

张亚经, 马成仓, 郭军康, 等. 接种伯克氏菌 D54 对东南景天吸收富集 Cd 的影响[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(3):449–457.

ZHANG Ya-jing, MA Cheng-cang, GUO Jun-kang, et al. The effect of inoculating *Burkholderia* sp. D54 on cadmium uptake and accumulation in *Sedum alfredii* Hance[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(3):449–457.

接种伯克氏菌 D54 对东南景天吸收富集 Cd 的影响

张亚经^{1,3}, 马成仓¹, 郭军康², 韩磊³, 冯人伟³, 冯雪敏³, 曹云清^{3,4}, 王瑞刚^{3*}

(1.天津师范大学生命科学学院, 天津 300387; 2.陕西科技大学环境科学与工程学院, 西安 710021; 3.农业部环境保护科研监测所, 天津 300191; 4.天津农学院农学与资源环境学院, 天津 300384)

摘要:通过水培盆栽试验,利用非损伤微测等技术手段,研究了接种伯克氏菌 D54 对超积累生态型东南景天(HE)和非超积累生态型东南景天(NHE)不同组织中 Cd、Zn、Fe、Mg 和 Mn 含量、根尖 Cd²⁺动态吸收以及 Cd 的转移系数的影响。结果发现,HE 茎、叶中 Cd、Zn 含量,茎/根、叶/根 Cd 的转移系数以及根尖不同部位 Cd²⁺内流速率均显著高于 NHE。Cd 处理显著增加了 HE 和 NHE 根、茎、叶中 Fe 和 Zn 的含量,以及茎中 Mg 的含量;另外,Cd 处理显著降低了 HE 根、茎、叶中 Mn 的含量,但却显著增加了 NHE 根和茎中 Mn 的含量。伯克氏菌 D54 处理显著降低了 HE 和 NHE 茎、叶中 Cd、Fe、Mg、Mn 和 Zn 的含量,茎/根、叶/根 Cd 的转移系数以及根尖不同部位 Cd²⁺的内流速率。这表明 HE 对 Cd 的转移和富集能力显著高于 NHE,且 HE 对 Cd 的超富集能力与根部对 Cd 的强吸收能力密切相关。Cd 处理促进了 HE 和 NHE 对 Fe、Zn 和 Mg 的富集,抑制了 HE 对 Mn 的富集和促进了 NHE 对 Mn 的富集,可能与 HE 超富集 Cd 和 Mn 产生竞争有关。伯克氏菌 D54 能减少 HE 和 NHE 对 Cd 的吸收和富集,同时导致 Fe、Mg、Mn 和 Zn 的富集减少。

关键词:东南景天;镉;伯克氏菌;吸收;富集

中图分类号:X171.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2017)03-0449-09 **doi:**10.11654/jaes.2016-1280

The effect of inoculating *Burkholderia* sp. D54 on cadmium uptake and accumulation in *Sedum alfredii* Hance

ZHANG Ya-jing^{1,3}, MA Cheng-cang¹, GUO Jun-kang², HAN Lei³, FENG Ren-wei³, FENG Xue-min³, CAO Yun-qing^{3,4}, WANG Rui-gang^{3*}
(1.College of Life Science, Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China; 2.School of Environmental Science and Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China; 3.Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China; 4.College of Agronomy & Resources and Environment, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China)

Abstract: A water culture experiment was carried out to investigate the effect of inoculating *Burkholderia* sp. D54 on Cd, Zn, Fe, Mg and Mn content in different organ, Cd²⁺ dynamic absorption of root tips, and Cd transfer factor (TF) in hyperaccumulating ecotype of *Sedum alfredii* (HE) and non hyperaccumulating ecotype of *Sedum alfredii* (NHE) using a non-invasive micro-test technique etc. Results showed that the Cd and Zn contents in the stems and leaves, the Cd TF of stem/root and leaf/root, the Cd²⁺ influx rate in different locations of roots in HE were significantly higher than those in NHE. The addition of Cd increased the content of Fe and Zn in roots, stems and leaves of HE and NHE, as well as the content of Mg in the stems of HE and NHE. In addition, the addition of Cd significantly reduced the content of Mn in the roots, stems and leaves of HE, but significantly increased the content of Mn in roots and stems of NHE. Inoculating *Burkholderia* sp. D54 significantly reduced the content of Cd, Fe, Mg, Mn and Zn in the stems and leaves, the Cd TF of stem/root and leaf/root, the Cd²⁺ influx rate

收稿日期:2016-10-08

作者简介:张亚经(1990—),女,山西文水人,硕士研究生,主要从事重金属污染防治研究。E-mail:1109514644@qq.com

*通信作者:王瑞刚 E-mail:3761520835@sina.com

基金项目:国家自然科学基金项目(41541026,41373128)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(41541026,41373128)

in different locations of roots in HE and NHE. This indicated that the ability of HE to transport and accumulate Cd was significantly higher than that of NHE, which was closely related to the stronger ability to absorb Cd in the roots of HE. The addition of Cd promoted the accumulation of Fe, Mg and Zn in HE and NHE. However, the addition of Cd inhibited the Mn accumulation in HE but enhanced that in NHE, which may be related to Cd and Mn competition in HE. Inoculating *Burkholderia* sp. D54 reduced the uptake and accumulation of Cd, Fe, Mg, Mn and Zn.

Keywords: *Sedum alfredii* Hance; cadmium; *Burkholderia* sp.; uptake; accumulation

Cd 污染在世界范围内广泛存在并日益严重,我国受 Cd 污染的土地面积已超过 1.3 万 $\text{hm}^{2[1]}$ 。2011 年 4 月国务院批复了“重金属污染综合防治十二五规划”,Cd 被列为第一类规划对象,明确提出,要开展农产品产地重金属污染治理与修复。

植物修复技术具有经济、环保等优点而备受关注。超积累生态型东南景天(HE)是自然进化的 Cd 和 Zn 超富集植物,属景天科,虽然在植物修复领域具有很大的应用前景^[2],但因其生物量小,以及土壤中重金属生物有效性低而严重限制了植物修复效率的提高,成为植物修复的瓶颈^[3]。近年来,利用添加植物促生菌(如伯克氏菌)来强化植物修复,因其不仅可以促进植物生长,增加植物对重金属的绝对吸收量,大幅提高植物修复效率,而且施用成本低、环境友好,越来越受到关注^[4-9]。

伯克氏菌是一种植物促生菌,可定植于植物根部和根际,与豆科和非豆科植物宿主共生结瘤,在植物微生物联合修复领域被广泛关注与应用^[10]。但因伯克氏菌的种类、试验条件以及宿主植物的不同,接种伯克氏菌对植物吸收、转运和富集 Cd 的影响也不相同^[4,6,11-13]。我们前期研究发现,土培盆栽条件下伯克氏菌 D54(*Burkholderia* sp. D54)能显著增加 HE 根部和地上部的 Cd 含量^[6],但在水培条件下伯克氏菌 D54 却显著降低了番茄茎部 Cd 含量^[11]。同时,陆仲烟^[12]研究也发现,在水培条件下伯克氏菌 D54 降低了水稻地上部 Cd 含量和根部向地上部的转移系数。另外,Dourado 等^[13]也得出耐 Cd 的伯克氏菌 SCMS54 不仅促进了番茄生长,而且能降低根部对 Cd 的吸收,提高其耐性。但 Li 等^[4]研究却发现水培条件下,伯克氏菌(*Burkholderia cepacia*)能降低 HE 根部的 Cd 含量、增加地上部的 Cd 含量,提高根部向地上部转移 Cd 的能力。目前,关于伯克氏菌 D54 在水培条件下对 HE 和非超积累生态型东南景天(NHE)吸收和富集 Cd 的研究还未见报道。

在前期研究中,我们利用非损伤微测技术研究发现,10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ CdCl₂ 处理 2 h 后,HE 的 Cd²⁺内流速率显著高于 NHE,并进一步证实 HE 根、茎、叶对 Cd

的超富集能力可能源于 HE 根对 Cd 的强吸收能力^[14]。非损伤微测技术是一种选择性微电极技术,在不损伤活体样品的情况下,能真实反映植物根系吸收 Cd²⁺的动态变化^[15],而关于伯克氏菌 D54 处理对两种东南景天根系动态吸收 Cd²⁺的影响还未见报道。

Cd 是植物生长的非必需元素,可以通过 Zn²⁺、Mg²⁺、Fe²⁺、Mn²⁺等离子通道或者离子载体进入植物体内,同时 Cd 也影响这些矿质元素的吸收,并且因植物种类和 Cd 处理浓度、时间的不同,表现出复杂的效应^[16]。Zhou 等^[17]研究发现,Cd 处理能显著增加 HE 根、茎、叶中 Fe 的含量,以及茎、叶中 Zn 的含量,但对各器官中 Mg 的含量没有显著影响。万雪琴等^[18]发现,Cd 胁迫增加了 3 种杨树叶片中 Mg 的含量。许多研究发现 Cd 胁迫导致了 Mn 含量的降低^[18-20],也有研究发现植物中 Mn 的含量因 Cd 处理浓度的高低而有不同的响应^[22-23]。但关于 Cd 胁迫对 HE 和 NHE 中 Mn 含量的影响,以及接种伯克氏菌 D54 后 Cd 胁迫对 HE 和 NHE 中 Fe、Mn、Mg、Zn 含量的影响尚未见报道。

为此,本论文利用水培盆栽试验,研究了伯克氏菌 D54 对 HE 和 NHE 不同组织富集 Cd 的影响,并通过非损伤微测技术从根系吸收 Cd²⁺的动态变化以及 Cd 处理对 Fe、Mn、Mg、Zn 等二价阳离子的影响等方面探讨伯克氏菌 D54 对 HE 和 NHE 吸收和富集 Cd 的机制,以期将来利用伯克氏菌提高植物修复效率,突破植物修复的瓶颈提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 东南景天的培养

超积累生态型东南景天(HE)和非超积累生态型东南景天(NHE)均由浙江大学提供。选取健康和长势相似的 HE 和 NHE 茎段,从顶端往下 8 cm 处剪断,去掉下部 4 cm 左右的叶片,在紧靠叶片处用 2 cm 过滤棉裹紧,插入自来水中培养两周,待根长至 1 cm 左右,换置 1/4 东南景天营养液培养一周,继续发根,之后换置 1/2 东南景天营养液培养,待根长至 5 cm 左

右时进行 Cd 和伯克氏菌 D54 处理。整个试验在人工气候室中进行,温度为 26 ℃、湿度为 80%,光照为 16 h,24 h 通气。

东南景天完全营养液的配方^[24]:2.00 mmol·L⁻¹ Ca(NO₃)·4H₂O、0.10 mmol·L⁻¹ KH₂PO₄、0.50 mmol·L⁻¹ MgSO₄·7H₂O、0.10 mmol·L⁻¹ KCl、0.70 mmol·L⁻¹ K₂SO₄、10.00 μmol·L⁻¹ H₃BO₃、0.50 μmol·L⁻¹ MnSO₄·H₂O、5.00 μmol·L⁻¹ ZnSO₄·7H₂O、0.20 μmol·L⁻¹ CuSO₄·5H₂O、0.01 μmol·L⁻¹ (NH₄)₆Mo₇O₂₄、100 μmol·L⁻¹ Fe-EDTA,用 0.1 mol·L⁻¹ NaOH 或 HCl 溶液调 pH 值为 5.5~5.8。

1.1.2 伯克氏菌液的制备

参考 Guo 等^[6]伯克氏菌 D54(*Burkholderia* sp. D54) 的培养方法,简单描述如下:在无菌操作台上按照 1:100 的比例接种伯克氏菌原液(由农业部环境保护科研监测所提供)到灭菌后的 6 号液体培养基中(6 号培养基组成:甘露醇 10 g、(NH₄)₂SO₄ 2 g、蛋白胨 2 g、K₂HPO₄ 0.5 g、MgSO₄·7H₂O 0.05 g、MnSO₄·H₂O 0.1 g、FeSO₄·7H₂O 0.05 g、酵母粉 0.1 g、超纯水 1 L),然后在 28 ℃、180 r·min⁻¹ 摇床里培养 3 d,在 25 ℃条件下离心 10 min(10 000 r·min⁻¹)。去掉上清液,再用灭菌水重新悬浮菌体,重复 2 次,最后按原体积加入灭菌水,得到新培养的伯克氏菌原液,然后再按照 1%(V:V) 的比例加到培养液中,即为 1%伯克氏菌处理液(1%菌),菌体密度约为 1×10⁶ CFU·mL⁻¹,菌液中活菌数量满足接种实验要求。

1.2 试验处理及样品采集

选取生长良好和长势相似的 HE 和 NHE 移入 1 L 的 1/2 东南景天营养液中,并进行相应的 Cd 和伯克氏菌 D54 处理,设置 5 个处理,分别为:CK,10 μmol·L⁻¹ Cd,10 μmol·L⁻¹ Cd+1%菌,100 μmol·L⁻¹ Cd,100 μmol·L⁻¹ Cd+1%菌,每个处理设置 8 个重复。由于 NHE 不耐 Cd,在 100 μmol·L⁻¹ Cd 处理下会死亡,NHE 缺少 100 μmol·L⁻¹ Cd 和 100 μmol·L⁻¹ Cd+1%菌两个处理。每周换 2 次培养液,连续培养 3 周,其中前

2 周均进行接种处理。在处理 2 周后进行 Cd²⁺流速测定。处理 3 周后,将 HE 和 NHE 分为根、茎、叶三部分,根部先用 20 mmol·L⁻¹ Na₂-EDTA 交换 20 min,再分别用自来水和超纯水冲洗,茎和叶直接用自来水和超纯水冲洗,105 ℃杀青 30 min,70 ℃烘干至恒重,粉碎后用于 Cd 和其他矿质元素的测定。

1.3 Cd²⁺流速测定

首先将根系放在与培养液 Cd 浓度相同的测试液中(10 μmol·L⁻¹ 或 100 μmol·L⁻¹ CdCl₂,50 mmol·L⁻¹ CaCl₂,pH 5.5)浸泡 10 min,然后利用非损伤微测系统(BIO001A;Younger USA,LLC,MA,USA)对根系的 Cd²⁺流速进行实时监测。具体测量参考 Sun 等^[14]方法,分别测定与根尖距离为 0、200、300、500 μm 的 Cd²⁺流速(图 1),每个处理测定 8 个重复的根系,负值代表 Cd²⁺内流,正值则代表 Cd²⁺外流。

1.4 Cd 及其他矿质元素的测定

分别称取根、茎、叶烘干样品 0.100 0 g,放入消煮管中,用绿茶成分分析标准物质设置标准品(GBW10052(GSB-30),地球物理地球化学勘查研究所,2010),并设置空白,加入微电子级浓硝酸 10 mL,在智能电热消解仪消煮(ED54,LabTech,中国),具体流程为:80 ℃煮 1.5 h,120 ℃煮 1.5 h,150 ℃煮 2 h,175 ℃赶酸至消煮液体积小于 1 mL,用 1%硝酸溶液转移定容至 50 mL 容量瓶中,定量滤纸过滤后用电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)测定 Cd、Fe、Mg、Mn、Zn 等元素含量。

1.5 数据分析

所有数据均用 SPSS 17.0 进行分析,多重比较采用 Duncan 法,并利用 Origin 8.5 软件作图。

2 结果与分析

2.1 HE 和 NHE 根、茎、叶中 Cd 的含量

如图 2 所示,Cd 处理后 HE 和 NHE 的东南景天根、茎、叶中 Cd 含量显著增加。HE 茎、叶中的 Cd 含

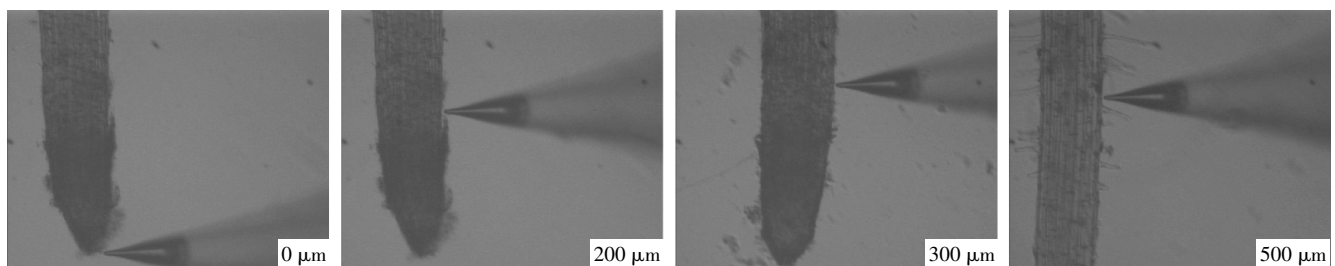


图 1 根尖 Cd²⁺流速的测定部位

Figure 1 Measuring position of Cd²⁺ flux in root tip

量均显著高于 NHE, HE 叶片的 Cd 含量显著高于根和茎, 而 NHE 正好相反, 叶的 Cd 含量显著低于根和茎。伯克氏菌 D54 处理显著降低了 HE 和 NHE 茎、叶中 Cd 的含量, 以及 NHE 根中 Cd 的含量。对于 HE, $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理下, 各器官 Cd 含量均显著高于 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理。

2.2 HE 和 NHE 根系 Cd^{2+} 流速

如图 3 所示, 在 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理下, 在距根尖 0、200、300、500 μm 处 HE 的 Cd^{2+} 内流速率均高于 NHE。伯克氏菌处理显著降低了 HE 和 NHE 在距根尖 0、200、300 μm 处的 Cd^{2+} 内流速率。对于 HE, $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理下根部的 Cd^{2+} 内流速率均显著大于 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理。另外, HE 和 NHE 均在距根尖 200 μm 处内流速率最大。

2.3 HE 和 NHE 的 Cd 转移系数

如图 4 所示, 在所有处理中, HE 茎/根、叶/根 Cd 的转移系数均显著大于 NHE。HE 叶/根 Cd 的转移系数显著高于茎/根, NHE 则相反, 叶/根 Cd 的转移系数显著低于茎/根。与 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理相比, $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理后 HE 茎/根、叶/根 Cd 的转移系数显著降低。在两个 Cd 处理浓度下, 伯克氏菌处理降低了 HE 和 NHE 茎/根、叶/根 Cd 的转移系数, 除 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理下茎/根 Cd 的转移系数外, HE 茎/根、叶/根 Cd 的转移系数均达到显著水平。

2.4 HE 和 NHE 根、茎、叶中 Fe、Mg、Mn、Zn 的含量

如图 5 所示, 在所有处理条件下, HE 和 NHE 根中的 Fe、Mn 含量显著高于茎和叶, 茎中 Mg 的含量显著高于根和叶(除 NHE 在对照条件下外)。不同的是,

HE 茎叶中 Zn 含量显著高于 NHE, 且 HE 茎的 Zn 含量最高, 而 NHE 根的 Zn 含量最高。

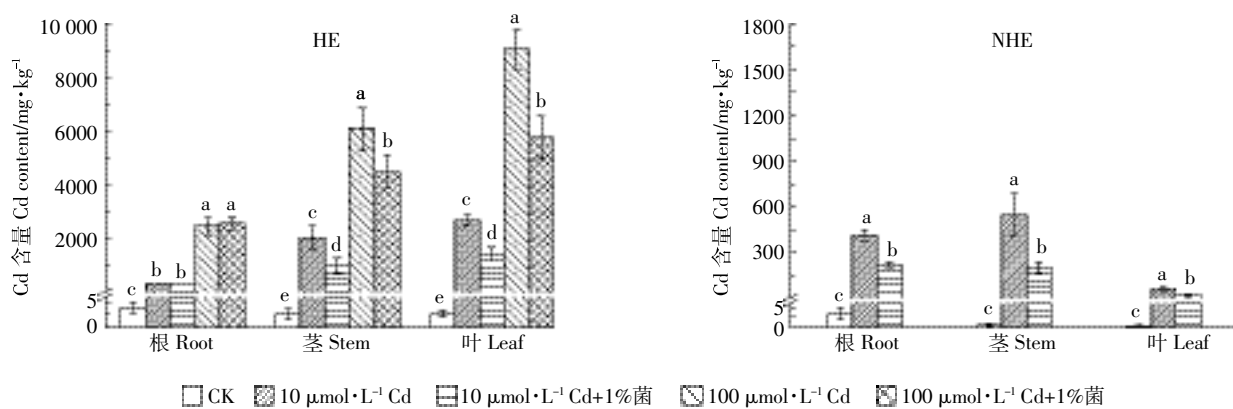
Cd 处理不同程度地增加了 HE 和 NHE 根、茎、叶中 Fe 和 Zn(除 HE 的根外)的含量以及茎中 Mg 的含量, Cd 处理还显著增加了 HE 叶和 NHE 根中 Mg 的含量。不同的是, Cd 处理显著降低了 HE 根、茎、叶中 Mn 的含量, 却显著增加了 NHE 根和茎中 Mn 的含量, 对 NHE 叶中 Mn 含量无显著影响。

除不同程度增加了 HE 根中 Fe、Zn 含量外, 伯克氏菌 D54 均不同程度地降低了 HE 和 NHE 根、茎、叶中 Fe、Mg、Mn 和 Zn 的含量。

3 讨论

3.1 接种伯克氏菌 D54 对 HE 和 NHE 吸收、转运和富集 Cd 的影响

许多研究表明, 在相同 Cd 浓度处理下, HE 茎、叶中 Cd 含量显著高于 NHE, 且 HE 叶/根和茎/根 Cd 的转移系数显著高于 NHE^[2,25-26]。本研究也发现相同的结果, $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理下, HE 茎、叶中 Cd 含量显著高于 NHE, 且 HE 茎/根、叶/根 Cd 的转移系数均显著大于 NHE(图 2 和图 4)。这说明 HE 对 Cd 的富集能力要显著高于 NHE, 且 HE 从根转运 Cd 到茎和叶的能力要显著高于 NHE。另外, 本研究还发现, HE 叶/根 Cd 的转移系数显著高于茎/根, 而 NHE 叶/根 Cd 的转移系数要显著低于茎/根, 说明 HE 从茎转运 Cd 到叶的能力显著高于 NHE。与 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理相比, $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理下 HE 叶/根和茎/根 Cd 的转移系数显著降低, 说明随着 Cd 处理浓度的增

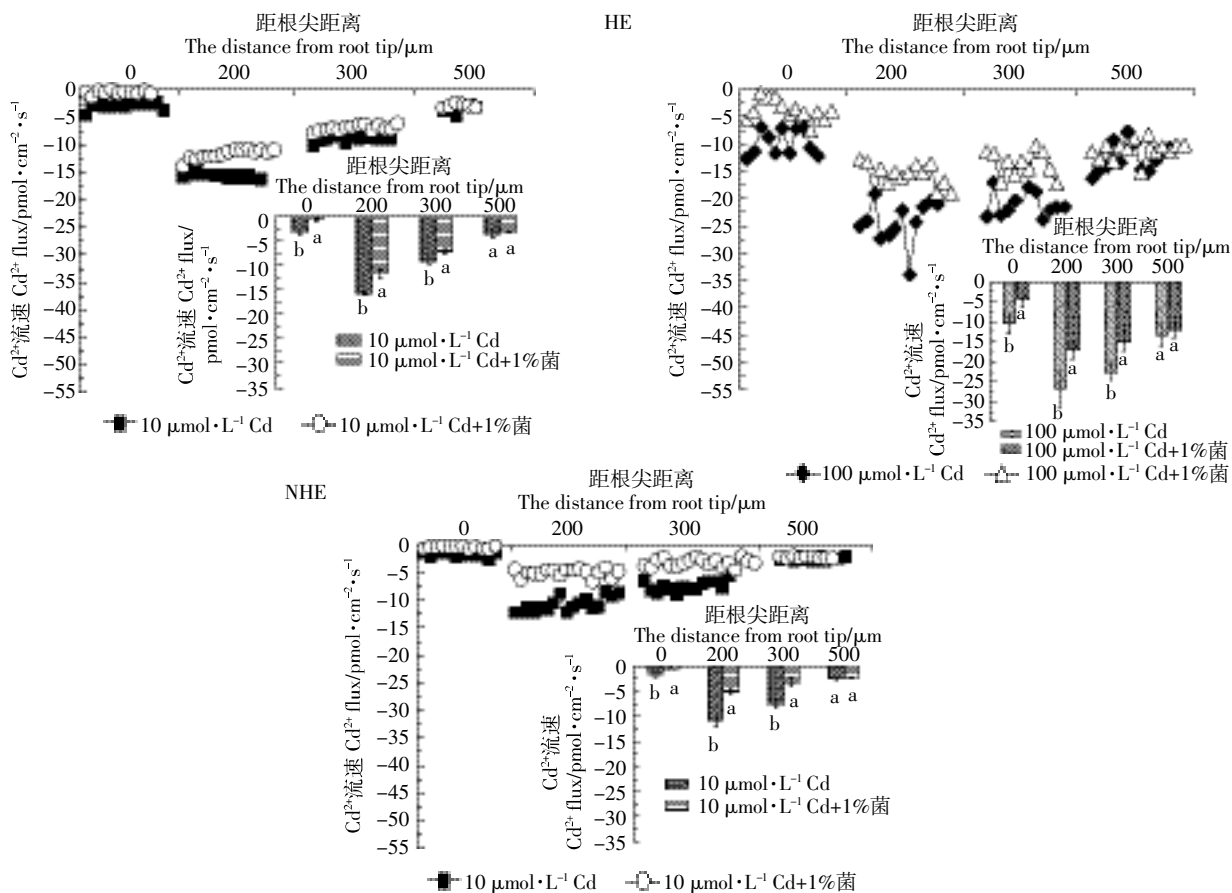


不同的字母表示同一部位不同处理间存在显著差异($P < 0.05, n = 8$)

Different letters mean significant difference among the treatments in the same organ($P < 0.05, n = 8$)

图 2 HE 和 NHE 根、茎、叶 Cd 含量

Figure 2 The Cd content of root, stem and leaf in HE and NHE

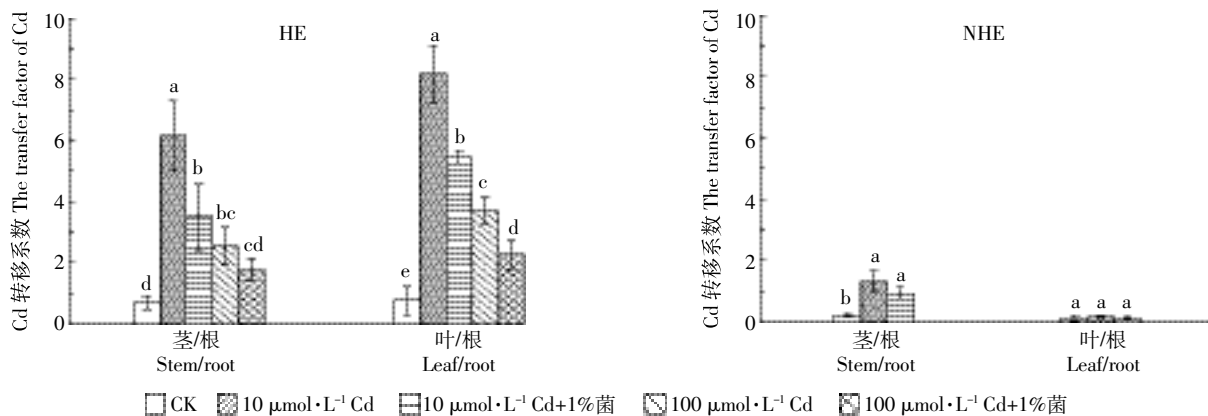


不同的字母表示根尖相同部位不同处理间存在显著差异 ($P < 0.05, n = 8$)

Different letters mean significant difference between the treatments in the same position of root tip ($P < 0.05, n = 8$)

图 3 HE 和 NHE 根尖 Cd²⁺ 流速

Figure 3 The Cd²⁺ flux of root tip in HE and NHE



不同的字母表示茎/根、叶/根 Cd 的转移系数在不同处理间存在显著差异 ($P < 0.05, n = 8$)

Different letters mean significant difference among the treatments in the transfer factor of Cd in stem/root or leaf/root ($P < 0.05, n = 8$)

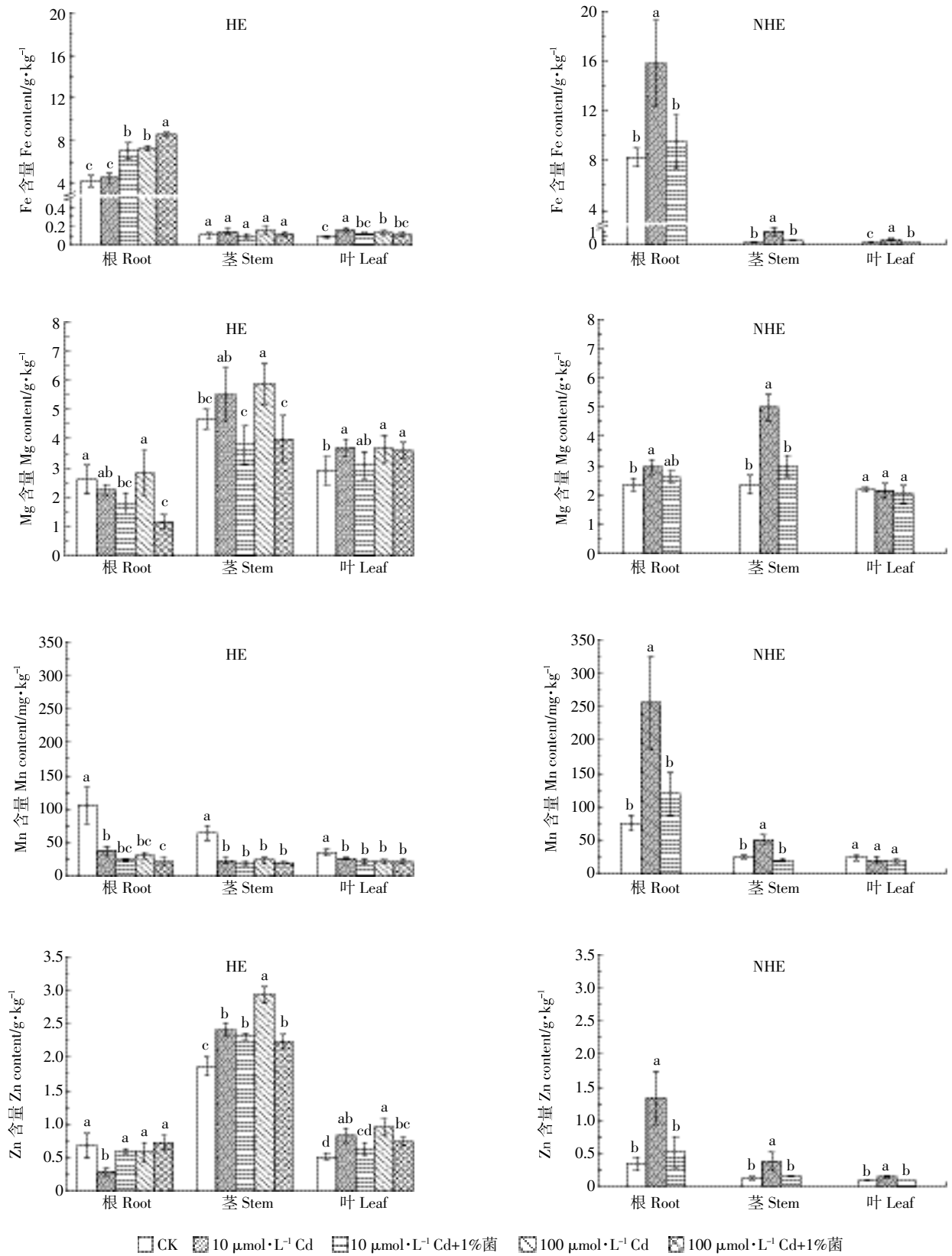
图 4 HE 和 NHE 的 Cd 转移系数

Figure 4 The transfer factor of Cd in HE and NHE

加, HE 将 Cd 从根转运至地上部的比例降低^[27]。

HE 茎、叶对 Cd 的超富集能力可能源于 HE 根对 Cd 的强吸收能力。Sun 等^[14]发现, 经 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{CdCl}_2$

处理 2 h 后, HE 的 Cd²⁺ 内流速率显著高于 NHE。本研究也发现, $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{Cd}$ 处理后 HE 根尖不同部位 Cd²⁺ 内流速率显著高于 NHE (图 3)。这进一步表明,



□ CK ▨ 10 μmol·L⁻¹ Cd ▤ 10 μmol·L⁻¹ Cd+1%菌 ▦ 100 μmol·L⁻¹ Cd ▩ 100 μmol·L⁻¹ Cd+1%菌

不同的字母表示同一部位不同处理间存在显著差异 ($P < 0.05, n = 8$)

Different letters mean significant difference among the treatments in the same organ ($P < 0.05, n = 8$)

图5 HE和NHE根、茎、叶中Fe、Mg、Mn、Zn的含量

Figure 5 The Fe, Mg, Mn and Zn content of root, stem and leaf in HE and NHE

HE 各器官对 Cd 的超富集能力与根部对 Cd 的强吸收能力密切相关。另外,本研究还发现 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理下 HE 根尖各部位 Cd^{2+} 内流速率均显著大于 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理(图3)。这说明随着 Cd 处理浓度的增加,根系对 Cd^{2+} 的吸收速率也增加,进而导致 HE 各器官中 Cd 富集量显著增加(图 2)。

伯克氏菌 D54 是本研究团队从广东大宝山 Cd 污染土壤中分离获得的,它能产生生长素、ACC 脱氨酶、铁载体及溶解无机磷,并通过与植物的相互作用提高植物对重金属的耐性^[6]。同时,本研究团队发现土培盆栽条件下,伯克氏菌 D54 能显著增加 HE 根部和地上部的 Cd 含量^[6],但在水培条件下却显著降低了番茄茎部 Cd 含量^[11]。陆仲烟^[12]利用水培方法在水稻上也得出相似的结果,伯克氏菌 D54 降低了水稻地上部 Cd 含量和根部向地上部的转移系数。本研究的结果发现,伯克氏菌 D54 处理显著降低了 HE 和 NHE 茎、叶中 Cd 的含量,以及茎/根、叶/根 Cd 的转移系数。这表明伯克氏菌 D54 在水培条件下能降低 HE 和 NHE 地上部对 Cd 的富集,同时降低了 Cd 从根部转移至地上部的比例。Dourado 等^[13]也得出相同的结论,耐 Cd 伯克氏菌 SCMS54 不仅促进了番茄生长,而且能降低根部对 Cd 的吸收,提高其耐性。但 Li 等^[4]研究却发现水培条件下,从东南景天根部分离的伯克氏菌(*Burkholderia cepacia*)能够降低根部 Cd 含量、增加地上部的 Cd 含量,提高根部向地上部转移 Cd 的能力。这说明由于培养条件以及伯克氏菌种类的差别,伯克氏菌对不同植物吸收、转移和富集 Cd 的影响也不相同。本研究还发现,伯克氏菌 D54 处理显著降低了 HE 和 NHE 在距根尖 0、200、300 μm 处的 Cd^{2+} 内流速率。这进一步表明,伯克氏菌 D54 能减小 HE 和 NHE 根系对 Cd^{2+} 的吸收速率,从而减少 HE 和 NHE 地上部对 Cd 的富集。

3.2 接种伯克氏菌 D54 和 Cd 处理对 HE 和 NHE 植株 Zn、Mg、Fe、Mn 含量的影响

Cd 是植物生长的非必需元素,可以通过 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 等离子通道或者离子载体进入植物体内,同时 Cd 也影响这些矿质元素的吸收,并且因植物种类和 Cd 处理浓度时间的不同,表现出复杂的效应^[16]。本研究结果发现,Cd 处理增加了 HE 和 NHE 根、茎、叶中 Fe 和 Zn 的含量(除 HE 的根外)。前人研究也发现,Cd 处理能显著增加 HE 根、茎、叶中 Fe 的含量^[17],同时也能增加茎、叶中 Zn 的含量^[17,27]。Zhou 等^[17]发现,Cd 胁迫下 HE 叶片中 Fe 含量的增加有助

于叶绿素含量的增加,而 Zn 含量的增加则表明 Cd 和 Zn 在东南景天植物中具有协同吸收和转运的作用。这一结论在本研究中得到了进一步证实。

本研究还发现,Cd 处理增加了 HE 和 NHE 茎中 Mg 的含量以及 HE 叶中 Mg 的含量,但对 NHE 叶中 Mg 的含量没有显著影响(图 5)。Mg 是叶绿素合成的重要金属元素,这说明 Cd 处理能促进 Mg 在 HE 茎中富集,并能将 Mg 转运至叶片中促进叶绿素更多的合成,从而促进 HE 光合作用的进行;而 Cd 仅促进了 Mg 在 NHE 茎中的富集,并不能促进更多的 Mg 转移至叶片。Zhou 等^[17]发现 Cd 的增加没有对 HE 各器官中 Mg 的含量有显著影响,但万雪琴等^[18]发现 Cd 胁迫增加了三种杨树叶片中 Mg 的含量。这说明 Cd 胁迫对植物 Mg 含量的影响可能与植物品种以及 Cd 处理浓度等因素有关,其机理还有待进一步研究^[28]。

两种东南景天不同部位 Mn 含量表现出明显的不同,Cd 处理显著降低了 HE 根、茎、叶中 Mn 的含量,却显著增加了 NHE 根和茎中 Mn 的含量,对叶中 Mn 的含量则无显著影响(图 5)。这可能与 Cd 和 Mn 的竞争吸收有关,HE 因对 Cd 的强吸收和富集作用,导致 Mn 在植株中的积累降低。相似的结果也在杨树^[18]、籽粒苋^[19]、柳树^[20]、大白菜^[21]等植物上得到了验证。而 NHE 在 Cd 处理后根和茎中 Mn 含量显著增加,一方面可能与 NHE 吸收和富集 Cd 的能力较弱有关,另一方面可能与植物品种及 Cd 处理浓度有关。郭智等^[22]发现低浓度 Cd 促进了龙葵茎和叶 Mn 含量增加,而高浓度 Cd 处理下茎叶 Mn 含量又下降;李君等^[23]则发现低浓度 Cd 抑制蓖麻根、茎、叶中 Mn 含量的增加,而高浓度 Cd 处理促进了蓖麻对 Mn 的吸收和富集。

HE 茎叶中 Zn 含量显著高于 NHE,且 HE 茎中 Zn 含量最高,而 NHE 根中 Zn 含量最高(图 5)。这说明 HE 在超富集 Cd 的同时,对 Zn 的吸收和富集能力也强于 NHE,同时 HE 从根转运 Zn 至地上部的能力也强于 NHE。这可能与 HE 是 Cd/Zn 的超富集植物,同时 Cd 和 Zn 是同族元素,具有相似的化学性质有关。HE 在 Cd 和 Zn 的分配上有差异,Cd 在叶片中富集最高,而 Zn 在茎中最高,揭示 Cd 与 Zn 在 HE 中积累和运输机制不同。卢玲丽^[29]也得出相同的结论。

前人的研究显示,Cd 与 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 等离子具有相同的转运通道或载体^[16]。前面的讨论也证实 Cd 处理下随着两种东南景天组织中 Cd 含量的增加,Fe、Mg、Zn 和 Mn(除 HE)的含量也显著增加。本研究的结果显示,接种伯克氏菌 D54 不仅显著降低 HE 和

NHE 茎、叶中 Cd 的含量以及根尖对 Cd²⁺ 的吸收速率, 而且也不同程度地降低了 Fe、Mg、Mn 和 Zn 的含量(图 5)。由此我们推测, 接种伯克氏菌 D54 可能抑制了 Cd、Fe、Mg、Zn 和 Mn 相同的转运通道或者载体, 进而在减少 Cd 吸收和富集的同时, 也减少了对 Fe、Mg、Zn 和 Mn 的富集。

4 结论

HE 对 Cd 的转运和富集能力显著高于 NHE, 且 HE 对 Cd 超富集能力与根部对 Cd 的强吸收能力密切相关。Cd 处理促进了 HE 和 NHE 对 Fe、Zn 和 Mg 的富集, 抑制了 HE 对 Mn 的富集和促进了 NHE 对 Mn 的富集。接种伯克氏菌 D54 在减少 HE 和 NHE 对 Cd 吸收和富集的同时, 也导致了 Fe、Mg、Mn 和 Zn 富集的减少。该研究不仅丰富了接种伯克氏菌影响东南景天吸收和富集 Cd 的机制, 而且证实试验条件的不同会改变伯克氏菌对东南景天的作用效果。

参考文献:

- [1] 徐良将, 张明礼, 杨浩. 土壤重金属镉污染的生物修复技术研究进展[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2011, 34(1): 102-106.
XU Liang-jiang, ZHANG Ming-li, YANG Hao. Reaearch progress of bioremediation technology of cadmium polluted soil[J]. *Journal of Nanjing Normal University(Natural Sciences Edition)*, 2011, 34(1): 102-106.
- [2] 熊愈辉. 东南景天对镉的耐性生理机制及其对土壤镉的提取与修复作用的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
XIONG Yu-hui. Physiological mechanisms of cadmium tolerance and phytoextraction in *Sedum alfredii* Hance[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2005.
- [3] 韦朝阳, 陈同斌. 重金属污染植物修复技术的研究与应用现状[J]. 地球科学进展, 2002, 17(6): 833-839.
WEI Chao-yang, CHEN Tong-bin. An prerview on the status of re-research and application of heavy metal phytormediation[J]. *Advance in Earth Sciences*, 2002, 17(6): 833-839.
- [4] Li W C, Ye Z H, Wong M H. Effects of bacteria on enhanced metal uptake of the Cd/Zn-hyperaccumulating plant, *Sedum alfredii*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(15/16): 4173-4182.
- [5] 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.
- [6] Guo J K, Tang S R, Ju X H, et al. Effects of inoculation of a plant growth promoting rhizobacterium *Burkholderia* sp. D54 on plant growth and metal uptake by a hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance grown on multiple metal contaminated soil[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2011, 27(12): 2835-2844.
- [7] Tang S R, Liao S Q, Guo J K, et al. Growth and cesium uptake responses of *Phytolacca americana* Linn. and *Amaranthus cruentus* L. grown on cesium contaminated soil to elevated CO₂ or inoculation with a plant growth promoting rhizobacterium *Burkholderia* sp. D54, or in combination[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 198: 188-197.
- [8] Song N N, Zhang X M, Wang F L, et al. Elevated CO₂ increases Cs uptake and alters microbial communities and biomass in the rhizosphere of *Phytolacca americana* Linn (pokeweed) and *Amaranthus cruentus* L. (purple amaranth) grown on soils spiked with various levels of Cs[J]. *Journal of Environmental Radioactivity*, 2012, 112: 29-37.
- [9] Song N N, Wang F L, Zhang C B, et al. Fungal inoculation and elevated CO₂ mediate growth of *Lolium multiflorum* and *Phytolacca americana*, metal uptake, and metal bioavailability in metal-contaminated soil: Evidence from DGT measurement[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2013, 15(3): 268-282.
- [10] Moulin L, Munive A, Dreyfus B, et al. Nodulation of legumes by members of the β -subclass of Proteobacteria[J]. *Nature*, 2001, 411(6840): 948-950.
- [11] 郭军康. 耐 Cd 植物促生菌对番茄幼苗生长及 Cd 吸收转运的影响机制[D]. 天津: 天津大学, 2013.
GUO Jun-kang. Effects of Cd-tolerant plant growth promoting rhizobacteria on mechanisms of tomato seedlings growth Cd uptake and transport[D]. Tianjin: Tianjin University, 2013.
- [12] 陆仲焰. 伯克氏菌和基因型对水稻及大麦镉积累特性的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
LU Zhong-yan. Effects of *Burkholderia* bacteria and genotype on cadmium accumulation of rice and barley[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014.
- [13] Dourado M N, Martins P F, Quecine M C, et al. *Burkholderia* sp. SCMS54 reduces cadmium toxicity and promotes growth in tomato[J]. *Annals of Applied Biology*, 2013, 163(3): 494-507.
- [14] Sun J, Wang W G, Liu Z Q, et al. Non-invasive microelectrode cadmium flux measurements reveal the spatial characteristics and real-time kinetics of cadmium transport in hyperaccumulator and nonhyperaccumulator ecotypes of *Sedum alfredii*[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2013, 170(3): 355-359.
- [15] 李静, 韩庆庆, 段丽婕, 等. 非损伤微测技术在植物生理学中的应用及进展[J]. 植物生理学报, 2014, 50(10): 1445-1452.
LI Jing, HAN Qing-qing, DUAN Li-je, et al. Applications and advances of non-invasive micro-test technique in plant physiology researches[J]. *Plant Physiology Journal*, 2014, 50(10): 1445-1452.
- [16] Zhang X F, Gao B, Xia H P. Effect of cadmium on growth, photosynthesis, mineral nutrition and metal accumulation of bana grass and vetiver grass[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2014, 106: 102-108.
- [17] Zhou W B, Qiu B S. Effects of cadmium hyperaccumulation on physiological characteristics of *Sedum alfredii* Hance (Crassulaceae)[J]. *Plant Science*, 2005, 169(4): 737-745.
- [18] 万雪琴, 张帆, 夏新莉, 等. 镉胁迫对杨树矿质营养吸收和分配的影响[J]. 林业科学, 2009, 45(7): 45-51.
WAN Xue-qin, ZHANG Fan, XIA Xin-li, et al. Effects of cadmium

- stress on absorption and distribution of mineral nutrients in poplar plants[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2009, 45(7):45-51.
- [19] 李虹颖, 苏彦华. 镉对籽粒苋耐性生理及营养元素吸收积累的影响[J]. 生态环境学报, 2012, 21(2):308-313.
- LI Hong-ying, SU Yan-hua. Effect of cadmium on tolerance physiology and nutrient accumulation in *Amaranthus hypochondriacus* L.[J]. *Ecology and Environmental*, 2012, 21(2):308-313.
- [20] 杨卫东, 陈益泰, 王树凤. 镉胁迫对旱柳矿质营养吸收的影响[J]. 林业科学研究, 2009, 22(3):618-622.
- YANG Wei-dong, CHEN Yi-tai, WANG Shu-feng. Effects of cadmium stress on mineral nutrient uptake of *Salix matsudana*[J]. *Forest Research*, 2009, 22(3):618-622.
- [21] 刘志华, 伊晓云, 曾其龙, 等. 低浓度镉对大白菜苗期生长及营养元素吸收积累的影响研究[J]. 土壤, 2008, 40(4):630-634.
- LIU Zhi-hua, YI Xiao-yun, ZENG Qi-long, et al. Study on growth and accumulation of nutrient elements in Chinese Cabbage at seedling stage under low Cd stress[J]. *Soils*, 2008, 40(4):630-634.
- [22] 郭智, 原海燕, 奥岩松. 镉胁迫对龙葵幼苗光合特性和营养元素吸收的影响[J]. 生态环境学报, 2009, 18(3):824-829.
- GUO Zhi, YUAN Hai-yan, AO Yan-song. Effect of cadmium on photosynthesis and nutrient elements uptake of *Solanum nigrum* L. seedlings [J]. *Ecology and Environmental*, 2009, 18(3):824-829.
- [23] 李君, 葛跃, 王明新, 等. 镉对蓖麻耐性生理及营养元素吸收转运的影响[J]. 环境科学学报, 2016, 36(8):3081-3087.
- LI Jun, GE Yue, WANG Ming-xin, et al. Effect of Cd on tolerance physiology, nutrients uptake and translocation in *Ricinus communis* L. [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2016, 36(8):3081-3087.
- [24] 杨肖娥, 龙新宪, 倪吾钟, 等. 古老铅锌矿山生态型东南景天对镉耐性及超积累特性的研究[J]. 植物生态学报, 2001, 25(6):665-672.
- YANG Xiao-e, LONG Xin-xian, NI Wu-zhong, et al. Zinc tolerance and hyperaccumulation in a new ecotype of *Sedum alfredii* Hance[J]. *Acta Phytocologica Sinica*, 2001, 25(6):665-672.
- [25] 朱艳霞. 东南景天(*Sedum alfredii* Hance)对镉的超积累与有机酸含量变化的关系[D]. 杭州:浙江大学, 2006.
- ZHU Yan-xia. The relation of organic acids and Cd accumulation in *Sedum alfredii* Hance[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2006.
- [26] 倪天华. 东南景天(*Sedum alfredii* Hance)对镉特异吸收和积累特性的研究[D]. 杭州:浙江大学, 2003.
- NI Tian-hua. Mechanisms of cadmium uptake and accumulation in *Sedum alfredii* Hance[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2003.
- [27] 叶海波, 杨肖娥, 何冰, 等. 东南景天对镉复合污染的反应及其对镉吸收和积累特性的研究[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(5):513-518.
- YE Hai-bo, YANG Xiao-e, HE Bing, et al. Response of *Sedum alfredii* Hance towards Cd/Zn complex-pollution and accumulation of the heavy metals[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2003, 22(5):513-518.
- [28] 张金彪, 黄维南. 镉对植物的生理生态效应的研究进展[J]. 生态学报, 2000, 20(3):514-523.
- ZHANG Jin-biao, HUANG Wei-nan. Advances on physiological and ecological effects of cadmium on plants[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2000, 20(3):514-523.
- [29] 卢玲丽. 超积累植物东南景天(*Sedum alfredii* Hance)对镉的吸收及转运机制研究[D]. 杭州:浙江大学, 2009.
- LU Ling-li. Cadmium uptake and translation in the hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2009.