

EM 原露对铅胁迫下黑麦草种子萌发·幼苗生长及铅吸收的影响

周红艳, 黄晓梅, 朱 瑛, 江国鸿 (福建农业职业技术学院, 福建福州 350119)

摘要 [目的]研究 EM 原露对铅胁迫下黑麦草种子萌发、幼苗生长及重金属铅吸收的影响。[方法]以黑麦草种子为材料,采用水培方法研究喷施不同浓度 EM 原露处理(0、150 倍、450 倍)对铅胁迫下黑麦草种子萌发、幼苗生长及重金属铅吸收的影响。[结果]EM 原露处理与对照相比,能促进黑麦草种子萌发和幼苗生长,样品鲜重明显提高。其中喷施 150 倍 EM 原露效果最佳,黑麦草发芽势与种子发芽率相对增长率均达到 30.0%,芽长、根长相对增长率分别达 31.76%、14.77%,同时培养液中重金属铅含量明显降低 34.81%。[结论]该研究结果可为今后草坪草修复重金属污染的治理提供理论依据。

关键词 黑麦草;EM 原露;铅胁迫;萌发;幼苗生长

中图分类号 S 688.4;X173 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2019)23-0079-03

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2019.23.025



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Effect of EM on the Seed Germination, Seeding Growth and Lead Absorption on Ryegrass under Lead Stress

ZHOU Hong-yan, HUANG Xiao-mei, ZHU Ying et al (Fujian Agriculture Vocation Technical College, Fuzhou, Fujian 350119)

Abstract [Objective] In order to study the influence of EM on the seed germination, seeding growth and lead absorption on ryegrass under lead stress. [Method] Taking ryegrass as research object, the influence of different concentrations of EM (0, 150 times, 450 times) on the seed germination, seeding growth and lead absorption on ryegrass under lead stress was studied by using hydroponics culture method. [Result] Seed germination, seeding growth and fresh weight increased very significantly with the application of EM concentration compared with control group. Among them, the effect of applying 150 times EM was the best, the relative growth rate of germinative potential and germination rate achieved respectively 30.0%, the relative growth rate of germinal length and root length reached 31.76%, 14.77%. At the same time, the content of lead in the culture solution was significantly reduced by 34.81%. [Conclusion] The research can provide theoretical basis for the rehabilitation of heavy metals by turf grass in the future.

Key words Ryegrass; EM; Lead stress; Germination; Seeding growth

随着我国经济的发展和工业进程的加快,各种污染物的产生使越来越多的重金属流入到土壤、空气和水体环境中。铅是环境污染的首要元素之一,进入环境中不易降解,其毒性极大,具有很强的累积性和不可逆性,通过食物链在人和生物体内富集,严重威胁人体的生命和健康。因此如何修复铅污染环境已成为当前环境科学的研究热点^[1]。

植物修复是一种新兴的绿色生物技术,能在不破坏土壤生态环境、保持土壤结构和微生物活性的情况下,通过植物的根系直接将大量的重金属元素吸收,收获植物地上部分来修复被污染的土壤。植物修复作为一项高效、低廉、非破坏的土壤净化技术越来越受人们的关注^[2-3]。在草坪植物中,黑麦草因其生物量大、再生能力强、多年生、无需重复栽培等优点在重金属修复中取得了一定的成效^[4-5]。另外,利用微生物与植物联合修复重金属污染的应用非常广泛。有研究表明,微生物可促进植物吸收营养物质,增强植物抗逆性,增加生物量,从而提升植物对重金属的耐受性及吸附累积能力,提高植物修复重金属效率。丛枝菌根真菌提高宿主植物对重金属的耐受性,蜈蚣草联合丛枝菌根真菌作用下可增加植物体内磷转运蛋白数量,促进植物对重金属 As 的吸收^[6]。*Glomus intraradices* 可促进黑麦草对 Cd 的吸收,减少土壤中的 Cd 吸收^[7]。Jiang 等^[8]研究发现伯克霍尔德氏菌 J62 提高西红柿对铅、镉的吸收。Mastretta 等^[9]使用植物内生菌与烟

草培养后发现,烟草生物量增加,对镉的吸收增多。但是这些研究大多集中单一微生物对重金属污染下植物生长的影响。

EM 原露是日本琉球大学比嘉照夫教授发明的复合微生物菌剂,主要由光合细菌、放线菌、酵母菌、乳酸菌等 10 个属 80 多种微生物复合而成的。它能提高植物光合作用,促进植物生长,提高植物抗逆性,增强植物抗金属胁迫能力,能有效地应用于农业、畜牧业、渔业、环境净化和人类的健康保健等方面^[10]。目前将 EM 技术联合黑草修复重金属污染的应用研究国内尚属空白,因为微生物种类繁多,与植物间相互作用效果是不同的。而目前对于复合微生物与植物联合修复重金属污染的研究极少,为此,该研究探讨 EM 原露对铅胁迫下黑麦草种子萌发、幼苗生长及重金属铅吸收的影响,试图缓解重金属对草坪草的毒害作用,为草坪草修复重金属污染应用 EM 技术提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料 黑麦草种子,由千聚源种业公司提供。EM 原露,由江西天意生物技术有限公司提供。

1.2 试验设计 选取颗粒饱满的种子备用。试验前将黑麦草种子用 0.5% 次氯酸钠消毒 1 h,用无菌水冲洗干净,滤纸吸干。在室温下浸种后移入铺有 2 层滤纸、直径为 9 cm 的培养皿中。在培养皿中加入不同浓度的 EM 溶液和硝酸铅溶液,使得不同处理铅胁迫浓度均为 200 mg/L,EM 溶液浓度共设 3 个处理,分别为处理①(0, CK)、处理②(EM 浓度为 150 倍稀释液)、处理③(EM 浓度为 450 倍稀释液)。将培养皿置于光照培养箱进行发芽培养试验,培养温度为 25 ℃,光照/黑暗周期为 16 h / 8 h。每个处理设置 3 个重复,之后每

基金项目 福建农业职业技术学院院级科研项目(2019JS012);福建省教育厅中青年教师科研项目(JA15757)。

作者简介 周红艳(1979—),女,江西新余人,讲师,硕士,从事草坪生理生态研究。

收稿日期 2019-07-30

天添加适量水保持滤纸湿润。

1.3 测定项目与方法 每天观察生长情况,并按以下公式计算发芽率、发芽势:发芽势=(第3天正常发芽种子数/供试种子数)×100%、发芽率=(第10天正常发芽种子数/供试种子数)×100%。第10天测量幼苗的根长、芽长、地上部鲜重等。相对增长率=(EM处理测定指标-对照CK组测定指标)/对照CK组测定指标×100%。

1.4 重金属铅含量测定方法 硝酸铅标准溶液配制及测定方法参照液体类样品铅含量检测国标 GB 5009.12—2017 第三法火焰原子吸收法。每个培养皿吸取 0.3 mL 溶液与标准溶液进行重金属铅含量检测。使用 TAS-990F 火焰原子吸收光谱仪,仪器工作条件:检测波长 283.3 nm,燃气组成为空气-乙炔,灯电流 2 mA,空气流量 8 L/min,乙炔流量 1 500 mL/min。

1.5 数据统计 测量数据用 *t* 检验法,将不同浓度测量数据进行差异显著性检验。 $P < 0.05$ 表示差异达显著水平, $P < 0.01$ 表示差异达极显著水平。

2 结果与分析

2.1 EM 原露对铅胁迫下黑麦草种子萌发的影响 从表 1 可看出,不同浓度 EM 处理对黑麦草发芽势、发芽率的影响与对照间差异达到显著($P < 0.05$)或极显著水平($P < 0.01$)。其中处理②(150倍)与对照相比发芽势、发芽率相对增长率均达 30.0%,处理 3(450倍)与对照相比发芽势、发芽率相对增长率分别达 16.3%、14.0%。处理②与处理③之间发芽势、发芽率差异不显著。这表明 EM 原露有利于提高重金属铅胁迫下黑麦草种子发芽势和发芽率。

表 1 不同浓度 EM 处理对黑麦草发芽势、发芽率的影响

Table 1 Effects of EM treatment at different concentrations on germination potential and germination rate of ryegrass %

处理 Treatment	发芽势 Germination potential	相对增长率 Relative growth rate	发芽率 Germination rate	相对增长率 Relative growth rate
①	41.0±3.0 cB	0	64.3±3.0 cB	0
②	52.3±3.0 aA	30.0	83.0±5.0 aA	30.0
③	47.7±4.0 abAB	16.3	75.3±4.0 abAB	14.0

注:同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P < 0.05$), different uppercase letters indicate that the difference is extremely significant ($P < 0.01$)

2.2 EM 原露对铅胁迫下黑麦草种子芽长、根长的影响 一般研究认为,Pb 积聚在植物根系周围会对植物产生毒害作用,影响种子萌发和植物生长。由表 2 可见,在铅逆境胁迫下,不同 EM 处理原露以处理②黑麦草芽长、根长最高,不同浓度 EM 处理黑麦草芽长、根长呈现的变化趋势是处理②>处理③>处理①(CK)。其中处理②与处理①(CK)相比芽长、根长相对增长率分别达 14.77%、31.76%,处理②与处理③间芽长、根长差异均达极显著水平($P < 0.01$)。处理③与处理①(CK)之间差异不明显。这表明铅逆境胁迫下使用浓度 150 倍 EM 原露能明显促进黑麦草的地上部幼苗生

长及地下部根系的生长。一方面根系的生长可以增加植物对养分的吸收,从而促进幼苗生长;另一方面黑麦草吸收重金属铅储存更大的生物量,可提高富集重金属能力。

表 2 不同浓度 EM 处理对黑麦草芽长、根长的影响

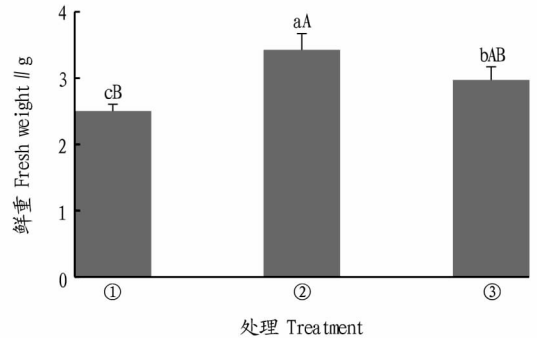
Table 2 Effects of EM treatment at different concentrations on bud length and root length of ryegrass

处理 Treatment	芽长 Bud length cm	相对增长率 Relative growth rate//%	根长 Root length cm	相对增长率 Relative growth rate//%
①	8.32±0.11 bB	0	2.96±0.09 bB	0
②	9.54±0.19 aA	14.77	3.90±0.19 aA	31.76
③	8.66±0.22 bB	4.09	3.26±0.25 bB	10.14

注:同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P < 0.05$), different uppercase letters indicate that the difference is extremely significant ($P < 0.01$)

2.3 EM 原露对铅胁迫下黑麦草鲜重的影响 方差分析结果表明,不同浓度 EM 处理间黑麦草鲜重的差异达显著($P < 0.05$)或极显著水平($P < 0.01$)。由图 1 可见,在铅逆境胁迫下,使用不同浓度的 EM 原露均有利于黑麦草的生长。与对照相比,处理②和处理③的鲜重分别为 3.46、2.98 g,比对照(2.51 g)分别提高了 37.85%、18.73%。处理②与处理③之间差异显著($P < 0.05$)。可见稀释浓度 150 倍的 EM 原露(处理②)促进黑麦草生长效果更好。



注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)

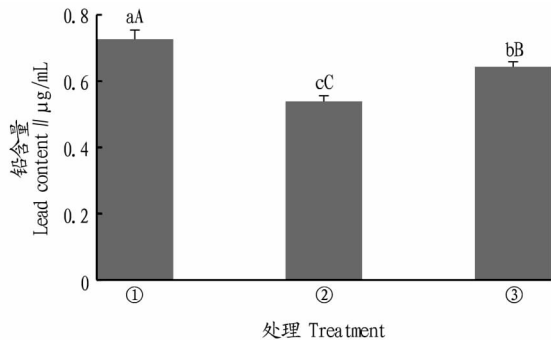
Note: Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$), different uppercase letters indicate that the difference is extremely significant ($P < 0.01$)

图 1 不同浓度 EM 处理对铅胁迫下黑麦草鲜重的影响

Fig. 1 Effects of EM treatment at different concentrations on fresh weight in ryegrass

2.4 EM 原露对铅胁迫下黑麦草重金属铅吸收的影响 由图 2 可见,不同浓度的 EM 对铅胁迫下黑麦草重金属铅吸收的影响差异均达到极显著水平($P < 0.01$)。不同浓度 EM 处理中重金属含量从高到低依次为处理①、处理③、处理②,其中处理②与处理①(CK)相比重金属吸收提高 34.81%。这与黑麦草种子萌发及幼苗生长规律正好相反的。由此可见,EM 促进黑麦草根系及幼苗的生长,提供更大的生物量,从而可能提高富集重金属能力。陈生涛等^[11]通过微生物根瘤菌 W33-黑麦草联合吸收重金属 Cu 的研究表明,该菌能显著提

升植物对 Cu 的吸收,同时促使根部和地上部干重分别增加 46.7%和 27.9%。另有研究指出微生物可向宿主植物传递营养,使得植物幼苗成活率提高,增强植物抗逆性,生长加快,间接促进植物对重金属的修复作用^[12]。这与该试验结果是相符的。



注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)

Note: Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$), different uppercase letters indicate that the difference is extremely significant ($P < 0.01$)

图 2 不同浓度 EM 处理对黑麦草铅含量吸收的影响

Fig. 2 Effects of EM treatment at different concentrations on the absorption of lead content in ryegrass

3 结论与讨论

土壤、水、大气等环境中重金属污染威胁人类健康和整个生态系统,而高效、低耗、安全的生物修复技术显示出了极大的应用潜力,特别是利用植物-微生物共生体增强生物修复效应的应用。EM 作为一种复合微生物菌剂,在环境保护领域具有投资少、操作简单、见效快、不会造成二次污染,因而具有广阔的发展前景,目前应用于种植业、养殖业、环保业等因为产生了明显的经济、生态和社会效益,受到了社会各界的广泛关注^[13]。它与一般微生物制剂相比也表现了高科技水平^[14]。

该研究结果表明,应用 EM 原露可明显提高铅胁迫下黑麦草种子发芽势、发芽率和地上部鲜重,与潘玉荣等^[15]和王艳兰等^[16]的研究结果一致。芽长、根长在高浓度稀释 150 倍 EM 原露作用下增长明显,在低浓度 450 倍 EM 原露作用下差异相对不明显。说明 EM 菌达到一定浓度对黑麦草幼苗生长有明显促进作用,与此同时溶液中重金属含量大大降低,从而缓解重金属铅的毒害作用。可见 EM 原露不仅可促进植物生长,积累一定的生物量,同时增加了对重金属的吸收。这与 Zhang 等^[17]和李雁峰等^[18]在利用复合微生物与植

物联合修复重金属的研究结果是相符的。该研究中应用 EM 原露与对照相比,重金属吸收与对照相比提高 34.81%。对此而言,EM 作为一种复合菌群的添加对富集重金属的能力有望开展更深入的研究。因 EM 在草坪草修复重金属上的应用鲜有报道,具有一定的创新,其试验结果可为下一步开展盆栽试验或实践应用提供参考。EM 对重金属胁迫下草坪草的逆境生理及不同部位重金属富集情况有待进一步研究。同时加强该复合菌群中更多功能菌的特点研究与筛选,以期在草坪草修复重金属上的应用领域取得突破,将可能取得更加广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 李惠英,户正荣,傅金民. 不同基因型高羊茅的耐铅与铅富集特性[J]. 草业科学,2014,31(7):1269-1274.
- [2] JADIA C D, FULEKAR M H. Phytoremediation of heavy metals; Recent techniques[J]. African journal of biotechnology, 2009, 8(6): 921-928.
- [3] 桑爱云,张黎明,曹启民,等. 土壤重金属污染的植物修复研究现状与发展前景[J]. 热带农业科学,2006,26(1):75-79.
- [4] 徐卫红,王宏信,李文一,等. 重金属富集植物黑麦草对 Zn 的响应[J]. 水土保持学报,2006,20(3):43-46.
- [5] 盛洁. 黑麦草对重金属的响应及修复调控研究进展[J]. 作物研究, 2014,28(8):948-952.
- [6] 汤克丽,蔡惠玲,罗乘露,等. 微生物联合植物修复重金属污染土壤的研究进展[EB/OL]. 中国科技论文在线(2014-09-19)[2019-05-25]. <http://www.paper.edu.cn/releasepaper/content/201409-232>.
- [7] 刘茵. *Glomus intraradices* 对黑麦草生长和富集镉的影响[J]. 湖北农业科学,2011,50(12):2409-2412.
- [8] JIANG C Y, SHENG X F, QIAN M, et al. Isolation and characterization of a heavy metal-resistant *Burkholderia* sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promotion plant growth and heavy metal accumulation in metal-polluted soil[J]. Chemosphere, 2008, 72(2): 157-164.
- [9] MASTRETTA C, TAGHAVI S, VAN DER LELIE D, et al. Endophytic bacteria from seeds of *Nicotiana glauca* can reduce cadmium phytotoxicity[J]. International journal of phytoremediation, 2009, 11(3): 251-267.
- [10] 赵嘉平,唐明,李堆淑,等. 有效微生物群(EM)的研究进展[J]. 西北林学院学报,2003,18(3):50-53.
- [11] 陈生涛,何琳燕,李娅,等. *Rhizobium* sp. W33 对不同植物吸收铜和根际分泌物的影响[J]. 环境科学学报,2014,34(8):2077-2084.
- [12] MÜLLER T, AVOLIO M, OLIVI M, et al. Nitrogen transport in the ectomycorrhiza association; The *Hebeloma cylindrosporum*-*Pinus pinaster* model[J]. Phytochemistry, 2007, 68(1): 41-51.
- [13] 比嘉照夫. EM 环境革命[M]. 东京:综合ユニコム株式会社, 1996.
- [14] 李维炯,倪永珍. EM 有效微生物的研究与应用[J]. 天津畜牧兽医, 1995, 12(4): 1-4.
- [15] 潘玉荣,谭亚丽. EM 菌对水稻种子发芽的影响[J]. 吉林农业科学, 1998(2):61-62.
- [16] 王艳兰,李立,欧阳西荣. EM 浸种对玉米种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 湖南农业科学,2012(1):5-7.
- [17] ZHANG W H, HUANG Z, HE L Y, et al. Assessment of bacterial communities and characterization of lead-resistant bacteria in the rhizosphere soils of metal-tolerant *Chenopodium ambrosioides* grow on lead-zinc mine tailings[J]. Chemosphere, 2012, 87(10): 1171-1178.
- [18] 李雁峰,冯冲凌,李科林,等. 复合功能菌群的构建及其对铅锌胁迫下蓖麻种子萌发和铅锌积累的影响[J]. 中南林业科技大学学报,2017, 37(10):45-53.