

土壤灭菌和杀真菌剂对紫花苜蓿生长和重金属累积的影响

何永美, 杨志新, 秦丽, 李成学, 祖艳群, 湛方栋*

(云南农业大学资源与环境学院, 昆明 650201)

摘要:以云南会泽铅锌矿周边重金属污染的农田土壤为基质,开展室内盆栽试验,研究土壤灭菌和杀真菌剂(苯菌灵)对紫花苜蓿的生长、光合色素含量、部分抗氧化生理、重金属含量与累积量的影响。结果表明:土壤灭菌显著影响苜蓿的抗氧化生理,导致巯基含量减少54%,丙二醛含量增加44%;显著降低光合色素含量和植株的生长,叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素含量分别下降27%、23%和30%,株高降低45%,地上部和地下部生物量分别减少74%和85%;土壤灭菌和施用苯菌灵均显著增加土壤有效Pb含量和苜蓿地下部Pb的含量,减少苜蓿地下部Zn的含量;土壤灭菌还显著增加苜蓿地上部Cd的含量;土壤灭菌极显著减少苜蓿对重金属的累积,植株Pb、Zn、Cd和Cu的累积量分别下降74%、78%、68%和76%;施用苯菌灵对苜蓿生长、抗氧化生理及重金属累积的影响均不显著。总之,完全消除土壤微生物明显降低了苜蓿对重金属的耐性与累积能力,土壤微生物对植物耐受重金属有重要作用。

关键词:土壤灭菌;苯菌灵;生物量;抗氧化生理;重金属累积

中图分类号:X503.23 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2015)04-0646-07 **doi:**10.11654/jaes.2015.04.006

Effects of Soil Sterilization and Fungicide Application on Growth and Heavy Metal Accumulation of Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

HE Yong-mei, YANG Zhi-xin, QIN Li, LI Cheng-xue, ZU Yan-qun, ZHAN Fang-dong*

(College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: Research has shown that soil microbes have profound impacts on plant tolerance to heavy metals. A greenhouse experiment was carried out to investigate the effects of soil sterilization and fungicide (benomyl) application on growth, antioxidant physiology and heavy metal accumulation of alfalfa (*Medicago sativa* L.) grown in heavy metals-polluted soils from a lead-zinc mining area of Huize, Yunnan Province. Soil sterilization significantly increased malondialdehyde (MDA) content by 44%, but decreased -SH content by 54%, chlorophyll a by 27%, chlorophyll b by 23%, and carotenoid content by 30%. Plant height, shoot biomass and root biomass were also reduced by soil sterilization by 45%, 74% and 85%, respectively. Both soil sterilization and benomyl application led to a significant increase in available Pb in soils and Pb content in alfalfa roots but a decrease in Zn content in the roots. In addition, soil sterilization significantly increased Cd content of alfalfa shoots. The accumulation of Pb, Zn, Cd and Cu in alfalfa was significantly decreased by soil sterilization by 74%, 78%, 68% and 76%, respectively. Applying benomyl did not significantly affect growth, antioxidant physiology, and heavy metal accumulation of alfalfa. These results indicate that soil microbial elimination reduces plant's ability to tolerate and accumulate heavy metals.

Keywords: soil sterilization; benomyl; biomass; antioxidant physiology; heavy metal accumulation

随着社会与经济的发展,人类加大矿产开采、金属冶炼、废水排放等生产活动,导致日益严重的土壤

重金属污染问题^[1]。重金属的生物毒性强、污染土壤养分含量低等因素限制了绝大多数植物在重金属污染土壤上的生长^[2],导致其植被自然恢复困难,植被的自然演替过程缓慢,成为环境污染治理的重大难题^[3-4]。种植生长快速、能生物固氮、提高土壤氮素养分含量的豆科植物,能够促进重金属污染土壤上的植被重建,这成为重金属污染治理的重要举措之一^[5-6]。

收稿日期:2014-10-19

基金项目:国家自然科学基金(41461093和U1202236)

作者简介:何永美(1980—),女,云南大姚人,博士,主要从事环境生态研究。E-mail:heyongmei06@126.com

*通信作者:湛方栋 E-mail:zfd97@ynau.edu.cn

重金属污染胁迫条件下,土壤微生物对豆科植物生长和耐性有重要的作用,已有研究尤其关注了根瘤菌^[7-9]、丛枝菌根真菌(AMF)^[10-12]等有益微生物类群的生态功能。然而,除根瘤菌、AMF等有益微生物类群外,重金属污染土壤中还存在大量的其他微生物,它们经长期适应与进化,对重金属有很强的耐受性,这些土壤微生物对植物生长与重金属耐性的影响^[13-14]引起研究人员的广泛关注。以原状土壤为对照,采用高温灭菌杀死土壤微生物和施杀真菌剂抑制土壤真菌的试验方法,分析完全或部分抑制土壤微生物后,植物生长生理的变化,可间接反映土壤微生物的生态功能^[15],初步获悉土壤微生物在植物耐受环境胁迫中的作用^[16]。

本研究采集云南会泽铅锌矿周边农田原状土壤,采用高温灭菌杀死土壤中的微生物,定期连续施用杀真菌剂(苯菌灵)抑制土壤真菌,测定豆科植物——紫花苜蓿的株高、生物量、光合色素、丙二醛(MDA)、非蛋白巯基(NP-SH)、总抗氧化力(T-AOC)、重金属(Pb、Zn、Cd和Cu)含量、土壤有效态重金属含量等指标,研究土壤灭菌和施苯菌灵对紫花苜蓿生长、抗氧化生理和重金属累积的影响,分析重金属污染土壤中的微生物对植物耐受重金属的重要性,为促进污染土壤的植被重建提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤与植物

供试土壤为云南省会泽县者海镇铅锌冶炼厂周边重金属污染的农田土壤。土壤基本性质:土壤pH值为6.91,有机质含量为28.7 g·kg⁻¹,全N、全P和全K含量分别为2.2、2.5、6.5 g·kg⁻¹,碱解N、速效P和速效K含量分别为72.6、38.5、147.8 mg·kg⁻¹。土壤Pb、Zn、Cd和Cu含量分别为684.8、371.7、6.3、118.3 mg·kg⁻¹。

供试植物为紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.,简称苜蓿),由云南农业大学动物科学技术学院草业科学实验室提供种子。挑选大小一致且籽粒饱满的种子,用10% H₂O₂进行表面消毒10 min,再用蒸馏水冲洗多次,然后置于放有湿润滤纸的培养皿中,于25℃恒温培养箱中催芽3 d,种子露白后播种。

1.2 试验处理

试验设原状土壤、土壤灭菌、施加苯菌灵3个处理,每个处理重复3次。土壤灭菌采用高压蒸汽灭菌法,121℃维持2 h;灭菌土在室内敞开放置7 d后,用

于盆栽试验。参照常河等^[17]的方法,苯菌灵采用灌溉的方法施加,施用浓度为0.4 g·kg⁻¹,苜蓿出苗后的第7 d开始浇灌,每7 d浇灌50 mL苯菌灵溶液,试验期间浇灌11次;原状土壤和土壤灭菌处理浇灌同等体积的蒸馏水。

试验于2012年5月至7月在云南农业大学试验农场大棚内进行。每盆装土3.0 kg,播种苜蓿种子10颗,出苗7 d后间苗至6株。实验过程中不施肥,采用自然光照,期间根据盆栽土壤水分状况浇灌蒸馏水,以保持盆栽土壤湿润。

1.3 植株收获与指标测定

苜蓿生长2个月后,常规方法测定株高。采用80%丙酮提取、分光光度法测定叶片叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素的含量^[18]。采用南京建成生物工程研究所的试剂盒,分光光度法测定叶片可溶性蛋白、丙二醛(MDA)和非蛋白巯基(NP-SH)的含量,以及总抗氧化力(T-AOC)。

收获时将苜蓿地上和地下部分开,先用自来水冲洗,然后用蒸馏水漂洗干净,晾干,选取部分根样采用碱解离、酸性品红染色,方格交叉法测定菌根侵染率^[19]。其余部分经烘干(75℃,72 h),称重获得生物量。

由于苜蓿生物量较小,为了保证指标测定所需的样品量,试验将每盆苜蓿植株的地上部和地下部分别混合成1个样,并将植株样品磨碎。称取0.5 g磨碎的植株,硝酸-高氯酸(4:1)湿法消解,过滤后将滤液定容到50 mL,采用火焰原子吸收分光光度法测定植株Pb、Zn、Cd和Cu的含量^[20]。以0.5 g的石英砂做空白试验,以含Cd、Pb的国家标准物质紫菜(GBW08521)验证方法的准确度。

植物收获后,取盆中上部0.5~10 cm的土壤,采用DTPA(二乙基三胺五乙酸)-TEA(三乙醇胺)法提取有效态Pb、Zn、Cd和Cu,火焰原子吸收分光光度法测定含量^[20]。

1.4 数据处理与统计分析

实验数据运用Microsoft Excel对数据进行处理,计算平均值。用SPSS 22.0数据软件进行统计分析,用LSD法检验各处理平均值在0.05水平的差异性。

2 结果与分析

2.1 土壤灭菌和施苯菌灵对苜蓿菌根侵染、叶绿素含量与生长的影响

通过根系染色、显微镜检观察,原状土壤苜蓿根系AMF菌根侵染率高(43.3%),施苯菌灵处理有极轻

微的侵染(2.4%),土壤灭菌处理苜蓿根系未发现AMF的侵染。此外,原状土壤和施苯菌灵处理苜蓿根系形成根瘤,土壤灭菌处理的根系没有根瘤形成。

与原状土壤相比,土壤灭菌处理苜蓿的叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素的含量均显著下降($P<0.05$),分别下降了27%、23%和30%;施苯菌灵处理叶绿素b含量增加了18%,叶绿素a和类胡萝卜素的含量没有显著变化(表1)。

与原状土壤相比,土壤灭菌处理苜蓿的株高降低了45%,地上部和地下部生物量分别减少了74%和85%($P<0.05$);施苯菌灵处理的苜蓿株高、地上部和

地下部生物量均有所下降,但差异不显著(图1)。这表明重金属污染胁迫条件下,土壤中的微生物对苜蓿生长有明显的促进作用。

2.2 土壤灭菌和施苯菌灵对苜蓿部分抗氧化生理的影响

与原状土壤相比,施苯菌灵处理苜蓿的MDA和NP-SH含量没有显著变化,土壤灭菌处理的苜蓿MDA含量增加44%,NP-SH含量减少54%($P<0.05$);而T-AOC在各处理间差异不显著(图2)。这表明缺少土壤微生物会降低苜蓿体内巯基的合成,加大重金属对植物的氧化伤害。

2.3 土壤灭菌和施苯菌灵对苜蓿重金属含量的影响

与原状土壤相比,土壤灭菌处理的苜蓿地上部(表2)Cd含量显著增加($P<0.05$),增幅达22%。施苯菌灵和土壤灭菌处理的苜蓿地下部(表3)Pb含量分别增加8%和10%,Zn含量分别下降35%和30%($P<0.05$)。

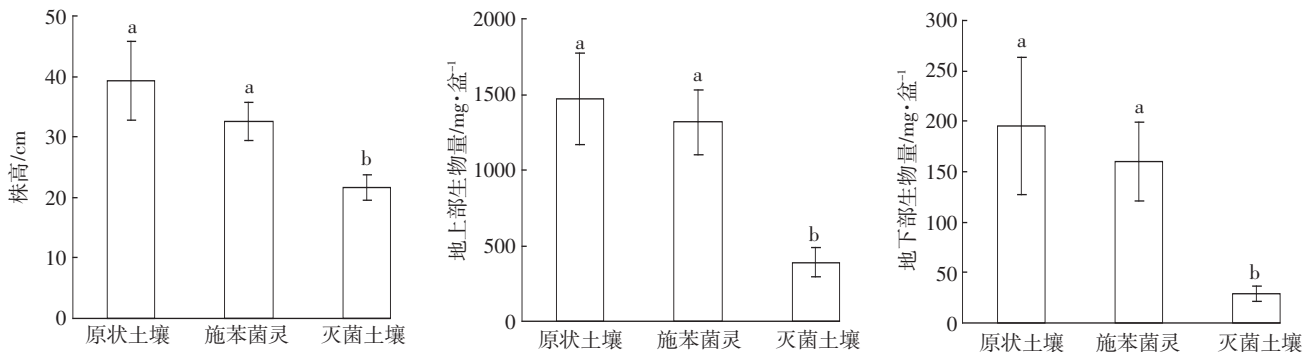
植物对重金属的累积量为重金属含量与植物生物量的乘积,由于土壤灭菌导致植物地上部和地下部

表1 苜蓿叶片光合色素的含量($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)

Table 1 Contents of photosynthetic pigments in leaves of alfalfa($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)

光合色素	原状土壤	施苯菌灵	土壤灭菌
叶绿素a	0.26±0.02a	0.29±0.03a	0.19±0.03b
叶绿素b	0.06±0.01b	0.08±0.01a	0.05±0.01c
类胡萝卜素	0.06±0.01a	0.06±0.01a	0.04±0.01b

注:处理间不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。



图中处理间标注的不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),下同

Different letters above columns indicate significant differences at $P<0.05$ level. Same as below

图1 土壤灭菌和施苯菌灵对苜蓿生长的影响

Figure 1 Effects of soil sterilization and benomyl application on growth of alfalfa

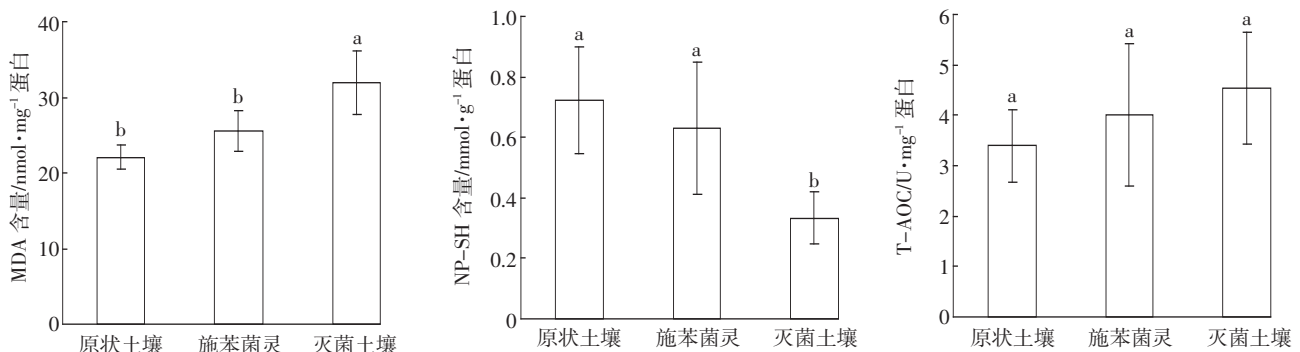


图2 土壤灭菌和施苯菌灵对苜蓿抗氧化生理的影响

Figure 2 Effects of soil sterilization and benomyl application on antioxidant physiological indexes of alfalfa

表 2 苜蓿地上部重金属的含量与累积量
Table 2 Contents and accumulation of heavy metals in aboveground part of alfalfa

元素	含量/mg·kg ⁻¹			累积量/μg·盆 ⁻¹		
	原状土壤	施苯菌灵	土壤灭菌	原状土壤	施苯菌灵	土壤灭菌
Pb	837.5±19.3a	857.3±14.9a	871.9±25.5a	1229.7±233.4a	1129.7±192.8a	339.4±87.2b
Zn	116.3±16.0a	135.0±24.7a	103.8±13.4a	173.1±37.7a	182.3±48.5a	40.9±12.7b
Cd	11.6±0.8b	13.1±0.9ab	14.2±1.3a	17.0±3.5a	17.4±3.6a	5.5±1.4b
Cu	118.9±7.4ab	135.0±15.7a	106.1±12.7b	176.1±442.1a	180.5±47.2a	42.2±15.4b

表 3 苜蓿地下部重金属的含量与累积量
Table 3 Contents and accumulation of heavy metals in belowground part of alfalfa

元素	含量/mg·kg ⁻¹			累积量/μg·盆 ⁻¹		
	原状土壤	施苯菌灵	土壤灭菌	原状土壤	施苯菌灵	土壤灭菌
Pb	733.8±17b	795.4±27a	809.9±21a	142.9±40.8a	128.2±24.8a	23.0±5.9b
Zn	82.5±11.5a	53.8±12.4b	57.5±7.5b	16.1±4.8a	8.7±3.1a	1.6±0.3b
Cd	33.7±3.1a	34.2±6.2a	31.2±3.9a	6.6±2.6a	5.4±1.5a	0.9±0.4b
Cu	63.4±6.5a	62.1±8.9a	80.1±13.9a	12.8±4.9a	10.0±3.2a	2.4±1.1b

生物量大幅下降,其对重金属的累积量也均显著减少($P<0.05$)。土壤灭菌处理苜蓿地上部(表 2)Pb、Zn、Cd 和 Cu 的累积量分别下降 72%、76%、68%和 76%,地下部(表 3)Pb、Zn、Cd 和 Cu 的累积量分别下降 84%、90%、86%和 81%,植株对所测得的各重金属总累积量分别下降 74%、73%、68%和 76%。施苯菌灵处理中重金属的含量与累积量均与原状土壤处理间没有显著差异。

2.4 土壤灭菌和施苯菌灵对盆栽土壤有效态重金属含量的影响

土壤灭菌和施苯菌灵处理的苜蓿盆栽土壤有效态 Pb 的含量分别增加 96%和 93%($P<0.05$);土壤有效态 Zn、Cd 和 Cu 的含量分别为 139.4~163.8、3.4~3.5、28.4~38.4 mg·kg⁻¹,处理间没有显著差异(表 4)。

3 讨论

3.1 高温灭菌和施苯菌灵对土壤性质的影响

高温灭菌法会改变土壤的理化性质(pH 值、阳离子含量、团聚体等)^[21-22]和某些元素(锰、磷等)的可溶态含量^[23]。高温灭菌对土壤理化性质的影响与土壤有机质、粘粒含量等因素关系密切,因土壤种类不同而

存在巨大差异^[24]。苯菌灵能够有效抑制土壤中 AMF 对植物的侵染,但连续施用苯菌灵也会影响土壤的理化性质,降低土壤的 pH 值和增加土壤氧化还原能力^[25]。然而,高温灭菌和施苯菌灵这两种方法具有操作简单、成本低等优点,因而经常被采用,主要在室内用于植物-土壤微生物、菌根生理生态功能的试验研究^[15]。

本研究中,土壤灭菌和施苯菌灵处理的土壤有效态 Pb 含量显著增加。这可能由于污染农田土壤中有有效态(可交换态和水溶态)Pb 含量低,潜在可利用态(碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态)Pb 含量高^[26],高温灭菌和连续施用苯菌灵导致农田土壤 pH 值下降,促进土壤中潜在可利用态 Pb 向有效态转化。土壤中不同种类重金属的性质和存在状态存在差异,Zn、Cd 等元素有效态含量占全量的比例较高,土壤 pH 值变化对这些元素有效态含量的影响可能较小。土壤是一个复杂的多物质体系,高温灭菌和施苯菌灵导致的土壤性质变化还有待进一步研究。

3.2 土壤微生物对植物耐受重金属的影响与机理

试验发现,高温灭菌杀死土壤微生物的处理显著降低了苜蓿对重金属的耐性,导致苜蓿 MDA 含量增加,光合色素、硫基含量和生长下降,而施杀真菌剂抑制土壤真菌的处理对苜蓿的生长与耐性生理的影响不显著。这表明土壤微生物,尤其是土壤细菌对苜蓿耐受重金属有重要的作用。已有研究表明,重金属胁迫条件下,土壤细菌能够显著改善植物的抗逆生理,促进植物的生长,是其增强植物重金属耐性的重要机理之一。如美洲黑杨接种一株植物根际促生细菌(Plant growth-promoting rhizobacteria,PGPR)*Agrobac-*

表 4 盆栽土壤有效态重金属含量(mg·kg⁻¹)
Table 4 Contents of available heavy metals in pot soil(mg·kg⁻¹)

元素	原状土壤	施苯菌灵	土壤灭菌
Pb	118.2±28.2b	228.4±15.7a	232.2±29.7a
Zn	163.8±23.3a	139.4±10.3a	155.3±28.4a
Cd	3.5±0.8a	3.5±0.2a	3.4±0.5a
Cu	30.5±5.4a	28.4±6.1a	38.4±7.2a

terium radiobacter, 使得植株叶绿素和可溶性糖含量增加, 过氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)的活性增强, MDA的含量下降, 提高了植物对砷的耐受性^[27]。Cu胁迫下, 接种慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium*)可显著降低白羽扇豆体内MDA和巯基的含量, 增加大豆体内MDA和巯基的含量, 但都减轻Cu对这2种豆科植物生长的毒害效应^[9]。Pb胁迫下, 接种四株耐Pb的土壤细菌可增强兵豆(*Lens culinaris*)的SOD和过氧化物酶的活性, 有助于宿主植物耐受Pb胁迫^[28]。

土壤微生物能够改善植物的营养, 这也是其增强植物重金属耐性的重要机理之一。Burd等^[29]报道超量分泌铁载体的克吕沃尔菌(*Kluyvera ascorbata*)突变体SUD 165/26菌株, 通过改善番茄、油菜和印度芥菜的铁素营养, 减轻Ni、Pb和Zn对这些植物的生长抑制效应。Cuo等^[30]发现一株耐Cd的PGPR可改善大豆 [*Glycine max* (L.) Merr.] 的Fe和Mg的营养, Yang等^[31]研究发现假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) DGS6菌株可改善玉米和太阳花P和Fe的营养。这些细菌均增强了植物对重金属的耐性。值得注意的是, 土壤中的根瘤菌, 通过共生固氮、分泌植物生长促进物质、激活抗逆生理等方式, 促进豆科植物的生长, 对于豆科植物耐受养分贫瘠和重金属污染胁迫起着重要的作用^[8]。例如, 黄羽扇豆(*Lupinus luteus* L.)接种慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium* sp.) 750菌株后形成固氮根瘤, 植物氮含量显著增加^[32]。本研究中土壤灭菌消除了根瘤菌, 苜蓿不能形成固氮根瘤, 可能是导致苜蓿生长显著下降、重金属毒害作用加重的重要原因之一。

此外, 土壤微生物分泌的吡啶乙酸等植物生长促进物质^[8], 也能显著改善植物在重金属污染土壤中的生长。例如, 耐Pb的土壤细菌分泌吡啶乙酸和铁载体, 显著促进兵豆在Pb胁迫下的生长^[28]。Cu胁迫下, 假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) TLC 6-6.5-4菌株通过分泌吡啶乙酸和溶磷作用, 显著增加玉米和太阳花的生物量^[33]。伯克氏菌(*Burkholderia* sp.) D54菌株分泌吡啶乙酸、铁载体、ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate, 1-氨基环丙烷-1-羧酸) 脱氨酶等物质, 显著增加东南景天(*Sedum alfredii*)的生物量^[34]。假单胞菌DGS6菌株分泌吡啶乙酸和ACC脱氨酶, 也被认为是促进玉米和太阳花生长的原因所在^[31]。

3.3 土壤微生物对植物累积重金属的影响与机理

土壤微生物通过改变植物的生物量, 影响植物对重金属的累积量。植物的重金属累积量是重金属含量

乘以植物生物量, 土壤灭菌极显著降低苜蓿的生物量, 因而导致苜蓿对重金属的累积量极显著减少, 间接说明土壤微生物通过增加植物的生物量来增加植物的重金属累积量。如Wu等^[35]发现接种植物促生细菌对印度芥菜地上部Pb和Cd的含量没有显著影响, 但增加了印度芥菜地上部生物量, 从而显著增加印度芥菜对Pb和Cd的累积量。有研究表明, 假单胞菌TLC 6-6.5-4菌株^[33]和DGS6菌株^[31]会增加玉米和太阳花的生物量, 伯克氏菌D54菌株会增加东南景天的生物量^[34], 均导致植物对重金属的累积量显著增加。然而, 也有研究报道接种微生物虽然增加了植物的生物量, 却减少了植物对重金属的累积量。Dary等^[32]报道了混合接种慢生根瘤菌、假单胞菌和*Ochrobactrum cytisi*后, 黄羽扇豆植株地上部和地下部的生物量增加, 但Pb、Cd和Cu的累积量均下降。蚕豆(*Vicia faba*)接种4种PGPR的混合菌剂, 根系生物量增加26%, 而Cu的累积量降低35%^[36]。

此外, 土壤微生物通过分泌有机酸、铁载体、生物表面活性剂、胞外多糖和糖蛋白等物质, 增加或降低土壤重金属的生物有效性^[37], 也是其影响植物对重金属累积量的重要机理。试验发现, 土壤灭菌和施苯菌灵处理的土壤有效态Pb含量显著增加, 其他重金属有效态含量没有显著变化。这一方面与重金属的自身化学特性和土壤环境化学行为有关, 另一方面可能是由于重金属污染土壤中的微生物菌体具有吸附作用, 尤其是与植物共生的AMF菌丝对重金属离子具有很强的吸附固持作用^[38]; 或通过土壤微生物的溶磷作用, 增加土壤有效态磷含量, 进而间接通过磷素钝化重金属离子活性^[39], 降低土壤重金属离子的生物有效性。土壤灭菌和施苯菌灵抑制真菌的处理消除了菌体对Pb离子的钝化作用, 因而导致土壤Pb的生物有效性增加。

目前, 对重金属污染土壤的生物修复已引起国内外的广泛重视。该试验从土壤灭菌和杀真菌剂抑制真菌两方面, 探讨消除土壤微生物和抑制土壤真菌对苜蓿耐受和累积重金属的影响, 初步揭示了土壤微生物, 尤其是土壤细菌在苜蓿重金属耐性和吸收积累方面的作用。重金属污染土壤严重抑制植物的生长, 采用豆科植物进行植被重建是重金属污染土壤治理的研究热点之一^[6,8]。然而, 因重金属的生物毒性, 豆科植物存在生长受抑制的问题, 极大限制了植被重建的效率。在重金属严重污染的土壤中, 存在种类丰富、数量巨大的微生物。这些土壤微生物在胁迫条件下, 经长

期的适应与进化,不仅具有很强的重金属耐性,而且具有重要的生态学功能,显著影响植物的生长及其对重金属的耐性^[40]。因此,利用土壤中有利的微生物,尤其是能够与豆科植物共生的根瘤菌和AMF及促进植物生长的PGPR,促进植物的生长、增强豆科植物对重金属的耐性、强化重金属污染土壤的植被重建,具有重要的实践意义。

4 结论

土壤灭菌显著降低苜蓿光合色素含量和植株的生长,明显降低苜蓿对重金属的耐性与累积能力,施用苯菌灵对苜蓿生长、抗氧化生理及重金属累积的影响均不显著,间接验证了土壤细菌对豆科植物耐受重金属有重要作用。因此,利用豆科植物进行重金属污染土壤的植被重建,应考虑如何利用土壤细菌的有益作用,促进植物的生长,强化植被重建的效果。

参考文献:

- [1] He B, Yun Z, Shi J, et al. Research progress of heavy metal pollution in China: Sources, analytical methods, status, and toxicity[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2013, 58(2): 134-140.
- [2] Nagajyoti P C, Lee K D, Sreekanth T. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review[J]. *Environmental Chemistry Letters*, 2010, 8(3): 199-216.
- [3] 林文杰, 肖唐付, 敖子强, 等. 黔西北土法炼锌废弃地植被重建的限制因子[J]. *应用生态学报*, 2007, 18(3): 631-635.
LIN Wen-jie, XIAO Tang-fu, AO Zi-qiang, et al. Limiting factors of waste land revegetation in indigenous zinc smelting areas of western Guizhou[J]. *Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(3): 631-635.
- [4] Sheoran V, Sheoran A S, Poonia P. Soil reclamation of abandoned mine land by revegetation: A review[J]. *International Journal of Soil, Sediment and Water*, 2010, 3(2): 13.
- [5] Alkorta I, Becerril J M, Garbisu C. Phytostabilization of metal contaminated soils[J]. *Reviews on Environmental Health*, 2010, 25(2): 135-146.
- [6] 张志权, 束文圣, 廖文波, 等. 豆科植物与矿业废弃地植被恢复[J]. *生态学杂志*, 2002, 21(2): 47-52.
ZHANG Zhi-quan, SHU Wen-sheng, LIAO Wen-bo, et al. Role of legume species in revegetation of mined wastelands[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2002, 21(2): 47-52.
- [7] 韦革宏, 马占强. 根瘤菌-豆科植物共生体系在重金属污染环境修复中的地位、应用及潜力[J]. *微生物学报*, 2010, 50(11): 1421-1430.
WEI Ge-hong, MA Zhan-qiang. Application of rhizobia-legume symbiosis for remediation of heavy-metal contaminated soils[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, 50(11): 1421-1430.
- [8] Hao X, Taghavi S, Xie P, et al. Phytoremediation of heavy and transition metals aided by legume-rhizobia symbiosis[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2014, 16(2): 179-202.
- [9] Sanchez-Pardo B, Zornoza P. Mitigation of Cu stress by legume-rhizobium symbiosis in white lupin and soybean plants[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2014, 102: 1-5.
- [10] de Rangel W M, Schneider J, de Costa E T S, et al. Phytoprotective effect of arbuscular mycorrhizal fungi species against arsenic toxicity in tropical leguminous species[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2014, 16(7-8): 840-858.
- [11] Gomes M P, Andrade M L, Nascentes C C, et al. Arsenic root sequestration by a tropical woody legume as affected by arbuscular mycorrhizal fungi and organic matter: Implications for land reclamation[J]. *Water, Air & Soil Pollution*, 2014, 225(4): 1-12.
- [12] 黄晶, 凌婉婷, 孙艳娣, 等. 丛枝菌根真菌对紫花苜蓿吸收土壤中镉和锌的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2012, 31(1): 99-105.
HUANG Jing, LING Wan-ting, SUN Yan-di, et al. Impacts of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on the uptake of cadmium and zinc by alfalfa in contaminated soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(1): 99-105.
- [13] Khan M S, Zaidi A, Wani P A, et al. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils[J]. *Environmental Chemistry Letters*, 2009, 7(1): 1-19.
- [14] Adams G O, Tawari-Fufeyin P, Igelenyah E, et al. Assessment of heavy metals bioremediation potential of microbial consortia from poultry litter and spent oil contaminated site[J]. *International Journal*, 2014, 2(2): 84-92.
- [15] 谢越, 杨高文, 周翰舒, 等. 丛枝菌根真菌研究中土壤灭菌方法综述[J]. *草业科学*, 2012, 29(5): 724-732.
XIE Yue, YANG Gao-wen, ZHOU Han-shu, et al. A review on methods of sterilization and inhibition of arbuscular mycorrhizal fungi in soil[J]. *Pratacultural Science*, 2012, 29(5): 724-732.
- [16] 陈桂葵, 骆世明, 黎华寿, 等. 灭菌和非灭菌土壤中高氯酸盐污染对水稻幼苗的影响[J]. *环境科学研究*, 2014, 27(11): 1285-1291.
CHEN Gui-kui, LUO Shi-ming, LI Hua-shou, et al. Rice seedling responses to perchlorate in sterilized or non-sterilized soil[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2014, 27(11): 1285-1291.
- [17] 常河, 朱红惠, 陈杰忠, 等. 土著AM真菌对荔枝实生苗生长和光合特性的影响[J]. *热带作物学报*, 2009(7): 912-917.
CHANG He, ZHU Hong-hui, CHEN Jie-zhong, et al. Influence of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi on growth and photosynthesis of litchi seedlings[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2009(7): 912-917.
- [18] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
LI He-sheng. Principles and techniques of plant physiology biochemical experiment[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.
- [19] Berch S M, Kendrick B. Vesicular-arbuscular mycorrhizae of southern Ontario ferns and fern-allies[J]. *Mycologia*, 1982, 74(5): 769-776.
- [20] 鲍士旦. 土壤农业化学分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
BAO Shi-dan. Soil agrochemistry analysis[M]. 3rd edition. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2000.
- [21] Trevors J T. Sterilization and inhibition of microbial activity in soil[J].

- Journal of Microbiological Methods*, 1996, 26(1):53–59.
- [22] Egli M, Mirabella A, Kagi B, et al. Influence of steam sterilisation on soil chemical characteristics, trace metals and clay mineralogy[J]. *Geoderma*, 2006, 131(1):123–142.
- [23] Mahmood T, Mehnaz S, Fleischmann F, et al. Soil sterilization effects on root growth and formation of rhizosheaths in wheat seedlings[J]. *Pedobiologia*, 2014, 57(3):123–130.
- [24] 张辉, 张佳宝, 赵炳梓, 等. 高温高压间歇灭菌对中国典型土壤性质的影响[J]. 土壤学报, 2011, 48(3):540–548.
ZHANG Hui, ZHANG Jia-bao, ZHAO Bing-zi, et al. Influence of autoclaving sterilization on properties of typical soils in China[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2011, 48(3):540–548.
- [25] Welsh A K, Burke D J, Hamerlynck E P, et al. Seasonal analyses of arbuscular mycorrhizae, nitrogen-fixing bacteria and growth performance of the salt marsh grass *Spartina patens*[J]. *Plant and soil*, 2010, 330(1–2):251–266.
- [26] 李瑞萍, 王安建, 曹殿华, 等. 云南兰坪金顶铅锌矿区土壤中 Pb 分布特征[J]. 地球学报, 2009, 30(1):72–78.
LI Rui-ping, WANG An-jian, CAO Dian-hua, et al. Distribution of Pb in soils of the Jinding Pb–Zn deposit, Lanping, Yunnan Province[J]. *Acta Geoscientia Sinica*, 2009, 30(1):72–78.
- [27] Wang Q, Xiong D, Zhao P, et al. Effect of applying an arsenic-resistant and plant growth-promoting rhizobacterium to enhance soil arsenic phytoremediation by *Populus deltoides* LH05–17[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2011, 111(5):1065–1074.
- [28] Jebara S H, Saadani O, Fatnassi I C, et al. Inoculation of *Lens culinaris* with Pb-resistant bacteria shows potential for phytostabilization[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22:2537–2545.
- [29] Burd G I, Dixon D G, Glick B R. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2000, 46(3):237–245.
- [30] 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.
- [31] Yang R, Luo C, Chen Y, et al. Copper-resistant bacteria enhance plant growth and copper phytoextraction[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2013, 15(6):573–584.
- [32] Dary M, Chamber-Perez M A, Palomares A J, et al. "In situ" phytostabilisation of heavy metal polluted soils using *Lupinus luteus* inoculated with metal resistant plant-growth promoting rhizobacteria[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 177(1):323–330.
- [33] Li K, Ramakrishna W. Effect of multiple metal resistant bacteria from contaminated lake sediments on metal accumulation and plant growth[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 189(1):531–539.
- [34] Guo J, Tang S, Ju X, 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.
- [35] Wu S C, Cheung K C, Luo Y M, et al. Effects of inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria on metal uptake by *Brassica juncea*[J]. *Environmental Pollution*, 2006, 140(1):124–135.
- [36] Fatnassi I C, Chiboub M, Saadani O, et al. Phytostabilization of moderate copper contaminated soils using co-inoculation of *Vicia faba* with plant growth promoting bacteria[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2013, 53:1–9.
- [37] Rajkumar M, Sandhya S, Prasad M, et al. Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation[J]. *Biotechnology Advances*, 2012, 30(6):1562–1574.
- [38] Janouskova M, Pavlikova D. Cadmium immobilization in the rhizosphere of arbuscular mycorrhizal plants by the fungal extraradical mycelium[J]. *Plant and Soil*, 2010, 332(1–2):511–520.
- [39] Park J H, Bolan N, Megharaj M, et al. Concomitant rock phosphate dissolution and lead immobilization by phosphate solubilizing bacteria (*Enterobacter* sp.)[J]. *Journal of Environmental Management*, 2011, 92(4):1115–1120.
- [40] Giller K E, Witter E, Mcgrath S P. Heavy metals and soil microbes[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(10):2031–2037.