

DOI:10.3969/j.issn.1004-6933.2014.06.011

根际土壤酶活性和微生物区系在薤菜镉积累中的特征

白海强, 吕保玉

(广西壮族自治区环境监测中心站, 广西南宁 530028)

摘要:通过自制根箱试验,研究了植物根际土壤酶活性(脲酶,转化酶,酸性磷酸酶,碱性磷酸酶)和微生物区系(细菌、真菌、放线菌)在不同薤菜品种中(Cd-PSC, non-Cd-PSC)镉积累行为的特征。结果表明:薤菜茎叶的镉积累特性具有稳定性。相同条件下,根际土壤的4种酶活性和3类微生物数量都显著大于非根际土壤。在薤菜两个品种间,3类微生物的数量差异显著,其大小排序为:细菌,真菌,放线菌;转化酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶在品种间差异极显著,其大小排序为:酸性磷酸酶,转化酶,碱性磷酸酶;脲酶在品种间的差异性不显著。

关键词:薤菜;根际;土壤酶;微生物;镉

中图分类号:X53 文献标志码:A 文章编号:1004-6933(2014)06-0054-05

Characteristics of rhizosphere soil enzyme and microflora in cadmium accumulation of *Ipomoea aquatica* Forsk.

BAI Haiqiang, LYU Baoyu

(Environmental Monitoring Central Station of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530028, China)

Abstract: A root box experiment was conducted to study the characteristics of four kinds of rhizosphere soil enzymes (urease, invertase, and acid and alkaline phosphatases) and three kinds of microflora (bacteria, fungi, and actinomycetes) in cadmium accumulation of different species of *Ipomoea aquatica* Forsk. (Cd-PSC, non-Cd-PSC). The results show that the cadmium accumulation in the stems of leaves of *Ipomoea aquatica* Forsk. was stable. Under the same conditions, the enzymatic activities and the microorganism amounts were significantly greater in the rhizosphere soil than in the non-rhizosphere soil. There were significant differences in the microorganism amount between the two species of *Ipomoea aquatica* Forsk., showing a descending order in amount, as follows: bacteria, fungi, and actinomycetes. Significant differences existed in the species of invertase, and in acid and alkaline phosphatases, showing a descending order in amount as follows: acid phosphatase, invertase, and alkaline phosphatase. No significant differences were found in the species of ureases.

Key words: *Ipomoea aquatica* Forsk.; rhizosphere; soil enzyme; microorganisms; cadmium

近年来,土壤重金属累积对农作物的污染问题越来越突出,特别是城市周围菜田的污染日益严重。土壤重金属的严重污染致使1200万t农产品不符合卫生品质的要求^[1]。在所有的重金属污染元素中,镉(Cd)以移动性大、毒性高成为最受关注的元素,再加上Cd的生物有效性高,更易在农产品中积累,因而在重金属含量超标的农产品中,Cd排在首

位。有研究认为,叶菜对人类摄食Cd的贡献度达到83%^[2],因此,叶菜中的Cd更易通过“土壤-植物-人”食物链进入人体,危害健康。

目前,大部分研究集中在受重金属污染的土壤生物修复方面,例如超富集植物的选用。但由于土壤生物修复需要漫长的时间,筛选出重金属积累能力较低的植物物种或品种,在受到重金属污染的土

基金项目:广西突发污染事故应急技术研究特聘专家岗位资助(2012-11)

作者简介:白海强(1983—),男,工程师,主要从事土壤修复、环境监测和科研工作。E-mail: baihaiqiang@foxmail.com

通信作者:吕保玉,工程师。E-mail: lvbaoyu1017@163.com

壤中种植出符合食品安全要求的蔬菜,是人们迫切需要解决的问题。此类研究报道较少,但意义却十分重大。经过研究,Wang 等^[3]筛选出 1 种典型的蕹菜 Cd 低积累品种 (Cd-PSC) 和 1 种典型的蕹菜 Cd 高积累品种 (non-Cd-PSC),前者可食部位的 Cd 积累量仅是后者的 1/2 ~ 1/3。但是,影响这两类蕹菜品种的 Cd 积累特性的因素目前并未见研究。

根际是植物根与土壤接触的微域环境,是植物摄取养分的主要区域,也是土壤-根系-微生物三者紧密结合相互影响的场所。国内外对禾本科、十字花科等植物根际土壤酶活性及微生物的数量、R/NR 值的变化已有研究^[4-6],发现植物不同品种之间根际土壤酶活性、微生物数量、根际效应表现各异;植物对 Cd 的吸收也可能受不同植物种类甚至品种的根际理化和生物环境的影响。因此,笔者以已经筛选获得的蕹菜 Cd-PSC 和 non-Cd-PSC 的典型品种为研究对象,探讨了根际土壤酶活性和微生物区系对不同蕹菜品种 Cd 积累行为的影响,对于探讨影响 Cd 积累的基因型-土壤间的化学和生物学联系、为筛选、培育和利用重金属低量积累农作物品种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 蕹菜品种与土壤

两个蕹菜品种分别为低积累品种强坤柳叶白骨 (QK,Cd-PSC) 和高积累品种台湾 308 纯白柳叶 (T-308,non-Cd-PSC)。

选用镉污染土壤 (常用生活污水+工业污水灌溉的农田土, $w(\text{Cd}) = 0.726 \text{ mg/kg}$) 和对照土壤 (未受污染, $w(\text{Cd}) = 0.173 \text{ mg/kg}$) 两种作为供试土壤。取其表层土 (0 ~ 20 cm),晒干,粉碎,混匀,过 20 目筛备用,其土壤理化性质见表 1。

1.2 试验设计

试验于 2012 年 3 月 22 日—5 月 22 日在南宁市蔬菜研究所的温室大棚内进行。将供试的 2 种土壤分别装入长 20 cm、宽 15 cm、高 15 cm 的自制根箱中,每箱由 3 室组成 (S1:中央室即根际区 (宽 20 mm)、S2:靠近根际微区域 (宽 5 mm)、S3:非根际区)。每室之间均用 300 目的尼龙网 (除根不能通过外,其他物质可以自由通过) 分隔,每箱土壤质量为 4.5 kg。设置品种和土壤 2 个因素为试验处理,

种植两茬,每个处理重复 3 次,共 24 个根箱。

1.3 取样方法

在种植后第 40 天,取第 1 茬样品的茎叶和根,并收集根际土和非根际土,立即密封保存于 4℃ 冰箱中。第 100 天后第 2 次取样,方法同前。

土样采集时,取中央室紧贴尼龙网 1 mm 范围内的土壤作为根际土,两边非根际室的土壤混合作为非根际土。土壤取出后立即装入无菌纸袋,带回实验室内,将新鲜土样研磨过 1 mm 筛,置于土样瓶中,在 0 ~ 4℃ 保存备用。

1.4 测定方法

1.4.1 植物重金属含量测定

称取烘干、粉碎的样品 0.2 g,用微波消解仪 (MDS—2002A,上海新仪产) 进行消解,样品加入 5 mL 的 HNO_3 (体积分数 65%,优级纯) 和 2 mL 的 H_2O_2 (体积分数 30%,分析纯)^[7]。用原子吸收光谱仪 (AAS, Hitachi Z—5300,日本产) 测定土壤中的 Cd 含量。测样过程中采用国家标准参比物质 (植物 GBW-07603) 进行分析质量控制,参比物质 Cd 的标准质量比为 0.057 mg/kg,测定值为 0.059 mg/kg,表明样品处理方法和仪器精度能够满足本研究要求。

1.4.2 土壤微生物数量的测定

细菌培养基-牛肉膏蛋白胨 ($\text{pH} = 7.0 \sim 7.2$)^[8];放线菌培养基-高氏合成一号琼脂培养基 ($\text{pH} = 7.2 \sim 7.4$)^[9];真菌培养基-马丁孟加拉红链霉素琼脂培养基 ($\text{pH} = 7.0$)^[10]。采用稀释平板计数法进行土壤微生物的分离。测定土壤细菌数量时,采用 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 3 个稀释度,测定放线菌数量时,采用 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 3 个稀释度,测定真菌数量时,采用 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 3 个稀释度。细菌平板在 30℃ ~ 32℃ 恒温箱中保湿培养,真菌、放线菌平板在 26℃ ~ 28℃ 恒温箱中保湿培养。每个处理重复 3 次。细菌培养 2 d 后开始统计菌落数,真菌和放线菌培养 4 ~ 5 d 后开始统计菌落数。

1.4.3 土壤酶活性的测定

用二氯异氰尿酸钠显色法测定脲酶活性^[11];用 p-NPP 比色法测定酸、碱性磷酸酶活性^[12];转化酶以蔗糖作为添加基质,采用六氰基铁化钾 (potassium hexacyanoferrate III) 还原反应进行测定^[13]。

1.5 数据处理及统计方法

数据计算和图形绘制用 Excel 2003 和 Origin

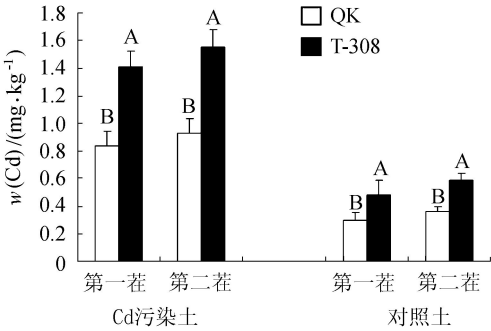
表 1 试验用土壤的理化性质

土 壤	pH	电导率/ ($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$)	氧化还原 电位/mV	阳离子交换量/ ($\text{cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	有机质/%	$w(\text{N})$ / ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$w(\text{碱解 N})$ / ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全 P/%	$w(\text{速效 P})$ / ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$w(\text{速效 K})$ / ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
Cd 污染	7.08	74.33	-24.67	20.74	2.31	1.61	105.8	0.12	476.44	98.54
对照土样	6.77	114.33	-9	10.32	3.49	1.58	98.2	0.08	195.92	192.3

2 结果与分析

2.1 薺菜地上部分镉含量的基因型差异

2 个薺菜典型品种 (QK、T-308) 的茎叶中 Cd 质量比见图 1。方差分析结果表明,这两种不同品种的薺菜茎叶的 Cd 质量比存在极显著差异 ($p < 0.01$)。在 Cd 污染土和对照土样两种土壤中,薺菜 T-308、QK 两种品种茎叶的 Cd 质量比,第一茬分别为 1.69 和 1.6,第二茬分别是 1.72 和 1.67。两品种在高 Cd 土壤上的差异性大于对照土样上的差异性,这说明不同薺菜品种对 Cd 的吸收积累存在稳定的品种间差异,不随土壤中的 Cd 浓度及其他理化性质的不同或种植时间的延长而变化,从而进一步验证了薺菜品种 Cd 吸收积累能力是稳定的,属于受遗传控制的品种种性。



A、B 是指在 $p < 0.01$ 水平上差异显著 (下同)

图 1 不同品种薺菜茎叶中的 Cd 质量比

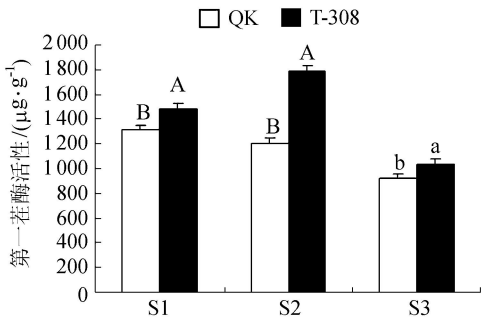
2.2 土壤酶活性的分析

2.2.1 根际与非根际的比较

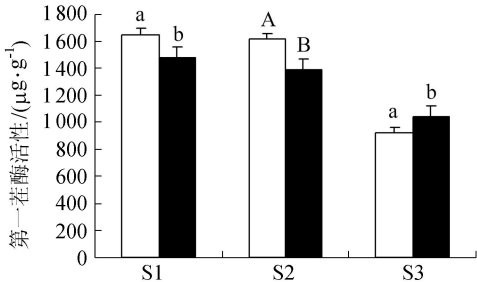
由图 2 可见,在 Cd 污染土上,根际 S1、S2、S3 区域在品种间均有差异,且表现为镉高积累品种 (T-308) 的酶活性大于低积累品种 (QK) 的酶活性。方差分析结果显示, S1 和 S2 区域的酶活性在不同基因型品种间存在极显著差异性 ($p < 0.01$), S3 区域也存在显著性差异 ($p < 0.05$),其酶活性差异性大小排序为: S2, S1, S3。说明 3 个区域的土壤酶共同作用于薺菜对 Cd 的积累吸收,这与微生物在薺菜品种间的差异性相一致。在对照土壤上, S2 区域在品种间差异极显著 ($p < 0.01$), S1 和 S3 在品种间存在显著的差异性 ($p < 0.05$),其酶活性差异性大小顺序为: S2, S1, S3; 但 3 个区域差异性大小趋势不一致, S1 和 S2 表现为,低积累品种的酶活性高于高积累品种的酶活性,而 S3 区域则相反,说明根系分泌对土壤酶活性的影响较大。

2.2.2 不同品种间的比较

由图 3 可见,在 Cd 污染土条件下,根系中脲酶



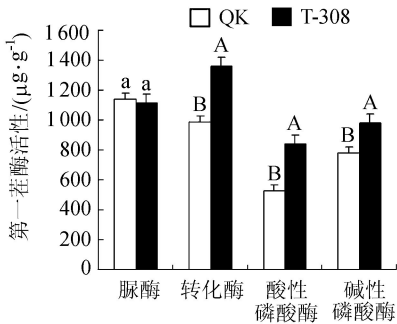
(a) Cd 污染土



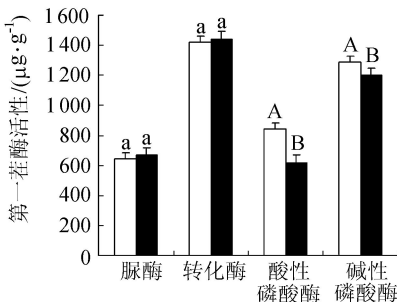
(b) 对照土

a、b 是指在 $p < 0.05$ 水平差异显著 (下同)

图 2 根系 3 区域酶活性在品种间的差异性 (第一茬)



(a) Cd 污染土



(b) 对照土

图 3 根系 4 种土壤酶在品种间的差异性

活性在 2 个品种间差异较小,而转化酶和酸、碱磷酸酶在品种间差异较大,均表现为高积累品种的活性大于低积累品种的活性。经统计学分析表明,脲酶在不同品种间不存在显著差异 ($p > 0.05$),转化酶、酸碱磷酸酶在不同品种间均存在极显著的基因型差异 ($p < 0.01$),且差异性大小排序为:酸性磷酸酶,转化酶,碱性磷酸酶。从 4 种酶活性在品种间的差异性大小来看,影响薺菜茎叶吸收 Cd 的贡献率大小

排序为:酸性磷酸酶,转化酶,碱性磷酸酶,脲酶不显著,说明在 Cd 污染土中,C 和 P 循环与对植株吸收积累 Cd 的影响较大,而 N 循环作用较小。在对照土壤上,脲酶和转化酶在品种间的差异性不显著,而酸碱磷酸酶差异极显著,说明在对照土样上,土壤中 P 循环对植株吸收 Cd 的影响较大,而 C、N 的循环作用较小。

2.3 土壤微生物数量的分析

2.3.1 根际与非根际的比较

由图 4 可知,在 Cd 污染土上,3 个根际微区域在 2 个品种间存在极显著差异($p<0.01$),说明微区域的微生物数量均显著作用于薺菜对 Cd 的吸收和积累。方差分析表明,在 2 个品种间,S1 的差异显著性最大,S2 的差异显著性略小于 S1,S3 的差异性在 3 个微区域中最小,说明 S1 区和 S2 区对薺菜吸收积累 Cd 的贡献率最大。在对照土壤上,S1 区在两个品种间的差异性最大,S2 和 S3 区差异不显著。由此可见,Cd 污染土上的 3 个微区域均显著作用于薺菜对 Cd 的吸收,而在对照土壤上,只有 S1 区显著作用于薺菜对 Cd 的吸收,S2,S3 区的差异不显著,说明 Cd 污染强化了 2 个品种在区域间微生物的差异性。

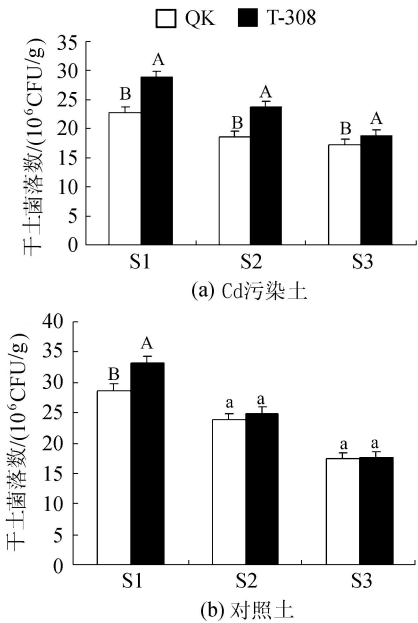


图 4 两个品种在不同根际区域内微生物数量的差异

2.3.2 不同品种间的比较

由于不同种类或基因型的植物分泌物种类和数量不同,导致不同物种甚至是同一物种的不同基因型之间对根际微生物的种群密度和数量有着不同的影响。

由图 5 及方差分析结果显示,在 Cd 污染土壤上,3 类微生物在 2 个典型品种间均存在极显著的

差异性($p<0.01$),说明 Cd 污染条件下,根系微生物均作用于薺菜对 Cd 的吸收积累。但 3 类微生物在 2 个品种间的变化趋势不一致。细菌和放线菌表现为,高积累品种的微生物数量($p<0.01$)大于低积累品种的数量,说明随着薺菜根系细菌和放线菌数量的增加,植物茎叶中 Cd 含量有上升趋势;而真菌相反,表现为低积累品种的微生物数量($p<0.01$)大于高积累品种的数量,即随着真菌数量的增加,茎叶 Cd 含量有下降趋势。方差分析结果显示,3 类微生物在 2 个品种间的差异显著性大小排序为:细菌,真菌,放线菌,均呈极显著差异性($p<0.01$),故从微生物种类来看,细菌在品种间的差异性最大,真菌次之,放线菌较弱,说明在高 Cd 条件下,薺菜茎叶中 Cd 含量与根际细菌数量呈显著正相关,细菌对薺菜茎叶中 Cd 含量的影响最大。

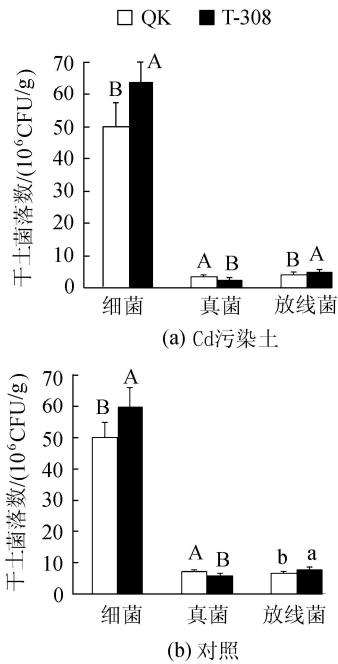


图 5 两个典型品种 3 类微生物数量的差异

在对照土样上分析得出同样的结果,说明基因型不同的品种,根系微生物数量间的差异性不受土壤中 Cd 含量的影响。

3 结 论

a. 降低农作物重金属含量的有效途径是选育重金属低量积累品种。研究发现,相同条件下,根际 4 种土壤酶活性和 3 类微生物数量都显著大于非根际土壤。

b. 在薺菜低积累品种和高积累品种间,3 类微生物的差异显著性大小排序为:细菌,真菌,放线菌,这说明细菌对薺菜茎叶中 Cd 含量的影响最大,可促进植物对重金属的吸收。

- c. 转化酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶在不同品种间差异性极显著,其大小顺序为:酸性磷酸酶,转化酶,碱性磷酸酶,脲酶在品种间的差异性不显著。
- d. 能否通过调整改变土壤微生物群落和土壤酶活性结构与功能,从而达到降低农作物可食部分Cd含量的目的,还有待进一步研究。

参考文献:

[1] 万云兵,仇荣亮,陈志良,等. 重金属污染土壤中提高植物提取修复功效的探讨[J]. 环境污染治理技术与设备,2002,3(4):56-59. (WAN Yunbing, QIU Rongliang, CHEN Zhiliang, et al. On efficient improvement of phytoextraction of heavy metals from contaminated soil [J]. Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control,2002,3(4):56-59. (in Chinese))

[2] OSKARSSON A, WIDELL A, OLSSON I M, et al. Cadmium in food chain and health effects in sensitive population groups[J]. Biometals,2004,17: 531-534.

[3] WANG Junli, FANG Wei, YANG Zhongyi, et al. Inter-and intra-specific variations of Cd accumulation of 13 leafy vegetable species grown in Cd contaminated soils [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55 (22): 9118-9123.

[4] 王树和,王晓娟,王茜,等. 丛枝菌根及其宿主植物对根际微生物作用的响应[J]. 草业学报,2007(3):108-113. (WANG Shuhe, WANG Xiaojuan, WANG Qian, et al. Responses of rhizosphere microorganisms to arbuscular mycorrhizal fungi and their effects on host plants[J]. Acta Prataculturae Sinica,2007(3):108-113. (in Chinese))

[5] 侯伶龙,黄荣,周丽蓉,等. 鱼腥草对土壤中镉的富集及根系微生物的促进作用[J]. 生态环境学报,2010,19(4):817-821. (HOU Linglong, HUANG Rong, ZHOU Lirong, et al. The accumulation of Cd in Huttuynia cordata and its promotion by rhizospheric microbes [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2010, 19 (4): 817-821 (in

Chinese))

[6] HARSH P B, TIFFANY L W, LAURA G P, et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms [J]. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57: 233-266.

[7] KURZ H, SCHULZ R, V RÖMHELD. Selection of cultivars to reduce the concentration of cadmium and thallium in food and fodder plants [J]. Journal Plant Nutrition Soil Science, 1999, 162: 323-328.

[8] JANIS C K, DIANE F, JOHN M M, et al. Effects of light reduction on growth of the submerged macrophyte Vallisneria americana and the community of root-associated heterotrophic bacteria [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2003, 291 (2): 199-218.

[9] SHAHEEN Z, FARRUKH A, IQBAL A. Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil [J]. Bioresource Technology, 2007, 98 (13): 2557-2561.

[10] DANIEL D, EMILIEN P, FREDERIC C. The influence of temperature on bacterial assemblages during bioremediation of a diesel fuel contaminated subantarctic soil [J]. Cold Regions Science and Technology, 2007, 48 (2): 74-83.

[11] KLOSE S, TABATABAI M A. Urease activity of microbial biomass in soils as affected by cropping systems [J]. Biology and Fertility of Soils, 2000, 31 (3/4), 191-199.

[12] LYDIA P O, PETER M V. Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability [J]. Biogeochemistry, 2000, 49 (2): 175-191.

[13] DINESH R, GHOSHAL CHAUDHURI S, SHEEJA T E. Soil biochemical and microbial indices in wet tropical forests: effects of deforestation and cultivation [J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2004, 167 (1): 24-32.

(收稿日期:2014-02-25 编辑:高渭文)

· 简讯 ·

《河海大学学报(自然科学版)》入选“第三届中国精品科技期刊”

近日,由科技部中国科学技术信息研究所主办的“中国科技论文统计结果发布会”在北京国际会议中心举行,会上揭晓了“第三届中国精品科技期刊”、“2013年百种中国杰出学术期刊”、“领跑者5000——中国精品科技期刊顶尖论文”评选结果。我校主办的《河海大学学报(自然科学版)》入选“第三届中国精品科技期刊”。

“中国精品科技期刊”评价始于2008年,每3年评价1次。2014年经中国精品科技期刊指标体系综合评价,“第三届中国精品科技期刊”即“中国精品科技期刊顶尖学术论文(F5000)”项目来源期刊由300种中文期刊和15种英文期刊组成。

领跑者5000(简称F5000),是中国科学技术信息研究所自2000年开始立项开发的国家级研究课题,旨在将中国精品科技期刊上发表的部分优秀论文推向国内外高端平台,在更大范围内向世界展示和推广我国最重要的科研成果,以扩大期刊和作者的学术影响力,引领我国高水平科技期刊事业的发展和成长。

(河海大学期刊部供稿)