

聚多曲霉菌对 Cd 胁迫下芥菜种子萌发、 生长和 Cd 吸收的影响

王涛¹, 张海利¹, 邹路易¹, 郁红艳¹, 黄振兴^{1,2}, 滕跃^{1,①}

(1. 江南大学环境与土木工程学院 江苏省厌氧生物技术重点实验室, 江苏 无锡 214122;

2. 江苏省水处理技术与材料协同创新中心, 江苏 苏州 215009)

摘要: 为了探明聚多曲霉菌 [*Aspergillus sydowii* (Bain. et Sart.) Thom et Church] 对芥菜 [*Brassica juncea* (Linn.) Czern.] 种子萌发、生长和 Cd 吸收的影响, 以聚多曲霉菌菌株 DJ515-2 为供试菌株, 对 1 mmol · L⁻¹ Cd 胁迫下接种组 (接种浓度为 1.0 × 10⁸ CFU · mL⁻¹ 的 DJ515-2 菌悬液) 和对照组 (未接种 DJ515-2 菌悬液) 芥菜的种子萌发状况进行了比较, 并采用盆栽法对 0、28、56 和 112 mg · kg⁻¹ Cd 胁迫下接种组和对照组芥菜单株地上部和地下部的鲜质量和干质量、地上部和地下部的 Cd 含量、单株 Cd 吸收量及根际土壤有效态 Cd 含量进行了比较。结果表明: 与对照组相比, 接种组的种子发芽率、根长、茎长和种子活力指数分别升高了 20.0%、52.4%、56.3% 和 83.7%。在不同质量浓度 Cd 胁迫下, 接种组的单株地上部和地下部的鲜质量和干质量、地上部和地下部的 Cd 含量、单株 Cd 吸收量及根际土壤有效态 Cd 含量均高于对照组; 并且, 除地上部 Cd 含量外, 28 mg · kg⁻¹ Cd 胁迫下接种组的其他指标均显著 ($P < 0.05$) 高于对照组。随着 Cd 质量浓度的提高, 对照组和接种组的单株地上部鲜质量及单株地上部和地下部的干质量总体上逐渐降低, 地上部和地下部的 Cd 含量、单株 Cd 吸收量及根际土壤有效态 Cd 含量总体上逐渐升高。研究结果显示: 聚多曲霉菌菌株 DJ515-2 能够促进芥菜种子萌发、生长和 Cd 吸收, 并能提高土壤中 Cd 的生物有效性, 对芥菜修复低浓度 (28 mg · kg⁻¹) Cd 污染土壤具有明显的促进作用。

关键词: 聚多曲霉菌; 芥菜; 种子萌发; 生长; Cd 吸收量; 植物修复

中图分类号: Q945.78; Q948.12⁺2.3; S637 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2018)03-0025-08

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2018.03.04

Effect of *Aspergillus sydowii* on seed germination, growth, and Cd uptake of *Brassica juncea* under Cd stress WANG Tao¹, ZHANG Haili¹, ZOU Luyi¹, YU Hongyan¹, HUANG Zhenxing^{1,2}, TENG Yue^{1,①} (1. Jiangsu Key Laboratory of Anaerobic Biotechnology, School of Environment and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Technology and Material of Water Treatment, Suzhou 215009, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2018, 27(3): 25-32

Abstract: In order to explore the effect of *Aspergillus sydowii* (Bain. et Sart.) Thom et Church on seed germination, growth, and Cd uptake of *Brassica juncea* (Linn.) Czern., taking *A. sydowii* strain DJ515-2 as tested strain, seed germination status of *B. juncea* in inoculation group (inoculating DJ515-2 fungal suspension with concentration of 1.0 × 10⁸ CFU · mL⁻¹) and the control group (not inoculating DJ515-2 fungal suspension) under 1 mmol · L⁻¹ Cd stress was compared, and fresh and dry weights of above- and under-ground parts per plant, Cd content in above- and under-ground parts, Cd uptake per plant, and available Cd content in rhizosphere soil of *B. juncea* in inoculation group and the control group under 0, 28, 56, and 112 mg · kg⁻¹ Cd stresses were compared by using pot method. The results show that compared with the control group, seed germination rate, root length, stem length, and seed vigor index

收稿日期: 2017-09-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21307043); 中国博士后科学基金面上资助项目 (2016M590411)

作者简介: 王涛 (1991—), 男, 山东临朐人, 硕士研究生, 主要从事土壤重金属污染与植物修复方面的研究工作。

①通信作者 E-mail: tengyue@jiangnan.edu.cn

in inoculation group increase by 20.0%, 52.4%, 56.3%, and 83.7%, respectively. Under different mass concentrations of Cd stress, fresh and dry weights of above- and under-ground parts per plant, Cd content in above- and under-ground parts, Cd uptake per plant, and available Cd content in rhizosphere soil in inoculation group are all higher than those in the control group; and except Cd content in above-ground part, all other indexes in inoculation group under $28 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd stress are significantly ($P < 0.05$) higher than those in the control group. With increasing of Cd mass concentration, fresh weight of above-ground part per plant and dry weight of above- and under-ground parts per plant in the control group and inoculation group decrease gradually in general, and Cd content in above- and under-ground parts, Cd uptake per plant, and available Cd content in rhizosphere soil increase gradually in general. It is suggested that *A. sydowii* strain DJ515-2 can promote seed germination, growth and Cd uptake of *B. juncea*, and can improve the bioavailability of Cd in soil, shows an obviously promotive effect on restoration of low concentration ($28 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) Cd contaminated soil by *B. juncea*.

Key words: *Aspergillus sydowii* (Bain. et Sart.) Thom et Church; *Brassica juncea* (Linn.) Czern.; seed germination; growth; Cd uptake; phytoremediation

随着国内工农业的发展,大量重金属被排放到土壤中,造成土壤污染。根据 2014 年环境保护部和国土资源部发布的全国土壤污染状况数据,土壤的无机污染物中镉(Cd)污染最为严重^[1],并且,土壤中的 Cd 具有毒性大和难降解等特点,不仅能破坏土壤的生态结构,而且可通过食物链的累积作用威胁人类身体健康,因此,对 Cd 污染土壤进行修复越来越受到人们的关注。利用植物尤其是重金属超积累植物吸收土壤中的重金属元素以修复重金属污染土壤是目前学术界的研究热点,该方法具有投资少、操作方便和无二次污染等优点。然而,许多重金属超积累植物的生物量较小,生长周期较长,且对难溶态重金属元素吸收困难,因此,很难利用重金属超积累植物广泛进行重金属污染土壤修复^[2]。相关研究结果^[3-4]表明:部分微生物不但具有抵抗重金属污染的能力,而且能够促进植物生长,提高植物对土壤中重金属元素的富集能力,因此,筛选有效菌株增强植物对土壤中重金属元素的积累能力具有重要的现实意义。

芥菜 [*Brassica juncea* (Linn.) Czern.] 隶属于十字花科(Brassicaceae)芸苔属(*Brassica* Linn.),为一年生草本植物,具有很强的 Cd 富集能力^[5]。聚多曲霉菌 [*Aspergillus sydowii* (Bain. et Sart.) Thom et Church] 隶属于曲霉属(*Aspergillus* Mich. ex Link: Fr.),来源广泛,易培养,对 Cd 抗性较强,并能够提高土壤中重金属元素的生物有效性^[6]。Khan 等^[7]认为,具有一定重金属抗性的曲霉属真菌具有强化植物修复重金属污染土壤的潜能,但关于该属真菌的实际应用情况尚未明确。

作者从污染土壤中筛选出具有一定 Cd 抗性的

聚多曲霉菌菌株 DJ515-2,对 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 胁迫下接种组(接种浓度为 $1.0 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 DJ515-2 菌悬液)和对照组(未接种 DJ515-2 菌悬液)芥菜种子萌发状况进行了比较分析,并采用盆栽法对不同水平 Cd 污染土壤中接种组和对照组芥菜单株地上部和地下部的鲜质量和干质量、地上部和地下部的 Cd 含量、单株 Cd 吸收量及根际土壤有效态 Cd 含量进行了比较研究,以期明确聚多曲霉菌对芥菜种子萌发和生长的影响,并探究其对芥菜修复 Cd 污染土壤的促进效果,为超积累植物-微生物联合修复 Cd 污染土壤的实践应用提供理论指导。

1 材料和方法

1.1 材料

供试芥菜种子购自江苏省花中之王销售基地,将芥菜种子先用无水乙醇和体积分数 30% H_2O_2 的等体积混合液灭菌 15 min,再用无菌水冲洗干净后备用;供试聚多曲霉菌菌株分离自山东省临沂市某化工厂附近以 Cd 污染为主的土壤;供试土壤为江苏省无锡市滨湖区太湖岸边 0~20 cm 的表层土壤,风干后研磨,过孔径 2 mm 筛,混匀。土壤中的有机质含量为 $13.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,全氮含量为 $0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,有效磷含量为 $56.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,速效钾含量为 $99.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,阳离子交换量为 $21.3 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$,Cd 含量为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,pH 6.73。

1.2 方法

1.2.1 供试菌株和菌悬液的制备 称取 1 g 以 Cd 污染为主的土壤,加入 9 mL 无菌水,振荡 20 min;取

1 mL 悬浮液,采用10倍梯度稀释法进行逐级稀释;量取稀释1 000、10 000和100 000倍的稀释液各200 μL ,分别涂布在含质量浓度 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cd}$ 的PDA固体培养基上,置于 $28\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中培养。选取优势单菌落,逐步提高PDA固体培养基的Cd质量浓度,分离并纯化获得具有较强Cd抗性的菌株(最小抑菌Cd质量浓度为 $1\ 500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。经ITS序列测序和分析,该菌株为聚多曲霉菌,命名为DJ515-2, GenBank 登录号MF359934。

将DJ515-2接种到PDA液体培养基中,置于 $28\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温气浴摇床上 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡培养24 h;于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下 $8\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min;沉淀用质量分数0.9% NaCl溶液清洗3次,重悬于无菌水中,制成浓度为 $1.0\times 10^8\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的菌悬液。

1.2.2 种子萌发实验 将供试种子平均分成2组,一组用浓度为 $1.0\times 10^8\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的DJ515-2菌悬液浸泡4 h,作为接菌组种子;另一组用超纯水浸泡4 h,作为对照组种子。取接菌组种子30粒,平均放入3个铺有无菌滤纸的灭菌培养皿中,每个培养皿加入浓度为 $1.0\times 10^8\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的DJ515-2菌悬液5 mL;取对照组种子30粒,平均放入3个铺有无菌滤纸的灭菌培养皿中,每个培养皿加入超纯水5 mL。接菌组和对照组的培养皿均喷洒 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{CdSO}_4$ 溶液5 mL,置于 $28\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下暗培养7 d,观察种子发芽状况(以胚芽露出种皮作为判断种子发芽的标准),根据公式“种子发芽率=(发芽种子数/供试种子数) $\times 100\%$ ”计算种子发芽率;同时,用游标卡尺(精度0.01 cm)测量根长和茎长,其中,根长为胚根到胚轴的长度,茎长为胚轴到胚芽的长度。根据公式“种子活力指数=种子发芽率 \times (根长+茎长)”^[8]计算种子活力指数。

1.2.3 盆栽实验 于2017年4月1日,在江南大学温室花房进行盆栽实验。取一定量 CdCl_2 固体粉末,倒入供试土壤中,加水并搅拌均匀,使土壤的Cd质量浓度分别为0、28、56和 $112\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;3周后于 $121\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下高温灭菌20 min,冷却后装盆,每盆装入模拟Cd污染土壤1.5 kg。将供试种子平均分成2组,一组用浓度为 $1.0\times 10^8\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的DJ515-2菌悬液浸泡4 h,作为接菌组种子;另一组用超纯水浸泡4 h,作为对照组种子。采用直播方式进行播种,每组播种6盆,每盆10粒种子,各3个重复。种子发芽1周后进行间苗,每盆保留长势良好的幼苗5株;植

株长势稳定后,接菌组每盆加入浓度为 $1.0\times 10^8\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的DJ515-2菌悬液5 mL,对照组每盆加入超纯水5 mL。实验期间,保持自然通风,光照充足,每天早晚各浇超纯水1次。

1.2.4 植物样品采集及指标测定 培养3周后,沿土壤表面剪下样株,将样株分成地上部和地下部2个部分,并将同一盆的样品放在一起。样品用蒸馏水洗净后,用吸水纸吸干表面水分,使用精度0.0001 g的电子天平分别称量每盆植株地上部和地下部的总鲜质量;置于 $105\text{ }^\circ\text{C}$ 烘箱内杀青0.5 h,并于 $65\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下烘干至恒质量,分别称量每盆植株地上部和地下部的总干质量。根据上述测量结果分别计算接菌组和对照组单株地上部和地下部的鲜质量和干质量。

将烘干的地上部和地下部样品粉碎,各取0.2 g样品,加入 $V(\text{硝酸}):V(\text{高氯酸})=4:1$ 的混合溶液,使用Multiwave PRO高通量微波消解仪(奥地利Anton Paar公司)进行微波消解;使用AA-7000火焰原子吸收分光光度计(日本Shimadzu公司)分别测定地上部和地下部的Cd含量。根据公式“单株Cd吸收量=(地上部Cd含量 \times 单株地上部干质量)+(地下部Cd含量 \times 单株地下部干质量)”计算单株Cd吸收量。

1.2.5 根际土壤有效态Cd含量测定 在植株取样后,挖取植株根际周围的土壤,自然风干后,过60目尼龙筛,按照固液比1:10的比例加入 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{HCl}$ 溶液;使用AA-7000火焰原子吸收分光光度计测定根际土壤有效态Cd含量。

1.3 数据处理及统计分析

采用EXCEL 2007软件计算相关数据的平均值和标准差,采用Origin 8软件作图,采用SPSS 19.0统计分析软件进行LSD单因素方差分析。

2 结果和分析

2.1 聚多曲霉菌对Cd胁迫下芥菜种子萌发的影响

种子萌发实验结果(表1)表明:在相同Cd胁迫条件下,接菌组(接种浓度为 $1.0\times 10^8\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的DJ515-2菌悬液)芥菜种子发芽率、根长、茎长和种子活力指数均高于对照组(未接种DJ515-2菌悬液),分别较对照组升高了20.0%、52.4%、56.3%和83.7%,但与对照组间的差异均不显著,说明聚多曲霉菌对Cd胁迫下芥菜种子萌发有一定的促进作用,但其促进作用并不显著。

表 1 聚多曲霉菌对 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}$ 胁迫下芥菜种子萌发的影响 ($\bar{X} \pm \text{SD}$)¹⁾Table 1 Effect of *Aspergillus sydowii* (Bain. et Sart.) Thom et Church on seed germination of *Brassica juncea* (Linn.) Czern. under $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}$ stress ($\bar{X} \pm \text{SD}$)¹⁾

处理组 ²⁾ Treatment group ²⁾	种子发芽率/% Seed germination rate	根长/cm Root length	茎长/cm Stem length	种子活力指数 Seed vigor index
CK	50.0±10.0a	0.82±0.29a	0.16±0.05a	49.00±22.59a
T	60.0±10.0a	1.25±0.81a	0.25±0.08a	90.00±54.99a

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant difference ($P < 0.05$).

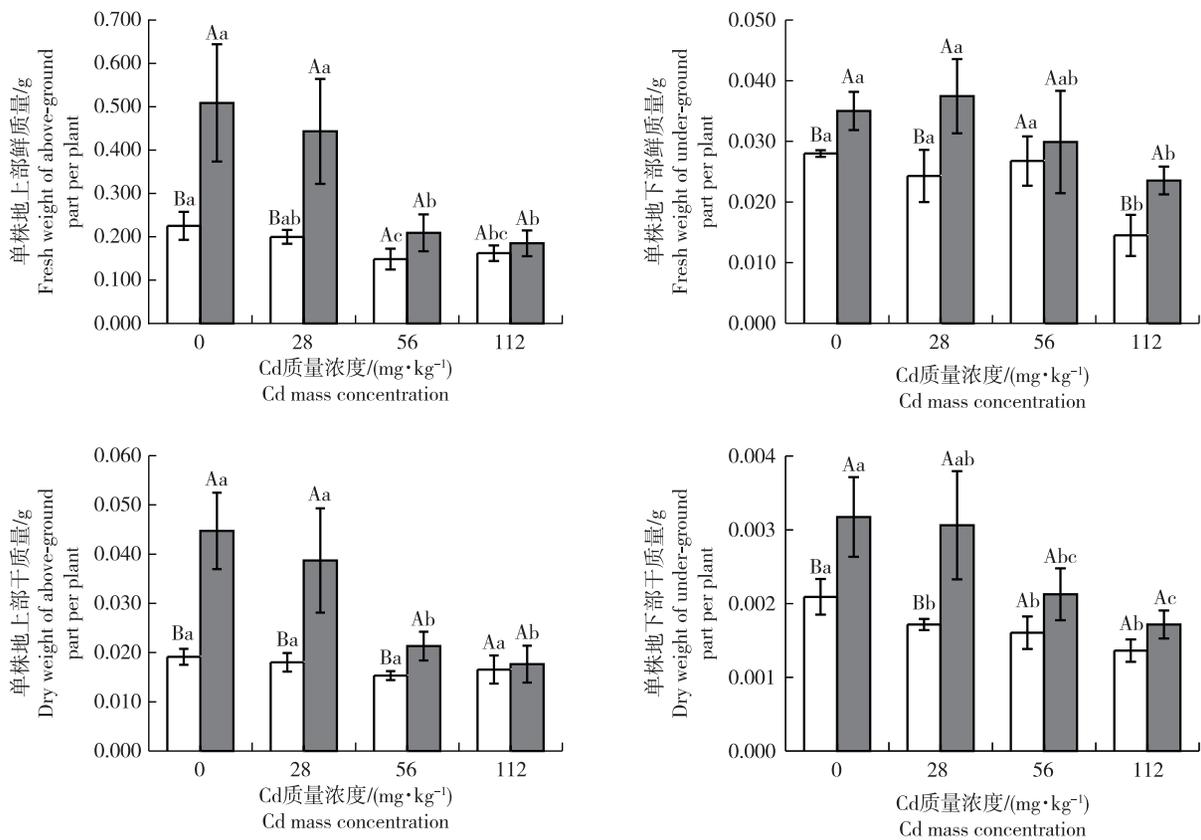
²⁾ CK: 对照组 (未接种 DJ515-2 菌悬液) The control group (not inoculating DJ515-2 fungal suspension); T: 接菌组 (接种浓度为 $1.0 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 DJ515-2 菌悬液) Inoculation group (inoculating DJ515-2 fungal suspension with concentration of $1.0 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$).

2.2 聚多曲霉菌对 Cd 胁迫下芥菜单株质量的影响

聚多曲霉菌对不同质量浓度 Cd 胁迫下芥菜单株质量的影响见图 1。

2.2.1 对单株地上部鲜质量的影响 由图 1 可以看出: 0、28、56 和 $112 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{Cd}$ 胁迫下接菌组 (接种

浓度为 $1.0 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 DJ515-2 菌悬液) 芥菜的单株地上部鲜质量均高于对照组 (未接种 DJ515-2 菌悬液), 分别较对照组升高了 125.4%、121.9%、40.8% 和 14.2%, 其中, 0 和 $28 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{Cd}$ 胁迫下接菌组的单株地上部鲜质量显著 ($P < 0.05$) 高于对照



□: 对照组 (未接种 DJ515-2 菌悬液) The control group (not inoculating DJ515-2 fungal suspension); ■: 接菌组 (接种浓度为 $1.0 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 DJ515-2 菌悬液) Inoculation group (inoculating DJ515-2 fungal suspension with concentration of $1.0 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$). 不同大写字母表示在相同质量浓度 Cd 胁迫下接菌组和对照组间同一指标差异显著 ($P < 0.05$) Different capitals indicate the significant difference in the same index between inoculation group and the control group under the same mass concentration of Cd stress ($P < 0.05$); 不同小写字母表示在不同质量浓度 Cd 胁迫下接菌组或对照组的同一指标差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases indicate the significant difference in the same index in inoculation group or the control group under different mass concentrations of Cd stress ($P < 0.05$).

图 1 聚多曲霉菌对不同质量浓度 Cd 胁迫下芥菜单株质量的影响

Fig. 1 Effect of *Aspergillus sydowii* (Bain. et Sart.) Thom et Church on weight per plant of *Brassica juncea* (Linn.) Czern. under different mass concentrations of Cd stress

组。随着Cd质量浓度的提高,对照组和接菌组的单株地上部鲜质量总体上逐渐降低;并且,在0和28 mg·kg⁻¹Cd胁迫下对照组和接菌组的单株地上部鲜质量总体上显著高于56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫。

2.2.2 对单株地下部鲜质量的影响 由图1还可以看出:0、28、56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组芥菜的单株地下部鲜质量均高于对照组,分别较对照组升高了25.1%、54.2%、11.7%和62.4%,其中,0、28和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组的单株地下部鲜质量显著高于对照组。随着Cd质量浓度的提高,对照组的单株地下部鲜质量波动变化,接菌组的单株地下部鲜质量在0~28 mg·kg⁻¹Cd胁迫下升高、在28~112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下降低,并在28 mg·kg⁻¹Cd胁迫下达到最高值,其中,在0、28和56 mg·kg⁻¹Cd胁迫下对照组和接菌组的单株地下部鲜质量差异不显著,但显著高于112 mg·kg⁻¹Cd胁迫。

2.2.3 对单株地上部干质量的影响 由图1还可以看出:0、28、56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组芥菜的单株地上部干质量均高于对照组,分别较对照组升高了133.6%、114.9%、39.0%和6.7%,其中,0、28和56 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组的单株地上部干质量显著高于对照组。随着Cd质量浓度的提高,对照组和接菌组的单株地上部干质量总体上逐渐降低,其中,0、28、56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下对照组的单株地

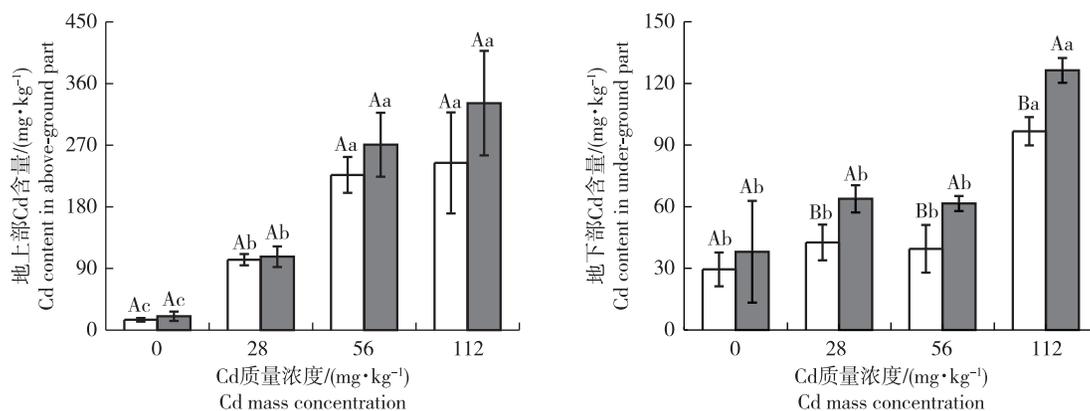
上部干质量差异不显著,而0和28 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组的单株地上部干质量则显著高于56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫。

2.2.4 对单株地下部干质量的影响 由图1还可以看出:0、28、56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组芥菜的单株地下部干质量均高于对照组,分别较对照组升高了51.7%、82.4%、31.3%和21.4%,其中,0和28 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组的单株地下部干质量显著高于对照组。随着Cd质量浓度的提高,对照组和接菌组的单株地下部干质量均逐渐降低,其中,28、56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下对照组和接菌组的单株地下部干质量总体上差异不显著,但显著低于0 mg·kg⁻¹Cd胁迫。

2.3 聚多曲霉菌对Cd胁迫下芥菜Cd含量的影响

聚多曲霉对不同质量浓度Cd胁迫下芥菜Cd含量的影响见图2。

2.3.1 对地上部Cd含量的影响 由图2可以看出:0、28、56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组(接种浓度为1.0×10⁸ CFU·mL⁻¹的DJ515-2菌悬液)芥菜的地上部Cd含量均高于对照组(未接种DJ515-2菌悬液),分别较对照组升高了33.7%、4.3%、19.5%和35.7%,其中,不同质量浓度Cd胁迫下接菌组和对照组的地上部Cd含量差异均不显著。随着Cd质量浓度的提高,对照组和接菌组的地上部Cd含量均逐渐



□: 对照组(未接种DJ515-2菌悬液) The control group (not inoculating DJ515-2 fungal suspension); ■: 接菌组(接种浓度为1.0×10⁸ CFU·mL⁻¹的DJ515-2菌悬液) Inoculation group (inoculating DJ515-2 fungal suspension with concentration of 1.0×10⁸ CFU·mL⁻¹). 不同大写字母表示在相同质量浓度Cd胁迫下接菌组和对照组间同一指标差异显著(P<0.05) Different capitals indicate the significant difference in the same index between inoculation group and the control group under the same mass concentration of Cd stress (P<0.05); 不同小写字母表示在不同质量浓度Cd胁迫下接菌组或对照组的同一指标差异显著(P<0.05) Different lowercases indicate the significant difference in the same index in inoculation group or the control group under different mass concentrations of Cd stress (P<0.05).

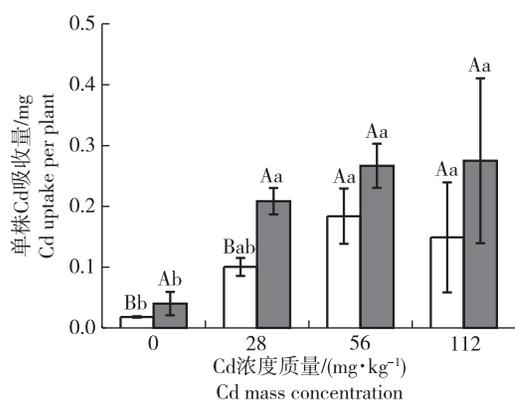
图2 聚多曲霉菌对不同质量浓度Cd胁迫下芥菜Cd含量的影响
Fig. 2 Effect of *Aspergillus sydowii* (Bain, et Sart.) Thom et Church on Cd content in *Brassica juncea* (Linn.) Czern. under different mass concentrations of Cd stress

升高;并且,0和28 mg·kg⁻¹Cd胁迫下对照组和接菌组的地上部Cd含量差异显著($P<0.05$),并显著低于56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫。

2.3.2 对地下部Cd含量的影响 由图2还可以看出:0、28、56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组芥菜的地下部Cd含量均高于对照组,分别较对照组升高了29.2%、49.8%、55.8%和30.6%,其中,28、56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组的地下部Cd含量显著高于对照组。随着Cd质量浓度的提高,对照组和接菌组的地下部Cd含量总体上逐渐升高;并且,0、28和56 mg·kg⁻¹Cd胁迫下对照组和接菌组的地下部Cd含量差异不显著,但显著低于112 mg·kg⁻¹Cd胁迫。

2.4 聚多曲霉菌对Cd胁迫下芥菜单株Cd吸收量的影响

聚多曲霉对不同质量浓度Cd胁迫下芥菜单株Cd吸收量的影响见图3。由图3可以看出:0、28、56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组(接种浓度为 1.0×10^8 CFU·mL⁻¹的DJ515-2菌悬液)芥菜的单株Cd吸收量均高于对照组(未接种DJ515-2菌悬液),分别较对照组升高了121.8%、107.8%、45.2%和84.7%;



□: 对照组(未接种DJ515-2菌悬液) The control group (not inoculating DJ515-2 fungal suspension); ■: 接菌组(接种浓度为 1.0×10^8 CFU·mL⁻¹的DJ515-2菌悬液) Inoculation group (inoculating DJ515-2 fungal suspension with concentration of 1.0×10^8 CFU·mL⁻¹). 不同大写字母表示在相同质量浓度Cd胁迫下接菌组和对照组间单株Cd吸收量差异显著($P<0.05$) Different capitals indicate the significant difference in Cd uptake per plant between inoculation group and the control group under the same mass concentration of Cd stress ($P<0.05$); 不同小写字母表示在不同质量浓度Cd胁迫下接菌组或对照组的单株Cd吸收量差异显著($P<0.05$) Different lowercases indicate the significant difference in Cd uptake per plant in inoculation group or the control group under different mass concentrations of Cd stress ($P<0.05$).

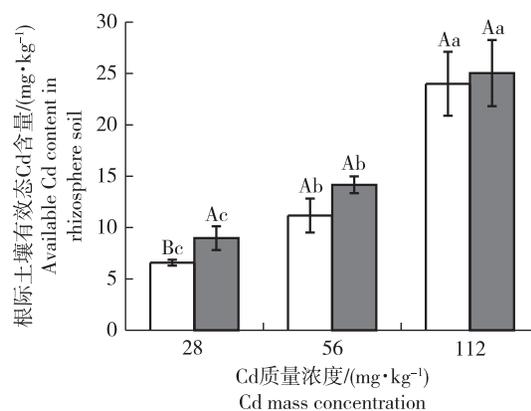
图3 聚多曲霉菌对不同质量浓度Cd胁迫下芥菜单株Cd吸收量的影响

Fig. 3 Effect of *Aspergillus sydowii* (Bain. et Sart.) Thom et Church on Cd uptake per plant of *Brassica juncea* (Linn.) Czern. under different mass concentrations of Cd stress

0和28 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组的单株Cd吸收量显著($P<0.05$)高于对照组,而56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组的单株Cd吸收量略高于对照组。随着Cd质量浓度的提高,对照组和接菌组的单株Cd吸收量总体上呈逐渐升高的趋势;并且,56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下对照组的单株Cd吸收量显著高于0 mg·kg⁻¹Cd胁迫,28、56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组的单株Cd吸收量显著高于0 mg·kg⁻¹Cd胁迫。

2.5 聚多曲霉菌对Cd胁迫下芥菜根际土壤有效态Cd含量的影响

由于0 mg·kg⁻¹Cd胁迫下根际土壤中的有效态Cd几乎完全被芥菜吸收,导致芥菜根际土壤的有效态Cd含量极低(接近0 mg·kg⁻¹),因此,仅对28、56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组(接种浓度为 1.0×10^8 CFU·mL⁻¹的DJ515-2菌悬液)和对照组(未接种DJ515-2菌悬液)芥菜根际土壤的有效态Cd含量进行了统计分析,结果见图4。由图4可以看出:28、56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组芥菜根际土壤的



□: 对照组(未接种DJ515-2菌悬液) The control group (not inoculating DJ515-2 fungal suspension); ■: 接菌组(接种浓度为 1.0×10^8 CFU·mL⁻¹的DJ515-2菌悬液) Inoculation group (inoculating DJ515-2 fungal suspension with concentration of 1.0×10^8 CFU·mL⁻¹). 不同大写字母表示在相同质量浓度Cd胁迫下接菌组和对照组间根际土壤有效态Cd含量差异显著($P<0.05$) Different capitals indicate the significant difference in available Cd content in rhizosphere soil between inoculation group and the control group under the same mass concentration of Cd stress ($P<0.05$); 不同小写字母表示在不同质量浓度Cd胁迫下接菌组或对照组的根际土壤有效态Cd含量差异显著($P<0.05$) Different lowercases indicate the significant difference in available Cd content in rhizosphere soil in inoculation group or the control group under different mass concentrations of Cd stress ($P<0.05$).

图4 聚多曲霉菌对不同质量浓度Cd胁迫下芥菜根际土壤有效态Cd含量的影响

Fig. 4 Effect of *Aspergillus sydowii* (Bain. et Sart.) Thom et Church on available Cd content in rhizosphere soil of *Brassica juncea* (Linn.) Czern. under different mass concentrations of Cd stress

有效态Cd含量均高于对照组,分别较对照组升高了36.3%、26.7%和4.3%,其中,28 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组的根际土壤有效态Cd含量显著($P<0.05$)高于对照组,而56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下对照组和接菌组的根际土壤有效态Cd含量差异不显著。随着Cd质量浓度的提高,对照组和接菌组的根际土壤有效态Cd含量逐渐升高;并且,28、56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下对照组和接菌组的根际土壤有效态Cd含量差异显著。

3 讨论和结论

种子活力指数能够综合反映植物种子的发芽和生长状况,是能够较全面评价植物种子活力的重要指标。本研究中,在1 mmol·L⁻¹Cd胁迫下,接菌组(接种浓度为 1.0×10^8 CFU·mL⁻¹的DJ515-2菌悬液)芥菜的种子活力指数较对照组(未接种DJ515-2菌悬液)升高了83.7%,说明聚多曲霉菌菌株DJ515-2能够提高芥菜种子的生命力,增强其对复杂土壤环境的适应能力,利于盆栽期间芥菜的生长和发育。通常情况下,重金属元素对植物根部的细胞分裂具有抑制作用,从而阻碍植株根系生长^[9]。真菌能够分泌一些多胺类物质,利于植物根部细胞分裂,从而促进根的伸长生长^[8]。本研究中,接菌组芥菜的根长明显高于对照组,较对照组升高了52.4%,这可能是由于聚多曲霉菌菌株DJ515-2能够分泌一些多胺类化合物,从而促进芥菜幼苗根的伸长生长,具体作用机制有待进一步深入研究。

杨榕^[10]的研究结果表明:植物生长直接影响重金属污染土壤的修复效果。与对照组相比,接菌组芥菜单株地上部和地下部的鲜质量和干质量均不同程度升高,且在0和28 mg·kg⁻¹Cd胁迫下显著($P<0.05$)升高;但是,随着Cd质量浓度的提高,对照组和接菌组的单株地上部和地下部的鲜质量和干质量总体上逐渐下降,说明聚多曲霉菌菌株DJ515-2对芥菜生长有一定影响,且该菌株利于芥菜修复低浓度(28 mg·kg⁻¹)Cd污染土壤。相关研究结果表明:真菌通过自身产生的吡啶乙酸、铁载体、溶磷能力和1-氨基环丙烷-1-羧酸脱氨酶(ACC脱氨酶)等促进植物生长^[11],并且能够分泌一些特殊物质提高植物对胁迫环境的抗性^[12],从而确保植物正常生长,关于聚多曲霉菌菌株DJ515-2对芥菜是否也有这种作用尚

不清楚,有待进一步研究。

目前,关于曲霉属真菌在植物修复重金属污染土壤中的作用存在很大争议。Xie等^[13]认为,曲霉属真菌能够将土壤中的重金属元素固定,抑制重金属元素迁移;而Li等^[14]和Liu等^[15]认为,曲霉属真菌能够提高植物体内的Cd含量,促进植物对Cd的吸收。本研究中,不同质量浓度Cd胁迫下接菌组芥菜地上部和地下部的Cd含量均高于对照组,并且,28、56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组的地下部Cd含量显著高于对照组,说明聚多曲霉菌菌株DJ515-2能够促进芥菜对土壤中Cd的吸收。

单株重金属元素吸收量是评价植物修复污染土壤效果的重要指标^[16]。本研究中,不同质量浓度Cd胁迫下接菌组芥菜的单株Cd吸收量均高于对照组,并且,28 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组的单株Cd吸收量显著高于对照组,较对照组升高了107.8%,明显高于接种相关菌株后其他植物单株Cd吸收量的增幅^[17-18],说明聚多曲霉菌菌株DJ515-2对芥菜吸收土壤中的Cd具有明显的促进作用。

一般情况下,重金属元素通常以不同化学形态存在于土壤中,然而重金属元素只有转化成有效态才能够被植物吸收^[19],因此,可利用有效态重金属元素含量评价重金属污染土壤的环境风险、生物有效性和毒性,进而判定土壤的污染状况^[20]。相关研究结果表明:真菌被接种到土壤后,可通过分泌的有机酸及自身的代谢活动来提高土壤中重金属元素的生物有效性^[21-22]。本研究中,28、56和112 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组芥菜根际土壤的有效态Cd含量均高于对照组,其中,28 mg·kg⁻¹Cd胁迫下接菌组根际土壤有效态Cd含量显著高于对照组,较对照组升高了36.3%,说明聚多曲霉菌菌株DJ515-2能够显著提高芥菜根际土壤中的有效态Cd含量。土壤中有有效态Cd含量的增加可导致植物吸收更多的Cd²⁺,从而抑制植株生长,这可能是芥菜单株地上部和地下部的鲜质量和干质量随Cd质量浓度提高而逐渐降低的主要原因。

综上所述,聚多曲霉菌菌株DJ515-2能够提高芥菜的种子活力,促进其种子萌发。在不同质量浓度Cd胁迫下,该菌株对芥菜的生长和Cd吸收均有一定的促进作用,并能够提高土壤中Cd的生物有效性,对芥菜修复低浓度(28 mg·kg⁻¹)Cd污染土壤具有明显的促进效果。

参考文献:

- [1] 环境保护部, 国土资源部. 全国土壤污染状况调查公报[J]. 中国环保产业, 2014, 36(5): 10-11.
- [2] 芦小军, 李博文, 杨卓, 等. 微生物对土壤 Cd Pb 和 Zn 生物有效性的影响研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(7): 1315-1319.
- [3] CHEN B, ZHANG Y, RAFIQ M T, et al. Improvement of cadmium uptake and accumulation in *Sedum alfredii* by endophytic bacteria *Sphingomonas SaMR12*: effects on plant growth and root exudates [J]. Chemosphere, 2014, 117: 367-373.
- [4] JIANG Q Y, TAN S Y, ZHUO F, et al. Effect of *Funneliformis mosseae*, on the growth, cadmium accumulation and antioxidant activities of *Solanum nigrum*[J]. Applied Soil Ecology, 2016, 98: 112-120.
- [5] 孙涛, 张玉秀, 柴团耀. 印度芥菜 (*Brassica juncea* L.) 重金属耐性机理研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2011, 19(1): 226-234.
- [6] 祖艳群, 卢鑫, 湛方栋, 等. 丛枝菌根真菌在土壤重金属污染植物修复中的作用及机理研究进展[J]. 植物生理学报, 2015, 51(10): 1538-1548.
- [7] KHAN A R, WAQAS M, ULLAH I, et al. Culturable endophytic fungal diversity in the cadmium hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and their role in enhancing phytoremediation[J]. Environmental and Experimental Botany, 2017, 135: 126-135.
- [8] AMPRAYN K-O, ROSE M T, KECSKÉS M, et al. Plant growth promoting characteristics of soil yeast (*Candida tropicalis* HY) and its effectiveness for promoting rice growth[J]. Applied Soil Ecology, 2012, 61: 295-299.
- [9] 董春兰, 徐迎春, 陈亚华, 等. 土壤 Cu 胁迫对观赏牡丹生长、生理及 Cu 富集能力的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2013, 22(2): 39-46.
- [10] 杨榕. 胶质芽孢杆菌促进印度芥菜富集土壤镉的效应研究[D]. 保定: 河北农业大学资源与环境科学学院, 2013: 15-16.
- [11] VITERBO A, LANDAU U, KIM S, et al. Characterization of ACC deaminase from the biocontrol and plant growth-promoting agent *Trichoderma asperellum* T203 [J]. FEMS Microbiology Letters, 2010, 305: 42-48.
- [12] 欧阳玉莹, 洪滔, 洪陈洁, 等. 不同内生真菌对缺磷条件下千年桐幼苗生长及 C、N、P 和 K 含量的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2017, 26(4): 32-44.
- [13] XIE Y, LUO H, DU Z, et al. Identification of cadmium-resistant fungi related to Cd transportation, in bermudagrass [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.][J]. Chemosphere, 2014, 117: 786-792.
- [14] LI X, GITAU M M, HAN S, et al. Effects of cadmium-resistant fungi *Aspergillus aculeatus* on metabolic profiles of bermudagrass [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.] under Cd stress [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2017, 114: 38-50.
- [15] LIU H, YUAN M, TAN S, et al. Enhancement of arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus versiforme*) on the growth and Cd uptake by Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum*[J]. Applied Soil Ecology, 2015, 89: 44-49.
- [16] 许毅涛, 方其仙, 王吉秀, 等. 三种植物对铅锌尾矿土壤 Pb、Zn 和 Cd 的吸收特性[J]. 环境科学与技术, 2014(6N): 189-193.
- [17] 吴秉奇, 刘淑杰, 张森, 等. 接种耐镉细菌对青苜蓿吸收积累土壤中镉的影响[J]. 生态学杂志, 2014, 33(12): 3409-3415.
- [18] DELL'AMICO E, CAVALCA L, ANDREONI V. Improvement of *Brassica napus* growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40: 74-84.
- [19] CHOJNACKA K, CHOJNACKI A, GÓRZECKA H, et al. Bioavailability of heavy metals from polluted soils to plants [J]. Science of the Total Environment, 2005, 337: 175-182.
- [20] 钟晓兰, 周生路, 李江涛, 等. 长江三角洲地区土壤重金属生物有效性的研究: 以江苏昆山市为例[J]. 土壤学报, 2008, 45(2): 240-248.
- [21] 毛亮, 靳治国, 高扬, 等. 微生物对龙葵的生理活性和吸收重金属的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(1): 29-36.
- [22] 杨榕, 李博文, 刘微. 胶质芽孢杆菌对印度芥菜富集土壤 Cd 及土壤 pH 的影响[J]. 环境科学学报, 2013, 33(6): 1648-1654.

(责任编辑: 佟金凤)