

研究报告

耐镉促生菌株的分离鉴定及对大豆的促生效应

罗莎莉[#], 王幼娟[#], 陆星, 陈康, 王秀荣^{*}

华南农业大学根系生物学研究中心 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 广东 广州 510642

罗莎莉, 王幼娟, 陆星, 陈康, 王秀荣. 耐镉促生菌株的分离鉴定及对大豆的促生效应[J]. 微生物学通报, 2022, 49(8): 3137-3149

Luo Shali, Wang Youjuan, Lu Xing, Chen Kang, Wang Xiurong. Isolation and identification of cadmium-resistant growth-promoting strains and their growth-promoting effects on soybean[J]. Microbiology China, 2022, 49(8): 3137-3149

摘要: 【背景】华南地区镉(Cd)污染严重, 与有益微生物共生能够使作物通过直接或间接的机制解除镉毒, 提高抗逆性, 进而促进生长。耐镉促生菌剂具有广泛的应用前景。【目的】从华南地区受镉污染植株的根内和根际筛选出耐镉且能促进大豆生长的促生菌, 以丰富促进田间大豆生产的优异菌种资源。【方法】采用平板划线法从植株的根内或根际分离菌株, 通过生理生化特性和 16S rRNA 基因序列分析对分离菌株进行初步研究, 利用盆栽试验探究镉胁迫下菌株对大豆生长的影响, 通过测定丙二醛含量和总抗氧化能力探究菌株的耐镉机制。【结果】分离获得 4 株菌 D1、D2、D3 和 D4, 促生特性试验证明 4 株菌均具有溶磷、产吲哚乙酸和铁载体的能力。经 16S rRNA 基因序列分析鉴定, D1、D2、D3 和 D4 菌株分别属于不动杆菌属、微小杆菌属、类芽孢杆菌属和普罗威登斯菌属。用这 4 株菌进行不同镉处理的大豆(巴西 10 号)盆栽试验, 结果表明, 4 株菌均具有耐镉和促进大豆生长的作用。不添加镉的条件下, 大豆接种 D4 菌株的地上部干重、根部干重和株高分别增加了 28%、35%和 31%; 在添加 20 mg/kg-CdCl₂·5/2H₂O 的条件下, 接种 D1、D2、D3 和 D4 菌株的大豆地上部干重分别增加了 35%、55%、53%和 43%, 接种 D2 和 D4 菌株的大豆叶片其丙二醛含量分别降低了 23%和 29%, 接种 D1 和 D4 菌株的大豆叶片总抗氧化能力分别增加了 11%和 13%。【结论】筛选获得的菌株有望研制成微生物菌肥用于镉污染的农田, 促进作物生长、提高产量。同时, 本研究为植物促生菌的耐镉机制研究提供了理论依据。

关键词: 植物促生菌; 镉毒害; 大豆; 分离鉴定; 促生机制

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFF1000500)

[#]对本文贡献相同

Supported by: National Key Research and Development Program of China (2021YFF1000500)

[#]These authors equally contributed to this work

***Corresponding author:** E-mail: xrwang@scau.edu.cn

Received: 2021-12-15; **Accepted:** 2022-03-05; **Published online:** 2022-04-07

Isolation and identification of cadmium-resistant growth-promoting strains and their growth-promoting effects on soybean

LUO Shali[#], WANG Youjuan[#], LU Xing, CHEN Kang, WANG Xiurong^{*}

State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources, Root Biology Center, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China

Abstract: [Background] South China suffers from serious cadmium (Cd) pollution. Symbiosis with beneficial microorganisms can relieve Cd toxicity and improve crop resistance to Cd through direct or indirect mechanisms, and thereby promote crop growth. Cd-resistant growth-promoting bacterial inoculants have broad application prospects. [Objective] Growth-promoting bacteria that can resist Cd and promote soybean growth are screened from the roots or rhizosphere of Cd-contaminated plants in South China, which is expected to enrich beneficial microbial resources in soybean production. [Methods] Strains were isolated from the roots or rhizosphere of the plants with the streak plate method, and preliminarily identified through the analysis of physiological and biochemical characteristics and 16S rRNA gene sequence. Meanwhile, pot experiment was used to explore the effects of these strains on soybean growth under Cd stress. Malondialdehyde (MDA) content and total antioxidant capacity (T-AOC) were determined to explore Cd-resistant mechanism of these strains. [Results] Four strains D1, D2, D3, and D4 were isolated, which all can solubilize phosphate and produce indole-3-acetic acid (IAA) and siderophore. They belong to *Acinetobacter*, *Microbacterium*, *Paenibacillus*, and *Providencia*, respectively. The pot experiment on soybean Baxi 10 showed that these four strains had Cd-resistant capacity and could promote soybean growth. Shoot dry weight, root dry weight, and plant height of soybean inoculated with D4 were increased by 28%, 35% and 31%, respectively, in the absence of Cd. In the presence of 20 mg/kg-CdCl₂·5/2H₂O, shoot dry weight of soybean plants inoculated with D1, D2, D3, and D4 was raised by 35%, 55%, 53%, and 43%, respectively. The MDA content in the shoots of soybean plants inoculated with D2 and D4 was decreased by 23% and 29%, respectively. The T-AOC in the shoots of soybean plants inoculated with D1 and D4 was elevated by 11% and 13%, respectively. [Conclusion] The screened strains are expected to be developed into microbial fertilizers and applied into Cd-contaminated farmland for improvement of crop growth and yield. Meanwhile, it lays a theoretical basis for the study of Cd-resistant mechanisms of plant growth-promoting bacteria.

Keywords: plant growth-promoting bacteria; cadmium toxicity; soybean; isolation and identification; growth-promoting mechanism

由于化肥农药的过度使用和工业“三废”的大量排放,我国土壤重金属污染问题日益严重^[1]。镉是土壤重金属五毒之一,污染了我国 11 个省(直辖市/自治区)的 25 个地区,其中华南地区尤

为严重^[2-3]。受镉毒害的作物通常会产生过量的活性氧损害细胞器,最终造成减产甚至绝收^[4]。据统计,我国每年因重金属污染导致的作物减产达 1×10^7 t,经济损失约达 200 亿元^[5-6]。因此,

解决华南地区作物镉毒害造成的减产问题势在必行。

植物根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)是一类生存于植物根际直接或间接促进植物生长的细菌^[7-8]。研究发现它们具有溶磷、固氮、产铁载体、产吡啶乙酸等促生能力^[9-12]。同时,根际促生菌能够吸附重金属、提高作物的抗氧化能力,从而增强作物的抗逆性、提高产量^[13-16]。据报道,接种 PGPR 能够显著促进辣椒、番茄、扁豆、黑麦草、龙葵、油菜的生长,并且提高植物对重金属的耐受性^[17-22]。然而微生物对镉的耐受性通常较差,其本身对镉的毒害缺乏典型的分子解毒策略^[23]。因此,研究接种促生菌提高植物耐镉的机制非常有意义。

大豆是世界上重要的粮食及油料作物,富含多种蛋白质和氨基酸^[24-25]。同时,大豆对镉极其敏感,镉毒害会明显降低大豆产量^[24-26]。因此,研究耐镉促生菌对大豆的促生效果十分必要。本研究利用前期试验中筛选出的 4 株耐镉促生菌,进一步研究其促生特性,并利用大豆盆栽试验研究耐镉促生菌对大豆生长和耐镉能力的影响,以期为微生物菌肥的研制及田间大豆生产提供优异的菌种资源。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品

供试植物材料采用镉敏感的大豆品种巴西 10 号^[24-26]。供试菌株采用前期试验中筛选出的 4 个促生菌株,均分离自广东省韶关市曲江区(113.60°E, 24.68°N)的土壤, D1 和 D4 菌株分离自轻度镉污染土壤(Cd 浓度为 0.5 mg/kg)中种植的花生根际, D3 菌株分离自大豆根内, D2 菌株分离自重度镉污染土壤(Cd 浓度为 2.3 mg/kg)

中种植的花生根际。

1.1.2 主要试剂和仪器及培养基

细菌总 DNA 提取试剂盒,广州美仑生物科技有限公司;总抗氧化能力试剂盒,南京建成生物工程研究所。多功能酶标仪, Thermo Forma 公司;原子吸收光度计,日立公司。LB、PKO 和 MKB 培养基按照参考文献^[21]配制。

1.2 方法

1.2.1 供试菌株促生特性研究

为了鉴定供试菌株的溶磷能力,将供试菌株接种至 PKO 培养基中, 28 °C、180 r/min 摇床培养 7 d 后, 1 200 r/min 离心 5 min, 取上清液采用钼锑抗比色法测定其溶磷量;为了评价供试菌株产生生长素的能力,将供试菌株接种至含不同浓度(0、100、200、500 mg/L)色氨酸的 LB 培养液中, 28 °C、180 r/min 摇床培养 2 d 后, 1 200 r/min 离心 5 min, 取上清液与 Salkowski 显色剂避光反应,测定其在 530 nm 处的吸光值;为了鉴定供试菌株产铁载体的能力,将供试菌株接种至 MKB 液体培养基上, 28 °C、180 r/min 摇床培养 2 d 后, 1 200 r/min 离心 5 min, 取上清液与等体积的洛天青 S (CAS) 染液反应 1 h 后,测定其在 630 nm 处的吸光值。

1.2.2 菌株鉴定

采用细菌总 DNA 提取试剂盒提取菌株的总 DNA,送至广州睿博生物技术有限公司进行 16S rRNA 基因扩增和测序,将测序的菌株序列在 NCBI 数据库进行 BLAST 序列比对分析,使用 MEGA 7.0 构建系统发育进化树。

1.2.3 盆栽试验

盆栽试验设置 2 因素,包括 3 个镉质量分数处理,依次为 0、10、20 mg/kg-CdCl₂·5/2H₂O (分析纯,相对分子质量为 228.35); 5 个接菌处理,不接种处理 CK 及分别接种 D1、D2、D3 和 D4 菌株处理。每个处理 4 个重复。

采用基质培、无肥基质(三力园艺有限公司)与蛭石按照 3:1 的质量比混合灭菌后,加入不同处理的镉溶液(0、10、20 mg/kg- $\text{CdCl}_2 \cdot 5/2\text{H}_2\text{O}$)。同时,每盆加入 125 mg 难溶性磷 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 混匀,静置平衡 1 周后,每盆装 2 kg 基质。大豆种子采用氯气熏蒸法灭菌,砂培法育苗 1 周后,每盆移栽一株苗。与此同时,将 4 株菌分别接种于 LB 培养基中,37 °C、180 r/min 振荡培养至 OD_{600} 为 1.0,用低磷营养液重悬菌液后,随营养液浇灌到大豆根系周围。每周接菌 1 次,共接菌 3 次。大豆生长期,每周浇 2 次 100 mL 低磷(50 $\mu\text{mol/L}$) 1/2 Hogland 营养液^[25],30 d 后收获。收样时测大豆株高,取部分植株鲜样用于丙二醛和总抗氧化能力测定,剩余植株鲜样

收获后烘干、粉碎、称重,利用原子吸收光度计测植株镉浓度,钼锑抗比色法测定磷浓度。

1.2.4 数据分析

数据处理采用 Microsoft Excel 2010 计算平均值和标准误,用 SPSS Statistics 26 统计软件进行单因素的方差分析及多重比较(analysis of variance, ANOVA)。

2 结果与分析

2.1 促生菌株的筛选及促生特性

为了了解分离的菌株是否能溶磷,首先进行了溶磷定量试验,发现 4 株菌均具有溶磷能力(图 1A),其中 D2 菌表现出最大溶磷能力,其菌株培养液中可溶性磷含量达到 132.5 mL/L;

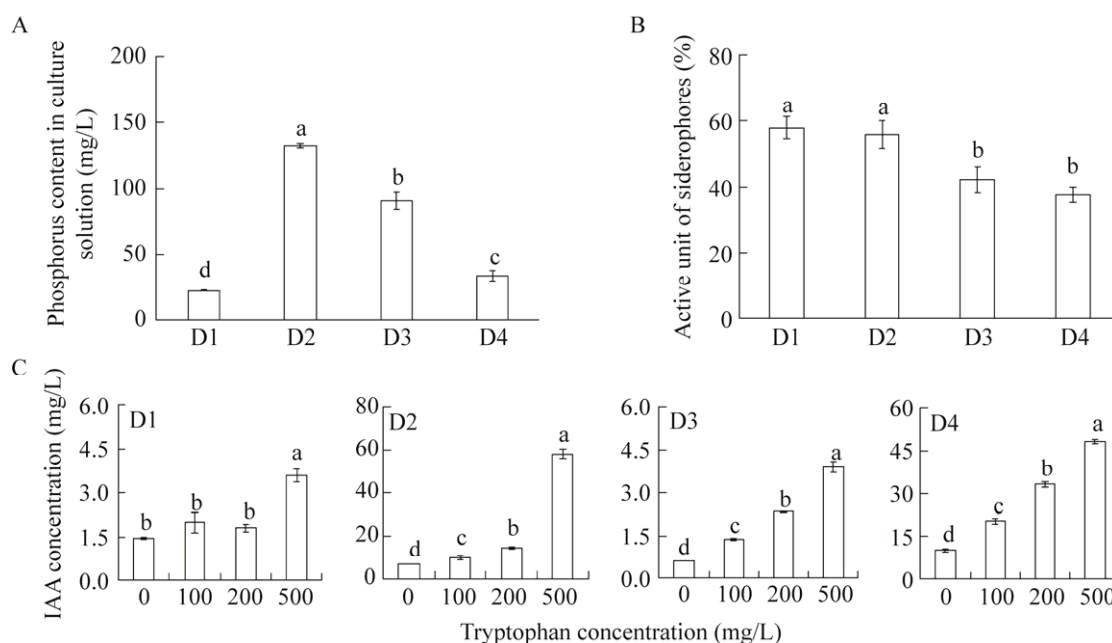


图 1 四个菌株的促生特性研究 A: 培养液中磷浓度; B: 铁载体活性单位; C: IAA 浓度, D1 代表接种 D1 菌株处理, D2 代表接种 D2 菌株处理, D3 代表接种 D3 菌株处理, D4 代表接种 D4 菌株处理。图中不同的小写字母表示不同菌株处理之间差异显著($P < 0.05$)

Figure 1 Studies on the growth-promoting characteristics of four strains. A: Phosphorus concentration in culture solution; B: Active unit of siderophores; C: IAA concentration, D1 represents inoculation with D1 strain, D2 represents inoculation with D2 strain, D3 represents inoculation with D3 strain, D4 represents inoculation with D4 strain. Different lowercase letters in the figure indicate significant differences between different strains ($P < 0.05$).

D1 菌的溶磷能力相比其他 3 株菌较弱, 但是其菌株培养液中可溶性磷含量也达到 22.6 mL/L; 4 株菌的溶磷能力依次为 D2>D3>D4>D1。为了分析这 4 株菌是否存在其他促生能力, 又进行了菌株产铁载体和产生生长素(indole-3-acetic acid, IAA)的试验。试验结果表明: 这 4 株菌也有较强的产铁载体和产 IAA 的能力, D1 和 D2 菌株铁载体的活性单位较高(图 1B)。D2 和 D4 菌株产 IAA 能力较强, 即使在色氨酸浓度为 0 的条件下, 依然能够产生较高的 IAA(图 1C)。

2.2 菌株的分子鉴定

四个菌株的 16S rRNA 基因的测序结果在 NCBI 数据库中进行 BLAST 多重序列比对分析, 制作的进化树如图 2 所示, 结果显示, D1 菌属于不动杆菌属(*Acinetobacter*), D2 菌属于微小杆菌属(*Microbacterium*), D3 菌属于类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*), D4 菌属于普罗威登斯菌属(*Providencia*)。

2.3 不同镉处理和接菌处理对大豆生长参数的影响

由于 4 株菌都筛选于镉污染的土壤, 因此, 将 4 株菌进一步在低磷条件下进行不同镉处理的盆栽试验, 检验其促生和耐镉能力。由表 1 和图 3 可知, 镉处理极显著影响大豆地上部和根部的干重($P<0.001$), 接菌处理极显著影响大豆地上部干重和大豆株高($P<0.001$), 也显著影响大豆根部干重($P<0.05$)。

由图 3 可知, 在不加镉处理下(0 Cd), 与不接种对照 CK 相比, 大豆接种 D4 菌株的地上部干重、根部干重和株高分别增加了 28%、35% 和 31%; 添加 20 mg/kg 镉处理(20 Cd), D1、D2、D3 和 D4 接菌处理的大豆地上部干重均显著高于不接种 CK 处理, 而且其地上部干重分别增加了 35%、55%、53% 和 43%; 在 20 Cd 水平下, 相较于 CK 对照, D1、D2、D3 接菌

处理大豆的根部干重增加了 30%、50% 和 45%; 由图 3D 可知, 在 20 Cd 水平下, 相较于不接种的 CK, D4 接菌处理的大豆株高增加了 21%。

2.4 不同镉处理和接菌处理对大豆植株镉浓度的影响

由表 1 可知, 镉处理极显著影响大豆地上部和根部的镉浓度($P<0.001$), 而接菌处理显著影响大豆地上部和根部的镉浓度($P<0.05$)。

添加 10 mg/kg 镉(10 Cd)与不接种 CK 相比, D1 和 D3 接菌处理的大豆地上部镉浓度分别降低了 21% 和 25%; 20 Cd 水平下, 大豆接种 D2 菌株的地上部镉浓度对比不接种 CK 降低了 16% (图 4A)。由图 4B 可知, 20 Cd 水平下, 与不接种 CK 相比, 大豆接种 4 株菌的根部镉浓度分别减少了 55%、67%、32% 和 23%。这些结果表明, 在 20 Cd 水平下, 接种 D1、D2、D3 和 D4 菌株均能缓解大豆根部的镉毒害。

2.5 不同镉处理和接菌处理对大豆植株磷吸收量的影响

由表 1 可知, 镉处理极显著影响大豆地上部和根部的磷吸收量($P<0.001$)。接菌处理显著影响大豆根部的磷吸收量, 而镉处理和接菌处理对大豆根部磷吸收量的影响存在显著的交互作用($P<0.05$)。

由图 5A 可知, 在 0 Cd 水平下, 与不接种 CK 相比, 接种 D1、D2、D3 和 D4 菌株的大豆地上部磷吸收量分别提高了 145%、181%、66% 和 92%; 在 20 Cd 水平下, 大豆接种 D2 和 D4 菌株后, 其地上部磷吸收量分别提高了 74% 和 36%。由图 5B 可知, 10 Cd 水平下, 与不接种 CK 相比, D1 和 D3 接菌处理的大豆根部磷吸收量分别提高了 2.1 倍和 2.5 倍; 20 Cd 水平下, 相较于不接种 CK, 大豆接种 D1 和 D3 菌株的根部磷吸收量分别提高了 67% 和 102%。

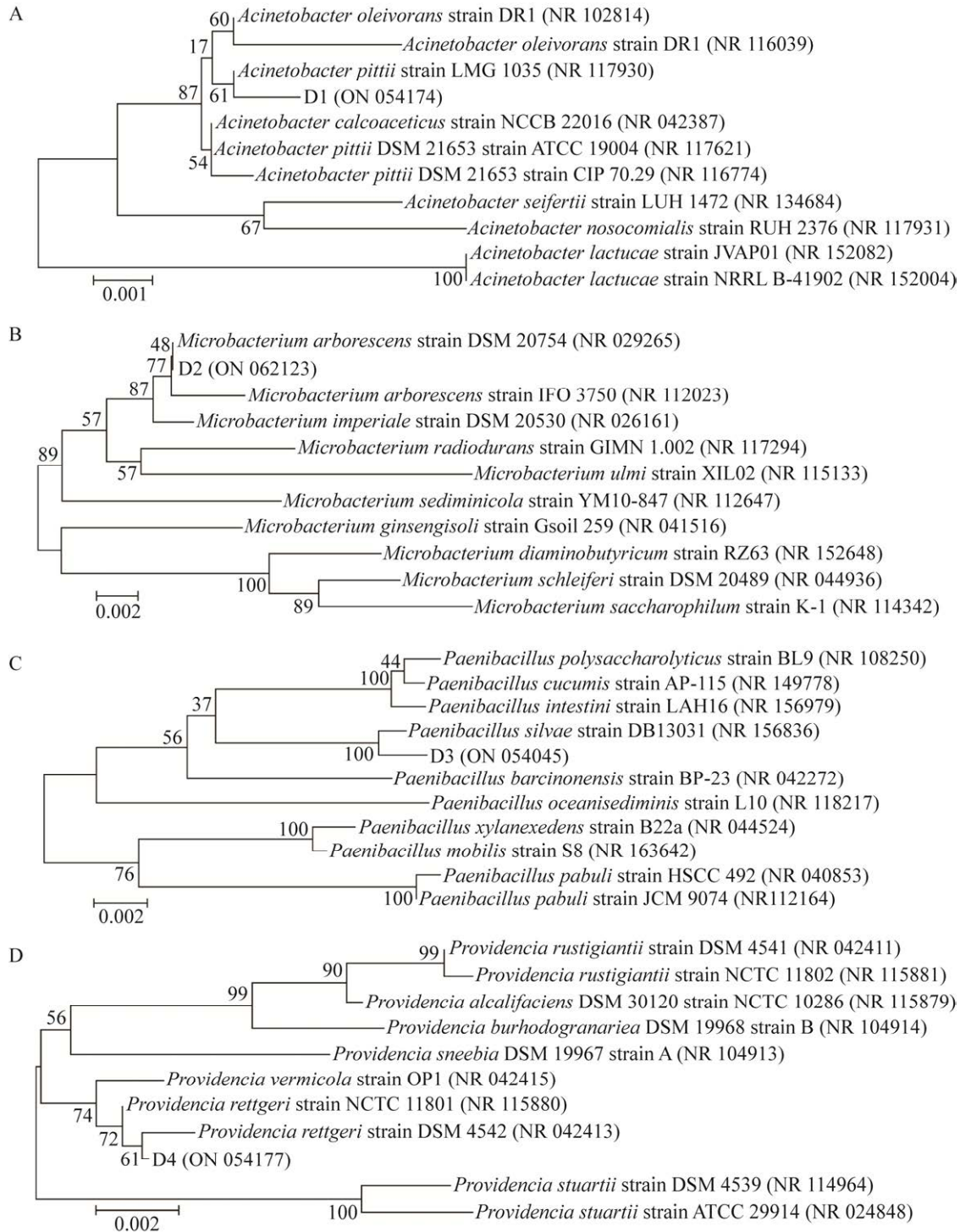
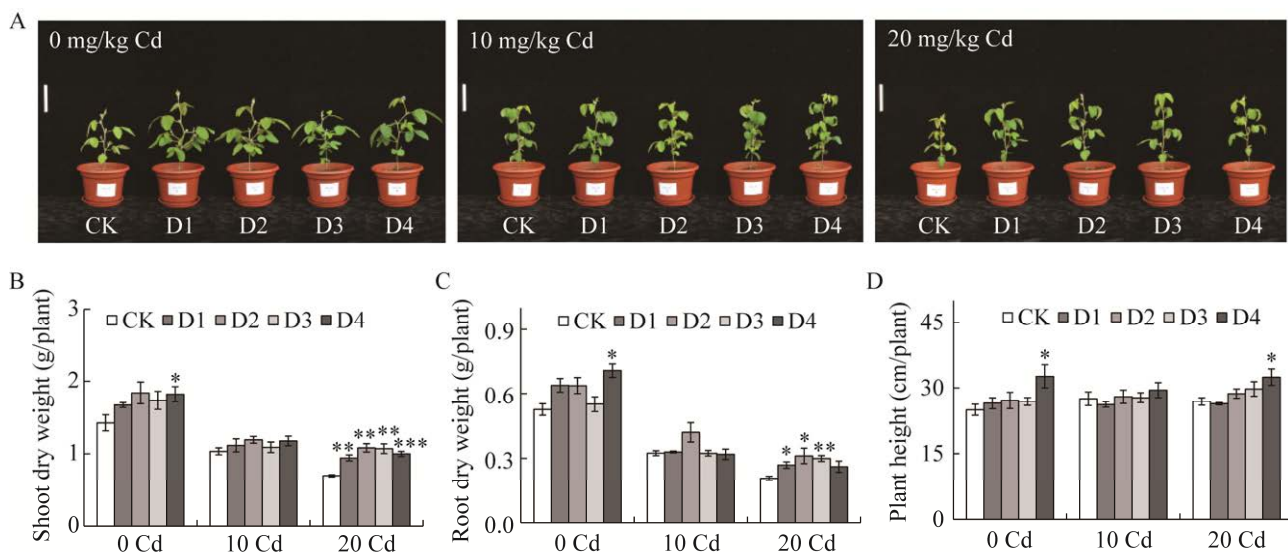


图 2 四个菌株基于 16S rRNA 基因序列建立的系统发育树 括号中的序号为序列 GenBank 登录号；分支点数值表示 bootstrap 值；标尺表示序列间分歧度

Figure 2 Phylogenetic tree established based on 16S rRNA gene sequences of four strains. The GenBank accession number of aligned sequences is shown in the brackets; Numbers at branch nodes present bootstrap value; A ruler indicates the degree of divergence between sequences.

表 1 不同处理对大豆植株生长及生理指标影响的双因素方差分析结果(F 值)Table 1 The results of two-factor analysis of variance on growth and physiological indexes of soybean under different treatments (F value)

Indicators	C	I	C×I
Shoot dry weight	98.978***	12.888***	0.579ns
Root dry weight	53.610***	2.732*	0.240ns
Plant height	0.994ns	6.169***	0.646ns
Shoot Cd concentration	221.570***	3.203*	1.308ns
Root Cd concentration	170.710***	3.814*	0.399ns
Shoot P uptake	43.306***	0.579ns	0.594ns
Root P uptake	19.415***	10.637***	3.637**
Shoot MDA content	8.152**	2.121ns	1.020ns
Shoot T-AOC	15.681***	0.380ns	1.452ns

注: F 值为双因素方差分析的结果; 其中 C 代表镉处理, I 代表接菌处理, C×I 代表镉处理与接菌处理的交互作用;*: $0.01 < P < 0.05$; **: $0.001 < P < 0.01$; ***: $P < 0.001$; ns: 差异不显著Note: F value is the result of two-factor variance analysis; C represents Cd treatment, I represents inoculation treatment, C×I represents interaction between Cd treatment and inoculation treatment. *: $0.01 < P < 0.05$; **: $0.001 < P < 0.01$; ***: $P < 0.001$; ns: No significance.图 3 不同镉处理和接菌处理对大豆生长参数的影响 A: 植株生长表型; B: 地上部干重; C: 根部干重; D: 株高。图中标星号代表在同一镉处理各个菌株(D1、D2、D3 和 D4)分别与 CK 对照相比差异显著, *: $0.01 < P < 0.05$; **: $0.001 < P < 0.01$; ***: $P < 0.001$ 。下同Figure 3 Effects of different Cd and inoculation treatments on growth parameters of soybean. A: Plant growth phenotype; B: Shoot dry weight; C: Root dry weight; D: Plant height. Asterisks in the figure represents significant differences between D1, D2, D3 or D4 and CK treatments within the same Cd condition, respectively; *: $0.01 < P < 0.05$; **: $0.001 < P < 0.01$; ***: $P < 0.001$. The same below.

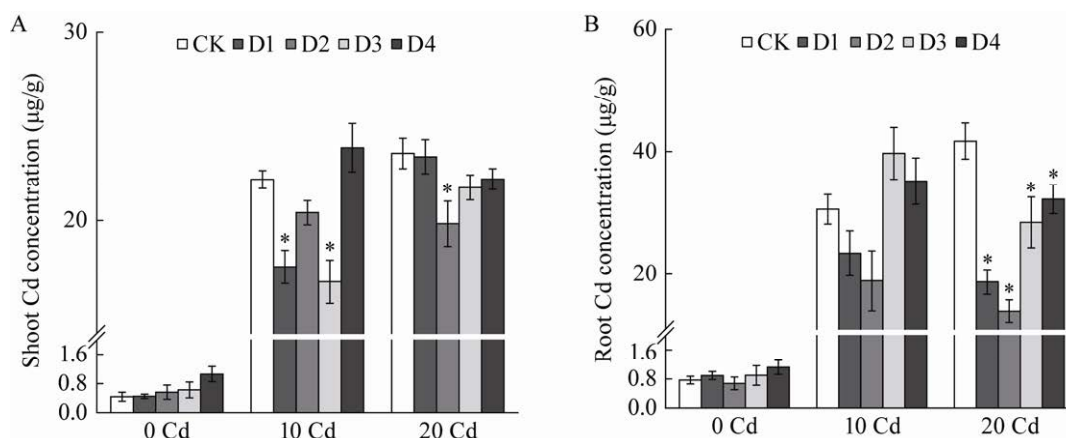


图 4 不同镉处理和接菌处理对大豆植株镉浓度的影响 A: 地上部镉浓度; B: 根部镉浓度

Figure 4 Effects of different Cd and inoculation treatments on Cd concentrations in soybean. A: Shoot Cd concentration; B: Root Cd concentration.

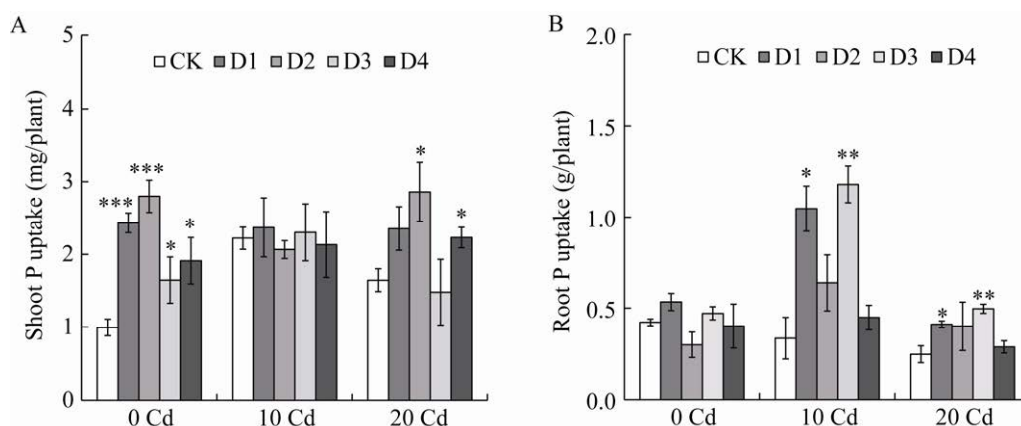


图 5 不同镉处理和接菌处理对大豆植株磷吸收量的影响 A: 地上部磷吸收量; B: 根部磷吸收量

Figure 5 Effects of different Cd and inoculation treatments on phosphorus uptake of soybean. A: Shoot P uptake; B: Root P uptake.

2.6 不同镉处理和接菌处理对大豆叶片丙二醛含量和总抗氧化能力的影响

由表 1 可知, 镉处理显著影响大豆叶片丙二醛含量和总抗氧化能力($P < 0.05$)。

由图 6A 可知, 20 Cd 水平下, 相较于不接种 CK, 接种 D2 和 D4 菌的大豆叶片的丙二醛含量分别降低了 23% 和 29%。由图 6B 可知, 20 Cd 水平下, 与不接种 CK 相比, 大豆接种 D1 和 D4 菌株的总抗氧化能力分别增加了 11% 和 13%。

3 讨论与结论

植物-根际促生菌相互作用可以促进作物生长并提高产量^[27], 目前大量研究发现根际促生菌对作物生长具有促进作用。张丹雨等^[28]将有多重促生特性的 PGPR 接种到大豆上研究发现, 其显著增加了大豆的地上部干重、根部干重和株高。王志刚等^[29]发现, 接种 PGPR 能促进大豆的生长。本研究发现在 0 Cd 处理下接

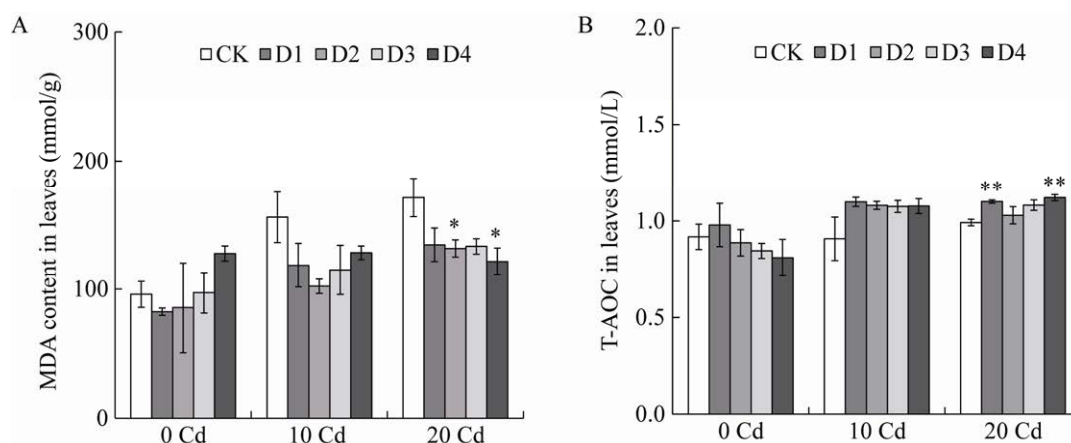


图 6 不同镉处理和接菌处理对大豆叶片丙二醛含量和总抗氧化能力的影响 A: 叶片丙二醛含量; B: 叶片总抗氧化能力

Figure 6 Effects of different Cd and inoculation treatments on MDA content and T-AOC in soybean leaves. A: MDA content in leaves; B: T-AOC in leaves.

种 D4 菌株能显著促进大豆的地上部干重、根部干重和株高(图 3B–3D), 这一结果与前人结果一致。土壤中过量的镉不仅会导致植物生长缓慢, 还会通过食物链危害人类健康^[30–31]。重金属污染的生物修复因其净化能力强、二次废物流入环境的量少而被认为是一种绿色技术^[32–33]。Liu 等发现, 在 10 mg/kg Cd 的条件下, 接种密歇根克雷伯氏菌 TS8 菌株后植株株高提高 39.9%, 地上部干重提高 99.1%, 根际土壤 Cd 总量降低 49.2%^[34]。本研究采用镉敏感的大豆品种巴西十号进行盆栽试验, 在 20 Cd 处理下, 接种 D1、D2、D3 和 D4 菌株显著提高了大豆地上部和根部干重, 接种 D4 菌株也显著增加了大豆株高(图 3D), 这一研究结果与前人一致。本研究分离的 PGPR 不仅能促进大豆生长, 还能提高大豆对 Cd 的耐受性, 具有潜在的应用价值。

微生物对镉的耐受性通常较差, 其本身也缺乏典型的解镉毒策略, 但其能提高植物的解镉毒能力。PGPR 在镉胁迫下对植物的促生和

解镉毒机制可以分为直接和间接两方面^[27]。直接机制是指某些 PGPR 能够通过溶磷、分泌吡啶乙酸和产铁载体等促进植物生长。本研究筛选的这 4 株菌均能产 IAA 和铁载体(图 1B 和 1C), 这可能是促进大豆生长的原因之一。另外, 本研究的盆栽试验在低磷处理下每盆均加入一定量的难溶性磷, 在 0 Cd 水平下, 与不接种 CK 相比, 接种 D1、D2、D3 和 D4 菌株的大豆地上部磷吸收量均显著增加(图 4A)。同时, 20 Cd 条件下, 与 CK 相比, 分别接种 D1 和 D3 菌株显著提高了大豆根部磷吸收量, 分别接种 D2 和 D4 菌株显著提高植株地上部磷吸收量(图 5), 表明 4 株菌具有较高的溶磷能力, 能够改善大豆的磷营养状况, 这可能是促进大豆生长解镉毒的重要机制之一。间接促生机制是菌株能够降低植物对镉的吸收和转运, 提高植株的总抗氧化能力。Guo 等^[35]研究发现, 接种耐 Cd 促生菌能够同时降低大豆地上部和根部的 Cd 含量。王立等^[36]研究发现, Cd 污染条件下接种促生菌, 水稻叶片丙二醛含量显著降低, SOD 活性显著

提高。本研究发现,在 20 Cd 水平下,与 CK 对照相比,接种 D4 菌株后大豆叶片丙二醛含量显著降低,总抗氧化能力显著提高,植株的根部镉浓度显著降低(图 4B 和图 6),这表明接种促生菌株能降低大豆植株对镉的吸收,同时提高植株体内抗氧化能力,从而增强其抗逆能力,促进植株生长。

本研究分离筛选的 4 株促生菌株 D1、D2、D3 和 D4,经鉴定分别属于不动杆菌属、微小杆菌属、类芽孢杆菌属和普罗威登斯菌属(图 2)。研究发现,嗜油不动杆菌属能降解亚硝酸盐,缓解水污染^[37],还能高效降解石油,减少其对环境的污染^[38],但作为耐镉促生菌尚属于首次报道。微小杆菌属、类芽孢杆菌属和普罗威登斯菌属在植物促生方面均有所研究,但对大豆的促生效果还未见报道。王楠等^[39]将具有固氮和产 IAA 能力的 I-18 和 I-49 等类芽孢杆菌接种至小麦,发现它们能显著促进小麦生长。Dastager 等^[40]发现,具有溶磷和产铁载体能力的微小杆菌 NII-0906 能促进豌豆的生长。谈高维等^[41]发现雷氏普罗威登斯菌 CDR-2 能促进水稻的生长。本研究筛选出的 D2、D3 和 D4 菌株均能溶磷、产 IAA 和铁载体,并且具有耐镉能力,从而促进大豆生长。

综上所述,本研究从种植在轻微和重度镉污染土壤的植株根际或根内分离获得 4 株促生菌株 D1、D2、D3 和 D4,其均具有溶磷、产 IAA 和铁载体的能力,盆栽试验证明,4 株菌均具有促进大豆生长的作用。此外,本研究还探究了 4 株菌的耐镉促生机制,发现接种 D4 菌株能显著降低大豆叶片中丙二醛的含量,提高叶片总抗氧化能力,进而促进大豆在镉胁迫下的生长。本研究为解析植物促生菌的耐镉机制提供了理论依据,同时为微生物菌肥的研制及田间应用提供了优质菌种资源。

REFERENCES

- [1] 宋伟,陈百明,刘琳.中国耕地土壤重金属污染概况[J].水土保持研究,2013,20(2):293-298
Song W, Chen BM, Liu L. Soil heavy metal pollution of cultivated land in China[J]. Research of Soil and Water Conservation, 2013, 20(2): 293-298 (in Chinese)
- [2] 陈佳,包蓉.我国土壤镉污染现状及防治技术研究[J].安徽农学通报,2020,26(24):135-136,181
Chen J, Bao R. Current situation of soil cadmium pollution in China and its control technology[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2020, 26(24): 135-136, 181 (in Chinese)
- [3] 崔祥芬,张琴,田森林,王晋昆,黄建洪.中国稻田土壤镉污染及务农性暴露概率风险[J].中国环境科学,2021,41(8):3878-3886
Cui XF, Zhang Q, Tian SL, Wang JK, Huang JH. Status of paddy soil Cd pollution and probabilistic health risk via agricultural contact in China[J]. China Environmental Science, 2021, 41(8): 3878-3886 (in Chinese)
- [4] Talanova VV, Titov AF, Boeva NP. Effect of increasing concentrations of heavy metals on the growth of barley and wheat seedlings[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2001, 48(1): 100-103
- [5] 高太忠,李景印.土壤重金属污染研究与治理现状[J].土壤与环境,1999,8(2):137-140
Gao TZ, Li JY. Study on the heavy metal-contaminated soil and status of the treatment[J]. Soil and Environmental Sciences, 1999, 8(2): 137-140 (in Chinese)
- [6] 胡永兴,宿虎,张斌,张兵兵,张元,欧扬剑.土壤重金属污染及其评价方法概述[J].江苏农业科学,2020,48(17):33-39
Hu YX, Su H, Zhang B, Zhang BB, Zhang Y, Ou YJ. Soil heavy metal pollution and its evaluation methods: a review[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2020, 48(17): 33-39 (in Chinese)
- [7] Ahmad F, Ahmad I, Khan MS. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities[J]. Microbiological Research, 2008, 163(2): 173-181
- [8] 李琬,刘淼,张必弦,赵宏亮,王永力,刘明,谭贺,许显滨.植物根际促生菌的研究进展及其应用现状[J].中国农学通报,2014,30(24):1-5
Li W, Liu M, Zhang BX, Zhao HL, Wang YL, Liu M, Tan H, Xu XB. Research progress and application

- status of plant growth promoting rhizobacteria[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(24): 1-5 (in Chinese)
- [9] 能凤娇, 刘鸿雁, 马莹, 吴龙华. 根际促生菌在植物修复重金属污染土壤中的应用研究进展[J]. 中国农学通报, 2013, 29(5): 187-191
- Neng FJ, Liu HY, Ma Y, Wu LH. Research progress on the applications of plant growth-promoting rhizobacteria in phytoremediation of heavy metals-contaminated soil[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2013, 29(5): 187-191 (in Chinese)
- [10] Zaidi A, Khan MS, Ahemad M, Oves M. Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria[J]. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, 2009, 56(3): 263-284
- [11] Spaepen S, Vanderleyden J. Auxin and plant-microbe interactions[J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2011, 3(4): a001438
- [12] Neilands JB. Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1995, 270(45): 26723-26726
- [13] 霍伟, 蔡庆生. 植物促生菌提高植物重金属耐受性研究进展[J]. 微生物学通报, 2010, 37(9): 1374-1378
- Huo W, Cai QS. The advance of the enhancement of plant heavy metal resistance by plant growth-promote bacteria[J]. Microbiology China, 2010, 37(9): 1374-1378 (in Chinese)
- [14] Vivas A, Biró B, Ruíz-Lozano JM, Barea JM, Azcón R. Two bacterial strains isolated from a Zn-polluted soil enhance plant growth and mycorrhizal efficiency under Zn-toxicity[J]. Chemosphere, 2006, 62(9): 1523-1533
- [15] Gamalero E, Lingua G, Berta G, Glick BR. Beneficial role of plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on plant responses to heavy metal stress[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2009, 55(5): 501-514
- [16] 孙韵雅, 陈佳, 王悦, 程济南, 韩庆庆, 赵祺, 李惠茹, 李慧萍, 何傲蕾, 蔡晶毅, 等. 根际促生菌促生机理及其增强植物抗逆性研究进展[J]. 草地学报, 2020, 28(5): 1203-1215
- Sun YY, Chen J, Wang Y, Cheng JN, Han QQ, Zhao Q, Li HR, Li HP, He AL, Gou JY, et al. Advances in growth promotion mechanisms of PGPRs and their effects on improving plant stress tolerance[J]. Acta Agrestia Sinica, 2020, 28(5): 1203-1215 (in Chinese)
- [17] 吴慧丽, 田薇, 纪燕玲, 姜来清, 蔡庆生. 促进镉吸收积累的植物根际促生菌的筛选及其对一年生黑麦草的影响[J]. 草业学报, 2021, 30(7): 53-61
- Wu HL, Tian W, Ji YL, Lou LQ, Cai QS. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria that promote cadmium absorption and accumulation and their effects on annual ryegrass[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2021, 30(7): 53-61 (in Chinese)
- [18] 蒋森, 张丹, 支月娥, 吾兰·恩特马克, 周培. 强化龙葵富集镉根际促生菌的分离、筛选与鉴定[J]. 微生物学通报, 2019, 46(9): 2231-2240
- Jiang M, Zhang D, Zhi YE, Wulan·Entemake, Zhou P. Isolation, screening and identification of plant growth promoting rhizobacteria to enrich cadmium accumulation in *Solanum nigrum* L.[J]. Microbiology China, 2019, 46(9): 2231-2240 (in Chinese)
- [19] 聂孝红, 尹昊, 郭东鑫, 国辉, 周金星, 彭霞薇. 四株耐镉细菌的生物学特性及其对油菜在镉污染土壤中的促生作用[J]. 生态学杂志, 2017, 36(6): 1658-1666
- Nie XH, Yin H, Guo DC, Guo H, Zhou JX, Peng XW. Biological characteristics of four Sb(III)-tolerant bacteria and their growth-promoting effects on the rape in soils contaminated by antimony[J]. Chinese Journal of Ecology, 2017, 36(6): 1658-1666 (in Chinese)
- [20] 杨丽, 燕传明, 贺卓, 盛下放, 何琳燕. 重金属耐性芽孢杆菌的筛选及其对辣椒吸收镉铅的阻控效应[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(6): 1086-1093
- Yang L, Yan CM, He Z, Sheng XF, He LY. Effect of heavy metal-tolerant spore-forming bacteria on the cadmium and lead uptake of pepper[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2018, 37(6): 1086-1093 (in Chinese)
- [21] 魏婷, 孙燕妮, 李鲜. 一株耐镉促生菌的筛选、鉴定及对番茄幼苗生长与镉累积的影响[J]. 陕西科技大学学报, 2020, 38(4): 25-30, 69
- Wei T, Sun YN, Li X. Isolation and identification of a cadmium-resistant growth-promoting bacterium and its effects on the growth and cadmium accumulation of tomato plants[J]. Journal of Shaanxi University of Science & Technology, 2020, 38(4): 25-30, 69 (in Chinese)
- [22] Islam F, Yasmeen T, Ali Q, Mubin M, Ali S, Arif MS, Hussain S, Riaz M, Abbas F. Copper-resistant bacteria reduces oxidative stress and uptake of copper in lentil plants: potential for bacterial bioremediation[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2016, 23(1): 220-233
- [23] Vig K, Megharaj M, Sethunathan N. Bioavailability and

- toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: a review[J]. *Advances in Environmental Research*, 2004, 8(1):121-135
- [24] 赵云云, 钟彩霞, 方小龙, 马启彬, 年海, 杨存义. 华南地区夏播大豆品种镉耐性及籽粒镉积累的差异[J]. *大豆科学*, 2013, 32(3): 336-340
Zhao YY, Zhong CX, Fang XL, Ma QB, Nian H, Yang CY. Genotypic differences in tolerance and accumulation to Cd among summer-sowing soybean varieties in South China[J]. *Soybean Science*, 2013, 32(3): 336-340 (in Chinese)
- [25] 崔广娟, 曹华元, 陈康, 王秀荣. 镉胁迫对 4 种基因型大豆生长和体内元素分布的影响[J]. *华南农业大学学报*, 2020, 41(5): 49-57
Cui GJ, Cao HY, Chen K, Wang XR. Effects of cadmium stress on plant growth and element distribution of four soybean genotypes[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2020, 41(5): 49-57 (in Chinese)
- [26] Cui GJ, Ai SY, Chen K, Wang XR. Arbuscular mycorrhiza augments cadmium tolerance in soybean by altering accumulation and partitioning of nutrient elements, and related gene expression[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 171: 231-239
- [27] 刘丹丹, 李敏, 刘润进. 我国植物根围促生细菌研究进展[J]. *生态学杂志*, 2016, 35(3): 815-824
Liu DD, Li M, Liu RJ. Recent advances in the study of plant growth-promoting rhizobacteria in China[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2016, 35(3): 815-824 (in Chinese)
- [28] 张丹雨, 曲甜甜, 刘莹莹, 郭英, 卜宁. 2 株野生大豆根际促生菌抑菌促生作用研究[J]. *大豆科学*, 2019, 38(4): 563-569
Zhang DY, Qu TT, Liu YY, Guo Y, Bu N. Antibacterial function and promoting effect of two plant growth promoting rhizobia in from *Glycine soja*[J]. *Soybean Science*, 2019, 38(4): 563-569 (in Chinese)
- [29] 王志刚, 钟鹏, 王建丽, 徐伟慧, 莫继先. 东北黑土区大豆根际促生菌生长条件及促生效应[J]. *大豆科学*, 2012, 31(2): 270-273, 277
Wang ZG, Zhong P, Wang JL, Xu WH, Mo JX. Growth conditions and growth-promoting effects of soybean PGPR in the black soil region of Northeast China[J]. *Soybean Science*, 2012, 31(2): 270-273, 277 (in Chinese)
- [30] Karcz W, Kurtyka R. Effect of cadmium on growth, proton extrusion and membrane potential in maize coleoptile segments[J]. *Biologia Plantarum*, 2007, 51(4): 713-719
- [31] Khan S, Cao Q, Zheng YM, Huang YZ, Zhu YG. Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 152(3): 686-692
- [32] Dhaliwal SS, Singh J, Taneja PK, Mandal A. Remediation techniques for removal of heavy metals from the soil contaminated through different sources: a review[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(2): 1319-1333
- [33] Huang R, Dong ML, Mao P, Zhuang P, Paz-Ferreiro J, Li YX, Li YW, Hu XY, Netherway P, Li ZA. Evaluation of phytoremediation potential of five Cd (hyper) accumulators in two Cd contaminated soils[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 721: 137581
- [34] Liu SM, Liu HM, Chen R, Ma Y, Yang B, Chen ZY, Liang YS, Fang J, Xiao YH. Role of two plant growth-promoting bacteria in remediating cadmium-contaminated soil combined with *Miscanthus floridulus* (Lab.)[J]. *Plants: Basel, Switzerland*, 2021, 10(5): 912
- [35] Guo JK, Chi J. Effect of Cd-tolerant plant growth-promoting rhizobium on plant growth and Cd uptake by *Lolium multiflorum* Lam. and *Glycine max* (L.) Merr. in Cd-contaminated soil[J]. *Plant and Soil*, 2014, 375(1/2): 205-214
- [36] 王立, 安广楠, 马放, 吴洁婷, 张雪, 王敏. AMF 对镉污染条件下水稻抗逆性及根际固定性的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33(10): 1882-1889
Wang L, An GN, Ma F, Wu JT, Zhang X, Wang M. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on cadmium tolerance and rhizospheric fixation of rice[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(10): 1882-1889 (in Chinese)
- [37] 李彬, 吕冉, 肖盈, 张靖雯, 麦裕良, 林蓝. 金属离子对嗜油不动杆菌 YT03 降解亚硝酸盐的影响[J]. *水产学杂志*, 2020, 33(1): 53-59
Li B, Lü R, Xiao Y, Zhang JW, Mai YL, Lin L. Effects of metal ions on degradation of nitrite by *Acinetobacter oleivorans* YT03[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2020, 33(1): 53-59 (in Chinese)
- [38] 周婷, 陈吉祥, 杨智, 秦波, 李彦林, 赵霞. 一株嗜油不动杆菌(*Acinetobacter oleivorans*)的分离鉴定及石油降解特性[J]. *环境工程学报*, 2015, 9(11):

- 5626-5632
- Zhou T, Chen JX, Yang Z, Qin B, Li YL, Zhao X. Isolation and characterization of an oil-degrading *Acinetobacter oleivorans*[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2015, 9(11): 5626-5632 (in Chinese)
- [39] 王楠, 李刚强, 李云龙, 李永斌, 张浩玮, 王民洋, 王莉瑛, 刘德虎, 陈三凤. 固氮类芽孢杆菌的分离鉴定及其促生、抑菌活性的测定[J]. 中国农业科技导报, 2019, 21(5): 95-103
- Wang N, Li GQ, Li YL, Li YB, Zhang HW, Wang MY, Wang LY, Liu DH, Chen SF. Isolation and identification of nitrogen-fixing *Paenibacillus* spp. and determination of their plant-growth promoting and plant pathogen-inhabiting activities[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2019, 21(5): 95-103 (in Chinese)
- [40] Dastager SG, Kumaran DC, Pandey. Characterization of plant growth-promoting rhizobacterium *Exiguobacterium* NII-0906 for its growth promotion of cowpea (*Vigna unguiculata*)[J]. Biologia, 2010, 65(2): 197-203.
- [41] 谈高维, 韦布春, 崔永亮, 陈香归, 闫敏, 沈甜, 秦诗洁, 羊鑫, 江鑫, 余秀梅. 镉钝化细菌对水稻幼苗镉吸收的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2019, 25(3): 524-531
- Tan GW, Wei BC, Cui YL, Chen XG, Yan M, Shen T, Qin SJ, Yang X, Jiang X, Yu XM. Effects of cadmium passivation bacteria on the growth and cadmium adsorption of rice seedlings[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2019, 25(3): 524-531 (in Chinese)