

复合污染下丛枝菌根真菌对苧麻吸收重金属的影响

周 民^{1,2}, 魏 源², 陈海燕², 喻文强³, 侯 红², 吴丰昌², 谭伟强¹

1. 青岛理工大学 环境与市政工程学院, 青岛 266033

2. 中国环境科学研究院 环境基准与风险评估国家重点实验室, 北京 100012

3. 南昌大学 资源环境与化工学院, 南昌 330031

摘 要: 利用室内盆栽试验研究 Cu、Zn、As、Cd、Sb 五种重金属复合胁迫下接种丛枝菌根真菌 (arbuscular mycorrhizal fungi, AM 真菌) 对苧麻侵染率、生物量、地上部磷含量、重金属浓度及转运系数、抗氧化酶系统的影响。研究表明: 在复合重金属胁迫条件下, AM 真菌能够与苧麻形成良好共生关系, 显著促进苧麻地上部对磷的吸收, 增加苧麻生物量, 改变苧麻抗氧化酶系统, 同时调节苧麻对重金属的吸收与分配。具体来说, AM 真菌对苧麻的侵染率为 33.7%。与非接种组相比, 接种组苧麻地上部 Zn 和 Cd 含量分别增加了 50.3% 和 100.0%, 地下部 Cu 和 Sb 的含量分别增加了 30.4% 和 114.3%, 地上部和地下部 As 的含量分别降低了 121.6% 和 416.4%。与非接种组相比, 接种组苧麻中 Zn、As 和 Cd 的转运系数分别增加了 58.6%、148.1% 和 49.8%, Sb 的转运系数降低了 64.1%。接种 AM 真菌促进苧麻地上部对磷的吸收, 磷含量增加了 50.4%。接种组苧麻地上部与地下部生物量也较非接种组分别增加了 22.2% 和 24.0%。同时接种 AM 真菌提高了苧麻体内超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POD) 活性, 分别提高了 17.47%、31.75%、6.75%。

关键词: 丛枝菌根真菌; 复合重金属; 苧麻; 磷; 生物量; 抗氧化酶

Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal absorption of ramie under compound pollution

ZHOU Min^{1,2}, WEI Yuan², CHEN Haiyan², YU Wenqiang³, HOU Hong², WU Fengchang², TAN Weiqiang¹

1. School of Environment and Municipal Engineering, Qingdao Technology University, Qingdao 266033, China

2. State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, China Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China

3. Resources Environment and Chemical College, Nanchang University, Nanchang 330031, China

Abstract: Background, aim, and scope The compound pollution of heavy metals in farmland caused by mining and transportation is becoming more and more concerned. Bioremediation of contaminated farmland is more

收稿日期: 2017-11-19; 录用日期: 2017-12-30

Received Date: 2017-11-19; Accepted Date: 2017-12-30

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41271338, 41303066); 科技部科研院所专项 (2014EG166135); 湖南省重点研发计划 (2016NK2008)

Foundation Item: National Natural Science Foundation of China (41271338, 41303066); National Special Environmental Protection Foundation for Technology Exploit of China (2014EG166135); Key Research and Development Plan of Hunan Province (2016NK2008)

通信作者: 魏 源, E-mail: rbq-wy@163.com; 谭伟强, E-mail: tlong958@163.com

Corresponding Author: WEI Yuan, E-mail: rbq-wy@163.com; TAN Weiqiang, E-mail: tlong958@163.com

引用格式: 周 民, 魏 源, 陈海燕, 等. 2018. 复合污染下丛枝菌根真菌对苧麻吸收重金属的影响 [J]. 地球环境学报, 9(3): 282–290.

Citation: Zhou M, Wei Y, Chen H Y, et al. 2018. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal absorption of ramie under compound pollution [J]. *Journal of Earth Environment*, 9(3): 282–290.

friend than physical and chemical remediation. Ramie, as a unique crop in China, has been considered to adsorb the heavy metals in polluted farmland effectively, such as As, Cd, Pb and Sb. Meanwhile, the mycorrhiza formed by arbuscular mycorrhizal fungi (AM fungi) and ramie can improve resistance of ramie to heavy metals. The questions discussed in this study include: (1) whether AM fungi and ramie can form mycorrhiza; (2) whether the mycorrhizal fungi play a role in promoting the remediation of heavy contaminated soil. **Materials and methods** In this study, the farmland soil around the tailings of Hunan Tin Mine (1 km) was used as the experiment medium. AM fungi and ramie 3 were used as the experiment material, and the aim in this study is to investigate the effects of AM fungi on ramie colonization rate, biomass, contents of phosphorus in shoots, contents of heavy metals, transport coefficient and antioxidant enzyme system. In addition, the established method was used to remediate the contaminated soil induced by heavy metal. **Results** The results showed that (1) AM fungi could form mycorrhizal fungi with ramie, and the colonization rate was 33.7%. (2) The ramie inoculated with AM fungi could significantly increase the aboveground biomass (22.2%) and underground biomass (24.0%). Compared to the non-inoculated groups, the aboveground contents of phosphorus (50.4%) were significantly increased for the inoculated groups. (3) Contents of Zn and Cd in the shoots of AM fungi were significantly increased by 50.3% and 100.0%, respectively. Additionally, the contents of Cu and Sb in the roots of AM fungi were significantly increased by 30.4% and 114.3%, respectively. However, the inoculation for AM fungi inhibited the absorption of As in ramie, and the contents of As in the aboveground and underground parts of ramie were reduced by 121.6% and 416.4%, respectively. (4) The inoculation for AM fungi significantly increased the transport coefficients of Zn, As and Cd in ramie by 58.6%, 148.1% and 49.8%, respectively. The transport rate of Sb was significantly decreased by 64.1% in ramie. (5) The inoculation for AM fungi significantly increased the activity of SOD (17.47%) and CAT (31.75%) in ramie, while the inoculation for AM fungi had no significant effects on POD activity. **Discussion** Inoculation of AM fungi increased ramie biomass and metal tolerance, which may be due to: (1) AM fungi could expand the range of ramie roots and absorption area through their external hyphae, and further improve ramie absorption of P. (2) The hyphae secrete acetic acid, citric acid and other organic acids could activate the soil in the insoluble phosphate to promote the absorption of ramie P and improve the nutritional status of ramie to P and the ramie biomass. Thereby it enhanced the resistance of ramie to heavy metals. (3) AM fungi could promote the absorption and transport of Zn and Cd for ramie, so it can remediate compound pollution of heavy metal contaminated soil by plant extraction, and Cu, Sb immobilized in the ramie root may be mycelial "filtration" effect. AM fungi could reduce the absorption of As in the ramie, which may be due to the absorption of P and As through the phosphate transport system into the plant. Moreover there is a competitive relationship for promoting the P absorption and reducing the As absorption. (4) AM fungi could improve the resistance of ramie to heavy metals by increasing the activity of antioxidant enzymes, the activation of $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 and other reactive oxygen species on ramie cells under the stress of heavy metal. **Conclusions** Under the stress of compound heavy metal, the experimental conclusions showed that: (1) AM fungi could form mycorrhiza with ramie. AM fungi could increase the uptake of P in the upper part of ramie, promote the increase of biomass and improve the tolerance of heavy metals. (2) Inoculation of AM fungi increased the absorption of a variety of heavy metals for ramie, so the combination of AM fungi and ramie could be a new method for the remediation of heavy metal pollution by the combination of plant and microorganism. (3) Inoculation of AM fungi significantly increased the activity of SOD and CAT in the aerial part of ramie and promoted the activity of POD to a certain extent. **Recommendations and perspectives** It has been found that the combination of AM fungi and ramie can be used as a bioremediation method to repair the contaminated soil by heavy metals. In addition, the specific mechanism of the combination of AM fungi with ramie on the remediation of contaminated soil remains to be further studied.

Key words: arbuscular mycorrhizal fungi; compound heavy metal; ramie; phosphorus; biomass; antioxidant enzyme

复合重金属污染是指两种或两种以上重金属元素同时作用所形成的环境污染现象(何勇田和熊先哲, 1994)。近年来, 随着伴生矿的开采量逐年增加以及大量含重金属的农药的使用, 造成土壤复合重金属污染状况日益严重, 由此引起土壤肥力严重降低、农作物重金属含量超标、产量及品质下降甚至绝产。这对周边人群饮食安全产生严重威胁(林强, 2004)。不同重金属之间存在加和、协同、拮抗等作用, 使复合重金属污染机制比单一重金属污染机制更加复杂(曹心德等, 2011), 因此复合污染越来越受到关注, 并逐渐成为环境科学的重要研究方向之一。目前复合重金属污染的修复技术有物理修复、化学修复、物理化学修复和生物修复。物理修复、化学修复、物理化学修复技术具有时效性强、见效快的特点, 但普遍存在治理成本较高、修复后易产生重金属再活化等缺点(陈桂荣等, 2010)。植物修复相对于物理、化学修复具有成本低、治理效果好的优点(黄占斌和焦海华, 2012), 因此在土壤重金属修复领域逐渐受到青睐。近年来, 随着植物修复在重金属污染场地的应用, 其生长慢、生物量小、修复效率低等缺点渐渐暴露出来。因此急需寻找富集量大的植物和改进措施。

苎麻是我国特产的多年生草本宿根植物, 具有生物量大、根系发达、繁殖力旺盛及抗逆性强的特点(曹诣等, 2014)。同时它对 As (Leung et al, 2006)、Cd (Liu et al, 2003)、Pb (黄闰等, 2013)、Sb (Okkenhaug et al, 2011) 等单一重金属均具有富集作用。余玮等(2011)在研究湖南石门、冷水江、浏阳 3 个矿区的野生苎麻时发现苎麻对 Cd、As、Sb 等重金属的富集比一般植物大 2—338.4 倍, 且富集系数与转运系数均大于 1, 满足土壤复合重金属污染超富集植物的特征。同时苎麻还是具有大生物量的经济作物, 可以作为造纸、建筑材料等原材料(刘瑛等, 2003), 因此苎麻是理想的应用于土壤复合重金属污染修复的植物材料。

AM 真菌是一类广泛存在的土壤真菌, 能够与 80% 以上陆地植物形成共生体(Wang and Shi, 2008)。大量研究发现(陈保东等, 2005; 申鸿等, 2005; Madejón et al, 2010) AM 真菌不仅可以通过菌丝直接参与重金属的吸收, 还可以通过改变植物的生理生态等方式间接来改善植

物生长状况, 从而减轻重金属对植物的毒害作用; 同时能够调节植物对重金属的吸收和转运, 加快土壤中重金属的植物提取或植物稳定(Miransari, 2011)。因此 AM 真菌与植物形成的菌根使其在重金属污染土壤的修复上优于单一植物修复。

苎麻虽然对多种重金属具有富集作用, 但重金属浓度过高会抑制苎麻的生长(赵丹博等, 2015), 影响苎麻对重金属吸收, 从而降低重金属污染土壤的修复效果。而 AM 真菌通过改善植物营养条件、根系生理生态等方式改善植物生长状况, 促进植物生长, 在一定程度上缓解重金属对植物的“毒害”。前期对湖南锡矿山重金属污染土壤分析发现, AM 真菌与植物的共生关系普遍存在, 并能够提高植物对重金属的耐受性。Wei et al (2015) 在研究利用植物与微生物联合修复重金属 Sb 污染土壤时发现, AM 真菌能够与苎麻形成菌根, 苎麻体内的 Sb 含量与 AM 真菌侵染率呈显著正相关。因此推测: 在复合重金属胁迫条件下, AM 真菌与苎麻能够形成菌根并可以改善复合苎麻的生长环境及对重金属的吸收和转运, 提高苎麻对复合重金属的耐受性。但是现在还没有直接的试验研究 AM 真菌-苎麻联合对复合重金属修复的作用。本文利用温室接种与非接种对比试验, 从植物生长、复合重金属吸收与抗氧化酶系统三方面对该过程初步探讨, 有助于更好地了解 AM 真菌-苎麻联合修复的效果及作用, 为复合重金属污染土壤修复提供一种新的解决方法。

1 材料与方法

1.1 供试植物

供试植物为湘苎 3 号, 由湖南农业大学苎麻研究所提供, 幼苗取回后种植在经高压蒸汽灭菌的干净土壤中, 每隔 3 日喷洒霍兰格营养液以保证苎麻幼苗的正常生长。供试矿区土壤取自于距离湖南锡矿山某尾矿附近约 1 千米的农田土壤。经测定土壤中的 TOC 含量为 $3.64 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全氮为 $0.77 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效氮为 $93.20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效磷为 $5.21 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效钾为 $57 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。全 Sb 为 $77.08 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全 Cd 为 $12.67 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全 Zn 为 $176.84 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全 As 为 $153.81 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全 Cu 为 $24.81 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, pH 为 8.36。

1.2 菌根接种剂

摩西球囊霉 *Glomus mosseae* (BGC NM04A)

购自北京市农林科学研究院植物营养与资源研究所。接种剂含有寄主植物根段、相应菌根真菌孢子及根外菌丝体的根际土壤。

1.3 试验设计

根据试验要求,试验设计了1个非接种组,1个接种组,每组设置5个重复,共计10盆。试验土壤采用高温蒸汽灭菌2 h。将8.5 kg土壤装入口径为35 cm,底内径为20 cm,高为25 cm的塑料盆中。准确称取接种剂100 g,用18目塑料筛将接种剂均匀撒在土壤上面,再将剩余1.5 kg土壤均匀地覆在接种剂上面。非接种组则加入等量灭菌的过滤液(120℃,0.1 MPa,30 min)。上述完成后将土壤用去离子水调节到田间持水率的75%,在生长期通过称重法,加入去离子水维持盆栽中含水量。将2棵高度25 cm左右大小、长势相似的幼苗用10% H₂O₂淋洗2—3次,去离子水冲洗3—5次后移栽到试验盆中。

试验设置在中国环境科学研究院温室内,室内控制温度在23—28℃,保持光照14 h,黑暗10 h,光照时间不足的以60 W日光灯来补充,苎麻生长80 d后收获。

1.4 样品分析与测定方法

1.4.1 苎麻侵染率测定

侵染率采用醋酸墨水染色法(Vierheilig et al, 2005)测定。

1.4.2 苎麻生物量测定

将收获后的苎麻从泥土中连根取出,先用自来水将其洗净,再用去离子水将其洗涤3—5次。最后用陶瓷剪刀将根、茎叶分开,晾干后放入到105℃烘箱中杀青30 min,用鼓风干燥箱80℃烘干至恒重,测定根、茎叶的生物量。

1.4.3 苎麻不同部位重金属含量测定

用陶瓷剪刀分别在苎麻上取若干茎叶(地上部)以及根(地下部)。先用自来水、后用去离子水清洗,用滤纸将水吸干后分别编号,并放入冷冻干燥器中冷冻干燥。分别称取干燥后的根、茎叶0.1 g置于6 mL混合消解液(65%的HNO₃和30%的H₂O₂按体积比5:1混合)中,150℃电热板消解2 h,赶酸至1 mL,冷却后用质量分数为1%的HNO₃清洗并转移至25 mL的容量瓶中,定容后过0.45 μm的聚醚醚膜,ICP-MS测定重金属Cu、Zn、As、Cd、Sb的浓度,测定的值为3次重复后所取的平均值。转运系数计算公式为:

转运系数 = 苎麻地上部重金属含量 (mg·kg⁻¹) / 苎麻地下部重金属含量 (mg·kg⁻¹)。

1.4.4 苎麻地上部分全磷的测定

称取经冷冻干燥苎麻茎叶0.5 g,置于50 mL消煮管中。先滴入少许水湿润样品,然后加8 mL硫酸,轻轻摇匀并放置过夜。在管口放一弯颈小漏斗,在消煮炉上经250℃消煮(温度稳定后计时,时间约30 min),待H₂SO₄分解冒出大量白烟后再升高温度至400℃,当溶液呈均匀的棕黑色时取下。稍冷后加10滴H₂O₂摇匀,再加热至微沸,消煮约5 min,取下稍冷后,重复加入5滴H₂O₂,再消煮。多次重复直至消煮到溶液呈无色或清亮,继续加热约5—10 min,除尽剩余的H₂O₂,取下冷却至室温。多次用少量水冲洗弯颈漏斗,把冲洗液加入消煮管。将消煮液无损转移入100 mL容量瓶中,定容,摇匀。溶液用无磷滤纸过滤,用紫外分光光度计在波长450 nm处测定吸光度。稀释KH₂PO₄,分浓度梯度做标准液,在450 nm处测定吸光度,绘制标准曲线。根据标准曲线及所测数据计算苎麻地上部磷的浓度。

1.4.5 苎麻叶片中抗氧化性酶的测定

取苎麻组织叶片,同1.4.2过程清洗,用滤纸将叶片表面水分吸干,称取0.3 g叶片,在液氮条件下将其磨成粉末,加入3 mL提取缓冲液(2.991 mL 0.1 mol·L⁻¹ K₂HPO₄-KH₂PO₄ (pH 7.6), 8.77×10⁻⁴ g EDTA, 0.009 mL Triton X-100, 0.06 g PVP)。在冰浴条件下,加入少量石英砂并研磨成匀浆。4℃高速离心(10000 r·min⁻¹, 20 min),取上清液于10 mL离心管中,-70℃低温保存。用于测定抗氧化酶活性。采用氮蓝四唑比色法(李合生, 2000)测定SOD活性,采用Knörzer et al (1996)文中方法测定CAT活性,采用愈创木酚法(Chance and Maehly, 1955)测定POD活性。

1.4.6 数据处理及分析

所有数据采用Excel 2010处理,进行均值及标准差的计算,并使用统计分析软件SPSS 17.0对试验数据进行单因素方差分析,检验各处理平均值之间的差异显著性。所有图件采用Origin 9.1处理。

2 结果与分析

2.1 接种丛枝菌根真菌对苎麻侵染情况

接种AM真菌后,其侵染率为33.7% (图1)。

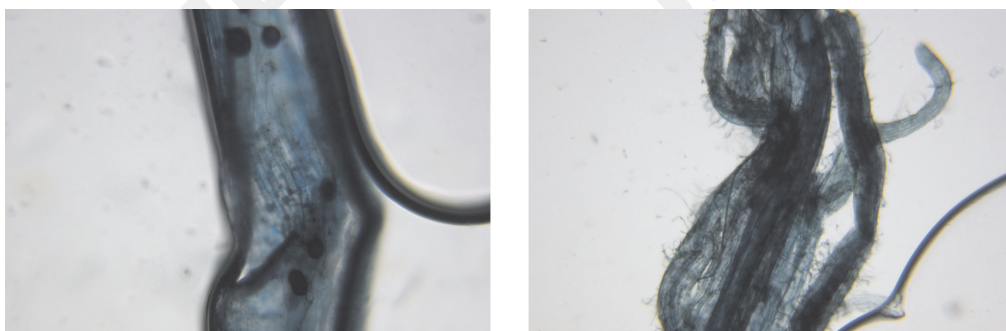
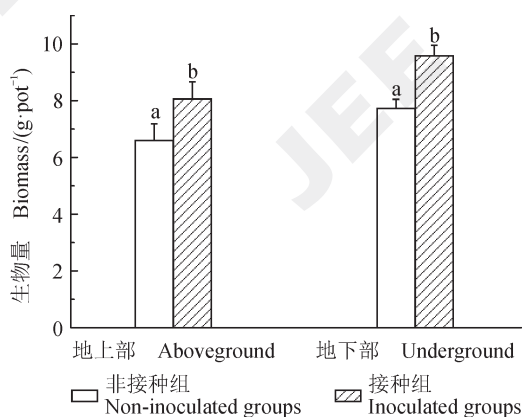


图1 AM真菌侵染苧麻根部显微结构图
Fig.1 Microstructure of AM fungi infect the root of ramie

2.2 接种丛枝菌根真菌对苧麻生物量和磷的影响

不同处理对苧麻地上部和地下部生物量的影响如图2所示：在复合重金属胁迫下，接种AM真菌显著增加苧麻地上部和地下部生物量 ($P<0.05$)，与非接种组相比，分别增加22.2%和24.0%。



图中不同字母代表各处理间差异性显著 ($P<0.05$)。下同。
Different lowercase letters indicate significant different ($P<0.05$) among different treatments. The same below.

图2 接种AM真菌对苧麻地上部和地下部生物量的影响
Fig.2 Effects of AM fungi on the biomass of aboveground and underground parts of ramie

不同处理对苧麻地上部磷含量的影响如图3所示：接种AM真菌显著提高苧麻地上部磷含量 ($P<0.05$)，与非接种组相比提高50.4%。

2.3 接种丛枝菌根真菌对苧麻吸收、转运重金属的影响

不同处理对苧麻地上部重金属含量影响如图4所示：在复合重金属胁迫条件下，接种AM真菌显著提高苧麻地上部Zn和Cd的含量 ($P<0.05$)，与非接种组相比，分别提高50.3%和100.0%，说

明AM真菌促进苧麻地上部对Zn和Cd的吸收；然而接种AM真菌显著降低苧麻地上部As含量 ($P<0.05$)，与非接种组相比，降低121.6%，说明AM真菌抑制苧麻地上部对As的吸收；接种AM真菌对苧麻地上部吸收Cu、Sb无显著影响。

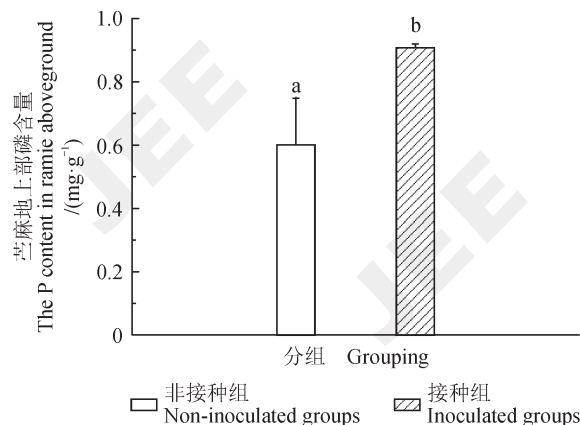


图3 接种AM真菌对苧麻地上部磷含量的影响
Fig.3 Effects of AM fungi on P content in ramie aboveground

不同处理对苧麻地下部重金属含量的影响如图5所示：在复合重金属胁迫条件下，接种AM真菌显著提高苧麻地下部Cu、Sb含量 ($P<0.05$)，与非接种组相比，分别提高30.4%和114.3%，说明接种AM真菌促进苧麻地下部对Cu和Sb的吸收；然而接种AM真菌显著降低苧麻地下部As含量 ($P<0.05$)，降低416.4%，说明AM真菌抑制苧麻地下部对As的吸收；同时，接种AM真菌对苧麻吸收Zn、Cd无显著影响。

不同处理对苧麻转运系数的影响如图6所示：在复合重金属污染条件下，接种AM真菌显著增加苧麻中Zn、As和Cd的转运系数 ($P<0.05$)，与非

接种组相比,分别提高 58.6%、148.1% 和 49.8%,说明接种 AM 真菌促进苧麻中 Zn、As、Cd 由地下部向地上部转运;然而却显著降低苧麻中 Sb 的转运率 ($P<0.05$),与非接种组相比,降低 64.1%,说明 AM 真菌抑制苧麻中 Sb 由地下部向地上部转运;接种 AM 真菌对苧麻中 Cu 的转运无显著影响。

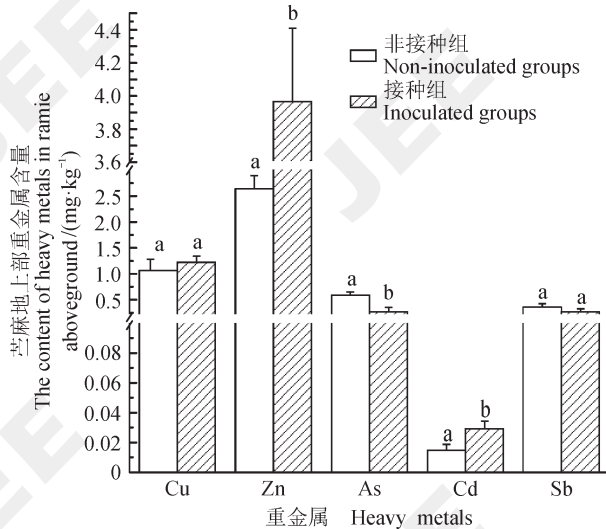


图4 接种 AM 真菌对苧麻地上部重金属含量的影响
Fig.4 Effects of AM fungi on the content of heavy metals in ramie aboveground

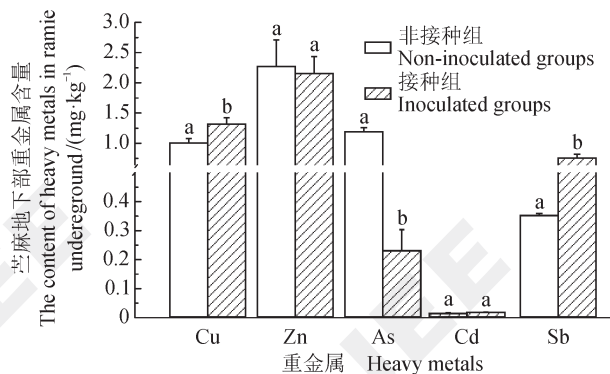


图5 接种 AM 真菌对苧麻地下部重金属含量的影响
Fig.5 Effects of AM fungi on the content of heavy metals in ramie underground

2.4 接种丛枝菌根真菌对苧麻超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、过氧化物酶活性的影响

苧麻地上部抗氧化系统酶的变化如图 7 所示:在复合重金属胁迫条件下,接种 AM 真菌能够提高苧麻地上部 SOD、CAT、POD 活性。接种组苧麻地上部 SOD 和 CAT 活性分别显著提高了 ($P<0.05$)

17.47% 和 31.75%。接种组苧麻地上部 POD 活性提高 6.75%,但较非接种组无显著差异。

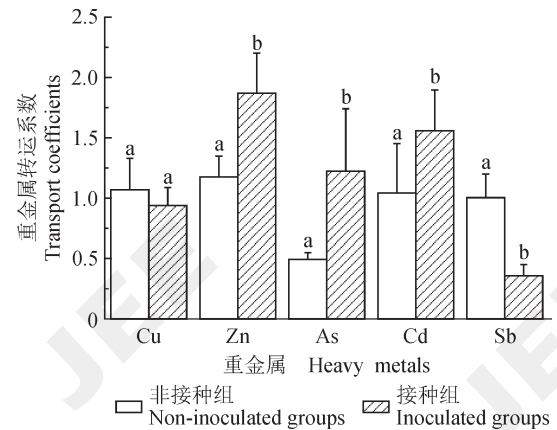


图6 接种 AM 真菌对苧麻转运重金属的影响
Fig.6 Effects of AM fungi on heavy metal transport from ramie

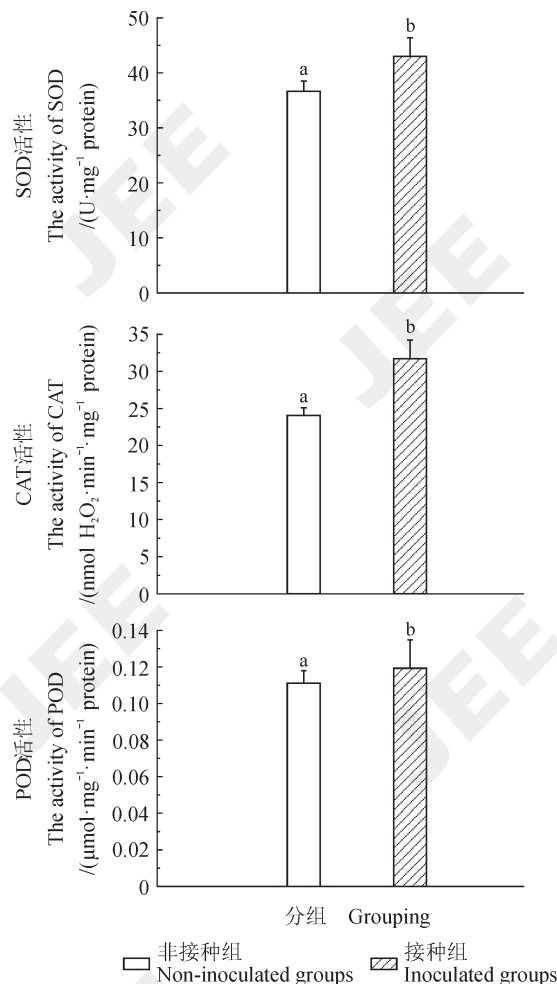


图7 接种 AM 真菌对苧麻地上部 SOD、POD、CAT 活性的影响
Fig.7 Effects of AM fungi on SOD, CAT and POD activities in ramie of shoots

3 讨论

本研究发现在复合重金属胁迫条件下, AM 真菌能够与苎麻形成良好共生关系, 其侵染率为 33.7%。这与 Wei et al (2015a) 结论相似, 其发现在重金属 Sb 胁迫条件下, AM 真菌能够成功侵染苎麻形成菌根, 且苎麻体内的 Sb 含量与 AM 真菌侵染率呈显著正相关关系。本研究还发现接种组苎麻地上部和地下部生物量显著增加, 表明 AM 真菌能够缓解复合重金属对苎麻的毒害作用。AM 真菌促进苎麻生物量增加的重要原因是它能够通过改善植物的磷营养状态, 促进植物对磷的吸收(图 3)。磷是植物的必需养分之一, 磷缺失会严重影响植物的各种生理生化活动。而重金属 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 等离子均可与 PO_4^{3-} 、 HPO_4^{2-} 发生反应, 使土壤溶液中 PO_4^{3-} 、 HPO_4^{2-} 的有效性降低, 造成植物吸磷困难(罗巧玉等, 2013)。AM 真菌不仅能够通过外生菌丝的延伸, 扩大植物根系的范围和根的吸收面积, 提高植物对磷的吸收, 还可以通过菌丝分泌乙酸、柠檬酸等有机酸活化土壤中的难溶性磷酸盐(Hodge et al, 2010), 促进植物对磷的吸收, 增强植物对磷的可利用性。此外, AM 真菌能够通过提高根系磷酸酶的分泌, 促进土壤中有机磷的分解, 转化为能被植物直接吸收利用的无机磷, 改善菌根植物磷素营养状况。刘进法等(2008)在研究 AM 真菌对枳吸收利用磷酸铝的影响时发现, 接种 AM 真菌能够显著提高根系与菌丝磷酸酶的分泌, 促使有机磷酸酯水解为无机态的磷酸, 从而提高植物对土壤中磷元素的吸收, 增加枳的干重。李霞等(2014)的试验结果也显示在复合重金属胁迫条件下, 接种 AM 真菌的植物地上部的磷含量显著提高, 生物量增加, 植物对重金属的耐受性增强。

接种 AM 真菌显著促进苎麻地上部对 Zn、Cd 的吸收, 并显著提高苎麻中 Zn、Cd 由地下部向地上部的转运, Wang et al (2007) 在研究重金属污染场地接种 AM 真菌对玉米生长的影响发现, 接种易误巨胞囊霉(*G. decipiens*)后, 玉米地上部对 Zn、Cd 的吸收得到显著提高, 同时提高了 Zn、Cd 的转运效率。此外, 研究还发现接种 AM 真菌显著促进苎麻地下部对 Cu、Sb 的吸收, 并同时抑制两种重金属向地上部转运, 说明接种 AM 真菌能够将 Cu、Sb 大量固持在苎麻根部。大量研究认为, AM 真菌菌丝对重金属具有

“过滤”作用。González-Guerrero et al (2008) 利用 TEX/SEM-EDAX 发现 Cu 主要积累在菌丝壁的黏液层、细胞壁和菌丝细胞质中。陈志鹏等(2015)研究发现接种 AM 真菌促进紫花苜蓿地下部对 Sb 的吸收并抑制 Sb 向地上部转运。同时, 本研究也发现接种 AM 真菌抑制了苎麻对 As 的吸收, 但苎麻中 As 的转运系数提高。这与 Trotta et al (2006) 研究结果相似。他们研究发现, 接种球囊霉的植物地上部与地下部 As 的含量显著降低, 但 As 的转运系数增加。这可能是由于磷和 As 的吸收都是通过磷酸盐转运系统(Wang et al, 2002)进入植物体内, 存在竞争关系, 促进磷吸收的同时降低 As 的吸收。总体来讲, 在复合重金属胁迫条件下, 菌根化的苎麻能够促进 Cu、Zn、Cd、Sb 的吸收。

在重金属胁迫条件下, 植物被重金属诱导产生大量的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 等活性氧(reactive oxygen species, ROS), ROS 导致氧化应激的产生, 从而损伤细胞。而在抗氧化酶系统中, SOD 能够清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 而产生 H_2O_2 , CAT 和 POD 可以将 H_2O_2 分解, 有效减少植物细胞受到的损伤(Scandalios, 1993)。本研究发现在复合重金属胁迫条件下, 接种组抗氧化系统酶中的 SOD 和 CAT、POD 活性提高。这与 Márquez-García and Córdoba (2010) 的结论相似。张旭红等(2008)试验也发现, 复合重金属胁迫条件下, 蚕豆接种摩西球囊霉后, 抗氧化酶的活性显著增强。在复合重金属胁迫下, 接种 AM 真菌促使苎麻地上部分的 SOD、CAT、POD 活性增加, 从而能够较好地清除活性氧, 降低植物细胞的损伤, 提高苎麻对复合重金属的耐性。

本研究旨在通过探究 AM 真菌-苎麻联合体对复合重金属污染土壤的修复效率, 为我国南方土壤复合重金属污染修复寻找一种新的技术方法。试验初步探究发现 AM 真菌-苎麻联合体对复合重金属污染土壤具有一定的修复作用。但本研究是在环境条件可控的温室条件下从苎麻生物量、地上部磷的含量、重金属吸收与转运、苎麻体内抗氧化酶的变化等方面对 AM 真菌-苎麻联合修复重金属污染土壤进行了初步探究, 对于 AM 真菌-苎麻联合体对复合重金属修复的具体机制有待进一步研究。

4 结论

(1) 室内盆栽试验结果表明: 在复合重金属

胁迫下,AM真菌能够与苧麻形成菌根,并显著提高苧麻地上部对磷的吸收,改善了苧麻的生长状况,促进生物量的增加,提高苧麻对重金属的耐受性。

(2) 接种 AM 真菌调节苧麻对多种重金属的吸收状况。AM 真菌 - 苧麻联合体可以作为利用微生物 - 植物联合体修复复合重金属污染的一种新的方法。

(3) 接种 AM 真菌显著增加苧麻地上部分 SOD 和 CAT 的活性,同时对 POD 的活性也有一定促进作用。

致谢: 感谢秦宁博士对试验的指导,感谢陈志鹏在试验样品处理过程中的帮助。

参考文献

曹心德,魏晓欣,代革联,等. 2011. 土壤重金属复合污染及其化学钝化修复技术研究进展 [J]. *环境工程学报*, 5(7): 1441-1453. [Cao X D, Wei X X, Dai G L, et al. 2011. Combined pollution of multiple heavy metals and their chemical immobilization in contaminated soils: A review [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 5(7): 1441-1453.]

曹 诣,余 玮,孙敬钊,等. 2014. 苧麻修复重金属污染土壤研究现状 [J]. *作物研究*, 28(6): 775-779. [Cao Y, She W, Sun J Z, et al. 2014. Research status of resistance to heavy metal pollution of ramie [J]. *Crop Research*, 28(6): 775-779.]

陈保冬,李晓林,朱永官. 2005. 丛枝菌根真菌菌丝体吸附重金属的潜力及特征 [J]. *菌物学报*, 24(2): 283-291. [Chen B D, Li X L, Zhu Y G. 2005. Characters of metal adsorption by AM fungal mycelium [J]. *Mycosystema*, 24(2): 283-291.]

陈桂荣,曾向东,黎 巍,等. 2010. 金属矿山土壤重金属污染现状及修复技术展望 [J]. *矿产保护与利用*, (2): 41-44. [Chen G R, Zeng X D, Li W, et al. 2010. Overview on current situation of heavy metal pollution in soil and remediation technology of contaminated soils in metal mines [J]. *Conservation and Utilization of Mineral Resources*, (2): 41-44.]

陈志鹏,魏 源,赵冬安,等. 2015. 丛枝菌根真菌对紫花苜蓿镉积累和抗氧化活性的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 34(6): 1053-1059. [Chen Z P, Wei Y, Zhao D A, et al. 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on uptake and antioxidative responses of *Medicago sativa* in antimony polluted soil [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 34(6): 1053-1059.]

何勇田,熊先哲. 1994. 复合污染研究进展 [J]. *环境科学*, 15(6): 79-83+96. [He Y T, Xiong X Z. 1994. Advance in the study on compounded pollutions [J]. *Chinese Journal of Environmental Science*, 15(6): 79-83+96.]

黄 闰,孟桂元,陈跃进,等. 2013. 苧麻对重金属铅耐受性及其修复铅污染土壤潜力研究 [J]. *中国农学通报*, 29(20): 148-152. [Huang G, Meng G Y, Chen Y J, et al. 2013. Study on Pb tolerance and remediation potential of lead-contaminated soil of ramie [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 29(20): 148-152.]

黄占斌,焦海华. 2012. 土壤重金属污染及其修复技术 [J]. *自然杂志*, 34(6): 350-354. [Huang Z B, Jiao H H. 2012. Heavy metal pollution in soil and restoration technology [J]. *Chinese Journal of Nature*, 34(6): 350-354.]

李合生. 2000. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社: 167-169. [Li H S. 2002. Plant physiology and technology [M]. Beijing: Higher Education Press: 167-169.]

李 霞,彭霞薇,伍松林,等. 2014. 丛枝菌根对翅荚木生长及吸收累积重金属的影响 [J]. *环境科学*, 35(8): 3142-3148. [Li X, Peng X W, Wu S L, et al. 2014. Effect of arbuscular mycorrhizae on growth, heavy metal uptake and accumulation of *Zenia insignis* Chun seedlings [J]. *Environmental Science*, 35(8): 3142-3148.]

林 强. 2004. 我国的土壤污染现状及其防治对策 [J]. *福建水土保持*, 16(1): 25-28. [Lin Q. 2004. The present situation and the countermeasures to soil pollution in China [J]. *Fujian Soil and Water Conservation*, 16(1): 25-28.]

刘进法,夏仁学,王明元,等. 2008. 接种丛枝菌根真菌对枳吸收利用磷酸铝的影响 [J]. *应用生态学报*, 19(10): 2155-2160. [Liu J F, Xia R X, Wang M Y, et al. 2008. Effects of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi on AlPO_4 uptake by *Poncirus trifoliata* [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 19(10): 2155-2160.]

刘 瑛,李选才,陈晓蓉,等. 2003. 麻类作物副产品的综合利用现状 [J]. *江西棉花*, 25(1): 3-7. [Liu Y, Li X C, Chen X R, et al. 2003. Summarization on utilizable value in by-products of Fibre crops [J]. *Jiangxi Cotton*, 25(1): 3-7.]

罗巧玉,王晓娟,林双双,等. 2013. AM 真菌对重金属污染土壤生物修复的应用与机理 [J]. *生态学报*, 33(13): 3898-3906. [Luo Q Y, Wang X J, Lin S S, et al. 2013. Mechanism and application of bioremediation on heavy metal polluted soil using arbuscular mycorrhizal fungi [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 33(13): 3898-3906.]

余 玮,揭雨成,邢虎成,等. 2011. 湖南石门、冷水江、浏

- 阳3个矿区的苧麻重金属含量及累积特征[J]. *生态学报*, 31(3): 874–881. [She W, Jie Y C, Xing H C, et al. 2011. Heavy metal concentrations and bioaccumulation of ramie (*Boehmeria nivea*) growing on 3 mining areas in Shimen, Lengshuijiang and Liuyang of Hunan Province [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 31(3): 874–881.]
- 申 鸿, 刘 于, 李晓林, 等. 2005. 丛枝菌根真菌 (*Glomus caledonium*) 对铜污染土壤生物修复机理初探[J]. *植物营养与肥料学报*, 11(2): 199–204. [Shen H, Liu Y, Li X L, et al. 2005. Influence of arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus caledonium*) on maize seedlings grown in copper contaminated soil [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 11(2): 199–204.]
- 张旭红, 高艳玲, 林爱军, 等. 2008. 重金属污染土壤接种丛枝菌根真菌对蚕豆毒性的影响[J]. *环境工程学报*, 2(2): 274–278. [Zhang X H, Gao Y L, Lin A J, et al. 2008. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi colonization on toxicity of soil contaminated by heavy metals to *Vicia faba* [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2(2): 274–278.]
- 赵丹博, 曹 诣, 余 玮, 等. 2015. 镉、砷复合污染对苧麻生长及吸收镉、砷的影响[J]. *中国麻业科学*, 37(4): 183–188. [Zhao D B, Cao Y, She W, et al. 2015. Effects of Cd, As stress on growth and Cd, As uptake of ramie (*Boehmeria nivea* L.) [J]. *Plant Fiber Sciences in China*, 37(4): 183–188.]
- Chance B, Maehly A C. 1955. Assay of catalases and peroxidases [J]. *Methods in Enzymology*, 2: 764–775.
- González-Guerrero M, Melville L H, Ferrol N, et al. 2008. Ultrastructural localization of heavy metals in the extraradical mycelium and spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* [J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 54(2): 103–110.
- Hodge A, Helgason T, Fitter A H. 2010. Nutritional ecology of arbuscular mycorrhizal fungi [J]. *Fungal Ecology*, 3(4): 267–273.
- Knörzer O C, Burner J, Boger P. 1996. Alterations in the antioxidative system of suspension-cultured soybean cells (*Glycine max*) induced by oxidative stress [J]. *Physiologia Plantarum*, 97(2): 388–396.
- Leung H M, Ye Z H, Wong M H. 2006. Interactions of mycorrhizal fungi with *Pteris vittata* (As hyperaccumulator) in As-contaminated soils [J]. *Environmental Pollution*, 139(1): 1–8.
- Liu F H, Li Z, Liu Q, et al. 2003. Introduction to the wild resources of the genus *Boehmeria* Jacq. in China [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 50(8): 793–797.
- Madejón E, Doronila A I, Sanchez-Palacios J T, et al. 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and biosolids enhance the growth of a native Australian grass on sulphidic gold mine tailings [J]. *Restoration Ecology*, 18(S1): 175–183.
- Márquez-García B, Córdoba F. 2010. Antioxidative system in wild populations of *Erica andevalensis* [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 68(1): 58–65.
- Miransari M. 2011. Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals [J]. *Biotechnology Advances*, 29(6): 645–653.
- Okkenhaug G, Zhu Y G, Luo L, et al. 2011. Distribution, speciation and availability of antimony (Sb) in soils and terrestrial plants from an active Sb mining area [J]. *Environmental Pollution*, 159(10): 2427–2434.
- Scandalios J G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases [J]. *Plant Physiology*, 101(1): 7–12.
- Trotta A, Falaschi P, Cornara L, et al. 2006. Arbuscular mycorrhizae increase the arsenic translocation factor in the As hyperaccumulating fern *Pteris vittata* L [J]. *Chemosphere*, 65(1): 74–81.
- Wang F Y, Lin X G, Yin R. 2007. Effect of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation on heavy metal accumulation of maize grown in a naturally contaminated soil [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 9(4): 345–353.
- Wang F Y, Shi Z Y. 2008. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in China: A review [J]. *Advances in Environmental Biology*, 2(1): 31–39.
- Wang J, Zhao F J, Meharg A A, et al. 2002. Mechanisms of arsenic hyperaccumulation in *Pteris vittata*. uptake kinetics, interactions with phosphate, and arsenic speciation [J]. *Plant Physiology*, 130(3): 1552–1561.
- Wei Y, Chen Z P, Wu F C, et al. 2015. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with a Sb accumulator plant, ramie (*Boehmeria nivea*), in an active Sb mining [J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(8): 1205–1215.
- Vierheilig H, Schweiger P, Brundrett M. 2005. An overview of methods for the detection and observation of arbuscular mycorrhizal fungi in roots [J]. *Physiologia Plantarum*, 125(4): 393–404.