

DOI:10.11918/202408022

BC-AMF 联合对水稻根际 Cd 固定的趋向调控机制

赵廷¹, 杨基先¹, 汤丁丁², 薛强², 刘东斌², 王立¹

(1. 城市水资源与水环境国家重点实验室(哈尔滨工业大学), 哈尔滨 150090;

2. 中建三局绿色产业投资有限公司, 武汉 430074)

摘要: 为探究外源添加物如何影响水稻根际微环境, 进而对水稻 Cd 积累过程产生影响, 采用生物炭(BC)和丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhiza fungi, AMF)作为非生物与生物制剂的代表, 联合添加修饰水稻根际环境应对土壤 Cd 污染。结果表明: 生物炭和 AMF 的添加均促使土壤有机质质量分数提高, 且对土壤有效磷、速效钾质量分数以及土壤碳、氮固定具有积极的影响, 同时缓解了 Cd 胁迫对土壤脲酶的活性抑制作用, 使土壤 DTPA-Cd 占比从 58.95% 提高到 64.42%; Cd 胁迫影响了水稻根际土壤微生物群落的丰富度和多样性, 而生物炭和 AMF 的添加促使土壤中变形菌门的丰度由 29.7% 恢复到 33.1%; 土壤 Cd 质量分数为 1 mg/kg 时, BC + AMF 处理组较 CK 处理组 *Bacillus* 群落丰度提高 88.5%; 在 5 mg/kg 土壤 Cd 胁迫下, 生物炭和 AMF 的联合施加使水稻根系 Cd 积累量占比由 CK 处理组的 60.4% 提高到联合处理组的 77.1%, 而籽实 Cd 积累量占比由 4.4% 降低到 1.6%; 生物炭和 AMF 的施加可通过提高水稻根际土壤的营养条件和微生物群落结构和功能, 促进 Cd 在水稻根系的固定, 减少了向地上部籽实的迁移。这一结果为联合生物和非生物因子对重金属污染土壤环境的改善提供了理论支持。

关键词: 重金属; 根际固定; 丛枝菌根真菌; 秸秆生物炭; 水稻

中图分类号: X53

文献标志码: A

文章编号: 0367-6234(2025)05-0011-11

Tendency regulation mechanism of BC-AMF combination on Cd fixation in rice rhizosphere

ZHAO Ting¹, YANG Jixian¹, TANG Dingding², XUE Qiang², LIU Dongbin², WANG Li¹

(1. State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment (Harbin Institute of Technology), Harbin 150090, China;

2. China Construction Third Bureau Green Industry Investment Co., Ltd., Wuhan 430074, China)

Abstract: This study aims to elucidate the effects of exogenous additives on the rhizospheric microenvironment of rice and their subsequent influence on Cd accumulation. Biochar (BC) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) were utilized as representatives of abiotic and biotic agents, respectively, jointly added to modify the rice rhizosphere in response to soil Cd contamination. Results show that the incorporation of both biochar and AMF significantly enhanced the soil organic matter content, thereby exerting a positive impact on the levels of available phosphorus, available potassium, and soil carbon-nitrogen fixation. Furthermore, these additives mitigated the inhibitory effects of Cd stress on soil urease activity, resulting in an increase in the proportion of DTPA-extractable Cd from 58.95% to 64.42%. Cd stress significantly influenced the richness and diversity of the microbial community within the rice rhizosphere soil. The addition of biochar and AMF facilitated the recovery of the abundance of the proteobacteria phylum, increasing from 29.7% to 33.1%. At the 1 mg/kg soil Cd, the abundance of the *Bacillus* community in the BC + AMF treatment group increased by 88.5% compared to the CK treatment group. Under a stress condition of 5 mg/kg soil Cd, the synergistic application of biochar and AMF resulted in an increase in the proportion of Cd accumulation within the rice root system, rising from 60.4% in the CK group to 77.1% in the BC + AMF treatment group, concurrently reducing the proportion of Cd accumulation in the seeds from 4.4% to 1.6%. The addition of biochar and AMF improved the nutritional conditions and the structure and functionality of the microbial community in the rice rhizosphere soil, thereby facilitating the sequestration of Cd within the rice root system and diminishing its translocation to the aboveground seeds. These findings offer substantial theoretical support for the integrated application of biotic and abiotic factors in the remediation of heavy metal-contaminated soil environments.

Keywords: heavy metal; rhizosphere immobilization; arbuscular mycorrhizal fungi; straw biochar; rice

收稿日期: 2024-08-09; 录用日期: 2024-09-09; 网络首发日期: 2024-09-20

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/23.1235.T.20240919.1626.004>

基金项目: 国家自然科学基金(52270154)

作者简介: 赵廷(1990—), 男, 博士研究生; 杨基先(1964—), 男, 教授, 博士生导师

通信作者: 杨基先, yangjx@hit.edu.cn

近年来,随着自然资源的大规模开发和工业化的快速发展,土壤重金属污染问题日益严重^[1]。水稻作为全球重要的粮食作物,其安全种植对保障粮食安全至关重要^[2]。由于重金属不可自然降解^[3],通过根际钝化作用固定重金属以降低经济作物经济器官的重金属积累量,是确保在中轻度 Cd 污染土壤条件下原位种植和作物安全生产的重要前提。菌根能够与植物根系建立有益的共生关系^[4],自 Bradley 等^[5]首次发现石楠属菌根能降低宿主植物吸收过量 Cu,菌根在重金属植物根际固定方面的研究便开始受到越来越多的关注。Chen 等^[6]发现,接种 AMF 后 Zn 污染土壤中重金属有效态降低,增强了土壤的重金属固定。普东伟等^[7]发现,丛枝菌根真菌菌丝体表面的羟基、羧基等负离子与重金属阳离子结合,使大量重金属固定到根系部分。He 等^[8]发现,AMF 可以把重金属固定在植物的根部或将其转变为其他形态,以减少植物的吸收转运,从而降低食用部位的重金属浓度。同时,生物炭因其强吸附固定性、营养性和环境友好的特点,在土壤污染修复领域得到广泛应用^[9]。二者作为生物技术和非生物技术的典型代表,其技术联合有望成为一种新型植物根际重金属固定方法,但目前对于菌根等生物技术与生物炭等非生物因子在土壤重金属固定技术中的联合应用研究较少,二者联合对于土壤环境调控和植物重金属积累的影响尚不明确。

本文通过生物炭和丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhiza fungi, AMF)联合对水稻 Cd 积累以及 Cd 污染土壤环境的影响,判断 AMF 和生物炭对植物根际微环境的改造作用,确定菌剂接种和外源生物炭添加对根际环境的修饰功能及其对根际营养条件的潜在功能,探寻一种可在重金属原位固定基础上保障作物安全生产的新方法。

1 实验

1.1 实验材料

实验用土壤采自中国黑龙江省哈尔滨市郊区农田(45°45'N, 126°40'E)。将土壤样品在 121 °C 下高压蒸汽灭菌 120 min 以消除土壤中微生物。土壤样品的基本理化性质为:pH 5.88,有机质 118.6 g/kg,速效磷 36.54 mg/kg,速效钾 143.67 mg/kg,总 Cd 0.094 mg/kg。以水稻秸秆为原料,在 600 °C 下热解 120 min 得到实验用生物炭。水稻(*Oryza sativa* L.)种子由黑龙江省农业科学院提供,为当地广泛种植的品种。摩西管柄囊霉(*Funneliformis mosseae*, BGC BJ01)由北京市农林科学院植物营养与资源研究所提供。

1.2 实验设计

将 CdCl₂·2.5H₂O 溶液加入土壤中,以制备一系

列不同 Cd 质量分数的土壤样本(0、0.5、1.5 mg/kg)。将生长均匀的水稻幼苗移栽进行盆栽试验。实验共包括 4 个处理,处理方法如下。1) CK(对照组):土壤 2.5 kg,灭菌菌剂 100 g;2) BC(接种生物炭):土壤 2.5 kg,灭菌菌剂 100 g,125 g 生物炭;3) AMF(接种 AMF):土壤 2.5 kg,100 g AMF 菌剂;4) BC + AMF(接种生物炭和 AMF):土壤 2.5 kg,100 g AMF 菌剂,125 g 生物炭。CK 和 BC 组添加 10 mL 菌剂滤液(过 10 μm 筛),以保证各处理组细菌群落一致。每个处理 3 个平行。水稻幼苗种植于塑料盆中(长 43 cm,宽 19 cm,高 14 cm),每盆种植 12 株。

1.3 参数测定

1.3.1 土壤性质及酶活测定

1) 土壤 pH。取适量土壤样品,去除杂质和石块,将土壤样品平铺自然风干后粉碎过 2 mm 筛,取 10 g 土壤样品,加入 25 mL 去离子水,进行 2 min 快速搅拌后静置 30 min 以沉淀,将 pH 计的探头浸入上层清液,以测量其 pH。

2) 土壤有机质^[10]。取风干过筛后土壤过 100 目(0.15 mm)筛,在外加热条件下,用重铬酸钾-硫酸溶液氧化有机物,硫酸亚铁溶液滴定测量土壤有机质质量分数。

3) 土壤有效磷^[10]。取风干过筛后土壤过 20 目(0.85 mm)筛,取 2.5 g,并同 50 mL 0.5 mol/L 的 NaHCO₃ 溶液与一匙无磷活性炭混合,经过 30 min 震荡后,使用无磷滤纸进行过滤。随后采用钼锑抗比色法测定土壤中有效磷的质量分数。

4) 土壤速效钾^[10]。取风干过筛后土壤过 1 mm 筛,取 5 g,将 50 mL 1 mol/L 的 NH₄OAc 溶液与其混合,经过 30 min 的震荡处理后过滤,利用 ICP-OES(inductively coupled plasma optical emission spectrometer)对过滤后溶液中的 K 质量分数进行测定。

5) 土壤碳、氮元素质量分数。利用元素分析仪测量并计算土壤中碳、氮质量分数及比例。

6) 土壤脲酶活性。采用试剂盒检测土壤中脲酶的活性。

7) 土壤 Cd 质量分数测定^[11]。将土壤样品风干后过 100 目(0.15 mm)筛,取适量样品置于锥形瓶中,加入 HCl、HNO₃ 和 HClO₄ 酸混合液置于电热板加热,待消解完成后,将消解液用 1% 的 HNO₃ 溶液定容至 50 mL 容量瓶中,过 0.45 μm 滤膜后,用 ICP-OES 测定 Cd 质量分数。

8) 土壤 DTPA-Cd 质量分数测定^[12]。称取 10.0 g 风干过筛后土壤样品,置于 50 mL 离心管中,加入 20 mL DTPA 提取液,在室温下以 180 r/min 振荡频率振荡 2 h,将混合物进行离心分离,取上清液定容,用 ICP-OES 测定 DTPA-Cd 质量分数。

1.3.2 微生物群落分析

取水稻根际土壤样品,用液氮速冻后保存,完成16S rRNA 高通量测序。计算样品稀释曲线、OTU 数目、Ace、Chao1、Shannon、Simpson 等 Alpha 多样性指数,并进行微生物群落分析。

1.3.3 水稻各器官 Cd 积累量测定

于水稻收获期,将水稻整株植物从土壤中取出,自来水冲洗水稻根部 2 min,随后用去离子水冲洗 3 次。将水稻各器官在干燥箱中烘干至恒质量,随后将水稻根系、茎叶和籽实研磨成粉末。准确称量后置于锥形瓶内,加入 HNO₃ 和 HClO₄ 酸混合液,置于电热板上消解,待消解完成后,将消解液用 1% 的 HNO₃ 溶液定容,过 0.45 μm 滤膜后,用 ICP-OES 测定 Cd 的质量分数,并计算积累量:

$$A_{Cd} = w_{Cd} \times m_D \quad (1)$$

式中: A_{Cd} 为水稻各器官 Cd 积累量, w_{Cd} 为水稻各器官 Cd 质量分数, m_D 为水稻各器官干质量。

1.4 统计分析

数据采用 SPSS 24.0 进行统计分析。通过单因素方差分析确定在相同土壤 Cd 质量分数下,不同处理组(CK、BC、AMF 和 BC + AMF)之间是否存在显著性差异,其中,不同的小写字母表示在相同土壤 Cd 质量分数下不同处理组差异显著 ($P < 0.05$),不同的大写字母表示各处理组在不同土壤 Cd 质量分数下差异显著 ($P < 0.05$)。采用 Pearson 相关性分析土壤性质之间的相关性以及细菌群落和土壤因子之间的相关性。采用 Origin 2021 进行数据图的绘制。

2 结果与分析

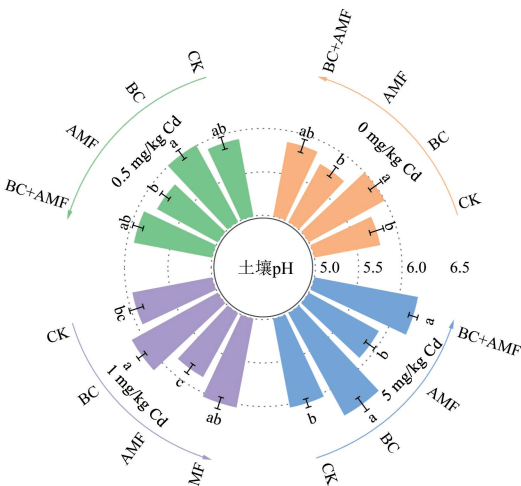
2.1 生物炭和 AMF 对 Cd 污染土壤性质的影响

土壤 pH 如图 1(a) 所示,可以看出,土壤 pH 随着土壤 Cd 质量分数的增加而升高,这可能是 Cd 离子与土壤中的阳离子进行交换,替代了一些酸性离

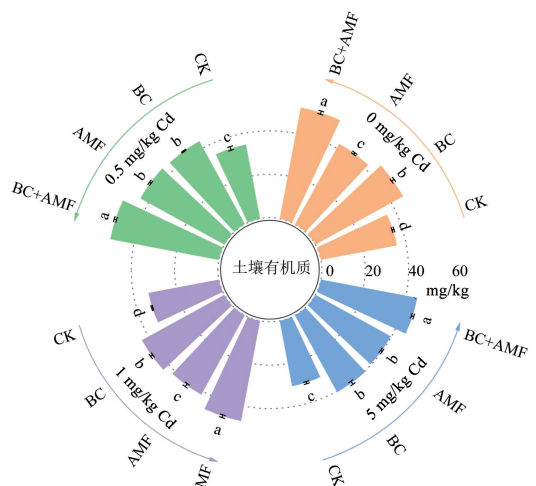
子导致的。5 mg/kg 土壤 Cd 质量分数时,生物炭的添加使土壤 pH 显著提高 0.30 ($P < 0.05$),而 AMF 的添加降低土壤 pH。生物炭和 AMF 相互作用,生物炭提高了土壤 pH,改善了土壤的酸性环境,有利于植物和菌根更好地生长,而植物和菌根的共生使根际微生物活动增强,进而促进植物分泌有机酸等酸性物质^[13],从而降低了土壤 pH,生物炭对土壤环境的改善一定程度上提高了 AMF 对植物生长的促进作用。

土壤有机质质量分数如图 1(b) 所示,可以看出,土壤有机质质量分数随 Cd 质量分数升高而下降。而生物炭的添加能够显著提高土壤有机质质量分数,在 5 mg/kg 土壤 Cd 质量分数时,BC 处理组土壤有机质质量分数较 CK 处理组提高 31.60%。不同土壤 Cd 质量分数条件下,BC + AMF 处理组土壤有机质质量分数均为最高,较 CK 处理组分别提高 45.85%、46.72%、41.93% 和 47.44%。生物炭本身有机质质量分数较高,能为土壤补充有机质^[14],同时,AMF 通过促进植物生长及自身代谢活动,影响了土壤有机质质量分数的增加^[15]。土壤有机质也可以改善土壤性质及孔隙结构,对于土壤重金属污染的修复具有重要的意义^[16]。

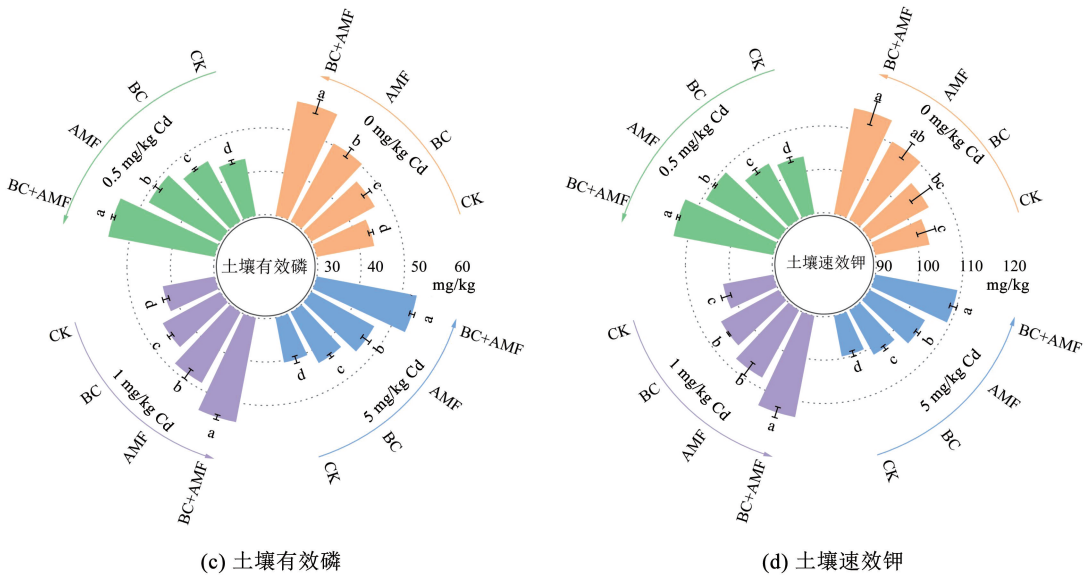
土壤有效磷质量分数如图 1(c) 所示,可以看出,土壤有效磷质量分数随着土壤 Cd 质量分数的升高而降低,最高下降 7.73%。生物炭和 AMF 的添加显著提高了土壤有效磷质量分数。在 5 mg/kg 土壤 Cd 质量分数条件下,BC + AMF 处理组土壤有效磷质量分数较 CK 处理组提高 31.88%。土壤速效钾质量分数如图 1(d) 所示,Cd 胁迫导致了土壤速效钾质量分数减少,5 mg/kg 土壤 Cd 质量分数条件下,土壤速效钾质量分数较未添加 Cd 污染土壤降低了 3.13% ~ 5.36%,而 BC、AMF 和 BC + AMF 处理组土壤速效钾质量分数较 CK 处理组分别提高 2.16%、5.00% 和 9.79%。



(a) 土壤 pH



(b) 土壤有机质



注:不同的小写字母表示在相同土壤 Cd 质量分数下不同处理组差异显著 ($P < 0.05$)。

图 1 不同处理组土壤基本性质

Fig. 1 Basic properties of soil in different treatment groups

土壤碳、氮质量分数及比例如表 1 所示。可以看出,在 5 mg/kg 土壤 Cd 质量分数时,BC + AMF 处理组碳质量分数较 CK 处理组提高 5.13 个百分点,AMF 的添加显著增加土壤氮质量分数,而生物炭的添加显著提高了碳氮质量比。

生物炭和 AMF 对于 Cd 污染土壤有效磷和速效钾质量分数均有积极影响。生物炭释放出阳离子,与土壤中的磷酸根离子结合,形成可溶性的磷肥,同

时吸附土壤中的速效钾,提高其稳定性,减少钾的流失。AMF 可以通过调节土壤 pH 影响土壤中钾的溶解度和有效性。有研究表明,土壤中土壤 pH 的降低导致了土壤有效磷的增加^[17]。AMF 对于土壤中一些固氮微生物的促进作用也能增加土壤氮素质量分数^[18]。生物炭和 AMF 在 Cd 污染土壤中的协同作用改善了土壤理化性质及通气性和透水性,促进土壤团粒结构的形成,进而促进植物根系吸收营养。

表 1 不同处理组土壤碳、氮元素质量分数及比例

Tab. 1 Content mass percentage and proportion of soil carbon and nitrogen in different treatment groups

$w(\text{土壤 Cd})/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	处理	$w(\text{碳})/\%$	$w(\text{氮})/\%$	碳氮质量比
0	CK	$8.23 \pm 0.04c$	$0.72 \pm 0.01c$	$11.50 \pm 0.03c$
	BC	$12.10 \pm 0.08a$	$0.79 \pm 0.02a$	$15.32 \pm 0.29b$
	AMF	$9.34 \pm 0.03b$	$0.77 \pm 0.01ab$	$12.21 \pm 0.12c$
	BC + AMF	$12.19 \pm 0.17a$	$0.73 \pm 0.01bc$	$16.81 \pm 0.34a$
0.5	CK	$8.93 \pm 0.01b$	$0.74 \pm 0.00a$	$12.06 \pm 0.02b$
	BC	$11.94 \pm 0.46a$	$0.74 \pm 0.03a$	$16.13 \pm 0.04a$
	AMF	$9.01 \pm 0.05a$	$0.75 \pm 0.00a$	$12.01 \pm 0.07b$
	BC + AMF	$12.80 \pm 0.01a$	$0.79 \pm 0.01a$	$16.20 \pm 0.21a$
1	CK	$9.21 \pm 0.30c$	$0.77 \pm 0.03a$	$12.04 \pm 0.00c$
	BC	$11.83 \pm 0.02b$	$0.78 \pm 0.00a$	$15.16 \pm 0.03b$
	AMF	$10.00 \pm 0.20c$	$0.80 \pm 0.00a$	$12.50 \pm 0.25c$
	BC + AMF	$14.32 \pm 0.47a$	$0.83 \pm 0.03a$	$17.25 \pm 0.06a$
5	CK	$9.35 \pm 0.30d$	$0.78 \pm 0.04b$	$12.07 \pm 0.16c$
	BC	$12.57 \pm 0.21b$	$0.82 \pm 0.01ab$	$15.33 \pm 0.07b$
	AMF	$10.41 \pm 0.18c$	$0.86 \pm 0.01a$	$12.17 \pm 0.13c$
	BC + AMF	$14.48 \pm 0.20a$	$0.87 \pm 0.01a$	$16.64 \pm 0.04a$

注:不同的小写字母表示在相同土壤 Cd 质量分数下不同处理组差异显著 ($P < 0.05$)。

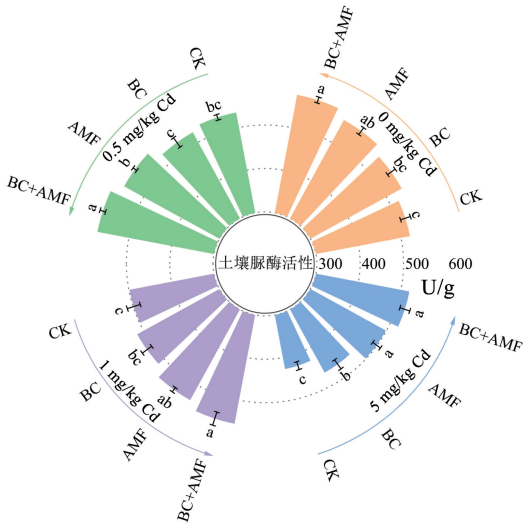
2.2 生物炭和 AMF 对 Cd 胁迫下土壤脲酶活性及 Cd 质量分数的影响

土壤脲酶活性如图 2(a) 所示。可以看出, 土壤脲酶活性随土壤 Cd 质量分数升高而先小幅升高而后随之下落, 这表明低 Cd 污染土壤胁迫对土壤脲酶活性有一定的促进作用。在 5 mg/kg 土壤 Cd 质量分数时, CK、BC、AMF 和 BC + AMF 处理组土壤脲酶活性较未添加 Cd 时分别降低了 18.11%、10.56%、4.29% 和 0.26%, 表明生物炭和 AMF 的添加均能缓解 Cd 对土壤脲酶活性的抑制作用。

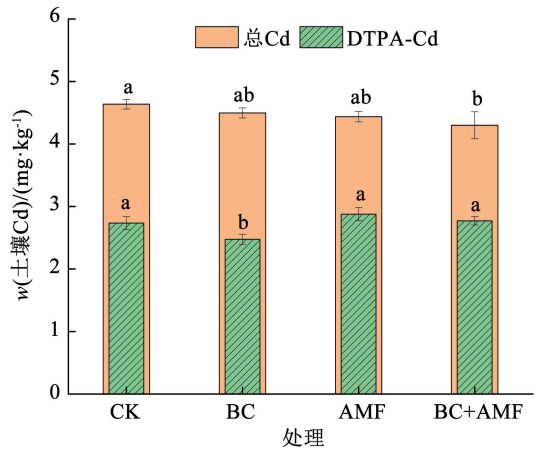
土壤脲酶活性作为土壤主要生化指标之一^[19], 与土壤中微生物数量以及土壤理化性质密切相关^[20]。而土壤 Cd 污染会直接影响土壤脲酶活性, 因此, 土壤脲酶活性可以作为反映土壤 Cd 污染程度的指标^[21]。5 mg/kg 土壤 Cd 质量分数对土壤脲酶活性的抑制, 可能是因为 Cd 胁迫影响了植物根际微生物活动而抑制了土壤脲酶的合成^[22]。生物

炭与 AMF 的联合效应进一步缓解了 Cd 对土壤脲酶的抑制, 有利于植物更好地吸收土壤中的营养物质, 从而降低土壤重金属对植物的 Cd 毒性。

植物对于土壤中 Cd 的吸收一方面与土壤中总 Cd 质量分数有关, 另一方面受重金属的植物有效性影响。5 mg/kg 土壤 Cd 质量分数下, 土壤总 Cd 质量分数和 DTPA-Cd 质量分数如图 2(b) 所示。可以看出, 生物炭和 AMF 的添加降低了土壤总 Cd 质量分数。生物炭的单独添加较 CK 处理组显著降低了土壤 DTPA-Cd 质量分数(8.49%), 而 AMF 的单独施加以及其和生物炭的联用增加了土壤 DTPA-Cd 质量分数。CK、BC、AMF 和 BC + AMF 处理组土壤 DTPA-Cd 占总 Cd 质量分数分别为 58.95%、55.00%、64.84% 和 64.42%。这表明 AMF 的添加促进了土壤中难溶 Cd 向 DTPA-Cd 的转化, 这可能会促进植物吸收 Cd。



(a) 土壤脲酶活性



(b) 土壤总Cd和DTPA-Cd

图 2 不同处理组土壤脲酶活性及 Cd 质量分数

Fig. 2 Soil urease activity and Cd content in different treatment groups

土壤脲酶活性和土壤基本理化性质的相关性分析如图 3 所示。可以看出, 土壤脲酶活性和土壤有机质、有效磷和速效钾呈极显著正相关($P < 0.01$), 与土壤 pH 呈显著负相关($P < 0.05$)。土壤 pH 的改变会影响脲酶的活性, 进而影响土壤中氮素的转化和供应^[23]。生物炭和 AMF 的施加提高了 Cd 污染土壤有机质、有效磷和速效钾质量分数。土壤碳质量分数及土壤碳氮质量比与土壤 pH、有机质、有效磷和速效钾质量分数均显著相关, 这表明土壤碳质量分数及比例可能是通过影响 Cd 污染条件下水稻根际土壤有机质、有效磷和速效钾等指标进而对水稻根际土壤脲酶活性产生影响。

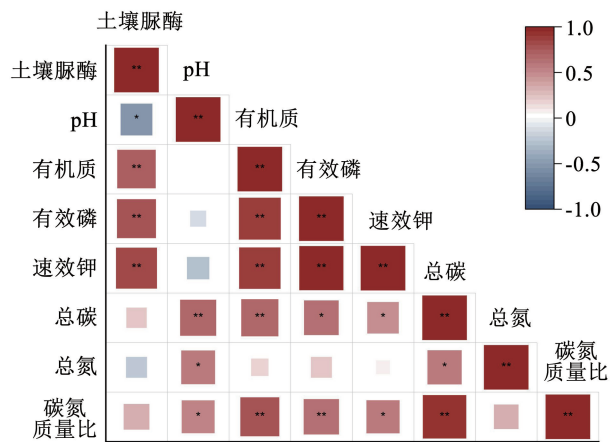


图 3 土壤脲酶活性与土壤理化性质的相关性分析

Fig. 3 Correlation analysis between soil urease activity and soil physicochemical properties

2.3 生物炭和 AMF 对 Cd 污染土壤微生物群落多样性的影响

土壤样品 OTU 数如图 4(a) 所示。在 CK 处理组,未添加 Cd 污染土壤中的 OTU 数均高于添加 Cd 污染土壤。这表明土壤 Cd 污染在一定程度上减少了土壤 OTU 数目,影响了水稻根际微生物群落的多样性和丰度。Alpha 多样性指数用以评估微生物群落的丰富度和多样性^[24]。不同土壤 Cd 胁迫条件下,水稻根际土壤 Alpha 多样性指数如图 4(b) ~ (e) 所示,可以看出,在各个土壤 Cd 质量分数条件下,生物炭和 AMF 的单独和共同添加均能提高样品的 ACE 指数、Chao1 指数和 Shannon 指数,且 BC +

AMF 处理组最高,表明生物炭和 AMF 的联合效应增加了水稻根际土壤微生物群落的丰富度和多样性。而 BC + AMF 处理组的 Simpson 指数较 CK 处理组均有显著降低,表明增加了水稻根际土壤的微生物群落多样性。

Cd 对土壤群落的多样性存在一定的毒性,降低了土壤微生物群落丰富度和多样性^[25]。而生物炭和 AMF 的添加增加了土壤微生物群落的丰富度和多样性,表明二者可以减轻 Cd 胁迫对土壤微生物的毒害作用,之前的研究证实 AMF 接种减轻玉米根际微生物多样性受到伤害^[26]。

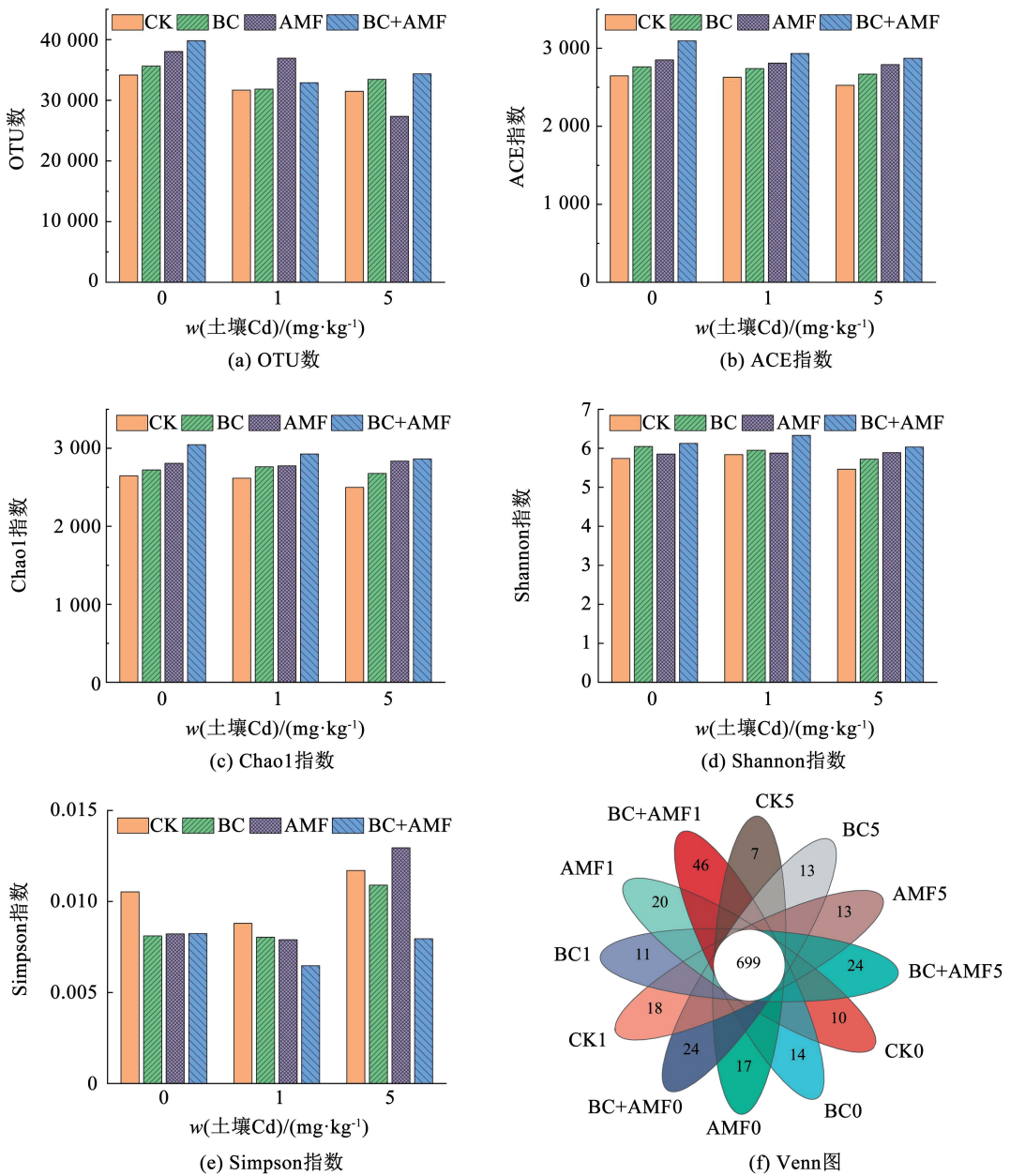


图 4 不同处理组多样性指数及 Venn 图

Fig. 4 Diversity index and Venn diagram of different treatment groups

选用相似水平为 97% 的 OTU 样本, 绘制 CK、BC、AMF 和 BC + AMF 4 个不同处理组在 Cd 胁迫水平分别为 0、1、5 mg/kg 共 12 个土壤样本数据的 Venn 图, 结果如图 4(f) 所示。可以看出, 所有处理组共有 699 个 OTU, 不同土壤 Cd 质量分数条件下, BC + AMF 处理组分别独有 24、46 和 24 个 OTU, 在所有处理组中均为最高, 表明生物炭和 AMF 的添加对水稻根际土壤微生物群落的组成产生了影响。

2.4 生物炭和 AMF 对 Cd 污染土壤微生物组成的影响

不同处理组水稻根际土壤微生物群落组成 Circos 图如图 5(a) 所示, 可以看出, 变形菌门为所有处理组的优势菌。在 5 mg/kg 土壤 Cd 质量分数条件下, 变形菌门丰度由 CK 组的 29.7% 提高到 BC + AMF 处理组的 33.1%。变形菌门含有的很多固氮菌等对土壤生态系统中的碳、氮循环具有重要的作用^[27]。CK 处理组变形菌门的相对丰度由未添

加 Cd 处理的 29.1% 提高到 1 mg/kg 土壤 Cd 质量分数下的 35.4%。Cd 污染对水稻根际土壤中变形菌门的丰度有促进作用, 重金属的胁迫作用增加了变形菌门的丰度^[28]。在 CK 处理组, 酸杆菌门丰度由未添加土壤 Cd 处理组的 10.2% 下降到 5 mg/kg 土壤 Cd 处理组的 5.3%, 酸杆菌门偏好酸性环境, 而 Cd 添加增高了土壤 pH, 这可能是水稻根际土壤酸杆菌门丰度受 Cd 污染而降低的原因之一。

对不同处理组微生物群落进行 Beta 多样性分析, 结果如图 5(b) 所示。PCoA 分析结果表明, 主成分 1 和主成分 2 解释度分别为 40.18% 和 18.82%。BC、AMF 和 BC + AMF 处理组与 CK 处理组微生物群落之间存在明显的分离, 且 BC + AMF 处理组距离最远, 而 BC 处理组和 AMF 处理组之间没有明显差异, 表明 BC 和 AMF 的联合对土壤微生物群落具有显著的影响。

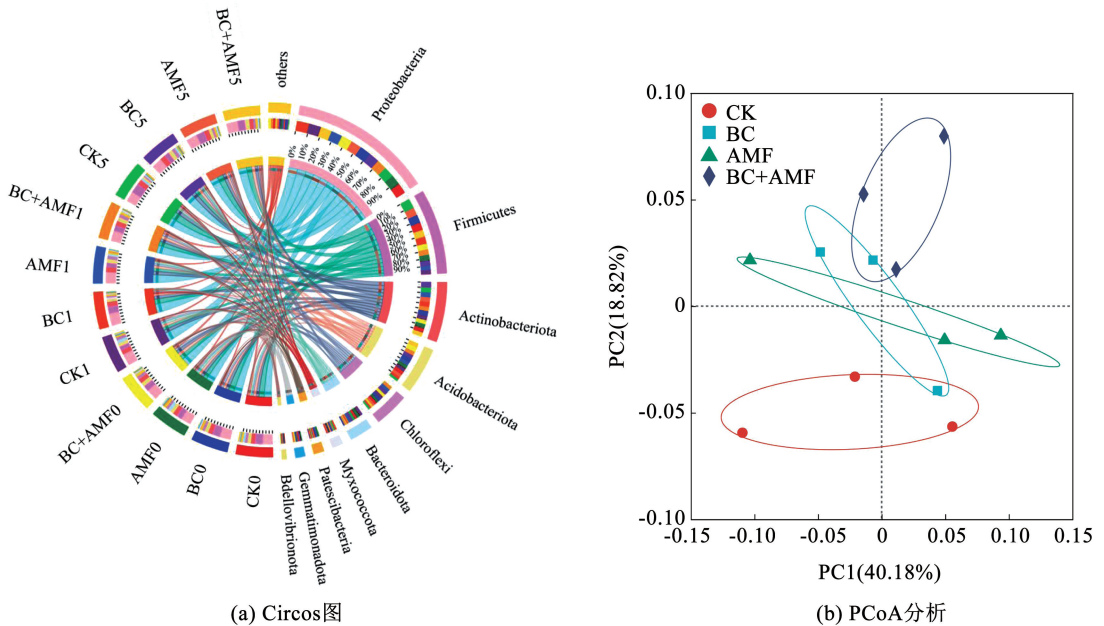


图 5 不同处理组根际土壤细菌群落组成 Circos 图及 PCoA 分析

Fig. 5 Circos map and PCoA analysis of composition of rhizosphere soil bacterial community in different treatment groups

水稻根际土壤微生物群落在属水平上的丰度百分比如图 6 所示。可以看出, 土壤中丰度排名靠前的优势菌属为 *Bacillus*、*Ramlibacter*、*Conexibacter*、*Tumebacillus* 和 *Massilia*。在 CK 处理组, 土壤 Cd 质量分数为 5 mg/kg 时 *Bacillus* 群落丰度较未添加土壤 Cd 处理组提高 96.3%。在重金属胁迫下, *Bacillus* 菌属通过自身代谢作用产生的胞外分泌物与重金属的络合作用、螯合反应使土壤重金属形态发生变化, 进而降低重金属对植物的生物毒性^[29-30]。在未添加土壤 Cd 和土壤 Cd 质量分数为 1 mg/kg 时, BC + AMF 处理组较 CK 处理组 *Bacillus* 群落丰度分别提高 21.3% 和 88.5%。这表明生物

炭和 AMF 的联合施加促进了 *Bacillus* 的繁殖, 其对 Cd 污染土壤的修复及固定具有十分重要的意义。

不同土壤 Cd 质量分数胁迫条件下土壤多样性指数和优势菌门与土壤环境因子的相关性如图 7(a) 所示。可以看出, 土壤有机质、有效磷、速效钾和土壤脲酶活性与 ACE 指数、Chao1 指数、Shannon 指数和酸杆菌门丰度呈正相关, 而与 Simpson 指数呈负相关 ($P < 0.05$)。这表明土壤理化性质的提高和脲酶活性的增强可以提高土壤微生物多样性, 土壤微生物群落会随着土壤理化性质的改变而变化^[31], 这种改变对土壤应对 Cd 胁迫具有重要的意义^[32]。生物炭与 AMF 的施用促进了微生物

物群落结构的优化,保障了土壤微生物的活动以及发挥各自的功能。

为了更好地研究物种与土壤环境因子之间的关系,作水稻根际土壤优势菌门与土壤环境因子的 RDA 分析,如图 7(b) 所示。土壤因子共解释了群落物种变化的 88.9% (RDA1 为 64.79%, RDA2 为 24.11%)。可以看出,土壤有机质、有效磷、速效钾

和土壤脲酶有助于酸杆菌门的富集,变形菌门与土壤脲酶的相关性最强。土壤 pH 会影响微生物群落结构^[33],土壤碳、氮也会影响微生物群落组成^[34],而拟杆菌门与土壤 pH 和碳、氮质量分数呈明显负相关。生物炭和 AMF 的联合添加通过对土壤环境因子的影响,间接改变了水稻根际微生物群落的多样性和组成。

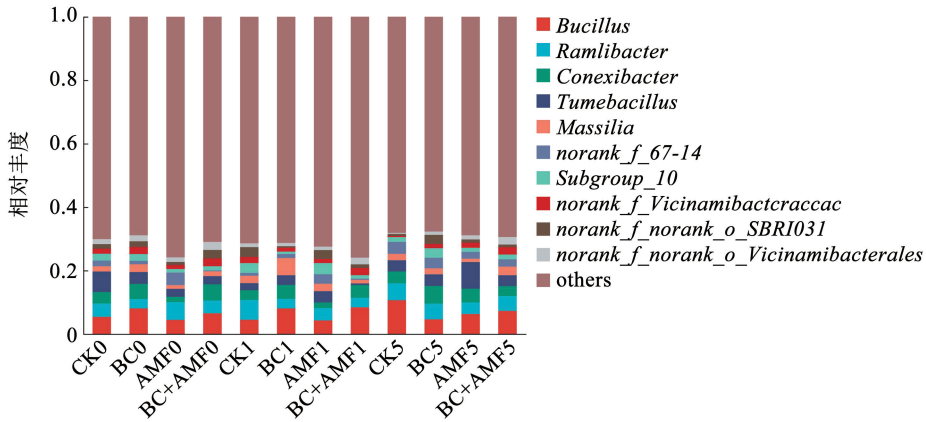
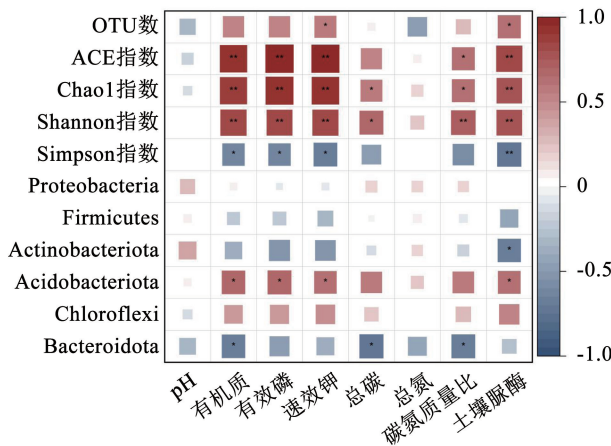
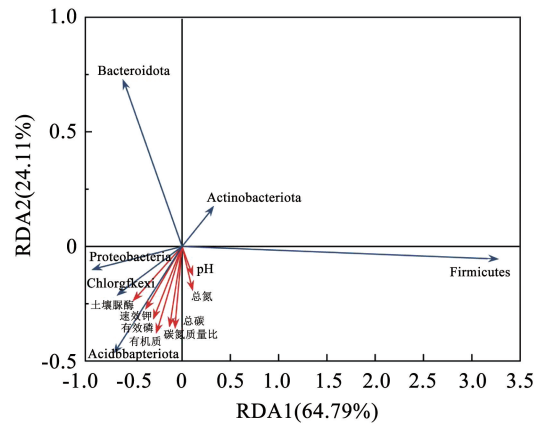


图 6 所有土壤样品在属分类水平上的分布

Fig. 6 The distribution of all soil samples at genus classification level



(a) 土壤性质与土壤微生物相关性



(b) 土壤因子与土壤优势菌门的冗余分析

图 7 土壤性质与土壤微生物组成分析

Fig. 7 Analysis of soil properties and soil microbial composition

2.5 生物炭和 AMF 对 Cd 胁迫下水稻 Cd 积累的影响

水稻各器官 Cd 积累量如图 8 所示。从图 8(a) 可以看出,水稻根系 Cd 积累量随 Cd 质量分数的升高而增加,生物炭和 AMF 的添加提高了水稻根系 Cd 积累量。BC + AMF 处理组较 CK 处理组水稻根系 Cd 积累量提高 116.40% ~ 121.40%。这可能是由于生物炭和 AMF 提高了土壤 DTPA-Cd 质量分数,促进了植物的吸收。从图 8(b) 可以看出,水稻茎叶 Cd 积累量随着土壤 Cd 质量分数的升高也呈现增加的趋势。但仅在 0.5 mg/kg 土壤 Cd 质量分

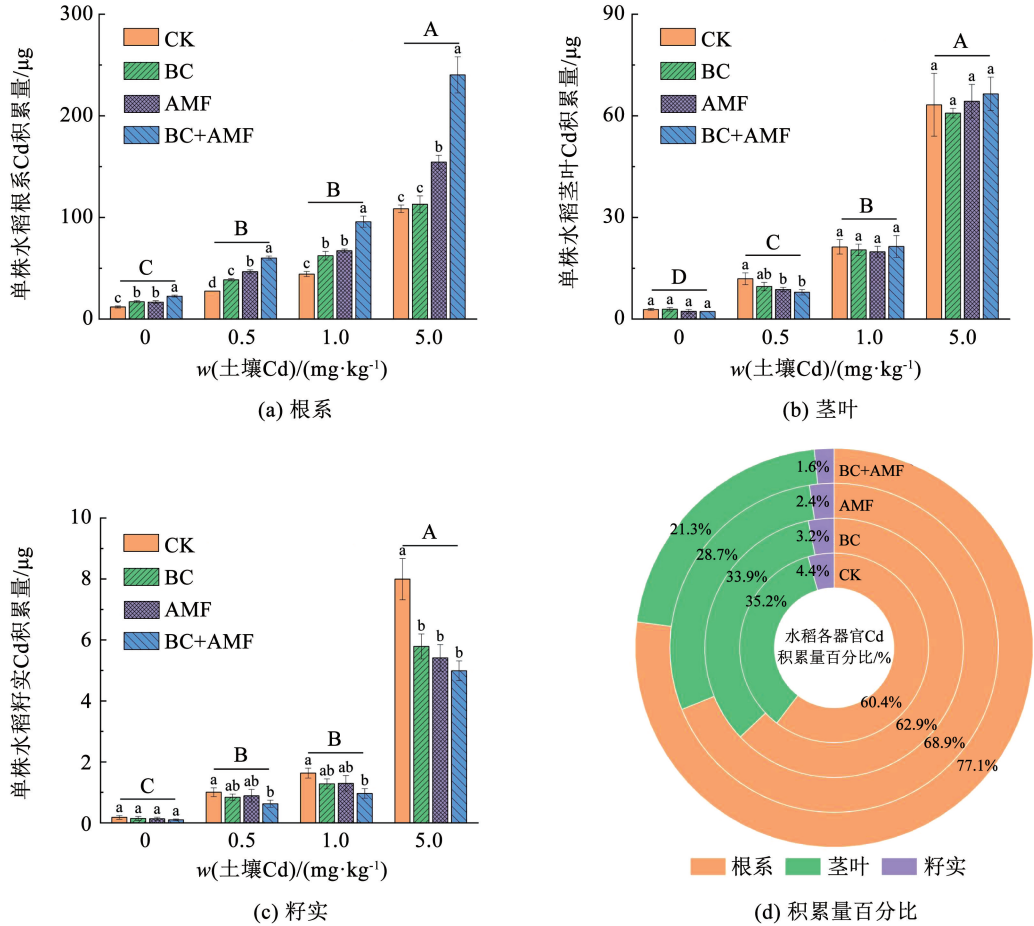
数时,AMF 和 BC + AMF 处理组水稻茎叶 Cd 积累量与 CK 处理组相比显著降低。对于水稻籽实,从图 8(c) 可以看出,Cd 积累量随土壤 Cd 质量分数的升高而增加。在 5 mg/kg 土壤 Cd 质量分数时,BC、AMF 和 BC + AMF 处理组水稻籽实 Cd 积累量较 CK 处理组分别降低 27.63%、32.28% 和 37.61%。水稻籽实 Cd 积累量的减少表明,生物炭和 AMF 的施加对于水稻籽实 Cd 质量分数的降低,不只是因为二者对于水稻籽实产量增加而产生的稀释效应,生物炭和 AMF 的协同作用调节了水稻籽实的 Cd 富集,通过降低 Cd 向植物地上部的转运,减少了 Cd

从土壤向水稻籽实的积累。

5 mg/kg 土壤 Cd 质量分数下, 水稻各器官 Cd 积累量百分比如图 8(d) 所示, 可以看出, 水稻根系 Cd 积累量明显高于茎叶积累量和籽实积累量。AMF 对水稻根系 Cd 积累量的增加作用强于生物炭, CK、BC、AMF 和 BC + AMF 处理组分别有 60.4%、62.9%、68.9% 和 77.1% 固定在水稻根系, 生物炭和 AMF 联合施加的协同作用, 放大了各自对于水稻根系 Cd 的固定作用, 从而进一步减少了 Cd 在水稻籽实中的积累。BC + AMF 处理组水稻籽实 Cd 积累量占比由 CK 处理组的 4.4% 降低到 1.6%。

籽实 Cd 积累量的减少表明二者调节了 Cd 在水稻各器官的分布。

为了更好地揭示不同 Cd 处理条件下各指标的差异性, 作土壤 Cd 质量分数、生物炭和 AMF 的三因素方差分析(表 2)。可以看出, 生物炭和 AMF 的单独和联合添加对土壤有机质、有效磷、速效钾、根系 Cd 积累量和籽实 Cd 积累量均有显著影响($P < 0.05$)。Cd、生物炭和 AMF 三者的交互作用对于土壤有机质和水稻根系籽实 Cd 积累具有显著影响, 这表明生物炭和 AMF 的添加对于 Cd 污染土壤 Cd 在水稻根际固定和籽实积累具有一定的联合效应。



注: 不同的小写字母表示在相同土壤 Cd 质量分数下不同处理组差异显著 ($P < 0.05$), 不同的大写字母表示各处理组在不同土壤 Cd 质量分数下差异显著 ($P < 0.05$)。

图 8 不同处理组水稻各器官 Cd 积累情况

Fig. 8 Cd accumulation in rice organs in different treatment groups

表 2 三因素方差分析 F 值与显著性

Tab. 2 F-values and significance of tested parameters by three-way ANOVA

指标 (Parameter)	Cd	BC	AMF	Cd × BC	Cd × AMF	BC × AMF	Cd × BC × AMF
pH	24.62 **	63.02 **	15.62 **	2.60ns	0.19ns	0.26ns	0.40ns
有机质 (OM)	109.06 **	1458.99 **	998.39 **	7.58 **	6.00 **	45.38 **	5.41 **
有效磷 (AP)	20.87 **	221.03 **	659.45 **	0.20ns	0.65ns	31.47 **	0.16ns
速效钾 (AK)	15.85 **	49.63 **	202.51 **	0.67ns	0.74ns	5.72 *	0.10ns
脲酶 (Urease)	73.49 **	22.59 **	121.89 **	1.53ns	3.21 *	0.12ns	1.84ns
根系 Cd 积累量 (Root Cd)	878.79 **	115.60 **	305.59 **	18.73 **	79.18 **	35.01 **	23.33 **
茎叶 Cd 积累量 (Stem/Leaf Cd)	586.39 **	0.09ns	0.00ns	0.14ns	1.16ns	0.87ns	0.19ns
籽实 Cd 积累量 (Grain Cd)	799.04 **	25.25 **	34.21 **	9.10 **	16.09 **	5.04 *	5.71 **

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, ns 为不显著。

3 结 论

1) 生物炭的添加提高了土壤的 pH, 其与 AMF 的联合施加促进土壤有机质质量分数的提高, 对于土壤有效磷、速效钾质量分数以及土壤碳、氮固定具有积极的影响, 缓解了高 Cd 胁迫对土壤脲酶的活性抑制作用。

2) AMF 的添加促进了土壤中难溶 Cd 向 DTPA-Cd 的转化, 从而促进了植物根系吸收 Cd。Cd 胁迫降低了水稻根际土壤的丰度和多样性, 而生物炭和 AMF 的添加减少了 Cd 胁迫对于土壤微生物群落组成的破坏, 帮助恢复和增加了水稻根际土壤的丰富度和多样性, 对 Cd 胁迫下保障水稻根际土壤微生物群落结构的稳定性具有重要的意义。

3) 生物炭和 AMF 的联合作用使水稻根系 Cd 积累量增长显著, 并抑制水稻根系 Cd 向水稻地上部的迁移, 从而增强了 Cd 在水稻根系的固定, 减少了 Cd 在水稻籽实富集。为联合非生物和生物因子改善重金属污染土壤环境及保障作物安全生产提供了技术支持。

参 考 文 献

- [1] XUE Dawei, JIANG Hua, DENG Xiangxiong, et al. Comparative proteomic analysis provides new insights into cadmium accumulation in rice grain under cadmium stress [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 280: 269. DOI:10.1016/j.jhazmat.2014.08.010
- [2] SHANG Lianguang, LI Xiaoxia, HE Huiying, et al. A super pan-genomic landscape of rice[J]. *Cell Research*, 2022, 32(10): 878. DOI:10.1038/s41422-022-00685-z
- [3] 曹方彬. 水稻重金属积累的品种与环境效应及调控技术研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014
CAO Fangbin. Cultivar and environmental effects and regulation of heavy metal accumulation in rice [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014
- [4] WAHAB A, MUHAMMAD M, MUNIR A, et al. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in regulating growth, enhancing productivity, and potentially influencing ecosystems under abiotic and biotic stresses [J]. *Plants (Basel)*, 2023, 238(5): 2236. DOI: 10.3390/plants12173102
- [5] BRADLEY R, BURT A J, READ D J. Mycorrhizal infection and resistance to heavy metal toxicity in *Calluna vulgaris* [J]. *Nature*, 1981, 292: 335. DOI: 10.1038/292335a0
- [6] CHEN B D, LI X L, TAO H Q, et al. The role of arbuscular mycorrhiza in zinc uptake by red clover growing in a calcareous soil spiked with various quantities of zinc [J]. *Chemosphere*, 2003, 50(6): 839. DOI:10.1016/S0045-6535(02)00228-X
- [7] 普东伟, 邱亮, 周巧红, 等. 生物炭与丛枝菌根真菌联用对镉固化效果研究[J]. *环境科学与技术*, 2023, 46(1): 56
PU Dongwei, QIU Liang, ZHOU Qiaohong, et al. Effects of canna biochar combined with arbuscular mycorrhiza on soil cadmium immobilization [J]. *Environmental Science & Technology*, 2023, 46(1): 56. DOI:10.19672/j.cnki.1003-6504.1165.22.338
- [8] HE Y, FAN X, ZHANG G, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytes on maize performance and root traits under a high cadmium stress [J]. *South African Journal of Botany*, 2020, 134: 415. DOI:10.1016/j.sajb.2019.09.018
- [9] FELLET G, MARMIROLI M, MARCHIOL L. Elements uptake by metal accumulator species grown on mine tailings amended with three types of biochar [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 468/469: 598. DOI:10.1016/j.scitotenv.2013.08.072
- [10] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000
BAO Shidan. *Soil and agricultural chemistry analysis* [M]. 3rd ed. Beijing: China Agricultural Press, 2000
- [11] HE Dongyi, CUI Jian, GAO Min, et al. Effects of soil amendments applied on cadmium availability, soil enzyme activity, and plant uptake in contaminated purple soil [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 654: 1364. DOI:10.1016/j.scitotenv.2018.11.059
- [12] YANG Xu, QIN Junhao, LI Jianchun, et al. Upland rice intercropping with *Solanum nigrum* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi reduces grain Cd while promoting phytoremediation of Cd-contaminated soil [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 406: 124325. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.124325
- [13] DEHGHANIAN H, HALAJNIA A, LAKZIAN A, et al. The effect of earthworm and arbuscular mycorrhizal fungi on availability and chemical distribution of Zn, Fe and Mn in a calcareous soil [J]. *Applied Soil Ecology*, 2018, 130: 98. DOI:10.1016/j.apsoil.2018.06.002
- [14] 李银光, 张宝珠, 孙守权, 等. 生物炭对镉污染农田土壤改良及甘蔗生长的影响研究[J]. *化学工程师*, 2023, 37(11): 44
LI Yinguang, ZHANG Baozhu, SUN Shouquan, et al. Effects of biochar on soil improvement and sugarcane growth in cadmium contaminated farmland [J]. *Chemical Engineer*, 2023, 37(11): 44. DOI:10.16247/j.cnki.23-1171/tq.20231144
- [15] LI Yanmei, WANG Shaojun, LU Mei, et al. Rhizosphere interactions between earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi increase nutrient availability and plant growth in the desertification soils [J]. *Soil & Tillage Research*, 2019, 186: 146. DOI:10.1016/j.still.2018.10.016
- [16] XIAO Yan, ZHAO Zhuojun, CHEN Lu, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi mitigate the negative effects of straw incorporation on *Trifolium repens* in highly Cd-polluted soils [J]. *Applied Soil Ecology*, 2021, 157: 103736. DOI: 10.1016/j.apsoil.2020.103736
- [17] MAHOHI A, RAIESI F. The performance of mycorrhizae, rhizobacteria, and earthworms to improve Bermuda grass (*Cynodon dactylon*) growth and Pb uptake in a Pb-contaminated soil [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28(3): 3019. DOI:10.1007/s11356-020-10636-z
- [18] 王瑾, 毕银丽, 邓穆彪, 等. 丛枝菌根对采煤沉陷区紫穗槐生长及土壤改良的影响[J]. *科技导报*, 2014, 32(11): 26
WANG Jin, BI Yinli, DENG Mubiao, et al. Effects of arbuscular mycorrhiza on growth of *Amorpha Fruticosa* L. and soil improvement in coal mining subsidence area [J]. *Science & Technology Review*, 2014, 32(11): 26

- [19] ABDELKRIM S, JEBARA S H, SAADANI O, et al. In situ effects of *Lathyrus sativus*-PGPR to remediate and restore quality and fertility of Pb and Cd polluted soils [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 192: 110260. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.110260
- [20] GUO Di, REN Chunyan, ALI A, et al. *Streptomyces pactum* combined with manure compost alters soil fertility and enzymatic activities, enhancing phytoextraction of potentially toxic metals (PTMs) in a smelter-contaminated soil [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 181: 312. DOI:10.1016/j.ecoenv.2019.06.024
- [21] ZHANG Yan, JI Hongbing. Physiological responses and accumulation characteristics of turfgrasses exposed to potentially toxic elements [J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 246: 796. DOI:10.1016/j.jenvman.2019.06.030
- [22] YANG Baoshan, HE Fei, ZHAO Xiaoxia, et al. Composition and function of soil fungal community during the establishment of *Quercus acutissima* (Carruth.) seedlings in a Cd-contaminated soil [J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 246: 150. DOI:10.1016/j.jenvman.2019.05.153
- [23] SU Yongzhong, LI Yulin, CUI Jianyuan, et al. Influences of continuous grazing and livestock exclusion on soil properties in a degraded sandy grassland, Inner Mongolia, northern China [J]. *Catena*, 2005, 59(3): 267. DOI:10.1016/j.catena.2004.09.001
- [24] LI Qi, XING Yingna, FU Xiaowen, et al. 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. DOI:10.1016/j.ecoenv.2021.112016
- [25] WU Bin, HOU Siyu, PENG Dinghua, et al. Response of soil micro-ecology to different levels of cadmium in alkaline soil [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 166: 116. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.09.076
- [26] HAO Lijun, ZHANG Zhechao, HAO Baihui, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi alter microbiome structure of rhizosphere soil to enhance maize tolerance to La [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 212: 111996. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.111996
- [27] LU Huilin, WU Yingxin, LIANG Puxing, et al. Alkaline amendments improve the health of soils degraded by metal contamination and acidification: crop performance and soil bacterial community responses [J]. *Chemosphere*, 2020, 257: 127309. DOI:10.1016/j.chemosphere.2020.127309
- [28] LIN Hai, LIU Chenjing, LI Bing, et al. *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. DOI:10.1016/j.jhazmat.2020.123829
- [29] JEONG S, MOON H, NAM K, et al. Application of phosphate-solubilizing bacteria for enhancing bioavailability and phytoextraction of cadmium (Cd) from polluted soil [J]. *Chemosphere*, 2012, 88(2): 204. DOI:10.1016/j.chemosphere.2012.03.013
- [30] FOSSO-KANKEU E, MULABA-BAFUBIANDI A, MAMBA B, et al. Prediction of metal-adsorption behaviour in the remediation of water contamination using indigenous microorganisms [J]. *Journal of Environmental Management*, 2011, 92(10): 2786. DOI:10.1016/j.jenvman.2011.06.025
- [31] NIU Hong, LENG Yifei, LI Xuecheng, et al. Behaviors of cadmium in rhizosphere soils and its interaction with microbiome communities in phytoremediation [J]. *Chemosphere*, 2021, 269: 128765. DOI:10.1016/j.chemosphere.2020.128765
- [32] WANG Binghan, CHU Changbin, WEI Huawei, et al. Ameliorative effects of silicon fertilizer on soil bacterial community and pakchoi (*Brassica chinensis* L.) grown on soil contaminated with multiple heavy metals [J]. *Environment Pollution*, 2020, 267: 115411. DOI:10.1016/j.envpol.2020.115411
- [33] JIN Yu, ZHANG Baofeng, CHEN Junqiao, et al. Biofertilizer-induced response to cadmium accumulation in *Oryza sativa* L. grains involving exogenous organic matter and soil bacterial community structure [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 211: 111952. DOI:10.1016/j.ecoenv.2021.111952
- [34] LIU Ting, WU Xiaohong, LI Huangwei, et al. Soil organic matter, nitrogen and pH driven change in bacterial community following forest conversion [J]. *Forest Ecology and Management*, 2020, 477: 118473. DOI:10.1016/j.foreco.2020.118473

(编辑 刘彤)