

傅丽媛, 刘梅静, 李阳, 和建华, 梁新然, 何永美, 吴龙华, 湛方栋. 一株解磷细菌去除溶液中镉和铅及促进作物生长的效应与机制[J]. 土壤学报, 2026,
FU Liyuan, LIU Meijing, LI Yang, HE Jianhua, LIANG Xinran, HE Yongmei, WU Longhua, ZHAN Fangdong. Mechanism of a Cadmium-Lead Tolerant Phosphorus-Solubilizing Bacterium, *Bacillus* sp. PSB32, in Metal Removal and Plant Growth Promotion in Contaminated Systems [J]. Acta Pedologica Sinica, 2026,

一株解磷细菌去除溶液中镉和铅及促进作物生长的效应与机制*

傅丽媛¹, 刘梅静¹, 李阳¹, 和建华¹, 梁新然¹, 何永美¹, 吴龙华², 湛方栋^{1†}

(1. 云南农业大学资源与环境学院, 昆明 650051; 2. 中国科学院南京土壤研究所, 南京 211135)

摘要: 解磷细菌 (Phosphorus-solubilizing bacteria, PSB) 普遍存在于重金属污染土壤中, 但关于 PSB 对土壤重金属及作物生长的影响仍了解有限。采用一株分离自云南高原玉米根际耐受镉 (Cd)、铅 (Pb) 的解磷细菌——芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.) PSB32, 研究其对溶液中 Cd、Pb 的去除及污染土壤中玉米 (*Zea mays* L.) 生长的影响与机制。结果表明, 溶液 Cd 和 Pb 胁迫下, PSB32 对溶液中 Cd 的去除以胞内累积和表面沉淀 (分别占 Cd 总去除量的 43.7%和 43.2%) 为主, 胞外吸附为辅 (占 Cd 总去除量的 13.0%); 对溶液中 Pb 的去除以表面吸附 (占总 Pb 去除量的 53.2%) 为主, 表面沉淀和胞内累积为辅 (分别占总 Pb 去除量的 28.8%和 18.0%)。扫描电镜分析发现, 溶液 Cd 和 Pb 胁迫下 PSB32 菌体表面形成颗粒状沉积物, X 射线衍射鉴定菌体表面的沉淀物为 $\text{Cd}_3(\text{PO}_4)_2$ 、 $\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$ 和 $\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$; 傅里叶红外光谱分析发现, -COOH、-OH、-NH₂ 等官能团和 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-} 等阴离子基团参与菌体对溶液中 Cd 和 Pb 的表面络合; 盆栽试验中, PSB32 导致不同污染程度土壤 (污染农田、尾矿、矿渣) 残渣态 Cd 比例提高 5.90%~9.43%, 可还原态 Pb 比例降低 7.2%~18.8%; 有效磷含量增加 3.00%~18.7%; 促进玉米生物量增加 25.7%~82.2%, 污染农田和尾矿土壤中玉米茎叶 Cd 含量增加 61.90%和 32.91%, 矿渣上玉米根系 Cd、Pb 含量显著增加 365%和 35.3%。总之, 这株解磷细菌具有生物去除溶液镉铅, 增加土壤 Cd 有效性及增强植物耐性的生态功能, 可为重金属污染土壤的生物修复提供潜在菌种资源。

关键词: 解磷细菌; 芽孢杆菌; 生物吸附; 磷酸盐沉淀; 促生效应

中图分类号: X53

文献标志码: A

Mechanism of a Cadmium-Lead Tolerant Phosphorus-Solubilizing Bacterium, *Bacillus* sp. PSB32, in Metal Removal and Plant Growth Promotion in Contaminated Systems

FU Liyuan¹, LIU Meijing¹, LI Yang¹, HE Jianhua¹, LIANG Xinran¹, HE Yongmei¹, WU Longhua², ZHAN

*云南省自然科学基金项目(202401AS070087)、国家自然科学基金项目(42267002)和兰坪铅锌矿区重金属污染与生态修复云南省野外科学观测研究站项目(2025AM340006)共同资助 Supported by the Natural Science Foundation of Yunnan Province, China (No. 202401AS070087), the National Natural Science Foundation of China (No. 42267002) and the Heavy Metal Pollution and Ecological Restoration in Lanping Lead-Zinc Mining Area, Observation and Research Station of Yunnan Province, China (No. 2025AM340006)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: zfd97@ynau.edu.cn

作者简介: 傅丽媛 (2001—), 女, 湖南永州人, 硕士研究生, 主要从事土壤重金属污染修复研究。E-mail: 2739124582@qq.com

收稿日期: 2025-08-03; 收到修改稿日期: 2025-10-27; 网络首发日期 (www.cnki.net):

Fangdong^{1†}

(1. College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650051, China; 2. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 211135, China)

Abstract: 【Objective】 Phosphorus-solubilizing bacteria (PSB) are ubiquitous in heavy metal-contaminated soils; however, their impacts on soil heavy metals and crop growth remain inadequately understood. 【Method】 This study investigated the mechanisms and efficacy of *Bacillus* sp. PSB32, a Cd- and Pb-tolerant PSB strain isolated from the maize rhizosphere in the Yunnan Plateau, in removing aqueous Cd and Pb and influencing maize (*Zea mays* L.) growth in contaminated soils. 【Result】 Under Cd and Pb stress, strain PSB32 primarily removed Cd via intracellular accumulation(43.7%) and surface precipitation(43.2%), with biosorption playing a secondary role (13.0%). In contrast, Pb removal was dominated by surface adsorption (53.2%), followed by surface precipitation (28.8%) and intracellular accumulation (18.0%). Scanning electron microscopy (SEM) revealed the formation of granular precipitates on the bacterial cell surface, which were identified by X-ray diffraction (XRD) as $\text{Cd}_3(\text{PO}_4)_2$, $\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$ (Pyromorphite), and $\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy confirmed the involvement of functional groups (e.g., -COOH, -OH, -NH₂) and anionic groups (e.g., PO_4^{3-} , SO_4^{2-}) in the surface complexation of Cd and Pb. In the pot experiments, the amendment of PSB32 across the three differentially contaminated soils (contaminated farmland, tailings, and slag) led to a consistent increase of 5.90%-9.43% in the residual fraction of Cd, alongside a decrease of 7.20%-18.8% in the reducible fraction of Pb. Concurrently, the soil available phosphorus content was enhanced by 3.00%-18.7%, which contributed to a substantial promotion of maize biomass, ranging from 25.7% to 82.2%. Notably, PSB32 also increased the Cd content in maize shoots by 61.9% and 32.9% in the farmland and tailings soils, respectively, and significantly enhanced the accumulation of Cd and Pb in the roots by 365% and 35.3% in the slag soil. 【Conclusion】 In conclusion, *Bacillus* sp. PSB32 demonstrates a dual ecological function: effectively removing aqueous Cd and Pb through multiple mechanisms, and enhancing plant tolerance in contaminated soils by altering metal speciation and improving phosphorus nutrition. This strain presents a promising microbial resource for the bioremediation of heavy metal-contaminated soils.

Key words: Phosphorus-solubilizing bacteria; *Bacillus*; Biosorption; Phosphate precipitation; Plant growth-promoting effect

土壤重金属污染是全球环境领域面临的重大环境问题之一，其中镉（Cd）与铅（Pb）为主要污染物^[1]。在铅锌矿区，采矿和冶炼活动导致周边区域土壤遭受重金属污染，威胁生态环境和农产品安全^[2-3]。然而，在重金属严重污染的土壤中，仍存在大量耐性微生物^[4]，它们可通过吸附、还原、沉淀等多种机制钝化重金属^[5]，为生物修复提供潜在资源。

在这些具有修复潜力的微生物中，解磷细菌（Phosphate-solubilizing bacteria, PSB）广泛分布于重金属污染土壤中^[6-7]。涵盖芽孢杆菌属（*Bacillus*）、假单胞杆菌属（*Pseudomonas*）、欧文氏菌属（*Erwinia*）等。研究表明，PSB可通过多种途径固定重金属，例如，*Klebsiella* sp. M2通过细胞吸附和诱导磷酸盐沉淀降低Cd、Pb有效性^[8]。具体机制包括：化学沉淀作用（如形成 $\text{Cd}_3(\text{PO}_4)_2$ ）、胞外聚合物（EPS）吸附作用（借助-COOH、 $-\text{PO}_4^{3-}$ 等官能团络合重金属离子^[9]），以及氧化还原作用（如将As(III)氧化为As(V)），该氧化过程依赖EPS参与^[10]。

此外，PSB还能分泌有机酸与磷酸酶，活化难溶态磷，提高磷有效性^[11]；其产生的吲哚乙酸（IAA）等植物激素可促进植物在胁迫下生长和养分吸收^[12-13]。实际应用中，PSB可诱导菠菜根表形成磷钙膜，阻控Cd吸收，并促进碳酸镉（ CdCO_3 ）的形成^[14]，展现出良好的修复潜力。

尽管PSB固定重金属已有较多研究^[15-16]，但多集中于假单胞菌属和克雷伯氏菌属^[17-18]，

对芽孢杆菌属在 Cd/Pb 复合污染下的系统性修复机制, 目前知之甚少。具体表现在: 针对特定耐性菌株(如本研究中的 *Bacillus* sp. PSB32)在 Cd/Pb 复合污染中的去除路径及定量贡献率尚不明确; 诱导形成的沉淀产物类型及稳定性缺乏系统解析; 菌株在矿区农田土壤、矿渣、尾矿等异质性极强的实际土壤环境中, 修复效果与作物响应仍需验证。因此, 有必要在多机制协同层面开展定量研究。基于此, 本研究联合采用扫描电子显微镜(SEM)、傅里叶红外光谱(FTIR)和 X 射线衍射(XRD)等技术, 定量解析 PSB32 对 Cd/Pb 的差异去除路径, 明确磷酸盐沉淀的形成机制, 并系统评估其在复合污染土壤—植物系统中的修复效果, 以期重金属污染土壤的生物修复提供理论支撑与菌种资源。

1 材料与方方法

1.1 供试细菌、菌悬液制作及培养基

供试菌株 PSB32 分离自滇东锡地质高背景区玉米根际土壤。经 16S rDNA 基因 V3~V4 区(引物 341F/805R)PCR 扩增与 Illumina MiSeq PE250 高通量测序, 并通过美国国家生物技术信息中心序列局部比对检索工具(NCBI BLAST)对比和系统发育树分析(Bootstrap=1 000), 鉴定 PSB32 为芽孢杆菌属(*Bacillus*)。

菌悬液制备: 将活化后的菌株接种于牛肉膏蛋白胨液体培养基, 于 180 r·min⁻¹、20 °C 培养 24 h 至 OD₆₀₀=0.8。菌液经离心(8 000 r·min⁻¹, 10 min, 4 °C)后用无菌生理盐水洗涤并重悬, 采用平板计数法校准终浓度为 1×10⁸ CFU·mL⁻¹。

无机磷培养基的组分为(g·L⁻¹): 葡萄糖 10, 氯化钠 0.3, MgSO₄·7H₂O 0.3, MnSO₄·4H₂O 0.03, (NH₄)₂SO₄ 0.5, KCl 0.3, FeSO₄·7H₂O 0.03, Ca₃(PO₄)₂ 10, pH 7.0~7.5。固体培养基额外添加 15~18 g 琼脂。

1.2 菌株 PSB32 对溶液 Cd/Pb 的去除试验

接种细菌对溶液 Cd、Pb 的去除效果试验: 将菌悬液 2% (v/v) 接种于 100 mL 含 Cd (0、10、20、40、80 mg·L⁻¹)、Pb (0、50、100、200、400 mg·L⁻¹) 的无机磷液体培养基, 于 180 r·min⁻¹、28 °C 条件下振荡培养 60 h 后, 离心取上清液, 采用火焰原子分光光度计(FAAS, Thermo ICE 3000 SERIES, 美国)测定溶液 Cd、Pb 浓度, 计算去除率。

为探究环境因素的影响, 分别测试了不同浓度磷酸三钙(TCP: 5、10、15 g·L⁻¹)和不同初始 pH (4、5、6、7、8) 条件下, 菌株对 20 mg·L⁻¹ Cd 和 100 mg·L⁻¹ Pb 的去除效果。

重金属离子去除率计算公式如下:

$$\text{去除率}/\% = \frac{C_0 - C_s}{C_0} \times 100 \quad (1)$$

式中, C_0 为溶液 Cd、Pb 的初始浓度, mg·L⁻¹; C_s 为供试菌株培养基中 Cd、Pb 浓度, mg·L⁻¹。

1.3 细菌对溶液 Cd/Pb 的去除动态及解磷特性分析

将菌悬液 2% (v/v) 接种至含 Cd (20 mg·L⁻¹)、Pb (100 mg·L⁻¹) 的无机磷液体培养基, 设置 3 组平行, 同时设置接种等量无菌培养基的处理为空白对照。于 180 r·min⁻¹、28 °C 条件下培养 60 h, 分别于 0、4、8、12、24、36、48、60 h 时取样。紫外分光光度计(EVOLUTION™ 201, Thermo Scientific, 美国)测定细菌生长 OD₆₀₀、解磷量、pH 变化及重金属去除率。

细菌生长指数与 pH: 取适量菌悬液, 直接使用分光光度计测定 600 nm 处的吸光度(OD₆₀₀)并使用 pH 计(PSH-3⁺, 方舟科技有限公司)测定 pH。

解磷量测定: 取 1 mL 样品, 然后于 5 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液, 采用钼蓝比色法测定可溶性磷浓度, 计算公式如下。

$$\text{解磷量}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}) = \frac{(C_t - C_1) \times V \times D}{V_i} \quad (2)$$

式中, C_t 为接种菌株处理组上清液的钼蓝比色法测定浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; C_1 为空白对照组上清液的钼蓝比色法测定浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; V 为离心前培养液的总体积, mL; D 为测定前的稀释倍数; V_i 为接种的菌悬液体积, mL。

1.4 细菌各部位镉、铅分布试验

为解析 PSB32 对 Cd/Pb 的全面去除机制, 将其分为三部分: 细胞表面吸附 (B)、胞内累积 (C)、胞外沉淀 (D)。将 2% (v/v) 菌悬液接种至 Cd、Pb 浓度分别为 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 无机磷培养基中, 于 $180 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、 28°C 振荡培养 60 h。培养结束离心 ($8\,000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 10 min, 4°C), 分离上清液和菌体。

细胞表面吸附量 (B) 测定: 参考 Han 等^[19]的方法, 通过用 $0.02 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙二胺四乙酸 (EDTA) 洗脱菌体后, 测定洗脱液中 Cd、Pb 浓度。胞内累积量 (C) 为 EDTA 洗脱的菌体经高氯酸: 双氧水: 浓硫酸=3: 3: 1 (v/v) 消化后测定, 上清液中残留量 (E) 直接测定。胞外沉淀量 (D) 通过差减法计算: $D=A-B-C-E$ (A 为 Cd/Pb 初始总含量)

1.5 菌体表面沉积物表征分析

收集经 Cd、Pb 胁迫及未胁迫的菌体, 经 2% (v/v) 的戊二醛缓冲液固定, 烘干研磨, 采用 XRD、FTIR、SEM-EDS (扫描电镜能谱仪) 对表面沉积物的物相、官能团、形貌及元素组成进行分析。

1.6 盆栽试验设计

供试土壤为采自云南省会泽县者海镇 (26.5175°N , 103.6023°E) 的污染农田土壤、尾矿土壤和矿渣基质, 基本化学性质见表 1。土壤经风干、过筛 (2 mm) 两次高温灭菌 (121°C 、1 h) 后备用, 供试玉米 (*Zea mays* L.) 品种为云瑞 319。

盆栽试验在云南农业大学实验大棚 (25.1351°N , 102.7559°E) 进行。设置污染农田土壤、尾矿土壤和矿渣基质 3 种污染类型, 每种均设置 PSB32 接种和不接种对照 (CK) 两个处理, 每个处理 4 次重复, 共 24 盆。每盆装灭菌土 1.5 kg (花盆尺寸: 上径 93 mm、下径 65 mm、高 189 mm)。每盆播种 3 粒露白玉米种子, 出苗后定苗至 1 株。接种组每盆施加 20 mL 菌悬液 ($1\times 10^8 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$), 对照组施加等量灭菌菌悬液, 此后每 10 天补接一次。为消除环境差异, 每日随机调整盆栽位置。

表 1 供试土壤化学性质

Table 1 Basic chemical properties of potted soil

供试土壤 Tested soils	pH	SOM ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	TN ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	TP ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	TK ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	AN ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	AP ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	AK ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Cd ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Pb ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
污染农田 土壤 ^①	4.56b	8.52c	0.44b	2.77a	22.5b	14.7b	45.9c	1.17c	3.32c	173c
尾矿土壤 ^②	5.63a	19.67b	0.48b	1.68b	29.3a	16.4b	78.7b	4.25b	10.5b	1 065b
矿渣基质 ^③	5.84a	28.28a	1.59a	1.65b	21.0b	110a	110a	7.49a	19.5a	1 679a

注: 表中数据为平均值 ($n=3$), 同一列的不同小写字母表示不同供试土壤间差异显著 ($P<0.05$)。SOM: 土壤有机质, TN: 全氮, TP: 全磷, TK: 全钾, AN: 碱解氮, AP: 有效磷, AK: 速效钾。下同。Note: Data are averages($n=3$), different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$). SOM: Soil organic matter, TN: Total N, TP: Total P, TK: Total K, AN: Alkali-hydrolyzable N, AP: Available P, AK: Available K. The same below. ^①Contaminated farmland soil, ^②Tailings soil, ^③Slag.

1.7 根际土壤、植物样品采集与分析

玉米培养 45 d 后, 采用“抖落-刮取”法采集玉米根际土壤。土壤风干后, 采用欧洲共

同体参考物连续提取法 (BCR) 测定土壤的镉和铅形态 (弱酸提取态、可还原态、可氧化态、残渣态) [20], 并参考《土壤农化分析》[21] 采用 HCl-H₂SO₄ 钼锑抗比色法测定有效磷含量。

将植物样品洗净、烘干、称重后, 粉碎。植物重金属测定参考 DZ/T 0253.1—2014: 采用 HNO₃-H₂O₂ 微波消解法, 使用电感耦合等离子体质谱法 (ICP-MS) 测定, 同时在测定过程中使用国家标准物质 (GBW10014) 进行质量控制, 回收率为 95%。

1.8 数据分析

采用 Excel 2021 进行数据统计分析, Origin 2024 制图, 采用 SPSS 26 进行单因素方差分析 (ANOVA) 及相关性分析, 最小显著差法 (LSD)、邓肯氏新复极差法 (Duncan) 进行组间的多重比较。采用 MEGA5.1 构建系统发育树。

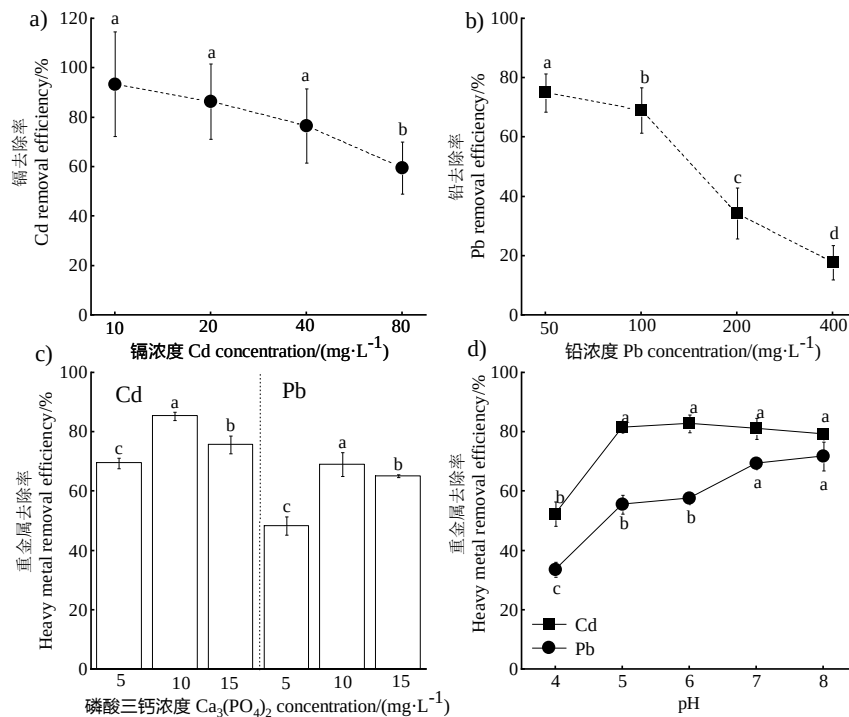
2 结果

2.1 解磷细菌对溶液镉、铅去除效果及影响因素

解磷细菌 PSB32 对溶液 Cd、Pb 的去除率分别为 59.5%~93.5% 和 17.7%~75.0%, 在 10 mg·L⁻¹ Cd、50 mg·L⁻¹ Pb 时最高。随浓度升高, 去除率显著降低 ($P<0.05$), 在 80 mg·L⁻¹ Cd 和 400 mg·L⁻¹ Pb 条件下, Cd、Pb 的去除率分别降至 59.5% 和 17.7%, PSB32 展现出较强的 Cd、Pb 耐受性 (图 1a, 图 1b)。

在 10 g·L⁻¹ TCP 为最优磷源浓度, Cd 和 Pb 去除率峰值达 85.4% 和 69.1%, TCP 增至 15 g·L⁻¹, Pb 去除率下降至 65.2%。各浓度 TCP 下 Cd 去除率始终高于 Pb (图 1c)。

弱酸性 (pH 5~6) 最有利于 Cd 去除 (pH 5 时 Cd 去除率 81.5%), 而 pH 6~8 时更利于 Pb 固定 (图 1d)。综上, 后续试验培养基质以 20 mg·L⁻¹ Cd 和 100 mg·L⁻¹ Pb、10 g·L⁻¹ TCP 为最适条件。



注: 图中不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$); PSB32: 接种 PSB32 菌悬液。下同。Note: Different lowercase letters in the figure indicate significant differences ($P<0.05$); PSB32: Inoculate the PSB32 bacterial suspension. The same below.

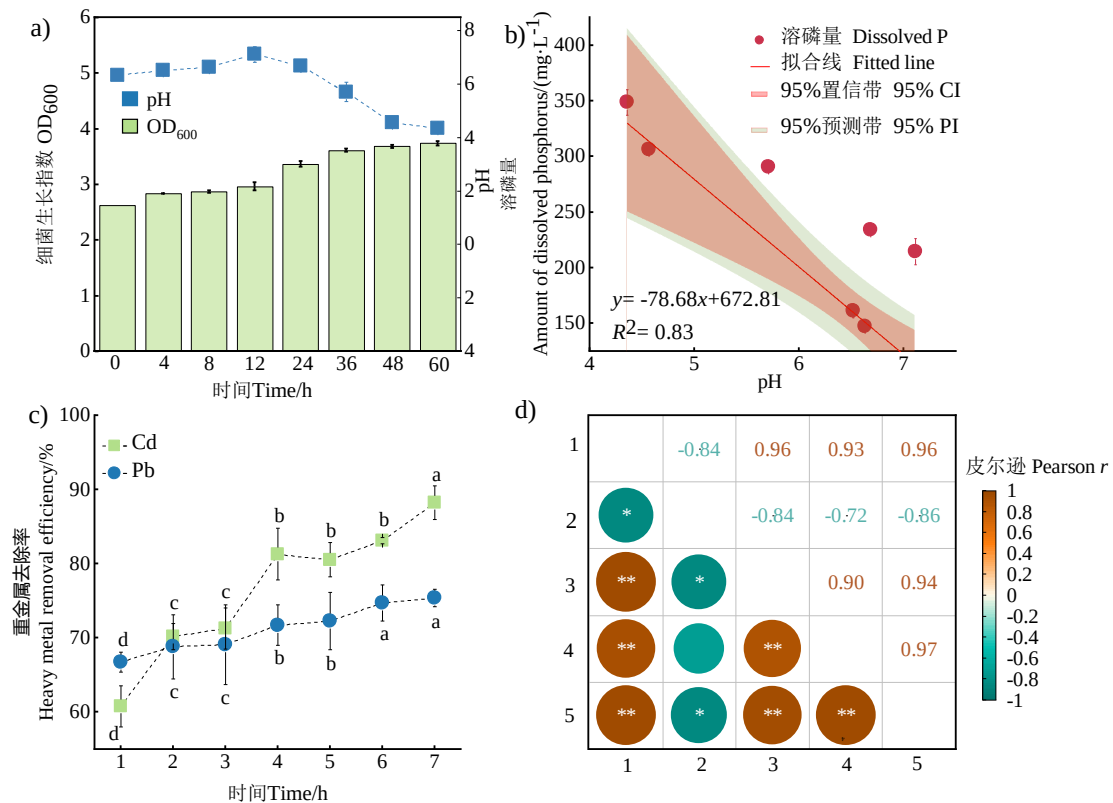
图1 不同浓度梯度的Cd(a)、Pb(b)和磷酸三钙浓度(c)及pH(d)对芽孢杆菌PSB32的Cd、Pb去除率影响

Fig.1 Effects of different concentration gradients of Cd (a), Pb(b), tricalcium phosphate concentration (c) and pH (d) on the removal rates of Cd and Pb by *Bacillus* PSB32

2.2 细菌生长及镉、铅去除动态变化

在 0~60 h 培养期间, OD_{600} 逐步上升, pH 先稳后降(48 h 后显著下降)(图 2a)。PSB32 生长曲线呈现典型的微生物特征: 0~24 h 为对数期, 24~36 h 速率减缓, 36 h 后进入稳定期。pH 与溶磷量呈负相关($R^2=0.83$), pH 增加(4~7)时, 溶磷量从 $350\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降至 $150\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 2b)。

Cd、Pb 去除率随时间持续上升, 镉去除率(终值 88.3%)高于铅去除率(终值 75.4%)(图 2c)。24 h 后去除速率加快, 与菌株生长、pH 下降和溶磷量变化协同。 OD_{600} 和溶磷量与镉、铅去除率呈极显著正相关($P<0.01$), pH 与溶磷量及重金属去除率负相关(图 2d)。



注: 图 d 中纵横坐标中的数字为不同指数在 60 h 内变化的相关性, 1: OD_{600} , 2: pH, 3: 溶磷量, 4: 镉去除率, 5: 铅去除率。* $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。下同。Note: Figure d displays correlation coefficients among different parameters during the 60-hour period, 1: OD_{600} , 2: pH, 3: Amount of dissolved phosphorus, 4: Cd removal efficiency, and 5: Pb removal efficiency. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. The same below.

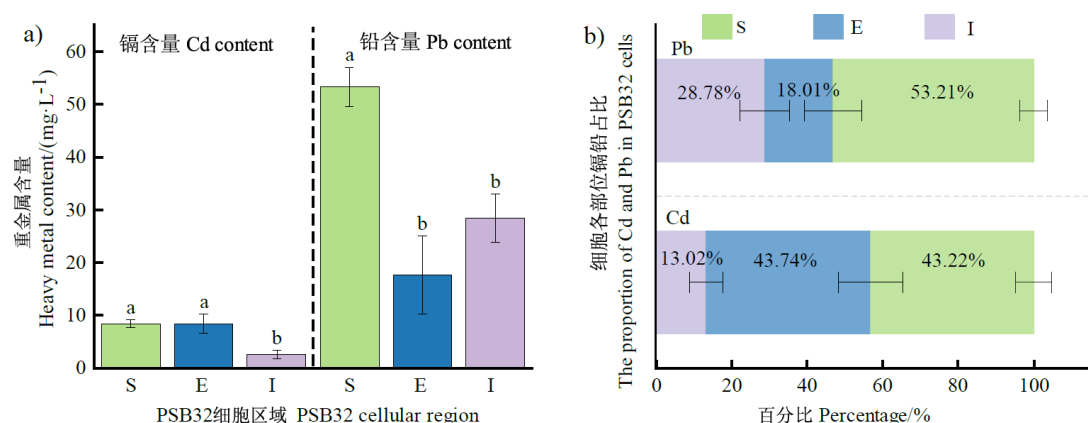
图2 芽孢杆菌PSB32的生长与pH动态变化(a)、pH对溶磷的驱动效应(b)、重金属去除的时序规律(c)和相关性图热图(d)

Fig. 2 Growth of *Bacillus* PSB32 and dynamic changes in pH (a), the driving effect of pH on phosphorus solubilization (b), the temporal sequence of heavy metal removal (c), and the correlation heatmap (d)

2.3 镉、铅在细菌各部位的分布

PSB32 胞内沉淀和表面吸附 Cd 含量分别为 $8.47\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (43.7%) 和 $8.41\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (43.2%) 显著高于 PSB32 胞外 Cd 沉淀量 ($2.51\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 13.0%), 表明对 Cd 更倾向于胞内和表面累

积(图3)。在Pb去除方面,PSB32以表面吸附($53.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 53.2%)为主要途径。通过细胞部位分布差异,揭示了“表面吸附+胞内高效螯合(Cd);表面吸附+胞外沉淀(Pb)”的选择性固定策略,并与(图2c)的结果相呼应。



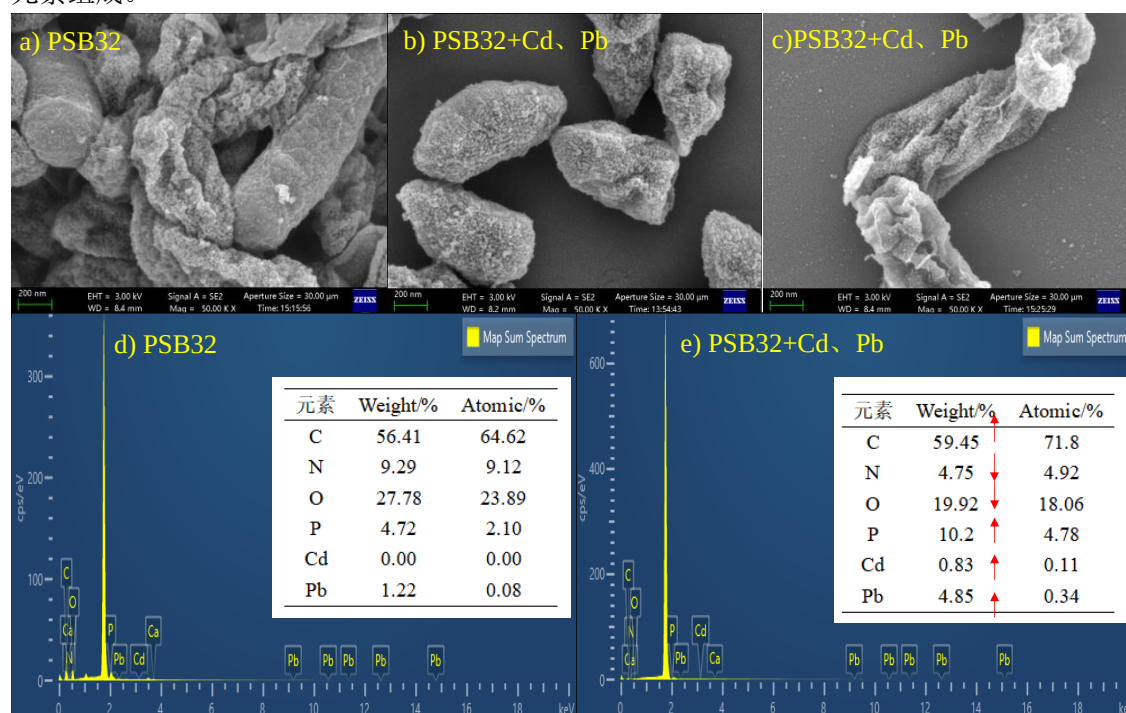
注: S: 细胞表面, E: 细胞外, I: 细胞内。Note: S: cell surface, E: extracellular, and I: intracellular.

图3 芽孢杆菌 PSB32 不同部位重金属含量 (a) 及占比 (b)

Fig. 3 The content (a) and the proportion (b) of heavy metals in different parts of *Bacillus* PSB32

2.4 镉、铅复合胁迫下菌株 PSB32 的微观形态及元素组成

SEM 观察(图4)显示,菌株在正常条件下呈现典型的短杆状和椭圆形态,分布较为稀疏。然而在 Cd 和 Pb 胁迫条件下,细菌表面产生大量颗粒状沉积物。能谱(EDS)分析进一步证实,这些表面沉淀物主要由碳(C)、氮(N)、氧(O)、磷(P)及 Cd、Pb 等元素组成。



注: 图 a) 为 PSB32 在无 Cd、Pb 胁迫下的微观形态; 图 b)、图 c) 为 PSB32 在 Cd、Pb 复合胁迫下的微观形态; 图 d) 为细菌无 Cd、Pb 胁迫下的能谱, 图 e) 为细菌在 Cd、Pb 胁迫下的能谱图(图中 Weight: 质量百分比; Atomic: 原子百分比), 红色箭头表示细菌在复合 Cd、Pb 胁迫下相比无 Cd、Pb 胁迫质量百分比的变化。Note: Figure a) shows the micromorphology of strain PSB32 without Cd and Pb stress; Figures b) and c) show the micromorphology of PSB32 under the combined stress of Cd and Pb; Figure d) presents the energy spectrum of PSB32 without Cd and Pb stress; Figure e) presents the energy spectrum of

PSB32 under Cd and Pb combined stress (where "Weight" in the figures refers to mass percentage and "Atomic" refers to atomic percentage), The red arrows denote changes in the bacterial mass percentage when exposed to combined Cd and Pb stress versus no stress.

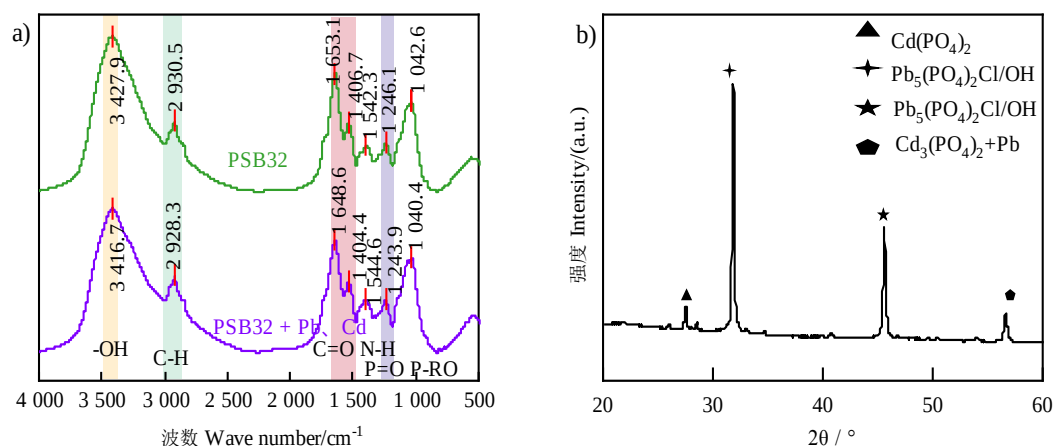
图 4 芽孢杆菌 PSB32 在 Cd、Pb 复合胁迫下的扫描电镜和能谱分析 (SEM-EDS)

Fig. 4 Scanning electron microscopy and energy-dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDS) analysis of *Bacillus* PSB32 under combined Cd and Pb stress

2.5 镉、铅复合胁迫下菌株 PSB32 的表面官能团和沉淀物晶体结构

FTIR 分析 (图 5a) 显示, Cd、Pb 胁迫菌体表面官能团吸收峰变化: 3 400~3 200 cm^{-1} 处的 -OH、-NH₂ 和 =NH 峰偏移, 3 000~2 850 cm^{-1} 处烷基振动峰改变, 以及酰胺 I 带 (1 680~1 630 cm^{-1}) 和酰胺 II 带 (1 570~1 515 cm^{-1}) 特征峰位移, 表明蛋白质和脂类分子发生构象改变。1 248 cm^{-1} 处磷酸基团 (P=O、P-OR) 和 500~1 000 cm^{-1} 区间硫酸基团的特征吸收证实了 -COOH、-OH、-NH₂ 和 PO₄³⁻、SO₄²⁻ 等基团参与 Cd 和 Pb 的表面络合。

XRD 图谱 (图 5b) 进一步鉴定出 Cd₃(PO₄)₂ (ICDD 00-022-1072) 及磷氯铅矿 (Pb₅(PO₄)₃Cl) 或羟基磷酸铅 (Pb₅(PO₄)₃OH) 的混合相衍射峰, 表明溶液中形成多种重金属磷酸盐沉淀。(321) 和 (410) 晶面重叠峰证实了 Cd/Pb 磷酸盐复合沉淀共存。



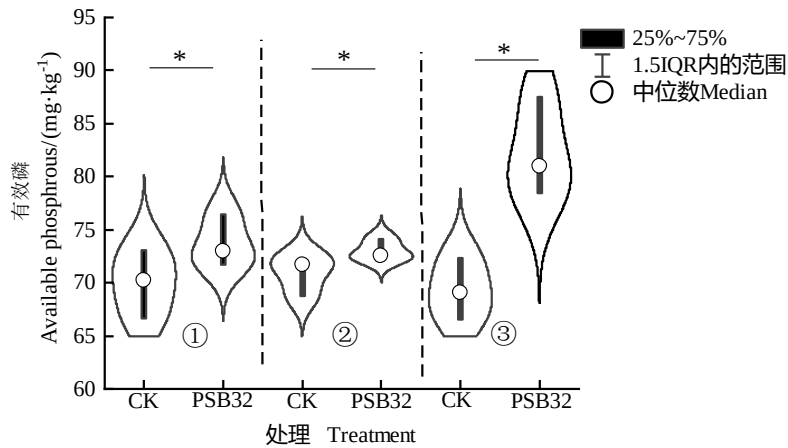
注: 图 a) 不同颜色区域代表芽孢杆菌 PSB32 在 Cd-Pb 复合胁迫前后 FTIR 光谱中主要官能团的特征吸收峰: 浅黄色区域对应 -OH 的伸缩振动; 浅绿色区域对应 C-H 键的伸缩振动; 浅粉色区域包含酰胺 I 带 (主要由肽键中 C=O 伸缩振动贡献) 和酰胺 II 带 (源于 N-H 弯曲与 C-N 伸缩的耦合振动); 浅紫色区域涵盖 P=O 不对称伸缩振动和 P-O-C 伸缩振动。Note: In figure a), the differently colored regions represent characteristic absorption bands of major functional groups in the Fourier-transform infrared (FTIR) spectra of *Bacillus* sp. PSB32 before and after Cd-Pb stress: the light yellow region corresponds to O-H stretching vibrations; the light green region is assigned to C-H stretching vibrations; the light pink region includes amide I band (primarily due to C=O stretching of peptide bonds) and amide II band (resulting from coupled N-H bending and C-N stretching vibrations); and the light purple region encompasses asymmetric P=O stretching and P-O-C stretching vibrations.

图 5 镉、铅胁迫前后芽孢杆菌 PSB32 的傅里叶红外光谱 (FTIR) 图 (a) 及镉铅胁迫后芽孢杆菌 PSB32 的 X 射线衍射 (XRD) 图 (b)

Fig. 5 Fourier-IR (FTIR) spectra of *Bacillus* PSB32 before and after cadmium and lead stress (a), and X-ray diffraction (XRD) pattern of *Bacillus* PSB32 after cadmium and lead stress (b)

2.6 解磷细菌对污染土壤有效磷和镉、铅形态的影响

PSB32 展现出显著的溶磷效应, 其中对矿渣基质的效果最优 (有效磷增幅 18.7%), 在污染农田和尾矿土壤中亦分别提升 5.37% 与 3.00% (图 6)。

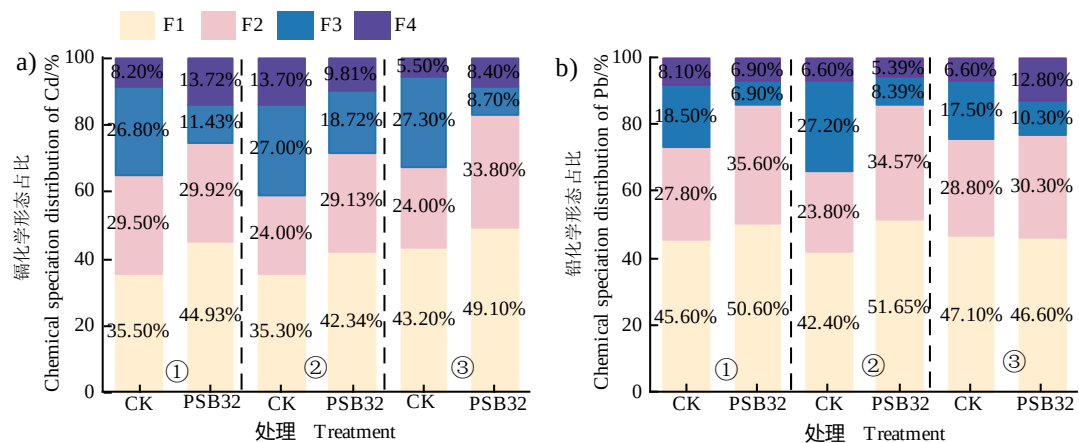


注：图中①：污染农田土壤，②：尾矿土壤，③：矿渣基质；CK：对照，PSB32：接种菌悬液。下同。Note: In the figure ①: Contaminated farmland soil, ②: Tailings soil, ③: Slag; CK: Control, PSB32: Inoculated with PSB32 bacterial suspension. The same below.

图 6 芽孢杆菌 PSB32 对不同污染程度土壤有效磷含量的影响

Fig. 6 The influence of *Bacillus* PSB32 on the available phosphorus content in soils with different levels of pollution

PSB32 处理有效促进了污染土壤中 Cd 的稳定化与 Pb 有效性的降低 (图 7)。具体表现为：三种基质的残渣态 Cd 比例显著提升 (9.43、7.04、5.90 个百分点)；同时，PSB32 显著降低了可还原态 Pb 的比例 (降幅达 11.6、18.8、7.20 个百分点)，并轻微降低了弱酸提取态 Pb。



注：F1：弱酸可提取态，F2：可还原态，F3：可氧化态，F4 残渣态。Note: F1: Acid-extractable fraction; F2: Reducible fraction; F3: Oxidizable fraction; F4: Residual fraction.

图 7 芽孢杆菌 PSB32 对土壤镉 (a) 和铅 (b) 形态的影响

Fig. 7 The influence of *Bacillus* PSB32 on the Cd (a) and Pb (b) forms in the soil

2.7 解磷细菌对玉米生长及镉、铅累积的影响

PSB32 显著改善了玉米在污染基质中的生长 (表 2)，具体表现为生物量、叶绿素含量及在尾矿与矿渣中的株高 (均提升约 38.4%) 均得到一致提升。

表 2 芽孢杆菌 PSB32 对玉米株高、生物量和叶绿素含量的影响

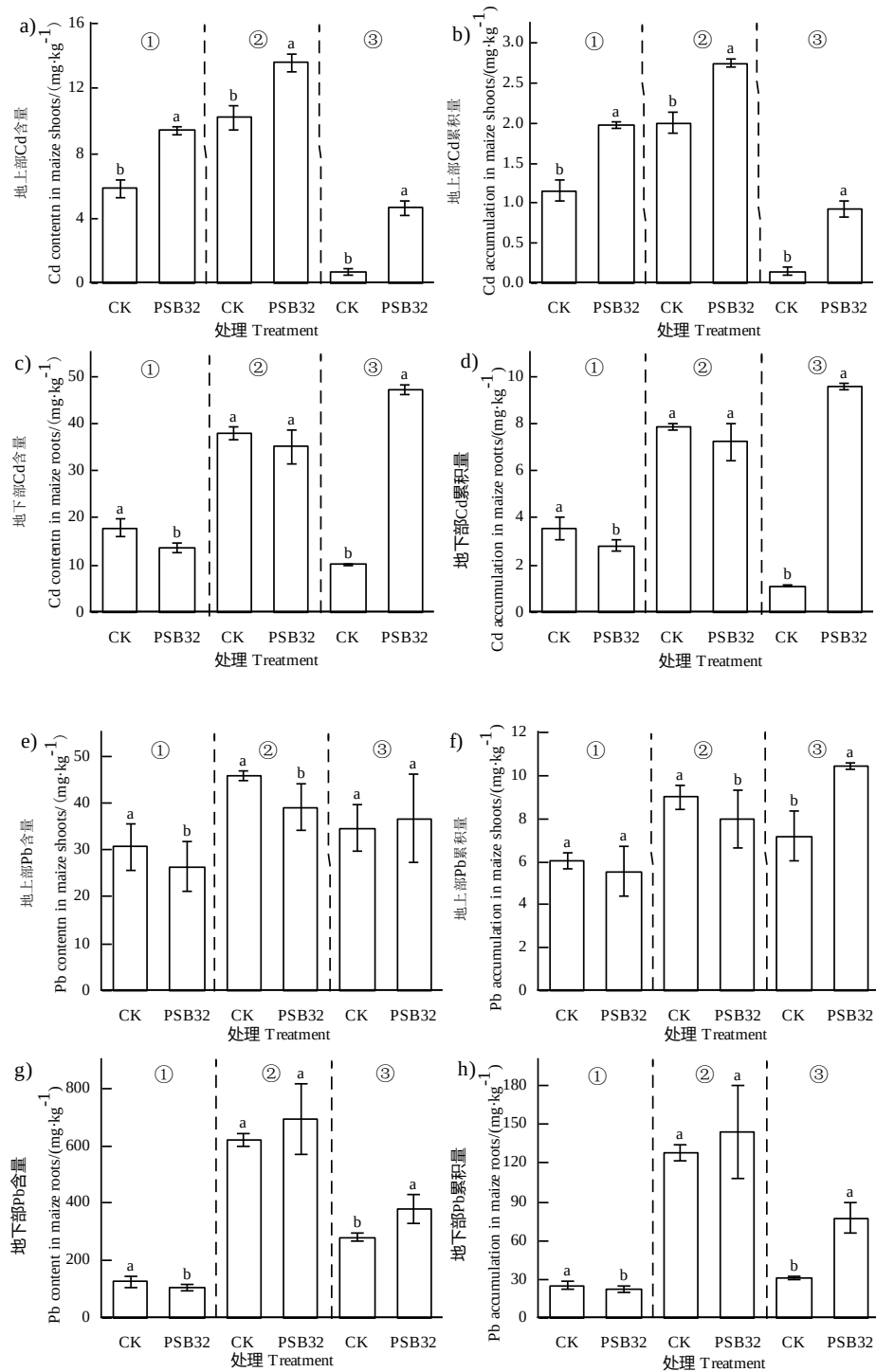
Table 2 Effects of *Bacillus* PSB32 on maize plant height, biomass, and chlorophyll content

处理 Treatment	株高 Plant height/cm	生物量 Biomass/(g·plant ⁻¹)	叶绿素含量 Chlorophyll content/(mg·L ⁻¹)
污染农田土壤 Contaminated farmland soil	CK 95.50±3.74a	25.06±2.65b	36.66±0.45b
	PSB32 93.40±3.04a	31.51±1.70a	38.33±0.50a

尾矿土壤	CK	76.83±2.42b	14.13±0.69b	36.06±1.05b
Tailings soil	PSB32	91.13±3.67a	25.74±2.52a	40.13±1.07a
矿渣基质	CK	40.23±2.99b	5.40±1.23b	21.16±1.76b
Slag	PSB32	55.66±5.67a	7.13±0.60a	28.10±0.81a

注：表中同一土壤类型同列不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。Note: In the table, different lowercase letters in the same column of the same soil indicate significant differences ($P<0.05$).

PSB32 接种通过改变 Cd、Pb 的吸收与转运模式以影响玉米富集（图 8）：在污染农田与尾矿中诱导 Cd 向上转运（地上部 Cd 最高增 61.9%），并重塑 Pb 分布格局；在矿渣中则强力驱动 Cd、Pb 在根系固持（如根系 Cd 富集量增长 3.6 倍）。



注：同种土壤图柱上不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。Note: Different lowercase letters of the same soil in

the figure indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$).

图 8 芽孢杆菌 PSB32 对玉米镉、铅含量及累积量的影响

Fig. 8 The influence of *Bacillus* PSB32 on the cadmium and lead contents and accumulation levels in maize

3 讨论

3.1 解磷细菌的重金属去除机制

微生物修复技术因低成本、环境友好，在重金属污染治理领域中备受关注。本研究评估了 PSB32 对 Cd 和 Pb 的去除效率，发现在 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 和 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Pb 条件下去除效果最好（图 1a，图 1b），反映了重金属浓度与微生物活性之间的动态平衡。在适宜浓度范围内，重金属离子与细胞表面结合位点的化学计量比有利于吸附过程的进行，同时不会对菌体基本代谢产生显著抑制。然而，随着浓度升高，这种平衡会被打破。例如 Diaconu 等^[22]的研究显示，当 Cr 和 Cd 浓度达到 $30 \sim 300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时，显著抑制微生物生长，与本研究中高浓度组趋势（图 1b）一致。PSB32 在 $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd、 $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Pb 条件下仍保持一定的去除能力（图 1b），这表明其具备耐受机制，可能与金属螯合、氧化还原及膜通透性调控等有关^[23]。

PSB32 的修复能力与其解磷特性密切相关。其分泌的有机酸和磷酸酶可溶解释放 PO_4^{3-} ，促进重金属形成磷酸盐沉淀^[24]。尽管 PSB32 接种后矿渣基质中弱酸提取态 Pb 比例上升（图 7b），可能与根际微域多阶段转化有关，但 XRD 证实其可形成磷氯铅矿等稳定产物（图 5b）。在 Cd/Pb 共存条件下，PSB32 对 Cd 以“表面吸附~胞内富集”为主，对 Pb 则以“表面吸附~胞外沉淀”为主（图 3a，图 3b）。对于 Pb 信号，在进行胞内 Pb 含量测定时显示 Pb 进入了细胞内部，其具体的跨膜途径有待未来通过分子生物学手段进一步验证。此外，胞外聚合物（EPS）在重金属去除中也发挥重要保护作用。Priyadarshane 和 Das^[25]指出，EPS 可通过螯合部分 Pb(II)于细胞壁表面，阻止金属离子渗透至细胞内，从而减轻重金属对菌株的毒害。

其他菌株也表现出高效的 Cd 去除能力。如，*Pseudomonas* sp. K32 在 Cd 胁迫下生物累积效率达 90.0%，并分泌几丁质酶等增强修复效果^[26]；*Klebsiella michiganensis*. S8 通过胞内外协同实现实现 73.0%~97.0% 的 Cd 去除^[27]。这些机制拓展了微生物修复的资源与思路。

3.2 解磷细菌对污染土壤玉米生长及重金属累积的影响

PSB32 通过生物吸附、累积和矿化等多种机制参与重金属去除，其代谢活动可改变重金属形态，影响其生物有效性与毒性。例如，硫酸盐还原菌通过形成金属硫化物，降低重金属活性^[28]。本研究中，PSB32 对 Cd 和 Pb 的形态转化及玉米吸收表现出污染物和土壤类型依赖性：对 Cd 表现为活化，提高弱酸提取态比例并促进玉米吸收（图 7a）；对 Pb 则表现为固定，降低其有效态并促进向残渣态转化（图 7b）。PSB32 普遍促进玉米对 Cd 的吸收，但富集部位因土壤类型而异；对 Pb 的吸收影响较小且变化幅度有限（图 7a，图 7b）。未来的研究应聚焦于阐明其作用机理，并根据不同修复目标（稳定化 vs 植物提取）和不同土壤类型，进行精准的、定制化的应用。

研究表明，根际促生菌对重金属累积的影响具有菌株特异性，可通过“稀释效应”降低浓度，也可强化吸收用于植物提取^[29-31]。本研究发现 PSB32 属于后者：在促进玉米生长的同时，活化根际 Cd 并增强其向地上部转运，提高总积累量，显示出其在植物提取修复中的应用潜力。尽管对 Pb 的富集影响较弱，反映出其对不同重金属的转运机制存在差异。

4 结论

解磷细菌 PSB32 能通过生物吸附与化学沉淀协同去除溶液中的 Cd 和 Pb, 并形成稳定的磷酸盐矿物 ($\text{Cd}_3(\text{PO}_4)_2$ 与 $\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$)。在土壤中, PSB32 通过活化 Cd 并促进玉米生长, 显著提升了玉米对 Cd 的提取效率。该菌株在重金属污染环境的直接修复与植物提取强化方面均展现出良好的应用潜力。

参考文献 (References)

- [1] Guan X J, Su Y, A N E, et al. Research progress on remediation of heavy metal pollution in farmland soils at home and abroad - Based on CiteSpace knowledge map analysis[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2024, 55(2): 573-583. [管秀静, 苏燕, 阿娜尔, 等. 农田土壤重金属污染修复研究进展-基于 CiteSpace 知识图谱分析[J]. 土壤通报, 2024, 55(2): 573-583.]
- [2] Wu T L, Huang Y H, Qi H T, et al. Study of soil ecological safety threshold values of copper, zinc, lead and cadmium[J/OL]. Acta Pedologica Sinica, 2026, 63(1): DOI: 10.11766/trxb202506220297. [吴同亮, 黄奕航, 祁海涛, 等. 基于生态安全的土壤铜、锌、铅、镉阈值研究[J/OL]. 土壤学报, 2026, 63(1): DOI: 10.11766/trxb202506220297.]
- [3] Cao J, Xie C Y, Hou Z R. Ecological evaluation of heavy metal pollution in the soil of Pb-Zn mines[J]. Ecotoxicology, 2022, 31(2): 259-270.
- [4] Guo J H, Li H P, Zhu H H. Analysis of dominant species of microbial community in heavy metals contaminated soil from Dabaoshan area[J]. Journal of South China Agricultural University, 2010, 31(3): 56-60. [郭建华, 李华平, 朱红惠. 大宝山重金属污染土壤微生物群落优势种群分析[J]. 华南农业大学学报, 2010, 31(3): 56-60.]
- [5] Qiao S Y, Zeng G Q, Wang X T, et al. Multiple heavy metals immobilization based on microbially induced carbonate precipitation by ureolytic bacteria and the precipitation patterns exploration[J]. Chemosphere, 2021, 274: 129661.
- [6] Liu R C, Liu X X, Feng Y, et al. Effects of long-term combined heavy metal pollution on soil phosphate solubilizing microorganisms[J]. China Environmental Science, 2023, 43(2): 915-926. [刘荣灿, 刘晓霞, 冯洋, 等. 长期复合重金属污染对土壤解磷微生物的影响[J]. 中国环境科学, 2023, 43(2): 915-926.]
- [7] Cui Y L, Yu X M, Yuan X, et al. Analysis on screening and identification of phosphorus-dissolving bacteria from V-Ti magnetite tailings and tolerance to cadmium[J]. Resource Development & Market, 2018, 34(6): 838-843. [崔永亮, 余秀梅, 袁星, 等. 尾矿土中解磷细菌的筛选及对镉的耐受研究[J]. 资源开发与市场, 2018, 34(6): 838-843.]
- [8] Su N N, Zhao Q Z, Wang F, et al. Immobilization of heavy metals by phosphorus-solubilizing bacteria and inhibition of Cd and Pb uptake by wheat[J]. Environmental Science, 2024, 45(7): 4321-4331. [苏楠楠, 赵庆照, 王芳, 等. 解磷细菌 *Klebsiella* sp. M2 钝化重金属及阻控小麦吸收 Cd 和 Pb 效应[J]. 环境科学, 2024, 45(7): 4321-4331.]
- [9] Tang J, Hao X R, Yi X J, et al. The role of extracellular polymeric substances on secondary mineral formation and cadmium migration and transformation during microbial reduction of cadmium-loaded polyferric sulfate[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2021, 41(5): 1828-1839. [唐婕, 郝鑫瑞, 易筱筠, 等. 胞外聚合物对微生物还原含镉聚合硫酸铁絮体过程次生矿物形成及镉迁移转化的影响[J]. 环境科学学报, 2021, 41(5): 1828-1839.]
- [10] Qiu D H, Yu Z Y, Zhang X, et al. Influence of extracellular polymeric substances on arsenic bioaccumulation and biotransformation in biofilms[J]. Chemosphere, 2024, 349: 140798.
- [11] Teng Z D, Li M, Zhu J, et al. Research advances in effect of phosphate-solubilizing microorganisms on soil phosphorus resource utilization[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2017, 48(1): 229-235. [滕泽栋, 李敏, 朱静, 等. 解磷微生物对土壤磷资源利用影响的研究进展[J]. 土壤通报, 2017, 48(1): 229-235.]
- [12] Chauhan P K, Upadhyay S K. Mixed consortium of salt-tolerant phosphate solubilizing bacteria improves maize (*Zea mays*) plant growth and soil health under saline conditions[J]. Molecular Biotechnology, 2024, 66(3): 489-499.
- [13] Zhang J, Wang P C, Tao Z, et al. Phosphate-solubilizing bacteria abate cadmium absorption and restore the rhizospheric bacterial community composition of grafted watermelon plants[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 438: 129563.
- [14] Zhao Q Z, Wang J X, Li H Y, et al. Phosphate-solubilizing bacteria reduce Cd accumulation in spinach by forming P-Ca adhesive films in the roots and altering the structure of soil macroaggregates[J]. Journal of Hazardous Materials, 2025, 494: 138482.

- [15] Du H H, Tao J, Nie N, et al. Adsorption of antimony by α - Al_2O_3 -bacteria binary composite colloid[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, 58(3): 704-711. [杜辉辉, 陶洁, 聂宁, 等. α -氧化铝-细菌二元复合胶体对锑的吸附研究[J]. 土壤学报, 2021, 58(3): 704-711.]
- [16] Zhu X Z, Zhou Y P, Yan Z H, et al. Stabilization effect and mechanism of heavy metals by microbial consortium of phosphate-solubilizing bacteria and urease-producing bacteria[J]. Frontiers in Microbiology, 2025, 16: 1525316.
- [17] Naz T, Khan M D, Ahmed I, et al. Biosorption of heavy metals by *Pseudomonas* species isolated from sugar industry[J]. Toxicology and Industrial Health, 2016, 32(9): 1619-1627.
- [18] Atikpo E, Ihimekpen N I. Bioremediation of lead contaminated agricultural soil using *Klebsiella pneumoniae*[J]. Journal of Applied Sciences and Environmental Management, 2020, 24(5): 805-808.
- [19] Han H, Wang Q, He L Y, et al. Increased biomass and reduced rapeseed Cd accumulation of oilseed rape in the presence of Cd-immobilizing and polyamine-producing bacteria[J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, 353: 280-289.
- [20] Davidson C M, Duncan A L, Littlejohn D, et al. A critical evaluation of the three-stage BCR sequential extraction procedure to assess the potential mobility and toxicity of heavy metals in industrially-contaminated land[J]. Analytica Chimica Acta, 1998, 363(1): 45-55.
- [21] Bao S D. Soil and agricultural chemistry analysis[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000. [鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.]
- [22] Diaconu M, Pavel L V, Hlihor R M, et al. Characterization of heavy metal toxicity in some plants and microorganisms—a preliminary approach for environmental bioremediation[J]. New Biotechnology, 2020, 56: 130-139.
- [23] Hryniewicz K, Baum C. Application of microorganisms in bioremediation of environment from heavy metals[M]//Malik A, Grohmann E, Akhtar R. Environmental deterioration and human health, Dordrecht: Springer, 2014: 215-227.
- [24] Jiang Y, Zhao X Q, Zhou Y C, et al. Effect of the phosphate solubilization and mineralization synergistic mechanism of *Ochrobactrum* sp. on the remediation of lead[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2022, 29(38): 58037-58052.
- [25] Priyadarshane M, Das S. Spectra metrology for interaction of heavy metals with extracellular polymeric substances (EPS) of *Pseudomonas aeruginosa* OMCS-1 reveals static quenching and complexation dynamics of EPS with heavy metals[J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 466: 133617.
- [26] Pramanik K, Mandal S, Banerjee S, et al. Unraveling the heavy metal resistance and biocontrol potential of *Pseudomonas* sp. K32 strain facilitating rice seedling growth under Cd stress[J]. Chemosphere, 2021, 274: 129819.
- [27] Mitra S, Pramanik K, Ghosh P K, et al. Characterization of Cd-resistant *Klebsiella michiganensis* MCC3089 and its potential for rice seedling growth promotion under Cd stress[J]. Microbiological Research, 2018, 210: 12-25.
- [28] Hu C, Yang Z D, Chen Y J, et al. Unlocking soil revival: The role of sulfate-reducing bacteria in mitigating heavy metal contamination[J]. Environmental Geochemistry and Health, 2024, 46(10): 417.
- [29] Jiang C Y, Sheng X F, Qian M, et al. Isolation and characterization of a heavy metal-resistant *Burkholderia* sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal-polluted soil[J]. Chemosphere, 2008, 72(2): 157-164.
- [30] Islam F, Yasmeen T, Arif M S, et al. Combined ability of chromium (Cr) tolerant plant growth promoting bacteria (PGPB) and salicylic acid (SA) in attenuation of chromium stress in maize plants[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2016, 108: 456-467.
- [31] Ramandi A, Jaghargh M B, Nourashrafeddin S M, et al. Cupriavidus metallidurans: A species-non-specific and multifaceted plant growth-promoting bacteria[J]. BMC Plant Biology, 2024, 24: 1197.

(责任编辑: 陈荣府)