

镉耐性固定细菌的筛选及其对不同品种小麦镉吸收的阻控效应

孙乐妮, 郭迎雪, 侯雪婷, 庄杰, 杨章泽, 陈兆进, 田伟

引用本文:

孙乐妮, 郭迎雪, 侯雪婷, 等. 镉耐性固定细菌的筛选及其对不同品种小麦镉吸收的阻控效应[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(9): 1878-1887.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0291>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

叶面喷施两种典型纳米材料对苋菜积累多环芳烃的影响

袁彬彬, 周东美, 马晓玥, 方国东, 高娟

农业环境科学学报. 2020, 39(9): 1908-1915 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0160>

耐镉细菌菌株的分离及其吸附镉机理研究

林晓燕, 牟仁祥, 曹赵云, 朱智伟, 陈铭学

农业环境科学学报. 2015(9): 1700-1706 <https://doi.org/10.11654/jaes.2015.09.011>

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>

Delfia sp.B9对镉胁迫下水稻种子萌发及幼苗镉积累的影响

刘玉玲, 彭鸥, 铁柏清, 刘亦婷, 罗海艳, 李丹阳, 刘寿涛

农业环境科学学报. 2019, 38(8): 1855-1863 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0261>

不同品种芥菜对镉胁迫的敏感性分布及抗氧化特征

郭瞻宇, 张子杨, 蒋亚辉, AltafHussainLahori, 张增强, 李荣华

农业环境科学学报. 2018, 37(12): 2660-2668 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0202>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

孙乐妮, 郭迎雪, 侯雪婷, 等. 镉耐性固定细菌的筛选及其对不同品种小麦镉吸收的阻控效应[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(9): 1878–1887.

SUN Le-ni, GUO Ying-xue, HOU Xue-ting, et al. Effect of cadmium-tolerant and immobilizing bacteria on cadmium uptake in different wheat cultivars[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(9): 1878–1887.



开放科学 OSID

镉耐性固定细菌的筛选及其对不同品种小麦镉吸收的阻控效应

孙乐妮¹, 郭迎雪¹, 侯雪婷¹, 庄杰¹, 杨章泽¹, 陈兆进^{2*}, 田伟³

(1. 安徽农业大学生命科学学院, 合肥 230036; 2. 南阳师范学院农业工程学院, 河南 南阳 473061; 3. 生态环境部南京环境科学研究所, 南京 210042)

摘要:为筛选重金属耐性固定细菌并探索其阻控小麦对重金属的积累效应,从根际土壤筛选镉耐性固定细菌,研究细菌吸附特性以及细菌对两种小麦Cd含量、富集系数和转移系数的影响。结果表明:筛选到一株镉耐性固定细菌菌株YM4,经16S rDNA序列分析鉴定为假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)。YM4能耐受225 mg·L⁻¹高浓度Cd²⁺,在含50 mg·L⁻¹ Cd²⁺培养基中对Cd的去除率达到58.9%。YM4对Cd的去除以胞外吸附为主。红外光谱分析发现,细胞壁上参与吸附或结合Cd的官能基团主要有一OH、—NH、羧基和磷酸基团等。小麦盆栽试验中,YM4显著降低小麦地上部(茎叶、麦壳)Cd积累量(11.31%~46.05%和10.12%~42.22%),使籽粒Cd积累量明显下降(26.79%~62.24%,红麦;25.27%~28.99%,白麦)。YM4能显著降低两种小麦茎叶、籽粒和麦壳的Cd富集系数以及籽粒的Cd转移系数。研究表明,镉耐性固定细菌*Pseudomonas* sp. YM4能降低小麦籽粒Cd含量,阻控小麦对Cd的吸收积累,对中轻度Cd污染土壤的粮食安全生产具有潜在应用价值。

关键词: 镉耐性固定细菌; 吸附; 镉积累; 小麦

中图分类号: X503.231; X172 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2020)09-1878-10 doi:10.11654/jaes.2020-0291

Effect of cadmium-tolerant and immobilizing bacteria on cadmium uptake in different wheat cultivars

SUN Le-ni¹, GUO Ying-xue¹, HOU Xue-ting¹, ZHUANG Jie¹, YANG Zhang-ze¹, CHEN Zhao-jin^{2*}, TIAN Wei³

(1. School of Life Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; 2. School of Agricultural Engineering, Nanyang Normal University, Nanyang 473061, China; 3. Institute of Environmental Sciences, Ministry of Ecology and Environment, Nanjing 210042, China)

Abstract: In order to explore the effect of heavy metal-tolerant and -immobilizing bacteria on heavy metal accumulation in wheat, Cd-tolerant and -immobilizing bacteria were screened from rhizosphere soil. The adsorption characteristics and effect of inoculation with the strain on cadmium content, bioaccumulation, and transfer factor in two wheat cultivars were assessed. The results showed Cd-tolerant and -immobilizing bacteria strain YM4, which was identified as *Pseudomonas* sp. YM4, could grow at high Cd²⁺ concentration (225 mg·L⁻¹) and reduce the concentrations of water-soluble Cd in the solution by 58.9%. Extracellular adsorption was the main mode for Cd removal. Infrared spectrum analysis showed that the functional groups involved in the biosorption process mainly included —OH, —NH, carboxyl groups, and —PO₄. In the pot experiment, YM4 significantly reduced the accumulation of Cd (11.31%~46.05%, 10.12%~42.22%) in the

收稿日期: 2020-03-16 录用日期: 2020-06-08

作者简介: 孙乐妮(1980—),女,山东威海人,博士,副教授,主要研究方向为重金属污染土壤植物-微生物联合修复。E-mail: sunleni@126.com
郭迎雪与孙乐妮同等贡献

*通信作者: 陈兆进 E-mail: zhaojin_chen@163.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(41601332);安徽省自然科学基金项目(2008085MD120);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(GYZX200202);国家级及省级大学生创新创业训练计划项目(201810364076,201910364177)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China (41601332); The Natural Science Foundation of Anhui Province, China (2008085MD120); Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund (GYZX200202); National and Provincial Students' Project for Innovation and Entrepreneurship Training Program (201810364076, 201910364177)

upper parts of the wheat (straw and husk), especially the grains (red wheat: 26.79%~62.24% and white wheat: 25.27%~28.99%). YM4 significantly reduced the accumulation coefficients of the straw, grain, and husk as well as the transfer coefficients of the grain in the two wheat varieties. In summary, Cd-tolerant and -immobilizing bacteria *Pseudomonas* sp. YM4 can reduce the content of Cd in wheat grain, prevent its accumulation in wheat, and provide important bacterial resources for safe crop production in moderately and mildly Cd-contaminated soil.

Keywords: cadmium-tolerant and -immobilizing bacteria; adsorption; cadmium accumulation; wheat

由于化肥、农药的大量施用,工业废水污染、矿山开采以及重金属大气沉降增加,我国土壤重金属污染日趋严重^[1]。据2014年《全国土壤污染状况调查公报》显示,我国土壤污染以镉(Cd)污染为主,Cd点位超标率高达7.0%^[2]。土壤中的Cd不仅破坏农田生态系统,还会积累于植物体内,威胁粮食和食品安全,最终严重危害人体健康。在我国人均耕地资源有限的情况下,可实现“边生产边修复”的重金属污染土壤原位钝化修复技术已成为适合我国大面积中低污染土壤修复的最理想技术^[3]。一些天然矿物材料、金属及金属氧化物、磷酸盐类等人工材料在原位钝化土壤重金属中起到一定效果^[4]。但继续探寻能改善土壤生态环境、环境友好的新型生物类钝化剂,对于修复重金属污染土壤、保障农产品安全生产具有重要意义。

重金属固定细菌是一类可通过吸附、富集、沉淀、氧化还原等多种机制降低土壤中重金属的生物有效性,减少其在土壤中迁移的微生物^[5-6]。某些根际细菌细胞壁含有的羧基、羟基、氨基、磷酸基团等官能团能与金属离子配位络合,这有利于吸附重金属阳离子,降低土壤中重金属的迁移和转化^[7-9]。关于重金属吸附固定微生物的筛选及其固定重金属、阻控作物吸收的研究已逐渐引起关注^[10-13],在盆栽条件下应用重金属固定微生物阻控辣椒^[12]、水稻^[13]、芥菜^[14]、青菜^[15]等对重金属的吸收研究已见报道,但仍需继续加强对重金属吸附固定微生物的筛选,用来阻控多种植物吸收积累重金属,以实现在中低污染土壤中安全生产农作物。

小麦是我国三大粮食作物之一,许多研究表明,Cd极易在小麦中积累,对小麦生长产生毒害作用,并使籽粒中Cd含量超标^[16-18]。重金属胁迫下接种细菌对小麦耐受重金属、吸收重金属能力的研究已备受关注^[19-21]。此外,Wang等^[22]还发现接菌 *Ralstonia eutropha* Q2-8 和 *Exiguobacterium aurantiacum* Q3-11 在Cd、As复合污染土壤中能够降低小麦籽粒Cd含量12%~32%和As含量9%~29%。韩辉等^[23]筛选出的重金属固定细菌巨大芽孢杆菌N3和液质沙雷氏菌

H12,在水培条件下能显著降低小麦根和地上部Cd、Pb含量。但目前关于重金属固定细菌在土壤环境下阻控小麦籽粒吸收Cd的研究还甚少,此外缺少不同小麦品种和不同污染程度对细菌阻控小麦吸收重金属效果的研究。因此,本研究从农田根际土壤分离筛选Cd固定细菌,探究菌株在不同污染环境下阻控两种低积累型小麦Cd转运及吸收积累Cd的效应,为利用重金属污染农田安全生产小麦提供重要菌种资源和技术途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

根际土壤样品采自安徽省合肥市肥东县电镀工业园附近农田(31°49'47.17"N,117°23'54.60"E)的玉米根际土壤,将采集的土壤样品装入无菌袋中,于4℃冰箱保存,并在24h内用于Cd抗性细菌的分离。

小麦品种为文献报道的Cd低积累型小麦品种扬麦158(红麦)和西农979(白麦)^[24-25],购自安徽春泽种业有限公司。

盆栽供试土壤为安徽省合肥市安徽农业大学农萃园区土壤,基本理化性质为:速效钾 $0.23\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,有效磷 $38.86\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,铵态氮 $10.30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,水溶态Cd $0.02\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,总Cd $0.28\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

LB培养基($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$):蛋白胨10.0g,酵母粉5.0g,琼脂20.0g,NaCl10.0g,pH7.0,121℃高压灭菌25min。固体培养基需加2.0%的琼脂后灭菌。

1.2 Cd耐性固定细菌菌株的分离筛选

称取10g土壤样品,无菌操作下于已灭菌的100mL生理盐水三角瓶中制备成土壤悬液,150 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、28℃摇床振荡2h后,将土壤悬液稀释成 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 不同浓度。吸取100 μL 土壤悬液涂布在含 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd²⁺(CdCl₂·2.5H₂O)的LB固体培养基上,28℃培养3d,挑取单菌落划线接种到LB平板上,直至获得纯菌株。菌株用40%甘油保存于-20℃冰箱中备用。

将分离菌株接种于LB培养液(pH7.2)培养至对

数期后,按5%接种量接入含 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Cd}^{2+}$ 的LB培养基,28℃摇床 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养3 d^[10]。同时设置不接菌处理作为对照,每个处理3次重复。收集样品于 $8\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min,上清液过 $0.22\ \mu\text{m}$ 滤膜后,测定溶液残余 Cd^{2+} 浓度。 Cd^{2+} 去除率(R):

$$R=(C_0 - C_e)/C_0 \times 100\%$$

式中: C_0 为未接菌处理上清液 Cd^{2+} 浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; C_e 为接菌处理上清液 Cd^{2+} 浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

将菌株划线接种到含不同浓度 Cd^{2+} (100、175、200、225、300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的固体培养基上,28℃培养3~5 d,观察菌株能否生长,以判断菌株对 Cd^{2+} 的耐受性。

1.3 菌株鉴定

参照《生工细菌基因组DNA快速抽提试剂盒》方法提取细菌总DNA。采用细菌通用引物27F:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'和1492R:5'-TACGGCTACCTTGTACGACTT-3' PCR扩增细菌16S rDNA片段。PCR体系及扩增方法参考Sun等^[26]方法进行。PCR扩增产物经上海生工生物工程有限公司测序,用Genbank数据库中的模式菌株16S rDNA序列进行相似性比对分析,并用软件Clustal X和MEGA6.0构建系统发育树。

1.4 细菌YM4对Cd的吸附及其重金属分布

将分离菌株接种于LB培养液(pH 7.0)中培养至对数期后,按5%接种量接入含不同浓度 Cd^{2+} (Cd^{2+} 终浓度为50、75、100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的LB培养基中,28℃摇床 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养3 d。同时设置不接菌处理作为对照组,每个处理3次重复。细胞体内积累和表面吸附的重金属含量参照文献[27-28]方法进行。将菌液转移到50 mL离心管中, $10\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min取上清。向离心的菌体样品中加入2.5 mL $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的EDTA洗脱液,混匀后, $10\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min取上清,反复用EDTA洗涤菌体细胞3次,合并的上清液中 Cd^{2+} 即为菌体胞外吸附。将菌体重悬浮在稀 HNO_3 和0.1% TritonX-100中,95℃水浴2 h,待细胞裂解完全,溶液变澄清后, $12\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min取上清,上清液中 Cd^{2+} 即为菌体胞内富集。洗脱样品与消解液用去离子水定容后用原子吸收分光光度计测定 Cd^{2+} 含量。每个处理设置3次重复。

$$\text{总吸附容量 } Q = \frac{(C_0 - C_e)V}{W}$$

$$\text{菌体胞外或胞内 } \text{Cd}^{2+}\text{吸附量 } Q_n = \frac{C_n V_n}{W}$$

式中: C_0 为未接菌处理上清液 Cd^{2+} 浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; C_e 为接菌处理上清液 Cd^{2+} 浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; V 为离心培养液的

体积,L; W 为离心菌体的干质量,g; C_n 为EDTA洗脱液或消解液中 Cd^{2+} 浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; V_n 为EDTA洗脱液或消解液体积,L。

1.5 傅里叶红外光谱分析

将LB培养基中培养至对数期的菌液,分别以5%接种量接入含不同浓度 Cd^{2+} (0、50、75、100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,分别记作Cd0、Cd50、Cd75和Cd100)的LB培养基,28℃、 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇床培养3 d后,离心收集菌体。将不同处理的菌体进行真空冷冻干燥,以1:99的质量比与干燥的KBr混合研磨,利用磨具将其压成薄片,用傅里叶红外光谱分析仪进行检测,并参考Huang等^[9]和林晓燕等^[29]的方法分析菌体吸附 Cd^{2+} 过程中参与的细胞表面官能团。

1.6 YM4对小麦各组织Cd吸收与转运的影响

将供试盆栽土壤自然风干,过筛,混合均匀后按每盆4.5 kg分装于盆钵中。参考《土壤环境质量农用地土壤污染风险管控标准(试行)》(GB 15618—2018),外源添加 Cd^{2+} ($\text{CdCl}_2\cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$)分别设置0、0.3、0.6 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 3个水平(记作Cd0、Cd0.3、Cd0.6),土壤陈化1个月。将培养至对数期的菌体细胞离心收集,洗涤2次后重悬于生理盐水中制备成 $1\times 10^8\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 菌悬液。挑选颗粒饱满、催芽效果一致的露白种子置于菌悬液中浸种2 h后,每盆种植4粒,且将5 mL菌悬液滴加到每盆种子上。以浸种生理盐水及接种生理盐水作为对照处理。小麦生长至返青期时每盆再接种5 mL菌悬液,浇灌于小麦根部土壤。所有处理均设置3次重复。定期对盆栽小麦施加等量水肥,保持水分含量至田间持水量的70%左右,于次年成熟期收获。小麦生长时间为10月下旬至次年5月中旬。

将小麦从盆中整株取出,根、茎叶、麦穗分别采集,用去离子水将根部冲洗干净。麦穗脱壳后,麦粒自然晒干至恒质量,根、茎叶和壳烘干至恒质量。将干燥的根、茎叶、麦壳和麦粒分别用粉碎机粉碎,经 $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$ (优级纯, $V:V=87:13$)混合酸液浸泡,XT-9916微波消解仪消解后,用原子吸收仪测定Cd含量。根据样品质量换算出小麦各组织Cd含量。

Cd富集系数、转移系数计算方法如下:

富集系数(BF)=各组织Cd含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)/土壤Cd含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

转移系数(TF)=地上部各组织Cd含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)/根部Cd含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

1.7 数据处理

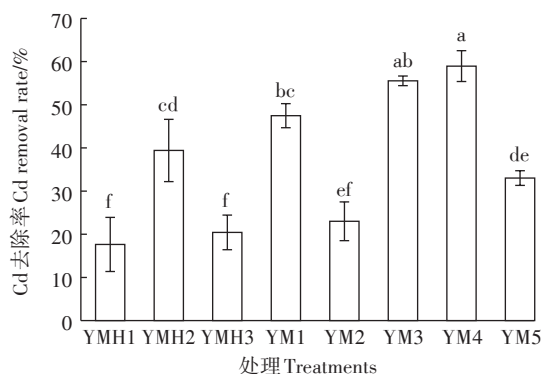
实验数据均用Excel 2007、SPSS 17.0进行处理和

分析。采用SPSS 17.0进行单因素方差分析(ANOVA)和Duncan法进行多重比较分析($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 Cd耐性固定细菌菌株筛选及鉴定

采用稀释涂布平板法于Cd抗性平板中共筛选出Cd抗性菌株8株,其对Cd的吸附能力见图1。8株菌对Cd的去除能力不同,去除率在17.6%~58.9%。这些细菌对Cd的去除可能涉及到络合反应、物理吸附或胞内扩散等。菌株YM4具有最强的Cd去除能力,去除率达58.9%,耐Cd²⁺浓度达到225 mg·L⁻¹。YM4菌落外观呈圆形,边缘光滑,淡黄色。对16S rDNA序列进行PCR扩增,获得1 405 bp的扩增产物,测序结果提交至GenBank,登录号为MK355633。经序列比对,选取13株模式菌株序列采用N-J(Neighbor-Joining)法构建系统发育树。由图2可知,YM4与假



不同小写字母表示处理间有显著差异($P < 0.01$)

Different lowercase letters indicate significant difference at 0.01 level

图1 菌株在溶液中对Cd的去除效果

Figure 1 The removal effect of Cd by strains in solution

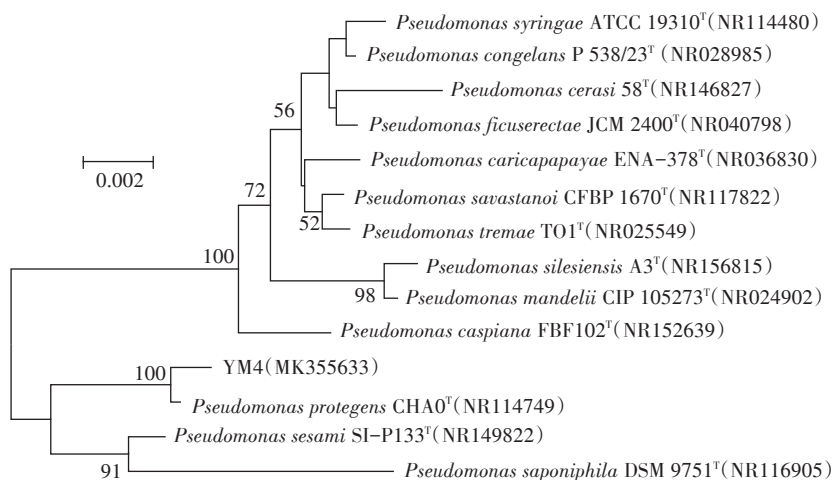


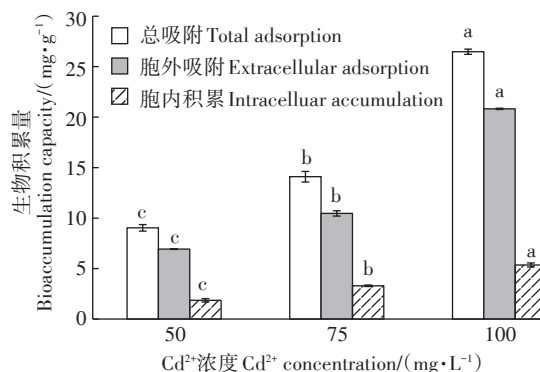
图2 基于菌株YM4 16S rRNA基因序列构建的系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree of strain YM4 based on 16S rRNA gene sequences

单胞菌属(*Pseudomonas*)细菌相似性较高,其中与*Pseudomonas protegens* 同源性高达99.8%。因此,可确定菌株YM4为假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)。

2.2 细菌YM4对Cd的生物积累能力及其重金属分布

以未接菌处理作为对照,研究细菌YM4在生长过程中对Cd的生物积累能力。由图3可知,在50、75、100 mg·L⁻¹ Cd²⁺浓度下,YM4的总吸附量分别为9.03、14.10、26.48 mg·g⁻¹,胞外吸附量分别为6.93、10.46、20.82 mg·g⁻¹,占总吸附量的74.22%~78.63%。胞内积累量相对较少,仅占总吸附量的21.37%~25.78%。随着初始重金属浓度的增加,YM4总吸附量、胞外吸附量都会显著升高,而胞内积累量也会有一定增多。YM4对Cd的去除依靠胞外吸附和胞内积累的共同作用,但以胞外吸附为主,这可能是细菌主



不同小写字母表示不同Cd²⁺浓度处理间有显著差异($P < 0.05$)

Different lowercase letters indicate significant difference among the treatments with the different Cd²⁺ concentrations at 0.05 level

图3 不同Cd²⁺浓度下YM4对Cd²⁺的生物积累能力

Figure 3 Bioaccumulation capacity of Cd²⁺ by YM4 at different concentrations of Cd²⁺

要将Cd吸附在细胞表面,阻止或减少其向细胞内的吸收转运,是细菌自身保护的一种解毒机制。

2.3 吸附Cd²⁺前后YM4的傅里叶红外光谱分析

采用傅里叶红外光谱分析细菌YM4吸附Cd²⁺前后细胞表面官能团变化(图4)。YM4在吸附Cd²⁺后主要有多个位置吸收峰发生偏移,其中在多个Cd²⁺浓度处理下,代表缩合羟基(—OH)或—NH的吸收带由3 407.60 cm⁻¹向高波长处(3 409.53 cm⁻¹)偏移;代表烷基中的—CH吸收峰由2 925.48 cm⁻¹向低频偏移;代表羧基、酰胺I带C=O伸缩振动的吸收峰向高波数1 654.62 cm⁻¹偏移;代表—NH伸缩的吸收峰由1 544.70 cm⁻¹向1 540.85 cm⁻¹偏移;代表磷酸基团的吸收峰由1 081.87 cm⁻¹向高位发生偏移。此外,代表醚类C—O—C伸缩和—M—O或O—M—O(M为金属离子)和P—H键的吸收带也发生不同程度上的偏移。因此,我们推测YM4细胞表面的一OH、—NH、—CH、C=O、羧基及磷酸基团、—M—O等是吸附Cd的主要功能位点。

2.4 YM4对小麦Cd含量的影响

通过盆栽试验研究接菌YM4对红麦、白麦两个小麦品种根、茎叶、麦壳以及籽粒Cd含量的影响。由图5可知,在Cd0和Cd0.3处理下,接菌YM4使两种小麦茎叶、麦壳、籽粒Cd含量均显著下降($P<0.05$),其中,红麦Cd含量降幅分别为16.48%~17.79%、14.24%~35.52%、26.79%~62.24%,白麦Cd含量降幅分别为20.00%~46.05%、24.44%~42.22%、26.33%~28.99%;在Cd0.6处理下,与对照组相比,接菌YM4均显著降低小麦植株各部位对Cd的吸收($P<0.05$),接菌处理使根、茎叶、麦壳、籽粒的Cd含量分别显著降低20.26%、11.31%、10.12%、45.31%(红麦)和21.28%、32.04%、34.50%、25.27%(白麦)。特别注意

的是,接菌YM4能使白麦和红麦中Cd超标处理的籽粒Cd含量低于或接近《食品安全国家标准 食品中污染物限量》(GB 2762—2017)规定的Cd限量标准(0.1 mg·kg⁻¹)。由此可见,与未接菌对照相比,接菌YM4可显著降低两种小麦地上部Cd含量,推测可能是接种YM4能影响Cd从小麦地下向地上部的转运。

由图5可知,随着土壤中Cd浓度的增加,两种小麦对Cd的积累呈递增趋势。在不接菌处理组,Cd0.3和Cd0.6处理组根、茎叶、麦壳和籽粒中Cd浓度均比Cd0处理显著增多($P<0.05$),其中Cd0.6处理组比Cd0处理组分别增加90.97%、95.15%、56.67%、75.06%(白麦)和95.65%、82.63%、63.37%、115.40%(红麦)。在接菌处理组,Cd0.3和Cd0.6处理组根、茎叶和麦壳Cd浓度均比Cd0处理显著增多($P<0.05$),Cd 0.6处理组白麦和红麦籽粒Cd浓度比Cd0处理分别显著增加78.39%和61.23%($P<0.05$)。

两种小麦体内Cd含量因品种差异有所不同。根部是富集积累Cd的主要部位,白麦根部Cd积累量大于红麦,且在Cd0.6处理时达显著差异,说明在较高浓度Cd污染下,白麦根部更易吸收积累Cd。在不接菌和接菌处理组,红麦茎叶和籽粒Cd含量均显著高于白麦,其中红麦籽粒Cd含量比白麦增加45.85%~187.28%,表明红麦可能对Cd具有更强的向地上部转运的能力。接菌处理使红麦籽粒Cd含量较对照下降26.79%~62.24%,下降幅度远高于白麦(25.27%~28.99%)。因此,为了保障小麦的安全生产,在无钝化剂施用情况下,红麦(扬麦158)更适合种植于无污染土壤。

综上所述,接菌YM4可显著降低白麦和红麦地上部Cd含量,使红麦籽粒Cd含量下降幅度大于白麦,但红麦籽粒Cd积累能力仍高于白麦。在农用地

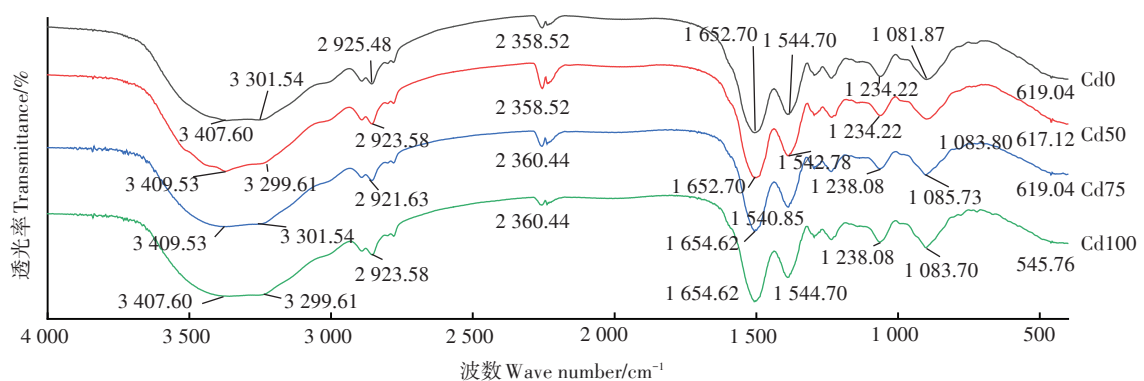
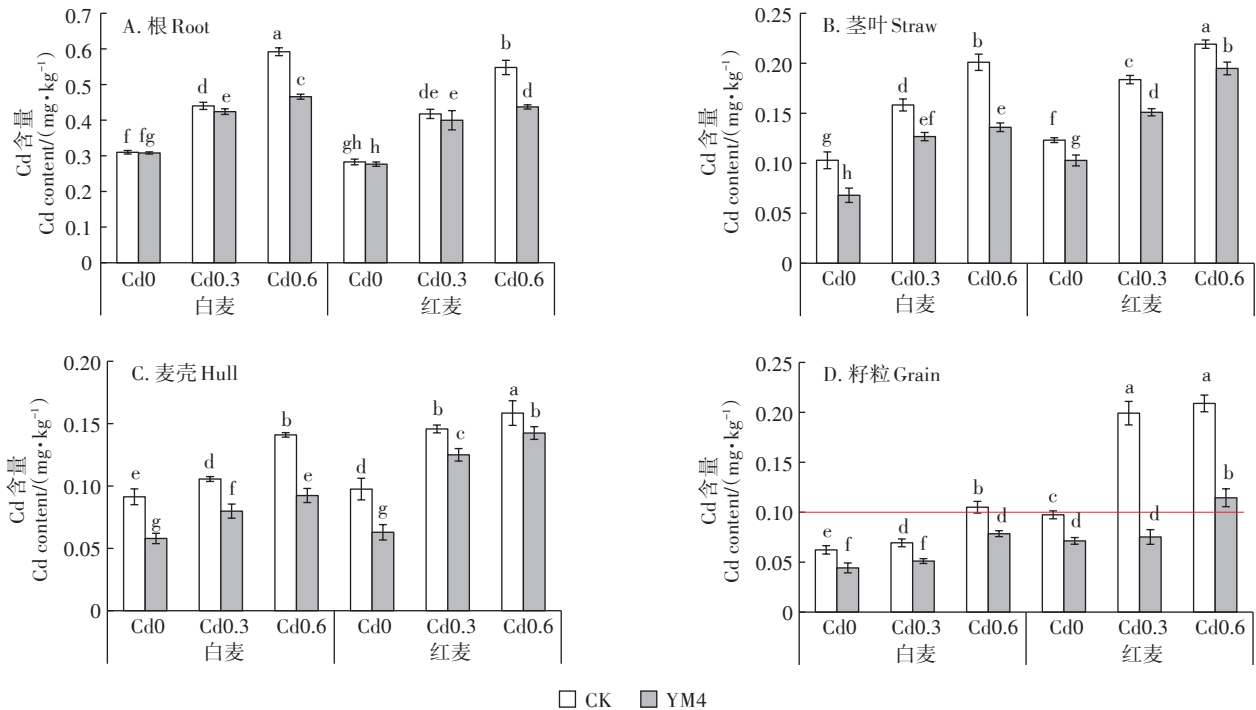


图4 YM4吸收Cd²⁺前后的红外光谱图

Figure 4 FTIR spectrum of YM4 before and after adsorption of Cd²⁺



不同小写字母表示处理间有显著差异 ($P < 0.05$)
Different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 level

图5 YM4对小麦根部、茎叶、麦壳和籽粒中Cd含量的影响

Figure 5 Effects of YM4 on Cd content in roots, straws, hulls and grains

土壤污染风险筛选值($0.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)以下,接种YM4对阻控白麦和红麦吸收Cd,保障小麦安全生产具有潜在应用价值。但高于污染筛选值时,YM4则不应用于红麦。接种功能微生物和选择适宜低积累型品种,是较高污染土壤原位修复的重要措施。

2.5 YM4对小麦Cd富集系数与转移系数的影响

通过表1可知,小麦根、麦壳、茎叶部Cd富集系数分别随着外源添加Cd²⁺浓度的增加而显著降低,而小麦各部位Cd转移系数没有呈现规律性变化。小麦根部Cd富集系数最高,其次为茎叶,籽粒或麦壳富集

表1 YM4对土壤-小麦体系中Cd富集系数与转移系数的影响

Table 1 Effects of YM4 on Cd bioaccumulation factor and transfer factor in soil-wheat system

品种 Varieties	Cd ²⁺ 浓度 Cd ²⁺ content/mg·kg ⁻¹	处理 Treatments	富集系数 Bioaccumulation factor				转移系数 Transfer factor		
			根/土	茎叶/土	麦壳/土	籽粒/土	茎叶/根	麦壳/根	籽粒/根
白麦	0	CK	1.10a	0.37b	0.32a	0.22c	0.35d	0.29d	0.20e
		YM4	1.09a	0.22f	0.21c	0.16d	0.22g	0.19f	0.14i
	0.3	CK	0.76c	0.27d	0.18d	0.12e	0.39c	0.24e	0.16h
		YM4	0.73c	0.22f	0.14f	0.09f	0.32e	0.19f	0.12j
	0.6	CK	0.65ef	0.23ef	0.16e	0.12e	0.35de	0.25e	0.18f
		YM4	0.53g	0.15g	0.10g	0.09f	0.29f	0.20f	0.17g
红麦	0	CK	1.00b	0.44a	0.35a	0.35a	0.44ab	0.34a	0.34c
		YM4	0.98b	0.36b	0.25b	0.25b	0.37cd	0.26e	0.26d
	0.3	CK	0.72cd	0.32c	0.25b	0.34a	0.44a	0.35a	0.48a
		YM4	0.69de	0.26d	0.21c	0.13e	0.38cd	0.31bc	0.19ef
	0.6	CK	0.62f	0.25de	0.19d	0.24bc	0.40bc	0.30cd	0.38b
		YM4	0.50g	0.22f	0.16e	0.13e	0.45a	0.33b	0.26d

注:不同小写字母表示同一列数据之间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters in a row indicate significant differences ($P < 0.05$).

系数较低。在未接菌对照组中比较两种小麦,发现白麦茎叶、籽粒 Cd 富集系数分别比红麦显著降低 8.00%~15.91% 和 37.14%~64.71% ($P<0.05$)。白麦茎叶、麦壳、籽粒中 Cd 转移系数分别比红麦显著降低 12.33%~18.57%、14.73%~31.25% 和 41.74%~66.97% ($P<0.05$), 表明白麦对 Cd 的富集及转运能力小于红麦, 属于低积累型品种。接种 YM4 后, 在 3 种不同浓度 Cd^{2+} 处理下, 接菌处理均能显著降低两种小麦茎叶、籽粒和麦壳富集系数 ($P<0.05$), 以及降低白麦茎叶、籽粒和麦壳 Cd 转移系数和红麦籽粒 Cd 转移系数 ($P<0.05$), 且在 0、0.3 $mg \cdot kg^{-1}$ Cd^{2+} 处理时, 接菌处理也显著降低红麦茎叶和麦壳转移系数 ($P<0.05$)。总之, 白麦籽粒对 Cd 的富集、转运能力低于红麦, 接菌处理能降低籽粒对 Cd 的富集、转运能力。

3 讨论

原位钝化修复技术是适合重金属中低污染土壤的理想修复技术。新兴的微生物钝化修复材料已引起广大研究者的关注。目前已发现的能吸附固定重金属的微生物主要有芽孢杆菌属 (*Bacillus*)^[12]、无色杆菌属 (*Achromobacter*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)^[10]、沙雷氏菌属 (*Serratia*)^[23]、肠杆菌属 (*Enterobacter*)^[30]、寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*)^[31]。这些微生物能够在高浓度的重金属环境中生存, 并通过吸附、沉淀、吸收等多种方式固定重金属, 对重金属污染土壤的修复起重要作用。一些微生物可以通过细胞表面的阴离子基团或胞外分泌物来吸附固定重金属^[7, 9-10, 30]。张旭辉等^[10]分离到的一株 *Pseudomonas* sp. ZXH23 在含 Cd^{2+} 50 $mg \cdot L^{-1}$ LB 培养基中对 Cd 的去除率为 33.7%。Xu 等^[30]研究发现, *Enterobacter cloacae* TU 在 Cd 浓度大于 20 $mg \cdot L^{-1}$ 时, 对 Cd 的去除方式以胞外吸附为主, 且随 Cd 浓度增加, 胞外吸附量逐渐增加, 但胞内积累量几乎不变。Huang 等^[32]研究发现, *Bacillus cereus* RC-1 在重金属浓度大于 20 $mg \cdot L^{-1}$ 时, 去除方式也以胞外吸附为主, 但除胞外吸附量外, 胞内积累量也随 Zn、Pb 和 Cd 浓度增加有一定的增加。本研究筛选到的菌株 *Pseudomonas* sp. YM4 在含 Cd 50 $mg \cdot L^{-1}$ LB 培养基中对 Cd 的去除率为 58.9%, 该菌以胞外吸附为主要方式, 随 Cd 浓度增加, 胞外吸附和胞内吸收积累量均会增加。细菌的胞外吸附和胞内积累会受不同微生物种类、重金属种类及离子浓度的影响^[10, 28]。

小麦重金属食品安全已备受关注^[17-18, 33]。研究者

们曾采取多种化学钝化剂降低小麦重金属含量并取得一定效果^[34-35]。但化学钝化剂的长期过量施用可能会引起土壤二次污染, 改变土壤理化性质, 导致土壤生态系统恶化^[36]。近年来基于重金属固定细菌的生物钝化修复技术已引起关注。Rajkumar 等^[14]筛选的 Ni 耐性固定细菌 *Bacillus megaterium* SR28C 使芥菜根部和地上部 Ni 含量降低了 52% 和 15%。Han 等^[15]分离到的重金属固定细菌 *Bacillus megaterium* N3 和 *Serratia liquefaciens* H12 使青菜叶部 Cd 含量降低 76.5%~79.7%, Pb 含量降低 76.3%~83.5%。本研究筛选到的重金属固定细菌 *Pseudomonas* sp. YM4 使两种小麦籽粒 Cd 含量、富集系数、转移系数降低, 且 Cd 超标处理的籽粒 Cd 含量低于或接近小麦食品安全的限量标准。结合前人研究, 本研究也进一步证实重金属固定细菌的筛选是一种快速获得阻控作物吸收重金属的功能菌株方式。重金属固定细菌能阻控植物对重金属的吸收转运, 一方面与细菌通过细胞壁吸附重金属、胞外分泌物络合、沉淀等吸附固定重金属, 降低有效态重金属含量有关^[6, 14], 另一方面微生物与植物之间发生复杂的互作作用, 微生物能正面或负面调控植物体内某些功能基因的表达, 从而改变重金属在植物体内的转运, 增强植物的抗逆性^[37-38]。Khanna 等^[39]研究发现番茄接种根际细菌假单胞菌和伯克霍尔德菌降低了 Cd 转运相关基因表达, 减少了对 Cd 的吸收积累。加强功能菌与小麦的互作研究, 研究细菌对小麦 Cd 转运相关功能基因表达的影响, 有望阐明微生物阻控小麦吸收 Cd 的分子机理, 为保障粮食作物安全生产提供重要理论基础。

近年来针对小麦不同积累能力品种的筛选研究备受关注^[40]。艾金华等^[25]及李乐乐等^[41]在 Cd 污染土壤种植多个小麦品种, 通过对小麦籽粒 Cd 富集能力及 Cd 吸收能力分析, 筛选出西农 979 属于低 Cd 积累品种。刘艳阳等^[24]采用水培方法以地上部 Cd 积累量为筛选指标, 将 25 个小麦品种划分为 Cd 高、中、低 3 种积累型, 其中扬麦 158 被认定为 Cd 低积累型品种。本研究以前人报道的低积累型小麦品种西农 979 和扬麦 158 为供试材料, 研究发现在同一 Cd 浓度下, 不论接菌组或不接菌对照组, 白麦 (西农 979) 籽粒的 Cd 含量、转移系数和富集系数均明显低于红麦 (扬麦 158), 进一步证实白麦 (西农 979) 为低 Cd 积累型小麦品种。本研究中红麦籽粒 Cd 积累能力明显较高, 这与刘艳阳等^[24]筛选扬麦 158 为 Cd 低积累型的结论不同, 分析可能原因是其采用水培试验, 仅依靠地上部

Cd含量,而不是籽粒Cd含量作为筛选依据。建议对植物品种不同积累型的筛选应该以可食用部位重金属含量作为标准。YM4接种红麦Cd富集量下降幅度大于白麦,但并未使红麦籽粒Cd含量达到限量标准,说明白麦和红麦两种小麦对细菌接种的反应效果不尽相同,一方面不同基因型品种决定了植物对重金属的吸收能力,此外,这可能与功能菌与不同基因型品种的复杂互作关系有关,这种现象也在Neiverth等^[42]对小麦的研究中发现。因此建议在研究微生物对作物应用效果研究时,应扩大供试品种量,充分考虑到不同作物品种对菌株的反应,以明确菌株的适宜匹配品种。

张静静等^[43]研究发现1%褐煤和1%生物炭处理能有效阻控郑麦379籽粒对Cd的积累,降幅达56.47%和38.89%。姜洋等^[44]发现钙镁磷肥配施石灰处理能有效钝化土壤Cd,降低小麦籽粒Cd含量。本研究中白麦接种细菌YM4后Cd超标处理的籽粒Cd含量下降到 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以下,达到食品安全限量标准。但对于红麦品种,在 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理时接菌处理虽显著降低了籽粒Cd含量,降幅高达45.31%,但并未使Cd含量低于《食品安全国家标准 食品中污染物限量》(GB 2762—2017)小麦的限量标准($0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。因此,进一步开展功能细菌与某些化学钝化剂联合施用的研究,配合选用低积累型小麦品种,有望获得比单一菌剂或钝化剂更好的阻控效果,对阻控小麦吸收重金属及粮食安全生产具有潜在应用价值。

4 结论

(1)筛选到的Cd耐性固定菌株*Pseudomonas* sp. YM4可通过胞外吸附和胞内积累作用去除Cd,且以胞外吸附为主要方式。

(2)接种YM4在3种Cd浓度下都能阻控两个小麦品种体内Cd的转运,显著降低小麦籽粒Cd含量至低于或接近食品安全国家限量标准。

(3)YM4接种使两个小麦品种Cd含量下降幅度不同,接种YM4使红麦(扬麦158)籽粒Cd含量下降幅度更大,但白麦(西农979)籽粒Cd富集量、富集系数和转移系数明显低于红麦。

(4)随着土壤Cd浓度增加,接菌YM4与不接菌处理组,两个品种小麦吸收Cd含量增多。

参考文献:

[1] Luo L, Ma Y B, Zhang S Z, et al. An inventory of trace element inputs

- to agricultural soils in China[J]. *Journal of Environmental Management*, 2009, 90(8):2524–2530.
- [2] 陈能场, 郑煜基, 何晓峰, 等. 《全国土壤污染状况调查公报》探析[J]. *农业环境科学学报*, 2017, 36(9):1689–1692.
- CHEN Neng-chang, ZHENG Yu-ji, HE Xiao-feng, et al. Analysis of the Report on the National General Survey of Soil Contamination[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(9):1689–1692.
- [3] 李剑睿, 徐应明, 林大松, 等. 农田重金属污染原位钝化修复研究进展[J]. *生态环境学报*, 2014, 23(4):721–728.
- LI Jian-rui, XU Ying-ming, LIN Da-song, et al. In situ immobilization remediation of heavy metals in contaminated soils: A review[J]. *Journal of Ecology and Environment*, 2014, 23(4):721–728.
- [4] Hamid Y, Tang L, Sohail M I, et al. An explanation of soil amendments to reduce cadmium phytoavailability and transfer to food chain[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 660:80–96.
- [5] 钱春香, 王明明, 许燕波. 土壤重金属污染现状及微生物修复技术研究进展[J]. *东南大学学报(自然科学版)*, 2013, 43(3):669–674.
- QIAN Chun-xiang, WANG Ming-ming, XU Yan-bo. Current situation of soil contamination by heavy metals and research progress in bio-remediation technique[J]. *Journal of Southeast University (Natural Science Edition)*, 2013, 43(3):669–674.
- [6] Wang Y, Luo Y, Zeng G, et al. Characteristics and in situ remediation effects of heavy metal immobilizing bacteria on cadmium and nickel co-contaminated soil[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 192:110294.
- [7] Wei X, Fang L, Cai P, et al. Influence of extracellular polymeric substances (EPS) on Cd adsorption by bacteria[J]. *Environmental Pollution*, 2011, 9(5):1369–1374.
- [8] Xu X, Huang Q, Huang Q, et al. Soil microbial augmentation by an EGFP-tagged *Pseudomonas putida* X4 to reduce phytoavailable cadmium[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2012, 71:55–60.
- [9] Huang W, Liu Z. Biosorption of Cd(II)/Pb(II) from aqueous solution by biosurfactant-producing bacteria: Isotherm kinetic characteristic and mechanism studies[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2013, 105:113–119.
- [10] 张旭辉, 孙斌, 魏志敏, 等. 2株耐镉微生物的筛选及其对镉的吸附钝化差异机制[J]. *南京农业大学学报*, 2019, 42(5):869–876.
- ZHANG Xu-hui, SUN Bin, WEI Zhi-min, et al. Screening of two cadmium-tolerant microorganisms and their differences in adsorption and immobilization of cadmium[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2019, 42(5):869–876.
- [11] Etesami H. Bacterial mediated alleviation of heavy metal stress and decreased accumulation of metals in plant tissues: Mechanisms and future prospects[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 147:175–191.
- [12] 杨丽, 燕传明, 贺卓, 等. 重金属耐性芽孢杆菌的筛选及其对辣椒吸收镉的阻控效应[J]. *农业环境科学学报*, 2018, 37(6):1086–1093.
- YANG Li, YAN Chuan-ming, HE Zhuo, et al. Effect of heavy metal-tolerant spore-forming bacteria on the cadmium and lead uptake of

- pepper[J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2018, 37(6): 1086-1093.
- [13] Li Y, Pang H D, He L Y, et al. Cd immobilization and reduced tissue Cd accumulation of rice (*Oryza sativa* wuyun-23) in the presence of heavy metal-resistant bacteria[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 138:56-63.
- [14] Rajkumar M, Ma Y, Freitas H. Improvement of Ni phytostabilization by inoculation of Ni resistant *Bacillus megaterium* SR28C[J]. *Journal of Environmental Management*, 2013, 128:973-980.
- [15] Han H, Cai H, Wang X, et al. Heavy metal-immobilizing bacteria increase the biomass and reduce the Cd and Pb uptake by pakchoi (*Brassica chinensis* L.) in heavy metal-contaminated soil[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 195:110375.
- [16] 程杰, 高压军. 镉毒害对小麦生理生态效应的研究进展[J]. 水土保持研究, 2006, 13(6):218-221, 227.
CHENG Jie, GAO Ya-jun. Progress in studies on cadmium toxicity to physiology and ecology effect of wheat[J]. *Research of Soil and Water Conservation*, 2006, 13(6):218-221, 227.
- [17] 孙卉, 韩晋仙, 马建华. 开封市化肥河污灌区小麦重金属含量及其健康风险评估[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(6):2332-2337.
SUN Hui, HAN Jin-xian, MA Jian-hua. Health risk assessment of wheat seeds heavy metals in the sewage irrigation area of Huafei River, Kaifeng City[J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2008, 27(6): 2332-2337.
- [18] 刘海涛, 陈一兵, 田静, 等. 成都平原不同种植模式下重金属镉污染风险和经济效益评价[J]. 农业资源与环境学报, 2019, 36(2): 184-191.
LIU Hai-tao, CHEN Yi-bing, TIAN Jing, et al. Evaluation of economic benefits and cadmium pollution risk in different cropping system in Chengdu Plain, China[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2019, 36(2):184-191.
- [19] 刘军生, 解修超, 罗阳兰, 等. 植物抗镉内生细菌筛选及其对小麦幼苗耐镉能力的影响[J]. 南方农业学报, 2018, 49(12):2379-2386.
LIU Jun-sheng, XIE Xiu-chao, LUO Yang-lan, et al. Screening of cadmium-resistant endophytic bacteria and its effect on enhancing cadmium tolerance of wheat seedling[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2018, 49(12):2379-2386.
- [20] 郭凌, 张肇铭. 利用球形红细菌降低小麦、油菜幼苗中镉积累的研究[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2007, 30(3):394-399.
GUO Ling, ZHANG Zhao-ming. Studies on decreasing the cadmium accumulation of wheat and cole seedlings by *Rhodobacter sphaeroides* [J]. *Journal of Shanxi University(Natural Science Edition)*, 2007, 30(3):394-399.
- [21] Peng W, Li X, Song J, et al. Bioremediation of cadmium- and zinc-contaminated soil using *Rhodobacter sphaeroides*[J]. *Chemosphere*, 2018, 197:33-41.
- [22] Wang X H, Luo W W, Wang Q, et al. Metal (loid)-resistant bacteria reduce wheat Cd and As uptake in metal (loid)-contaminated soil[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 241:529-539.
- [23] 韩辉, 王晓宇, 蔡红, 等. 重金属固定植物促生细菌的筛选及其阻控小麦富集重金属效应[J]. 环境科学, 2019, 40(7):3339-3346.
HAN Hui, WANG Xiao-yu, CAI Hong, et al. Isolation of heavy metal immobilizing and plant growth-promoting bacteria and its effects on reducing heavy metal accumulation in wheat[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(7):3339-3346.
- [24] 刘艳阳, 黄萍霞, 马克强, 等. 小麦苗期吸收和积累镉能力的品种间差异[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(10):1939-1945.
LIU Yan-yang, HUANG Ping-xia, MA Ke-qiang, et al. Variations of Cd absorption and accumulation in different wheat cultivars at seedling stage[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(10): 1939-1945.
- [25] 艾金华, 廖晓勇, 王凌青, 等. 镉胁迫下小麦镉低累积品种筛选[J]. 南昌大学学报(理科版), 2019, 43(2):175-181.
AI Jin-hua, LIAO Xiao-yong, WANG Ling-qing, et al. The selection of low cadmium accumulation wheat varieties under cadmium stress [J]. *Journal of Nanchang University(Natural Science)*, 2019, 43(2): 175-181.
- [26] Sun L N, Zhang Y F, He L Y, et al. Genetic diversity and characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from two copper-tolerant plant species on copper mine wasteland[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(2):501-509.
- [27] Khan Z, Rehman A, Hussain S Z, et al. Cadmium resistance and uptake by bacterium, *Salmonella enterica* 43C, isolated from industrial effluent[J]. *AMB Express*, 2016, 6(1):54.
- [28] 燕传明, 贺卓, 葛占标, 等. 两株重金属抗性细菌对铅镉吸附特性的比较研究[J]. 环境科学学报, 2018, 38(9):3597-3604.
YAN Chuan-ming, HE Zhuo, GE Zhan-biao, et al. Comparative study on adsorption characteristics of lead and cadmium by two heavy metal resistant bacteria[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2018, 38(9):3597-3604.
- [29] 林晓燕, 牟仁祥, 曹赵云, 等. 耐镉细菌菌株的分离及其吸附镉机理研究[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(9):1700-1706.
LIN Xiao-yan, MOU Ren-xiang, CAO Zhao-yun, et al. Isolation and cadmium adsorption mechanisms of cadmium-resistant bacteria strains[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2015, 34(9):1700-1706.
- [30] Xu C, He S, Liu Y, et al. Bioadsorption and biostabilization of cadmium by *Enterobacter cloacae* TU[J]. *Chemosphere*, 2017, 173:622-629.
- [31] 郭山, 桂恒俊, 陈翩, 等. 凤眼莲根际耐Cd、Zn细菌的分离鉴定及对Cd、Zn去除效果研究[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(3):530-537.
GUO Shan, GUI Heng-jun, CHEN Pian, et al. Isolation and identification of Cd- and Zn-resistant bacteria in the rhizosphere of *Eichhornia crassipes* and their effects on Cd and Zn removal[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(3):530-537.
- [32] Huang F, Wang Z, Cai Y, et al. Heavy metal bioaccumulation and cation release by growing *Bacillus cereus* RC-1 under culture conditions [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 157:216-226.
- [33] 徐建明, 孟俊, 刘杏梅, 等. 我国农田土壤重金属污染防治与粮食安全保障[J]. 中国科学院院刊, 2018, 33(2):153-159.
XU Jian-ming, MENG Jun, LIU Xing-mei, et al. Control of heavy metal pollution in farmland of China in terms of food security[J]. *Bulle-*

tin of the Chinese Academy of Sciences, 2018, 33(2):153-159.

- [34] 罗远恒, 顾雪元, 吴永贵, 等. 钝化剂对农田土壤镉污染的原位钝化修复效应研究[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(5):890-897.
LUO Yuan-heng, GU Xue-yuan, WU Yong-gui, et al. In-situ remediation of cadmium-polluted agriculture land using stabilizing amendments[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(5):890-897.
- [35] 陈盾, 王小兵, 汪晓丽, 等. 镉污染红壤的钝化剂筛选及钝化效果[J]. 生态与农村环境学报, 2020, 36(1):115-120.
CHEN Dun, WANG Xiao-bing, WANG Xiao-li, et al. Screening of passivators for cadmium-contaminated red soil and their effects on soil remediation[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2020, 36(1):115-120.
- [36] Udeigwe T K, Eze P N, Teboh J M, et al. Application, chemistry, and environmental implications of contaminant immobilization amendments on agricultural soil and water quality[J]. *Environment International*, 2011, 37(1):258-267.
- [37] Begum N, Hu Z, Cai Q, et al. Influence of PGPB inoculation on HSP70 and HMA3 gene expression in Switchgrass under cadmium stress[J]. *Plants*, 2019, 8(11):504.
- [38] Chen B, Luo S, Wu Y, et al. The effects of the endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* Sasm05 and IAA on the plant growth and cadmium uptake of *Sedum alfredii* Hance[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8:2538.
- [39] Khanna K, Jamwal V L, Gandhi S G, et al. Metal resistant PGPR lowered Cd uptake and expression of metal transporter genes with improved growth and photosynthetic pigments in *Lycopersicon esculentum* under metal toxicity[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1):1-14.
- [40] Shi G L, Zhu S, Bai S N, et al. The transportation and accumulation of arsenic, cadmium, and phosphorus in 12 wheat cultivars and their relationships with each other[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 299:94-102.
- [41] 李乐乐, 刘源, 李宝贵, 等. 镉低积累小麦品种的筛选研究[J]. 灌溉排水学报, 2019, 38(8):53-58.
LI Le-le, LIU Yuan, LI Bao-gui, et al. Screening of low-accumulation wheat varieties with cadmium[J]. *Journal of Irrigation and Drainage*, 2019, 38(8):53-58.
- [42] Neiverth A, Delai S, Garcia D M, et al. Performance of different wheat genotypes inoculated with the plant growth promoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae*[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2014, 64:1-5.
- [43] 张静静, 朱爽阁, 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 Jing-jing, ZHU Shuang-ge, ZHU Li-nan, 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.
- [44] 姜洋, 罗远恒, 顾雪元. 农田土壤镉污染的原位钝化修复及持久性研究[J]. 南京大学学报(自然科学版), 2017, 53(2):265-274.
JIANG Yang, LUO Yuan-heng, GU Xue-yuan. In situ immobilization of cadmium in soil and persistence study[J]. *Journal of Nanjing University(Natural Sciences)*, 2017, 53(2):265-274.