



文章栏目：土壤污染防治

DOI 10.12030/j.cjee.202101196 中图分类号 X53 文献标识码 A

唐万鹏, 王立立, 王东升, 等. 包裹型根际促生菌剂强化龙葵修复镉污染农田土壤[J]. 环境工程学报, 2022, 16(7): 2278-2286. [TANG Wanpeng, WANG Lili, WANG Dongsheng, et al. Enhanced remediation of cadmium contaminated farmland soil by *Solanum nigrum* L. with coated rhizosphere growth-promoting agent[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2022, 16(7): 2278-2286.]

# 包裹型根际促生菌剂强化龙葵修复镉污染农田土壤

唐万鹏, 王立立<sup>✉</sup>, 王东升, 阮翔, 李取生

暨南大学环境学院, 广州 510630

**摘要** 制备了一种具有镉活化功能的包裹型根际促生菌剂, 用于强化镉超累积植物龙葵对镉污染农田土壤的植物修复作用。结果表明: 包裹型菌剂 Z16 的多腔室结构适合菌株的生存, 菌剂 Z16 的释菌浓度在 24 h 孵育后达到  $10^6$  CFU·g<sup>-1</sup>; 与菌液组 EC 相比, 菌剂 Z16 组的龙葵地上部鲜重提高了 19.81%, 地上部和根部镉的富集系数分别提高了 20.98% 和 168.97%, 根际土壤碳酸盐结合态镉的浓度得到活化, 龙葵对钙、锰和铁元素的吸收能力也得到增强。因此, 与施用菌液 EC 相比, 包裹型根际促生菌剂 Z16 通过在根际土壤持续释放菌株, 可提高难溶性镉的活化效果及提高植物修复效率。本研究可为强化超累积植物-根际促生菌联用技术对镉污染农田的植物修复效率提供参考。

**关键词** 镉污染农田; 植物修复; 镉超富集植物; 根际促生菌剂

镉 (Cadmium, Cd) 是珠三角地区农田土壤重金属污染的主要元素之一, 给农产品及环境安全带来较大威胁<sup>[1-2]</sup>。以种植超累积植物的方式修复土壤重金属污染可有效保持农田土壤的生态结构和功能, 但在实际应用中往往受到土壤理化性质、重金属赋存形态等因素的影响, 导致超累积植物生长缓慢、生物量小、对土壤重金属的修复效率低等问题<sup>[3-4]</sup>。通过将超累积植物与根际促生菌联用, 借助根际促生菌与植物间的相互作用, 促进植物生长, 提高土壤矿质元素的生物有效性<sup>[5-7]</sup>, 进而提高植物修复效率的研究已成为近年来的热点<sup>[8-12]</sup>。

龙葵是一种能生长在受镉污染严重的矿区, 为生长速度快, 且地上部分生物量大的镉超累积植物, 已被广泛应用于土壤的植物修复研究中。阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*) 是本课题组前期从根系土壤筛选并鉴定的具有产铁载体功能, 可促进植物生长的根际促生菌。因此, 从理论上讲, 将龙葵与阴沟肠杆菌联用可大幅提高龙葵对镉污染农田土壤的修复效率。然而, 受根际土壤环境多方面的影响, 这种联用技术在实际应用中尚存在菌株定殖效果差、生态位竞争力不足的局限性<sup>[13-14]</sup>。通过液体接种到植物根际土壤菌株的存活能力往往较低, 从而影响植物修复效率。此外, 修复过程中需要定期接种菌液, 亦会给农业生产带来不便<sup>[15]</sup>。

根际促生菌的封装技术是提高其在植物根际土壤中存活能力, 并增强植物修复效率的有效方

收稿日期: 2021-01-29; 录用日期: 2022-05-06

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFD0801300)

第一作者: 唐万鹏 (1995—), 男, 硕士研究生, tangwp@stu2018.jnu.edu.cn; ✉通信作者: 王立立 (1973—), 女, 博士, 副教授, towanglili@163.com

法<sup>[16]</sup>。海藻酸盐与钙盐发生交联反应形成的化合物对细菌无毒害作用,具有良好的生物相容性,且能被土壤环境自然降解,因而适用于微生物载体材料<sup>[17]</sup>。淀粉和乳清能提高细菌在干燥和低温环境下的活性<sup>[17]</sup>,是固体菌剂中提高根际促生菌复苏能力和保存时间的有效添加成分。此外,植物对钙、锌、锰和铁4种金属元素的吸收会影响其自身生长,并参与植物富集和转运镉的生理过程。

本研究选用海藻酸钠、氯化钙、黑麦粉、甜乳清粉为载体材料,阴沟肠杆菌为菌株<sup>[14]</sup>,制备包裹型根际促生菌剂 Z16,通过盆栽实验,研究对比菌液和菌剂对龙葵提取土壤重金属镉的影响,并分析该菌剂对龙葵吸收钙、锰、锌和铁这4种金属元素的影响,进一步证实菌剂的作用效果,以期强化超累积植物-根际促生菌联用技术对镉污染农田的植物修复效率提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

龙葵种子购自中国科学院沈阳应用生态研究所。阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*, EC) 是由课题组前期通过磺酸盐 (chrome azurol sulphonate, CAS) 筛选培养基从镉污染土壤种植的龙葵根系土中筛选所得的一株具有产铁载体能力的根际促生菌<sup>[14]</sup>,保藏于实验室-80℃冰箱。

盆栽土壤采自广东省韶关市大宝山附近农田土壤。样品去除异物后放置温室风干、磨碎和混匀,过4mm筛网。土壤阳离子交换量 (cation exchange capacity, CEC) 的测定按照《土壤阳离子交换量的测定 三氯化六氨合钴浸提-分光光度法 (HJ 889-2017)》标准执行。土壤理化性质: pH 6.33; 总有机碳 (total organic carbon, TOC) 29.51 g·kg<sup>-1</sup>; 有效磷 22.40 mg·kg<sup>-1</sup>; CEC 98.81 cmol<sup>+</sup>·kg<sup>-1</sup>; 总 Cd 含量 0.91 mg·kg<sup>-1</sup>; 二乙烯三胺五乙酸提取态 Cd 0.43 mg·kg<sup>-1</sup>; Tessier 法<sup>[18]</sup>提取碳酸盐结合态 Cd 0.28 mg·kg<sup>-1</sup>。

LB 培养基配方: 胰蛋白胨 (Tryptone) 10 g·L<sup>-1</sup>; 酵母提取物 (Yeast extract) 5 g·L<sup>-1</sup>; 氯化钠 (NaCl) 10 g·L<sup>-1</sup>; pH 7.0~7.5。

菌剂材料: 海藻酸钠 (Sodium alginate) 质量分数为 2.5%, 氯化钙 (CaCl<sub>2</sub>) 0.1 mol·L<sup>-1</sup>, 黑全麦粉质量分数为 7.5%, 甜乳清粉质量分数为 2%, 菌液 EC 10<sup>8</sup> CFU·mL<sup>-1</sup>。

### 1.2 实验方法

1) 包裹型菌剂的制备与 SEM 观察。将 EC 菌从斜面培养基接种到 LB 液体培养基中,在 28℃、150 r·min<sup>-1</sup> 摇床条件下培养 14~18 h,以转速 4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min 后收集菌体,用无菌水等体积重悬备用 (菌液浓度为 10<sup>8</sup> CFU·mL<sup>-1</sup>)。称取 2.5 g 的海藻酸钠和 7.5 g 的黑麦粉放置于 100 mL 无菌水溶剂搅拌混合,在高温灭菌、冷却后加入 2 g 的甜乳清粉。将黏稠的溶液与 EC 菌液按 1:1 的比例搅拌混合。利用滴管吸取适量混合溶液,缓慢滴入 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 的氯化钙溶液。海藻酸钠和氯化钙发生交联反应形成胶粒状固体小球,过滤后在-50℃条件下进行真空冷冻干燥 2 d,得到干燥的包裹型菌剂待用。将干燥的包裹型菌剂放置于铜台上,利用导电胶固定,干燥喷镀后进行扫描电镜 (scanning electron microscope, SEM) 观察其外部。使用灭菌刀片侧切颗粒菌剂后,放置于铜台上,利用导电胶固定,干燥喷镀后观察其内部。称取适量菌剂于无菌蒸馏水中,在 28℃、150 r·min<sup>-1</sup> 摇床条件下孵育 48 h。孵育期间,每间隔 6 h 取出,吸取少量菌液并稀释梯度倍数,涂布平板。最后放置在 28℃ 培养箱培养 14~18 h,取出计数。

2) 盆栽实验。盆栽实验在温室内进行,温度控制在 (30±2)℃。采用直径为 18 cm 的塑料花盆。每个花盆装有 1.5 kg 土壤。调节盆中持水量约 80%。盆栽设计: 共设菌剂 Z16 组、加菌 EC 组 and 对照 CK 组 3 个处理,每个处理 3 个平行。菌液通过灌根的方式加入 6 mL。每隔 30 d 补充 1 次,共补充 2 次。菌剂通过与根周土壤混合的方式加入 6 g,间隔 30 d 补充 1 次,共补充 2 次。龙葵生长 60 d 后,分别收集龙葵地上部茎叶、地下部根系和根系土壤,测量龙葵株高,并称量地上部茎叶和地

下部根系鲜重。随后,将茎叶和根放入 105 ℃ 烘箱内杀青 30 min,然后在 60 ℃ 条件下恒温烘干,称量地上部茎叶和地下部根系干重。将烘干的地上部茎叶和地下部根系粉碎,称取 0.1 g 茎叶和根,分别加 8 mL 硝酸进行微波消解,经 0.45 μm 过滤定容。根系土壤放于温室自然风干,采用 Tessier 法提取碳酸盐结合态 Cd。用石墨原子吸收分光光度计测定消解茎叶、根及提取液中镉浓度,使用火焰原子吸收分光光度计测定消解茎叶和根部的钙、锌、锰和铁元素的浓度,并根据仪器检测浓度与最终定容体积计算含量。

3) 数据统计与分析。每个处理组设置 3 个平行,使用 Excel 对数据进行计算整理,通过 IBM SPSS Statistics 软件 Duncan 新复极差法,在 0.05 水平上分析样品间差异的显著性 ( $p < 0.05$ ),使用 Origin 软件作图。

Cd 富集总量、Cd 富集系数和 Cd 转运系数依次按式 (1)~(3) 计算。

$$A_{\text{地上部}} = C_{\text{地上部}} \times M_{\text{地上部}}, A_{\text{根部}} = C_{\text{根部}} \times M_{\text{根部}} \quad (1)$$

$$BCF_{\text{地上部}} = \frac{C_{\text{地上部}}}{C_{\text{土}}}, BCF_{\text{根部}} = \frac{C_{\text{根部}}}{C_{\text{土}}} \quad (2)$$

$$TF = \frac{C_{\text{地上部}}}{C_{\text{根部}}} \quad (3)$$

式中:  $A$  为龙葵 Cd 富集总量, μg;  $BCF$  为 Cd 富集系数;  $TF$  为 Cd 转运系数;  $C_{\text{地上部}}$  为地上部 Cd 富集质量分数,  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;  $C_{\text{根部}}$  为根部 Cd 富集质量分数,  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;  $M_{\text{地上部}}$  为龙葵地上部干重, g;  $M_{\text{根部}}$  为龙葵根部干重, g;  $C_{\text{土}}$  为土壤总 Cd 质量分数,  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 包裹型菌剂的外观形状和活性

海藻酸钠与氯化钙交联形成稳定性较好的胶囊,从而为菌株提供保护屏障。适当的黑麦和甜乳清粉为菌株的生存提供营养。如图 1(a) 和 (b) 所示,包裹型菌剂 Z16 呈现胶囊状小球颗粒,粒径为 2~4 mm。图 1(c) 和 (e) 扫描电镜观测结果表明,菌剂的外表面粗糙,带有褶皱,菌株可黏附并密集分布。图 1(d) 和 (f) 表明,菌剂内部结构形成不同大小空间的腔室,这种特殊的内部结构为大部

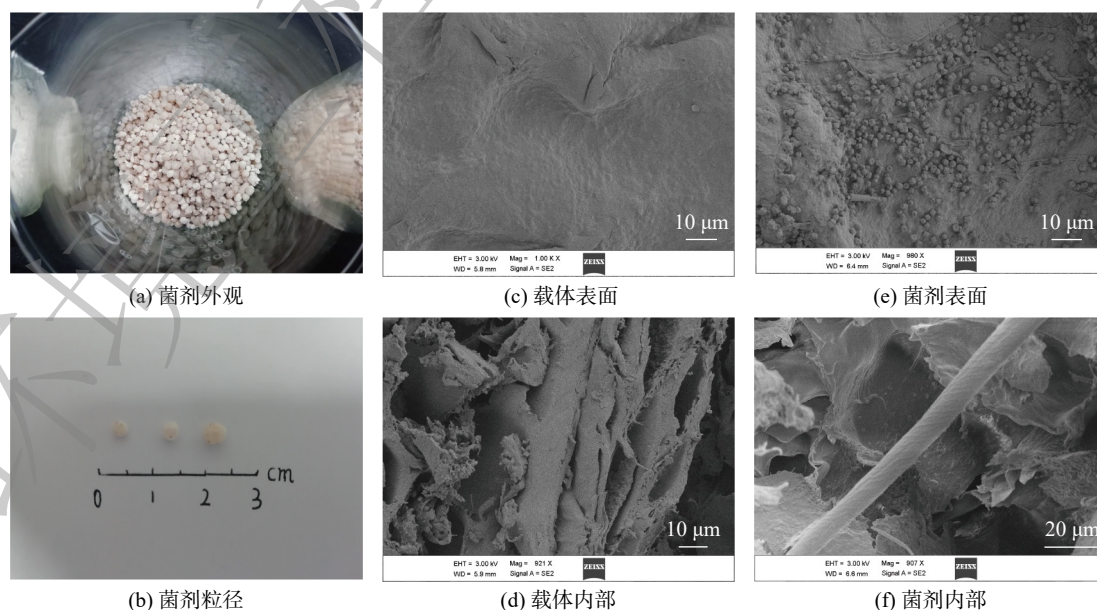


图 1 菌剂 Z16 外表面和内部的扫描电镜

Fig. 1 Scanning electron microscopy of external and internal bacterial inoculant Z16

分菌株的生存提供了物理空间。内部菌株分泌胞外聚合物 (extracellular polymeric substances, EPS) 填充腔体内部, 成熟的生物膜已形成。菌剂 Z16 的活性如图 2 所示。包裹型菌剂在孵育 24 h 后, 释菌数量达到  $10^6$  CFU·g<sup>-1</sup>, 短时间内形成较高的菌液浓度, 具备良好的活性。

## 2.2 盆栽实验结果

温室种植盆栽在经过生长 60 d 的种植期后收获。不同处理组龙葵的株高和鲜重如图 3 所示。其中, 加菌的 EC 和 Z16 组龙葵株高显著高于不加菌的 CK 组 ( $p < 0.05$ ), 分别提高了 29.90% 和 33.44%; 而接种菌液 EC 和菌剂 Z16 的 2 个处理组的龙葵株高无显著差异 ( $p > 0.05$ )。接种菌剂 Z16 和接种 EC 菌对龙葵地上部和根部鲜重的影响不同, 且都显著高于对照组 CK ( $p < 0.05$ )。与对照组 CK 相比, 接种菌液 EC 和菌剂 Z16 的龙葵地上部鲜重显著增加 ( $p < 0.05$ ), 分别提高了 54.73% 和 85.39%。与接种菌液 EC 相比, 接种菌剂 Z16 可进一步提高龙葵地上部鲜重的 19.82%。另外, 接种菌液 EC 和菌剂 Z16 的龙葵根部鲜重均较 CK 组显著增加 ( $p < 0.05$ ), 分别提高了 92.31% 和 76.92%, 而菌液 EC 和菌剂 Z16 组的根部的鲜重上并没有显著差异 ( $p > 0.05$ )。

不同处理下龙葵对土壤 Cd 的富集能力如表 1 所示。与接种菌液 EC 组相比, 接种菌剂 Z16 可进一步提高龙葵对 Cd 的富集质量分数及总量 ( $p < 0.05$ )。菌剂 Z16 地上部及根部的 Cd 富集质量分数分别提高了 20.98% 和 168.97%; 菌剂 Z16 地上部和根部 Cd 富集质量分数分别提高了 28.09% 和 192.02%。

表 2 显示, 与对照组 CK 相比, 接种菌液 EC 的富集系数并未产生显著变化 ( $p > 0.05$ ), 而菌剂 Z16 则显著提高了龙葵地上部和根部的 Cd 富集系数 ( $p < 0.05$ ), 分别为 15.92% 和 163.43%。与对照组 CK 相比, 接种菌液 EC 的龙葵 Cd 转运系数并未产生显著变化 ( $p > 0.05$ ), 而接种菌剂 Z16 则显著降低了龙葵 Cd 转运系数 ( $p < 0.05$ ), 降低了 56.23%, 且其对镉的富集主要集中在龙葵根部。另外, 与对照组 CK 相比, 接种菌液 EC 的龙葵根际土壤难溶性碳酸盐结合态 Cd 未产生显著变化 ( $p > 0.05$ ), 而菌剂 Z16 可显著降低龙葵根际土壤中碳酸盐结合态 Cd 的浓度 ( $p < 0.05$ ), 降低了 13.89%。

植物生长所必须的金属元素钙、锌、锰和铁在龙葵地上和根部的浓度分布及转运系数如图 4

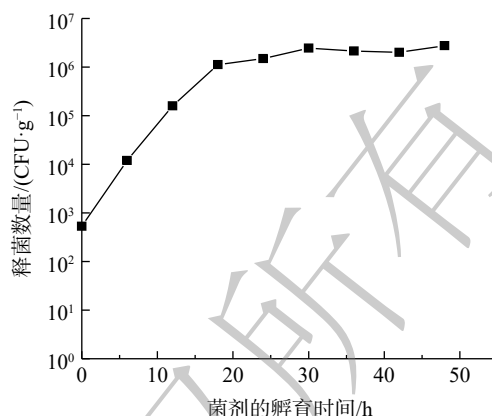
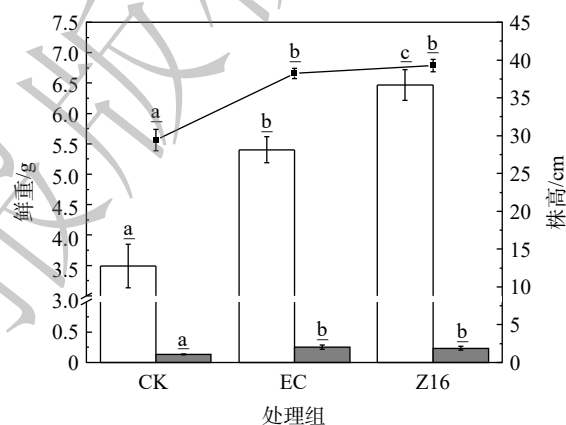


图 2 菌剂 Z16 的释菌能力

Fig. 2 Release ability of bacterial agent Z16



注: 不同字母代表不同处理组差异显著 ( $p < 0.05$ )。

图 3 龙葵株高和鲜重

Fig. 3 Plant height and fresh weight of *Solanum nigrum* L.

表 1 龙葵的 Cd 富集能力

Table 1 Cd bioconcentration capacity of *Solanum nigrum* L.

处理组	Cd 富集质量分数/(mg·kg <sup>-1</sup> )		Cd 富集总量/μg	
	地上部	根部	地上部	根部
CK	4.68±0.02a	3.38±0.29a	2.57±0.17a	0.09±0.01a
EC	4.48±0.13a	3.31±0.05a	4.09±0.11b	0.19±0.02b
Z16	5.42±0.14b	8.91±0.02b	5.24±0.32c	0.55±0.07c

注: 不同字母代表不同处理组差异显著 ( $p < 0.05$ )。

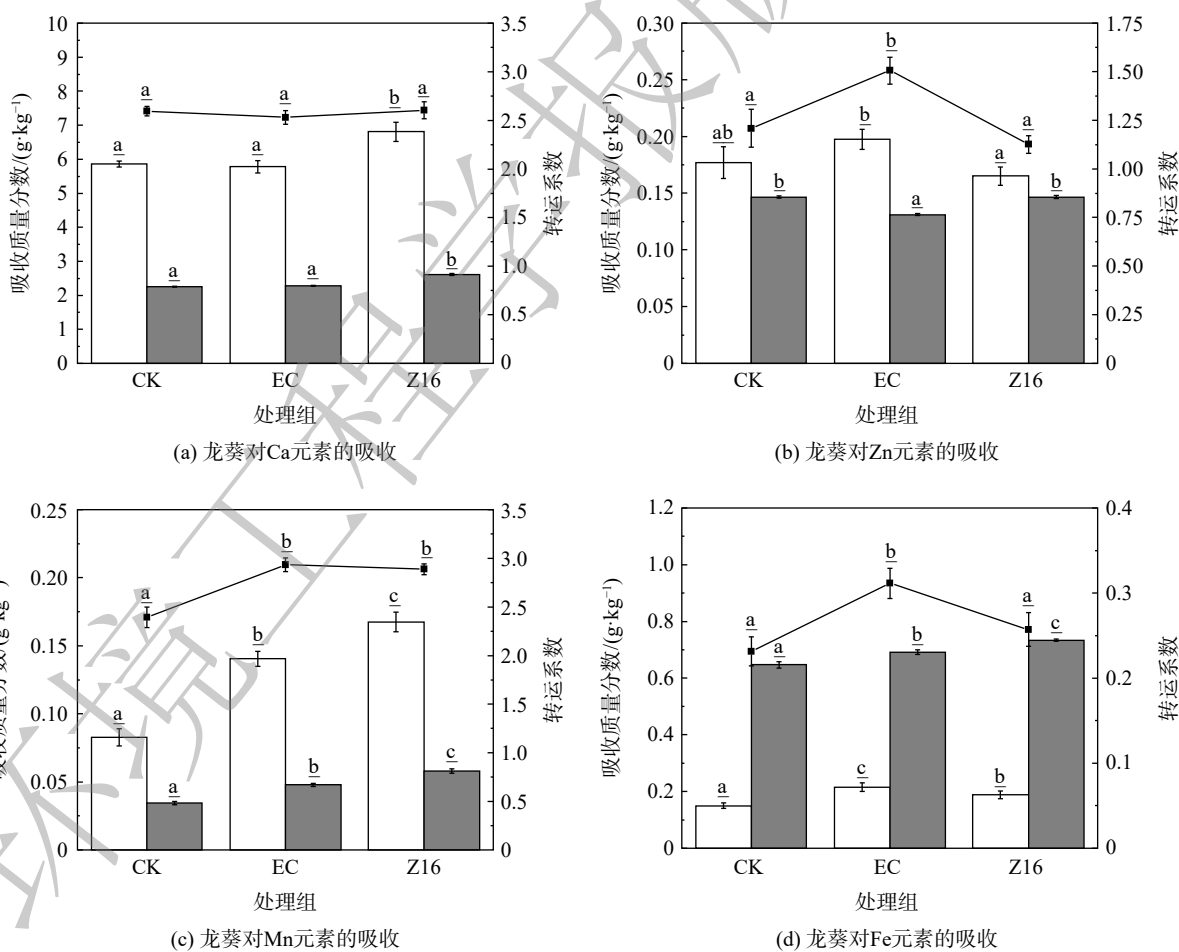
所示。不同处理组龙葵地上部和根部对 Ca、Zn、Mn 和 Fe 4 种元素的吸收和转运有较大差异。与对照 CK 相比, 接种菌液 EC 并未提高龙葵地上部对 Ca、Zn 的吸收量 ( $p>0.05$ ), 但可显著提高地上部分对 Fe 和 Mn 的吸收量 ( $p<0.05$ )。与接种菌液 EC 相比, 接种菌剂 Z16 可明显提高龙葵地上部和根部对 Ca 和 Mn 元素的吸收量 ( $p<0.05$ )。其中, 地上部分别提高了 17.80% 和 19.29%; 根部分别提高了 14.35% 和 20.83%, 但降低了地上部对 Zn 元素的吸收量。虽然与对照 CK 处理相比, 接种菌剂 Z16 使龙葵地上部分和根部对 Fe 元素的吸收量分别提高了 26% 和 13.45%, 但接种菌剂 Z16 对龙葵地上部 Fe 元素的吸收量较接种菌液 EC 却降低了 12.5%, 而根部对 Fe 元素的吸收量较接种菌液 EC 略有增加 ( $p<0.05$ ), 约增加了 6.1%。另外, 在龙葵对 Ca、Zn、Mn 和 Fe 的转运系数方面, 与对照 CK 相比, 接种菌液 EC 提高了龙葵 Zn、Mn 和 Fe 的转运系数 ( $p<0.05$ ), 分别提高了 24.67%、22.57 和 35.07%

表 2 龙葵的 Cd 富集和转运系数

Table 2 Cd bioconcentration and translocation factor of *Solanum nigrum* L.

处理组	碳酸盐结合态 Cd 质量分数/ ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )		富集系数 BCF		转运系数 TF
	根际土	地上部	地上部	根部	
CK	0.252±0.006b	5.16±0.02a	3.73±0.32a	1.39±0.12b	
EC	0.247±0.011b	4.95±0.15a	3.66±0.05a	1.35±0.04b	
Z16	0.217±0.003a	5.98±0.16b	9.84±0.02b	0.61±0.02a	

注: 不同字母代表不同处理组差异显著 ( $p<0.05$ )。



注: 不同字母代表不同处理组差异显著 ( $p<0.05$ )。

图 4 龙葵对钙、锌、锰和铁元素的吸收情况

Fig. 4 Absorption of Ca, Zn, Mn, Fe by *Solanum nigrum* L.

而对龙葵 Ca 的转运系数影响不大 ( $p>0.05$ )。与对照 CK 相比, 菌剂 Z16 将龙葵 Mn 的转运系数 ( $p<0.05$ ) 提高了 20.64%; 但对 Ca、Zn 和 Fe 的转运系数则影响不大 ( $p>0.05$ )。与接种菌液 EC 相比, 接种菌剂 Z16 使龙葵 Zn 和 Fe 的转运系数有所降低 ( $p<0.05$ ), 分别降低了 25.23% 和 17.63%。

### 3 讨论

包裹型菌剂 Z16 的外表面粗糙, 多有褶皱, 内部结构形成了不同大小的多腔室。这种特殊结构可为内部生存的菌株提供避免外部压力的物理屏障, 可有效提高菌株的存活能力<sup>[19]</sup>。菌剂添加的黑麦与甜乳清粉可为菌株生长提供营养, 延长保存菌剂的使用时间, 还可缓解真空冷冻干燥对菌株细胞蛋白和膜的损伤, 从而提高菌剂复苏过程的细胞活性<sup>[20-21]</sup>。海藻酸钠与氯化钙交联形成的胶囊颗粒具有缓释特性, 使得菌株在根际土壤环境中能保持长时间的效用<sup>[22]</sup>。另外, 菌剂内部的生物膜含有大量具有高持水能力的胞外聚合物 (EPS), 能改变土壤结构和孔径分布, 在增加土壤保水量、减少土壤水分蒸发及增加植物蒸腾作用中发挥重要作用<sup>[23]</sup>。因此, 在土壤中, 使用菌剂较施用菌剂发挥的作用更长效。

盆栽结果表明, 经菌剂 Z16 处理后的根际土壤难溶性碳酸盐结合态 Cd 的质量分数低于对照 CK 组和菌液 EC 组。这表明菌剂 Z16 对根际土壤难溶性碳酸盐结合态镉具有更强活化能力, 促进了龙葵对镉的富集。根际促生菌通过分泌植物生长激素, 可促进植物生长<sup>[14]</sup>, 使得接种菌液 EC 和菌剂 Z16 均能显著提高龙葵的株高和鲜重。相较接种菌液 EC, 菌剂 Z16 可进一步提高龙葵鲜重。其原因有两方面: 一方面由于菌剂内部的多腔室结构为菌株生存提供生态位, 提高了菌株在根际土壤中的竞争和存活能力; 另一方面, 经过土壤微生物的作用, 菌剂丰富的有机成分可增加土壤肥力, 为龙葵生长提供额外养分<sup>[24]</sup>。与对照 CK 组相比, 接种菌剂 EC 和菌剂 Z16 均显著提高了龙葵对 Cd 的富集总量, 菌液 EC 组对龙葵地上部和根部富集质量分数和富集系数影响较小, 而菌剂 Z16 则显著提高了龙葵地上部和根部对土壤 Cd 的富集质量分数和地上部的 Cd 富集系数。根际促生菌分泌的螯合物质是影响植物根系对重金属富集的重要原因<sup>[25]</sup>。菌剂的缓释特性让菌株在较长时间内分泌更多螯合物质, 从而提高了根际促生菌的存活能力, 并促进龙葵对土壤 Cd 的富集。有研究者报道, 可将生物炭作为微生物吸附载体制备固体菌剂<sup>[26]</sup>, 然而, 生物炭对土壤重金属具有极强的物理化学吸附特性, 阻碍了超累积植物对土壤中重金属的提取过程。

Mn 和 Fe 是龙葵生长所需的微量金属元素, 参与植物光合作用和细胞中的酶反应<sup>[27]</sup>。与对照组 CK 相比, 接种菌液 EC 和菌剂 Z16 提高了龙葵对 Mn 和 Fe 金属元素的吸收。这是由于菌株分泌低分子有机酸物质活化了土壤难溶性 Mn 和 Fe 金属元素, 而金属元素生物有效性的提高则促进了龙葵根系对土壤金属元素的吸收<sup>[28]</sup>。铁载体是对环境中铁 (III) 具有高度亲和力的低分子量化合物, 其产出受到生物体周边环境的铁浓度调节<sup>[29]</sup>。在铁生物利用性较低的土壤环境中, 菌剂处理提高了菌株产铁载体的数量, 进而增强了龙葵对 Fe 元素吸收。另外, 不同类型的铁载体将引起根际微生物间的铁资源竞争。在菌剂载体的保护下, 菌株会分泌出更多抑制型铁载体, 从而可提高其与其他根际微生物间的铁资源竞争力。这有利于构建对植物有益的根际土壤核心微生物组网络, 以优化根际微生物群落结构, 进而发挥更长效作用<sup>[30-32]</sup>。与对照组 CK 相比, 菌剂 Z16 提高了龙葵地上部和根部对 Ca 元素的吸收, 而菌液 EC 却无此作用。这可能与菌剂外表层的钙盐有一定关系, 外源添加钙养分可能导致龙葵对 Ca 元素吸收能力的提高<sup>[33]</sup>。另外, 有研究表明, 外源添加低浓度的钙能提高龙葵对 Cd 的富集, 这可能也是造成菌剂处理后的龙葵 Cd 富集量显著高于菌液处理的原因<sup>[34]</sup>。金属元素在植物细胞的膜转运过程中存在竞争关系<sup>[35]</sup>, 使得菌剂 Z16 在提高龙葵地上部对 Mn 和 Cd 的吸收的同时, 降低了其对 Fe 和 Zn 的吸收。与接种菌液组的差异表明, 尽管在菌剂作用下, 龙葵的植物根部可吸收更多 Zn 和 Fe, 但转运系数的降低影响了龙葵地上部对这

## 2种金属元素的吸收。

超累积植物富集重金属 Cd 的过程可分为 3 步: 根系从土壤高效地吸收重金属; 通过木质部将重金属转运到地上部; 最后在枝叶细胞积累<sup>[36]</sup>。这一过程中的膜转运是影响土壤重金属元素进入植物细胞的关键因素。金属元素从土壤转运到植物的器官和组织需要不同类型的转运体, 其中包括 ZIP 家族、Nramp 家族及 ATPases 等<sup>[37-39]</sup>; 部分金属转运体参与多种金属元素的转运<sup>[40]</sup>, 如 PEDAS 等<sup>[41]</sup>发现 HvIRT1 参与 Fe、Zn、Mn 和 Cd 元素的转运, WU 等<sup>[42]</sup>发现 HvNramp5 参与 Mn 和 Cd 元素的金属转运。因此, 龙葵地上部和根部对 Cd 富集与其对其他金属的吸收具有关联性。比如 Cd 通过其他金属的转运体进入龙葵体内, 菌剂处理可能导致了龙葵体内与 Mn、Zn、Fe 等金属元素相关的转运体表达量增加, 在这些微量金属元素被吸收的同时, Cd 元素也通过这些转运体被龙葵富集。

## 4 结论

1) 利用海藻酸盐与钙盐交联形成的载体材料, 与根际促生菌结合, 研制出包裹型根际促生菌剂 Z16。其内部的多腔室结构为菌株提供了生存空间, 缓慢释放菌株于 24 h 孵育后。释菌浓度可达到  $10^6$  CFU·g<sup>-1</sup>。与菌液 EC 相比, 菌剂 Z16 通过增强龙葵对 Ca、Mn 和 Fe 3 种金属元素的吸收能力, 能进一步促进龙葵生长。

2) 与菌液 EC 相比, 菌剂 Z16 通过持续释放菌株, 可发挥更持久的活化镉及促进超累积植物提取镉的作用。根际土壤难溶性碳酸盐结合态镉的质量分数降低了 12.15%; 地上部和根部的 Cd 富集系数分别提高了 20.98% 和 168.97%; 地上部和根部的 Cd 富集总量分别提高了 28.09% 和 192.02%。因此, 微生物载体与根际促生菌发挥的协同作用可提高该菌株参与的根际促生菌-超累积植物联合修复效率。

## 参考文献

- [1] SHI T R, ZHANG Y Y, GONG Y W, et al. Status of cadmium accumulation in agricultural soils across China (1975–2016): From temporal and spatial variations to risk assessment[J]. *Chemosphere*, 2019, 230: 136-143.
- [2] WATANABE Y, NOGAWA K, NISHIJO M, et al. Relationship between cancer mortality and environmental cadmium exposure in the general Japanese population in cadmium non-polluted areas[J]. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2020, 223(1): 65-70.
- [3] ASHRAF S, ALI Q, ZAHIR Z A, et al. Phytoremediation: environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 174: 714-727.
- [4] BHATTACHARYYA P N, JHA D K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2012, 28(4): 1327-1350.
- [5] GUO J K, MUHAMMAD H, LV X, et al. Prospects and applications of plant growth promoting rhizobacteria to mitigate soil metal contamination: A review[J]. *Chemosphere*, 2020, 246: 125823.
- [6] ABBASZADEH P, OMI DVARI M, GHORBANPOUR M. Increasing Phytoremediation Efficiency of Heavy Metal-Contaminated Soil using PGPR for Sustainable Agriculture[M]//CHOUDHARY D, VARMA A, TUTEJA N. Plant-microbe Interaction: An Approach to Sustainable Agriculture. Singapore: Springer, 2016: 187-204.
- [7] 沈仁芳, 赵学强. 土壤微生物在植物获得养分中的作用[J]. *生态学报*, 2015, 35(20): 6584-6591.
- [8] MESA J, DEL-SAZ N F, RODRÍGUEZ I D, et al. PGPR reduce root respiration and oxidative stress enhancing spartina maritima root growth and heavy metal rhizoaccumulation[J]. *Frontiers in plant science*, 2018, 9: 1500-1500.
- [9] LIU W, WANG Q, WANG B, et al. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance the growth and Cd uptake of *Sedum plumbizincicola* in a Cd-contaminated soil[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2015, 15(5): 1191-1199.

- [10] KAMRAN M A, SYED J H, EQANI S A M A S, et al. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria inoculation on cadmium (Cd) uptake by *Eruca sativa*[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(12): 9275-9283.
- [11] 郭军康, 董明芳, 丁永祯, 等. 根际促生菌影响植物吸收和转运重金属的研究进展[J]. *生态环境学报*, 2015, 24(7): 1228-1234.
- [12] 段桂兰, 崔慧灵, 杨雨萍, 等. 重金属污染土壤中生物间相互作用及其协同修复应用[J]. *生物工程学报*, 2020, 36(3): 455-470.
- [13] 刘莉华, 刘淑杰, 陈福明, 等. 两株镉抗性奇异变形杆菌对龙葵修复镉污染土壤的强化作用[J]. *环境工程学报*, 2013, 7(10): 4109-4115.
- [14] 王东升, 王立立, 李取生, 等. 产铁载体菌对龙葵修复土壤 Cd 污染的促进效应[J]. *环境工程学报*, 2018, 12(8): 2311-2319.
- [15] LOBO C B, JUÁREZ TOMÁS M S, VIRUEL E, et al. Development of low-cost formulations of plant growth-promoting bacteria to be used as inoculants in beneficial agricultural technologies[J]. *Microbiological Research*, 2019, 219: 12-25.
- [16] VEJAN P, KHADIRAN T, ABDULLAH R, et al. Encapsulation of plant growth promoting rhizobacteria-prospects and potential in agricultural sector: A review[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2019, 42(19): 2600-2623.
- [17] GEORGE M, ABRAHAM T E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan-A review[J]. *Journal of Controlled Release*, 2006, 114(1): 1-14.
- [18] TESSIER A, CAMPBELL P G C, BISSON M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals[J]. *Analytical Chemistry*, 1979, 51(7): 844-851.
- [19] SCHOEBITZ M, SIMONIN H, PONCELET D. Starch filler and osmoprotectants improve the survival of rhizobacteria in dried alginate beads[J]. *Journal of Microencapsulation*, 2012, 29(6): 532-538.
- [20] MORGAN C A, HERMAN N, WHITE P A, et al. Preservation of micro-organisms by drying:A review[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2006, 66(2): 183-193.
- [21] BERNINGER T, GONZÁLEZ LÓPEZ Ó, BEJARANO A, et al. Maintenance and assessment of cell viability in formulation of non-sporulating bacterial inoculants[J]. *Microbial Biotechnology*, 2018, 11(2): 277-301.
- [22] YUN Y J, WU H W, GAO J, et al. Facile synthesis of Ca<sup>2+</sup>-crosslinked sodium alginate/graphene oxide hybrids as electro-and pH-responsive drug carrier[J]. *Materials Science and Engineering:C*, 2020, 108: 110380.
- [23] ZHENG W J, ZENG S Q, BAIS H, et al. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) reduce evaporation and increase soil water retention[J]. *Water Resources Research*, 2018, 54(5): 3673-3687.
- [24] PAUL E. The nature and dynamics of soil organic matter: Plant inputs, microbial transformations, and organic matter stabilization[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 98: 109-126.
- [25] ANJUM N, HASANUZZAMAN M, HOSSAIN M, et al. Jaks of metal/metalloid chelation trade in plants-An overview[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 192-192.
- [26] KARI A, NAGYMÁTÉ Z, ROMSICS C, et al. Evaluating the combined effect of biochar and PGPR inoculants on the bacterial community in acidic sandy soil[J]. *Applied Soil Ecology*, 2021, 160: 103856.
- [27] SCHMIDT S, EISENHUT M, SCHNEIDER A. Chloroplast transition metal regulation for efficient photosynthesis[J]. *Trends in Plant Science*, 2020, 25(8): 817-828.
- [28] ESITKEN A, YILDIZ H E, ERCISLI S, et al. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry[J]. *Scientia Horticulturae*, 2010, 124(1): 62-66.
- [29] HIDER R C, KONG X. Chemistry and biology of siderophores[J]. *Natural Product Reports*, 2010, 27(5): 637-657.
- [30] GU S, WEI Z, SHAO Z, et al. Competition for iron drives phytopathogen control by natural rhizosphere microbiomes[J]. *Nature Microbiology*, 2020, 5(8): 1002-1010.
- [31] BERG G, RYBAKOVA D, FISCHER D, et al. Microbiome definition re-visited: Old concepts and new challenges[J]. *Microbiome*, 2020, 8(1): 103.
- [32] 朱永官, 彭静静, 韦中, 等. 土壤微生物组与土壤健康[J]. *中国科学:生命科学*, 2021, 51(1): 1-11.
- [33] BOURGEOIS C, ALFARO A C, DENCER-BROWN A, et al. Stocks and soil-plant transfer of macro-nutrients and trace metals in temperate New Zealand estuarine mangroves[J]. *Plant and Soil*, 2019, 436(1): 565-586.
- [34] 龚小敏, 刘云国, 黄丹莲, 等. 外源钙对镉胁迫下苧麻生长及生理代谢的影响[J]. *环境工程学报*, 2016, 10(7): 3866-3870.
- [35] HE X L, FAN S K, ZHU J, et al. Iron supply prevents Cd uptake in *Arabidopsis* by inhibiting IRT1 expression and favoring competition between Fe and Cd uptake[J]. *Plant and Soil*, 2017, 416(1): 453-462.
- [36] CLEMENS S, PALMGREN M G, KRÄMER U. A long way ahead: Understanding and engineering plant metal accumulation[J]. *Trends in Plant Science*, 2002, 7(7): 309-315.
- [37] QIAO K, GONG L, TIAN Y, et al. The metal-binding domain of wheat heavy metal ATPase 2 (TaHMA2) is involved in zinc/cadmium



- tolerance and translocation in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell Reports*, 2018, 37(9): 1343-1352.
- [38] WILLIAMS L E, PITTMAN J K, HALL J L. Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 2000, 1465(1): 104-126.
- [39] HUANG S, SASAKI A, YAMAJI N, et al. The ZIP transporter family member OsZIP9 contributes to root zinc uptake in rice under zinc-limited conditions[J]. *Plant Physiology*, 2020, 183(3): 1224-1234.
- [40] KORSHUNOVA Y O, EIDE D, GREGG CLARK W, et al. The IRT1 (责任编辑: 靳炜)
- protein from *Arabidopsis thaliana* is a metal transporter with a broad substrate range[J]. *Plant Molecular Biology*, 1999, 40(1): 37-44.
- [41] PEDAS P, YTTING C K, FUGLSANG A T, et al. Manganese efficiency in barley: Identification and characterization of the metal ion transporter HvIRT1[J]. *Plant Physiology*, 2008, 148(1): 455-466.
- [42] WU D, YAMAJI N, YAMANE M, et al. The HvNramp5 transporter mediates uptake of cadmium and manganese, but not iron[J]. *Plant Physiology*, 2016, 172(3): 1899-1910.

## Enhanced remediation of cadmium contaminated farmland soil by *Solanum nigrum* L. with coated rhizosphere growth-promoting agent

TANG Wanpeng, WANG Lili\*, WANG Dongsheng, RUAN Xiang, LI Qusheng

School of environment, Jinan University, Guangzhou 510630, China

\*Corresponding author, E-mail: towanglili@163.com

**Abstract** A type of encapsulated plant growth promoting rhizobacterial inoculant with the capacity of insoluble cadmium (Cd) mobilization was developed to improve the Cd-phytoremediation efficacy of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. in Cd-contaminated farmland soil. According to the present research, encapsulated inoculant Z16 with the multi-chambered structure avail for PGPR survival. The number of bacteria released was  $10^6$  CFU·g<sup>-1</sup> after 24 hours. When compared with EC inoculation, specifically, the fresh weight in shoots, Cd bioconcentration factor of the shoots and roots were increased by 19.81%, 20.98% and 168.97%, respectively. Insoluble Cd mobilization in rhizosphere soil and calcium, manganese, and iron absorption of *Solanum nigrum* L. was improved. Therefore, continuous bacteria released in rhizosphere soil by encapsulated plant growth promoting rhizobacterial inoculant makes insoluble Cd mobilization and Cd-phytoremediation more efficient, which has a great application prospect.

**Keywords** cadmium contaminated farmland; phytoremediation; Cd-hyperaccumulator; plant growth promoting rhizobacterial inoculant