

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201407048

周晓伦, 牛李莹, 郑宁国, 等. 两株氢氧化细菌(zw-17, zw-35)对重金属胁迫下白菜幼苗生长的影响[J]. 广西植物, 2015, 35(5): 673–678  
Zhou XL, Niu LY, Zheng NG, et al. Effects of two hydrogen-oxidizing bacterial (zw-17, zw-35) on *Pak choi* growth under heavy metal stress[J]. *Guihaia*, 2015, 35(5): 673–678

## 两株氢氧化细菌(zw-17, zw-35)对重金属胁迫下白菜幼苗生长的影响

周晓伦, 牛李莹, 郑宁国, 王卫卫\*

(西北大学 西部资源生物与现代生物技术教育部重点实验室, 西安 710069)

**摘要:** 氢氧化细菌属于植物促生菌, 其促生机制的探索已成为当前国内外关注的热点, 目前对氢氧化细菌的研究主要集中在其促生活性物质的研究, 对重金属胁迫下植物的促生研究较少。为了研究氢氧化细菌对重金属胁迫下的植物幼苗是否具有促生和保护作用, 该研究以 2 株氢氧化细菌和白菜幼苗为材料, 用常规鉴定和分子生物学鉴定法确定菌株的种属, 采用 NJ 邻近法构建系统发育树、2,4-二硝基苯肼法测定菌株 ACC 脱氨酶活性、Salkowski reagent 法测定菌株分泌 IAA 的能力、Belimov 法测定氢氧化细菌的植物促生根长活性、Wilkins 法测定白菜幼苗的抗性指数。结果表明: 2 株氢氧化细菌分别属于 *Pseudomonas* sp. zw-17 和 *Sphingobacterium* zw-35; ACC 脱氨酶活力为  $(17.87 \pm 0.58)$ 、 $(22.26 \pm 0.85) \mu\text{mol a-KB} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ; 产 IAA 的能力为  $(13.21 \pm 0.78)$ 、 $(5.79 \pm 0.35) \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 与未接种氢氧化细菌的对照组的根长相比, 接种氢氧化细菌有利于植物根的生长; 与对照组相比, 接种 zw-17, zw-35 的白菜幼苗抗性指数都有显著性的增长。在处于 Cr、Pb 的环境下, 2 株氢氧化细菌都能促进白菜幼苗增长, Pb 存在时 *Pseudomonas* sp. zw-17 的表现较显著, 在 Cr 存在时 *Sphingobacterium* sp. zw-35 的表现较显著。在高浓度的重金属环境中, 能保护白菜种子安全的生长。该研究结果可为氢氧化细菌对植物的促生和保护提供理论依据, 同时丰富了氢氧化细菌的种群分类。

**关键词:** 白菜幼苗; 氢氧化细菌; ACC 脱氨酶; 植物促生根活性; 抗性指数

**中图分类号:** Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2015)05-0673-06

## Effects of two hydrogen-oxidizing bacterial(zw-17, zw-35) on *Pak choi* growth under heavy metal stress

ZHOU Xiao-Lun, NIU Li-Ying, ZHENG Ning-Guo, WANG Wei-Wei\*

(Key Laboratory of Resource Biology and Biotechnology in Western China, Ministry of Education, Northwest University, Xi'an 710069, China)

**Abstract:** Hydrogen oxidizing bacteria belonging to the plant growth promoting rhizobacteria, so the mechanism for the growth of exploration has become a focus attention at home and abroad, in which there are few researches on plant growth promoting of hydrogen oxidizing bacteria under heavy metals stress. In order to study whether the hydrogen oxidizing bacteria has growth promotion and protection to the *Pak choi* seedlings under heavy metal stress. We used two strains hydroxide bacteria and cabbage seedlings as the research materials. The strain species identification was determined by conventional and molecular biology method. Using NJ adjacent method to construct phylogenetic tree, ACC deaminase activity was estimated by 2,4-dinitrobenzene hydrazine method, the ability of IAA was determined by

收稿日期: 2014-10-23 修回日期: 2014-12-16

基金项目: 陕西省自然科学基金(SJ082ZT03); 中国科学院“西部之光”人才培养计划项目(2013 年度)。

作者简介: 周晓伦(1987-), 男, 甘肃靖远人, 硕士研究生, 主要从事土壤微生物的研究, (E-mail)610253095@qq.com。

\*通讯作者: 王卫卫, 博士, 教授, 主要从事豆科植物—根瘤菌共生固氮生态生理学及根际微生物多样性研究, (E-mail)wwwang@nwu.edu.cn。

Salkowski reagent method, the plant root elongation promoting activity of the isolated hydrogen oxidizing bacteria was determined by the modified Belimov method. Wilkins method was used to test the resistance of *Pak choi* seedlings tolerance index. The results showed that two hydrogen oxidizing bacteria respectively belong to *Pseudomonas* sp. zw-17 and *Sphingobacterium* sp. zw-35. The ACC deaminase activity was  $(17.87 \pm 0.58)$ ,  $(22.26 \pm 0.85)$   $\mu\text{mol a-KB} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ . The ability of IAA was  $(13.21 \pm 0.78)$  to  $(5.79 \pm 5.79)$   $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Compared to the control group, inoculating hydroxide bacteria was benefit to the growth of the *Pak choi* seedlings root. Compared to the control group, tolerance index of *Pak choi* seedlings had significant increase when inoculated with zw-17, zw-35. The results of tolerance index and physiological indicators for *Pak choi* seedlings, obtained for chromium and lead for both hydrogen oxidizing bacteria strains, showed that the development of plants inoculated with the hydrogen-oxidizing bacteria *Pseudomonas* sp. zw-17 strain favored the radical growth of *Pak choi* seedlings exposed to Pb and *Pseudomonas* sp. zw-35 strain in seedlings exposed to Cr; both strains keep the safe development of this species in the presence of the heavy metals at higher concentrations. This study would provide a theoretical basis for hydrogen oxidizing bacteria promoting and protecting plants, and enriched hydroxide bacteria species classification.

**Key words:** *Pak choi* seedlings; hydrogen-oxidizing bacteria; ACC deaminase; plant root elongation promoting; tolerance index

由于人为活动,例如自然资源的开采、产品加工制造业、现代农业活动和能源制造,导致释放的重金属对自然环境产生不利的影响(Seraj, 2013)。常见的重金属有镉、铅、锌、铬、铜等。重金属不像有机物,不能被降解为无害的产物,因此一直存留在环境中。植物对重金属的耐受与其产生的一种多肽类物质有关,这种物质能够螯合重金属,从而减少重金属对植物根系酶的伤害(Cobbett, 2000)。植物根的活动可能增加金属、非金属的溶解性通过酸化、氧化还原反应、分泌金属螯合物或者有机配体与阴离子竞争结合位点(Jones *et al.*, 2004)。微生物能够改变金属、非金属之间的转化通过产生有机配体,分解土壤中的有机物质产生这些有机配体或者分泌一些代谢物(如有机酸)(Gadd, 2004)。微生物和植物根之间的相互作用对植物的生长和存活有着重要的影响(Rajkumar *et al.*, 2008)。已报道数个植物相关的细菌能够加速重金属污染的生物修复通过促进植物生长,在促进植物修复中起着重要的作用(Kuffner *et al.*, 2008; Dary *et al.*, 2010; Compant *et al.*, 2010)。这些植物促生菌能够使宿主增长和重金属的积累过程可能包括(a)合成一些化合物(例如吡啶-3-乙酸, IAA; 铁载体; 有机酸; 1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC脱氨酶), (b)刺激一些代谢途径(例如生物固氮和溶磷), (c)改变金属在植物中的迁移率和有效性。

氢氧化细菌是通过氧化  $\text{H}_2$  获得能量并固定  $\text{CO}_2$  作为唯一碳源的一类细菌,在豆科植物根际土壤中分布广泛(Volova *et al.*, 2013)。该研究以蚕

豆根际土壤分离的 2 株氢氧化细菌为研究材料,对其生理生化特征、16SrDNA 序列,促生活性物质(ACC脱氨酶、IAA),白菜幼苗生长指标和抗性指数等方面进行了研究,为分析和研究氢氧化细菌的种群结构提供了重要的实验依据,为氢氧化细菌对植物幼苗的保护和促生奠定了基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

氢氧化细菌: zw-17, zw-35, 从甘肃省靖远县郊区(36.36N, 104.42W)大田的蚕豆根际土壤中分离而来。“矮抗青”白菜种子由南京恒业种子销售有限公司提供。

### 1.2 氢氧化细菌 ACC 脱氨酶活性的测定

ACC 脱氨酶分解 ACC 产生的  $\alpha$ -酮丁酸用来测定 ACC 脱氨酶的活性,接种分离的氢氧化细菌至 7.5 mL LB 培养液 28  $^{\circ}\text{C}$ , 180  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  培养 24 h, 参考 Penrose *et al.* (2003) 的方法测定  $\alpha$ -酮丁酸的含量。根据 Bradford (1976) 的方法测定菌体蛋白含量。根据  $\alpha$ -酮丁酸和蛋白质的标准曲线确定 ACC 脱氨酶的活性。

### 1.3 氢氧化细菌产 IAA 能力的测定

将待测菌株挑一环置于含有 20 mL SMS 液体培养基(sucrose 1%;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.1%;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.2%;  $\text{MgSO}_4$  0.05%;  $\text{NaCl}$  0.01%; yeast extract 0.05%;  $\text{CaCO}_3$  0.05%; pH7.2) 的锥形瓶中 140  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、28  $^{\circ}\text{C}$  培养 96 h, 液体培养基中加入 0.5  $\text{mg} \cdot$

$\text{mL}^{-1}$  的色氨酸。取 1.5 mL 悬浮液到 2 mL 离心管中  $5\,000\times g$  离心 15 min, 取上清液 1 mL 到 5 mL 比色管中, 加入 2 mL Salkowski's 溶液, 震荡混匀室温静置 20 min, 比色管中会出现粉红色, 530 nm 检测粉红色物质的吸光值 (Sheng *et al.*, 2008)。一个菌株做 3 个重复, 根据 IAA 的标准曲线确定菌株产吲哚-3 乙酸的值。

#### 1.4 菌株鉴定

1.4.1 菌体形态观察及生化试验 参照《常见细菌系统鉴定手册》(东秀珠等, 2001)。

1.4.2 16S rDNA 序列测定及系统发育树的构建 2 株氢氧化细菌送上海生工完成 16S rDNA 扩增及序列测定。提交菌株的 16S rDNA 序列到 NCBI 网站, 与已知的序列比对分析其同源性。利用 ClustalX1.81 将序列进行比对, 选择 MEGA5.05 软件中 NJ 法构建系统发育树。

#### 1.5 氢氧化细菌对重金属和白菜幼苗生长的影响

采用修改的 Belimov *et al.* (2005) 的方法来确定根际细菌的植物促生根长活性。接种 2 株氢氧化细菌至 6 mL LB 液体培养基中,  $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、 $28\text{ }^\circ\text{C}$  培养 24 h, 用无菌水悬浮菌体数为  $5\times 10^7$  CFU  $\text{mL}^{-1}$ 。1 mL 细菌悬浮液或无菌水(未处理的对照组)加入到含有 40 mL Hoagland 半固体的培养基中 [ $\text{KNO}_3$  607 mg,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  945 mg,  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  493 mg,  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  115 mg,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  2.86 mg,  $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  2.13 mg,  $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.22 mg,  $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.08 mg,  $\text{H}_2\text{MoO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$  0.02 mg,  $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  5.57 mg,  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$  7.45 mg] 培养皿中 (Zhang *et al.*, 2011)。处理组在半固体培养基中加入适当的  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Pb}^{2+}$ , 浓度依次为 10、100、200  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 对照组不加金属离子。

用 3% 的  $\text{H}_2\text{O}_2$  和 95% 的乙醇 (1:1) 对白菜幼苗表面灭菌 20 min, 无菌水冲洗数次至种子表面无气泡产生, 挑选 20 个种子到 Hoagland 半固体培养基, 所有的实验处理组做 3 次重复。在光照培养箱中  $28\text{ }^\circ\text{C}$  黑暗培养 7 d, 培养后测量白菜幼苗的根长、茎长、鲜重、干重和抗性指数 (TI)。抗性指数是指存在特定的金属和不存在特定的金属时植物根长之间的比值 (Wilkins, 1978)。对照  $TI = RL_m / RL_c$ , 其中  $RL_m$  表示有特定的金属存在时的植物根长,  $RL_c$  表示没有特定的金属时植物根长。  $TI = RL_{mrb} / RL_{crb}$  其中  $RL_{mrb}$  表示存在特定的金属和根际

细菌时植物根长,  $RL_{crb}$  表示没有特定的金属但是接种根际细菌时植物的根长。

#### 1.6 数据处理

采用 SPSS13.0 one-way ANOVA。多重比较采用 Fisher's Student-Newman-Keuls<sup>a,b</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 氢氧化细菌 ACC 脱氨酶活性和产 IAA 能力的测定

植物不断地暴露在干旱、重金属等非生物胁迫中, 将含有 ACC 脱氨酶的植物促生菌引入重金属土壤中, 能够缓解这种胁迫对植物生长的影响。植物促生菌能够在这种胁迫下生存, 并结合在种子的表面或者植物的根上, 通过 ACC 脱氨酶降解乙烯的直接前体 ACC 来降低植物体内乙烯的含量, 从而促进植物的生长和发育 (Glick *et al.*, 1998)。植物促生菌也通过合成 IAA 促进植物的生长, IAA 直接刺激植物细胞的延伸和分裂或者提高植物自身的防御系统 (Patten *et al.*, 2002)。zw-17, zw-35 都具有较高的产 IAA 能力和 ACC 脱氨酶活性 (表 1)。

表 1 2 株氢氧化细菌 ACC 脱氨酶活性、IAA 含量和分类结果

Table 1 Results of ACC deaminase activity, content of IAA and classification of two hydrogen-oxidizing bacteria

菌株 Strain	属 Genus	GenBank accession No.	ACC 脱氨酶活性 ACC deaminase activity ( $\mu\text{mol a-KB}\cdot$ $\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )	吲哚乙酸的 含量 Content of IAA ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )
zw-17	<i>Pseudomonas</i> sp.	KJ939322	17.87± 0.58	13.21± 0.78
zw-35	<i>Sphingobacterium</i> sp.	KJ939323	22.26± 0.85	5.79± 0.35

注: 3 次重复的平均值±标准偏差。

Note: Mean values±S. D. from three replicates.

### 2.2 菌种鉴定

菌株 zw-17, zw-35 革兰氏染色为阴性; 菌体形态分别为短杆状、球状; zw-17 菌落呈圆形、浅黄色, 边缘整齐; zw-35 菌落边缘不规则、半透明。生理生化特征见表 2。zw-17, zw-35 的 GenBank 登录号为 KJ939322, KJ939323。以菌株 zw-17, zw-35 16S rDNA 序列为基础构建系统发育树 (NJ 树), 见图 1。

### 2.3 氢氧化细菌对重金属和白菜幼苗生长的影响

白菜根对 Cr 和 Pb 的效应表明白菜生长容易受这两种金属的影响, 这种效应随着金属浓度的增加会更明显, 与 Pb 相比 Cr 对白菜生长的影响较大

表 2 2株氢氧化细菌的生化特征

Table 2 Physiological characteristics of two hydrogen oxidizing bacteria

项目 Item	zw-17		zw-35		项目 Item	zw-17		zw-35	
	结果 Results					结果 Results			
氧化酶 Oxidase	+	+	+	+	明胶液化 Gelatin liquefaction	+	+	-	-
过氧化氢酶 Catalase	+	+	+	+	硝酸盐还原 Nitrate reduction	+	+	-	-
葡萄糖氧化发酵 Oxidative fermentation of glucose	+	+	+	+	色氨酸脱氨酶试验 Tryptophan deaminase Test	-	-	-	-
V.P 试验 V.P test	-	-	-	-	吲哚产生 Indole production	-	-	-	-
M.R 试验 M.R test	-	-	-	-	脲酶试验 Urease Test	-	-	-	-
淀粉水解 Hydrolysis of starch	-	-	-	-	硫化氢的产生 H <sub>2</sub> S generation testing	-	-	-	-
运动性 Moveability	+	-	+	-	苯丙氨酸脱氨酶 L-Phenylalaninase	-	-	-	-
柠檬酸盐利用 Use of citrate	-	-	-	-	精氨酸双水解酶 Arginine dihydrolase	+	+	-	-

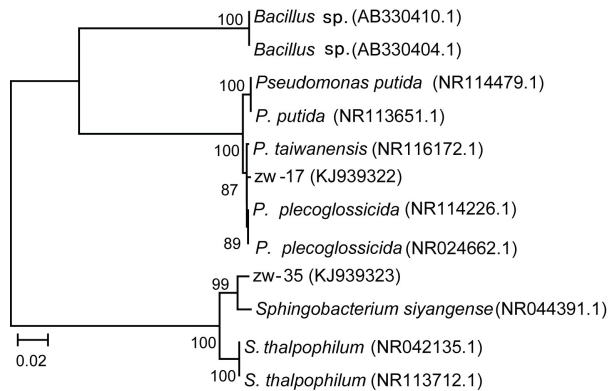


图 1 以菌株 zw-17, zw-35 16S rDNA 序列为基础构建系统发育树 比例尺表示 2% 序列差异的分支长度, 数字代表菌株名称和参比序列在 GenBank 中的提交序列号。

Fig. 1 Phylogenetic tree based on 16S rDNA sequences of strain zw-17, zw-35 Bar. 0.02 substitutions per nucleotide. After each bacterial name, the GenBank accession numbers are showed in parentheses.

(表 3)。处于不同浓度 Cr, 接种 2 株氢氧化细菌的白菜幼苗的根长结果表明: 相对于未接种植物促生菌的对照组的根长, 接种氢氧化细菌有利于植物根的生长。处于不同浓度 Pb, 接种 zw-17 的白菜幼苗的根长与对照组相比有小幅度减少, 处于相同浓度的 Pb 时接种 zw-35 有利于植物根的生长(表 3); 在高浓度(200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )的 Pb 存在时, zw-17, zw-35 接种的白菜幼苗的平均茎长分别增加 138.72% 和 58.95%, 平均干重分别增加 23.64% 和 19.70%。在高浓度(200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )的 Cr 存在时, zw-17, zw-35 接种的白菜幼苗的平均茎长分别增加 3.65% 和 9.57%, 平均干重分别增加 23.08% 和 33.12%(表 3)。相比之下 Cr 对植物茎长生长的影响较显著, 干重的影响较微小, 再次证明 Cr 对白菜生长的影响较严重。

耐受指数使得不同实验条件之间影响的比较容

易化。TI 为 1.0 表示该处理对植物没有抑制性, TI 为 0.1 时表示处理的植物相对于对照植物只增长了 10%(Burd *et al.*, 1998)。表 3 中的耐受指数表明, 与没有接种且处于 Cr 和 Pb 环境中的白菜幼苗相比, 接种了 zw-17, zw-35 植物促生菌的白菜幼苗都有显著性的增长(表 3)。Pb 浓度为 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时接种 zw-17, zw-35 的白菜幼苗的耐受指数差异不显著, 在 Cr 浓度为 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时接种 zw-17 白菜幼苗的耐受指数大于 zw-35 接种的白菜幼苗和对照组, 有利于植物的增长, 但是在此浓度下的 zw-35 对白菜幼苗根的延伸性大于 zw-17, 这种效应可能与菌株含有的 ACC 脱氨酶和 IAA 有关。

本研究 2 株氢氧化细菌经过测定, 既含有 ACC 脱氨酶又产生吲哚乙酸。根据形态特征、生理生化特征和 16S rRNA 初步鉴定为 *Pseudomonas* sp. zw-17, *Sphingobacterium* sp. zw-35。具有 ACC 脱氨酶活性的氢氧化细菌通过减少乙烯含量帮助植物抵抗逆境胁迫, 是因为 ACC 脱氨酶水解 ACC 为  $\alpha$ -酮丁酸和氨(Glick *et al.*, 2005; Glick, 2005)。高浓度的 Cr(100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  和 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对白菜幼苗根的生长有毒害作用, 但是当接种植物促生菌 zw-17 之后, 白菜幼苗的根长、耐受指数、茎长、干重、鲜重明显大于对照组和 zw-35 接种的白菜幼苗。

当 Cr 浓度为 10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 接种 zw-17, zw-35 和未接种植物促生菌的都有利于白菜幼苗的生长, 根长的差异性说明 2 株氢氧化细菌之间有显著的差异性。

### 3 讨论

在重金属环境中一些植物促生菌能显著促进植物生长 (Burd *et al.*, 1998; Gupta *et al.*, 2004)。植

表 3 氢氧化细菌和  $\text{Cr}^{6+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  对白菜生长的影响Table 3 Influence of hydrogen-oxidizing bacterial strain and  $\text{Cr}^{6+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  on the growth in *Pak choi*

处理组 Treatment ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	耐受指数 TI	根长 Root length (cm)	茎长 Shoot length (cm)	干重 Dry weight ( $\text{mg} \cdot \text{plant}^{-1}$ )	鲜重 Fresh weight ( $\text{mg} \cdot \text{plant}^{-1}$ )
Pb 10	1.191	3.70±0.30abcd	4.73±0.79abcd	2.17±0.36	65.90±3.04abcd
Pb 100	1.099	3.40±0.20bcde	4.95±0.93a	1.88±0.16	68.05±5.05abcd
Pb 200	0.916	3.00±0.20cdef	1.73±0.27e,f	2.03±0.31	56.23±5.19bcde
R1+Pb 10	1.069	2.57±0.25efg	3.83±0.25abcd	2.10±0.10	60.00±6.08abcd
R1+Pb 100	1.750	4.20±0.26efg	4.07±0.50abcd	2.03±0.30	72.73±10.42abc
R1+Pb 200	1.208	2.90±0.36cdef	4.13±0.91abcd	2.51±0.15	69.83±7.12abcd
R2+Pb 10	0.726	2.87±0.58cdef	1.63±0.65f	2.53±0.25	54.70±8.93cde
R2+Pb 100	1.253	4.95±0.19a	2.50±0.35def	1.95±0.24	55.60±2.38bcde
R2+Pb 200	1.203	4.75±0.59ab	2.75±0.34def	2.43±0.23	34.26±6.06cde
Cr 10	0.896	2.93±0.28cdef	3.66±0.12abcd	2.33±0.41	83.10±10.91ab
Cr 100	0.794	2.60±0.46efg	5.30±0.89a	2.23±0.26	61.77±5.76abcd
Cr 200	0.427	1.50±0.10g	3.01±0.76cdef	1.60±0.33	26.00±2.71f
R1+Cr 10	1.722	4.13±0.50abcd	3.93±0.49abcd	2.73±0.55	86.13±9.88a
R1+Cr 100	2.153	5.17±0.15a	4.87±0.61ab	2.43±0.64	65.33±6.23abcd
R1+Cr 200	0.646	1.55±0.05g	3.12±0.50cdef	2.08±0.19	31.22±4.67e,f
R2+Cr 10	1.177	4.65±0.64abcd	3.07±0.36def	2.66±0.41	54.25±3.54cde
R2+Cr 100	0.717	2.83±0.59def	3.10±0.65cdef	2.40±0.17	61.30±2.16abcd
R2+Cr 200	0.439	1.73±0.05fg	3.30±0.10bcde	2.13±0.49	70.80±10.20abcd

注: 3 次重复的平均值±标准偏差, 小写字母表示试验之间的显著性( $P < 0.01$ )。

Note: Values are the means of three replicates±SD. The different lowercases show the significant differences between experiments( $P < 0.01$ ).

物促生菌作为植物种子菌剂, 应用到含有重金属的土壤中, 能够根本性的减少重金属对植物的毒害, 同时提高植物的总体增长和产量收益(Chaudri *et al.*, 2000)。除了在保护植物免受毒害有着重要的角色之外, 重金属抗性植物促生菌对植物抵抗重金属的毒害表现出实质性的防御, 因而提高植物共生关系和种子的产量(Wani *et al.*, 2008)。使用植物促生菌增加重要农作物在重金属胁迫的土壤中的生长, 可能是由于植物促生菌能利用某种机制减轻重金属的毒害作用, 此外还给植物提供大量丰富的植物促生物质(Khan *et al.*, 2009)。王楠等(2012)的研究表明氢氧化细菌对盐胁迫的伤害有一定的缓解性, 在低盐胁迫下(0.4% NaCl)下, 氢氧化细菌 WMQ7 浸种的小麦发芽率、发芽指数、胚芽、胚根长有明显增加; 丙二醛含量与对照组相比减少了 69.28%, 过氧化物酶活性与对照组相比增加了 44.44%。氢氧化细菌在重金属胁迫下对植物的促生研究, 就目前而言相关报道比较少。白菜幼苗的生长可能与氢氧化细菌产生的 ACC 脱氨酶和 IAA 有关, 陈兴都等(2008)证明 ACC 脱氨酶是导致大豆根际土壤中氢氧化细菌促进小麦幼苗生长的原因之一。

在重金属 Cr 和 Pb 胁迫下, 接种 *Pseudomonas* sp. zw-17 和 *Sphingobacterium* sp. zw-35 白菜幼苗

的各种生理指标表明, 在高浓度时( $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 都能促进植物总体的增长; 这项工作证明了存在重金属时引入氢氧化细菌能确保植物的生存, 甚至保护它们; 植物效应与重金属的浓度、污染物的接触时间、植物固有的抗性有关。当存在氢氧化细菌时, 能够维持白菜种子根的生长, 对重金属的耐受性试验表明这种植物与氢氧化细菌之间有协同作用, 特别是 *Pseudomonas* sp. zw-17 对污染物影响的回应。氢氧化细菌就像分析的那样, 可以推荐用来增加植物的生物量、稳定或修复重金属污染的土壤。

### 参考文献:

- Belimov AA, Hontzeas N, Safronova VI, *et al.* 2005. Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard *Brassica juncea* Czern[J]. *Soil Biol & Biochem*, **37**(2): 241–250
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analyt Biochem*, **72**(1): 248–254
- Burd GI, Dixon DG, Glick BR. 1998. A plant growth-promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings[J]. *Appl & Environ Microbiol*, **64**(10): 3 663–3 668
- Burd GI, Dixon DG, Glick BR. 2000. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants[J]. *Can J Microbiol*, **46**(3): 237–245
- Chaudri AM, Allain CMG, Barbosa-Jefferson VL, *et al.* 2000. A

- study of the impacts of Zn and Cu on two rhizobial species in soils of a long-term field experiment[J]. *Plant & Soil*, **221**(2): 167—179
- Chen XD(陈兴都), Wang WW(王卫卫), Fu B(付博), et al. 2008. Research progress on isolation, screening and plant growth-promoting mechanism of Hydrogen-oxidizing Bacteria (大豆根际土壤中氢氧化细菌促生效应研究)[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*(西北植物学报), **28**(1): 136—140
- Cobbett CS. 2000. Phytochelatin and their roles in heavy metal detoxification[J]. *Plant Physiol*, **123**(3): 825—832
- Compant S, Clément C, Sessitsch A. 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants; their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization[J]. *Soil Biol & Biochem*, **42**(5): 669—678
- Dary M, Chamber-Pérez MA, Palomares AJ, et al. 2010. In situ phytostabilisation of heavy metal polluted soils using *Lupinus luteus* inoculated with metal resistant plant-growth promoting hizobacteria[J]. *J Hazard Mat*, **177**(1): 323—330
- Dong XZ(东秀珠), Man MY(蔡妙英). 2001. Common Bacterial System Identification Manual (常见细菌系统鉴定手册)[M]. Beijing(北京): Science Press(科学出版社)
- Gadd GM. 2004. Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation[J]. *Geoderma*, **122**(2): 109—119
- Glick BR. 2005. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase[J]. *Fems Microbiol Lett*, **251**(1): 1—7
- Glick BR, Penrose DM, Li J. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria[J]. *J Theor Biol*, **190**(1): 63—68
- Gupta DK, Rai UN, Sinha S, et al. 2004. Role of Rhizobium(CA-1) inoculation in increasing growth and metal accumulation in *Cicer arietinum* L. growing under fly-ash stress condition[J]. *Bull Environ Contam & Toxicol*, **73**(2): 424—431
- Jones DL, Hodge A, Kuzakov Y. 2004. Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition[J]. *New Phytol*, **163**(3): 459—480
- Khan MS, Zaidi A, Wani PA, et al. 2009. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils[J]. *Environ Chem Lett*, **7**(1): 1—19
- Kuffner M, Puschenreiter M, Wieshammer G, et al. 2008. Rhizo-
- sphere bacteria affect growth and metal uptake of heavy metal accumulating willows[J]. *Plant & Soil*, **304**(1—2): 35—44
- Patten CL, Glick BR. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system[J]. *Appl & Environ Microbiol*, **68**(8): 3 795—3 801
- Penrose DM, Glick BR. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase containing plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Physiol Plant*, **118**(1): 10—15
- Rajkumar M, Ma Y, Freitas H. 2008. Characterization of metal-resistant plant-growth promoting *Bacillus weihenstephanensis* isolated from serpentine soil in Portugal[J]. *J Basic Microbiol*, **48**(6): 500—508
- Seraj MF. 2013. Utilizing plant growth-promoting bacteria for potential use in the remediation and stabilisation of heavy metal contaminated and salineland[D]. Melbourne: Rmit University
- Sheng XF, Xia JJ, Jiang CY, et al. 2008. Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape *Brassica napus* roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape[J]. *Environ Poll*, **156**(3): 1 164—1 170
- Volova TG, Kiselev EG, Shishatskaya EI, et al. 2013. Cell growth and accumulation of polyhydroxyalkanoates from CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub> of a hydrogen-oxidizing bacterium, *Cupriavidus eutrophus* B-10646[J]. *Bioresour Technol*, **146**: 215—222
- Wang N(王楠), Wang WW(王卫卫), Zhang J(张洁), et al. 2012. Effect of salt stress on the germination and growth of wheat seeds soaked with hydrogen-oxidizing bacteria WMQ7(盐胁迫对氢氧化细菌 WMQ7 浸种小麦萌发和生长的影响)[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*(西北植物学报), **31**(10): 2 065—2 070
- Wani PA, Khan MS, Zaidi A. 2008. Effect of metal-tolerant plant growth-promoting rhizobium on the performance of pea grown in metal-amended soil[J]. *Archives Environ Contam & Toxicol*, **55**(1): 33—42
- Wilkins DA. 1978. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth[J]. *New Phytol*, **80**(3): 623—633
- Zhang Y, He L, Chen Z, et al. 2011. Characterization of lead-resistant and ACC deaminase-producing endophytic bacteria and their potential in promoting lead accumulation of rape[J]. *J Hazard Mat*, **186**(2): 1 720—1 725

(上接第 667 页 Continue from page 667)

- Tian GZ(田国忠), Li HF(李怀方), Qiu WF(裘维蕃). 2001. Advances on research of plant peroxidases(植物过氧化物酶研究进展)[J]. *J Wuhan Bot Res*(武汉植物学研究), **19**(4): 332—344
- Wang H(王华), Wang F(王飞), Chen DW(陈登文), et al. 2000. Effects of low temperature stress on SOD activity and membrane deroxidation of apricot flowers(低温胁迫对杏花 SOD 活性和膜脂过氧化的影响)[J]. *J Fruit Sci*(果树学报), **17**(3): 197—201
- Yang CX(杨春祥), Li XL(李宪利), Gao DS(高东升), et al. 2005. Effects of chilling stress on membrane lipid peroxidation and activities of protective enzymes in nectarine flower organs(低温胁迫对油桃花器官膜脂过氧化和保护酶活性的影响)[J]. *J Fruit Sci*(果树学报), **22**(1): 69—71
- Yang SC(杨盛昌), Xie CT(谢潮添), Zhang P(张平), et al. 2003. Changes in membrane lipid peroxidation and activities of cell defense enzyme in leaves of *Butia capitata* Becc seedling under low temperature stress(低温胁迫下弓葵幼苗膜脂过氧化及保护酶活性的变化)[J]. *Acta Horti Sin*(园艺学报), **30**(1): 104—106
- Zhang HY(张贺英). 2007. Low temperature stress on the ultrastructure and physiological metabolism of loquat(低温胁迫对枇杷超微结构及生理代谢的影响)[D]. Fuzhou(福州): Fujian Agriculture and Forestry University(福建农林大学)
- Zheng GH(郑国华), Zhang HY(张贺英). 2008. Effects of chilling stress on cell ultrastructure and membrane permeability and protective enzyme activity in young loquat fruit(低温胁迫对枇杷幼果细胞超微结构及膜透性和保护酶活性的影响)[J]. *Chin J Trop Crops*(热带作物学报), **29**(6): 730—735
- Zheng GH(郑国华), Zhang HY(张贺英). 2008. Ultrastructural changes of Jiefangzhong loquat young fruits under low temperature stress(低温胁迫下解放钟枇杷幼果细胞超微结构的变化)[J]. *J Putian Univ*(莆田学院学), **15**(2): 52—53