

DOI: 10.11766/trxb201210110407

根际促生菌及其在污染土壤植物修复中的应用*

马莹¹ 骆永明^{1,2†} 滕应¹ 李振高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 植物对重金属吸收、转运和积累以及植物生物学特征使其成为修复重金属污染土壤的重要手段之一。然而,由于植物对重金属的耐受性有限而限制其广泛实际应用,因而探讨植物修复技术强化措施就显得尤为重要。随着自然资源的开发和技术的发展,微生物调控使植物修复技术变得更为可行和更有价值。回顾近年来新兴的微生物调控技术,植物根际促生菌资源因其对环境无污染,可利用自身的抗性系统减缓重金属对植物的毒性,促进植物的生长和影响重金属的迁移等优势,在修复过程中发挥着重要作用。目前,国内外就植物根际促生菌的筛选、鉴定和应用价值等方面已经做了大量的相关研究。本文综述了根际促生菌-植物相互作用的机制及其促进植物修复重金属污染土壤的作用原理。

关键词 根际促生菌;污染土壤;植物修复;重金属;生物有效性

中图分类号 X172 文献标识码 A

随着现代工业的发展,重金属不可避免地进入环境,导致土壤质量恶化,严重威胁着农业生产和人类健康^[1-2]。据农业部调查,我国遭受重金属污染的土地面积占污水灌区总面积的64.8%^[3],正面临着严重的农田土壤重金属污染问题^[4]。因此,修复重金属污染土壤显得尤为重要。传统的物理、化学治理措施,虽然在一定程度上减少了重金属在土壤及生态环境中的迁移性,但是存在能耗大、二次污染、破坏土壤团粒结构等问题限制了其应用^[5]。土壤重金属污染的植物修复以其经济、环境友好、修复面积大等优点逐渐为人们所重视^[6]。然而,利用植物特别是超富集植物治理污染环境仍存在很多局限性,如受修复植物生长速度和生物量的限制,被土壤类型、水分、有机质含量等环境条件所制约,以及过高或过低的重金属浓度均能影响植物修复效率。因此,如何提高植物对重金属的抗性,调节植物生长就显得尤为重要。面对“微生物-植物-土壤”这个充满活力的生态系统,着力于庞大微生物群体的系统研究对于发现有益于植物的微生物种类很有帮助。根际微生物作为一类生活在植物

根际土壤中的微生物,对于缓解宿主植物的生长压力充当着重要的角色。研究发现其中一些可以提高宿主植物的抗逆性,尤其是对重金属^[7-9]。虽然大部分微生物-植物-污染土壤之间的代谢、分子等互动机制还处于研究的起步阶段,但目前的研究成果表明,根际微生物在植物修复污染环境过程中起着非同一般的作用^[10-12]。

1 植物根际促生菌

根际细菌(Rhizobacteria)是指在植物根系直接影响的土壤范围内生长繁殖的细菌,即来自根围、土壤或其他生境的细菌总称^[13]。在外界环境影响下,它们与植物根系相互作用、相互依存或制衡。植物通过光合作用形成碳水化合物,再将其输送到根部,由根系提供给土壤中的细菌。作为交换,大量聚集在根系周围的细菌可将土壤中有有机物转变为无机物,为植物提供有效的矿物营养;同时,根际细菌还可分泌维生素、生长激素、抗生素等,直接或间接促进植物生长。植物从这些相互作用中获得

* 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)、中国科学院王宽诚博士后工作奖励基金(2012)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@gmail.com

收稿日期:2012-10-11;收到修改稿日期:2013-05-31

了更完善的营养,也获得了某些对逆境的忍耐能力^[12,14]。植物根际促生菌(Plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)是一类能够自由生长或定殖于植物根系,并显著地促进植物生长发育和新陈代谢以及防止病害的有益菌^[15]。大部分植物根际促生菌可以分泌吲哚乙酸(Indole-3-acetic acid, IAA)、维生素(Antibiotic)以及利用 1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylate, ACC)作为唯一氮源,促进植物的生长发育^[16-17]。这一特征已成为从植物根际土壤中筛选 PGPR 的基本手段。其次,PGPR 还可以通过合成铁载体(Siderophore)、生物固氮(Nitrogen fixation)、溶磷(Phosphate solubilization)等途径,提供植物可利用的营养元素^[18]。此外,某些对重金属具有抗性的根际细菌可以通过释放螯合剂(如铁载体)和生物表面活性剂(Biosurfactant)、酸化土壤环境(合成低分子有机酸)、改变氧化还原电位等方式提高重金属的生物有效性,促进植物对土壤中重金属的提取效率,修复污染土壤^[19-20]。分布在根际的植物促生菌种类较多,主要是不动杆菌属(*Acinetobacter*)、无色菌属(*Achromobacter*)、固氮螺菌属(*Azospirillum*)、产碱杆菌属(*Alcaligenes*)、假单胞杆菌属(*Pseudomonas*)、嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)等^[21]。

2 根际促生菌多样性

细菌在植物根际或土壤中的定殖和存活是一个非常复杂的动态过程,受到诸多因素的影响。首先,宿主植物的特异性很大程度影响根际细菌的类群及分布。在对于香雪球(*Alyssum murale*)的研究中发现, α -变形杆菌(*Alphaproteobacteria*)是主要的根际细菌类群^[22]。然而,遏蓝菜属(*Thlaspi goesin-gense*)根际微生物则是由高度复杂的群落组成,其中酸杆菌属(*Holophaga/Acidobacterium*)、 α -变形杆菌(*Alphaproteobacteria*)、疣微菌(*Verrucomicrobia*)、噬纤维菌-屈挠杆菌-拟杆菌(*Cytophaga-Flexibacter-Bacteroides*)和一些未培养的细菌种类均十分丰富^[23]。其次,根际细菌群落组成和多样性也随地理位置的不同而差异很大^[24]。最近发现,在印度的安达曼群岛,相比非蛇纹岩发育土壤,蛇纹岩发育土壤上植物根际的可培养微生物密度($6.2 \sim 11.3 \times 10^6$ CFU g^{-1})较低,活动能力($1.7 \sim 3.5 \mu g$ fluorescein g^{-1} dry soil h^{-1})也较弱。在筛选出的 200 个菌株里,8 株对镍的耐受性大于 12.0 mmol L^{-1} ,11 株

对铬的耐受性大于 16.0 mmol L^{-1} 。可见,这些根际微生物已经适应了这种土壤环境,往往对多种重金属具有抗耐性^[25]。因此,一些非生物因素如土壤结构、重金属含量、有机质含量、温度、降水量等也对根际细菌与植物的互作关系有较大的影响^[10]。

3 根际促生菌在植物修复重金属污染土壤中的作用机制

在重金属污染土壤生态系统中,PGPR 的活动产生了很多有益于植物生长的物质,这些物质能帮助宿主植物适应不利的土壤条件,对提高植物重金属抗性、促进植物生长和影响植物对重金属的吸收、转运、富集均起着十分重要的作用^[9,26-31]。图 1 描述了重金属胁迫条件下,PGPR 的有效定殖对植物修复的作用机制。如图所示,PGPR 往往通过植物促生机制、生防机制、抗重金属机制、解毒机制、对重金属生物有效性的影响及其转运机制中的某种或多种机制共同的作用,提高植物修复重金属污染土壤的效率。

3.1 PGPR 的促生机制

PGPR 的大量分离推动了研究者们对其功能的研究,便于更好地运用于农作物增产和污染环境的生物修复领域。目前,已有一些关于应用分离得到的 PGPR 增强植物重金属胁迫条件下植物生物量,提高植物修复效率的研究。例如,Belimov 等^[27]从生长在 Cd 污染的土壤上的印度芥菜(*Brassica juncea*)根际土壤中分离出来的 *Pseudomonas putida* Am2 和 *P. marginalis* Dp1 通过分泌 1-氨基环丙烷-1-羧酸脱氨酶,使豌豆(*Pisum sativum* L.)地上部分的生物量增加 10%,根部的生物量增加 19%~25%。通常而言,PGPR 往往通过多种途径,如产生 ACC 脱氨酶、合成铁载体、分泌吲哚乙酸以及溶解难溶性的磷酸盐等,协同促进植物在重金属胁迫环境下的生长^[11]。Ma 等^[31]从 *Alyssum serpyllifolium* 和 *Phleum phleoides* 的根际土壤中分离出 5 株具有 Ni 抗性 PGPR;其中,相比较不加菌的对照处理,SRA2 菌株可使生长在含镍 450 mg kg^{-1} 的污染土壤中印度芥菜的鲜重和干重分别增加 351%、285%。这种生物量的增加归咎于此菌株同时所具有的溶解磷酸盐、分泌吲哚乙酸以及合成 ACC 脱氨酶等植物促生能力。根据所述 PGPR 的特征,其促生机制主要包括以下四种途径:(1)细菌及其分泌物协助植物获得充足的营养元素(如氮、钾、磷、铁),以保

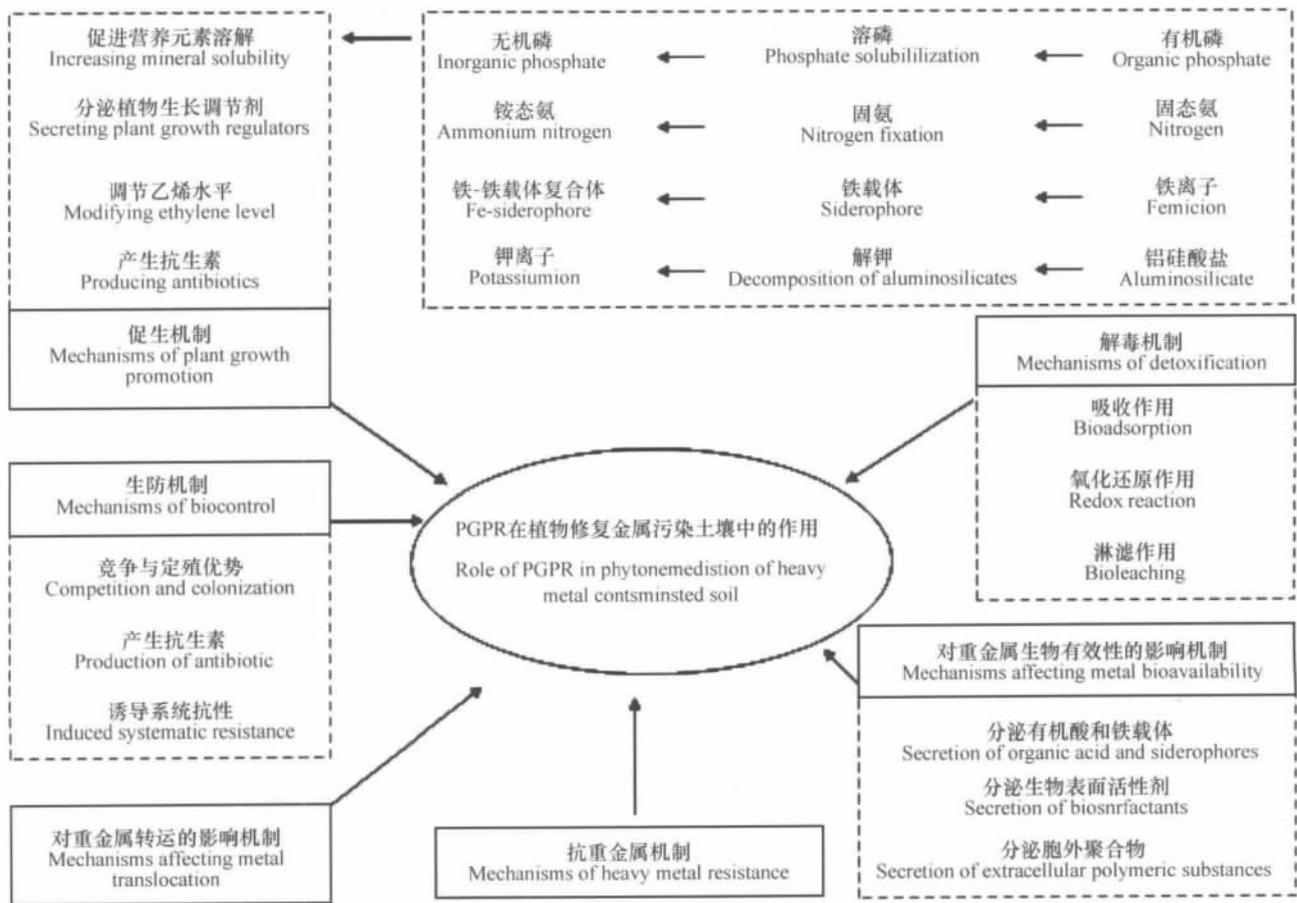


图1 根际促生菌在植物修复重金属污染土壤中的作用机制

Fig. 1 Role of plant growth promoting rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soil

证植物在污染条件下的最佳生长;(2)合成不同的植物生长调节剂(包括生长素、赤霉素、细胞分裂素等),促进植物生长;(3)抑制植物体内乙烯的合成,利于植物定居成活以及根的伸长;(4)通过抑制病原微生物的生长,提高植物的抗病能力,间接地促进植物生长发育^[8,10-12]。

(1)促进植物营养。在重金属胁迫条件下,PGPR的存在往往很大程度上影响根的代谢活动和根细胞的膜透性,从而促进植物根系对水分和营养元素的吸收;同时,PGPR对根系分泌物的吸收和代谢产物的释放也改变了根际营养物质的生物有效性。PGPR主要是通过以下四方面的作用,提高植物对营养元素的吸收:①固氮作用。PGPR能通过自身分泌的固氮酶直接将大气中的氮还原成 NH_4^+ ,增加植物的生物固氮量,从而提高植物产量和蛋白质含量^[32]。因此,在贫瘠或污染较重的土壤环境中,接种具有较高生物固氮活性的根际细菌,能缓解土壤中氮素的缺失,并在某种程度上促进植物对氮素的

积累。例如,一些具有固氮功能的PGPR如固氮菌(*Azotobacter*)、固氮螺菌(*Azospirillum*)、根瘤菌(*Rhizobium*)、中慢生根瘤菌(*MesoRhizobium*)和中华根瘤菌(*SinoRhizobium*)等,在重金属胁迫环境下均能显著促进植物的生长^[33]。②溶磷作用。磷元素是植物生长所需的营养元素之一^[34]。然而,土壤中大部分的磷元素主要成分是难溶性的磷酸钙盐,很难被植物吸收利用。某些PGPR可分泌有机酸溶解难溶性无机磷酸盐,或分泌胞外磷酸酶(如胞外酸性或碱性植酸酶、核酸酶和磷酸酶等)将难溶性的磷酸脂等有机磷消解,释放出生物有效磷。同时,土壤溶液pH也会随着磷酸盐的溶解而降低,这也为PGPR活化土壤中的重金属提供有利的条件。Zaida等^[26]发现接种具有解磷功能的PGPR条纹假单胞菌(*Pseudomonas striata*),可以提高鹰嘴豆(*Cicer arietinum* L.)对砂质黏壤土中磷的吸收和利用。③解钾作用。土壤中含量丰富的钾主要以稳定的铝硅酸盐形态存在,不易被植物吸收和利用。一些被称

为硅酸盐细菌的 PGPR 经研究发现具有分解钾矿物的能力,能有效提高土壤可利用钾的含量,提高植物生物量,从而促进植物修复效率。李凤汀等^[35]从植物根际土壤中分离到的硅酸盐细菌 HM8841,能够使可利用钾含量达到原硅酸盐中含量的 15.9%,并对不同土壤上生长的不同农作物的生长均表现出较好的促进作用。但也有研究认为,硅酸盐细菌为植物所带来的促生效果是微不足道的,而且在生产试验中作用也不稳定。因此,对于 PGPR 的解钾活性仍需进一步的研究。④供铁作用。尽管铁在地壳中含量丰富,但大部分是以不能溶解的氧化态高价铁形式存在。为了促进植物在这种缺铁环境中生存,PGPR 能够分泌具有高度铁亲和性和专一性的铁载体(Siderophore),这种铁载体能够与铁螯合形成铁-铁载体复合体后被植物吸收并参与细胞代谢活动^[11,36]。研究发现,绝大多数 PGPR 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。因此,只有能利用铁-铁载体的 PGPR 和植物才能完成铁的吸收过程^[37]。相比较植物而言,PGPR 产生的铁载体一般具有更强的铁亲和性,能够在铁有效性极低时富集土壤中微量的游离态铁元素并供于植物生长所需;同时,将土壤中可利用铁降低至更为缺乏的程度,使病原微生物因缺铁而无法繁衍。例如,Crowley 和 Kraemer^[38]通过对燕麦体内铁运输系统的研究发现,缺铁条件下 PGPR 产生的铁载体可以与土壤中的铁结合形成可溶性铁-铁载体复合体,并提供给燕麦生长所需要的铁。同样,最近 Rajkumar 和 Freitas^[39]研究发现接种产铁载体的假单胞菌 Ps29C (*Pseudomonas* sp.) 和巨大芽孢杆菌 Bm4C (*Bacillus megaterium*) 能够缓解重金属 Ni 离子对印度芥菜的毒害作用并提高植物生物量,促进植物修复 Ni 污染土壤的效率。

(2)分泌植物生长调节剂。植物生长调节剂主要包括生长素吲哚乙酸(Indole-3-acetic acid, IAA)、赤霉素(Gibberellin acid, GA)、细胞分裂素(Cytokinin, CTK)在内的植物生长调节物质。大多数 PGPR 可以分泌植物生长素及其类似物,促进植物根系对土壤中水分和营养物质的吸收,并从生理与形态上调节植物生长发育^[40]。IAA 是与生理活性最相关的一种生长素。据估计,土壤细菌中约有 80% 的细菌产生 IAA。在一定浓度上,IAA 专司细胞伸张和有丝分裂,有助于植物生长和诱导形成系统抗性^[41]。Xie 等^[42]等发现接种低浓度 IAA (2 μg

ml^{-1}) 分泌能力的野生型恶臭假单胞菌 GR12-2 (*Pseudomonas putida*),可以提高油菜根伸长率至对照植物的 2~3 倍;然而,接种高浓度 IAA (8.2 μg ml^{-1}) 分泌能力的突变体 *P. putida* GR12-2/aux1,则降低了根伸长率。这很可能是受到高浓度的 IAA 与 ACC 合成酶互相作用的影响。一般而言,PGPR 可通过平衡植物体内生长素水平直接促进植物生长,抑或通过影响乙烯的合成而间接刺激植物生长^[43]。Chen 等^[44]报道了 ACC 合成酶 4 (ACC 合成酶基因家族) 能够被植物体内的 IAA 诱导并成功转录,这完全是 IAA 与乙烯之间信号分子引发串扰的结果。此外,一些 PGPR 产生的细胞分裂素、赤霉素,不仅可以促进细胞分裂,还能调整植物的生长形态^[45-46]。例如,Arkhipova 等^[46]发现接种具有细胞分裂素分泌能力的芽孢杆菌 IB-22 (*Bacillus* sp.), 可大大提高生长在干旱土壤上生菜茎叶的生物量,但对根的影响相对较小,也没有提高气孔导度。因此,细菌分泌的细胞分裂素可以用于补偿缺水环境对植物地上部分生长的抑制和根伸长的促进。

(3)调节乙烯水平。在高等植物体内,L-蛋氨酸(Methionine)通过中间体 S-腺苷蛋氨酸(S-Adenosyl-L-methionine)和 1-氨基环丙烷-1-羧酸合成乙烯(Ethylene)^[47]。植物一生大部分生长发育阶段只需水平很低的乙烯,过量乙烯会抑制植株的开花、生长素运转、茎和根的伸长,导致植物发育受阻或死亡。特别是遇到不良环境因素的胁迫时(如淹水、高温、病虫害、重金属污染等),就会产生大量的应激乙烯及抗生酶类物质,以抵抗逆境环境对植物的不利影响。研究发现,大部分 PGPR 体内含有 ACC 脱氨酶。植物体内合成的 ACC 与根系分泌物一起释放到根际环境中被细菌吸收后,在 ACC 脱氨酶的作用下分解为氨和 α -丁酮酸(α -ketobutyrate),分解得到的氨成为细菌生长的氮源而被消耗;此时,植物根表 ACC 浓度平衡被破坏,导致根系 ACC 分泌量增加,植物体内乙烯前体物质 ACC 水平下降,刺激植物生长发育^[16-17]。

3.2 PGPR 的生防机制

研究证明,绝大多数 PGPR 不仅能在植物根际土壤中迅速繁衍,同时还具备保护植物免受或减轻病原微生物侵袭的功能,保护宿主免受危害^[48-52]。PGPR 可以通过一种或几种机制如产生抗生素、分泌铁载体、诱导系统抗性等方式抑制或减轻病原微生物及虫害对植物产生的不良影响,调节植物对生物胁迫环境的适应^[53-54]。

(1) 竞争 (Competition) 与定殖 (Colonization) 优势。土壤根际微生物间常因利用同一资源而发生竞争, 比如对于营养 (Nutrients)、空间 (Space) 或生态位点 (Niche site) 的竞争。在植物根系表面存在一些特殊的生态位点, 根及种子的分泌物较多、湿度大, 非常适宜细菌生长和繁殖。PGPR 往往能够抢先占领这些有利位点, 有效地利用与病原菌竞争得到的根际营养和分泌物, 或者占据生态位点阻碍有害菌在这些位点的建立, 并通过此方式抑制病原菌的繁衍和生长。此外, PGPR 在根际环境中能否成功定殖, 是其抑菌机制发挥生防价值的关键所在^[55]。细菌在植物根际定殖是一个比较复杂的过程, 影响定殖能力的因素也是复杂多样的, 其中包括根际生物和非生物因子。生物因子包括具有生防功能的 PGPR 本身的生理特征, 根际土著与外来微生物的相互作用, 以及宿主植物基因型对 PGPR 定殖的影响。非生物因子包括土壤温湿度、pH、土壤类型、根系分泌物、矿物营养元素等。通常, 菌株在植物根际的定殖主要经历两个阶段: ①细菌接触植物根部并随伸长的根尖被转运; ②细菌在根际的局部繁殖并在与原有微生物群落竞争的小生境内存活并增殖。不同的菌株在特殊的植物根际生境中定殖能力也是不同的, 主要取决于其与原有微生物群落的竞争能力。

(2) 抗生素作用。由 PGPR 合成的抗生素有硝吡咯 (Pyrrolnitrin)、藤黄绿菌素 (Pyolyteorin)、吩嗪 (Phenazines)、托酚酮 (Tropolone)、卵菌素 (Oomycin)、草生欧菌素 (Herbicolin)、土壤杆菌素 (Agrocin434, Agrocin84)、溶解酶 (Lytic enzymes)、2, 4-二乙酰基 (2, 4-diacetylphloroglucinol)、氰化氢 (Hydrogen cyanide) 等, 它们能够有效抑制各种病原微生物的侵染和繁衍, 增强植物抗病能力^[28, 53, 56-58]。其中, 合成氰化氢和 2, 4-二乙酰基被认为是荧光假单胞菌 CHAO 控制土传病害的主要途径^[59]。

(3) 铁载体作用。在植物根际小生境中, 大多数 PGPR 分泌产生的铁载体可以与土壤中游离态的铁迅速螯合, 形成的铁-铁载体复合体一方面被 PGPR 和植物吸收利用, 同时也耗尽了病原菌生存所需要的铁, 从而大大降低病原菌的繁衍和侵染能力^[54]。Bull 等^[60]报道了 PGPR *Pseudomonas fluorescens* 2-79 抑制由病原真菌 *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* 所引起的根部病害, 其中细菌合成的铁载体起了主导作用。

(4) 诱导系统抗性 (Induced systematic resist-

ance, ISR)。PGPR 及其代谢产物可以诱导植物对病原生物致病性的天然防御机制, 使植物免受或减轻病原菌危害, 其中包括: ①产生低分子量抗病原菌的化合物, 如: 植保素、木质素、胍胍质、多聚物、富含羟脯氨酸的糖蛋白 (HRGP); ②诱导一些水解酶 (如几丁质酶, β -1, 3-葡聚糖酶) 和氧化酶类 (如过氧化物酶) 的合成; ③诱导植物体内病程相关蛋白 (Pathogenesis-related protein) 的产生等^[61-62]。目前, 运用 PGPR 诱导植物 ISR 已被大量实施, 比如 PGPR 可诱导黄瓜、大豆、胡萝卜、西红柿、水稻、烟草等产生抗病性^[63-65]。

3.3 PGPR 抗重金属机制

在长期受重金属胁迫的土壤中, 细菌群落结构、多样性、酶活性和代谢功能均会发生改变^[31]。为了适应重金属胁迫的环境, 细菌体内自发形成了相应的耐性和抗性机制, 如荚膜/生物膜保护, 细胞壁被动吸附, 液泡隔离, 主动外排系统, 酶脱毒, 抗性质粒等^[66]。此外, 重金属胁迫环境能促进或刺激 PGPR 分泌如胞外高聚体、铁载体、酶等物质, 可直接与重金属螯合发生沉淀或胞外络合而减少重金属的毒性。Dimkpa 等^[67]报道了 *Streptomyces* spp. 细菌在铝、镉、铜、镍的胁迫下, 大大促进了三种结构不同的异羟肟酸铁载体的合成, 如去铁胺 E (Desferrioxamine E)、去铁胺 B (Desferrioxamine B) 和 Coelichelin。最近, Braud 等^[68]也发现重金属铬、汞、铅的存在能诱发铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*) 菌株分泌铁载体。这很可能是因为: ①重金属直接参与铁载体的生物合成途径及调节机制; ②在介质中的重金属与铁离子竞争质膜上铁载体结合位点, 伴随而来的是土壤中可溶性铁含量降低。面对铁胁迫环境, 诱发细菌合成铁载体。此外, 细菌还可通过生物挥发、氧化、还原、甲基化和去甲基化等作用途径对某些重金属进行生物转化^[69]。总体而言, 细菌抗性机制比较复杂, 其过程往往伴随着几种机制的协同作用。

3.4 PGPR 的解毒机制

一般而言, 进入土壤中的重金属不仅直接对植物根际微生物具有毒性, 还可通过对植物的毒害, 阻碍其生长和改变根系分泌物数量及组分, 继而间接影响土壤根际细菌的活性。因此, 植物及其根际细菌对重金属的抗性及其解毒能力是影响植物修复的关键性因素^[11]。在重金属胁迫下, 土壤微生物虽会受到毒害, 但某些根际细菌在较高浓度重金属污染土壤上仍能存活生长且表现出一定的耐受性, 还

能够通过改变金属离子在环境中的存在形式缓解重金属对植物的毒害^[14,16,30,70]。涉及 PGPR 的解毒机制,主要有以下三方面的作用:

(1) 吸收作用。细菌可能通过自身对重金属的吸收来降低植物对重金属的吸收量。一般而言,吸收过程分为吸附和富集两个阶段。对于吸附而言,由于细菌细胞壁的聚合物中存在许多对重金属离子有吸附作用的活性基因,细菌与重金属一旦接触,可通过离子交换、配位、螯合和微沉淀等作用将这些毒性重金属离子结合至细胞表面,阻止其进入细胞内部敏感区域(如细胞核)。在进一步的富集过程中,细菌可将那些细胞化学反应需要的金属从细胞壁运输到原生质中特定位点,并通过区域化作用将其分布于液泡,或与热稳定蛋白结合,转变为低毒或无毒的形式积累于细胞内部。PGPR 往往通过自身对重金属的吸收作用,缓解重金属对植物的毒性。Ginn 和 Fein^[71]研究了根际细菌耐辐射奇球菌(*Deinococcus radiodurans*)、嗜热栖热菌(*Thermus thermophilus*)、狭小嗜酸菌(*Acidiphilium angustum*)、水生黄杆菌(*Flavobacterium aquatile*)、冬天黄杆菌(*Flavobacterium hibernum*)对重金属铅、镉的吸附作用,并通过计算不同种类细菌细胞壁表面功能团与重金属结合物的热力学稳定常数进一步研究表面吸附、螯合的作用过程。Rajkumar 等^[29]发现魏登施泰芽孢杆菌 SM3 (*Bacillus weihenstephanensis*) 在提供营养增加植物生物量的同时,能够吸收重金属 Ni、Cu、Zn 分别达到 8.13、6.05、3.88 mg g⁻¹ 细胞干重。这种现象可能是细菌通过表面吸附作用来降低重金属对植物的毒害,而且细菌对不同重金属的吸附能力往往与金属离子的半径相关。

(2) 氧化还原作用。在外界环境中,变价重金属 As、Cr、Co、Te 等元素常以不同价态存在。根际细菌能够通过其细胞代谢活动来调节重金属离子的氧化还原反应,改变重金属的价态和存在形态(络合态、脱烷基),使其毒性减弱或增强^[72]。Rajkumar 等^[73]发现 PGPR *Pseudomonas* sp. PsA4 和 *Bacillus* sp. Ba32 能够通过催化反应将高毒性的 Cr⁶⁺ 还原成低毒性且溶解度小的 Cr³⁺,减缓铬对印度芥菜的毒性或活性。此外,PGPR 也可以将土壤中的 Fe、Mn 氧化物还原,使被结合的重金属释放出来。这些活化、固化、氧化还原作用,在一定程度上改变了土壤中重金属的有效态含量。

(3) 淋滤作用(Bioleaching)。自然界中存在一些细菌如氧化硫杆菌、氧化亚铁杆菌等可直接或间

接通过氧化、还原、络合、吸附或溶解作用滤除污泥、土壤和沉积物中的重金属,影响其生物毒性效应。例如,通过硫杆菌属(*Thiobacillus*)的氧化作用,释放的质子替换出原本吸附于土壤颗粒的重金属离子铜、银、铀和锌。随后,再通过电子转移过程促进金属离子的溶解^[74]。通常而言,细菌的种类往往制约其对重金属的淋溶效果。比如,嗜酸细菌(*Acidophilic*)对重金属的淋滤作用大于嗜中性细菌(*Neutrophilic*),而氧化亚铁杆菌往往大于土著微生物^[75]。

3.5 PGPR 对重金属生物有效性的影响机制

PGPR 对植物的作用还表现在其活化污染区重金属元素,使固定态转化为植物可吸收态,从而大大促进植物对重金属的吸收和积累^[26,29,76]。Ma 等^[30]从蛇纹岩发育土壤中生长的 *Alyssum serpyllifolium* 和 *Astragalus incanus* 植物根际分离出根际细菌,并筛选出了 9 株镍抗性 PGPR,随后将它们接种于印度芥菜和油菜(*Brassica oxyrrhina*),结果发现 *Bacillus* sp. SN9 不仅显著地增加了植物的生物量,并且提高了 Ni 的积累量。然而,在植物对重金属吸收方面,根际促生菌偶尔也表现出抑制作用。Vivas 等^[77]分析了从 Zn 污染的土壤中分离出的促生菌,发现 *Brevibacillus* B-I 显著地增强了白车轴草(*Trifolium repens*)的生长和对氮、磷的积累,但却抑制了植物对锌的吸收。PGPR 对重金属生物有效性的影响机制主要表现在以下几个方面:

(1) 分泌有机酸和铁载体。PGPR 通过分泌某些低分子量有机酸和一些金属载体(如铁载体),改变土壤 pH 和氧化还原状况,或通过螯合和还原作用直接或间接地活化土壤中的重金属,提高其生物可利用浓度。这一特性在重金属污染土壤的植物修复中有着重要的应用潜能^[12,78-80]。例如, Ma 等^[31]从超富集植物 *Alyssum serpyllifolium* 和 *Phleum phleoides* 的根际土壤中分离出 5 株具有 Ni 抗性 PGPR 菌株,并通过土壤重金属的溶解性试验证明它们能够显著地提高土壤中 Ni 元素的生物可利用浓度。随后将这 5 株 PGPR 接种至生长在 450 mg kg⁻¹ 镍污染土壤中的印度芥菜和油菜上,其中接种 SRA1 和 SRA10 菌株的处理显著地增加了植物地上和地下部分对 Ni 的积累量。这项研究表明,PGPR 促进了重金属镍在土壤中的溶解,从而提高了 Ni 的植物可利用性。这很可能与 PGPR 溶磷能力、pH 及分泌有机酸和铁载体的能力相关。PGPR 产生的铁载体不仅增加了土壤中可利用铁的浓度,而且提高了土

壤中重金属阳离子的可移动性,从而促进植物对重金属的吸收。

(2)分泌生物表面活性剂。生物表面活性剂(Biosurfactants)是微生物生成的低分子量表面活性剂,包括糖脂、多糖脂、脂肽、脂蛋白以及中性类脂衍生物等。它们由既亲油又亲水的两亲性分子组成疏油亲水的极性基团(如单糖、聚糖、氨基酸、肽和磷酸基等)和疏水亲油的碳氢链组成的非极性基团(如饱和或非饱和的脂肪醇及脂肪酸等)^[81]。微生物分泌于外部介质中的表面活性剂,能够显著降低体系的表面张力,当浓度超过临界胶束浓度时,在溶液内部形成胶束。这些胶束一旦形成便迅速与重金属结合,使重金属进入土壤液相,增加了土壤中重金属的溶解性和流动性^[82]。在重金属污染土壤的植物修复过程中,根际细菌分泌并释放到植物根际土壤的表面活性剂能够与不溶性重金属离子在根土界面结合,形成可溶性络合物,从而提高土壤重金属的流动性和植物对重金属的移除效率^[11-12]。

(3)分泌胞外聚合物。胞外聚合物(Extracellular polymeric substances, EPS)是在一定环境条件下由微生物,主要是细菌,分泌于体外的一些高分子聚合物,主要包括多糖、蛋白质、核酸和脂质等聚合物。EPS可将环境中的营养成分富集,通过胞外酶降解成小分子后吸收到细胞内,还可以抵御杀菌剂和有毒物质对细胞的危害。同时,较容易与重金属形成稳定的络合物,降低土壤中金属离子的生物有效性和可迁移性,从而降低重金属的毒性和植物的吸收^[12]。Beveridge等^[83]报道了一株生枝动胶菌(*Zoogloea ramigera*)在重金属含量较高的污泥中能够分泌很高金属键合活性的扩散性荚膜,其吸收的重金属离子的量可占细胞吸附总量的25%。Joshi和Juwarkar^[84]发现根际固氮菌*Azotobacter* spp.在污染土壤中分泌的EPS与重金属形成络合物,能络合镉 15.2 mg g^{-1} 和铬 21.9 mg g^{-1} ,从而减少小麦(*Triticum aestivum*)对土壤中重金属的吸收。

此外,PGPR也可分泌出有机物质、质子、酶等,从而增强土壤中重金属的可溶解性。例如,Whiting等^[79]发现PGPR蒙氏假单胞菌BJ5(*Pseudomonas monteilii*)和生癌肠杆菌BJ10(*Enterobacter cancerogenus*)能够分泌细胞外有机物质-金属螯合剂(Metallophores)并对土壤中锌元素具有很强的活化作用。

3.6 PGPR对重金属转运的影响机制

在整个植物修复过程中,植物对于重金属的积

累一般集中在根际部分,而植物的地上部分的重金属浓度均相对较低^[85]。受到重金属向地上部转运效率的限制,对污染土壤的植物修复周期一般较长^[86]。一般而言,大多数重金属在植物体内是以有机物复合形态进行转移,并在不同细胞区间分布的^[87]。研究发现,PGPR分泌的多种有机配位体可与植物体内重金属结合,改变重金属在植物体内的存在及分布形态,促进重金属向植物地上部分转运^[87]。Sheng等^[88]从重金属污染土壤中分离出1株具有重金属(铜、锌、铅、镉、镍)抗性并且可以分泌生物表面活性剂的菌株*Bacillus* sp. J119,将其分别接种到植物(油菜、玉米、苏丹草、西红柿),发现植物地上部分的Cd浓度与对照相比增加39%~70%。这很可能是因为菌株J119分泌的生物表面活性剂可降低土壤的pH,从而提高土壤中植物可利用 Cd^{2+} 的浓度。总体而言,接种重金属抗性PGPR不仅能够有效增加重金属在土壤中的植物有效性,还可以提高重金属从根部到地上部分的转运,促进重金属在植物茎叶部位的积累。

4 根际促生菌的应用与展望

鉴于植物修复技术本身的不足,通过对根际环境中植物与微生物的相互关系的研究,发现根际促生菌能够提高植物对重金属的积累,降低污染物对植物的毒害作用,增强植物、微生物对土壤中重金属的转化和吸收,为重金属污染土壤的生物修复提供了更佳的方案。本文通过对PGPR的多样性、促生机制、生防机制、抗重金属机制、解毒机制、对重金属生物有效性的影响机制及其对植物富集、转运重金属的影响机制等进行详细阐述的基础上,揭示了“PGPR-植物”相互作用关系及PGPR在植物修复重金属污染过程中的作用及其原理。目前,国内外对PGPR作用机制,已从亚细胞角度、生理生化角度、分子生物学角度开展了广泛而全面的研究;然而针对PGPR应用于重金属污染土壤修复方面的研究仍十分有限,且研究结果还存在一定的不确定性。此外,鉴于超富集植物及根际微生物的种类和数量有限,难以构建植物-微生物联合修复重金属污染土壤的有效匹配,因而阻碍了此技术的实际应用。因此,今后的研究将着重于以下几个方面:(1)需要开展大量的野外研究,以探明PGPR需要具备何种特性来参与根际的营养竞争、定殖、生存和发挥功效,以期微生物修复技术的实际运用与推广;

(2) 开展 PGPR 精确的特异性、高效施用条件和接种方式、在环境中释放后迅速检测的标记方法以及对其与植物相互作用的分子机制研究; (3) 在筛选 PGPR 优良菌株的基础上, 对其进行诱变育种、基因克隆或缺失, 以期获得新的高效低毒的抗性菌株。此外, 转基因微生物在作为工程菌剂实际应用时还应考虑到其对生态系统存在的危害, 建立有效的风险评估体系; (4) 深化生物修复基本原理及理论研究。就整个植物-重金属-微生物生态系统而言, 进一步研究根际环境中发生的物理、化学和生物过程及其相互作用对土壤重金属生物有效性的影响等一系列基础理论问题, 为污染土壤的生物修复技术提供理论支持; (5) 重金属抗性菌株大多被分离于重金属污染土壤的超富集植物根际, 这些细菌能否与新宿主建立良好的协同关系并提高宿主耐受性还不确定。其次, 从非重金属污染地区分离出的 PGPR 是否有重金属抗性也不明确, 均有待进一步研究; (6) 将微生物修复技术与其他环境修复技术有效集成, 为重金属污染环境的修复提供更为理想的技术支撑。

参考文献

- [1] Stafilov T, Sajin R, Pancevski Z, et al. Heavy metal contamination of topsoils around a lead and zinc smelter in the Republic of Macedonia. *J Hazard Mater*, 2010, 175: 896—914
- [2] 陈怀满. 土壤—植物系统中的重金属污染. 北京: 科学出版社, 1996. Chen H M. Heavy metal pollution in soil-plant system (In Chinese). Beijing: Science Press, 1996
- [3] 林玉锁. 土壤环境安全及其污染防治对策. 环境保护, 2007 (1): 35—38. Lin Y S. Soil environmental safety and pollution prevention and control countermeasures (In Chinese). *Environ Protect*, 2007 (1): 35—38
- [4] Kesavan P C, Swaminathan M S. Strategies and models for agricultural sustainability in developing Asian countries. *Phil Trans R Soc B*, 2008, 363: 877—891
- [5] Pulford I D, Watson C. Phytoremediation of heavy metal contaminated land by trees—A review. *Environ Int*, 2003, 29: 529—540
- [6] Hooda V. Phytoremediation of toxic metals from soil and wastewater. *J Environ Biol*, 2007, 28: 367—376
- [7] Ajungla T, Sharma G D, Dkhar M S. Heavy metal toxicity on dehydrogenase activity on rhizospheric soil of ectomycorrhizal pine seedlings in field condition. *J Environ Biol*, 2003, 24: 461—463
- [8] Glick B R. Phytoremediation: Synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnol Adv*, 2003, 21: 383—393
- [9] Sheng X F, Sun L N, Huang Z, et al. Promotion of growth and Cu accumulation of bio-energy crop (*Zea mays*) by bacteria: Implications for energy plant biomass production and phytoremediation. *J Environ Manag*, 2012, 103: 58—64
- [10] Glick B R. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnol Adv*, 2010, 28: 367—374
- [11] Ma Y, Prasad M N V, Rajkumar M, et al. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnol Adv*, 2011, 29: 248—258
- [12] Rajkumar M, Sandhya S, Prasad M N V, et al. Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. *Biotechnol Adv*, 2012, 30: 1562—1574
- [13] Kloepper J W, Schroth M N. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes // Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. Angers: Station de Pathologic Vegetal et Phytobacteriologic, 1978, 2: 879—882
- [14] 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
- [15] Kloepper J W, Zablotowicz R M, Tipping E M, et al. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers // Keister K L, Cregan P B. The rhizosphere and plant growth. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991: 315—326
- [16] Dell'Amico E, Cavalca L, Andreoni V. Improvement of *Brassica napus* growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria. *Soil Biol Biochem*, 2008, 40: 74—84
- [17] Glick B R, Cheng Z, Czarny J, et al. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *Eur J Plant Pathol*, 2007, 119: 329—339
- [18] Ma Y, Rajkumar M, Vicente J A F, et al. Inoculation of Ni-resistant plant growth promoting bacterium *Psychrobacter* sp. strain SRS8 for the improvement of nickel phytoextraction by energy crops. *Int J Phytoremediat*, 2010, 13: 126—139
- [19] Carrillo-Castañeda G, Munoz J J, Peralta-Videa J R, et al. Plant growth-promoting bacteria promote copper and iron translocation from root to shoot in alfalfa seedlings. *J Plant Nutr*, 2003, 26: 1801—1814
- [20] Braud A, Jezequel K, Vieille E, et al. Changes in extractability of Cr and Pb in a polycontaminated soil after bioaugmentation with microbial producers of biosurfactants, organic acids and siderophores. *Water Air Soil Pollut*, 2006, 6: 261—279
- [21] Gray E J, Smith D L. Intracellular and extracellular PGPR: Commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biol Biochem*, 2005, 37: 395—412
- [22] Abou-Shanab R A I, Angle J S, Delorme T A, et al. Rhizobacterial effects on nickel extraction from soil and uptake by *Alyssum murale*. *New Phytol*, 2003, 158: 219—224
- [23] Idris R, Trifonova R, Puschenreiter M, et al. Bacterial communities associated with lowering plants of the Ni hyperaccumulator *Thaspi goesingense*. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70: 2667—2677
- [24] Rajkumar M, Prasad M N V, Freitas H, et al. Biotechnological applications of serpentine soil bacteria for phytoremediation of trace metals. *Crit Rev Biotechnol*, 2009, 29: 120—130
- [25] Pal A, Dutta S, Mukherjee P K, et al. Occurrence of heavy metal resistance in microflora from serpentine soil of Andaman. *J*

- Basic Microb ,2005 ,45:207—218
- [26] Zaida A ,Khan M S ,Amil M D. Interactive effect of rhizotrophic microorganisms on yield and nutrient uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Eur J Agron ,2003 ,19:15—21
- [27] Belimov A A ,Safronova V I ,Sergeyeva T A , et al. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. Microbiol ,2001 ,47:642—652
- [28] Wani P A ,Khan M S ,Zaidi A. Chromium reduction , plant growth-promoting potentials , and metal solubilization by *Bacillus* sp. isolated from alluvial soil. Curr Microbiol , 2007 , 54: 237—243
- [29] Rajkumar M ,Ma Y ,Freitas H. Characterization of metal-resistant plant-growth promoting *Bacillus weihenstephanensis* isolated from serpentine soil in Portugal. J Basic Microbiol , 2008 , 48: 1—9
- [30] Ma Y ,Rajkumar M ,Freitas H. Isolation and characterization of Ni mobilizing PGPB from serpentine soils and their potential in promoting plant growth and Ni accumulation by *Brassica* sp. Chemosphere ,2009 ,75:719—725
- [31] Ma Y ,Rajkumar M ,Freitas H. Improvement of plant growth and nickel uptake by nickel resistant-plant growth promoting bacteria. J Hazard Mater ,2009 ,166:1154—1161
- [32] Chebotar V K ,Asis Jr C A ,Akao S. Production of growth-promoting substances and high colonization ability of rhizobacteria enhance the nitrogen fixation of soybean when coinoculated with *Bradyrhizobium japonicum*. Biol Fert Soils ,2001 ,34:427—432
- [33] Bertrand H ,Pascal B ,Isabelle Q. Towards a better understanding of the genetic and physiological basis for nitrogen use efficiency in maize. Plant Physiol ,2001 ,125:1258—1270
- [34] Khan M S ,Zaidi A ,Wani P A , et al. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. Environ Chem Lett ,2009 ,7:1—19
- [35] 李凤汀 郝正然 杨则瓌,等. 硅酸盐细菌 HM8841 菌株解钾作用的研究. 微生物学报 ,1997 ,37(1) :79—81. Li F T ,Hao Z R ,Yang Z Y , et al. Studies on the ability of silicate bacteria HM8841 strain dissolving potassium (In Chinese). Acta Microbiologica Sinica ,1997 ,37(1) :79—81
- [36] 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
- [37] 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
- [38] Crowley D E ,Kraemer S M. Function of siderophores in the plant rhizosphere//Pinton R , et al. The rhizosphere , biochemistry and organic substances at the soil-plant interface. CRC Press , 2007:73—109
- [39] Rajkumar M ,Freitas H. Effects of inoculation of plant-growth promoting bacteria on Ni uptake by Indian mustard. Bioresource Technology ,2008 ,99:3491—3498
- [40] Malhotra M ,Srivastava S. Stress-responsive indole-3-acetic acid biosynthesis by *Azospirillum brasilense* SM and its ability to modulate plant growth. Eur J Soil Biol ,2009 ,45:73—80
- [41] Glick B R ,Penrose D M ,Li J. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth promoting bacteria. J Theor Biol ,1998 ,190:63—68
- [42] Xie H ,Pasternak J J ,Glick B R. Isolation and characterization of mutants of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 that overproduce indoleacetic acid. Curr Microbiol ,1996 ,32:67—71
- [43] Persello-Cartieaux F ,Nussaumev L ,Robaglia C. Tales from the underground: molecular plant-rhizobacteria interactions. Plant Cell Environ ,2003 ,26:189—199
- [44] Chen Y F ,Etheridge N ,Schaller G E. Ethylene signal transduction. Ann Bot ,2005 ,95:901—915
- [45] Gutierrez-Manero F J ,Ramos-Solano B ,Probanza A , et al. The plant growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. Physio Plant ,2001 ,111:206—211
- [46] Arkhipova T N ,Prinsen E ,Veselov S U , et al. Cytokinin producing bacteria enhance plant growth in drying soil. Plant Soil , 2007 ,292:305—315
- [47] Adams D O ,Yang S F. Ethylene biosynthesis: identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. Proc Natl Acad Sci USA , 1979 ,76:170—174
- [48] Jetiyanon K ,Klopper J W. Mixtures of plant growth promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. Biol Control ,2002 ,24:285—291
- [49] Guo J H ,Qi H Y ,Guo Y H , et al. Biocontrol of tomato wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. Biol Control , 2004 , 29: 66—72
- [50] Recep K ,Fikretin S ,Erkol D , et al. Biological control of the potato dry rot caused by *Fusarium* species using PGPR strains. Biol Control ,2009 ,50:194—198
- [51] Shanmugam V ,Kanoujia N ,Singh M , et al. Biocontrol of vascular wilt and corm rot of gladiolus caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* using plant growth promoting rhizobacterial mixture. Crop Protect ,2011 ,30:807—813
- [52] Yuttavanichakul W ,Lawongsa P ,Wongkaew S , et al. Improvement of peanut rhizobial inoculant by incorporation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as biocontrol against the seed borne fungus *Aspergillus niger*. Biol Control ,2012 ,63:87—97
- [53] Schouten A ,van der Berg G ,Edel-Hermann V , et al. Defense responses of *Fusariumoxysporum* 2,4-diacetylphloroglucinol , a broadspectrum antibiotic produced by *Pseudomonas fluorescens*. Mol Plant Microbe Interact ,2004 ,17:1201—1211
- [54] Miethke M ,Marahiel M A. Siderophore-based iron acquisition and pathogen control. Microbiol Mol Biol Rev , 2007 , 71: 413—415
- [55] Lebeau T ,Braud A ,Jezequel K. Performance of bioaugmentation-assisted phytoextraction applied to metal contaminated soils: a review. Environ Pollut ,2008 ,153:497—522
- [56] Nagarajkumar M ,Bhaskaran R ,Velazhahan R. Involvement of secondary metabolites and extracellular lytic enzymes produced by

- Pseudomonas fluorescens* in inhibition of *Rhizoctonia solani*, the rice sheath blight pathogen. *Microbiol Res*, 2004, 159:73—81
- [57] Indiragandhi P, Anandham R, Madhaiyan M, et al. Characterization of plant growthpromoting traits of bacteria isolated from larval guts of Diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Curr Microbiol*, 2008, 56:327—333
- [58] Trivedi P, Pandey A, Palni L M S. In vitro evaluation of antagonistic properties of *Pseudomonas corrugate*. *Microbiol Res*, 2008, 163:329—336
- [59] Jamali F, Sharifi-Tehrani A, Lutz M P, et al. Influence of host plant genotype, presence of a pathogen, and coinoculation with *Pseudomonas fluorescens* strains on the rhizosphere expression of hydrogen cyanide and 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthetic genes in *P. fluorescens* biocontrol strain CHAO. *Microb Ecol*, 2009, 57:267—275
- [60] Bull C T, Weller D M, Thomashow L S. Relationship between root colonization and suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescent* strain 2—79. *Phytopathol*, 1991, 81:954—959
- [61] Tuzun S, Klopper J W. Induced systemic resistance by plant growth-promoting rhizobacteria//Ryder M H, Stephens P M, Bowen G D. Improving plant productivity with rhizosphere bacteria. Adelaide: CSIRO, 1994:104—109
- [62] Ramamoorthy V, Viswanathan R, Raguchander T, et al. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protect*, 2001, 1:1—11
- [63] Raaijmakers J M, Leeman M, van Oorschot M M P, et al. Dose-response relationships in biological control of fusarium wilt of radish by *Pseudomonas* spp. *Phytopathol*, 1995, 85:1075—1081
- [64] Raaijmakers J M, Bonsall R F, Weller D M. Effect of cell density of *Pseudomonas fluorescens* on the production of 2,4-diacetylphloroglucinol in the rhizosphere of wheat. *Phytopathol*, 1999, 89:470—475
- [65] Chithrashree A C, Udayashankar S, Chandra Nayaka M S, et al. Plant growth-promoting rhizobacteria mediate induced systemic resistance in rice against bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. *Biol Control*, 2011, 59:114—122
- [66] Bruins M R, Kapil S, Ochme F W. Microbial resistance to metals in the environment. *Ecotoxicol Environ Safety*, 2000, 45:198—207
- [67] Dimkpa C O, Svatoš A, Dabrowska P, et al. Involvement of siderophores in the reduction of metal-induced inhibition of auxin synthesis in *Streptomyces* spp. *Chemosphere*, 2008, 74:19—25
- [68] Braud A, Jézéquel K, Bazot S, et al. Enhanced phytoextraction of an agricultural Cr-, Hg and Pb-contaminated soil by bioaugmentation with siderophore producing bacteria. *Chemosphere*, 2009, 74:280—286
- [69] Bosecker K. Microbial leaching in environmental clean-up programmes. *Hydrometallurgy*, 2001, 59:245—248
- [70] Madhaiyan M, Poonguzhali S, Sa T M. Metal tolerating methylotrophic bacteria reduces nickel and cadmium toxicity and promotes plant growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Chemosphere*, 2007, 69:220—228
- [71] Ginn B, Fein J B. The effect of species diversity on metal adsorption onto bacteria. *Geochim Cosmochim Acta*, 2008, 72:3939—3948
- [72] Kashefi K, Lovley D R. Reduction of Fe(III), Mn(IV), and toxic metals at 100 degrees C by *Pyrobaculum islandicum*. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66:1050—1056
- [73] Rajkumar M, Nagendran R, Lee K J, et al. Influence of plant growth promoting bacteria and Cr⁶⁺ on the growth of Indian mustard. *Chemosphere*, 2006, 62:741—748
- [74] Kumar N, Nagendran R. Fractionation behavior of heavy metals in soil during bioleaching with *Acidithiobacillus thiooxidans*. *J Hazard Mater*, 2009, 169:1119—1126
- [75] Mo C H, Cai Q Y, Wu Q T, et al. Research advances of microbiological method for heavy metal removal from municipal sludge. *Chin J Appl Environ Biol*, 2001, 7:511—515
- [76] Wu S C, Cheung K C, Luo Y M, et al. Effects of inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria on metal uptake by *Brassica juncea*. *Environ Pollut*, 2006, 140:124—135
- [77] Vivas A, Biro B, Ruíz-Lozano J M, et al. Two bacterial strains isolated from a Zn-polluted soil enhance plant growth and mycorrhizal efficiency under Zn toxicity. *Chemosphere*, 2006, 52:1523—1533
- [78] Wang C L, Maratukulam P D, Lum A M, et al. Metabolic engineering of an aerobic sulfate reduction pathway and its application to precipitation of cadmium on the cell surface. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66:4497—4502
- [79] Whiting S N, de Souza M P, Terry N. Rhizosphere bacteria mobilize Zn for hyperaccumulation by *Thlaspi caerulescens*. *Environ Sci Technol*, 2001, 35:3144—3150
- [80] Chen Y X, Wang Y P, Lin Q, et al. Effect of copper-tolerant rhizosphere bacteria on mobility of copper accumulation by *Elsholtzia splendens*. *Environ Int*, 2005, 31:861—866
- [81] Banat I M, Franzetti A, Gandolfi I, et al. Microbial biosurfactants production, applications and future potential. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010, 87:427—444
- [82] Banat I M. Characterization of biosurfactants and their use in pollution removal-State of the art (review). *Acta Biotechnol*, 1995, 3:251—267
- [83] Beveridge T J, Schultze-Lam S. Detection of Anionic sites on bacterial walls, their ability to bind toxic heavy metals and form sedimentable flocs and their contribution to mineralization in natural fresh water environments//Allen H, Huang C P, Bailey G W, et al. Metal speciation and contamination of soil. Boca Raton: CRC Press/Lewis Publisher, 1995:183—205
- [84] Joshi P M, Juwarkar A A. In vivo studies to elucidate the role of extracellular polymeric substances from *Azotobacter* in immobilization of heavy metals. *Environ Sci Technol*, 2009, 43:5884—5889
- [85] Burd G I, Dixon D G, Glick B R. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. *Can J Microbiol*, 2000, 46:237—245
- [86] 马莹 骆永明 滕应 等. 内生细菌强化重金属污染土壤植物

- 修复研究进展. 土壤学报, 2013, 50(1):195—202. Ma Y, Luo Y M, Teng Y, et al. Effect of endophytic bacteria enhancing phytoremediation of heavy metal contaminated soils (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2013, 50(1):195—202
- [87] Maser P, Thomine S, Schroeder J I, et al. Phylogenetic relationships within cation transporter families of Arabidopsis. Plant Physiol, 2001, 126:1646—1667
- [88] Sheng X F, He L Y, Wang Q Y, et al. Effects of inoculation of biosurfactant-producing *Bacillus* sp. J119 on plant growth and cadmium uptake in a cadmium-amended soil. J Hazard Mater, 2008, 155:17—22

PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA AND THEIR ROLE IN PHYTOREMEDIATION OF HEAVY METAL CONTAMINATED SOILS

Ma Ying¹ Luo Yongming^{1,2*} Teng Ying¹ Li Zhengao¹

(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 The potential of plants to absorb, translocate and accumulate heavy metals and their biology characteristics makes them one of perfect choices for heavy metal remediation. However, it is important to discover some strengthening measures for phytoremediation, considering its limits of tolerance to heavy metals for practical applications. With the development in natural resources and the technologies, microbial regulation makes phytoremediation more viable and more valuable. Reviewing emerging microbial technology in recent years, plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) have been applied as environmentally friendly alternatives and play a significant role in phytoremediation process, due to their abilities to alleviate heavy metal phytotoxicity, to promote plant growth and to influence the migration capacity of metals. Currently, great researches have been done on the screening, identification and application of PGPR. This article aims to review the interactions between plants and PGPR, and their potential mechanisms used to accelerate phytoremediation of heavy metal polluted soils.

Key words Plant growth promoting rhizobacteria; Polluted soils; Phytoremediation; Heavy metals; Bioavailability

(责任编辑:陈德明)