

根瘤菌-豆科植物共生体系在重金属污染环境修复中的地位、应用及潜力

韦革宏, 马占强

(西北农林科技大学生命科学学院, 陕西省农业分子生物学重点实验室, 杨凌 712100)

摘要:土壤重金属污染严重影响了人类健康和生态系统稳定, 已成为亟待解决的现实问题。在重金属污染地, 氮素的极端不足是植被恢复主要限制因子之一。根瘤菌-豆科植物共生体系是固氮能力最强的生物固氮体系, 在促进重金属污染地氮素循环和营养元素积累中具有重要作用。本文阐述土壤重金属污染的修复方法及其特点, 微生物抗重金属的机理及促植物生长和重金属积累的特性, 根瘤菌-豆科植物共生体系在土壤重金属污染修复中的优越性, 研究现状及应用潜力。提出应用“豆科植物-根瘤菌共生体系”修复重金属污染土壤的新思路和新任务。

关键词: 根瘤菌; 豆科植物; 共生体系; 重金属; 生物修复

中图分类号: Q933 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2010) 11-1421-10

随着工农业的发展, 大量的污染物进入土壤环境, 使土壤环境日益恶化, 其中重金属污染尤为突出^[1-2]。重金属一旦进入土壤, 就会导致土壤肥力退化, 降低作物产量与质量, 直接威胁到区域生态系统稳定, 并通过“土壤—植物—人体”或“土壤—水—人体”间接被人体吸收, 严重威胁着人类的生命和健康^[3-4]。重金属在土壤中移动性差、滞留时间长、不能被土壤微生物降解, 自然净化过程十分漫长, 修复土壤重金属污染已成为全球性的一个棘手问题。因此, 控制和治理土壤重金属污染是当前世界面临的挑战, 已引起世界各国政府的高度关注^[5-6]。

近年来, 我们实验室一直从事重金属抗性根瘤菌筛选、鉴定、系统发育、耐性机制及其共生体系的生态修复研究。在此, 结合我们的研究对根瘤菌及其共生体系修复土壤重金属污染的研究现状和发展趋势做一论述, 供相关科研工作者和学生参考。

1 修复土壤重金属污染在环境污染治理中的重要性

土壤是物质、生物地球化学循环的存储库, 是人类获取食物和其他再生资源的物质基础, 也是生态环境的重要组成部分, 对环境因子的变化具有高度敏感性。冶炼、采矿、化工、制革和工业排放的三废及汽车尾气排放、农药和化肥的施用等是导致大气、水体和土壤重金属污染的主要来源^[7-9]。土壤、水体和大气三者之间存在相关性和耦合关系, 土壤作为物质化学循环的基本载体, 是大气和水体循环的枢纽, 通过大气沉降和污水灌溉, 重金属污染最终反映于土壤的污染。但从近年来发表在国际权威杂志 *Environmental Science & Technology*、*Environment International*、*Science of the Total Environment*、*Bioresource Technology*、*Journal of Hazardous Materials*、*Chemosphere* 等上的有关修复重金属污染的文章来看, 对修复水体和大气重金属污染的关注

基金项目: 国家自然科学基金(30970003, 31070444, 30900215)

作者简介: 韦革宏(1969-), 男, 甘肃兰州人, 博士, 教授, 博导, 全国优秀博士学位论文获得者, 主持多项国家自然科学基金, 主要从事根瘤菌多样性及其应用研究。Tel: +86-29-87091175; E-mail: weigehong@yahoo.com.cn

收稿日期: 2010-10-04

要远远大于对修复土壤重金属污染的关注。大量的科学研究已证明,土壤污染与大气污染、水体污染息息相关,土壤重金属污染得不到修复,大气和水体重金属污染从根本上也难以解决^[10-11]。因此,修复土壤重金属污染已成为亟待解决的现实问题,否则,就很难保持生态系统稳定和可持续发展。

2 土壤重金属污染修复的发展趋势

近年来,世界各国都高度重视重金属污染土壤的修复技术研究^[12-14]。目前,土壤重金属污染的修复主要有两大途径:一是通过固化作用降低重金属的迁移性和生物可利用性,从而暂时降低其毒性;二是通过活化和提取将重金属从土壤中去。具体方法有自然修复、物理修复、化学修复和生物修复等。物理、化学修复治理效果较好,历时短;但成本高,可破坏污染土壤的理化性质,造成环境的二次污染,不能从根本上解决问题;同时,污染面积较大时,这些方法很难实现。生物修复是一项新兴的高效修复技术,主要是指植物修复、微生物修复和微生物-植物联合修复^[15]。生物修复成本低、对环境影响小、最大限度降低污染物浓度、便于操作实施等优点而成为环境修复中最有发展前途的修复措施。但超积累植物生产周期长、生物量小、超富集具有专一性等缺点限制了植物修复的应用。微生物修复可从土壤中积累重金属,或改变重金属化合态降低毒性,但单纯微生物修复并没有真正意义上将重金属离子从土壤中移除,当微生物死亡后,这些重金属又释放到土壤

产生污染。微生物-植物联合修复技术利用微生物-植物的共生或共存关系,充分发挥植物与微生物修复技术的各自优势,弥补各自不足,提高重金属污染土壤的修复效率,展现出良好的应用前景。

3 微生物-植物联合修复技术

3.1 微生物对重金属的抗性和解毒机制

污染土壤环境中重金属含量过高,就会影响微生物体内的各种代谢功能(如破坏细胞膜、使蛋白质变性、抑制转录和翻译等),从而改变微生物群落结构和分布,减少微生物种类和数量^[16]。为了适应重金属污染的环境,微生物体内形成了相应的抗性和解毒机制(图1)^[17]。一是可以通过外排作用将重金属离子主动从细胞内排出,消除重金属对细胞的毒性,有ATP水解产生能量P-型ATP酶、CDF(cation diffusion facilitator)阳离子扩散家族和CBA型转运子三类。二是重金属离子与含硫醇分子如各种金属螯合物和金属硫蛋白等结合形成复杂的化合物而在胞内被隔离开^[18]。三是重金属离子可被转化成低毒性的氧化态^[19]。此外,微生物还可通过胞外多聚物吸收、外膜或细胞壁结合、胞内吸收、重金属盐形式沉淀和金属硫蛋白类蛋白的产生而增加对重金属的抗性^[20]。这些机制是通过染色体、质粒或转座子编码产生的,是微生物自身固有的或诱导下产生的抗重金属毒性的遗传因子,如*pco*和*cop*操纵子提供对Cu的抗性^[21]、*czc*操纵子提供对Zn、Cd、Co的抗性^[22]、*mer*操纵子提供对Hg的抗性^[23]。利

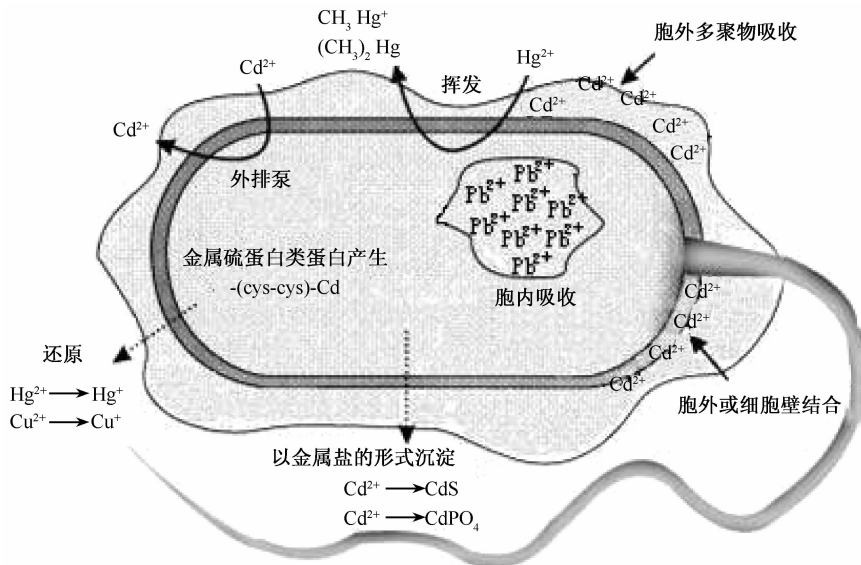


图1 微生物对重金属的抗性和解毒机制^[17]

Fig. 1 The resistant and detoxifying mechanisms to heavy metal of microbe.

用这些机制,微生物可以改变和转化重金属的离子形态,对微生物本身而言是一种很好的解毒作用,对

环境而言,则是一种很好的修复作用(图2)。

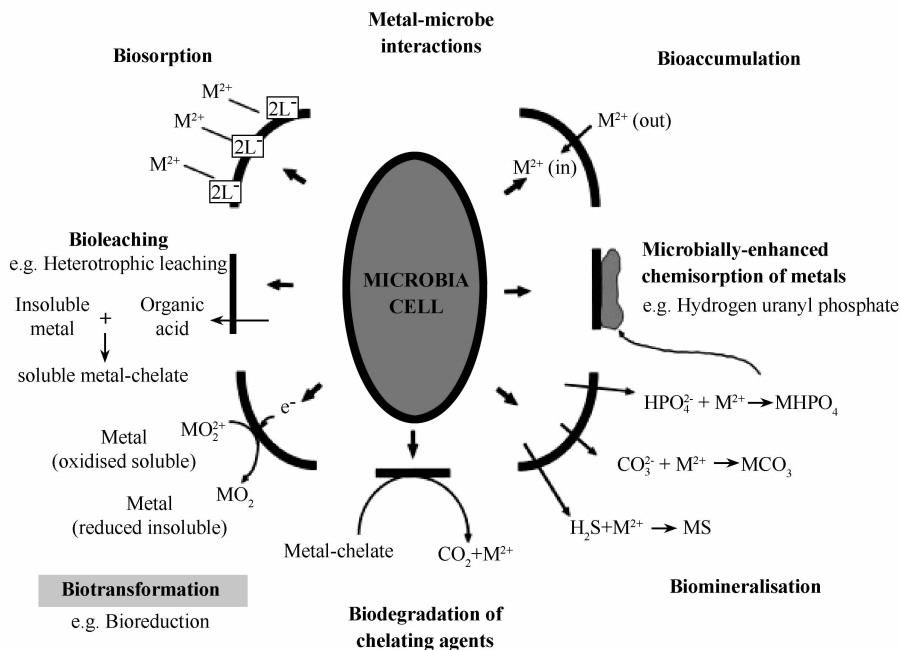


图2 微生物-重金属相互作用对生物修复的影响^[24]

Fig. 2 Metal-microbe interactions affecting bioremediation.

3.2 微生物-植物联合修复作用

微生物-植物联合修复作用是利用促植物生长根际细菌(PGPR)分泌的表面活性剂、有机酸、酶等来提高土壤重金属的生物有效性,促进植物对重金属的吸收、累积或固定效率^[25-27];另一方面是分泌特异性酶(如ACC脱氨酶)、植物激素(如IAA)、维生素、抗生素等以及氮固定(如根瘤菌)来促进植物生长,提高植物生物量,从而增加重金属的总积累量^[25-28]。反之,植物在整个生长期根部不断地分泌一些有机化合物(如糖、蛋白质、氨基酸等)以及有机酸、酚类等,不仅为微生物提供了丰富能源和碳源,还可改善根际土壤的物理和化学性质,对微生物的繁殖生长都起到促进作用。微生物-植物联合修复通过发挥微生物和植物各自的优点,最大限度弥补了它们各自修复土壤重金属污染的不足,提高了植物的修复效率。

在重金属污染地,重金属毒性和养分不足是重金属污染地植被恢复的主要限制因子,而氮素的极端不足又是养分不足的核心问题,提高重金属污染地氮素含量水平成为重金属污染地生态修复的首要工作^[29]。根瘤菌-豆科植物共生体系是已知固氮能力最强、固氮量大、抗逆能力强的生物固氮体系之一,它们之间是一种紧密互利关系,是其适应胁迫环境(如营养物质匮乏、干旱、重金属污染等)的有效

策略之一。把豆科植物作为重金属污染地的先锋植物,利用根瘤菌-豆科植物共生体系的固氮作用来加速污染地氮素积累,进而促进污染地的营养元素循环和积累,已成为重金属污染地植被恢复研究的热点问题之一。

3.3 根瘤菌-豆科植物共生体系修复土壤重金属污染

3.3.1 抗重金属根瘤菌的筛选及促植物生长特性:

近年来,国内外对根瘤菌、豆科植物及二者的共生体系开展了大量研究^[30-34]。高浓度的重金属能引起根瘤菌和豆科植物的共生固氮质粒丢失^[34],也会影响到植物根系发育和营养元素的吸收^[33],对结瘤和固氮产生限制。目前,已筛选出多种重金属抗性根瘤菌并对其促植物生长特性进行了研究(表1)。Abou-Shanab等^[35]从Ni污染的土壤中分离出46种微生物并对其分类,对其在含有Cd、Zn和Ni等9种重金属平板进行耐性测定,发现*Rhizobium etli* AY460185和*Rhizobium gallicum* AY509211对Zn具有很好的耐性,在TBLPA固体培养基上最小抑制浓度(MIC)为10 mmol/L。Wani等^[36-37]从印度马图拉重金属污染地生长的Pea和Greengram的根瘤中分别分离出对镍锌具有很好的抗性*Rhizobium* sp. RP5和*Bradyrhizobium* sp. (*vigna*) RM8,在YEM固体培养基上*Rhizobium* sp. RP5耐受350 μg/mL的Ni和1500 μg/mL的Zn,可产生促植物生长物质IAA和

铁载体;当接种 *Rhizobium* sp. RP5 和未接种 *Rhizobium* sp. RP5 的 Pea 种植于含 290 mg/kg 镍和 4890 mg/kg 锌的土壤中,接种 *Rhizobium* sp. RP5 豌豆的干重、根氮含量、茎氮含量、种子生产量、豆蔻血红蛋白含量比未接种 *Rhizobium* sp. RP5 分别提高了 18%、25%、42%、26%、23%,表明 *Rhizobium* sp. RP5 对镍锌具有很好的抗性,可促进豌豆在镍锌污

染土壤中固氮效率和生长。同样, *Bradyrhizobium* sp. (*vigna*) RM8 耐受 300 $\mu\text{g/mL}$ Ni 和 1400 $\mu\text{g/mL}$ Zn,并产生铁载体和氢氰酸,对 Greengram 具有很好的促生长作用。Vidal 等^[38]从法国南部 Zn 尾矿筛选一株 *Mesorhizobium metallidurans* STM 2683,在 YEM 液体培养基中可耐受 32 mmol/L 的 Zn 和 0.5 mmol/L 的 Cd,并证明是一个新种。

表 1 重金属抗性根瘤菌及其促植物生长分泌物

Table 1 Heavy metal resistance rhizobia and Plant growth promoting substance by rhizobia

菌株 Strains	重金属 Heavy metals	促植物生长物质 Plant growth promoting substance	参考文献 References
<i>B. japonicum</i>		siderophore	[50]
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i> 128C53K		ACC deaminase	[51]
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> ARPV02		P-solubilization	[49]
<i>R. leguminosarum</i> MRP1		IAA	[52]
<i>S. meliloti</i> Alf12	As, Pb		[38]
<i>R. leguminosarum</i> MAI9-1	Cd		[56]
<i>R. etli</i> AY460185	Zn		[43]
<i>R. gallicum</i> AY509211	Zn		[43]
<i>Rhizobium</i> sp. RP5	Ni, Zn	IAA, siderophore	[44]
<i>Bradyrhizobium</i> sp. RM8	Ni, Zn	IAA, siderophore, HCN	[44]
<i>Rhizobium</i> sp. RL9	Zn	IAA, siderophore, HCN	[44]
<i>Mesorhizobium</i> sp. RC3	Cd	IAA, siderophore	[45]
<i>Cupriavidus taiwanensis</i> TJ208	Cu, Cd, Pb		[64]
<i>M. metallidurans</i> STM 2683	Zn, Cd		[46]
<i>B. liaoningense</i> CCNWSX0403	Cu, Zn		[54]
<i>B. liaoningense</i> CCNWSX0360	Zn		[54]
<i>S. meliloti</i> CCNWSX0003	Ni		[54]
<i>S. meliloti</i> CCNWSX0020	Cu	IAA, siderophore	[39]

根瘤菌作为一类内生菌,通过长期的进化与植物形成了比较稳定的互惠关系,其在组织内部能更好的向植物提供营养,发挥促生作用;同时位于植物内部,植物对其提供营养和保护,不易受到外界不利

自然环境的影响,能更加稳定的发挥作用。根瘤菌与其它促生菌一样,可以分泌促植物生长物质(表 1),促进豆科植物生长和重金属累积,应用于重金属污染地的生态修复(图 3),主要通过以下几种方

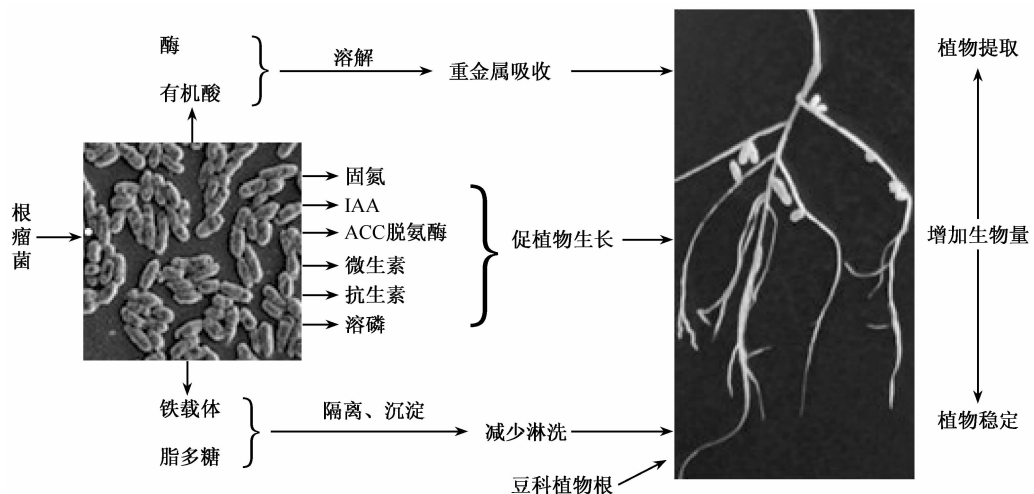


图 3 根瘤菌-豆科植物共生体系应用于重金属污染地的生态修复

Fig. 3 Rhizobia-legume symbiosis for remediation of heavy metals contaminated soils.

式:(1)通过固氮作用为植物生长提供所需要的氮^[39]; (2)通过分泌一些有机酸、氨基酸、酶等促进难容矿物质的溶解,增加植物对磷及其他营养物质的吸收^[40-41],还可以改善土壤的理化性质,增加根表面积,促进植物生长^[22]; (3)通过分泌植物激素(如 IAA、细胞分裂素)、维生素、铁载体、特异性酶(如 ACC 脱氨酶)等提高植物的生物量^[36-37,42-44]。(4)一些根瘤菌分泌物可降低或阻止植物病原菌对植物的侵染,提高植物的生物量^[45]。

我们实验室的梁建强等^[46]对分离自陕西、甘肃部分金属尾矿区地寄主为刺槐、鸡眼草、草木樨等 23 种豆科植物的 188 株根瘤菌进行了 Cu、Pb、Cd 等 7 种重金属耐性分析,从中分离出 3 株重金属耐性较好的根瘤菌(表 1)。此外,我们还从陕西太白尾矿自然生长的天蓝苜蓿根瘤中分离出一株 *Sinorhizobium meliloti* CCNWSX0020,在 TY 固体培养基上可耐 1.4 mmol/L 的 Cu^{2+} ,并且产 IAA 和铁载体,通过盆栽试验,证实 *S. meliloti* CCNWSX0020 可以促进天蓝苜蓿生长和对铜的吸收^[31]。

3.3.2 根瘤菌对重金属的抗性和解毒机制:在自然进化过程中,根瘤菌对有害物质和环境改变形成了一定的适应性,表现为根瘤菌的抗性。Figueira 等^[47]研究 *R. leguminosarum* bv. *viciae* 对 Cd 具有不同抗性水平的菌株在镉处理前后还原型谷胱甘肽(GSH)的变化,结果表明 Cd 抗性根瘤菌株在处理前后 GSH 值变化极显著,GSH 对 Cd 起到一定的解毒作用。Pereira 等^[48]对 *R. leguminosarum* bv. *viciae* 的抗 Cd 机制进一步深入研究,表明在中等浓度 Cd 胁迫下,细胞分泌脂多糖(LPS)含量增加,使 Cd 积聚于细胞壁;当 Cd 浓度较高时,细胞壁积聚的 Cd 饱和,Cd 进入细胞内部,此时能量输出系统发挥作用。Carrasco 等^[30]从黄铁矿溢出污染区,分离得到 41 株根瘤菌可耐高达 300 mg/L 的 As、100 mg/L 的 Cu 和 500 mg/L 的 Pb;菌株 *S. meliloti* Alf12 可产生大量的多糖,且富集的 As 主要集中在细胞壁上,表明富集的 As 可能主要和这些多糖结合以降低其毒性;通过 PCR 扩增出 As 抗性基因 *arsB* 和 Cu 抗性基因 *copA*,表明还有其他抗性机制参与重金属 As、Cu 的抗性。总之,目前根瘤菌的重金属抗性和解毒机制研究还相对较少,有待进一步研究。

我们从尾矿区天蓝苜蓿根瘤中筛选出一株 Cu 抗性根瘤菌 *S. meliloti* CCNWSX0020,它吸附 Cu 的

水平为 8.91 mg/g;对其在铜胁迫下进行扫描电镜(SEM)和能谱分析(EDX)研究,表明菌体依靠变形和聚集提高对 Cu^{2+} 的抗性,细胞壁上脂多糖(LPS)参与了 Cu 的聚集;红外光谱分析(FT-IR)表明,该菌株细胞壁上的活性基团-OH、 $-\text{NH}_4^+$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $(-\text{CO}-\text{NH}-)$ 、 $-\text{C}_6\text{H}_5$ 参与铜离子的络合作用。通过 PCR 扩增出 Cu 的抗性基因 *pcoA* 和 *pcoR*,并定位于 1.4 Mb 的质粒上,经 PcoA 蛋白和 PcoR 蛋白的结构域分析,推测在该菌株中可能存在质粒上的 *pco* 铜抗性系统。以上结果表明 Cu 抗性根瘤菌 *S. meliloti* CCNWSX0020 可以通过吸附、胞外沉淀或结晶来抵抗 Cu 的毒性,也可以通过能量介导的输出系统来降低 Cu 的毒性^[31]。

3.3.3 重金属耐性豆科植物及其利用:豆科植物是植物界中的第三大科,分 3 个亚科、748 属、约 20000 种,有着丰富的共生固氮资源。在矿业废弃地植被重建的初始阶段,植物种类的选择至关重要。物种的选择应以物种对土壤基质的适应性和改良效果为基础。当前,国际上都非常重视重金属耐性豆科植物的发现和选择,并进行豆科植物修复矿业废弃地的实践。张志权等^[29]对安徽铜陵铜矿废弃地、甘肃白银铜矿废弃地、金昌镍矿废弃地、陕西金堆城钼矿废弃地和广东乐昌铅锌矿废弃地等自然植被进行调查,发现有不少自然生长在废弃地中的豆科植物。Kruckeberg 等^[49]在美国加州北部的铜矿废弃地上发现了生长良好的 *Lotus purshianus*、*Lupinus bicolor* 和 *Trifolium pratense* 豆科植物,对铜具有很好的耐性,其分离的共生根瘤菌对铜也有很好的耐性。Day 等^[50]在美国亚利桑那州南部铜尾矿 4 种不同的土壤中种植豆科植物 *Lupinus hirsutus*、*Sesbania macrocarpa* 和 *Medicago sativa*,对其发芽率、地上部分产量/ m^2 、株高和地表覆盖率进行了研究,表明 3 种植物都能适应于 4 种铜尾矿土壤。Thatoi 等^[51]在铁尾矿废弃地种植 *Sesbania grandiflora*、*Leucaena leucocephala*、*Acacia nilotica*、*Acacia auriculiformis*、*Prosopis juliflora* 和 *Albizia lebbek* 6 种豆科植物,通过对其根茎干湿重、结瘤数及大小、植物总氮含量等综合分析,发现在铁矿业废弃地上 *L. leucocephala* 和 *A. nilotica* 最适宜于生长,可用于尾矿修复。张志权等^[52]在铅锌尾矿废弃地上引入木本豆科植物银合欢,发现银合欢可成功定居并开花结果,且植物体内 80% 的铅累积于根和茎中。以上成功地实践

表明,自然界存在一些对重金属污染环境具有耐性的豆科植物,利用豆科植物修复重金属污染地是非常有价值的。

我们对陕西和甘肃部分重金属尾矿废弃地自然生长的植物进行调查,发现确实存在一些对矿业废弃地环境条件适应的不同生态型耐性豆科植物(表

2),特别是天蓝苜蓿(*Medicago lupulina*),草木樨(*Melilotus suaveolens*),刺槐(*Robinia pseudoacacia*)和截叶铁扫帚(*Lespedeza cuneata*)可在局部矿区废弃地呈现优势种。这些豆科植物有待发掘、筛选和利用,为利用豆科植物促进我国西北地区矿业废弃地植被恢复奠定了基础。

表 2 中国西北部分地区重金属矿区废弃地自然生长的一些豆科植物

Table 2 Some naturally occurring legumes on metal tailings in the northwest of China

调查地区 Investigated site	尾矿 Mine tailing	植物 Plant
陕西太白	金矿	天蓝苜蓿(<i>M. lupulina</i>)
陕西凤县	金矿	天蓝苜蓿(<i>M. lupulina</i>), 草木樨(<i>M. suaveolens</i>), 野豌豆(<i>Vicia sepium</i>), 菜豆(<i>P. vulgaris</i>), 狼牙刺(<i>Sophora viciifolia</i>)
	铅锌矿	天蓝苜蓿(<i>M. lupulina</i>), 草木樨(<i>M. suaveolens</i>), 菜豆(<i>Phaseolus vulgaris</i>)
陕西北强	铁矿	天蓝苜蓿(<i>M. lupulina</i>), 截叶铁扫帚(<i>L. cuneata</i>), 掐不齐(<i>Kummerowia striata</i>), 多花胡枝子(<i>Lespedeza floribunda</i>), 白三叶(<i>Trifolium repens</i>)
	铜锌矿	天蓝苜蓿(<i>M. lupulina</i>), 截叶铁扫帚(<i>L. cuneata</i>), 多花胡枝子(<i>L. floribunda</i>), 豇豆(<i>Vigna unguiculata</i>)
陕西略阳	金矿	天蓝苜蓿(<i>M. lupulina</i>), 草木樨(<i>M. suaveolens</i>), 刺槐(<i>R. pseudoacacia</i>), 菜豆(<i>P. vulgaris</i>), 合欢(<i>Albizia julibrissin</i>)
	镍矿	刺槐(<i>R. pseudoacacia</i>)
	镍矿 铁矿	截叶铁扫帚(<i>L. cuneata</i>), 多花胡枝子(<i>L. floribunda</i>) 截叶铁扫帚(<i>L. cuneata</i>)
甘肃成县	铅锌矿	天蓝苜蓿(<i>M. lupulina</i>), 刺槐(<i>R. pseudoacacia</i>), 白香草木樨(<i>Melilotus albus</i>), 多花胡枝子(<i>L. floribunda</i>)
	金矿	刺槐(<i>R. pseudoacacia</i>), 白香草木樨(<i>M. albus</i>), 多花胡枝子(<i>L. floribunda</i>)
甘肃徽县	铅锌矿	天蓝苜蓿(<i>M. lupulina</i>), 刺槐(<i>R. pseudoacacia</i>), 截叶铁扫帚(<i>L. cuneata</i>), 掐不齐(<i>K. striata</i>), 狼牙刺(<i>S. viciifolia</i>)

3.3.4 根瘤菌-豆科植物共生体系的生态修复:根瘤菌在土壤中长期缓慢生长,但如果它们侵染匹配的豆科植物后就能迅速繁殖。一个根瘤菌如果能够成功侵染就能在豆科植物的根部形成根瘤,可繁殖 10^8 细菌后代^[53],还能以内生菌方式遍布植株全身,即可给植物提供一定的氮素,也可以通过其分泌物促进植物生长和重金属积累。Carrasco等^[30]研究黄铁矿污染区根瘤菌-豆科植物共生体系的特性时发现,在重金属污染的土壤中,未接种*S. meliloti* Alf12的alfalfa的生物量很小,表现出明显的氮营养不足特征;接种重金属抗性*S. meliloti* Alf12的生长较好,尽管结瘤数目下降1/3,但固氮酶活性和大小没有明显的变化。Reichman研究了As对大豆-根瘤菌共生体系的影响,发现在含 $10\mu\text{mol/L}$ 的As营养液中生长的*Glycine max cv. Curringa*茎和根干重显著降低,接种*B. japonicum* CB1809的植物总生物量相对于未接种的植物提高了38%,但植物体内的氮含量并没有增加,推断*B. japonicum* CB1809可能分泌一些植物激素,促进了植物生长^[54]。Younis研究

了Cd、Zn、Co、Cu对接种和未接种根瘤菌的*Lablab purpureus*生长的影响,接种的植物根瘤数和生物量都显著升高,根瘤中重金属积累量明显高于植物根和茎中的含量;根瘤中重金属的积累提高了植物对重金属的抗性,促进了植物的生长^[55]。Chen等^[56]研究了*Cupriavidus taiwanensis* TJ208对Pb、Cu、Cd胁迫下含羞草(*M. puduca*)生长的影响,接种*C. taiwanensis* TJ208后,*M. puduca*重金属吸收能力显著提高,可吸收485mg/g的Pb、25mg/g的Cu和43mg/g的Cd,与未接种相比分别提高了86%、12%和70%,在根、茎和根瘤中含量分别占65%–95%、2%–23%和3%–12%。我们对Cu抗性根瘤菌*S. meliloti* CCNWSX0020的利用进行了研究,在含0和100 mg/kg的Cu的蛭石中,接种后的*M. lupulina*提高了对Cu的抗性和生物量,生物量分别提高了45.8%和78.2%;在含 $100\mu\text{mol/L}$ 的Cu的无氮营养液培养中,接种后的*M. lupulina*体内Cu的含量提高了39.3%^[31]。上述研究表明利用根瘤菌-豆科植物共生体系,即可通过固氮作用加速污染地氮素

积累,进而促进污染地养分循环和营养元素得积累,又可富集污染地中的重金属,修复生态环境。

4 展望

豆科植物-根瘤菌共生体系修复技术是治理重金属污染土壤和矿区废弃地的有效手段。但是在矿区废弃地中,根瘤菌和宿主豆科植物的生存、生长、繁殖、共生能力及固氮效率都会受到重金属毒性、土壤营养成分、气候等诸多环境因素的影响。因此,豆科植物-根瘤菌共生体系修复技术在实际应用中尚未获得突破性进展,目前多数研究仍集中在豆科植物、根瘤菌及其共生体系筛选、重金属毒性、抗性机理等实验室研究阶段,还有许多问题有待进一步研究。(1)进一步筛选耐重金属并促植物生长的根瘤菌,实现根瘤菌与豆科植物的最佳匹配,构建具有高修复效率和高稳定性的豆科植物-根瘤菌共生体系的修复模式。(2)开展重金属污染土壤中的根瘤菌种群、数量、群落结构、代谢功能等指标变化的定量研究,为修复土壤污染提供依据。(3)研究根瘤菌对宿主植物根际重金属形态变化,提高其生物利用率。(4)研究根瘤菌与宿主植物的共生关系,阐明根瘤菌强化植物修复的机制。(5)从分子水平上深入研究根瘤菌的抗性机制及功能基因在重金属污染环境条件下的表达调控,从功能上阐明分子适应及根瘤菌-豆科植物共生修复过程的分子机理,为改造、利用环境工程菌奠定基础。(6)将豆科植物-根瘤菌共生系统与其他修复措施相结合,形成新工艺,提高其修复效率,应用于实践修复。

种植固氮植物是经济效益与生态效益俱佳的土壤基质改良方法,对生态系统的稳定与发展起着关键作用。目前,研究固氮菌-豆科植物作为修复重金属污染地先锋植物的可能性在国际上成为一个新的热点,涉及到植物化学、植物生态学、土壤化学、土壤微生物学、生态学、环境科学和分子生物学等多个学科,在进行研究时应加强学科之间的合作,明确豆科植物-根瘤菌共生体系在污染环境恢复中的重要性,对其进行多层次、大范围、深入的研究,为充分利用豆科植物-根瘤菌共生体系修复环境污染提供理论依据和实践指导,从而维持污染环境的氮素平衡和生态系统稳定,实现可持续发展及人类与环境的和谐。

参考文献

- [1] Nriagu JO. Global metal pollution: poisoning the biosphere?. *Environment: Science and Policy for Sustainable Development*, 1990, 32(7): 7-33.
- [2] Wu S, Xia XH, Lin CY, Chen X, Zhou CH. Levels of arsenic and heavy metals in the rural soils of Beijing and their changes over the last two decades (1985 - 2008). *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 179: 860-869.
- [3] Ryan JA, Pahren HR, Lucas JB. Controlling cadmium in the human food chain: a review and rationale based on health effects. *Environmental Research*, 1982, 28: 251-302.
- [4] Yáñez L, Ortiz D, Calderón J, Batres L, Mejía J, Martínez L, García-Nieto E, Díaz-Barriga F. Overview of human health and chemical mixtures: problems facing developing countries. *Environmental Health Perspect*, 2002, 110 (Suppl. 6): 901-909.
- [5] Caeiro S, Costa MH, Ramos TB, Fernandes F, Silveira N, Coimbra A, Medeiros G, Painho M. Assessing heavy metal contamination in Sado Estuary sediment: An index analysis approach. *Ecological Indicators*, 2005, 5: 151-169.
- [6] Fairbrother A, Wenstel R, Sappington K. Framework for metals risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, 68: 145-227.
- [7] Adriano DC. Trace elements in the terrestrial environment: Biogeochemistry Bioavailability and Risks of Metals. 2nd edn. New York: Springer, 2001: 91-98.
- [8] McGrath SP, Chaudri AM, Giller KE. Long-term effects of metals in sewage on soil, microorganisms and plants. *Journal of Industrial Microbiology*, 1995, 14: 94-104.
- [9] Gadd GM. Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology*, 2010, 156: 609-643.
- [10] Wang J, Wang G, Wanyan H. Treated wastewater irrigation effect on soil, crop and environment: Wastewater recycling in the loess area of China. *Journal of Environmental Sciences*, 2007, 19(9): 1093-1099.
- [11] Dragović S, Mihailović N, Gajić B. Heavy metals in soils: distribution, relationship with soil characteristics and radionuclides and multivariate assessment of contamination sources. *Chemosphere*, 2008, 72: 491-495.
- [12] Nouri J, Khorasani N, Lorestani B, Karami M, Hassani AH, Yousefi N. Accumulation of heavy metals in soil and uptake by plant species with phytoremediation potential. *Environmental Earth Sciences*, 2009, 59(2): 315-323.

- [13] Hseu ZY, Su SW, Ai HY. Remediation techniques and heavy metal uptake by different rice varieties in metal-contaminated soils of Taiwan; New aspects for food safety regulation and sustainable agriculture. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2010, 56; 31-52.
- [14] Kord B, Mataji A, Babaie S. Pine (*Pinus eldarica* Medw.) needles as indicator for heavy metals pollution. *International journal of Environmental Science and Technology*, 2010, 7(1): 79-84.
- [15] 张甲耀, 李静. 生物修复技术研究进展. 应用与环境生物学报 (*Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*), 1996, 2(2): 193-199.
- [16] Frostegård Å, Tunlid A, Bååth E. Changes in microbial community structure during long-term incubation in two soils experimentally contaminated with metals. *Soil Biology Biochemistry*, 1996, 28(1): 55-63.
- [17] Maier RM, Pepper LL, Gerba CP. 环境微生物学. 张甲耀, 等译. 北京: 科学出版社, 2004: 545-550.
- [18] Nies DH. The cobalt, zinc, and cadmium efflux system CzcABC from *Alcaligenes eutrophus* functions as a cation-proton antiporter in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177(10): 2707-2712.
- [19] Nies DH. Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes. *FEMS Microbiology Reviews*, 2003, 27(2-3 Interactions of Bacteria With Metals): 313-339.
- [20] Grass G, Fricke B, Nies DH. Control of expression of a periplasmic nickel efflux pump by periplasmic nickel concentrations. *Biometals*, 2005, 18(4): 437-448.
- [21] Rensing C, Grass G. *Escherichia coli* mechanisms of copper homeostasis in a changing environment. *FEMS Microbiology Reviews*, 2003, 27: 197-213.
- [22] Nies DH. Microbial heavy metal resistance. *Applied Microbiology Biotechnology*, 1999, 51: 730-750.
- [23] Barkay T, Miller SM, Summers AO. Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews*, 2003, 27: 355-384.
- [24] Tabak HH, Lens P, van Hullebusch ED, Dejonghe W. Developments in bioremediation of soils and sediments polluted with metals and radionuclides-1. Microbial processes and mechanisms affecting bioremediation of metal contamination and influencing metal toxicity and transport. *Reviews in Environmental Science Biotechnology*, 2005, 4: 115-156.
- [25] Chen YX, Wang YP, Lin Q, Luo YM. Effect of copper-tolerant rhizosphere bacteria on mobility of copper in soil and copper accumulation by *Elsholtzia splendens*. *Environment International*, 2005, 31: 861-866.
- [26] Sheng XF, Xia JJ. Improvement of rape (*Brassica napus*) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria. *Chemosphere*, 2006, 64: 1036-1042.
- [27] Glick BR. Phytoremediation; synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnology Advances*, 2002, 21: 383-393.
- [28] Khan MS, Zaidi A, Wani PA, Oves M. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environmental Chemistry Letters*, 2009, 7: 1-19.
- [29] 张志权, 束文圣. 豆科植物与矿业废弃地植被恢复. 生态学杂志 (*Chinese Journal of Ecology*), 2002, 21(2): 47-52.
- [30] Carrasco JA, Armario P, Pajuelo E, Burgos A, Caviedes MA, López R, Chamber MA, Palomares AJ. Isolation and characterization of symbiotically effective *Rhizobium* resistant to arsenic and heavy metals after the toxic spill at the Aznalcollar pyrite mine. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37: 1131-1140.
- [31] Fan LM, Ma ZQ, Lang JQ, Li HF, Wang ET, Wei GH. Characterization of a copper-resistant symbiotic bacterium isolated from *Medicago lupulina* growing in mine tailings. *Bioresource Technology*, 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2010.08.046.
- [32] Delorme TA, Gagliardi JV, Angle JS, Van Berkum P, Chaney RL. Phenotypic and genetic diversity of rhizobia isolated from nodules of clover grown in a zinc and cadmium contaminated soil. *Soil Science Society of America Journal*, 2003, 67: 1746-1752.
- [33] Liu YG, Zhang HZ, Zeng GM, Hung BR, Li X. Heavy metal accumulation in plants on Mn mine tailings. *Redosphere*, 2006, 16(1): 131-136.
- [34] Giller KE, McGrath SP, Hirsch PR. Absence of nitrogen fixation in clover grown on soil subject to long-term contamination with heavy metals is due to survival of only ineffective *Rhizobium*. *Soil biology and biochemistry*, 1989, 21(6): 841-848.
- [35] Abou-Shanab RAI, Berkum P, Angle JS. Heavy metal resistance and genotypic analysis of metal resistance genes in gram-positive and gram-negative bacteria present in Ni-rich serpentine soil and in the rhizosphere of *Alyssum murale*. *Chemosphere*, 2007, 68: 360-367.
- [36] Wani PA, Khan MS, Zaidi A. Effect of metal tolerant plant growth promoting *Bradyrhizobium* sp. (*vigna*) on growth, symbiosis, seed yield and metal uptake by greengram plants. *Chemosphere*, 2007, 70: 36-45.

- [37] Wani PA, Khan MS, Zaidi A. Effect of metal-tolerant plant growth-promoting *Rhizobium* on the performance of Pea grown in metal-amended soil. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008, 55: 33-42.
- [38] Vidal C, Chantreuil C, Berge O, Mauré L, Escarré J, Béna G, Brunel B, Cleyet-Marel JC. *Mesorhizobium metallidurans* sp. nov., a metal-resistant symbiont of *Anthyllis vulneraria* growing on metalcolous soil in Languedoc, France. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, 59:850-855.
- [39] Zaidi A, Khan MS, Aamil M. Bioassociative effect of rhizospheric microorganisms on growth, yield and nutrient uptake of greengram. *Journal of Plant Nutrition*, 2004, 27:599-610.
- [40] Kamnev AA. Reductive solubilization of Fe (III) by certain products of plant and microbial metabolism as a possible alternative to siderophore secretion. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 1998, 358-360:48-51.
- [41] Abril A, Zurdo-Piñeiro JL, Peix A. Solubilization of phosphate by a strain of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* isolated from *Phaseolus vulgaris* in El Chaco Arido soil (Argentina). *Developments in Plant and Soil Sciences*, 2007, 102:135-138.
- [42] Wittenberg JB, Wittenberg BA, Day DA, Udvardi MK, Appleby CA. Siderophore-bound iron in the peribacteroid space of soybean root nodules. *Plant and Soil*, 1996, 178:161-169.
- [43] Ma W, Guinel FC, Glick BR. *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase promotes nodulation of pea plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69:4396-4402.
- [44] Ahemad M, Khan M. Comparative toxicity of selected insecticides to pea plants and growth promotion in response to insecticide-tolerant and plant growth promoting *Rhizobium leguminosarum*. *Crop Protection*, 2010, 29:325-329.
- [45] Khan MS, Zaidi A, Aamil M. Biocontrol of fungal pathogen by the use of plant growth promoting rhizobacteria and nitrogen fixing microorganisms. *Journal of the Indian Botanical Society*, 2002, 81:255-263.
- [46] 梁建强,段晓丹,崔广玲,唐静,朱闻斐,韦革宏. 西北地区金属尾矿地根瘤菌的重金属抗性及其系统发育研究. 农业环境科学学报 (*Journal of Agro-Environment Science*), 2009, 28(6):1120-1126.
- [47] Figueira E, Lima AIG, Pereira SIA. Cadmium tolerance plasticity in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*: glutathione as a detoxifying agent. *Canadian Journal of Microbiology*, 2005, 51(1):7-14.
- [48] Pereira SIA, Lima AIG, Figueira EMAP. Heavy metal toxicity in *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* isolated from soils subjected to different sources of heavy-metal contamination: Effects on protein expression. *Applied Soil Ecology*, 2006, 33:286-293.
- [49] Kruckeberg AL, Wu L. Copper tolerance and copper accumulation of herbaceous plants colonizing inactive California copper mines. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1992, 23(3):307-319.
- [50] Day AD, Ludeke KL. The use of legumes for reclaiming copper mine wastes in the Southwestern USA. *Environmental Geochemistry and Health*, 1981, 1:21-23.
- [51] Thatoi H, Misra AK, Padhi GS. Comparative growth, nodulation and total nitrogen content of six tree legume species grown in iron mine waste soil. *Journal of Tropical Forest Science*, 1995, 8(1):107-115.
- [52] 张志权,束文圣,蓝崇钰,黄铭洪. 引入土壤种子库对铅锌尾矿废弃地植被恢复的作用. 植物生态学报 (*Acta Phytocologica Sinica*), 2000, 24(5):601-607.
- [53] Downie A. Fixing a symbiotic circle. *Nature*, 1997, 387(6631):352-354.
- [54] Reichman SM. The potential use of the legume-rhizobium symbiosis for the remediation of arseniccontaminated sites. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39: 2587-2593.
- [55] Younis M. Responses of *Lablab purpureus-rhizobium* symbiosis to heavy metals in pot and field experiments. *World Journal of Agricultural Sciences*, 2007, 3(1):111-122.
- [56] Chen WM, Wu CH, James EK, Chang JS. Metal biosorption capability of *Cupriavidus taiwanensis* and its effects on heavy metal removal by nodulated *Mimosa pudica*. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 151:364-371.

Application of rhizobia-legume symbiosis for remediation of heavy-metal contaminated soils

Gehong Wei^{*}, Zhanqiang Ma

(College of Life Sciences, Shaanxi Key Laboratory of Molecular Biology for Agriculture, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

Abstract: Heavy-metal pollution in soil is a major threat to human health and the entire ecosystem. Legumes and their associated rhizobial microorganisms are important for the biogeochemical cycles in agriculture and natural ecosystems. Legume-rhizobia symbiosis is very important in restoration of heavy-metal contaminated soils because the fixation of atmospheric nitrogen by legume-rhizobium symbiosis can increase the accumulation of nitrogen and organic matter. We reviewed the importance of remediation of heavy-metal contamination in soil and the current situation of remediation techniques, analysed the advantages and disadvantages of each remedial techniques. We address especially the superiority, recent advances and potential application of the legume-rhizobium symbiosis in remediation of heavy-metal contaminated soils.

Keywords: Rhizobia; Legumes; Symbiosis; Heavy metal; Bioremediation

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30970003, 31070444, 30900215)

^{*} Corresponding author. Tel: +86-29-87091175; E-mail: weigehong@yahoo.com.cn

Received: 5 October 2010

1953年创刊以来所有文章全文上网

从2008年1月开始《微生物学报》的所有文章开始全文上网了。欢迎广大读者登陆本刊主页(<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>)浏览、查询、免费下载全文! 由于《微生物学报》历史久远, 为方便读者查阅, 将刊期变化作以下统计。

《微生物学报》刊、期统计表

2010年11月统计

时间	刊期	卷号	期号
1953 - 1956	半年刊	1 - 4	1 - 2
1957 - 1958	季刊	5 - 6	1 - 4
1959	季刊	7	1 - 2
1959 - 1962	停刊3年		
1962	季刊	8	3 - 4
1963 - 1965	季刊	9 - 11	1 - 4
1966	季刊	12	1 - 2
1966 - 1972	停刊6年半		
1973 - 1988	季刊	13 - 28	1 - 4
1989 - 2007	双月刊	29 - 47	1 - 6
2008	月刊	48	1 - 12
2009	月刊	49	1 - 12
2010	月刊	50	11