

杨榕,李博文,刘微. 2013. 胶质芽孢杆菌对印度芥菜富集土壤 Cd 及土壤 pH 的影响[J]. 环境科学学报, 33(6): 1648-1654

Yang R, Li B W, Liu W. 2013. Effects of *Bacillus mucilaginosus* on soil pH and Cd accumulation by *Brassica juncea* [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 33(6): 1648-1654

胶质芽孢杆菌对印度芥菜富集土壤 Cd 及土壤 pH 的影响

杨榕¹, 李博文^{1,2,*}, 刘微³

1. 河北农业大学 资源与环境科学学院, 保定 071001

2. 河北省农田生态环境重点实验室, 保定 071001

3. 河北大学化学与环境科学学院, 保定 071002

收稿日期: 2012-09-09

修回日期: 2012-11-22

录用日期: 2012-11-26

摘要: 采用根袋法盆栽试验, 研究接种活菌量浓度分别为 1×10^{10} cfu·kg⁻¹ (T1) 和 2×10^{10} cfu·kg⁻¹ (T2) 的胶质芽孢杆菌, 对印度芥菜富集土壤 Cd、土壤有效态 Cd 含量及土壤 pH 的影响。结果表明, 以不接种菌液作为对照, 处理 T1、T2 地上部分生物富集系数分别为 13.58、16.83, 与对照相比分别提高 42.95%、77.16%; 地下部分生物富集系数分别为 4.35、4.83, 分别比对照提高 24.64%、38.40%; 土壤的净化率分别是对照的 1.73、2.20 倍。对照组土壤有效态 Cd 含量随着时间的延长而降低, 根际和非根际土壤分别降低 32.93% 和 45.54%; 但 T1 和 T2 处理中, 根际、非根际土壤有效态 Cd 含量分别提高 15.15%、31.73% 和 36.54%、45.28%。收获时, 处理 T1、T2 根际土壤 pH 降低率分别是对照的 1.08、1.10 倍。不同浓度胶质芽孢杆菌处理下土壤 pH 与有效态 Cd 含量均呈显著负线性关系。综上, 胶质芽孢杆菌主要是通过改变土壤 pH 来影响土壤 Cd 生物有效性, 从而促进超富集植物的修复效果。本研究可为微生物辅助植物修复重金属污染土壤提供一定理论依据和实践指导。

关键词: 胶质芽孢杆菌; 印度芥菜; 有效态 Cd; pH 值

文章编号: 0253-2468(2013)06-1648-07

中图分类号: X53

文献标识码: A

Effects of *Bacillus mucilaginosus* on soil pH and Cd accumulation by *Brassica juncea*

YANG Rong¹, LI Bowen^{1,2,*}, LIU Wei³

1. College of Resources & Environmental Sciences, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001

2. Key Laboratory of Farmland Ecological and Environment of Hebei Province, Baoding 071001

3. College of Chemistry & Environmental Sciences, Hebei University, Baoding 071002

Received 9 September 2012;

received in revised form 22 November 2012;

accepted 26 November 2012

Abstract: The effects of two inoculum concentrations of *Bacillus mucilaginosus* (1×10^{10} cfu·kg⁻¹ (T1) and 2×10^{10} cfu·kg⁻¹ (T2)) on Cd accumulation in *Brassica juncea*, available Cd concentration and pH in soil were investigated using root bag pot culture experiments. The results showed that the Cd bioconcentration factor of aboveground parts in treatment T1 and T2 were 13.58 and 16.83, respectively. Compared with the control without addition of *Bacillus mucilaginosus*, there were 42.95% and 77.16% increases, respectively. Likewise, the Cd bioconcentration factor of underground parts of T1 and T2 were 4.35 and 4.83, corresponding to 24.64% and 38.40% increases compared with the control, respectively. Meanwhile, the removal rate of T1 and T2 were 1.73 and 2.20 times that of the control. The concentrations of soil available Cd in control showed a decrease pattern with time, and the decrease rates of rhizosphere and non-rhizosphere concentrations of available Cd were 32.93% and 45.54%, respectively. However, there were 15.15%, 31.73% and 36.54%, 45.28% increases in rhizosphere and non-rhizosphere concentrations of available Cd in treatment T1 and T2, respectively. At harvest, the decrease rates of rhizosphere pH in T1 and T2 were 1.08 and 1.10 times than that of the control. Under different inoculum concentrations of *Bacillus mucilaginosus*, negative correlations were observed between concentrations of available Cd and pH in soil. In summary, the results indicated that *Bacillus mucilaginosus* could enhance the remediation effect of hyperaccumulator by impacting the availability of Cd through reducing pH in soil. Therefore, this study could provide theoretical and experimental guidance for microbial phytoremediation of heavy metal contaminated soils.

Keywords: *Bacillus mucilaginosus*; *Brassica juncea*; available Cd; pH

基金项目: 河北省自然科学基金项目 (No. C2010000666)

Supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province (No. C2010000666)

作者简介: 杨榕 (1987—), 女, E-mail: yangrong2011@163.com; * 通讯作者 (责任作者), E-mail: kjli@hebau.edu.cn

Biography: YANG Rong (1987—), female, E-mail: yangrong2011@163.com; * **Corresponding author**, E-mail: kjli@hebau.edu.cn

1 引言 (Introduction)

植物修复技术作为一种新兴的“绿色”生物技术,能通过植物根系直接将污染元素吸收,修复被污染土壤的同时不会破坏土壤结构和土壤的生态环境.近年来,该技术作为一种廉价、二次污染小和操作简单的原位修复技术已成为环境修复领域研究的热点.在利用超富集植物提取土壤中重金属的过程中,根际土壤中有效态重金属的浓度同植物富集重金属的量成正相关,因此,根际土壤的 pH 值和重金属的生物有效性成为影响其修复效果的主要限制因素,增加根际土壤中重金属的生物有效性有利于提高植物修复效率(周宝利等,2006).

研究发现,超富集植物在受到重金属胁迫时根系分泌物会增加,根系分泌的特殊有机物(特别是有机酸)能螯合重金属或酸化根际,从而促进土壤重金属的溶解和根系的吸收(茹淑华等,2006).也有研究表明,Cd 超富集植物能富集土壤中难溶态 Cd 的原因可能是在环境胁迫下,根系分泌出特殊分泌物可以专一性地螯合溶解根系附近的难溶性 Cd,提高其生物有效性.因此,从根际微环境出发对超富集植物活化和吸收重金属的影响因子及其产生机制有待深入研究.植物根际存在着大量微生物,根系微生物通过自身的代谢活动不仅能够分解各类有机物产生有机酸,还能在生命活动中合成一些有机酸、氨基酸和激素等物质,促进植物生长的同

时提高重金属的生物有效性,有助于富集植物的修复过程.然而,目前国内外用微生物配合植物修复手段来治理污染土壤的过程中,有关根际微生物与根系之间的相互作用关系尚不十分清楚.因此,从根际微生态领域进行研究,更有助于寻找微生物促进植物修复效果的影响因子.

胶质芽孢杆菌(*Bacillus mucilaginosus*)俗称硅酸盐细菌(Liu *et al.*, 2006),是一种较为特殊的土壤芽孢杆菌,作为土壤中重要的功能菌,它可以将土壤中难溶性 K、P、Si 等元素转变为可溶性的形态供植物生长利用.因此,推测该微生物可能也会通过改变植物根际微生态环境提高重金属生物有效性,从而增加超富集植物的吸收效果.基于此,本文通过土培根际试验研究胶质芽孢杆菌对印度芥菜富集土壤 Cd 的促进效果,以及影响土壤镉生物有效性的活化因子,以期微生物辅助植物修复污染土壤的机理性研究提供理论指导.

2 材料与方法 (Materials and methods)

2.1 供试植物和土壤

供试植物:印度芥菜为 *Brassica juncea* 的 Wild Garden Pangent Mix 品种,种子来自于美国俄勒冈州“Wild Garden Seed”农场.

供试土壤:采自河北农业大学西校区标本园 0~40 cm 的潮褐土,去除植物残体,风干后过 3 mm 筛备用,基本理化性质特征见表 1.

表 1 供试土壤的理化性质特征

Table 1 Physical and chemical properties in tested soil

Cd /(mg·kg ⁻¹)	有机质 /(g·kg ⁻¹)	全 N /(g·kg ⁻¹)	碱解 N /(mg·kg ⁻¹)	速效 P /(mg·kg ⁻¹)	速效 K /(mg·kg ⁻¹)	pH
0.32	9.67	0.46	46.20	22.21	133.33	8.03

注:pH 测定时水:土=2.5:1(mL·g⁻¹).

2.2 供试菌株及培养

胶质芽孢杆菌由河北农业大学生命科学学院提供.将胶质芽孢杆菌菌株接种于 LB 培养基(胰蛋白胨 10 g·L⁻¹、酵母提取物 5 g·L⁻¹、氯化钠 10 g·L⁻¹)平板上活化 24 h,然后再转接于 LB 液体培养基上,28 ℃、230 r·min⁻¹振荡培养至 90% 以上芽孢脱落,用分光光度计在 $\lambda = 660 \text{ nm}$ 下将该菌液的透光率(T)调至 50%,此时菌液活菌浓度约为 $1 \times 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$,作为原液备用.

2.3 试验设计

土培根际试验在河北农业大学东校区日光温

室中进行. Cd 污染土壤的制备: Cd 以 CdCl₂·3/2H₂O (分析纯)固体粉末形式施入土壤中,使土壤 Cd 含量均为 5 mg·kg⁻¹,干湿交替一周,于室温下平衡 2 个月后备用.

试验设计:试验采用塑料小盆钵,每盆装土 2.5 kg(以烘干土计),同时每盆加入 0.2 g 尿素和 0.4 g 磷酸二胺作为底肥,均采用分析纯试剂,与土壤一并混合装盆.装盆时采用根袋法分离根际土壤和非根际土壤.每个根袋内装土 300 g 并置于盆钵中间,根袋高于土面 2 cm,保持根袋内外装土高度一致.加入去离子水使水含量为田间持水量的 60%,保持

1 周后将印度芥菜种子直接播种于根袋, 生长 1 周后间苗, 每盆保留 4 株苗. 在印度芥菜生长 10 d 后, 分别对根际和非根际土壤进行微生物接种.

试验分为两组, 以不接种菌液作为对照组 (CK), 试验设不同接菌浓度的 T1、T2 两个处理. 分别将 25、50 mL 活菌量为 1×10^9 cfu·mL⁻¹ 的胶质芽孢杆菌原液用无菌水稀释至 100 mL, 均匀喷洒于各试验盆, 使 T1 处理活菌量浓度为 1×10^{10} cfu·kg⁻¹, T2 处理活菌量浓度为 2×10^{10} cfu·kg⁻¹. 试验采用破坏性采样方式, 每次每个处理均采样 3 盆, 根据芥菜生长情况, 在接种菌液前对土壤及植物进行第一次采样, 接种后每 10 d 采样 1 次, 共采样 5 次.

2.4 样品采集与分析方法

土壤样品的采集: 小心将根袋取出, 采用抖落法收集距根表面 4 mm 左右的土壤作为根际土. 收集非根际土壤时, 对根袋 5 mm 外土壤分 6 点进行采集. 将所取样品充分混合后在室内自然风干, 过不同粒径筛保存备用.

植物样品采集: 印度芥菜沿土面剪取地上部分测量株高, 将植物先用水冲洗干净, 然后用去离子水冲洗 3 遍, 再用吸水纸吸干表面水, 测量植物地上、地下部分鲜重; 然后将植物地上、地下部分均在 105 °C 条件下, 烘箱内杀青 0.5 h, 并在 80 °C 条件下烘至恒重, 分别测量地上、地下部分干重; 最后粉碎混匀装入样品袋备用.

供试土壤基本理化性质分析采用土壤农化常规分析法 (鲍士旦, 2000); 土壤 pH 在液土比为 2.5:1 (mL·g⁻¹) 下, 采用 pHS-3C 型 pH 计测定; 印度芥菜中 Cd 采用湿法 (HNO₃-HClO₄) 消解; 土壤有效态镉采用 DTPA (DTPA-CaCl₂-TEA 体系, 6 mol·L⁻¹ HCL 调节 pH 为 7.3) 提取, 石墨炉原子吸收光谱法 (ZEEnit600, 德国耶拿公司) 测定 (杨惠芬, 1998).

2.5 数据处理

相关试验与测定在 2012 年 1—6 月内完成. 数据均用 SPSS 17.0 软件进行方差分析及相关性分析, 最小显著差异法 (LSD) 做多重比较, Excel 2003 软件作图.

3 结果与分析 (Results and analysis)

3.1 胶质芽孢杆菌处理对植物地上、地下部分 Cd 含量的影响

对不同时期所采集的印度芥菜和对应土壤样

品进行测定分析, 两种浓度胶质芽孢杆菌处理后, 印度芥菜地上、地下部分 Cd 含量均有不同程度的增加. 从图 1 可以看出, 在接种菌液 (0 d) 之后, 相同采样时间下, T1、T2 处理与对照 (CK) 相比, 植物地上、地下部分 Cd 含量均有显著 ($p < 0.05$) 变化. 从印度芥菜地上部分 Cd 含量来看, T2 处理均显著高于 CK, 而 T1 处理在第 4、5 次采样时 (第 30、40 d) 其 Cd 含量才显著增加. T1、T2 处理之间地下部分 Cd 含量差异并不显著但都明显高于对照.

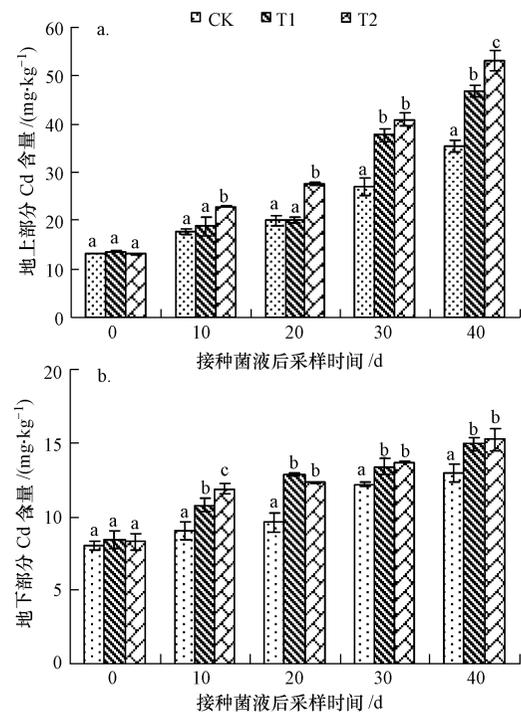


图 1 不同时期印度芥菜中 Cd 含量 (图中数据为 3 次重复的平均值 ± 标准差; 不同小写字母表示对照组 CK 与处理 T1、T2 之间达到显著性差异 ($p < 0.05$), 下同)

Fig. 1 Cd concentration in *Brassica juncea* at different sampling times

印度芥菜地上部分 (地下部分) 生物富集系数是用印度芥菜地上部分 (地下部分) 对重金属的吸收量与土壤中重金属含量的比值来表示. 如表 2 所示, 收获时 T1、T2 处理印度芥菜地上部分生物富集系数分别为 13.58、16.83, 与对照 (9.50) 相比分别提高了 42.95%、77.16%; T1、T2 处理地下部分生物富集系数分别为 4.35、4.83, 与对照 (3.49) 相比分别提高了 24.64%、38.40%. 而且 T1、T2 处理的印度芥菜吸收 Cd 总量分别是对照的 1.60、1.85 倍, 由此可以看出, 接种菌液的印度芥菜体内 Cd 含量明显高于未加菌液处理. 另外, 植物修复被重金属污染土壤的综合指标是净化率 (修复效率), 即植物地

上部分吸收某种重金属的量与土壤中此种重金属总量的百分比(苏德纯等,2002;段云青等,2007)。进一步分析印度芥菜对 Cd 污染土壤的净化率可知,对照组对土壤的净化率为 2.57%,而经过菌液

处理的 T1、T2 组净化率可达到 4.45%、5.64%,分别是对照的 1.73、2.20 倍。从净化率可以明显看出,适宜外源菌株的加入可以大幅度提高植物修复效果。

表 2 印度芥菜生物富集系数与净化率

Table 2 The bioconcentration factor and removal rate of Cd by *Brassica juncea*

处理	Cd 含量/(mg·kg ⁻¹)		植物吸收 Cd 总量/mg	根际土壤 Cd 全量/(mg·kg ⁻¹)	生物富集系数		净化率
	地上部	地下部			地上部	地下部	
CK	35.43 ± 0.18	13.01 ± 0.90	0.25 ± 0.11	3.73 ± 0.42	9.50	3.49	2.57%
T1	46.73 ± 1.54	14.96 ± 0.86	0.40 ± 0.09	3.44 ± 0.16	13.58	4.35	4.45%
T2	53.03 ± 0.39	15.23 ± 0.62	0.46 ± 0.12	3.15 ± 0.09	16.83	4.83	5.64%

注:表中数据为 3 次重复的平均值 ± 标准差。

3.2 胶质芽孢杆菌处理对土壤有效态 Cd 含量影响

超富集植物对土壤镉吸收富集主要取决于土壤中有效态镉的含量。本研究选用国内使用较多的 DTPA 法对土壤有效态 Cd 进行提取。由图 2a 可以看出,随着植物生长时间的延长对照组(CK)土壤中有效态 Cd 含量呈现明显的下降趋势,非根际(N)土壤 Cd 含量均低于根际(R)且下降速率较快。对照组中根际、非根际土壤有效态 Cd 含量分别从起初的 1.46、1.38 mg·kg⁻¹降低到收获时的 0.98、0.75 mg·kg⁻¹,分别降低 32.93% 和 45.54%。这可能是由于超富集植物只能富集土壤中有效态 Cd,而土壤自身的土著微生物、酶、电解质等物质并不能及时地活化土壤中的重金属 Cd 供植物吸收,因而对照组土壤中有效态 Cd 含量会随着超富集植物富集时间的延长而明显降低,且根际在接种 20 d 左右降低更快。但根际土壤中 Cd 含量在每个采样时期均高于非根际土壤,表明印度芥菜根际分泌物能活化土壤中的难溶态 Cd,这与苏德纯等(2002)研究结果一致。

与对照相反,图 2b、2c 可以看出,经过菌液处理后 T1、T2 组中土壤有效态 Cd 含量均呈明显的升高趋势,且不同采样时期根际土壤有效态 Cd 含量均高于非根际土壤。T1 处理根际、非根际土壤有效态 Cd 含量分别从接菌前的 1.82、1.37 mg·kg⁻¹增加到收获时的 2.09、1.81 mg·kg⁻¹,分别提高 15.15%、31.73%;T2 处理根际、非根际土壤有效态 Cd 含量分别从接菌前的 1.67、1.38 mg·kg⁻¹增加到收获时的 2.27、2.01 mg·kg⁻¹,分别提高 36.54%、45.28%。这可能是由于外源菌株进入土壤后通过自身代谢活动直接或间接活化了土壤中重金属 Cd,提

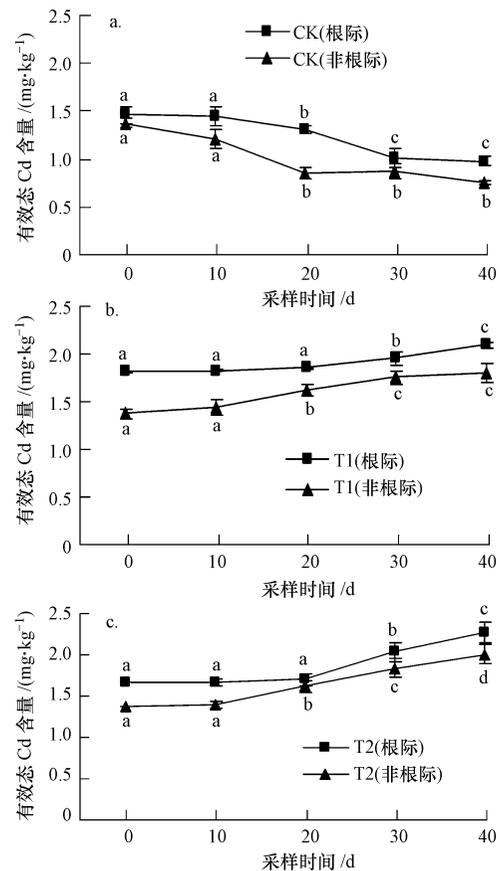


图 2 不同时期土壤中有有效态 Cd 含量(不同小写字母表示该曲线上各个采样时期土壤有效态 Cd 含量之间差异显著($p < 0.05$))

Fig. 2 The concentration of available Cd in soil during different times

高了 Cd 的生物有效性,而且在根际中微生物的作用更加活跃,菌株和植物根系的相互作用导致对 Cd 的活化效果更加明显。土壤中 Cd 生物有效性增加显然有助于超富集植物的吸收和对污染土壤的净化。从图 2b、c 中还可以看出,在菌株进入非根际土

壤的 20 d 左右,土壤中有有效态 Cd 含量升高较其它时期更加明显,这可能是由于菌株进入土壤后经过一段时间适应,在 20 d 左右时自身代谢活动明显增强,导致对土壤 Cd 的活化效果比其它时期更加显著.而在印度芥菜根系影响较大的根际区,这个显著性变化延迟,发生在 30 d 左右,这是由于根袋的作用使得非根际区域距离印度芥菜根系较远,土壤中被活化出的有效态 Cd 没有及时被植物吸收而导致非根际土壤有效态镉含量升高时间较前.

3.3 胶质芽孢杆菌处理对土壤 pH 的影响

pH 是影响土壤中重金属生物有效性的重要因素之一,潮褐土本身 pH 比较高,Cd 生物有效性相对较低,所以降低 pH 对土壤中有有效态 Cd 的影响就会比较显著.图 3 显示了接种菌株后的 4 次采样中,不同处理根际和非根际土壤 pH 随时间的变化情况.

由图 3a 可以看出,在接种菌液之前到接种菌液 10 d 左右,根际土壤中,T1、T2 处理与对照之间 pH 值差异并不显著且基本上都没有降低.但随着时间的延长这种差异性($p < 0.05$)逐渐明显,T1、T2 处理之间的差异性在接种 20 d 左右最为显著,之后这种显著性则越来越不明显.到收获时,对照组 pH 从 7.88 降低到 6.81,降低了 13.58%,T1 处理从 7.74 降低到 6.61,降低了 14.60%,T2 处理从 7.76 降低到 6.60,降低了 14.95%.经菌液处理后的根际土壤 pH 降低率分别是对照的 1.08、1.10 倍.由此可见,印度芥菜根系确实可以分泌特殊的物质酸化土壤,已有研究表明(苏德纯等,2002b),印度芥菜根系分泌物能活化土壤中的难容态 Cd,这与本试验结果一致.不仅如此,在本试验条件下,印度芥菜根系分泌物在植物生长 20 d 左右时,对照组土壤 pH 从 7.88 降低到 6.97,降低了 13.06%,而此时 T1、T2 处理的 pH 值分别从 7.74、7.76 降低到 6.72、6.67,降低了 15.81%、16.34%.由此可见,印度芥菜作为公认的重金属超富集植物其根系在 Cd 的刺激下的确可以分泌某种物质降低土壤 pH,并且降低效果在植物生长 20 d 左右较为明显.由于微生物次生代谢产物能抑制或刺激植物根系分泌有机酸,而且还会改变有机酸的组成和含量促进重金属的溶解(Fischer *et al.*, 2002),所以若配合适宜外源菌株这种根际酸化作用会更加明显.

非根际土壤 pH 变化如图 3b 所示,对照组 pH 降低效果并不明显,而经过菌液处理的 T1、T2 组其

pH 在不同采样时期与对照组差异均显著,但不同浓度处理的 T1、T2 组之间 pH 差异不显著.收获时,对照组非根际土壤 pH 从 7.88 降低到 7.60,降低了 3.59%,T1 处理从 7.85 降低到 6.92,降低了 11.85%,T2 处理从 7.85 降低到 6.82,降低了 13.12%.经菌液处理后,非根际土壤 pH 值降低率分别是对照组的 3.30、3.65 倍.由此可以看出,经菌液处理后土壤 pH 会有大幅度降低,且不同浓度菌液处理降低效果也略有差异.杨卓等(2009)研究发现,胶质芽孢杆菌的发酵液中含有草酸、柠檬酸等低分子量有机酸,在有机酸的作用下非根际土壤 pH 与对照相比在不同采样时期均有明显降低.本研究中这种降低效果在接菌 10 d 左右开始出现,可能是由于外源菌株进入土壤经过短时间的适应后自身代谢活动明显增强,进行合成和分解有机酸的能力更加显著,直到收获时土壤都保持相对较低的 pH 水平.微生物酸化土壤是物质和能量平衡的体现,它会随着外界环境变化调节自身分泌合成有机酸的能力,与化学物质酸化土壤相比,更具有相对稳定性和安全性.

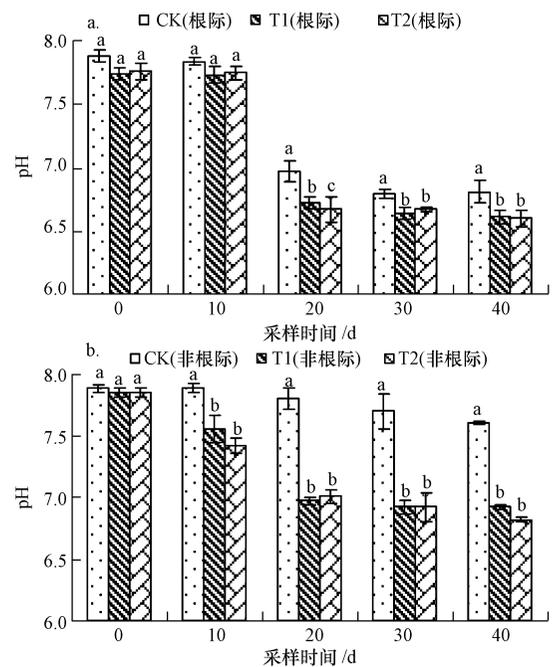


图 3 根际 (a) 和非根际 (b) 土壤 pH 随处理时间的变化

Fig. 3 The pH changes in the rhizosphere (a) and non-rhizosphere (b) soils

3.4 有效态 Cd 含量与土壤 pH 的回归分析

利用 SPSS 软件对不同采样时期的 T1、T2 处理土壤有效态 Cd 含量与土壤 pH 进行回归分析,可得

到土壤有效态 Cd 含量与土壤 pH 之间的回归方程(表 3),通过土壤 pH 的变化,可以推断土壤有效态 Cd 含量的一般变化趋势.在不同浓度胶质芽孢杆菌处理下,根际与非根际土壤有效态 Cd 含量随着土壤 pH 的降低均呈现出递增趋势,且根际土壤有效态 Cd 含量与土壤 pH 在 T1 处理中呈显著负相关($p < 0.05$),在 T2 处理也显著负相关($p < 0.01$),说明 pH 变化是影响土壤有效态 Cd 含量的一个重要因素.徐明岗等(2004)和 Naidu 等(1994)研究表明,土壤中 Cd 的生物有效性会随 pH 升高而降低;宗良纲等(2006)研究表明,土壤有效态 Cd 与土壤 pH 呈负相关;这与本试验所得结果一致.说明胶质芽孢杆菌是通过改变土壤 pH 来影响土壤中 Cd 的有效性,而该菌在根际土壤中改变土壤 pH 的同时也可能与印度芥菜根系发生了其他反应,使得根际土壤 Cd 生物有效性变化的更加显著.关于这点还有待于今后深入讨论.

表 3 有效态 Cd 含量与土壤 pH 的回归分析

Table 3 Regression analysis between concentration of available Cd and pH in soil

处理	回归方程	决定系数 R^2
T1 处理		
非根际土	$y = 10.329 - 1.704x$	0.425*
根际土	$y = 13.735 - 3.45x$	0.531*
T2 处理		
非根际土	$y = 9.014 - 1.033x$	0.781*
根际土	$y = 11.771 - 2.390x$	0.858**

注: x 表示土壤 pH, y 表示土壤有效态 Cd 含量, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

4 讨论(Discussion)

土壤全 Cd 含量对于衡量土壤 Cd 的生物有效性和生物毒性而言意义有限,虽然目前不少国家将土壤有害元素的限量依然用元素总量表达,但越来越趋于一致的意见是应该以土壤有害元素的有效性量来表达土壤有害元素的限量(黄瑞卿等,2005).另外,根际是围绕植物根系的土壤微域,是土壤水分和矿物质进入根系与生物循环的门户,也是根系自身生命活动和代谢对土壤影响最直接、最强烈的区域(叶功富等,2008).研究表明,植物根系分泌物中含羧基、羟基、酚羟基和羰基等官能团的有机组分可以螯合和溶解土壤重金属,如根际土壤中的有机酸,通过络合作用影响土壤重金属的形态及在植物体内的运输(陈英旭等,2000).基于此,本研究从根际出发讨论胶质芽孢杆菌对有效态 Cd 含量及土壤 pH 的影响.

植物在生长时,可以通过离子吸收、根系分泌物、根系的分解来改变根际的酸碱度(Darrah, 1991).微生物可以通过改变 pH 值和分泌物的组分来改变根际微环境,从而影响重金属的移动性和生物有效性.本试验结果表明,印度芥菜的根际由于受到 Cd 的影响,根系分泌物中可能含有更多的质子或酸性强的有机组分,从而根际 pH 会随着时间的延长而有所降低,这与前人研究结论一致(陈英旭等,2000),但在胶质芽孢杆菌的作用下,根际 pH 降低效果更加显著.为了说明这一点,从非根际土壤 pH 变化可以明显看出,未接种菌液土壤非根际 pH 基本没有变化,但接种菌株处理的非根际土壤 pH 会随着时间的延长逐渐降低,而且土壤有效态 Cd 含量会逐渐增加.这可能是由于一方面微生物可以通过与根系分泌物协同作用,刺激植物根系分泌 H^+ 以置换吸附在土壤颗粒表面的重金属离子,影响土壤重金属的活性及其生物可给性;另一方面微生物分泌的柠檬酸、草酸、琥珀酸等组分影响土壤中重金属化合物的沉淀-溶解平衡,进而影响重金属的生物可给性.这也解释了接种菌液处理后印度芥菜体内 Cd 含量与对照相比显著提高的原因.

在接种菌液 20 d 左右,土壤 pH 明显降低,而此时根际、非根际土壤有效态 Cd 含量显著提高,二者变化在时间上得到统一, H^+ 浓度的提高有助于溶解或络合重金属的同时也降低了土壤对重金属的吸附作用,共同促进印度芥菜对 Cd 的富集.因此,胶质芽孢杆菌作为功能性微生物辅助植物尤其是印度芥菜修复重金属污染土壤具有很大的应用潜力.但仍需进一步分析根际和非根际土壤中有机的种类和含量,以确定胶质芽孢杆菌分泌了何种有机酸和在胶质芽孢杆菌的作用下是否改变了根系分泌有机酸的种类和含量,所以有必要进一步讨论这一现象相关的机理.

5 结论(Conclusions)

1) 胶质芽孢杆菌能够显著提高印度芥菜地上、地下部分 Cd 含量,T1、T2 处理的修复效率分别是对照的 1.73、2.20 倍,从修复效率可以看出,适宜外源菌株的加入可以大幅度提高植物对 Cd 的富集效果.

2) 不接种菌株时土壤有效态 Cd 含量会随着植物修复时间的延长而降低;但经菌液处理后,根际和非根际土壤有效态 Cd 含量都会随着时间的延长

有不同程度的提高,这种提高显然有助于植物修复效果.

3) 土壤 pH 会随着植物修复时间的延长而降低,接种菌液后的降低幅度比不接种菌液更加显著.

4) 不同浓度胶质芽孢杆菌处理下,土壤有效态 Cd 含量与土壤 pH 呈显著负相关.

责任作者简介:李博文(1963—),男,博士,教授,博士生导师,主要从事土壤环境科学研究. E-mail: kjli@hebau.edu.cn.

参考文献(References):

- 鲍士旦. 2000. 土壤农化分析[M]. 北京:中国农业出版社. 432-437
- 陈英旭,林琦,陆芳,等. 2000. 有机酸对铅、镉植株危害的解毒作用研究[J]. 环境科学学报, 20(4):467-472
- Darrah P R. 1991. Models of the rhizosphere II. A quasi three-dimensional simulation of the microbial population dynamics around a growing root releasing soluble exudates [J]. Plant Soil, 138: 147-158
- 段云青,王艳,雷焕贵. 2007. 小白菜对 Cd 污染石灰性土壤的修复[J]. 广西农业科学, 38(2):177-180
- Fischer F, Bipp H P. 2002. Removal of heavy metals from soil components and soils by natural chelating agents II. Soil extraction by sugar acids[J]. Water, Air, and Soil Pollution, 138:271-288
- 黄瑞卿,王果,汤榕雁,等. 2005. 酸性土壤有效砷提取方法研究[J]. 农业环境科学学报, 24(3):610-615
- Liu W X, Xu X S, Wu X H, *et al.* 2006. Decomposition of silicate minerals by *Bacillus mucilaginosus* in liquid culture [J]. Environmental Geo-chemistry and Health, 28(2):120-130
- Li X L, George E, Marschner H. 1991. Phosphorus depletion and pH decrease at the root-soil hyphae-soil interfaces of VAM white clover fertilized with ammonium[J]. New Phytologist, 119:397-404
- Naidu R, Bolan N S, Kookana R S, *et al.* 1994. Ionic-strength and pH effects on the sorption of cadmium and the surface charge of soils [J]. Euro J Soil Science, 45:419-429
- 茹淑华,苏德纯,王激清. 2006. 土壤镉污染特征及污染土壤的植物修复技术机理[J]. 中国生态农业学报, 14(4):29-33
- 苏德纯,黄焕忠. 2002a. 油菜作为超积累植物修复镉污染土壤的潜力[J]. 中国环境科学, 22(1):48-51
- 苏德纯,黄焕忠,张福锁. 2002b. 印度芥菜对土壤中难溶态镉的吸收及活化机制研究[J]. 中国环境科学, 22(4):342-345
- 徐明岗,李菊梅,张青. 2004. pH 对黄棕壤重金属解吸特征的影响[J]. 生态环境, 13(3):312-315
- 杨惠芬. 1998. 食品卫生理化检验标准手册[M]. 北京:中国标准出版社
- 杨卓,王占利,李博文,等. 2009. 微生物对植物修复重金属污染土壤的促进效果[J]. 应用生态学报, 20(8):2025-2031
- 叶功富,侯杰,张立华,等. 2008. 不同年龄木麻黄林地根际土壤养分含量和酶活性动态[J]. 水土保持学报, 38(3):601-603
- 周宝利,陈玉成. 2006. 植物修复的促进措施及根际微生物的作用[J]. 环境保护科学, 32(3):39-42
- 宗良纲,张丽娜,孙静克,等. 2006. 3 种改良剂对不同土壤-水稻系统中 Cd 行为的影响[J]. 农业环境科学学报, 25(4):834-840