

芽孢杆菌及其胞外多糖对空心菜和茼蒿Cd吸收及土壤团聚体的影响

邓雪婷, 高蓉蓉, 季翠, 何琳燕, 盛下放

引用本文:

邓雪婷, 高蓉蓉, 季翠, 何琳燕, 盛下放. 芽孢杆菌及其胞外多糖对空心菜和茼蒿Cd吸收及土壤团聚体的影响[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(1): 60–67.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2023-0560>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

重金属耐性芽孢杆菌的筛选及其对辣椒吸收镉铅的阻控效应

杨丽, 燕传明, 贺卓, 盛下放, 何琳燕

农业环境科学学报. 2018, 37(6): 1086–1093 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1473>

生物炭对土壤-植物体系中铅镉迁移累积的影响

黄连喜, 魏岚, 刘晓文, 吴颖欣, 李翔, 黄玉芬, 黄庆, 刘忠珍

农业环境科学学报. 2020, 39(10): 2205–2216 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0740>

东北设施叶菜类蔬菜镉铅污染安全生产分区研究

李想, 龙振华, 朱彦彦, 杨映, 李明堂

农业环境科学学报. 2020, 39(10): 2239–2248 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0315>

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

庞海东, 贺卓, 燕传明, 盛下放, 何琳燕

农业环境科学学报. 2017, 36(11): 2314–2321 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-0648>

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

农业环境科学学报. 2019, 38(6): 1240–1247 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-1286>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

邓雪婷, 高蓉蓉, 季翠, 等. 芽孢杆菌及其胞外多糖对空心菜和茼蒿 Cd 吸收及土壤团聚体的影响[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(1):60–67.

DENG X T, GAO R R, JI C, et al. Effects of *Bacillus* and its exopolysaccharide on water spinach and crown daisy Cd uptake and soil aggregates[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2024, 43(1): 60–67.



开放科学 OSID

芽孢杆菌及其胞外多糖对空心菜和茼蒿 Cd 吸收及土壤团聚体的影响

邓雪婷, 高蓉蓉, 季翠, 何琳燕*, 盛下放

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

摘 要:本研究旨在探究产胞外多糖芽孢杆菌对蔬菜镉(Cd)积累及土壤结构的影响。采用以空心菜和茼蒿为供试材料的盆栽试验,研究了功能菌株 *Priestia megaterium* YG35 和 *Bacillus halodurans* G20 降低蔬菜吸收 Cd 的效果和可能作用机制。结果表明,与 CK 相比,菌株 YG35、菌株 G20 及其胞外多糖处理显著增加空心菜和茼蒿可食用组织干质量(37.8%~115.1%),显著降低可食用组织 Cd 含量(21.9%~44.2%),并使茼蒿 Cd 含量($0.057\sim0.061\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)达到安全可食用标准,显著降低根际土壤有效态 Cd 含量(3.7%~11.7%),显著($P<0.05$)增加根际土壤多糖含量(35.9%~49.5%)和蔗糖酶活性(15.3%~28.4%),促进根际土壤团聚体向大粒径转化。研究表明,YG35 和 G20 及其胞外多糖能降低蔬菜对 Cd 的吸收,促进蔬菜生长,改善土壤结构,具有在 Cd 污染土壤上实现蔬菜安全生产的应用潜力。

关键词:胞外多糖;芽孢杆菌;空心菜;茼蒿;Cd;土壤

中图分类号:X53;S636.9 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2024)01-0060-08 doi:10.11654/jaes.2023-0560

Effects of *Bacillus* and its exopolysaccharide on water spinach and crown daisy Cd uptake and soil aggregates

DENG Xueting, GAO Rongrong, JI Cui, HE Linyan*, SHENG Xiafang

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

Abstract: The study investigated the effect of exopolysaccharide-producing *Bacillus* strains on reducing Cd accumulation in stem vegetables and soil structure. A pot experiment was used with water spinach and crown daisy as test vegetables to investigate the effects and potential mechanisms of action of the test functional strains *Priestia megaterium* YG35 and *Bacillus halodurans* G20 in reducing Cd uptake by vegetables. Compared with the CK, the *Priestia megaterium* YG35, *Bacillus halodurans* G20, YG35 EPS, and G20 EPS treatment groups significantly increased the dry weight of edible tissues (37.8%–115.1%), significantly reduced the Cd content of edible tissues (21.9%–44.2%), brought the Cd content of crown daisy ($0.057\sim0.061\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) to safe edible standards, significantly reduced the available Cd content of vegetable rhizosphere soil (3.7%–11.7%), significantly increased the polysaccharide content (35.9%–49.5%) and sucrase activity (15.3%–28.4%) of vegetable rhizosphere soil ($P<0.05$), and promoted the conversion of soil aggregates to larger grain sizes. Exopolysaccharide-producing bacterial strains YG35 and G20 and their EPS reduce the Cd accumulation of vegetables, promote vegetable growth, improve soil structure, and remediate Cd-contaminated soil for safe vegetable production.

Keywords: exopolysaccharide; *Bacillus* strain; water spinach; crown daisy; Cd; soil

收稿日期:2023-07-14 录用日期:2023-10-25

作者简介:邓雪婷(1997—),女,四川成都人,硕士研究生,研究方向为重金属污染土壤的生物修复。E-mail:1145205596@qq.com

*通信作者:何琳燕 E-mail:helinyan7012@sina.com

基金项目:国家自然科学基金项目(41977199);中央高校基本科研业务费专项资金(KYZZ2022001)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(41977199);Fundamental Research Funds for the Central Universities(KYZZ2022001)

镉(Cd)作为一种非氧化还原性重金属,在土壤中积累不仅影响农用地的理化性质和质量,而且对植物有较强的毒害作用。Cd积累会降低土壤养分,不仅影响作物的正常生长,而且会影响土壤动物的健康和数量^[1-2],改变土壤微生物的结构和多样性,影响Cd在土壤中的固定^[3-4]。重金属被植物吸收后,会引起植物组织的氧化应激反应^[5],影响植物生长和植物对铁(Fe)、锰(Mn)和镁(Mg)等必需营养元素的吸收^[6]。土壤重金属超标导致蔬菜作物可食用组织重金属含量超标,并通过食物链进入人体威胁人体健康。人体摄入Cd后,会打破细胞增殖与细胞凋亡之间的平衡,从而诱发恶性肿瘤的形成^[7],因此,修复Cd污染土壤、减少蔬菜作物可食部分Cd的积累迫在眉睫。

植物促生菌可以改善植物在重金属污染土壤上的生长状态,并且通过吸附固定重金属和改变重金属氧化态等不同的抵抗策略来帮助植物承受环境胁迫。一些重金属固定微生物能够通过自身吸附和分泌代谢产物等方式直接或间接地降低土壤中的Cd、Pb离子浓度^[8],将假单胞菌、沙雷氏菌和苏云金芽孢杆菌接种到植物根际能够显著缓解Cd、Pb对植物的胁迫^[9-10],其次植物促生菌还可以改善土壤微环境,调节根际环境通气性,从而促进植物根部发育,更有益于吸收营养^[11]。

微生物自身会产生并释放大量的天然胞外聚合物,作为阻挡重金属的第一道防线,不仅可以通过吸附、络合和沉淀作用固定重金属,还能提高微生物的金属耐受性^[12]及改善土壤环境。现已经发现胞外聚合物作为高度复杂的混合物,能够在细胞间相互作用中起重要作用,其中主要以胞外多糖(Exopolysaccharide, EPS)为主,多糖成分可以为生物膜中的细胞提供诸多益处,其胞外分泌的聚合多糖类物质能作为一种分子胶水,增强细胞间的相互黏附作用、促进生物和非生物表面的定殖过程^[13],以及促进微菌落和生物膜的产生,具有保水性、从环境中收集养分和提高细菌生物膜对环境抵抗力的功能^[14]。有研究者将产多糖菌株施入重金属污染土壤,也有许多研究者将胞外聚合物直接应用于土壤,发现能够降低植物重金属含量,促进种子发芽率和提升土壤保水能力^[15-17]。EPS可根据组成成分不同分为杂多糖和同多糖,大部分微生物产生EPS都是杂多糖,不同的微生物产生的EPS又具有不同的单糖组分,因此钝化重金属的能力也差异很大,而目前探究不同产EPS细菌及其不同类型EPS降低蔬菜中重金属和改善土壤理化性质的研究

较少,且前人的研究对象较为单一。

因此,本研究以江苏省南京市栖霞山矿区附近重金属污染农田土壤为供试土壤,采用盆栽试验,探讨两种产胞外多糖菌株及其EPS对空心菜和茼蒿生长、Cd吸收、土壤有效态Cd含量和土壤理化性质的影响,以期为蔬菜安全生产及改善Cd污染农田土壤提供新型材料和理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试菌株为实验室保藏菌株 *Priestia megaterium* YG35 和 *Bacillus halodurans* G20,且两株菌所产EPS均为杂多糖。菌株YG35分离自山东滨州盐碱土(32°22'N, 118°02'E),吲哚乙酸(Indoleacetic acid, IAA)产量(7.63±0.53) mg·L⁻¹和EPS产量1.165 g·L⁻¹;菌株G20分离自内蒙古砒砂岩区土壤(39°26'56"N, 110°43'32"E),IAA产量(8.31±0.11) mg·L⁻¹和EPS产量1.191 g·L⁻¹。LB培养基:蛋白胨1%,酵母粉0.5%,NaCl 1%,溶于蒸馏水,pH 7.2。产糖培养基:蔗糖20 g, NaCl 10 g,酵母膏5 g,去离子水1 L。供试土壤采自江苏省南京市栖霞区重金属污染农田土壤(32°7'N, 118°57'E)。总Cd含量(2.03±0.1) mg·kg⁻¹。供试蔬菜为空心菜(*Ipomoea aquatica* Forsk)和小叶茼蒿(*Chrysanthemum coronarium* L. var. *spatiosum* Bailey),种子购买于江苏省农科院种子站。

1.2 菌液和EPS制备

将供试菌株接种到新鲜的100 mL LB液体培养基,30℃,180 r·min⁻¹振荡培养至对数生长中期,取菌液5 000 r·min⁻¹离心10 min收集菌体并清洗,弃上清液后用无菌去离子水重悬,制成OD₆₀₀为1.0的菌悬液。将部分菌悬液在121℃进行灭菌30 min作为灭菌悬液。

EPS制备参考Du等^[18]的方法。将活化后的菌株按2%接种量接种到300 mL产糖培养基中,30℃培养72 h,取菌液5 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液置于锥形瓶中,加入4倍预冷的无水乙醇,颠倒混匀后置于4℃醇沉24 h,10 000 r·min⁻¹离心5 min,弃上清液,向沉淀中加入预冷的无水乙醇并重复以上操作一次,得到的沉淀物用10 mL去离子水重悬,加入Sevage溶液(三氯甲烷:正丁醇=4:1),剧烈振荡后离心,保留上层水相,多次重复直至中间层无白色蛋白杂质沉淀,取上层水相重沉淀后烘干保存。用去离子水复溶多糖,以苯酚-硫酸法测定胞外多糖浓度^[19],制成浓度

为 $3.78 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 EPS 溶液。

1.3 盆栽试验设计

试验共分为 7 个处理:无处理对照组(CK)、YG35 菌液处理组(YG35)、G20 菌液处理组(G20)、YG35 EPS 处理组(YG35 EPS)、G20 EPS 处理组(G20 EPS)、YG35 灭菌液处理组(YG35 S)、G20 灭菌液处理组(G20 S),每个处理 3 个平行。直接风干后过 2 mm 筛的土壤装入塑料盆钵中,每盆装土 1 kg,种植前先浇水孵育 3 d。将两种蔬菜种子分别用 75% 的乙醇消毒 5 min,无菌去离子水冲洗 3 次后浸泡于菌悬液和 EPS 溶液中 2 h,对照组用无菌去离子水浸种。将对应浸种后的蔬菜种子均匀播撒在湿润土壤表面后,撒干燥的薄土覆盖,不透光薄布遮盖,待发芽后掀开薄布,待植物长出两片真叶后间苗,10 d 和 20 d 后补接菌液(5% 接菌量)及 EPS 溶液(15 mL),最后每盆留下茼蒿 15 株,空心菜 5 株。在蔬菜整个生长过程(45 d)中定期浇水保持土壤环境湿度适宜。

1.4 样品采集

土壤试验:将土壤取出置于阴凉处风干,研磨过 2 mm 筛,进行有效态 Cd 含量的分析。

盆栽试验:将蔬菜从盆钵中取出,轻轻抖动蔬菜掉落的土壤作为非根际土壤,再次抖动和轻取根系黏附的土壤作为根际土壤,风干后室温保存,一部分过 2 mm 筛。蔬菜收获时分为根和地上部两部分,用去离子水洗净。

1.5 测定方法

1.5.1 蔬菜生物量和 Cd 含量的测定

用纱布擦干蔬菜表面多余水分后,测定可食用组织鲜质量;根部用 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA-2Na 溶液浸泡 10 min,然后用去离子水冲洗干净,最后再放置于 80°C 烘箱中烘干至质量恒定,测定可食用组织和根部干质量。分别磨碎干燥后的蔬菜可食用组织和根部样品,称取 0.10 g 于微波消解仪中用浓 HNO_3 (2 mL 或 5 mL) 进行消解,消解液用去离子水定容至 25 mL,取 4 mL 用 $0.45 \mu\text{m}$ 水系过滤器过滤,ICP-OES 测定消解液中 Cd 含量。

Cd 转移系数(Translocation Factor, TF)=蔬菜可食用组织 Cd 含量($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)/蔬菜根部 Cd 含量($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。

1.5.2 土壤有效态 Cd 含量的测定

称取风干研磨过 2 mm 孔径筛的土壤 1.0 g ,将其与 DTPA 提取剂按 1:4($m:V$)混合,置于摇床上 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 室温振荡 2 h, $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,取 2 mL 上清液用 $0.45 \mu\text{m}$ 水系过滤器过滤,与 5% HNO_3 等体

积混合后用 ICP-OES 测定上清液中 Cd 浓度。

1.5.3 土壤多糖含量及蔗糖酶活性测定

土壤多糖的测定参考张毅^[20]的方法并做适当修改,取 1.0 g 已经风干研磨过 2 mm 筛的土壤到 10 mL 离心管,加入 $5 \text{ mL } 4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2SO_4 沸水浴提取 6 h,期间每隔 1 h 振荡混匀一次, $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,取上清液调 pH 为 7.0,定容至 10 mL,用蒽酮-硫酸法测定溶液中多糖含量。土壤蔗糖酶活性的测定参考关松荫^[21]的方法。

1.5.4 土壤团聚体的测定

土壤团聚体的测定参考刘武江等^[22]的方法并做适当修改,取盆栽试验中蔬菜新鲜根际土壤,平铺放置在阴凉通风处自然晾干,称取 35 g 不经研磨的风干土,置于套筛(孔径大小依次为 2、1、0.5 mm 和 0.25 mm)收集不同粒径的土壤团聚体,以每分钟 30 次的频率水平振荡 2~3 min,将各筛上的干土样品称量后装袋保存,即得 >2、2~1、<1~0.5、<0.5~0.25、<0.25 mm 五种不同粒径的土壤团聚体。

1.6 数据处理与分析

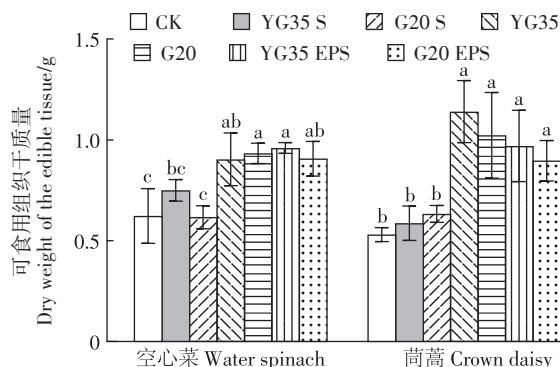
试验数据利用 Excel 2016 软件和 Graphpad Prism 8.0.2 制表和作图。采用 SPSS 22.0 对数据进行统计分析,采用 ANOVA 单因素方差分析差异显著性。

2 结果与分析

2.1 供试菌株及其多糖对茎菜生物量和 Cd 含量的影响

在盆栽试验中,与 CK 相比,菌株 YG35、G20、YG35 EPS 和 G20 EPS 处理均能显著增加空心菜和茼蒿地上部可食用组织生物量(图 1),四个处理能够使空心菜可食用组织干质量显著增加 44.9%~54.0%,茼蒿可食用组织干质量显著增加 37.8%~115.1% ($P<0.05$),其中菌株 YG35 能使茼蒿可食用组织干质量显著增加达 115.1%,促生效果最好。与 CK 相比,灭菌液处理组对两种茎菜可食用组织干质量没有显著影响。

如图 2 所示,与 CK 相比,YG35、G20、YG35 EPS 和 G20 EPS 处理组均能显著降低空心菜和茼蒿可食用组织和根部 Cd 含量 ($P<0.05$)。四个处理组能够使空心菜可食用组织 Cd 含量分别显著降低 21.9%~36.8%,根部 Cd 含量分别显著降低 7.5%~10.3%;四个处理组能够使茼蒿可食用组织 Cd 含量下降更低(34.7%~44.2%),Cd 含量 ($0.057\sim0.061 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 低于茎类新鲜蔬菜 Cd 限量值 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,达到安全可食用标准,根部 Cd 含量分别显著降低 20.5%~38.3%。



不同字母表示不同处理之间差异显著($P < 0.05$)。下同。

Different letters indicate significant difference between different treatments ($P < 0.05$). The same below.

图1 不同处理对空心菜和茼蒿可食用组织干质量的影响

Figure 1 Effects of different treatments on dry weight of edible tissue of water spinach and crown daisy

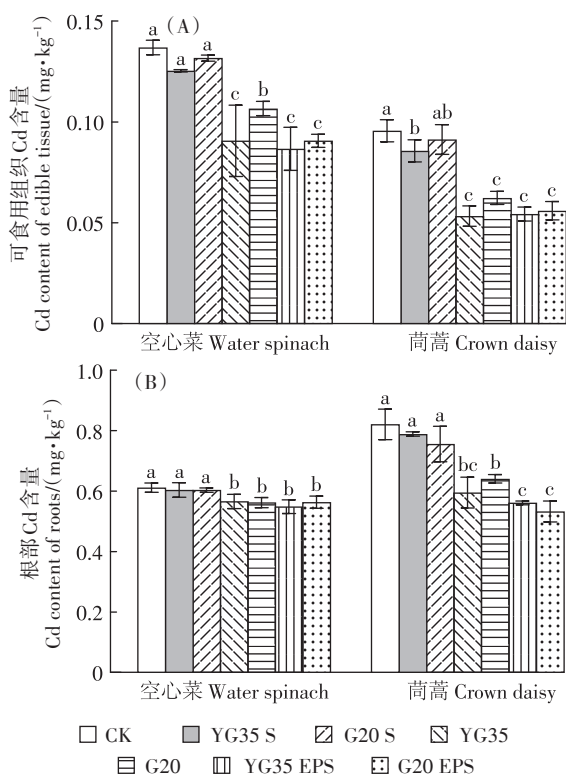


图2 不同处理对空心菜和茼蒿可食用组织(A)和根部(B) Cd含量的影响

Figure 2 Effects of different treatments on the Cd content of water spinach and crown daisy edible tissue(A) and root(B)

菌株 YG35 减少空心菜和茼蒿 Cd 含量的效果优于菌株 G20。灭菌液处理组的两种蔬菜 Cd 含量与 CK 相比没有显著差异。菌液及 EPS 处理减少茼蒿吸收 Cd 的效果更优于空心菜,可能是不同类型蔬菜对金属转运的能力不同。

2.2 供试菌株及其多糖对土壤有效态 Cd 含量的影响

如图 3 所示,与 CK 相比, YG35、G20、YG35 EPS

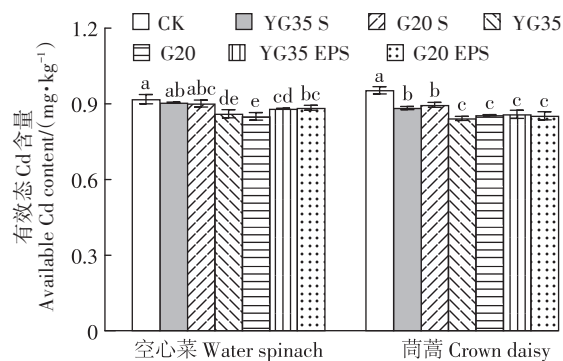


图3 不同处理对空心菜和茼蒿根际土壤有效态 Cd 含量的影响

Figure 3 Effects of different treatments on the available Cd content of water spinach and crown daisy in the rhizosphere soil

和 G20 EPS 处理组都能显著降低蔬菜根际土壤有效态 Cd 含量,其中空心菜根际土有效态 Cd 含量显著下降 3.7%~7.4%,茼蒿根际土有效态 Cd 含量下降 10.0%~11.7%,EPS 处理与活菌处理组降低根际土壤有效态 Cd 含量的效果相当。

2.3 供试菌株及其多糖对土壤理化性质的影响

与 CK 相比, YG35、G20、YG35 EPS 和 G20 EPS 处理组能够使空心菜根际土壤多糖含量显著增加 37.1%~46.9%,使茼蒿根际土壤多糖含量显著增加 35.9%~49.5%(图 4A),EPS 处理与活菌处理组效果相当。四个处理组能够使空心菜根际土壤蔗糖酶活性显著增加 15.3%~18.9%,使茼蒿根际土壤蔗糖酶活性显著增加 19.5%~28.4%(图 4B)。与 CK 相比,灭活菌液处理组对两种蔬菜根际土壤多糖含量没有显著影响。

通过测定分析空心菜和茼蒿根际土壤团聚体颗粒的粒径,发现不同处理对团聚体影响不同,结果如表 1 所示,与 CK 相比,接菌 YG35 和 G20 分别使空心菜根际土壤 >2 mm 团聚体显著增加 30.8% 和 24.2%,显著减少 1~0.5 mm 团聚体 (21.6% 和 16.6%)、<0.5~0.25 mm 团聚体 (27.1% 和 25.1%) 和 <0.25 mm 团聚体 (27.3% 和 22.4%), YG35 EPS 和 G20 EPS 处理组与活菌处理影响相似,能够使空心菜根际土壤 >2 mm 团聚体显著增加 27.6% 和 25.7%,显著减少 1~0.5 mm 团聚体 (15.6% 和 12.0%)、<0.5~0.25 mm 团聚体 (24.9% 和 32.3%) 和 <0.25 mm 团聚体 (17.4% 和 31.8%)。与空心菜团聚体改变趋势一致, YG35、G20、YG35 EPS 和 G20 EPS 四个处理组主要使茼蒿根际土壤 >2 mm 团聚体显著增加 20.5%~26.4%, <0.5~0.25 mm 和 <0.25 mm 团聚体显著减少了 22.0%~32.1% 和 30.4%~45.1%;四种处理对空心菜和茼蒿较大粒径团聚体 (2~1 mm) 无显著影响。结果表明菌株及胞外多糖的

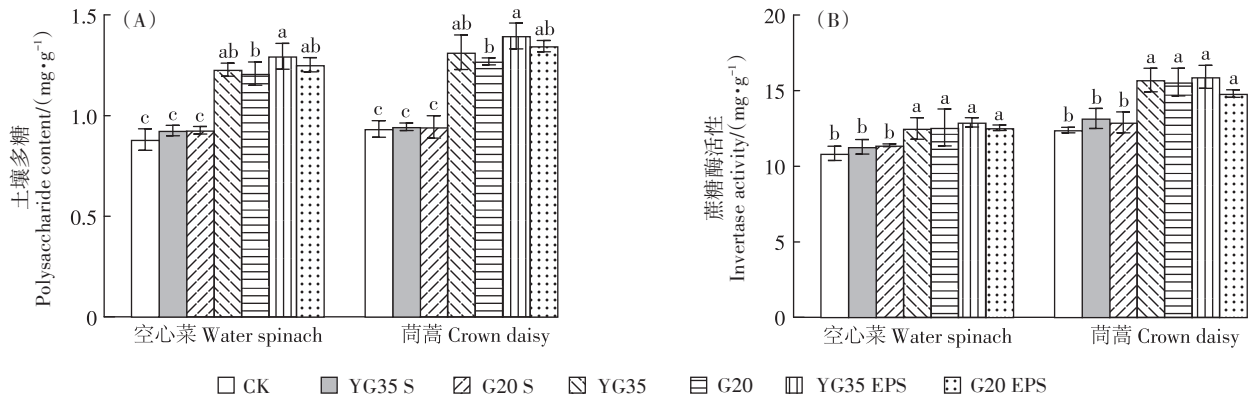


图4 不同处理对空心菜和茼蒿根际土壤多糖含量(A)及蔗糖酶活性(B)的影响

Figure 4 Effects of different treatments on the polysaccharide content(A) and invertase activity(B) in the rhizosphere soil of water spinach and crown daisy

表1 不同处理组对空心菜和茼蒿根际土壤团聚体分布的影响(g)

Table 1 Effects of different treatments on the rhizosphere soil particle size of water spinach and crown daisy (g)

蔬菜 Vegetable	处理 Treatment	根际土壤不同粒径团聚体分布 Rhizosphere soil aggregate distribution				
		>2 mm	2~1 mm	<1~0.5 mm	<0.5~0.25 mm	<0.25 mm
空心菜	CK	13.43±0.27c	4.56±0.16b	6.49±0.04a	6.70±0.07a	3.55±0.09ab
	YG35 S	13.99±0.45c	4.67±0.37ab	5.67±0.26c	6.55±0.29a	3.98±0.66a
	G20 S	14.27±0.71c	4.61±0.26ab	6.05±0.10b	6.20±0.76a	3.57±0.35ab
	YG35	17.56±0.11a	4.56±0.23b	5.09±0.21d	4.89±0.13b	2.58±0.46c
	G20	16.67±0.54b	4.35±0.13b	5.41±0.19cd	5.02±0.21b	2.76±0.27c
	YG35 EPS	17.13±0.60ab	4.15±0.18b	5.48±0.13c	5.03±0.56b	2.94±0.07bc
	G20 EPS	16.88±0.30ab	5.16±0.59a	5.71±0.26c	4.53±0.83b	2.42±0.39c
	平均	15.70	4.58	5.70	5.56	3.11
茼蒿	CK	13.86±0.22b	4.64±0.50a	6.13±0.17abc	6.50±0.23a	3.77±0.54a
	YG35 S	14.23±0.90b	4.99±0.09a	6.83±0.07a	5.21±0.61b	3.40±0.15a
	G20 S	14.51±0.24b	4.96±0.16a	6.40±0.33ab	4.97±0.27bc	3.64±0.29a
	YG35	17.12±0.16a	4.40±0.24a	5.53±0.16cd	5.07±0.25bc	2.62±0.49b
	G20	16.91±0.40a	4.58±0.35a	6.21±0.79abc	4.41±0.27c	2.50±0.26b
	YG35 EPS	16.70±0.83a	5.00±0.18a	5.80±0.41bcd	4.76±0.41bc	2.07±0.24b
	G20 EPS	17.51±0.32a	4.69±0.51a	5.33±0.41d	4.59±0.17bc	2.61±0.30b
	平均	15.84	4.75	6.03	5.07	2.94

注:数值表示3次重复的平均值±标准差,同列不同小写字母表示处理之间在5%水平差异显著。
Note: Values are means±standard deviation (n=3). Different lowercase letters in the same columns mean significant differences (P<0.05).

接种可使空心菜和茼蒿根际土壤小粒径团聚体向大粒径团聚体转化,使土壤疏松程度增加,且胞外多糖单独添加与活菌直接接入无显著差异,说明活菌处理组土壤团聚体的转化主要原因是胞外多糖的分泌导致土壤之间的黏性增强,使小颗粒土壤互相交联形成大团聚体。

2.4 蔬菜可食用组织 Cd 含量和根际土壤各项指标之间的相关性分析

土壤多糖含量与 1 mm 以下小团聚体比重显著负相关,与>2 mm 团聚体比重显著正相关(图 5),进一步

确定了土壤多糖含量的增加增强了土壤团聚体的转化,主要是由小团聚体相互黏附形成大团聚体。空心菜和茼蒿的可食用组织 Cd 含量与土壤多糖含量、土壤>2 mm 团聚体比重显著负相关,与 1 mm 以下的团聚体比重呈显著正相关,说明胞外多糖在减少空心菜和茼蒿吸收 Cd 上发挥着重要作用。

3 讨论

重金属固定微生物能够抵抗外界重金属胁迫,其中芽孢杆菌在修复农田土壤重金属污染上占据着重

要的地位。芽孢杆菌通过自身吸附和分泌代谢产物的方式等直接或间接地降低土壤中的重金属离子含量,胞外多糖作为一种天然的胞外多聚物,可以通过吸附、络合和沉淀作用固定重金属,还能提高微生物的金属耐受性。因此,产胞外多糖芽孢杆菌具有修复重金属污染土壤的潜力^[16,23]。

本研究结果发现接种菌株 YG35 和 G20 能够显著降低空心菜和茼蒿可食用组织和根部 Cd 含量,使茼蒿可食用组织 Cd 含量低于食品安全国家标准(GB 2762—2017)规定的茎类蔬菜 Cd 限量值($0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),且能够显著促进蔬菜的生长。该研究结果与贺卓等^[16]和 Cheng 等^[24]的研究结果一致,产胞外多糖的菌株能够降低辣椒/茄子果实铅的含量和促进水稻的生长。微生物释放的植物激素和其他生物活性分子能够在不利条件下影响植物的发育过程,IAA 能够调节农作物的生理和代谢过程,IAA 产生菌还可以作为化学肥料的天然替代品,从而有效地减少化肥的施用^[25];铁载体是一种低分子量铁螯合物,是由土壤微生物产生的能为植物提供铁的次级代谢产物,还可以作为金属螯合剂螯合重金属离子,提高作物生产

力^[26];胞外多糖的黏性使其具有优良的保水能力,又可作为生物防治代谢物提升植物抗病能力^[27],供试菌株 YG35 和 G20 都能产生 IAA、铁载体和胞外多糖,从而缓解 Cd 对空心菜和茼蒿毒害作用,促进蔬菜生长发育。但目前,直接利用胞外多糖来修复重金属污染土壤的研究较少,且未见将产胞外多糖菌株与其胞外多糖钝化土壤重金属效果及机制进行对比的报道。

微生物可以通过多种机制对有毒重金属离子做出反应,其中最重要的反应之一是 EPS 的产生,微生物产 EPS 具有较大的比表面积,利用 EPS 丰富的官能团可以与各种重金属结合^[28]。为了研究胞外多糖钝化重金属的效果,笔者将供试菌株的胞外多糖直接施加到盆栽试验中,发现接种 YG35 EPS 和 G20 EPS 两种胞外多糖也能够缓解 Cd 毒性,显著促进两种蔬菜的生长,并且直接接种胞外多糖处理与活菌处理之间并无显著性差异。其原因可能有两个方面,一方面 EPS 可以捕获积累其他营养物质及作为微生物量碳源给蔬菜提供营养^[29],促进蔬菜生长。另一方面 EPS 具有黏性,可以作为吸附剂与土壤中的 Cd 相互作用减少根际土壤中的有效态 Cd 含量^[28],减少蔬菜对 Cd

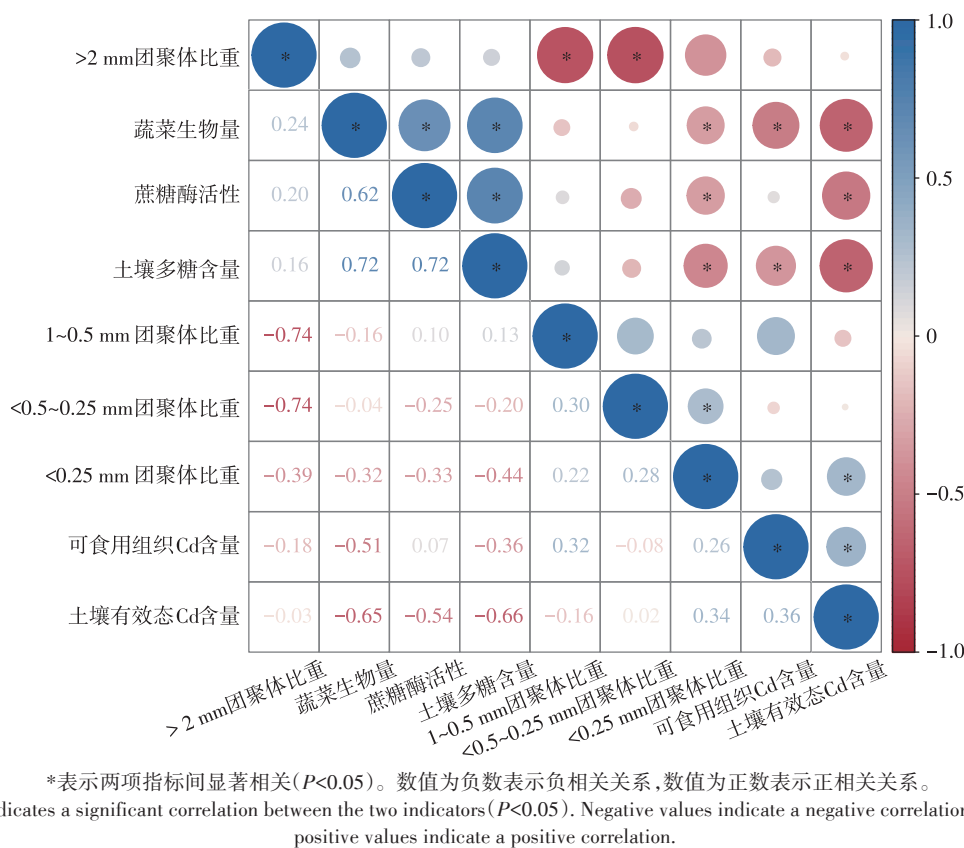


图5 蔬菜可食用组织Cd含量和根际土壤各项指标之间的相关性分析

Figure 5 Correlation analysis of Cd content in vegetable edible tissues and various indicators of rhizosphere soil

的吸收,该结果也说明菌株 YG35 和 G20 钝化重金属的关键机制是胞外多糖的产生,而 EPS 是否能够为土著微生物提供能量,改变重金属污染土壤微生物群结构和组成还未有研究报道。

良好的土壤结构是维持农业生产力和环境质量、土壤可持续利用的基础。土壤团聚体是评价农田土壤肥力和健康的重要指标之一,可以反映土壤保水能力和通气能力,进而影响植物发芽和根系的生长。不同粒径的团聚体对重金属及其他污染物的吸附能力不同,通过分析处理前后土壤团聚体粒径比重,可以判定重金属污染土壤修复效果。接活菌与胞外多糖促使根际土壤小粒径团聚体向大粒径团聚体转化,使土壤疏松程度增加,这是由于植物根、一些氧化物、腐殖质和与金属相关的土壤多糖等可以将小团聚体相互黏合^[28]。与前人研究结果一致,产胞外多糖菌株和胞外多糖的加入可以显著提升土壤中 2 mm 以上粒径团聚体的比例,提升土壤性能,促进植物生长^[30-31]。根际土壤中有效态 Cd 含量与 CK 相比显著降低,这是由于小粒径团聚体对 Cd 的富集能力更强,但容易受到外力影响而迁移,而 EPS 会促进小粒径团聚体聚合形成不易被分散的大粒径团聚体,因此增加 Cd 在大粒径团聚体中的质量负载,降低了 Cd 向水分子的迁移和可利用性^[32],相关性分析结果也表明多糖与土壤小粒径团聚体比例呈显著负相关,而与大粒径团聚体比例呈显著正相关。蔗糖酶活性反映了土壤有机碳累积与分解转化的规律,其次还可以作为土壤肥力的指标,本研究中,接活菌与胞外多糖能够显著提高土壤蔗糖酶活性,表明土壤碳循环增强。其次 Cd 对土壤蔗糖酶活性有强烈的抑制作用^[33],通过表征蔗糖酶活性的变化可以间接地说明菌株和多糖处理能够改善土壤 Cd 污染,相关性分析结果中蔗糖酶活性与土壤有效态 Cd 含量呈显著负相关,该结果进一步验证了该结论。

综上,菌株 YG35 和 G20 都可以降低土壤中 Cd 有效性,改善土壤团聚体结构,提升土壤多糖含量及蔗糖酶活性,促进空心菜和茼蒿生长,其中菌株 YG35 效果更佳。本研究发现直接施用胞外多糖也能缓解 Cd 对植物的毒性,减少蔬菜对 Cd 的吸收,因此,胞外多糖在修复重金属污染土壤上具有一定的应用潜力。

4 结论

(1)产胞外多糖菌株 *Priestia megaterium* YG35 能够显著减少空心菜和茼蒿对 Cd 的吸收,其中茼蒿可

食用组织 Cd 含量低于食品安全国家标准(GB 2762—2017)规定的茎类蔬菜 Cd 限量值($0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。

(2)产胞外多糖芽孢杆菌能够增加土壤多糖含量和蔗糖酶活性,促进小粒径团聚体向大粒径团聚体转化,降低茎类蔬菜根际土壤有效态 Cd 含量。

(3)根际土壤中施用 $170 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的胞外多糖能够显著降低茼蒿根际土壤有效态 Cd 含量,减少茼蒿对 Cd 的吸收,在重金属污染农田安全利用上有一定的应用潜力。

参考文献:

- [1] 禹明慧, 孟祥怀, 段昌群, 等. 蚯蚓介导下镉胁迫对土壤理化性质和玉米生长的影响[J]. 环境化学, 2020, 39(10): 2654–2665. YU M H, MENG X H, DUAN C Q, et al. Effects of cadmium stress on soil physical and chemical properties and maize growth mediated by earthworms[J]. *Environmental Chemistry*, 2020, 39(10): 2654–2665.
- [2] 安志装, 王校常, 施卫明, 等. 重金属与营养元素交互作用的植物生理效应[J]. 土壤与环境, 2002, 11(4): 392–396. AN Z Z, WANG X C, SHI W M, et al. Plant physiological responses to the interactions between heavy metal and nutrients[J]. *Soil and Environmental Sciences*, 2002, 11(4): 392–396.
- [3] TANG L, HAMID Y, ZRHRA A, et al. Mechanisms of water regime effects on uptake of cadmium and nitrate by two ecotypes of water spinach (*Ipomoea aquatica* Forsk.) in contaminated soil[J]. *Chemosphere*, 2020, 246: 125798.
- [4] 张韵洁, 雍毅, 吴怡, 等. 重金属污染对四川攀西地区农用地土壤细菌群落结构影响的分析[J]. 四川环境, 2022, 41(6): 219–228. ZHANG Y J, YONG Y, WU Y, et al. Effect of heavy metals pollution on soil bacterial community structure of agricultural land in Panzhihua-Xichang region, Sichuan Province[J]. *Sichuan Environment*, 2022, 41(6): 219–228.
- [5] CALERO-MUNOZ N, EXPOSITO-RODRIGUEZ M, COLLADO-ARENAL A M, et al. Cadmium induces reactive oxygen species-dependent pexophagy in arabidopsis leaves[J]. *Plant Cell and Environment*, 2019, 42(9): 2696–2714.
- [6] SHARMA R K, AGRAWAL M, AGRAWAL S B. Physiological, biochemical and growth responses of lady's finger (*Abelmoschus esculentus* L.) plants as affected by Cd contaminated soil[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2010, 84(6): 765–770.
- [7] WAALKES M P. Cadmium carcinogenesis in review[J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2000, 79(1–4): 241–244.
- [8] 安凤秋, 董祥芝, 李庆, 等. 利用微生物技术修复重金属污染土壤的方法探讨[J]. 陕西农业科学, 2016, 62(6): 67–70. AN F Q, DONG X Z, LI Q, et al. Discussion on the method of using microbial technology to remediate heavy metal contaminated soil[J]. *Shaanxi Journal of Agricultural Sciences*, 2016, 62(6): 67–70.
- [9] CHENG C, WANG Q, WANG Q X, et al. Wheat-associated *Pseudomonas taiwanensis* WRS8 reduces cadmium uptake by increasing root surface cadmium adsorption and decreasing cadmium uptake and transport related gene expression in wheat[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 268: 115850.

- [10] 王铁军, 苏楠楠, 雷鹏, 等. 重金属污染农田生菜根际重金属固定细菌群落组成及其阻控效应[J]. 环境科学, 2019, 40(11): 5133–5141. WANG T J, SU N N, LEI P, et al. Community structure of heavy metal immobilized bacteria in the lettuce (*Lactuca sativa* L.) rhizosphere in soil polluted by heavy metals and its effects on reducing heavy metal accumulation in lettuce[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(11): 5133–5141.
- [11] 李威. 土壤重金属污染危害及微生物修复[J]. 现代农村科技, 2021(8): 99–100. LI W. Harm of heavy metal pollution in soil and microbial remediation[J]. *Modern Rural Technology*, 2021(8): 99–100.
- [12] REDMILE-GORDON M, CHEN L. Zinc toxicity stimulates microbial production of extracellular polymers in a copiotrophic acid soil[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2017, 119: 413–418.
- [13] JIA F X, YANG Q, LIU X H, et al. Stratification of extracellular polymeric substances (EPS) for aggregated anammox microorganisms[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(6): 3260–3268.
- [14] CZACZYK K, MYSZKA K. Biosynthesis of extracellular polymeric substances (EPS) and its role in microbial biofilm formation[J]. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2007, 16(6): 799–806.
- [15] ADESSI A, DE CARVALHO R C, DE PHILIPPIS R, et al. Microbial extracellular polymeric substances improve water retention in dryland biological soil crusts[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2018, 116: 67–69.
- [16] 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 Z, YIN T T, GE Z B, 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.
- [17] 罗晟, 赵泽文, 任新宇, 等. 屎肠球菌胞外多糖对镉胁迫下水稻种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(9): 1888–1899. LUO S, ZHAO Z W, REN X Y, et al. Effect of exopolysaccharide from *Enterococcus faecium* on rice seed germination and seedling growth under cadmium stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(9): 1888–1899.
- [18] DU R, XING H, YANG Y, et al. Optimization, purification and structural characterization of a dextran produced by *L-mesenteroides* isolated from Chinese sauerkraut[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 174: 409–416.
- [19] 王文洁, 唐炜, 俞玲娜, 等. 蒽酮-硫酸法与苯酚-硫酸法测定凉粉草多糖的比较[J]. 食品科技, 2017, 42(9): 274–279. WANG W J, TANG W, YU L N, et al. Comparison of anthrone-sulfuric and phenol-sulfuric acid methods for determination of polysaccharide in *Mesona Blumei*[J]. *Food Science and Technology*, 2017, 42(9): 274–279.
- [20] 张弢. 大棚蔬菜连作对土壤多糖影响的研究[J]. 北方园艺, 2009(8): 165–166. ZHANG T. Study on the effects of continuous cropping of greenhouse vegetables on soil polysaccharides[J]. *Northern Horticulture*, 2009(8): 165–166.
- [21] 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 S Y. Soil enzymes and their research methods [M]. Beijing: Agriculture Press, 1986: 274–276, 294–297.
- [22] 刘武江, 赵懿柯, 段青松, 等. 不同播种方式草本植物土壤团聚体特征及对根系固土力的影响[J]. 水土保持研究, 2021, 28(6): 25–31, 38. LIU W J, ZHAO Y K, DUAN Q S, et al. Effects of different sowing patterns of herbs on soil aggregates characteristics and consolidating soil ability of roots[J]. *Research of Soil and Water Conservation*, 2021, 28(6): 25–31, 38.
- [23] DO H T, CHE C, ZHAO Z J, et al. Extracellular polymeric substance from *Rahnella* sp. LRP3 converts available Cu into $\text{Cu}_5(\text{PO}_4)_2(\text{OH})_4$ in soil through biomineralization process[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 260: 114051.
- [24] CHENG C, WANG L S G, HE L, et al. Effect of exopolysaccharide-producing bacteria on water-stables macro-aggregate formation in soil [J]. *Geomicrobiology Journal*, 2020, 37(8): 738–745.
- [25] EMAMI S, ALIKHANI H A, POURBABAIE A A, et al. Assessment of the potential of indole-3-acetic acid producing bacteria to manage chemical fertilizers application[J]. *International Journal of Environmental Research*, 2019, 13(4): 603–611.
- [26] SINGH A, KAUSHIK M S, SRIVASTAVA M, et al. Siderophore mediated attenuation of cadmium toxicity by paddy field cyanobacterium *Anabaena oryzae*[J]. *Algal Research-Biomass Biofuels and Bioproductions*, 2016, 16: 63–68.
- [27] SRIVASTAVA S, SHARMA S. Insight into exopolysaccharide-mediated stress tolerance in plants: a feasible approach towards the development of next-generation bioformulations[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2022, 23(1): 22–33.
- [28] SHUHONG Y, MEIPING Z, HONG Y, et al. Biosorption of Cu^{2+} , Pb^{2+} and Cr^{6+} by a novel exopolysaccharide from *Arthrobacter ps-5*[J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 101: 50–56.
- [29] COSTA O Y A, RAAIJMAKERS J M, KURAMAE E E. Microbial extracellular polymeric substances: ecological function and impact on soil aggregation[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1636.
- [30] 李慧芬, 方安然, 冯海霞, 等. 胞外多糖产生菌的筛选鉴定及其促生改土作用[J]. 微生物学通报, 2022, 50(5): 1–17. LI H F, FANG A R, FENG H X, et al. Screening and identification of extracellular polysaccharide-producing strain and the influence on soil quality and crop growth[J]. *Microbiology China*, 2022, 50(5): 1–17.
- [31] 张文平, 李昆太, 黄林, 等. 产胞外多糖菌株的筛选及其对土壤团聚体的影响[J]. 江西农业大学学报, 2017, 39(4): 772–779. ZHANG W P, LI K T, HUANG L, et al. Screening of exopolysaccharide-producing bacteria and their effects on aggregation in soil[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2017, 39(4): 772–779.
- [32] 孙彤, 付宇童, 李可, 等. 锰基改性生物炭对弱碱性Cd污染土壤团聚体结构以及Cd含量特征的影响[J]. 环境科学, 2020, 41(7): 3426–3433. SUN T, FU Y T, LI K, et al. Effect of Mn-modified biochar on the characteristics of aggregate structure and the content of Cd in weakly alkaline Cd-contaminated soil[J]. *Environmental Science*, 2020, 41(7): 3426–3433.
- [33] 赵牧秋, 车志伟, 史云峰. 外源重金属Cu、Cd对红树林沉积物酶活性的影响[J]. 环境科学与管理, 2016, 41: 42–46. ZHAO M Q, CHE Z W, SHI Y F. Effects of exogenous heavy metals Cu and Cd on sediment enzyme activities on mangrove forest[J]. *Environmental Science and Management*, 2016, 41: 42–46.

(责任编辑:叶飞)