

焦化厂地肤根内解芘细菌的筛选及促生潜力

曹 阳 宋立超* 钮旭光 张 薇 刘新政 吴 珊 李思楠 李海燕

(沈阳农业大学土地与环境学院/农业部东北耕地保育重点实验室/土肥资源高效利用国家工程实验室, 沈阳 110866)

摘 要 从多环芳烃耐受植物根内分离具多环芳烃降解功能的内生细菌并研究其促生特性, 为内生菌协同宿主植物修复多环芳烃污染土壤提供基础. 以长期受多环芳烃污染的焦化厂区生长的地肤为材料, 从其根内分离出以芘和 1-氨基环丙烷-1-羧酸 (ACC) 为唯一碳源和氮源的内生细菌 8 株. 通过芘降解试验, 筛选得到 3 株高效芘降解内生细菌 KSE4、KSE7 和 KSE8, 经鉴定分别为芽孢杆菌属、假单胞菌属和鞘氨醇菌属. 通过液体培养试验, 研究了 3 株菌在芘胁迫下产 ACC 脱氨酶的能力和对地肤种子萌发的影响. 结果表明: 随着芘浓度 ($0 \sim 15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的升高, ACC 脱氨酶活性降低, 其中 KSE7 的效果最好, 在芘浓度为 $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 地肤发芽率和芽长分别比对照提高了 44.8% 和 61.1%, 在地肤-微生物修复焦化厂污染土壤的修复中具有一定的应用潜力.

关键词 ACC 脱氨酶; 根内生细菌; 地肤; 多环芳烃; 降解

Screening of pyrene degradation bacteria strain from the *Kochia scoparia* roots and its potential for promoting growth. CAO Yang, SONG Li-chao*, NIU Xu-guang, ZHANG Wei, LIU Xin-zheng, WU Shan, LI Si-nan, LI Hai-yan (College of Land and Environment, Shenyang Agricultural University/Key Laboratory of Arable Land Conservation (Northeast China), Ministry of Agriculture/National Engineering Laboratory for Efficient Utilization of Soil and Fertilizer Resources, Shenyang 110866, China).

Abstract: The endophytic bacteria were isolated from the roots of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs)-tolerant plant. We investigated their ability of PAHs degradation and plant growth promoting, with the aim to provide theoretical support for bacterial-plant cooperative soil remediation. *Kochia scoparia* living in coking plant area were selected for strains isolation. Eight endophytic bacteria strains, which used pyrene and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) as sole carbon and nitrogen source, were isolated from the roots of *K. scoparia*. Three endophytic bacteria, KSE4, KSE7 and KSE8, displayed high degradation efficiency in pyrene degradation experiment. They were identified as *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., and *Sphingobacterium* sp., respectively. The abilities of those three strains to produce ACC deaminase and their effects on seed germination of *K. scoparia* were examined under pyrene stress through liquid culture tests. The results showed that the activity of ACC deaminase decreased with increasing pyrene concentration ($0 \sim 15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). KSE7 had the strongest promotion effect. When pyrene concentration reached to $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the germination rate and bud length of *K. scoparia* increased by 44.8% and 61.1%, respectively. Our results indicated that KSE7 is a promising bacterial strain for soil remediation in coking plant area.

Key words: ACC deaminase; endophytic bacteria; *Kochia scoparia*; polycyclic aromatic hydrocarbons; degradation.

本文由国家自然科学基金项目(41703103)和农业部东北耕地保育重点实验室项目(2015NYBKFT-4)资助 This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (41703103), and the Key Laboratory of Northeast Arable Land Conservation of Ministry of Agriculture (2015NYBKFT-4).

2018-08-06 Received, 2019-03-15 Accepted.

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: slch_1979@163.com

多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 由于毒性强、降解周期长而成为土壤环境中的一种重要的持久性有机污染物, 具有致癌、致畸、致突变作用, 能通过食物链富集进而威胁人群健康^[1-2]. 煤的不完全燃烧及焦油、煤气等化工产品的加工过程产生大量的 PAHs, 使 PAHs 成为焦化厂地土壤中主要的污染物之一^[3-4]. 近年来, 随着城市的快速发展, 许多市中心的焦化厂开始搬迁. 这些场地被开发为居民用地和商业用地. 然而, 焦化厂土壤中含有大量的 PAHs, 可通过扬尘及地表径流进入生物体和沉积物, 从而影响人类健康和对生态环境造成危害. 因此, 如何降低和减少焦化厂地 PAHs 污染土壤引起人们的广泛关注.

目前已有的焦化厂 PAHs 污染土壤修复技术有物理修复、化学修复、微生物修复和植物修复等, 其中植物修复技术具有低能耗、经济有效以及环境友好等特点而被广泛应用^[5-6]. 但是, 由于 PAHs 具有一定的毒性, 影响植物生长, 导致单纯植物修复效率低^[7]. 植物内生细菌是指能够定殖在健康植物组织间隙或细胞内, 并与寄主植物建立和谐联合关系的一类微生物^[8]. 有证据表明, 植物相关内生细菌的 1-氨基环丙烷-1-羧酸 (ACC) 脱氨酶活性可显著提高植物生物量和 PAHs 的降解^[9-10]. Kukla 等^[9] 研究指出, 黑麦草 (*Lolium perenne*) 对石油烃有很好的降解能力, 而从黑麦草植物组织中筛选出来的具有 ACC 脱氨酶活性的内生菌能够提高黑麦草对石油烃的降解能力, 促进黑麦草生长. 陈小兵等^[11] 研究发现, 对照小麦 (*Triticum aestivum*) 的菲去除率为 80.6%, 而在接入从长期受石油污染的植物体内分离得到的内生细菌 *Enterobacter* sp. 7J2 后, 对菲的去除率能够达到 93.1%, 并且该菌对小麦有一定的促生作用.

地肤 (*Kochia scoparia*) 是一种可生长在不同类型土壤中的藜科草本灌木^[12]. 有研究报道, 地肤可累积重金属铬、铅、汞、硒、银、锌和铀, 同时可以去除 PAHs^[13]. 笔者前期研究发现, 焦化厂区优势植物地肤的根际细菌可以降解苳, 同时对地肤又有一定的促生作用. 其中菌株 KSB7 的促生效果最好, 与对照组相比, 地肤的发芽率和芽长分别提高了 56.8% 和 88.9%^[10]. 而地肤内生菌对地肤去除 PAHs 的作用机理尚不清楚.

为此, 本试验以苳为 PAHs 的代表污染物, 采集沈阳某弃用焦化厂污染区域生长的优势植物地肤为研究材料, 利用富集法, 从地肤根内分离具苳降解能力的促生菌, 研究其对苳的降解能力、促生潜能以及

对地肤种子生长的影响, 以期为植物内生细菌-植物联合修复 PAHs 污染土壤提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试地肤采自沈阳某弃用焦化厂区 (41°48'14" N, 123°20'42" E). 采集完整植株, 放入冷藏式采样样品保存箱, 带回实验室立即进行菌株的分离筛选.

苳 (纯度 >97%) 购自 Fluka 公司; 二氯甲烷 (分析纯)、丙酮 (分析纯) 和甲醇 (色谱纯) 购自天津康科德公司.

1.2 供试培养基

液体无机盐培养基 (MSM): K_2HPO_4 2.75 g, KH_2PO_4 2.25 g, $MgSO_4$ 0.2 g, $(NH_4)_2SO_4$ 1.0 g, NaCl 0.5 g, $CaCl_2$ 0.02 g, $FeSO_4$ 0.02 g, 蒸馏水定容至 1000 mL, 调节 pH 至 7.0.

苳的固体无机盐培养基: 在液体无机盐培养基中加入 2% 的琼脂和一定量的 $5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 苳溶液.

ADF 液体培养基: 1-氨基环丙烷-1-羧酸 (ACC) (将 ACC 溶于灭菌蒸馏水后, 再过 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 孔径滤膜除菌, 使其最终浓度 $3.0\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), Na_2HPO_4 6.0 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 g, KH_2PO_4 4.0 g, 葡萄糖酸 2.0 g, 柠檬酸 2.0 g, 琼脂 20 g, 用蒸馏水定容至 1000 mL, 调节 pH 至 8.0.

1.3 根内生具 ACC 脱氨酶活性苳降解菌的分离

将采集的地肤抖动去掉根部土后, 用自来水冲洗根部, 然后将地肤根剪成 5 mm 长的小段. 分别用无菌水冲洗 3 次, 然后用 75% 酒精消毒 1 min, 再用无菌水冲洗 3 次. 取一小段经过消毒的根置于灭菌的培养皿平板表面, 28~30 °C 下培养过夜, 观察是否有细菌生长. 如无菌生长, 将样品置于无菌研钵中, 加入 10 mL 无菌水于无菌研钵中研磨, 静置 20 min, 吸取研磨液. 5 mL 研磨液加入到 45 mL 液体无机盐培养基中 (含苳浓度为 $25\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 28 °C 120 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡培养 7 d; 取上述培养液 5 mL 再次加入 45 mL 含苳的液体无机盐培养基中, 28 °C 120 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 培养 7 d, 重复 3 次. 然后采用稀释平板法涂布到含有苳的固体无机盐培养基培养 3~4 d, 挑取典型的单菌落, 再分别接入 ADF 液体培养基中培养.

1.4 菌株的鉴定和 ACC 脱氨酶活性的测定

利用细菌 16S rRNA 通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCTMTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-TACGGHTACCTTGTTACGACTT-3') 进行 PCR 扩增, 反应条件参照宋立超等^[14], 产物送往上海生工生物

工程技术服务有限公司测定,获得序列在 NCBI 上比对.

菌株 ACC 脱氨酶活性测定,将筛选菌株接种至 ADF 液体培养基中,摇床振荡培养 24 h 离心,将所得菌体悬浮于含有甲苯的 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl 缓冲液(pH 8.5)中破碎离心,所得上清液加入显色剂显色,用紫外可见分光光度计在 540 nm 下测定吸光值,再进行换算,具体操作参照 Penrose 等^[15]的方法.

1.5 茈降解能力的测定

按 10%(V/V)的投菌量($\text{OD}_{600\text{ nm}}=0.6\sim0.8$),将所筛选菌株分别加入到含茈 $25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的液体无机盐培养基中,以不加菌为对照.每处理设置 3 个重复,28 ℃120 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 恒温振荡培养,分别在 5 和 10 d 取样分析茈的残留量.采用液相色谱法测定,具体操作见宋立超等^[14].

1.6 对茈耐受性的筛选

按照试验 1.5 的投菌方法,分别向含 5、10 和 15 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 茈的液体无机盐培养基中投加菌悬液,28 ℃120 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 恒温振荡培养,600 nm 下分光光度计测定 OD 值.

1.7 茈胁迫下菌株的 ACC 脱氨酶活性

在 5 和 15 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 茈浓度下测定上述菌株的 ACC 脱氨酶活性,方法同 1.4.

1.8 促生潜力的测定

1)解磷能力检测:在含有 2% 磷酸三钙的 Pikovskaya 琼脂平板上接种筛选的菌株,28 ℃下培养 10 d,观察有无透明的溶磷圈及其大小,具体操作参照张国壮等^[16]的方法;2)产铁载体的检测:将筛选菌株接种到配置好的培养基上,28 ℃下培养 3 d 后,观察培养基上菌落周围有无橙黄色晕圈,具体操作参照张国壮等^[16];3)产物吡啶-3-乙酸(IAA)检测:将筛选菌株接种到含色氨酸($100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的 TSB 液体培养基中,恒温振荡培养 46 h 后离心,取上清液加入正磷酸和 Salkowski 试剂,溶液变粉红色则有 IAA 产生,采用比色法测定,具体操作参照文献^[17]的方法.

1.9 茈胁迫下筛选菌株对种子发芽率的影响试验

参照 Liu 等^[18]的方法对地肤种子进行前处理,先将地肤种子用 70% 的酒精进行表面消毒 2 min,再用 1% 次氯酸钠消毒 10 min,最后用无菌水冲洗 3 遍,在 3 个铺有两层滤纸的培养皿中分别放入 20 粒消毒后的种子,然后将不同浓度的茈溶液(0、5、15 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和 1 mL 的菌悬液($\text{OD}_{600\text{ nm}}=0.6\sim0.8$)分

别加入到 3 个培养皿中,28 ℃培养 5 d,测定种子的发芽率和根长.

1.10 数据处理

使用 SPSS 16.0 软件对试验数据进行统计分析,采用方差分析(ANOVA)和 Tukey 检验评价各处理间的差异显著性($\alpha=0.05$),使用 Origin 8.1 软件进行数据处理及绘图.

2 结果与分析

2.1 内生菌株的鉴定和 ACC 脱氨酶的活性

以茈为碳源、ACC 为氮源从地肤根内富集分离出可培养细菌 8 株,分别命名为 KSE1、KSE2、KSE3、KSE4、KSE5、KSE6、KSE7 和 KSE8,16S rRNA 的鉴定结果见表 1.菌株 KSE6 为芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.),该属菌株有降解石油的报道^[19];菌株 KSE7 为假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.),该属菌株有降解 PAHs 的报道^[20];菌株 KSE8 为鞘氨醇杆菌属(*Sphingobacterium* sp.),该属菌株也有降解 PAHs 的报道^[21].

8 株菌均检测到 ACC 脱氨酶(表 1),除了菌株 KSE3 和 KSE5 以外,其余菌株 ACC 脱氨酶活性均大于 $1.0\text{ M}\alpha\text{-KB}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,菌株 KSE2、KSE6、KSE7 和 KSE8 的 ACC 脱氨酶活性较高,在 $3.53\sim6.35\text{ M}\alpha\text{-KB}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.此前有报道,KSE2 所在的肠杆菌属、KSE6 所在的芽孢杆菌属、KSE7 所在的假单胞菌属均有促进植物生长的作用^[22-24].

2.2 内生菌株对茈的降解特性

培养 10 d 后 8 株内生细菌对茈的去除效果如图 1 所示.由此可以看出,8 株细菌对茈都有一定的去除能力.培养 5 d 时,除了菌株 KSE1、KSE3、KSE5

表 1 内生菌株的鉴定和 ACC 脱氨酶活性
Table 1 Identification of endophytic bacterium and activity of ACC deaminase

菌株 Strain	最相似的物种 Most similar species	同源性 Homology (%)	ACC 脱氨酶活性 Activity of ACC deaminase ($\text{M}\alpha\text{-KB}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)
KSE1	<i>Planococcus</i> sp. PS30(2010)	97	1.50±0.31d
KSE2	<i>Enterobacter cloacae</i> strain HYS3	98	6.35±1.07ab
KSE3	<i>Stenotrophomonas</i> sp. SY1	97	0.62±0.08d
KSE4	<i>Bacillus cereus</i> strain WXZ-8	100	1.29±0.33d
KSE5	<i>Myroides odoratus</i> strain EGU882	100	0.97±0.14d
KSE6	<i>Bacillus flexus</i> strain PG61	97	3.53±0.85c
KSE7	<i>Pseudomonas fluorescens</i> strain PB4	97	5.18±0.77a
KSE8	<i>Sphingobacterium siyangense</i> strain AL363	96	4.30±0.64bc

同列不同字母表示差异显著($P<0.05$) Different letters meant significant difference at 0.05 level. 下同 The same below.

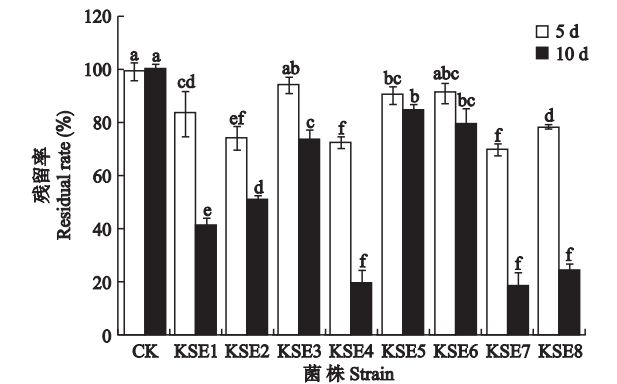


图1 内生菌株对苳的去除率

Fig.1 Removal rate of pyrene by endophytic bacterium

误差线代表标准偏差,不同字母表示同一时间不同菌株间差异显著 ($P<0.05$) Error lines represented standard deviations. Different letters indicated significant difference among strains in the same time at 0.05 level. 下同 The same below.

和 KSE6 以外,另 4 株菌 KSE2、KSE4、KSE7 和 KSE8 对苳的去除率分别为 25.8%、27.7%、30.3% 和 23.7%;培养 10 d 时,KSE2 对苳的去除率只有 49.6%,而 KSE4、KSE7 和 KSE8 对苳的去除率无显

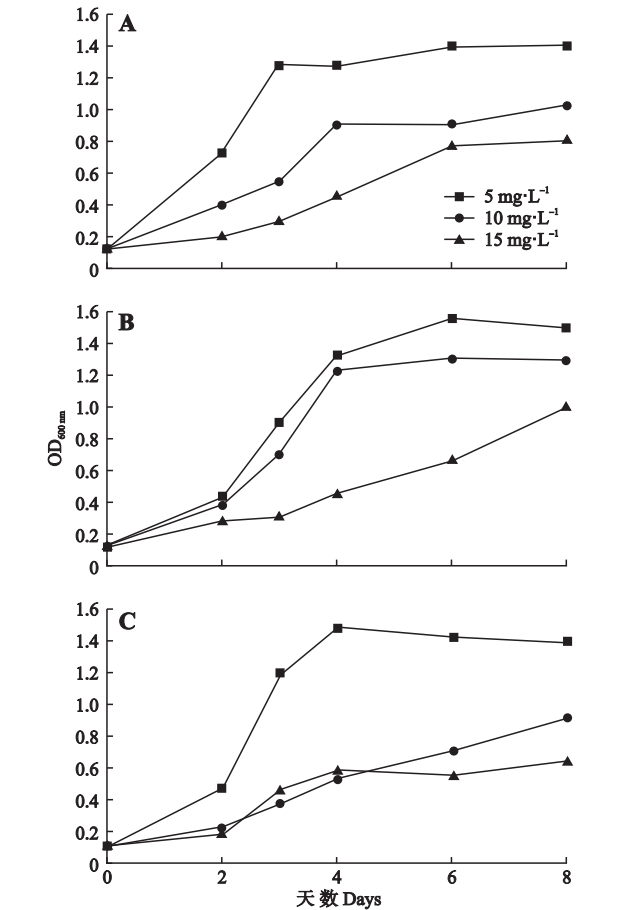


图2 候选菌株在苳胁迫下的生长模式

Fig.2 Growth patterns of candidate strains under pyrene stress.

A: KSE4; B: KSE7; C: KSE8.下同 The same below.

著差别,分别为 80.4%、81.0% 和 75.8%.

2.3 苳对候选菌株生长的影响

综合 8 株菌对苳的去除率和产 ACC 脱氨酶能力,选取菌株 KSE4、KSE7 和 KSE8 作为候选菌,测定其在不同苳浓度下菌株的生长情况,结果如图 2 所示.随着苳浓度升高,菌株的光密度下降,10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的苳对菌株 KSE4 和 KSE8 生长具有显著影响,而苳浓度达到 15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时才对菌株 KSE7 有一定的胁迫作用.

3 株菌在苳浓度为 0、5 和 15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 下 ACC 脱氨酶的活性测定结果验证了上述结果,随着苳浓度升高,酶活性降低,各菌株在苳 0 和 5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时差别不显著,而在 15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下 ACC 脱氨酶活减少了 54.2~75.9% (图 3).

2.4 候选菌株的促生特性

在上述基础上进一步测定了候选菌 KSE4、KSE7 和 KSE8 的其他促生特性,结果如表 2 所示.3 株菌均不产生铁载体,但都具有溶磷能力,菌株 KSE7 的能力显著高于其他两株菌.菌株 KSE8 无 IAA 产物,菌株 KSE4 的 IAA 产物显著高于菌株 KSE7.

2.5 菌株对地肤发芽率和根长的影响

3 株菌对地肤种子发芽率和根长的影响如表 3 所示.结果表明,低浓度苳处理下各菌株对地肤的发

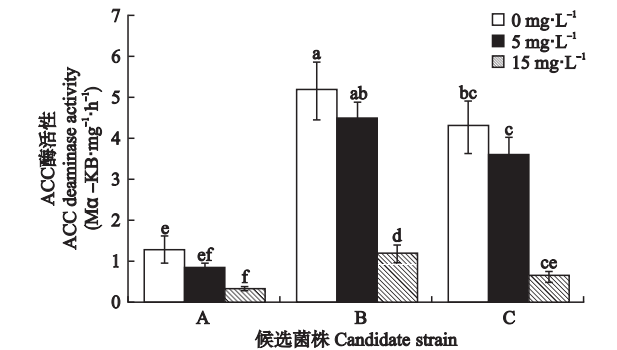


图3 候选菌株在苳胁迫下的 ACC 脱氨酶活性

Fig.3 ACC deaminase activity of candidate strains under pyrene stress.

表2 候选菌株的植物促生特性

Table 2 Plant growth promoting characteristics of candidate strains

菌株 Strain	溶磷 Phosphorus solubilizing (HD/CD)	产铁载体 Iron-producing carrier (A/Ar)	吲哚-3-乙酸 IAA ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
KSE4	1.17±0.09c	0	7.18±0.41a
KSE7	1.82±0.16a	0	2.42±0.27b
KSE8	1.44±0.21b	0	0

表 3 不同茈浓度下候选菌株对地肤种子生长的影响
Table 3 Effects of candidate strains on the growth of *Kochia scoparia* grown in different pyrene concentrations

菌株 Strain	发芽率 Germination rate (%)			根长 Root length (mm)		
	0	5 mg · L ⁻¹	15 mg · L ⁻¹	0	5 mg · L ⁻¹	15 mg · L ⁻¹
CK	95±3a	81±3b	32±1c	3.0±0.1ab	1.5±0.1b	0.7±0.2d
KSE4	92±2a	92±1a	54±3a	2.9±0.1ab	1.7±0.2ab	1.5±0b
KSE7	94±1a	90±2a	58±6a	3.2±0.2a	1.9±0ab	1.8±0.1a
KSE8	96±2a	87±2a	42±3b	2.8±0.2b	1.8±0.1a	1.1±0.2c

芽率和根长的影响不显著,而高浓度处理影响显著,菌株 KSE7 的促生效果最好,与对照相比,地肤发芽率和芽长分别提高了 44.8%和 61.1%.与菌株 KSE8 相比,菌株 KSE4 对地肤的促生作用更好,表明在高浓度茈胁迫下,菌株主要以去除 PAHs 为主,缓解污染物对种子的胁迫,从而达到促生作用。

3 讨 论

目前,国内外通过添加植物内生菌、PAHs 降解菌株等功能微生物来提高植物对 PAHs 类有机污染物的去除效率已有相关报道.Wang 等^[25]将具 PAHs 降解能力的多株植物内生菌分别浸泡油菜种子和喷洒到叶子表面,浸泡种子与叶面喷洒相比 PAHs 的去除率提高了 17.8%.李爽等^[26]采用水培体系检测内生细菌 *Serratia* sp. PW7 定殖对黑麦草体内茈污染去除的影响,菌株 PW7 能够高效定殖在黑麦草根和茎叶中,促进植物生长和茈的去除.Ho 等^[27]从芦苇 (*Phragmites australis*) 和香根草 (*Vetiveria zizanioides*) 中分离出可调控植物修复儿茶多酚污染和促进植物生长的多功能内生菌株 *Achromobacter xylosoxidans* F3B.因此,利用能降解 PAHs 的内生促生菌联合植物修复焦化厂 PAHs 污染土壤具有一定的应用潜力.本研究从 PAHs 污染焦化厂地肤根内分离筛选出 8 株具茈去除特性的促生菌株,经鉴定分别为动性球菌属 (*Planococcus*)、肠杆菌属 (*Enterobacte*)、寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、类香味菌属 (*Myroides*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 和鞘氨醇杆菌属 (*Sphingobacterium*).在含茈 25 mg · L⁻¹液体无机盐培养基中接种筛选的菌株摇床培养 10 d 后,菌株 KSE4、KSE7 和 KSE8 对茈的去除率达到 80.4%、81.0%和 75.8%.候选菌 KSE4、KSE7 和 KSE8 所在菌属的菌株具有去除 PAHs 能力均已报道.Bezza 等^[28]研究发现, *Bacillus* sp. SPL-4 可去除土壤中 53.5%的 5 环和 6 环 PAHs;杨轩等^[29]发现, *Pseudomonas* sp. BDP01 在 15 d 内可去除 89.6%的萘和

77.2%的蒽;何丽娟等^[30]从石油污染土壤中分离到一株鞘氨醇杆菌属的非降解菌 2F5-2,在 10 h 内对菲 (100 mg · L⁻¹) 的去除率为 100%.总体上,笔者所筛菌株的去除率没有上述文献报道的菌株去除率高,但所筛选的是能以 PAHs 和 ACC 为唯一碳源和氮源的菌株,一株菌兼具去除 PAHs 和促生两种特性.如菌株 KSE7 在 5 d 和 10 d 对茈去除率分别为 30.3%和 75.8%,在 5 d 时对地肤发芽率和芽长比对照分别提高了 44.8%和 61.1%.刘魏魏等^[7]同时接种 PAHs 和植物促生菌来协助紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 去除土壤中的 PAHs,而接种笔者所筛选的一株菌就可以完成上述两种菌的作用,可在一定程度上减少菌株之间的竞争,提高外来菌株在土壤中的存活率。

植物的内生细菌可提高植物去除 PAHs 的能力,但所分离的功能菌株对不同植物的协同作用不同.Wang 等^[25]将 PAHs 降解菌群接种至种植白菜型油菜 (*Brassica rapa*) 和大白菜 (*B. pekinensis*) 的 PAHs 污染土壤中,结果表明,白菜型油菜对 PAHs 的去除能力显著高于大白菜.笔者在茈的降解特征和促生特性的试验基础上,选取候选菌株 KSE4、KSE7 和 KSE8 对地肤种子的促生能力进行试验.结果表明,低浓度下各菌株对地肤的发芽率和根长没有显著影响,而高浓度下影响显著,高效菌株 KSE7 的促生效果最好(表 3).3 株菌的促生效果为 KSE7>KSE4>KSE8,这表明在高浓度茈胁迫下,菌株去除 PAHs 的功能起主要作用,缓解污染物对种子的胁迫,进而起到促生效果。

经液体培养茈降解试验和促生能力试验综合分析,确定菌株 KSE7 为高效降解茈的植物根内促生菌。

参考文献

[1] Vancarova M, Kresinova Z, Cajthaml T. Influence of the bioaccessible fraction of polycyclic aromatic hydrocarbons on the ecotoxicity of historically contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, **254/255**:

- 116-124
- [2] Sun K (孙 凯), Liu J (刘 娟), Li X (李 欣), *et al.* Isolation, identification, and performance of two pyrene-degrading endophytic bacteria. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2014, **34**(4): 853-861 (in Chinese)
- [3] Wang RW, Yousaf B, Sun RY, *et al.* Emission characterization and $\delta^{13}\text{C}$ values of parent PAHs and nitro-PAHs in size-segregated particulate matters from coal-fired power plants. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, **318**: 487-496
- [4] Liu (刘 庚), Bi R-T (毕如田), Wang S-J (王世杰), *et al.* Statistical characteristic analysis of soil PAHs in a coking contaminated site of China. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2013, **24**(6): 1722-1728 (in Chinese)
- [5] Gan S, Lau EV, Ng HK. Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Journal of Hazardous Materials*, 2009, **172**: 532-549
- [6] Teng Y, Shen YY, Luo YM, *et al.* Influence of rhizobium meliloti on phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons by alfalfa in an aged contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, **186**: 1271-1276
- [7] Liu W-W (刘魏魏), Yin R (尹 睿), Lin X-G (林先贵), *et al.* Interaction of phytoremediation-microorganism to remediation of aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) polluted soils. *Soils* (土壤), 2010, **42**(5): 800-806 (in Chinese)
- [8] Wang Y, Dai CC. Endophytes: A potential resource for biosynthesis, biotransformation, and biodegradation. *Annals of Microbiology*, 2011, **61**: 207-215
- [9] Kukla M, Płociniczak T, Piotrowska-Seget Z. Diversity of endophytic bacteria in *Lolium perenne* and their potential to degrade petroleum hydrocarbons and promote plant growth. *Chemosphere*, 2014, **117**: 40-46
- [10] Song L-C (宋立超), Zhang W (张 薇), Niu X-G (钮旭光), *et al.* Screening of pyrene-degrading bacteria from *Kochia scoparia* rhizosphere in coking plant and study of plant growth-promoting ability. *Journal of Agro-Environment Science* (农业环境科学学报), 2017, **36**(11): 2275-2280 (in Chinese)
- [11] Chen X-B (陈小兵), Sheng X-F (盛下放), He L-Y (何琳燕), *et al.* Isolation and characteristics of a plant growth-promoting, phenanthrene-degrading endophytic bacterium from plants. *Acta Scientiae Circumstantiae* (环境科学学报), 2008, **28**(7): 1308-1313 (in Chinese)
- [12] Hegazy AK. Phytomonitoring and management of tar piles on the qatari coastal marshes, arabian gulf. *Environmental Pollution*, 1995, **90**: 187-190
- [13] Moubasher HA, Hegazy AK, Mohamed NH, *et al.* Phytoremediation of soils polluted with crude petroleum oil using *Bassia scoparia* and its associated rhizosphere microorganisms. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2015, **98**: 113-120
- [14] Song L-C (宋立超), Li P-J (李培军), Liu W (刘 宛), *et al.* Isolation, identification and degradation characteristics of a PAHs-degrading bacteria from salt-alkaline soil. *Microbiology China* (微生物学通报), 2011, **38**(2): 282-287 (in Chinese)
- [15] Penrose DM, Glick BR. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 2003, **118**: 10-15
- [16] Zhang G-Z (张国壮), Li H-C (李海超), Sun Y-L (孙永林), *et al.* Isolation and identification of rhizobacteria producing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase. *Journal of Northwest A&F University* (Natural Science) (西北农林科技大学学报: 自然科学版), 2014, **42**(6): 89-196 (in Chinese)
- [17] Glickmann E, Dessaux Y. A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indole compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, **61**: 793-796
- [18] Liu WX, Sun JY, Ding LL, *et al.* Rhizobacteria(*Pseudomonas* sp. SB) assist phytoremediation of oily-sludge-contaminated soil by tall fescue (*Festuca arundinacea* L.). *Plant and Soil*, 2013, **371**: 533-542
- [19] Zeng J, Zhu Q, Wu YC, *et al.* Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons using *Bacillus subtilis* CotA with high laccase activity and copper independence. *Chemosphere*, 2016, **148**: 1-7
- [20] Wang R-T (汪如婷), Luo X-F (雒晓芳), Tian D-N (田丹妮), *et al.* Research on the degradation characteristics of naphthalene and phenanthrene by *Pseudomonas aeruginosa*. *China Brewing* (中国酿造), 2015, **34**(10): 82-85 (in Chinese)
- [21] Pei XH, Hang XH, Wang SM, *et al.* Effects of a biosurfactant and a synthetic surfactant on phenanthrene degradation by a sphingomonas strain. *Pedosphere*, 2010, **20**: 771-779
- [22] Liu J-L (刘佳莉), Fang F (方 芳), Shi X-H (史煦涵), *et al.* Isolation and characterization of PGPR from the rhizosphere of the *Avena sativa* in saline-alkali soil. *Acta Prataculturae Sinica* (草业学报), 2013, **22**(2): 132-139 (in Chinese)
- [23] Zhang Y-Q (张艳群), Lai H-X (来航线), Wei X-M (韦小敏), *et al.* Screening and identification of two promoting plant growth bacillus strains. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica* (西北农业学报), 2014, **23**(3): 193-200 (in Chinese)
- [24] Zhang H (张 晖), Song Y-Y (宋圆圆), Lyu S (吕顺), *et al.* The antifungal activity and crop growth stimulation of growth-promoting rhizobacteria from banana rhizosphere soil. *Journal of South China Agricultural University* (华南农业大学学报), 2015, **36**(3): 65-70 (in Chinese)
- [25] Wang J, Liu J, Wang L, *et al.* Composite of PAH-degrading endophytic bacteria reduces contamination and health risks caused by PAHs in vegetables. *Science of the Total Environment*, 2017, **598**: 471-478
- [26] Li-S (李 爽), Zuo S-W (左尚武), Wang W-Q (王万清), *et al.* Determining the effects of *Serratia* sp.

PW7 on pyrene removal and the endophytic bacterial community in ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) via different inoculation methods. *Journal of Agro-Environment Science* (农业环境科学学报), 2018, **37**(12): 2755–2764 (in Chinese)

[27] Ho YN, Shih CH, Hsiao SC, *et al.* A novel endophytic bacterium, *Achromobacter xylosoxidans*, helps plants against pollutant stress and improves phytoremediation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2009, **108**: S75–S95

[28] Bezza FA, Nkhalambayausi CEM. The role of lipopeptide biosurfactant on microbial remediation of aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil. *Chemical Engineering Journal*, 2017, **309**: 563–576

[29] Yang X (杨 轩), Zhang W (张 威), Li S-W (李

师翁), *et al.* Study on isolation, identification and physiological characteristics of PAHs-degrading bacteria. *Acta Scientiae Circumstantiae* (环境科学学报), 2012, **32**(5): 1033–1040 (in Chinese)

[30] He L-Q (何丽娟), Li Z-H (李正华), Hong Q (洪青), *et al.* Characterization of a phenanthrene-degrading strain and cloning of degradation-related gene. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology* (应用与环境生物学报), 2009, **15**(5): 682–685 (in Chinese)

作者简介 曹阳,男,1995年生,硕士研究生. 主要从事土壤环境微生物研究. E-mail:1726013465@qq.com

责任编辑 肖 红
