

内生细菌强化重金属污染土壤植物修复研究进展*

马莹¹ 骆永明^{1, 2†} 滕应¹ 李秀华¹

(1 中国科学院土壤环境与污染修复重点实验室(南京土壤研究所), 南京 210008)

(2 中国科学院烟台海岸带研究所, 山东烟台 264003)

摘要 近年来,植物修复因其独特的优势备受推崇,尤其是当前植物内生细菌的应用为植物修复重金属污染土壤提供了有效的方案。在植物修复过程中,耐重金属的内生细菌利用与植物的共生互惠关系,通过自身的抗性系统缓解重金属的毒性,促进植物对其迁移,并通过溶磷、固氮等途径改善植物营养以及分泌植物激素、铁载体、特异酶、抗生素等作用,促进植物在逆境条件下的生长和对重金属的富集。本文综述了近年来国内外关于重金属抗性植物内生细菌促进植物生长、增强植物对重金属的抗性以及影响重金属在植物体内吸收、转运和积累的作用机制,系统分析了内生细菌促进植物修复重金属污染土壤的机理,并进一步讨论了植物内生细菌在重金属污染土壤植物修复工程中的应用前景与研究方向。

关键词 内生细菌;重金属;植物修复;促生机制;污染土壤

中图分类号 X172 **文献标识码** A

随着城市化、工业化以及农业集约化进程的加快,土壤重金属污染已成为深受全球关注的环境问题之一。重金属元素在环境中的自然净化过程十分漫长,一般需要上千年的时间。土壤一旦被重金属污染就很难去除,不仅影响农作物的产量和品质,同时也使地下水体受到污染,并通过食物链的“生物放大”作用对人类健康造成极大的威胁^[1]。传统的污染土壤修复技术,例如采用清洗、热处理、电化学、施改良剂等治理手段,往往工艺复杂,容易破坏土壤结构和肥力,不适于低浓度、大范围重金属污染土壤的治理。因此,开发有效的原位生物修复技术是治理重金属污染土壤的重要思路。利用绿色植物及其相关微生物,对环境中污染物进行吸附、富集,使污染环境得到恢复的植物修复技术,因其经济、环保等优势,已成为全球环境修复技术与工程科学研究的前沿领域之一^[2-3]。研究发现一些特殊的植物种和基因型,即超富集植物,例如香雪球(*Alyssum lesbiacum*)、天蓝遏蓝菜(*Thlaspi caerulescens*)、芥菜(*Brassica juncea*)、商陆(*Phytolacca acinosa*)、龙葵(*Solanum nigrum*)等,对某些重金属具有特别的吸收能力,而本身不受毒害^[4]。然而,目前

大多超富集植物具有生长缓慢、生物量小、根系扩展深度有限、对金属有选择性以及从根部到地上部的重金属转移率低等缺陷,导致实际修复效率很低和修复时间很长^[5]。此外,对于大多数植物而言,土壤中过量的重金属会导致细胞新陈代谢紊乱,阻碍植物正常生长发育^[6]。以上属性均制约了植物修复技术的应用和发展。因此,深入研究植物修复策略,包括如何提高植物对重金属的抗性、促进植物生长以及植物对重金属的富集等显得极为重要。

近年来,植物根际细菌和内生细菌引起了研究者的极大关注,尤其在细菌、重金属和植物三者相互作用方面^[2, 7]。研究发现,细菌可以缓解重金属的毒性,促进植物的生长以及影响土壤中重金属的生物有效性^[2]。目前,根际促生细菌联合植物修复重金属污染土壤已有一些研究,并取得很好的治理效果^[8-9]。然而,关于内生细菌的研究则主要集中在农业生产领域,在环境污染方面的应用还处于研究探讨的起步阶段,尤其是运用内生细菌与植物联合修复重金属污染土壤^[10]。基于此,笔者总结了近几年国内外在植物内生促生细菌强化植物修复重金属污染土壤的作用机理方面的研究成果和进展,

* 中国博士后科学基金面上—等资助(20110490137)、江苏省博士后科研资助计划项目(1101045C)、留学人员科技活动项目择优资助(重点类)(人社厅函[2011]508号)资助

† 通讯作者, E-mail: ymluo@yic.ac.cn

作者简介: 马莹(1979—),女,博士,主要从事土壤环境污染与修复研究。E-mail: cathymaying@yahoo.com.cn

收稿日期:2012-03-07;收到修改稿日期:2012-06-07

以期推动内生细菌在重金属污染土壤植物修复工程中的应用。

1 植物内生细菌

植物内生细菌(endophytic bacteria)是指从表面消毒的植物组织中分离得到或从植物内部获得的、能够定殖在健康植物各种组织和器官内,并未使植物的表型特征和功能发生改变的细菌^[11]。自1876年 Pasteur 等从无菌葡萄果汁中提取出第一株内生细菌以来,大量研究证实几乎所有的健康植物体内均存在大量的内生细菌,其中以存在于高等植物中较为普遍^[12]。Germaine 等^[13]用绿色荧光蛋白基因(green fluorescent protein, GFP)标记从落叶乔木杨树木质部汁液中分离的3株内生细菌,发现被标记菌株能有效定殖于植物根际区,并重新进入宿主植物根内木质部,继而在植物营养或繁殖器官中进一步扩散,最终定殖于适合其生存的特定制组织,如根毛、叶片细胞间隙、细胞质等^[14]。由此可见,内生细菌主要是土壤细菌从植物根部入侵形成的,其多样性在一定程度上取决于根际细菌的多样性^[15]。此外,内生细菌还可以通过种子遗传而来或者从植物地上组织的自然孔口和伤口,如水孔、芽眼、侧根发生处等入侵^[16]。内生细菌既有革兰氏阴性菌,也有革兰氏阳性菌,在植物体内呈现出丰富的生物多样性。通常,植物体内定殖的内生细菌为几种或数十种,有的甚至多达数百种,其种群随环境条件的改变而变化,并常随宿主的不同而变化^[17]。通过16S rDNA 序列分析、BOX-PCR 染色体组 DNA 概要分析以及生理特性鉴定(包括底物利用率、抗生素和重金属敏感性)可以确定它们的分类。相比于传统的平板培养法,现代分子生物学技术可以鉴定到不可培养的内生菌,并准确测定内生细菌的数量和种类。

内生细菌与植物在长期的共同进化中,已成为植物微生物生态系统的天然组成成份,它促进植物对恶劣环境的适应,加强系统的生态平衡。尤其是植物内生促生细菌(plant growth promoting endophytic bacteria, PGPE)寄生在植物体内,非但未使宿主表现出受害病症,反而可以促进宿主的生长^[18]。此类微生物可以在植物体内大量聚集,将有机物转变为无机物,为植物提供有效的矿质营养元素;同时还能分泌植物激素、合成特异酶等,促进植物生长发育^[10, 19]。反之,植物也为众多有益内生菌提供一个复杂而有活力的微环境,不但为内生细菌提供了生

长所需的矿质营养元素,还使其获得了某些对逆境(如重金属、病原体、干旱、寒冷等)的忍耐能力^[20]。

除此以外,内生细菌的数量、种类、群落结构和分布还受植物生长环境的影响,其中重金属污染胁迫是影响内生细菌生长活力、群落结构以及代谢功能的主要环境因素之一^[20]。重金属在影响土壤微生物的同时,也通过宿主植物改变了内生细菌数量、群落结构和活性。大量研究表明,抗重金属的内生细菌在超富集植物中普遍存在^[21-22]。与土壤环境中细菌和根际细菌相似的是,内生细菌也可抵抗重金属复合污染,其抗性机理与环境微生物相似^[10, 23]。Idris 等^[21]通过比较抗镍植物内生菌与根际细菌,发现从镍超富集植物遏蓝菜(*Thlaspi goesingense*)植物体内分离的内生菌较植物根际细菌的抗性更强,可提高植物重金属抗性,促进植物生长,以及增强植物富集镍的能力。此外, Ma 等^[24]从镍超富集植物 *Alyssum serpyllifolium* 植物根、茎、叶组织内部分离出的内生细菌对重金属镍的耐受性高达750~1000 mg kg⁻¹,并具有分泌1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylate, ACC)脱氨酶、铁载体、植物激素以及溶磷等特征,从而显著地促进植物对重金属镍的提取和吸收。

2 内生细菌促进植物修复重金属污染土壤的机理

植物修复的成功不仅取决于充足的植物产量和生长速率,而且在很大程度上依赖于植物活化、吸收、转运、积累金属的生理生化机制^[2]。本文将从以下几个方面来论述内生细菌促进植物修复重金属污染土壤的机制。

2.1 内生细菌的促生机制

植物内生细菌能够直接或间接促进植物的生长和根部活动强度,相应地提高植物对重金属的吸收能力以及修复效率(图1)。

2.1.1 内生细菌直接作用机制 直接作用机制包括生物固氮、溶磷、产生铁载体、合成特异性酶和分泌植物激素,从而改善植物营养和增强抗逆能力^[10, 25]。

生物固氮:在植物组织内,不少能够产生固氮酶的内生细菌占据着植物体内有利于营养供应和微环境适宜的生态位,因而较根际环境更有利于形成高效固定空气中氮素的体系,充分发挥固氮效能,为植物提供氮素营养^[26]。此外,具有固氮能力

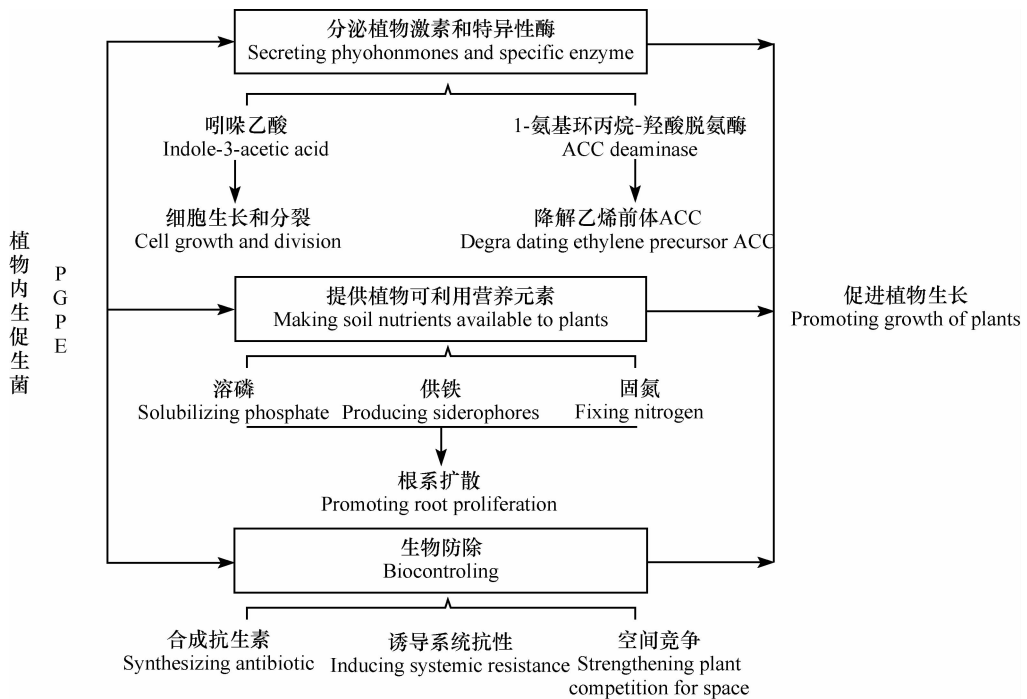


图1 植物内生菌促进植物生长的机制

Fig. 1 Mechanisms of PGPE promoting plant growth in heavy metals contaminated soils

的内生菌在缺氮环境中较其他菌类有更强的生存能力,更容易为植物提供良好的促生作用。在长期缺氮的环境中,能自生固氮的植物内生细菌在某种程度上还能促进植物对氮素的积累^[27]。

溶磷:土壤中存在大量的磷元素,但大部分属难溶性磷,很难被植物吸收利用。研究发现,在重金属胁迫条件下,多数重金属抗性内生菌可通过酸化、螯合、离子交换和释放有机酸等途径,使土壤中不溶性磷溶解,提高土壤中磷的生物有效性,从而增加土壤中磷对植物的供应^[28]。抑或通过分泌胞外磷酸酶矿化有机磷,降低土壤中磷的生物有效性^[29]。

产生铁载体:铁是生命的基本物质,几乎所有生物体均需要含铁蛋白参与呼吸等一系列通过酶反应的生理活动。在土壤中,铁主要以高度不溶性三价铁(Fe^{3+})的氧化物、氢氧化物、磷酸盐和碳酸盐的形态存在,一般无法满足土壤微生物繁衍和植物生长发育的需求。研究发现,某些细菌和植物能分泌铁载体(siderophores)向植物提供可溶性铁-铁载体复合体,通过细胞膜上的特殊接收器进入细胞内,并被外质空间和质膜上的转化蛋白转移至细胞质中,进而铁从铁-铁载体复合体释放出来参与细胞代谢活动^[20, 30]。铁在细胞质中释放可能基于铁载体变性(如水解等)释放铁,或者是在被还原后成为

二价铁而自动解离。绝大多数促生细菌和大多数植物具备产生铁载体或利用铁-铁载体复合体的功能,而大多数致病真菌则无此功能^[20]。铁与细菌产生的铁载体的结合能力通常要强于植物铁载体。因此,大多数植物可以通过内生细菌产生的铁载体一方面很快耗尽了土壤中仅存的微量可利用铁,使病原菌类因缺铁而无法繁衍,另一方面通过铁-铁载体向植物提供生长所需的铁元素^[31]。Barzanti等^[32]发现分离自伯士隆庭芥(*Alyssum bertolonii*)的内生细菌83%(67株)在镍胁迫下能分泌铁载体,并提高植物对重金属(镍、铬、钴、锌、铜)毒性的抗耐性,从而促进植物在重金属胁迫下的生长。

合成特异性酶:一些内生细菌分泌的ACC脱氨酶可将乙烯合成前体ACC分解成氨和 α -丁酮酸(α -ketobutyrate),并利用分解得到的氨作为微生物的氮源,从而有效降低胁迫条件下植物细胞的乙烯合成量,缓解对植物产生的不良反应(抑制植物生长和加速衰老),促进根系的延长和植物发育,提高植物的抗逆性^[33]。Idris等^[21]发现,相比超富集植物遏蓝菜(*T. goesingense*)的根际细菌20%能利用ACC为氮源,内生细菌比例更高(36%),这可能是由于内生细菌与植物之间存在更为紧密的互利共生关系。Zhang等^[34]从植物体内分离得到了ACC脱氨酶活性较高的Cu耐受型内生菌*Ralstonia*

sp. J1-22-2、*Pantoea agglomerans* Jp3-3 和 *Pseudomonas thivervalensis* Y1-3-9, 这些内生菌均能显著提高供试植物的生物量和 Cu 的吸收总量。

分泌植物激素:植物组织的生长、分化均依赖于植物激素的调节。这些激素可以源于植物自身分泌(内源激素),亦可来自体外(外源激素),其主要包括植物生长素(indole-3-acetic acid, IAA)、细胞分裂素(cytokinin, CTK)、赤霉素(gibberellin acid, GA)等。植物激素在植物不同的生长发育阶段以不同的比例控制植物的生长发育,其中任何一种过多或过少都将导致植物生长发育异常。研究证明,许多 PGPE 可以通过分泌植物生长素、细胞分裂素、赤霉素等,促进植物根系的生长发育以及有效吸收土壤中的水分和养分,同时对植物的其他生命活动进行调控^[35]。

2.1.2 内生细菌间接作用机制 间接作用表现为抑制植物病菌感染,从而增强植物的抗病能力^[36]。与根际、叶围细菌相比,内生细菌作为生防制剂具有不可替代的优势,如系统分布在植物体内、所处环境比较稳定、营养来源可靠且丰富,以及能够独立分裂、繁殖及传递等^[20]。间接作用机制主要包括:抗生(antibiosis)、竞争生存空间和生物可利用铁(competition for space and bioavailable iron)和诱导抗性(induced systemic resistance)。内生细菌可能以一种机制为主,其他几种相结合。

抗生:PGPE 能通过分泌抗生素、毒素等代谢物质有效地抑制周围其他微生物的繁衍。如内生细菌 *Bacillus megaterium* BP 17 和 *Curtobacterium luteum* TC 10 可以通过合成抗生素,有效地抑制病原放线菌 *Radopholus similis* Thorne 所引起的辣椒疫病^[37]。

竞争:由于内生细菌定殖的生态位与植物病原菌相似,因此它们能够通过和病原菌竞争有限的生活空间和营养,从而增强宿主抵御病害的能力并间接促进植物生长^[38]。此外,细菌铁载体含有的各种螯合铁的结构基团(如邻二苯酚、羧基和乙二胺结构等)能够专一且高度亲和游离的铁,从而使土壤中可用的铁降低至更为缺乏的程度,使病原菌的繁衍和侵染能力大大下降。可见,PGPE 产生的铁载体可以有效地直接或间接促进植物生长。

诱导抗性:作为植物与细菌作用的主要生防机制,诱导系统抗性(induced systemic resistance, ISR)是指利用生物、非生物诱导因子处理植物,使之形成了物理或化学的障碍,从而诱导植物启动自身抗

病机制。生物诱导因子的研究始于 20 世纪 80 年代,Anderson 和 Guerra^[39]发现运用一株假单胞菌(*Pseudomonas putida*)处理种子,可诱导寄主产生自身抗病机制,保护蚕豆免遭镰刀菌(*Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*)的侵害。但由于没有将促生菌和病原菌在空间上隔离开,也就不能排除可能是竞争或拮抗在起作用。自 1991 年以来,国外学者采用促生菌和病原菌在空间上隔离的方法,陆续在不同植物-病原菌体系中证实了促生细菌能够诱导系统抗性。而对于 PGPE 而言,这种保护反应可能与内生细菌在宿主植物内的定殖能力相关^[40]。Pavlo 等^[41]用内生假单胞菌株(*Pseudomonas* sp. IMBG294)和甲基营养菌株(*Methylobacterium* sp. IMBG290)处理马铃薯块茎能诱导植物产生 ISR,从而提高马铃薯抵抗由 *Pectobacterium atrosepticum* 引起的软腐病(Soft rot disease)的能力。

2.2 内生细菌可提高植物对重金属抗性

在与植物协同进化过程中,特别在重金属胁迫的条件下,内生细菌往往可以同时耐受多种重金属污染,并能够分泌大量的植物生长激素类、抗生素等,同时诱导植物对重金属解毒和产生抗性。在一定程度上讲,内生细菌改变了宿主植物的表型特征和功能^[42]。Zhang 等^[43]发现内生细菌提高了植株抗氧化酶系统的防御机制(过氧化物酶、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶),有效抵御重金属引起的氧化胁迫。目前,关于内生细菌对植物重金属抗性与解毒机理的研究不多,还停留在运用生理化学指标(包括细菌产酶活力、植物激素、铁载体等)来阐明其对重金属抗性的贡献。如何从细菌引起重金属在植物细胞或亚细胞内的选择性分布变化的角度,分析植物防御重金属的毒害效应将是今后研究的重点。

2.3 内生细菌自身对重金属的吸收

PGPE 可以表面吸附、积累重金属,降低重金属对植物的毒性。细菌对金属的吸收是分两步进行的:第一步与代谢无关,为生物吸附过程,进行较快。在此过程中,金属离子可通过配位、螯合与离子交换、物理吸附及微沉淀等作用中的一种或几种复合至细胞表面^[44];第二步为生物积累过程,进行较迟缓,是细菌细胞吸收重金属离子的主要途径^[45-46]。在此过程中,金属被运送至细胞内。细菌可通过区域化作用将其分布于代谢不活跃的区域(如液泡),或将金属离子与热稳定蛋白结合,转变成低毒的形式。生物积累过程和细胞代谢直接

相关。因此,许多影响细胞生物活性的因素均能影响金属的积累。生物吸附的机理往往因菌种、金属离子的不同而异,但其主要发生的是细胞壁上的官能团 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{PO}_4^{3-}$ 等与金属离子的结合或以其他方式的配位^[47-48]。根据细菌去除金属的方式不同,生物吸附可分为以下几种:(1)胞外富集、沉淀;(2)细胞表面吸附或络合;(3)胞内富集。其中细胞表面吸附或络合对死活微生物均存在,而胞内和胞外的大量富集,往往要求微生物具有活性。在一个吸附过程中,可能会存在一种或多种机制。Luo 等^[49]发现内生细菌 *Serratia nematodiphila* LRE07 在单一的污染溶液中,3 天内对镉和锌的吸附可高达 65% 和 35%,从而显著减缓重金属的毒性。Shin 等^[50]从铅的超富集植物夜叉桤木(*Alnus firma*)根部分离出内生芽孢杆菌,它对重金属的吸附是通过胞外沉淀和胞内富集的复合机制,来减缓重金属对植物的毒性。由此可见,具有特定生物吸附/富集能力的内生细菌,可通过植物-内生细菌共生系统,促进重金属的解毒和提高植物修复效率^[51-52]。

2.4 内生细菌对重金属生物有效性的影响

植物从土壤中吸收重金属离子的能力同土壤中金属的生物有效性有很大的关系。Lebeau 等^[7]指出重金属的生物有效性受到土壤重金属含量、

pH、氧化还原电位、有机物和根际环境等其他因素的影响。如图 2 所示,一些对重金属具有抗性的内生细菌可以通过释放螯合剂和改变氧化还原电位等方式碱化土壤微环境、析出重金属离子,降低重金属的生物有效性,从而使长期生长在污染条件下的植物免受重金属毒害,提高植物对重金属固化/稳定效率^[10]。Luo 等^[53]通过将 4 株超富集植物龙葵(*Solanum nigrum*)体内分离的内生细菌重新接种发现,内生细菌的存在可以大大降低重金属镉对植物的毒害作用,同时显著提高植物根和地上部分的生物量,促进植物对重金属的固化效果。其次,内生细菌可通过合成一些金属载体(如铁载体)和酸化土壤环境(产有机酸)等,使土壤中的重金属和营养元素得到活化,提高其生物可利用浓度,从而促进植物生长和其对重金属的提取效率^[24, 49, 54-55]。比如,内生细菌分泌物(如多糖、蛋白质和核酸)含有多种具有重金属络合、配位能力的基团(如巯基、羧基、羟基、氨基、碳酸氢根、磷酸根等),可与重金属离子结合形成可溶性的金属有机复合物,便于植物对其吸收^[10, 20]。此外,内生细菌还可以通过酶的合成催化重金属参与氧化还原反应,促进植物挥发效率。这一特性在植物修复中有非常重要的应用潜力,但目前关于这方面的研究还较少。

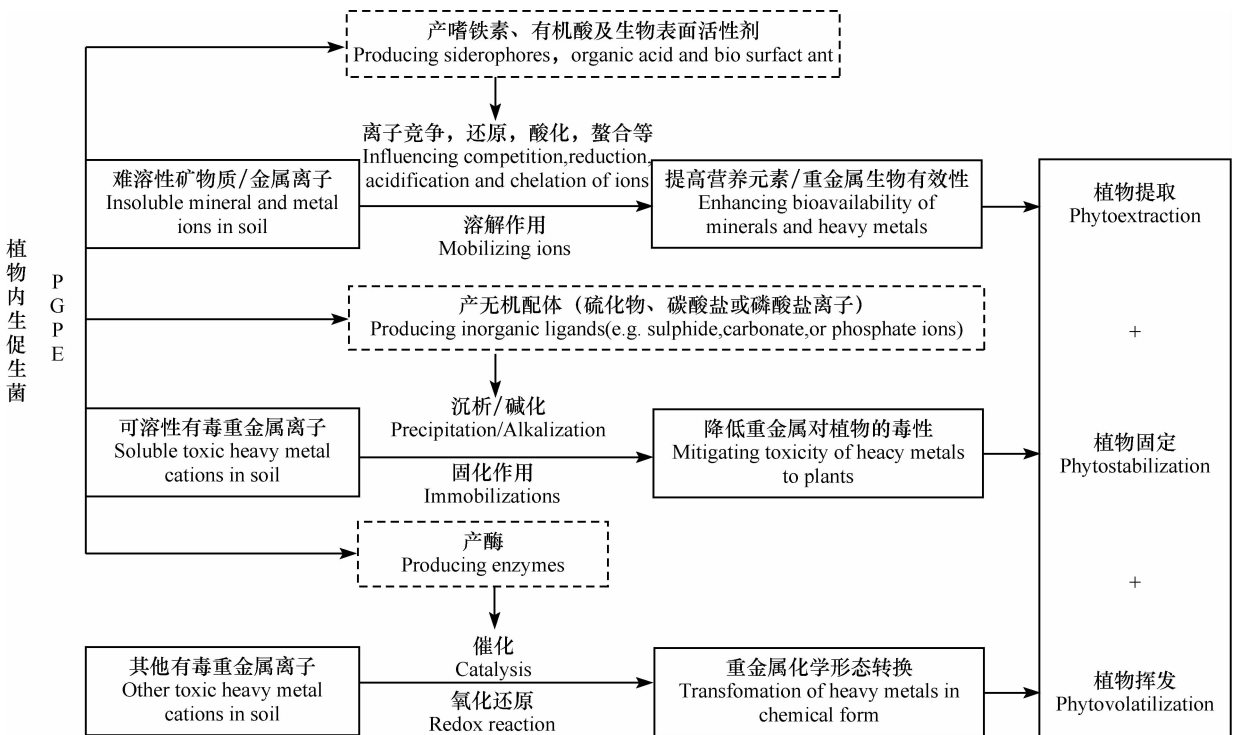


图 2 植物内生菌对土壤重金属的生物有效性影响效应

Fig. 2 Effects of PGPE on bioavailability of heavy metals in soil

2.5 内生细菌对植物吸收与转运重金属的作用

如上所述,内生细菌可通过分泌多种有机配位体与植物体内的重金属离子结合,提高重金属的生物可利用性,促进重金属由根系向茎叶中的转运^[56-57]。植物地上部分重金属含量的增加,有助于植物提取效率的提高。Sun 等^[57]发现,铜抗性内生细菌可以促进铜向油菜 (*Brassica napus*) 茎叶转移,提高油菜茎叶部分重金属的含量。上述内生细菌所具有的植物促生和影响重金属生物有效性的功能并非存在于一种内生细菌中,但一种内生细菌也可能具备以某种功能为主多种功能的协同。在实际修复应用中可根据具体情况选择多种 PGPE 的组合来达到提高植物修复效率的目的。随着现代分子生物学和转基因技术的发展,人们可以定向培养出在某些方面具有高度活性的 PGPE 来满足重金属污染环境治理的需求。

3 内生细菌的应用与研究方向

作为一种新兴的污染修复方式,微生物调控表现出很好的应用潜力。但当前的研究大部分集中在根际促生菌的应用。相比之下,PGPE 有比较稳定的生存环境且对土著微生物的影响甚小,这一特性使其更具有广泛应用的潜力。本文所描述的重金属抗性 PGPE 作为外源基因载体参与植物修复的探索性研究已经显示出非常诱人的前景,但目前主要局限在生理代谢水平上。随着研究的深入,有望发现更多的内生细菌资源,并开发新的技术,探讨深层次的机理,使实际应用成为可能。为了更好地了解 PGPE 强化植物修复重金属污染土壤的机理,还应考虑污染环境因子、基因背景以及基因与环境作用对修复过程的影响,今后的重点研究应考虑:(1) PGPE 的遗传多样性以及在修复植物生命活动中的分子机理研究;(2) 在逆境条件下,接种外源 PGPE 的生态学效应,即植物生态(个体、种群和群落)和微生物生态(植物本身内生细菌和根际土壤微生物的种群结构和代谢功能);(3) PGPE 定殖技术的研究;(4) PGPE 在施用时与新宿主植物的关系,特别是对宿主耐性的影响;(5) 菌株间、植物间与土壤环境间的互作关系和机理的进一步研究。以上这些问题的解决可以加速内生细菌在植物修复中大规模的应用,具有重要的理论和实践意义。

参考文献

[1] Dembitsky V. Natural occurrence of arsenic compounds in plants,

lichens, fungi, algal species, and microorganisms. *Plant Sci*, 2003, 165: 1 177—1 192

[2] Glick B R. Phytoremediation: Synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnol Adv*, 2003, 21: 383—393

[3] 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

[4] Reeves R D. Tropical hyperaccumulators of metals and their potential for phytoextraction. *Plant Soil*, 2003, 249: 57—65

[5] Puschenreiter M, Stoger G, Lombi E, et al. Phytoextraction of heavy metal contaminated soils with *Thlaspi goesingense* and *Amaranthus hybridus*: Rhizosphere manipulation using EDTA and ammonium sulfate. *J Plant Nutr Soil Sci*, 2001, 164: 615—621

[6] Sheoran I S, Singal H R, Singh R. Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeon pea (*Cajanus cajan* L.). *Photosynth Res*, 1990, 23: 345—351

[7] Lebeau T, Braud A, Jézéquel K. Performance of bioaugmentation-assisted phytoextraction applied to metal contaminated soils: A review. *Environ Pollut*, 2008, 153: 497—522

[8] Rajkumar M, Freitas H. Effects of inoculation of plant-growth promoting bacteria on Ni uptake by Indian mustard. *Bioresource Technology*, 2008, 99: 3 491—3 498

[9] Ma Y, Rajkumar M, Freitas H. Improvement of plant growth and nickel uptake by nickel resistant-plant growth promoting bacteria. *J Hazard Mater*, 2009, 166: 1 154—1 161

[10] Ma Y, Prasad M N V, Rajkumar M, et al. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phyto remediation of metalliferous soils. *Biotechnol Adv*, 2011, 29: 248—258

[11] Schulz B, Boyle C. What are endophytes? //Schulz B J E, Boyle C J C, Sieber T N. *Microbial root endophytes*. Berlin: Springer-Verlag, 2006: 1—13

[12] Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee W F, et al. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can J Microbiol*, 1997, 43: 895—914

[13] Germaine K, Keogh E, Garcia-Cabellos G, et al. Colonisation of poplar trees by *gfp* expressing bacterial endophytes. *FEMS Microbiol Ecol*, 2004, 48: 109—118

[14] Bacon C W, Hinton D M. Bacterial endophytes: The endophytic niche, its occupants, and its utility//Gnanamanickam S S. *Plant-associated bacteria*. Netherlands: Springer, 2006: 155—194

[15] Berg G, Krechel A, Ditz M, et al. Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi. *FEMS Microbiol Ecol*, 2005, 51: 215—229

[16] Kobayashi D Y, Palumbo J D. Bacterial endophytes and their effects on plants and uses in agriculture//Bacon C W, White J F Jr. *Microbial endophytes*. New York: Marcel Dekker, 2000

- [17] Bent E, Chanway C P. The growth-promoting effects of a bacterial endophyte on lodgepole pine are partially inhibited by the presence of other rhizobacteria. *Can J Microbiol*, 1998, 44: 980—988
- [18] Klopper J W, Beauchamp C J. A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. *Can J Microbiol*, 1992, 38: 1 219—1 232
- [19] Ryan R P, Germaine K, Franks A, et al. Bacterial endophytes: Recent developments and applications. *FEMS Microbiol Lett*, 2008, 278: 1—9
- [20] Rajkumar M, Ae N, Freitas H. Endophytic bacteria and their potential to enhance heavy metal phytoextraction. *Chemosphere*, 2009, 77: 153—160
- [21] Idris R, Trifonova R, Puschenreiter M, et al. Bacterial communities associated with flowering plants of the Ni hyperaccumulator *Thlaspi goesingense*. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70: 2 667—2 677
- [22] Mastretta C, Taghavi S, van der Lelie D, et al. Endophytic bacteria from seeds of *Nicotiana tabacum* can reduce cadmium phytotoxicity. *Int J Phytoremediat*, 2009, 11: 251—267
- [23] Cavalca L, Zanchi R, Corsini A, et al. Arsenic resistant bacteria associated with roots of the wild *Cirsium arvense* (L.) plant from an arsenic polluted soil, and screening of potential plant growth-promoting characteristics. *Syst Appl Microbiol*, 2010, 33: 154—164
- [24] Ma Y, Rajkumar M, Luo Y M, et al. Inoculation of endophytic bacteria on host and non-host plants-Effects on plant growth and Ni uptake. *J Hazard Mater*, 2011, 195: 230—237
- [25] Glick B R. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnol Adv*, 2010, 28: 367—374
- [26] Elbeltagy A, Nishioka K, Sato T, et al. Endophytic colonization and in planta nitrogen fixation by a *Herbaspirillum* sp. isolated from wild rice species. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 67(11): 5 285—5 293
- [27] Cocking E C. Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria. *Plant Soil*, 2003, 252: 169—175
- [28] Panhwar Q A, Othman R, Rahman Z A, et al. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from aerobic rice. *Afr J Biotechnol*, 2012, 11: 2 711—2 719
- [29] van der Hiejden M G A, Bardgett R D, van Straalen N M. The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecol Lett*, 2008, 11: 296—310
- [30] Hardoim P R, van Overbeek L S, van Elsas J D. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends Microbiol*, 2008, 16: 463—471
- [31] Rajkumar M, Ae N, Prasad M N V, et al. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends Biotechnol*, 2010, 28: 142—149
- [32] Barzanti R, Ozino F, Marco Bazzicalupo M, et al. Isolation and characterization of endophytic bacteria from the nickel hyperaccumulator plant *Alyssum bertolonii*. *Microb Ecol*, 2007, 53: 306—316
- [33] Zhang Y F, He L Y, Chen Z J, et al. Characterization of lead-resistant and ACC deaminase-producing endophytic bacteria and their potential in promoting lead accumulation of rape. *J Hazard Mater*, 2011, 186(2/3): 1 720—1 725
- [34] Zhang Y F, He L Y, Chen Z J, et al. Characterization of ACC deaminase-producing endophytic bacteria isolated from copper-tolerant plants and their potential in promoting the growth and copper accumulation of *Brassica napus*. *Chemosphere*, 2011, 83: 57—62
- [35] Shi Y W, Lou K, Li C. Promotion of plant growth by phytohormone-producing endophytic microbes of sugar beet. *Biol Fertil Soils*, 2009, 45: 645—653
- [36] Harish S, Kavino M, Kumar N, et al. Biohardening with plant growth promoting rhizosphere and endophytic bacteria induces systemic resistance against banana bunchy top virus. *Appl Soil Ecol*, 2008, 39: 187—200
- [37] Aravind R, Eapen S J, Kumar A, et al. Screening of endophytic bacteria and evaluation of selected isolates for suppression of burrowing nematode (*Radopholus similis* Thorne) using three varieties of black pepper (*Piper nigrum* L.). *Crop Protect*, 2010, 29: 318—324
- [38] Bacon C W, Yates I E, Hinton D M, et al. Biological control of *Fusarium moniliforme* in maize. *Environ Health Perspect*, 2001, 109: 325—332
- [39] Anderson A J, Guerra D. Responses of bean to root colonization with *Pseudomonas putida* in a hydroponic system. *Phytopathology*, 1985, 75: 992—995
- [40] Sturz A V, Matheson B G. Populations of endophytic bacteria which influence host-resistance to *Erwinia*-induced bacterial soft rot in potato tubers. *Plant Soil*, 1996, 184: 265—271
- [41] Pavlo A, Leonid O, Iryna Z, et al. Endophytic bacteria enhancing growth and disease resistance of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Biol Contr*, 2011, 56: 43—49
- [42] Li T, Liu M J, Zhang X T, et al. Improved tolerance of maize (*Zea mays* L.) to heavy metals by colonization of a dark septate endophyte (DSE) *Exophiala pisciphila*. *Sci Total Environ*, 2011, 409(6): 1 069—1 074
- [43] Zhang X X, Li C J, Nan Z B. Effects of cadmium stress on growth and anti-oxidative systems in *Achnatherum inebrians* symbiotic with *Neotyphodium gansuense*. *J Hazard Mater*, 2010, 175: 703—709
- [44] Vijayaraghavan K, Yun Y S. Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnol Adv*, 2008, 26: 266—291
- [45] Ledin M, Krantz-Rulcker C, Allard B. Zn, Cd and Hg accumulation by microorganisms, organic and inorganic soil components in multicompartiment system. *Soil Biol Biochem*, 1996, 28: 791—799
- [46] Malik A. Metal bioremediation through growing cells. *Environ Int*, 2004, 30: 261—262
- [47] Mann H. Biosorption of heavy metals by bacterial biomass// Volesky B. Biosorption of heavy metals. Florida: CRC Press, 1990: 93—137
- [48] Volesky B, May-Phillips H A. Biosorption of heavy metals by

- Saccharomyces cerevisiae*. Appl Microbiol Biotechnol, 1995, 42: 797—806
- [49] Luo S L, Wan Y, Xiao X, et al. Isolation and characterization of endophytic bacterium LRE07 from cadmium hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and its potential for remediation. Appl Microbiol Biotechnol, 2011, 89: 1 637—1 644
- [50] Shin M, Shim J, You Y, et al. Characterization of lead resistant endophytic *Bacillus* sp. MN3—4 and its potential for promoting lead accumulation in metal hyperaccumulator *Alnus firma*. J Hazard Mater, 2011, 199/200: 314—320
- [51] Madhaiyan M, Poonguzhali S, Sa T. Metal tolerating methylotrophic bacteria reduces nickel and cadmium toxicity and promotes plant growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). Chemosphere, 2007, 69: 220—228
- [52] Kumar K V, Srivastava S, Singh N, et al. Role of metal resistant plant growth promoting bacteria in ameliorating fly ash to the growth of *Brassica juncea*. J Hazard Mater, 2009, 170: 51—57
- [53] Luo S L, Chen L, Chen J L, et al. Analysis and characterization of cultivable heavy metal-resistant bacterial endophytes isolated from Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and their potential use for phytoremediation. Chemosphere, 2011, 85: 1 130—1 138
- [54] 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. Environ Pollut, 2008, 156: 1 164—1 170
- [55] Sgroy V, Cassán F, Masciarelli O, et al. Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPB) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera*. Appl Microbiol Biotechnol, 2009, 85: 371—381
- [56] Mastretta C, Taghavi S, van der Lelie D, et al. Endophytic bacteria from seeds of *Nicotiana tabacum* can reduce cadmium phytotoxicity. International Journal of Phytoremediation, 2009, 11: 251—267
- [57] Sun L N, Zhang Y F, He L Y, et al. Genetic diversity and characterization of heavy metal-resistant-endophytic bacteria from two copper-tolerant plant species on copper mine wasteland. Bioresource Technology, 2010, 101: 501—509

EFFECT OF ENDOPHYTIC BACTERIA ENHANCING PHYTOREMEDIATION OF HEAVY METAL CONTAMINATED SOILS

Ma Ying¹ Luo Yongming^{1,2†} Teng Ying¹ Li Xiuhua¹

(1 Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(2 Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai, Shandong 264003, China)

Abstract In recent years, phytoremediation has been highly recommended in remedying heavy metals polluted soils, because of its unique advantages; especially when the application of endophytic bacteria to the phytoremediation provides an effective new approach. During the phytoremediation process, endophytic bacteria alleviate heavy metal toxicity to the plant through its own metal resistance system by making use of their symbiotic relationships with the plant, and promote transport and accumulation of these metals in and growth of the plant under heavy metal stress by solubilizing phosphate, fixing nitrogen and producing phytohormones, siderophores, specific enzymes and antibiotics. This article reviews progresses of the recent researches on mechanisms of endophytic bacteria promoting growth of plants and resistance/phytoaccumulation/translocation of heavy metals by plants, systematically analyzes mechanisms of the bacteria promoting phytoremediation of heavy metals polluted soils and further discusses prospects of the use of endophytic bacteria in phytoremedying heavy metals polluted soil and orientation of the research in future.

Key words Endophytic bacteria; Heavy metals; Phytoremediation; Plant growth promoting mechanism; Polluted soil

(责任编辑:卢 萍)