



请通过网上投稿系统投稿 网址:http://www.aes.org.cn

#### EDTA对铅胁迫下狗牙根根际土壤质量及微生物的影响

姜冉冉, 江润海, 朱城强, 侯秀丽

引用本文:

姜冉冉, 江润海, 朱城强, 侯秀丽. EDTA对铅胁迫下狗牙根根际土壤质量及微生物的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(12): 2722-2732.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.11654/jaes.2022-1123

#### 您可能感兴趣的其他文章

#### Articles you may be interested in

单壁碳纳米管对紫花苜蓿根际土壤中PAHs降解及微生物群落的影响

王慧敏,陈莉荣,任文杰,郑春丽,黄怡雯,滕应,张铁军 农业环境科学学报.2021,40(12):2647-2659 https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0332

## 蚯蚓对金霉素污染土壤酶活性和微生物群落的影响

杨思德,常兴平,潘政,李明堂,翁莉萍,李永涛,赵丽霞 农业环境科学学报. 2021, 40(6): 1268-1280 https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1470

不同钝化机制矿物对土壤重金属的钝化效果及微生物响应

任露陆,蔡宗平,王固宁,叶志钧,张艳林,曹美苑 农业环境科学学报. 2021, 40(7): 1470-1480 https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1436

# 氟磺胺草醚及其降解菌对大豆生长及生物固氮的影响

周聪,陈未,高岩,施曼,李江叶,刘丽珠,陈金林 农业环境科学学报.2021,40(12):2660-2668 https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0264

溶磷真菌固体发酵菌肥对玉米生长及根际细菌群落结构的影响 陈莎莎, 孙敏, 王文超, 李真, 王世梅, 戴乐天, 徐阳春 农业环境科学学报. 2018, 37(9): 1910–1917 https://doi.org/10.11654/jaes.2017–1629



关注微信公众号,获得更多资讯信息

姜冉冉, 江润海, 朱城强, 等. EDTA 对铅胁迫下狗牙根根际土壤质量及微生物的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(12): 2722-2732.

JIANG R R, JIANG R H, ZHU C Q, et al. Effects of EDTA on soil quality and microorganisms in rhizosphere of *Cynodon dactylon* under lead stress[J]. *Journal of Agro–Environment Science*, 2022, 41(12): 2722–2732.



# EDTA对铅胁迫下狗牙根根际土壤质量及微生物的影响

# 姜冉冉, 江润海, 朱城强, 侯秀丽\*

(昆明学院农学与生命科学学院,昆明 650214)

要:为研究螯合剂乙二胺四乙酸(EDTA)对狗牙根根际土 摘 壤理化性质、土壤酶及微生物群落结构的影响,本研究以耐性 植物狗牙根(Cynodon dactylon)为研究对象,在铅污染土壤中施 加不同浓度的 EDTA[0(对照)、2.5、5.0、7.5、10.0 mmol·L<sup>-1</sup>]进行 盆栽实验。结果表明:施加2.5 mmol·L<sup>-1</sup>EDTA时,狗牙根根际 土壤pH最低,为6.80,土壤有效磷含量、土壤酸性磷酸酶活性、 蔗糖酶活性最高,分别是对照组的2.24、1.57、1.41倍;施加7.5 mmol·L<sup>-1</sup>EDTA时,根际土壤有效钾、铵态氮、硝态氮含量最高, 分别为96.22、262.00、15.90 mg·kg<sup>-1</sup>,分别是对照组的1.09、 1.30、6.41倍。施加7.5 mmol·L<sup>-1</sup>EDTA时,狗牙根根际土壤微生 物多样性以及 OTU 数量最高, 且绿弯菌门(Chloroflexi)、嗜酸杆 菌属(Acidibacter)、土微菌属(Pedomicrobium)、曲霉属 (Aspergillus)相对丰度较对照组分别增加了7、3、10、8个百分 点。施加EDTA后,狗牙根根际土壤中芽孢杆菌属(Bacillus)最 高相对丰度较对照组增加了9个百分点, 枝孢属(Cladosporium)



最高相对丰度是对照组的4.05倍。土壤酸性磷酸酶、脲酶、蔗糖酶活性和有效磷含量均与曲霉属、Gibellulopsis呈正相关,同时土 壤脲酶活性与耐重金属污染的菌群[芽孢杆菌属、毛壳菌属(Chaetomium)]呈正相关,表明耐重金属铅污染的微生物有助于提高土 壤有效氮和有效磷含量。研究表明,在铅污染土壤中,施加适量浓度的EDTA有助于提高植物根际土壤中酸性磷酸酶和蔗糖酶活 性,提高微生物多样性及丰富度,改善根际土壤微生态环境,提高耐性植物对重金属的修复效果。

关键词:狗牙根;乙二胺四乙酸(EDTA);铅;高通量测序

中图分类号:S154.3;X53;X172 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2022)12-2722-11 doi:10.11654/jaes.2022-1123

#### Effects of EDTA on soil quality and microorganisms in rhizosphere of Cynodon dactylon under lead stress

JIANG Ranran, JIANG Runhai, ZHU Chengqiang, HOU Xiuli\*

(School of Agriculture and Life Sciences, Kunming University, Kunming 650214, China)

**Abstract**: To study the effects of the chelating agent ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) on the physicochemical properties, soil enzymes, and microbial community structure in rhizosphere soil of *Cynodon dactylon*, different concentrations of EDTA[0(CK), 2.5, 5.0,

Project supported: The National Natural Science Foundation of China (42167009); Special Project of Basic Research in Yunnan Local Colleges and University(2018FH001-004); Scientific and Technological Innovation Team Project of Agricultural Resources Utilization of Kunming University

收稿日期:2022-11-07 录用日期:2022-12-01

作者简介:姜冉冉(1995—),女,山东济南人,硕士研究生,从事资源利用与植物保护研究。E-mail:2646908226@qq.com

<sup>\*</sup>通信作者:侯秀丽 E-mail:hxlyn@aliyun.com

基金项目:国家自然科学基金地区基金项目(42167009);云南省高校联合基金项目(2018FH001-004);昆明学院农业资源利用科技创新团队项目

7.5, 10.0 mmol·L<sup>-1</sup>) were applied on lead-contaminated soil, in which the tolerant plant Cynodon dactylon was planted in a pot experiment. The results were as follows: When 2.5 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> EDTA was applied to the rhizosphere soil of *Cynodon dactylon*, the lowest soil pH was 6.80, and the activities of soil available phosphorus (AP), soil acid phosphatase, and invertase were the highest, and they were 2.24, 1.57 times, and 1.41 times that of those of the CK, respectively; When 7.5 mmol· $L^{-1}$ EDTA was applied, the content of available potassium(AK), ammonium nitrogen, and nitrate nitrogen in rhizosphere soil was the highest, and their values (96.22, 262.00 mg·kg<sup>-1</sup>, and 15.90 mg·kg<sup>-1</sup>) were 1.09, 1.30 times, and 6.41 times that of those of the CK, respectively. The diversity of soil microorganisms in the rhizosphere soil of Cynodon dactylon and the number of OTU in the EDTA concentration of 7.5 mmol · L<sup>-1</sup> were the highest. Chloroflexi, Acidibacter, Pedomicrobium, and Aspergillus, with the highest relative abundance, increased by 7, 3, 10, 8 percentage points over the CK, respectively. After applying EDTA, the highest relative abundance of Bacillus in the rhizosphere soil of Cynodon dactylon increased by 9 percentage points over the CK; The highest relative abundance of *Cladosporium* was 4.05 times that of the CK. The activities of soil acid phosphatase, urease, sucrase, and AP positively correlated with Aspergillus and Gibellulopsis, whereas soil urease positively correlated with heavy metalresistant bacteria (Bacillus and Chaetomium), indicating that heavy metal-resistant microorganisms contributed to the increased content of available nitrogen and phosphorus in the soil. In lead-contaminated soil, the application of appropriate concentration of EDTA can increase the acid phosphatase, invertase activities of plant rhizosphere soil, and diversity and abundance of microorganisms; improves the microecological environment of rhizosphere soil; then improves the remediation effect of tolerant plants on heavy metals. Kevwords: Cynodon dactylon; EDTA; lead; high-throughput sequencing

土壤重金属污染已成为全球关注的生态环境问 题之一,云南土壤重金属背景值较高,其中怒江傈僳 族自治州兰坪县铅锌矿矿产资源储量丰富,开采时间 久,土壤重金属污染严重。重金属铅在土壤中不易降 解,具有持久性的特点[1-3],因此对生物圈构成严重威 胁,且修复难度大。目前,修复重金属污染土壤的方 法主要包括植物提取、植物固定、植物挥发和根际过 滤[4-5],使用螯合剂改善植物根际的微生态环境是增 强植物修复的关键。常用的螯合剂有乙二胺二琥珀 酸(EDDS)、乙二胺四乙酸(EDTA)和亚硝三乙酸 (NTA)<sup>[6-8]</sup>。螯合剂作为弱酸加入土壤中,一方面可降 低土壤pH、活化重金属、增加重金属的活动性,进而 增加植物对重金属离子的络合作用;另一方面,螯合 剂激活植物细胞质膜上的ATP酶,引起重金属转运的 离子通道发生变化,从而促进根系吸收,增加重金属 在植物地上部的积累<sup>19</sup>。例如,EDTA 与铜、镍、铅、锌 和镉的络合常数(lg k)分别为18.8、18.5、18.0、16.4和 16.4<sup>[10]</sup>, EDTA可显著提高土壤中生物有效态重金属 的含量。EDTA通过解吸作用增加有效态重金属含 量,从而使重金属向根部扩散<sup>[11]</sup>。另外,金属-EDTA 络合物带有中性电荷,不会被植物根皮细胞表面的多 糖或羧基附着或阻断。EDTA的解吸作用或者EDTA 与金属形成的络合物,均可促使金属直接进入植物根 部,所以EDTA被认为是最有效的有机配体,其可与 金属形成高度稳定和可溶的金属-EDTA 络合物,进 而增加植物对有效态重金属的转运与吸收[12]。有研 究表明施加 EDTA 显著增加了土壤中水溶性镉和铅 的浓度,从而增加了油菜、玉米和小麦对铅、锌和镉的 吸收[13],并使金属更容易转移到植物的芽中[14-15]。 EDTA的施用可使印度芥菜茎中的铜和铅含量增加 1~2 倍[16]。但 EDTA 不易降解,施用量过高会存在一 定的环境风险。一些研究表明当EDTA的施用量低 于安全浓度时,土壤表面无明显残留,深层残留量为 添加量的2.6%<sup>[17]</sup>.因此EDTA施用量控制在一定浓度 内能有效规避环境风险。

狗牙根(Cynodon dactylon)为禾本科狗牙根属植 物,生长速度快、根系发达,在矿区分布广泛,对重金 属有很强的耐性,是在铅锌矿区护坡及矿区修复的覆 被过程中的优选植物物种之一。目前,大多数的研究 主要集中在狗牙根受环境胁迫下根系生长、植物生 理、植物提取及其对土壤重金属形态变化的影响等方 面[18-20]。例如,张云等[21]的研究表明狗牙根对土壤中 锌、铅、铜、镉、铬的吸收均以弱酸提取态、可还原态和 可氧化态为主。狗牙根的修复效应及其根际土壤酶 活性与微生物群落变化密不可分,根际土壤微生物与 土壤酶协同作用可以调节土壤理化性质,进而提高植 物修复效率,这已成为生态系统研究的热点之 一[22-23]。一方面,植物根系分泌物的产生和根系对金 属离子、营养元素选择性吸收等的生态过程对土壤基 质产生影响,进而改变土壤微生物的正常代谢活 动[24]。另一方面,植物通过根系释放的酶、土壤中动 植物细胞破裂渗出的酶及土壤微生物代谢分泌的酶

www.ger.org.cn

等多种酶的联合作用促进植物生长。例如,根际土壤 微生物通过提高磷酸盐溶解度获取磷素,以提高其在 磷匮乏时的适应能力。同时,植物根表微生物大量释 放的土壤磷酸酶和糖苷酶,可促进植物生长并增强自 身抗逆能力<sup>[25-26]</sup>。烟草(Nicotiana tabacum)根系分泌 物能有效增加其根际土壤脲酶、磷酸酶、蔗糖转化酶 等土壤酶的活性[27],土壤酶在养分利用和循环中起着 关键作用<sup>[28]</sup>。在重金属铅污染的土壤中,铅的存在可 能会诱导耐铅目生长迅速的微生物物种出现[29-30],但 EDTA的施用及土壤中有效态重金属含量的升高,可 能会使土壤中具有营养物质降解功能和较高代谢活 性的微生物发生不同程度的改变[31]。目前,有关 EDTA联合植物修复重金属污染土壤的研究主要集 中于对土壤重金属活化与植物吸收重金属方面,而植 物根际土壤微生物及土壤酶活性对EDTA的响应还 有待于进一步研究。

因此,本研究在重金属铅污染土壤中,以耐性植物狗牙根为研究对象,探究土壤中施加不同浓度的 EDTA 对狗牙根铅富集量、生物量,根际土壤理化性质及土壤微生物的影响,为筛选适宜的EDTA 施加浓 度以改善耐性植物狗牙根根际土壤营养元素和微生物环境,进而为耐性植物加快土壤修复及植被恢复提 供依据。

# 1 材料与方法

#### 1.1 实验设计与样品采集

根据云南省兰坪县铅锌矿区土地利用类型中开 采矿区的铅含量范围106.4~738.74 mg·kg<sup>-1</sup>[<sup>32]</sup>,设置土 壤铅含量为500 mg·kg<sup>-1</sup>。盆栽实验在温室大棚内进 行。供试土壤取自云南省昆明市昆明学院观物山,土 样中添加500 mg·kg<sup>-1</sup>的铅后充分混匀,螯合2个月, 模拟铅污染土壤,原土与铅污染土壤的基本理化性质 如表1所示。塑料盆规格为25 cm(直径)×17 cm (高),装土2.5 kg(干质量),盆下带托盘。供试植物为 多年生狗牙根(*Cynodon dactylon*),每盆100粒种子。 温室白天和夜晚的温度分别为25℃和15℃,每2 d浇 一次水。第30天和第45天直接以溶液的形式分别向

#### 农业环境科学学报 第41卷第12期

表1 '	供试土	壤理(	化性	质
------	-----	-----	----	---

Table 1 Physical and chemical properties of the tested soils

供试土壤 Test soil	рН	有效磷 Available phosphorus/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	有效钾 Available potassium/ (mg•kg <sup>-1</sup> )	铅含量 Pb content/ (mg•kg <sup>-1</sup> )
原土 Original soil	6.49	334.00	46.48	74.12
铅污染土壤 Pb contaminated soil	7.86	233.33	44.54	609.13

土壤中施加不同浓度的EDTA[0(对照)、2.5、5.0、7.5、10.0 mmol·L<sup>-1</sup>],每个处理设置3个平行,每次螯合剂施加量为50 mL,第60天收获植物。

狗牙根取出后晃动根部,去除根部松散的土壤 后,用无菌刷子从根部收集残留的土壤,测定土壤酶 活性及根际土壤微生物群落结构,每个处理取3个 平行。土壤样品经自然风干,去除石砾、有机残体、 植物根系等,过0.149 mm 筛后用于测定土壤基本理 化性质。

#### 1.2 土壤酶活性测定

土壤脲酶活性采用苯酚钠-次氯酸钠比色法测 定;酸性磷酸酶活性采用磷酸苯二钠盐比色法测 定;土壤蔗糖酶活性采用3,5-二硝基水杨酸比色 法测定。

#### 1.3 DNA 提取

使用 MagIso Environmental Samples DNA Kit 试剂 盒提取土壤样本 DNA,提取方法详见试剂盒说明书。 完成基因组 DNA 提取后,利用 2% 琼脂糖凝胶电泳检 测抽提基因组 DNA。以各样品的总 DNA 为模板进行 PCR 扩增,引物见表 2。反应体系:95 ℃ 3 min;95 ℃ 30 s,55 ℃ 30 s,72 ℃ 45 s,30 个循环;72 ℃最终延伸 10 min,10 ℃直至程序结束。2% 琼脂糖凝胶电泳检 测 PCR 产物,其目的条带大小正确、浓度合适,进而 委托美吉公司的 MiseqPE300/ NovaSeq PE250 平台进 行测序。

#### 1.4 分析方法

应用 Excel 2019 软件对各分类单元数据进行统计。通过 R 语言工具绘制 Venn 图和属水平优势细菌、真菌与土壤理化性质间冗余分析(RDA)图;通过

Table 2 Amplification primers				
引物名称	引物类型	F端序列	R端序列	长度
Primer name	Primer type	F- terminal sequence	R- terminal sequence	Length/bp
338F_806R	细菌16S rRNA	ACTCCTACGGGAGGCAGCAG	GGACTACHVGGGTWTCTAAT	468
ITS1F_ITS2R	真菌ITS	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	GCTGCGTTCTTCATCGATGC	350

表2 扩增引物

2725

Origin 对优势菌群相对丰度制图。采用 Excel 2019、 SPSS 22.0 对土壤理化性质、重金属铅含量及狗牙根 生物量进行方差分析(ANOVA-Test),差异显著水平 为0.05,利用 Origin 2018制图。

# 2 结果与分析

#### 2.1 不同浓度EDTA施用下根际土壤理化性质的变化

施加不同浓度 EDTA 土壤的理化性质变化如表3 所示。施加 2.5 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA 的根际土壤 pH最低, 为 6.80,根际土壤有效磷含量最高,为 327.00 mg· kg<sup>-1</sup>,是对照组的 2.24倍,施入的 EDTA 通过螯合作用 与磷酸根竞争土壤中的吸附位点以降低土壤中磷的 吸附,促进磷素释放。施加 7.5 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA 的根 际土壤有效钾、铵态氮、硝态氮含量最高,分别为 96.22、262.00、15.90 mg·kg<sup>-1</sup>,是对照组的 1.09、1.30、 6.41倍,该浓度下的有效钾含量与对照组差异不显 著,而氨态氮和硝态氮含量与对照组之间存在显著差 异。而施加 5.0 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA 时,土壤有效钾含量 显著降低,有效磷及铵态氮含量虽降低但与对照差异 不显著。施加适宜浓度的 EDTA 可一定程度上促进 土壤中氮、磷、钾等元素向生物有效态转化,从而利于 植物吸收。

# 2.2 不同浓度 EDTA 施用下狗牙根铅富集及地上部和 根部干质量的变化

施加EDTA后,狗牙根地上部对铅的富集量显著 增加,并且随着EDTA浓度的升高地上部铅富集量总 体呈升高趋势(图1A)。施加5.0~10.0 mmol·L<sup>-1</sup>的 EDTA时,狗牙根的根中铅含量无显著变化,但均高 于对照组,根中铅含量为14.59~20.26 mg·kg<sup>-1</sup>。施加 5.0 mmol·L<sup>-1</sup>EDTA时,狗牙根地上部生物量最高(图 1B),且与其他浓度下差异显著,地上部和根部生物 量均显著高于对照组,分别为0.49g和0.19g;但7.5 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA 处理下狗牙根地上部生物量显著低于对照组。研究结果表明,施加EDTA 提高了狗牙根对重金属铅的富集,同时施加 5.0 mmol·L<sup>-1</sup>的 EDTA 有利于狗牙根的生长。

#### 2.3 不同浓度 EDTA 施用下土壤酶活性的变化

不同浓度的EDTA施用下,狗牙根根际土壤中的 脲酶、酸性磷酸酶、蔗糖酶活性如图2所示。添加



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

#### 图1 狗牙根的铅含量和干质量

Figure 1 Lead content of root and dry biomass of

Cynodon dactylon

Table 3 Physicochemical properties of rhizosphere soil					
EDTA 浓度 EDTA concentration/ (mmol・L <sup>-1</sup> )	рН	有效磷 Available phosphorus/ (mg•kg <sup>-1</sup> )	有效钾 Available potassium/ (mg•kg <sup>-1</sup> )	铵态氮 Ammonium nitrogen/ (mg・kg <sup>-1</sup> )	硝态氮 Nitrate nitrogen/ (mg·kg <sup>-1</sup> )
0	7.25±0.09a	$146.00 \pm 17.69 d$	88.20±5.38a	201.00±0.71c	2.48±0.25c
2.5	$6.80 \pm 0.15 \mathrm{b}$	327.00±6.25a	87.76±6.97a	$235.00{\pm}19.09\mathrm{b}$	$7.90 \pm 0.28 \mathrm{bc}$
5.0	7.29±0.01a	139.00±15.56d	$73.98 \pm 4.88 \mathrm{b}$	190.75±20.86c	10.48±5.15ab
7.5	7.19±0.13a	202.50±13.44c	96.22±8.07a	262.00±6.36a	15.90±3.04a
10.0	$6.95 \pm 0.07 \mathrm{b}$	$271.50 \pm 7.78 b$	86.43±3.66ab	230.33±8.22b	$6.65 \pm 0.92 \mathrm{bc}$

表3根际土壤理化性质

注:同列不同小写字母表示不同浓度 EDTA 处理下的土壤理化性质间存在显著差异(P<0.05)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences in soil physicochemical properties under different concentrations of EDTA(P<0.05).

#### www.ger.org.cn

EDTA后,酸性磷酸酶和蔗糖酶活性较对照组均有不同程度的增加(除5.0 mmol·L<sup>-1</sup>EDTA处理下的酸性磷酸酶),表明施加EDTA可在一定程度上提高土壤酸性磷酸酶和蔗糖酶活性。在EDTA浓度为2.5 mmol·L<sup>-1</sup>时,狗牙根根际酸性磷酸酶、蔗糖酶活性最高,分别为4036.38、46.05 mg·g<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,分别是对照组的1.57、1.41倍,但该浓度下脲酶活性与对照组之间差异不显著。施加5.0 mmol·L<sup>-1</sup>的EDTA时,酸性磷酸酶活性显著低于其他处理组,可能是由于该浓度下狗牙根根部富集铅含量最高,一定程度上抑制了酸性磷酸酶的活性。综上表明,施加2.5 mmol·L<sup>-1</sup>的EDTA有利于促进土壤酸性磷酸酶与蔗糖酶活性的



rhizosphere soils of Cynodonts dactylon

升高。

2.4 **不同浓度** EDTA **对狗牙根根际土壤微生物的影响** 2.4.1 门、属水平上优势细菌、真菌的群落结构相对 丰度

采用高通量测序分析土壤微生物群落的变化过 程中,当测序深度大于5000时,5种浓度EDTA的稀 释曲线都基本趋于平稳,说明采样方法基本合理,可 以真实地反映出该处理样品中细菌和真菌的微生物 群落结构组成。施加不同浓度EDTA下,狗牙根根际 土壤细菌、真菌群落组成和相对丰度变化如图3、图4 所示。在细菌门水平上(图3A),变形菌门(Proteobacteria)相对丰度最高,在27.32%~30.92%之间,厚壁菌 门(Firmicutes)相对丰度为8.70%~23.02%,放线菌门 (Actinobacteriota)、绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆菌门 (Acidobacteriota) 相对丰度较低,分别为11.33%~ 16.14%、11.21%~18.18%、9.29%~11.43%;施加7.5 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA 后,绿弯菌门(Chloroflexi)相对丰度最 高,比对照增加了7个百分点。在细菌属水平上(图 4A,去除未归类菌属后),在施加2.5 mmol·L<sup>-1</sup>的 EDTA时,芽孢杆菌属(Bacillus)相对丰度最高,占 76.00%,比对照组增加了9个百分点;在7.5 mmol·L<sup>-1</sup> 的EDTA下嗜酸杆菌属(Acidibacter)、土微菌属(Pedomicrobium)相对丰度最高,为17.00%、24.00%,比对照 组分别增加了3、10个百分点;线状微菌属(Filomicrobium)相对丰度较低,为4.00%~7.00%。

在真菌门水平上(图3B),子囊菌门(Ascomycota) 相对丰度最高,变化范围在69.26%~80.75%之间,随 EDTA浓度升高呈现先上升后下降的趋势,且在5.0 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA 处理下相对丰度最高,其次是担子菌 门(Basidiomycota)的相对丰度为4.07%~8.17%,被孢 霉门(Mortierellomycota)、壶菌门(Chytridiomycota)相 对丰度较低,分别为0.74%~1.97%、0.43%~1.14%。 在真菌属水平上(图4B),毛壳菌属(Chaetomium)相 对丰度随 EDTA 浓度的增加而降低, 枝孢属(Cladosporium)相对丰度随 EDTA 浓度的增加而增加,且在 EDTA 浓度为 10.0 mmol·L<sup>-1</sup>时相对丰度最高,为 77.00%, 是对照组的 4.05 倍, 曲霉属 (Aspergillus) 在 7.5 mmol·L<sup>-1</sup>的 EDTA 组中相对丰度最高,为16.00%, 比对照组增加了8个百分点, Gibellulopsis 相对丰度在 5.00%~13.00%之间。高浓度 EDTA 的施加有利于优 势菌群中变形菌门(Proteobacteria)、子囊菌门(Ascomycota)、嗜酸杆菌属(Acidibacter)、土微菌属(Pedomicrobium)、枝孢属(Cladosporium)、曲霉属(Aspergil-



Figure 3 Relative abundance of soil bacterial and fungal community structures at phylum level

# lus)、Gibellulopsis相对丰度的增加。

#### 2.4.2 细菌、真菌的OTU水平韦恩图分析

细菌、真菌的 OTU 数量见图 5。在细菌群落中 (图 5A),对照组 OTU 数量为 3 402 个,2.5、5.0、7.5、 10.0 mmol·L<sup>-1</sup>EDTA处理组的 OTU 数量分别为 3 337、 3 253、3 497、3 256个,分别与对照共有 120、145、120、 82个 OTU;0、2.5、5.0、7.5、10.0 mmol·L<sup>-1</sup>的 EDTA 处理 组分别特有 399、249、227、339、250个 OTU,5 组的 OTU 总数为 5 640个,其中包含共同的 OTU 数 1 598 个,说明 5 组处理细菌群落存在一定的差异性。

如图 5B 所示,在真菌群落中,对照组 OTU 数量为 684 个,2.5、5.0、7.5、10.0 mmol・L<sup>-1</sup> EDTA 处理组的 OTU 数量分别为 875、686、877、735 个,且均高于对 照。2.5、5.0、7.5、10.0 mmol・L<sup>-1</sup>的 EDTA 处理组分别



community structures on genius level

与对照组共有35、23、27、12个OTU;0、2.5、5.0、7.5、10.0 mmol·L<sup>-1</sup>的EDTA处理组分别特有123、215、87、147、109个OTU。这5组的OTU共有数量为1614个,其中包含共同的OTU258个。施加EDTA提高了狗 牙根根际土壤OTU数量,且施加7.5 mmol·L<sup>-1</sup>EDTA 后细菌和真菌的OTU数量最高。

2.4.3 优势细菌、真菌与土壤理化性质的冗余分析

铅胁迫下,施加不同浓度EDTA,在属水平共有 的前4种优势细菌、真菌与根际土壤有效磷、脲酶、酸 性磷酸酶、蔗糖酶间的冗余分析(RDA)见图6。通过 对细菌RDA分析得知第一轴和第二轴分别解释了总 体变化的91.57%和5.14%,共解释了变化的96.71% (图6A);通过对真菌RDA分析得知第一轴和第二轴分 别解释了总体变化的89.98%和5.89%,共解释了变化 的95.87%(图6B),说明RDA结果可靠。有效磷、酸性 磷酸酶、蔗糖酶与线状微菌属(Filomicrobium)、嗜酸杆 菌属(Acidibacter)呈负相关,脲酶与土微菌属(Pedomicrobium)呈负相关但与芽孢杆菌属呈正相关;有效磷、

www.aer.org.cn

2727





酸性磷酸酶、蔗糖酶、脲酶与曲霉属(Aspergillus)、Gibellulopsis呈正相关,脲酶与枝孢属(Cladosporium)呈负相 关,与毛壳菌属(Chaetomium)呈正相关。

## 3 讨论

# 3.1 铅胁迫下施加 EDTA 对狗牙根生物量、铅含量及 根际土壤理化性质、土壤酶活性的影响

螯合剂 EDTA 通过竞争土壤吸附位点使土壤营养元素的有效性增加, 难溶态营养元素转化成有效态, 间接促进了植物生长。本研究中施加 2.5 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA 时, 狗牙根根际土壤有效磷含量最高, 这可能因为 EDTA 的施加降低了土壤的 pH, 同时在该浓度下酸性磷酸酶的活性最高, 促使难溶态磷向有效磷转变, 从而增加了土壤中有效磷的含量, 该结果与香



根草根际施加 EDTA 使根际土壤有效磷含量增加的 研究结果相一致<sup>[33]</sup>。施加5.0 mmol·L<sup>-1</sup>EDTA时,根际 土壤有效钾和铵态氮含量降低,脲酶并未被激活(图 2A),且在该浓度下狗牙根地上部生物量最高,说明 该浓度更利于狗牙根吸收有效氮、有效钾等营养元 素,促进狗牙根的生长;施加 5.0 mmol·L<sup>-1</sup> 和 7.5 mmol·L<sup>-1</sup>EDTA时,硝态氮含量显著升高,可能是因为 EDTA本身的结构,其带有的6个分布在氮原子及羧 基上的电子基团可以与土壤中的离子反应,通过释放 土壤颗粒上吸附的金属等离子增加土壤中有效态营 养元素及铅含量[34-35],进而提供氮源并促进狗牙根对 铅的富集,在本实验中,该浓度EDTA处理下狗牙根 对铅的富集量相对较高。但在本实验中施加7.5  $mmol \cdot L^{-1}EDTA 后, 狗牙根地上部生物量最低(图$ 1B), 而根际土壤中有效氮和有效钾含量最高(表3), 并且细菌、真菌的OTU数量最高(图5),这可能是由 于优势微生物菌群增加了土壤中铅的生物有效性,使 得狗牙根吸收了较高浓度的重金属铅,抑制了狗牙根 的生长,该机制还需进一步探讨。

#### 2022年12月 姜冉冉,等:EDTA对铅胁迫下狗牙根根际土壤质量及微生物的影响

土壤酶活性的高低能敏感表征土壤环境质量的 变化与土壤生物活性强度,是土壤质量的重要指 标<sup>[36-37]</sup>。在本实验中,施加2.5 mmol·L<sup>-1</sup>的EDTA后, 狗牙根根际土壤脲酶活性变化不显著,这可能是土壤 脲酶对EDTA和铅不敏感导致脲酶未被激活,而根际 土壤酸性磷酸酶活性和有效磷含量最高,酸性磷酸酶 的活性与根际土壤有效磷的变化趋势一致,这是因为 土壤酸性磷酸酶是一种能水解磷酸单酯键的水解酶 类,可以通过底物特异性,将土壤磷水解进而促进磷 的释放,十壤酸性磷酸酶活性强弱影响十壤中有机磷 的分解转化和有效性<sup>[38-39]</sup>,所以土壤有效磷在EDTA 处理下随酸性磷酸酶的变化而改变。EDTA对重金 属铅存在一定的活化作用,可使土壤有效态铅含量升 高,在本研究中施加5.0 mmol·L<sup>-1</sup>的EDTA 后狗牙根 根部的铅富集量最高,但酸性磷酸酶、脲酶活性低于 其他处理组,可能是由于土壤微生物表面酶蛋白以及 土壤颗粒竞争吸附大量的铅[40],从而抑制了土壤酸性 磷酸酶和脲酶的活性。土壤蔗糖酶又称转化酶,其酶 促作用的产物葡萄糖是植物和微生物重要的营养来 源[41],通常蔗糖酶活性越高,土壤肥力就越高[42]。在 本研究中根际土壤蔗糖酶活性在施加 2.5 mmol· L<sup>-1</sup>EDTA 后最高,可能由于土壤蔗糖酶需要一定的金 属离子作为辅基,而EDTA将土壤中固定态铅螯合, 使其中一部分铅转化为有效态铅,有效态铅能促进酶 活性中心与底物间的配位结合,使酶分子与其活性中 心保持一定的专性结构,改变酶催化反应的平衡性质 和酶蛋白的表面电荷,进而增强土壤酶的活性[43-46], 这与陈雨等<sup>471</sup>的研究中EDTA诱导土壤蔗糖酶活性 显著提高的结论相一致,表明施加适量EDTA 会激活 铅污染土壤中的蔗糖酶。综上所述,施加2.5 mmol· L<sup>-1</sup>EDTA 对土壤酸性磷酸酶、蔗糖酶有一定的激活作 用,利于改善狗牙根根际土壤养分状况。

# 3.2 重金属铅胁迫下施加 EDTA 对狗牙根根际土壤 微生物群落结构的影响

微生物种类不同对环境胁迫的敏感程度也不同, 因此重金属污染可能引起微生物的种类组成和丰度 变化。有研究表明长期重金属污染胁迫会改变土壤 微生物群落结构,耐重金属的微生物的相对数量和种 类会增加,成为重金属污染环境中的优势种群<sup>(48-50)</sup>。 本研究中施加7.5 mmol·L<sup>-1</sup>的EDTA条件下土壤细 菌、真菌OTU数量最高,变形菌门(Proteobacteria)、酸 杆菌门(Acidobacteriota)、绿弯菌门(Chloroflexi)、子 囊菌门(Ascomycota)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、曲霉属

(Aspergillus)等相对丰度提高。施加2.5 mmol·L<sup>-1</sup>的 EDTA 处理提高了厚壁菌门(Firmicutes)、担子菌门 (Basidiomycota)、芽孢杆菌属(Bacillus)、Gibellulopsis 等相对丰度。这些在重金属污染土壤中的优势菌群, 在施加EDTA后与对照相比其相对丰度明显提高,表 明添加EDTA使耐重金属污染的优势菌群相对丰度 提高,这与前人研究中优势菌群对重金属耐性、相对 丰度较高的结论一致[51-54]。例如:变形菌门(Proteobacteria)由于其多个重金属氧化酶基因参与重金属 抗性或固定重金属而表现出对重金属的高耐性,同时 其参与氮的硝化与反硝化作用为植物提供氮源,进而 改善重金属胁迫下微生物的生存环境[55-56]。酸杆菌 门(Acidobacteriota),绿弯菌门(Chloroflexi),子囊菌 门(Ascomycota)中的毛壳菌属(Chaetomium)、曲霉属 (Aspergillus)都能产生纤维素酶、木聚糖酶等多种纤维 素降解酶,优势菌群与植物根系形成共生关系,有利于 植物吸收水分、矿盐和代谢物,同时菌株自身可从植 物、土壤中获得碳和必需的有机物质。总体上施加 EDTA可提高土壤酸性磷酸酶、蔗糖酶的活性,高效降 解纤维素和有机质,并产生增强土壤肥力的生长素、麦 角甾醇类等次生代谢产物57,缓解重金属的胁迫,为植 物的生长提供营养元素,促进优势菌群的增加并提高 植物的生物量。

枝孢属(Cladosporium)是一种广泛分布的内生真 菌,其通过分泌有益的次级代谢产物,保护植物免受 不同的生物和非生物胁迫,进而提高植物的抗胁迫能 力<sup>[58]</sup>。在本研究中, 枝孢属(Cladosporium) 相对丰度 随EDTA浓度的增加而增加,并且植物中重金属铅的 含量也呈现增加趋势(图1A),这表明EDTA在活化 重金属并增加植物吸收的同时,使土壤中枝孢属 (Cladosporium)相对丰度增加,这在一定程度上促使 了微生物与耐性植物协同抵抗重金属的胁迫,但微生 物、植物根系、EDTA 相互作用机理还需进一步探讨。 曲霉属(Aspergillus)中的大多数菌株可分泌天冬酰胺 酶、蛋白酶和脂肪酶,其中少数可产生木聚糖酶、淀粉 酶和纤维素酶,这使得真菌曲霉属(Aspergillus)具有 一定的解磷功能[59-60]。本实验中土壤酶活性、有效磷 与曲霉属(Aspergillus)、Gibellulopsis呈正相关,表明 EDTA与植物根际土壤微生物的共同作用有助于增 加土壤有效磷的含量,该结果与曲霉属(Aspergillus) 的相对丰度与土壤理化性质呈正相关的研究结果一 致<sup>[61]</sup>。芽孢杆菌属(Bacillus)能够溶解钾并提取磷去 除重金属,具有生物固定、转化和吸附等能力<sup>[62]</sup>,本研

www.aer.org.cn

究中土壤有效磷、土壤脲酶与芽孢杆菌属(Bacillus) 呈正相关,说明芽孢杆菌属(Bacillus)能显著增加土 壤有效磷含量、提高土壤脲酶活性。此外,有研究发 现芽孢杆菌通过调节土壤酶活性来提高土壤中氮磷 的利用效率<sup>[63-64]</sup>,这些特性使芽孢杆菌成为促进植物 生长的重要菌群。综上所述,在重金属污染的土壤中 施加EDTA后,具有重金属抗性的微生物成为优势菌 群,这些优势菌群的代谢产物可能和植物根系相互作 用来改善根际土壤酶活性、有效态营养元素含量,进 而促进植物对重金属铅的吸收,提高耐性植物的修复 效果。

#### 4 结论

(1)施用2.5 mmol·L<sup>-1</sup>的EDTA有利于耐性植物 狗牙根根际土壤酸性磷酸酶、蔗糖酶活性及有效磷含 量的提高,并且施加适量的EDTA能有效增加狗牙根 对铅的富集。

(2)施用7.5 mmol·L<sup>-1</sup>的EDTA可显著提高根际 土壤细菌、真菌的OTU数量,增加耐重金属铅胁迫的 优势菌群[绿弯菌门(Chloroflexi)、芽孢杆菌属(Bacillus)、嗜酸杆菌属(Acidibacter)、土微菌属(Pedomicrobium)、枝孢属(Cladosporium)、曲霉属(Aspergillus)、 Gibellulopsis]的相对丰度,与此同时,菌群的改变提高 了土壤酶活性,从而增加了土壤中铵态氮、硝态氮、有 效钾的含量。

(3)施加适量的EDTA 明显改善了微生物多样性 与群落结构,根际微生物与耐性植物协同作用提高了 耐性植物的抗性,为EDTA 与狗牙根联合修复铅污染 土壤的合理利用提供依据。

#### 参考文献:

- CHEN Z S, LEE G J, LIU J C. The effects of chemical remediation treatments on the extractability and speciation of cadmium and lead in contaminated soils[J]. *Chemosphere*, 2000, 41(1/2):235–242.
- [2] 串丽敏,赵同科,郑怀国,等.土壤重金属污染修复技术研究进展
  [J].环境科学与技术,2014,37(增刊2):213-222. CHUAN L M, ZHAO T K, ZHENG H G, et al. Research advances in remediation of heavy metal contaminated soils[J]. Environmental Science & Technology, 2014, 37(Suppl 2):213-222.
- [3] KIRKHAM M B. Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendments[J]. *Geoderm*, 2006, 137 (1/2):19-32.
- [4] 王敏捷,盛光遥,王锐.土壤重金属污染修复植物处置技术进展[J].
   农业资源与环境学报,2021,38(2):151-159. WANG M J, SHENG G Y, WANG R. Progress in disposal technologies for plants polluted

with heavy metals after phytoextraction[J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2021, 38(2):151-159.

- [5] 王泓博, 荀文贤, 吴玉清, 等. 重金属污染土壤修复研究进展:原理与技术[J]. 生态学杂志, 2021, 40(8):2277-2288. WANG H B, GOU W X, WU Y Q, et al. Progress in remediation technologies of heavy metals contaminated soil: Principles and technologies[J]. Chinese Journal of Ecology, 2021, 40(8):2277-2288.
- [6] 郭晓方, 卫泽斌, 吴启堂. 乙二胺四乙酸在重金属污染土壤修复过程的降解及残留[J]. 农业工程学报, 2015, 31(7): 272-278. GUOXF, WEIZB, WUQT. Degradation and residue of EDTA used for soil repair in heavy metal-contaminated soil[J]. Transaction of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2015, 31(7): 272-278.
- [7] WU L H, LUO Y M, CHRISTIE P, et al. Effects of EDTA and low molecular weight organic acids on soil solution properties of a heavy metal polluted soil[J]. *Chemosphere*, 2003, 50(6):819–822.
- [8] SHAHID M, AUSTRUY A, ECHEVARRIA G, et al. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metals: A review[J]. Soil and Sediment Contamination, 2014, 23(4):389–416.
- [9]李晓宝,董焕焕,任丽霞,等. 螯合剂修复重金属污染土壤联合技术研究进展[J]. 环境科学研究, 2019, 32(12):1993-2000. LI X B, DONG H H, REN L X, et al. Effects of chelating agent combination technologies on soil contaminated by heavy metals[J]. Research of Environmental Sciences, 2019, 32(12):1993-2000.
- [10] NOWACK B, SCHULIN R, ROBINSON B. Critical assessment of chelant-enhanced metal phytoextraction[J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(17):5225–5232.
- [11] DERGRYSE F, SMOLDERS E, MERCKX R. Labile Cd complexes increase Cd availability to plants[J]. *Environmental Science & Technolo*gy, 2006, 40(3):830–836.
- [12] HASAN M M, UDDIN M N, ARA-SHARMEEN I, et al. Assisting phytoremediation of heavy metals using chemical amendments[J]. *Plants*, 2019, 8(9):295.
- [13] NEUGSCHWANDTNER R W, TLUSTO P, KOMAREK M, et al. Chemically enhanced phytoextraction of risk elements from a contaminated agricultural soil using Zea mays and Triticum aestivum: Performance and metal mobilization over a three year period[J]. International Journal of Phytoremediation, 2012, 14(8):754-771.
- [14] CHAUHAN G, PANT K K, NIGAM K. Chelation technology: A promising green approach for resource management and waste minimization [J]. Environmental Science: Processes & Impacts, 2015, 17(1):12–40.
- [15] AEKKACHA T, PANTAWAT S, PENRADEE C, et al. Effect of EDTA and NTA on cadmium distribution and translocation in *Pennis*etum purpureum Schum cv. Mott[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26(10):9851–9860.
- [16] LUO C, SHEN Z, LI X. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS[J]. Chemosphere, 2005, 59(1):1–11.
- [17] ATTINTI R, KIRK R, BARRETT B, et al. Ethylenediaminedisuccinic acid (EDDS) enhances phytoextraction of lead by vetiver grass from contaminated residential soils in a panel study in the field[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 225:524–533.
- [18] 孙晓梵, 张一龙, 李培英, 等. 喷施茉莉酸甲酯对干旱胁迫下狗牙

#### 2022年12月 姜冉冉,等:EDTA对铅胁迫下狗牙根根际土壤质量及微生物的影响

根生理特性的影响[J]. 草地学报, 2022, 30(10):2811-2818. SUN X F, ZHANG Y L, LI P Y, et al. Physiological response of external spraying methyl jasmonate to the drought stress of bermudagrass seed-lings[J] Acta Agrestia Sinica, 2022, 30(10):2811-2818.

- [19] 叶兴,杨启红,张超波,等.长江河岸边坡狗牙根根系力学性能研究[J].人民长江,2022,53(4):195-200. YE X, YANG Q H, ZHANG C B, et al. Analysis of mechanical properties of bermudagrass root system on riparian slopes of Yantze River[J]. Yantze River, 2022, 53(4): 195-200.
- [20] 鲁福庆, 王兴明, 储昭霞, 等. 蚯蚓联合狗牙根对复垦土壤重金属 含量的影响[J]. 环境科学与技术, 2022, 45(3):87-95. LU F Q, WANG X M, CHU Z X, et al. Effect of earthworms combined with *Cynodon dactylon* on the heavy metal content of reclaimed soil[J]. *Environmental Science & Technology*, 2022, 45(3):87-95.
- [21] 张云, 费艳旭, 孙琪旗, 等. 狗牙根根际土壤 pH、有机质含量及重 金属形态分布[J]. 草原与草坪, 2021, 41(5):99-105. ZHANG Y, FEI Y X, SUN Q Q, et al. pH, organic matter and speciation distribution of heavy metals in rhizosphere soil of *Cynodon dactylon*[J]. *Grassland and Turf*, 2021, 41(5):99-105.
- [22] NADEEM S, MUHAMMAD I, MUHAMMAD R S, et al. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives[J]. *Chemosphere*, 2017, 171 (3): 710– 721.
- [23] TIAN P, RAZAVI B S, ZHANG X, et al. Microbial growth and enzyme kinetics in rhizosphere hotspots are modulated by soil organics and nutrient availability[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 141: 107662.
- [24] BILGARELLI D, SCHLAEPPI K, SPAEPEN S, et al. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2012, 64(1):807-838.
- [25] HUREK T, HANDLEY L, REINHOLD H B, et al. Azoarcus grass endophytes contribute fixed nitrogen to the plant in an unculturable state
   [J]. Molecular Plant-microbe Interactions: MPMI, 2002, 15(3):233– 242.
- [26] SANTOYO G, MORENO H G, OROZCO M M, et al. Plant growthpromoting bacterial endophytes[J]. *Microbiological Research*, 2016, 183(5):92-99.
- [27] 郭亚利. 烤烟根系分泌物和提取物对幼苗生长及土壤酶活性的影响[D]. 重庆:西南大学, 2006. GUO Y L. The effects of root exudates and extracts on the growth of the flue-cured tobacco on seedling and the activities of soil enzyme[D] Chongqing: Southwest University, 2006.
- [28] 徐军. 植物促生细菌和EDTA 对植物生长与富集土壤重金属的影响及机制研究[D]. 南京:南京农业大学, 2012. XU J. Effects of plant growth-promoting bacteria and EDTA on the growth and heavy metal accumulation of plants[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012.
- [29] EPELDE L, HERNÁNDEZ-ALLICA J, BECERRIL J M, et al. Effects of chelates on plants and soil microbial community: Comparison of EDTA and EDDS for lead phytoextraction[J]. Science of the Total Environment, 2008, 401(1/2/3):21-28.

- [30] ULTRA V U, YANO A, KOZO I, et al. Influence of chelating agent addition on copper distribution and microbial activity in soil and copper uptake by brown mustard (*Brassica juncea*) [J]. Soil Science & Plant Nutrition, 2005, 51(2):193–202.
- [31] HUANG R, CUI X, LUO X, et al. Effects of plant growth regulator and chelating agent on the phytoextraction of heavy metals by *Pfaffia* glomerata and on the soil microbial community[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 283:117159.
- [32] 何永健,姜冉冉,王鹤翔,等.不同土地利用方式下土壤养分及重 金属变化特征[J]. 安徽农业科学, 2021, 49(18):63-69. HE Y J, JIANG R R, WANG H X, et al. Variation characteristics of soil nutrients and heavy metals under different land use patterns[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2021, 49(18):63-69.
- [33] 李文一. 香根草对碱性土壤难溶性锌镉的吸收利用及 EDTA 调控 机理[D]. 重庆:西南大学, 2007. LI W Y. Absorption and utilization of *Vetiveria zizanioide* on insoluble Zn and Cd in alkaline soil and regulatory mechanism of EDTA[D]. Chongqing: Southwest University, 2007.
- [34] CHEN Y, LI X, SHEN Z. Leaching and uptake of heavy metals by ten different species of plants during an EDTA-assisted phytoextraction process[J]. *Chemosphere*, 2004, 57(3):187-196.
- [35] SAIFULLAH, MEERS E, QADIR M, et al. EDTA-assisted Pb phytoextraction[J]. Chemosphere, 2009, 74(10):1279-1291.
- [36] 刘善江, 夏雪, 陈桂梅, 等. 土壤酶的研究进展[J]. 中国农学通报, 2011, 27(21):1-7. LIU S J, XIA X, CHEN G M, et al. Study progress on functions and affecting factors of soil enzymes[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(21):1-7.
- [37] 张灿灿, 多立安, 赵树兰. EDTA 对高羊茅生长及其土壤中酶活性的影响[J]. 中国草地学报, 2013, 35(3):116-120. ZHANG C C, DUO L A, ZHAO S L. Effects of EDTA on the growth of festuca arundinacea and its enzyme activities[J]. Chinese Journal of Grassland, 2013, 35(3):116-120.
- [38] 李文革, 刘志坚, 谭周进, 等. 土壤酶功能的研究进展[J]. 湖南农业 科学, 2006(6): 34-36. LI W G, LIU Z J, TAN Z J, et al. Research progress of soil enzyme function[J] Hunan Agricultural Science, 2006 (6): 34-36.
- [39] 邵文山, 李国旗. 土壤酶功能及测定方法研究进展[J]. 北方园艺, 2016(9):188-193. SHAO W S, LI G Q. Research progress on soil enzyme function and its determination method[J]. Northern Horticulture, 2016(9):188-193.
- [40] 黄云凤,高扬,毛亮,等.Cd、Pb单一及复合污染下土壤酶生态抑制效应及生态修复基准研究[J].农业环境科学学报,2011,30 (11):2258-2264. HUANG YF,GAOY,MAOL, et al. The ecological inhibition effect of soil enzyme activity and ecological restoration baseline under Cd and Pb single and combined pollution[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2011, 30(11):2258-2264.
- [41] 陈红军,孟虎,陈钧鸿.两种生物农药对土壤蔗糖酶活性的影响
  [J]. 生态环境, 2008, 17(2):584-588. CHEN H J, MENG H, CHEN J H. Effects of two biopesticides on soil invertase activity[J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(2):584-588.
- [42] 陈雨. 小叶芥菜对模拟污灌区镉污染土壤的修复研究[D]. 太原:

# 1<u>G</u> 2732

太原理工大学, 2014. CHEN Y. Remediation research of lobular mustard on simulated sewage-irrigated soil polluted by cadmium[D] Taiyuan:Taiyuan University of Technology, 2014.

- [43] 邱莉萍, 张兴昌. Cu Zn Cd和EDTA对土壤酶活性影响的研究[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(1): 30-33. QIULP, ZHANGXC. Effects of Cu, Zn, Cd and EDTA on soil enzyme activities[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2006, 25(1): 30-33.
- [44] 苏耀明, 陈志良, 谭映宇, 等. 化学淋洗对铅锌复合污染土壤微生物与酶活性的影响研究[J]. 环境污染与防治, 2016, 38(8): 32-35.
  SU Y M, CHEN Z L, TAN Y Y, et al. Effect of chemical washing on microorganisms and enzyme activity in Pb and Zn combined contaminated soils[J]. Environmental Pollution and Prevention, 2016, 38(8): 32-35.
- [45] GAO Y, ZHOU P, MAO L, et al. Effects of plant species coexistence on soil enzyme activities and soil microbial community structure under Cd and Pb combined pollution[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2010, 22(7):1040–1048.
- [46] 杨正亮, 冯贵颖. 重金属对土壤脲酶活性的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2002, 20(3):41-43. YANG Z L, FENG G Y. Study on the techniques of improving soil fertility in the cold semiarid highland[J]. Agricultural Research in the Arial Areas, 2002, 20(3):41-43.
- [47] 陈雨, 祝方. 螯合剂-油菜联合修复对镉污染土壤酶活性的影响 [J]. 工业安全与环保, 2015, 41(5):75-78. CHEN Y, ZHU F. Influence of chelator- brassciajuncea phytoremediation on soil enzyme activity in cadmium contaminated soils[J]. Industrial Safety and Environmental Protection, 2015, 41(5):75-78.
- [48] DA SILVA JÚNIOR F M R, VOLCÁO L M, HOSCHA L C, et al. Growth of the fungus *Chaetomium aureum* in the presence of lead: Implications in bioremediation[J]. *Environmental Earth Sciences*, 2018, 77(7):275.
- [49] PACWA-PLOCINICZAK M, PLOCINICZAK T, YU D, et al. Effect of silene vulgaris and heavy metal pollution on soil microbial diversity in long-term contaminated soil[J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2018, 229(1):13.
- [50] 崔红标,范玉超,周静,等.改良剂对土壤铜镉有效性和微生物群 落结构的影响[J].中国环境科学,2016,36(1):197-205. CUI H B, FAN Y C, ZHOU J, et al. Availability of soil Cu and Cd and microbial community structure as affected by applications of amendments [J]. China Environmental Science, 2016, 36(1):197-205.
- [51] ALTIMIRA F, YANEZ C, BRAVO G, et al. Characterization of copper-resistant bacteria and bacterial communities from copper-polluted agricultural soils of central Chile[J]. *BMC Microbiology*, 2012, 12 (1):193.

- [52] LI X, MENG D, LI J, et al. Response of soil microbial communities and microbial interactions to long-term heavy metal contamination[J].
- [53] LUO L Y, XIE L L, JIN D C, et al. Bacterial community response to cadmium contamination of agricultural paddy soil[J]. Applied Soil Ecology, 2019, 139:100-106.

Environmental Pollution, 2017, 231:908-917.

- [54] YANG R Y, TANG J J, CHEN X, et al. Effects of coexisting plant species on soil microbes and soil enzymes in metal lead contaminated soils[J]. *Applied Soil Ecology*, 2007, 37(3):240–246.
- [55] HAN H, WU X, YAO L, et al. Heavy metal-immobilizing bacteria combined with calcium polypeptides reduced the uptake of Cd in wheat and shifted the rhizosphere bacterial communities[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 267:115432.
- [56] NARENDRULA-KOTHA R, NKONGOLO K K. Bacterial and fungal community structure and diversity in a mining region under long-term metal exposure revealed by metagenomics sequencing[J]. *Ecological Genetics and Genomics*, 2017, 2:13-24.
- [57] SOYTONG K. Application of a new broad spectrum biological fungicide for environmental plant protection[C]. Harbin: Advanced Study on Plant Pest Biological Control, 2000.
- [58] RAUT I, CALIN M, CAPRA L, et al. *Cladosporium* sp. isolate as fungal plant growth promoting agent[J]. *Agronomy*, 2021, 11(2): 392.
- [59] ITOH T, YAMANOI K, KUDO T, et al. Aciditerrimonas ferrireducens gen. nov., sp. nov., an iron-reducing thermoacidophilic actinobacterium isolated from a solfataric field[J]. International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology, 2011, 61(6):1281-1285.
- [60] SAHOO H R, SAHOO M, BABOO M, et al. Heavy metal contaminated acidic soil: A source of useful fungi[J]. Society for Tropical Plant Research, 2016, 3(2):380–383.
- [61] LIN Y, YANG H, YE Y, et al. How does land consolidation affect soil fungal community structure? Take heavy metal contaminated areas in eastern China for example[J]. Land, 2022, 11(1):142.
- [62] ÇOLAK F, ATAR N, DEMET Y, et al. Biosorption of lead from aqueous solutions by *Bacillus* strains possessing heavy-metal resistance [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2011, 173(2):422-428.
- [63] ZHANG X, LIU X, LAN Z, et al. Conjunctive use of composted leguminous shrub *Caragana microphylla*-straw and *Bacillus cereus* reduces nitrogen input but enhances nitrogen use efficiency and cucumber yields in alkaline soils[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 139:69–78.
- [64] LI Z, CUI J, MI Z, et al. Responses of soil enzymatic activities to transgenic *Bacillus thuringiensis* (Bt) crops: A global meta-analysis
   [J]. Science of the Total Environment, 2018, 651:1830–1838.

(责任编辑:李丹)

#### 农业环境科学学报 第41卷第12期