



唐 飞, 陈亚刚, 许 欢, 等. 金属抗性促生菌对玉米生长和锌积累的影响[J]. 华南农业大学学报, 2015, 36(2): 25-30.

金属抗性促生菌对玉米生长和锌积累的影响

唐 飞, 陈亚刚, 许 欢, 龙新宪

(华南农业大学 资源环境学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】探讨金属抗性促生菌对锌污染土壤中玉米生长和 Zn 吸收的影响, 为利用微生物缓解重金属对农作物胁迫和减少重金属吸收提供理论依据. 【方法】通过盆栽试验研究接种促生菌 II_2R_3 和 IV_8R_3 是否能够缓减 Zn 对玉米的毒害作用, 减少玉米对 Zn 的吸收和积累. 【结果和结论】促生菌 II_2R_3 、 IV_8R_3 不仅有很强的抗 Zn 胁迫能力, 而且具有较强地吸附、积累 Zn 的能力. 在中、轻度 Zn 污染 (200 和 $400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 土壤上, 单独接种促生菌 IV_8R_3 促进了玉米的生长; 当土壤 Zn 污染水平达到 $800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 同时接种促生菌 IV_8R_3 + II_2R_3 显著促进玉米的生长. 单独或同时接种促生菌 IV_8R_3 、 II_2R_3 使不同 Zn 污染水平土壤中的有效 Zn 含量均显著降低. 当土壤 Zn 含量达到 $800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 单独接种菌株 II_2R_3 或同时接种 II_2R_3 + IV_8R_3 均显著抑制玉米对 Zn 的吸收和向地上部转运, 而在中、轻度 Zn 污染 ($Zn \leq 400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 土壤上, 3 种接种处理对玉米吸收 Zn 均没有显著影响. 表明在高锌污染 ($800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 土壤中, 接种促生菌 IV_8R_3 、 II_2R_3 能显著抑制玉米对 Zn 的吸收和向地上部转运; 菌株 IV_8R_3 、 II_2R_3 对玉米生长的影响与土壤 Zn 污染水平和菌株的性质有关.

关键词: 锌污染; 金属抗性促生菌; 玉米生长; 锌积累; 生物有效性

中图分类号: X5; Q93

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2015)02-0025-06

Effects of metal resistant plant growth promoting bacteria on corn growth and Zn accumulation

TANG Fei, CHEN Yagang, XU Huan, LONG Xinxian

(College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract:【Objective】Effects of metal resistant plant growth promoting bacteria (PGPB) on corn growth and Zn accumulation were studied to provide a fundamental groundwork for mitigating the stress of heavy metal on crop growth and decreasing heavy metal uptake. 【Method】A pot experiment was carried out to study the effects of inoculation with two Zn resistant PGPB, II_2R_3 and IV_8R_3 on corn plant growth and Zn uptake from Zn contaminated soils (0 , 200 , 400 and $800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Zn addition). 【Result and conclusion】The strains II_2R_3 and IV_8R_3 not only grew well with different concentrations of Zn, but also absorbed or accumulated much higher Zn from the growing medium. Individual inoculation of strain IV_8R_3 to the soil with 200 or $400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Zn addition both promoted the corn growth. For the soils with $800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Zn addition, simultaneous inoculation with strains II_2R_3 and IV_8R_3 promoted the corn growth. Individual or simultaneous inoculation with strains II_2R_3 and IV_8R_3 to the soils at three Zn pollution levels (200 , 400 and $800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Zn addition) decreased the soil bioavailable Zn concentration. For the soil with a high Zn pollution level ($800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Zn addition), the inoculation of strains II_2R_3 or II_2R_3 + IV_8R_3 decreased Zn uptake and transportation in corn. However, all of three inoculation treatments had no significant effects on Zn uptake of corn when strains II_2R_3 , IV_8R_3 , II_2R_3 + IV_8R_3 were inoculated to the soils with 200 or $400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Zn addition. The results indicate that inoculation with metal resistant

收稿日期: 2013-12-09 优先出版时间: 2015-01-21

优先出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20150121.0938.012.html>

作者简介: 唐 飞 (1989—), 男, 硕士研究生, E-mail: 727446617@qq.com; 通信作者: 龙新宪 (1975—), 女, 副教授, 博士, E-mail: longxx@scau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金 (40973055); NSFC - 广东省联合基金 (U0833004)

<http://xuebao.scau.edu.cn>

PGPB to high Zn-contaminated soil can promote the corn growth and inhibit the uptake and transportation of Zn in corn. Inoculation with strains II_2R_3 or IV_8R_3 to high Zn-contaminated soils can inhibit the uptake and transportation of Zn in corn. The effects of inoculation with strains II_2R_3 or IV_8R_3 on corn growth are related to the different levels of Zn pollution and characterization of the strains.

Key words: Zinc pollution; metal resistant plant growth promoting bacterium; corn growth; Zn accumulation; bioavailability

目前,中国受重金属锌、镉污染的耕地近2 000万 hm^2 ,约占总耕地面积的1/5,其中工业“三废”污染耕地为1 000万 hm^2 ,污水灌溉农田为330万 hm^2 ^[1]. 锌是动植物必需的生命元素,但是过量的锌会对生物及人体健康产生危害,甚至会引起锌中毒和致癌^[24]. 污染土壤中锌的过量积累可降低土壤微生物活性,抑制作物生长,其在作物的可食部位过量积累后,通过食物链传递给人或动物,对人类健康带来严重危害^[5-7]. 土壤锌的人为污染源主要是铅锌冶炼厂、铅锌矿开采和电镀(镀锌)工业“三废”的排放.

大量的研究表明,重金属污染区域土壤中微生物群落结构与未污染区域差异显著,存在大量的重金属抗性细菌^[8]. 金属抗性细菌(PGPB)可通过多种作用方式吸附、积累或转化重金属,从而影响土壤重金属的毒性及重金属的迁移与释放. 其中,细菌对重金属的生物积累机理主要表现在胞外络合作用、胞外沉淀作用以及胞内积累3种形式^[9]. 例如,一些微生物可以分泌多聚糖、糖蛋白、脂多糖、可溶性氨基酸等胞外聚合物,这些物质与溶液中可溶的 Zn^{2+} 形成沉淀^[10];Luo等^[11]报道内生细菌*Serratia nematodiphila* LRE07在单一的污染溶液中3 d内对镉和锌的吸附可高达65%和35%,从而显著减缓重金属的毒性;Macaskie等^[12]报道,革兰氏阴性细菌*Citrobacter*通过磷酸酶分泌大量的磷酸氢根离子在细胞表面与重金属形成沉淀,富集重金属离子. 微生物对重金属的吸附和积累主要取决于不同配位体结合部位对金属的选择性.

近年来,超积累植物根际细菌和内生细菌引起了研究者的极大关注,研究者陆续从超积累植物中分离和纯化出金属抗性细菌,研究还表明细菌可以缓解重金属的毒性,促进植物的生长以及影响土壤中重金属的生物有效性^[13]. 金属抗性菌株 II_2R_3 和 IV_8R_3 是从Zn/Cd超积累植物东南景天的根系中分离纯化的内生菌,体外培养试验表明,它们不仅对Zn具有较强的抗性,而且具有分泌IAA、溶磷等促进植物生长的特性^[14-15]. 本研究采用盆栽试验探讨在Zn污染土壤上接种菌株 II_2R_3 和 IV_8R_3 是否能够减缓Zn对玉米的毒害作用和减少玉米对Zn的吸收和积累,研究结果为今后利用PGPB缓解重金属对农作物胁迫和减少重金属吸收提供理论依据.

<http://xuebao.scau.edu.cn>

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 从东南景天根系中分离的2株锌抗性细菌 II_2R_3 和 IV_8R_3 ^[15];菌株 II_2R_3 为醋酸钙不动杆菌*Acinetobacter calcoaceticus*,能分泌吡啶乙酸和溶解磷酸钙,Zn最小致死浓度为 $10\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$;菌株 IV_8R_3 为短小芽胞杆菌*Bacillus pumilus*,能分泌吡啶乙酸和高铁载体,Zn最小致死浓度为 $20\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

1.1.2 供试植物 华南农业大学筛选的重金属低积累玉米品种“凌单四号”^[16].

1.1.3 供试土壤 模拟锌污染土壤,即向华南农业大学农场的水稻土(风干,过5 mm筛)中添加 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ [$w(\text{Zn})$ 分别为0、200、400和 $800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$],与土壤充分混匀,于玻璃温室中培育2个月,每隔5 d翻动1次,定期加去离子水,使土壤水分保持最大田间持水量的60%左右. 水稻土的理化性质如下:pH(土水质量比1.0:2.5)6.27、 $w(\text{有机质})$ 3.05%、全氮 $1.12\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、碱解氮 $96.8\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、全磷 $1.192\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、有效磷 $86.09\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、有效钾 $126.29\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,总Zn $63.16\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

1.2 试验方法

1.2.1 菌株对锌的吸收作用 将甘油管保存的菌株 IV_8R_3 和 II_2R_3 划线接种到LB固体培养基培养24 h,挑选单个菌落,接种到50 mL的LB液体培养基中,于摇床 $160\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 培养24 h. 在200 mL的LB液体培养基中加入膜过滤灭菌的Zn母液($1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$),使 Zn^{2+} 浓度分别为0、2.5、5.0、10.0 $\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$. 每瓶接种2 mL的新鲜菌液,置摇床 $160\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 振荡培育,以未接种的LB液体培养基为对照,重复3次. 培养6、12、20、32、56、80、104、128、152、176 h后,分别用无菌枪头取3 mL培养液,比色法测定 $D_{600\text{ nm}}$;同时取5 mL培养液置于50 mL的离心管中, $8\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心,上清液转移到干净的塑料瓶,滴加1滴优级的纯硝酸,置于低温冰箱中保存,原子吸收光谱(Z-2300)测定Zn浓度.

1.2.2 土培试验 采用双因素完全随机区组试验设计:A因素为接种处理,共4个水平,即不接种的

对照(CK)、接种菌株Ⅱ₂R₃、接种菌株Ⅳ₈R₃、同时接种菌株Ⅱ₂R₃和Ⅳ₈R₃;B因素为土壤Zn污染水平,共4个水平,即土壤Zn添加浓度分别为0、200、400、800 mg·kg⁻¹.每个处理重复4次,每盆土壤质量4 kg(以干土计).

盆栽试验于2009年10月15日播种,挑选籽粒饱满的玉米种子进行表面消毒(自来水冲洗→φ为99%乙醇溶液1 min→φ为35%双氧水和3%次氯酸钠的混合溶液30 min→无菌水冲洗3次)后,每盆播种5粒玉米种子,15 d后间苗,每盆保留2株幼苗.同时,进行接种促生菌处理,每盆接种50 mL的10⁷ cfu·mL⁻¹菌体悬浮物,以无菌水作为对照.促生菌在LB液体培养基上培养至对数生长期,离心收集菌体,8.9 g·L⁻¹的NaCl溶液清洗3遍,用无菌的双蒸水把菌体稀释成约10⁷ cfu·mL⁻¹菌体悬浮物,平板计数法确定菌体的浓度.植物生长期定期向花盆托盘加单蒸水,以保持盆中土壤湿度.

播种90 d后,收获植物样品(地上部和根系)和土壤样品.植物样品先用自来水冲洗干净,再用去离子水冲洗3次,自然晾干.晾干的植物样品先在105℃杀青30 min,然后65℃下烘干至恒质量,称地上部和根系的干质量.土壤样品自然风干,过20目筛.

1.3 测定方法

植物地上部和根系Zn含量测定采用干灰化—原子吸收光谱法,即植物样品用粉碎机磨碎后,称取0.300 0 g植物样品于50 mL的干锅,电炉上进行碳

化,于马福炉中(500±5)℃灰化约8 h后,取出坩锅,冷却后加6 mol·L⁻¹HCl溶液溶解,定容到50 mL,火焰原子吸收分光光度计(Z-2300)测定Zn含量^[17].土壤pH测定采用玻璃电极法(水土质量比为2.5:1.0).土壤有效Zn含量采用0.01 mol·L⁻¹CaCl₂提取,土水质量比为1.0:2.5,90℃水浴振荡2 h,过滤,火焰原子吸收分光光度计(Z-2300)测定滤液中的Zn浓度.

1.4 数据处理

采用Excel 2003软件整理数据,利用SAS 9.0软件对试验数据进行方差分析,多重比较采用新复极差法(Duncan’s法).

2 结果与分析

2.1 菌株在锌胁迫下的生长和对锌的吸收作用

随着菌株Ⅳ₈R₃和Ⅱ₂R₃的生长繁殖,培养液中Zn的剩余浓度均逐渐降低(图1).当菌株Ⅳ₈R₃培养176 h后,含有2.5、5、10 mmol·L⁻¹Zn的培养液中的Zn浓度分别降低了76.94%、73.17%和53.84%;菌株Ⅱ₂R₃培养176 h后,培养基中的Zn浓度分别降低了40.90%、49.05%和36.49%(图1),这表明菌株Ⅳ₈R₃和Ⅱ₂R₃对Zn均有较强的抗性和吸附吸收能力,尤其是菌株Ⅳ₈R₃.

2.2 菌株对玉米生长的影响

菌株Ⅱ₂R₃和Ⅳ₈R₃对玉米生长的影响与土壤Zn污染水平和菌株的性质有关.在没有添加Zn的土

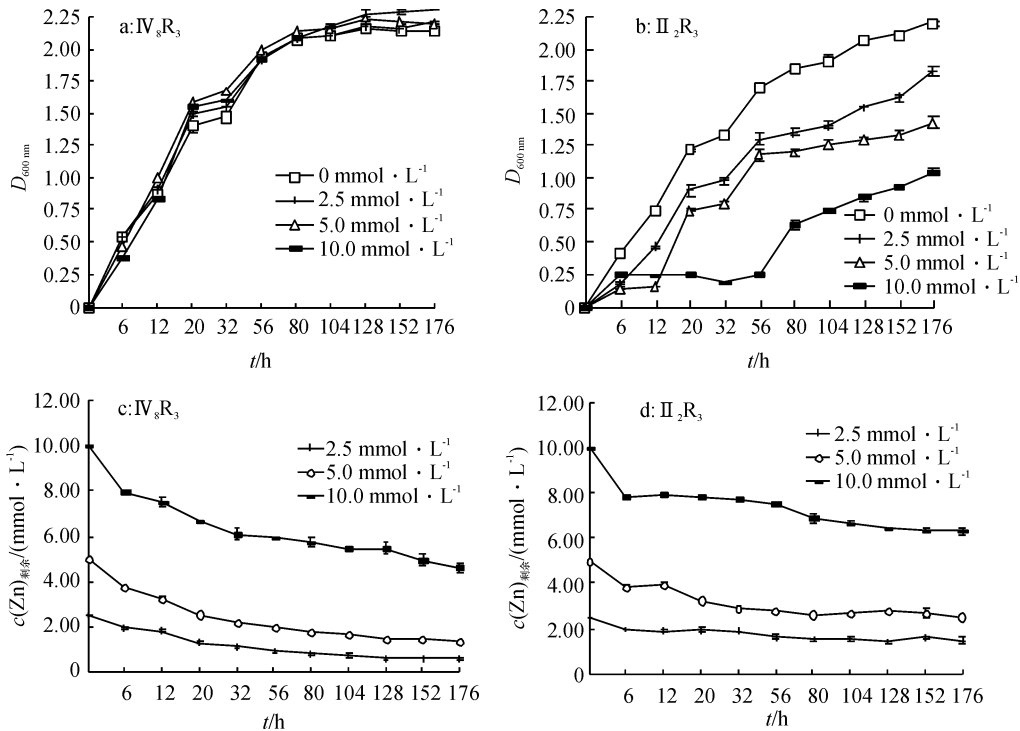


图1 不同锌浓度下菌株Ⅳ₈R₃、Ⅱ₂R₃的生长曲线和培养液中锌的剩余浓度变化

Fig.1 The growth curves of strains Ⅳ₈R₃ and Ⅱ₂R₃ and the remaining Zn²⁺ concentration in LB media with different Zn additions

壤中,接种菌株Ⅱ₂R₃使玉米地上部的干质量比对照增加了30.9%,单独或同时接种促生菌Ⅱ₂R₃、Ⅳ₈R₃使玉米的根系干质量比对照分别增加了43.8%、48.8%和19.6%;在Zn添加量为400 mg·kg⁻¹的土壤上,接种菌株Ⅳ₈R₃使玉米地上部的干质量比对照增加了17.72%;在Zn添加量为800 mg·kg⁻¹的土壤上,同时接种菌株Ⅱ₂R₃+Ⅳ₈R₃使玉米地上部和根系的干质量比对照分别增加了45.9%和55.8%(表1).

2.3 菌株对玉米吸收 Zn 的影响

由表2可知,玉米的地上部和根系Zn含量随土壤Zn污染水平的增加而显著增加.在没有添加Zn的土壤中,不同接种菌株处理使玉米地上部和根系的Zn含量均有所增加,但与对照之间差异不显著.在Zn添加量为200 mg·kg⁻¹的土壤上,接种菌株Ⅳ₈R₃使玉米根系Zn含量比对照增加了82.79%,但同时接种菌株Ⅱ₂R₃+Ⅳ₈R₃抑制了玉米对Zn的吸收和向地上部转运,地上部Zn含量比对照减少了14.34%.在Zn添加量为400 mg·kg⁻¹的土壤上,同时接种菌株Ⅱ₂R₃+Ⅳ₈R₃后,玉米地上部的Zn含量比对照增加了3.58%,但玉米的根系Zn含量比对照减少了14.14%;单独接种菌株Ⅳ₈R₃反而使玉米的地上部和根系Zn含量分别比对照增加了17.97%和53.65%.在Zn添加量为800 mg·kg⁻¹的土壤上,单独接种菌株Ⅱ₂R₃和同时接种菌株Ⅱ₂R₃+Ⅳ₈R₃均抑制了玉米吸收和向地上部转运Zn,地上

表 1 不同处理的玉米地上部和根系干物质量¹⁾
Tab.1 The biomass of corn growing in soils with different levels of Zn contamination g·盆⁻¹

w(Zn 添加)/ (mg·kg ⁻¹)	接种处理	地上部	根系
0	CK	7.30±0.46bc	1.78±0.09cd
	Ⅱ ₂ R ₃	9.56±0.57a	2.56±0.28ab
	Ⅳ ₈ R ₃	7.44±0.34bc	2.65±0.34a
	Ⅱ ₂ R ₃ +Ⅳ ₈ R ₃	6.42±0.36cd	2.13±0.16bc
200	CK	5.38±0.43de	1.73±0.16cd
	Ⅱ ₂ R ₃	4.65±0.54e	1.35±0.07def
	Ⅳ ₈ R ₃	5.97±0.81cde	1.49±0.18def
	Ⅱ ₂ R ₃ +Ⅳ ₈ R ₃	5.25±0.32de	1.72±0.17cd
400	CK	7.11±0.80bc	1.76±0.12cd
	Ⅱ ₂ R ₃	6.46±0.45cd	1.83±0.05cd
	Ⅳ ₈ R ₃	8.37±0.40ab	1.56±0.04de
	Ⅱ ₂ R ₃ +Ⅳ ₈ R ₃	6.55±0.73cd	1.88±0.15cd
800	CK	3.09±0.26fg	1.02±0.11fg
	Ⅱ ₂ R ₃	2.53±0.02g	1.17±0.04ef
	Ⅳ ₈ R ₃	2.80±0.45g	0.83±0.12g
	Ⅱ ₂ R ₃ +Ⅳ ₈ R ₃	4.51±0.39ef	1.59±0.12cde

1)表中数据为平均值±标准差,同列数据后凡是有一个相同小写字母者,表示差异不显著(P>0.05,Duncan's法).

部Zn含量分别比对照降低了4.85%和20.01%,根系Zn含量分别比对照降低了37.71%和51.73%;接种菌株Ⅳ₈R₃使玉米地上部的Zn含量比对照增加了9.51%,但根系Zn含量与对照之间差异不显著.

表 2 不同处理的玉米的地上部和根系 Zn 含量

Tab.2 The shoot and root Zn concentrations of corn growing in soils with different levels of Zn contamination

w(Zn)添加/ (mg·kg ⁻¹)	接种处理	w(Zn) ¹⁾ /(mg·kg ⁻¹)		Zn 转运系数 ²⁾	Zn 的富集系数 ³⁾
		地上部	根系		
0	CK	21.90±1.24g	13.32±1.03g	1.64	0.35
	Ⅱ ₂ R ₃	27.29±0.30g	19.54±3.78g	1.40	0.43
	Ⅳ ₈ R ₃	22.02±0.29g	13.48±0.59g	1.63	0.35
	Ⅱ ₂ R ₃ +Ⅳ ₈ R ₃	22.24±0.74g	16.99±1.81g	1.31	0.35
200	CK	91.09±4.77efg	102.34±3.74fg	0.89	0.35
	Ⅱ ₂ R ₃	97.69±6.98efg	124.01±18.53fg	0.79	0.37
	Ⅳ ₈ R ₃	102.66±10.83efg	187.07±40.30efg	0.55	0.39
	Ⅱ ₂ R ₃ +Ⅳ ₈ R ₃	78.03±2.41fg	92.49±5.64fg	0.84	0.30
400	CK	171.35±15.01def	308.76±10.63e	0.55	0.37
	Ⅱ ₂ R ₃	158.99±8.08def	319.31±30.03de	0.50	0.34
	Ⅳ ₈ R ₃	202.14±14.86d	474.42±50.50cd	0.43	0.44
	Ⅱ ₂ R ₃ +Ⅳ ₈ R ₃	177.49±6.93de	265.09±41.71ef	0.67	0.38
800	CK	729.67±57.7ab	1120.14±156.49a	0.65	0.85
	Ⅱ ₂ R ₃	694.25±29.12b	697.73±93.26b	1.00	0.80
	Ⅳ ₈ R ₃	799.09±91.59a	1258.46±122.02a	0.63	0.93
	Ⅱ ₂ R ₃ +Ⅳ ₈ R ₃	583.63±45.49c	540.72±47.87c	1.08	0.68

1)表中数据为平均值±标准差,同列数据后凡是有一个相同小写字母者,表示差异不显著(P>0.05,Duncan's法);2)Zn的转运系数=地上部Zn含量/根系Zn含量;3)Zn的富集系数=地上部Zn含量/土壤Zn总量.

2.4 促生菌对土壤 pH 的影响

土壤 pH 随着土壤 Zn 添加量的增加而呈降低趋势. 在没有添加 Zn 的土壤上, 收获玉米后, 接种促生菌的土壤 pH 略有降低, 但与对照之间的差异不显著. 在 Zn 添加量为 $200\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的土壤上, 收获玉米后, 接种菌株 II_2R_3 或 IV_8R_3 的土壤 pH 分别比对照高 0.23 和 0.07; 但同时接种菌株 $\text{II}_2\text{R}_3 + \text{IV}_8\text{R}_3$ 使收获后的土壤 pH 比对照低 0.28. 在 Zn 添加量为 $400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的土壤上, 收获玉米后, 单独或同时接种菌株 II_2R_3 和 IV_8R_3 的土壤 pH 分别比对照高 0.28、0.37 和 0.24. 在 Zn 添加量为 $800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的土壤上, 收获玉米后, 3 种接种处理对土壤 pH 影响不显著(表 3).

表 3 不同接种处理对土壤的 pH 和氯化钙提取态锌含量的影响¹⁾

Tab. 3 Effects of different inoculation treatments on pH and bioavailable Zn concentration of soil

$w(\text{Zn})_{\text{添加}}/$ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	接种处理	pH	$w(\text{有效 Zn})/$ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
0	CK	$7.28 \pm 0.02\text{ab}$	$0.09 \pm 0.01\text{e}$
	II_2R_3	$7.26 \pm 0.06\text{abc}$	$0.06 \pm 0.00\text{e}$
	IV_8R_3	$7.24 \pm 0.08\text{abc}$	$0.06 \pm 0.01\text{e}$
	$\text{II}_2\text{R}_3 + \text{IV}_8\text{R}_3$	$7.23 \pm 0.07\text{bc}$	$0.07 \pm 0.02\text{e}$
200	CK	$7.13 \pm 0.03\text{cd}$	$0.17 \pm 0.02\text{e}$
	II_2R_3	$7.36 \pm 0.01\text{a}$	$0.08 \pm 0.01\text{e}$
	IV_8R_3	$7.20 \pm 0.03\text{bc}$	$0.09 \pm 0.01\text{e}$
	$\text{II}_2\text{R}_3 + \text{IV}_8\text{R}_3$	$6.85 \pm 0.03\text{fg}$	$0.12 \pm 0.00\text{e}$
400	CK	$6.79 \pm 0.03\text{g}$	$1.70 \pm 0.36\text{d}$
	II_2R_3	$7.07 \pm 0.05\text{de}$	$0.92 \pm 0.06\text{de}$
	IV_8R_3	$7.16 \pm 0.01\text{bcd}$	$0.95 \pm 0.04\text{de}$
	$\text{II}_2\text{R}_3 + \text{IV}_8\text{R}_3$	$7.03 \pm 0.01\text{de}$	$0.69 \pm 0.12\text{de}$
800	CK	$6.98 \pm 0.03\text{ef}$	$13.33 \pm 0.78\text{a}$
	II_2R_3	$6.97 \pm 0.03\text{ef}$	$9.96 \pm 0.54\text{b}$
	IV_8R_3	$6.97 \pm 0.03\text{ef}$	$9.22 \pm 0.10\text{b}$
	$\text{II}_2\text{R}_3 + \text{IV}_8\text{R}_3$	$6.89 \pm 0.03\text{fg}$	$7.73 \pm 0.84\text{c}$

1) 表中数据为平均值 $\pm$ 标准差, 同列数据后凡是有一个相同小写字母者, 表示差异不显著 ($P > 0.05$, Duncan's 法)

2.5 菌株对土壤有效态锌含量的影响

收获玉米后, 土壤中的氯化钙提取态 Zn 含量(代表土壤 Zn 的有效性)见表 3. 从表 3 可见, 在没有添加 Zn 的土壤中, 单独或同时接种菌株 II_2R_3 和 IV_8R_3 的土壤有效 Zn 含量比未接种的对照土壤分别降低了 33.33%、33.33% 和 22.22%. 在 Zn 添加量为 $200\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的土壤中, 单独或同时接种菌株 II_2R_3 和 IV_8R_3 的土壤有效 Zn 含量比未接种的对照土壤分别降低了 52.94%、47.06% 和 29.41%. 在 Zn

添加量为 $400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的土壤中, 单独或同时接种菌株 II_2R_3 和 IV_8R_3 使土壤有效 Zn 含量显著降低, 分别比对照土壤降低了 45.88%、44.12% 和 59.41%. 在 Zn 添加量为 $800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的土壤中, 收获玉米后, 单独或同时接种菌株 II_2R_3 和 IV_8R_3 的土壤有效 Zn 含量分别比对照土壤降低了 25.28%、30.83% 和 42.01%.

3 讨论

近年来, 随着畜禽粪便、化肥农药及污水灌溉等农业源重金属污染的加剧, 我国土壤 Zn 污染也在加剧^[18]. 刘春早等^[19-20]报道, 湖南省湘江流域和资江流域土壤 Zn 污染比较严重; 河南省新乡市寺庄顶污灌区土壤 Zn 含量严重超标, 为国家土壤环境二级标准的 9.33 倍^[21]. Zn 是植物生长发育所必需的微量元素, 但 Zn 过量则导致土壤退化、作物产量和品质的降低. 本研究结果也表明, 当土壤 Zn 污染水平达到 $800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 玉米的生物量显著降低, 其地上部和根系 Zn 含量显著增加, 说明土壤 Zn 很容易被农作物吸收并在农产品中积累.

金属抗性细菌降低土壤重金属的生物有效性的途径: 一是通过释放螯合剂或改变氧化还原电位等方式碱化土壤微环境^[22]; 二是通过细胞组分或胞外聚合物对金属的生物吸附、生物吸收和胞内积累作用^[23]. 本研究发现, 将金属抗性菌株 II_2R_3 、 IV_8R_3 单独或同时接种到不同 Zn 污染水平土壤后, 土壤中的有效 Zn 含量均显著降低. 这与 Pal 等^[24]和 Madhaiyan 等^[25]的研究结果一致. 单独或同时接种菌株 II_2R_3 、 IV_8R_3 使中度 Zn 污染土壤 (200 和 $400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 的 pH 稍有降低, 但对高 Zn 污染土壤 ($800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 的 pH 没有显著影响, 这说明接种菌株 II_2R_3 、 IV_8R_3 导致土壤有效 Zn 含量降低的主要原因不是由于土壤 pH 增加. 体外培养试验发现, 菌株 IV_8R_3 和 II_2R_3 对 Zn 均有很强的生物吸附和吸收能力. 因此推测, 菌株 IV_8R_3 、 II_2R_3 主要是通过生物吸附和吸收作用降低土壤中 Zn 的生物有效含量.

菌株 II_2R_3 单独或与 IV_8R_3 同时接种到高锌污染土壤 ($800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 显著降低了玉米对 Zn 的吸收和转运, 这与 Vivas 等^[26]和 Feng 等^[27]的研究结果一致. Feng 等^[27]指出土壤微生物的活动能降低金属的植物可利用性, 减少植物体内的金属含量. 马莹等^[13]和钱春香等^[23]认为, 土壤微生物可以通过生物吸附、氧化还原、沉淀及矿化固结重金属离子等方式降低土壤金属的含量和有效性, 从而减少植物对金属的吸收. 高 Zn 污染土壤 ($800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 溶液中的

Zn 浓度较高,金属抗性菌株 IV_8R_3 、 II_2R_3 通过生物吸附或积累作用,有效地降低了土壤溶液中的 Zn 浓度,从而减少了玉米对 Zn 的吸收和转运。

菌株 IV_8R_3 对 Zn^{2+} 有较强地生物吸附和吸收能力,显著降低了土壤中的有效 Zn 含量. 在 200、400 和 $800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的土壤中接种菌株 IV_8R_3 后,玉米的地上部 Zn 含量反而比对照高,其原因可能在于: 1) 在中、轻度 Zn 污染土壤 ($Zn \leq 400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 中,菌株 IV_8R_3 通过分泌 IAA、高铁载体改善了玉米的营养状况,促进了玉米的生长,因此,接种菌株 IV_8R_3 反而促进了玉米对 Zn 的吸收和转运; 2) 在 Zn 添加量为 $800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 土壤上,玉米地上部生物量显著降低,从而对地上部的 Zn 产生了一定的浓缩作用. 这也表明金属抗性细菌对植物吸收重金属的影响不仅与土壤重金属污染水平有关,而且受到植物生长状况的影响。

4 结论

1) 促生菌 II_2R_3 、 IV_8R_3 具有较强地吸附积累 Zn 的能力,从而使其具有较高的抗 Zn 胁迫的能力,菌株 IV_8R_3 对 Zn 的耐性水平和积累能力均显著大于菌株 II_2R_3 。

2) 土壤接种促生菌 II_2R_3 、 IV_8R_3 对玉米生长的影响与土壤 Zn 污染水平和菌株的性质有关. 在没有添加 Zn 的土壤中,菌株 II_2R_3 的促生效果优于 IV_8R_3 ; 在 Zn 添加量为 $400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的土壤中,菌株 IV_8R_3 的促生效果最好; 在 Zn 添加量为 $800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的土壤中,同时接种菌株 $II_2R_3 + IV_8R_3$ 的促生效果显著。

3) 在不同浓度 Zn 污染土壤中,同时或单独接种菌株 II_2R_3 、 IV_8R_3 使土壤有效 Zn 含量显著降低. 但促生菌对玉米吸收和积累 Zn 的影响与土壤 Zn 污染水平和植物的生长状况有关. 当土壤 Zn 添加水平 $\leq 400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,菌株 II_2R_3 、 IV_8R_3 对玉米地上部和根系 Zn 含量均没有显著影响; 土壤 Zn 污染水平达到 $800\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 单独接种菌株 II_2R_3 或同时接种 $II_2R_3 + IV_8R_3$ 均能显著降低了玉米地上部和根系 Zn 含量。

参考文献:

- [1] 杜锁军, 戴艳, 谢东俊, 等. 土壤 Zn 污染及其治理措施评述[J]. 污染防治技术, 2009, 22(3): 87-90.
- [2] 褚天铎, 刘新保. 锌素营养对作物叶片解剖结构的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 1995, 1(1): 24-29.
- [3] ZHAO F J, LOMBI E, MCGRATH S P. Assessing the potential for zinc and cadmium phytore-mediation with the

hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*[J]. Plant and Soil, 2003(249): 37-43.

- [4] LOCK K, JANSSEN C R. Influence of soil zinc concentrations on zinc sensitivity and functional diversity of microbial communities[J]. Environ Pollut, 2005 (136): 275-281.
- [5] 顾继光, 林秋奇, 胡韧, 等. 矿区重金属在土壤-作物系统迁移行为的研究[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(4): 634-637.
- [6] 祖艳群, 李元, 陈海燕, 等. 蔬菜中铅镉铜锌含量的影响因素研究[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(3): 289-292.
- [7] CHEN X T, WANG G, LIANG Z C. Effect of amendments on growth and element uptake of pakchoi in a cadmium, zinc and lead contaminated soil[J]. Pedosphere, 2002, 12(31): 243-250.
- [8] TABAK H H, LENS P, ERIC D, et al. Developments in bioremediation of soils and sediments polluted with metals and radionuclides :1: Microbial processes and mechanisms affecting bioremediation of metal contamination and influencing metal toxicity and transport[J]. Rev Environ Sci Bio/Technol, 2005, 4(3): 115-156.
- [9] NIES D H, SILVER S. Bacterial transition metal homeostasis[J]. Mol Microbiol Heavy Metals, 2007, 6: 117-142.
- [10] MEJÁRE M, BILOW L. Metal-binding proteins and peptides in bioremediation of heavy metal [J]. Trends Biotechnol, 2001, 19(2): 67-73.
- [11] LUO S L, WAN Y, XIAO X, et al. Isolation and characterization of endophytic bacterium LRE07 from cadmium hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and its potential for remediation[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2011 (89): 1637-1644.
- [12] MACASKIE L E, DEAN A C R, CHEETHAN A K, et al. Cadmium accumulation by a *Citrobacter* sp.: The chemical nature of the accumulated metal precipitate and its location on the bacterial cells[J]. J Gen Micro, 1987 (133): 539-544.
- [13] 马莹, 骆永明, 腾应, 等. 内生细菌强化重金属污染土壤植物修复研究进展[J]. 土壤学报, 2013, 50(1): 195-202.
- [14] LONG X X, CHEN X M, CHEN Y G, et al. Isolation and characterization endophytic bacteria from hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance and their potential to promote phyto-extraction of zinc polluted soil[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2011, 27(5): 1197-1207.
- [15] 陈雪梅. 东南景天内生细菌的分离及其强化植物修复锌污染土壤的研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2010.

(下转第68页)