

解淀粉芽孢杆菌 W48 对大蒜产量品质及土壤质量提升效果研究

熊雨洁^{1, 2}, 宋立晓², 王亚², 生宏杰², 余向阳², 张雷刚^{1, 2*}

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏 镇江 212013;

2. 江苏省农业科学院农产品质量与安全营养研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 为明确微生物菌剂改善大蒜产地环境、提升产量品质的效果, 利用常规施肥结合解淀粉芽孢杆菌 W48 发酵液进行大蒜田土壤处理, 测定大蒜产量和品质相关指标, 监测土壤理化性质及生物转化相关酶活性变化, 定量分析菌剂处理后土壤和大蒜中邻苯二甲酸酯类塑化剂 (PAEs) 含量差异。结果表明, W48 菌株具有分泌吡啶乙酸的能力, 同时具备溶磷和产铁载体的潜力。施用 W48 微生物菌剂显著增加了植物根际土壤有机质、碱解氮、有效磷和速效钾含量, 改善根际区域营养环境, 提高了土壤碱性磷酸酶、蔗糖酶和脲酶等生物转化相关酶活性, 提高了土壤氮、磷元素利用效率; 与对照相比, 微生物菌剂处理的小区大蒜增产 10%, 可溶性糖和维生素 C 含量等品质指标均有提高, 其中可溶性糖显著增加了 30%; 邻苯二甲酸二正丁酯 (DBP) 和邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯 (DEHP) 是土壤和大蒜中 PAEs 的主要检出类型, 土壤中的平均浓度分别达到 1874.05 和 337.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 大蒜中几种 PAEs 残留量普遍较高, DBP 最高为 666.57 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 其次为邻苯二甲酸二异丁酯 (DIBP) 409.93 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和邻苯二甲酸丁苯酯 (BBP) 433.65 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。菌剂对 PAEs 具有显著的体外降解能力, 土壤处理后能够显著降低土壤中 PAEs 浓度, 对 DBP、DEHP 和邻苯二甲酸二甲酯 (DMP) 的去除率分别为 25.5%、76.1% 和 48.4%, 但对大蒜中的 PAEs 含量影响不显著。以上结果为大蒜产地土壤污染物修复及改良提供了技术支撑。

关键词: 大蒜; 微生物菌剂; 邻苯二甲酸酯; 土壤改良; 增产

大蒜 (*Allium sativum* L.) 为百合科葱属草本植物, 营养价值丰富, 并具有抗菌、抗氧化、免疫调节等保健价值, 是我国重要的经济作物^[1]。我国是世界上最大的大蒜生产、消费和出口国, 山东、江苏、河南等地的大蒜产业集群优势明显, 如山东金乡、江苏邳州等大蒜之乡的常年种植面积约 4 万 hm^2 , 在推动乡村振兴和拉动地方经济发展方面发挥着重要作用。近年来, 高品质、品牌化成为大蒜产业新的驱动力, 杞县大蒜、金乡大蒜、邳州大蒜等 34 个产地的大蒜获批国家地理标志保护产品, 其中“邳州大蒜”还是 2020 年欧盟理事会首批授权的中国地理标志产品^[2], 这对开拓欧盟市场、提升品牌国际影响力有着重要的意义, 同时也对大

蒜品质保持提出了更高的要求。

目前, 蒜农在生产中重产量、重投入, 对大蒜产地环境关注度较低, 连年种植和过量施用化肥农药且利用率低引起的连作障碍现象较普遍, 造成土壤养分失调和质量退化、农药残留隐患较大、产量和品质下降等问题^[3-4], 严重制约大蒜产业发展和大蒜产品进军国际市场。同时, 微塑料、塑化剂等新型污染物带来的农田复合污染也备受关注^[5-7]。邻苯二甲酸酯类塑化剂 (PAEs) 是一类环境激素类污染物, 具有内分泌干扰和致癌毒性, 在多种环境介质中被频繁检出^[8]。由于北方大蒜生长期采用地膜覆盖的栽培方式, 大量的残留地膜为 PAEs 释放到土壤中提供了来源。PAEs 进入土壤后可通过植物吸收进入作物体内, 并通过食物链影响人体健康, 从而导致潜在农产品质量安全问题, 如邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯 (DEHP, PAEs 的一种) 会通过妊娠期母体接触来损害胎儿的生殖细胞发育^[9]。而且, PAEs 的芳香环几乎不能通过非生物途径被裂解, 在野外环境下微生物是降解芳香环的主要途径^[10]。

收稿日期: 2023-02-14; 录用日期: 2023-06-15

基金项目: 江苏中晚熟大蒜产业集群建设项目 (13922204); 江苏省农业科技自主创新资金 [CX (22) 3131]。

作者简介: 熊雨洁 (1999-), 在读硕士研究生, 研究方向为食品与生物技术。E-mail: 1764576373@qq.com。

通讯作者: 张雷刚, E-mail: leigang.zh@163.com。

健康的产地环境是农产品品质保持和可持续发展的源头保障,微生物修复技术具有较好的应用潜力^[11-12]。以植物根际促生菌(PGPR)为代表的有益微生物能够有效定殖在植物根际,通过其代谢活动提高土壤肥力,改善根际微生物群落结构,抑制植物病原菌生长,实现土壤改良和化肥农药减量的效果^[13-15]。王立河等^[16]通过平衡营养的方法,在常规施肥的基础上添加微量元素或者腐植酸类有机肥,对于缓解大蒜连作障碍有显著效果;张梦琦等^[17]使用的根际促生菌 DD3 对大蒜根腐病菌和大蒜叶枯病菌具有显著防治效果,达到增产目的;根际促生菌配合使用生物有机肥或者复合微生物菌剂对改善大蒜苗期生长状况、促进根系发育、减轻重茬病害、增加大蒜产量有显著效果^[18]。然而目前有关菌剂的使用研究大多集中于防病促生,关于其在大蒜产地污染物降解上的应用有待进一步研究。为此,我们针对大蒜产地存在的多种土壤障碍因子,采取常规施肥结合微生物菌剂处理的方式,明确其在大蒜产量、品质和土壤质量的影响,探索大田环境下土壤综合改良的可行性,为高标准农田建设和优质农产品供应提供技术保障。

1 材料与方法

1.1 供试材料

利用本实验室分离保存的解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) W48 发酵获得菌剂母液。菌株在 LB 平板上划线活化后接种于液体 LB 培养基中,30℃、180 r/min 摇培 12 h 即为种子液,按 1% 接种量转接到新的培养基中 30℃ 培养 12 h。为保证最佳效果,菌剂现配现用。大蒜品种为邳州白蒜。

1.2 解淀粉芽孢杆菌 W48 体外促生能力测定

固氮、溶磷及解钾:分别吸取 10 μL W48 种子液接种于改良阿须贝氏(无氮)琼脂培养基平板、无机磷细菌培养基平板和解钾细菌检测培养基平板中央,置于 30℃ 培养箱中培养 7 d,观察是否有水解圈产生。

产铁载体:吸取 10 μL W48 种子液接于 CAS 平板中央,置于 30℃ 培养箱中培养 7 d,观察是否有橙色晕圈产生。

产吲哚乙酸(IAA):以 2% 的接种量接种 W48 种子液于含有 100 mg/L L-色氨酸的 LB 液体培养基中,在 30℃、180 r/min 下黑暗培养 24 h 后,将其 OD600 调至 1,分别取 10 mL 培养液以 8000 r/min 离心 10 min,收集上清液于干净试管中,按 1:1 比

例添加 Salkowski 显色液,混合均匀并在室温下避光静置 30 min,以只含有 L-色氨酸的 LB 液体培养基为空白对照,测定其在 530 nm 处的吸光值。将 IAA 标准品用甲醇分别稀释成 0、0.5、1、5、10、20 和 50 mg/L,然后按照上述步骤测定其在 OD530 下的数值以制作标准曲线。

1.3 菌株体外降解 PAEs 能力测定

将培养好的 W48 菌液经离心去上清,菌体用无机盐培养液清洗后转入锥形瓶,调节菌液初始 OD600=0.1,加入 6 种 PAEs 的混标溶液使终浓度为 20 mg/L,不加菌体的处理为对照。将锥形瓶密封后置于摇床中,30℃、180 r/min 培养,3 d 后取样检测。参照 Feng 等^[12]使用正己烷提取 PAEs,参照王亚等^[19]采用岛津 GC-2030 气相色谱仪测定 PAEs 的浓度,比较菌剂处理后 PAEs 的变化。

1.4 试验地点与处理方式

试验于 2021 年 10 月至 2022 年 5 月在江苏省邳州市碾庄镇进行,试验地为连续 3 年水稻-大蒜轮作田。试验设置对照和菌剂两个处理,每处理 3 个小区,每个小区面积 100 m²。在大蒜播种前撒施基肥和生长中期撒施追肥两个时期各进行 1 次菌剂处理,将菌剂母液(4×10⁸ CFU/mL)稀释 50 倍后按 12 L/小区的用量喷洒于土壤中,对照施用相同体积的水,其他灌溉、病虫害防控等栽培管理措施保持一致。

1.5 大蒜产量测定

于大蒜收获期对各小区进行实收,在每个小区内用 0.5 m² 大小的竹筐采用五点取样法随机套取 3 个点位,采集框内的所有大蒜,统一剔除植株地上部分及根须,对新鲜蒜头进行称重并进行差异分析。

1.6 大蒜营养品质测定

在各小区新鲜蒜头中随机选取 10 个大小均匀、无机械伤的蒜头,每头大蒜取三瓣,切碎混匀,-20℃ 保存待测。采用蒽酮比色法测定可溶性糖含量,采用考马斯亮蓝比色法测定可溶性蛋白质含量,采用 5% 水杨酸-硫酸比色法测定硝酸盐含量,采用紫外分光光度法测定维生素 C 含量。

1.7 土壤样品采集、理化指标与酶活性测定

于大蒜收获后采用 S 形五点取样法采集各小区 0~30 cm 大蒜根部土壤,风干去杂质后研磨过筛,进行土壤理化性质和土壤酶相关指标的测定。采用玻璃电极法测定土壤 pH 值;采用重铬酸钾氧化-外加加热法测定土壤有机碳含量;采用碱解扩散法测定土壤碱解氮含量;采用碳酸氢钠溶液浸提-钼锑

抗比色法测定土壤有效磷含量；采用乙酸铵浸提-火焰光度计测定土壤速效钾含量；采用硫酸-加速剂消解、凯氏法测定土壤全氮含量；采用 NaOH 碱熔、钼锑抗分光光度法测定土壤全磷含量；采用 NaOH 碱熔、火焰光度法测定土壤全钾含量。采用 3, 5-二硝基水杨酸比色法测定土壤蔗糖酶活性；采用苯酚钠-次氯酸钠比色法测定脲酶活性；采用磷酸苯二钠比色法测定磷酸酶活性。

1.8 土壤和大蒜中 PAEs 含量检测

大蒜样品按照 1.6 的方法采集，土壤样品按照 1.7 的方法采集，样品中 PAEs 按照 1.3 的方法提取并检测。

1.9 数据处理与分析

试验数据利用 Excel 2016 和 SPSS 26 进行处理和

方差分析 ($P < 0.05$)，计算所有均值的标准差。所有试验数据为 3 个平行样品测定结果的平均值 \pm 标准差。

2 结果与分析

2.1 解淀粉芽孢杆菌 W48 的体外促生能力

在固氮、溶磷、解钾和产铁载体的检测试验中发现解淀粉芽孢杆菌 W48 可以在固氮培养基和解钾培养基上生长，但不能形成透明圈，表明菌株不具有固氮和解钾能力 (图 1A、B)；菌株在解无机磷培养基和 CAS 培养基上生长良好且形成透明圈，说明 W48 可以解无机磷并产生铁载体 (图 1C、D)。与空白对照相比，W48 的无菌发酵液在 IAA 比色反应中呈粉红色 (图 1E)，说明 W48 可以分泌 IAA。根据标准曲线计算在 1 d 内产 IAA 含量为 10.55 $\mu\text{g/mL}$ (表 1)。

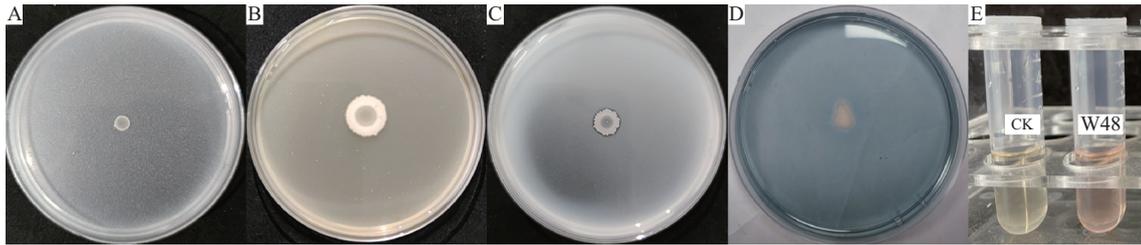


图 1 解淀粉芽孢杆菌 W48 体外固氮 (A)、解钾 (B)、溶磷 (C)、产铁载体 (D) 和产吲哚乙酸 (E) 能力

表 1 解淀粉芽孢杆菌 W48 的体外促生能力

菌株	固氮	溶磷	解钾	铁载体	吲哚乙酸
W48	-	+	-	+	10.55 $\mu\text{g/mL}$

注：“+”代表阳性反应；“-”代表阴性反应。

2.2 施用微生物菌剂对大蒜产量的影响

在常规施肥基础上增施两次 W48 微生物菌剂对大蒜的增产效果显著。统计结果表明，W48 菌

剂处理的大蒜单头平均鲜重比对照高 8 g，每个取样点位的平均鲜重比对照高 0.12 kg，折合成单产则比对照提高了 2400 kg/hm^2 ，增产率为 10.76%。SPSS 分析结果显示，菌剂处理与对照的单头大蒜鲜重差异不显著 (图 2，表 2)，但数据扩大到取样点位后达到显著性差异 (表 2)，说明常规施肥结合微生物菌剂处理对该地区大蒜产量有一定促进作用。

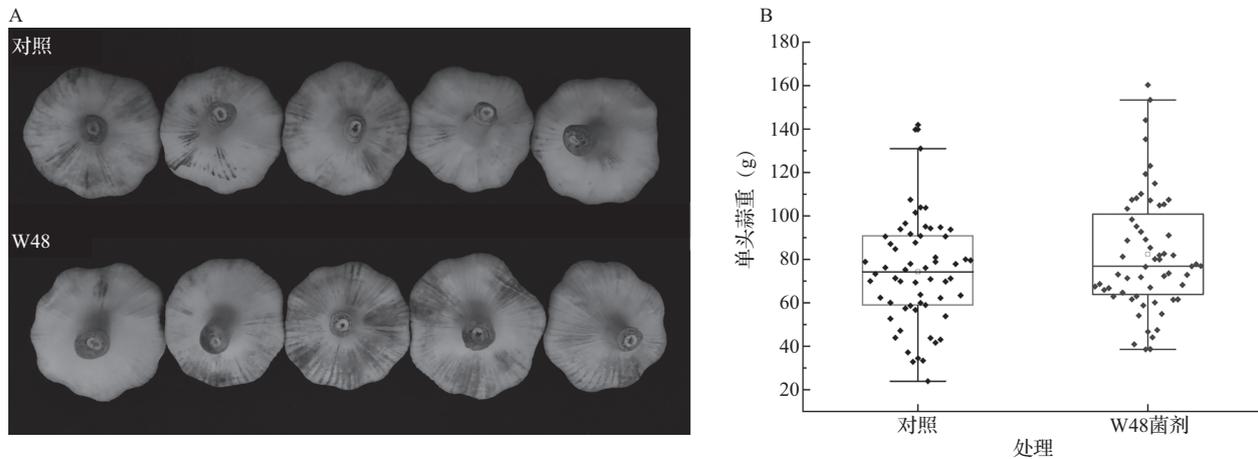


图 2 微生物菌剂 W48 处理对大蒜外观 (A) 及单头蒜重平均分布 (B) 的影响

表 2 微生物菌剂 W48 对大蒜产量的影响

处理	单头鲜重 (g)	各取样点位的平均鲜重 (kg)	折合单产 (kg/hm ²)	增产 (%)
对照	74.33 ± 3.08a	1.114 ± 0.09a	22310.85	
W48 菌剂	82.33 ± 1.60a	1.234 ± 0.01b	24710.55	10.76

注: 同列数据后字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

2.3 施用微生物菌剂对大蒜品质的影响

W48 菌剂处理可以增加大蒜中的营养物质含量, 同时降低有害物质硝酸盐的含量。与对照相比, 菌剂处理的大蒜可溶性糖含量显著提升 79.1%, 硝酸盐含量显著减少了 26.7%, 可溶性蛋白质和维生素 C 含量也有不同程度提高 (表 3), 说明菌剂处理有助于提高大蒜的营养品质、降低膳食风险。

表 3 微生物菌剂 W48 对大蒜品质的影响

处理	可溶性糖含量 (%)	可溶性蛋白质含量 (mg/g)	硝酸盐含量 (mg/g)	维生素 C 含量 (mg/100g)
对照	9.1 ± 1.9a	7.13 ± 0.05a	0.45 ± 0.05a	4.01 ± 0.30a
W48 菌剂	16.3 ± 0.3b	7.89 ± 0.38b	0.33 ± 0.01b	4.93 ± 0.20b

表 4 微生物菌剂 W48 对大蒜田土壤理化性质的影响

处理	pH 值	有机质 (g/kg)	全氮 (g/kg)	全磷 (g/kg)	全钾 (g/kg)	碱解氮 (mg/kg)	速效钾 (mg/kg)	有效磷 (mg/kg)
对照	8.00 ± 0.13a	37.84 ± 1.34a	2.10 ± 0.04a	1.17 ± 0.03a	27.18 ± 0.20a	214.11 ± 0.93a	370.11 ± 2.95a	37.40 ± 1.33a
W48 菌剂	8.01 ± 0.06a	43.70 ± 1.19b	2.27 ± 0.08a	1.17 ± 0.07a	27.27 ± 0.08a	230.70 ± 5.36b	410.04 ± 6.93b	47.65 ± 1.39b

表 5 微生物菌剂 W48 对大蒜田土壤酶活性的影响 (U/g)

处理	脲酶	蔗糖酶	碱性磷酸酶
对照	916.34 ± 38.65a	37.92 ± 4.41a	33.68 ± 2.87a
W48 菌剂	1155.14 ± 102.39b	71.09 ± 2.71b	43.26 ± 0.98b

2.5 W48 菌株对 PAEs 的体外降解能力

为明确 W48 菌株对常见 PAEs 的生物降解特性, 向菌液中添加 PAEs 混合样品并胁迫 3 d 后检测培养液中 6 种 PAEs 的残留量, 计算降解率。如图 3 所示, W48 对邻苯二甲酸二丁酯 (DBP) 和邻苯二甲酸丁苄酯 (BBP) 的降解效果较好, 降解率达 94.8% 和 97.1%; 对邻苯二甲酸二甲酯 (DMP)、邻苯二甲酸二异丁酯 (DIBP)、邻苯二甲酸二正辛酯 (DnOP) 和邻苯二甲酸二 (2-乙基) 己酯 (DEHP) 也有一定的降解能力, 降解率分别为 38.1%、33.7%、27.7% 和 9.3%。此外, 不接菌的对照中 PAEs 的自然降解率不高于 0.17%, 说明接菌处理中 PAEs 的降解主要来自 W48 的生物降解作用。

2.4 施用微生物菌剂对大蒜田土壤理化性质和酶活性的影响

大蒜收获后的土壤监测数据表明, 常规施肥结合微生物菌剂处理对大蒜田土壤具有改良效果。理化性质方面, 菌剂处理土壤的有机质、碱解氮、有效磷和速效钾含量均显著增加, 比对照分别提高了 15.5%、7.7%、27.4% 和 10.8%, pH 值和全氮、全磷、全钾含量变化不显著 (表 4)。土壤中的酶活性是土壤生物化学特征的重要组成部分。菌剂处理能够显著提高大蒜田土壤的脲酶、蔗糖酶和碱性磷酸酶活性, 分别比对照高 26.1%、87.4%、28.5% (表 5)。综合以上结果, 菌剂处理能够改良土壤质量, 有利于大蒜生长。

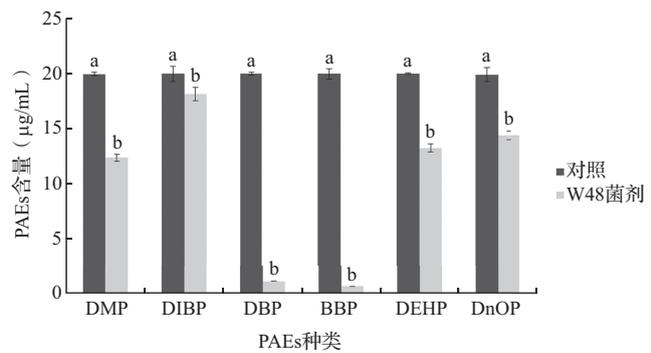


图 3 W48 菌株对几种 PAEs 的体外降解效果

注: 柱上字母不同表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。PAEs 为邻苯二甲酸酯类塑化剂, DMP、DIBP、DBP、BBP、DEHP、DnOP 分别为对邻苯二甲酸二甲酯、邻苯二甲酸二异丁酯、邻苯二甲酸二丁酯和邻苯二甲酸丁苄酯、邻苯二甲酸二 (2-乙基) 己酯、邻苯二甲酸二正辛酯。下同。

2.6 施用微生物菌剂对大蒜及土壤中 PAEs 的影响

随着地膜在大蒜种植过程中的普遍使用, 废弃物膜释放到农田中的微塑料和塑化剂污染及潜在的食品安全问题值得关注。以常见 PAEs 标准品为参照, 分别检测了不同处理的大蒜和土壤中残留量。

结果表明, DMP、DIBP、DBP、BBP、DEHP 5 种 PAEs 在大蒜和土壤中均能检出, DBP 含量最高, 土壤和大蒜中分别为 1874.05 和 666.57 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 大蒜中 PAEs 残留量普遍较高, 但低于联合国粮食及农业组织制定的限量标准^[19]。微生物菌剂处理能显著减少大蒜田土壤中 PAEs 的含量, 其中 DEHP 比对照减少了 76.1%, DMP 减少了 48.4%, DBP 减少了 25.5%, 对 DIBP 和 BBP 的也有显著降解能力(图 4A)。菌剂处理对大蒜中 PAEs 的降解效果有限, 仅 DMP、DBP、BBP 减少了 49.4%、12.1%、35.6%, 其余几种变化差异不大(图 4B), 可能与微生物群体主要存在于大田土壤中、定殖到大蒜中的数量有限相关。总的来说, 菌剂处理对大蒜产地土壤中 PAEs 污染具有显著的修复能力。

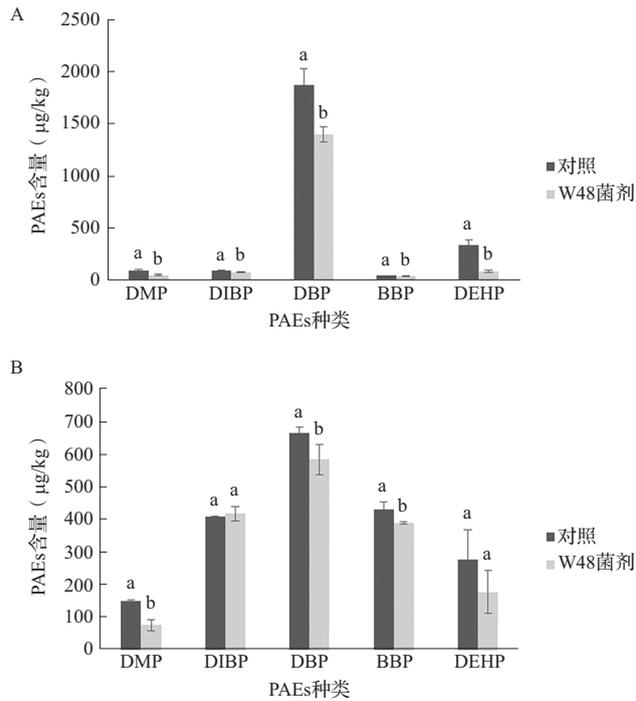


图 4 微生物菌剂 W48 处理对土壤 (A) 和大蒜 (B) 中 PAEs 含量的影响

3 讨论

大蒜是我国重要的经济农作物和出口创汇农产品, 全国大蒜种植面积近 66.67 万 hm^2 , 产量 2000 万 t, 年出口约 200 万 t^[20]。随着种植年限的增加以及对化肥农药地膜等生产资料的高度依赖, 大蒜田土壤连作障碍和有机污染物残留问题日益严峻, 严重影响大蒜产地环境健康。以 PGPR 为代表的有益微生物具有促进植物生长、防治病害和改良土壤

的多重功效^[21], 充分利用 PGPR 的功能特性, 开发各类菌剂产品及其配套实用技术, 是解决田间植物生长、土壤修复等问题的有效途径。

3.1 施用微生物菌剂能够提高大蒜产量和品质

基于 PGPR 的微生物肥料可通过固氮、溶磷、解钾、分泌植物激素等方式促进植物生长^[22]。江美彦等^[23]筛选得到克雷伯氏菌株 XI-1 具有较强的促生潜力, 在缺肥条件下对两个白芷品种的增产率分别为 31.85% 和 64.59%。张梦琦等^[17]利用金乡县连作大蒜根部分离的芽孢杆菌 DD3 防治大蒜根腐病, 防控率达 80%, 接种菌悬液后能够促进大蒜幼苗的生长。吕俊等^[24]以盆栽法研究了不同剂量 PGPR 对大蒜生长时期的促生和抗病作用, 发芽率、幼苗株高及叶绿素含量均有不同程度提高。目前对菌剂的促生效果研究大多通过盆栽试验或关注前期的生物量, 对产量及在大田环境下的应用报道较少。石朝鹏等^[25]在大蒜播种前和生长期每公顷施用 900 kg 枯草芽孢杆菌制剂后产量提高 14.4%, 蒜头商品率提高 28%。我们首先通过体外促生能力测定发现, 解淀粉芽孢杆菌 W48 具有分泌 IAA 的能力, 同时具备溶磷和产铁载体的潜力(图 1, 表 1)。田间试验表明每公顷施用量约 1200 L 稀释后的液体 PGPR 菌剂能提高新鲜大蒜的平均单头重, 虽然个体差异不显著, 但以小区或公顷产量折算增产可达 10% 左右(图 2, 表 2), 大蒜田菌剂处理的经济效益较为显著。微生物菌剂结合有机肥使用不仅可以降低化学肥料使用量, 还可以显著提高大蒜长势、蒜头产量和大蒜品质, 是一条切实可行的技术路线^[26]。同时, 可溶性蛋白质、可溶性糖和硝酸盐含量等是蔬菜品质重要的衡量指标^[27]。W48 菌剂处理可以显著提高大蒜中可溶性糖、可溶性蛋白质和维生素 C 的含量并降低硝酸盐的含量(表 3), 契合高品质大蒜生产的需求。由于长期大量不合理施用化肥(氮肥、酸性肥料等), 导致土壤及农作物中的硝酸盐含量不断累积, 土壤中的硝酸盐本身并没有毒, 但进入人体内可转化为亚硝酸盐, 构成潜在健康威胁^[28-29], 菌剂处理在一定程度上降低了农产品膳食风险。

3.2 施用微生物菌剂能够提高大蒜产地土壤肥力

菌剂处理对作物的促生效应与土壤质量的改变密切相关。PGPR 的生命活动对土壤有机质等营养成分的转化和循环有着重要的促进作用^[30]。施用微生物菌剂可以促进速效元素的释放和作物对养

分的吸收利用,增产提质,实现优质高效的栽培目的^[31],我们的研究也证实了这一点。大蒜收获后的土壤监测数据表明,常规施肥结合微生物菌剂处理对大蒜田土壤具有改良效果。理化性质方面,菌剂处理土壤的有机质、碱解氮、有效磷和速效钾含量均显著增加,比对照分别提高了15.5%、7.7%、27.4%和10.8%(表4),促进了大蒜对营养元素的有效利用。土壤酶活性方面,菌剂处理能够显著提高大蒜田土壤的脲酶、蔗糖酶、碱性磷酸酶活性,分别比对照高26.1%、87.4%、28.5%(表5)。长期连作情况下,作物自毒作用会抑制土壤酶活性,从而影响土壤养分的转化,最终影响作物的生长^[30],其中脲酶将土壤有机氮转化为无机氮,蔗糖酶可增加土壤中易溶性营养物质,磷酸酶能将土壤有机磷转化为可供植物吸收的无机磷^[21]。结合理化性质数据,有效磷、碱解氮含量均显著提高,与酶活性变化呈正相关,说明土壤质量的改良可能与大蒜产量品质的提升具有直接相关性。

3.3 施用微生物菌剂能够降低大蒜产地 PAEs 污染程度

根据前期调查及相关研究报道,北方地区大蒜田地膜残留引起的微塑料和塑化剂残留问题不容忽视^[19]。另外,大气迁移和沉积也显著促进 PAEs 在土壤中聚集^[32]。PAEs 是一种典型的环境激素类污染物,美国环保局将 6 种 PAEs 化合物列入优先控制污染物,我国也将 DMP、DBP 和 DOP 列为优先控制污染物^[33-34]。随着种植年限的增长,PAEs 残留逐年积累,其演变规律和风险评估至关重要,相关的解决方案也极其关键^[35]。微生物降解已成为削减环境中 PAEs 的主要途径,以鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)、芽孢杆菌(*Bacillus*)等功能菌为代表的高效降解菌具有良好的 PAEs 耐受性和降解能力^[8]。李荣榛^[33]从活性污泥中筛选出 1 株对 DBP 有较高降解效果的菌株,对土壤中 DBP 去除效果达到 30.77%~46.63%。我们的研究发现,离体条件下 W48 菌株对几种 PAEs 均有显著的生物降解效果(图 3),大田条件下菌剂处理对大蒜田土壤中 DEHP 去除率达 76.1%,DMP 的去除率达 48.4%,对 DBP 也有 25.5% 的去除效果,但对大蒜中 PAEs 的降解效果有限,仅 DMP、DBP、BBP 减少了 49.4%、12.1%、35.6%(图 4),可能与菌剂未大量进入植物体内有关。有研究认为,大多数降解菌可

以耐受较高浓度的 PAEs,但实际环境中污染物浓度往往较低(1~10 mg/kg),导致无法诱导菌株功能性酶的表达从而影响降解速率^[36]。本研究的降解菌对大蒜田土壤中几种主要的 PAEs 残留均表现出明显的降解活性,具有较好的应用价值。现阶段对微生物降解 PAEs 的研究大多是在实验室培养体系下,对修复实际污染土壤的应用还极为有限。考虑到实际环境条件与室内差异较大,且高降解率往往是在菌株最适条件下达到的,降解菌进入污染土壤后的耐受性和有效性还需进一步证明。我们在典型 PAEs 污染的大蒜田开展的探索试验表明,微生物菌剂在减少大蒜产地土壤中 PAEs 污染方面具有较好的应用潜力。

4 结论

常规施肥结合微生物菌剂处理技术对大蒜产量、品质和土壤健康有显著提升效果。生长期施用两次菌剂后,大蒜根际土壤营养环境显著改善,大蒜产量和品质均有提高,土壤中 PAEs 残留量显著降低。因此,微生物菌剂在提升大蒜效益、改善产地环境方面具有较好的应用前景,有必要对菌剂剂型和使用技术开展进一步研究。

参考文献:

- [1] 汪甜. 化肥减施技术对大蒜生物量和微生物区系的影响[D]. 淮安: 淮阴工学院, 2021.
- [2] 林威. 国际协作视野下的地理标志保护问题研究[D]. 昆明: 云南大学, 2022.
- [3] 贾茹, 张迪, 马晓东, 等. 大蒜连作障碍研究进展[J]. 北方园艺, 2014(19): 207-210.
- [4] 尹彦舒, 崔曼, 崔伟国, 等. 大蒜连作障碍形成机理的研究进展[J]. 生物资源, 2018, 40(2): 141-147.
- [5] Li J, Song Y, Cai Y B. Focus topics on microplastics in soil: analytical methods, occurrence, transport, and ecological risks[J]. Environmental Pollution, 2020, 257: 113570.
- [6] 李鹏飞, 侯德义, 王刘炜, 等. 农田中的(微)塑料污染: 来源、迁移、环境生态效应及防治措施[J]. 土壤学报, 2021, 58(2): 314-330.
- [7] Jin T Y, Tang J C, Lyu H H, et al. Activities of microplastics (MPs) in agricultural soil: a review of MPs pollution from the perspective of agricultural ecosystems[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(14): 4182-4201.
- [8] 沈思, 王晓瑜, 王海霞, 等. 细菌降解邻苯二甲酸酯的研究进展[J]. 生物工程学报, 2019, 35(11): 2104-2120.
- [9] Yan Z H, Wang L, Ge W, et al. Revealing the effects of maternal di(2-ethylhexyl) phthalate exposure on the progression

- of early meiosis in female foetal germ cells at single-cell resolution [J]. *Clinical and Translational Medicine*, 2022, 12 (4): e687.
- [10] Zhao Z Y, Wang P Y, Xiong X B, et al. Environmental risk of multi-year polythene film mulching and its green solution in arid irrigation region [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 435: 128981.
- [11] 张桃林. 守护耕地土壤健康支撑农业高质量发展 [J]. *土壤*, 2021, 53 (1): 1-4.
- [12] Feng F Y, Chen X L, 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.
- [13] 王丹丹, 殷志秋, 孙丽, 等. 缓解花生连作障碍的根际促生菌分离及功能鉴定 [J]. *微生物学报*, 2021, 61 (12): 4086-4096.
- [14] Kong H G, Song G C, Sim H J, et al. Achieving similar root microbiota composition in neighbouring plants through airborne signaling [J]. *The ISME Journal*, 2021, 15: 397-408.
- [15] Berlanga-Clavero M V, Molina-Santiago C, Caraballo-Rodríguez A M, et al. *Bacillus subtilis* biofilm matrix components target seed oil bodies to promote growth and anti-fungal resistance in melon [J]. *Nature Microbiology*, 2022, 7: 1001-1015.
- [16] 王立河, 贾云超, 王俊忠, 等. 营养平衡调节对缓解大蒜连作障碍的研究 [J]. *北方园艺*, 2015 (21): 167-172.
- [17] 张梦琦, 陈云云, 张熙, 等. 多功能植物根际促生菌 DD3 的功能特性及对大蒜幼苗的促生效果 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23 (3): 748-756.
- [18] 侯文通, 王庆菊, 刘振香, 等. 基于全程营养解决方案防治大蒜连作障碍问题的研究 [J]. *中国蔬菜*, 2019 (3): 53-57.
- [19] 王亚, 肖霞霞, 杨云, 等. 江苏产区大蒜中邻苯二甲酸酯含量检测及溯源分析 [J]. *环境科学*, 2023, 44 (2): 1029-1039.
- [20] 张瑞悦. 金乡县大蒜种植成本及收益研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2022.
- [21] 崔曼, 尹彦舒, 张梦琦, 等. 一株大蒜根际细菌特性研究及其对田间大蒜产量和土壤酶活性的影响 [J]. *中国土壤与肥料*, 2019 (1): 173-179.
- [22] 黄文茂, 易伦, 彭思云, 等. PGPR 复合菌剂对辣椒生长及根际土壤微生物结构的影响 [J]. *中国土壤与肥料*, 2020 (1): 195-201.
- [23] 江美彦, 周杨, 刘仁浪, 等. 白芷根际促生菌的筛选及其促生效果研究 [J]. *生物技术通报*, 2022, 38 (8): 167-178.
- [24] 吕俊, 付春, 肖析蒙, 等. 植物根际促生菌对大蒜的促生、抗病作用研究 [J]. *中国农学通报*, 2020, 36 (24): 146-153.
- [25] 石朝鹏, 尹姗姗, 刘存辉, 等. 枯草芽孢杆菌对大蒜生长和产量的影响 [J]. *中国农技推广*, 2020, 36 (11): 86-88, 69.
- [26] 华智超, 汪甜, 贾晟楠, 等. 基于有机肥/生物有机肥和菌剂的化学氮肥减施技术在大蒜上的应用 [J]. *中国土壤与肥料*, 2022 (4): 178-183.
- [27] 周加顺, 于洪喜, 杨洁, 等. 不同用量生物质炭对小白菜和大蒜产量与品质的影响 [J]. *中国农学通报*, 2020, 36 (13): 59-64.
- [28] Santamaria P. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2006, 86 (1): 10-17.
- [29] Yang S H, Wu H Y, Dong Y, et al. Deep nitrate accumulation in a highly weathered subtropical critical zone depends on the regolith structure and planting year [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54 (21): 13739-13747.
- [30] Cotrufo M F, Soong J L, Horton A J, et al. Formation of soil organic matter via biochemical and physical pathways of litter mass loss [J]. *Nature Geoscience*, 2015, 8 (10): 776-779.
- [31] 姜永雷, 肖雨, 邓小鹏, 等. 微生物菌剂对烟草连作土壤理化性质及土壤胞外酶活性的影响 [J]. *中国烟草学报*, 2022, 28 (4): 59-66.
- [32] 谷成刚, 相雷雷, 任文杰, 等. 土壤中酞酸酯多界面迁移转化与效应研究进展 [J]. *浙江大学学报 (农业与生命科学版)*, 2017, 43 (6): 700-712.
- [33] 李容榛. 邻苯二甲酸二丁酯高效降解菌的筛选及其降解特性研究 [D]. 保定: 河北农业大学, 2019.
- [34] Chen J A, Liu H, Qiu Z, et al. Analysis of di-n-butyl phthalate and other organic pollutants in Chongqing women undergoing partition [J]. *Environmental Pollution*, 2008, 156 (3): 849-853.
- [35] 戚瑞敏. 中国典型覆膜农区土壤微塑料特征及生态效应 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2021.
- [36] Hsu P C, Kuo Y T, Guo Y L, et al. The adverse effects of low-dose exposure to di (2-ethylhexyl) phthalate during adolescence on sperm function in adult rats [J]. *Environmental Toxicology*, 2016, 31 (5-6): 706-712.

Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* W48 on garlic yield and soil quality improvement

XIONG Yu-jie^{1, 2}, SONG Li-xiao², WANG Ya², SHENG Hong-jie², YU Xiang-yang², ZHANG Lei-gang^{1, 2*}
(1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang Jiangsu 212013; 2. Institute of Food Safety and Nutrition, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing Jiangsu 210014)

Abstract: In order to clarify the effect of microbial agents on improving the environment of garlic producing area and improving the yield and quality of garlic, conventional fertilization combined with *Bacillus amyloliquefaciens* W48 fermentation broth was used to treat the soil in garlic field. The yield and quality related indexes of garlic were measured, and

the changes of soil physical and chemical properties and biotransformation related enzymes were monitored. The content of phthalate ester plasticizers (PAEs) in soil and garlic treated with microbial agents was quantitatively analyzed. The results showed that W48 strain has the ability to secrete indoleacetic acid, as well as the potential to dissolve phosphorus and produce iron carriers. The application of W48 microbial agent significantly increased the contents of organic matter, alkali-hydrolyzed nitrogen, available phosphorus and available potassium in the rhizosphere soil, improved the trophic environment in the rhizosphere, increased the activities of soil alkaline phosphatase, sucrase and urease, and improved soil nitrogen and phosphorus use efficiency. Compared with the control, the garlic plots treated with microbial agents increased the yield by 10%, and the content of soluble sugar and vitamin C were improved, among which the soluble sugar increased by 30%. Di-n-butyl phthalate (DBP) and di-2-ethyl hexyl phthalate (DEHP) were the main types of PAEs detected in soil and garlic, with the average concentration of 1874.05 and 337.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The residual amount of PAEs in garlic was generally high. The highest DBP was 666.57 $\mu\text{g}/\text{kg}$, followed by diisobutyl phthalate (DIBP) which was 409.93 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and butyl benzyl phthalate (BBP) which was 433.65 $\mu\text{g}/\text{kg}$. W48 exhibited significant PAEs degradation ability in vitro, and the bacterial agent treatment could significantly reduce the concentration of PAEs in soil, but had no significant effect on the content of PAEs in garlic. The removal rates of DBP, DEHP and dimethyl phthalate (DMP) were 25.5%, 76.1% and 48.4%, respectively. The results of this study can provide technical support for remediation and improvement of soil pollutants in garlic producing area.

Key words: garlic; microbial agent; phthalate ester plasticizers; soil improvement; increase production