments on fractions and uptake by winter wheat in slightly alkaline soil contaminated by cadmium and nickel[J]. *Environmental Science*, 2020, 41(1): 460-468.

[2] RAHMAN M F, GHOSAI A, ALAM M F, et al. Remediation of cadmium toxicity in field peas (*Pisum sativum* L.) through exogenous silicon [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 135(1): 165-172.

[3] O'CONNOR D, PENG T Y, ZHANG J L, et al. Biochar application for the remediation of heavy metal polluted land: a review of *in situ* field trials[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 619/620: 815-826.

[4] CHEN H P, TANG Z, WANG P, et al. Geographical variations of cadmium and arsenic concentrations and arsenic speciation in Chinese rice [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 238(7): 482-490.

[5] LIU Y L, TIE B Q, PENG O, et al. Inoculation of Cd-contaminated paddy soil with biochar-supported microbial cell composite: a novel approach to reducing cadmium accumulation in rice grains[J]. *Chemosphere*, 2020, 247(5): 125850.

[6] 余天红, 黎华寿. 砷污染土壤微生物修复机制及其研究进展[J]. 环境污染与防治, 2014, 36(12): 77-82. YU T H, LI H S. Mechanism of bioremediation in arsenic contaminated soil and its research progress[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2014, 36(12): 77-82.

[7] AYANGBENRO A S, BABALOLA O O. A new strategy for heavy metal polluted environments: a review of microbial biosorbents[J]. *International Journal of Environmental Research Public Health*, 2017, 14(1): 94-105.

[8] CARPIO I E M, ANSARI A, RODRIGUES D F. Relationship of biodiversity with heavy metal tolerance and sorption capacity: a meta-analysis approach[J]. *Environmental Science and Technology*, 2018, 52(1): 184-194.

[9] CHEN Y M, CHAO Y Q, LI Y Y, et al. Survival strategies of the plant-associated bacterium *Enterobacter* sp. strain EG16 under cadmium stress[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(6): 1734-1744.

[10] CHEN S H, CHEOW Y L, NG S L, et al. Mechanisms for metal removal established via electron microscopy and spectroscopy: a case study of metal tolerant fungi *Penicillium simplicissimum*[J]. *Journal of Hazardous Material*, 2019, 362: 394-402.

[11] ZHAO Q, LI X, XIAO S, et al. Integrated remediation of sulfate-reducing bacteria and nano zero-valent iron on cadmium contaminated sediments[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 406(11): 124680.

[12] 尹雪斐, 刘玉玲, 伍德, 等. 1株高耐性肠杆菌的筛选及对镉砷同步钝化[J]. 环境科学, 2022, 44(1): 436-443. YIN X F, LIU Y L, WU D, et al. Inactivation of Cd and As by an *Enterobacter* isolated from Cd and As contaminated farmland soil[J]. *Environmental Science*, 2022, 44(1): 436-443.

[13] 范美玉, 黎妮, 贾雨田, 等. 耐镉阿氏芽孢杆菌缓解水稻受镉胁迫的研究[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(2): 279-286. FAN M Y, LI N, JIA Y T, et al. Study on the mitigation of cadmium stress in rice by cadmium-resistant *Bacillus aryabhatai*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(2): 279-286.

[14] 张雅荟, 刘月敏, 王常荣, 等. 伯克氏菌 Y4 对水稻幼苗镉损伤和镉吸收的影响[J]. 环境科学, 2022, 43(4): 2142-2150. ZHANG Y H, LIU Y M, WANG C R, et al. Effects of *Burkholderia* sp. Y4 on cadmium damage and uptake in rice seedlings[J]. *Environmental Science*, 2022, 43(4): 2142-2150.

[15] 王晶, 马丽娟, 龙泽华, 等. 秸秆炭化还田对滴灌棉田土壤微生物代谢功能及细菌群落组成的影响[J]. 环境科学, 2020, 41(1): 420-429. WANG J, MA L J, LONG Z H, et al. Effects of straw biochar on soil microbial metabolism and bacterial community composition in drip-irrigated cotton field[J]. *Environmental Science*, 2020, 41(1): 420-429.

[16] 刘玉玲, 铁柏清, 李园星露, 等. 耐镉细菌的分离及其对土壤中镉的形态影响[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(2): 250-258. LIU Y L, TIE B Q, LI Y X L, et al. Isolation of a Cd-resistant bacterium and its effect on the speciation of Cd in soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(2): 250-258.

[17] WEN A, FEGAN M, HAYWARD C, et al. Phylogenetic relationships among members of the *Comamonadaceae*, and description of *Delftia acidovorans* (den Dooren de Jong 1926 and Tamaoka et al. 1987) gen. nov., comb. nov.[J]. *International Journal System Bacteriol*, 1999, 49(2): 567-576.

[18] ZHANG T, ZHANG J L, LIU S J, et al. A novel and complete gene cluster involved in the degradation of aniline by *Delftia* sp. AN3[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, 20(6): 717-724.

[19] XIAO C B, NING J, YAN H, et al. Biodegradation of aniline by a newly isolated *Delftia* sp. XYJ6[J]. *Chinese Journal of Chemical Engineer-*

- ing, 2009, 17(3):500-505.
- [20] GARAVAGLIA L, CERDEIRA S B, VULLO D L. Chromium (VI) bio-transformation by β - and γ -proteobacteria from natural polluted environments: a combined biological and chemical treatment for industrial wastes[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 175(1/2/3):104-110.
- [21] 刘玉玲, 朱虎成, 彭鸥, 等. 玉米秸秆生物炭固化细菌对镉砷吸附[J]. *环境科学*, 2020, 41(9):4322-4332. LIU Y L, ZHU H C, PENG O, et al. Adsorption of cadmium and arsenic by corn stalk bio-char solidified microorganism[J]. *Environmental Science*, 2020, 41(9):4322-4332.
- [22] LIU Y L, TIE B Q, LI Y X L, et al. Inoculation of soil with cadmium-resistant bacterium *Delftia* sp. B9 reduces cadmium accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) grains[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 163(11):223-229.
- [23] LINDSAY W L, NORVELL W A. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1978, 42(3):421-428.
- [24] URE A M, QUEVAUVILLER P, MUNTAU H, et al. Speciation of heavy metals in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the Commission of the European Communities[J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1993, 51(1/2/3/4):135-151.
- [25] 李颖, 陈敬龙, 段华泰, 等. 工业和农业污染稻田土壤重金属的赋存形态及水稻吸收运移比较[J]. *土壤通报*, 2022, 53(1):204-212. LI H, CHEN J L, DUAN H T, et al. Comparison of the forms of heavy metals and the absorption and transport by rice between industrial and agricultural contaminated paddy soils[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2022, 53(1):204-212.
- [26] 周睿, 秦超, 任何军, 等. 水源地周边土壤重金属分布特征及潜在风险:以深圳市为例[J]. *中国环境科学*, 2022, 42(6):2734-2743. ZHOU R, QIN C, REN H J, et al. Distribution characteristics and potential risk of heavy metals in soil around water source: a case study of Shenzhen City[J]. *China Environmental Science*, 2022, 42(6):2734-2743.
- [27] LI H, LUO N, LI Y W, et al. Cadmium in rice: transport mechanisms, influencing factors, and minimizing measures[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 224(5):622-630.
- [28] LI F, WANG W, LI C C, et al. Self-mediated pH changes in culture medium affecting biosorption and biomineralization of Cd²⁺ by *Bacillus cereus* Cd01[J]. *Journal of hazardous materials*, 2018, 358:178-186.
- [29] LI F, ZHENG Y, TIAN J, et al. *Cupriavidus* sp. strain Cd02-mediated pH increase favoring bioprecipitation of Cd²⁺ in medium and reduction of cadmium bioavailability in paddy soil[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 184(11):109655.
- [30] WANG J F, LI W L, AHMAD I, et al. Biomineralization of Cd²⁺ and inhibition on rhizobacterial Cd mobilization function by *Bacillus Cereus* to improve safety of maize grains[J]. *Chemosphere*, 2021, 283(11):131095.
- [31] GUO J, YAN C, LUO Z, et al. Synthesis of a novel ternary HA/Fe-Mn oxides-loaded biochar composite and its application in cadmium (II) and arsenic (V) adsorption[J]. *Journal of Environmental Science*, 2019, 85:168-176.
- [32] QIAO Q, YANG X, LIU L, et al. Electrochemical adsorption of cadmium and arsenic by natural Fe-Mn nodules[J]. *Journal of Hazardous Material*, 2020, 390(7):122165.
- [33] ZONG Y, CHEN H, MALIK Z, et al. Comparative study on the potential risk of contaminated-rice straw, its derived biochar and phosphorus modified biochar as an amendment and their implication for environment[J]. *Environmental Pollution*, 2022, 293:118515.
- [34] 刘沙沙, 付建平, 蔡信德, 等. 重金属污染对土壤微生物生态特征的影响研究进展[J]. *生态环境学报*, 2018, 27(6):1173-1178. LIU S S, FU J P, CAI X D, et al. Effect of heavy metals pollution on ecological characteristics of soil microbes: a review[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2018, 27(6):1173-1178.
- [35] 王瑞昕, 杨静, 方正, 等. 水分管理对水稻籽粒硒积累及根际土壤细菌群落多样性的影响[J]. *土壤学报*, 2021, 58(6):1574-1584. WANG R X, YANG J, FANG Z, et al. Effects of water management on selenium accumulation in rice grains and bacterial community diversity in rhizosphere soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2021, 58(6):1574-1584.
- [36] AZARBAD H, NIKLINSKA M, LASKOWSKIR, et al. Microbial community composition and functions are resilient to metal pollution along two forest soil gradients[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2015, 91(1):1-11.
- [37] NAIR A, JUWARKAR A A, SINGH S K. Production and characterization of siderophores and its application in arsenic removal from contaminated soil[J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2007, 180(1/2/3/4):199-212.
- [38] 李交昆, 余黄, 曾伟民, 等. 根际促生菌强化植物修复重金属污染土壤的研究进展[J]. *生命科学*, 2017, 29(5):434-442. LI J K, YU H, ZENG W M, et al. Research progress on plant growth promoting rhizobacteria and their role in phytoremediation of heavy metal-contaminated soil[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2017, 29(5):434-442.
- [39] YIN K, WU Y, WANG S, et al. A sensitive fluorescent biosensor for the detection of copper ion inspired by biological recognition element pyoverdine[J]. *Sensor and Actuators B: Chemical*, 2016, 232(3):257-263.