

南京栖霞重金属污染区植物富集重金属效应 及其根际微生物特性分析*

孙瑞波 盛下放 李 娅 何琳燕[†]

(农业部农业环境微生物工程重点开放实验室, 南京农业大学生命科学学院, 南京 210095)

摘 要 以南京栖霞重金属污染区 5 种植物及其根际土壤为研究对象, 对植物富集重金属特征以及重金属含量与根际土壤细菌数量、土壤酶活性等的相关性进行了调查分析。结果发现, 植物根际重金属污染物以 Zn 和 Cd 为主; 重金属污染地区的植物有较强的吸收重金属能力, 龙葵和苘草具备了超积累植物的基本特征; 植物根际细菌和 Pb 抗性细菌的数量达到了 10^7 CFU g^{-1} 土; 根际土壤酶活性未受到重金属的毒害或受到的毒害很小; 植物体中重金属含量与土壤重金属含量及其存在状态、土壤酶、土壤重金属抗性细菌有显著的正相关性。根际土壤细菌尤其是具有重金属抗性的活性细菌可能会促进土壤重金属的活化, 由此促进植物体对重金属的吸收和转运。

关键词 土壤重金属污染; 根际细菌; 超积累植物

中图分类号 X53 文献标识码 A

矿产资源开采是迄今最大规模改变地球表面景观和破坏地表生态系统的有组织的人类活动, 矿冶周边地区产生了严重的重金属污染。重金属污染土壤的植物修复技术因其成本低廉、环境友好而成为世界各国关注的热点, 成为矿区环境恢复的最佳策略^[1-2]。但其在实施过程中也存在不少问题, 如土壤重金属的生物有效性低, 不利于植物对重金属的吸收和清除; 超积累植物通常生长缓慢、生物量小等, 这些缺点严重影响了植物修复的效率。因此, 各国科学家强调应加强超积累植物种质资源的筛选和基因挖掘、从基因设计和开发培育高效型修复植物、研究和发​​展能提高重金属生物有效性和植物积累水平的方法和技术^[3-6]。

土壤微生物作为土壤中物质转化的重要驱动者, 不仅参与矿区废弃地土壤的生物化学作用, 影响植被生长发育及其土壤改良的状况, 其分布与活动更反映了土壤各因素如 pH、重金属对微生物的影响和作用。土壤微生物功能多样性是土壤功能的保证, 同时也是恢复土壤功能的基础^[7-8]。一些研究者发现在长期受重金属污染的矿区废弃地上生长的重金属超积累或耐性植物如芥菜 (*Brassica juncea*)、贝托庭芥 (*Alyssum bertolonii*)、遏蓝菜属植物 (*Thlaspi goesingense*)、油菜等根际和植株内部广泛分布重金属抗性细菌, 且植物根际微生物的种群、功能、遗传特性丰富多样^[9-12]。根际微生物能通过其代谢活动及其产物如有机酸、酶类等促进重金属的溶解, 提高重金属在土壤中的生物有效性, 在一定程度上改善了土壤的理化性质, 促进植物根系对重金属的吸收和积累^[13-14]; 另一方面某些微生物如植物根际促生细菌 (PGPR)、菌根真菌等能分泌植物激素促进植物旺盛生长, 增加植物生物量, 提高重金属的总吸收量^[15-16]; 还有一些微生物能够产生铁载体提高植物抗逆性, 促进植物生长, 从而提高重金属富集效率^[17]。由此, 植物与微生物联合对重金属污染土壤的修复已经成为生物修复研究热点^[18-22]。

南京栖霞铅锌银矿位于南京东郊约 19 km 处, 始建于 1957 年, 至今已有 50 多年的开采历史。目前该矿矿石年产量为 40 万 t, 开采和冶炼的金属有 Zn、Pb 和 Mn。多年的矿冶生产活动向周围土壤环境释放了大量重金属。陈亚华等^[23]调查发现该铅锌银矿周围农田样点的土壤重金属 Pb、Cu、Zn、Cd 总量的平均值分别是土壤环境质量二级标准值的 5 倍、3 倍、8 倍、26 倍, 土壤重金属平均含量与南京地区元素背景值比值大于 10, 粉尘污染特别严重。但是对于这一特定生境中植物吸收重金属的特征以及根际土壤中的“根系—微生物—重金属”的复杂关系、土壤和植物根际微生物活性参数及其微生物群落多样性研究报道甚少。本文调查了这一重金属污染区域植物富集重金属的特点, 并对植物与根际细菌、土壤酶活性和重金属形态的相关性进行了研究, 以期揭示影响植物吸收重金属的因素, 为植物-微生物联合修复重金属污染土壤提供参考。

* 国家自然科学基金项目 (40871127、21007028) 和国家 863 计划项目 (2006AA10Z404) 资助

[†] 通讯作者, E-mail: helyan0794@njau.edu.cn

作者简介: 孙瑞波 (1984—), 男, 硕士研究生, 从事微生物-金属相互作用及其机理研究。E-mail: Bocai775@163.com
收稿日期: 2010-04-09; 收到修改稿日期: 2010-07-20

1 材料与方法

1.1 样品采集及预处理

土壤和植物样品的采集均在 2008 年 10 月进行。沿货场公路两边由南向北，以 500 m 左右的间距设置采样点，分别采集 5 种植物：反枝苋 (*Amaranthus retroflexus*) (A)，一年蓬 (*Erigeron*) (B)，苦苣菜 (*Sonchus oleraceus*) (C)，苘草 (*Beckmannia grass*) (D) 和龙葵 (*Solanum nigrum*) (E)。将植物连根带土装入灭菌袋中，每种植物采 3 株，带回实验室，4℃ 保存。采用抖根法^[14]将根际土壤与非根际土壤分开，抖落土为非根际土壤，附着在根系表面 2 mm 左右土壤为根际土壤。另外采集未生长植物样点土壤 (F) 3 份，作为对照。新鲜土壤用于细菌计数。土壤样品在室内自然风干，木棒捣碎过 10 目筛，进行土壤样品 pH 等理化性质、土壤酶活性和重金属有效态测定；过 100 目筛进行土壤重金属全量的测定。植物样本经清洗后，分成根、茎、叶，烘干后进行重金属含量的测定。

1.2 样品分析与数据处理

采用梯度系列稀释土壤悬液，分别涂布于 1/5 LB 和含 Pb 100 mg L⁻¹ 的 1/5 LB 平板，于 30℃ 恒温箱中倒置培养 3 d 后分别计数根际细菌和 Pb 抗性细菌数量。脲酶活性采用靛酚蓝比色法测定，以 24 h 内 1 g 土壤中 NH₃⁺-N 的毫克数表示；转化酶活性采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定，以 24 h 后 1 g 土壤葡萄糖的毫克数表示。

土壤 pH 采用水土比为 2.5:1，玻璃电极法测定。有机质采用重铬酸钾容量法测定。阳离子交换量 CEC 采用多次交换法测定。

土壤 Zn、Pb、Cd、Cu 全量用 HNO₃-HCl 消煮定容；土壤重金属有效态含量用二乙基三胺五乙酸 (DTPA) 提取；植物重金属全量用 HNO₃-HClO₄ 消煮定容，重金属含量用 ICP-AES 法测定。

土壤重金属综合污染指数法采用内梅罗综合污染指数法^[24]，其计算公式为： $P_{\text{综}} = \{ [(C_i / S_i)_{\text{max}}]^2 + (C_i / S_i)_{\text{ave}}^2 \}^{1/2}$ 。式中， $(C_i / S_i)_{\text{max}}$ 为土壤重金属元素中污染指数最大值； $(C_i / S_i)_{\text{ave}}$ 为土壤各污染指数的平均值。分级标准： $P_{\text{综}} \leq 1$ ，未污染； $1 < P_{\text{综}} \leq 2$ ，轻污染； $2 < P_{\text{综}} \leq 3$ ，中污染； $P_{\text{综}} > 3$ ，重污染。土壤污染水平分级标准采用国家《土壤重金属污染标准》(GB15618-1995)的二级标准。

2 结果与分析

2.1 植物根际土壤性质及重金属污染状况

栖霞山货场公路土壤类型一般认为是黄棕壤，主要成土母质为砂岩、砂砾岩和石灰岩，<0.002 mm 颗粒占 26.1% 左右。供试土壤的基本理化性质如表 1 所示。无植物生长的对照土壤 pH 为中性，有机质、速效氮和速效磷含量呈中等偏低水平，而 5 种植物根际土壤 pH 均呈微酸性，有利于重金属的溶解。根据土壤养分丰缺指标，除龙葵以外的植物根际土壤有机质含量、速效氮和速效磷均偏低，反枝苋和苘草根际土壤阳离子交换量 (CEC) 极低，表明其保肥能力很弱。

对植物根际土壤的重金属含量测定 (表 2) 发现，除 A 点外，其他 4 个采样点的 Zn 和 Cd 的含量均超过了国家土壤环境质量二级标准 (GB15618-1995)，重金属污染物以 Zn 和 Cd 为主，Pb 和 Cu 次之。通过综合污染指数可以看出，A 采样点未受到污染，B 采样点为轻度污染，C 采样点为中度污染，D、E 和 F 采样点为重度污染。植物根际土壤受污染程度好于无植物生长点，可能与植物吸收重金属相关。

不同植物根际土壤中 Zn、Pb 和 Cd 总量及 DTPA 提取态含量顺序为：苘草 > 龙葵 > 一年蓬 > 苦苣菜 > 反枝苋，Cu 总量以龙葵 > 一年蓬 > 苘草 > 苦苣菜 > 反枝苋。无植物生长的土壤中重金属总量很高，但是 DTPA 提取态含量较植物根际土壤中的略低。DTPA 提取的主要为水溶态、交换态及络合态重金属，一般认为这些是环境中容易在土壤-水和土壤-植物间移动迁移的活性形态，有效态重金属含量的改变将为周围土壤细菌的生长环境提供不同的条件。

表 1 供试土壤基本理化性质

Table 1 Basic properties of plant rhizosphere soils

样品 Sample	pH	有机质 OM (g kg ⁻¹)	阳离子交换量 CEC (cmol kg ⁻¹)	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N (g kg ⁻¹)	速效磷 Available P (mg kg ⁻¹)	颗粒组成 Particle composition (%)		
						2~0.02 mm	0.02~0.002 mm	<0.002 mm
A	6.18	11.07	4.25	21.13	1.48	37.6	39.3	25.7
B	6.16	12.40	12.38	15.30	5.68	34.5	43.1	22.4
C	6.43	11.53	12.13	8.23	2.56	34.4	44.9	20.7

D	6.72	14.41	3.63	17.83	5.27	31.1	42.8	26.1
E	6.77	68.27	13.38	45.52	12.60	31.5	44.0	24.5
F	7.23	20.23	16.70	13.64	4.47	29.2	39.2	31.6
养分缺乏指标≤								
Critical level of nutrients≤	10~20				5~10			

表2 植物根际土壤中不同形态重金属的含量及其综合污染指数 (CPI)

Table 2 Heavy metal fractions and their contents in the rhizosphere soils and their comprehensive pollution indexes (CPI)

样品 Sample	重金属总量 Total metals(mg kg ⁻¹)				DTPA提取态重金属 DTPA-extractable metals(mg kg ⁻¹)				综合 污染 指数 CPI
	Zn	Pb	Cd	Cu	Zn	Pb	Cd	Cu	
A	109.5	16.10	ND	20.97	6.814	6.203	0.065	0.661	0.33
B	326.5	142.8	1.050	62.40	23.87	19.87	0.387	4.731	1.93
C	293.7	99.48	0.858	33.38	15.72	28.99	0.157	2.880	2.19
D	536.3	207.0	1.725	41.81	39.36	64.26	0.496	3.669	4.37
E	382.5	177.3	1.258	79.77	33.49	26.47	0.510	5.690	3.22
F	696.7	255.6	8.217	42.18	20.65	19.49	0.298	4.012	20.11
国家土壤环境二级标准≤ Grade II criteria of the National Standard for Soil Environment≤	≤250	≤300	≤0.30	≤100					

ND: 未检出, No detection

2.2 植物对重金属的积累特点

从植物对重金属的积累情况来看(表3), 作为矿区主要污染物的Zn和Cd在5种植物叶片中的含量均较在根中的含量高, 说明5种植物对Zn和Cd具有较强的向上转运能力。龙葵茎、叶中Cd的含量远远大于其根中的含量, 具有很强的从根部向地上部运输Cd的能力。富集系数(Bioaccumulation coefficient, BC)是指植物体内某种重金属含量与土壤中该种重金属含量的比值, 它反映了植物对某种重金属元素的富集能力。富集系数越大, 其富集能力越强。尤其是植物地上部富集系数越大, 越有利于植物提取修复, 因此, 植物地上部富集系数大于1是超积累植物区别于普通植物对重金属积累的一个重要特征。苘草和龙葵地上部(茎和叶)Cd的富集系数分别为2.197和2.246, 均大于1, 且地上部含量高于根部含量, 具备了超富集植物的基本特征。

表3 植物对重金属的富集情况

Table 3 Accumulation of heavy metals by plants (mg kg⁻¹ dry mass)

植物 Plant	部位 Position	Zn		Pb		Cd		Cu	
		含量Content	BC ¹⁾	含量Content	BC	含量Content	BC	含量Content	BC
反枝苋 <i>Amaranthus retroflexus</i>	根Root	18.55	0.169	9.701	0.602	ND ²⁾	ND	4.131	0.197
	茎Stem	15.95	0.146	7.783	0.483	ND	ND	2.417	0.115
	叶Leaf	42.88	0.392	13.25	0.823	0.133	ND	6.967	0.332
一年蓬 <i>Erigeron</i>	根Root	45.45	0.139	16.64	0.117	0.151	0.143	32.13	0.499
	茎Stem	48.18	0.148	7.700	0.054	0.167	0.114	13.75	0.214
	叶Leaf	81.12	0.248	13.09	0.092	ND	ND	14.62	0.227
苦苣菜 <i>Sonchus oleraceus</i>	根Root	51.87	0.177	12.68	0.127	0.233	0.267	17.23	0.516
	茎Stem	32.87	0.112	7.550	0.076	0.350	0.419	9.017	0.270
	叶Leaf	56.25	0.192	8.600	0.086	0.650	0.756	13.38	0.438
苘草 <i>Beckmannia grass</i>	根Root	60.75	0.113	15.18	0.073	1.150	0.665	12.47	0.298
	茎Stem	39.48	0.074	11.33	0.055	1.600	0.925	7.100	0.170
龙葵 <i>Solanum nigrum</i>	叶Leaf	106.5	0.199	21.42	0.103	2.200	1.272	11.70	0.280
	根Root	45.60	0.119	9.983	0.056	0.033	0.024	9.867	0.124
	茎Stem	89.78	0.235	8.900	0.050	1.000	0.794	9.583	0.120
	叶Leaf	60.35	0.158	14.33	0.081	1.833	1.452	44.20	0.554

1)BC: 富集系数Bioaccumulation coefficient; 2)ND: 未检出No detection

植物对Pb和Cu的转运能力因植物种类的不同而表现出差异性。反枝苋和龙葵叶中Pb含量大于根中的含量，而且龙葵叶中的Cu含量较根和茎中的高得多，而一年蓬和苦苣菜积累的Pb和Cu主要在根部。苘草对Pb有较强的转运能力，对Cu的转运能力则稍弱。

2.3 植物根际土壤细菌数量和土壤酶活性

植物根际土壤是植物与土壤直接进行物质交换的最为活跃的场所^[25]，而土壤微生物数量和土壤酶活性是影响根际土壤综合作用的主要因素，对植株的生长起着至关重要的作用^[26]。通常情况下，重金属污染对微生物有两种效应：一是不适应生长的微生物种类数量的减少或灭绝；二是适应生长的微生物种类数量增大与优势化，进而导致微生物种群和群落的分布发生改变^[27-28]。本研究发现重金属污染区土壤可培养细菌数量范围为 $1.23 \times 10^7 \sim 8.37 \times 10^7$ CFU g⁻¹，铅抗性细菌数量范围也达到 $0.18 \times 10^7 \sim 3.82 \times 10^7$ CFU g⁻¹（图1a），植物根际土壤细菌和Pb抗性细菌数量均显著大于无植物生长土壤的细菌数量，可知植物根际具有明显的根际效应，植物根系的代谢活动有助于细菌的生长繁殖。苘草根际可培养细菌数量和Pb抗性细菌数量均高于其他植物细菌数量，可见重金属污染条件下土壤细菌总量并没有减少，反而随着土壤Zn、Pb和Cd总量增加，可培养细菌和Pb抗性细菌数量增加，可能成为优势种群。从5种植物根际土壤细菌数量变化看，不同植物根际Pb抗性细菌占可培养细菌总数的比例为36.3%~72.5%，但是根际Pb抗性细菌与可培养细菌比值最高的植物是反枝苋，其次是一年蓬和龙葵。

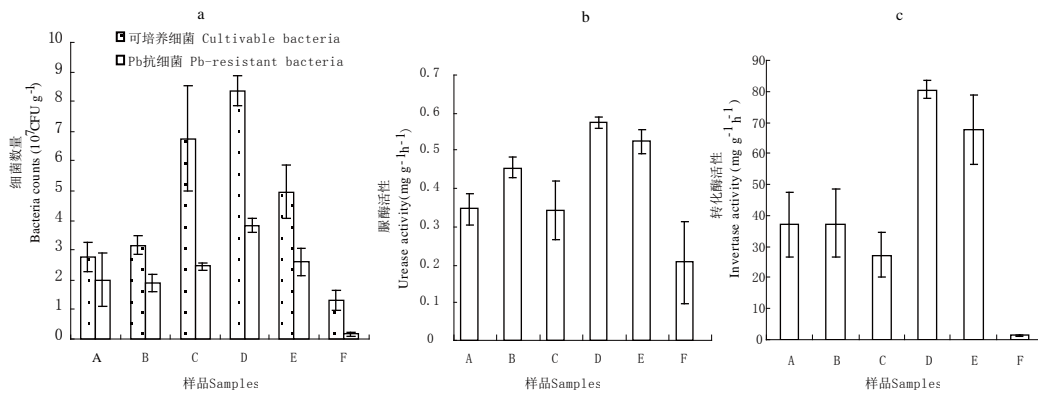


图1 土壤中细菌、Pb抗性细菌数量 (a) 以及脲酶 (b) 和转化酶 (c) 活性

Fig.1 Numbers of bacteria and Pb-resistant bacteria, and urease and invertase activity in rhizosphere soils

通过对植物重金属含量与土壤重金属总量和DTPA提取态含量、土壤细菌数量的相关性分析（表4）发现，不同植物周围土壤中的细菌总数与土壤重金属总量、植物重金属含量没有显著相关性，但是根中Zn含量与根际土壤Zn总量呈极显著相关性，与DTPA提取态含量和可培养细菌数量成显著相关；茎、叶中Cd含量与土壤Cd总量、DTPA提取态含量、根际可培养细菌数量、土壤酶活性均表现明显的正相关；Pb抗性细菌数量与DTPA提取态Pb含量、植物茎中Pb含量呈显著正相关。DTPA提取态重金属是生物体容易或比较容易利用的形态^[29]。细菌可以通过产生有机酸，如甲酸、乙酸、丙酸和丁酸等对重金属进行溶解，或通过氧化还原作用改变重金属的形态^[30]，从而使重金属转化为活化态而容易被植物吸收利用，同时Pb抗性细菌与土壤中的Pb相互作用，可能降低了Pb的毒性而有利于植物对Pb的吸收^[31-32]，因此植物根际细菌尤其是具有重金属抗性的细菌的存在，有可能提高了植物对重金属的抗性和向上转运重金属的能力，在植物提取修复重金属污染土壤中具有巨大的应用潜力。

土壤酶是土壤有机体的代谢动力，在物质循环和能量流动方面扮演重要的角色。脲酶能酶促有机质分子中肽键的水解，通常情况下土壤脲酶活性与土壤微生物数量、有机质含量等呈正相关，可以表征土壤的氮素状况。转化酶活性与土壤中腐殖质、水溶性有机质的含量以及微生物数量及其活动呈正相关，通常表征土壤的熟化程度和肥力水平^[33]。本研究中的5种植物的根际土壤酶活性均高于无植物生长对照土壤（图1b、图1c），尤其是苘草和龙葵这两种植物。土壤样品F中的转化酶活性仅为 $3.304 \text{ mg g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ，相对应的F样品中养分也很贫乏，而龙葵根际土壤转化酶活性为 $67.61 \text{ mg g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ，其根际土壤的有机质、速效氮和速效磷含量也很高，可见土壤酶活性受到植被的影响。本研究中发现

不同植物的根际土壤脲酶活性差异不大, 范围为0.341~0.576 mg g⁻¹ h⁻¹, 而转化酶活性变化较大, 范围为27.37~80.63 mg g⁻¹ h⁻¹。但是张玲等^[34]研究发现铅锌废矿区土壤中与土壤碳循环有关的酶受重金属胁迫较小, 与土壤氮、磷等循环有关的酶受重金属胁迫作用显著。

通过对植物重金属含量与土壤重金属总量和形态、土壤酶活性的相关性分析(表4)发现, 植物叶片中Cd含量与土壤脲酶、转化酶活性呈现显著正相关, 而且土壤总Pb含量、DTPA提取态Zn和Cd含量也与土壤脲酶活性呈显著正相关(表5)。转化酶活性与茎中Pb和Cd、叶中Pb含量呈显著正相关, 但与土壤重金属总量、植物根中重金属含量没有显著相关性。土壤酶活性与土壤中活性微生物是相联系的, 在植物根际环境中, 植物根系分泌物为微生物生长繁殖提供了碳源和能源, 有利于微生物的生长繁殖, 使得植物根际土壤酶活性较高, 土壤肥力增加, 从而可能促进植物生长及其对重金属的吸收和向上运输。

表4 植物富集重金属特征与土壤重金属各形态含量、土壤细菌数量以及土壤酶活性的相关性

Table 4 Relationships of heavy metal contents in plants with heavy metals, bacteria count and soil enzymes activity in soils

植物部位 Plant position	重金属 Heavy metal	土壤重金属 Soil metal		可培养细菌数量 Count of cultivable bacteria	Pb抗性细菌数量 Count of Pb-resistant bacteria	脲酶活性 Urease activity	转化酶活性 Invertase activity
		总量 Total	DTPA提取态 DTPA-extractable				
	Pb	0.50	0.48	0.26	0.10	0.34	0.06
	Cd	0.74	0.44	0.83*		0.61	0.67
	Cu	0.36	0.43	-0.12		0.06	-0.30
茎 Stem	Zn	0.47	0.65	0.07		0.61	0.49
	Pb	0.71	0.89**	0.71	0.93*	0.84*	0.93**
	Cd	0.92**	0.76*	0.80*		0.86*	0.93**
	Cu	0.71	0.75	0.01		0.29	-0.06
叶 Leaf	Zn	0.88*	0.80*	0.59		0.79*	0.65
	Pb	0.60	0.72	0.42	0.75	0.84*	0.89**
	Cd	0.84*	0.98**	0.41		0.96**	0.80*
	Cu	0.85	0.75	0.0042		0.45	0.42

注: *和**分别表示在0.05和0.01水平上相关性显著 Note: Significance level compared with reference

表5 土壤不同形态重金属与土壤酶、根际细菌数量的相关性

Table 5 Relevance between Different forms of heavy metal and rhizosphere bacteria and soil enzymes

项目 Items	重金属总量 Total metals				DTPA提取态重金属 DTPA-extractable metals			
	Zn	Pb	Cd	Cu	Zn	Pb	Cd	Cu
转化酶活性 Invertase activity	0.78	0.76	0.79	0.41	0.87	0.74	0.81	0.53
可培养细菌数量 Count of cultivable bacteria	0.77	0.62	0.82	-0.059	0.61	0.91*	0.39	0.11
Pb抗性细菌数量 Count of Pb-resistant bacteria		0.60				0.90*		

注: *和**分别表示在0.05和0.01水平上相关性显著 Note: Significance level compared with reference

3 结论

1) 南京栖霞货场公路土壤受到重金属不同程度的污染, 重金属污染物主要为Zn、Cd、Pb和Cu。货场公路边植物有较强的吸收重金属的能力, 并且对Zn和Cd具有较强的向上转运能力, 龙葵和萹草对Cd的富集系数大于1。

2) 植物根际可培养细菌数量和Pb抗性细菌数量达到 10^7 CFU g⁻¹干土, 土壤转化酶活性较高, Pb抗性细菌数量与土壤DTPA提取态Pb含量、植物茎中Pb含量呈显著正相关。根际土壤细菌尤其是具有重金属抗性的活性细菌有可能促进土壤重金属的活化, 由此促进植物体对重金属的吸收和转运。因此进一步筛选超积累植物根际具有重金属抗性等特性的活性细菌, 研究其促进超积累植物吸收重金属的作用及机理, 将有助于植物-微生物联合修复重金属污染土壤发挥应有的巨大潜力。

参考文献

- [1] Pilon-Smits E A H, Freeman J L. Environmental cleanup using plants: Biotechnological advances and ecological considerations. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2006, 4: 203-210
- [2] 仇荣亮, 仇浩, 雷梅, 等. 矿山及周边地区多金属污染土壤修复研究进展. *农业环境科学学报*, 2009, 28(6): 1 085-1 091. Qiu R L, Qiu H, Lei M, et al. Advances in research on remediation of multi-metal contaminated soil in mine and surrounding area (In Chinese). *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(6): 1 085-1 091
- [3] 孙约兵, 周启星, 郭观林. 植物修复重金属污染土壤的强化措施. *环境工程学报*, 2007, 1(3):103-110. Sun Y B, Zhou Q X, Guo G L. Phytoremediation and strengthening measures for soil contaminated by heavy metals (In Chinese). *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2007, 1(3):103-110
- [4] Saifullah, Meers E, Qadir M, et al. EDTA-assisted Pb phytoextraction. *Chemosphere*, 2009, 74: 1 279-1 291
- [5] Aken B V. Transgenic plants for enhanced phytoremediation of toxic explosives. *Current Opinion in Biotechnology*, 2009, 20: 231-236
- [6] Pilon-Smits E A H, LeDuc D L. Phytoremediation of selenium using transgenic plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 2009, 20: 207-212
- [7] 滕应, 黄昌勇, 骆永明, 等. 铅锌银尾矿区土壤微生物活性及其群落功能多样性研究. *土壤学报*, 2004, 41(1): 113-119. Teng Y, Huang C Y, Luo Y M, et al. Microbial activities and function diversity of community in soils polluted with Pb-Zn-Ag mining tailings (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(1): 113-119
- [8] 林先贵, 胡君利. 土壤微生物多样性的科学内涵及其生态服务功能. *土壤学报*, 2008, 45(5): 892-900. Lin X G, Hu J L. Scientific connotation and ecological function of soil microbial diversity (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2008, 45(5): 892-900
- [9] Idris R, Trifonova R, Puschenreiter M, et al. Bacterial communities associated with flowering plants of the Ni hyperaccumulator *Thlaspi goeringense*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70: 2 667-2 677
- [10] Mengoni A, Grassi E, Barzanti R, et al. Genetic diversity of bacterial communities of serpentine soil and of rhizosphere of the nickel-hyperaccumulator plant *Alyssum bertolonii*. *Microbial Ecology*, 2004, 48: 209-217
- [11] Belimov A A, Hontzas N, Sazonova V I, et al. Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.). *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37: 241-250
- [12] Sheng X F, Xia J J, Jiang C Y, et al. Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape. *Environmental Pollution*, 2008, 156: 1 164-1 170
- [13] Jiang C Y, Sheng X F, Qian M, et al. Isolation and characterization of a heavy metal-resistant *Burkholderia* sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal-polluted soil. *Chemosphere*, 2008, 72: 157-164
- [14] 唐明灯, 吴龙华, 李振高, 等. 无色菌产酸对土壤溶液重金属浓度及海州香薷重金属吸收的影响. *土壤*, 2009, 41(3): 425-431. Tang M D, Wu L H, Li Z G, et al. Effects of acid production of *Achromatium* sp. on desorption of soil heavy metals and their uptake by *Elsholtzia splendens* (In Chinese). *Soils*, 2009, 41(3): 425-431
- [15] Chen B D, Zhu Y G, Duan J, et al. Effect of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on growth and metal uptake by four plant species in copper mine tailings. *Environmental Pollution*, 2007, 147: 374-380
- [16] Ma Y, Rajkumar M, Freitas H. Inoculation of plant growth promoting bacterium *Achromobacter xylosoxidans* strain Ax10 for the improvement of copper phytoextraction by *Brassica juncea*. *Journal of Environmental Management*, 2009, 90: 831-837
- [17] Braud A, Jéquel K, Bazot S, et al. Enhanced phytoextraction of an agricultural Cr- and Pb-contaminated soil by bioaugmentation with siderophore-producing bacteria. *Chemosphere*, 2009, 74: 280-286
- [18] Khan A G. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2005, 18: 355-364
- [19] Zhuang X L, Chen J, Shim H, et al. New advances in plant growth-promoting rhizobacteria for bioremediation. *Environment International*, 2007, 33: 406-413
- [20] Rajkumar M, Ae N, Freitas H. Endophytic bacteria and their potential to enhance heavy metal phytoextraction. *Chemosphere*, 2009, 77: 153-160
- [21] Glick B R. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnology Advances*, 2010, doi:10.1016/j.biotechadv.2010.02.001
- [22] 牛之欣, 孙丽娜, 孙铁珩. 重金属污染土壤的植物-微生物联合修复研究进展. *生态学杂志*, 2009, 28(11): 2 366-2 373. Niu Z X, Sun L N, Sun T H. Plant-microorganism combined remediation of heavy metals-contaminated soils: Its research progress (In Chinese). *Chinese Journal of Ecology*, 2009, 28(11): 2 366-2 373
- [23] 陈亚华, 黄少华, 刘胜环, 等. 南京地区农田土壤和蔬菜重金属污染状况研究. *长江流域资源与环境*, 2006, 15(3): 356-360. Chen Y H, Huang S H, Liu S H, et al. Study of the heavy metal contamination in soils and vegetables in Nanjing area (In Chinese). *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2006, 15(3): 356-360
- [24] 张桃林, 潘剑剑, 刘绍贵, 等. 集约农业利用下红壤地区土壤肥力与环境质量变化及调控——江西省南昌市郊区和余江县案例研究. *土壤学报*, 2007, 44(4): 584-591. Zhang T L, Pan J J, Liu S G, et al. Changes in soil fertility and environmental quality in red soil region under intensive agricultural use and their control —A case study of the suburbs of Nanchang City and Yujiang County in Jiangxi Province (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2007, 44(4): 584-591
- [25] 朱永官. 土壤-植物系统中的微界面过程及其生态环境效应. *环境科学学报*, 2003, 23(2): 205-210. Zhu Y G. Micro-interfacial processes in soil-plant systems and their environmental impacts (In Chinese). *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2003, 23(2): 205-210
- [26] Belyaeva O N, Haynes R J, Birukova O A. Barley yield and soil microbial and enzyme activities as affected by contamination of two soils with lead, zinc or copper. *Biology and Fertility of Soils*, 2005, 41: 85-94
- [27] 吴建军, 蒋艳梅, 吴愉萍, 等. 重金属复合污染对水稻土微生物生物量和群落结构的影响. *土壤学报*, 2008, 45(6): 1 102-1 109. Wu J J, Jiang Y M, Wu Y P, et al. Effects of complex heavy metal pollution on biomass and community structure of soil microbes in paddy soil (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2008, 45(6): 1 102-1 109
- [28] 滕应, 黄昌勇, 骆永明, 等. 重金属复合污染下红壤微生物活性及其群落结构的变化. *土壤学报*, 2008, 42(5): 819-828. Teng Y, Huang C Y, Luo Y M, et al. Changes in microbial activities and its community structure of red earths polluted with mixed heavy metals (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2008, 42(5): 819-828
- [29] 章明奎, 方利平, 周翠. 污染土壤重金属的生物有效性和移动性评价: 四种方法比较. *应用生态学报*, 2006, 17(8): 1 501-1 504. Zhang M K, Fang L P, Zhou C. Evaluation of heavy metals bioavailability and mobility in polluted soils: A comparison of four methods (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(8): 1 501-1 504

- [30] 郭学军, 黄巧云, 赵振华, 等. 微生物对土壤环境中重金属活性的影响. 应用与环境生物学报, 2002, 8(1):105-110. Guo X J, Huang Q Y, Zhao Z H, et al. Effects of microorganisms on the mobility of heavy metals in soil environment (In Chinese). Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2002, 8(1): 105-110
- [31] 陈素华, 孙铁珩, 周启星, 等. 微生物与重金属间的相互作用及其应用研究. 应用生态学报, 2002, 13(2): 239-242. Chen S H, Sun T H, Zhou Q X, et al. Interaction between microorganisms and heavy metals and its application (In Chinese). Chinese Journal of Applied Ecology, 2002, 13(2): 239-242
- [32] 韩春梅, 王林山, 巩宗强, 等. 土壤中重金属形态分析及其环境学意义. 生态学杂志, 2005, 24(12): 1 499-1 502. Han C M, Wang L S, Gong Z Q, et al. Chemical forms of soil heavy metals and their environmental significance (In Chinese). Chinese Journal of Ecology, 2005, 24(12): 1 499-1 502
- [33] 李振高, 骆永明, 滕应. 土壤与环境微生物研究法. 北京: 科学出版社, 2008. Li Z G, Luo Y M, Teng Y. Research method of soil and environmental microorganisms (In Chinese). Beijing: Science Press, 2008
- [34] 张玲, 叶正钱, 李廷强, 等. 铅锌矿区污染土壤微生物活性研究. 水土保持学报, 2006, 20(3): 136-140. Zhang L, Ye Z Q, Li T Q, et al. Studies on soil microbial activity in areas contaminated by tailings from Pb, Zn mine (In Chinese). Journal of Soil and Water Conservation, 2006, 20(3): 136-140

PHYTO-ACCUMULATION OF HEAVY METALS AND CHARACTERISTICS OF RHIZOSPHERE MICROBES IN HEAVY METAL CONTAMINATED SOILS, QIXIA, NANJING

Sun Ruibo Sheng Xiafang Li Ya He Linyan[†]

(College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Key Laboratory of Microbiological Engineering of Agricultural Environment, Ministry of Agriculture, Nanjing 210095, China)

Abstract Five species of plants and their rhizospheric soils were sampled and collected from heavy metal contaminated soils in Qixia, Nanjing for analysis and exploration of characteristics of phyto-accumulation and relationships of contents of heavy metals with population of bacteria and activity of soil enzymes in the soil. It was found that the heavy metal pollutant in the rhizosphere was dominated with Zn and Cd; and the plants growing therein were quite high in heavy metal absorbing capacity. *Beckmannia grass* and *Solanum nigrum* featured the characteristics of a heavy metal hyperaccumulator plant. The numbers of bacteria and Pb-resistant bacteria in the rhizospheric soil both reached up to 10^7 CFU g^{-1} of soil. The activities of soil enzymes were little inhibited. Significant positive relationships were observed of heavy metals contents in the plant with contents and forms of the heavy metals in the soil, soil enzymes activity, and Pb-resistant bacteria. Soil bacteria in the rhizosphere, heavy metal-resistant bacteria in particular, may improve bioavailability of heavy metals in soil, thus promoting uptake and transport of heavy metals by plants.

Key words Heavy metal contaminated soil; Rhizosphere bacteria; Hyperaccumulator plant