

多功能复合菌对玉米幼苗镍和镉胁迫的解毒特征及其机理

杨昶, 张羽, 尹秋霞, 李明堂

引用本文:

杨昶, 张羽, 尹秋霞, 李明堂. 多功能复合菌对玉米幼苗镍和镉胁迫的解毒特征及其机理[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(11): 2448-2457.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0439>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

复合菌和鸡粪生物炭对镍和镉污染土壤的修复效果研究

杨昶, 陈元晖, 张春燕, 张羽, 李明堂

农业环境科学学报. 2022, 41(8): 1709-1719 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-1491>

印度梨形孢对高丹草生长及Cd吸收与积累的影响

先露露, 董智, 李红丽, 窦晓慧, 刘超, 刘冰倩, 贾丰源

农业环境科学学报. 2022, 41(8): 1689-1697 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-1420>

铈对蚕豆幼苗光合特性和呼吸代谢的毒害机理

刘泽伟, 赖金龙, 李俊柯, 丁峰, 张宇, 罗学刚

农业环境科学学报. 2020, 39(9): 1916-1924 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0390>

屎肠球菌胞外多糖对镉胁迫下水稻种子萌发及幼苗生长的影响

罗晟, 赵泽文, 任新宇, 魏宏宇, 马雅静, 潘起涛, 李荣同, 龚国胜, 程新

农业环境科学学报. 2020, 39(9): 1888-1899 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0181>

施锰微肥对镉污染土壤中玉米生长及镉吸收分配的影响

胡艳美, 吕金朔, 孙维兵, 张兴, 陈璐, 郭大维, 党秀丽

农业环境科学学报. 2021, 40(8): 1635-1643 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0106>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

杨映, 张羽, 尹秋霞, 等. 多功能复合菌对玉米幼苗镍和镉胁迫的解毒特征及其机理[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(11): 2448–2457.

YANG Y, ZHANG Y, YIN Q X, et al. Detoxification characteristics and mechanism of nickel and cadmium stress in maize seedlings by multifunctional bacterial consortia[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(11): 2448–2457.



开放科学 OSID

多功能复合菌对玉米幼苗镍和镉胁迫的解毒特征及其机理

杨映, 张羽, 尹秋霞, 李明堂*

(吉林农业大学资源与环境学院, 长春 130118)

摘要:微生物可通过与植物的共生作用来降低重金属对植物的毒性,在重金属污染土壤低碳和绿色修复方面具有重要的应用价值。通过水培实验研究了沙福芽孢杆菌 N4 和羧基酮丛毛单胞菌 ZG2 复合菌对玉米幼苗镍(Ni)和镉(Cd)胁迫的解毒特征及其机理。结果表明,在 Ni 和 Cd 胁迫浓度为 5~20 mg·L⁻¹ 的水培条件下,玉米种子萌发和幼苗生长都受到了明显的影响,而复合菌可通过与玉米幼苗的共生作用进行生长繁殖,降低了 Ni 和 Cd 对玉米幼苗生长的毒害作用,进而提高了玉米幼苗的株高、主根长、生物量以及叶绿素 SPAD 值。在 Ni 和 Cd 的胁迫浓度均为 5、10、20 mg·L⁻¹ 的条件下,与对照相比,复合菌可使玉米幼苗茎叶部 Ni 含量分别降低 42.2%、37.0%、35.1%,Cd 含量分别降低 25.8%、27.2%、28.4%,叶片内较高毒性形态(乙醇提取态和去离子水提取态)Ni 的分布比例之和降低 13.9%~21.5%,Cd 的分布比例之和降低 14.7%~20.3%,叶片细胞器中 Ni 的分布比例降低 12.1%~17.0%,Cd 的分布比例降低 20.7%~29.3%,使 Ni 胁迫下玉米幼苗茎叶部的 Mg 含量分别增加 21.0%、39.0%、24.1%,Cd 胁迫下玉米幼苗茎叶部的 Mg 含量分别增加 29.4%、11.4%、35.9%,并且随着 Mg 浓度的增加,叶片 Ni 和 Cd 的含量进一步降低。研究表明复合菌通过降低玉米幼苗对 Ni 和 Cd 的吸收,促进叶片中 Ni 和 Cd 向较低毒性形态转化,降低叶片细胞器中 Ni 和 Cd 的占比,提高玉米幼苗对 Mg 的吸收等机制降低 Ni 和 Cd 对玉米幼苗的毒性作用,复合菌在 Ni 和 Cd 污染玉米耕地土壤修复方面具有重要的应用潜力。

关键词:沙福芽孢杆菌;羧基酮丛毛单胞菌;镍;镉;玉米幼苗;解毒机理

中图分类号:X173;X53 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2022)11-2448-10 doi:10.11654/jaes.2022-0439

Detoxification characteristics and mechanism of nickel and cadmium stress in maize seedlings by multifunctional bacterial consortia

YANG Yi, ZHANG Yu, YIN Qiuxia, LI Mingtang*

(College of Resources and Environment, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: Microorganisms may reduce the toxicity of heavy metals through symbiosis with plants, which show important application value in low-carbon and green remediation of soil contaminated with heavy metals. In this study, the detoxification characteristics and mechanisms of *Bacillus safensis* N4 and *Comamonas testosteroni* ZG2 bacterial consortia against nickel (Ni) and cadmium (Cd) stress in maize seedlings were investigated using hydroponic experiments. The results showed that maize seed germination and seedling growth were significantly affected by Ni and Cd stress at the concentrations of 5–20 mg·L⁻¹ under hydroponic conditions. However, the bacterial consortia grew and multiplied through symbiotic interactions with the maize seedlings, thus reducing the toxic effects of Ni and Cd on the

收稿日期:2022-05-01 录用日期:2022-07-14

作者简介:杨映(1998—),女,吉林长春人,硕士研究生。E-mail:yangyi0686@163.com

*通信作者:李明堂 E-mail:limtdoc2008@163.com

基金项目:国家自然科学基金项目(42077137);吉林省重点研发计划项目(20200403003SF)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China (42077137); The Key Research and Development Program of Jilin Province, China (20200403003SF)

growth of the seedlings, which in turn increased the plant height, primary root length, biomass, and chlorophyll SPAD values of the seedlings. Under conditions of Ni and Cd stress at concentrations of 5, 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the Ni content in aboveground maize seedlings decreased by 42.2%, 37.0%, and 35.1%, respectively, and the Cd content decreased by 25.8%, 27.2%, and 28.4% respectively, compared with the content in control seedlings. The sum of the distribution proportion of more toxic forms of Ni in leaves decreased by 13.9%–21.5%, and the sum of the distribution proportion of Cd decreased by 14.7%–20.3%. The distribution proportions of Ni in leaf organelles decreased by 12.1%–17.0%, and the distribution proportions of Cd decreased by 20.7%–29.3%. Under Ni stress at concentrations of 5, 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the aboveground Mg content of maize seedlings increased by 21.0%, 39.0%, and 24.1%, respectively, whereas under Cd stress at these concentrations, the aboveground Mg content of maize seedlings increased by 29.4%, 11.4%, and 35.9%, respectively. The leaf Ni and Cd content further decreased with increasing Mg concentration. These results indicate that the bacterial consortia reduce the toxic effects of Ni and Cd on maize seedlings by reducing their absorption, promoting their transformation in leaves to less toxic forms, reducing their proportions in leaf organelles, and improving the absorption of Mg in maize seedlings.

Keywords: *Bacillus safensis*; *Comamonas testosteroni*; nickel; cadmium; maize seedling; detoxification mechanism

镍(Ni)和镉(Cd)会随污水排放、矿渣淋滤、农业投入品的施用等途径进入玉米种植土壤,当含量积累到一定程度时会造成土壤污染,影响玉米的生长和品质,最终影响粮食安全,并威胁人体健康^[1]。过量的Ni和Cd不仅能抑制种子萌发,在作物生长发育的阶段还会严重影响其分枝发育,破坏细胞结构,干扰分裂增殖,致使作物失绿变形和叶片坏死,扰乱根尖有丝分裂,影响作物生长,降低生物量的同时影响作物对营养元素的吸收^[2–3]。《全国土壤污染状况调查公报》显示,在我国Ni和Cd两类重金属的点位超标率分别为7.0%和4.8%,已高居前二位,污染问题较重。此外,与单一重金属污染相比,多种重金属并存的复合污染问题更加普遍,且缺乏有针对性的修复技术。玉米是世界范围内用于动物、人类营养以及农业工业用途最主要的农作物,也是吉林地区最主要的农作物之一^[4]。水培研究常被许多研究者用于植物种子萌发实验以及调查植物幼苗对重金属元素的吸收和迁移机制^[5–6],有研究表明,生长至幼苗时期的玉米对Ni和Cd胁迫较为敏感,在无土栽培条件下,高于5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的Ni和Cd会使玉米幼苗各部位均受到显著损伤,最终显著降低其产量^[7–8]。

微生物因其功能多、适应力强、无二次污染和可与作物根系共生等特征,近年来在缓解重金属对作物的毒性,提高作物对重金属胁迫的抗逆性方面越来越受到人们的重视^[9],如DARY等^[10]研究发现接种一株具有产IAA(吲哚-3-乙酸)的芽孢杆菌提高了在Cd、Cu和Pb等多种重金属胁迫下的作物产量,并降低作物根部和茎叶部Cd、Cu和Pb等的积累;LIU等^[11]利用了一株巴氏芽孢杆菌诱导碳酸盐沉淀的功能明显降低了环境中Cd、Pb等多种重金属污染的毒性。但已

有的研究在微生物缓解重金属对作物毒性方面主要是利用具有单一功能的单一菌株,并且主要研究缓解与修复效应等,对于微生物缓解重金属毒性的效应机理的相关研究较少^[12–14]。沙福芽孢杆菌可通过产植物促生物质和生物吸附等机理促进非生物胁迫下小麦的生长以及污水中 Al^{3+} 的去除^[15–16],睾丸酮丛毛单胞菌可通过生物吸附和生物矿化等机理来降低Cd对水稻的毒性以及增强污水中污染物的生物固定作用^[17–18],但这两类菌组成的复合菌对玉米幼苗Ni和Cd胁迫具有怎样的解毒作用,以及通过何种机理来降低Ni和Cd对玉米幼苗的胁迫尚不明确。

本课题组从Ni和Cd污染土壤中曾分离获得了两株抗Ni和Cd的土著有益微生物,一株为沙福芽孢杆菌N4,该菌可产IAA^[19],另外一株为睾丸酮丛毛单胞菌ZG2,该菌产脲酶、IAA和铁载体,并可诱导形成重金属的碳酸盐矿物晶体沉淀^[20]。本研究分析研究这两株菌组成的复合菌与玉米幼苗的共生作用,对玉米幼苗Ni和Cd胁迫的解毒特征及其作用机理,以期利用复合菌修复Ni和Cd污染土壤,保证玉米安全生产提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试玉米(*Zea mays* L.)为金苑玉z658,品种审定编号为辽审玉20180155,品种来源为CY04×TY04。

供试菌株为本实验室从Ni和Cd复合污染的土壤中分离筛选出的对Ni和Cd均具有较高抗性的沙福芽孢杆菌(*Bacillus safensis*)N4和睾丸酮丛毛单胞菌(*Comamonas testosteroni*)ZG2。菌株N4具有较强的产IAA能力,Genbank登录号为NR 041794.1,并能协

同生物炭降低小白菜对Ni和Cd的吸收^[19]。菌株ZG2具有产脲酶、IAA和铁载体,并可诱导形成重金属碳酸盐沉淀的功能,Genbank登录号为NR 116138.1,菌种保藏编号为GCMCC No.20155^[20]。

1.2 玉米种子发芽实验

分别配制浓度为5、10、20、30、60 mg·L⁻¹的NiCl₂溶液和CdCl₂溶液。挑选颗粒饱满、表皮无破损的玉米种子,用2%的NaClO溶液浸泡消毒10 min后,用去离子水清洗3遍,在28℃条件下,用不同浓度的NiCl₂、CdCl₂溶液中分别浸泡6 h后,均匀放入铺有滤纸的培养皿中,向皿内加入20 mL相应浓度的NiCl₂溶液和CdCl₂溶液润湿滤纸,同时以去离子水作为对照处理。将培养皿移入温度28℃、湿度60%的人工气候箱中,避光培养72 h后计算种子的发芽率,玉米种子露白0.5 mm记为已发芽。每个处理设置3次重复。

1.3 玉米幼苗水培实验

1.3.1 复合菌的制备

在28℃、160 r·min⁻¹、振荡24 h的条件下利用牛肉膏蛋白胨培养基(NB)分别对菌株N4和ZG2进行活化和富集培养,将富集培养液按2%的比例接种至新鲜的牛肉膏蛋白胨培养基(NB)中在相同条件下培养。在4℃、8 000 r·min⁻¹条件下,将培养后的菌株发酵液离心5 min,弃去上清液,用无菌水冲洗菌体细胞2次再将其悬浮于无菌水中,得到OD₆₀₀为0.3左右的菌株N4和ZG2的单一菌悬液,最后将两种单一菌悬液按照1:1的比例混合,即为制得的复合菌。

1.3.2 玉米幼苗水培实验

玉米种子经消毒清洗后,用去离子水浸种6 h后均匀摆放于铺有湿润纱布的育苗盘中,移入智能人工气候箱(温度28℃、湿度60%、无光照)对种子进行催芽,出芽后取下纱布并恢复光照(光照强度2 000 lx),用去离子水将其培养至幼苗两叶一心时期。挑选长势一致的玉米幼苗,将其根部浸入制备的复合菌中,在160 r·min⁻¹条件下振荡25 min后作为复合菌处理,以无复合菌的处理作为对照处理,将幼苗移入装有300 mL Ni和Cd浓度分别为5、10、20、30、60 mg·L⁻¹的Hoagland营养液的塑料水培体系中,置于人工气候箱(温度25℃、湿度60%、光照强度2 000 lx、光照时间12 h)中开始水培实验,每个处理重复3次(CK1、CK2、CK3分别表示Ni或Cd浓度为5、10、20 mg·L⁻¹的对照处理;T1、T2、T3分别表示Ni或Cd浓度为5、10、20 mg·L⁻¹的复合菌处理),培养14 d后收获玉米幼苗样品,用去离子水洗净,吸干水分,测定并记录玉米幼

苗的生长指标,再分别测定基于鲜质量时玉米幼苗的Ni和Cd含量、Ni和Cd亚细胞分布和形态分布、金属元素的含量。

为进一步研究外源Mg对复合菌缓解玉米Ni和Cd胁迫的影响,分别在Ni和Cd浓度为20 mg·L⁻¹的胁迫下,设置了3种Mg浓度进行水培实验:0(-Mg)、0.5(Mg)、2.5 g·L⁻¹(5Mg),参照上述实验步骤,对玉米幼苗根部接菌,同时以各浓度下不接菌的处理为对照,以相同条件培养14 d后收获样品并分别测定基于鲜质量时玉米幼苗的Ni、Cd和Mg含量。

1.4 测定方法

复合菌的生长数量用稀释涂布平板法进行测定^[21]。

玉米幼苗的株高、主根长用直尺测定,玉米幼苗的干生物量用万分之一天平测定,玉米幼苗叶片的叶绿素值用SPAD-502Plus手持叶绿素仪测定。

玉米幼苗样品用CEM MARS6微波消解仪进行消解,玉米幼苗叶片Ni和Cd亚细胞分布参照闫雷等^[22]的方法进行分离和提取;玉米幼苗叶片不同形态的Ni和Cd参照改进的化学试剂逐步提取法^[23]进行分离和提取。上述过程获得的溶液中Ni和Cd及各类元素的含量采用电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS 7900)测定。

1.5 数据分析

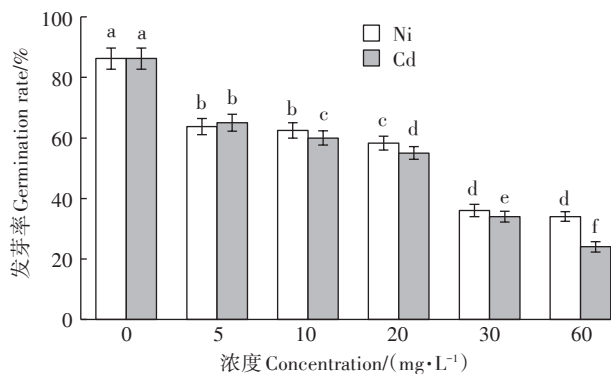
不同处理数据的差异性分析采用SPSS23中单因素ANOVA检验,使用 $P<0.05$ 确定数据的差异显著性。相关性分析采用SPSS23中双变量Pearson检验, $P<0.05$ 具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 Ni和Cd对玉米种子发芽和玉米幼苗生长的毒性

不同浓度的Ni和Cd对玉米种子发芽率的影响如图1所示。随着Ni和Cd浓度的升高,玉米种子发芽率显著降低。与对照相比,当Ni浓度在5~60 mg·L⁻¹时,玉米种子发芽率降低了26.1%~60.6%;当Cd浓度在5~60 mg·L⁻¹时,玉米种子发芽率降低了24.6%~72.2%。这说明Ni和Cd胁迫会显著抑制玉米种子的正常萌发,并且较高浓度的Cd对玉米种子萌发的抑制作用略大于Ni。

另外,Ni和Cd的浓度越高,玉米幼苗受到的毒性越强。当Ni和Cd浓度在5~20 mg·L⁻¹时,玉米幼苗长势均受到了显著影响,出现叶尖发黄的现象,且随着Ni和Cd浓度的增加,玉米幼苗长势逐渐减弱,部分叶



图中不同小写字母表示同一重金属不同处理间差异显著($P < 0.05$)
Different lowercase letters in the same heavy metal indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$)

图1 Ni和Cd胁迫对玉米种子萌发的影响

Figure 1 Effects of Ni and Cd stress on maize seed germination

片失绿坏死;当Ni和Cd浓度在30~60 mg·L⁻¹时,玉米幼苗的长势完全被抑制,叶片皱缩卷曲坏死,玉米幼苗在24~36 h内死亡。以上表明Ni和Cd胁迫对玉米幼苗具有毒性作用。

2.2 复合菌与玉米幼苗的共生

当Ni和Cd浓度在5~20 mg·L⁻¹时,采集培养至不同时期的培养液测定复合菌的生长数量,结果如图2所示。在无玉米幼苗生长的培养液中(CK),复合菌无法维持生长繁殖,玉米幼苗水培时复合菌则能够进行生长繁殖,在无Ni和Cd胁迫下,菌落数量可达到 2.08×10^9 CFU·mL⁻¹。Ni胁迫下,复合菌的生长数量随着水培时间的增长而逐渐增加,在培养至第7天达到最大值后复合菌的数量逐渐降低,培养至第14天时复合菌的数量仍然可达到 $(14.2 \sim 21.0) \times 10^8$ CFU·mL⁻¹;Cd胁迫下,复合菌的生长数量随着水培时间的增长而缓慢增加,培养至第7天时达到最大值,之后

数量逐渐降低,培养至第14天时复合菌的数量仍可达到 $(3.0 \sim 5.1) \times 10^8$ CFU·mL⁻¹。有研究指出^[24-25],植物的根系分泌物可为微生物提供营养物质,吸引微生物聚集在植物根际定殖和生长,同时,微生物通过与植物根系的共生,与植物相互作用,发挥微生物的某些特定功能,如KOZDRÓJ等^[26]的研究表明,在重金属胁迫下,根系分泌物可使玉米根际土壤中某些植物促生菌的数量显著增长。这说明在玉米水培条件下,复合菌能利用玉米幼苗的根系分泌物进行生长繁殖,并且对Ni和Cd具有一定的抗性。

2.3 复合菌对玉米幼苗Ni和Cd胁迫的解毒特征

从图3可以看出,Ni浓度为5~20 mg·L⁻¹时,与对照相比,复合菌使玉米幼苗的株高增加了11.6%~28.1%,使玉米幼苗的主根长增加了16.4%~19.0%,使玉米幼苗的干生物量增加了28.7%~33.8%,使玉米幼苗的叶绿素SPAD值提高了13.5%~22.2%;Cd浓度为5~20 mg·L⁻¹时,与对照相比,复合菌使玉米幼苗的株高增加了18.9%~24.7%,使玉米幼苗的主根长增加了13.7%~19.2%,使玉米幼苗的干生物量增加了30.1%~31.1%,使玉米幼苗的叶绿素SPAD值提高了17.0%~26.2%。这说明复合菌可能通过自身分泌IAA、铁载体等植物促生物质改变植物体内激素水平,促进重金属胁迫下作物的生长发育,从而增强作物对重金属的抗性^[27-28],或者通过固定重金属或促进重金属的形态转化,干扰作物对重金属的吸收和转化,从而降低重金属对作物的毒性^[29-30],进而明显缓解了Ni和Cd胁迫对玉米幼苗的毒性,促进了玉米幼苗植株的生长和根系的发育,缓解了Ni和Cd胁迫导致的损伤。

2.4 复合菌对玉米幼苗Ni和Cd胁迫的解毒机理

2.4.1 复合菌对玉米幼苗吸收Ni和Cd的影响

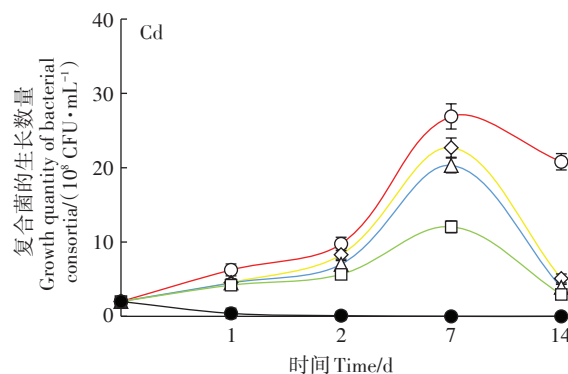
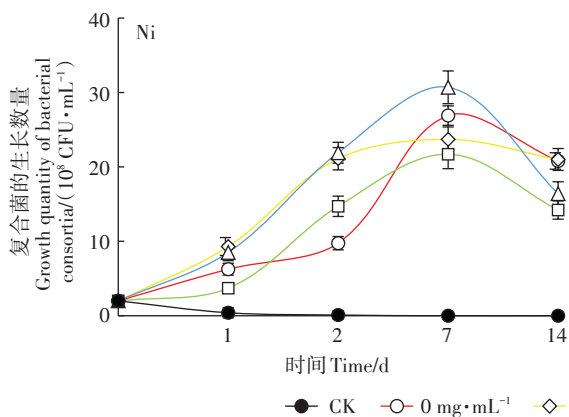
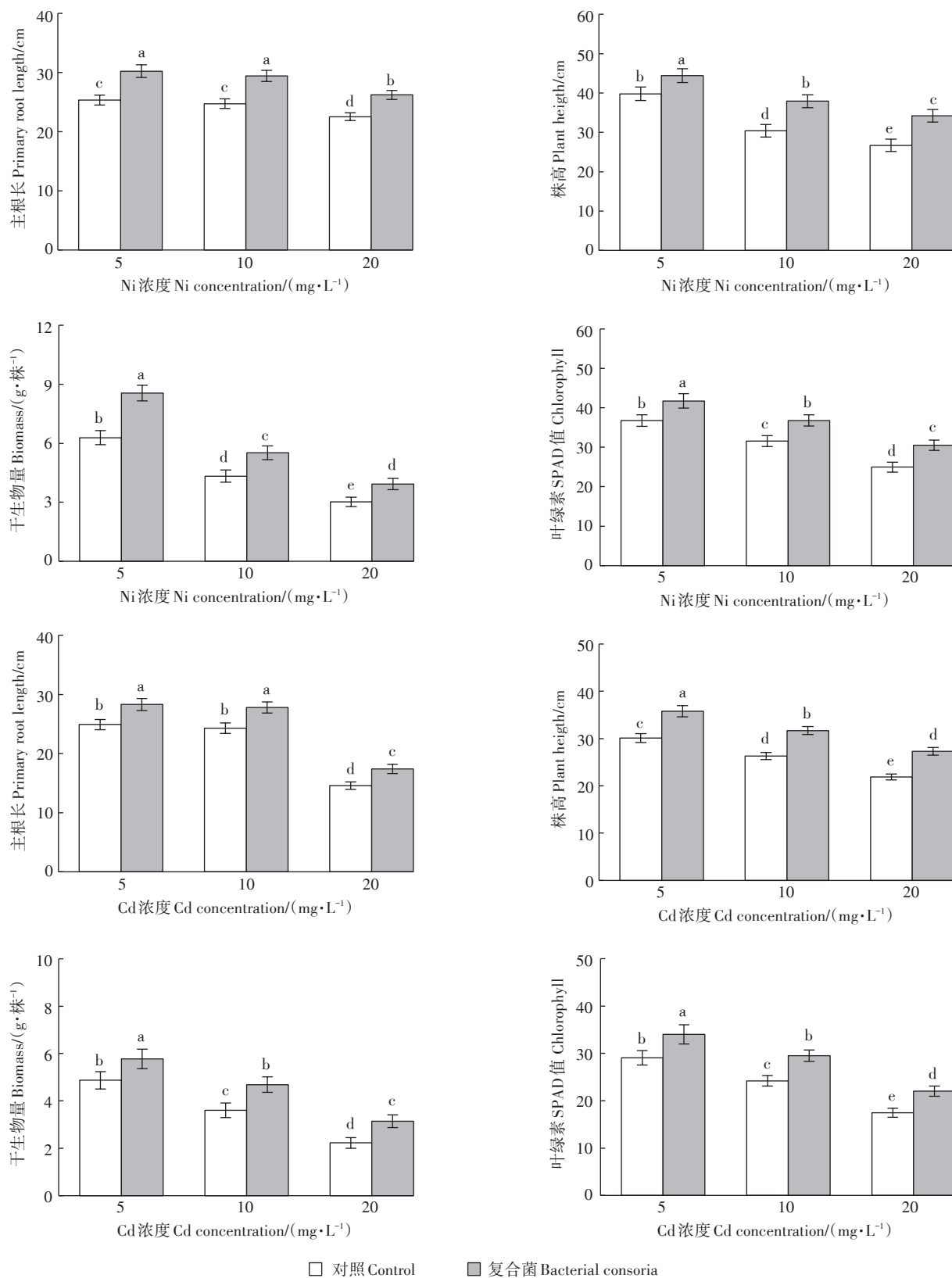


图2 Ni和Cd胁迫下复合菌的生长数量

Figure 2 Growth of bacterial consortia under Ni and Cd stress



不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同

Different lowercase letters indicate significant differences among different treatments ($P < 0.05$). The same below

图3 Ni和Cd胁迫下复合菌对玉米幼苗生长的影响

Figure 3 Effects of bacterial consortia on maize seedling growth under Ni and Cd stress

不同处理下,玉米幼苗各部位Ni和Cd的含量如图4所示。Ni浓度为5、10、20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,复合菌使玉米幼苗根部的Ni含量分别比对照降低了15.1%、15.8%、21.7%,使玉米幼苗茎叶部的Ni含量分别比对照降低了42.2%、37.0%、35.1%;Cd浓度为5、10、20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,使玉米幼苗根部的Cd含量分别比对照降低了16.4%、15.1%、21.2%;使玉米幼苗茎叶部的Cd含量分别比对照降低了25.8%、27.2%、28.4%。

2.4.2 复合菌对玉米幼苗叶片Ni和Cd形态分布和亚细胞分布的影响

如图5可知,Ni和Cd浓度为5~20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,复合菌使玉米幼苗叶片内较高毒性形态(乙醇提取态和去离子水提取态)Ni的分布比例之和较对照降低了13.9%~21.5%,使较低毒性形态(氯化钠提取态、醋酸提取态、盐酸提取态和残渣态)Ni的分布比例之和增加了4.9%~12.1%;使玉米幼苗叶片中较高毒性形态Cd的分布比例之和降低了14.7%~20.3%,使较低毒性形态Cd的分布比例之和增加了4.2%~9.9%;使玉米幼苗叶片细胞器内Ni的分布比例与对照相比降低了12.1%~17.0%,使玉米幼苗叶片细胞器内Cd的分布比例降低了20.7%~29.3%。重金属在植物体内赋

存形态和在亚细胞水平上的选择性分布能够反映重金属的生物毒性、迁移活性以及植物对重金属的耐受程度,因此,通过促进植物体内高毒性形态重金属向低毒性形态的转化,增强植物细胞内部对重金属进行隔离或转运的区隔化效应有利于减弱重金属对植物的生物毒性,已被认为是重金属毒害减弱的重要机理^[31-33]。本研究结果表明,复合菌通过促使玉米幼苗叶片内Ni和Cd向低毒性、低迁移性的形态转化,增强了玉米幼苗叶片细胞壁对Ni和Cd的固持截留和叶片可溶性部分对Ni和Cd的螯合等过程,从而减弱了Ni和Cd在玉米体内的胁迫强度,降低了Ni和Cd的生物毒性和有效性。

2.4.3 复合菌对玉米幼苗茎叶部金属元素含量的影响

较高浓度的重金属能够减弱植物对营养元素的吸收能力,导致作物缺乏某些营养元素。对玉米幼苗茎叶部的Ca、Mg、Cu、Zn含量进行测定,结果如表1所示。随着Ni和Cd浓度的升高,玉米幼苗茎叶部的Ca、Mg、Cu、Zn含量逐渐降低,说明Ni和Cd胁迫显著抑制了玉米幼苗对培养液中Ca、Mg、Cu、Zn的吸收。但与对照相比,复合菌则能够明显增加玉米幼苗茎叶部Mg的含量,对其他金属元素的含量无明显影响。

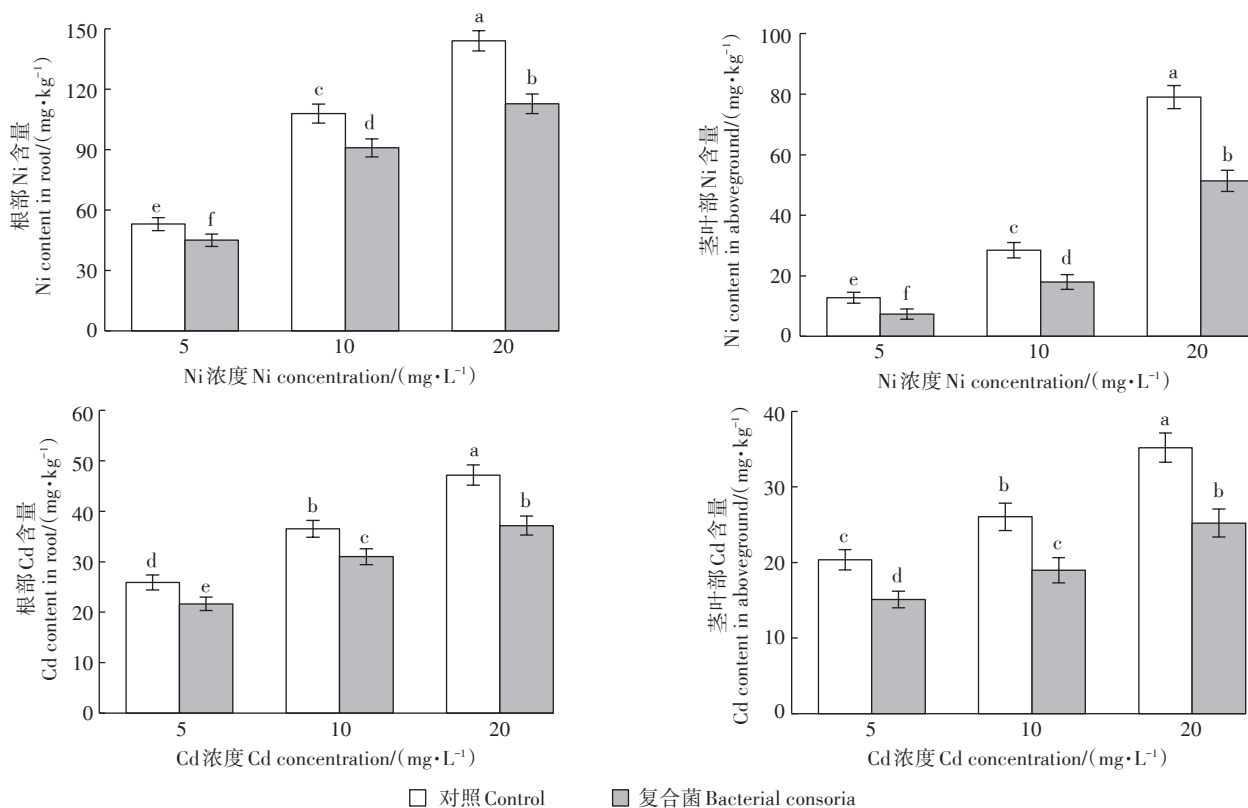


图4 复合菌对玉米幼苗Ni和Cd含量的影响

Figure 4 Effects of bacterial consortia on Ni and Cd content in maize seedlings

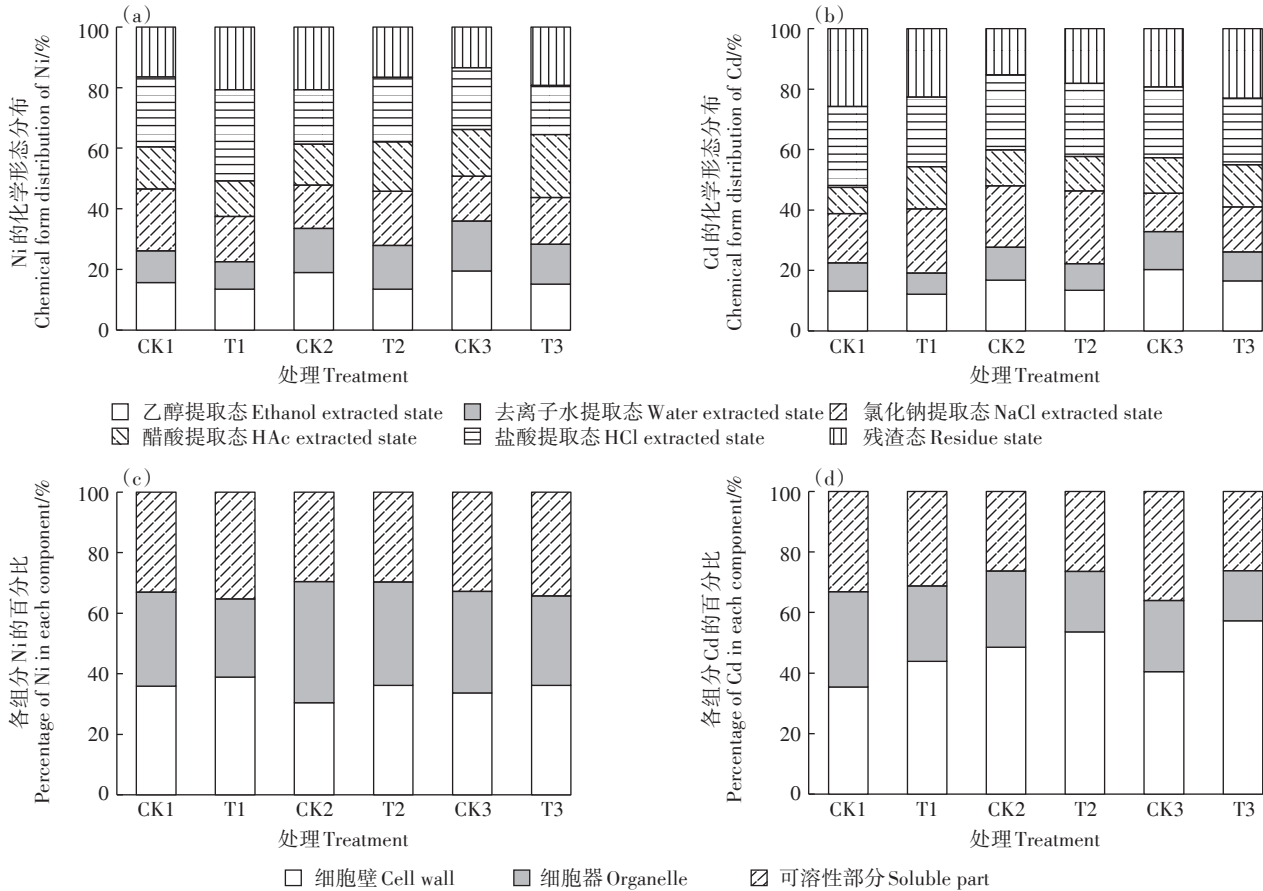


图5 复合菌对玉米幼苗叶片 Ni 和 Cd 形态分布和亚细胞分布的影响

Figure 5 Effects of bacterial consortia on the morphological distribution and subcellular distribution of Ni and Cd in leaves of maize

表 1 不同处理下玉米幼苗茎叶部金属元素的含量

Table 1 Contents of metal elements in the aboveground of maize seedlings under different treatments

重金属 Heavy metal	浓度 Concentration/(mg·L ⁻¹)	处理 Treatment	Ca 含量 Ca content/(mg·kg ⁻¹)	Mg 含量 Mg content/(mg·kg ⁻¹)	Cu 含量 Cu content/(mg·kg ⁻¹)	Zn 含量 Zn content/(mg·kg ⁻¹)
Ni	5	CK1	116.8±1.94a	417.7±4.27b	56.6±0.94a	24.8±0.48a
		T1	118.0±2.18a	505.4±5.69a	57.5±1.06a	24.6±0.41a
	10	CK2	86.8±1.76b	277.6±3.94c	37.3±0.88b	21.0±0.31a
		T2	89.6±1.91b	385.9±5.40b	38.7±0.79b	21.6±0.35a
	20	CK3	80.2±1.68c	222.2±3.56d	32.2±0.62c	4.1±0.25b
		T3	81.0±1.51c	275.7±3.77c	33.3±0.67c	4.5±0.29b
Cd	5	CK1	163.6±1.21a	561.8±5.13b	73.8±1.05a	31.0±0.61a
		T1	167.3±1.38a	726.9±5.71a	70.3±0.99a	31.4±0.64a
	10	CK2	113.2±1.11b	437.8±4.49d	61.2±0.78b	24.8±0.45b
		T2	116.0±1.09b	487.6±4.76c	61.9±0.69b	24.1±0.36b
	20	CK3	80.3±0.56c	245.2±2.55f	24.2±0.37c	13.7±0.26c
		T3	81.1±1.18c	333.2±3.48e	24.0±0.48c	16.7±0.33c

注:同一列小写字母不同表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences among treatments ($P<0.05$). The same below.

相较于对照, Ni 浓度为 5、10、20 mg·L⁻¹ 时, 复合菌处理玉米幼苗茎叶部 Mg 的含量分别增加了 21.0%、39.0%、24.1%; 相较于对照, Cd 浓度为 5、10、20 mg·L⁻¹ 时, 复合菌处理玉米幼苗茎叶部 Mg 的含量分别增

加了29.4%、11.4%、35.9%。有研究表明,某些具有特定功能的微生物可以通过提高植物对必需营养元素的吸收来改善植物对养分的获取,从而增强植物对重金属的抗性^[34]。Mg作为参与植物光合作用的必需金属元素之一,能够调节植物生长,并且Mg还与多种重金属离子存在竞争关系,能通过减少植物对重金属离子的吸收来提高其抵御重金属胁迫的能力,对受重金属胁迫的植物具有调控作用^[35-37]。本研究表明在复合菌的作用下玉米幼苗通过吸收更多的Mg来降低其对Ni和Cd的吸收,从而降低了Ni和Cd的毒性。

2.4.4 玉米幼苗茎叶部金属元素含量与Ni和Cd含量的相关性分析

由表2可知,玉米幼苗茎叶部Ni含量与Mg含量之间

呈显著负相关($r=-0.874, P<0.05$),与Zn含量呈极显著负相关($r=-0.941, P<0.01$);玉米幼苗茎叶部Cd含量与Mg含量之间呈显著负相关($r=-0.914, P<0.05$),与Zn含量之间呈显著负相关($r=-0.846, P<0.05$)。

2.4.5 Mg对玉米幼苗Ni和Cd胁迫的缓解作用

从图6可以看出,复合菌促进了Ni和Cd胁迫浓度均为 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时玉米幼苗对培养液中Mg的吸收,随着Mg浓度的提高,复合菌进一步降低了玉米幼苗对Ni和Cd的吸收,增强了对Mg的吸收。Mg浓度为 $0\sim 2.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时复合菌可使玉米幼苗茎叶部Ni的含量比对照降低了17.8%~38.2%,Mg浓度为 $0.5\sim 2.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的玉米幼苗茎叶部的Mg含量比对照增加了33.7%~40.0%;Mg浓度为 $0\sim 2.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时复合菌可使玉米幼苗

表2 玉米幼苗茎叶部金属元素含量与Ni和Cd含量的相关性分析($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

Table 2 Correlation analysis between the content of metal elements and the content of Ni and Cd in the shoots of maize seedlings ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

	Ca 含量 Ca content	Mg 含量 Mg content	Cu 含量 Cu content	Zn 含量 Zn content
Ni 含量 Ni content	-0.774	-0.874*	-0.783	-0.941**
Cd 含量 Cd content	-0.793	-0.914*	-0.777	-0.846*

注:*表示相关性显著($P<0.05$, 双尾),**表示相关性极显著($P<0.01$, 双尾)。

Note: * indicates significant correlation ($P<0.05$, two tailed test), ** indicates extremely significant correlation ($P<0.01$, two tailed test).

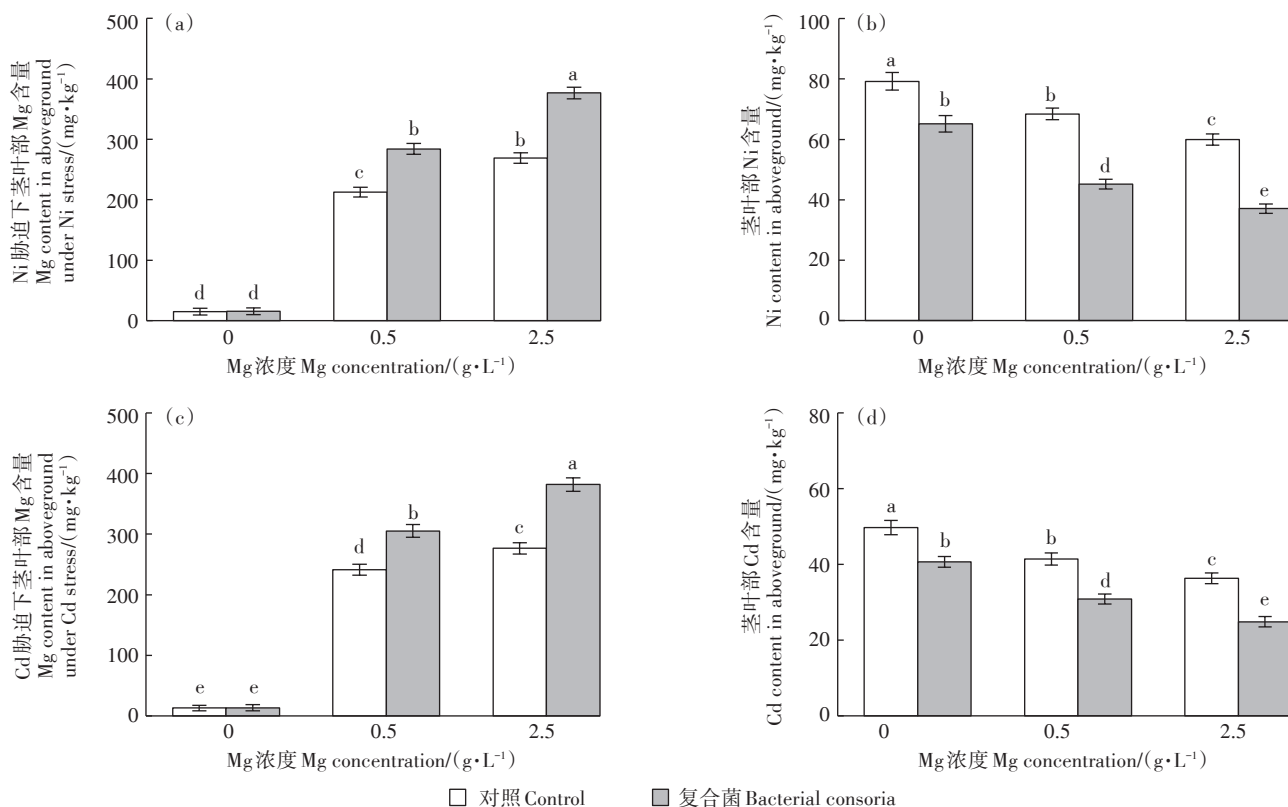


图6 Mg浓度对玉米幼苗Ni和Cd含量的影响

Figure 6 Effects of Mg on Ni and Cd contents of maize seedlings

茎叶部Cd的含量较对照降低了18.3%~31.6%,Mg浓度为0.5~2.5 g·L⁻¹时可使玉米幼苗茎叶部Mg的含量较对照增加了26.5%~38.0%。这表明复合菌可通过提高对Mg的吸收来降低对Ni和Cd的吸收,增强对玉米幼苗Ni和Cd胁迫的解毒作用,这可能是由于复合菌产铁载体所介导的营养元素与重金属离子的竞争机制。如GUO等^[38]研究发现,Cd胁迫下,利用具有铁载体分泌能力的菌株YL-6显著促进了大豆叶片对Mg的吸收,并显著降低了Cd的含量。复合菌的这一作用机理仍有待进一步研究。

3 结论

(1)沙福芽孢杆菌N4和鞣丸酮丛毛单胞菌ZG2组成的复合菌能够生长定殖在Ni和Cd浓度范围为5~20 mg·L⁻¹的玉米幼苗水培体系中,提高了Ni和Cd胁迫下玉米幼苗的株高、主根长、干生物量以及叶绿素值。

(2)复合菌通过降低玉米幼苗对Ni和Cd的吸收,降低叶片中高毒性形态Ni和Cd的分布比例以及降低Ni和Cd在叶片细胞器中的分布比例来降低Ni和Cd对玉米幼苗的毒性作用。

(3)复合菌可通过进一步增强玉米幼苗对Mg的吸收来降低其对Ni和Cd的吸收,从而降低了Ni和Cd对玉米幼苗的毒性作用。

参考文献:

- [1] HUANG Y, WANG L, WANG W, et al. Current status of agricultural soil pollution by heavy metals in China: A meta-analysis[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 651(2):3034–3042.
- [2] AHMAD M S A, ASHRAF M, HUSSAIN M. Phytotoxic effects of nickel on yield and concentration of macro-and micro-nutrients in sunflower (*Helianthus annuus* L.) achenes[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 185(2/3):1295–1303.
- [3] HAIDER F U, CAI L Q, COULTER J A, et al. Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 211:111887.
- [4] 刘建华, 贾丽, 张璐, 等. 吉林省镍矿区玉米体内重金属累积分布规律及其与土壤重金属含量的关系[J]. *环境保护与循环经济*, 2015, 35(5):48–52, 58. LIU J H, JIA L, ZHANG L, et al. The accumulation and distribution of heavy metals in maize in the nickel mining area of Jilin Province and its relationship with the total amount of heavy metals in soil[J]. *Environmental Protection and Circular Economy*, 2015, 35(5):48–52, 58.
- [5] FIOROTO A M, ALBUQUERQUE L G R, CARVALHO A A C, et al. Hydroponic growth test of maize sprouts to evaluate As, Cd, Cr and Pb translocation from mineral fertilizer and As and Cr speciation[J]. *Envi-*

ronmental Pollution, 2020, 262:114216.

- [6] 王文斌. 玉米幼苗对镉胁迫的响应及硅对镉毒性的缓解作用研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2014:35–36. WANG W B. Response of maize seedlings to cadmium stresses and mitigation effects of silicon on cadmium toxicity[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2014:35–36.
- [7] 王平平. 镍对玉米幼苗生长及DNA损伤效应的影响研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2015:33–34. WANG P P. Study on the growth and DNA damage of maize seedling treated with nickel[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2015:33–34.
- [8] 张珂, 厉萌萌, 刘德权, 等. 镉胁迫对小麦、玉米种子萌发及幼苗生长的影响[J]. *种子*, 2019, 38(5):90–94. ZHANG K, LI M M, LIU D Q, et al. Effects of cadmium stress on seed germination and seedling growth of wheat and maize[J]. *Seed*, 2019, 38(5):90–94.
- [9] VERMA S, KUILA A. Bioremediation of heavy metals by microbial process[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2019, 14:100369.
- [10] DARY M, CHANBER-PÉREZ M A, PALOMARES A J, et al. "In situ" phytostabilisation of heavy metal contaminated soils using *Lupinus luteus* inoculated with metal resistant plant-growth promoting rhizobacteria[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 177(1/2/3):323–330.
- [11] LIU P, ZHANG Y, TANG Q, et al. Bioremediation of metal-contaminated soils by microbially-induced carbonate precipitation and its effects on ecotoxicity and long-term stability[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2021, 166:107856.
- [12] OLEŃSKA E, MAŁEK W, WÓJCIK M, et al. Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: A methodical review[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 743:140682.
- [13] MARQUES A P G C, MOREIRA H, FRANCO A R, et al. Inoculating *Helianthus annuus* (sunflower) grown in zinc and cadmium contaminated soils with plant growth promoting bacteria: Effects on phytoremediation strategies[J]. *Chemosphere*, 2013, 92(1):74–83.
- [14] KUMARI D, PAN X L, LEE D J, et al. Immobilization of cadmium in soil by microbially induced carbonate precipitation with *Exiguobacterium undae* at low temperature[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2014, 94:98–102.
- [15] SARKAR J, CHAKRABORTY U, CHAKRABORTY B. High-temperature resilience in *Bacillus safensis* primed wheat plants: A study of dynamic response associated with modulation of antioxidant machinery, differential expression of HSPs and osmolyte biosynthesis[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2021, 182:104315.
- [16] DHANARANI S, VISWANATHAN E, PIRUTHIVIRAJ P, et al. Comparative study on the biosorption of aluminum by free and immobilized cells of *Bacillus safensis* KTSMBNL 26 isolated from explosive contaminated soil[J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2016, 69:61–67.
- [17] ZHU G, ZHANG Y M, CHEN S Y, et al. How bioaugmentation with *Comamonas testosteroni* accelerates pyridine mono-oxygenation and mineralization[J]. *Environmental Research*, 2021, 193:110553.
- [18] SHI Z, QI X, ZENG X A, et al. A newly isolated bacterium *Comamonas* sp. XL8 alleviates the toxicity of cadmium exposure in rice seed-

- lings by accumulating cadmium[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 403:123824.
- [19] 龚诚君,周昕霏,杨昶,等.产IAA菌与生物炭对镍和镉复合污染土壤的修复[J]. *环境科学与技术*, 2021, 44(5):140-147. GONG C J, ZHOU X F, YANG Y, et al. Remediation of Ni and Cd contaminated soil by IAA producing bacteria and biochar[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 44(5):140-147.
- [20] ZHOU X F, YANG Y, YIN Q X, et al. Application potential of *Comamonas testosteroni* ZG2 for vegetable cultivation in nickel and cadmium polluted soil[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2021, 23:101626.
- [21] CHIANG P J, TSENG M J, HE Z S, et al. Automated counting of bacterial colonies by image analysis[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2015, 108:74-82.
- [22] 闫雷,朱园辰,陈辰,等.镉在黄瓜幼苗中的化学形态及亚细胞分布[J]. *农业环境科学学报*, 2019, 38(8):1864-1871. YAN L, ZHU Y C, CHEN C, et al. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in cucumber seedlings[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(8):1864-1871.
- [23] WU F B, DONG J, QIAN Q Q, et al. Subcellular distribution and chemical form of Cd and Cd-Zn interaction in different barley genotypes[J]. *Chemosphere*, 2005, 60(10):1437-1446.
- [24] 王亚,冯发运,葛静,等.植物根系分泌物对土壤污染修复的作用及影响机理[J]. *生态学报*, 2022, 42(3):829-842. WANG Y, FENG F Y, GE J, et al. Effect and mechanisms of plant root exudates on soil remediation[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, 42(3):829-842.
- [25] CANARINI A, KAISER C, MERCHANT A, et al. Root exudation of primary metabolites: Mechanisms and their roles in plant responses to environmental stimuli[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 21(10):157.
- [26] KOZDRÓJ J, ELSAS J D V. Response of the bacterial community to root exudates in soil polluted with heavy metals assessed by molecular and cultural approaches[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(10):1405-1417.
- [27] ZHANG Y, REN J, WANG W, et al. Siderophore and indolic acid production by *Paenibacillus tritici* BJ-18 and their plant growth-promoting and antimicrobial abilities[J]. *PeerJ*, 2020, 8(2):e9403.
- [28] VERBON E H, LIBERMAN L M. Beneficial microbes affect endogenous mechanisms controlling root development[J]. *Trends in Plant Science*, 2016, 21(3):218-229.
- [29] PAYNE A N, DICHRISTIN T J. A rapid mutant screening technique for detection of technetium [Tc(VII)] reduction-deficient mutants of *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2010, 259(2):282-287.
- [30] LI M, CHENG X, GUO H. Heavy metal removal by biomineralization of urease producing bacteria isolated from soil[J]. *International Biodegradation & Biodegradation*, 2013, 76:81-85.
- [31] 朱政清,白维晓,汤雯婷,等.内生真菌FXZ2对玉米生长及重金属累积的影响[J]. *西南农业学报*, 2021, 34(1):131-136. ZHU Z Q, BAI W X, TANG W T, et al. Growth and heavy metal accumulation of maize affected by endophyte FXZ2[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 34(1):131-136.
- [32] 卞威尔斯,闫家普,崔良,等.施硒对花生镉吸收与抗性及化学形态的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2018, 37(6):1094-1101. BIAN W L S, YAN J P, CUI L, et al. The effect of selenium on cadmium accumulation, chemical forms and the resistance of peanuts[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(6):1094-1101.
- [33] YANG T, CHEN M, WANG J. Genetic and chemical modification of cells for selective separation and analysis of heavy metals of biological significance[J]. *TRAC Trends in Analytical Chemistry*, 2015, 66:90-102.
- [34] MA Y, OLIVEIRA R S, FREITAS H, et al. Biochemical and molecular mechanisms of plant-microbe-metal interactions: Relevance for phytoremediation[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7:918.
- [35] PICCINI D F, MALAVOLTA E. Effect of nickel on two common bean cultivars[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1992, 15(11):2343-2350.
- [36] ABULKASHEM M, KAWAI S. Alleviation of cadmium phytotoxicity by magnesium in Japanese mustard spinach[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2007, 53(3):246-251.
- [37] HERMANS C, CHEN J, COPPENS F, et al. Low magnesium status in plants enhances tolerance to cadmium exposure[J]. *New Phytologist*, 2011, 192(2):428-436.
- [38] GUO J, CHI J. Effect of Cd-tolerant plant growth-promoting rhizobium on plant growth and Cd uptake by *Lolium multiflorum* Lam. and *Glycine max* (L.) Merr. in Cd-contaminated soil[J]. *Plant and Soil*, 2014, 375(1/2):205-214.

(责任编辑:叶飞)