

抗性菌株 JB13 强化高羊茅对铅镉的富集

金忠民, 李 丹, 潘 林, 朱 琨, 刘丽杰, 赵婧彤

(齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

摘 要:以铅镉抗性菌株 JB13 和高羊茅为试材, 采用植物微生物联合修复的方法, 研究了 Pb、Cd 抗性菌株(JB13)与高羊茅共同作用对 Pb、Cd 污染土壤修复的影响, 以期得到高效修复重金属的方法。结果表明: Pb、Cd 对高羊茅的生物量有抑制作用, 且对地上部的抑制作用高于地下部, Cd 对高羊茅生长的抑制作用强于 Pb。高羊茅具有富集重金属的能力, Pb、Cd 单一和共同污染时地下部富集量优于地上部。抗性菌 JB13 能促进高羊茅对重金属的富集。

关键词:高羊茅; 铅镉抗性菌株; 重金属

中图分类号:S 688.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)09-0075-04

重金属污染在全球范围内受到极大的关注, 重金属污染土壤生态修复技术研究已成为多个科技领域的热点和难点。重金属污染土壤类型多样, 污染途径多, 而重金属污染土壤的修复是一个复杂的工程, 单一的修复技术很难达到预期效果, 联合修复技术的应用可以弥补单一技术的缺陷^[1], 如动物-微生物、植物-微生物、物化方法-微生物等联合修复技术, 以上几个方面是当今研究的热点内容^[2]。联合修复技术是利用超富集植物提取受污染环境中污染物, 其基本原理是利用植物及其根际微生物体系对环境中的污染物进行吸收、降解、挥发及转化, 进而实现对污染环境的修复^[3]。高羊茅(*Festuca arundinacea* Schreb.) 属羊茅属(*Festuca*) 冷季型草坪草, 具有生物量大、生长迅速、抗逆性强等特点。研究表明, 高羊茅对土壤重金属有一定的吸收及耐受能力^[4], 但对高羊茅用于修复复合重金属土壤污染的研究较少。赵汝等^[5]采用水培试验研究了转 DREB1A 高羊茅对铅的吸附性与其耐受能力进行研究, 结果表明, 转基因高羊茅在胁迫条件下可以有效提高对铅的富集与转运能力。JIN 等^[6]研究了抗性菌株 JB12 与高羊茅和红三叶草吸附重金属时能够增加植物生物量和铅、镉浓度, 高羊茅富集量比红三叶草要高。吴卿等^[7]研究表明, 种植高羊茅对沉积物 Cr 的去除率最好, Cr 的去除率高达 61.44%; 对 Cd 的去除率达 43.01%; 对 Cu 的去除率为 36.72%; 对 Ni 的去除率为 18.58%。可见, 高羊茅对底

泥中重金属的污染有较好的修复效果。该研究从土壤中筛选出对重金属 Cd、Pb 具有较强抗性的菌株, 通过盆栽试验研究菌株对高羊茅从污染土壤中吸收铅镉的影响, 比较 2 种处理方法对促进高羊茅富集铅镉的能力, 以寻找更加高效经济的修复措施, 以期对重金属污染土壤的可持续治理供科学借鉴。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试高羊茅种子 高羊茅种子采自沐阳县德盛桂花种植园, 挑选饱满的高羊茅种子, 用蒸馏水洗净, 种子在播种前浸种 12 h, 经 2% 次氯酸钠表面消毒后播种^[8]。

1.1.2 供试菌株 Pb、Cd 抗性菌株 JB13(由环境污染风险评估与修复实验室筛选获得, 经鉴定为路德维希杆菌属), 微生物均以菌液的形式添加, 添加的浓度为 2×10^9 CFU/g。

1.1.3 供试土壤 采自黑龙江省扎龙湿地无 Pb、Cd 污染区域, 风干后过 20 目筛子后对土壤进行灭菌处理, 土壤中 Pb、Cd 的原始含量分别为 45.86、36.37 mg/kg。一部分土壤添加 Pb 和 Cd 并充分混合老化 6 个月。另一部分土壤不添加重金属用作对照。

1.1.4 供试试剂 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 溶液、 CdSO_4 溶液、95% 酒精及无菌水(以上的所有试剂均为分析纯)。

1.2 试验方法

1.2.1 高羊茅样品的处理 播种前, 先将土壤灭菌处理, 装土约 500 g 土/盆。将高羊茅的种子在常温下浸泡 12 h 后播种到花盆中, 每盆 50 粒种子, 置于自然光下温室培养, 生长期为 45 d^[8]。得到的高羊茅分为地上和地下 2 部分, 先用自来水冲洗除去泥土和污物, 再用蒸馏

第一作者简介:金忠民(1968-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为环境污染风险评估与修复。E-mail:492012666@qq.com。

基金项目:黑龙江省自然科学基金资助项目(c201240); 齐齐哈尔大学创新资助项目(YJSCX2014-022X)。

收稿日期:2015-12-18

水冲洗,沥干水分后在 105℃ 下杀青 30 min,最后于 70℃ 的烘箱中烘干,备用。用 ICP-MS 检测高羊茅植株内铅和镉的浓度^[9]。

1.2.2 试验设计 设计 T 试验组为单独盆栽试验组, TJ 试验组为微生物植物联合试验组。T0 和 TJ0 为空白对照组。1) 高羊茅单独修复 Pb、Cd 污染土壤:将灭菌后的高羊茅种子种植在老化过的土壤中,其中 T1 和 T2 为单独铅污染,浓度分别为 150 mg/kg 和 300 mg/kg; T3 和 T4 分别为单独镉污染,浓度分别为 125 mg/kg 和 250 mg/kg; T5 和 T6 为铅镉共同污染的土壤,浓度为 150 mg/kg Pb²⁺ + 125 mg/kg Cd²⁺ 和 300 mg/kg Pb²⁺ + 250 mg/kg Cd²⁺。2) 微生物与高羊茅共同修复 Pb、Cd 污染土壤:将灭菌后的高羊茅种子种植在老化过的土壤中,其中 TJ1 和 TJ2 为单独铅污染,浓度分别为 150 mg/kg 和 300 mg/kg; TJ3 和 TJ4 分别为单独镉污染,浓度分别为 125 mg/kg 和 250 mg/kg; TJ5 和 TJ6 为铅镉共同污染的土壤,浓度为 150 mg/kg Pb²⁺ + 125 mg/kg Cd²⁺ 和 300 mg/kg Pb²⁺ + 250 mg/kg Cd²⁺, 共同修复的盆栽中均加入 50 mL 的菌液。

1.3 数据分析

采用 Origin 8.6 软件对数据进行处理和统计学检验。

2 结果与分析

2.1 Pb、Cd 污染对高羊茅生长的影响

由图 1、2 可以看出,随着 Pb、Cd 在土壤中浓度的增加,高羊茅地上部和地下部生物量都随之降低,分别降低了 26.34% 和 11.27%,说明 Pb、Cd 重金属污染对高羊茅的生长具有较强的抑制作用。在单一镉污染下高羊茅的生物量比单一铅污染下少,说明 Cd 对高羊茅的生长抑制作用大于铅的抑制作用。杨卓等^[4]发现,高羊茅和黑麦草在高浓度重金属离子毒害下,出现了叶片失绿、萎蔫的症状,但仍能够完成其生育期,并存活下来。在土壤中添加菌株 JB13 菌液的试验组,高羊茅的生物量随铅镉浓度的增加而减少,且幅度不明显。由此可知,菌株 JB13 能够减轻重金属铅镉对高羊茅生长的抑制作用。

2.2 高羊茅对重金属的吸附

2.2.1 Pb、Cd 单独污染下高羊茅地上部和地下部的 Pb、Cd 含量 由图 3、4 可知,在 Pb 单独污染下,随着 Pb 浓度的增加,高羊茅地上部和地下部重金属的积累量随之增加,但是地下部的积累量始终高于地上部。在 Pb 浓度为 300 mg/kg 时高羊茅地下部的积累量比地上部高 44.06%。随着土壤中 Pb 含量的继续增加,高羊茅地上部和地下部 Pb 含量还有增加的趋势。由此说明,高羊茅对土壤中污染的 Pb 有一定的耐受作用,同时高羊

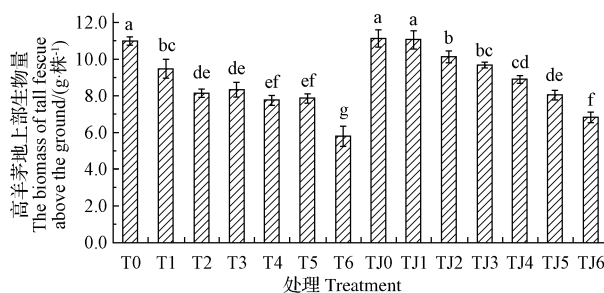


图 1 铅镉污染对高羊茅地上部分生物量的影响

Fig. 1 The influence of Pb and Cd pollution to the tall fescue biomass on the ground

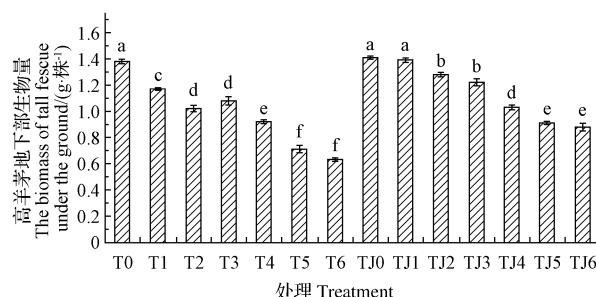


图 2 铅镉污染对高羊茅地下部分生物量的影响

Fig. 2 The influence of Pb and Cd pollution to the tall fescue biomass under the ground

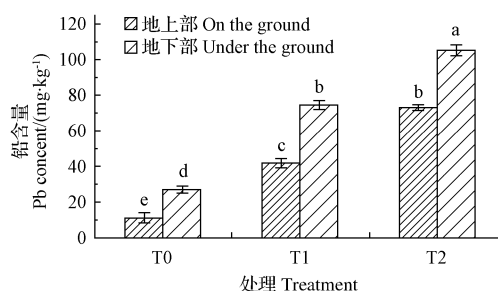


图 3 铅单独污染下高羊茅中的铅含量

Fig. 3 The Pb content of tall fescue under the only lead pollution

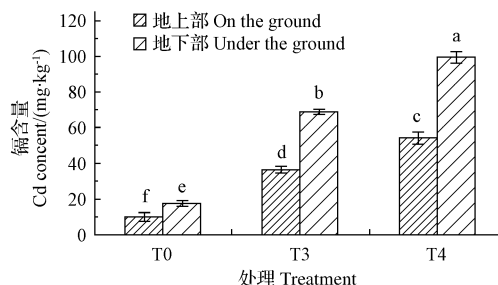


图 4 镉单独污染下高羊茅和土壤中的镉含量

Fig. 4 The Cd content of tall fescue under the only cadmium pollution

茅对土壤中的铅有一定的吸收作用。刘爱荣等^[10]试验表明,在小于 1 000 mg/L 的 Pb 胁迫下,高羊茅根和叶中 Pb 含量和积累量均随 Pb 处理浓度的增加而迅速增

加,且在相同浓度下,根部 Pb 含量和积累量大于叶中,与该试验的结论一致。当 Cd 单独存在,高羊茅地上部和地下部的 Cd 含量随着土壤中 Cd 含量的增加而增加。在 Cd 浓度为 250 mg/kg 时,高羊茅地下部的积累量比地上部高 83.18%。这可能是因为植物根通过离子交换、质流运移和根毛表面接触等多种方式从土壤溶液中摄取重金属,但根系内胚层对重金属元素的通透性较低,当它们从根部向中柱迁移时就会受到内皮层凯氏带的阻拦,导致植物吸收的重金属主要累积在根部^[11]。

2.2.2 Pb、Cd 共同污染下高羊茅地上部和地下部的 Pb、Cd 含量 由图 5 可知,在 Pb、Cd 的复合作用下,高羊茅地上部和地下部 Pb、Cd 含量随着土壤中 Pb、Cd 含量的增加而增加。在相同的 Pb、Cd 含量下,高羊茅地下部 Pb、Cd 的含量高于地上部。在 Pb、Cd 的复合污染下高羊茅对 Pb、Cd 的吸附效果要比单一污染的吸附效果差。这可能是因为离子毒性增加导致高羊茅生长发育受阻。通过高羊茅的生长情况看,高羊茅对土壤 Cd、Pb 复合污染具有一定的耐性,但高浓度的 Pb、Cd 负荷污染对高羊茅的生长表现为严重的抑制作用。由此可见,高羊茅对重金属的吸附能力,为用其修复重金属污染的土壤提供了可能。SUN 等^[12]应用 18 种野生植物修复土壤中 PAHs,其中根系较为发达的 *Pteris cretica* 对污染物的吸收效率最高。

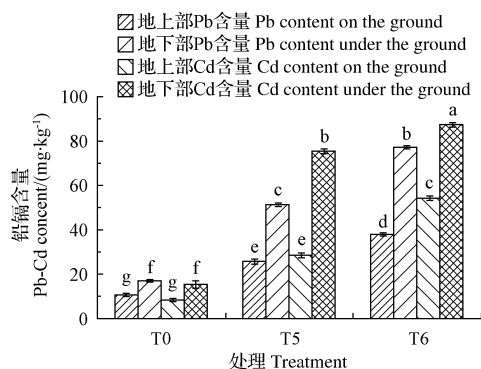


图 5 铅镉双重污染下高羊茅铅镉含量

Fig. 5 The Pb and Cd content of tall fescue under the mixed pollution

2.3 高羊茅-抗性菌株对重金属污染土壤的联合修复

2.3.1 高羊茅地上部和地下部 Pb、Cd 含量 从图 6、7 可以看出,添加菌株对促进高羊茅富集 Pb 起到了较好作用。单一 Pb 污染下添加 JB13 菌株对吸附 Pb 效果明显,促进了高羊茅地上部、地下部对 Pb 的吸收。由于加入的 JB13 菌株与高羊茅产生共生关系,所以有效地增加了高羊茅对 Pb 的吸收能力。杨柳等^[13]对土壤中 Pb 用黑麦草进行处理,在其根系接种菌根真菌后,植物中 Pb 的累积量提高了 50%。在单一 Cd 污染的土壤中,在 Cd 浓度较低条件下所添加的 JB13 优势不明显。TAK

等^[14]提出,将植物根际促生菌联合植物修复土壤中重金属可提高植物修复的效率,可以进行深入研究。WEY-ENS 等^[15]应用杨树幼苗修复土壤中 Ni-TCE 复合污染的试验中发现,接种假单胞菌的修复效率比不接种的修复效率高 45%。

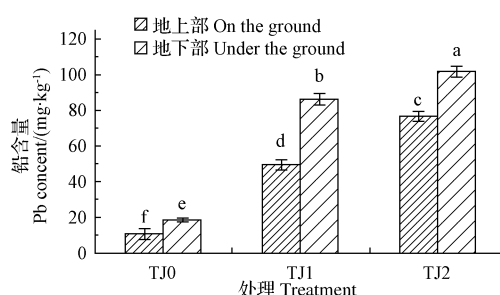


图 6 铅单独污染下添加菌后高羊茅铅含量

Fig. 6 The Pb content of fungus-added tall fescue under the only Pb pollution

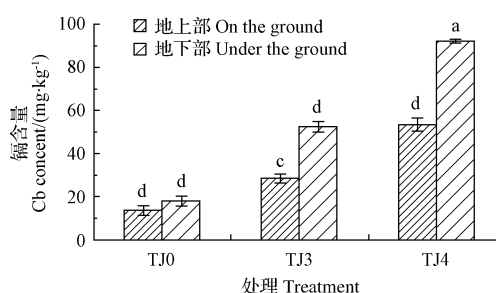


图 7 镉单独污染下添加菌后高羊茅镉含量

Fig. 7 The Pb content of fungus-added tall fescue under the only Cd pollution

2.3.2 Pb、Cd 污染土壤的联合修复 由图 8 可知,添加微生物高羊茅对 Pb、Cd 积累在一定程度上有很大的促进作用。在重金属污染的处理过程中,微生物-高羊茅的联合作用比高羊茅单独作用效果更加明显,彼此之间产生协同作用,在一定程度上促进高羊茅对铅、镉的吸收。杨卓^[16]研究表明,添加抗重金属菌株,能够促进高羊茅

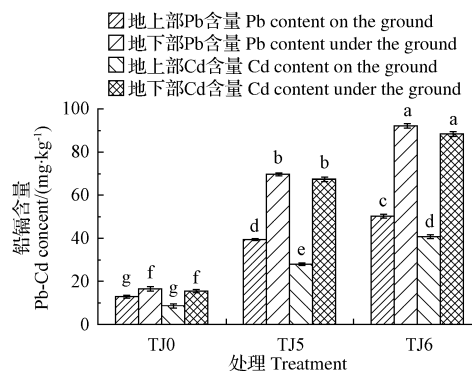


图 8 铅镉的双重污染下添加菌后高羊茅铅镉含量

Fig. 8 The Pb and Cd content of fungus-added tall fescue under the mixed Pb and Cd pollution

的生长,促进土壤中 Pb、Cd、Zn 的活化,增强高羊茅对 Pb、Cd、Zn 提取量,提高高羊茅的吸附效果。江春玉等^[17]将筛选得到的抗 Cd 菌株接种到含 Cd 浓度为 200 mg/kg 的土壤中并种植番茄进行富集试验,结果表明,接种的植株比不接种的植株其有效 Cd 含量及植株吸收 Cd 含量同比增加 46.3%和 107.8%。

3 结论

微生物-植物修复联合修复充分发挥植物与微生物修复的各自优势,利用植物和微生物的共存体系提高植物修复效率。该试验研究了高羊茅对 Pb、Cd 的富集特征,利用 Pb、Cd 抗性菌株 JB13 和高羊茅对 Pb、Cd 污染土壤进行组合修复。该研究结果表明,菌株 JB13 能促进高羊茅生物量增加($P < 0.05$)。高羊茅对重金属有一定的吸附能力,且地下部的吸附量高于地上部。菌株 JB13 与高羊茅联合吸附土壤中的重金属,高羊茅的地下部积累量高于地上部。高羊茅对单一重金属污染土壤的修复能力强于复合重金属污染土壤的修复能力。综合分析可以看出,高羊茅与抗性菌株 JB13 联合时富集重金属能力强于高羊茅单一富集重金属的能力。

参考文献

- [1] 刘刊,王波,权俊娇,等. 土壤重金属污染修复研究进展[J]. 北方园艺,2012(22):189-194.
- [2] 王伟霞,李福后,王文锋,等. 微生物在土壤污染中的生物修复作用[J]. 北方园艺,2010(4):208-211.
- [3] DMUCHOWSKI W,GOZDOWSKI D,BRGOSZEWSKA P,et al. Phytoremediation of zinc contaminated soils using silverbirch (*Betula pendula* Roth)[J]. Ecological Engineering,2014,71:32-35.
- [4] 杨卓,王伟,李博文,等. 高羊茅和黑麦草对污染土壤 Cd、Pb、Zn 的富集特征[J]. 水土保持学报,2008,22(2):83-87.
- [5] 赵汝,韩烈保,曾会明. 铅胁迫下转 Dreb1a 高羊茅对铅的吸收与耐受性研究[J]. 中国草地学报,2010,32(2):54-60.
- [6] JIN Z M,SHA W,ZHANG Y F,et al. Isolation of *Burkholderia cepacia* (JB12) from lead and cadmium-contaminated soil and its potential in promoting phytoremediation with tall fescue and red clover[J]. Canadian Journal of Microbiology(SCD),2013,59(7):449-455.
- [7] 吴卿,高亚洁,李东梅,等. 高羊茅对河道底泥中复合重金属污染的修复[J]. 水土保持学报,2012,26(6):219-223.
- [8] 金忠民,沙伟,刘丽杰,等. 铅镉抗性菌株 JB11 强化植物对污染土壤中铅镉的吸收[J]. 生态学报,2014,34(11):2900-2906.
- [9] 曹灿. ICP-AES 法测定蔬菜和土壤中的 As、Cd、Pb、Cr、Zn 及污染程度评价的研究[D]. 长沙:中南大学,2012.
- [10] 刘爱荣,张远兵,张雪平,等. 铅污染对高羊茅生长、无机离子分布和铅积累量的影响[J]. 核农学报,2009,23(1):128-133.
- [11] LIU D H,JIANG W S,LIU C J,et al. Uptake and accumulation of lead by roots, hypocotyls and shoots of Indian mustard (*Brassica juncea*) [J]. Bioresource Technology,2000,71(3):273-277.
- [12] SUN L,LIAO X Y,YAN X L,et al. Evaluation of heavy metal and polycyclic aromatic hydrocarbons accumulation in plants from typical industrial sites: Potential candidate in phytoremediation for co-contamination[J]. Environmental Science and Pollution Research,2014,21:12494-12504.
- [13] 杨柳,李广枝,童倩倩,等. Pb²⁺、Cd²⁺ 胁迫作用下蚯蚓、菌根菌及其联合作用对植物修复的影响[J]. 贵州农业科学,2010,38(11):156-158.
- [14] TAK H I,AHMAD F,BABALOLA O O. Advances in the application of plant growth-promoting rhizobacteria in phytoremediation of heavy metals [J]. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology,2013,223:33-52.
- [15] WEYENS N,BECKERS B,SHELLINGEN K,et al. The potential of the Ni-Resistant TCE-Degrading pseudomonas putida W619-TCE to reduce phytotoxicity and improve phytoremediation efficiency of poplar cuttings on a Ni-TCE co-contamination[J]. International Journal of Phytoremediation,2015(17):40-48.
- [16] 杨卓. Cd、Pb、Zn 污染潮褐土的植物修复及其强化技术研究[D]. 保定:河北农业大学,2009.
- [17] 江春玉,盛下放,何琳燕,等. 一株铅镉抗性菌株 WS34 的生物学特性及其对植物修复铅镉污染土壤的强化作用[J]. 环境科学学报,2008,28(10):1961-1968.

Resistant Strains of JB13 Enhanced Enrichment of Lead and Cadmium in Tall Fescue

JIN Zhongmin,LI Dan,PAN Lin,ZHU Kun,LIU Lijie,ZHAO Jingtong

(College of Life Science and Agriculture and Forestry, Qiqihar University, Qiqihar, Heilongjiang 161006)

Abstract: In order to find a more effective way of the restoration of heavy metal contaminated soil, Pb, Cd resistant strain (JB13) combined with *Festuca arundinace* was used as the experimental material, the effects of the combined-restoration of plant with microbes were studied. The results showed that the biomass of the *Festuca arundinace* was decreased by Pb, Cd and the inhibition was stronger of the above-ground parts of the plants than that of the under-ground parts and the inhibition of Cd to the *Festuca arundinace* was stronger than that of the Pb. The ability to accumulate the single heavy metal Pb or Cd as well as the combined heavy metal Pb and Cd was both stronger of the above-ground parts of *Festuca arundinace* than that of the under-ground parts. Pb, Cd resistant strain (JB13) could improve the ability of the accumulation of heavy metals of the *Festuca arundinace*.

Keywords: tall fescue; Pb and Cd resistant strain; heavy metal