

史鼎鼎, 梁小迪, 徐少慧, 等. EDTA与耐性细菌对黑麦草吸收复合污染土壤中铅镉的影响[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(8): 1634–1641.  
SHI Ding-ding, LIANG Xiao-di, XU Shao-hui, et al. Effects of EDTA and resistant bacteria on the uptake of Pb and Cd by ryegrass grown in Pb and Cd-contaminated soil[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2018, 37(8): 1634–1641.

## EDTA与耐性细菌对黑麦草吸收 复合污染红壤中铅镉的影响

史鼎鼎, 梁小迪, 徐少慧, 蒋代华\*, 黄智刚

(广西大学农学院, 南宁 530004)

**摘要:**为比较耐性细菌与EDTA两种方法强化植物富集重金属效果的优劣,以黑麦草(*Lolium perenne* L.)为供试植物,利用土培试验和室内分析,比较EDTA与耐性细菌(*Rhodococcus baikonurensis*, 编号为J6)对黑麦草吸收重金属复合污染土壤中铅(Pb)、镉(Cd)的影响。试验采用双因素完全随机区组设计,因素一为Cd、Pb污染浓度,设置6个水平,各个水平的Cd、Pb浓度分别为0、0 mg·kg<sup>-1</sup>; 5、50 mg·kg<sup>-1</sup>; 10、100 mg·kg<sup>-1</sup>; 20、200 mg·kg<sup>-1</sup>; 50、400 mg·kg<sup>-1</sup>; 80、800 mg·kg<sup>-1</sup>,并依次以代号A1、A2、A3、A4、A5、A6表示。因素二为分别添加EDTA、接种J6菌,以空白为对照。结果表明:在A1、A2条件下,添加J6菌可促进黑麦草生长,提高生物量。接种J6菌对黑麦草吸收Pb、Cd具有促进作用,在不同浓度的重金属处理条件下,接菌后的黑麦草地上部Cd含量呈提高趋势,最高达27%、地下部Pb、Cd含量也分别提高17%~64%、5%~23%;而添加EDTA后的黑麦草仅有地下部Pb含量提高40%(A5)、60%(A6)。接种J6菌可降低根际土的Cd、Pb全量,同时提高有效态Cd、Pb含量。接种J6菌也可提高黑麦草Cd的转运系数。总体而言,接种J6菌可促进黑麦草对重金属复合污染土壤中的Cd、Pb的吸收,其效果优于添加螯合剂EDTA。

**关键词:**黑麦草;耐性细菌;EDTA;重金属;联合修复

中图分类号:X53 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2018)08-1634-08 doi:10.11654/jaes.2017-1349

### Effects of EDTA and resistant bacteria on the uptake of Pb and Cd by ryegrass grown in Pb and Cd-contaminated soil

SHI Ding-ding, LIANG Xiao-di, XU Shao-hui, JIANG Dai-hua\*, HUANG Zhi-gang  
(Agricultural College, Guangxi University, Nanning 530004, China)

**Abstract:** A soil culture test and laboratory analysis was conducted to compare the remediation effect of EDTA and resistant bacteria (strain number J6) on the uptake of Pb and Cd by ryegrass in contaminated soil. A two-factor randomized block design was used, and the first factor was the concentration of Cd and Pb. We set six levels (Cd and Pb levels 0, 0 mg·kg<sup>-1</sup>; 5, 50 mg·kg<sup>-1</sup>; 10, 100 mg·kg<sup>-1</sup>; 20, 200 mg·kg<sup>-1</sup>; 50, 400 mg·kg<sup>-1</sup>; and 80, 800 mg·kg<sup>-1</sup>, respectively), coded A1, A2, A3, A4, A5, and A6. The second factor was different enhancers, which were EDTA, J6 bacteria, and blank. Our results showed that under the conditions of A1 and A2, adding J6 could promote the growth of ryegrass and increase biomass. The inoculation of J6 bacteria could promote the uptake of Pb and Cd in ryegrass. Under different concentrations of heavy metals, the content of Cd in the upper ryegrass was increased after the treatment with bacteria. The highest content was 27%, and the content of Pb and Cd in the underground part increased by 17%~64% and 5%~23%, respectively. After adding the EDTA, the Pb concentration of the plant root increased by 40% and 60% in A5 and A6, respectively. The inoculation of J6 could significantly reduce the total amount of Pb and Cd in rhizosphere soils; meanwhile, J6 could effectively improve the available content of Pb and Cd. Additionally, the inoculation of J6 bacteria could also improve the transport coefficient of Cd in ryegrass. In general, the inoculation of J6 bacteria could promote the uptake of Cd and Pb by ryegrass in soil polluted by heavy metals to a greater extent than did the addition of chelator EDTA.

**Keywords:** ryegrass; resistant bacteria; EDTA; heavy metals; joint repair

收稿日期:2017-10-05 录用日期:2018-01-04

作者简介:史鼎鼎(1994—),男,山西沁水人,硕士研究生,从事土壤环境微生物研究。E-mail:sdding@qq.com

\*通信作者:蒋代华 E-mail:dhjiang2008@gxu.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金项目(41661076);广西自然科学基金项目(2014GXNAFAA118287)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China (41661076); The Natural Science Foundation of Guangxi, China (2014GXNAFAA 118287)

目前,重金属污染是人类生活中极为重要的土壤环境问题之一,也是现今全球环境的一个热点、难点问题<sup>[1]</sup>。重金属污染具有隐蔽性、持久性以及难降解性等多种特性,同时还能够进入到食物链中,对人类的健康及生态环境构成严重的危害<sup>[2]</sup>。在众多重金属元素中,Cd、Pb经常互相伴随出现,从而导致铅镉复合污染的形成<sup>[3-4]</sup>。我国南方地区是较为重要的重金属矿区,有色金属矿较多,但由于矿产资源不合理的开采方式,直接导致矿区周边的土壤及其环境受到不同程度的重金属污染<sup>[5-6]</sup>。近年来,植物修复技术迅速发展,是一种应用前景广阔的新技术。黑麦草(*Lolium Perenne* L.)属早熟禾科黑麦草属植物,一年生单子叶植物,具有生长速度快、分蘖多、须根发达、生物量大等特点,能够提高土壤中多种元素的有效态含量,改善土壤的理化性质<sup>[7]</sup>,同时对重金属具有很强的耐受性以及吸收、积累能力,是作为重金属污染土壤修复较为理想的模式植物之一<sup>[8-9]</sup>。徐佩贤等<sup>[10]</sup>研究4种草坪植物对Cd的耐受性与积累特性,结果表明,黑麦草对Cd的耐受性仅次于高羊茅。李松克等<sup>[11]</sup>研究发现,6年种植黑麦草后,土壤中As、Pb、Cr、Cd含量分别比种植初期降低了52.71%、45.12%、48.32%、59.15%,单项污染指数分别由种植前的2.67、0.31、1.92和3.48降低为1.26、0.17、0.99和1.42,表明重金属污染土壤得到了不同程度的修复。

在前人的研究中,化学螯合剂能够活化土壤中存在重金属,以促进植物的富集,进而强化植物对土壤中重金属的吸收<sup>[12-13]</sup>。EDTA作为一种强大的螯合剂,能够增加土壤溶液中的重金属含量,有效促进植物对重金属的吸收和转运能力。王红新等<sup>[14]</sup>研究表明,EDTA可促进对Pb的溶解并提高其在玉米地上部富集的能力。俞斌等<sup>[15]</sup>研究表明,EDTA的添加通过提高土壤中酸溶态镍和锌含量,促进甘蔗对镍和锌的吸收及向地上部位转运。而土壤环境中存在着众多微生物,种类繁多,其中细菌的数量最丰富、活动最旺盛,带有电荷,可分泌出大量代谢产物,与植物的生长联系密切,能够促进植物生长,同时还可以通过

多种方式来抑制重金属的毒性,强化植物对土壤中重金属的吸收效果<sup>[16]</sup>。细菌作为一种强化植物吸收重金属的手段,可以在一定程度上缓解重金属的毒性,促进植物的生长以及影响土壤中重金属的生物有效性<sup>[17-18]</sup>。毛亮等<sup>[19]</sup>从重金属污染土壤中分别筛出具有耐铅性的绿色木霉菌和具有耐镉性的淡紫拟青霉菌,研究数据表明添加菌后促进了龙葵的生长,并增加了龙葵整个植株体对Cd、Pb的吸收。

因此,本文针对具有南方代表性的主要土类之一——红壤(占广西总面积的35%),采用有机螯合剂EDTA和自行筛选出的耐性细菌J6菌,以一年生黑麦草为供试植物,通过盆栽试验在重金属复合污染状况下,比较有机螯合剂——EDTA和天然生物螯合剂——耐性细菌促进黑麦草吸收重金属Cd、Pb的差异,阐明耐性细菌与EDTA两种方法强化植物富集重金属的优劣,为南方矿区重金属污染土壤的生物修复提供一定的理论依据及技术参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

#### 1.1.1 供试土壤

供试土壤为红壤,采自广西桂林市兴安县境内。该土壤的基本理化性质如表1所示。

#### 1.1.2 供试植物

供试植物为邦德新一代宽叶型四倍体一年生黑麦草(*Lolium Perenne* L.)

#### 1.1.3 供试细菌

试验所用耐性细菌是本课题组分离筛选获得的。筛菌土壤采自广西崇左市大新县铅锌矿区周边被重金属污染的5~20 cm深的表层土壤,该土壤的Cd、Pb含量分别为2 085.3、50.3 mg·kg<sup>-1</sup>,有效态Cd、Pb含量分别为192.6、17.5 mg·kg<sup>-1</sup>,属于铅镉复合重度污染土壤。通过稀释平板法筛选得到重金属铅镉复合耐性菌株,取名为J6菌。

J6菌由上海生工生物有限公司进行菌种鉴定,经过16S rDNA序列测定,该菌是*Rhodococcus baikonu-*

表1 供试土壤基本理化性质

Table 1 The basic physical and chemical properties of the tested soil

土壤类型 Soil type	质地 Texture	pH	阳离子交换量 CEC/cmol·kg <sup>-1</sup>	有机质 O.M./ g·kg <sup>-1</sup>	碱解氮 Available N/ mg·kg <sup>-1</sup>	速效磷 Available P/ mg·kg <sup>-1</sup>	速效钾 Available K/ mg·kg <sup>-1</sup>	全镉 Total Cd/mg· kg <sup>-1</sup>	全铅 Total Pb/ mg·kg <sup>-1</sup>
红壤	壤质黏土	4.87	10.71	16.36	72.86	7.94	23.5	0.15	22.2

注:测定pH的水土比为2.5:1。

*rensis*, 外形为圆形、乳白色、不透明、表面光泽、边缘圆润整齐、直径为 2.1~2.6 mm, 革兰氏阳性菌, 对 Pb 的最高耐受浓度高达  $1200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 同时对 Cd 的最高耐受浓度为  $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 在 pH 3.0~11.0 范围内能够正常生长, 适应生长的酸碱度广, 对盐也有一定的耐性。

## 1.2 实验设计

盆栽试验于广西大学农学院温温室中进行, 试验所用塑料盆的上口直径为 24 cm, 底部直径为 20 cm, 高为 20 cm。供试土壤过 1 cm 孔径的土筛, 混合后每盆装土约 5 kg。试验采用双因素完全随机区组设计, 因素一为铅镉污染浓度, 设置 6 个水平, 各个水平的 Cd、Pb 浓度分别为  $0, 0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;  $5, 50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;  $10, 100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;  $20, 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;  $50, 400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;  $80, 800 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 并依次以代号 A1、A2、A3、A4、A5、A6 表示。因素二为分别添加 EDTA、接种 J6 菌, 以空白为对照。共 18 个处理, 每个处理重复 3 次。试验前, 使用尿素和  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  作基肥 (N、P、K 的施入量分别为 0.200、0.158、0.200  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ); 铅镉系列浓度采取外源添加, 以硝酸铅和硫酸镉形式配成溶液后采用喷雾的方式均匀加入土壤中, 空白处理作对照。土壤含水量保持在田间持水量的 60%, 陈化一年。播种前, 对黑麦草种子进行筛选、浸种消毒以及催芽等各种处理。播种时先用小铁锹取出约 2 cm 厚的红壤表土, 将萌芽种子均匀撒入盆中并用表土覆盖后浇水以达到保持土壤含水量为田间持水量的 60% 的目的。生长约 2~3 周后间苗, 每盆留苗 200 株。

## 1.3 样品采集及测定

黑麦草种植 3 个月后收割, 截取地上部并称鲜质量。105 °C 杀青, 65 °C 烘干至恒质量, 称其干质量, 粉碎保存备用; 黑麦草根须部采集完根际土后, 清洗后放置烘箱, 105 °C 杀青, 65 °C 烘干至恒质量, 称其干质量, 粉碎保存备用。

植株样品, 采用  $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$  消解-ICP-MS 法测定重金属 Cd、Pb 含量: 称 0.100 0 g 样于 50 mL 消煮管中, 加入 8 mL  $\text{HNO}_3$  (优级纯) 后放置过夜。先石墨消煮炉 80 °C 低温消解, 待管口冒棕色烟时, 升温至 160 °C 消解至液体变为浅黄色。取下冷却后加入 4 mL 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 消解 2 min 后, 消煮炉升温至 120 °C, 消煮 30 min, 再次冷却加 2 mL 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 反复操作 3 次, 第三次加 2 mL 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 待  $\text{H}_2\text{O}_2$  完全分解后, 升温至 160 °C 继续消解至液体清澈透白, 剩余液体 4 mL 左右, 即为消解完全。待测液转移至 50 mL 容量瓶中, 定容、过滤、保存。采用 ICP-MS 测定植物样中的 Cd、

Pb 含量。

根际土壤, 湿法消煮-ICP-MS 测定 Cd、Pb 含量: 称 0.150 0 g 根际土于 50 mL 消化管中, 加 5 mL  $\text{HNO}_3$  (优级纯), 放置过夜。用石墨消煮炉 80 °C 低温加热 2 h, 升温至 120 °C 消解 2 h, 升温至 160 °C 消解至液体变为淡黄色澄清, 固体剩余量少且发白, 管内外无棕色气体附着, 即为消解完全。冷却后, 同上述植物样消解方法中加入 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 反复操作 3 次 (每次加完  $\text{H}_2\text{O}_2$  后 100 °C 消解 1 h, 升温至 120 °C 消解 1 h)。待测液转移至 50 mL 容量瓶中, 定容、过滤, 采用 ICP-MS 测定 Cd、Pb 含量。

采用 DTPA 浸提-ICP-MS 法测定 Cd、Pb 有效态含量: 称 2.00 g 根际土于 100 mL 白色塑料瓶中, 加入 20 mL DTPA 浸提剂, 放置于 25 °C 250  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  的摇床上振荡 2 h, 过滤, 采用 ICP-MS 测定 Cd、Pb 含量

## 1.4 数据处理

试验数据采用 Excel 2007 和 SPSS 19.0 软件进行统计分析。转运系数 = 植物地上部 Cd、Pb 浓度 ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) / 植物地下部 Cd、Pb 浓度 ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )<sup>[20]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 EDTA 与 J6 菌对黑麦草生物量的影响

对于针对土壤重金属污染问题的植物修复技术, 在一定程度上会受到植物生物量的限制。由表 2 可知, 在 A1 条件下, 添加 EDTA 的黑麦草生物量低于其他两组处理, 且差异显著。在重金属 Pb、Cd 浓度较低, 即 A2、A3 条件下, 接菌处理的黑麦草生物量较高, 差异显著。而随着 Pb、Cd 浓度的递增, 接菌处理的黑麦草生物量呈下降趋势。与空白对照相比, EDTA 处理的黑麦草总干质量降低, 其中, 根部干质量明显下降, 而黑麦草地上部鲜质量和干质量较高, 且水分含量高。与接菌处理相比, 在 A1、A2、A3 条件下, EDTA 处理对黑麦草生物量的影响较大, 抑制了其生长; 随着 Pb、Cd 浓度的提高, EDTA 处理的黑麦草总生物量较高, 但其对黑麦草根系的损害更为显著。

江春玉等<sup>[21]</sup>筛选出一株对碳酸铅、碳酸镉活化能力最强的铅镉抗性细菌 WS<sub>34</sub>, 并且通过盆栽试验验证, 菌株 WS<sub>34</sub> 能够明显提高供试植物的生物量。赵根成等<sup>[22]</sup>通过室内盆栽试验研究表明, 外源添加菌 PSQ、Ts37、C13 以及 shf2 对蜈蚣草生长有明显促进作用, 其生物量、根系活力及根系体积均有不同程度的增加。本实验则表明: 在 A1、A2、A3 条件下, 接种 J6 菌能够提高黑麦草的生物量, 更好地促进黑麦草生

表2 两种处理对黑麦草的生物量的影响

Table 2 The weight of *Lolium perenne* in two treatments

浓度/mg·kg <sup>-1</sup>	处理	地上部干质量/g·株 <sup>-1</sup>	地上部鲜质量/g·株 <sup>-1</sup>	根干质量/g·株 <sup>-1</sup>	总干质量/g·株 <sup>-1</sup>
A1	CK	19.8±1.51a	163.6±0.38a	3.8±0.32b	23.6±1.54a
	EDTA	17.6±1.02c	152.3±1.43b	3.5±0.55c	21.1±1.46b
	J6菌	18.9±0.21b	163.1±1.85a	4.9±0.57a	23.8±0.57a
A2	CK	18.2±0.66b	152.3±0.24c	3.9±0.75a	22.1±0.75b
	EDTA	18.4±1.52b	192.5±1.64a	3.1±0.30b	21.4±1.45c
	J6菌	20.5±0.54a	180.7±1.02b	3.9±0.49a	23.5±0.57a
A3	CK	21.4±0.58b	195.7±0.97c	5.6±0.80a	27.0±1.38b
	EDTA	21.8±1.50b	242.1±1.81a	5.4±1.68a	27.1±1.99b
	J6菌	30.7±0.41a	216.2±0.42b	5.1±0.24b	35.8±0.31a
A4	CK	17.6±0.35b	182.6±1.65b	4.4±0.48a	22.0±0.78a
	EDTA	19.6±0.87a	229.7±1.70a	3.2±0.06b	22.8±0.85a
	J6菌	17.8±0.23b	170.4±1.17c	3.1±0.33b	20.8±0.40b
A5	CK	17.5±1.31a	182.2±0.62b	4.9±0.90a	22.4±1.20a
	EDTA	15.8±0.78c	241.7±0.68a	1.9±0.33c	17.7±1.06b
	J6菌	16.4±0.60b	182.3±1.02b	2.4±0.32b	18.8±0.89b
A6	CK	17.8±0.40a	211.5±0.61a	4.3±0.30a	22.1±0.15a
	EDTA	17.5±0.25a	210.0±1.39a	2.6±0.44c	20.2±0.69b
	J6菌	15.6±0.15b	202.5±0.02b	3.3±0.14b	18.9±0.28c

注:表中数据为3个数的平均值±标准误差,同一部位数据不同字母表示处理间差异显著(邓肯法, $P<0.05$ )。

Note: Values are means±standard errors ( $n=3$ ), different letters in the same position meant significant difference (Duncan,  $P<0.05$ ).

长。而在重金属高浓度,即A4、A5、A6条件下,接种J6菌后黑麦草生物量出现降低现象,原因可能是J6菌活化了土壤Pb、Cd离子<sup>[23]</sup>,促进了黑麦草对Pb、Cd的吸收,而吸收过高浓度的重金属元素影响到叶绿体的相关酶活性,破坏相关结构及功能,导致叶绿素含量降低,植物的生物量相应减少<sup>[24-26]</sup>。在重金属浓度梯度条件下,接菌处理后黑麦草的根系干质量均高于添加整合剂EDTA,提高了3%~40%,表明接种J6菌比EDTA有利于黑麦草的生长、发育。

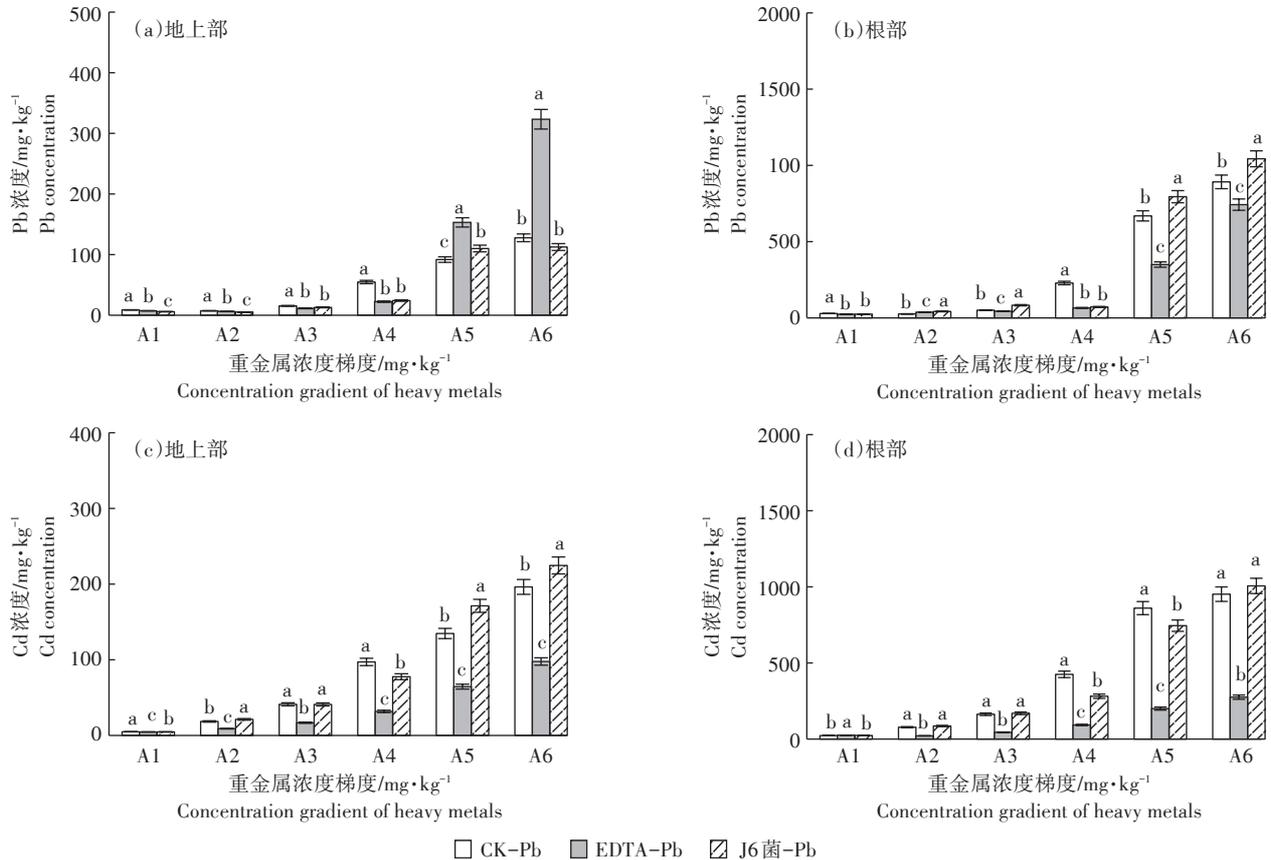
## 2.2 EDTA与J6菌处理对黑麦草Pb、Cd含量的影响

图1表示了添加EDTA与J6菌处理下黑麦草地上部以及根部的Pb、Cd含量的变化。图1(a)与图1(b)通过对比可知,黑麦草根部的Pb浓度远高于地上部Pb浓度。在无重金属处理,即A1条件下,相比空白对照,EDTA处理、接菌处理的地上部、根部的Pb含量较低。在重金属低浓度,即A2、A3、A4条件下,与EDTA相比,除A2条件中接菌处理地上部Pb含量较低外,接菌处理的地上部、根部Pb含量均较高,且A2、A3条件下的根部Pb含量差异显著。在重金属高浓度,即A5、A6条件下,与空白对照相比,接菌处理的根部差异显著,分别高出126、151 mg·kg<sup>-1</sup>;EDTA处理的黑麦草地上部Pb含量分别高出61、196 mg·

kg<sup>-1</sup>,而根部Pb含量则较低,且差异显著。结合图1(c)与图1(d)可知,黑麦草根部的Cd含量远高于地上部的含量,与吸收Pb的规律相似。在无重金属处理,即A1条件下,接菌处理的根部Cd含量略高于空白对照,在除A4条件的重金属低浓度,即A2、A3条件下,接菌处理的Cd含量略高于空白对照,但A4条件下,接菌处理的Cd含量则较低,差异显著。在A5条件下,接菌处理的地上部Cd含量高于空白对照,而根部Cd含量较低;在A6条件下,接菌处理的根部、地上部的Cd浓度均高于空白对照,且地上部Pb含量差异显著。在重金属Pb、Cd浓度梯度下,接菌处理的Cd含量均高于EDTA处理,且差异显著。罗春玲等<sup>[27]</sup>研究表明黑麦草吸收的Pb、Cd离子主要储存分布于根部,与本试验结果相一致。赵根成等<sup>[22]</sup>研究表明,外源添加菌PSQ、Ts37、C13以及shf2有效提高了蜈蚣草积累砷的能力。本试验结果也表明接种J6菌能够促进黑麦草对Pb、Cd的吸收,提高黑麦草对Pb、Cd的积累能力,同时表明接菌处理的效果要优于添加EDTA。

## 2.3 EDTA与J6菌处理对根际土铅镉含量的影响

图2表示EDTA与J6菌处理对根际土Cd、Pb全量以及有效态的影响。由图2(a)可知,在不同的重金属浓度梯度下,EDTA处理比接菌处理的Cd全量接近于



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

图1 两种处理下植物地上部及根系的Pb、Cd浓度

Figure 1 The Cd or Pb concentration of plant aboveground and roots in two treatments

空白对照,接菌处理的Cd含量均较低,且与其他两组差异显著,同时随着重金属浓度的增加,差距也愈加明显。由图2(b)可知,与空白对照相对比,EDTA与接菌处理均较低,且差异显著,Pb含量从低到高顺序依次为接菌<EDTA<空白,同时随着重金属浓度的增加差距逐渐加大。在重金属低浓度,即A2、A3、A4条件下,EDTA与J6菌处理的Pb含量差异不显著;当重金属浓度达到A5条件时,J6菌处理的Pb含量低于EDTA处理,且差异显著。由图2(c)可得,在不同重金属浓度梯度下,各处理间均差异显著,有效态Cd浓度从低到高顺序依次为EDTA<空白<接菌。与空白对照相比,接菌处理分别提高了7%(A2)、13%(A3)、10%(A4)、11%(A5)、9%(A6),EDTA处理分别降低了14%(A2)、45%(A3)、51%(A4)、6%(A5)、16%(A6)。由图2(d)可知,重金属浓度A3、A4条件下,与空白对照相比,J6菌与EDTA处理的红壤有效态Pb浓度较低。在重金属浓度为A5时J6菌处理降低的幅度最大,比空白对照降低了55%。但在重金属浓度高达

A6时,接种J6菌和添加EDTA的红壤中有效态Pb都高于空白处理,分别高出21%、17%。

与添加螯合剂EDTA相比,接菌处理后根际土Pb、Cd含量较低而有效态含量较高,表明接种J6菌能够更有效促进根际土的重金属Pb、Cd形态的改变,提高有效态含量,更有利于黑麦草吸收重金属Pb、Cd。可能原因是,一方面,接种J6菌在一定程度上能够提高黑麦草根际土壤微生物数量并改善群落结构,较好地维持根际土壤微生物群落多样性和生态系统功能;另一方面,耐性菌株可能分泌的代谢产物(如有机酸)也能在一定程度上缓解过高浓度重金属对黑麦草根系的伤害,维护黑麦草的根系活力和吸收能力。相关机理需进一步研究。

#### 2.4 EDTA与J6菌处理对黑麦草Pb、Cd转运系数的影响

影响植物吸收重金属元素的主要限制因素包括重金属元素从植物的根系向植物地上部转移的能力,即转运能力<sup>[28]</sup>。针对黑麦草地上部与根部的Pb、Cd含量的基础分析,进一步探索黑麦草对Pb、Cd的转运

能力。图3的(a)、(b)分别表示不同处理中黑麦草Pb、Cd转运系数的影响。由图3(a)可知,与空白对照相比,EDTA处理的Pb转运系数较高,提高了22%~61%,有效提高了黑麦草Pb的转运系数;接菌处理则较低,效果不明显。由图3(b)可知,相对于空白对照,EDTA和接菌处理较高且差异显著。随着重金属

浓度的增高,黑麦草Cd转运系数呈先增后降趋势,同时EDTA处理的变化幅度较大。在重金属低浓度,即A2、A3、A4条件下,EDTA处理的Cd转运系数最高,分别提高54%(A2)、55%(A3)、55%(A4),当重金属浓度达到A5后接菌处理的Cd转运系数则高于EDTA。

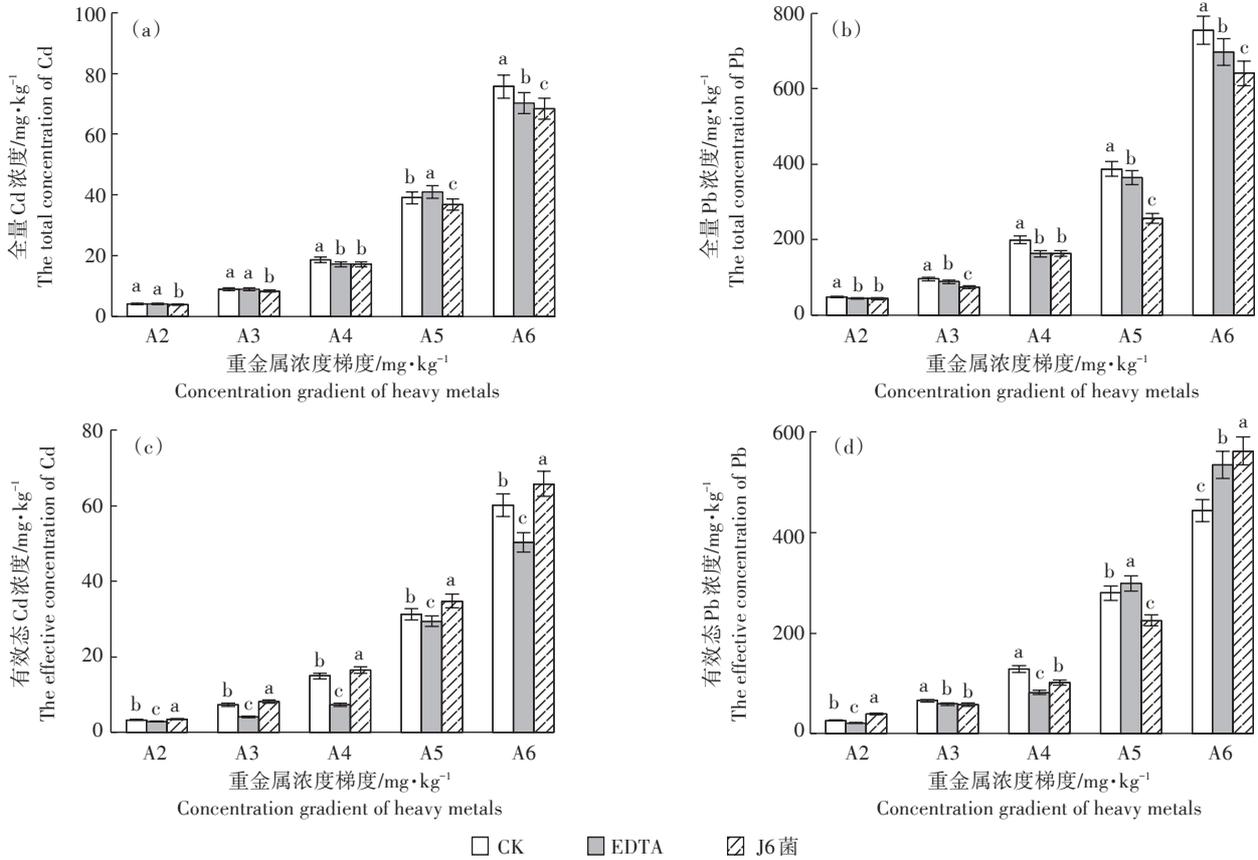


图2 两种处理下根际土的Cd、Pb含量

Figure 2 The concentration of Cd and Pb on rhizosphere soil in two treatments

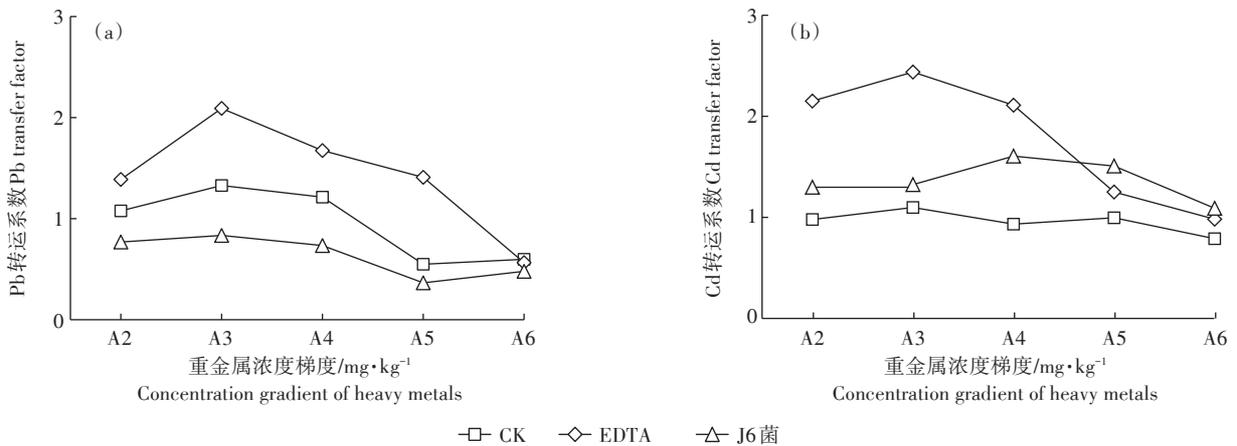


图3 两种处理对Pb、Cd转运系数的影响

Figure 3 The translocation of Pb and Cd in two treatments

### 3 结论

(1)在A1、A2、A3条件下,接种J6菌能够提高黑麦草的生物量,更好地促进黑麦草生长。

(2)与添加螯合剂EDTA相比,接种J6菌能够提高土壤中有效态Pb、Cd的含量,更好促进黑麦草对Pb、Cd的吸收。对比J6菌-黑麦草、EDTA-黑麦草两种联合修复Pb、Cd复合污染土壤体系的效果,耐性细菌J6菌较螯合剂EDTA对黑麦草吸收Pb、Cd的强化效应更为明显。

#### 参考文献:

- [1] 杨启良, 武振中, 陈金陵, 等. 植物修复重金属污染土壤的研究现状及其水肥调控技术展望[J]. 生态环境学报, 2015, 24(6): 1075-1084.  
YANG Qi-liang, WU Zhen-zhong, CHEN Jin-ling, et al. Research status of phytoremediation of heavy metals contaminated soil and prospects of water and fertilizer regulating technology[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2015, 24(6): 1075-1084.
- [2] Tsai L J, Yu K C, Chen S F, et al. Effect of temperature on removal of heavy metals from contaminated river sediments via bioleaching[J]. *Water Research*, 2003, 37(10): 2449-2457.
- [3] 周启星. 复合污染生态学[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1995.  
ZHOU Qi-xing. Combined-pollution ecology[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 1995.
- [4] 周启星, 程云, 张倩茹, 等. 复合污染生态毒理效应的定量关系分析[J]. 中国科学, 2003, 33(6): 566-573.  
ZHOU Qi-xing, CHENG Yun, ZHANG Qian-ru, et al. Quantitative analyses of relationships between ecotoxicological effects and combined pollution[J]. *Science in China*, 2003, 33(6): 566-573.
- [5] 张美钦. 南方重金属矿区的重金属污染现状及治理[J]. 亚热带农业研究, 2006, 2(3): 212-215.  
ZHANG Mei-qin. The state of heavy metal pollution and its control in the mining districts of south China[J]. *Subtropical Agriculture Research*, 2006, 2(3): 212-215.
- [6] Wang F, Yao J, Si Y, et al. Short-time effect of heavy metals upon microbial community activity[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 173(1/2/3): 510-516.
- [7] 段金辉. 果园种植黑麦草对土壤与果树的影响[J]. 山西果树, 2008(4): 3-5.  
DUAN Jin-hui. Effect of planting ryegrass (*Lolium perenne* L.) in orchards on soil and fruit tree[J]. *Shanxi Fruits*, 2008(4): 3-5.
- [8] 王晨, 王海燕, 赵琨, 等. 硅对镉、锌、铅复合污染土壤中黑麦草生理生化性质的影响[J]. 生态环境, 2008, 17(6): 2240-2245.  
WANG Chen, WANG Hai-yan, ZHAO Kun, et al. Effects of silicon on physiological and biochemical properties of ryegrass under the compound pollution of Cd, Zn and Pb[J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(6): 2240-2245.
- [9] 李勇, 朱亮, 王超. 黑麦草对土壤中Cd不同赋存形态的吸收规律[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(3): 353-356.  
LI Yong, ZHU Liang, WANG Chao. Adsorption of different chemical forms of Cd in soil by ryegrass[J]. *Journal of Agro-environmental Science*, 2003, 22(3): 353-356.
- [10] 徐佩贤, 费凌, 陈旭兵, 等. 四种冷季型草坪植物对镉的耐受性与积累特性[J]. 草业学报, 2014, 23(6): 176-188.  
XU Pei-xian, FEI Ling, CHEN Xu-bing, et al. Cadmium tolerance and accumulation in four cool-season turfgrasses[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2014, 23(6): 176-188.
- [11] 李松克, 张春林, 李克勤, 等. 多年生黑麦草对黄壤重金属污染的修复[J]. 贵州农业科学, 2014, 42(11): 147-151.  
LI Song-ke, ZHANG Chun-lin, LI Ke-qin, et al. Repairment of *Lolium perenne* on yellow soil heavy metal pollution[J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2014, 42(11): 147-151.
- [12] Evangelou M W, Ebel M, Schaeffer A. Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity, and fate of chelating agents[J]. *Chemosphere*, 2007, 68(6): 989-1003.
- [13] Lestan D, Luo C L, Li X D. The use of chelating agents in the remediation of metal-contaminated soils: A review[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 153(1): 3-13.
- [14] 俞斌, 夏会龙. 添加茶籽粕和EDTA对土壤中镍和锌形态变化及植物有效性的影响[J]. 应用生态学报, 2013, 24(6): 1615-1620.  
YU Bin, XIA Hui-long. Effects of applying tea seed meal and EDTA on the speciation transformation and phytoavailability of nickel and zinc in soil[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(6): 1615-1620.
- [15] 王红新, 胡锋, 许信旺, 等. EDTA对铅锌尾矿改良土壤上玉米生长及铅锌累积特征的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(23): 140-147.  
WANG Hong-xin, HU Feng, XU Xin-wang, et al. Effects of EDTA on growth and lead-zinc accumulation in maize seedlings grown in amendment substrates containing lead-zinc tailings and soil[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(23): 140-147.
- [16] 熊璇, 唐浩, 黄沈发, 等. 重金属污染土壤植物修复强化技术研究进展[J]. 环境科学与技术, 2012, 35(61): 185-193.  
XIONG Xuan, TANG Hao, HUANG Shen-fa, et al. Review in strengthening technology for phytoremediation of soil contaminated by heavy metals[J]. *Environmental Science and Technology*, 2012, 35(61): 185-193.
- [17] Glick B R. Phytoremediation: Synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment[J]. *Biotechnology Advances*, 2003, 21(5): 383-393.
- [18] Lebeau T, Braud A, Jézéquel K. Performance of bioaugmentation-assisted phytoextraction applied to metal contaminated soils: A review[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 153(3): 497-522.
- [19] 毛亮, 靳治国, 高扬, 等. 微生物对龙葵的生理活性和吸收重金属的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(1): 29-36.  
MAO Liang, JIN Zhi-guo, GAO Yang, et al. Effects of microorganism on physiological activity of *Solanum nigrum* and absorption of heavy metals[J]. *Journal of Agro-environmental Science*, 2011, 30(1): 29-36.
- [20] 崔爽, 周启星, 晁雷. 某冶炼厂周围8种植物对重金属的吸收与富集作用[J]. 应用生态学报, 2006, 17(3): 512-515.

- CUI Shuang, ZHOU Qi-xing, CHAO Lei. Absorption and accumulation of heavy metals by plants around a smelter[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(3):512-515.
- [21] 江春玉, 盛下放, 何琳燕, 等. 一株铅镉抗性菌株 WS<sub>34</sub> 的生物学特性及其对植物修复铅镉污染土壤的强化作用[J]. *环境科学学报*, 2008, 28(10):1961-1968.
- JIANG Chun-yu, SHENG Xia-fang, HE Lin-yan, et al. Isolation and characteristics of heavy metal-resistant strain WS<sub>34</sub> and its effects on the phytoremediation of soils contaminated with lead and cadmium[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2008, 28(10):1961-1968.
- [22] 赵根成, 廖晓勇, 阎秀兰, 等. 微生物强化蜈蚣草累积土壤砷能力的研究[J]. *环境科学*, 2010, 31(2):431-436.
- ZHAO Gen-cheng, LIAO Xiao-yong, YAN Xiu-lan, et al. Enhancement of As-accumulation by *Pteris vittata* L. Affected by microorganisms[J]. *Environmental Science*, 2010, 31(2):431-436.
- [23] 宋想斌, 方向京, 李贵祥, 等. 重金属污染土壤植物联合修复技术研究进展[J]. *广东农业科学*, 2014, 41(24):58-62.
- SONG Xiang-bin, FANG Xiang-jing, LI Gui-xiang, et al. Research progress of phytoremediation combination technology to remediate heavy metal contaminated soil[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2014, 41(24):58-62.
- [24] Singh R P, Tripathi R D, Sinha S K, et al. Response of higher plants to lead contaminated environment[J]. *Chemosphere*, 1997, 34(11):2467-2493.
- [25] 李永杰, 李吉跃, 蔡 囊, 等. 铅胁迫对大叶黄杨铅积累量及叶片生理特性的影响[J]. *水土保持学报*, 2009, 23(5):257-260.
- LI Yong-jie, LI Ji-yue, CAI Nang, et al. Effects of lead stress on the concentration of lead accumulated and leaf physiological characteristics of *Euonymus japonicas*[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2009, 23(5):257-260.
- [26] 魏海英, 方炎明, 尹增芳. 铅和镉污染对大羽蕨生理特性的影响[J]. *应用生态学报*, 2005, 16(5):982-984.
- WEI Hai-ying, FANG Yan-ming, YIN Zeng-fang. Effects of Pb<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> pollution on physiological characteristics of *Thuidium cymbifolium*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(5):982-984.
- [27] 罗春玲, 沈振国. 植物对重金属的吸收和分布[J]. *植物学通报*, 2003, 20(1):59-66.
- LUO Chun-ling, SHEN Zhen-guo. The mechanisms of heavy metal uptake and accumulation in plants[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2003, 20(1):59-66.
- [28] Garbisu C, Alkorta I. Phytoextraction: A cost-effective plant-based technology for the remediation of metal contaminated environment[J]. *Bioresource Technology*, 2001, 77(3):229-236.