

产酸细菌巨大普里斯特氏菌(*Priestia megaterium*) QBS-B2 的分离鉴定及其对土壤镉的活化效果

陈超^{1,2}, 谢运河², 戴良英¹, 罗卓^{2,3}, 高鹏^{1,2,3}, 陈梓勋^{2,3}, 崔新卫^{2,3},
褚飞^{2,3}, 李向荣^{2*}, 鲁耀雄^{1,2,3*}

- 1 湖南农业大学 植物保护学院, 湖南 长沙
- 2 湖南省农业科学院耕地与农业环境生态研究所, 湖南 长沙
- 3 长沙市新型肥料工程技术研究中心, 湖南 长沙

陈超, 谢运河, 戴良英, 罗卓, 高鹏, 陈梓勋, 崔新卫, 褚飞, 李向荣, 鲁耀雄. 产酸细菌巨大普里斯特氏菌(*Priestia megaterium*) QBS-B2 的分离鉴定及其对土壤镉的活化效果[J]. 微生物学报, 2026, 66(6): 2845-2862.

CHEN Chao, XIE Yunhe, DAI Liangying, LUO Zhuo, GAO Peng, CHEN Zixun, CUI Xinwei, CHU Fei, LI Xiangrong, LU Yaoxiong. Isolation and identification of an acid-producing bacterium *Priestia megaterium* QBS-B2 and evaluation of its activation effect on soil cadmium[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(6): 2845-2862.

摘要:【目的】针对超富集植物修复镉污染土壤效率偏低这一技术瓶颈, 筛选能够高效活化土壤镉的微生物菌株。【方法】采集湖南省各地存在镉污染风险的耕地土壤, 采用以溴甲酚紫为指示剂的变色圈法初筛产酸细菌, 比较各菌株发酵液的 pH 值、氯化镉耐受性及碳酸镉活化效果, 获得优势菌株并进行菌种鉴定。在此基础上, 进一步筛选出具有应用潜力的菌株, 通过摇瓶试验研究不同碳氮源处理下该菌株对土壤镉的解吸效果, 并利用盆栽培养试验分析不同营养条件下其对土壤镉的活化作用。【结果】采用溴甲酚紫变色圈法获得了 372 株产酸细菌, 通过研究不同产酸细菌的平板变色圈直径(D)与菌落直径(d)的比值(D/d)、发酵液 pH、氯化镉耐受性及碳酸镉活化试验, 筛选出 HT-B1、HTQ-B1、QBS-B2、MY-B1 等 4 株优异菌株, 经分子生物学鉴定分别为表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、人葡萄球菌(*Staphylococcus hominis*)、巨大普里斯特氏菌(*Priestia megaterium*)、不动杆菌(*Acinetobacter* sp.)。依据微生物肥料安全标准优选出菌株 QBS-B2, 其发酵液 pH 最低可达 3.65, 对碳酸镉的活化率为 92.27%。以葡萄糖为碳源、氯化铵为氮源有利于提高菌株 QBS-B2 对土壤镉的解吸效果, 镉浓度可达 170.77 $\mu\text{g/L}$, 比 CK 提高了 66.5 倍, 对土壤镉的解吸率为 46.21%。菌株 QBS-B2 能显著提高土壤有效镉和有效磷含量, 其中配施复合肥可提高菌株 QBS-B2 对土壤镉的活化效果, 土壤镉活化率为 17.37%, 而配施有机肥则显著促进菌株

资助项目: 国家重点研发计划(2022YFD1700100); 湖南省农业科技创新资金(2025CX65)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2022YFD1700100) and the Agricultural Science and Technology Innovation Fund of Hunan Province (2025CX65).

*Corresponding authors. E-mail: LI Xiangrong, lixiangrong9999@163.com; LU Yaoxiong, luyaoxiong09@163.com

Received: 2025-11-28; Accepted: 2026-01-26; Published online: 2026-03-11

在土壤中的定殖与生长,使土壤有效磷含量提高 5.9 倍。【结论】本研究为开发以菌株 *P. megaterium* QBS-B2 为核心的活镉微生物菌剂和生物有机肥提供了优异的菌种资源,为生物强化超富集植物移除修复镉污染土壤提供了理论基础和应用潜力。

关键词: 镉污染土壤; 产酸细菌; 分离鉴定; 巨大普里斯特氏菌; 有效镉

Isolation and identification of an acid-producing bacterium *Priestia megaterium* QBS-B2 and evaluation of its activation effect on soil cadmium

CHEN Chao^{1,2}, XIE Yunhe², DAI Liangying¹, LUO Zhuo^{2,3}, GAO Peng^{1,2,3}, CHEN Zixun^{2,3}, CUI Xinwei^{2,3}, CHU Fei^{2,3}, LI Xiangrong^{2*}, LU Yaoxiong^{1,2,3*}

1 College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan, China

2 Institute of Agricultural Soil and Eco-Environment, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan, China

3 Changsha New Fertilizer Engineering Technology Research Center, Changsha, Hunan, China

Abstract: [Objective] To screen the microbial strains capable of efficiently activating soil cadmium, addressing the technical bottleneck of low efficiency in cadmium-contaminated soil remediation by hyperaccumulators. [Methods] Farmland soils with potential Cd contamination were collected from various locations in Hunan Province. Acid-producing bacteria were initially screened *via* the bromocresol purple discoloration method. The pH of the fermentation broth, cadmium chloride tolerance, and cadmium carbonate activation capacity were compared among strains to identify dominant strains, which were then subjected to species identification. On this basis, bacterial strains with application potential were further screened. The desorption effect of the selected strain on soil cadmium under different carbon and nitrogen sources was investigated through shake flask experiments. Pot experiments were carried out to analyze the activation effect on soil cadmium under different nutrient conditions. [Results] A total of 372 acid-producing bacterial strains were isolated *via* the bromocresol purple discoloration method. Through comprehensive screening based on the ratio of the discoloration zone diameter (D) to the colony diameter (d) on solid plates, fermentation broth pH, cadmium chloride tolerance, and cadmium carbonate activation assays, four elite strains, designated HT-B1, HTQ-B1, QBS-B2, and MY-B1, were selected. They were identified as *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Priestia megaterium*, and *Acinetobacter* sp., respectively, based on molecular evidence. In accordance with microbial fertilizer safety standards, strain QBS-B2 was prioritized for further study. This strain exhibited a minimum fermentation broth pH of 3.65 and achieved a cadmium carbonate activation rate of 92.27%. Culture with glucose as the carbon source and ammonium chloride as the nitrogen source were found to be optimal for enhancing cadmium desorption from

soil by strain QBS-B2. Under these conditions, the soluble cadmium concentration reached 170.77 $\mu\text{g/L}$, which was 66.5 times higher than that of the control group, corresponding to a soil cadmium desorption rate of 46.21%. Furthermore, strain QBS-B2 significantly increased the content of available cadmium and available phosphorus in the soil. The application of compound fertilizer enhanced the cadmium activation of QBS-B2, resulting in a soil cadmium activation rate of 17.37%. The application of organic fertilizer significantly promoted the colonization and growth of the strain in the soil and increased the available phosphorus content by 5.9 times compared with the control. **[Conclusion]** This study provides elite microbial resources for the development of cadmium-activating microbial inoculants and bio-organic fertilizers based on *P. megaterium* QBS-B2. Furthermore, it establishes a theoretical foundation and demonstrates application potential for bio-augmented phytoextraction in the remediation of cadmium-contaminated soils.

Keywords: cadmium-contaminated soil; acid-producing bacteria; isolation and identification; *Priestia megaterium*; available cadmium

镉(cadmium, Cd)是土壤中普遍存在的一种重金属元素,在自然条件下,土壤中镉含量处于较低水平。随着工农业的快速发展,人类活动导致的镉污染土壤面积不断增加,尤其是耕地土壤镉污染问题尤为突出^[1]。据统计^[2],在中国五大粮食主产区中耕地土壤重金属点位超标率为 21.49%,其中 Cd 污染耕地点位超标率高达 17.39%,耕地镉污染是自然条件与人类活动共同作用的结果,其中人为因素占据主导地位,主要来源于化肥农药等农业物资的长期不合理使用、污水灌溉以及人为源的大气沉降^[3-5]。土壤镉迁移性较强、生物毒性高,易被作物吸收、富集,过量镉积累会引起叶绿体和线粒体退化、抑制 DNA 修复、刺激氧化应激反应和诱导细胞死亡等^[6],进而造成农作物减产甚至绝收。镉通过农产品进入食物链,在人体内富集可引发慢性中毒、肺癌、心血管疾病和肾功能障碍等人体健康问题^[7]。因此,土壤镉污染已成为威胁粮食安全和公众健康的重大环境问题^[8],对其开展修复治理工作刻不容缓。

目前,耕地土壤镉污染的原位修复主要采用 2 种策略:钝化修复和减量化修复^[9]。钝化修复是通过向镉污染土壤中施加功能微生物、硅酸盐化合物、磷酸盐化合物、金属氧化物、碱性材料、生物炭等^[10-11],固化或稳定化土壤镉,

从而降低其在土壤中的生物有效性和迁移率^[12]。钝化修复方式成本低、操作简单、见效快,但仅能暂时抑制镉的生物有效性,存在二次活化风险^[13],而减量化修复依赖超富集植物对镉的吸收、积累与移除,能够逐步降低土壤中镉的总量^[14]。然而,该技术的效果常因土壤中镉的生物有效性低而受限^[15]。为提高修复效率,常辅以物理、化学、微生物或农艺调控等强化手段。其中,微生物强化措施具有生态环保、不会产生二次污染的优点,微生物联合超富集植物强化移除重金属镉已成为生物修复污染土壤的研究热点^[16-17]。土壤微生物通过代谢活动产生氨基酸、有机酸(如草酸、乙酸、柠檬酸、苹果酸等),提高镉的生物有效性,促进超富集植物根系对镉的吸收累积^[18-19]。低分子有机酸在土壤环境中可改变根际土壤理化性状,促进土壤中镉的溶解,提高镉在土壤中的生物有效性^[20-21],同时还能溶解土壤中植物所需的营养元素,有助于植物对养分的吸收^[22],从而加强超富集植物对污染土壤镉的吸收和移除。杨卓等^[23]研究发现巨大普里斯特氏菌(*Bacillus megaterium*, 现名 *Priestia megaterium*)和胶胨样类芽孢杆菌(*Paenibacillus mucilaginosus*)能产生多种低分子量的有机酸(苹果酸、酒石酸、草酸等),活化土壤镉,改变镉在土壤中的生物有效

性, 进而促进芥菜对镉的吸收, 提高了土壤镉的修复效率。因此, 如何筛选挖掘出高产产酸菌以增强污染土壤重金属镉的生物有效性, 再联合超富集植物对其进行移除修复是耕地镉污染土壤原位减量化修复的关键技术途径。

本研究从湖南省各地存在镉污染风险的耕地土壤中采集样品, 以溴甲酚紫为指示剂, 通过梯度稀释涂布平板法分离筛选产酸菌(菌落周围具有明显变色圈的菌株即为产酸菌), 进一步选取发酵液 pH 较低的产酸菌进行镉耐受和镉活化试验, 获得兼具耐镉和活镉能力较强的优异菌株进行菌种鉴定, 并探索其对土壤镉的活化效果, 以期为生物强化超富集植物减量化修复镉污染土壤提供优异菌株和理论基础。

1 材料与方 法

1.1 材 料

样品来源于湖南省各地存在镉污染风险的耕地土壤, 用无菌密封袋包装好后置于有冰袋的泡沫箱中带回实验室, 临时保存在 4 °C 冰箱中尽快分离筛选产酸菌。

高镉污染土壤采集于七宝山矿区附近(28°09'N, 113°52'E)的耕地土壤, 经除杂、风干、研磨后过 20 目标准筛, 密封保存备用, 用于产酸菌活化土壤镉的小盆试验。高镉污染土壤基本理化性质如下: 有机质 42.2 g/kg, 全氮 2.45 g/kg, 全磷 1.43 g/kg, 全钾 15.5 g/kg, 碱解氮 231 mg/kg, 有效磷 28.0 mg/kg, 速效钾 192 mg/kg, 全镉 3.57 mg/kg, 有效镉 2.06 mg/kg, pH 5.4。

有机肥(长沙飞宇生物肥业有限公司): 利用牛粪、秸秆等经高温发酵腐熟生产的牛粪有机肥。其基本理化性质: 有机质 532.35 g/kg, 全氮 1.15 g/kg, 全磷 1.61 g/kg, 全钾 1.33 g/kg, 全镉 0.6 mg/kg, pH 7.89。

1.2 培 养 基

牛肉膏蛋白胨固体培养基(g/L)^[24]: 牛肉膏 3.0, 蛋白胨 10.0, NaCl 5.0, 琼脂 20.0 (液体培

养基无此项), pH 值 7.2±0.2, 121 °C 灭菌 30 min。

产酸菌筛选固体培养基(g/L, 优化培养基配方)^[25]: 葡萄糖 6.0, 酵母膏 1.0, 蛋白胨 1.0, CaCO₃ 1.0, NaCl 0.3, KCl 0.3, MgSO₄·7H₂O 0.3, 1.6% 溴甲酚紫溶液 3 滴, 琼脂 20.0, pH 7.2±0.2, 121 °C 灭菌 20 min。

产酸菌固体培养基(g/L): 葡萄糖 6.0, 酵母膏 1.0, 蛋白胨 1.0, CaCO₃ 1.0, NaCl 0.3, KCl 0.3, MgSO₄·7H₂O 0.3, 琼脂 20.0 (液体培养基无此项), pH 7.2±0.2, 121 °C 灭菌 20 min。

蒙金娜无机磷液体培养基(g/L)^[26]: 葡萄糖 10.00, Ca₃(PO₄)₂ 5.00, (NH₄)₂SO₄ 0.50, MgSO₄·7H₂O 0.30, NaCl 0.30, KCl 0.30, FeSO₄·7H₂O 0.03g, MnSO₄·7H₂O 0.03, 酵母膏 0.40, pH 7.0–7.5, 121 °C 灭菌 20 min。

1.3 产酸细菌的筛选

1.3.1 溴甲酚紫变色圈法初筛产酸细菌^[25]

取采集的土壤样品 5 g 置于装有 45 mL 无菌水的 150 mL 锥形瓶中, 180 r/min 培养 30 min, 然后采用稀释涂布平板法, 分别吸取 10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵ 这 3 个稀释梯度的菌悬液各 0.1 mL, 均匀涂布于产酸菌固体培养基表面, 每稀释度涂布 4 个平板, 将平板倒置于 30 °C 恒温培养箱培养 2 d。由于植物病原菌中真菌占比最高, 且真菌菌种制备菌剂时相比细菌更为繁琐, 本研究仅筛选产酸细菌。在产酸菌筛选固体培养基上挑选出具有明显黄色变色圈的细菌单菌落(即为目标产酸细菌), 经多次划线培养获得细菌纯菌株, 将菌落大小、颜色和边缘形状一致的细菌归为同种菌。菌株编号以地名(拼音首字母)+微生物类型(细菌简写 B)+数字进行编号(如在浏阳七宝山土壤中分离到第一株产酸细菌, 则编号为 QBS-B1)。将获得的产酸细菌菌株编号后, 于 -80 °C 超低温冰箱中保存备用。

将筛选出具有明显黄色变色圈的纯菌株分别点接到产酸菌固体培养基上, 置入 30 °C 的培养箱中培养 2 d, 采用十字交叉法测定不同菌株的变色圈直径(*D*)和菌落直径(*d*), 并计算变色圈

直径(D)与菌落直径(d)的比值(D/d)。选取 D/d 比较大的菌株接种到产酸菌液体培养基中, 每菌株设 3 个生物学重复, 置于 30 °C、180 r/min 培养 2 d 后, 用酸度计(上海仪电科学仪器股份有限公司)测定菌株发酵液的 pH 值。

1.3.2 产酸细菌对 Cd^{2+} 的耐受试验

用氯化镉($CdCl_2$)配制 Cd^{2+} 浓度为 1 000 mg/L 的母液, 经 0.22 μm 的无菌滤膜过滤除菌后, 按所需比例添加至已灭菌的牛肉膏蛋白胨固体培养基中, 制备 Cd^{2+} 浓度分别为 5、10、15、20 mg/L 的含镉牛肉膏蛋白胨固体培养基, 以未添加 Cd^{2+} 的牛肉膏蛋白胨固体培养基作为对照。将优选的菌株分别点样到含镉牛肉膏蛋白胨固体培养基上, 每株菌在单个平板上设 4 个样点(以平板中心为圆点, 采用十字交叉在距圆点 2.5 cm 的位置点样), 每株菌在每个 Cd^{2+} 浓度下设 3 个平板, 置于 30 °C 恒温培养箱中培养 5 d。选择每菌株在同一 Cd^{2+} 浓度平板上具有代表性的 3 个菌落, 采用十字交叉法, 使用游标卡尺测定并记录产酸细菌的菌落直径, 并按公式(1)计算不同 Cd^{2+} 浓度对产酸细菌生长的菌落抑制率(colony inhibition rate, CIR)。

$$\text{菌落抑制率(CIR)} =$$

$$\frac{\text{对照组菌落直径}(D) - \text{处理组菌落直径}(d)}{\text{对照组菌落直径}(D)} \times 100\% \quad (1)$$

1.3.3 产酸菌对磷酸三钙与碳酸镉的活化效果

将菌株分别接入到牛肉膏蛋白胨液体培养基中, 30 °C、180 r/min 培养 2 d, 制成产酸细菌菌液备用(菌体浓度为 10^9 CFU/mL, 下同)。将产酸细菌菌液以体积分数 2% 接种到装有 50 mL 的蒙金娜无机磷液体培养基的 150 mL 三角瓶中, 以未接种产酸细菌的蒙金娜无机磷液体培养基为空白对照, 每菌株设 3 次重复, 置于 30 °C、180 r/min 的恒温摇床中培养 3 d 后, 发酵液经 10 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液, 测定其 pH, 并采用碳酸氢钠提取-钼锑抗比色法测定有效磷^[27]测定上清液的有效磷, 并按公式(2)

计算不同产酸细菌对磷活化率^[28] (phosphorus activation rate, PAR)。

$$\text{磷活化率(PAR)} =$$

$$\frac{\text{菌株处理的有效磷总量} - \text{对照的有效磷总量}}{\text{液体培养基加入磷酸三钙中磷总量}} \times 100\% \quad (2)$$

同时, 将各产酸细菌菌液按体积分数 2% 接种到含 0.02 g/L 碳酸镉($CdCO_3$, 土壤碳酸盐结合态 Cd 性质与碳酸镉的性质类似, 易被酸性物质活化成可交换态且占比较大, 约为土壤镉含量的 25%, 其转化成可交换态 Cd 是研究产酸细菌有效活化土壤镉的关键)的产酸菌液体培养基中, 以未接种产酸细菌的含碳酸镉($CdCO_3$)的产酸菌液体培养基作为空白对照, 具体操作步骤与方法同上述产酸菌对磷酸三钙的活化试验一致。培养结束后, 收集发酵液上清液, 分别测定其 pH 值, 并采用原子吸收分光光度计(atomic absorption spectrophotometry, AAS)测定上清液中 Cd^{2+} 含量, 并按公式(3)计算不同产酸细菌对镉活化率^[29] (cadmium activation rate, CAR)。

$$\text{镉活化率(CAR)} =$$

$$\frac{\text{菌株处理的水溶态镉总量} - \text{对照的水溶态镉总量}}{\text{液体培养基加入碳酸镉中镉总量}} \times 100\% \quad (3)$$

1.4 产酸细菌的菌种鉴定

1.4.1 分子生物学鉴定

以细菌 16S rRNA 基因通用引物 27F (5'-AG AGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GG TTACCTTGTTACGACTT-3') 进行 PCR 扩增。PCR 反应体系 (20 μL): ddH₂O 13.0 μL , 上、下游引物 (10 $\mu mol/L$) 各 0.4 μL , Taq DNA 聚合酶 (5 U/ μL) 0.2 μL , DNA 模板 2.0 μL , 10 \times PCR Buffer 2.0 μL , dNTPs 混合物 2.0 μL 。PCR 反应条件: 94 °C 预变性 3 min; 94 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 共 30 个循环; 72 °C 终延伸 10 min; 4 °C 保温终止^[30]。PCR 产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳 (120 V, 30 min) 检测, 确认片段大小符合预期后, 送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行双向测

序, 序列经 SeqMan 软件拼接校正。将拼接序列通过 NCBI 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)进行 BLAST 序列比对, 在 GenBank 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>)中下载高同源性参考菌株序列后, 借助 MEGA 7.0 软件以邻接法(neighbor-joining method)构建菌株的系统发育树, 依据序列相似性及系统发育关系确定目标菌株的分类地位。

1.4.2 产酸细菌菌落菌体形态学观察

经分子生物学鉴定后, 参考《微生物肥料质量安全评价通用准则》^[31], 选取无安全风险且镉活化能力强的菌株, 划线接种于牛肉膏蛋白胨固体培养基上, 置于 30 °C 恒温培养箱中静置培养, 观察并记录单菌落的大小、颜色、透明度、边缘特征、湿润度、菌落凸起或凹陷等特征。挑取单菌落进行革兰氏染色, 用光学显微镜(10×100 油镜)观察菌体形态、大小及排列方式, 并记录相关结果。

1.5 不同碳氮源条件下产酸细菌 QBS-B2 对土壤镉的解吸效果

水溶态镉具有较高的生物有效性, 迁移性强, 可直接被植物根系吸收。了解不同碳氮源条件下产酸细菌 QBS-B2 对土壤镉的解吸效果, 有利于促进植物对镉的吸收利用。将优选的产酸细菌 QBS-B2 接种于牛肉膏蛋白胨液体培养基中, 30 °C 振荡培养 48 h 制作菌液。试验设计以产酸菌液体培养基为基础, 分别以 6.0 g/L 的麦芽糖、蔗糖、可溶性淀粉、酵母膏、牛肉膏替换产酸菌液体培养基中的葡萄糖, 同时设置产酸菌液体培养基加菌株 QBS-B2 和产酸菌液体培养基不加菌株 QBS-B2 为对照, 共 7 个处理。各处理添加 50 g/L 的镉污染土壤制成培养液, 并用 150 mL 三角瓶装 50 mL, 经高温灭菌后, 按 2% 接种量接入 QBS-B2 菌液, 每处理设置 3 个平行。将三角瓶置于 30 °C、180 r/min 的恒温摇

床中振荡培养 3 d。发酵液在 8 000 r/min 条件下离心 10 min, 收集上清液, 测定其 pH 值和 Cd^{2+} 浓度。

以产酸菌液体培养基为基础, 选取上述碳源试验中对土壤镉解吸效果最佳的碳源进行添加, 分别以 2.0 g/L 的硫酸铵、氯化铵、尿素、硝酸钾、复合氨基酸、蛋白胨替代产酸液体培养基中作为氮源的 1.0 g/L 酵母膏与 1.0 g/L 蛋白胨; 以不含菌株 QBS-B2 的基础产酸菌液体培养基作为对照, 共 7 个处理。具体操作步骤与方法同碳源试验, 培养结束后收集上清液, 测定其 pH 值和 Cd^{2+} 浓度。

1.6 不同条件下产酸细菌 QBS-B2 对土壤镉的活化效果

利用圆台形小盒开展产酸细菌 QBS-B2 对镉污染土壤的活化试验, 设 8 个处理。(1) 对照(CK): 不做任何处理; (2) 有机肥处理(OF): 添加有机肥 50 g/kg (有机肥的添加量为 4 500 kg/hm², 油菜 90 000 兜/hm², 按照有机肥料穴施与每兜油菜 1 kg 的根区土壤混合进行折算用量, 与镉污染土壤均匀混合, 下同); (3) 复合肥处理(CF): 添加 10 g/kg 复合肥(按照复合肥的添加量为 900 kg/hm² 折算, 复合肥总养分为 45%, N:P₂O₅:K₂O=18:10:12, 由尿素、硫酸铵、氯化铵、氯化钾等化肥原料经过滚筒造粒而成, 下同); (4) 营养液处理(NS): 将上述试验中解吸土壤镉效果最佳的碳源和氮源种类添加到产酸液体培养基中, 作为产酸菌的营养液, 营养液的添加量为 10 mL/kg; (5) 菌剂处理(BA): 添加 2 mL/kg 的产酸细菌 QBS-B2 (按照菌体的添加量为 180 L/hm² 折算, 菌体浓度 10⁹ CFU/mL, 下同); (6) 菌剂+有机肥处理(BAOF): 添加 2 mL/kg 菌剂和 50 g/kg 有机肥; (7) 菌剂+复合肥处理(BACF): 添加 2 mL/kg 菌剂和 10 g/kg 复合肥; (8) 菌剂+营养液处理(BANS): 添加 2 mL/kg 菌剂和 10 mL/kg 营养液, 每处理设

3 次重复。试验圆台形小盒上、下底内径 8.90 cm×7.12 cm, 内高 4.15 cm, 底部开有小孔, 每盒装土量为 150 g, 装土深度约为 3.8 cm, 所有处理置于 30 °C 恒温培养箱中培养 7 d 后测定相关指标。土壤 pH 值采用土水比 1:5 浸提法测定^[27], 土壤有效磷含量采用碳酸氢钠提取-钼锑抗比色法测定, 土壤中产酸菌 QBS-B2 的菌体浓度采用产酸菌筛选培养基, 通过稀释涂布平板法计数, 土壤有效态镉含量采用二乙三胺五乙酸(diethylenetriaminepentaacetic acid, DTPA) 浸提剂提取, 用原子吸收分光光度计测定^[32]。

1.7 数据统计分析

试验数据采用 WPS Office 2020 和 SAS 8.1 软件进行统计分析, 采用最小显著差异法(least significant difference, LSD)进行多重比较, 采用 Origin 2017 软件制图, 用 MEGA 7.0 软件构建菌株系统发育树。

2 结果与分析

2.1 变色圈法分离筛选产酸细菌

以产酸菌筛选固体培养基作为选择培养基, 分离筛选产酸细菌。从不同地方采集的 218 个土壤样品中共获得 372 株具有明显变色圈的细菌。其中, D/d 比值大于 2.00 的菌株有 17 株, 其 D/d 比值和产酸菌液体培养基发酵液 pH 见表 1。产酸细菌中变色圈直径最大的是菌株 MY-B1 (图 1A), 为 27.18 mm; 其次是菌株 WN-B1, 为 26.92 mm; 最小的是菌株 LK-B1, 为 8.20 mm。其中, 菌株 MY-B1 和 WN-B1 的变色圈直径显著高于其他菌株。菌落直径最大的是菌株 WN-B1, 为 13.17 mm; 其次是菌株 GQ-B2, 为 9.05 mm; 最小的是菌株 HT-B1, 为 1.98 mm。其中, 菌株 WN-B1 的菌落直径显著高于其他菌株。 D/d 比值最大的是菌株 MY-B1, 为 7.82; 其次是菌株 HTQ-B1, 为 7.70; 最小的是菌株 QBS-B4, 为

表1 不同产酸细菌的变色圈 D/d 比值和pH情况

Table 1 The D/d ratio of chromogenic zones and pH values of different acid-producing bacteria

Strain number	D/mm	d/mm	D/d ratio	pH
HT-B1	11.73±0.20h	1.98±0.13l	5.93±0.34b	3.82±0.08ef
HTQ-B1	24.08±0.48b	3.13±0.18k	7.70±0.29a	3.69±0.13f
XT-B1	13.32±0.33g	6.08±0.15f	2.19±0.05gh	4.33±0.01c
OJC-B1	15.88±0.23e	7.03±0.12d	2.26±0.07fgh	4.43±0.02c
QST-B1	16.15±0.26e	6.63±0.03e	2.43±0.05efg	4.68±0.11b
QST-B2	19.40±0.74c	8.08±0.12c	2.40±0.08efg	3.96±0.01de
BS-B1	19.48±0.63c	8.13±0.08c	2.40±0.07efg	3.98±0.35de
BS-B2	23.40±0.58b	7.08±0.10d	3.30±0.10c	4.64±0.14b
GQ-B1	18.48±0.08d	7.18±0.14d	2.57±0.06de	4.64±0.10b
GQ-B2	19.58±1.02c	9.05±0.20b	2.16±0.11gh	3.83±0.01ef
MTB-B1	13.07±0.13g	5.55±0.15g	2.36±0.07efg	4.43±0.02c
WN-B1	26.92±0.38a	13.17±0.29a	2.04±0.03h	5.09±0.03a
LK-B1	8.20±0.26j	4.05±0.40i	2.04±0.21h	4.13±0.01d
QBS-B2	14.72±0.10f	5.37±0.10g	2.74±0.03d	4.03±0.02d
QBS-B4	12.70±0.44g	6.37±0.23f	2.00±0.06h	4.94±0.17a
ML-B3	11.00±0.50i	4.37±0.13h	2.52±0.04def	4.13±0.01d
MY-B1	27.18±0.10a	3.48±0.20j	7.82±0.46a	3.20±0.03g

Values are means±SE ($n=3$); Different lowercase letters after data in the same column indicate significant differences among treatments ($P<0.05$). The same below.

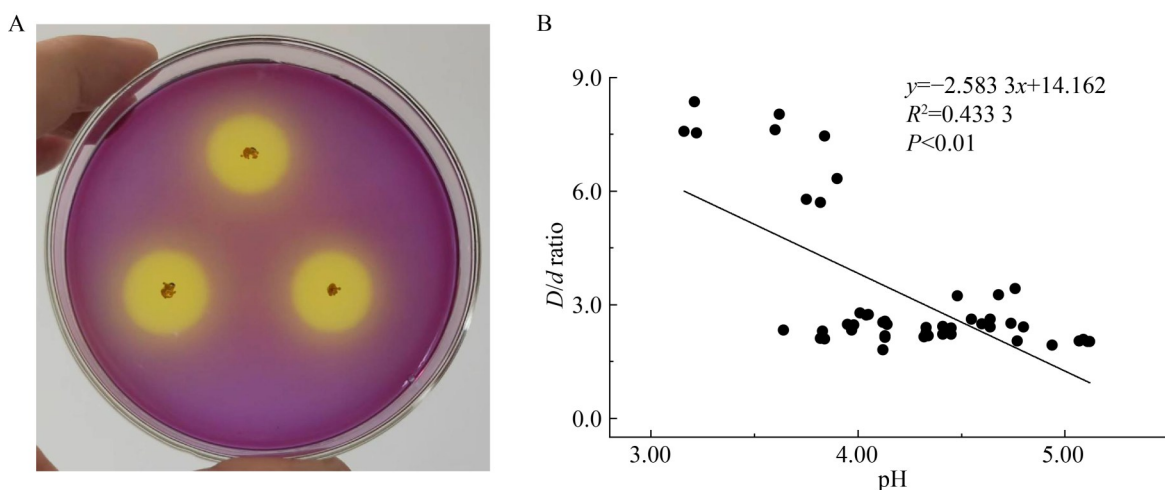


图1 产酸细菌的分离筛选及产酸特性分析

Figure 1 Isolation, screening and acid production characteristics of acid-producing bacteria. A: Chromogenic circle produced by strain MY-B1 on acid-producing screening solid medium; B: Linear correlation between the D/d ratio and fermentation broth pH of different acid-producing bacteria.

2.00。其中，菌株 MY-B1 和 HTQ-B1 的 D/d 比值显著高于其他菌株。产酸细菌发酵液的 pH 以菌株 MY-B1 最低，为 3.20；次低的分别为菌株 HTQ-B1、HT-B1 和 GQ-B2，分别为 3.69、3.82 和 3.83。其中，菌株 MY-B1 发酵液的 pH 显著低于其他菌株。不同产酸细菌接种到产酸菌液体培养基后，其发酵液 pH 与在产酸菌筛选固体培养基中的 D/d 比值呈极显著线性相关($P < 0.01$ ，图 1B)，说明可通过变色圈直径与菌落直径的 D/d 比值来表征产酸细菌的产酸能力，据此选取发酵液 pH 低于 4.20 的 9 株产酸细菌开展耐镉试验。

2.2 不同产酸细菌的耐镉能力

产酸细菌在不同 Cd^{2+} 浓度条件下的生长情况见表 2。在 10 mg/L Cd^{2+} 浓度条件下，菌株 GQ-B2 和 LK-B1 的生长被完全抑制，无明显的菌落；而 5 mg/L Cd^{2+} 浓度时这 2 株菌均未被完全抑制，因此 5 mg/L Cd^{2+} 浓度为这 2 株菌的最高耐镉浓度。在 15 mg/L Cd^{2+} 浓度条件下，菌株 QST-B2、BS-B1 的生长被完全抑制，无明显的菌落；而 10 mg/L Cd^{2+} 浓度下这 2 株菌均未被完全抑制，所以 10 mg/L Cd^{2+} 浓度为这 2 株菌的最

高耐镉浓度。在 20 mg/L Cd^{2+} 浓度条件下，菌株 HT-B1、QBS-B2、ML-B3 和 MY-B1 的生长被完全抑制，无明显的菌落；而 15 mg/L Cd^{2+} 浓度时这 4 株菌均未被完全抑制，因此 15 mg/L Cd^{2+} 浓度为这 4 株菌的最高耐镉浓度。在不同 Cd^{2+} 浓度条件下，菌株 HTQ-B1 的生长受到抑制较小，菌落相对较大。选取在 10 mg/L Cd^{2+} 胁迫条件下可正常生长的 7 株产酸细菌，开展其对磷酸三钙与碳酸镉的活化效果研究。

2.3 产酸细菌对磷酸三钙与碳酸镉的活化效果

产酸细菌对磷酸三钙与碳酸镉的活化效果见表 3。在蒙金娜无机磷液体培养基中，发酵液 pH 最低的是菌株 MY-B1，为 4.32；其次是菌株 QST-B2，为 4.94，菌株 MY-B1 的发酵液 pH 显著低于其他菌株。PAR 值最高的是 MY-B1，为 17.13%；其次是 QST-B2，为 7.18%，菌株 MY-B1 对磷酸三钙的 PAR 值显著高于其他菌株。在含有碳酸镉的产酸菌液体培养基中，发酵液 pH 最低的是菌株 MY-B1，为 3.30；其次是菌株 QBS-B2 和 HTQ-B1，分别为 3.65 和 3.68，

表2 产酸细菌在不同镉浓度条件下的生长情况

Table 2 The CIR and growth status of acid-producing bacteria under different cadmium concentration conditions

Strain number	5 mg/L		10 mg/L		15 mg/L		20 mg/L	
	CIR/%	Growth status	CIR/%	Growth status	CIR/%	Growth status	CIR/%	Growth status
HT-B1	26.76±1.29d	+++	48.61±1.66c	+++	73.24±1.08d	++	100.00±0.00a	-
HTQ-B1	1.86±0.67g	++++	5.51±0.61f	++++	8.33±1.08f	++++	17.39±1.84b	++++
QST-B2	87.37±0.54b	+	94.09±0.09b	+	100.00±0.00a	-	100.00±0.00a	-
BS-B1	92.36±0.08a	+	95.79±0.31b	+	100.00±0.00a	-	100.00±0.00a	-
GQ-B2	87.32±0.95b	+	100.00±0.00a	-	100.00±0.00a	-	100.00±0.00a	-
LK-B1	76.63±0.48c	+	100.00±0.00a	-	100.00±0.00a	-	100.00±0.00a	-
QBS-B2	4.48±0.53f	++++	32.00±2.29e	+++	76.11±0.63c	+	100.00±0.00a	-
ML-B3	27.71±0.51d	+++	35.71±0.11d	+++	87.88±0.22b	+	100.00±0.00a	-
MY-B1	16.72±0.22e	++++	48.20±0.06c	+++	69.44±1.28e	++	100.00±0.00a	-

The growth of the strain is indicated by the CIR value, ++++ indicates 0≤CIR<25%; +++ indicates 25%≤CIR<50%; ++ indicates 50%≤CIR<75%; + indicates 75%≤CIR<100%; - indicates CIR=100%.

表3 产酸细菌在不同培养基条件下的活磷率和活镉率

Table 3 Phosphorus solubilization rate and cadmium activation rate of acid-producing bacteria under different culture media conditions

Number	Inorganic medium		Cd-containing medium	
	pH	PAR/%	pH	CAR/%
CK	7.11±0.01b	0.00±0.00g	6.76±0.10a	9.57±1.38f
HT-B1	5.28±0.15de	2.13±0.02e	4.84±0.08c	86.37±6.23b
HTQ-B1	7.21±0.03a	0.66±0.01f	3.68±0.03f	95.75±2.19a
QST-B2	4.94±0.01g	7.18±0.02b	6.11±0.07b	35.58±4.55e
BS-B1	5.19±0.03ef	5.28±0.05c	4.15±0.03e	48.11±2.73d
QBS-B2	5.30±0.01d	4.33±0.10d	3.65±0.09f	92.27±1.85ab
ML-B3	6.47±0.03c	0.57±0.01f	4.52±0.03d	58.93±4.70c
MY-B1	4.32±0.02h	17.13±0.43a	3.30±0.06g	96.50±1.76a

菌株 MY-B1 的发酵液 pH 显著低于其他菌株。CAR 值最高的是菌株 MY-B1, 为 96.50%; 其次是菌株 HTQ-B1 和 QBS-B2, 分别为 95.75% 和 92.27%, 菌株 MY-B1、HTQ-B1 和 QBS-B2 的 CAR 值相差不显著, 它们都显著高于其他菌株。因此, 选取 CAR 值超过 85.00% 的 4 株产酸细菌进行菌种鉴定。同时, 建立活磷率和活镉率与 pH 的相关性(图 2), 其中活磷率与 pH 的相关

方程为 $y = -4.1345x + 28.111$ ($R^2 = 0.633, P < 0.01$), 活镉率与 pH 的相关方程为 $y = -22.478x + 172.524$ ($R^2 = 0.700, P < 0.01$)。产酸细菌的活磷率、活镉率与其 pH 呈极显著负相关($P < 0.01$), 说明产酸细菌的产酸强弱(即 pH 高低)是其活磷活镉能力的主要因素。

2.4 产酸细菌的菌种鉴定

将菌株的 16S rRNA 基因序列输入到 NCBI 数据库中进行 BLAST 相似性比对分析, 获得产酸细菌的种属信息, 见表 4。菌株 HT-B1 和菌株 HTQ-B1 属于葡萄球菌属, 为革兰氏阳性球菌, 是条件致病菌, 用于生产菌剂存在环境安全风险; 菌株 QBS-B2 属于芽孢杆菌属, 为革兰氏阳性杆菌, 能够形成芽孢抵御不利环境, 有利于保存和载体互配制备菌剂; 菌株 MY-B1 属于不动杆菌属, 为革兰氏阴性球杆菌, 是条件致病菌, 并且菌株在自然条件下很容易死亡, 不利于保存。根据菌株 BLAST 相似性比对信息和微生物肥料质量安全评价要求, 优选 QBS-B2 为产酸活镉目标菌株。以菌株 QBS-B2 的 16S rRNA 基因序列同源性为基础, 从结果中选取 11 株具有代表性的菌株(比对序列长度为 1 261-1 497 bp, 其中菌株 *Streptomyces fradiae*

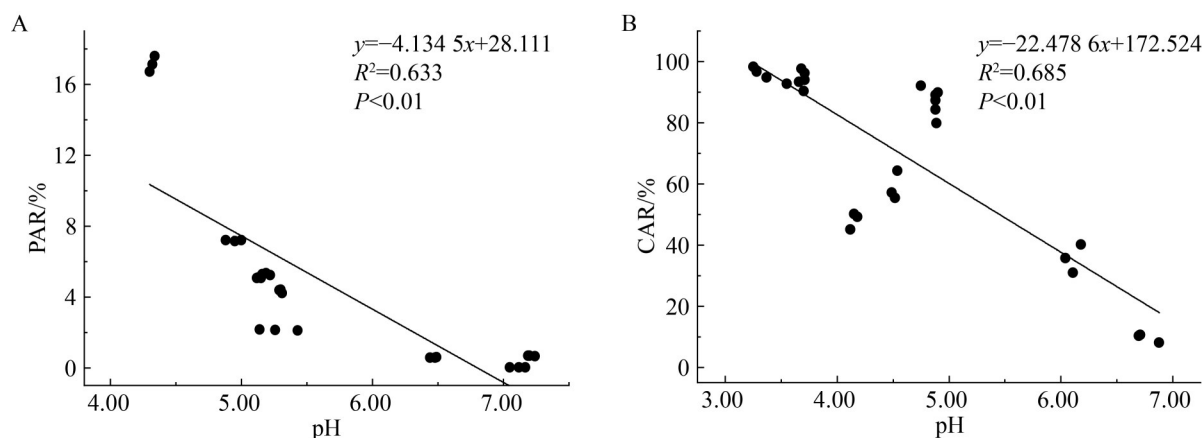


图2 产酸细菌的活磷率和活镉率与pH的相关性

Figure 2 Correlation between phosphorus activation rate and cadmium activation rate of the acid-producing bacteria and pH. A: Correlation between phosphorus activation rate and pH; B: Correlation between cadmium activation rate and pH.

表4 产酸细菌的BLAST比对结果

Table 4 BLAST alignment results of different acid-producing bacteria

Strain number	Length of 16S rRNA gene sequence/bp	The species with the highest BLAST similarity
HT-B1	1 455	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
HTQ-B1	1 453	<i>Staphylococcus hominis</i>
QBS-B2	1 454	<i>Priestia megaterium</i>
MY-B1	1 443	<i>Acinetobacter</i> sp.

A3 作为外群设置), 采用 MEGA 7.0 软件构建该菌株的系统发育树(bootstrap 重复检测 1 000 次)。菌株 QBS-B2 的遗传进化与芽孢杆菌属的距离最近, 与已知菌株 *Priestia megaterium* L36 (KU179342.1) 和 *Priestia megaterium* DK2 (MK318796.1) 处于一个最小的分支, 同源性达到 100% (图 3), 可以确定菌株 QBS-B2 为巨大普里斯特氏菌(*Priestia megaterium*)。

将菌株 QBS-B2 接种到牛肉膏蛋白胨固体培养基上, 在 30 °C 条件下培养 3 d 形成的纯培养物(图 4A、4B)具有如下特征: 菌落为乳白色, 无光泽, 不透明, 表面干燥、扁平起皱, 边缘不规则。经革兰氏染色后, 显微镜下观察发现菌株 QBS-B2 菌体呈蓝紫色, 芽孢无色透明, 杆状, 末端圆, 单个或呈短链排列, 大小为

(1.2–1.5) $\mu\text{m} \times$ (2.0–4.0) μm , 芽孢椭圆形, 中生或次端生。

2.5 不同碳氮源条件下产酸细菌 QBS-B2 对土壤镉的解吸效果

不同碳源对产酸细菌 QBS-B2 发酵液 pH 及土壤镉解吸效果的影响如图 5A 所示。在供试碳源中, 蔗糖组发酵液 pH 最低, 为 5.48, 蔗糖组发酵液 pH 显著低于其余处理($P < 0.05$); 麦芽糖与葡萄糖组 pH 次之, 牛肉膏组 pH 最高。从土壤镉的解吸效果分析, 葡萄糖组发酵液中镉浓度最高, 为 72.84 $\mu\text{g/L}$, 其发酵液镉浓度显著高于其他处理($P < 0.05$), 较 CK 提升 32.41 倍, 对土壤镉的解吸率为 19.53%; 蔗糖组次之, 发酵液镉浓度为 63.66 $\mu\text{g/L}$, 较 CK 提升 28.20 倍, 解吸率为 17.06%, 酵母膏组发酵液镉浓度最低。

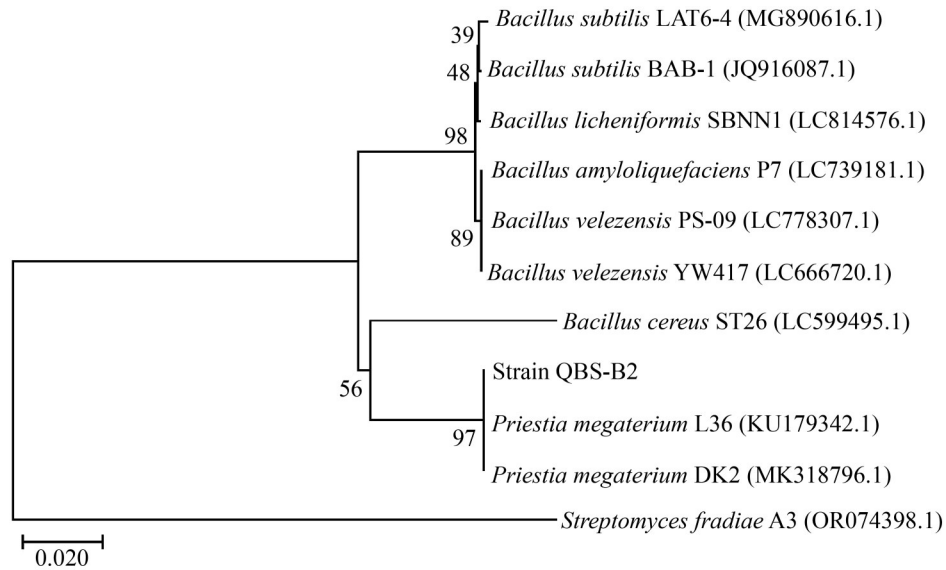


图3 菌株QBS-B2基于16S rRNA基因序列构建的系统发育树

Figure 3 Phylogenetic tree based on the 16S rRNA gene sequence of QBS-B2.

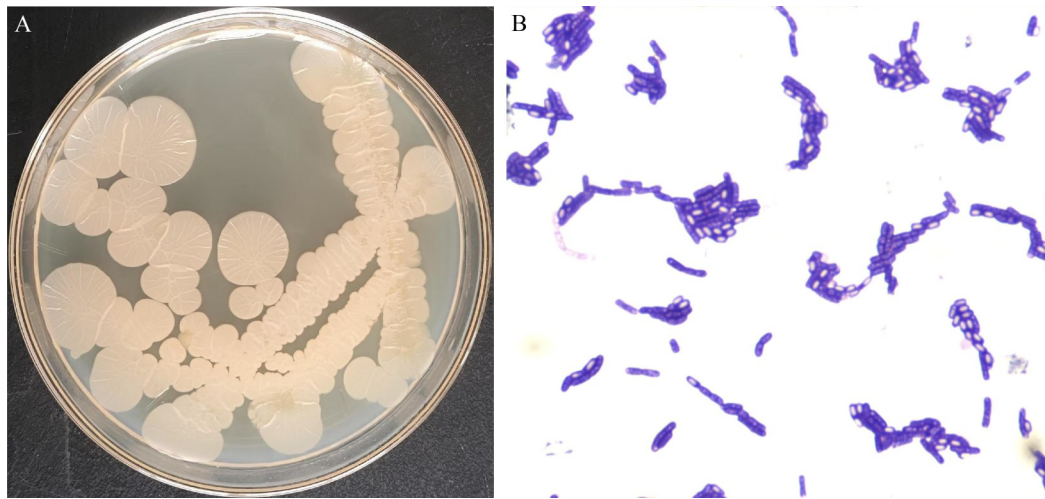


图4 菌株QBS-B2的菌落和菌体形态特征

Figure 4 Colonial and cellular morphology of strain QBS-B2. A: Colonial morphology of strain QBS-B2; B: Observation under light microscope with oil immersion (1 000×).

不同氮源对菌株 QBS-B2 发酵液 pH 及镉解吸效果的影响如图 5B 所示。供试氮源中，硫酸铵组发酵液 pH 最低，为 4.43，其发酵液 pH 显著低于其他处理 ($P < 0.05$)；氯化铵组发酵液 pH 次之，尿素组发酵液 pH 最高。土壤镉的解吸效果显示，氯化铵组发酵液镉浓度最高，为 170.77 $\mu\text{g/L}$ ，其发酵液镉浓度显著高于其余处理

($P < 0.05$)，较 CK 提升 66.50 倍，土壤镉的解吸率为 46.21%；硫酸铵组次之，其发酵液镉浓度为 134.48 $\mu\text{g/L}$ ，较 CK 提升 52.15 倍，解吸率为 36.22%，尿素组发酵液镉浓度最低。

综上所述，在本研究试验条件下，产酸细菌 QBS-B2 对土壤镉的解吸效果以葡萄糖为碳源、氯化铵为氮源表现最佳。

2.6 产酸细菌 QBS-B2 对土壤镉的活化效果

不同处理条件下产酸细菌 QBS-B2 对土壤镉的活化效果见表 5。土壤的 pH 以 BANS 最低，为 5.46；其次是 CK，为 6.06；最高为 OF 和 BAOF，分别为 7.53 和 7.36。土壤中产酸细菌的数量以 BAOF 为最多，为 3.7×10^7 CFU/g，其次是 BANS，为 1.4×10^7 CFU/g，最少是 CK，为 0.3×10^5 CFU/g。其中，BAOF 的产酸细菌数量

显著高于其他处理($P < 0.05$)，BANS 的产酸细菌数量显著高于除 BAOF 的其他处理。土壤中有有效磷含量以 BAOF 为最高，为 143.75 mg/kg；其次是 BACF、OF 和 CF，分别为 116.24、116.01 和 110.61 mg/kg；最低是 NS，为 21.12 mg/kg。其中，BAOF 的有效磷含量显著高于其他处理，与 CK 相比土壤有效磷含量提高了 5.9 倍；BACF、OF 和 CF 的有效磷含量相差不显著，但均显著高于除 BAOF 的其他处理($P < 0.05$)。土壤中有有效镉含量以 BACF 为最高，为 2.47 mg/kg；

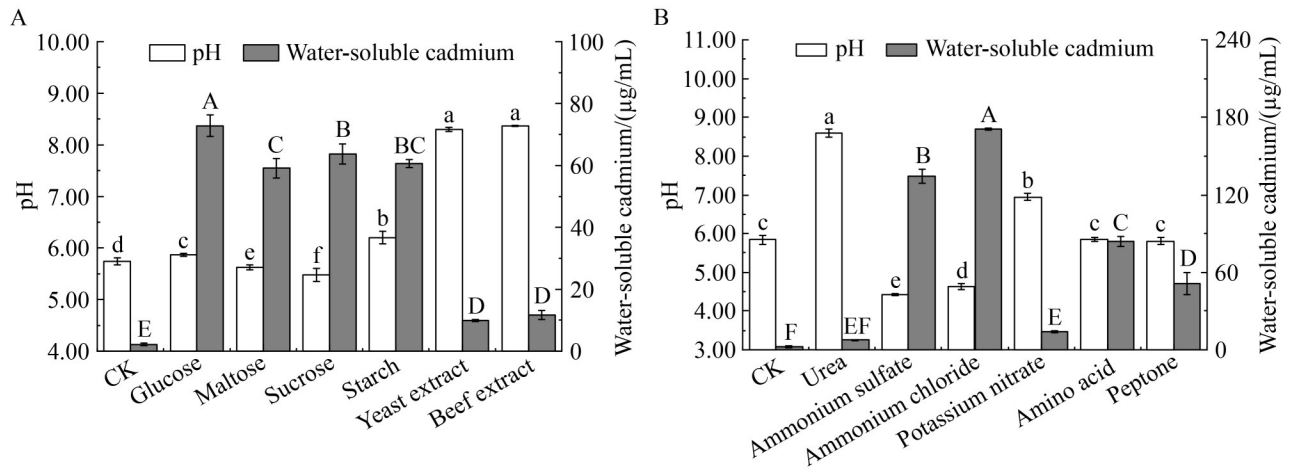


图5 不同碳源(A)、氮源(B)条件下产酸细菌QBS-B2对土壤镉的解吸效果

Figure 5 Desorption of soil cadmium by the acid-producing bacterium QBS-B2 under different carbon (A) and nitrogen (B) source conditions. Different lowercase letters above the bars indicate significant differences in pH among treatments ($P < 0.05$), while different uppercase letters above the bars indicate significant differences in water-soluble cadmium concentrations among treatments ($P < 0.05$).

表5 产酸细菌QBS-B2对土壤磷镉的活化效果

Table 5 Activation effect of acid-producing bacterium QBS-B2 on soil phosphorus and cadmium

Treatments	pH	Acid-producing bacteria/ ($\times 10^6$ CFU/g)	Available phosphorus/ (mg/L)	Available cadmium/ (mg/kg)	CAR/%
CK	6.06 \pm 0.04de	0.03 \pm 0.02d	24.28 \pm 0.71cd	1.85 \pm 0.05f	—
OF	7.53 \pm 0.08a	0.13 \pm 0.04d	116.01 \pm 8.05b	1.89 \pm 0.05ef	1.25
CF	6.20 \pm 0.07d	0.09 \pm 0.03d	110.61 \pm 1.39b	1.99 \pm 0.03de	3.69
NS	5.95 \pm 0.07e	0.27 \pm 0.04d	21.12 \pm 0.68d	2.05 \pm 0.04cd	5.62
BA	6.17 \pm 0.04d	3.03 \pm 0.57cd	30.31 \pm 1.10c	1.99 \pm 0.03de	3.80
BAOF	7.36 \pm 0.11b	37.00 \pm 4.58a	143.75 \pm 12.95a	2.12 \pm 0.05bc	7.62
BACF	6.48 \pm 0.08c	4.47 \pm 0.57c	116.24 \pm 1.91b	2.47 \pm 0.16a	17.37
BANS	5.46 \pm 0.10f	14.00 \pm 4.36b	33.13 \pm 1.29c	2.22 \pm 0.02b	10.38

其次是 BANS, 为 2.22 mg/kg; 最低是 CK, 为 1.85 mg/kg。其中, BACF 的有效镉含量显著高于其他处理($P < 0.05$)。土壤的 CAR 值以 BACF 为最高, 为 17.37%; 其次为 BANS 和 BAOF, 分别为 10.38%、7.62%。试验数据表明, 在镉污染的土壤中喷洒 QBS-B2 菌剂配施有机肥最有利于促进产酸细菌的生长繁殖, 喷洒 QBS-B2 菌剂配施复合肥最有利于提高产酸细菌对土壤镉的活化效率。

3 讨论与结论

土壤不仅是人类赖以生存的关键自然资源, 更是维系农产品供给、保障粮食安全的物质基础。镉(Cd)作为一种高毒性重金属元素, 具有易迁移、隐蔽性强、易生物富集的特点, 是危害耕地土壤环境质量和农产品安全的主要污染物。土壤镉的生物毒性不仅取决于土壤总镉的含量, 更与其在土壤中的化学形态及生物有效性密切相关。根据 Tessier 分级法, 土壤中镉的化学形态分为可交换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态、有机结合态、残渣态^[33], 其存在形态直接关系到其生物有效性的差异^[34]。多数作物对 Cd 的吸收量与土壤中总镉及有效态镉含量呈显著正相关^[35-37]。其中, 可交换态 Cd 可直接被生物吸收, 而碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态及有机结合态 Cd 属于潜在有效态, 在特定条件下可转化为可交换态。据邓继宝等^[38]、邓朝阳等^[39]对 15 个土壤样品的分析, 不同形态 Cd 的平均占比依次为: 可交换态(43.36%)>碳酸盐结合态(26.54%)>残渣态(18.75%)>铁锰氧化物结合态(7.32%)>有机结合态(4.02%)。其中, 可交换态 Cd 生物有效性最高, 易被植物吸收利用; 铁锰氧化物态 Cd 主要在还原条件下释放; 有机物结合态 Cd 释放依赖有机质降解, 过程缓慢; 残渣态的 Cd 与沉积物结合最为稳定, 生物有效性极低^[40]; 而碳酸盐结合态 Cd 占比高且具有显著活化潜力, 促进其向可交换态转化, 是土壤镉污染修复(特别是活化移除技术)的关键。研究

表明, 土壤 pH 值是影响镉形态分布的关键因子。可交换态与碳酸盐结合态 Cd 具有较高的生物有效性, 且后者极易随 pH 变化发生迁移转化, 当土壤 pH<5.0 时易转化为可交换态 Cd^[41-42]。鉴于碳酸盐结合态 Cd 对 pH 高度敏感, 利用产酸微生物降低根际 pH 是活化土壤镉的有效途径。本研究采用溴甲酚紫(BCP)指示剂筛选培养基(pH<5.2 变黄), 从土壤中定向筛选并获得一株高产酸细菌 QBS-B2。经鉴定, 该菌株为 *P. megaterium*, 其最高耐 Cd²⁺ 浓度为 15 mg/L。发酵实验表明, QBS-B2 在含磷酸三钙或碳酸镉的培养基中可将 pH 分别降至 5.30 和 3.65, 对应的溶磷率为 5.28%, 镉活化率高达 92.27%。这说明产酸细菌 QBS-B2 主要通过分泌酸性物质(具体分泌何种或几种酸性物质有待下一步探究)降低溶液 pH, 从而对磷酸三钙、碳酸镉进行有效活化。这一结果与大量研究结论一致, 即产酸微生物可通过分泌小分子有机酸降低环境 pH, 从而将难溶态镉转化为可溶态^[43-47]。周雪芳^[48]利用筛选的溶磷菌对 CdCO₃ 进行活化, 发现阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)、不动杆菌(*Acinetobacter sp.*)、大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*)、荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)、克雷伯氏菌(*Klebsiella sp.*)对 CdCO₃ 的活化能力较强, 溶镉量在 27.65–38.23 mg/L 之间, 活镉率在 70.89%–98.02%。与之相比, 本研究筛选的 QBS-B2 展现出了接近最高水平的镉活化能力(92.27%)。更为重要的是, QBS-B2 属于安全性较高的芽孢杆菌, 相比上述报道中的部分条件致病菌, 其在配合超富集植物进行土壤重金属镉活化移除方面具有更优异的应用潜力。

在重金属镉污染的土壤中, 一部分微生物通过吸附、矿化、沉淀等方式降低镉的生物有效性, 从而缓解镉污染; 一部分微生物通过代谢作用能够产生草酸、乙酸、柠檬酸、乳酸等多种低分子有机酸, 增加了土壤中镉的生物有效性^[49-52], 并且利用微生物的促生、活化等作

用提高超富集植物对 Cd^{2+} 的吸收从而达到去除土壤重金属镉的目的。周雪芳^[48]通过代谢组学分析发现, 荧光假单胞菌(*P. fluorescens*)依靠葡萄糖酸对 CdCO_3 的进行溶解活化, 镉活化率为 42.4%, 而蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)主要产生丙酮酸和乙醇酸。反硝化琼斯氏菌(*Listeria denitrificans*)、环状芽孢杆菌(*Bacillus circulans*)和格雷氏李斯特氏菌(*Listeria grayi*)能够分泌草酸、酒石酸、苹果酸等低分子量有机酸, 这些酸类物质提高了土壤中 Cd 的生物有效性, 促进了印度芥菜对重金属 Cd 的吸收累积^[23]。有机酸拥有一个或多个羧基($-\text{COOH}$), 根据羧基的解离性质和数目, 有机酸携带一个或多个负电荷^[18]。有机酸通过自身的吸附改变土壤表面的电荷性质来影响重金属离子的吸附, 同时有机酸阴离子可与重金属阳离子形成稳定络合物^[53], 从而提高重金属镉在土壤中的生物有效性。有机酸还可以降低土壤对磷的吸附能力, 使磷复合物解离为有效磷, 增加磷素有效性, 促进植物生长, 从而提高超富集植物的生物量和产量^[22], 增强植物对重金属的富集效果, 使其镉移除效率增加^[54]。此外, 微生物产生的铁载体、表面活性剂也对土壤中的重金属镉具有活化作用。两者活化重金属镉是通过其分子结构中的功能基团与 Cd^{2+} 形成可溶性络合物, 提高重金属镉的溶解度以增加植物的吸收^[55]。荧光假单胞菌生产的铁载体对不同结合态镉的活化率为 22.0%–48.3%^[56], 而熊蜂生斯塔莫酵母(*Starmerella bombicola*)产生的表面活性剂对土壤的镉去除率为 83.6%^[57]。因此, 微生物可以利用其代谢产物对土壤重金属镉进行活化去除, 具有可再生、易降解、无残留的特点, 不会形成二次污染, 使其在土壤重金属镉的污染治理方面具有广阔的应用前景。

土壤重金属镉的原位减量化修复常采用微生物或合理施肥等方式联合超富集植物进行修复, 这是一类环境友好、可持续的生物修复技术^[58]。施肥不仅能改善土壤肥力、促进植物生

长及生物量积累, 还能通过调控土壤微环境影响镉的形态转化, 加强植物对镉的吸收富集, 从而达到强化移除修复的目的。有机肥富含氮、磷、钾等大量元素和钙、铁等微量元素, 能为土壤微生物提供丰富的碳源和能源, 促进微生物生长繁殖, 提高土壤细菌数量和多样性^[59]。本研究中, 有机肥的施用能够显著增加产酸细菌 QBS-B2 的数量, 有利于菌株 QBS-B2 对土壤镉的活化效果, 提高土壤镉的生物有效性。同时, 施用有机肥能提高土壤有机质含量^[60]。有机质在分解的过程中会产生多种有机酸, 因此土壤 pH 值与有机质含量常呈负相关关系^[61-62]; 与此同时, 在堆肥过程中有机肥内部也会产生大量的低分子有机酸。有机质分解导致的酸化和堆肥本身所含的低分子有机酸均能有效活化土壤中的碳酸盐结合态镉, 进而增加有效态镉的含量。长期施用化肥可以显著降低农田土壤 pH, 尤其在旱地上降低幅度最大^[63]。本研究中复合肥含有 NH_4Cl 和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 能显著促进 Cd 的溶出, 主要是 NH_4Cl 和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 能降低土壤 pH^[64], 促使土壤中铁锰氧化物结合态 Cd 向可交换态及碳酸盐结合态 Cd 转化, 增加 Cd 的有效性^[65]。复合肥的 Cl^- 阴离子还能够与 Cd 发生络合反应^[66], 增加土壤镉的溶出, 提高了有效镉的含量。在镉污染的土壤中喷洒 QBS-B2 菌剂配施有机肥最有利于促进产酸细菌的生长繁殖, 喷施菌株 QBS-B2 配施复合肥可以显著提高土壤有效镉含量。基于此, 下一步工作将致力于研发负载 QBS-B2 的生物有机肥, 并配合化肥施用, 构建“生物有机肥-化肥-超富集植物”协同修复体系, 多方联合移除修复镉污染土壤。

作者贡献声明

陈超: 试验设计、操作及论文撰写; 谢运河: 提供技术支持、参与论文讨论; 戴良英: 实验指导, 参与论文讨论; 罗卓、高鹏: 协助实验操作; 陈梓勋: 数据收集; 崔新卫、褚飞: 提供技术支持; 李向荣: 提供技术支持、参与论文讨论、实验指导; 鲁耀雄:

试验设计、实验指导、审阅、论文修改。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] 宋伟, 陈百明, 刘琳. 中国耕地土壤重金属污染概况[J]. 水土保持研究, 2013, 20(2): 293-298.
Song W, Chen BM, Liu L. Soil heavy metal pollution of cultivated land in China[J]. Research of Soil and Water Conservation, 2013, 20(2): 293-298 (in Chinese).
- [2] 尚二萍, 许尔琪, 张红旗, 黄彩虹. 中国粮食主产区耕地土壤重金属时空变化与污染源分析[J]. 环境科学, 2018, 39(10): 4670-4683.
Shang EP, Xu EQ, Zhang HQ, Huang CH. Spatial-temporal trends and pollution source analysis for heavy metal contamination of cultivated soils in five major grain producing regions of China[J]. Environmental Science, 2018, 39(10): 4670-4683 (in Chinese).
- [3] Shi TR, Zhang YY, Gong YW, Ma J, Wei HY, Wu X, Zhao L, Hou H. 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.
- [4] 齐菲, 付同刚, 高会, 刘金铜. 污水灌溉农田土壤镉污染研究进展[J]. 生态与农村环境学报, 2022, 38(1): 10-20.
Qi F, Fu TG, Gao H, Liu JT. Review on cadmium pollution from sewage irrigation in farmland soil[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2022, 38(1): 10-20 (in Chinese).
- [5] Peng H, Chen YL, Weng LP, Ma J, Ma YL, Li YT, Islam MS. Comparisons of heavy metal input inventory in agricultural soils in North and South China: a review[J]. Science of the Total Environment, 2019, 660: 776-786.
- [6] Dukić - Ćosić D, Baralić K, Javorac D, Djordjevic AB, Bulat Z. An overview of molecular mechanisms in cadmium toxicity[J]. Current Opinion in Toxicology, 2020, 19: 56-62.
- [7] Nawrot TS, Staessen JA, Roels HA, Munters E, Cuypers A, Richart T, Ruttens A, Smeets K, Clijsters H, Vangronsveld J. Cadmium exposure in the population: from health risks to strategies of prevention[J]. BioMetals, 2010, 23(5): 769-782.
- [8] Wang P, Chen HP, Kopittke PM, Zhao FJ. Cadmium contamination in agricultural soils of China and the impact on food safety[J]. Environmental Pollution, 2019, 249: 1038-1048.
- [9] 李艳梅, 刘士余, 曾珍英, 涂向文, 刘长征, 张嵌. 强化植物提取修复镉污染耕地的研究进展[J]. 环境科学与技术, 2024, 47(6): 225-236.
Li YM, Liu SY, Zeng ZY, Tu XW, Liu CZ, Zhang Q. Research progress on enhanced phytoextraction of cadmium-contaminated farmland[J]. Environmental Science & Technology, 2024, 47(6): 225-236 (in Chinese).
- [10] 肖粤. 某重金属污染地块周边农用地土壤钝化修复治理实验研究[D]. 衡阳: 南华大学, 2024.
Xiao Y. Experimental study on soil passivation remediation and treatment of agricultural land around a heavy metal polluted polt[D]. Hengyang: University of South China, 2024 (in Chinese).
- [11] 李剑睿, 徐应明, 林大松, 梁学峰, 孙约兵, 王林. 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 JR, Xu YM, Lin DS, Liang XF, Sun YB, Wang L. *In situ* immobilization remediation of heavy metals in contaminated soils: a review[J]. Ecology and Environment Sciences, 2014, 23(4): 721-728 (in Chinese).
- [12] 刘志豪, 胡宇聪, 张家鹏, 高大林, 张国漪, 鲁洪娟. 不同钝化剂对镉污染稻田的修复效果比较[J]. 华中农业大学学报, 2024, 43(3): 176-184.
Liu ZH, Hu YC, Zhang JP, Gao DL, Zhang GY, Lu HJ. Comparison of remediation effects of different passivators on cadmium-contaminated rice paddy[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2024, 43(3): 176-184 (in Chinese).
- [13] 杨帅, 李远, 涂晨, 司绍诚, 朱侠, 负豪, 李连祯, 骆永明. 柠檬酸对污染棕壤中镉的去除优化及结合形态影响[J]. 环境科学学报, 2021, 41(7): 2868-2876.
Yang S, Li Y, Tu C, Si SC, Zhu X, Yun H, Li LZ, Luo YM. Optimization of cadmium removal from and speciation in contaminated brown soil using citric acid[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2021, 41(7): 2868-2876 (in Chinese).
- [14] Lin H, Liu CJ, Li B, Dong YB. *Trifolium repens* L. regulated phytoremediation of heavy metal contaminated soil by promoting soil enzyme activities and beneficial rhizosphere associated microorganisms[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 402: 123829.
- [15] 魏树和, 周启星. 重金属污染土壤植物修复基本原理及强化措施探讨[J]. 生态学杂志, 2004, 23(1): 65-72.
Wei SH, Zhou QX. Discussion on basic principles and strengthening measures for phytoremediation of soils contaminated by heavy metals[J]. Chinese Journal of Ecology, 2004, 23(1): 65-72 (in Chinese).
- [16] 于海跃, 陈成, 郭一珂, 张丹凤, 米捷. 土壤污染的植物修复及其强化技术专利文献分析[J]. 自然资源情报, 2023(11): 50-57.
Yu HY, Chen C, Guo YK, Zhang DF, Mi J. Patent literature analysis of phytoremediation and its enhanced technology for soil contamination[J]. Natural Resources Information, 2023(11): 50-57 (in Chinese).
- [17] 樊小磊, 高柏. 重金属污染土壤的植物修复机理及其强化技术[J]. 工业安全与环保, 2023, 49(11): 97-103.
Fan XL, Gao B. Mechanisms and enhancement techniques for phytoremediation of heavy metal contaminated soils[J]. Industrial Safety and Environmental Protection, 2023, 49(11): 97-103 (in Chinese).
- [18] Jones DL. Organic acids in the rhizosphere—a critical review[J]. Plant and Soil, 1998, 205(1): 25-44.
- [19] Sheng XF, Xia JJ, Jiang CY, He LY, Qian M. Characterization of heavy metal-resistant endophytic

- bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 156(3): 1164-1170.
- [20] Fischer K, Bipp HP. Removal of heavy metals from soil components and soils by natural chelating agents. part II. soil extraction by sugar acids[J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2002, 138(1/2/3/4): 271-288.
- [21] 王敏, 徐甜甜, 李强, 尹俊华. 重金属污染土壤的微生物修复机理与技术[J]. *唐山学院学报*, 2011, 24(3): 43-45.
Wang M, Xu TT, Li Q, Yin JH. Mechanisms and techniques of bioremediation of heavy metal polluted soils[J]. *Journal of Tangshan College*, 2011, 24(3): 43-45 (in Chinese).
- [22] 张默涵. 低分子量有机酸肥对半干旱区土壤养分提升效果的研究[D]. 阜新: 辽宁工程技术大学, 2024.
Zhang MH. Study on impact of low molecular organic acid fertilizer on soil nutrient enhancement in semi-arid regions[D]. Fuxin: Liaoning Technical University, 2024 (in Chinese).
- [23] 杨卓, 陈婧, 李术娜. 土壤中产酸菌的筛选及其对重金属生物有效性影响[J]. *环境科学与技术*, 2014, 37(12): 78-84.
Yang Z, Chen J, Li SN. Screening of organic acids producing microbes and their effects on the phytoremediation of soils contaminated with heavy metals[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 37(12): 78-84 (in Chinese).
- [24] 穆晓清, 鲁耀雄, 戴良英, 黄国林, 陈薇, 张桦邨, 韦晨曦. 贝莱斯芽孢杆菌 YFB3-1 对辣椒疫霉的抑菌效果及其抑菌物质[J]. *农业生物技术学报*, 2024, 32(4): 859-872.
Mu XQ, Lu YX, Dai LY, Huang GL, Chen W, Zhang JY, Wei CX. Antibacterial effect of *Bacillus velezensis* YFB3-1 on *Phytophthora capsici* and its antibacterial substances[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2024, 32(4): 859-872 (in Chinese).
- [25] 刘敏, 张丽香, 牛天贵. 产酸芽孢杆菌的筛选及鉴定[J]. *山西农业大学学报(自然科学版)*, 2008, 28(1): 26-29.
Liu M, Zhang LX, Niu TG. Screening and identification of *Bacillus* spp. that produce acid[J]. *Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2008, 28(1): 26-29 (in Chinese).
- [26] 易艳梅. 细菌溶磷作用及其对磷矿粉重金属释放和小麦盐胁迫的缓解[D]. 南京: 南京农业大学, 2007.
Yi YM. Dissolving phosphorus, releasing heavy metals from phosphate rock and alleviating wheat salt-stress by phosphate solubilizing bacteria[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2007 (in Chinese).
- [27] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
Bao SD. *Soil and Agricultural Chemistry Analysis*[M]. 3rd Edition. Beijing: China Agriculture Press, 2000 (in Chinese).
- [28] 周芸, 李永梅, 张仁礼, 曾婕, 达布希拉图. 生物炭、木醋液对磷尾矿堆肥进程及磷活化的影响[J]. *云南农业大学学报(自然科学)*, 2019, 34(3): 509-515.
Zhou Y, Li YM, Zhang RL, Zeng J, Dabuxilatu. The effect of biochar and pyrolytic on the composting process of phosphorus tailings and activating phosphorus[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 2019, 34(3): 509-515 (in Chinese).
- [29] 池耀威, 王晓雅, 初少华, 周培, 张丹. 耐镉促生根瘤菌的鉴定及其对镉的吸附特性[J]. *农业环境科学学报*, 2021, 40(4): 791-800.
Chi YW, Wang XY, Chu SH, Zhou P, Zhang D. Identification of a cadmium-tolerant and growth-promoting *Rhizobium* strain and characterization of its adsorption properties for cadmium[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(4): 791-800 (in Chinese).
- [30] 郑慧颖, 唐璐, 张静, 史怡梦, 姚琳, 刘建生, 陈佳欣, 郭长虹. 耐盐碱紫花苜蓿内生细菌的筛选鉴定及促生能力分析[J]. *微生物学报*, 2025, 65(8): 3317-3330.
Zheng HY, Tang L, Zhang J, Shi YM, Yao L, Liu JS, Chen JX, Guo CH. Screening, identification, and plant growth-promoting effect evaluation of saline-alkali tolerant strains of endophytic bacteria in alfalfa[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2025, 65(8): 3317-3330 (in Chinese).
- [31] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 微生物肥料质量安全评价通用准则: GB/T 41728—2022[S]. 北京: 中国标准出版社, 2022.
State Administration for Market Regulation, Standardization Administration of China. General criteria for quality and safety evaluation of microbial fertilizer: GB/T 41728—2022[S]. Beijing: Standards Press of China, 2022 (in Chinese).
- [32] 国家市场监督管理总局检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 土壤质量有效态铅和镉的测定 原子吸收法: GB/T 23739—2009 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Soil quality—Determination of available lead and cadmium in soil—Atomic absorption method: GB/T 23739—2009[S]. Beijing: Standards Press of China, 2009 (in Chinese).
- [33] 郝汉舟, 靳孟贵, 李瑞敏, 王支农, 韩冰华, 祖文普. 耕地土壤铜、镉、锌形态及生物有效性研究[J]. *生态环境学报*, 2010, 19(1): 92-96.
Hao HZ, Jin MG, Li RM, Wang ZN, Han BH, Zu WP. Fractionations and bioavailability of Cu, Cd and Zn in cultivated land[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2010, 19(1): 92-96 (in Chinese).
- [34] 艾建超, 李宁, 王宁. 污灌区土壤-蔬菜系统中镉的生物有效性及迁移特征[J]. *农业环境科学学报*, 2013, 32(3): 491-497.
Ai JC, Li N, Wang N. The bioavailability and migration characteristics of cadmium in soil-vegetable system in sewage irrigation district[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(3): 491-497 (in Chinese).
- [35] 贾相岳. 土壤中重金属 Cd 含量与叶类蔬菜中 Cd 含量的相关性[J]. *山西农业科学*, 2016, 44(5): 625-628.
Jia XY. Study on correlation of the cadmium content between soil and leafy vegetables[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2016, 44(5): 625-628 (in Chinese).
- [36] 于灏, 苏智杰, 祝培甜, 陈勇, 杨侨, 赵中秋. 水稻、小麦

- 与土壤中重金属Cd含量的关系模拟研究[J]. 地学前缘, 2021, 28(1): 438-445.
- Yu H, Su ZJ, Zhu PT, Chen Y, Yang Q, Zhao ZQ. Relationship between Cd contents in rice or wheat and soil: insight from a simulation study[J]. Earth Science Frontiers, 2021, 28(1): 438-445 (in Chinese).
- [37] 林小兵, 武琳, 周利军, 黄欠如, 刘少华, 陈锋, 欧阳国平, 张秋梅. 粉葛对农田土壤镉的富集特征[J]. 环境工程技术学报, 2022, 12(5): 1626-1632.
- Lin XB, Wu L, Zhou LJ, Huang QR, Liu SH, Chen F, Ouyang GP, Zhang QM. Accumulation characteristics of cadmium in farmland soil by *Pueraria thomsonii*[J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2022, 12(5): 1626-1632 (in Chinese).
- [38] 邓继宝, 张春来, 徐卫红. 纳米氢氧化镁对不同类型土壤镉形态的影响[J]. 环境科学, 2020, 41(4): 1888-1903.
- Deng JB, Zhang CL, Xu WH. Effects of nano-magnesium hydroxide on the forms of cadmium in different types of soil[J]. Environmental Science, 2020, 41(4): 1888-1903 (in Chinese).
- [39] 邓朝阳, 朱霞萍, 郭兵, 王小玉, 吴九九, 张军. 不同性质土壤中镉的形态特征及其影响因素[J]. 南昌大学学报(工科版), 2012, 34(4): 341-346.
- Deng ZY, Zhu XP, Guo B, Wang XY, Wu JJ, Zhang J. Distribution and influence factors of Cd speciation on the soil with different properties[J]. Journal of Nanchang University (Engineering & Technology), 2012, 34(4): 341-346 (in Chinese).
- [40] 王其枫, 王富华, 孙芳芳, 王旭, 文典, 刘香香, 赵凯. 广东韶关主要矿区周边农田土壤铅、镉的形态分布及生物有效性研究[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(6): 1097-1103.
- Wang QF, Wang FH, Sun FF, Wang X, Wen D, Liu XX, Zhao K. Fractionation and bioavailability of Pb and Cd in agricultural soils around mining area in Shaoguan Guangdong Province, China[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2012, 31(6): 1097-1103 (in Chinese).
- [41] 周婷, 南忠仁, 王胜利, 武文飞, 廖琴, 王宁. 干旱区绿洲土壤Cd/Pb复合污染下重金属形态转化与生物有效性[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(6): 1089-1096.
- Zhou T, Nan ZR, Wang SL, Wu WF, Liao Q, Wang N. Speciation and bioavailability of heavy metals under combined pollution of cadmium and lead in arid oasis soils[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2012, 31(6): 1089-1096 (in Chinese).
- [42] 朱亮, 邵孝侯. 耕作层中重金属Cd形态分布规律及植物有效性研究[J]. 河海大学学报, 1997, 25(3): 50-56.
- Zhu L, Shao XH. Chemical form distribution and plant availability of Cd in plough horizon[J]. Journal of Hohai University (Natural Sciences), 1997, 25(3): 50-56 (in Chinese).
- [43] Guo JH, Liu XJ, Zhang Y, Shen JL, Han WX, Zhang WF, Christie P, Goulding KWT, Vitousek PM, Zhang FS. Significant acidification in major Chinese croplands[J]. Science, 2010, 327(5968): 1008-1010.
- [44] 高云西, 陈金峰, 刘可星. 不同重金属负荷下黑曲霉的产酸特性及重金属溶出效果[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(11): 285-287.
- Gao YX, Chen JF, Liu KX. Acid production characteristics and heavy metal dissolution effect of *Aspergillus niger* under different heavy metal loads[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2018, 46(11): 285-287 (in Chinese).
- [45] Li WL, Wang JF, Lv Y, Dong HJ, Wang LL, He T, Li QS. Improving cadmium mobilization by phosphate-solubilizing bacteria via regulating organic acids metabolism with potassium[J]. Chemosphere, 2020, 244: 125475.
- [46] Deng XH, Chai LY, Yang ZH, Tang CJ, Tong HX, Yuan PF. Bioleaching of heavy metals from a contaminated soil using indigenous *Penicillium chrysogenum* strain F1[J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, 233: 25-32.
- [47] Gul I, Manzoor M, Hashim N, Shah GM, Waani SPT, Shahid M, Antoniadis V, Rinklebe J, Arshad M. Challenges in microbially and chelate-assisted phytoextraction of cadmium and lead: a review[J]. Environmental Pollution, 2021, 287: 117667.
- [48] 周雪芳. 具有镉活化功能的根际促生溶磷菌的筛选及其活化镉作用研究[D]. 广州: 暨南大学, 2017.
- Zhou XF. The screening of cadmium-mobilized rhizosphere-promoting phosphorus-solubilizing bacteria and its mobilization on cadmium[D]. Guangzhou: Jinan University, 2017 (in Chinese).
- [49] 黄敬, 龙坚, 蒋凯, 唐盛爽, 覃建军, 李欣阳, 杨强, 侯红波, 彭佩钦, 廖柏寒. 外源有机酸对不同土壤中Cd解吸行为的影响[J]. 环境生态学, 2019, 1(4): 54-62.
- Huang J, Long J, Jiang K, Tang SS, Qin JJ, Li XY, Yang Q, Hou HB, Peng PQ, Liao BH. Effects of exogenous organic acids on the desorption behavior of Cd in different soils[J]. Environmental Ecology, 2019, 1(4): 54-62 (in Chinese).
- [50] Sokolova TA. Low-molecular-weight organic acids in soils: sources, composition, concentrations, and functions: a review[J]. Eurasian Soil Science, 2020, 53(5): 580-594.
- [51] 汤迪勇, 向琦, 雷炜东, 孙杰. 有机酸对污染土壤中重金属镉、铬、锰解吸效果的影响研究[J]. 中南民族大学学报(自然科学版), 2022, 41(1): 44-50.
- Tang DY, Xiang Q, Lei WD, Sun J. Effects of organic acids on the desorption of Cd, Cr and Mn ions in heavy metal contaminated soil[J]. Journal of South-Central Minzu University (Natural Science Edition), 2022, 41(1): 44-50 (in Chinese).
- [52] Li Q, Xing YN, Fu XW, Ji L, Li TY, Wang JN, Chen GH, Qi ZC, Zhang Q. Biochemical mechanisms of rhizospheric *Bacillus subtilis*-facilitated phytoextraction by alfalfa under cadmium stress-microbial diversity and metabolomics analyses[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 212: 112016.
- [53] 李燕丽, 李博文, 刘微, 芦小军. 有机酸淋洗对土壤Cd纵向迁移及有效性的影响[J]. 水土保持学报, 2011, 25(1): 34-38.
- Li YL, Li BW, Liu W, Lu XJ. Effects of soil leaching with organic acid on vertical movement and the availability of Cd in soil[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2011, 25(1): 34-38 (in Chinese).
- [54] 杨晓斓, 罗洋, 孙丽, 花天明. 3种有机酸对镉污染黄壤

- 上龙葵生长及镉吸收的影响[J]. 辽宁化工, 2021, 50(10): 1451-1454, 1473.
- Yang XL, Luo Y, Sun L, Hua TM. Effects of three organic acids on the growth and cadmium absorption of *Solanum nigrum* L. in cadmium polluted yellow soil[J]. Liaoning Chemical Industry, 2021, 50(10): 1451-1454, 1473 (in Chinese).
- [55] Rajkumar M, Ae N, Prasad MNV, Freitas H. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction[J]. Trends in Biotechnology, 2010, 28(3): 142-149.
- [56] 江健军. 高产铁载体菌对土壤镉的配位活化研究[D]. 广州: 暨南大学, 2019.
- Jiang JJ. Coordination mobilizing of soil cadmium by high siderophore-producing bacteria[D]. Guangzhou: Jinan University, 2019 (in Chinese).
- [57] Qi XY, Xu XM, Zhong CQ, Jiang TY, Wei W, Song X. Removal of cadmium and lead from contaminated soils using sophorolipids from fermentation culture of *Starmerella bombicola* CGMCC 1576 fermentation[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2018, 15(11): 2334.
- [58] 卢晋晶, 郜春花, 武雪萍, 李建华, 靳东升, 郜雅静, 籍晟煜. 植物-微生物联合修复技术在Cd污染土壤中的研究进展[J]. 山西农业科学, 2019, 47(6): 1115-1120.
- Lu JJ, Gao CH, Wu XP, Li JH, Jin DS, Gao YJ, Ji SY. Advances in plant-microbial joint repair technology in Cd contaminated soil restoration[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2019, 47(6): 1115-1120 (in Chinese).
- [59] 马龙, 高伟, 栾好安, 唐继伟, 李明悦, 黄绍文. 基于宏基因组学方法分析施肥模式对设施菜田土壤微生物群落的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2021, 27(3): 403-416.
- Ma L, Gao W, Luan HA, Tang JW, Li MY, Huang SW. Soil microbial community characteristics in greenhouse vegetable production under different fertilization patterns based on metagenomic analysis[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2021, 27(3): 403-416 (in Chinese).
- [60] 田小明, 李俊华, 危常州, 褚贵新, 孙华, 路国林. 连续3年施用生物有机肥对土壤有机质组分、棉花养分吸收及产量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2012, 18(5): 1111-1118.
- Tian XM, Li JH, Wei CZ, Chu GX, Sun H, Lu GL. Effects of continuous application of bio-organic fertilizer for three years on soil organic matter fractions, cotton nutrient absorption and yield[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2012, 18(5): 1111-1118 (in Chinese).
- [61] Motavalli PP, Palm CA, Parton WJ, Elliott ET, Frey SD. Soil pH and organic C dynamics in tropical forest soils: evidence from laboratory and simulation studies[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1995, 27(12): 1589-1599.
- [62] 戴万宏, 黄耀, 武丽, 俞佳. 中国地带性土壤有机质含量与酸碱度的关系[J]. 土壤学报, 2009, 46(5): 851-860.
- Dai WH, Huang Y, Wu L, Yu J. Relationships between soil organic matter content (som) and pH in topsoil of zonal soils in China[J]. Acta Pedologica Sinica, 2009, 46(5): 851-860 (in Chinese).
- [63] 唐贤, 梁丰, 徐明岗, 文石林, 蔡泽江, 宋芳芳, 高强. 长期施用化肥对农田土壤pH影响的整合分析[J]. 吉林农业大学学报, 2020, 42(3): 316-321.
- Tang X, Liang F, Xu MG, Wen SL, Cai ZJ, Song FF, Gao Q. A meta-analysis of effects of long-term application of chemical fertilizer on pH of farmland soil[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2020, 42(3): 316-321 (in Chinese).
- [64] 张琦. 不同化肥对土壤中镉的有效性及其植物吸收的影响[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2018.
- Zhang Q. Effects of different chemical fertilizers on the availability of cadmium in soil and the uptake of cadmium by plants[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2018 (in Chinese).
- [65] Lorenz SE, Hamon RE, McGrath SP, Holm PE, Christensen TH. Applications of fertilizer cations affect cadmium and zinc concentrations in soil solutions and uptake by plants[J]. European Journal of Soil Science, 1994, 45(2): 159-165.
- [66] 曾清如, 周细红, 毛小云. 不同氮肥对铅锌矿尾矿污染土壤中重金属的溶出及水稻苗吸收的影响[J]. 土壤肥料, 1997(3): 7-11.