

丛枝菌根真菌对紫花苜蓿锑积累和抗氧化活性的影响

陈志鹏¹, 魏源², 赵冬安³, 上官宇先², 侯红^{2*}, 曾清如^{1*}

(1.湖南农业大学资源环境学院, 长沙 410128; 2.中国环境科学研究院环境基准与风险评估国家重点实验室, 北京 100012; 3.屈家岭管理区管委会, 湖北 荆门 431821)

摘要:利用温室盆栽试验,研究了不同锑浓度(0、500、1000 mg·kg⁻¹)土壤处理下混合接种丛枝菌根(*Arbuscular mycorrhizal*, AM)真菌(*Funneliformis mosseae* 和 *Glomus versiforme*)后对苜蓿(*Medicago Sativa*)的锑累积量、生物量和抗氧化酶活性的影响。结果表明:接种 AM 真菌显著促进了苜蓿对锑的积累。在土壤锑浓度为 500 mg·kg⁻¹ 时,接种 AM 真菌地上和地下部分锑含量分别增加了 71% 和 46%;在锑浓度为 1000 mg·kg⁻¹ 时,地上和地下部分锑含量增加了 37% 和 34%。在土壤锑胁迫条件下,接种 AM 真菌能显著提高苜蓿地上部分对磷的吸收,这可能是苜蓿生物量增加的原因。同时,接种处理降低了苜蓿中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)的活性。在锑浓度为 500 mg·kg⁻¹,接种 AM 真菌显著降低了苜蓿 SOD 和 POD 活性;在锑浓度为 1000 mg·kg⁻¹ 时,接种 AM 真菌显著降低 SOD 活性。

关键词:丛枝菌根真菌;锑;抗氧化酶;紫花苜蓿

中图分类号:X171.5 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2015)06-1053-07 doi:10.11654/jaes.2015.06.006

Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Antimony Uptake and Antioxidative Responses of *Medicago Sativa* in Antimony Polluted Soil

CHEN Zhi-peng¹, WEI Yuan², ZHAO Dong-an³, SHANGGUAN Yu-xian², HOU Hong^{2*}, ZENG Qing-ru^{1*}

(1.College of Resource and Environment, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2.State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China; 3.Management Committee, Qujiangling Management Zone, Jingmen 431821, China)

Abstract: Under greenhouse pot experiment conditions, mixed arbuscular mycorrhizal (AM) fungi (*Funneliformis mosseae* and *Glomus versiforme*) were inoculated on *Medicago Sativa* (*M. sativa*), and the effects on the biomass, accumulation of antimony (Sb) and antioxidant enzyme system of the plant were investigated. The experiments were conducted using soil treated with Sb at 0, 500 and 1000 mg·kg⁻¹. The results indicated that the inoculation greatly promoted the accumulation of Sb in *M. sativa*. Compared to the non-inoculated treatment, the Sb concentrations in the shoots and roots of *M. sativa* increased 71% and 46% under 500 mg·kg⁻¹ Sb-treated soil, and 37%, 34% under 1000 mg·kg⁻¹ Sb-treated soil, respectively. Inoculation also significantly enhanced the adsorption of phosphorus (P) in *M. sativa*, which may induced higher biomass of the plant. Meanwhile, Inoculation reduced the peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities in *M. sativa*. In conclusion, *M. sativa* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi were less sensitive to Sb stress than uninoculated plants. This results suggested that AMF play an important role in the uptake of Sb by plant, and also its resistance to Sb.

Keywords: arbuscular mycorrhizal fungi; antimony; antioxidant enzyme system; *Medicago Sativa*

锑(Sb)是一种有毒致癌元素^[1-2],同时也是一种具有长距离传输特点的全球性污染物^[3-4]。随着现代工业的发展,锑的需求量急剧增加,释放到环境中的锑

大部分在陆地生态系统中富集和传递,并通过食物链在人体内积累,最终影响蛋白质及糖的代谢,损害肝脏、心脏、呼吸和神经系统^[5]。因此,锑污染已引起国际科学界的高度关注^[6]。我国是世界上锑矿资源最为丰富的国家,世界锑年产量中约 80%来自中国,采矿和冶炼活动、燃煤、及锑产品的广泛应用使我们国家面临着严重的锑污染威胁^[7-8]。我国《重金属污染综合防治“十二五”规划》中把锑列为主要控制污染物之一。

锑并不是植物必需的营养元素,但植物均能稳定

收稿日期:2010-02-05

基金项目:国家自然科学基金(41271338, 41303066);中国博士后面上基金(2013M530685)

作者简介:陈志鹏(1990—),男,硕士,土壤重金属修复。

E-mail:15580827993@163.com

魏源与陈志鹏对本文同等贡献

*通信作者:侯红 E-mail:houghong@craes.org.cn

曾清如 E-mail:qrzeng@163.com

吸收溶解态的镭^[9]。目前对于镭的环境行为特别是镭在土壤-植物系统中的迁移转化机制仍不明确,植物吸收和转运镭的机理仍停留在推断和假设阶段。目前的研究多集中于植物自身对镭的吸收方面,大量报道表明植物体似乎没有专门的吸收系统参与镭的吸收,镭的吸收可能利用了必需元素或者生物的分子吸收系统^[10]。近年来,部分学者开始关注微生物对镭的地球化学行为的影响,初步的研究表明微生物在镭的生物地球化学循环过程中起到了重要的作用^[11-12],但目前还没有发现哪种微生物能够与镭在土壤-植物系统中的迁移转化行为联系起来。

丛枝菌根真菌(*Arbuscular mycorrhizal fungi*, AMF)是一类能与绝大部分植物的根系形成互惠共生体的微生物^[13],它的菌丝具有直接联系土壤和植物根系的桥梁作用。AM真菌可以通过菌丝的直接参与或通过影响植物生理生态的间接效应两方面来影响植物对重金属的吸收及转运^[14]。在重金属污染条件下,AM真菌能够帮助宿主植物减少对重金属的吸收来避免伤害,或是通过促进宿主植物提高对重金属的耐受性来适应重金属的胁迫^[15-16]。通过分室培养技术发现,砷的富集植物蜈蚣草接种AM真菌后,植株叶和根中的砷含量显著增加^[17]。AM真菌还可以通过影响宿主植物体内某些酶或激素的活性,进而提高植物对重金属的抗性^[18]。AM真菌的这些生物学功能被认为在植物修复重金属污染土壤方面可以发挥重要作用。

镭和砷属于同族元素且具有相似的化学性质。Yu等^[19]发现AM真菌会定殖在砷污染土壤上,而且能够通过缓解氧化胁迫来提高植物对砷的抗性。更重要的是,AM真菌有可能直接介导了植物对砷的吸收^[20]。我们最近的调查显示镭矿区镭污染土壤上生长的大部分优势植物都形成了菌根^[21],Boroviccka等^[22]也在野外发现菌根植物能够富集大量的镭。因此我们推测AM真菌在植物吸收积累镭以及抗镭胁迫方面也可能具有重要作用。然而,目前还没有直接的报道和证据表明AM真菌在这方面所扮演的角色。本研究在前期发现的基础上,利用温室接种和非接种对比实验,从植物的生长、镭的吸收和抗氧化系统三方面来探讨AM真菌在植物吸收积累镭以及抗镭胁迫中可能发挥的作用。旨在从微生物的角度探讨植物对镭的

吸收和转运,同时也可以为AM真菌-植物联合应用于镭污染土壤修复提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 培养基质

土壤采自北京市朝阳区中国环境科学研究院梨园内未受污染的表层土壤,土壤基本理化性质见表1。土壤过2 mm筛,经120℃、2 h高压蒸汽灭菌处理,风干备用。土壤的基本理化性质测定参照《土壤农业化学分析方法》^[23];pH采用电极法测定,采用5:1的水土比振荡5 min,静置30 min,取上清液用pH计测定;有机质采用外加热重铬酸钾容量法测定;全氮利用浓硫酸及少量的混合催化剂在强热处理下将土壤中的含氮化合物分解,使氮素转变为铵离子,加入氢氧化钠使pH超过10时,铵离子转换为NH₃逸出,蒸馏并用硼酸吸收,然后用酸标准溶液滴定后计算出氮量;有效磷的测定,碳酸氢钠溶液(pH=8.5)提取土壤有效磷,碳酸氢根可和土壤溶液中的钙离子形成碳酸钙沉淀,钙离子活度的降低会使得某些活度较大的Ca-P被浸提出来,然后用钼锑抗比色法测定;速效钾通过1 mol·L⁻¹ NH₄OAc(pH=7)萃取后用原子吸收分光光度计测量。土壤中镭采用混合酸消解(HNO₃:HClO₄:HF=3:1:1)后用ICP-MS测定。

土壤中镭的添加浓度为0、500、1000 mg·kg⁻¹,以KSb(OH)₆配好浓度添加到土壤中。添加化学试剂搅拌均匀后,土壤湿度用去离子水调节到田间持水率。土壤装入塑料盆中放置在温室中平衡15 d,每隔3 d混匀一次。

1.2 宿主植物

紫花苜蓿种子购自北京正道种子公司。苜蓿种子以10% H₂O₂表面消毒,再用去离子水洗净后于温室下催芽过夜,备播种。当苜蓿幼苗长到2 cm高时,将其移到花盆中。

1.3 菌根接种剂

摩西柄囊霉 *Funneliformis mosseae* (BGC BJ05A 和 BGC NM03D) 和根内球囊霉 *Glomus versiforme* (BGC GD01C) 都购买自北京市农林科学研究院植物营养与资源研究所。三种接种剂均为含有寄主植物根段、相应菌根真菌孢子及根外菌丝体的根际土壤。

表1 土壤的基本理化性质

Table 1 The basic physical chemistry properties of the soil

pH	有机质/%	全氮/%	有效磷/mg·kg ⁻¹	有效钾/mg·kg ⁻¹	镭/mg·kg ⁻¹
7.81	0.43	0.03	3.91	60.41	2.21

1.4 温室实验

实验设0、500、1000 mg·kg⁻¹ 3个施镉水平。各施镉水平下均设接种菌根真菌处理(三种丛枝菌根真菌混接)和不接种处理。实验重复3次,共18盆。所有实验土壤均施加N(NH₄NO₃) 300 mg·kg⁻¹、P(KH₂PO₄) 50 mg·kg⁻¹和K(K₂SO₄) 200 mg·kg⁻¹作为基础养分,保障植物的正常生长。

采用容积3 L左右的塑料花盆作为培养容器,每盆装土2.5 kg,接种剂量为30 g(每种菌剂各10 g)。先装入2.0 kg土,然后将接种剂层铺在表层,再装入余下土壤,接种剂距土表约2~3 cm。对于不接种处理,以等量经灭菌的培养菌种所用沙土代替接种剂装盆。装盆全部完成之后浇水,使土壤含水量达到15%(干重)待水分渗透均匀。每盆移入3株育好苗的紫花苜蓿。整个实验过程中浇水均为去离子水,称重法维持15%土壤含水量。

实验设置在中国环境科学研究院温室内,温室内温度控制在22~30℃,每天用补光灯保持光照时间在14 h。植物生长4个月后收获。

1.5 样品分析和测定

植物样品地上和地下部分分开收获,先用自来水,然后用去离子水清洗干净。称取叶片0.3 g用于抗氧化酶活性的测定,然后将其他样品置于烘箱中在70℃下经过48 h烘干,测定样品地上和地下部分的干物重(生物量)。烘干的植物样品用来测定磷和镉。植物地上部分测定全磷:硫酸-双氧水消煮-钼钼黄比色法^[23]。植物中镉的测定,取0.1 g于6 mL HNO₃(65%, m/m)和H₂O₂(30%, m/m)混合消解液(体积比5:1)中,在电热板上150℃消解2 h,赶酸至1 mL,冷却后用质量分数为1%的HNO₃清洗并转移至25 mL的容量瓶中,定容后过0.45 μm的滤膜,ICP-MS测定重金属镉的浓度,测定的值都为3次重复后所取的平均值。植物的质控样品为GBW10048(GSB-26)芹菜,质控样品回收率都在(90±10)%。

参照 Grace 等^[24]的方法,稍作修改。称取叶片0.300 g,在液氮中研成粉末,加入3 mL提取缓冲液[0.1 mol·L⁻¹ K₂HPO₄-KH₂PO₄ (pH7.6), 1 mmol·L⁻¹ EDTA, 0.3% Triton X-100, 2% PVP]及少许石英砂于冰浴中研磨匀浆,18 000 g、4℃离心15 min,取上清液并分装保存于-70℃超低温冰箱,用于抗氧化酶活性的测定。

超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定利用氮蓝四唑(p-Nitro-Blue tetrazolium chloride, NBT)比色法^[25],稍作修改。3 mL反应体系:1.79 mL 50 mmol·L⁻¹

KH₂PO₄-K₂HPO₄(pH 7.6)缓冲液, 0.3 mL 130 mmol·L⁻¹ 甲硫氨酸(Met)、0.3 mL 750 μmol·L⁻¹ NBT、0.3 mL 100 μmol·L⁻¹ EDTA、0.3 mL 20 μmol·L⁻¹ 核黄素,对照管加入0.01 mL 50 mmol·L⁻¹ KH₂PO₄-K₂HPO₄(pH 7.6)缓冲液,样品管加入0.01 mL酶液。对照管取两支,其中一支置于暗处,其余的试管置于4000 lx光照下20 min,反应结束后,以不照光的对照管为空白,分别测定其他各管在560 nm下的吸光度值,SOD活性单位以抑制NBT光还原的50%为一个酶活力单位。

过氧化氢酶(CAT)活性的测定参照 Knörzer 等^[26]的方法,稍作修改。利用H₂O₂(ε=39.4 mmol·L⁻¹·cm⁻¹) 在240 nm的下降速率来测定CAT的活性。1 mL反应体系:10 mmol·L⁻¹ KH₂PO₄-K₂HPO₄ (pH 7.6)缓冲液, 10 mmol·L⁻¹ H₂O₂,粗酶提取液20 μL。利用酶液启动反应,每隔5 s记录一次,测定1 min内240 nm下吸光度值的下降值。

过氧化物酶(POD)活性的测定参照 Maehly 等^[27]的方法,稍作修改。愈创木酚在POD的催化下氧化成茶褐色产物,此产物在470 nm处有最大光吸收(ε=26.6 mmol·L⁻¹ cm⁻¹),利用络合物在470 nm增加的速率来测定POD的活性。1 mL反应体系:50 mmol·L⁻¹ KH₂PO₄-K₂HPO₄缓冲液(pH 7.6), 0.1 mmol·L⁻¹ EDTA, 10 mmol·L⁻¹ 愈创木酚, 5 mmol·L⁻¹ H₂O₂, 50 μL的粗酶提取液。用酶液启动反应,每隔5 s记录一次,测定1 min内470 nm下吸光度的增加值。

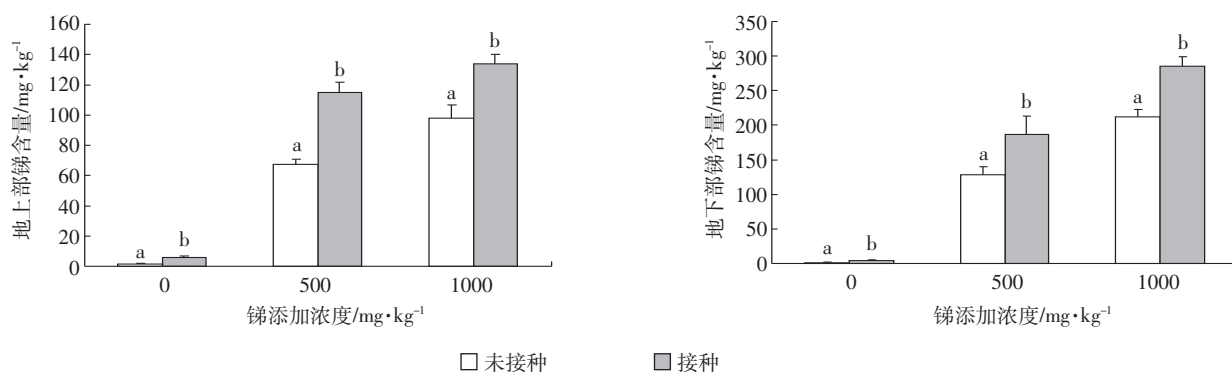
1.6 试验数据的处理与分析

所有试验数据用Microsoft(R) Excel 2000(1985—1999 Microsoft Corporation)进行均值和标准差计算并作图。用统计分析软件SPSS(SPSS Inc., Release 11.5.0)对试验数据进行二维方差分析,检验各处理平均值之间的差异显著性。

2 结果与讨论

2.1 接种AM真菌对苜蓿吸收镉的影响

不同接种处理下苜蓿地上部分和地下部分的镉浓度分别如图1所示。由图分析,接种AM真菌显著提高了苜蓿地上和地下部分镉的含量($P<0.05$)。在镉添加浓度为500 mg·kg⁻¹时,接种处理比未接种处理地上部分镉浓度高71%、地下部分镉浓度高46%;在镉添加浓度为1000 mg·kg⁻¹时,接种处理比未接种处理地上部分镉浓度高37%、地下部分镉浓度高34%,这一结果说明接种AM真菌促进了苜蓿对镉的吸收和积累。



图中不同小写字母表示各处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同
Different lowercase letters indicate significant different ($P < 0.05$) among different treatments. The same below

图1 不同镉添加浓度下接种和未接种 AM 真菌苜蓿地上和地下部分镉的含量

Figure 1 Shoot and root Sb concentrations of *Medicago sativa* inoculated with/without AM fungi under different Sb addition levels

AM 真菌广泛地分布在各种自然环境和土壤类型中,从矿山土壤到农田土壤都有 AM 真菌的存在^[13]。我们在野外研究中发现镉矿区生长的植物体内镉含量和菌根侵染率呈显著正相关 ($P < 0.05$) (未发表)。在本研究中,我们用温室接种对比实验来进一步研究 AM 真菌对植物吸收积累镉的影响。关键结果之一就是证明了 AM 真菌确实能够增加植物对镉的吸收和积累(图 1),这说明 AM 真菌在镉的生物地球化学循环方面扮演着重要角色。AM 真菌已被发现能够影响植物对很多重金属如 As^[28]、Cd^[29]、Zn^[30]和 Cu^[31]的吸收。据我们所知,这是关于微生物对镉在土壤-植物系统中迁移影响的首次报道。

有研究证实,AM 真菌会通过改变根际理化环境来影响植物对重金属的吸收,AM 真菌侵染植物根系后会引起植物根系的发育、根系分泌物的组分和数量等的变化,这些变化又会引起根际环境 pH、Eh、含水量、有机组分、微生物群落结构和活性等的变化,从而影响重金属的形态、价态、移动性和生物有效性并最终影响植物的吸收^[32-34]。我们同期的研究结果也发现

接种 AM 真菌会改变根际土壤中镉的化学赋存形态,增加了可交换态部分而减少了碳酸盐结合态(另刊发表)。而影响植物对镉吸收的主要因素是土壤中镉的有效态^[35]。所以这应该是为什么接种后植物体富集了更多镉的重要原因之一。但是,我们也不能排除 AM 真菌会通过菌丝的直接作用参与植物对镉的吸收,因为有研究表明 AM 真菌菌丝可以直接吸收重金属并将其转运到植物体内^[36]。因此,对于 AM 真菌促进植物吸收镉的具体影响机制还需要进一步的研究。

2.2 接种 AM 真菌对苜蓿生物量和磷的影响

不同处理下苜蓿地上和地下部分生物量如图 2 所示。随着土壤中镉浓度增加,接种和未接种的苜蓿生物量都呈现出下降趋势。接种 AM 真菌对苜蓿地上部分的生物量没有显著影响,但是接种 AM 真菌显著增加了苜蓿地下部分的生物量 ($P < 0.05$)。在镉添加浓度为 500 mg·kg⁻¹ 时,接种处理比未接种处理地上部分生物量高 17%、地下部分生物量高 32%;在镉添加浓度为 1000 mg·kg⁻¹ 时,接种处理比未接种处理地上部分生物量高 17%、地下部分生物量高 56%。

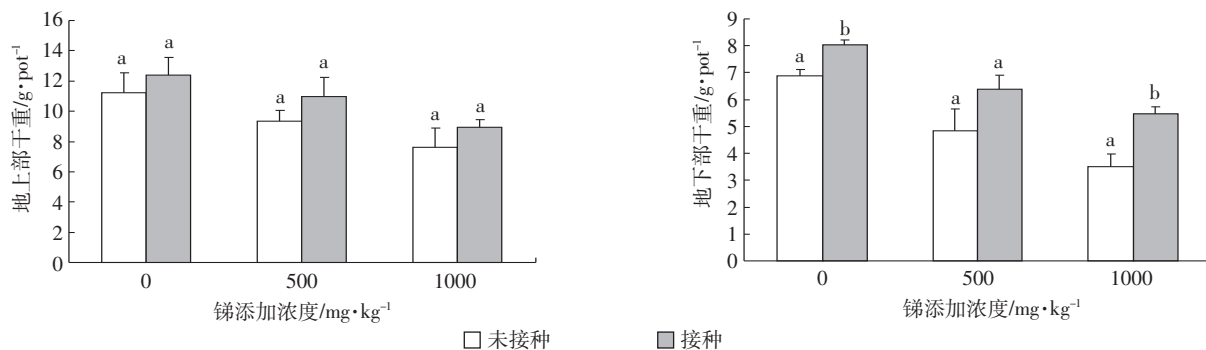


图2 不同镉添加浓度下接种和未接种 AM 真菌苜蓿地上部和地下部干物重

Figure 2 Shoot and root dry weights of *Medicago sativa* inoculated with/without AM fungi under different Sb addition levels

苜蓿中磷的含量如图 3 所示,在镉的胁迫下,接种 AM 真菌显著提高了苜蓿对磷元素的吸收($P < 0.05$),在镉添加浓度为 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,接种处理比未接种处理地上部分的磷含量高 29%;在镉添加浓度为 $1000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,接种处理比未接种处理地上部分的磷含量高 41%。

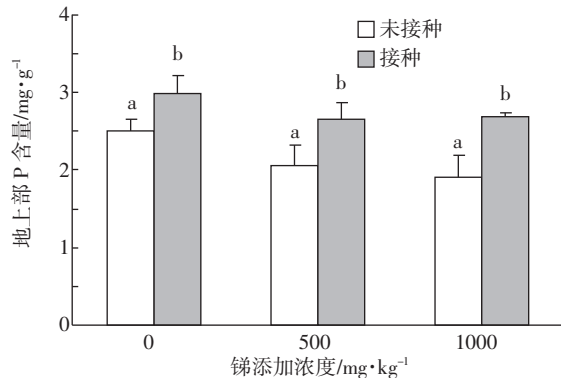


图 3 不同镉添加浓度下接种和未接种 AM 真菌苜蓿地上部分 P 含量

Figure 3 Shoot P concentrations of *Medicago sativa* inoculated with/without AM fungi under different Sb addition levels

已有研究表明在重金属胁迫条件下,接种 AM 真菌能够增强植物对营养元素和水分的吸收,增强叶片的光合作用,促进植物的生长,提高植物的生物量^[37]。de Andrade 等^[29]也证实重金属污染土壤中 AM 真菌能够改善宿主植物的营养状况从而使得宿主生物量提高。这与我们的实验结果相似。Zhang 等^[38]研究发现,接种 AM 真菌能改善植物的磷营养状况,在促进植物生长的同时形成“稀释效应”,降低植物中重金属砷的浓度,减少重金属的毒性,以此来帮助植物适应重金属胁迫环境。

在镉胁迫下,接种 AM 真菌后,苜蓿地上部分中磷的含量增加,这说明 AM 真菌促进了苜蓿对磷的吸收。AM 真菌的主要功能之一就是改善宿主植物的矿质营养状况,尤其是磷素营养。它能分泌有机酸活化难溶性磷,分泌磷酸酶水解土壤中的有机或无机磷酸盐,从而增强植物对难溶性磷的吸收^[39-40]。这也可能说明接种 AM 真菌促进了植物对磷的吸收,从而促进苜蓿生物量的提高。

Zhang 等^[38]利用温室接种实验发现接种 AM 真菌促进植物对磷的吸收的同时也降低了植物对砷的吸收。本研究发现 AM 真菌能够同时促进植物对磷和镉的吸收,这与 Zhang 的结果不同。磷、砷和镉为同一主族元素,研究发现砷(V)和磷在植物体内是同一运

输通道,两者之间存在相互抑制和竞争关系^[41]。但磷(PO_4^{3-})的加入并未影响玉米和向日葵(*Helianthus annuus*)对镉 $[\text{KSb}(\text{OH})_6]$ 的吸收,这表明五价镉的吸收不像砷一样是通过磷酸吸收系统进行的^[42]。这可能是 AM 真菌为什么能够同时促进植物对磷和镉吸收的原因。

2.3 接种 AM 真菌对苜蓿 SOD、CAT、POD 酶活性的影响

如图 4 所示,随着镉浓度的增加,苜蓿中三种酶活性都呈现上升趋势。同时,在镉胁迫下,接种处理三种酶活性都比未接种处理的低。在镉添加浓度为 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,苜蓿接种和未接种处理的 SOD 和 POD 活性差异显著($P < 0.05$)。在镉添加浓度为 $1000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,苜蓿接种和未接种处理的 SOD 活性差异显著($P <$

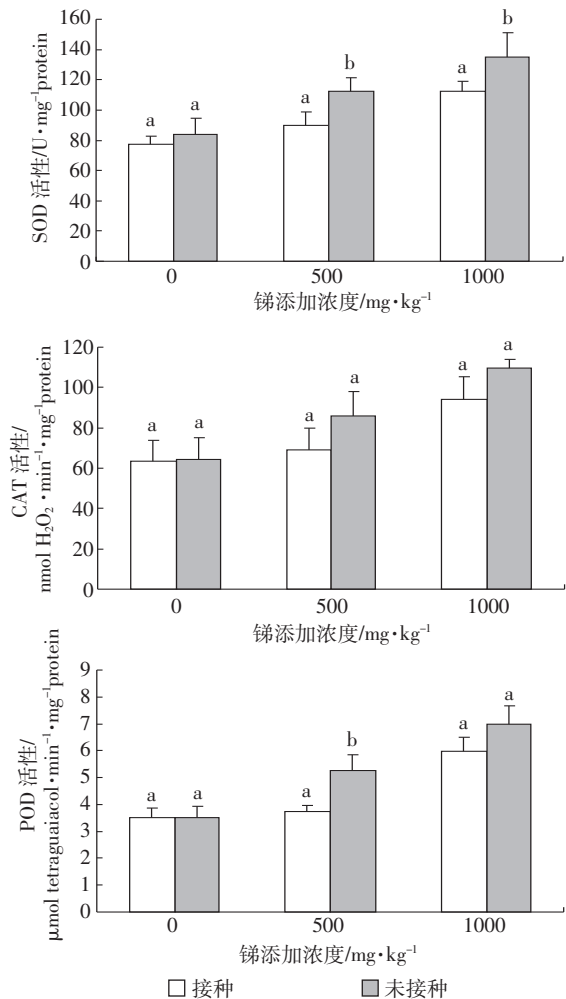


图 4 不同镉添加浓度下接种和未接种 AM 真菌苜蓿地上部分 SOD、POD 和 CAT 活性

Figure 4 Shoot SOD, POD and CAT activities of *Medicago sativa* inoculated with/without AM fungi under different Sb addition levels

0.05);在不同锑添加浓度下,苜蓿接种和未接种处理的CAT活性没有显著差异。

在重金属胁迫条件下,进入植物细胞的金属离子能够通过氧化还原反应诱导植物体内产生活性氧化物质(ROS)如超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)、过氧化氢(H_2O_2)、羟氧自由基($OH^{\cdot}$)、单质氧(1O_2),进而导致细胞产生氧化损伤。Feng等^[43]研究发现锑在植物体内也能够产生氧化胁迫,抗氧化酶POD和CAT活性的增加是植物对锑的重要解毒机制。

接种AM真菌后,苜蓿体内三种酶的活性比未接种处理要低,这与Yu等^[19]的研究结果一致。他们在蜈蚣草上接种了摩西球囊霉后,植物地上和地下部分的砷总量提高了,而砷酸还原酶(AR)、过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)活性却有所降低。他们还研究发现,接种AM真菌能够抑制植物体内砷(V)还原为砷(III),从而减少砷的毒害,并进一步减少了对产生POD和SOD酶的化学刺激效应。接种AM真菌后,苜蓿植株内可能也产生类似的反应,抑制了锑(V)还原为锑(III),从而导致三种酶的活性比未接种处理要低。而研究证实在植物体内确实存在着锑(V)向锑(III)转化的现象^[44-45]。Zhang等^[38]认为AM真菌甚至有可能会参与砷在植物体内的甲基化过程并减少对植物的毒害效应。但是,我们目前的研究还不能直接证明AM真菌也会参与锑在植物体内的形态转化,这也是我们下一步研究的重点内容。

3 结论

(1)温室盆栽试验表明,接种AM真菌促进了苜蓿地上和地下部分的锑含量,说明AM真菌能够促进苜蓿对锑的积累。这进一步证明AM真菌在锑的生物地球化学循环方面扮演着重要角色。

(2)接种AM真菌能改善锑胁迫下苜蓿的磷营养状况,促进植物对磷的吸收,提高植物地上和地下部分的生物量。

(3)接种AM真菌降低了苜蓿SOD、POD、CAT酶活性,可能是因为接种AM真菌降低了锑在苜蓿体内的毒害,从而减少了产生抗氧化酶的化学刺激效应,具体影响机理有待进一步研究。

参考文献:

- [1] McCallum R I. Occupational exposure to antimony compounds[J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2005, 7:1245-1250.
- [2] 戈招凤, 韦朝阳. 锑环境健康效应的研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2011, 28(7):649-653.

- GE Zhao-feng, WEI Chao-yang. Environmental health effect of anti-mony: A review of recent researches[J]. *Journal of Environment and Health*, 2011, 28(7):649-653.
- [3] Shoty W, Krachler M, Chen B. Antimony: Global environmental contaminant[J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2005, 7(12):1135-1136.
- [4] 吴丰昌, 郑建, 潘响亮, 等. 锑的环境生物地球化学循环与效应研究展望[J]. 地球科学进展, 2008, 23(4):350-356.
- WU Feng-chang, ZHENG Jian, PAN Xiang-liang, et al. Prospect on biogeochemical cycle and environmental effect of antimony[J]. *Advance in Earth Science*, 2008, 23(4):350-356.
- [5] 何孟常, 万红艳. 环境中锑的分布、存在形态及毒性和生物有效性[J]. 化学进展, 2004, 16(1):131-135.
- HE Meng-chang, WAN Hong-yan. Distribution, speciation, toxicity and bioavailability of antimony in the environment[J]. *Progress in Chemistry*, 2004, 16(1):131-135.
- [6] Bech J, Corrales I, Tume P, et al. Accumulation of antimony and other potentially toxic elements in plants around former antimony mine located in the Ribes Valley (Eastern Pyrenees)[J]. *Journal of Geochemical Exploration*, 2012, 113:100-105.
- [7] He M C, Yang J R. Effects of different forms of antimony on rice during the period of germination and growth and antimony concentration in rice tissue[J]. *Science of the Total Environment*, 1999, 243-244:149-155.
- [8] 刘碧君, 吴丰昌, 邓秋静, 等. 锡矿山矿区和贵阳市人发中锑、砷和汞的污染特征[J]. 环境科学, 2009, 30(3): 907-912.
- LIU Bi-jun, WU Feng-chang, DENG Qiu-jing, et al. Pollution characteristics of antimony, arsenic and mercury in human hair at xikuangshan antimony mining area and Guiyang City, China[J]. *Environmental Science*, 2009, 30(3): 907-912.
- [9] Baroni F, Boscagli A, Protano G, et al. Antimony accumulation in *Achillea ageratum*, *Plantago lanceolata* and *Silene vulgaris* growing in an old Sb-mining area[J]. *Environmental Pollution*, 2000, 109(2):347-352.
- [10] 冯人伟, 韦朝阳, 涂书新. 植物对锑的吸收和代谢及其毒性的研究进展[J]. 植物学报, 2012, 47(3): 302-308.
- FENG Ren-wei, WEI Chao-yang, TU Shu-xin. Research advances in uptake, metabolism and toxicity of antimony in plants[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2012, 47(3):302-308.
- [11] Lyalikova M N. Antimony-oxidizing bacteria and their geochemical activity[C]//Krumbein W E, ed. *Environmental Biogeochemistry and Geomicrobiology*. Ann Arbor: Ann Arbor Science, 1987: 929-936.
- [12] Filella M, Belzile N, Lett M C. Antimony in the environment: A review focused on natural waters. III. Microbiota relevant interactions[J]. *Earth Science Reviews*, 2007, 80(3/4):195-217.
- [13] Smith S E, Read D J. *Mycorrhizal symbiosis*[M]. 3rd Edition. New York: Academic Press, 2008:13-20.
- [14] Mohammad M. Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals[J]. *Biotechnology Advances*, 2011, 29(6): 645-653.
- [15] Stomka A, Kuta E, Szarek-Lukaszewska G, et al. Violets of the section *Melanium*, their colonization by arbuscular mycorrhizal fungi and their occurrence on heavy metal heaps[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2011, 168(11):1191-1199.

- [16] Zhang H H, Tang M, Chen H, et al. Effect of inoculation with AM fungi on lead uptake, translocation and stress alleviation of *Zea mays* L. seedlings planting in soil with increasing lead concentrations[J]. *Euro-pean Journal of Soil Biology*, 2010, 46(5):306–311.
- [17] Liu Y, Christie P, Zhang J L, et al. Growth and arsenic uptake by Chinese brake fern inoculated with an arbuscular mycorrhizal fungus[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2009, 66(3):435–441.
- [18] 罗巧玉, 王晓娟, 林双双, 等. AM 真菌对重金属污染土壤生物修复的应用与机理[J]. *生态学报*, 2013, 33(13):3898–3906. LUO Qiao-yu, WANG Xiao-juan, LIN Shuang-shuang, et al. Mechanism and application of bioremediation to heavy metal polluted soil using arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(13): 3898–3906.
- [19] Yu Y, Zhang S Z, Huang H L, et al. Arsenic accumulation and speciation in maize as affected by inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus *glomus mosseae*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(9): 3695–3701.
- [20] Christopher H M, Smith F A, Smith S E. Arbuscular mycorrhizal colonization reduces arsenate uptake in barley via downregulation of transporters in the direct epidermal phosphate uptake pathway[J]. *New Phytologist*, 2009, 184(4): 962–974.
- [21] Wei Y, Chen Z P, Wu F C, et al. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi at a large-scale antimony mining area in Southern China [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2015, 29: 18–26. DOI: 10.1016/j.jes.2014.10.002
- [22] Borovicka J, Randa Z, Jelinek E. Antimony content of macrofungi from clean and polluted areas[J]. *Chemosphere*, 2006, 64(11):1837–1844.
- [23] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000. LU Ru-kun. Agricultural chemical analysis of soil[M]. Beijing: Agriculture Sciencetech Press, 2000.
- [24] Grace S C, Logan B A. Acclimation of foliar antioxidant systems to growth irradiance in three broad-leaved evergreen species[J]. *Plant Physiology*, 1996, 112(4): 1631–1640.
- [25] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000. LI He-sheng. Plant physiology and biochemistry principle and technology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.
- [26] Knörzer O C, Burner J, Boger P. Alterations in the antioxidative system of suspension-cultured soybean cells (*Glycine max*) induced by oxidative stress[J]. *Physiologia Plantarum*, 1996, 97(2): 388–396.
- [27] Maehly A C, Chance B. The assay of catalases and peroxidases[J]. *Methods of Biochemical Analysis*, 1954, 1: 357–424.
- [28] Trotta A, Falaschi P, Cornara L, et al. Arbuscular mycorrhizae increase the arsenic translocation factor in the As hyperaccumulating fern *Pteris vittata* L.[J]. *Chemosphere*, 2006, 65(1):74–81.
- [29] de Andrade S A L, da Silveira A P, Jorge R A, et al. Cadmium accumulation in sunflower plants influenced by arbuscular mycorrhiza[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2002, 4(3):205–221.
- [30] Hidebrandt U, Hoef-Emden K, Backhausen S, et al. The rare, endemic zinc violets of Central Europe originate from *Viola lutea* Huds[J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2006, 257(3/4):205–222.
- [31] de Andrade S A L, da Silveira A P, Mazzafera P. Arbuscular mycorrhiza alters metal uptake and the physiological response of *Coffea Arabica* seedlings to increasing Zn and Cu concentrations in soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2010, 408(22):5381–5391.
- [32] Li X L, Christie P. Changes in soil solution Zn and pH and uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal red clover in Zn contaminated soil[J]. *Chemosphere*, 2001, 42(2):201–207.
- [33] Li X L, Feng G. Arbuscular mycorrhizal ecology and physiology[M]. Beijing: Huawen Press, 2001.
- [34] Solís D F A, Valentín V A, Chorover J, et al. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant biomass and the rhizosphere microbial community structure of mesquite grown in acidic lead/zinc mine tailings[J]. *Science of the Total Environment*, 2011, 409(6):1009–1016.
- [35] Feng R W, Wei C Y, Tu S X, et al. The uptake and detoxification of antimony by plants: A review[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2013, 96:28–34.
- [36] Kováč M J, Pavlíková D, Vosátka M. Potential contribution of arbuscular mycorrhiza to cadmium immobilization in soil[J]. *Chemosphere*, 2006, 65:1959–1965.
- [37] Madejón E, Doronila A I, Sanchez-Palacios J T, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and biosolids enhance the growth of a native Australian grass on sulphidic gold mine tailings[J]. *Restoration Ecology*, 2010, 18(Suppl1):175–183.
- [38] Zhang X, Ren B H, Wu S L, et al. Arbuscular mycorrhizal symbiosis influences arsenic accumulation and speciation in *Medicago truncatula* L. in arsenic-contaminated soil[J]. *Chemosphere*, 2015, 119:224–230.
- [39] Davies Jr F T, Puryear J D, Newton R J, et al. Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annuus*) [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2001, 158(6):777–786.
- [40] Rufyikiri G, Huysmans L, Wannijn J, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi can decrease the uptake of uranium by subterranean clover grown at high levels of uranium in soil[J]. *Environmental Pollution*, 2004, 130(3): 427–436.
- [41] Tschan M, Robinson B H, Schulin R. Antimony in the soil-plant system: A review [J]. *Environmental Chemistry*, 2009, 6:106–115. DOI: 10.1071/EN08111
- [42] Tschan M, Robinson B H, Nodari M. Antimony uptake by different plant species from nutrient solution, agar and soil[J]. *Environmental Chemistry*, 2008, 6:144. DOI: 10.1071/EN08103
- [43] Feng R W, Wei C Y, Tu S X, et al. Antimony accumulation and antioxidative responses in four fern plants[J]. *Plant and Soil*, 2009, 317(1/2):93–101.
- [44] Müller K, Daus B, Mattusch J, et al. Simultaneous determination of inorganic and organic antimony species by using anion exchange phases for HPLC-ICP-MS and their application to plant extracts of *Pteris vittata* [J]. *Talanta*, 2009, 78(3):820–826.
- [45] Müller K, Daus B, Mattusch J, et al. Impact of arsenic on uptake and bio-accumulation of antimony by arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* [J]. *Environmental Pollution*, 2013, 174:128–133.