

# 镉胁迫下植物促生菌密歇根克雷伯氏菌 TS8 和 *Lelliottia jeotgali* MR2 对拟南芥生长及镉富集的影响

陈粮, 白艳, 刘书铭, 刘红梅, 陈锐, 肖云花

湖南农业大学 生物科学技术学院, 湖南 长沙 410128

陈粮, 白艳, 刘书铭, 刘红梅, 陈锐, 肖云花. 镉胁迫下植物促生菌密歇根克雷伯氏菌 TS8 和 *Lelliottia jeotgali* MR2 对拟南芥生长及镉富集的影响. 生物工程学报, 2022, 38(5): 1915-1928.

CHEN L, BAI Y, LIU SM, LIU HM, CHEN R, XIAO YH. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria *Klebsiella michiganensis* TS8 and *Lelliottia jeotgali* MR2 on the growth and cadmium uptake of *Arabidopsis thaliana* under cadmium stress. Chin J Biotech, 2022, 38(5): 1915-1928.

**摘 要:** 为了研究镉胁迫下植物促生菌密歇根克雷伯氏菌 (*Klebsiella michiganensis*) TS8 和 *Lelliottia jeotgali* MR2 对拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 生长及镉富集的影响, 文中以野生型拟南芥为试验材料, 将其种植在不同镉浓度的土壤基质中, 并施入 MR2 和 TS8 菌悬液。低浓度镉处理组 (LC) 为购买的基质营养土, 初始镉浓度为 14.17 mg/kg, 高浓度处理组 (HC) 为在购买的基质营养土上额外喷洒 200 mg/kg Cd<sup>2+</sup>。结果表明, 相比对照组, 不同浓度镉胁迫下喷施 MR2 菌悬液均可显著促进拟南芥的生长, 而 TS8 和 MR2\_TS8 混合菌液仅在高浓度镉胁迫下表现出一定的促生效果。但值得关注的是, 不同浓度镉胁迫下 TS8 菌悬液可显著降低拟南芥的地下部对重金属镉的富集 (60%和 59%), 并有效提高地上部对重金属镉的富集 (234%和 35%)。此外, 单菌和混合菌均能显著提高土壤中可还原态镉向酸可提取态镉转化, 促进植物吸收, 降低土壤总镉含量。因此, 针对不同环境下, 合理配施植物促生细菌在提高作物产量或修复土壤镉污染中具有一定的应用价值。

**关键词:** 植物促生菌; 镉胁迫; 拟南芥; 转化和迁移

**Received:** September 6, 2021; **Accepted:** November 29, 2021; **Published online:** December 31, 2021

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China (41807135); Natural Science Foundation of Hunan Province, China (2019JJ50220); Scientific Research Fund of Hunan Provincial Education Department (18B107)

**Corresponding author:** XIAO Yunhua. E-mail: xyh2017@hunau.edu.cn

**基金项目:** 国家自然科学基金 (41807135); 湖南省自然科学基金 (2019JJ50220); 湖南省教育厅科学研究项目 (18B107)

# Effects of plant growth-promoting rhizobacteria *Klebsiella michiganensis* TS8 and *Lelliottia jeotgali* MR2 on the growth and cadmium uptake of *Arabidopsis thaliana* under cadmium stress

CHEN Liang, BAI Yan, LIU Shuming, LIU Hongmei, CHEN Rui, XIAO Yunhua

College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, Hunan, China

**Abstract:** In this study, the effects of two plant growth-promoting bacteria *Klebsiella michiganensis* TS8 and *Lelliottia Jeotgali* MR2 on the growth and cadmium (Cd) uptake of *Arabidopsis thaliana* under Cd stress were explored. A wild-type *Arabidopsis thaliana* was selected as the experimental plant and was planted at different Cd concentrations. MR2 and TS8 bacterial suspensions were sprayed onto the rhizospheric soil during the planting process. The initial Cd concentration of the bought soil was 14.17 mg/kg, which was used as the pot soil of the low-concentration Cd treatment group (LC). The concentration of soil Cd at high-concentration Cd treatment group (HC) were 200 mg/kg higher than that at LC group. Compared with the control group, MR2 suspension significantly promoted the growth of *A. thaliana* at both low and high concentrations, while TS8 strain and MR2\_TS8 mixture only exhibited growth-promoting effect at high concentration. However, it was noteworthy that, TS8 suspension significantly reduced the Cd content in the underground parts of *A. thaliana* (60% and 59%), and significantly improved the Cd content in the aboveground parts of *A. thaliana* (234% and 35%) at both low and high concentrations. In addition, at low concentration, both single strain and mixed strains significantly improved the transformation from reducible Cd to acid-extractable Cd in soil, promoted Cd intake, and thereby reduced the total Cd content in soil. Therefore, the rational application of plant growth-promoting bacteria may improve crop yield and remediate Cd contamination in soil.

**Keywords:** plant growth-promoting rhizobacteria; cadmium stress; *Arabidopsis thaliana*; transformation and transportation

近几十年来, 化肥的过度使用给土壤环境带来了许多的负面影响, 如土壤板结、水体污染等问题<sup>[1]</sup>。此外, 随着工业进程不断深化, 我们对金属资源的需求日益提高, 从而加快了金属矿山的开采, 但由于开采过度或不规范, 金属污染物和酸性废水流入自然水体, 造成下游耕地受到严重污染, 从而影响了作物的产量及质量, 威胁到人类健康<sup>[2-3]</sup>。因此, 解决过度

施用化肥和重金属渗透带来的土地贫瘠和重金属污染问题迫在眉睫。常见的修复方法有物理方法、化学方法和生物方法。尽管目前物理和化学修复方法因技术成熟见效快而被广泛应用, 但二者的成本和二次污染等问题不容忽视<sup>[4]</sup>。生物方法因其环境友好且成本低, 在土壤修复过程中极具应用潜力。近年来, 微生物-植物联合修复方法逐渐受到研究人员的关注。

植物根际促生菌 (plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR) 是指在根际或根表面稳定存活且能够分泌各种次级代谢物, 直接或间接促进植物生长及防控病害的有益菌。现阶段对于 PGPR 的研究主要也是将其应用于农业生产和生物防治等方面<sup>[5]</sup>。首先, PGPR 具有促进作物生长并增产的作用和部分替代化肥的功效, 可以改善因过度施用化肥导致的土壤问题<sup>[6]</sup>。PGPR 对植株生长的促进作用主要体现在通过分泌植物生长素 3-吲哚乙酸 (3-indoleacetic acid, IAA)、氨基环丙烷羧酸 (aminocyclopropanecarboxylic acid, ACC) 脱氨酶、低分子有机酸、铁载体等次级代谢物促进植株的生长。此外它还具有固氮、溶磷、解钾等能力, 提高土壤肥力、促进植物生长、增加植物的生物量<sup>[7-8]</sup>。根际促生细菌的挥发性有机化合物 (volatile organic compound, VOC) 可以促进植物生长并提高植物对盐、旱和病菌的抵抗力。有研究证实, 芽孢杆菌 PDR1 的 VOC 改善了同一空间中碱胁迫下拟南芥的根长和根部离子平衡, 增强了拟南芥根中质膜  $H^+$ -ATPase 的活性, 并提高了拟南芥植物的根际酸化能力<sup>[9]</sup>。水培条件下添加植物促生菌可以使一年生黑麦草的根系活力得到提高<sup>[10]</sup>。由此可证实 PGPR 对植物具有促进生长代替部分化肥的作用。

此外, PGPR 能在重金属胁迫下缓解植物的应激反应, 并可以联合植物修复土壤环境<sup>[11]</sup>。如根际促生菌 (P2) 显著提高根系活力, 对棉苗盐碱胁迫具有缓解效应, 为棉花地上部位的生长发育起到很大的促进作用<sup>[12]</sup>。郭军康<sup>[13]</sup>发现耐 Cd 植物促生菌——伯克氏菌属 (D54) 能够通过影响番茄不同器官抗氧化酶活性与 Cd 在细胞内沉淀, 从而减少 Cd 在器官间转运, 缓解 Cd 的生物毒害作用。张帅<sup>[14]</sup>从重金属污染地区的根际土壤和植物体内筛选鉴定了 2 种植

物促生菌——芽孢杆菌属 (QGC2) 和金黄杆菌属 (BHI), 在此基础上利用 PGPR 调控以镉为首的重金属胁迫下甜高粱幼苗生长的效应, 发现 PGPR 能够促进植物生长并富集土壤中的镉。孙楠等<sup>[15]</sup>研究发现, 拟青霉菌、嗜麦芽窄食单胞菌在 Pb 胁迫下均能促进黑心菊和黑麦草的生长, 缓解 Pb 对植物的毒害, 对植株的促生作用有胁迫诱导的特性。为了进一步探究 PGPR 的促生性能和重金属污染修复和治理中的应用价值, 本研究从重金属污染矿区的优势植物唐菖蒲根际土壤和五节芒根部中筛选具有促生性能的菌株密歇根克雷伯氏菌 (*Klebsiella michiganensis*) TS8 和 *Lelliottia jeotgali* MR2, 将其作用于模式植物拟南芥, 一方面, 探究目的菌株对拟南芥的促生性能, 是否能成为微生物肥料; 另一方面, 探究目的菌株在镉污染土壤中进行植物修复的可行性, 通过提高植物生物量或土壤镉的有效性, 促进植物对镉的吸收, 降低土壤总镉含量。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验菌种和植株

菌种来源于本课题组前期从唐菖蒲根际土壤分离到的植物促生细菌 *Klebsiella michiganensis* TS8 和五节芒根部分离的内生菌 *Lelliottia jeotgali* MR2<sup>[16]</sup>。菌株 TS8 和 MR2 的促生性能表现为能够分泌 IAA、产生 ACC 脱氨酶和铁载体, 同时具有一定的固氮、溶磷和解钾能力, 且能够产酸。植株采用模式植物拟南芥, 拟南芥为哥伦比亚野生型种子放置于 4 °C 冰箱避光保存。

### 1.2 菌种耐镉程度的测定

试剂  $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  用于制备 Cd 母液 (1 000 mg/L), 使用 0.22  $\mu m$  微孔滤膜添加到经 121 °C 高温灭菌 25 min 的 LB 固体培养基 (1% NaCl、1% 胰蛋白胍、0.5% 酵母提取物、15 g

琼脂)中充分混匀。菌株 TS8 和 MR2 经过活化后分别进行涂布,恒温培养 24–48 h,观察各浓度梯度菌种是否生长。每个处理重复 3 次。

### 1.3 菌种的发酵

配制 LB 液体培养基 (1% NaCl、1% 胰蛋白酶、0.5% 酵母提取物),从 4 °C 冰箱取出菌种 TS8 和 MR2 在超净工作台接种于培养基进行活化培养 24 h,用血球计数板进行计数,确保添加至土壤中的菌悬液浓度为  $1 \times 10^9$  个/g。

### 1.4 盆栽实验

设置 2 组盆栽,每组 4 个处理。第一组为低浓度镉胁迫处理组 (LC),盆栽土为购买的营养土,4 个处理分别为不加菌悬液 (LC-CK)、加 TS8 菌悬液 (LC-TS8)、加 MR2 菌悬液 (LC-MR2)、加混合菌悬液 (LC-MT)。第二组为高浓度镉胁迫处理组 (HC),盆栽土为购买基质营养土+200 mg/kg Cd,4 个处理分别为不加菌悬液 (HC-CK)、加 TS8 菌悬液 (HC-TS8)、加 MR2 菌悬液 (HC-MR2)、加混合菌悬液 (HC-MT)。共 8 个处理,每个处理 3 个平行试验盆 (8 cm×8 cm×12 cm),每个试验盆装 70 g 营养土,高浓度镉胁迫盆栽向土壤中均匀添加 0.076 8 g Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O (溶于 70 mL 超纯水),土壤中镉的终浓度增加 200 mg/kg,空白盆栽则直接均匀加入 70 mL 超纯水,花盆加上底盘,防止重金属流失和后期浇水。拟南芥种子经 3 d 春化后移试验盆中,经 7 d 发芽后从根际加入富集培养的 TS8 和 MR2 菌悬液。于温室下 (23 °C、40%湿度) 种植,2 d 一次观察其生长状况及适当浇水,第 60 天进行收获。

### 1.5 土壤的基本理化性质

土壤为网购营养土,已知初始 pH 值为 5.5–6.0,有机质含量 25.8%,氮磷含量大于 5%。通过计算土壤的干重和鲜重测得其含水量为 11.3%,使用电感耦合等离子体发射光谱仪

(ICP7200,赛默飞,英国)<sup>[17]</sup>测得原始土壤含镉浓度为 14.17 mg/kg。

## 1.6 植株及土壤各项指标的测定

### 1.6.1 植物生物量测定

收获后测定拟南芥株高、根长、鲜重和干重。测定鲜重之前用流水冲洗植物根部附着土壤,先用吸水纸将植株残留的水分吸收干净,随后测定植株鲜重。将完成鲜重测定后的植株切断,分为地上部和地下部两部分,分别测量株高和根长,之后放置烘箱在 105 °C 下进行杀青 30 min。再调至 60 °C 烘干至恒重,随后测定植株的干重。

### 1.6.2 植物金属含量测定

将植物地上部和地下部研磨过 100 目筛,称取 0.5 g (记录称取重量) 样品进行消解<sup>[18]</sup>,使用电感耦合等离子体发射光谱仪 (ICP7200,赛默飞,英国) 测定植物地上部和地下部重金属镉的含量。

### 1.6.3 土壤镉形态及含量测定

土壤样品经自然风干后,研磨过 100 目筛,使用 BCR 连续提取法<sup>[19]</sup>分别测定土壤镉的 4 种形态,使用 ICP-7200 进行测定。生物富集系数 (biological concentration factor, BCF) 和转运系数 (transfer factor, TF) 是衡量植物是否为超积累植物的重要指标。富集系数越高,表明植物对该金属的吸收能力越强<sup>[20]</sup>。

其计算公式<sup>[21-22]</sup>为:富集系数=植物中重金属含量/土壤中重金属含量。转运系数=地上部重金属含量/地下部重金属含量。

## 1.7 统计学分析

通过方差分析探究不同处理是否会对上述参数产生显著影响,基于 Tukey's 检验进行多重比较,分析两两处理组之间差异的显著性。所有分析均由 SPSS (26.0) 完成,  $P < 0.05$  时差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌种最大耐镉浓度

为了探究实验菌株 TS8 和 MR2 对镉的耐受性, 以便用于后续盆栽实验, 分别测试了 2 株菌对镉的最大耐受浓度, 结果见表 1。随着培养基中镉含量的增加, TS8 和 MR2 的生长逐渐受到抑制, 且 TS8 和 MR2 对镉均有一定的耐受性, MR2 的 MTC 较高为 120 mg/L, TS8 的 MTC 为 80 mg/L, MR2 对镉的耐受性要高于 TS8。

### 2.2 不同浓度镉胁迫下促生菌对拟南芥生长的影响

第 60 天, 低浓度镉胁迫下各处理组的拟南芥生长情况见图 1, 各处理组的植株外观上差异不大。通过进一步对拟南芥生长指标的测定, 结果发现对照组的株高、根长、鲜重、干重分别为 45.63 cm、4.87 cm、2.16 g、0.39 g, MR2 处理组则分别为 55.35 cm、8.05 cm、3.00 g、0.55 g, 分别显著提高了 21.29%、65.41%、38.86% 和 41.17% (图 2)。相比对照组, 喷施 MR2 菌悬液可显著促进拟南芥的生长。但添加 TS8 单菌悬液和 TS8\_MR2 混合菌悬液均对拟南芥的生长没有显著影响。

第 60 天, 高浓度镉胁迫下拟南芥生长情况见图 3, 发现相比对照组, 添加 PGPR 的 3 个处理组的拟南芥株高显著更高, 种子更早成熟, 生长状况更为良好。通过进一步对其生长

指标测定, 结果发现对照组的株高、根长、鲜重、干重分别为 43.73 cm、4.27 cm、1.17 g、0.25 g, MR2 菌悬液处理组则分别为 52.00 cm、5.10 cm、2.23 g、0.51 g, 分别显著提高了 18.90%、19.53%、90.62%、104.20% (图 4)。相比对照组, 在高浓度镉胁迫下喷施 MR2 菌悬液也可显著促进拟南芥的生长, 且相比在低浓度镉胁迫下, 其促生效应表现更为明显。而 TS8 处理组除根长外, 其他各项指标都有显著提高, 株高 (56.50 cm)、鲜重 (1.96 g)、干重 (0.58 g) 分别显著提高了 29.00%、68.00% 和 132.00%。MR2\_TS8 混菌主要显著提高了植株的株高 (52.3 cm) 和干重 (0.51 g), 分别提高了 19.60% 和 104.00%。

### 2.3 不同浓度镉胁迫下促生菌对拟南芥镉富集的影响

低浓度镉胁迫下 (图 5), 相比对照组, 单独和混合喷施两种菌悬液都可显著降低拟南芥的地下部对重金属镉的富集。其中, CK、MR2、TS8 和 MT 各组植株地下部镉富集量分别为 7.18 mg/kg、6.02 mg/kg、2.82 mg/kg、3.93 mg/kg。相比对照组, 喷施 PGPR 均能显著抑制植株地下部对镉的富集, 其中喷施 TS8 菌悬液效果最为显著, 植株地下部镉含量显著降低了 60%。此外, 单独和混合喷施两种菌悬液都可显著提高拟南芥的地上部对重金属镉的富集, 有利于促进植物吸收土壤中的镉进而改善

表 1 不同镉浓度下 TS8 和 MR2 菌株的生长状况

Table 1 Growth status of TS8 and MR2 strains under different cadmium concentrations

Cd (mg/L)	0	20	40	60	80	100	120	140
TS8	+++++	++++	++	+	+	-	-	-
MR2	+++++	+++++	+++	+++	++	++	+	-

Note: among them, + means colony growth under this cadmium concentration, +++++ means basically full of medium, ++++ means large growth, +++ means medium growth, ++ means few, + means only a few single colony, - means no colony growth under this cadmium concentration.



图1 低浓度镉胁迫下不同处理组拟南芥生长状况  
Figure 1 Growth of *A. thaliana* in different treatment groups under low concentration of cadmium.

土壤环境。其中，对照组、MR2、TS8 和 MT 各组植株地上部镉富集含量分别为 0.35 mg/kg、0.53 mg/kg、1.17 mg/kg 和 0.75 mg/kg。相比对照组，MR2、TS8 和 MT 各组分别提高了 51%、234%和 114%，TS8 单菌的效果最为明显。

高浓度镉胁迫下（图 6），相比对照组（77.63 mg/kg），喷施 MR2（27.39 mg/kg）和 TS8（31.62 mg/kg）单菌菌悬液都可显著降低拟南芥的地下部对重金属镉的富集达 65%和 59%。对照组地上部分的镉富集含量为 28.02 mg/kg，TS8 菌悬液处理组为 37.89 mg/kg，相比对照组

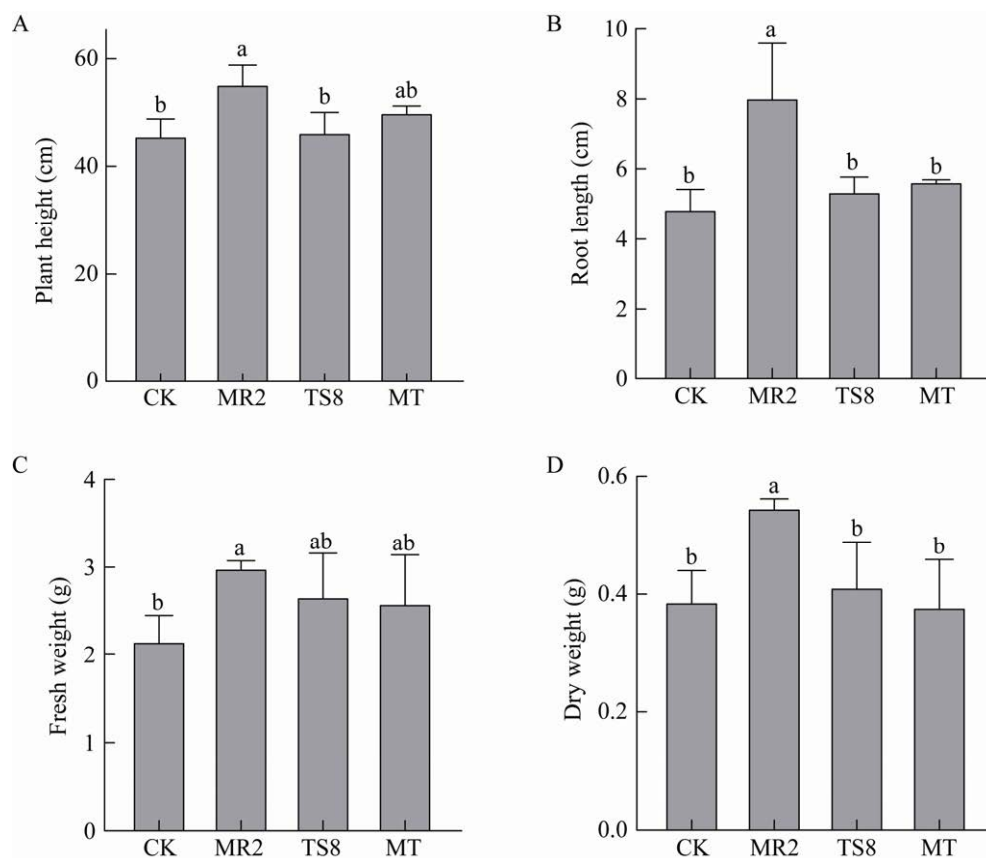


图2 低浓度镉胁迫下促生菌对拟南芥生长的影响

Figure 2 Effects of growth-promoting rhizobacteria on the growth of *A. thaliana* under low concentration of cadmium. The different lower case letters in the figure indicated significant difference between treatments inoculated with or without promoting bacteria/bacterium ( $P < 0.05$ ), and the vertical line indicates standard deviation.

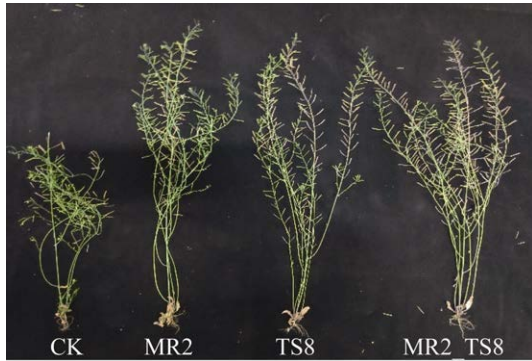


图3 高浓度镉胁迫下不同处理组拟南芥生长状况  
Figure 3 Growth of *A. thaliana* in different treatment groups under high concentration of cadmium.

提高了 35%。MR2 和 MR2\_TS8 混菌处理组则无显著差异。

根据上述结果发现,在不同浓度镉胁迫下,喷施 MR2、TS8 单菌菌悬液均能显著降低植株地下部的镉含量。此外,TS8 在不同浓度镉胁迫下均能显著提高地上部的镉含量,且相比高浓度镉胁迫下,PGPR 在低浓度镉胁迫下对提高植株地上部的镉含量的效应更明显。

## 2.4 不同浓度镉胁迫下促生菌对土壤镉形态转化的影响

通过 BCR 连续提取法对土壤中不同形态

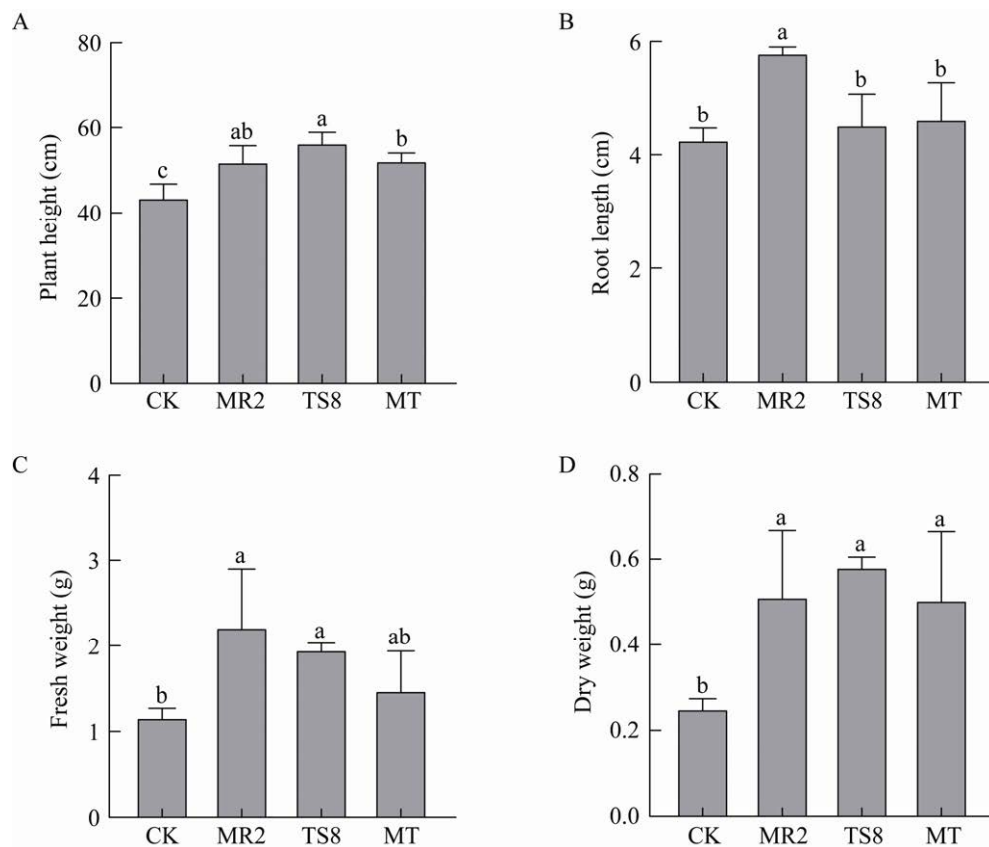


图4 高浓度镉胁迫下促生菌对拟南芥生长的影响

Figure 4 Effects of growth-promoting rhizobacteria on the growth of *A. thaliana* under high concentration of cadmium. The different lower case letters in the figure indicated significant difference between treatments inoculated with or without promoting bacteria/bacterium ( $P < 0.05$ ), and the vertical line indicates standard deviation.

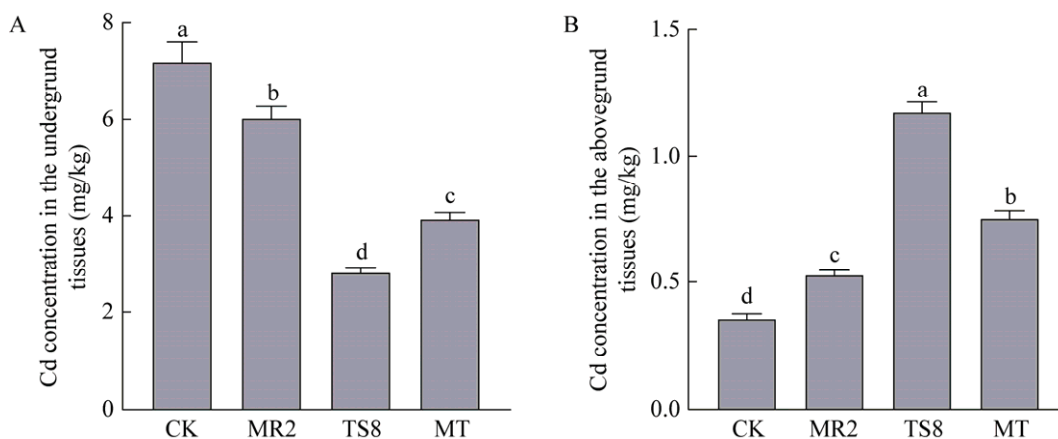


图 5 低浓度镉胁迫下促生菌对拟南芥镉富集的影响

Figure 5 Effects of growth-promoting rhizobacteria on cadmium uptake in *A. thaliana* under low concentration of cadmium. Figure 5A and 5B represent the underground and aboveground part, respectively. The different lower case letters in the figure indicated significant difference between treatments inoculated with or without promoting bacteria/bacterium ( $P < 0.05$ ).

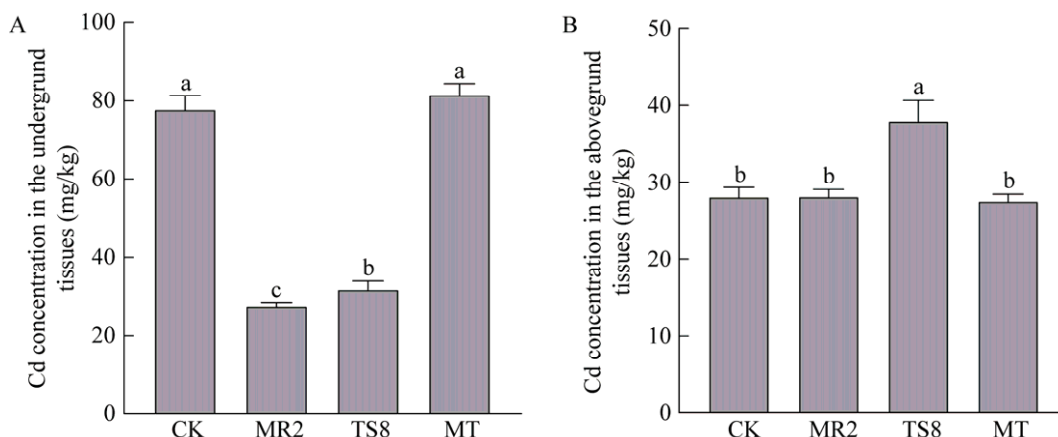


图 6 高浓度镉胁迫下促生菌对拟南芥镉富集的影响

Figure 6 Effects of growth-promoting rhizobacteria on cadmium uptake in *A. thaliana* under high concentration of cadmium. Figure 6A and 6B represent the underground and aboveground part, respectively. The different lower case letters in the figure indicated significant difference between treatments inoculated with or without promoting bacteria/bacterium ( $P < 0.05$ ).

的镉的浓度及占比进行测定和换算 (图 7 和图 8)。结果表明,低浓度镉胁迫下,对照组、MR2、TS8、MT 各处理组中酸可提取态镉占比 (浓度) 分别为 0.06% (0.007 mg/kg)、28.87% (2.35 mg/kg)、31.27% (2.33 mg/kg) 和 15.14% (1.31 mg/kg),可还原态镉占比分别 (浓度) 为 67.67% (7.28 mg/kg)、

48.81% (4.00 mg/kg)、38.35% (2.86 mg/kg) 和 19.47% (1.69 mg/kg)。由此可见,相比对照组,添加 PGPR 能有效提高酸可提取态镉的含量及占比,降低可还原态镉的含量及占比,促进还原态镉向酸可提取态镉的转化。

对照组、MT 和 TS8 各处理组中可氧化态



镉的占比分别为 30.67% (3.30 mg/kg)、23% (1.93 mg/kg) 和 22.23% (1.71 mg/kg), 残渣态镉的占比分别为 1.59% (0.17 mg/kg)、43.16% (3.74 mg/kg) 和 7.37% (0.55 mg/kg)。由此可见, 相对于对照组, MT 和 TS8 菌悬液能有效提高残渣态镉的含量及占比, 降低可氧化态的含量及占比。

高浓度镉胁迫下 (图 8), 相比对照组, 各处理组的残渣态镉占比均高于空白对照组, 其中空白组的残渣态占 0.12% (0.23 mg/kg), MR2\_TS8 混菌、MR2 单菌处理组分别占 0.24% (0.70 mg/kg)、0.26% (0.52 mg/kg), 相对于空白组提高了 204%和 117%。

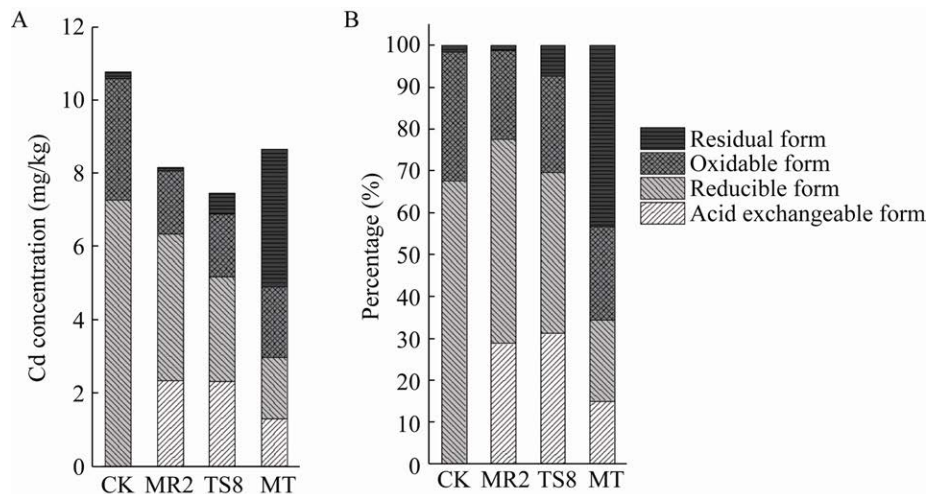


图 7 低浓度镉胁迫下促生菌对土壤镉形态转化的影响

Figure 7 Effects of growth-promoting rhizobacteria on cadmium speciation transformation in soil under low concentration of cadmium. Figure 7A represents cadmium content and Figure 7B represents percentage.

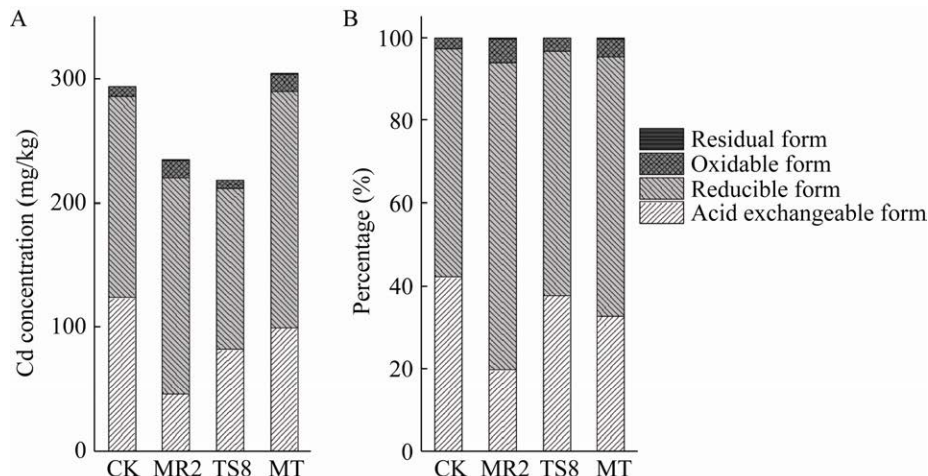


图 8 高浓度镉胁迫下促生菌对土壤镉形态的影响

Figure 8 Effects of growth-promoting rhizobacteria on cadmium speciation in soil under high concentration of cadmium. Figure 8A represents cadmium content and Figure 8B represents percentage.

对比不同浓度镉胁迫可知,低浓度下 MR2 和 TS8 主要是促进可氧化态镉向酸可提取态镉转化,而高浓度下则主要是促进镉形态向残渣态镉转化。

## 2.5 富集系数和转移系数

由表 2 可知,低镉浓度下,相比对照组 BCF 和 TF (0.159, 0.049), MR2、TS8 单菌处理组的镉富集系数 (0.196, 0.203) 和转移系数 (0.089, 0.417) 得到显著 ( $P<0.05$ ) 提高。高镉浓度下,相比对照组 BCF 和 TF (0.170, 0.361), TS8 仍能有效提高镉的富集系数 (0.188) 和转移系数 (1.198),但 MR2 只对转移系数 (1.024) 具有显著的提高。混合菌液的效果不理想。

## 3 讨论

近年来,滥用化肥导致的系列问题至今没能得到很好的解决,农田土壤重金属污染也导致了农作物产量和质量的下降,如何有效解决这些问题是极具实际意义和应用价值。本研究从重金属污染矿区的优势植物唐菖蒲根际土和五节芒根部中筛选具有促生性能的菌株 TS8 和 MR2,将其作用于模式植物拟南芥发现,目的

菌株 MR2 在不同镉浓度污染下对拟南芥均表现出显著的促生作用,而 TS8 和混合菌液仅在高镉浓度下呈现促生性能;其次,两株菌,尤其是 TS8,能显著提高土壤中可还原态镉向酸可提取态镉转化,促进植物吸收,降低土壤总镉浓度,提高拟南芥对镉的富集系数和转移系数;最后,TS8 和混合菌液能促进土壤可氧化态镉转化为残渣态,起到钝化镉的作用,为后续的作物种植提供更为有利的土壤环境。

大量研究发现,促生菌能够合成对作物有直接促进作用的物质,如生长素、铁载体等,或通过抑制或减轻某些植物病害对植物生长的不良影响间接促进植物生长<sup>[23]</sup>。此外,有研究表明接种肠杆菌 *Enterobacter* sp. FM-1 还可以提高叶片中 SOD、POD 和 CAT 的活性以及 GSH 和 PC 的含量,降低氧负离子和 MDA 的含量,缓解重金属的毒害,从而提高植物的抗逆性,提高产量<sup>[24]</sup>。本研究发现,TS8 和混菌在低浓度镉胁迫下对促进拟南芥的生长无显著作用,高浓度下则至少对拟南芥某方面生长存在显著促进作用。由此推测或许是低浓度镉胁迫下 TS8 没有感受到逆境胁迫,从而使部分与之相关的抗逆基因没有完全表达。因此有促进作用但未达到显著水平,有研究曾从重金属镉污染土壤中筛选到一株对镉具有较强抗性和富集能力的细菌蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) RC,研究它在不同浓度下生长情况的影响,发现低浓度镉的条件下对该菌种完全没有影响<sup>[25]</sup>。此外,也有研究采用水培试验方法,研究了藤本植物金银花在不同浓度镉胁迫下的生长反应,发现镉对金银花生长未造成显著影响,甚至低浓度具有一定的生长促进作用<sup>[26]</sup>。周小梅等将耐镉性促生细菌接种于洞庭湖湿地镉污染土壤中,明显改善了土壤的微生物环境,提高了土壤酶活性<sup>[27]</sup>。廖继佩等研究发现,低量的铜或

表 2 不同镉浓度下各处理组的 BCF 和 TF 值  
Table 2 BCF and TF values for each treatment group at different cadmium concentrations

Parameter	Treatment	Low	High
		concentration	concentration
BCF	CK	0.159±0.009b	0.170±0.007b
	MR2	0.196±0.007a	0.146±0.004b
	TS8	0.203±0.007a	0.188±0.014a
	MT	0.159±0.005b	0.157±0.007b
TF	CK	0.049±0.014d	0.361±0.062b
	MR2	0.089±0.016c	1.024±0.085a
	TS8	0.417±0.021a	1.198±0.108a
	MT	0.188±0.032b	0.337±0.054b

Note: different lower-case letters represent the significant differences between different groups ( $P<0.05$ ).

镉均能降低接种菌的碱性磷酸酶活性, 高量的铜或镉又能增加这两种接种处理菌的碱性磷酸酶活性, 随后酶活性逐渐降低<sup>[28]</sup>。因此我们推测在低浓度镉下没有或未能完成刺激 TS8 产生作用, 或者是激发了植株本身的防御机制导致产生了不显著的促生作用。具体原因还需要进一步进行实验探究。总体来说, 添加了菌悬液的拟南芥生长情况整体较对照组要好, 说明本实验菌种能够耐镉并发挥促进植物生长的作用, 但作用机制有待深究。

本研究发现不同浓度镉胁迫下, 添加植物促生菌 MR2 或 TS8 单菌菌悬液均能显著降低拟南芥下部的镉含量, 且 TS8 在不同浓度镉胁迫下能有效提高植株地上部的镉含量。有研究发现拟南芥铁转运蛋白 (iron-regulated transporter1, IRT1) 不仅是铁也是镉进入植物根细胞中的主要转运蛋白。供铁充足时, 会抑制铁转运蛋白在植物根细胞内的表达<sup>[29-30]</sup>。根际促生菌通过分泌高亲和性铁载体增加根际铁供给量, 竞争性抑制根系吸收镉离子, 达到缓解镉毒害的效果<sup>[31]</sup>。Zhu 等<sup>[32]</sup>研究发现缺磷会降低拟南芥对镉的吸收, Yang 等<sup>[33]</sup>报道了在缺磷水培实验中, 缺磷处理显著减少了水稻幼苗中镉的积累量, 缓解了镉毒害。通过对本实验菌种的性能分析可知, 两种细菌都可以分泌铁载体, 因此会抑制铁转运蛋白在根系的表达, 降低了地下部的镉富集, 此外, 两种细菌都具有溶磷能力, 增加土壤中的可溶性磷, 因此会促进植物对镉的吸收, 从而提高了植物地上部的镉富集。其富集程度的显著水平应该和菌种的活性相关, 具体的转运机制及影响因素则有待进一步实验研究。

最后, 本研究发现 MR2 和 TS8 有利于土壤中的镉向酸可提取态转化, 这可能与喷施菌种的产酸能力有一定的关系。大量研究证明, 土

壤 pH 值的降低能够影响其重金属的移动和土壤生物的有效性, 促进土壤中重金属的溶解和释放, 提高镉的酸可提取态含量。于方明等<sup>[34]</sup>发现肠杆菌 FM-1 能够通过降低积雪草根际土壤的 pH 促进积雪草对镉的富集。由于菌种本身具有一定的耐镉性, 因此在低浓度下能够正常产酸, 从而与镉结合形成有机酸复合体, 促进植物吸收土壤镉, 改善土壤环境。林琦等<sup>[35]</sup>研究植稻红壤发现, 在高浓度镉下可能使根系渗漏加剧, 有机小分子分泌物泄漏, 植株自身产生抵抗胁迫, 发生一系列的生理生化反应, 导致有机结合态镉的增加。有研究总结发现微生物能够通过络合作用、还原作用使土壤环境中重金属产生沉淀而钝化<sup>[36]</sup>。此外, 细菌细胞壁带有负电荷, 细菌表面具有阴离子的性质, 镉离子能够与细胞表面结构上的羧基阴离子和磷酸阴离子发生相互作用而被固定为有机结合态镉<sup>[37-38]</sup>。因此推测在高浓度镉中, 通过植物的自身抵抗胁迫作用联合耐镉细菌的还原作用及离子交换促进镉形态向残渣态转化。残渣态稳定性较强, 能够长期稳定地存在, 且不易被植物吸收, 对土壤环境影响最小, 有利于改善土壤环境。对于本实验两种菌的具体钝化作用机制尚不明确, 需进行更深入的研究。

总体来说, 本实验结果表明, 菌株 MR2 和 TS8 能够促进植物的生长, 在不影响根系的情况下促进植物转运吸收镉, 并在一定程度上通过增加土壤镉的酸可提取态提高植物修复效率; 还可通过某些代谢产物或氧化还原反应将镉形态转化为残渣态, 降低生物有效性, 改善土壤基质性质, 为后续种植作物提供优良的土壤环境。本研究可为微生物肥料的研制或植物联合微生物治理土壤提供优质菌种资源和一定的参考。

## REFERENCES

- [1] 孙韵雅, 陈佳, 王悦, 等. 根际促生菌促生理理及其增强植物抗逆性研究进展. 草地学报, 2020, 28(5): 1203-1215.  
Sun YY, Chen J, Wang Y, et al. Advances in growth promotion mechanisms of PGPRs and their effects on improving plant stress tolerance. Acta Agrestia Sin, 2020, 28(5): 1203-1215 (in Chinese).
- [2] 唐旖旎, 唐冰. 土壤重金属污染现状及治理的研究. 皮革制作与环保科技, 2021, 2(4): 49-50.  
Tang YN, Tang B. Research on the status quo and treatment of heavy metal pollution in soil. Leather Manuf Environ Technol, 2021, 2(4): 49-50 (in Chinese).
- [3] 杨礼, 马银花. 重金属污染和重金属富集植物研究现状. 安徽农学通报, 2020, 26(23): 102-105.  
Yang L, Ma YH. Review of heavy metal pollution and heavy metal enrichment plants. Anhui Agric Sci Bull, 2020, 26(23): 102-105 (in Chinese).
- [4] 林易晨. 中国现阶段土壤污染修复治理技术发展和治理策略的思考. 福建轻纺, 2021(3): 55-57.  
Lin YC. Consideration for the development of technology for soil remediation/control and for the control strategy in China at this stage. Light Text Ind Fujian, 2021(3): 55-57 (in Chinese).
- [5] Son JS, Sumayo M, Hwang YJ, et al. Screening of plant growth-promoting rhizobacteria as elicitor of systemic resistance against gray leaf spot disease in pepper. Appl Soil Ecol, 2014, 73: 1-8.
- [6] 潘莹. 微生物肥料的优势及发展前景. 中国商界(下半月), 2010(8): 354.  
Pan Y. Advantages and developmental prospects of microbial fertilizer. Bus China, 2010(8): 354 (in Chinese).
- [7] 何敏. 藏北土著植物促生菌对当地典型牧草的促生作用及其机制研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2020.  
He M. Study on the growth-promoting effect of native plant-promoting bacteria on the typical grasses in northern Tibet and its mechanism[D]. Zhenjiang, China: Jiangsu University, 2020.
- [8] 王梅菊, 刘晨, 杨龙, 等. 基于拟南芥-微生物共培养系统筛选植物促生菌的研究. 中国植物病理学会2017年学术年会论文集. 泰安, 2017: 526.  
Wang MJ, Liu C, Yang L, et al. Based on the study of plant-promoting bacteria in the amoeba-microbial co-culture system. Paper Collection of the 2017 Annual Meeting of the Chinese Society of Plant Pathology. Taian, 2017: 526.
- [9] 李菲, 石天龙, 唐明, 等. 促生细菌挥发性有机物调控根部质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 活性提高植物耐碱胁迫能力. 安徽农业大学学报, 2020, 47(4): 594-598.  
Li F, Shi TL, Tang M, et al. Volatile organic compounds from growth-promoting bacteria promote *Arabidopsis* root plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity and improve plant alkali tolerance. J Anhui Agric Univ, 2020, 47(4): 594-598 (in Chinese).
- [10] 张龙培. 植物促生菌调控镉胁迫下一年生黑麦草水分利用率的初探[D]. 南京: 南京农业大学, 2017.  
Zhang LP. A study on the effects of plant growth promoting bacteria to the water use efficiency of annual ryegrass (*Lolium multiflorum*) under cadmium stress[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2017 (in Chinese).
- [11] 王秋平, 常萌, 卢磊. 根际促生菌重金属胁迫下缓解植物应激的研究进展. 黑龙江农业科学, 2020(5): 118-122.  
Wang QP, Chang M, Lu L. Research progress of plant stress alleviation under heavy metal stress by plant growth promoting rhizobacteria. Heilongjiang Agric Sci, 2020(5): 118-122 (in Chinese).
- [12] 庞学兵, 王朝阳, 王爱英, 等. 根际促生菌对棉苗盐碱胁迫的缓解效应. 西北农业学报, 2017, 26(1): 101-109.  
Pang XB, Wang CY, Wang AY, et al. Mitigative effect of PGPR on cotton seedlings subjected to salt-alkaline stress. Acta Agric Boreali-Occidentalis Sin, 2017, 26(1): 101-109 (in Chinese).
- [13] 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, 2014.  
Guo JK. Effects of Cd-tolerant plant growth promoting rhizobacteria on mechanisms of tomato seedlings growth Cd uptake and transport[D]. Tianjin: Tianjin University, 2014 (in Chinese).
- [14] 张帅. 耐 Cd、As、Pb 重金属促生菌的筛选及 Cd 胁迫下植物促生菌对甜高粱生长的调控[D]. 南京: 南京农业大学, 2013.  
Zhang S. Selection of cadmium-, arsenic-, plumbum-tolerant plant growth-promoting bacteria and regulation of plant growth-promoting bacteria on *Sorghum bicolor* (L.) moench growth[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2013 (in Chinese).
- [15] 孙楠, 张胜爽, 张凌云, 等. 植物与微生物协同修复土壤铅污染修复效应. 有色金属(冶炼部分), 2021(3): 122-128, 154.  
Sun N, Zhang SS, Zhang LY, et al. Plants and

- microorganisms synergistically remediate soil lead pollution. *Nonferrous Met Extr Metall*, 2021(3): 122-128, 154 (in Chinese).
- [16] Liu SM, Liu HM, Chen R, et al. Role of two plant growth-promoting bacteria in remediating cadmium-contaminated soil combined with *Miscanthus floridulus* (lab.). *Plants*, 2021, 10(5): 912.
- [17] 杨刚, 袁大刚, 钟贵江, 等. 微波消解-ICP-AES法测定钒钛矿区优势植物中重金属含量. *光谱学与光谱分析*, 2012, 32(5): 1391-1393.  
Yang G, Yuan DG, Zhong GJ, et al. Determination of heavy metals in dominant plant species in vanadium/titanium mine area by microwave digestion-ICP-AES. *Spectrosc Spectr Anal*, 2012, 32(5): 1391-1393 (in Chinese).
- [18] 龙加洪, 谭菊, 吴银菊, 等. 土壤重金属含量测定不同消解方法比较研究. *中国环境监测*, 2013, 29(1): 123-126.  
Long JH, Tan J, Wu YJ, et al. A comparative study on the detection of heavy metal in soil with different digestion methods. *Environ Monit China*, 2013, 29(1): 123-126 (in Chinese).
- [19] 刘丹丹, 刘菲, 缪德仁. 土壤重金属连续提取方法的优化. *现代地质*, 2015, 29(2): 390-396.  
Liu DD, Liu F, Miao DR. Optimization of soil heavy metal sequential extraction procedures. *Geoscience*, 2015, 29(2): 390-396 (in Chinese).
- [20] 夏汉平, 束文圣. 香根草和百喜草对铅锌尾矿重金属的抗性与吸收差异研究. *生态学报*, 2001, 21(7): 1121-1129.  
Xia HP, Shu WS. Resistance to and uptake of heavy metals by *Vetiveria zizanioides* and *Paspalum notatum* from lead/zinc mine tailings. *Acta Ecol Sin*, 2001, 21(7): 1121-1129 (in Chinese).
- [21] 栾以玲, 姜志林, 吴永刚. 栖霞山矿区植物对重金属元素富集能力的探讨. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2008, 32(6): 69-72.  
Luan YL, Jiang ZL, Wu YG. Study on heavy metal accumulation ability of plant in Qixia Mountain. *J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed)*, 2008, 32(6): 69-72 (in Chinese).
- [22] 魏树和, 杨传杰, 周启星. 三叶鬼针草等 7 种常见菊科杂草植物对重金属的超富集特征. *环境科学*, 2008, 29(10): 2912-2918.  
Wei SH, Yang CJ, Zhou QX. Hyperaccumulative characteristics of 7 widely distributing weed species in composite family especially *Bidens pilosa* to heavy metals. *Environ Sci*, 2008, 29(10): 2912-2918 (in Chinese).
- [23] 黄晓东, 季尚宁, Bernard Glick, 等. 植物促生菌及其促生机理. *现代化农业*, 2002(6): 7.  
Huang XD, Ji SN, Glick B, et al. PGPRs and their growth promotion mechanisms. *Mod Agric*, 2002(6): 7 (in Chinese).
- [24] 李艺, 王炳森, 黄媛媛, 等. 肠杆菌对蓼科植物镉砷污染土壤修复机理研究. *农业环境科学学报*, 2020, 39(2): 304-312.  
Li Y, Wang BS, Huang YY, et al. Mechanism study on the phytoremediation of cadmium-and arsenic-contaminated soil by Polygonaceae plants with *Enterobacter* sp.. *J Agro-Environ Sci*, 2020, 39(2): 304-312 (in Chinese).
- [25] 刘红娟, 张慧, 党志, 等. 一株耐镉细菌的分离及其富集 Cd 的机理. *环境工程学报*, 2009, 3(2): 367-371.  
Liu HJ, Zhang H, Dang Z, et al. Isolation and bio-accumulation mechanisms of a Cd-resisting bacterium. *Chin J Environ Eng*, 2009, 3(2): 367-371 (in Chinese).
- [26] 刘周莉, 何兴元, 陈玮, 等. 镉胁迫下金银花的生长反应及积累特性. *生态学杂志*, 2009, 28(8): 1579-1583.  
Liu ZL, He XY, Chen W, et al. Growth responses and cadmium accumulation of *Lonicera japonica* under cadmium stress. *Chin J Ecol*, 2009, 28(8): 1579-1583 (in Chinese).
- [27] 周小梅, 赵运林, 董萌, 等. 镉耐性促生细菌对洞庭湖镉污染土壤微生物和酶活性的影响. *土壤通报*, 2014, 45(6): 1390-1395.  
Zhou XM, Zhao YL, Dong M, et al. Effects of cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria on microbial quantity and enzyme activity of cadmium contaminated soil in Dongting lake. *Chin J Soil Sci*, 2014, 45(6): 1390-1395 (in Chinese).
- [28] 廖继佩, 林先贵, 曹志洪, 等. 丛枝菌根真菌与重金属的相互作用对玉米根际微生物数量和磷酸酶活性的影响. *应用与环境生物学报*, 2002, 8(4): 408-413.  
Liao JP, Lin XG, Cao ZH, et al. Effect of interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and heavy metals on microbial populations and phosphatase activities in the maize rhizosphere. *Chin J Appl Environ Biol*, 2002, 8(4): 408-413 (in Chinese).
- [29] Clemens S, Aarts MG, Thomine S, et al. Plant science: the key to preventing slow cadmium poisoning. *Trends Plant Sci*, 2013, 18(2): 92-99.
- [30] Connolly EL, Fett JP, Guerinot ML. Expression of the IRT1 metal transporter is controlled by metals at the

- levels of transcript and protein accumulation. *Plant Cell*, 2002, 14(6): 1347-1357.
- [31] 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. *生态环境学报*, 2015, 24(7): 1228-1234.
- Guo JK, Dong MF, Ding YZ, et al. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on plants heavy metal uptake and transport: a review. *Ecol Environ Sci*, 2015, 24(7): 1228-1234 (in Chinese).
- [32] Zhu XF, Lei GJ, Jiang T, et al. Cell wall polysaccharides are involved in P-deficiency-induced Cd exclusion in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 2012, 236(4): 989-997.
- [33] Yang YJ, Chen RJ, Fu GF, et al. Phosphate deprivation decreases cadmium (Cd) uptake but enhances sensitivity to Cd by increasing iron (Fe) uptake and inhibiting phytochelatin synthesis in rice (*Oryza sativa*). *Acta Physiol Plant*, 2015, 38(1): 1-13.
- [34] 于方明, 余秋平, 刘可慧, 等. 肠杆菌 FM-1 强化积雪草修复镉污染土壤机理. *中国环境科学*, 2018, 38(12): 4625-4630
- Yu FM, Yu QP, Liu KH, et al. Mechanism study on the phytoremediation of cadmium-and arsenic-contaminated soil by Polygonaceae plants with *Enterobacter* sp. *Environ Sci China*, 2018, 38(12): 4625-4630 (in Chinese).
- [35] 林琦, 陈怀满, 郑春荣, 等. 根际环境中镉的形态转化. *土壤学报*, 1998, 35(4): 461-467.
- Lin Q, Chen HM, Zheng CR, et al. Transformation of cadmium species in rhizosphere. *Acta Pedol Sin*, 1998, 35(4): 461-467 (in Chinese).
- [36] 王立群, 罗磊, 马义兵, 等. 重金属污染土壤原位钝化修复研究进展. *应用生态学报*, 2009, 20(5): 1214-1222.
- Wang LQ, Luo L, Ma YB, et al. *In situ* immobilization remediation of heavy metals-contaminated soils: a review. *Chin J Appl Ecol*, 2009, 20(5): 1214-1222 (in Chinese).
- [37] 张闻, 陈贯虹, 高永超, 等. 石油和重金属污染土壤的微生物修复研究进展. *环境科学与技术*, 2012, 35(S2): 174-181, 205.
- Zhang W, Chen GH, Gao YC, et al. Remediation of oil and heavy metal-polluted soils with microorganisms. *Environ Sci Technol*, 2012, 35(S2): 174-181, 205 (in Chinese).
- [38] 隆梦佳. 白腐菌对污泥堆肥木质素降解及重金属钝化影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.
- Long MJ. The effects of white-rot fungi on lignin biodegradation and heavy metals inactivation in sewage composting[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2009 (in Chinese).

(本文责编 郝丽芳)