

中文核公期刊/CSCD

请通过网上投稿系统投稿 网址:http://www.aes.org.cn

植物根际促生细菌对蒲儿根富集铜及土壤理化性质的影响

沈甜,王琼瑶,崔永亮,闫敏,李雨昕,涂卫国,张芳,王娟,余秀梅

引用本文:

沈甜, 王琼瑶, 崔永亮, 等. 植物根际促生细菌对蒲儿根富集铜及土壤理化性质的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(3): 572-580.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.11654/jaes.2019-1033

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

丛枝菌根真菌对旱稻生长、Cd吸收累积和土壤酶活性的影响 罗方舟, 向垒, 李慧, 张丽君, 冯乃宪, 李彦文, 赵海明, 蔡全英, 莫测辉 农业环境科学学报. 2015(6): 1090-1095 https://doi.org/10.11654/jaes.2015.06.011

镉铜复合污染土壤中南方红豆杉的重金属提取效果及根际细菌群落特征

魏帅, WoldeTeferaBeri, 王润泽, 林之, 谢若瀚, 乔亚蓓, 卢玲丽, 田生科 农业环境科学学报. 2019, 38(8): 1919-1928 https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0345

焦化厂区地肤根际芘降解细菌筛选和促生潜力研究

宋立超,张薇,钮旭光,李瑞,曹阳,赵浩宇,周立炀 农业环境科学学报.2017,36(11):2275-2280 https://doi.org/10.11654/jaes.2017-0997

生物炭施用对小麦和玉米幼苗根际和非根际土壤中Pb、As和Cd生物有效性的影响研究 黄黎粤, 丁竹红, 胡忻, 陈逸珺 农业环境科学学报. 2019, 38(2): 348-355 https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0463

两种先锋植物对铅锌废渣生境改善及重金属迁移的影响 邱静,吴永贵,罗有发,陈然,郑志林,周佳佳 农业环境科学学报.2019,38(4):798-806 https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0752



关注微信公众号,获得更多资讯信息

沈 甜,王琼瑶,崔永亮,等.植物根际促生细菌对蒲儿根富集铜及土壤理化性质的影响[J].农业环境科学学报,2020,39(3):572-580. SHEN Tian, WANG Qiong-yao, CUI Yong-liang, et al. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on the copper enrichment ability of *Sinosenecio oldhamianus* and physicochemical properties of soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(3): 572-580.

植物根际促生细菌对蒲儿根富集铜及 土壤理化性质的影响

沈 甜¹, 王琼瑶², 崔永亮², 闫 敏¹, 李雨昕¹, 涂卫国², 张 芳¹, 王 娟¹, 余秀梅^{1*} (1.四川农业大学资源学院, 成都 611130; 2.四川省自然资源科学研究院, 成都 610041)

摘 要:为研究植物根际促生菌(Plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)对蒲儿根(Sinosenecio oldhamianus)富集土壤重金属铜(Cu)的影响,通过盆栽模拟试验,分析不同Cu含量土壤中加入PGPR混合菌剂后蒲儿根生长、营养状况、Cu富集量及土壤理化性质的变化。结果表明:随着土壤Cu含量逐渐增加,蒲儿根的长势减弱,表明高浓度Cu对蒲儿根生长有显著的抑制作用;蒲儿根对Cu的富集作用主要集中在根系,仅约18%的Cu转移到地上部分;而施加PGPR混合菌剂能不同程度地增加含Cu土壤中蒲儿根的株高、根长、氮、磷、钾及根系Cu的富集量,尤其在土壤Cu含量为600 mg·kg⁻¹时PGPR混合菌剂对蒲儿根的促生作用最为明显,使蒲儿根的株高、根长分别提高了10.03、7.10 cm,蒲儿根地下部分Cu富集量在土壤Cu含量为800 mg·kg⁻¹时提高了14.01%;PGPR 混合菌剂还能不同程度地提高土壤脲酶、蛋白酶、蔗糖酶、磷酸酶活性,最高分别可达80.28%、217.11%、43.26%和61.89%。研究表明,接种PGPR混合菌剂能提高蒲儿根在Cu污染土壤中的抗逆性和对Cu的富集能力,且能改善土壤性质,可作为蒲儿根修复Cu污染土壤的强化措施。

关键词:联合修复;铜污染土壤;蒲儿根;植物根际促生菌 中图分类号:S154 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2020)03-0572-09 doi:10.11654/jaes.2019-1033

Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on the copper enrichment ability of *Sinosenecio oldhamianus* and physicochemical properties of soil

SHEN Tian¹, WANG Qiong-yao², CUI Yong-liang², YAN Min¹, LI Yu-xin¹, TU Wei-guo², ZHANG Fang¹, WANG Juan¹, YU Xiu-mei^{1*} (1. College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2. Natural Resources Research Institute of Sichuan Province, Chengdu 610041, China)

Abstract: The aim of this study is to evaluate the effect of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on the absorption of Cu from soil by *Sinosenecio oldhamianus*. Specifically, the growth, nutrition, and Cu content of *Sinosenecio oldhamianus* grown in soils with different Cu contents and the changes in the soil physicochemical properties were determined after adding a PGPR mixture in a pot experiment. The results showed that the growth of *Sinosenecio oldhamianus* slowed with the increase in the soil Cu concentration, thereby indicating that the high concentration of Cu significantly inhibited the growth of *Sinosenecio oldhamianus*. The Cu was mainly enriched in the roots of *Sinosenecio oldhamianus*, and only approximately 18% of Cu was transferred to the aboveground part. The inoculation of the PGPR mixture increased the plant height, root length, contents of N, P, and K, and amount of Cu enriched in the roots of *Sinosenecio oldhamianus* in soils

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(31872696); The Key Research Project of Sichuan Province, China(2017SZ0183); Major Science Technology Project of Sichuan Province, China(2017NZDZX0003)

收稿日期:2019-09-18 录用日期:2019-12-17

作者简介:沈 甜(1995—),女,浙江湖州人,硕士研究生,研究方向为植物与微生物联合修复重金属污染土壤。E-mail:tshen95615@163.com *通信作者:余秀梅 E-mail:yuxiumeicool@163.com

基金项目:国家自然科学基金项目(31872696);四川省科技厅重点研发项目(2017SZ0183);四川省重大科技专项课题(2017NZDZX0003)

contaminated with different concentrations of Cu. In particular, when the soil Cu concentration was 600 mg · kg⁻¹, PGPR increased the height and root length of Sinosenecio oldhamianus by 10.03 cm and 7.10 cm, respectively. The Cu content in the Sinosenecio oldhamianus roots increased by 14.01% in soil contaminated with 800 mg · kg⁻¹ of Cu. PGPR also increased the soil urease, protease, invertase, and phosphatase activities by 80.28%, 217.11%, 43.26%, and 61.89%, respectively. The results suggest that multi-function PGPR can improve the Cu resistance and Cu enrichment ability of Sinosenecio oldhamianus in Cu-contaminated soil and improve soil quality. Thus, PGPR can be considered as a means to promote the remediation of Cu-contaminated soil using Sinosenecio oldhamianus.

Keywords; combined remediation; copper-contaminated soil; Sinosenecio oldhamianus; plant growth-promoting rhizobacteria

铜(Cu)是动植物必需的微量营养元素之一,但 也是一种环境污染元素[1-3],过量的Cu会对植物、动 物、人体造成危害。土壤Cu污染不仅会降低土壤营 养成分,打破土壤植物和微生物的生态平衡,还会通 过食物链的富集作用危害人体健康[2,4-5]。近年来,随 着工农业的快速发展,土壤Cu污染问题突出,而有效 的土壤Cu污染修复技术的研究与应用相对较少。

微生物-植物联合修复既能克服单植物修复缓 慢和单微生物修复有风险的缺点,还具有修复成本 低、效率高的优点,因而成为研究热点[1.6-7]。其中, 植物根际促生菌(Plant growth promoting rhizobacteria,PGPR)¹⁸¹与植物联合修复土壤重金属污染土壤的 协同作用体现在两方面:第一,PGPR 通过分泌铁载 体、生物表面活性剂、诱导植物系统抗性、激活抗氧 化酶活性等作用,直接促进植物生长和增强植物对 重金属的抗性,强化重金属污染土壤植物修复效率; 第二,PGPR通过改变植物所处土壤环境中重金属的 形态和迁移率,间接减缓土壤重金属离子对植物的 毒害作用[9-13]。

目前,已被发现且能应用于重金属污染修复的超 富集植物约400多种^[14]。蒲儿根(Sinosenecio oldhamianus)是蒲儿根属两年生草本植物,具有生命力旺盛、 易于存活、生长繁殖速度较快的优点,且其在修复重 金属污染过程中具有投入成本低、效率高、无二次污 染等优势[15-19]。张世熔等[20]研究发现,蒲儿根由于根 系发达,可以在矿区土壤和污泥中存活的同时富集大 量的Cu,并将其转移到地上部分,有效修复Cu污染 土壤。为了进一步研究 PGPR 是否可以强化蒲儿根 修复Cu污染土壤,本研究通过开展多功能PGPR混 合菌剂-蒲儿根联合修复不同Cu含量土壤的盆栽模 拟试验,分析多功能PGPR 混合菌剂对蒲儿根生长、 富集 Cu 效率及土壤性质的影响,评估多功能 PGPR 混合菌剂在蒲儿根富集土壤中Cu的强化作用,为进 一步应用蒲儿根-PGPR 联合高效修复 Cu 污染土壤提

供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

盆栽土壤是将蛭石和泥炭土以1:2的比例混匀 后按土壤质量和试验处理浓度加入CuSO4·5H2O,每 盆分装混匀后的土壤5 kg,并浇灌足量的水稳定40 d 后获得[21]。盆栽土壤理化性质:pH=7.2、有机质含量 22.23 g·kg⁻¹、全磷含量13.55%、有效磷含量34.77 mg· kg⁻¹、全氮含量 0.67%、水解氮含量 401.45 mg·kg⁻¹、全 钾含量1.26%、速效钾含量905.00 mg·kg⁻¹;蒲儿根幼 苗购买自温江花鸟市场;PGPR混合菌剂菌株来自四 川农业大学资源学院,由一株解钾菌 WDGJ-11(Gen-Bank 序列号: KJ733990)、一株溶磷菌 WDN-5(Gen-Bank 序列号: KJ733968)、一株苍白杆菌 MGJ11(Gen-Bank 序列号: KX929163) 混合组成,已进行拮抗实验 验证三株菌之间不产生拮抗反应。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株活化及功能验证

采用牛肉膏培养基(牛肉膏:3.0g;蛋白胨:10.0 g;NaCl:5.0g;琼脂:20g;水:1000mL;pH:7.4~7.6)活 化菌株。采用Salkowski法测定菌株产吲哚乙酸(indoleacetic acid, IAA)能力^[22],采用硅酸盐培养法测定 菌株的解钾能力[23],采用菌碟法测定菌株的解磷能 力^[24],同时测定三株菌对重金属Cu的最高耐受浓 度[25]。菌剂采用牛肉膏液体培养基制备。

1.2.2 盆栽试验

将植物育苗、移栽。选取CuSO4·5H2O作为供试 药品,设置6个处理水平分别为0、200、400、600、800、 1000、1200 mg·kg⁻¹,每个水平分别设立添加 PGPR 混 合菌剂(PGPR)和不添加PGPR混合菌剂(CK)2个试 验组互为对照。分别取每株细菌培养的新鲜菌悬液 50 mL(约10¹¹ cfu·mL⁻¹)混合均匀后稀释到2L,浇灌 盆栽蒲儿根,再用无菌的石英砂覆盖盆栽土。为排除

菌剂中的培养基营养成分的影响,CK 组施用等量不 含菌株的牛肉膏液体培养基150 mL稀释到2L。每 个试验组设置5次重复。于恒温25℃、光照12h·d⁻¹ 的光照培养室培养3个月后采集植物样品和土壤样 品进行理化性质和重金属等指标测试。

1.2.3 测试指标

蒲儿根牛长状况测定:采集植物样品洗净后置于 干净平台上,用卷尺测量每一株蒲儿根的株高以及根 长:植物样品氮磷钾测定:105℃杀青2h后80℃烘 干,磨细混匀保存。植物样品采用H-SO4-H-O-消煮 法消解,植物全氮采用靛酚蓝比色法、全磷采用钒钼 黄比色法、全钾采用火焰光度法进行测定[22]:土壤理 化性质的测定:采集盆栽土壤,自然风干,磨细混匀保 存。土壤有机质采用重铬酸钾容量法、pH值采用电 位法测定、全氮采用凯氏定氮法、全磷采用酸溶-钼 锑抗比色法、全钾采用 NaOH-火焰光度法、碱解氮采 用碱解扩散法、有效磷采用0.5 mol·L⁻¹ NaHCO₃浸提-钼锑抗比色法、速效钾采用1 mol·L⁻¹中性 NH4OAc 浸 提-火焰光度法进行测定[26];土壤酶活的测定:采集盆 栽新鲜土样测定土壤酶活性,脲酶采用靛酚比色法、 蔗糖酶采用3,5-二硝基水杨酸比色法、过氧化氢酶 采用邻苯三酚比色法、磷酸酶采用磷酸苯二钠法[27]; 植物重金属含量测定:植物样经混酸(VHNO3:VHCIO4=4: 1)消解后 ICP-OES 上机测定重金属含量,以国家标 准重金属溶液作参比。

1.3 数据处理

80.0

40.0 kight/cm 40.0 20.0 kight/cm

40.0

0

0

200

本试验的数据采用 Excel 2010、SPSS 22.0 进行分 析处理。

400

600

土壤 Cu 含量 Copper content in soil/mg·kg⁻¹

800

1000

1200

结果与分析 2

2.1 PGPR 的促生活性验证和耐 Cu测试

对三株菌进行促生活性验证,在产IAA能力检测 中,培养3d后苍白杆菌MGJ11、解钾菌WDGJ-11、溶 磷菌 WDN-5产 IAA 的量分别为 83.05、44.13、38.50 mg·mL⁻¹。另外,解钾菌WDGJ-11培养6d后分泌产 生的有效钾浓度为31.32 μg·mL⁻¹,溶磷菌 WDN-5 培 $养7d后分泌产生的有效磷浓度为64.89 \mu g \cdot m L^{-1}$ 。

对三株菌进行耐Cu测试,确保菌株能在后续试 验条件下存活。不同浓度含Cu培养基培养3d后检 测菌株存活状况,苍白杆菌 MGJ11、解钾菌 WDGJ-11、溶磷菌 WDN-5 对重金属 Cu 的最小抑制浓度 (Minimal inhibit concentration, MIC)分别为100、200、 200 mg·kg⁻¹,最小致死浓度(Minimum lethal concentration, MLC)分别为1350、1300、1400 mg·kg⁻¹。 2.2 蒲儿根植株生长生物指标及金属富集特征

由图1可知在Cu胁迫下随着土壤Cu含量上升蒲 儿根根长、株高都大致呈现先升后降的趋势,且可以 明显观察到施加 PGPR 混合菌剂的植株长势均优于 未加PGPR 混合菌剂的植株,加入PGPR 混合菌剂的 植株比CK组的植株株高平均高7.45 cm,根长平均长 2.72 cm。与土壤 Cu含量为0 mg·kg⁻¹的处理相比,其 余处理下的蒲儿根长势皆比其优,这是因为Cu作为 植物生长必需元素之一,能促进植物的生长,促生作 用在土壤Cu含量为600 mg·kg⁻¹时达到最佳。由此可 知,蒲儿根对于土壤Cu具有较高的耐受性,PGPR混 合菌剂的加入可以促进植物生长并增强其对土壤Cu





The different lowercase letters between CK and PGPR mean significant difference (P<0.05). The same below

图1 不同处理的蒲儿根生长状况

Figure 1 Plant growth condition of Sinosenecio oldhamianus of different treatments

575

的耐受性。

由表1可见,与不加入PGPR混合菌剂的处理相比,加入PGPR混合菌剂处理的植株各部分磷、钾含量均升高,且大部分显著提高(P<0.05),但PGPR组植株地上部分氮含量仅在土壤Cu含量为0~600 mg·kg⁻¹时显著提高,植株地下部分氮含量在土壤Cu含量为0、200、600 mg·kg⁻¹时显著(P<0.05)高于CK组。结合蒲儿根生长状况,植物营养元素含量均在土壤Cu含量为600 mg·kg⁻¹时达到最高值。在土壤Cu含量低于800 mg·kg⁻¹时,PGPR混合菌剂的促生作用明显,在土壤Cu含量大于800 mg·kg⁻¹的高浓度胁迫下,微生物和植物的生长均受到了一定程度的限制,所以PGPR混合菌剂对植物生长的促进作用有所降低。

由图2可知,两个处理下蒲儿根对Cu的富集量 均随土壤Cu含量的升高呈现增长趋势,对Cu的富集 作用主要集中在根系,只有约18%转移到地上部分, 地上部分差异不明显,表明PGPR 菌剂的加入对植物 根部吸收土壤 Cu 有很大的促进作用,对地上部分影 响不大。CK 组地下部分 Cu 含量在土壤 Cu 含量 200~ 1200 mg·kg⁻¹都没有太大区别,稳定在 60 mg·kg⁻¹左 右。施加混合菌剂处理的地下部分 Cu 含量均高于 CK 组,在土壤 Cu 含量为 800 mg·kg⁻¹的时候蒲儿根地 下部分重金属含量达到了 176.17 mg·kg⁻¹,表明 PGPR 混合菌剂的加入不仅对蒲儿根生长有促进作用,且使 得植株地下部分吸收土壤 Cu 的能力有很大提高,在 0~800 mg·kg⁻¹范围内土壤 Cu 含量越高,促进作用越 明显。在土壤 Cu 含量为 800~1200 mg·kg⁻¹时,植物体 内重金属含量由于高浓度 Cu 胁迫呈现下降趋势。

进一步计算蒲儿根对土壤重金属的富集系数。 富集系数表示植物累积Cu的能力,计算植物体内Cu 富集系数来评估不同处理下蒲儿根的富集能力,计算 公式如下:

表1 不同处理的蒲儿根氮、磷、钾含量

土壤 Cu 含量 Copper content in soil/mg•kg ⁻¹ -	地上部分氮含量		地下部分氮含量		地上部分磷含量		地下部分磷含量		地上部分钾含量		地下部分钾含量	
	Nitrogen of the		Nitrogen of the		Phosphorus of the		Phosphorus of the		Potassium of the		Potassium of the	
	aboveground part/%		underground part/%		aboveground part/%		underground part/%		aboveground part/%		underground part/%	
	СК	PGPR	СК	PGPR	СК	PGPR	СК	PGPR	СК	PGPR	СК	PGPR
0	0.21±0.01a	$0.17{\pm}0.02{\rm b}$	$0.11{\pm}0.01{\rm b}$	0.21±0.01a	$0.51{\pm}0.02{\rm b}$	$0.60\pm0.02a$	0.24±0.00a	0.26±0.01a	$8.63{\pm}0.03{\rm b}$	16.15±0.16a	9.82±0.23a	9.92±0.11a
200	$0.25\pm0.02a$	$0.16{\pm}0.01{\rm b}$	$0.15{\pm}0.02{\rm b}$	$0.23 \pm 0.02a$	$0.40{\pm}0.01{\rm b}$	$0.48\pm0.02a$	0.28±0.00a	0.31±0.00a	13.34±0.11a	15.93±0.18a	$11.86 \pm 0.19 \mathrm{b}$	15.14±0.11a
400	0.21±0.01a	0.19±0.01a	0.17±0.01a	0.19±0.01a	$0.31{\pm}0.03{\rm b}$	0.41±0.01a	$0.23{\pm}0.02{\rm b}$	0.29±0.02a	$6.58{\pm}0.16{\rm b}$	13.54±0.25a	$7.27{\pm}0.28\mathrm{b}$	9.26±0.33a
600	$0.19{\pm}0.01{\rm b}$	0.25±0.01a	$0.14{\pm}0.01{\rm b}$	0.23±0.01a	$0.56{\pm}0.02{\rm b}$	$0.60\pm0.02a$	$0.19{\pm}0.02{\rm b}$	0.30±0.01a	12.91±0.16a	13.46±0.16a	$9.13{\pm}0.06{\rm b}$	11.78±0.21a
800	0.24±0.01a	$0.17{\pm}0.01{\rm b}$	0.18±0.02a	0.18±0.01a	$0.40{\pm}0.03{\rm b}$	0.43±0.01a	$0.22{\pm}0.03{\rm b}$	0.28±0.02a	12.50±0.11b	14.37±0.19a	10.66±0.30a	11.75±0.45a
1000	$0.20\pm0.02a$	$0.15{\pm}0.02{\rm b}$	0.19±0.00a	$0.18\pm0.00a$	$0.37 \pm 0.02a$	0.39±0.00a	$0.26{\pm}0.01{\rm b}$	0.34±0.02a	13.17±0.17b	15.03±0.13a	$9.60{\pm}0.30{\rm b}$	15.08±0.11a
1200	0.23±0.01a	$0.15{\pm}0.01{\rm b}$	0.20±0.03a	0.21±0.02a	0.23±0.01a	0.25±0.03a	0.29±0.01a	0.31±0.02a	15.70±0.06b	16.55±0.18a	$12.48 \pm 0.17 \mathrm{b}$	15.36±0.18a

注:±后数字为标准差;CK和PGPR处理间不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。下同。

Note: Data behind parentheses are standard deviations; and different lowercase letters between CK and PGPR means significant difference (P < 0.05). The same below.



图2 不同处理的蒲儿根Cu富集量

Figure 2 Copper accumulation of Sinosenecio oldhamianus of different treatments

Cu富集系数 =	
地上部分Cu含量+地下部分Cu含量	× 1000
土壤Cu含量	× 100%

图 3 显示了蒲儿根在不同 Cu含量处理下的富集 系数,总体而言,PGPR 组的蒲儿根对 Cu的富集系数 皆高于 CK组,可见,PGPR 混合菌剂的加入可以明显 提高蒲儿根对土壤中 Cu的富集能力。土壤 Cu含量 为 200 mg·kg⁻¹时,蒲儿根的富集系数达到了 44.36%, 比未加菌剂的处理提高了 12.93%,其后有一个降低 的趋势,而在 800 mg·kg⁻¹的时候达到了 22.72%,是整 个试验中的第二个高点,比未加菌剂处理的富集系数 提高 14.01%。结合蒲儿根的生长趋势,土壤中的 Cu 含量在低浓度时可以促进植物生长发育,在高浓度胁 迫下,PGPR 混合菌剂不但促进了植物的生长和对重 金属 Cu的耐受性,还提高了植物对重金属 Cu的吸收 量。

2.3 土壤理化性质的变化

测定不同Cu浓度处理下的土壤pH值,均在7.1~7.4,变化不明显。

由图4可知,加入PGPR混合菌剂后土壤有机质



图 3 不同处理的蒲儿根铜富集系数

Figure 3 Copper concentration factor of *Sinosenecio oldhamianus* of different treatments

表2 不同处理的土壤氮含量

Table 2 Soil nitrogen content of different treatments

土壤Cu含量	全氮	TN/%	碱解氮 AN/mg·kg ⁻¹			
in soil/mg·kg ⁻¹	СК	PGPR	СК	PGPR		
0	$1.01{\pm}0.03{\rm b}$	1.16±0.01a	320.25±3.46a	346.85±3.36a		
200	$1.01{\pm}0.01{\rm b}$	1.18±0.03a	$347.90{\pm}2.97\mathrm{b}$	398.65±9.40a		
400	$1.06{\pm}0.00{\rm b}$	1.23±0.05a	$277.20{\pm}7.83{\rm b}$	389.55±4.25a		
600	1.02±0.01a	1.12±0.03a	$343.00{\pm}7.92\mathrm{b}$	455.35±6.43a		
800	$0.96 \pm 0.02a$	1.13±0.03a	354.05±6.23a	393.75±5.24a		
1000	1.07±0.07a	1.12±0.04a	357.35±9.40a	373.10±7.92a		
1200	$1.00{\pm}0.00{ m b}$	1.16±0.05a	$369.25{\pm}2.47\mathrm{b}$	388.15±2.47a		

显著提高,在土壤Cu含量0、600、800、1000 mg·kg⁻¹的 时候有机质含量显著(P<0.05)高于同浓度不加菌剂 的处理,且在整个试验浓度中呈现先增后减的趋势, 这与植物生长状况变化有一定相似性。

由表2可知,施加PGPR混合菌剂的土壤全氮、碱 解氮的含量均高于未施加菌剂的处理,且土壤全氮含 量在土壤Cu含量为0、200、400、1200 mg·kg⁻¹的时候 显著(P<0.05)高于对照组,土壤碱解氮含量在土壤 Cu含量为200、400、600、1200 mg·kg⁻¹时达到显著(P< 0.05),在土壤Cu含量为800、1000 mg·kg⁻¹的时候,施 加PGPR混合菌剂的土壤全氮、碱解氮含量高于未施 加的处理但未达到显著水平(P<0.05)。可见PGPR 混合菌剂的加入一定程度上提高了土壤全氮和碱解 氮的含量,且在土壤高含量Cu处理下依旧发挥作用。

如表3所示,除了土壤Cu含量0mg·kg⁻¹的处理, 其余条件下施加PGPR混合菌剂处理土壤的全磷、有 效磷含量均高于CK组,且在土壤Cu含量为200mg· kg⁻¹的时候达到显著(P<0.05)。在土壤Cu含量为0 mg·kg⁻¹的处理中,施加PGPR混合菌剂处理的全磷含 量显著低于(P<0.05)CK组,但是有效磷的含量显著



图4 不同处理的土壤有机质含量

Figure 4 Organic matter content of different treatments

表3 不同处理的土壤磷含量

Table 3 Soil phosphorus content of different treatments

土壤Cu含量	全磷	TP/%	有效磷 AP/mg·kg ⁻¹			
in soil/mg·kg ⁻¹	СК	PGPR	СК	PGPR		
0	11.20±0.52a	$7.10{\pm}0.30{\rm b}$	$25.34{\pm}0.69{\rm b}$	35.33±0.83a		
200	$6.93{\pm}0.87{\rm b}$	11.05±0.98a	$21.67{\pm}1.19\mathrm{b}$	27.45±1.01a		
400	8.87±0.26a	10.62±0.38a	18.93±0.12a	20.46±0.59a		
600	9.03±0.28a	9.93±0.31a	21.70±1.10a	23.52±1.04a		
800	8.80±0.50a	9.45±0.63a	22.50±2.45a	26.36±1.50a		
1000	10.66±0.44a	9.05±0.27a	24.51±0.65a	21.24±1.48a		
1200	9.30±0.14a	8.32±0.25a	27.70±0.52a	29.61±0.95a		

2020年3月

沈 甜,等:植物根际促生细菌对蒲儿根富集铜及土壤理化性质的影响

高于未接菌的处理(P<0.05),可能是因为植物根际促 生菌在土壤Cu含量为0mg·kg⁻¹的时候活性最高,将 土壤中的全磷大量转为植物可吸收利用的有效磷 导致。

如表4所示,施加PGPR混合菌剂处理的土壤速 效钾含量均高于CK组,且在土壤Cu含量为200、400 mg·kg⁻¹的时候达到显著水平(P<0.05)。与土壤磷含 量变化趋势相近,土壤全钾含量在土壤Cu含量为0、 200 mg·kg⁻¹时,施加PGPR混合菌剂的土壤全钾含量 显著低于(P<0.05)CK组,但是速效钾的含量高于未 接菌的处理,表明在土壤Cu含量较低条件下PGPR 活性很高,将大量的难溶性钾盐转化为可被植物吸收 的速效钾,土壤中的钾被植物吸收转移,故全钾含量 有所变化。在土壤Cu含量大于400 mg·kg⁻¹的时候, PGPR组的土壤速效钾含量大于CK组,推测原因为 微生物混合菌剂的加入降低了土壤中钾素的流失,使 原本容易随水分流失的钾离子被固定。

不同土壤Cu含量处理下土壤的各种功能性酶活 性如图5所示。土壤过氧化氢酶活性在不同处理下 不存在显著性差异,均在0.55~0.57g·kg⁻¹;在土壤Cu 含量为0、200、400、1000 mg·kg⁻¹的时候,施加PGPR

表4 不同处理的土壤钾含量

Table 4 Soil potassium content of different treatments

土壤Cu含量	全钾	TK/%	速效钾 AK/mg·kg ⁻¹			
in soil/mg·kg ⁻¹	СК	PGPR	СК	PGPR		
0	$1.29 \pm 0.02a$	$0.96{\pm}0.07{\rm b}$	899.50±21.92a	916.00±2.83a		
200	$1.20{\pm}0.04a$	$0.91{\pm}0.03{\rm b}$	$651.00 \pm 16.67 \mathrm{b}$	1 140.50±11.62a		
400	$0.84{\pm}0.02{\rm b}$	1.26±0.05a	$783.00 \pm 16.67 \mathrm{b}$	933.00±19.20a		
600	$0.96 \pm 0.03 \mathrm{b}$	1.22±0.07a	914.50±12.02a	952.50±3.54a		
800	$1.08 \pm 0.01 \mathrm{b}$	1.26±0.06a	872.50±17.48a	881.00±14.04a		
1000	0.96±0.00a	1.19±0.09a	944.50±11.92a	961.00±12.23a		
1200	1.02±0.01a	1.11±0.00a	899.50±2.12a	932.00±8.49a		

混合菌剂的土壤脲酶活性显著高于CK组,而在其他浓度条件处理下(600、800、1200 mg·kg⁻¹)施加混合菌剂的盆栽土壤脲酶活性高于CK组但未达到显著水平;施加PGPR混合菌剂的土壤蛋白酶活性均高于同浓度的不施加菌剂的处理,且在Cu含量为0、1200 mg·kg⁻¹时差异显著;在各个土壤Cu含量浓度处理下,施加PGPR混合菌剂处理的土壤蔗糖酶活性皆高于同浓度不施加菌剂的处理,且在土壤Cu浓度为0、400、800 mg·kg⁻¹的时候达到显著;施加PGPR混



Figure 5 Soil enzyme activities of different treatments

合菌剂处理的土壤磷酸酶活性皆高于不施肥加菌剂的处理,且在土壤Cu含量为0、400 mg·kg⁻¹的时候达到显著。

总体而言,PGPR 混合菌剂的加入,提升了土壤 中的各种功能性酶的活性,使得土壤中部分原本不能 够被植物吸收利用的养分转化为对植物生长有利的 养分,从而促进植物的生长发育,进一步提升植物富 集土壤中Cu的能力。

3 讨论

本研究结果表明,植物根际促生菌与蒲儿根联合 修复土壤Cu污染效果显著优于单一植物修复,且蒲 儿根对Cu的富集作用主要集中在根系,这与张世熔 等^[20]研究的植株中大部分富集的重金属Cu转移至地 上部分不符合,推测产生这种情况的原因是PGPR 混 合菌剂的加入极大地促进了蒲儿根地下部分的富集 能力,导致大量的Cu累积在蒲儿根根部,结合其他学 者^[17,20]的研究结果蒲儿根还具有较强的迁移能力,推 测随时间推移,累积在根部的Cu会向地上部分转移。

施用了PGPR混合菌剂的蒲儿根株高、根长以及 氮、磷、钾含量均优于未施加菌剂的对照组,表明植物 根际促生菌的加入可以提高植物的生物量,再结合土 壤氮、磷、钾等养分含量变化分析,施加PGPR混合菌 剂土壤中的植物可利用养分含量得到了很大程度提 高,例如碱解氮、有效磷、速效钾均有所增加。表明植 物根际促生菌可以通过产生利于植物生理活动的有 关物质或将土壤中部分难以利用的物质转换为植物 可利用的形态,提高植物可利用营养元素水平[10-12,25], 土壤速效养分的提高使得植物生长条件更优越,且 PGPR 混合菌剂在土壤高浓度 Cu 的胁迫下依旧产生 作用。施加 PGPR 混合菌剂处理的蒲儿根对土壤中 高浓度Cu的耐受性和富集量皆高于未施加混合菌剂 的处理,各个处理下Cu的富集系数均高于相应对照 组,特别是植物根部的富集系数显著高于未添加菌剂 的处理,推测是因为植物根际促生菌的加入增强了蒲 儿根对土壤中Cu的抗性和吸附能力,某些对重金属 有较强耐受性的植物根际促生菌,可以通过吸收、淋 滤等作用改变环境中金属离子的形态,从而减轻了重 金属对植物的毒害作用[28-29]。

土壤酶是一种生物活性物质,在土壤中碳的转 化、养分循环和微生物丰度中起到关键作用,与土壤 微生态环境息息相关,同时也是反映土壤肥力的重要 指标之一^[30-31]。加入植物根际促生菌处理的土壤脲

农业环境科学学报 第39卷第3期

酶、蛋白酶、蔗糖酶、磷酸酶活性都显著提高,活性增 加最高分别为80.28%、217.11%、43.26%、61.89%。土 壤脲酶酶促反应的产物为氨,其活性代表着土壤氮从 有机态向有效态转化的能力[32-33],土壤蛋白酶也与植 物氮源相关,其参与土壤中氨基酸、蛋白质以及其他 含蛋白质氮的有机化合物的转化^[33]。施加 PGPR 混合 菌剂处理的土壤脲酶和蛋白酶活性均高于CK组,且 土壤碱解氮含量有了显著提高,表明PGPR 菌剂的加 入很好地促进了土壤脲酶和蛋白酶的酶活性。蔗糖 酶可以表征土壤生物活性强度[34]。土壤磷酸酶可以 水解土壤中的有机磷酯,将土壤中的有机磷转化为植 物可吸收的无机磷^[32]。PGPR混合菌剂的加入对土壤 蔗糖酶和磷酸酶活性的促进作用在土壤Cu含量0~ 600 mg·kg⁻¹时表现为显著,在土壤Cu含量800 mg· kg⁻¹的时候蔗糖酶活性促进作用表现为显著,磷酸酶 无明显差异,在土壤Cu含量1000~1200 mg·kg⁻¹时均 无明显差异,结合土壤有效磷含量在土壤Cu含量低 浓度时显著提高,表明PGPR 混合菌剂在土壤 Cu含 量低于600 mg·kg⁻¹时对蔗糖酶和磷酸酶活性的促进 作用较好。试验结果表明,接种PGPR混合菌剂后 土壤微环境得到改善,土壤酶活的提升使土壤中可 被植物利用的营养物质明显增加,有效促进了蒲儿根 的生长。

另外 Cu 是多种酶的组成成分, 唐伟¹³¹研究发现 低浓度的 Cu 可以激活土壤酶活,本试验结果中脲酶 和蔗糖酶的活性在不接菌的处理中出现了先增后减 的趋势, 表明一定条件下, Cu 对酶活性有激活作用。 而 Cu 对土壤酶活性的抑制有两方面: 一是 Cu 与酶分 子活性部位结合跟底物产生竞争, 二是 Cu 抑制了土 壤微生物的生长, 从而减少微生物对酶的合成¹³⁰。本 试验中土壤 Cu 对蛋白酶和磷酸酶出现了明显的抑制 作用, 但对蔗糖酶几乎没有抑制作用, 且体现不同程 度的激活作用。土壤 Cu 对脲酶的影响在所有 CK 处 理组中不显著, 在 PGPR 处理组中出现了抑制作用, 可能是由于加入的 PGPR 菌剂受到了 Cu 的胁迫。

本研究试验土壤Cu含量0~1200 mg·kg⁻¹范围中整个修复体系的营养元素指标以及重金属富集量均呈现先增后减的趋势,且在600 mg·kg⁻¹的时候达到最高值,推测是因为Cu本身是植物生长所必需的元素之一,但过量的Cu依旧会损害植物的生长。在整个试验过程中,未出现蒲儿根由于土壤重金属含量过高而死亡的情况,验证了蒲儿根是一种具有高耐受性的超富集植物,在土壤重金属污染研究方面具有很大

沈 甜,等:植物根际促生细菌对蒲儿根富集铜及土壤理化性质的影响

的潜力。

2020年3月

综上所述,植物根际促生细菌联合蒲儿根修复土 壤Cu污染的效果明显优于单纯的植物修复,具有可 行性。因此,蒲儿根-微生物共生体系可以在不同Cu 含量土壤上进行稳定的修复,为Cu污染土壤的修复 体系提供了依据,可作进一步研究与推广。

4 结论

(1)植物根际促生菌与蒲儿根建立互利共生的关系,PGPR混合菌剂的加入可以改善重金属胁迫下蒲 儿根的长势,改变蒲儿根对土壤中重金属的富集特 性,由将富集的Cu大部分转移到地上部分改变为富 集更多的Cu累积在根部,对蒲儿根富集Cu的能力有 很大提升。

(2)PGPR 混合菌剂的加入可以改善土壤环境, 提高土壤中有效养分(碱解氮、有效磷、速效钾)和有 机质的含量,还能不同程度地提高土壤脲酶、蛋白酶、 蔗糖酶、磷酸酶活性。

(3)Cu作为植物生长必需的微量元素之一和某 些酶的组成成分,土壤Cu含量低的时候对植物生长 表现出一定的促进作用,Cu还激活了土壤中的蔗糖 酶活性。

参考文献:

[1] 王 萌, 李杉杉, 李晓越, 等. 我国土壤中 Cu 的污染现状与修复研究进展[J]. 地学前缘, 2018, 25(5):305-313.
 WANG Meng, LI Shan-shan, LI Xiao-yue, et al. An overview of current status of copper pollution in soil and remediation efforts in China

[J]. *Earth Science Frontiers*, 2018, 25(5):305–313.

- [2] Ghazaryan K, Movsesyan H, Ghazaryan N, et al. Copper phytoremediation potential of wild plant species growing in the mine polluted areas of Armenia[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 249:491–501.
- [3] 霍 宾, 吴 婷, 肖 华, 等. 铜污染草地对放牧乌蒙半细毛羊矿物 质元素代谢的影响[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(6):1-9.
 HUO Bin, WU Ting, XIAO Hua, et al. Effect of copper contaminated pasture on mineral metabolism in the Wumeng semi-fine wool sheep
 [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2019, 14(6):1-9.
- [4] Kalinovic J V, Serbula S M, Radojevic A A, et al. Assessment of As, Cd, Cu, Fe, Pb, and Zn concentrations in soil and parts of *Rosa* spp. sampled in extremely polluted environment[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2018, 191(1):15–29.
- [5] 邹佳佳, 孟 梅,张 云,等.农田土壤铜污染评价和油菜铜积累特 征研究[J].土壤通报, 2015, 46(3):621-627.
 ZOU Jia-jia, MENG Mei, ZHANG Yun, et al. Evaluation on copper pollution status of soil and copper accumulation features of rapes in farmland[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2015, 46(3):621-627.

[6] 任海彦, 胡 健, 胡毅飞. 重金属污染土壤植物修复研究现状与展

望[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(1):5-11.

REN Hai-yan, HU Jian, HU Yi-fei. Research progress and prospect of phytoremediation of heavy metal contaminated soils[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2019, 47(1):5-11.

[7] Li X, Wang X, Chen Y, et al. Optimization of combined phytoremediation for heavy metal contaminated mine tailings by a field-scale orthogonal experiment[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 168:1–8.

[8] 郭军康, 董明芳, 丁永祯, 等. 根际促生菌影响植物吸收和转运重金属的研究进展[J]. 生态环境学报, 2015, 24(7):1228-1234. GUO Jun-kang, DONG Ming-fang, DING Yong-zhen, et al. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on plants heavy metal uptake and transport: A review[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2015, 24 (7):1228-1234.

[9] 李交昆, 余 黄, 曾伟民, 等. 根际促生菌强化植物修复重金属污染 土壤的研究进展[J]. 生命科学, 2017, 29(5):434-442.

LI Jiao-kun, YU Huang, ZENG Wei-min, et al. Research progress on plant growth promoting rhizobacteira and their role in phytoremediation of heavy metal-contaminated soil[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2017, 29(5):434-442.

- [10] Ju W L, Liu L, Fang L C, et al. Impact of co-inoculation with plantgrowth-promoting rhizobacteria and rhizobium on the biochemical responses of alfalfa-soil system in copper contaminated soil[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 167:218-226.
- [11] Kanika K, Vijay L J, Anket S, et al. Supplementation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) alleviates cadmium toxicity in *Solanum lycopersicum* by modulating the expression of secondary metabolites[J]. *Chemosphere*, 2019, 230:628–639.
- [12] 黄明煜,章家恩,全国明,等.土壤重金属的超富集植物研发利用 现状及应用入侵植物修复的前景综述[J]. 生态科学, 2018, 37(3): 194-203.

HUANG Ming-yu, ZHANG Jia-en, QUAN Guo-ming, et al. Review on research and utilization current status of hyperaccumulation plants for heavy metal contaminated soils and the phytoremediation application prospective of invasive plants[J]. *Ecological Science*, 2018, 37 (3):194-203.

- [13] Tu C, Liu Y, Wei J, et al. Characterization and mechanism of copperbiosorption by a highly copper-resistant fungal strain isolated from copper-polluted acidic orchard soil[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2018, 25(25):24965-24974.
- [14] Glibota N, Grande B M J, Gálvez A, et al. Copper tolerance and antibiotic resistance in soil bacteria from olive tree agricultural fields routinely treated with copper compounds[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(10):4677-4685.
- [15] 马贵党,李崇华,王 飞,等.一株铜抗性细菌的分离鉴定及其耐铜机制[J].应用与环境生物学报,2019,25(2):392-398.
 MA Gui-dang, LI Chong-hua, WANG Fei, et al. Isolation and identification of a Cu-resistant bacterial strain and its Cu resistance mechanism[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2019, 25(2):392-398.
- [16] Asensio V, Flórido F G, Ruiz F, et al. The potential of a technosol and

农业环境科学学报 第39卷第3期

tropical native trees for reclamation of copper-polluted soils[J]. Chemosphere, 2019, 220:892-899.

[17] 王琼瑶. 镉、铜、铅胁迫下蒲儿根生理特性和富集特征研究[D]. 成都:四川农业大学, 2011.

WANG Qiong-yao. Research on physiology and accumulation characteristics of *Sinosenecio oldhamianus* under cadmium, copper and lead stress[D]. Chengdu:Sichuan Agricultural University, 2011.

- [18] Napoli M, Cecchi S, Grassi C, et al. Phytoextraction of copper from a contaminated soil using arable and vegetable crops[J]. *Chemosphere*, 2019, 219:122-129.
- [19] Zhang S R, Chen M Y, Li T, et al. A newly found cadmium accumulator-Malva sinensis Cavan[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 173(1):705-709.
- [20] 张世熔, 王琼瑶, 徐小逊, 等. 蒲儿根在修复矿山土壤及污泥的重金属铜污染中的应用[P]. 200910309124.7, 2010-03-17.
 ZHANG Shi-rong, WANG Qiong-yao, SUN Xiao-xun, et al. Application of *Sinosenecio oldhamianus* in the restoration of copper pollution in mine soil and sludge[P]. 200910309124.7, 2010-03-17.
- [21] 邱志敬, 邹纯清, 史正军, 等. 不同栽培基质对苦苣苔科植物生长的影响[J]. 广东农业科学, 2013, 40(17):31-33, 47.
 QIU Zhi-jing, ZOU Chun-qing, SHI Zheng-jun, et al. Effects of different substrate composition on growth of Gesneriaceae plants[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2013, 40(17):31-33, 47.
- [22] Glickmann E, Dessaux Y. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61 (2):793-796.
- [23] 姜霁航, 彭霞薇, 颜振鑫, 等. 苹果树根际高效解钾菌的筛选及鉴定[J]. 中国农业气象, 2017, 38(11):738-748.
 JIANG Ji-hang, PENG Xia-wei, YAN Zhen-xin, et al. Isolation and identification of potassium-solubilizing bacteria from rhizosphere soil of apple tree[J]. *Chinese Journal of Agrometeorology*, 2017, 38(11): 738-748.
- [24] 林 欣, 王立立, 杨 平, 等. 一株溶磷菌对盐地碱蓬修复盐渍土 Cd 污染的促进效应[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(5):883-891.
 LIN Xin, WANG Li-li, YANG Ping, et al. The promoting effect of phosphorus-solubilizing bacteria on remediation of cadmium-contaminated saline soil by Suaeda salsa[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2018, 37(5):883-891.
- [25] Yu X M, Li Y M, Zhang C, et al. Culturable heavy metal-resistant and plant growth promoting bacteria in V-Ti magnetite mine tailing soil from Panzhihua, China[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9):1–8.
- [26] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 三版. 北京:中国农业出版社, 2008.

BAO Shi-dan. Soil agricultural chemistry analysis[M]. 3rd Edition. Beijing:China Agriculture Press, 2008.

[27] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京:中国农业出版社, 1986: 274-329.

GUAN Song-yin. Soil enzyme and its study method[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1986:274-329.

- [28] 袁金玮,陈 笈,陈 芳,等.强化植物修复重金属污染土壤的策略及其机制[J]. 生物技术通报, 2019, 35(1):120-130.
 YUAN Jin-wei, CHEN Ji, CHEN Fang, et al. The augmentation strategies and mechanisms in the phytoremediation of heavy metal-contaminated soil[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2019, 35(1):120-130.
- [29] Liu Z F, Ge H G, Li C, et al. Enhanced phytoextraction of heavy metals from contaminated soil by plant co-cropping associated with PG-PR[J]. Water, Air and Soil Pollution, 2015, 226(29):1-10.
- [30] 边雪廉,岳中辉,焦 浩,等.土壤酶对土壤环境质量指示作用的研究进展[J].土壤,2015,47(4):634-640.
 BIAN Xue-lian, YUE Zhong-hui, JIAO Hao, et al. Soil enzyme indication on soil environmental quality[J]. Soils, 2015, 47(4):634-640.
- [31] Igalavithana A D, Farooq M, Kim K H, et al. Determining soil quality in urban agricultural regions by soil enzyme-based index[J]. Environmental Geochemistry and Health, 2018, 40(1):1531-1544.
- [32] Adetunji A T, Lewu F B, Mulidzi R, et al. The biological activities of beta-glucosidase, phosphatase and urease as soil quality indicators
 [J]. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2017, 17(3): 794–807.
- [33] Kuscu I S K. Changing of soil properties and urease-catalase enzyme activity depending on plant type and shading[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2019, 191(3):1-8.

[34] 于德良, 雷泽勇, 赵国军, 等. 土壤酶活性对沙地樟子松人工林衰退的响应[J]. 环境化学, 2019, 38(1):97-105.
YU De-liang, LEI Ze-yong, ZHAO Guo-jun, et al. Response of soil enzyme activity to the decline of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* plantations on sand land[J]. *Environmental Chemistry*, 2019, 38(1):97-105.

[35] 唐 伟. 铜污染对土壤呼吸和酶活性的影响[D]. 武汉:湖北大学, 2014.

TANG Wei. Effects of copper pollution on soil respiration and enzyme activities[D]. Wuhan: Hubei University, 2014.

[36] 郭卓杰,杨继飞,李 涛,等.不同肥料不同作物对铜污染土壤中 酶活性的影响[J].天津农业科学,2013,19(11):9-11. GUO Zhuo-jie, YANG Ji-fei, LI Tao, et al. Effect of different fertilizer and plants on copper contaminated soil enzyme activity[J]. *Tianjin Agricultural Sciences*, 2013, 19(11):9-11.