

温泉,刘森,宋俊德,等. 巨大芽孢杆菌对羽叶鬼针草富集土壤铅的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(1):233-235.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.01.060

巨大芽孢杆菌对羽叶鬼针草富集土壤铅的影响

温泉,刘森,宋俊德,贾威,冯璐,戴秉红
(辽宁石化职业技术学院,辽宁锦州 121001)

摘要:以巨大芽孢杆菌为强化微生物,研究不同微生物浓度对羽叶鬼针草吸收重金属铅的增效。结果表明,相对于未添加微生物的对照组,添加微生物的 S_1 处理(20 mL 菌液)、 S_2 处理(40 mL 菌液)、 S_3 处理(60 mL 菌液)地上部分生物富集系数分别提高了 15.3%、53.8%、61.5%,地下部分生物富集系数分别提高了 25.0%、62.5%、75.0%,说明巨大芽孢杆菌可强化羽叶鬼针草对于铅的吸收,主要可能是微生物的添加可以提高土壤中苹果酸、酒石酸的浓度,从而活化土壤中铅的有效态,并刺激植物根系微生物的活性。研究结果为微生物-植物联合修复重金属土壤提供了一定的理论依据。

关键词:巨大芽孢杆菌;羽叶鬼针草;富集;土壤;铅;重金属土壤污染修复

中图分类号: X53;S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)01-0233-03

土壤是人类获取食物和其他再生资源的物质基础^[1],是人类赖以生存的重要自然环境,无论在中国还是在世界范围内,人们面临的粮食、资源和环境问题与土壤密切相关^[2]。截至 2010 年,在我国有超过 2 000 万 hm^2 的农田被锡(Sn)、铬(Cr)、铅(Pb)、锌(Zn)等重金属污染,大约占耕地总面积的 1/5,导致每年由于重金属污染所损失的粮食量达到了 1 000 万 t ^[3]。2016 年 5 月 28 日,《土壤污染防治行动计划》(简称“土十条”)出台,表明土壤污染治理与修复是今后环境保护和综合治理的重点任务之一^[4]。

植物修复技术是以忍耐和超量积累某种或某些污染物的理论为基础,利用植物及其共存微生物体系清除环境中污染物的一类环境污染治理技术^[5-7],主要是通过超富集植物将土壤中的重金属提取出来,并搬运到植物根部可收割部分和

植物地上的枝条部位。目前已经筛选到一些超富集的植物,如蜈蚣草(*Pteris vittata* L.)^[8]、东南景天(*Sedum alfredii*)^[9]、印度芥菜(*Brassica juncea*)^[10]等,在超富集植物中,羽叶鬼针草(*Bidens maximowicziana*)^[11]能大量富集 Pb,并且生物量较大,在植物修复中具有一定的潜力,但是目前很少有关于用微生物来提高羽叶鬼针草吸附 Pb 的报道。因此,本研究以 1 种重要的功能菌——巨大芽孢杆菌作为研究对象,研究不同添加量的巨大芽孢杆菌对羽叶鬼针草吸附土壤重金属 Pb 的影响,以期微生物促进植物修复重金属污染土壤提供一种新的研究思路。

1 材料与方法

1.1 供试材料

羽叶鬼针草种子,采自铅锌尾矿废弃地上的自然物种,经采集后获得种子。试验土壤,采自辽宁石化职业技术学院校园,试验用土经风干后过筛,重金属以硝酸铅的形式施入土壤中,使土壤中的铅含量为 400 mg/kg,于室温下平衡 1 个月后备用。

(3):511-522.

- [19] Jones D L, Willett V B. Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(5):991-999.
- [20] Qualls R G, Richardson C J. Factors controlling concentration, export, and decomposition of dissolved organic nutrients in the Everglades of Florida[J]. *Biogeochemistry*, 2003, 62(2):197-229.
- [21] 林诚,王飞,李清华,等. 不同施肥制度对黄泥土壤酶活性及养分的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2009(6):24-27.
- [22] 高忠霞,杨学云,周建斌,等. 小麦-玉米轮作期间不同施肥处理氮素的淋溶形态及数量[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(8):1624-1632.
- [23] Achat D L, Bakker M R, Zeller B, et al. Long-term organic

phosphorus mineralization in Spodosols under forests and its relation to carbon and nitrogen mineralization[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2010, 42(9):1479-1490.

- [24] McDowell R W, Koopmans G F. Assessing the bioavailability of dissolved organic phosphorus in pasture and cultivated soils treated with different rates of nitrogen fertiliser[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38(1):61-70.
- [25] Wickland K P, Neff J C, Aiken G R. Dissolved organic carbon in Alaskan boreal forest: sources, chemical characteristics, and biodegradability[J]. *Ecosystems*, 2007, 10(8):1323-1340.
- [26] 卢萍,单玉华,杨林章,等. 秸秆还田对稻田土壤溶液中溶解性有机质的影响[J]. *土壤学报*, 2006, 43(5):736-741.
- [27] 马晓霞,王莲莲,黎青慧,等. 长期施肥对玉米生育期土壤微生物量碳氮及酶活性的影响[J]. *生态学报*, 2012, 32(17):5502-5511.

巨大芽孢杆菌,购自中国微生物保藏中心,将其在LB培养基(含5 g/L酵母提取物、10 g/L蛋白胨、10 g/L氯化钠、15 g/L琼脂,pH值7.0)平板上活化,然后再接种于LB液体培养基上扩增,使其最终菌液浓度为 1×10^9 CFU/mL,备用。

1.2 试验设计

本试验采用塑料花盆作为种植容器,其上缘直径为15 cm,底面直径为10 cm,高度为15 cm。每盆装土2 kg,同时每盆加入0.3 g尿素、0.5 g磷酸二氢钾作为肥料,将肥料加入土壤中进行搅拌,并加入水,使其含水量为田间持水量的50%,平衡10 d后,将羽叶鬼针草种子播种于土壤中,生长10 d后,每盆保留3株苗,在羽叶鬼针草生长30 d后接种微生物,分别将20、40、60 mL含菌量为 1×10^9 CFU/mL的巨大芽孢杆菌用水稀释到300 mL,然后喷洒到花盆中,其中S₁、S₂、S₃处理添加的菌液量分别为20、40、60 mL,以不加微生物的处理作为对照组(CK)。试验时间为2016年4月至7月。

1.3 样品采集与分析

生长70 d后,收割羽叶鬼针草地上部、地下部,测定鲜质量,将地上部、地下部用自来水冲洗净,再放入烘干箱中,于105℃杀青30 min,75℃烘干至恒质量,磨碎后放入自封袋中备用。收集根系附近土壤,自然风干、研磨后过100目筛备用。土壤中铅的有效态按土壤BCR方法^[12]进行分级提取,植物和土壤中铅含量用电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)测定。可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝G-250染色法测定。超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法测定(以鲜质量计),过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定(以鲜质量计)。对于土壤中有机酸含量,将土壤样品依次用去离子水、三氯甲烷萃取后,用气相色谱(安捷伦7890)进行测定。

植物的富集系数以及土壤形态学中欧洲共同体标准物质局(BCR)规定的各态所占的比例计算公式分别如下:

$$W = C_1 / C_2;$$

$$Z = (T_1 / T_0) \times 100\%。$$

式中:W为生物富集系数;C₁为植物体内铅含量,mg/kg;C₂为植物根系附近土壤中铅含量,mg/kg;Z为BCR各态所占比例,%;T₁为各态的重金属含量,mg/kg;T₀为各态的总含量,mg/kg。

2 结果与分析

2.1 不同处理对羽叶鬼针草生物量的影响

由图1可以看出,在不添加微生物的情况下,羽叶鬼针草的生物量为7.6 g;当添加20 mL微生物时(S₁处理),羽叶鬼针草的生物量为8.0 g,比对照组增加了5.3%;进一步添加微生物量为40 mL时(S₂处理),羽叶鬼针草的生物量提高更多(9 g),比对照组增加了18.4%;当微生物投加量达到60 mL时(S₃处理),羽叶鬼针草的生物量比对照组增加了21%,但相对于40 mL的微生物投加量,其生物量增加变缓。总体看出,微生物的添加有利于羽叶鬼针草在受重金属污染土地上的生长。

2.2 不同处理对羽叶鬼针草内部分生理生化指标的影响

可溶性蛋白是重要的渗透调节物质和营养物质,包括各种酶分子以及代谢调节物,可溶性蛋白含量的增加和积累能

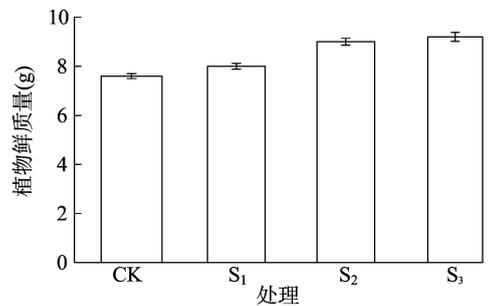


图1 不同处理下羽叶鬼针草的生物量

提高细胞的保水能力,显示了机体的代谢和叶片的生命活动旺盛程度。由表1可看出,添加微生物后都能提高可溶性蛋白的含量,说明微生物的增加可提高羽叶鬼针草的代谢活性。SOD是一种重要的活性氧防御酶,能消除生物体在新陈代谢过程中产生的有害物质。POD是一种含Fe的金属蛋白质,催化过氧化氢类的反应,广泛参与植物的物质和能量代谢,在植物的呼吸代谢和抗性生理中起重要作用。从SOD比活力和总活性可看出,CK > S₂ > S₃ > S₁,说明S₂处理对于羽叶鬼针草的SOD影响最小,并从POD活性看出,S₂ > S₃ > S₁ > CK,说明菌株的添加都可提高羽叶鬼针草的新陈代谢速度。综合各植物各生理生化指标,可看出S₂处理对于羽叶鬼针草的生长有着最佳的促进作用。

表1 不同处理羽叶鬼针草内的生理生化指标

处理	可溶性蛋白含量(mg/kg)	SOD总活性(U/g)	SOD比活力(U/mg)	POD活性[U/(min·g)]
CK	5.1 ± 0.11	62.1 ± 1.81	12.1 ± 1.1	670 ± 22.1
S ₁	6.2 ± 0.16	52.0 ± 2.21	8.4 ± 0.8	720 ± 32.1
S ₂	5.8 ± 0.22	59.7 ± 1.34	10.3 ± 0.6	890 ± 33.5
S ₃	6.0 ± 0.24	55.8 ± 1.12	9.3 ± 0.3	830 ± 33.8

2.3 不同处理对羽叶鬼针草吸附铅的影响

由图2可见,CK、S₁、S₂、S₃处理下羽叶鬼针草地下部分铅含量分别为330、410、530、568 mg/kg,地上部分铅含量分别为520、630、800、850 mg/kg。可见羽叶鬼针草对重金属铅有很好的吸收与耐受能力,并且地上部分的铅含量都要高于地下部分的铅含量,这说明羽叶鬼针草对于铅具有较强的向地上部运输的能力,适合用于土壤重金属的提取。此外相对于对照组,添加微生物后的S₁、S₂、S₃处理组的地下部分铅含量分别提高了24.2%、60.6%、72.1%,而地上部分铅含量分别提高了21.2%、53.8%、63.5%,说明微生物可以促进羽叶鬼针草吸收土壤中的铅。

羽叶鬼针草地上部(地下部)生物富集系数是用羽叶鬼针草地上部(地下部)对铅的吸收量与土壤中铅含量的比值计算得到的。由图3可知,S₁、S₂、S₃处理羽叶鬼针草地上部分生物富集系数分别为1.6、2.0、2.1,相对于对照组分别提高了15.3%、53.8%、61.5%;S₁、S₂、S₃处理羽叶鬼针草地下部分生物富集系数分别为1.0、1.3、1.4,相对于对照组分别提高了25.0%、62.5%、75.0%。由此可看出,接种微生物的羽叶鬼针草对于铅的富集效果要明显好于未接种微生物的,并且随着微生物添加量的提高,生物富集系数也在不断提高,在40 mL添加量时(S₂处理)增幅最明显,进一步提高微生物的浓度,生物富集系数的提高幅度开始变缓。

2.4 不同处理对土壤有效铅含量的影响

羽叶鬼针草对土壤铅的吸收主要取决于土壤中铅的价态,在铅的各价态中,弱酸提取态是指铅在土壤中容易迁移的价态,该价态的铅容易被植物吸收进入体内。由图4可以看出,经过菌液处理后的S₁处理,其土壤中弱酸提取态铅含量为17%,较CK处理增加了4个百分点,而残渣态铅含量由CK处理的40%降低到37%。随着菌液量的进一步增加,S₂、S₃处理的弱酸提取态铅含量与CK相比分别提高了10%、12%,残渣态铅含量分别降低了8%、10%,而可还原态、可氧化态的铅含量变化不明显。结果表明,菌株进入土壤中后,有利于

土壤中的铅从残渣态向弱酸提取态转变,这可能主要是由于菌株进入土壤后会通过自身的代谢活动直接或间接活化土壤中的铅,从而有利于羽叶鬼针草对于土壤中铅的吸收。此外,加入菌株还会刺激羽叶鬼针草根系附近的微生物,有助于活化重金属铅,并在一定程度上促进了植物的生长。而从微生物的投加量来看,随着微生物投加量提高到40 mL,羽叶鬼针草的生物量和吸收铅含量的提升效果最明显;进一步提高微生物的投加量,植物的生物量和铅吸收量增幅变缓,这说明40 mL的微生物量已足够强化羽叶鬼针草吸收土壤中的铅。

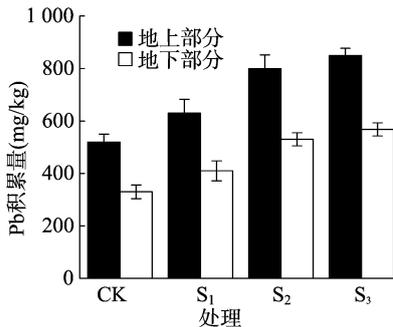


图2 不同处理下羽叶鬼针草地上部分和地下部分铅含量

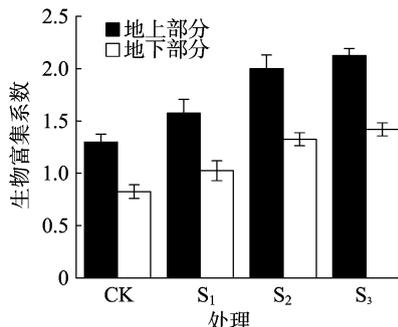


图3 不同处理下羽叶鬼针草地上部分、地下部分的生物富集系数

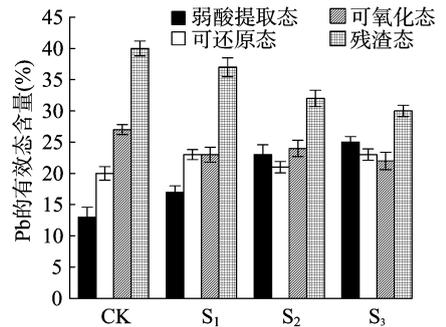


图4 不同处理土壤中铅的分级形态

2.5 巨大芽孢杆菌对根系土壤有机酸含量的影响

土壤中低分子量的有机酸主要来源于植物根系的分泌物以及土壤微生物的代谢。各处理组在试验70 d后,收获植物根系附近的土壤进行有机酸含量的测定。由表2可以看出,添加微生物的各处理组对于乳酸含量的影响不大,基本没有变化。对于丙二酸含量来说,添加微生物各处理组稍有增加,但幅度也不是很大,可能是其他代谢产物刺激引起的。添加微生物各处理组的苹果酸、酒石酸含量增加较大,S₁、S₂、S₃处理的苹果酸含量分别是对照组的3.1、12.5、10.6倍,相应的酒石酸含量分别是对照的3.9、19.2、10.6倍。可见,添加微生物可以有效提高根系土壤中苹果酸、酒石酸的含量,其中有有机酸含量最高的是S₂处理,而添加高浓度微生物的S₃处理的含量反而低于S₂处理,可能是高浓度菌液会在一定程度上抑制根系或土壤微生物分泌有机酸,但是添加巨大芽孢杆菌都可提高有机酸含量,从而有利于活化重金属,促进植物对于重金属的吸收。

表2 根系土壤中有机酸含量分析

处理	乳酸含量 (mg/kg)	丙二酸含量 (mg/kg)	苹果酸含量 (mg/kg)	酒石酸含量 (mg/kg)
CK	3.4	24.2	7.4	2.1
S ₁	3.5	25.5	22.6	8.1
S ₂	3.3	28.9	92.2	40.3
S ₃	3.6	26.6	78.3	22.3

3 结论

巨大芽孢杆菌对羽叶鬼针草修复铅污染土壤有促进作用,S₁、S₂、S₃处理的羽叶鬼针草生物量增加,与对照组相比,其地下部分铅含量分别提高了24.2%、60.6%、72.1%,而地上部分铅含量分别提高了21.2%、53.8%、63.5%,究其原因

主要是添加菌株会提高土壤中苹果酸、酒石酸的含量,从而促进土壤中铅的价态从残渣态向弱酸提取态转化,并在一定程度上提高了根系微生物的活性,从而使得羽叶鬼针草更容易吸收土壤中的铅。

参考文献:

- [1] 刘秀梅, 聂俊华, 王庆仁. 植物修复重金属污染土壤的研究进展[J]. 甘肃农业大学学报, 2001, 36(1): 8-13.
- [2] 顾继光, 周启星, 王新. 土壤重金属污染的治理途径及其研究进展[J]. 应用基础与工程科学学报, 2003, 11(2): 143-151.
- [3] 孙鹏轩. 土壤重金属污染修复技术及其研究进展[J]. 环境保护与循环经济, 2012(11): 48-51, 75.
- [4] 吴耀楣. 中国土壤重金属污染修复技术的专利文献计量分析[J]. 生态环境学报, 2013, 22(5): 901-904.
- [5] 温志良, 毛友发, 陈桂珠. 重金属污染生物恢复技术研究[J]. 环境科学动态, 1999(3): 15-17, 14.
- [6] Cunningham S D, Berti W R, Huang J W. Phytoremediation of contaminated soils[J]. Trends in Biotechnology, 1995, 13(9): 393-397.
- [7] 张慧智, 刘云国, 黄宝荣, 等. 镉矿尾渣污染土壤上植物受重金属污染状况调查[J]. 生态学杂志, 2004, 23(1): 111-113.
- [8] 陈同斌, 韦朝阳, 黄泽春, 等. 神超富集植物蜈蚣草及其对神的富集特征[J]. 科学通报, 2002, 47(3): 207-210.
- [9] 张富运, 陈永华, 吴晓美, 等. 铅锌超富集植物及耐性植物筛选研究进展[J]. 中南林业科技大学学报, 2012, 32(12): 92-96.
- [10] 杨卓, 韩德才, 李博文. 不同栽培条件下印度芥菜对重金属的吸收比较[J]. 环境科学研究, 2014, 27(3): 295-300.
- [11] 王红旗, 李华, 陆泗进. 羽叶鬼针草对Pb的吸收特性及修复潜力[J]. 环境科学, 2005, 26(6): 143-147.
- [12] 张朝阳, 彭平安, 宋建中, 等. 改进BCR法分析国家土壤标准物质中重金属化学形态[J]. 生态环境学报, 2012(11): 1881-1884.