

云南会泽废弃铅锌矿区和非矿区 中华山蓼根际真菌镉耐性研究

湛方栋, 何永美, 陈建军, 李 元, 祖艳群

(云南农业大学资源与环境学院, 昆明 650201)

摘 要:采用常规、含 Cd^{2+} 和含 Pb^{2+} 的马丁氏培养基,对云南省会泽县废弃铅锌矿区和非矿区中华山蓼(*Oxyria sinensis* Hemsle)根际真菌进行分离,将分离的菌株接种到含不同浓度(0、0.05、0.5 和 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) Cd^{2+} 的马铃薯葡萄糖培养液中,研究和比较了废弃铅锌矿区和非矿区中华山蓼根际真菌的镉耐性。结果表明, Cd^{2+} 显著抑制铅锌矿区和非矿区中华山蓼根际真菌的生长; Cd^{2+} 对常规、含 Cd^{2+} 和含 Pb^{2+} 的马丁氏培养基分离的铅锌矿区中华山蓼根际真菌的 EC_{50} 平均值和最大值均明显大于非矿区,表明铅锌矿区中华山蓼根际真菌对 Cd^{2+} 的耐性强于非矿区,采用含 Cd^{2+} 培养基,从铅锌矿区中华山蓼根际分离出的真菌 Cd^{2+} 耐性最强。

关键词:铅锌矿区;中华山蓼;根际真菌;镉

中图分类号:X172 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)05-0930-06

Cd Tolerance of Rhizosphere Fungi of *Oxyria sinensis* Hemsle in Abandoned Lead-zinc Mining and Non-mining Area in Huize, Yunnan, China

ZHAN Fang-dong, HE Yong-mei, CHEN Jian-jun, LI Yuan, ZU Yan-qun

(College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: Culturable rhizosphere fungi of *Oxyria sinensis* Hemsle in abandoned lead-zinc mining and non-mining area in Huize, Yunnan, China were isolated with Martin's medium which were normal, Cd^{2+} and Pb^{2+} contained. Cd^{2+} tolerance of those isolated fungi were investigated with PDA fluid media containing 0, 0.05, 0.5 and $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd^{2+} . The results showed that; the growth of rhizosphere fungi of *Oxyria sinensis* Hemsle was significantly suppressed by Cd^{2+} . The mean and maximum EC_{50} value of Cd^{2+} of rhizosphere fungi of *Oxyria sinensis* Hemsle in abandoned lead-zinc mining area isolated by normal, Cd^{2+} and Pb^{2+} containing media was obviously higher than that in non-mining area, which meant Cd tolerance of rhizosphere fungi of *Oxyria sinensis* Hemsle in abandoned lead-zinc mining area was more than that in non-mining area. Among these fungi isolated by these 3 media, rhizosphere fungi of *Oxyria sinensis* Hemsle in abandoned lead-zinc mining area isolated by Cd^{2+} containing media were the most tolerant for Cd.

Keywords: lead-zinc mine area; *Oxyria sinensis* Hemsle; rhizosphere fungi; cadmium

由于采矿、污水灌溉、污泥施用和施肥等原因,重金属 Cd 污染土壤面积逐步扩大,污染程度日益严重。在 Cd 污染的土壤中,常存在大量的 Cd 耐受真菌,影响着污染土壤重金属的毒性和生物可利用性,目前报道较多的是外生菌根^[1]和丛枝菌根^[2-3]。由于植物根际

真菌在改变根际土壤中 Cd 的毒性和生物有效性,提高植物对 Cd 的耐性等方面有重要作用,开展根际土壤真菌-植物联合修复 Cd 污染土壤方面研究,受到了土壤环境科技工作者的普遍关注^[4-5]。筛选耐 Cd 的根际真菌是开展联合修复工作的基础,目前常采用含 Cd 的培养基分离 Cd 污染土壤中的耐 Cd 真菌^[6-7]。然而,重金属污染土壤多为多种重金属的复合污染,在分离培养基中添加其他重金属是否也能分离出耐 Cd 真菌,对于有效分离耐 Cd 真菌,评价 Cd 污染土壤植物根际真菌的 Cd 耐性,具有重要意义。

会泽县位于云南省东北部,介于东经 $103^{\circ}03' \sim$

收稿日期:2009-11-05

基金项目:国家自然科学基金项目(30560034);云南省学术带头人后备人才项目(2006 PY01-34);云南省教育厅青年科研基金项目(6Y032B0)

作者简介:湛方栋(1980—),男,江西赣县人,博士生,讲师,主要从事污染土壤微生物生态研究。

通讯作者:祖艳群 E-mail: zuyanqun@yahoo.com.cn

103°55', 北纬 25°48'~27°04' 之间。会泽铅锌矿的采矿历史最早可以追溯到西汉时期, 由于长期、大面积的开矿和冶炼, 留下许多 Pb 和 Cd 等重金属严重污染的采矿废弃地。中华山蓼是云南会泽县铅锌矿区野生的重金属耐性植物^[8], 在周边非矿区也有生长。因此, 本文以典型铅锌矿区重金属耐性植物——中华山蓼根际土壤为研究对象, 采用常规、含 Cd²⁺和含 Pb²⁺的马丁氏培养基分离铅锌矿区和非矿区中华山蓼根际真菌, 研究了废弃铅锌矿区和非矿区中华山蓼根际真菌的 Cd 耐性, 获得了有一定实际指导意义的研究结果, 为更有效的筛选耐 Cd 真菌提供科学依据, 对类似矿区开展耐性植物-微生物联合修复提供了新的尝试。

1 材料与方法

1.1 研究材料

中华山蓼 (*Oxyria sinensis* Hemsl), 蓼科山蓼属, 别名金边莲、马蹄草、红马蹄窝、酸猪草。多年生草本, 主要产于四川、云南和西藏 1 600~3 800 m 的山坡水沟边、田坝、田埂、村边、林内荒坡地^[9]。

1.2 样品采集与根际真菌的分离

2007 年 7 月, 在会泽县者海镇民兵应急营 Pb/Zn 矿区 (海拔 2 463~2 516 m, E 103°42'44"~N 26°38'58") 和附近非矿区, 随机连根带土挖取野生中华山蓼健壮植株 10 株, 塑料纸包扎密封根部, 保持湿度, 鲜活的带回实验室, 备用。铅锌矿区土壤全氮 0.5 g·kg⁻¹, 全磷 0.8 g·kg⁻¹, 全钾 3.9 g·kg⁻¹, pH 值 6.03, 全 Pb 3 156.28 mg·kg⁻¹, 全 Zn 45 308.21 mg·kg⁻¹, 全 Cd 55.92 mg·kg⁻¹; 非矿区土壤全氮 0.5 g·kg⁻¹, 全磷 0.8 g·kg⁻¹, 全钾 3.9 g·kg⁻¹, pH 值 7.01, 全 Pb 56.28 mg·kg⁻¹, 全 Zn 175.21 mg·kg⁻¹, 全 Cd 1.92 mg·kg⁻¹。

选用依然鲜活的野生中华山蓼植株, 轻轻抖动除去粘附在根表面的土壤, 混合 10 株根系为一样品, 置于盛有 100 mL 无菌水的三角瓶中, 振荡 15 min, 获得铅锌矿区和非矿区野生中华山蓼的根际土壤悬浊液, 用于根际真菌的分离^[10]。

根际真菌分离的常规培养基为马丁氏培养基。采用氯化镉 (CdCl₂·2.5H₂O) 和醋酸铅 [Pb(CH₃COO)₂·3H₂O] 分析纯固体试剂, 配制浓度为 100 mmol·L⁻¹ 的 Cd²⁺和 Pb²⁺母液。马丁氏培养基灭菌后冷却至 50 ℃时加入 Cd²⁺母液, 使培养基分别含 1、2 和 5 mmol·L⁻¹ 的 Cd²⁺, 作为含 Cd²⁺培养基; 添加 Pb²⁺母液使培养基含 2、4 和 10 mmol·L⁻¹ 的 Pb²⁺, 作为含 Pb²⁺培养基^[11]。采用稀

释平板法, 根际真菌培养 3 d 后, 依据真菌的菌落形态挑取菌株, 采用 PDA 培养基进行分离纯化和保存。

1.3 中华山蓼根际真菌生长量和 EC₅₀ 的测定

采用马铃薯葡萄糖培养基, 添加定量的 Cd²⁺储备液, 制备 Cd²⁺浓度分别为 0、0.05、0.5 和 5 mmol·L⁻¹ 的培养液, 50 mL 三角瓶分装, 每个三角瓶装入 20 mL 培养液, 灭菌后备用。

利用直径为 6 mm 的打孔器, 获得培养 7 d 的中华山蓼根际真菌的菌落, 每 20 mL 培养液接种 1 片菌落, 28 ℃静止培养 7 d 后, 用已在 80 ℃烘干 24 h 的干滤纸过滤, 得到真菌菌丝体, 再将滤纸和菌丝体置于 80 ℃烘干 24 h 后称重, 该重减去滤纸干重, 从而得到菌丝体生物量。用直线内插法求出中华山蓼根际真菌生物量为 50% 时所对应的 Cd²⁺浓度, 即 Cd²⁺对中华山蓼根际真菌生长半数抑制浓度 EC₅₀ 值。

1.4 数据分析

采用统计软件 DPS6.55, Duncan 新复极差法分析铅锌矿区和非矿区中华山蓼根际真菌的不同 Cd²⁺浓度处理间生物量的差异显著性 ($n=3$), 并计算 Cd²⁺与根际真菌生物量之间的相关系数 ($n=12$)。

2 结果与分析

2.1 常规培养基分离的铅锌矿区和非矿区中华山蓼根际真菌的 Cd 耐性

对比菌落形态, 从常规马丁氏培养基上挑取和保存了 7 个铅锌矿区和 6 个非矿区中华山蓼根际真菌菌株。7 个铅锌矿区中华山蓼根际真菌菌株在培养液 Cd²⁺浓度为 0.05、0.5 和 5 mmol·L⁻¹, 分别有 4、7 和 7 个菌株的生长量显著下降。6 个非矿区中华山蓼根际真菌菌株在培养液 Cd²⁺浓度为 0.05、0.5 和 5 mmol·L⁻¹, 分别有 3、6 和 6 个菌株的生长量显著下降。铅锌矿区和非矿区中华山蓼根际真菌的生长都随加入的 Cd²⁺浓度升高而下降, Cd²⁺与铅锌矿区和非矿区中华山蓼根际真菌生长量呈极显著或显著负相关。

Cd²⁺对 7 株铅锌矿区中华山蓼根际真菌的 EC₅₀ 平均值为 0.85 mmol·L⁻¹, 其中, 3 株铅锌矿区中华山蓼根际细菌的 EC₅₀ 大于 1.00 mmol·L⁻¹, 最大值为 1.45 mmol·L⁻¹。Cd²⁺对 6 株非矿区中华山蓼根际细菌的 EC₅₀ 平均值为 0.29 mmol·L⁻¹, 最大值为 0.43 mmol·L⁻¹ (见表 1)。

2.2 含 Cd²⁺培养基分离的铅锌矿区和非矿区中华山蓼根际真菌的 Cd 耐性

从含 Cd²⁺马丁氏培养基上挑取和保存了 9 个铅

表 1 Cd²⁺处理下马丁氏培养基分离的铅锌矿区和非矿区中华山蓼根际真菌的生长量、EC₅₀ 和相关系数

Table 1 Biomass, EC₅₀ value and correlation coefficient of rhizosphere fungi isolated by Martin's media of *Oxyria sinensis* Hemsle in lead-zinc mine area and non-mining area with Cd²⁺ treatment

样地 Sample	菌株 Strains	生物量 Biomass/mg				EC ₅₀ /mmol·L ⁻¹	相关系数 Correlation coefficient
		无 Cd ²⁺ No Cd ²⁺	0.05 mmol·L ⁻¹ Cd ²⁺	0.5 mmol·L ⁻¹ Cd ²⁺	5 mmol·L ⁻¹ Cd ²⁺		
矿区 Lead-zinc mine area	KZF-1	160.9±20.6a	133.7±14.7ab	95.9±20.9bc	38.9±16.0c	1.38	-0.79**
	KZF-2	119.7±4.6a	73.1±11.1b	62.7±8.6b	28.0±8.2c	0.76	-0.75**
	KZF-3	95.3±4.6a	90.1±11.6a	29.3±8.5b	0c	0.31	-0.80**
	KZF-4	107.1±6.8a	71.3±5.6b	46.2±9.7c	27.2±6.8c	0.35	-0.70**
	KZF-5	147.4±9.1a	106.3±1.8b	86.8±11.4b	29.9±12.8c	1.19	-0.85**
	KZF-6	95.6±4.6a	67.5±2.6b	52.9±8.6bc	32.8±12.4c	1.45	-0.71**
	KZF-7	154.7±17.9a	113.5±10.4ab	75.8±14.4b	26.6±7.2c	0.48	-0.79**
非矿区 Non-mining area	FZF-1	91.4±4.9a	56.4±14.9b	22.7±8.6c	0c	0.15	-0.72**
	FZF-2	105.0±14.7a	60.2±4.3b	34.3±13.8bc	13.8±4.0c	0.16	-0.66*
	FZF-3	69.2±7.7a	54.1±7.0a	31.9±7.7b	10.0±2.8c	0.43	-0.79**
	FZF-4	163.6±14.6a	137.7±15.6a	57.7±16.3b	33.0±8.1b	0.32	-0.71**
	FZF-5	95.8±7.1a	56.7±10.7b	39.9±3.0b	0c	0.27	-0.82**
	FZF-6	55.9±11.0a	43.0±4.4ab	24.5±7.0bc	12.0±4.5c	0.39	-0.69**

注:不同小写字母表示 $P<0.05$ 差异显著性,下同。*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$ 。
Note; Different letter means significant difference at 5% level, * means $P<0.05$, ** means $P<0.01$. The same below.

锌矿区和 8 个非矿区中华山蓼根际真菌菌株。9 个铅锌矿区中华山蓼根际真菌菌株在培养液 Cd²⁺浓度为 0.05、0.5 和 5 mmol·L⁻¹, 分别有 2、5 和 9 个菌株的生长量显著下降。8 个非矿区中华山蓼根际真菌菌株在培养液 Cd²⁺浓度为 0.05、0.5 和 5 mmol·L⁻¹, 分别有 3、7 和 8 个菌株的生长量显著下降。Cd²⁺极显著或显著抑制铅锌矿区和非矿区中华山蓼根际真菌的生长, 5 mmol·L⁻¹ 的 Cd²⁺完全抑制 2 个含 Cd²⁺培养基分离的非矿区菌株的生长。

Cd²⁺对 9 株铅锌矿区中华山蓼根际真菌的 EC₅₀ 平均值为 1.43 mmol·L⁻¹, 其中, 6 株铅锌矿区中华山蓼根际细菌的 EC₅₀ 大于 1.00 mmol·L⁻¹, 最大值为 2.73 mmol·L⁻¹。Cd²⁺对 8 株非矿区中华山蓼根际细菌的 EC₅₀ 平均值为 0.57 mmol·L⁻¹, 最大值为 1.42 mmol·L⁻¹(见表 2)。

2.3 含 Pb²⁺培养基分离的铅锌矿区和非矿区中华山蓼根际真菌的镉耐性

从含 Pb²⁺马丁氏培养基上挑取和保存了 14 个铅锌矿区和 12 个非矿区中华山蓼根际真菌菌株。14 个铅锌矿区中华山蓼根际真菌菌株在培养液 Cd²⁺浓度为 0.05、0.5 和 5 mmol·L⁻¹, 分别有 5、8 和 14 个菌株的生长量显著下降。12 个非矿区中华山蓼根际真菌菌株在培养液 Cd²⁺浓度为 0.05、0.5 和 5 mmol·L⁻¹, 分别有 7、11 和 12 个菌株的生长量显著下降。Cd²⁺极

显著或显著抑制铅锌矿区和非矿区中华山蓼根际真菌的生长, 含 Pb²⁺培养基分离的 1 个铅锌矿区菌株和 3 个非矿区菌株在 Cd²⁺浓度为 5 mmol·L⁻¹ 时没有生长。

Cd²⁺对 14 株铅锌矿区中华山蓼根际真菌的 EC₅₀ 平均值为 0.92 mmol·L⁻¹, 其中, 5 株铅锌矿区中华山蓼根际细菌的 EC₅₀ 大于 1.00 mmol·L⁻¹, 最大值为 1.84 mmol·L⁻¹。Cd²⁺对 8 株非矿区中华山蓼根际细菌的 EC₅₀ 平均值为 0.44 mmol·L⁻¹, 最大值为 1.05 mmol·L⁻¹(见表 3)。

2.4 不同培养基分离的铅锌矿区和非矿区中华山蓼根际真菌的 Cd 耐性比较

采用常规、含 Cd²⁺和含 Pb²⁺的马丁氏培养基从铅锌矿区共分离获得 30 株中华山蓼根际真菌, Cd²⁺对这些菌株的 EC₅₀ 平均值为 1.06 mmol·L⁻¹, 其中, 常规、含 Cd²⁺和含 Pb²⁺的马丁氏培养基分离出 1、6 和 5 株铅锌矿区中华山蓼根际真菌 EC₅₀ 值大于 1.06 mmol·L⁻¹。采用常规、含 Cd²⁺和含 Pb²⁺的马丁氏培养基从非矿区共分离获得 26 株中华山蓼根际真菌, Cd²⁺对这些菌株的 EC₅₀ 平均值为 0.45 mmol·L⁻¹, 从含 Cd²⁺和含 Pb²⁺的马丁氏培养基分别只分离出 1 株非矿区中华山蓼根际真菌 Cd²⁺的 EC₅₀ 值大于 1.06 mmol·L⁻¹。结合 3 种培养基分离的真菌 Cd²⁺的 EC₅₀ 最大值, 表明铅锌矿区中华山蓼根际真菌对 Cd²⁺的耐性强于非矿

表 2 Cd^{2+} 处理下含 Cd^{2+} 马丁氏培养基分离的铅锌矿区和非矿区中华山蓼根际真菌的生长量、 EC_{50} 和相关系数

Table 2 Biomass, EC_{50} value and correlation coefficient of rhizosphere fungi isolated by Cd^{2+} containing Martin's media of *Oxyria sinensis* Hemsle in lead-zinc mine area and non-mining area with Cd^{2+} treatment

样地 Sample	菌株 Strains	生物量 Biomass/mg				$\text{EC}_{50}/\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	相关系数 Correlation coefficient
		无 Cd^{2+}	0.05 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd^{2+}	0.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd^{2+}	5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd^{2+}		
矿区 Lead-zinc mine area	KZCF-1	127.5±8.4a	107.7±13.4ab	86.9±12.6b	37.9±11.6c	2.18	-0.84**
	KZCF-2	125.0±15.7a	107.1±36.0ab	88.8±6.5ab	43.7±7.2b	2.73	-0.68*
	KZCF-3	116.1±8.1a	82.7±8.9b	37.2±12.7c	15.7±5.4c	0.25	-0.72**
	KZCF-4	109.5±22.4a	74.3±10.3a	68.3±10.1a	21.2±6.8b	1.35	-0.76**
	KZCF-5	127.4±20.7a	108.4±10.8a	87.2±14.9a	24.5±5.8b	1.61	-0.85**
	KZCF-6	117.2±12.0a	91.9±10.1a	48.8±8.2b	23.5±5.8b	0.37	-0.75**
	KZCF-7	156.7±10.5a	126.3±28.8a	98.8±17.3a	19.8±3.1b	1.15	-0.85**
	KZCF-8	92.6±2.6a	70.4±10.0ab	52.2±13.7b	39.1±11.6b	2.36	-0.61*
	KZCF-9	139.4±5.4a	101.0±12.2b	77.3±13.4b	23.8±2.8c	0.89	-0.84**
非矿区 Non- mining area	FZCF-1	153.8±13.0a	110.6±13.8ab	96.6±8.2b	31.5±20.6c	1.42	-0.82**
	FZCF-2	155.5±30.7a	118.5±16.0ab	84.3±5.6bc	28.6±15.6c	0.84	-0.76**
	FZCF-3	125.4±14.5a	84.5±13.3ab	45.9±20.7bc	25.4±4.3c	0.27	-0.65*
	FZCF-4	114.6±17.5a	86.8±9.5a	19.3±5.2b	0b	0.17	-0.71**
	FZCF-6	125.6±1.7a	76.4±18.5b	52.8±1.7b	9.7±1.5c	0.29	-0.78**
	FZCF-8	187.6±15.7a	127.3±16.5b	102.8±0.9b	20.5±8.6c	0.75	-0.86**
	FZCF-9	57.7±2.3a	37.5±14.9a	30.1±5.9ab	8.8±3.9b	0.66	-0.71**
	FZCF-10	102.3±8.7a	64.4±5.3b	23.4±9.1c	0d	0.15	-0.74**

区,在铅锌矿区中华山蓼根际存在 Cd 耐性强的真菌。

含 Cd^{2+} 的培养基分离的铅锌矿区中华山蓼根际真菌 Cd^{2+} 的 EC_{50} 平均值和最大值均明显大于常规和含 Pb^{2+} 的培养基,含 Pb^{2+} 的培养基分离的铅锌矿区中华山蓼根际真菌 Cd^{2+} 的 EC_{50} 最大值明显大于常规培养基, EC_{50} 平均值相近。含 Cd^{2+} 的培养基分离的非矿区中华山蓼根际真菌 Cd^{2+} 的 EC_{50} 平均值和最大值大于含 Pb^{2+} 和常规的培养基,含 Pb^{2+} 培养基大于常规培养基。可见,3 种培养基中,采用含 Cd^{2+} 的培养基分离出的中华山蓼根际真菌对 Cd^{2+} 的耐性较强,尤其以含 Cd^{2+} 的培养基从铅锌矿区分离的中华山蓼根际真菌的 Cd^{2+} 耐性最强。

3 讨论

在多种重金属复合污染的土壤上,真菌对重金属产生了适应,存在大量耐重金属的真菌,并对土壤中的多种重金属都具有耐性,如 Ezzouhri 等报道了耐受 Pb、Cr、Cu 和 Zn 的真菌^[12],杜爱雪等从铜矿尾矿土壤中分离得到一株高抗 Cu、Zn、Pb、Ni、Cr 和 Cd 的青霉^[13-14],姜敏等从生长于重金属污染农田的重金属富集植物——大叶相思根内分离得到耐 Cr、Cd、Cu、Zn、Pb 和 Ni 的青霉、曲霉、镰刀菌、木霉等真菌^[15],Zafar 等从重金属污染农田筛选出耐 Cd、Ni、

Cr、Cu 和 Co 的真菌^[16]。因此,利用含不同种类与浓度重金属的培养基能有效筛选和分离出污染土壤中耐重金属的真菌。本试验发现,采用含 Cd^{2+} 的培养基分离获得的铅锌矿区中华山蓼根际真菌 Cd 耐性最强,这可能还与 Cd 是限制铅锌矿区生物生存的关键因子有关^[17]。

采用合成培养基^[18-19]和天然培养基^[12,20]评价真菌重金属耐性的研究均有报道。本试验采用 PDA 培养基测定中华山蓼根际真菌的 Cd^{2+} 耐性,该类培养基制备简单,营养丰富,适宜真菌生长,但由于该培养基含有较多的有机物,发现该培养基添加 Cd^{2+} 后产生较多沉淀,沉淀的产生量随加入 Cd^{2+} 的浓度增加而增多,推测这些沉淀可能是培养基内的天然有机物与 Cd^{2+} 形成了络合物^[21],可能导致培养基内 Cd^{2+} 有效浓度低于试验设计的 Cd^{2+} 浓度。但在培养条件一致情况下,采用这种方法测定和比较不同真菌的 Cd 耐性,仍可以反映不同真菌 Cd 耐性的大小情况,可用于筛选 Cd 耐性强的真菌。

从重金属严重污染的土壤上分离重金属耐性强的根际真菌,接种根际真菌,利用根际真菌的生物吸附、富集、溶解、沉淀、氧化与还原等作用,改变重金属的形态,影响重金属的生物有效性,能提高植物修复效率^[22-23]。另外还可以直接筛选重金属耐性强、生物量

表 3 Cd²⁺处理下含 Pb²⁺马丁氏培养基分离的铅锌矿区和非矿区中华山蓼根际真菌的生长量、EC₅₀ 和相关系数
Table 3 Biomass, EC₅₀ value and correlation coefficient of rhizosphere fungi isolated by Pb²⁺ containing Martin's media of *Oxyria sinensis* Hemsle in lead-zinc mine area and non-mining area with Cd²⁺ treatment

样地 Sample	菌株 Strains	生物量 Biomass/mg				EC ₅₀ /mmol·L ⁻¹	相关系数 Correlation coefficient
		无 Cd ²⁺ No Cd ²⁺	0.05 mmol·L ⁻¹ Cd ²⁺	0.5 mmol·L ⁻¹ Cd ²⁺	5 mmol·L ⁻¹ Cd ²⁺		
矿区 Lead-zinc mine area	KZPF-1	137.0±11.9a	97.9±7.6b	72.4±9.1b	19.2±2.5c	0.69	-0.85**
	KZPF-2	129.8±3.8a	94.5±9.7b	34.7±5.4c	0d	0.22	-0.79**
	KZPF-3	67.4±4.3a	49.7±5.2ab	46.2±17.6ab	16.1±7.0b	1.84	-0.73**
	KZPF-4	109.9±14.2a	76.2±3.4ab	62.6±14.9b	23.2±6.2c	1.09	-0.78**
	KZPF-5	67.0±4.3a	59.0±12.0a	34.7±13.7ab	13.5±3.9b	0.66	-0.73**
	KZPF-6	81.4±6.8a	63.5±9.5a	45.7±18.0ab	15.0±5.4b	0.97	-0.76**
	KZPF-7	67.4±4.2a	47.5±5.0a	40.0±14.4ab	18.2±3.6b	1.47	-0.72**
	KZPF-8	145.0±22.9a	133.9±2.1ab	97.5±5.9b	33.0±12.2c	1.73	-0.87**
	KZPF-9	173.6±8.6a	118.1±9.0b	67.6±8.8c	35.2±3.5d	0.30	-0.74**
	KZPF-10	86.5±26.6a	68.7±18.9ab	34.7±11.1ab	21.9±5.7b	0.35	-0.55
	KZPF-11	120.9±15.0a	74.9±16.8b	49.3±9.0bc	24.7±9.7c	0.28	-0.66*
	KZPF-12	60.6±11.1a	47.5±5.2ab	39.1±10.2ab	19.4±8.1b	2.14	-0.68**
	KZPF-14	154.2±0.4a	109.7±6.4b	81.3±9.2b	43.8±17.7c	0.89	-0.76**
	KZPF-15	126.4±15.4a	93.6±12.2a	45.0±10.5b	18.6±8.7b	0.29	-0.72**
非矿区 Non-mining area	FZPF-1	98.5±13.6a	83.0±8.1a	32.3±4.6b	8.0±2.0b	0.30	-0.77**
	FZPF-2	102.4±13.9a	83.8±19.3a	60.4±15.3ab	15.6±5.4b	1.05	-0.78**
	FZPF-3	89.6±11.6a	61.4±14.5a	24.0±6.5b	0b	0.20	-0.73**
	FZPF-4	76.9±9.0a	44.9±7.2b	34.7±8.5bc	11.7±4.5c	0.32	-0.72**
	FZPF-6	152.1±27.1a	83.4±11.2b	79.2±11.0b	15.2±5.5c	0.61	-0.76**
	FZPF-7	109.9±6.8a	74.9±11.9b	19.9±9.0c	0c	0.16	-0.71**
	FZPF-8	89.6±7.8a	61.3±8.5b	26.0±8.1c	12.3±3.3c	0.21	-0.69**
	FZPF-9	163.1±12.1a	128.6±4.0b	90.3±10.3c	19.0±3.2d	0.80	-0.89**
	FZPF-10	121.1±7.8a	89.5±3.1b	38.6±3.3c	21.0±8.5c	0.26	-0.72**
	FZPF-12	74.3±11.6a	56.5±7.2a	21.4±7.8b	0b	0.24	-0.76**
	FZPF-13	114.5±11.9a	71.4±10.9b	57.7±8.1b	14.8±4.0c	0.53	-0.79**
	FZPF-14	145.1±16.3a	136.4±11.4a	84.2±10.7b	15.9±3.8c	0.65	-0.89**

大、重金属吸附去除能力强的真菌,用于生物吸附,达到去除污染环境重金属的目的^[24-26]。因此,从重金属污染严重的土壤筛选重金属耐性强的根际真菌,并进一步研究这些菌株生物学特性、对重金属的吸附活化、在植物根际定殖等方面内容,可以为开展耐性植物-微生物联合修复或微生物修复提供新途径。

4 结论

铅锌矿区中华山蓼根际真菌的 Cd²⁺耐性比非矿区中华山蓼根际真菌强,采用常规、含 Cd²⁺和含 Pb²⁺的马丁氏培养基能够从铅锌矿区中华山蓼根际分离获得 Cd²⁺耐性强的真菌。但采用含 Cd²⁺的马丁氏培养基分离的铅锌矿区中华山蓼根际真菌 Cd²⁺的 EC₅₀ 平均值和最大值均明显大于其他培养基分离的真菌,表明采用含 Cd²⁺的马丁氏培养基能更有效地分离获得

Cd²⁺耐性强的真菌。

参考文献:

[1] Krznaric E, Verbruggen N, Wevers J H L, et al. Cd-tolerant *Suillus luteus*: A fungal insurance for pines exposed to Cd[J]. *Environmental Pollution*, 2009, 157: 1581-1588.

[2] Bafeel S O. Contribution of mycorrhizae in phytoremediation of lead contaminated soils by eucalyptus rostrata plants[J]. *World Applied Sciences Journal*, 2008, 5(4): 490-498.

[3] Redon P O, Béguiristain T, Leyval C. Differential effects of AM fungal isolates on *Medicago truncatula* growth and metal uptake in a multi-metallic(Cd, Zn, Pb) contaminated agricultural soil[J]. *Mycorrhiza*, 2009, 19(3): 187-195.

[4] Lynch J M, Moffat A J. Bioremediation - prospects for the future application of innovative applied biological research[J]. *Annals of Applied Biology*, 2005, 146(2): 217-221.

[5] Jiang M, Cao L, Zhang R. Effects of *Acacia* (*Acacia auriculaeformis* A.

- Cunn)-associated fungi on mustard (*Brassica juncea* (L.) Coss. var. *foliosa* Bailey) growth in Cd- and Ni-contaminated soils[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2008, 47: 561-565.
- [6] 夏娟娟, 盛下放, 江春玉. 重金属镉抗性菌株的筛选及其对镉活化作用的研究[J]. *生态学杂志*, 2005, 24(11): 1357-1360.
- XIA Juan-juan, SHENG Xia-fang, JIANG Chun-yu. Screening of cadmium-resistant strains and their effects on cadmium activation[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2005, 24(11): 1357-1360.
- [7] 刘爱民, 黄为一. 耐镉菌株的分离及其对 Cd²⁺的吸附富集[J]. *中国环境科学*, 2006, 26(1): 91-95.
- LIU Ai-min, HUANG Wei-yi. Separation of tolerant cadmium bacterium strain and its accumulation adsorption of Cd²⁺[J]. *China Environmental Science*, 2006, 26(1): 91-95.
- [8] Yanqun Z, Yuan L, Jianjun C, et al. Hyperaccumulation of Pb, Zn and Cd in herbaceous grown on lead-zinc mining area in Yunnan, China[J]. *Environment International*, 2005, 31(5): 755-762.
- [9] 吴征镒, 陈书坤. 云南植物志, 第十一卷 [M]. 北京: 科学出版社, 2000: 371.
- WU Zheng-yi, CHEN Shu-kun. *Flora of Yunnan* (11st Volume)[M]. Beijing: Science Press, 2000: 371.
- [10] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 67-153.
- Microbiology Laboratory, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences. Study methods of soil microbiology[M]. Beijing: Science Press, 1985: 67-153.
- [11] 湛方栋, 何永美, 李元, 等. 云南会泽废弃铅锌矿区和非矿区3种野生植物根际微生物研究[J]. *土壤通报*, 2010, 41(2): 337-341.
- ZHAN Fang-dong, HE Yong-mei, LI Yuan, et al. Rhizosphere microorganisms of 3 wild plants in abandoned lead-zinc mine and non-mining area in Huize, Yunnan, China[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2010, 41(2): 337-341.
- [12] Ezzouhri L, Castro E, Moya M, et al. Heavy metal tolerance of filamentous fungi isolated from polluted sites in Tangier, Morocco [J]. *African Journal of Microbiology Research*, 2009, 3(2): 35-48.
- [13] 杜爱雪, 曹理想, 张仁铎. 高抗铜青霉菌的筛选及其对重金属的吸附[J]. *应用与环境生物学报*, 2008, 14(5): 650-653.
- DU Ai-xue, CAO Li-xiang, ZHANG Ren-duo. Screening of *Penicillium* strain with high copper resistance and its adsorption of heavy metals[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2008, 14(5): 650-653.
- [14] Du A, Cao L, Zhang R, et al. Effects of a copper-resistant fungus on copper adsorption and chemical forms in soils[J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2009, 201: 99-107.
- [15] 姜敏, 曹理想, 张仁铎. 重金属抗性内生真菌与其宿主植物重金属抗性关系初探[J]. *农业环境科学学报*, 2007, 26(6): 2038-2042.
- JIANG Min, CAO Li-xiang, ZHANG Ren-duo. The relationship of heavy metal resistant endophyte and the heavy metal resistance ability of their host plants[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(6): 2038-2042.
- [16] Zafar S, Aqil F, Ahmad I. Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil[J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98(13): 2557-2561.
- [17] 束文圣, 蓝崇钰, 张志权. 凡口铅锌尾矿影响植物定居的主要因素分析[J]. *应用生态学报*, 1997, 8(3): 314-318.
- SHU Wen-shen, LAN Chong-yu, ZHANG Zhi-quan. Analysis of major constraints on plant colonization at Fankou Pb/Zn mine tailings [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1997, 8(3): 314-318.
- [18] 李芳一, 张俊伶, 冯固, 等. 两种外生菌根真菌对重金属 Zn、Cd 和 Pb 耐性的研究[J]. *环境科学学报*, 2003, 23(6): 807-802.
- LI Fang-yi, ZHANG Jun-lin, FENG Gu, et al. The tolerance of ectomycorrhizal fungi *Suillus granulatus* and *Paxillus involutus* to heavy metals Zn, Cd, Pb[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2003, 23(6): 807-802.
- [19] Pan R, Cao L, Zhang R. Combined effects of Cu, Cd, Pb, and Zn on the growth and uptake of consortium of Cu-resistant *Penicillium* sp. A1 and Cd-resistant *Fusarium* sp. A19[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 171(1-3): 761-766.
- [20] Shazia I, Iftikhar A, Doris S. Analysis of mines and contaminated agricultural soil samples for fungal diversity and tolerance to heavy metals [J]. *Pakistan Journal of Botany*, 2009, 41(2): 885-895.
- [21] 张广才, 燕香梅, 关连珠, 等. 有机络合物对土壤磷素和金属离子活性影响研究进展[J]. *沈阳农业大学学报*, 2002, 33(3): 215-218.
- ZHANG Guang-cai, YAN Xiang-mei, GUANG Lian-zhu, et al. Advances in effects of organic complex matters on phosphorus and particulate trace metals in soil[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2002, 33(3): 215-218.
- [22] Johansson E M, Fransson P M A, Finlay R D, et al. Quantitative analysis of root and ectomycorrhizal exudates as a response to Pb, Cd and As stress[J]. *Plant Soil*, 2008, 313: 39-54.
- [23] White P J. Phytoremediation assisted by microorganisms[J]. *Trends in Plant Science*, 2001, 6(11): 502.
- [24] Gadd G M. Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment[J]. *J Chem Technol Biotechnol*, 2009, 84: 13-28.
- [25] Jianlong W, Chen C. Biosorbents for heavy metals removal and their future[J]. *Biotechnology Advances*, 2009, 27: 195-226.
- [26] Hongli Y, Zhijian L, Jiaoyan Y, et al. Cadmium (II) removal by a hyperaccumulator fungus *Phoma* sp. f2 isolated from blende soil[J]. *Curr Microbiol*, 2007, 55: 223-227.