

抗 Zn 菌对大豆抵抗 Zn 胁迫能力的影响

邵继海¹, 唐双益¹, 何绍江², 冯新梅²

(1.湖南农业大学 资源环境学院, 湖南 长沙 410128; 2.华中农业大学 农业微生物国家重点实验室, 湖北 武汉 430070)

摘要: 探讨 3 株抗 Zn 菌(*Flavobacterium* FCZ05E、*Pseudomonas* PCZ05B、*Pseudomonas* PCZ05H)对大豆抵抗 Zn 胁迫能力的影响。在没有添加外源 Zn 的土壤中, 接种 FCZ05H 的大豆生物量高于该土壤中的对照处理, 而接种 FCZ05E、PCZ05B 的大豆生物量与对照相比无显著差异。在 Zn 添加量为 200 和 500 mg/kg 的人工模拟 Zn 污染土壤中, 接种 PCZ05B 的大豆生物量均比同一 Zn 添加量的对照高, 植株 Zn 含量、地下部分丙二醛含量比对照低, 地下部过氧化物酶活性比对照高, 但叶片叶绿素含量仅在 Zn 添加量为 500 mg/kg 时才显著高于该 Zn 添加量的对照处理; 接种 FCZ05E、PCZ05H 的大豆生物量、Zn 含量、地下部丙二醛含量、过氧化物酶活性及叶绿素含量与同一 Zn 添加量的对照处理相比均无显著差异。

关键词: Zn 胁迫; 抗 Zn 菌; 大豆

中图分类号: X503.23 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2010)02-0133-04

Effect of Zn resistant strains to the toxicity of Zn on the soybeans

SHAO Ji-hai¹, TANG Shuang-yi¹, HE Shao-jiang², FENG Xin-mei²

(1.College of Resources and Environment, HNAU, Changsha 410128, China; 2. National Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Three Zn resistant strains (*Flavobacterium* FCZ05E, *Pseudomonas* PCZ05B, *Pseudomonas* PCZ05H) were inoculated to the roots of soybeans in the soil which was amended Zn in the levels of 200 mg/kg and 500 mg/kg respectively. The results showed that the growth of the soybeans inoculated FCZ05H was stimulated, but with no effect on the growth when inoculated PCZ05B or FCZ05E in the soil which was not amended Zn. Dry weight of the plants inoculated PCZ05B was obviously larger than the controls', and the contents of Zn both in shoots and roots were all lower than controls' in the soil which was amended 200 mg/kg and 500 mg/kg Zn. The contents of malodialdehyde (MDA) in the roots were lower than control, and POD in the roots was more active when PCZ05B was inoculated to the roots of soybeans in the soil amended Zn in the levels of 200 mg/kg and 500 mg/kg. Whether Chlorophyll contents were higher than the controls or not had not been found except adding 500 mg/kg Zn to the soil. The contents of chlorophyll, MDA and the activities of POD in the roots of the plants inoculated FCZ05E or PCZ05H were not significantly changed when compared with the controls in two Zn adding levels.

Key words: Zn stress; Zn resistant strain; soybean

中国人均耕地面积仅为 0.1 hm^2 , 不足世界平均值的 $1/4$ ^[1]。近年来, 由于工业“三废”的排放、矿山的非合理开采、污水灌溉及含重金属农药化肥的不当使用, 造成大量耕地受到重金属污染。被重金属污染的耕地如果直接进行农业利用, 农作物往往会因重金属的毒害而生长受到抑制, 农产品产量降低

或重金属含量超标。据统计, 中国每年因重金属污染而造成粮食经济损失至少200亿元^[2]。如何合理利用这些被重金属污染的耕地就显得尤为重要。利用微生物与植物互作的方式来提高重金属污染土壤的利用率是较新颖的方法。微生物可以通过自身的新陈代谢改变重金属的活性, 从而改变植物对重金

收稿日期: 2009-05-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(30070027); 湖南农业大学青年基金项目(06QN20)

作者简介: 邵继海(1979—), 男, 湖北洪湖人, 硕士, 讲师, 从事环境微生物学研究, shaojihai@yahoo.com.cn

属的吸收^[3],也可以通过多种机制刺激植物生长,如分泌铁载体^[4]、细胞激动素^[5]、生长素^[6]、1-氨基环丙烷羧酸脱氨酶^[7]等。大豆是中国普遍种植的一种经济作物,关于利用非共生重金属抗性细菌来减轻重金属对大豆的毒性的工作在国内还鲜见报道。Zn是生物必需的一种微量元素,只有在浓度较高时才会对生物体有害。为了研究抗Zn细菌对大豆抵抗Zn胁迫能力的影响,笔者从湖南郴州铅矿尾沙坝土壤筛选出3株抗Zn菌,通过盆栽试验,研究了接种抗Zn菌对大豆生长、叶绿素含量、植株抗氧化酶活性及植株Zn累积量的影响,旨在利用微生物与植物互作方式提高Zn污染耕地的利用率。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试大豆为鲁豆 11 号,选取大小均一、籽粒饱满的种子备用。盆栽试验土壤(河潮土)取自湖南农业大学资源环境学院试验基地,其基本理化性状:全氮含量 1.55 g/kg, pH 5.2, CEC 8.79 cmol/kg, 有机质含量 17.4 g/kg, Zn 含量 333.7 mg/kg。3 株抗 Zn 菌分别为黄杆菌 *Flavobacterium* FCZ05E、假单胞菌 *Pseudomonas* PCZ05B、假单胞菌 *Pseudomonas* PCZ05H, 其 NCBI 16S rDNA 序列号分别为 GU471750、GU471748、GU471749, 均可生长于含 Zn^{2+} 为 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的牛肉膏蛋白胨培养基中。

1.2 方 法

向粉碎过筛的土壤中加入等体积不同浓度的 $ZnSO_4$ 溶液,使 Zn 添加量分别为 0、200、500 mg/kg, 对照加入等量的蒸馏水, 28 $^{\circ}\text{C}$ 温育 96 h 后, 再风干、粉碎、过筛, 装入一次性塑料杯中, 每杯 300 g。大

豆种子按文献[8]的方法催芽,用 75%的乙醇浸泡 3 min, 无菌水冲洗,置于 20~25 $^{\circ}\text{C}$ 下黑暗催芽。将催芽后的大豆种子种入杯中土壤,每杯 3 粒。依次将 FCZ05E、PCZ05B、PCZ05H 种接到大豆种子表面,对照组接入等量的无菌水,每种处理设 4 个重复。自然光照培养 45 d。

按文献[9]的方法测定植株生物量;叶绿素含量按文献[10]的方法测定。植株重金属含量先按文献[11]的方法处理样品,用 varian 240 原子吸收测定 Zn 含量。植株地下部过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定,酶活性以每 min 内 A_{470} 增加 0.01 为一个酶活单位。植株地下部丙二醛含量按文献[11]方法测定。

试验数据用 SPSS 统计分析软件进行单因素多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 3 种抗 Zn 菌对大豆生长的影响

以不同 Zn 添加量的土壤进行盆栽试验,接种 FCZ05E、PCZ05B、FCZ05H 对大豆生物量的影响如表 1 所示。从表 1 可知,与对照相比,没有添加 Zn 的土壤中分别接种 FCZ05E 和 PCZ05B 对大豆植株的株高、地上部干重和地下部干重没有显著差异;接种 FCZ05H 能显著或极显著提高植株地上部干重($P<0.05$)和地下部干重($P<0.01$),但对株高没有显著影响。当土壤中 Zn 添加量为 200 和 500 mg/kg 时,接种 FCZ05E、FCZ05H 对大豆植株的株高、地上部干重和地下部干重均没有显著影响;与对照相比,接种 PCZ05B 可以显著或极显著提高植株的株高、地上和地下部干重。

表 1 不同 Zn 添加量土壤中 3 种抗 Zn 菌对大豆生物量的影响

Zn 添加量/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	菌株	株高/cm	地上部干重/g	地下部干重/g
0	CK	(53.57±4.01)aA	(0.321±0.048)bAB	(0.035±0.007)bB
	FCZ05E	(55.78±4.70)aA	(0.308±0.045)bB	(0.037±0.006)bB
	PCZ05B	(55.42±3.97)aA	(0.407±0.084)abAB	(0.049±0.011)bB
	FCZ05H	(52.41±2.69)aA	(0.429±0.043)aA	(0.077±0.014)aA
200	CK	(23.96±2.31)bB	(0.139±0.021)bA	(0.049±0.010)bA
	FCZ05E	(23.94±2.55)bB	(0.149±0.038)bA	(0.061±0.011)abA
	PCZ05B	(36.97±1.42)aA	(0.198±0.023)aA	(0.075±0.012)aA
	FCZ05H	(25.22±2.91)bB	(0.151±0.028)bA	(0.054±0.018)abA
500	CK	(11.52±0.78)bB	(0.065±0.011)bB	(0.029±0.006)bA
	FCZ05E	(12.50±2.05)bB	(0.068±0.013)bB	(0.048±0.011)abA
	PCZ05B	(19.20±2.31)aA	(0.126±0.080)aA	(0.061±0.014)aA
	FCZ05H	(12.58±2.18)bB	(0.069±0.017)bB	(0.044±0.014)abA

2.2 接种抗 Zn 菌对大豆植株 Zn 含量的影响

接种 FCZ05E、PCZ05B、PCZ05H 对大豆植株地上部和地下部 Zn 含量的影响如图 1 所示。从图 1 可知，当土壤中没有添加 Zn 时，接种 3 种抗 Zn 菌对大豆植株地上部和地下部 Zn 含量没有显著影响。当土壤中 Zn 添加量为 200 mg/kg 时，接种 FCZ05E 对植株地上部和地下部 Zn 含量没有显著影

响；接种 PCZ05H 的大豆植株地上、地下部 Zn 含量比对照略低，但差异没有达到显著水平；接种 PCZ05B 可以显著减少植株地下部 Zn 含量。当土壤中 Zn 添加量达到 500 mg/kg 时，接种 PCZ05H 和 FCZ05E 对植株地上部和地下部 Zn 含量均没有显著影响；接种 PCZ05B 却可以显著减少大豆植株地上部和地下部 Zn 含量($P < 0.01$)。

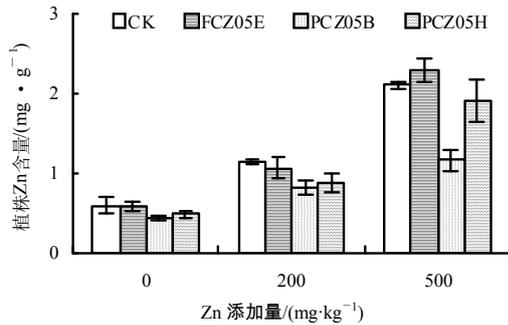
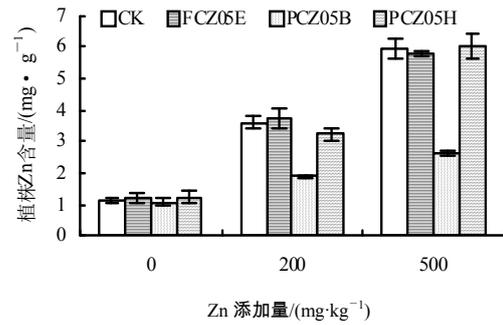


图 1 抗 Zn 菌对大豆植株 Zn 含量的影响

Fig.1 Effect of three Zn resistant strains on the Zn contents in soybean



2.3 接种抗 Zn 菌对大豆植株叶绿素含量的影响

不同 Zn 添加量的土壤中接种 3 种抗 Zn 菌的大豆叶片叶绿素含量如图 2 所示。由图 2 可知，在 Zn 添加量为 0、200 mg/kg 时，接种 3 种抗 Zn 菌对大豆叶片叶绿素含量的影响不大。当 Zn 添加量为 500 mg/kg 时，接种 PCZ05B 的处理组叶绿素含量比对照高，而接种 FCZ05E、FCZ05H 处理的大豆叶绿素含量与对照相比相差不大。

所示。当土壤中没有添加 Zn 时，接种 3 种抗 Zn 菌处理的植株地下部 POD 活性和丙二醛含量与对照相比没有明显差异。当土壤中 Zn 添加量为 200、500 mg/kg 时，接种 PCZ05B 的植株地下部 POD 活性明

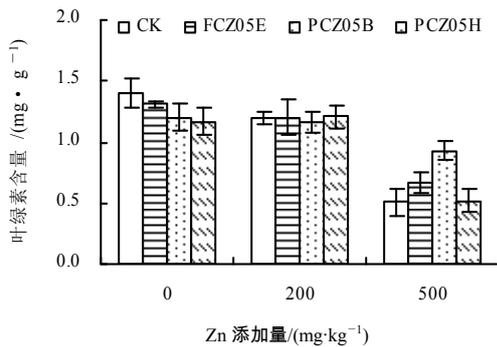


图 2 抗 Zn 菌对大豆叶片叶绿素含量的影响

Fig.2 Effect of three Zn resistant strains on the chlorophyll contents in the leaves of soybeans

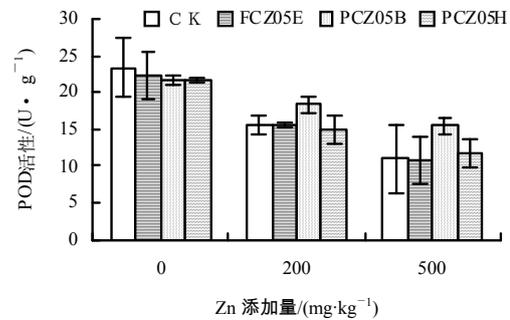


图 3 抗 Zn 菌对大豆地下部 POD 活性的影响

Fig.3 Effect of three Zn resistant strains on the activities of POD in the roots

2.4 接种抗 Zn 菌对大豆植株地下部 POD 活性和丙二醛含量的影响

接种 FCZ05E、PCZ05B、PCZ05H 对大豆植株地下部 POD 活性和丙二醛含量的影响如图 3 和图 4

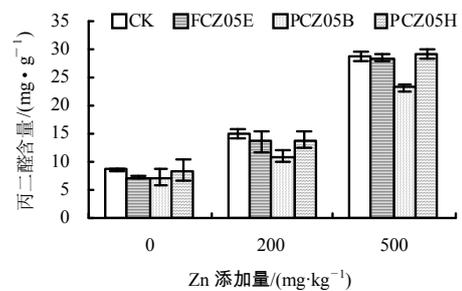


图 4 抗 Zn 菌对大豆地下部丙二醛含量的影响

Fig.4 Effect of three Zn resistant strains on the MDA contents in the roots of soybeans

显比对照高,丙二醛含量比对照低,而接种 FCZ05E、PCZ05H 的植株地下部 POD 活性和丙二醛含量与对照相比没有明显差异。

3 讨论

微生物对植物吸收重金属的影响具有双面性,可以活化重金属,增加植物对重金属的吸收^[12-13],也可以通过吸附、络和等抑制植株对重金属的吸收^[14-15]。本试验结果显示,FCZ05H、FCZ05E 对大豆吸收 Zn 没有影响,而接种 PCZ05B 可以减少大豆对 Zn 的累积。当向土壤中添加 200 和 500 mg/kg Zn 时,不管接种抗 Zn 菌与否,各处理植株地下部丙二醛含量比没有添加 Zn 的相应处理的丙二醛含量都要高。当向土壤中添加 200 和 500 mg/kg Zn 时,与对照相比,接种 PCZ05B 可以明显降低植株下部丙二醛含量,这也间接说明 PCZ05B 通过抑制植株对 Zn 的吸收,而减轻 Zn 对植株的氧化性损伤。植株体内 POD 是植物抵抗氧化性胁迫的一类关键酶,当植物面临重金属氧化性胁迫时,植株体内 POD 活性会增强^[16],但植株这种调节能力有一定的阈值,当重金属氧化性胁迫超过这个阈值时,植株体内 POD 活性会随着胁迫的进一步加剧而不断下降^[17],在试验中并没有发现 POD 活性上升的现象,POD 活性随着外源 Zn 添加量的增大而不断下降,这可能是当向土壤中添加 200 mg/kg 的 Zn 时,Zn 的胁迫强度已超过了植株自我调节的阈值。另外,FCZ05H 在没有添加 Zn 时对大豆有一定的促长作用,但随着土壤中 Zn 浓度的增加,这种作用逐渐消失,表明尽管该菌对 Zn 有一定的抵抗能力,但是该菌的促长功能还是会因 Zn 胁迫而消失。

参考文献:

- [1] 曾希柏,杨正礼.中国农业环境质量状况与保护对策[J].应用生态学报,2006,17(1):131-136.
- [2] Barea J M, Pozo M J, Azcon R, et al. Microbial co-operation in the rhizosphere[J]. J Experi Bot, 2005, 56: 1761-1778.
- [3] 高翔云,汤志云,李建和,等.国内土壤环境污染现状与防治措施[J].江苏环境科技,2006,19(2):52-55.
- [4] Penyalver R, Oger P, López M M, et al. Iron-binding compounds from *Agrobacterium* spp.: Biological control strain *Agrobacterium rhizogenes* K84 produces a hydroxamate siderophore[J]. Appl Envir Microbiol, 2001, 67: 654-664.
- [5] Genrich I B, Dixon D G, Glick B R. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants[J]. Can J Microbiol, 2000, 46: 237-245.
- [6] Idris R, Trifonova R, Puschenreiter M, et al. Bacterial communities associated with flowering plants of the Ni hyperaccumulator *Thlaspi goesingense*[J]. Appl Envir Microbiol, 2004, 70: 2667-2677.
- [7] Hontzas N, Richardson A O, Belimov A, et al. Evidence for horizontal transfer of 1-aminocycl-opropane-1-carboxylate deaminase genes[J]. Appl Envir Microbiol, 2005, 71: 7556-7558.
- [8] 赵斌,何绍江.微生物学实验[M].北京:科学出版社,2002:206-207.
- [9] 夏来坤,郭天财,朱云集,等.土壤重金属铜、镉胁迫对冬小麦碳氮运转的影响[J].水土保持学报,2006,20(1):117-120.
- [10] 何江华,杜应琼,周晓红,等.Cd对叶菜生长和产量的影响及其在叶菜体内的累积[J].农业环境科学学报,2006,25(3):597-601.
- [11] 李合生.植物生理生化实验原理与技术[M].北京:高等教育出版社,2000:121-122.
- [12] Ma L Q, Komar K M, Tu C, et al. A fern that hyperaccumulates arsenic[J]. Nature, 2001, 409: 579.
- [13] Agely A A, Sylvia D M, Lena Q M. Mycorrhizae increase arsenic uptake by the hyperaccumulator Chinese brake fern (*Pteris vittata* L.)(J). J Environ Qual, 2005, 34: 2181-2186.
- [14] Khan A G, Kuek C, Chaudhry T M, et al. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation[J]. Chemosphere, 2000, 41: 197-207.
- [15] Vivas A, Biro B, Ruiz-Lozano J M, et al. Two bacterial strains isolated from a Zn-polluted soil enhance plant growth and mycorrhizal efficiency under Zn-toxicity [J]. Chemosphere, 2006, 62(9): 1523-1533.
- [16] 黄运湘,廖柏寒,王志坤,等.不同大豆品种镉毒害效应及耐镉差异性[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2008,34(5):519-524.
- [17] 唐咏.铅污染对辣椒幼苗生长及 SOD 和 POD 活性的影响[J].沈阳农业大学学报,2001,32(1):26-28.

责任编辑:罗慧敏

英文编辑:胡东平