

赖才星,林 华,刘泽惠,等.巨大芽孢杆菌-青葙组合对镉污染土壤微生物群落演替的驱动作用 [J]. 中国环境科学, 2025,45(2):1036-1044.

Lai C X, Lin H, Liu Z H, et al. The driving effect of *Bacillus megaterium*-*Celosia argentea* L. combination on the succession of microbial communities in cadmium-contaminated soil [J]. China Environmental Science, 2025,45(2):1036-1044.

巨大芽孢杆菌-青葙组合对镉污染土壤微生物群落演替的驱动作用

赖才星¹,林 华^{1,2,3},刘泽惠¹,董梓涵¹,刘 杰¹,俞 果^{1,4*} (1.桂林理工大学,广西环境污染控制理论与技术重点实验室,广西 桂林 541006; 2.桂林理工大学,岩溶地区水污染控制与用水安全保障协同创新中心,广西 桂林 541006; 3.桂林理工大学,广西生态环保现代产业学院,广西 桂林 541006; 4.清华大学环境学院,北京 100084)

摘要: 以巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)和青葙(*Celosia argentea* L.)的植物-微生物联合修复体系为研究对象,探究了巨大芽孢杆菌对青葙根际微生物群落演替的影响及其在镉污染土壤修复中的作用.通过高通量测序分析了青葙根际微生物在不同时间节点(第 7,21,50d)的群落结构变化.结果表明,添加巨大芽孢杆菌的处理组在第 50d 时,微生物群落的 OTUs 数量、多样性指数(Shannon、Simpson)和丰富度指数(Chao1、Ace)均高于对照组;酸杆菌门、绿弯菌门、变形菌门和拟杆菌门是微生物群落中的核心菌群;巨大芽孢杆菌能在初期占据根际微生物群落中的主导地位,但其相对丰度在 50d 内由 12.01%逐渐下降至 1.17%;土壤微生物群落功能预测显示巨大芽孢杆菌主要促进了土壤中微生物群落的碳循环和氮循环,对微生物群落的功能和稳定性产生了积极的影响;巨大芽孢杆菌能显著增加青葙叶片中的镉含量和根际土壤中的有效态镉含量,增幅分别为 40.3%和 17.6%.本研究为优化植物-微生物联合修复技术,了解植物-微生物联合修复体系的根际微生物群落演替规律提供了理论基础和实验数据支持.

关键词: 植物修复; 巨大芽孢杆菌; 青葙; 镉污染; 群落演替

中图分类号: X173 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)02-1036-09

The driving effect of *Bacillus megaterium*-*Celosia argentea* L. combination on the succession of microbial communities in cadmium-contaminated soil. LAI Cai-xing¹, LIN Hua^{1,2,3}, LIU Ze-hui¹, DONG Zi-han¹, LIU Jie¹, YU Guo^{1,4*} (1.Guangxi Key Laboratory of Environmental Pollution Control Theory and Technology, Guilin University of Technology, Guilin 541006, China; 2.Guangxi Collaborative Innovation Center for Water Pollution Control and water safety in Karst Area, Guilin University of Technology, Guilin 541006, China; 3.Guangxi Modern Industry College of Ecology and Environmental Protection, Guilin University of Technology, Guilin 541006, China; 4.Center for Water and Ecology, Tsinghua University, Beijing 100084, China). *China Environmental Science*, 2025,45(2): 1036~1044

Abstract: This study focused on the plant-microbe combined remediation system involving *Bacillus megaterium* and *Celosia argentea* L., to explore the impact of *Bacillus megaterium* on the succession of the rhizosphere microbial community and its role in the remediation of cadmium-contaminated soil. High-throughput sequencing analysis was conducted to examine the structural changes in the rhizosphere microbiota of *Celosia argentea* at different time points (7th, 21st, and 50th days). The results indicated that in the treatment group, inoculated with *B. megaterium*, the number of OTUs, diversity indices (Shannon, Simpson), and richness indices (Chao1, Ace) of the microbial community were all higher than those in the control group by the 50th day; the Acidobacteriota, Chloroflexi, Proteobacteria, and Bacteroidetes were the core groups within the microbial community; *B. megaterium* was able to dominate the rhizosphere microbial community in the early stages but its relative abundance gradually declined from 12.01% to 1.17% over the 50days; Functional prediction of the soil microbial community showed that *B. megaterium* mainly promoted the C and N cycle within the microbial community, potentially exerting a positive influence on the functionality and stability of the microbial community; *B. megaterium* significantly increased the cadmium content in the leaves of *C. argentea* and the bioavailable cadmium content in the rhizosphere soil by 40.3% and 17.6%, respectively. This study provides a theoretical foundation and empirical data support for optimizing plant-microbe combined remediation techniques and understanding the succession patterns of microbial communities in plant-microbe combined remediation systems.

Key words: phytoremediation; *Bacillus megaterium*; *Celosia argentea*; cadmium contamination; community succession

镉(Cd)是一种具有显著生态和健康风险的环境污染物^[1-2].土壤中过量的镉能够抑制植物生长,导致农作物大量减产^[3].此外,镉可通过食物链累积,对人类健康构成一定威胁^[4-5].因此,土壤镉污染是亟待解

收稿日期: 2024-07-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52200189,52230006,52070051,32271700)

* 责任作者, 副教授, yuguo@glut.edu.cn

决的环境问题之一。

植物修复技术被广泛认为是修复镉等重金属污染土壤最具潜力的方法之一^[6]。但因存在植物生长缓慢、生物量较低、人工种植困难等缺陷,限制了植物修复技术在实际工程中的应用^[7]。青葙(*Celosia argentea* L.)是本课题组在国内发现和报道的镉超富集植物,具有分布广泛、生长迅速、适应能力强、易于人工繁殖和一年多次收割等诸多优点,在土壤镉污染的植物修复领域表现出极高的应用前景^[8-9]。前期研究表明,在未开展强化措施的情况下,单次收获周期青葙对土壤镉的去除率不到 10%,导致修复所需时间较长^[10]。因此,有必要通过强化措施提高青葙的镉修复效率,缩短植物修复周期。课题组前期研究发现^[11-12],施加巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)使青葙根部和地上部分生物量分别增加 42%和 59%,地上部镉含量增加 107%,显著提高了植物修复效率。

在植物-微生物联合修复体系中,外源微生物、土著微生物和重金属在植物根际微域环境的交互作用是一个复杂的动态过程。外源微生物被施加到植物根际后,将与土著微生物进行竞争进而引起根际微生物群落的演替,外源微生物能否在竞争中存活下来并占据优势地位是植物-微生物修复技术成功的关键^[13]。Jeong 等^[14]研究发现,外源阿氏芽孢杆菌至少需要 8 周才能在印度芥菜的根际微生物群落中完全占据主导地位。因此,本文在课题组前期发现巨大芽孢杆菌能显著提高青葙修复镉污染土壤效率的基础上,通过 16S 高通量测序技术,从时间维度上探究了青葙根际巨大芽孢杆菌丰度的动态变化及根际微生物的群落演替规律,分析巨大芽孢杆菌对青葙根际微生态的调控作用和功能,为优化植物-微生物联合修复技术、提升青葙在土壤镉污染修复中的效率提供理论基础和实验数据支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 供试植物 采用超富集植物青葙作为供试植物,青葙种子取自桂林市阳朔县兴坪镇思的村铅锌矿尾砂库。选取颗粒饱满的种子,用 10%的 H₂O₂ 溶液浸泡消毒后,用超纯水冲洗并在育苗盘中播种,将育苗盘置于桂林理工大学重金属污染植物修复试

验基地的温室大棚中培养。温室的温度恒定在 20~35℃,日平均光照时间为 14h,光照强度为 300 μmol photons/(m²/s),相对湿度维持在 70%~75%。种子萌发后,每天固定时间浇水,一周后每周用 50% 的改良霍格兰溶液浇灌一次(表 1)。待青葙幼苗长出 4~6 片嫩叶且植株高度为 5~6cm 时,选取生长状况一致的幼苗进行移栽,以备后续实验使用^[15]。

表 1 改良霍格兰溶液的成分

Table 1 The composition of the modified Hoagland's solution

成分	单位	数值
Ca(NO ₃) ₂	mmol/L	5.00
KNO ₃	mmol/L	5.00
K ₂ HPO ₄	mmol/L	0.20
KCl	mmol/L	0.15
MgSO ₄ ·7H ₂ O	mmol/L	1.00
H ₃ BO ₃	μmol/L	20.00
MnCl ₂ ·4H ₂ O	μmol/L	9.00
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	μmol/L	2.00
CuSO ₄ ·5H ₂ O	μmol/L	1.00
Na ₂ MoO ₄	μmol/L	0.40
C ₁₀ H ₁₂ FeN ₂ NaO ₈	μmol/L	20.00

1.1.2 供试土壤 供试土壤采自桂林市阳朔县兴坪镇思的村一处受镉污染的农田。采集 0~20cm 深度的农田表层土壤,将土壤自然风干后过 10 目筛,去除土样中的石块、大块土和植物残渣等杂质。随后将土壤进一步磨碎并通过 2mm 筛网,过筛后的土壤用于后续分析和实验。将 HNO₃ 和 HCl 以 3:1 的体积比混合配制王水,用于土壤消解,随后采用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES, PerkinElmer Avio 500Max)测定土壤总 Cd 含量;采用 DTPA(二乙烯三胺五乙酸)浸提法测定土壤有效态 Cd 含量。土壤理化性质的测定方法主要参照鲍士旦主编的《土壤农化分析》。供试土壤的基本理化性质见表 2,数值以平均值±标准差的形式展示($n=3$)。

1.1.3 供试菌株 实验所用的巨大芽孢杆菌菌株购于中国普通微生物菌种保藏管理中心。将菌株接种于 LB(Luria-Bertani)液体培养基后,在设定为 37℃温度、180r/min 转速的恒温摇床中进行增殖培养,持续 36h 后获得巨大芽孢杆菌菌悬液。随后,将菌悬液在高速离心机中以 10000r/min 的转速离心 10min,去除上层培养液,并用无菌水对菌体进行冲洗。重复上述离心、清洗步骤 3 次后,加入适量无菌水,将菌悬液浓度调整至 10⁹cfu/kg,以备后续实验使

用^[12].

表 2 供试土壤理化性质

Table 2 Physicochemical properties of tested soil

参数	单位	数值
pH 值	—	6.06±0.19
有效磷	mg/kg	9.22±1.25
速效钾	mg/kg	145.26±12.61
铵态氮	mg/kg	16.02±1.77
有机质	%	1.77±0.26
阳离子交换量	cmol/kg	9.86±0.42
总 Cd	mg/kg	4.90±0.73
有效态 Cd	mg/kg	2.11±0.07

1.2 实验方案

本实验采取盆栽实验,在桂林理工大学重金属污染植物修复试验基地的温室大棚中进行(2023年6月至7月中旬).实验设置了2个处理组,分别为添加了巨大芽孢杆菌菌悬液的处理组和添加了等量无菌水的对照组,每组实验设置了12个平行样本.将青葙幼苗移栽入含有1kg污染土的盆栽中,2d后向处理组的青葙根部缓慢浇灌50mL浓度为 10^9 cfu/kg的巨大芽孢杆菌菌悬液,而对照组的青葙则浇灌50mL的无菌水.采样时间参考了Jeong等^[14]、Li等^[16]的方法,并结合青葙的生长周期^[17]略作改动:在加菌后的第7d、第21d、第50d,分别随机选取处理组和对照组中的4盆青葙,采集根际土样(采集后不再继续种植)进行微生物多样性扩增子测序(16S rDNA).此外,在第50d时收获植物,测量其各部位Cd含量以及根际土壤有效态Cd含量.生长期间,使土壤含水量保持在田间持水量的70%~75%左右.

1.3 样品的采集及测定方法

每次采集根际土样时,小心地将青葙从盆栽中取出,去除根部大块土壤,黏附在根系表面1~3mm范围内的松散土壤即视作根际土^[18].使用无菌离心管收集约0.5g根际土,在液氮中进行30min速冻处理.随后放置于干冰中,寄至广州基迪奥生物科技有限公司进行微生物多样性扩增子测序.从根际土样本中提取基因组DNA后,用带有barcode的特异引物341F和806R扩增16S rDNA的V3~V4区^[19].将纯化后的扩增产物(即扩增子)连接测序接头,构建测序文库,用Illumina MiSeq PE300进行高通量测序.测序获取大量的原始数据(Raw Reads)之后,经过一系列的数据处理,得到的数据为有效序列(Effective

Tags).基于有效序列进行操作分类单元(OTUs)丰度统计,获得OTUs的丰度和OTUs代表序列.基于OTUs序列、丰度数据,利用基迪奥Omicsmart云平台(<https://www.omicsmart.com>)开展物种注释、物种组成分析、指示物种分析、 α 多样性分析、 β 多样性分析和群落功能预测.

在第50d收获植物时,将青葙分为根、茎、叶三部分进行处理.用超纯水冲洗根系,随后浸没在20mmol/L EDTA- Na_2 溶液中超声清洗5min,再用超纯水冲洗,以去除吸附在根系表面的重金属.茎和叶则先用超纯水冲洗表面尘土,再用去离子水冲洗干净.洗净的植物样品在105℃下杀青30min,75℃下烘干至恒重(48h).将完全烘干后的根、茎和叶分别粉碎,准确称取粉碎的植物样品(0.200g)用 $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ 法消解处理.样品中的Cd含量使用ICP-OES测定.根际土壤有效态Cd含量的测定方法同1.1.2所述.实验过程所使用的化学试剂均为分析纯级别,并依据国家一级标准物质(GBW 07602(GSV-2))和平行空白样进行植物和土壤样本的消解、质量控制工作^[12,15].样本的回收率介于95%~105%,测定偏差控制在 $\pm 10\%$ 以内,表明质量控制结果合格.

1.4 数据处理与分析

使用Microsoft Excel 2019进行统计计算,使用SPSS 27中的单因素方差(ANOVA)和最小显著差数法(LSD)进行差异显著分析($P < 0.05$).图表由Origin 2021绘制.

2 结果与讨论

2.1 根际土壤微生物 α 、 β 多样性分析

2.1.1 α 多样性分析 在对土壤样品进行高通量测序后,获得的细菌OTUs平均个数在2324~2790之间.基于细菌OTUs的覆盖率(Good's coverage)均高于0.98,稀释曲线随序列数增加而趋于平缓,这充分证明了测序结果的准确性和可靠性,能够真实反映土壤样品的实际情况.对照组的OTUs平均数量在第7d时为2598个,随后在第21d时下降至2324个,最后在第50d时略有回升至2403个.与之相比,处理组在第7d时OTUs平均数量与对照组相近,到第50d时OTUs平均数量为2790个,是对照组的1.16倍.通过Shannon、Simpson、Chao1和Ace指

数来评价青苜根际土壤中微生物群落的多样性和丰富度.由表 3 可知,Shannon 多样性指数在对照组中略有浮动,但保持相对稳定;而在处理组中,第 21d 时观察到 Shannon 指数达到最高值,随后在第 50d 时略有下降,但仍高于对照组.对照组的 Simpson 指数在 50d 内逐渐下降,但降幅低于 1%(第 50d 对比第 7d),表明微生物群落的均匀度随时间略有降低.而处理组的 Simpson 指数先升后降,反应出微生物群落均匀度的先增后稳,这可能说明了巨大芽孢杆菌对提升青苜根际微生物群落多样性和稳定性的潜在正面效应^[20].

在丰富度指数的分析中,对照组的 Chao1 和 Ace 指数呈现逐步下降的趋势,这反映出对照组青苜根际微生物群落的物种数量随时间的推移而逐渐降低.处理组的 Chao1 和 Ace 指数表现出先下降后上升的变化:在实验前期,这些指数与对照组没有太大差异,但在第 21d 时降至最低点,这一下降趋势可能与微生物群落在前、中期的结构调整有关^[21].在第 50d 时,处理组的 Chao1 和 Ace 指数重新恢复至较高水平,分别比对照组高 8.65% 和 8.15%.这表明经过一段适应周期后,巨大芽孢杆菌提升了青苜根际微生物群落的丰富度和多样性.

表 3 不同时期根际土壤微生物多样性和丰富度指数

Table 3 Indices of microbial diversity and richness in rhizosphere soil at different stages

组别	OTUs	多样性指数		丰富度指数		覆盖率
		Shannon	Simpson	Chao1	Ace	
Control_D7	2598	8.5977	0.9923	2402.8134	2467.7770	0.9917
Control_D21	2324	8.4334	0.9899	2340.5368	2417.5962	0.9907
Control_D50	2403	8.4690	0.9854	2302.8587	2375.0086	0.9897
Inoculated_D7	2404	7.9014	0.9704	2330.5645	2400.9971	0.9902
Inoculated_D21	2280	8.6651	0.9910	2154.2351	2220.7291	0.9844
Inoculated_D50	2790	8.4886	0.9877	2502.2194	2568.7558	0.9906

2.1.2 β 多样性分析 主坐标分析(PCoA)作为一种降维技术,被应用于本研究中,以揭示不同处理组根际微生物群落 β 多样性的空间分布模式(图 1).通过对比分析,我们发现对照组与接种巨大芽孢杆菌的处理组在根际微生物群落结构上存在显著差异($P < 0.05$).在 PCoA 图中,各样本点的分布情况揭示了样本间的微生物群落组成差异,对照组样本(Control_D7、Control_D21、Control_D50)在图中相对分散,表明在未施加外源微生物的条件下,根际微生物群落保持了一定的固有变异性.而处理组样本(Inoculated_D7、Inoculated_D21、Inoculated_D50)则表现出与对照组不同的群落结构,这说明巨大芽孢杆菌的接种对根际微生物组成产生了一定的影响.值得注意的是,第一主坐标轴(PCo1)解释了样本间总变异的 26.43%,这一比例显示了 PCo1 轴在观察到的群落组成差异中的重要贡献.沿着 PCo1 轴的分离趋势表明,处理组的微生物群落与对照组相比发生了明显分歧,结合 α 多样性分析,这可能反映了巨大芽孢杆菌对土壤微生物群落结构的调控作用^[22].

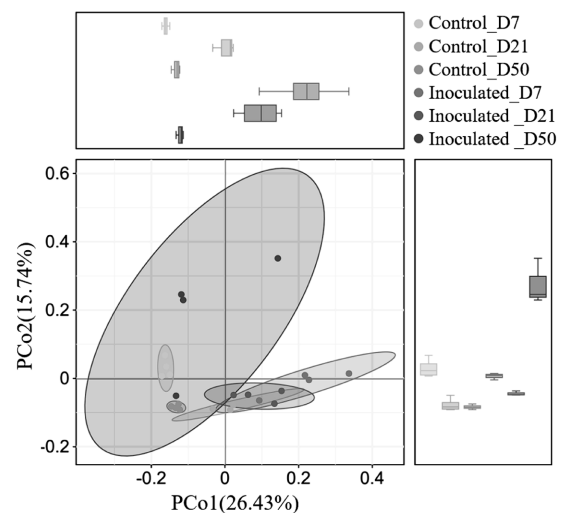


图 1 基于细菌 OTUs 相对丰度的 PCoA 分析
Fig.1 PCoA analysis based on the relative abundance of bacterial OTUs

2.2 门水平下根际土壤微生物群落分析

在门水平下,土壤样本中相对丰度排名前 10 分别是酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroideta)、厚壁菌门(Firmicutes)、浮霉菌门

(Planctomycetes)、放线菌门(Actinobacteria)、骸骨菌门(Patescibacteria)和芽单胞菌门(Gemmatimonadetes),酸杆菌门在所有样本中的相对丰度均最高(18.34%~31.34%),且随着时间的推移,其丰度整体呈现上升趋势,尤其在对照组中的增幅更为明显.绿弯菌门的丰度在对照组中先下降后上升,而处理组中则持续增加;第 50d 时,对照组和处理组的绿弯菌门的相对丰度分别为 19.07%和 16.71%.变形菌门的丰度在对照组和处理组中均表现出先上升后下降的趋势,第 50d 时其相对丰度分别为 12.33%和 12.65%.

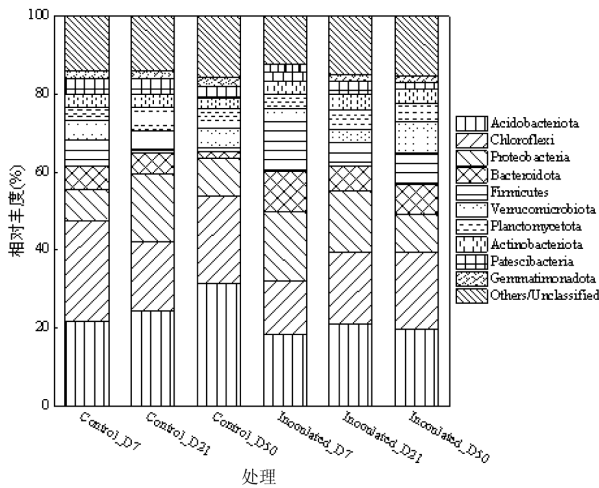


图 2 门水平下根际土壤微生物群落结构

Fig.2 Bacterial community structure at the phylum level in rhizosphere soil

前人研究表明,变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门、拟杆菌门是重金属污染土壤中常见的核心菌群,具有一定的重金属抗性^[23-24].酸杆菌门能够降解纤维素等植物衍生多糖,在碳循环中起着重要的作用,是土壤生态系统中最丰富的细菌门之一^[25-26].在对照组中,酸杆菌门的相对丰度随时间增加呈上升趋势,而在接种巨大芽孢杆菌的处理组中,其丰度较低.这表明接种可能影响了酸杆菌门对资源的获取,或者巨大芽孢杆菌与酸杆菌门之间可能存在竞争关系.巨大芽孢杆菌所属的厚壁菌门在对照组中的相对丰度随时间大幅降低,而在处理组中维持了较高的相对丰度.在第 50d 时,厚壁菌门在处理组中的相对丰度为 8.02%,显著高于其在对照组中的相对丰度(1.01%)($P < 0.05$),这说明巨大芽孢杆菌的接种可能促进了厚壁菌门中某些具有 Cd 耐受性的微生物类

群的增长,有利于促进土壤环境中的碳水化合物代谢^[27-28].Janssen 等^[29]研究指出,在健康土壤样品中变形菌门(约 39%)占主导地位,其次是酸杆菌门(约 20%),结合本研究的结果,表明 Cd 污染土壤中的微生物群落结构与健康土壤的微生物群落结构存在一定的差异.

2.3 属水平下根际土壤微生物群落分析

在属水平下,相对丰度超过 1%的常见菌属有鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、*Candidatus Udaeobacter* 菌属、片状杆菌属(*Flavisolibacter*)、布氏杆菌属(*Bryobacter*)和 *Candidatus Solibacter* 菌属.在对照组中,鞘氨醇单胞菌属第 7d 的相对丰度为 2.95%,第 21d 增加至 5.26%,第 50d 略有下降至 3.71%.处理组的鞘氨醇单胞菌属在第 7d 时相对丰度最高(6.18%),随后其丰度有所下降(4.22%),到第 50d 时含量没有太大变化(4.09%).鞘氨醇单胞菌属在辅助植物修复方面具有多种作用机制,如促进生物吸附、促进主动外排运输和降低重金属毒性等,其较高的相对丰度有助于青蒿吸收土壤中的 Cd^[30].

对照组中的芽孢杆菌属相对丰度没有太大变化,在 3 个时间点的相对丰度依次为 0.52%、0.49%和 0.57%.相比之下,在接种了巨大芽孢杆菌的处理组中,芽孢杆菌属的相对丰度经历了显著的动态变化:在第 7d 时,芽孢杆菌属的相对丰度高达 12.01%,成为所有检测菌属中相对丰度最高的类群,这说明巨大芽孢杆菌在初期能在根际微生物群落中占据主导地位.随后,芽孢杆菌属的丰度呈现逐渐下降的趋势,到第 21d 降至 5.08%,至第 50d 进一步降低至 1.17%.这与 Li 等^[16]的研究结果相似,外源添加的 *Pseudomonas chenduensis* 在 Cd 污染土壤中的相对丰度从 7.09%(第 3d)逐渐下降至 1.39%(第 7d)和 0.58%(第 30d),且 *Pseudomonas chenduensis* 对土壤原有的生态位(ecological niche)几乎没有干扰.此外,处理组中根际促生菌属 *Flavisolibacter* 的相对丰度在第 7d 和第 50d 时显著高于对照组($P < 0.05$).Li 等^[31]研究表明,Cd 胁迫下大花金鸡菊(*Coreopsis grandiflora*)根际土壤中的 *Flavisolibacter* 显著富集,有助于维持植物的生长活力并增加植物修复效率.He 等^[32]的研究发现,外源菌株 *E. coli*-10527 能通过代谢产物的引诱,带动特定功能菌的富集,从而辅

助盐地碱蓬(*Suaeda salsa*)修复 Cd 污染土壤.因此,巨大芽孢杆菌除了自身的促生作用外,还可能帮助青葙招募了一些特定的土著微生物来协助修复 Cd 污染土壤.

外源巨大芽孢杆菌在前期可能因适应性强、竞争力高而迅速在根际微生物群落中占据优势地位,促进 Cd 污染土壤的修复过程.但随着时间的推移,巨大芽孢杆菌相对丰度逐渐下降,表明其不再是优势物种,土壤微生物群落结构重新平衡.这一变化趋势揭示了巨大芽孢杆菌与根际土著微生物之间存在的竞争关系.因此,在利用巨大芽孢杆菌强化青葙进行 Cd 污染土壤的修复时,有必要考虑巨大芽孢杆菌与土著微生物群落的相互作用规律,以及如何利用这种规律来提高植物修复效率.

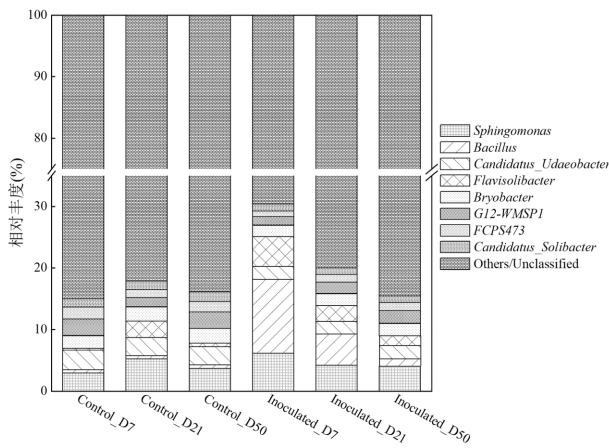


图 3 属水平下根际土壤微生物群落组成

Fig.3 Bacterial community structure at the genus level in rhizosphere soil

2.4 基于 PICRUST2 和 FAPROTAX 的土壤微生物群落功能预测

使用 PICRUST2 软件分析了对照组、处理组的根际土壤微生物在不同时期的功能预测信息.利用 KEGG 数据库对测序数据进行比对,所有样品共涉及 6 类生物代谢通路,其相对丰度由高到低依次为:代谢、遗传信息处理、细胞过程、环境信息处理、有机系统和人类疾病.其中,代谢是主要功能,丰度为 80.43%~80.73%,其次是遗传信息处理,丰度为 12.21%~12.47%.在 2 个组别中,6 类一级功能层预测基因丰度在 3 次取样时间点之间均无显著差异 ($P>0.05$).

在第 7d 时,处理组大部分二级功能层的基因丰

度高于对照组(红色更深),碳水化合物代谢、膜转运、核苷酸代谢和氨基酸代谢等功能的活跃性表明微生物群落能够有效地利用和交换周围环境中的资源^[33].随着时间的推移,处理组的功能基因丰度在中期(第 21d)显著降低,且均低于同时期对照组的功能基因丰度.在后期,这些功能基因丰度又逐渐回升,并在后期时略高于对照组.这些变化趋势可能反映了微生物群落对环境变化的响应,以及巨大芽孢杆菌接种对其代谢功能和信号传导途径的长期影响.接种的巨大芽孢杆菌可能在短期内改变了微生物群落的结构和功能,增加功能基因的丰度,但随着时间的推移,微生物群落可能通过调整其代谢途径和信号传导机制来适应这种“干扰”,最终实现了功能的恢复和调整.

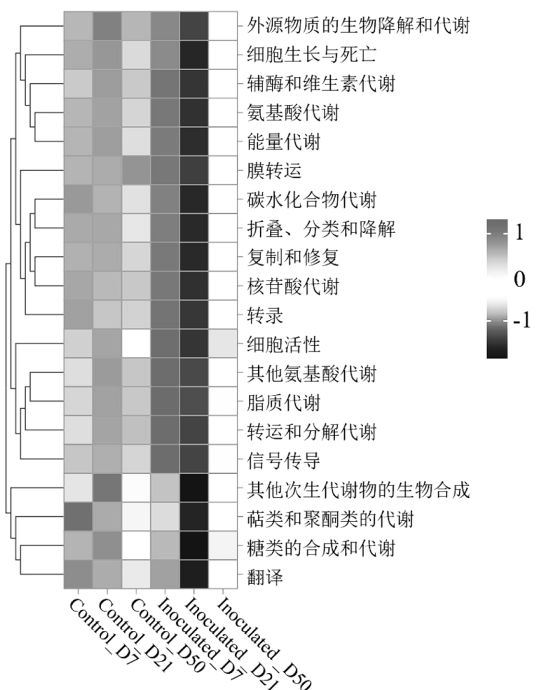


图 4 基于 PICRUST2 的土壤微生物群落功能预测(Level 2)

Fig.4 Functional prediction of soil microbial community based on PICRUST2 (Level 2)

图 5 是基于 FAPROTAX 的土壤微生物群落功能预测.结果显示,在时间维度上,根际微生物群落的功能表现出显著的动态变化.第 50d 时,处理组中化能异养、好氧化能异养、硝酸盐还原和好氧氨氧化等微生物群落功能丰度显著高于对照组 ($P<0.05$),而有关硫和硫化物呼吸的微生物群落功能丰度没有显著差异 ($P>0.05$).前人研究表明^[34-35],化能异养微

生物通过分解土壤中的有机质,促进了营养物质的循环,为青苜提供了必需的碳、氮、磷、硫等营养元素;硝酸盐还原菌可将硝酸盐转化为铵态氮,从而增加了土壤中有效氮的储量;好氧氨氧化菌在有氧条件下将氨氧化为硝酸盐,进一步推动了氮素的有效循环.此外,王萍等^[36]研究发现巨大芽孢杆菌显著提高了 Cd、Zn 污染土壤中蔗糖酶、脲酶和磷酸酶的活性,这些酶的活性增强同样有助于土壤中碳、氮、磷等元素的生物转化过程,进而促进植物生长和土壤养分的有效循环.

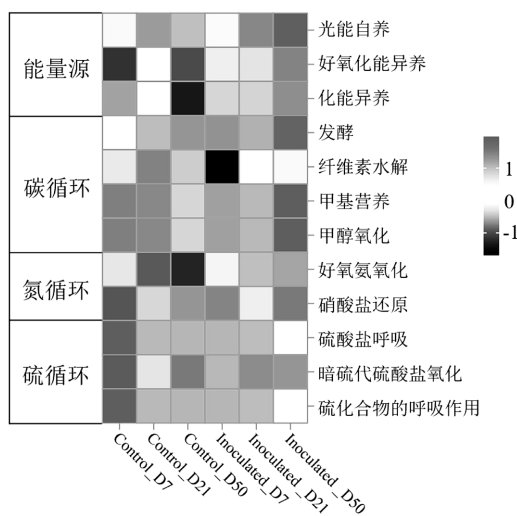


图5 基于 FAPROTAX 的土壤微生物群落功能预测
Fig.5 Functional prediction of soil microbial community based on FAPROTAX

结合 PICRUST2 和 FAPROTAX 的土壤微生物群落功能预测,从长期尺度来看,接种巨大芽孢杆菌主要促进了土壤中碳和氮的有效循环,强化了植物-微生物的互作关系,对土壤生态系统的功能和稳定性产生了积极的影响^[37-38],有利于青苜修复镉污染土壤.

2.5 巨大芽孢杆菌对青苜各部分 Cd 含量以及根际土壤有效态 Cd 含量的影响

在本研究中,处理组青苜根、茎和叶片中 Cd 的平均含量分别为 21.2,39.1,110.6mg/kg,相比对照组分别增加了 5.4%、2.9%和 40.3%(图 6(a)).巨大芽孢杆菌使得叶片中的 Cd 含量显著上升($P<0.05$);提高了根和茎的 Cd 含量,但未见显著.对照组和处理组的转运系数(TF)分别为 5.81 和 7.06,这表明青苜对 Cd 污染具有较强的转运能力,能迅速将 Cd 污染转移至

地上部分,显示出对 Cd 污染土壤的良好修复效果,这与张冰等^[12]的研究结果相一致.

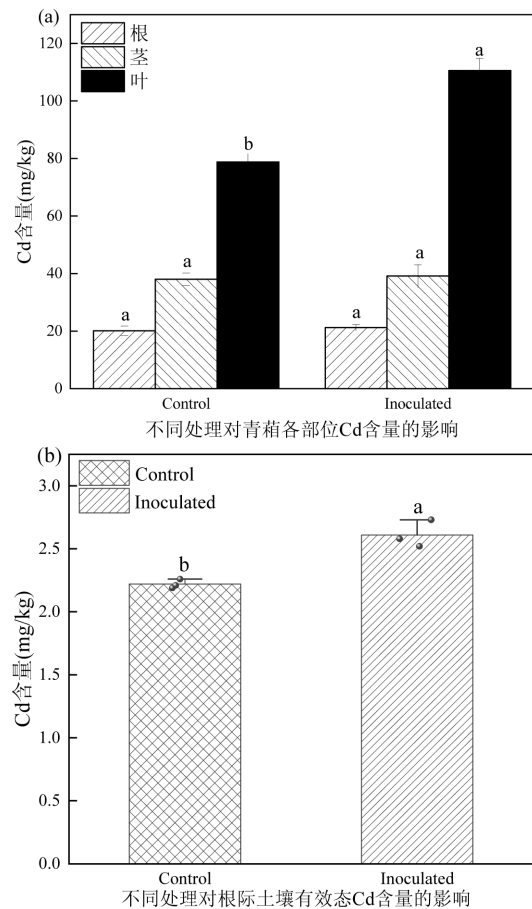


图6 (a)不同处理对青苜各部位 Cd 含量的影响;(b)不同处理对根际土壤有效态 Cd 含量的影响

Fig.6 Effects of different treatments on Cd content in various parts of *C. argentea*. (a) and effects of different treatments on bioavailable Cd content in rhizospheric soil (b)

不同小写字母表示不同处理下同一部位间差异显著($P<0.05$)

此外,处理组根际土壤有效态 Cd 含量为 2.61mg/kg,相较于对照组提高了 17.6%,且具有显著性差异($P<0.01$)(图 6(b)).邓月强等^[39]分析了巨大芽孢杆菌在不同接种量对伴矿景天修复 Cd 污染农田土壤效率的影响,发现接种浓度为 5×10^9 cfu/kg 巨大芽孢杆菌后土壤有效态 Cd 含量较对照增加了 15.0%~45.0%.王萍等^[36]发现巨大芽孢杆菌均显著提高土壤有效态 Cd 和 Zn 含量,其中有效态 Cd 增加了 18.7%~28.1%,与本实验结果相吻合.这一现象可能归因于巨大芽孢杆菌的代谢活动使得青苜根际微环境发生变化,提升了青苜根系分泌物中有机酸的含量^[40-41],进而增加了根际土壤中有效态 Cd 含量.

3 结论

3.1 α 多样性和 β 多样性分析表明,外源巨大芽孢杆菌提升了根际土壤微生物的多样性和丰富度,且对根际微生物群落结构具有一定的调控作用。

3.2 在门水平下,酸杆菌门、绿弯菌门和变形菌门是根际土壤中的核心菌群。处理组中的厚壁菌门相对丰度显著高于对照组($P<0.05$),有利于促进土壤环境中的碳水化合物代谢。

3.3 在属水平下,鞘氨醇单胞菌属和芽孢杆菌属是优势菌群,芽孢杆菌属在前期占据主导地位,随后其相对丰度由 12.01% 逐渐下降至 1.17%。处理组中根际促生菌属 *Flavisolibacter* 的相对丰度显著高于对照组($P<0.05$),有助于修复 Cd 污染土壤。

3.4 基于 PICRUST2 和 FAPROTAX 的土壤微生物群落功能预测表明巨大芽孢杆菌对土壤微生物的代谢功能和信号传导途径产生了长期影响,并主要促进了土壤中碳和氮的有效循环。

3.5 接种巨大芽孢杆菌可以显著提升根际土壤中有效态 Cd 含量和青葙叶片中的总 Cd 含量($P<0.05$),增幅分别为 40.3% 和 17.6%。

参考文献:

- [1] 李侃麒,吴佳玲,陈喆,等.天然有机酸对伴矿景天吸取土壤镉的影响[J]. 中国环境科学, 2023,43(5):2413-2422.
Li K Q, Wu J L, Chen Z, et al. Effects of natural organic acids on cadmium uptake by *Sedum plumbizincicola* from the soil [J]. China Environmental Science, 2023,43(5):2413-2422.
- [2] 宋兰萍,徐晓阳,洪婉悦,等.镉耐性菌对黑麦草生长特性及镉吸收的影响[J]. 中国环境科学, 2023,43(3):1386-1396.
Song L P, Xu X Y, Hong W Y, et al. Effect of cadmium-tolerant bacteria on *Lolium perenne* growth and its cadmium enrichment [J]. China Environmental Science, 2023,43(3):1386-1396.
- [3] Wei S H, Zhou Q X. Phytoremediation of cadmium-contaminated soils by *Rorippa globosa* using two-phase planting [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2006,13(3):151-155.
- [4] 崔祥芬,张琴,田森林,等.中国稻田土壤镉污染及务农性暴露概率风险[J]. 中国环境科学, 2021,41(8):3878-3886.
Cui X F, Zhang Q, Tian S L, et al. Status of paddy soil Cd pollution and probabilistic health risk via agricultural contact in China [J]. China Environmental Science, 2021,41(8):3878-3886.
- [5] 徐双圆,朱家辉,王栋茹,等.植物套作系统修复镉污染农田土壤的效应——以苏南地区为例[J]. 中国环境科学, 2024,44(6):3289-3300.
Xu S Y, Zhu J H, Wang D R, et al. Effect of plant intercropping system on remediation of cadmium contaminated farmland soil—A case study on the southern Jiangsu province area [J]. China Environmental

- Science, 2024,44(6):3289-3300.
- [6] 于方明,余秋平,刘可慧,等.肠杆菌 FM-1 强化积雪草修复镉污染土壤机理[J]. 中国环境科学, 2018,38(12):4625-4630.
Yu F M, Yu Q P, Liu K H, et al. Improvement of cadmium-contaminated soil phytoremediation by *Centella asiatica* L. through bioaugmentation of *Enterobacter* sp. FM-1 [J]. China Environmental Science, 2018,38(12):4625-4630.
- [7] Li J T, Gurajala H K, Wu L H, et al. Hyperaccumulator plants from China: A synthesis of the current state of knowledge [J]. Environmental Science & Technology, 2018,52(21):11980-11994.
- [8] Liu J, Mo L, Zhang X, et al. Simultaneous hyperaccumulation of cadmium and manganese in *Celosia argentea* Linn [J]. International Journal of Phytoremediation, 2018,20(11):1106-1112.
- [9] Liu J, Zhang X, Mo L, et al. Decapitation improves the efficiency of Cd phytoextraction by *Celosia argentea* Linn [J]. Chemosphere, 2017, 181:382-389.
- [10] Yu G, Liu J, Long Y, et al. Phytoextraction of cadmium-contaminated soils: comparison of plant species and low molecular weight organic acids [J]. International Journal of Phytoremediation, 2020,22(4): 383-391.
- [11] Yu G, Jiang P, Fu X, et al. Phytoextraction of cadmium-contaminated soil by *Celosia argentea* Linn.: A long-term field study [J]. Environmental Pollution, 2020,266:115408.
- [12] 张冰,刘杰,蒋萍萍,等.巨大芽孢杆菌与柠檬酸联合强化青葙修复镉污染土壤研究[J]. 农业环境科学学报, 2021,40(3):552-561.
Zhang B, Liu J, Jiang P P, et al. *Bacillus megaterium* and citric acid enhanced the remediation of Cd-contaminated soil by *Celosia argentea* Linn [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2021,40(3): 552-561.
- [13] Zhang Y, Gao X, Shen Z, et al. Pre-colonization of PGPR triggers rhizosphere microbiota succession associated with crop yield enhancement [J]. Plant and Soil, 2019,439(1/2):553-567.
- [14] Jeong S, Moon H S, Shin D, et al. Survival of introduced phosphate-solubilizing bacteria (PSB) and their impact on microbial community structure during the phytoextraction of Cd-contaminated soil [J]. Journal of Hazardous Materials, 2013,263:441-449.
- [15] 傅校锋,刘杰,龙玉梅,等.强化青葙修复镉污染土壤的柠檬酸施用方式优化试验研究[J]. 土壤, 2020,52(1):153-159.
Fu X F, Liu J, Long Y M, et al. Experimental study on optimization of citric acid application method for remediation of cadmium-contaminated soil by *Celosia argentea* Linn [J]. Soils, 2020,52(1): 153-159.
- [16] Li L, Wang S, Li X, et al. Effects of *Pseudomonas chenduensis* and biochar on cadmium availability and microbial community in the paddy soil [J]. Science of the Total Environment, 2018,640-641:1034-1043.
- [17] 蒋萍萍,俞果,姚诗音,等.不同螯合剂强化青葙修复土壤镉污染的效应[J]. 南方农业学报, 2019,50(11):2443-2449.
Jiang P P, Yu G, Yao S Y, et al. Remediation effects on cadmium contaminated soil by different chelating agents enhanced *Celosia argentea* Linn [J]. Journal of Southern Agriculture, 2019,50(11): 2443-2449.
- [18] 苏宝玲,韩士杰,王建国.根际微域研究中土样采集方法的研究进展

- [J]. 应用生态学报, 2000,(3):477-480.
- Su B L, Han S J, Wang J G, et al. Advance in soil sampling methods in rhizosphere microzone study [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2000,(3):477-480.
- [19] Li C, Wang X, Huang H, et al. Effect of multiple heavy metals pollution to bacterial diversity and community structure in farmland soils [J]. Human and Ecological Risk Assessment, 2021,27(3):724-741.
- [20] Zhang S, Pei L, Zhao Y, et al. Effects of microplastics and nitrogen deposition on soil multifunctionality, particularly C and N cycling [J]. Journal of Hazardous Materials, 2023,451:131152.
- [21] Zhu Q, Zhou J, Sun M, et al. A newly isolated *Bacillus megaterium* OQ560352 promotes maize growth in saline soils by altering rhizosphere microbial communities and organic phosphorus utilization [J]. Rhizosphere, 2023,27:100746.
- [22] Jin J, Wang C, Liu R, et al. Soil microbial community compositions and metabolite profiles of *Achnatherum inebrians* affect phytoremediation potential in Cd contaminated soil [J]. Journal of Hazardous Materials, 2023,459:132280.
- [23] Zeng X, Li S, Leng Y, et al. Structural and functional responses of bacterial and fungal communities to multiple heavy metal exposure in arid loess [J]. Science of the Total Environment, 2020,723:138081.
- [24] Liu H, Wang C, Xie Y, et al. Ecological responses of soil microbial abundance and diversity to cadmium and soil properties in farmland around an enterprise-intensive region [J]. Journal of Hazardous Materials, 2020,392:122478.
- [25] Ward N L, Challacombe J F, Janssen P H, et al. Three genomes from the phylum *Acidobacteria* provide insight into the lifestyles of these microorganisms in soils [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009,75(7):2046-2056.
- [26] Barns S M, Takala S L, Kuske C R. Wide distribution and diversity of members of the bacterial kingdom *Acidobacterium* in the environment [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999,65(4):1731-1737.
- [27] Yao R, Yang J, Wang X, et al. Response of soil characteristics and bacterial communities to nitrogen fertilization gradients in a coastal salt-affected agroecosystem [J]. Land Degradation & Development, 2021,32(1):338-353.
- [28] Lee S M, Kong H G, Song G C, et al. Disruption of firmicutes and actinobacteria abundance in tomato rhizosphere causes the incidence of bacterial wilt disease [J]. ISME Journal, 2021,15(1):330-347.
- [29] Janssen P H. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006,72(3):1719-1728.
- [30] Waigi M G, Sun K, Gao Y. *Sphingomonads* in microbe-assisted phytoremediation: Tackling soil pollution [J]. Trends in Biotechnology, 2017,35(9):883-899.
- [31] Li X, Li B, Zheng Y, et al. Physiological and rhizospheric response characteristics to cadmium of a newly identified cadmium accumulator *Coreopsis grandiflora* Hogg. (Asteraceae) [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2022,241:113739.
- [32] He T, Xu Z M, Wang J F, et al. Inoculation of *Escherichia coli* enriched the key functional bacteria that intensified cadmium accumulation by halophyte *Suaeda salsa* in saline soils [J]. Journal of Hazardous Materials, 2023,458:131922.
- [33] Gralka M, Szabo R, Stocker R, et al. Trophic Interactions and the Drivers of Microbial Community Assembly [J]. Current Biology, 2020,30(19):R1176-R1188.
- [34] 吴希慧,王蕊,高长青,等.土地利用驱动的土壤性状变化影响微生物群落结构和功能 [J]. 生态学报, 2021,41(20):7989-8002.
- Wu X H, Wang R, Gao C Q, et al. Variations of soil properties effect on microbial community structure and functional structure under land uses [J]. Acta Ecologica Sinica, 2021,41(20):7989-8002.
- [35] 杨乐,樊妙春,上官周平.根际土壤氮循环过程研究概述 [J]. 陕西林业科技, 2022,50(5):116-122.
- Yang L, Fan M C, Shanguan Z P, et al. An overview of the research in soil nitrogen cycling in rhizosphere [J]. Shaanxi Forest Science and Technology, 2022,50(5):116-122.
- [36] 王萍,李一曼,王雪佳,等.巨大芽孢杆菌对土壤理化性质及植物富集镉的影响 [J]. 环境科学, 2022,43(12):5798-5807.
- Wang P, Li Y M, Wang X J, et al. Effects of *Bacillus megaterium* on soil physicochemical properties and its effects on the accumulation of Cd and Zn in plant [J]. Environmental Science, 2022,43(12):5798-5807.
- [37] Sansupa C, Wahdan S F M, Hossen S, et al. Can we use functional annotation of prokaryotic taxa (FAPROTAX) to assign the ecological functions of soil bacteria? [J]. Applied Sciences-Basel, 2021,11(2):688.
- [38] Zhao C, He X, Dan X, et al. Soil dissolved organic matters mediate bacterial taxa to enhance nitrification rates under wheat cultivation [J]. Science of the Total Environment, 2022,828:154418.
- [39] 邓月强,曹雪莹,谭长银,等.巨大芽孢杆菌对伴矿景天修复镉污染农田土壤的强化作用 [J]. 应用生态学报, 2020,31(9):3111-3118.
- Deng Y Q, Cao X Y, Tan C Y, et al. Strengthening the effect of *Bacillus megaterium* on remediation of Cd-contaminated farmland soil by *Sedum plumbizincicola* [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2020,31(9):3111-3118.
- [40] Yu G, Ullah H, Wang X, et al. Integrated transcriptome and metabolome analysis reveals the mechanism of tolerance to manganese and cadmium toxicity in the Mn/Cd hyperaccumulator *Celosia argentea* Linn [J]. Journal of Hazardous Materials, 2023,443:130206.
- [41] Bao Y, Guo A, Ma J, et al. Citric acid and glycine reduce the uptake and accumulation of Fe₂O₃ nanoparticles and oxytetracycline in rice seedlings upon individual and combined exposure [J]. Science of the Total Environment, 2019,695:133859.

作者简介: 赖才星(1997-),男,广西荔浦人,桂林理工大学博士研究生,从事土壤重金属污染治理方面研究.laicaixing@glut.edu.cn.