

董 成, 冯发运, 马丽雅, 等. 生物炭固定化菌剂对毒死蜱污染土壤的修复及小白菜品质的改善[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(5): 846-854.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.05.009

生物炭固定化菌剂对毒死蜱污染土壤的修复及小白菜品质的改善

董 成^{1,2}, 冯发运², 马丽雅², 生弘杰², 余向阳², 陈 静¹, 葛 静^{1,2}

(1. 江苏海洋大学海洋食品与生物工程学院, 江苏 连云港 222005; 2. 江苏省农业科学院农产品质量安全与营养研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 生物炭可以吸附土壤中有有机污染物, 降低污染物对植物的毒害, 但是被吸附的污染物存在二次释放的风险, 影响生物炭的修复性能。本研究采用生物炭对实验室前期筛选的 3 株具有降解毒死蜱功能的内生菌进行固定, 对生物炭固定化菌剂制备条件进行优化, 利用盆栽试验对生物炭固定化菌剂降解毒死蜱性能进行了验证。结果表明, 生物炭固定化 HJY 菌对毒死蜱降解效果最优, 在生物炭粒径为 60 目、固定化温度 30 ℃、固定化时间为 1 d 时制备的生物炭固定化菌剂施入土壤中 15 d 对毒死蜱的降解率可高达 92.40%。施入土壤 35 d, 在 2 mg/kg 毒死蜱污染土中相较于生物炭, 生物炭固定化菌剂处理小白菜和土壤毒死蜱含量分别降低了 81.8% 和 77.4%, 在 20 mg/kg 毒死蜱污染土中小白菜和土壤毒死蜱含量降低了 79.4% 和 50.3%; 小白菜生物量、叶绿素、可溶性蛋白、可溶性糖含量, 过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)活性显著增加。小白菜中毒死蜱含量与土壤中毒死蜱含量呈显著正相关关系, 小白菜品质与其毒死蜱含量呈显著负相关关系。表明与生物炭相比, 生物炭固定化菌剂显著提升了对毒死蜱污染土壤的修复性能, 并改善了小白菜的品质。

关键词: 毒死蜱; 鞘氨醇单胞菌; 生物炭; 生物修复; 小白菜

中图分类号: S634.304; S181

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2024)05-0846-09

Remediation of chlorpyrifos contaminated soil by biochar immobilized bacteria and improvement of Chinese cabbage quality

DONG Cheng^{1,2}, FENG Fayun², MA Liya², SHENG Hongjie², YU Xiangyang², CHEN Jing¹, GE Jing^{1,2}

(1. School of Ocean Food and Biological Engineering, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China; 2. Institute of Food Safety and Nutrition, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Biochar can adsorb organic pollutants in the soil and reduce the phytotoxicity of pollutants, but the adsorbed pollutants have the risk of secondary release, which affects the remediation performance of biochar. In this study, biochar was used to immobilize three endophytes with chlorpyrifos degradation function selected in the early laboratory stage. The preparation conditions of biochar immobilized bacteria were optimized, and the degradation performance of chlorpyrifos by biochar immobilized bacteria was verified by pot experiment. The results showed that HJY had the best degradation effect on chlorpyrifos. The biochar immobilized microbial agent was prepared under the conditions of biochar particle size of 60 mesh, immobilization

temperature of 30 ℃ and immobilization time of 1 d. The degradation rate of chlorpyrifos was 92.40% when the prepared biochar immobilized microbial agent was applied to the soil for 15 days. After 35 days of application to the soil, in the 2 mg/kg chlorpyrifos contaminated soil, compared with biochar treatment, the content of chlorpyrifos in Chi-

收稿日期: 2023-10-16

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(22)2036]

作者简介: 董 成(1997-), 男, 江苏徐州人, 硕士研究生, 主要从事农产品产地污染修复研究。(E-mail) 15262031644@163.com

通讯作者: 陈 静, (E-mail) 1995000023@jou.edu.cn; 葛 静, (E-mail) cherrygejing@126.com

nese cabbage and soil in the biochar immobilized microbial agent treatment decreased by 81.8% and 77.4%, respectively. In 20 mg/kg chlorpyrifos contaminated soil, the content of chlorpyrifos in Chinese cabbage and soil decreased by 79.4% and 50.3%, respectively. The biomass, chlorophyll content, soluble protein content, soluble sugar content, peroxidase (*POD*) activity and superoxide dismutase (*SOD*) activity of Chinese cabbage increased significantly. There was a significant positive correlation between the content of chlorpyrifos in Chinese cabbage and the content of chlorpyrifos in soil, and there was a significant negative correlation between the quality of Chinese cabbage and the content of chlorpyrifos. Compared with biochar, biochar-immobilized microbial agent significantly improved the remediation performance of chlorpyrifos-contaminated soil and improved the quality of Chinese cabbage.

Key words: chlorpyrifos; *Sphingomonas* sp; biochar; bioremediation; Chinese cabbage

毒死蜱是一种高效广谱农业杀虫剂,能有效防治作物上的害虫,是世界范围内使用最多的5种杀虫剂之一^[1],超范围或过量施用会对生态环境造成污染^[2]。据报道,喷洒在作物上的农药只有不到1%能够作用在靶标上,绝大部分进入水体、空气和土壤中^[3-4]。Li等^[5]研究了玉米、大豆和水稻等144个样品中毒死蜱的残留情况,结果显示,谷物中毒死蜱的检出率高达64.6%。虽然中国明令禁止在蔬菜上施用毒死蜱,但是据各地方市场监督管理局抽查结果显示,毒死蜱残留超标现象在某些蔬菜中仍普遍存在(<http://scjgj.jiangsu.gov.cn/col/col78970/index.html>、<https://amr.hainan.gov.cn/zw/spcjxx/>、<http://scjgj.xinjiang.gov.cn/xjaic/index.shtml>)。毒死蜱在土壤中残留时间较长,其半衰期可长达60~120 d^[6]。王俊等^[7]研究发现,福建省福州市菜地土壤中毒死蜱检出率为11.63%,平均残留量为0.181 mg/kg。在马来西亚进行的实地研究发现,土壤和沉积物中毒死蜱残留量为0.01~0.62 mg/kg^[8]。土壤中毒死蜱会通过生物富集对植物生长及人体健康造成不利影响,残留在蔬菜等农产品中的毒死蜱等有机磷类农药能够通过抑制人体内乙酰胆碱酯酶的功能对人体产生毒害,并可诱发神经性疾病等^[9-11]。因此,对遭到农药污染的农田土壤进行修复非常有必要。

生物炭是一种富含碳素的材料,来源于生物质热解或受控限氧条件下的热分解^[12]。研究结果表明,生物炭可以吸附土壤中的污染物,从而降低植物受害程度^[13]。Rajapaksha等^[14]研究结果表明,利用废弃茶叶制备的生物炭材料可对磺胺二甲嘧啶(SMT)进行高效吸附,在pH为3时对SMT的最大吸附量达33.81 mg/g。然而,用于环境修复的生物炭有一个明显的缺点是污染物在吸附过程中没有完全被去除,存在二次排放风险^[15]。功能性微生物搭载生物炭能够将生物炭吸附的污染物进行降解,Liu等^[16]利用生物炭固定化细菌提高了土壤中氯氰菊酯的降解速率和

去除效率,最终降低了土壤中氯氰菊酯的残留量。Qi等^[17]将枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌和枸橼酸杆菌按比例固定在玉米秸秆生物炭中,并将其应用于被铀(U)和镉(Cd)污染的土壤中,使U和Cd在芹菜食用组织中的浓度分别降低了70.4%和77.5%。然而,利用生物炭固定化内生细菌修复毒死蜱污染土壤及对蔬菜品质改善的研究较少。

本研究利用前期实验室筛选得到的毒死蜱降解内生菌搭载稻壳生物炭,获得性能改善最优的组合,优化了内生菌搭载稻壳生物炭制备条件,构建了生物炭固定化菌剂,并利用蔬菜盆栽试验评价了该内生菌搭载生物炭材料对被毒死蜱污染土壤的修复能力以及小白菜生长和品质的改善,旨在为微生物搭载生物炭材料修复有机污染物污染农田提供借鉴,为降低农药污染提供思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要仪器 扫描电子显微镜(S-3400N,日本Hitachi公司产品);气相色谱仪(HP-6890,美国安捷伦科技公司产品);水浴氮吹仪(GGC-DCY24,北京同德创业科技有限公司产品);全温振荡培养箱(ZQZY-78CN,上海知楚仪器有限公司产品);高速离心机(D37520,Thermo Fisher公司产品);高通量组织研磨仪(KC-2000,德国Thmorgan公司产品)。

1.1.2 化学试剂 97%毒死蜱原药(南京红太阳股份有限公司产品);99.9%毒死蜱标准品(上海安谱实验科技股份有限公司产品);色谱纯正己烷(德国Merck公司产品);分析纯乙腈(德国Merck公司产品)。

1.1.3 培养基 Luria-Bertani(LB)培养基:10 g蛋白胨,5 g酵母粉,10 g氯化钠,1 L去离子水,pH 7.0~7.2。无机盐培养基(Inorganic Salt Medium,ISM):0.40 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.20 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.20 g

K_2HPO_4 、0.20 g $(NH_4)_2SO_4$ 、0.08 g $CaSO_4$ 、1 L 去离子水, pH 7.0~7.2。磷酸缓冲液(PBS): 2 mmol/L 磷酸氢二铵和 0.2 mmol/L 乙二胺四乙酸的混合液。

1.1.4 供试材料 供试菌株 HJY (*Sphingomonas* sp.)、DGB (*Bacillus* sp.) 和 DJA (*Pseudomonas* sp.) 是本课题组 2015 年筛选获得的 3 株毒死蜱高效降解内生菌^[18], 稻壳生物炭自行制备^[19]。土壤采集自江苏省农业科学院试验田表层土(E118°86', N32°03'), 土壤类型为黄棕壤。土壤样品经风干, 研磨并过 3 mm 筛。土壤 pH 值 7.24, 有机碳 7.44 g/kg, 全氮 0.45 g/kg, 碳氮比 16.53, 有效磷 22.2 mg/kg, 速效钾 83 mg/kg, 土壤微生物量碳 165 mg/kg, 阳离子交换量 16.6 cmol/kg。供试植物为小白菜。

1.2 方法

1.2.1 菌悬液的制备 将活化后的菌株接种于 LB 液体培养基中, 在 30 ℃、180 r/min 条件下振荡培养 12 h (对数生长期), 然后在 4 ℃、6 000 r/min 条件下离心 10 min, 收集菌体; 用 PBS 缓冲液清洗菌体 3 次, 收集菌体, 用 PBS 缓冲液稀释配制菌悬液, 调整菌液含量至 OD_{600} 为 2.0 左右。

1.2.2 生物炭固定化菌剂的制备 分别准确称取过 60 目、80 目、100 目筛的生物炭 1.0 g 置于 3 个 500 ml 锥形瓶中, 灭菌后冷却至常温, 再分别加入 200 ml 上述已制备好的 HJY 菌悬液, 于 30 ℃、180 r/min 的恒温振荡培养箱内培养 1 d 后取出, 用 200 目滤网过滤出生物炭菌剂, 然后用 0.85% 灭菌生理盐水冲洗表面浮游菌体, 重复 2 次, 所得固体在 40 ℃烘箱烘干, 得到生物炭固定化菌剂。

1.2.3 生物炭表征的测定分析 对生物炭及生物炭固定化菌剂表面形态特征、比表面积及孔隙特征、元素含量以及表面官能团分别采用扫描电镜(Hitachi S-3400N)、全自动比表面积和孔隙分析仪(Tri Star II)、全自动元素分析仪(Vario EL III)、傅立叶红外光谱仪(FTIR 920)进行测定分析。

1.2.4 生物炭固定化菌剂降解效果测定 配置毒死蜱初始质量浓度为 20 mg/L 的无机盐培养基, 设置如下处理: 生物炭固定化菌剂 0.05 g、灭菌后的生物炭 0.05 g 和对照组, 每个处理重复 3 次。置于培养箱中避光培养(30 ℃、180 r/min), 于不同时间取样测定培养基中毒死蜱的残留量。

1.2.5 土壤处理和小白菜栽培 采用人为污染法使供试土壤中毒死蜱的最终质量浓度分别为 2

mg/kg 和 20 mg/kg。共设置 6 个处理组, 分别为: (1) 对照组(CK₁ 和 CK₂), 2 mg/kg 和 20 mg/kg 毒死蜱污染土壤中添加 3% 无菌 PBS; (2) 生物炭组(B₁ 和 B₂), 2 mg/kg 和 20 mg/kg 毒死蜱污染土壤中添加 3% 生物炭; (3) 生物炭固定化菌剂组(S-B₁ 和 S-B₂), 2 mg/kg 和 20 mg/kg 毒死蜱污染土壤中添加 3% 生物炭固定化菌剂。每个处理 3 个重复。将土壤样品混合均匀后用于盆栽试验。

采用长 45.0 cm、宽 10.0 cm、高 12.5 cm 的塑料盆种植小白菜, 每个塑料盆中装 2 kg 土。将处于 3 叶 1 心期的小白菜移栽到 6 个不同处理的土壤中, 每盆移栽 5 棵小白菜苗。植物的光周期为 16 h/d, 昼、夜平均温度分别为 25 ℃、20 ℃。在移栽后第 7 d、14 d、21 d、28 d 和 35 d, 每个处理组分别采集 20 g 土壤和 1 棵小白菜样本。

1.2.6 小白菜和土壤中毒死蜱含量测定 蔬菜组织: 先分别称取小白菜地上部分(茎、叶)和地下部分(根部)鲜重后, 再分别将样品剪碎、混匀, 加入 10 ml 乙腈, 弹珠匀浆研磨, 加 1.0 g NaCl, 涡旋振荡 5 min, 超声 10 min, 6 000 r/min 离心 5 min, 然后取 2 ml 上清液至另一离心管中, 并依次加入 100 mg 无水硫酸镁、50 mg 石墨化碳(GCB) 和 30 mg *N*-丙基乙二胺(PSA), 涡旋振荡 2 min, 6 000 r/min 离心 5 min, 最后取 1 ml 上清液, 氮气吹干, 用 1 ml 正己烷定容, 过 0.22 μm 滤膜后移至进样小瓶中, 待进样。

土壤: 取小白菜根部周围土壤样品, 冷冻干燥后, 磨碎、过筛, 放入 -20 ℃ 冰箱保存待测。称取 5.0 g 土壤, 加入 10 ml 乙腈, 涡旋振荡 5 min, 加入 2.0 g NaCl, 涡旋振荡 5 min, 超声 10 min, 6 000 r/min 离心 5 min, 然后取 2 ml 上清液至另一离心管中, 并依次加入 100 mg 无水硫酸镁和 50 mg PSA, 涡旋振荡 2 min, 6 000 r/min 离心 5 min, 最后取 1 ml 上清液, 氮气吹干, 用 1 ml 正己烷定容, 过 0.22 μm 滤膜, 待进样。

1.2.7 小白菜生长和品质指标测定 在移栽后 7 d、14 d、21 d、28 d 和 35 d 采集小白菜植株样品, 用液氮将样品研磨成粉末, 然后加入 PBS 缓冲液制备成悬浮液。测定生物量、叶绿素含量、可溶性蛋白质含量、可溶性糖含量以及 *POD*、*SOD* 活性。

1.2.8 统计分析 采用 Excel 2016 和 Origin 2021 软件制图, 采用 SPSS 22.0 进行数据统计分析, 不同试验组间差异性比较采用单因素方差分析或 Tukey's 多重比较法进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 生物炭固定化不同菌株的降解效果

如图 1 所示,在毒死蜱质量浓度为 20 mg/L 的 ISM 培养基中加入 3 种生物炭固定化菌剂后,生物炭固定化 HJY 菌剂对毒死蜱的降解效果最好,在第 15 d 时检测发现毒死蜱降解率达 92.93%;在同一时期内,生物炭固定化 DGB 菌剂和生物炭固定化 DJA 菌剂对毒死蜱的降解率分别为 78.51% 和 72.61%,添加生物炭(C)和空白对照(CK)的 ISM 培养基中毒死蜱降解率分别为 43.35% 和 16.27%。因此,选择降解效果最好的生物炭固定化菌剂 HJY, 以此开展后续试验。

2.2 生物炭固定化菌剂制备条件优化及其表面特征

对生物炭固定化菌剂制备条件进行优化。如图 2 所示,固定化温度 30℃、生物炭粒径 60 目、固定

化时间 1 d 制备的生物炭固定化 HJY 菌剂 15 d 对毒死蜱的降解效果最好,降解率达到 92.40%。

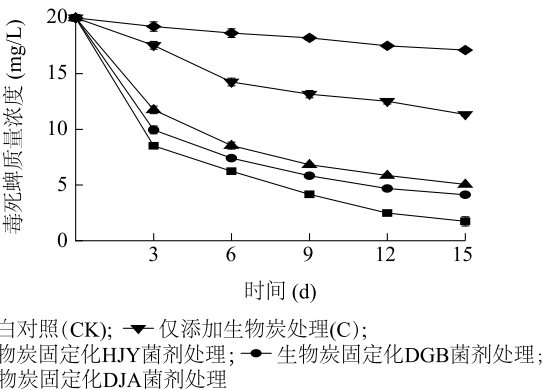


图 1 ISM 培养基中 3 种固定化菌剂对毒死蜱的降解曲线
Fig.1 Degradation curves of chlorpyrifos by three immobilized bacteria in ISM medium

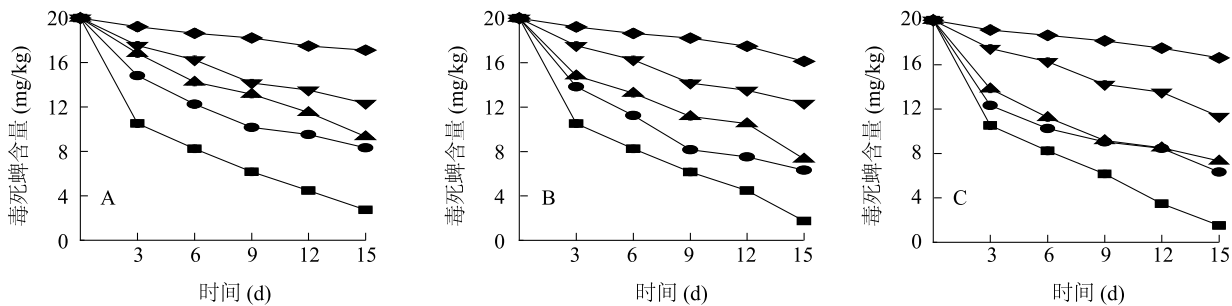


图 2 不同固定化温度(A)、不同粒径生物炭(B)、不同固定化时间(C)条件下制备的生物炭固定化菌剂在 ISM 培养基中的毒死蜱降解曲线
Fig.2 Degradation curves of chlorpyrifos in ISM medium by biochar immobilized bacteria prepared under different immobilized temperatures (A), different particle size biochar (B) and different immobilized time (C)

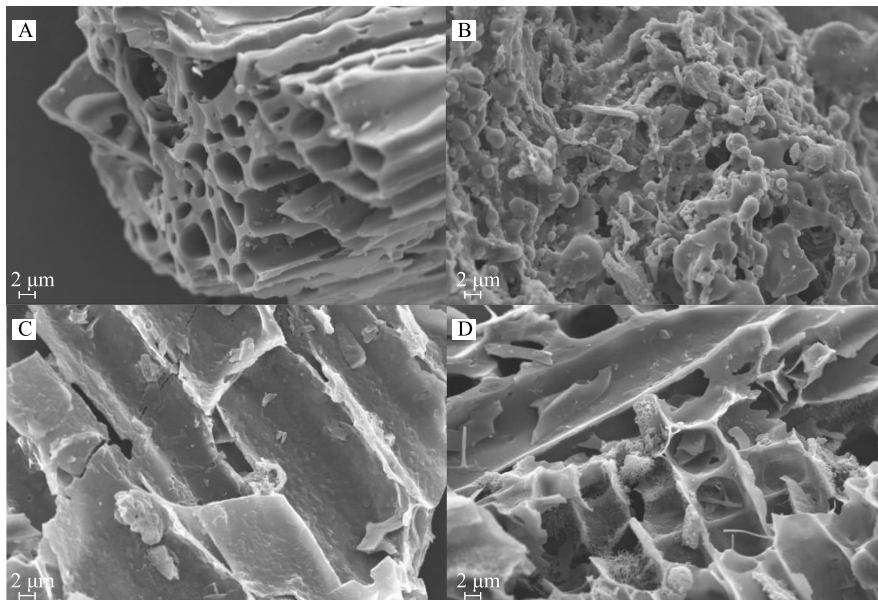
稻壳生物炭的理化特性如表 1 所示。稻壳生物炭具有较大的比表面积和孔隙容量,可以为微生物提供生活环境和养分,有利于细菌的固定^[20]。根据 DLVO 理论,当微生物被吸附到载体表面时,它们会受到静电力和范德华力的作用^[21]。稻壳生物炭 Ze-ta 电位较高,可以减少生物炭和细菌之间的静电排斥^[22]。羟基和羧基是酸性官能团,增加了生物炭表面的极性,使其成为有效的微生物吸附剂^[23]。固定微生物前后生物炭的扫描电子显微图像如图 3 所示。固定微生物前的生物炭具有开放的多孔结构(图 3A),可以为微生物提供吸附位点,同时促进营养物质在环境和微生物之间的转移^[24]。固定

表 1 稻壳生物炭的元素组成及表面特征
Table 1 Elemental composition and surface characteristics of rice husk biochar

元素	含量	表面特征	数值
C (%)	61.43	比表面积 (m ² /g)	28.397
H (%)	1.82	微孔面积 (m ² /g)	19.013
N (%)	1.03	外表面面积 (m ² /g)	9.383
S (%)	0.37	孔隙容量 (cm ³ /g)	0.028 4
		平均孔径 (nm)	11.394
		羟基基团 (mmol/g)	0.42
		羧基基团 (mmol/g)	0.68
		电动电势 (mV)	22.8

微生物后可以看到 HJY 被吸附在生物炭表面,一些 HJY 进入生物炭的孔隙内部和裂缝中。同时,在生物炭表面形成生物膜状结构(图 3B),生物膜状结构

是由胞外聚合物包裹菌体群落形成的,有利于菌株 HJY 牢固地吸附在生物炭表面。



A 为固定微生物前生物炭;B、C、D 为固定微生物后生物炭。

图 3 生物炭和固定化微生物的生物炭的扫描电镜(SEM)图像

Fig.3 Scanning electron microscopy (SEM) images of biochar and immobilized microbial biochars

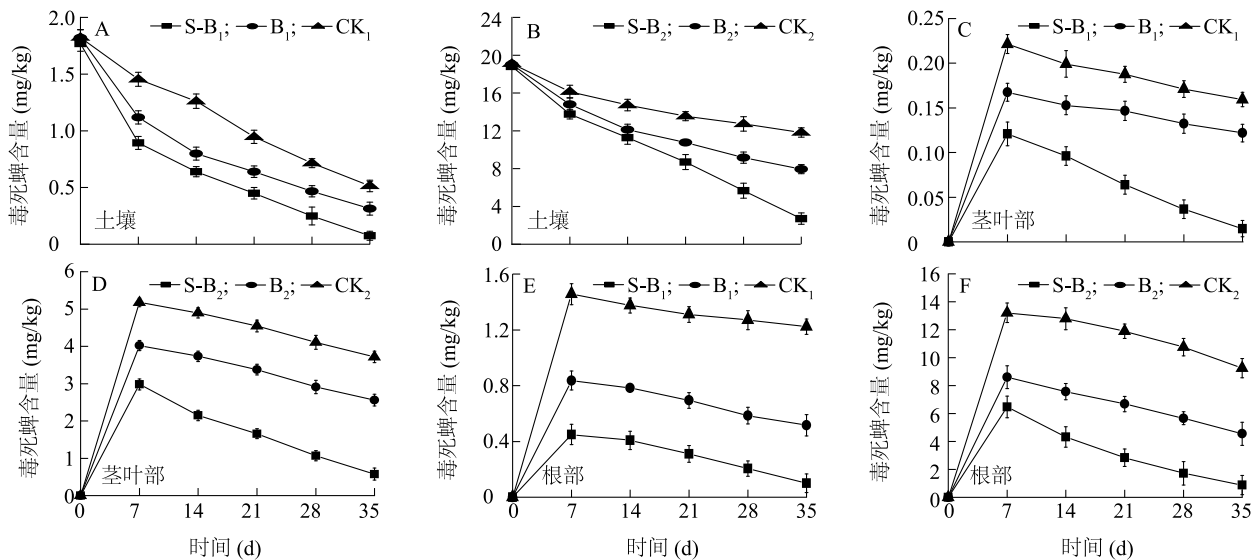
2.3 不同处理对土壤和小白菜植株中毒死蜱含量的影响

如图 4A、图 4C、图 4E 所示,生物炭固定化菌剂在毒死蜱含量为 2 mg/kg 污染的土壤中施用 35 d,土壤中毒死蜱的降解率为 96.27%,比同一时期生物炭对毒死蜱的降解率高 11.96%;小白菜茎叶和根部毒死蜱含量分别下降 97.25% 和 94.95%,比同一时期生物炭处理小白菜茎叶和根部毒死蜱含量下降率分别高出 3.35% 和 20.75%。图 4B、图 4D、图 4F 显示,生物炭固定化菌剂在毒死蜱含量为 20 mg/kg 污染的土壤中施用 35 d,对土壤中毒死蜱的降解率为 86.45%,比同一时期生物炭对毒死蜱的降解率高 13.69%;小白菜茎叶和根部毒死蜱含量分别下降 97.12% 和 95.58%,比同一时期生物炭处理小白菜茎叶和根部毒死蜱含量下降率分别高出 9.93% 和 18.33%。各处理土壤中毒死蜱降解动态和半衰期($t_{1/2}$)如表 2 所示。施用生物炭使土壤中毒死蜱半衰期分别从 3.03 d 和 28.03 d 缩短到 2.25 d 和 11.51 d;施用生物炭固定化菌剂使土壤中毒死蜱的半衰期分别从 3.03 d 和 28.03 d 缩短到 1.17 d 和 7.42 d。结果表明,生物炭固定化菌剂比

生物炭降解毒死蜱的能力更强。

研究发现,生物炭能够非常有效地吸附受污染土壤和水体中的毒死蜱,从而降低其生物利用率、生物累积性和生物认知度^[25]。生物炭的大比表面积和孔隙率为降解菌提供了有利的生长环境,不仅降低了毒死蜱对降解菌的毒性,而且保持了降解菌良好的降解活性。生物炭的吸附作用使毒死蜱富集,微生物有更多的机会接触到毒死蜱,从而提高降解效率^[26]。Sun 等^[27]研究发现,将具有降解戊菌唑能力的 *Alcaligenes faecalis* WZ-2 菌株固定在生物炭中,生物炭固定化 WZ-2 菌剂处理可将土壤中戊菌唑的半衰期从 40.8 d 缩短至 13.3 d。

转移系数反映的是小白菜根部毒死蜱向茎叶的转移能力。在本研究中, TF 是茎叶中毒死蜱含量与根中毒死蜱含量的比值,即 $TF = C_{\text{茎叶}} / C_{\text{根}}$ 。 $TF \geq 1.0$ 表示毒死蜱易被小白菜从根部向茎叶转移; $TF < 1.0$ 表示毒死蜱不易被小白菜从根部向茎叶转移。不同处理组和对照组的毒死蜱在小白菜中的转移系数如表 3 所示,所有处理的 TF 值都远小于 1.0,这说明小白菜将毒死蜱从根部转移到茎叶部的能力较差,原因可能与小白菜自身的生理特性和毒死蜱的理化性质有关,具体原因有待进一步研究。



CK₁: 2 mg/kg毒死蜱污染土壤对照; CK₂: 20 mg/kg毒死蜱污染土壤对照; B₁: 2 mg/kg毒死蜱污染土壤生物炭处理; B₂: 20 mg/kg毒死蜱污染土壤生物炭处理; S-B₁: 2 mg/kg毒死蜱污染土壤生物炭固定化菌剂处理; S-B₂: 20 mg/kg毒死蜱污染土壤生物炭固定化菌剂处理。

图4 生物炭固定化菌剂对 2 mg/kg、20 mg/kg毒死蜱污染土壤及小白菜中毒死蜱含量的影响

Fig.4 Effects of biochar immobilized bacteria on the content of chlorpyrifos in 2 mg/kg and 20 mg/kg chlorpyrifos contaminated soil and Chinese cabbage

表2 不同试验处理下土壤中 35 d 毒死蜱的降解特性

Table 2 Degradation characteristics of chlorpyrifos in soil under different experimental treatments for 35 days

处理	残留量 (mg/kg)	降解方程	k_{deg} (d ⁻¹)	$t_{1/2}$ (d)
S-B ₁	0.075±0.012d	$y = 2.022 \ 6e^{-0.591 \ x}$	0.591	1.17
B ₁	0.310±0.015d	$y = 1.534 \ 0e^{-0.308 \ x}$	0.308	2.25
CK ₁	0.510±0.014d	$y = 1.885 \ 0e^{-0.229 \ x}$	0.229	3.03
S-B ₂	2.710±0.074c	$y = 25.146 \ 0e^{-0.408 \ x}$	0.408	7.42
B ₂	5.450±0.059b	$y = 21.817 \ 0e^{-0.263 \ x}$	0.263	11.51
CK ₂	8.120±0.610a	$y = 19.188 \ 0e^{-0.108 \ x}$	0.108	28.03

CK₁、CK₂、B₁、B₂、S-B₁、S-B₂见图4注。数值以3次重复的平均值±标准差表示。同一列中不同字母表示处理间差异达0.05显著水平。

表3 毒死蜱在小白菜地下和地上部分的转移系数

Table 3 Transfer coefficients of chlorpyrifos in the underground and aboveground parts of Chinese cabbage

时间 (d)	转移系数 (TF)					
	S-B ₁	B ₁	CK ₁	S-B ₂	B ₂	CK ₂
7	0.27	0.20	0.22	0.24	0.35	0.50
14	0.23	0.19	0.22	0.28	0.40	0.40
21	0.27	0.19	0.19	0.30	0.47	0.36
28	0.29	0.20	0.17	0.33	0.47	0.35
35	0.50	0.23	0.15	0.34	0.50	0.30

CK₁、CK₂、B₁、B₂、S-B₁、S-B₂见图4注。

2.4 生物炭固定化菌剂对小白菜生理和品质的影响

为评价不同生物炭菌剂对小白菜生理和品质的影响,本研究测定了不同处理下小白菜鲜重、叶绿素含量、可溶性蛋白质含量、可溶性糖含量以及 *POD*、*SOD* 活性。如图5所示,生物炭固定化菌剂在 2 mg/kg毒死蜱污染土壤施用后 35 d,鲜重、叶绿素含量、可溶性蛋白质含量、可溶性糖含量以及 *POD*、*SOD* 活性分别为 17.23 g、0.74 mg/g、4.84 g prot/L、65.73 mg/g、556.67 U/g、346.72 U/g,比同一时期生物炭处理组分别高出 24.86%、15.63%、32.24%、34.28%、7.74%、32.50%;生物炭固定化菌剂在 20 mg/kg毒死蜱污染土壤施用后 35 d,鲜重、叶绿素含量、可溶性蛋白质含量、可溶性糖含量以及 *POD*、*SOD* 活性分别为 16.9 g、0.68 mg/g、4.21 g prot/L、49.51 mg/g、546 U/g、315.67 U/g,比同一时期生物炭处理组分别高出 42.50%、21.43%、26.05%、51.13%、12.42%、8.74%。

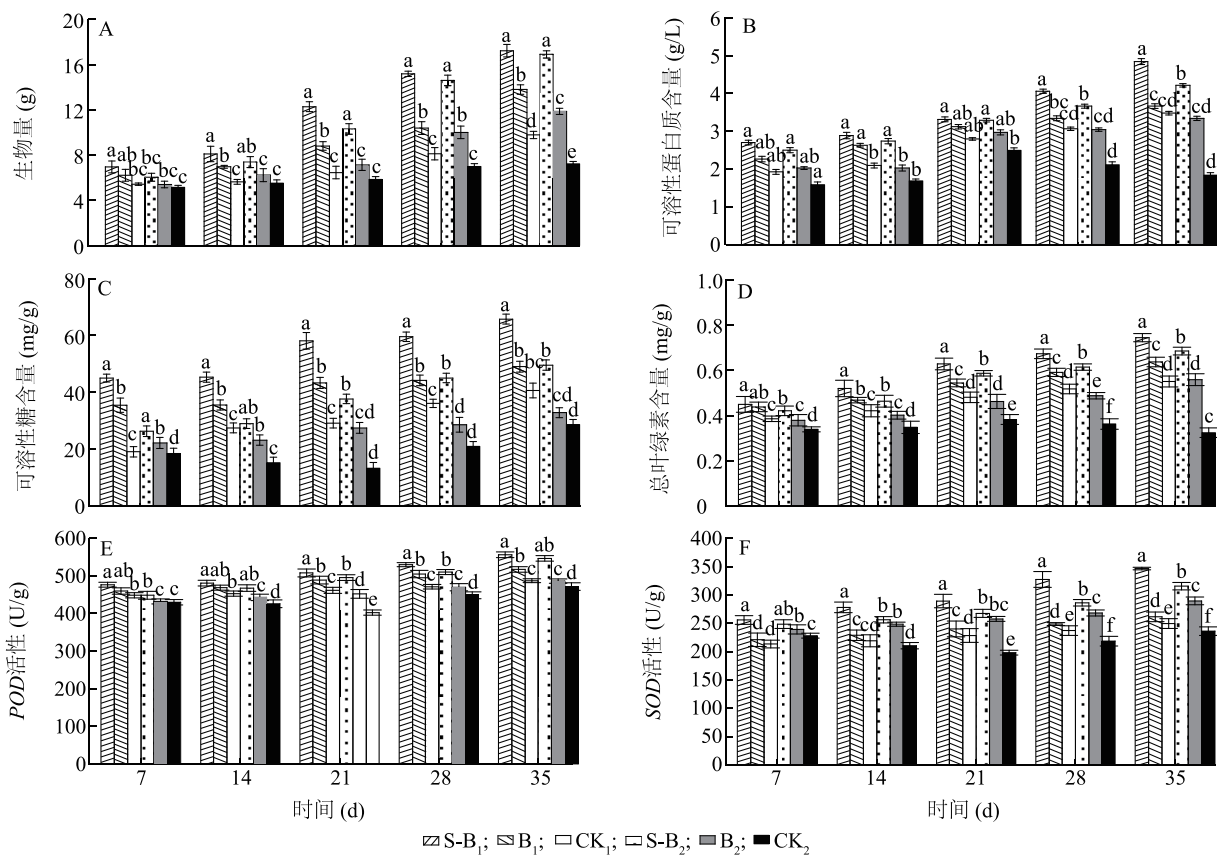
接触农药会导致植物出现中毒症状,其原因是叶绿素分解和光合作用减弱,从而阻碍植物生长^[28]。据报道,毒死蜱对植物有多种不利影响,包括生物量减少、发芽受阻、光合色素的量子效率降低、营养代谢紊乱等^[29]。本研究发现,在土壤中施

用生物炭后可以吸附毒死蜱,减轻其对植物的毒害,改善植物生理机能,促进植物生长^[30]。生物炭通过降低毒死蜱含量和改变环境条件来增加生物吸附,减少过量污染物对微生物生长的抑制^[31]。生物炭固定化菌剂能够对土壤中残留毒死蜱更高效地捕获和降解。Azeem 等^[32]也得出了类似的结果,通过适当应用茶叶生物炭来维持微生物的生存和繁殖,最终改善了绿豆的生长,提高了绿豆产量。石阳阳^[33]研究发现 2% 玉米秸秆生物炭与菌剂复配处理使小白菜可溶性蛋白质含量增加 58.14%,可溶性糖含量增加 57.85%,均显著高于 2% 生物炭处理和菌剂处理。说明生物炭固定化菌剂提高了生物炭的修复性能,促进了植物生长,提高了植物的营养品质。

毒死蜱胁迫会导致植物中产生 O_2^- 、 $\cdot OH$ 、 H_2O_2 和其他活性氧、自由基和过氧化物,从而导致

氧化损伤。植物可启动防御机制清除这些产物,并通过提高 *SOD* 和 *POD* 活性以及分解更多的过氧化氢来解毒^[34-35]。本研究通过施用生物炭和生物炭固定化菌剂降低了小白菜中毒死蜱的含量,减轻了自由基和活性氧对小白菜细胞和组织的毒害作用,促进了小白菜的生长,提高了其 *SOD* 和 *POD* 活性,从而消除了毒死蜱胁迫产生的产物。吴海霞等^[36]发现与对照处理相比,施用生物炭可以促进香根草的生长,通过提高香根草中抗氧化酶 *SOD* 及 *POD* 的活性,来缓解重金属引起的氧化胁迫。

将土壤毒死蜱含量与小白菜的生理与品质指标进行相关性分析。如表 4 所示,土壤中毒死蜱含量与小白菜茎叶和根中毒死蜱含量呈显著正相关;小白菜品质与其茎叶中和根中毒死蜱含量呈显著负相关。



CK₁、CK₂、B₁、B₂、S-B₁、S-B₂ 见图 4 注。图柱上不同字母表示在 0.05 水平上有显著性差异。

图 5 不同处理下小白菜的鲜重、叶绿素含量、可溶性蛋白含量、可溶性糖含量以及 *POD*、*SOD* 活性

Fig.5 Fresh weight, chlorophyll content, soluble protein content, soluble sugar content, peroxidase (*POD*) activity and superoxide dismutase (*SOD*) activity of Chinese cabbage under different treatments

表 4 毒死蜱含量与小白菜生理和品质的相关性

Table 4 Correlation analysis between chlorpyrifos content and physiology and quality of Chinese cabbage

项目	土壤中 毒死蜱 含量	茎叶中 毒死蜱 含量	根中 毒死 蜱含 量	可溶性 糖含 量	可溶性 蛋白含 量	叶绿素 含量	生物量	POD 活性	SOD 活性
土壤中毒死蜱含量	1.00								
茎叶中毒死蜱含量	0.99 *	1.00							
根中毒死蜱含量	0.95 *	0.97 *	1.00						
可溶性糖含量	-0.80	-0.81	-0.81 *	1.00					
可溶性蛋白含量	-0.80	-0.83 *	-0.91 *	0.90 *	1.00				
叶绿素含量	-0.81	-0.84 *	-0.93 *	0.88 *	0.98 *	1.00			
生物量含量	-0.62	-0.68	-0.78	0.87 *	0.92 *	0.94 *	1.00		
POD 活性	-0.63	-0.70	-0.75	0.93 *	0.89 *	0.88 *	0.96 *	1.00	
SOD 活性	-0.40	-0.44	-0.56	0.78	0.85 *	0.81	0.90 *	0.87 *	1.00

* 表示相关性达到 0.05 显著水平。

3 结 论

(1) 利用生物炭分别对 3 株具有降解毒死蜱功能的内生菌进行固定,筛选得到降解效率最高的生物炭固定化菌剂——生物炭固定化鞘氨醇单胞菌(HJY)菌剂,对毒死蜱的降解效率高达 92.40%。

(2) 生物炭固定化鞘氨醇单胞菌(HJY)菌剂能有效提升小白菜土壤体系中毒死蜱污染的修复效率,并缓解毒死蜱对小白菜的氧化胁迫,显著提升小白菜品质。

(3) 小白菜中毒死蜱含量与土壤中毒死蜱含量呈显著正相关关系,小白菜品质与其茎叶中和根中毒死蜱含量呈显著负相关关系。

参考文献:

- [1] 杨益军. 2018 年中国(全球)毒死蜱市场现状及预测[J]. 农药科学与管理,2019,40(1):18-24.
- [2] LIU C, WEN S, LI S, et al. Enhanced remediation of chlorpyrifos-contaminated soil by immobilized strain *Bacillus H27*[J]. Journal of Environmental Sciences, 2024, 144: 172-184.
- [3] DUTTA M, SARDAR D, PAL R, et al. Effect of chlorpyrifos on microbial biomass and activities in tropical clay loam soil[J]. Environ Monit Assess, 2010, 160(1/2/3/4): 385-391.
- [4] 王 川,周巧红,吴振斌. 有机磷农药毒死蜱研究进展[J]. 环境科学与技术, 2011, 34(7): 123-127.
- [5] LI R, HE L, WEI W, et al. Chlorpyrifos residue levels on field crops (rice, maize and soybean) in China and their dietary risks to consumers[J]. Food Control, 2015, 51: 212-217.
- [6] LIU B, MCCONNELL L L, TORRENTS A. Hydrolysis of chlorpyrifos in natural waters of the Chesapeake Bay[J]. Chemosphere, 2001, 44(6): 1315-1323.
- [7] 王 俊,胡进锋,陈 峰,等. 福州菜地土壤中有机磷农药残留

特征及风险评价[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(5): 951-957.

- [8] NGAN C K, CHEAH U B, ABDULLAH W Y W, et al. Fate of chlorothalonil, chlorpyrifos and profenofos in a vegetable farm in cameron Highlands, Malaysia[J]. Water, Air, & Soil Pollution: Focus, 2005, 5(1): 125-136.
- [9] MAYA K, SINGH R S, UPADHYAY S N, et al. Kinetic analysis reveals bacterial efficacy for biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolyzing metabolite TCP[J]. Process Biochemistry, 2011, 46(11): 2130-2136.
- [10] MIE A, RUDÉN C, GRANDJEAN P. Safety of safety evaluation of pesticides: developmental neurotoxicity of chlorpyrifos and chlorpyrifos-methyl[J]. Environmental Health, 2018, 17(1): 77.
- [11] AKBAR S, SULTAN S. Soil bacteria showing a potential of chlorpyrifos degradation and plant growth enhancement[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2016, 47(3): 563-570.
- [12] MASUD M A A, SHIN W S, SARKER A, et al. A critical review of sustainable application of biochar for green remediation: Research uncertainty and future directions[J]. Science of the Total Environment, 2023, 904: 166813.
- [13] KIM H, KIM K, KIM H, et al. Effect of biochar on heavy metal immobilization and uptake by lettuce (*Lactuca sativa* L.) in agricultural soil[J]. Environmental Earth Sciences, 2015, 74(2): 1249-1259.
- [14] RAJAPAKSHA A, VITHANAGE M, ZHANG M, et al. Pyrolysis condition affected sulfamethazine sorption by tea waste biochars[J]. Bioresource Technology, 2014, 166: 303-308.
- [15] YAO B, LUO Z, YANG J, et al. FeII/FeIII layered double hydroxide modified carbon felt cathode for removal of ciprofloxacin in electro-Fenton process[J]. Environmental Research, 2021, 197: 111144.
- [16] LIU J, DING Y, MA L, et al. Combination of biochar and immobilized bacteria in cypermethrin-contaminated soil remediation[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2017, 120: 15-20.
- [17] QI X, GOU J, CHEN X, et al. Application of mixed bacteria-loaded biochar to enhance uranium and cadmium immobilization in

- a co-contaminated soil[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 401:123823.
- [18] 冯发运. 具有毒死蜱降解特性的植物内生菌的分离筛选[D]. 杭州:浙江农林大学, 2015.
- [19] FENG F, CHEN X, WANG Q, et al. Use of *Bacillus-siamensis*-inoculated biochar to decrease uptake of dibutyl phthalate in leafy vegetables[J]. *Journal of Environmental Management*, 2020, 253: 109636.
- [20] PIETIKÄINEN J, KIIKKILÄ O, FRUTZE H. Charcoal as a habitat for microbes and its effect on the microbial community of the underlying humus[J]. *OIKOS*, 2000, 89(2): 231-242.
- [21] HERMANSSON M. The DLVO theory in microbial adhesion[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 1999, 14(1/2/3/4): 105-119.
- [22] YU Y, GUO H, ZHONG Z, et al. Enhanced removal of tetrabromobisphenol A by *Burkholderia cepacia* Y17 immobilized on biochar[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023, 249:114450.
- [23] XIONG B, ZHANG Y, HOU Y, et al. Enhanced biodegradation of PAHs in historically contaminated soil by *M. gilvum* inoculated biochar[J]. *Chemosphere*, 2017, 182:316-324.
- [24] ZHANG W, SHEN J, ZHANG H, et al. Efficient nitrate removal by *Pseudomonas mendocina* GL6 immobilized on biochar[J]. *Bioresource Technology, Part A*, 2021, 320:124324.
- [25] SINGH M, RANO S, ROY S, et al. Characterization of organophosphate pesticide sorption of potato peel biochar as low cost adsorbent for chlorpyrifos removal[J]. *Chemosphere*, 2022, 297: 134112.
- [26] WU C, ZHI D, YAO B, et al. Immobilization of microbes on biochar for water and soil remediation: a review[J]. *Environmental Research, Part B*, 2022, 212:113226.
- [27] SUN T, MIAO J, SALEEM M, et al. Bacterial compatibility and immobilization with biochar improved tebuconazole degradation, soil microbiome composition and functioning[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 398:122941.
- [28] BAKSHI P, SHARMA P, CHOUHAN R, et al. Interactive effect of 24-epibrassinolide and plant growth promoting rhizobacteria inoculation restores photosynthetic attributes in *Brassica juncea* L. under chlorpyrifos toxicity[J]. *Environmental Pollution*, 2023, 320:120760.
- [29] WANG L, QIN Z, LI X, et al. Persistence behavior of chlorpyrifos and biological toxicity mechanism to cucumbers under greenhouse conditions[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 242:113894.
- [30] PATEL A K, SINGHAN R R, PAL A, et al. Advances on tailored biochar for bioremediation of antibiotics, pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbon pollutants from aqueous and solid phases[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 817:153054.
- [31] WANG L, CHEN H, WU J, et al. Effects of magnetic biochar-microbe composite on Cd remediation and microbial responses in paddy soil[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 414:125494.
- [32] AZEEM M, HASSAN T, TAHIR M I, et al. Tea leaves biochar as a carrier of *Bacillus cereus* improves the soil function and crop productivity[J]. *Applied Soil Ecology*, 2021, 157:103732.
- [33] 石阳阳. 生物炭与Cd耐受菌复配对Cd污染土壤修复及小白菜安全生产的影响[D]. 雅安:四川农业大学, 2022.
- [34] HERBINGER K, TAUSZ M, WONISCH A, et al. Complex interactive effects of drought and ozone stress on the antioxidant defence systems of two wheat cultivars[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2002, 40(6/7/8): 691-696.
- [35] CANNATA M, CARVALHO R, BERTOLI A, et al. Effects of cadmium and lead on plant growth and content of heavy metals in arugula cultivated in nutritive solution[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2013, 44(5): 952-961.
- [36] 吴海霞, 孙萍, 卢爽, 等. 浒苔生物炭促进土壤Pb固定并缓解植物Pb毒性[J]. *中国环境科学*, 2020, 40(8): 3530-3538.

(责任编辑:黄克玲)