



引用格式: 马芳, 曹媛媛, 白妙妍, 等. 密旋链霉菌 Act12 发酵液对石油胁迫下紫花苜蓿幼苗生长及生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2024, 44(6): 0845-0852. [MA F, CAO Y Y, BAI M Y, et al. Effects of *Streptomyces pactum* Act12 broth on growth and physiological characteristics of *Medicago sativa* seedlings under petroleum stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2024, 44(6): 0845-0852.] DOI: 10.7606/j.issn.1000-4025.20240032

密旋链霉菌 Act12 发酵液对石油胁迫下紫花苜蓿幼苗生长及生理特性的影响

马芳^{1,2,3}, 曹媛媛¹, 白妙妍¹, 阎岩^{1,2}, 毛仁俊^{1,3}, 杜宏涛^{1,2}

(1 延安大学 生命科学学院, 陕西延安 716000; 2 陕西起源康博生物科技有限公司, 陕西铜川 727000; 3 延安大学 陕西省红枣重点实验室, 陕西延安 716000)

摘要 【目的】考察密旋链霉菌 Act12 发酵液对石油胁迫下紫花苜蓿幼苗生长及生理特性的影响, 探讨其缓解石油胁迫的作用机制。【方法】以‘中苜 3 号’紫花苜蓿为供试植物, 采用盆栽试验, 考察质量分数 3% (W/W) 石油胁迫和不同浓度 (0.1%、10% 和 100%) Act12 发酵液处理下紫花苜蓿幼苗生长、根系构型、光合特性、渗透调节物质含量和抗氧化能力等指标的变化。【结果】相较于对照组 (CK), 3% 石油胁迫显著抑制了幼苗的光合作用和生物量, 同时增加了丙二醛 (MDA) 的积累, 降低了可溶性糖和可溶性蛋白含量, 改变了超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 活性。中低浓度 (1% 和 10%) 的发酵液处理可以有效缓解石油胁迫对紫花苜蓿幼苗的毒害, 并以 10% 的 Act12 发酵液效果最佳; 与不施用 Act12 发酵液处理相比, 10% Act12 发酵液处理幼苗的株高、地上部干质量、地下部干质量、茎耐受指数、根耐受指数、总根长、根表面积、根体积和根尖数均显著增加, 地上部分和地下部分 MDA 含量分别降低了 42.49% 和 56.45%, 可溶性糖含量分别增加了 79.25% 和 89.83%, 可溶性蛋白含量分别增加了 167.63% 和 256.15%, 根系 SOD 和 POD 活性分别提升了 35.81% 和 57.33%。【结论】中低浓度密旋链霉菌 Act12 发酵液能有效增强石油胁迫下紫花苜蓿幼苗的抗氧化酶活性和渗透调节能力, 降低 MDA 含量, 提高光合作用能力, 增加生物量, 有效缓解石油胁迫对幼苗生长的抑制。

关键词 密旋链霉菌 Act12 发酵液; 石油胁迫; 紫花苜蓿; 幼苗生长; 生理特性

中图分类号 Q945

文献标志码 A

Effects of *Streptomyces pactum* Act12 broth on growth and physiological characteristics of *Medicago sativa* seedlings under petroleum stress

MA Fang^{1,2,3}, CAO Yuanyuan¹, BAI Miaoyan¹, YAN Yan^{1,2}, MAO Renjun^{1,3}, DU Hongtao^{1,2}

(1 School of Life Sciences, Yan'an University, Yan'an, Shaanxi 716000, China; 2 Shaanxi Qiyuan Kangbo Biotechnology Co. Ltd., Tongchuan, Shaanxi 727000, China; 3 Shaanxi Key Laboratory of Chinese Jujube, Yan'an University, Yan'an, Shaanxi 716000, China)

Abstract [Objective] This study aims to investigate the impact of *Streptomyces pactum* Act12 broth on growth and physiological characteristics of *Medicago sativa* seedlings under petroleum stress. [Methods]

收稿日期: 2024-01-10; 修改稿收到日期: 2024-02-27

基金项目: 陕西省科技厅“秦创原引用高层次创新创业人才项目” (QCYRCXM-2022-172, QCYRCXM-2022-196); 延安大学博士科研启动项目 (205040406, 205040422); 延安大学产学研合作培育项目 (2020-05)

作者简介: 马芳 (1984—), 女, 博士, 讲师, 主要从事生态修复研究。E-mail: mafang_1984@126.com

The effects of different concentrations (0, 1%, 10%, and 100%) of Act12 broth under a petroleum stress level of 3% (W/W) were examined by determining seedling growth, root morphology, photosynthetic characteristics, osmoregulatory substance content, and antioxidant capacity in *M. sativa*. [Results] The 3% petroleum significantly hindered photosynthesis and biomass accumulation of *M. sativa* seedlings, compared to the control group (CK). Moreover, it resulted in elevation in malondialdehyde level, decrease in soluble sugar and soluble protein content, as well as alteration in the activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD). Compared to the absence of Act12 broth, solutions with low and medium concentrations (1% and 10%) effectively mitigated the toxic effects of petroleum, with 10% Act12 broth exhibiting the most significant effect. The seedlings treated with Act12 broth exhibited significant enhancements in plant height, above-ground dry mass, underground dry mass, stem tolerance index, root tolerance index, total root length, root surface area, root volume, and number of root tips. Additionally, the level of MDA was decreased by 42.49% and 56.45%, soluble sugar was increased by 79.25% and 89.83%, while soluble protein was increased by 167.63% and 256.15% in the above-ground and underground parts, respectively. Moreover, SOD and POD activity were increased by 35.81% and 57.33%, respectively. [Conclusion] The fermented liquid with low/medium concentration effectively modulates antioxidant enzyme activity and osmotic regulation ability of seedlings, resulting in reduced MDA content, enhanced photosynthesis ability, increased biomass, and eventually alleviates the inhibition effects of petroleum stress on seedling growth.

Key words *Streptomyces pactum* Act12 broth; petroleum stress; *Medicago sativa*; seedling growth; physiological characteristics

随着社会快速发展,石油作为重要能源需求不断增加。然而,在石油勘探、开采、运输、贮藏和加工等环节中,部分石油直接或间接进入自然环境,导致了严重的石油污染问题^[1]。陕北是中国重要的石油基地之一,大规模的石油开采对当地生态环境造成了较严重破坏^[2]。石油进入土壤后会直接改变土壤理化性质,扰乱土壤微生态平衡,影响正常物质循环和能量流动,抑制植物的生长发育^[3-4]。此外,石油还可以直接影响植物生长。高分子量的石油烃会附着在根系表面,阻碍呼吸作用以及水分和养分吸收,造成根系溃烂,导致植物死亡。低分子量的石油烃则可进入植物组织内部并引发多种反应,如酶功能障碍、干扰光合作用和膜通透性等,从而抑制植物生长^[5-7]。紫花苜蓿(*Medicago sativa*)具有产量高、营养丰富、适应性强、耐贫瘠干旱等特点,是中国分布最广泛的豆科牧草之一,其品质和产量对中国畜牧业的高质量发展具有重要意义^[8]。然而,石油污染会显著抑制紫花苜蓿幼苗的光合效率和多种酶的活性,从而导致紫花苜蓿生长速度降低、生物量减少,严重影响其品质和产量^[9-11]。因此提高石油胁迫下紫花苜蓿幼苗的耐受性对其在石油污染地区栽培具有重要的价值。

植物促生菌具有促进植物生长,减轻石油污染对植物的损害,诱导植物产生系统抗性,提高植物品质及产量等重要作用,对缓解植物遭受的生物胁迫

和非生物胁迫伤害具有重要意义^[12-14]。密旋链霉菌 Act12 是西北农林科技大学微生物资源实验室从青藏高原极端环境土壤样品中分离、筛选得到的 1 株具有促生功能的放线菌。研究发现该菌在玉米、小麦、番茄多种植物中显示出了优异的促生和提高抗逆性能力^[15-17];同时,关于 Act12 缓解干旱和重金属对植物的胁迫已有报道^[18-20]。这些功效可能与 Act12 代谢产物中含有吲哚乙酸(IAA)、ACC 脱氢酶和铁载体等成分有密切关系。鉴于 Act12 优异的功能,本研究期望将其用于缓解石油污染对植物幼苗生长的胁迫。然而石油会严重抑制多数外源微生物生长^[21],因此如何发挥外源促生菌的效能至关重要。微生物代谢产物是其活性物质的基础,发酵液作为微生物代谢产物汇聚地,具有和微生物相同或相似的效能。基于此,本研究以密旋链霉菌 Act12 发酵液为对象,以紫花苜蓿为供试植物,在 3%(W/W)石油胁迫下探讨不同浓度密 Act12 发酵液对紫花苜蓿幼苗生长特性及生理特征的影响,为探索 Act12 发酵液缓解植物石油胁迫提供基础数据和理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试紫花苜蓿品种为‘中苜 3 号’,种子购于延安市牧草种子管理站服务部。密旋链霉菌 Act12 无菌发酵液由西北农林科技大学资源环境学院微生物资

源研究室提供,具体制备方法如马军妮等报道^[17]。供试原油采自延安宝塔区延长油田。供试土壤为黄绵土,取自延安大学萃园校区试验田表层(0—20 cm)土。土壤 pH 为 7.92,有机质含量为 7.84 g/kg,硝态氮含量为 1.38 g/kg,铵态氮为 22.36 g/kg,速效磷和速效钾的含量分别是 6.23 mg/kg 和 76.28 mg/kg。前期调研发现陕北地区石油污染土壤总石油烃含量大部分在 30 g/kg 以下,所以本研究模拟石油含量为 30 g/kg 的污染土壤。将取得的土壤去除植物根、石块等杂质后风干过 2 mm 筛网备用,每 1 kg 清洁土壤中拌入 30 g 原油,充分搅拌,静置 7 d,使土壤颗粒与石油充分接触,制得 30 g/kg 石油污染土壤备用。

1.2 试验设计

研究采用盆栽试验,于 2023 年 5—6 月在延安大学光照培养室进行。温室条件设置为:温度 25 ℃/20 ℃(昼/夜),光周期 16 h/8 h(光/暗),光照强度 400 μmol/(m²·s),湿度(70±5)%。试验共设置 5 个处理组:(1)CK,无污染土壤,根施 5 mL 去离子水;(2)T₀,石油污染土壤,根施 5 mL 去离子水;(3)T₁,石油污染土壤,根施 1% Act12 发酵液 5 mL;(4)T₂,石油污染土壤,根施 10% Act12 发酵液 5 mL;(4)T₃,石油污染土壤,根施 100% Act12 发酵液 5 mL。每个处理重复 5 次。

选取颗粒饱满、大小均一的紫花苜蓿种子于 1% NaClO 溶液中浸泡 15 min,用蒸馏水冲洗 5 次,温水浸泡 24 h,将其播种于育苗基质中,出苗 15 d 后选择长势一致的幼苗移入装有 1 kg 土壤、直径为 10 cm 的盆中,每盆 10 株,随后分别加入 1%、10%和 100%(V/V)的 Act12 发酵液 5 mL,对照组用蒸馏水代替,处理 30 d 后收获幼苗。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 生物量和耐受指数

培养 30 d 后,每盆选取 3 株长势一致的植株,用干净的剪刀将植株样品地上部和根分离,用去离子水冲洗干净,吸干表面水分,测定植株的株高和主根长;随后分别装入信封于 105 ℃下杀青 30 min,70 ℃烘干至恒重,称量干质量。并依据测定数据计算茎(根)耐受指数[处理组茎(根)干质量/对照组茎(根)干质量×100%]。

1.3.2 根系形态指标

取培养 30 d 后的幼苗鲜根放入根系扫描仪,注入蒸馏水将根分散开,采用根系分析系统测定总根长、根系平均直径、根表面积、根体积和根尖数等指标,每个处理重复 3 次。

1.3.3 光合气体交换参数

培养 30 d 后,选择长势良好的紫花苜蓿顶部第一片完全展开叶,用便携式光合测定仪测定紫花苜蓿的净光合速率(P_n)、胞间 CO₂ 浓度(C_i)、蒸腾速率(T_r)和气孔导度(G_s)。

1.3.4 抗逆生理生化指标

培养 30 d 后收获幼苗,分别称取鲜质量 0.10 g 幼苗的叶片和根系用于生理生化指标测定,每个指标重复 3 次。丙二醛(MDA)含量用硫代巴比妥酸(TBA)法测定;可溶性糖含量用蒽酮法测定;可溶性蛋白含量用考马斯亮蓝染色法测定;超氧化物歧化酶(SOD)用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)法测定;过氧化物酶(POD)活性用愈创木酚显色法测定^[15]。

1.4 数据统计与分析

使用 Excel 软件整理数据,结果采用“平均值±标准差”表示,SPSS 22.0 进行方差分析,Duncan 法进行多重比较,Origin 2021 作图。

2 结果与分析

2.1 Act12 发酵液对石油胁迫下紫花苜蓿幼苗生长和耐受指数的影响

由表 1 可知,与 CK 相比,紫花苜蓿幼苗生长在石油胁迫下受到严重抑制,单独石油胁迫(T₀)处理幼苗株高、主根长、地上部分干质量、地下部分干质量分别显著下降了 49.28%、55.54%、56.75%和 47.98%,根冠比显著增加了 20.27%。与 T₀ 相比,T₁ 和 T₂ 处理紫花苜蓿幼苗各生长指标及根冠比均不同程度增加,且大多达到显著水平,而 T₃ 处理各生长指标均不同程度降低,而根冠比仍有所增加,但均未达到显著水平。其中,相较于 T₀,T₂ 处理紫花苜蓿幼苗的株高、主根长、地上部分干质量和地下部分干质量分别显著增加了 46.48%、74.25%、55.26%和 66.02%,根冠比也增加了 6.90%。同时,通过耐受指数可以进一步发现,T₁ 和 T₂ 处理显著提高了紫花苜蓿茎和根对石油胁迫的耐受指数,且 T₂ 对石油胁迫的恢复作用更强,而 T₃ 处理却降低了耐受指数。

2.2 Act12 发酵液对石油胁迫下紫花苜蓿幼苗根系形态的影响

表 2 显示,与 CK 相比,T₀ 处理下紫花苜蓿幼苗总根长、根表面积、根体积和根尖数分别显著降低了 62.84%、48.02%、42.42%和 48.21%,而根系平均直径却显著增加了 26.09%。与 T₀ 相比,T₁ 和 T₂ 处理紫花苜蓿幼苗根系各形态指标均不同程度增加,且大多达到显著水平,而 T₂ 处理又明显高于

T₁ 处理, T₂ 处理幼苗总根长、根系平均直径、根表面积、根体积和根尖数分别比 T₀ 显著升高了 123.37%、17.24%、154.18%、218.42% 和 145.26%, 甚至除总根长外均显著大于 CK; T₃ 处理的幼苗总根长比 T₀ 略有下降, 根表面积和根尖数均稍有增长, 根系平均直径和根体积均显著增加。

2.3 Act12 发酵液对石油胁迫下紫花苜蓿幼苗叶片光合气体交换参数的影响

从表 3 可见, 与 CK 相比, T₀ 处理下紫花苜蓿

幼苗叶片的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间 CO₂ 浓度(C_i)和蒸腾速率(T_r)均分别显著下降了 54.56%、43.55%、20.87% 和 46.01%。通过不同浓度 Act12 发酵液处理后, 紫花苜蓿幼苗叶片 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r 均表现出先升高再降低的趋势, 且在 T₂ 处理下升至最高, 此时分别比 T₀ 显著增加了 53.36%、37.14%、18.54 和 45.89%; 与 T₂ 相比, 幼苗叶片的光合气体交换参数在高浓度 Act12 发酵液处理(T₃)下显著降低, 且均低于 T₀ 水平。

表 1 Act12 发酵液对石油胁迫下紫花苜蓿幼苗生长和耐受指数的影响
Table 1 Effects of Act12 broth on growth and tolerance index of *M. sativa* seedlings under petroleum stress

处理 Treatment	株高 Plant height /cm	主根长 Main root length/cm	地上部干质量 Shoot dry mass/mg	地下部干质量 Root dry mass/mg	根冠比 Root/shoot	耐受指数 Tolerance index/%	
						茎 Shoot	根 Root
CK	9.80±0.41a	16.69±2.02a	61.5±6.9a	19.8±1.3a	0.32±0.02c	—	—
T ₀	4.97±0.38c	7.42±0.67c	26.6±2.4cd	10.3±0.9c	0.39±0.01b	43.25±4.83b	52.02±4.82c
T ₁	6.91±0.52b	10.64±0.97b	30.2±4.7c	14.5±1.4b	0.48±0.04a	49.11±3.98b	73.23±5.07b
T ₂	7.28±0.37b	12.93±0.89b	41.3±3.3b	17.1±2.0a	0.41±0.02b	67.15±6.74a	86.36±6.34a
T ₃	4.34±0.34c	6.93±0.47c	20.9±2.9d	8.7±1.2c	0.42±0.03b	33.98±3.84c	43.93±5.40c

注: CK 为对照(无石油和发酵液处理), T₀ 为石油胁迫处理, T₁—T₃ 为石油胁迫后分别用 1%、10% 和 100% 发酵液处理; 同列数据后标记不同小写字母表示处理间在 0.05 水平差异显著($P<0.05$)。下同。“—”指无数据。

Note: CK as control (no petroleum stress and Act12 broth treatment group); T₀ is the petroleum stress treatment group; T₁—T₃ represent Act12 broth at different concentrations (1%, 10%, and 100%) under petroleum stress. The data labeled with different lowercase letters within same column indicate the significant difference among treatments at the 0.05 levels ($P<0.05$). The same as below. “—” indicates no data.

表 2 Act12 发酵液对石油胁迫下紫花苜蓿幼苗根系形态的影响
Table 2 Effects of Act12 broth on root morphology of *M. sativa* seedlings under petroleum stress

处理 Treatment	总根长 Total root length /cm	根系平均直径 Mean root diameter /mm	根表面积 Root surface area /cm ²	根体积 Root volume /cm ³	根尖数 Number of root tips
CK	138.64±9.70a	0.23±0.01c	10.12±0.69b	0.066±0.009b	186.67±12.09b
T ₀	51.52±6.44c	0.29±0.02b	5.26±0.42c	0.038±0.005d	96.67±8.48c
T ₁	97.26±6.85b	0.31±0.01ab	9.69±0.69b	0.075±0.010b	164.33±8.09b
T ₂	115.08±13.03ab	0.34±0.02a	13.37±0.82a	0.121±0.016a	237.09±31.50a
T ₃	46.57±4.59c	0.36±0.02a	5.47±0.61c	0.056±0.008c	103.67±14.42c

表 3 Act12 发酵液对石油胁迫下紫花苜蓿幼苗叶片光合参数的影响
Table 3 Effects of Act12 broth on photosynthetic parameters of *M. sativa* seedlings under petroleum stress

处理 Treatment	净光合速率 P_n / [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]	气孔导度 G_s / [$\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]	胞间 CO ₂ 浓度 C_i / ($\mu\text{mol}/\text{mol}$)	蒸腾速率 T_r / [$\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]
CK	14.75±1.85a	0.21±0.03a	351.52±15.73a	5.18±0.46a
T ₀	6.70±0.91c	0.12±0.02c	278.17±22.6bc	2.80±0.34c
T ₁	9.78±0.95bc	0.14±0.01bc	320.23±16.01ab	3.79±0.18b
T ₂	10.28±1.09b	0.16±0.02b	329.75±11.04a	4.08±0.38ab
T ₃	6.37±1.27c	0.10±0.01c	261.25±11.68c	2.45±0.29d

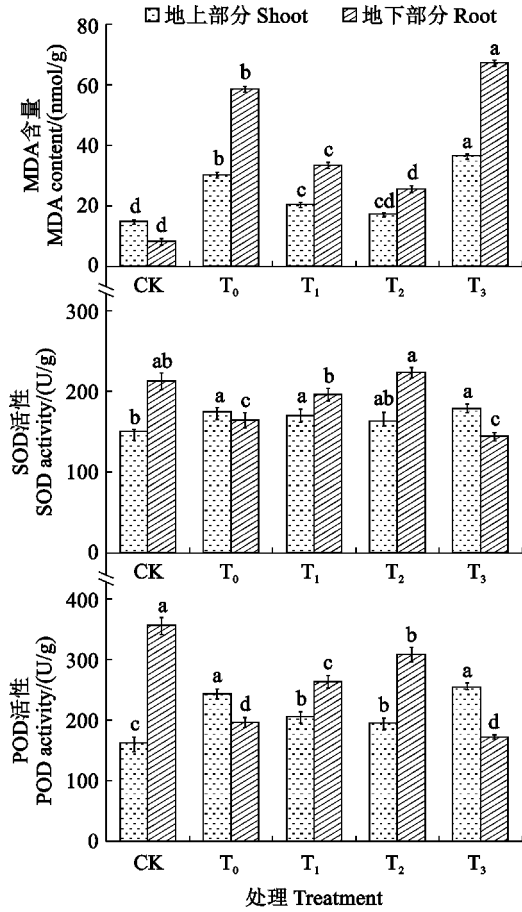
2.4 Act12 发酵液对石油胁迫下紫花苜蓿幼苗 MDA 含量和抗氧化酶活性的影响

图 1 显示,紫花苜蓿幼苗地上部分和地下部分 MDA 含量在石油胁迫(T₀)下均比 CK 显著升高,分别增加了 1.03 倍和 6.18 倍;与 T₀ 相比,幼苗地上部分和地下部分 MDA 含量在 T₁ 处理下分别显著降低了 32.20%和 43.39%,在 T₂ 处理下分别显著降低了 42.49%和 56.45%,而在 T₃ 处理下分别显著增加了 21.33%和 14.72%。同时,与 CK 相比,石油胁迫(T₀)下紫花苜蓿幼苗 SOD 和 POD 活性在 地上部分分别显著升高了 14.42%和 50.46%,在地下部分则分别显著降低了 22.50%和 44.93%。

与 T₀ 相比,幼苗地上部分 SOD 活性在 T₁—T₃ 处理下均无显著变化,其 POD 活性则在 T₁、T₂ 处理分别显著降低了 15.31%和 19.72%,在 T₃ 处理下无显著变化;地下部分 SOD 和 POD 活性均在 T₁、T₂ 处理下比 T₀ 显著升高,在 T₃ 处理比 T₀ 稍低,并在 T₂ 处理升至最高,相比于 T₀ 处理分别升高了 35.81%和 57.33%(图 1)。可见,适宜浓度 Act12 发酵液可以增强石油胁迫下紫花苜蓿幼苗地下部 SOD 和 POD 活性,显著降低 MDA 含量,有效缓解胁迫产生的过氧化伤害,但浓度过高反而会加重伤害。

2.5 Act12 发酵液对石油胁迫下紫花苜蓿幼苗渗透调节物质含量的影响

紫花苜蓿幼苗地上部分和地下部分可溶性糖和可溶性蛋白含量在 T₀ 处理下均比 CK 显著降低,在 T₁ 和 T₂ 处理下均比 T₀ 处理显著增加,在 T₃ 处理下均与 T₀ 处理无显著性差异(图 2)。其中,T₂ 处理渗透调节物质含量在各浓度 Act12 发酵液处理中最高、增加幅度最大,其地上部分和地下部分可溶性糖含量分别比 T₀ 处理显著增加了 79.25%和 89.83%,可溶性蛋白含量分别显著增加了 167.63%和 256.15%,且均高于 CK。



不同小写字母表示处理间在 0.05 水平差异显著(P<0.05)。下同。

图 1 Act12 发酵液对石油胁迫下紫花苜蓿幼苗 MDA 含量和 SOD、POD 活性的影响

The data labeled with different lowercase letters indicate the significant difference among treatments at the 0.05 levels ($P < 0.05$). The same as below.

Fig.1 Effects of Act12 broth on MDA content and SOD, POD activities in leaves of *M. sativa* seedlings under petroleum stress

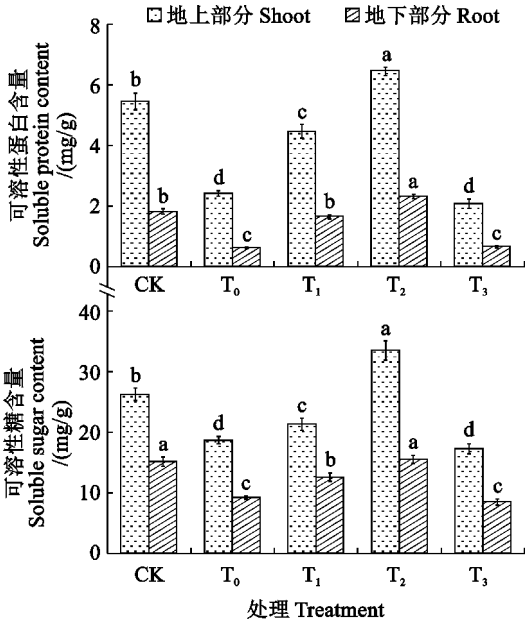


图 2 Act12 发酵液对石油胁迫下紫花苜蓿幼苗可溶性糖和可溶性蛋白含量的影响

Fig.2 Effects of Act12 broth on soluble sugar and soluble protein contents of *M. sativa* seedlings under petroleum stress

3 讨论

苗期是植物生长发育的关键时期,此时遭受石油胁迫后会出现幼苗根系变短变少,生长发育减缓,甚至死亡的情况,严重影响其后期的生长及产量和品质^[22-23]。本研究结果表明,外源施加 1%和 10% Act12 发酵液可有效缓解 3%(W/W)石油胁迫对紫花苜蓿幼苗生长发育的影响,显著增加紫花苜蓿根长、根表面积、根体积、根直径、根尖数,减轻石油胁迫对幼苗株高、主根长、地上部分干质量、地下部分干质量的抑制作用,提高了幼苗对石油胁迫的耐受性。相反,100%发酵液处理后,紫花苜蓿幼苗的生长指标出现下降。Act12 发酵液处理表现出的“低浓度促进,高浓度抑制”效应在玉米、小麦等植物种植中也有发现^[15,17],其原因可能与发酵液中生长素、ACC 脱氨酶和铁载体等成分含量有关,具体机制有待进一步研究。因此,石油胁迫下施加合适浓度的 Act12 发酵液对紫花苜蓿的根系形态和幼苗生长起到重要促进作用。

光合作用是植物体内最重要的代谢过程之一,也是植物积累生物量的重要途径。石油胁迫可以降低植物 PSⅡ和 PSⅠ电子捕获和传输的量子效率,阻碍光合活性^[24];还可以引起植物气孔导度下降,CO₂ 进出细胞受阻,蒸腾速率和光合活性下降,影响碳固定,降低植物的净光合作用效率,抑制植物有机物质的合成和能量的运输,导致植物生长发育受阻,植株矮小,生物量积累减少^[25]。另外,净光合速率和 CO₂ 固定降低会引起乙烯和乙烷产量的迅速增加,从而导致植物细胞坏死^[26]。马军妮等发现 Act12 可以显著增加小麦叶片 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r ,提高其抗逆性^[17]。与之相似,本研究中紫花苜蓿幼苗叶片的 P_n 、 G_s 、 C_i 及 T_r 在石油胁迫下均显著降低,在施加 1%和 10% Act12 发酵液后均显著升高,光合作用得到明显改善,说明适量施用 Act12 发酵液有助于增强石油胁迫下植物的光合作用,提高植物的抗性。

石油胁迫抑制植物呼吸代谢,致使细胞内活性氧(ROS)大量增加,导致抗氧化活性和膜稳定性降低,增加细胞膜降解和脂质过氧化,影响植物正常的生理生化代谢^[27]。Achuba 等^[28]发现,石油胁迫下豇豆的脂质过氧化显著提高 61.4%,CAT 和 SOD 活性分别下降 50.9%和 36.4%。同样,石油胁迫下小麦的 CAT、SOD 和 POD 活性分别降低了 77.3%、47.4%和 38.8%^[29]。与之相似,本研究发现石油胁迫

迫下紫花苜蓿幼苗地上部分和地下部分 MDA 含量均显著增加,说明细胞内大量产生并积累 ROS,导致紫花苜蓿细胞膜脂过氧化程度升高,细胞膜明显受损;同时幼苗地上部分 SOD 和 POD 活性显著升高,而地下部分 SOD 活性显著降低,原因可能是植物暴露于逆境中,抗氧化防御系统会通过增强 SOD 和 POD 等酶的活性清除 ROS,保护植物细胞免受氧化损伤,因此地上部分酶活性增加;而地下部分直接与石油接触,受石油胁迫更为严重,活性氧的增加远超过抗氧化酶系统的负荷,致使细胞受到严重伤害,导致酶活性下降。另外,本研究中石油胁迫幼苗地上部分和地下部分可溶性糖和可溶性蛋白含量显著降低,又说明紫花苜蓿幼苗的渗透调节功能失衡,抗逆性减弱。在施加 1%和 10% Act12 发酵液后,紫花苜蓿幼苗 MDA 含量显著降低,地上部分 POD 活性明显降低,地下部分 SOD 和 POD 活性显著升高,可溶性糖和可溶性蛋白含量显著增加,表明 Act12 发酵液可以调控石油胁迫下苜蓿幼苗的抗氧化防护系统,加强植株的 ROS 清除能力,减轻石油胁迫诱导的氧化损伤,提高幼苗的抗逆性。

综上所述,石油污染能够抑制紫花苜蓿幼苗的生长发育和代谢,从而导致产量和品质下降。合适浓度的 Act12 发酵液能有效缓解石油胁迫,提高其抗性,其机制可能与发酵液中的化合物促进植物抗氧化、光合作用及根系生长有关。如发酵液中的 IAA 能够刺激根毛增殖和伸长,进而增加根系长度,但过高浓度的 IAA 会抑制植物生长^[30];ACC 脱氨酶可以将 ACC 降解为氨和 α -丁酮酸,从而减少逆境胁迫下乙烯积累量,缓解逆境对于植物的损害^[31];铁载体则能够提升铁的吸收效率,并促进光合作用,在促进植物生长方面发挥重要作用^[32]。Act12 发酵液缓解石油胁迫下紫花苜蓿幼苗生长的深层次分子机制有待进一步探究。本研究结果为改善石油胁迫下紫花苜蓿幼苗生长提供了一个新策略,也为进一步开展缓解作物石油胁迫及其作用机理研究提供了理论依据和物质基础。

4 结论

(1)外源施加 Act12 发酵液对石油胁迫下紫花苜蓿幼苗生长表现出“中低浓度促进,高浓度抑制”的效应。1%和 10% Act12 发酵液可有效缓解石油胁迫对幼苗生长的抑制,显著增强幼苗耐受性,茎耐受指数从 43.25%分别增加到 49.11%和 67.15%,根耐受指数从 52.02%分别提高到 73.23%和 86.36%。

相反,100%发酵液处理后,幼苗的生长指标出现下降,茎、根耐受指数降低。

(2)中低浓度 Act12 发酵液可以通过增强紫花苜蓿幼苗叶片的光合作用,调节幼苗的渗透调节能力和抗氧化酶活性,降低 MDA 含量提高幼苗的耐受性。外源添加 10%发酵液效果最佳,与 T₀ 相比,

其幼苗叶片 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r 分别增加了 53.36%、37.14%、18.54 和 45.89%;幼苗地上部分和地下部分 MDA 含量分别降低了 42.49%和 56.45%,可溶性糖含量分别增加了 79.25%和 89.83%,可溶性蛋白含量分别增加了 167.63%和 256.15%;地下部分 SOD 和 POD 活性分别升高了 35.81%和 57.33%。

参考文献:

[1] WEI K H, MA J, XI B D, *et al.* Recent progress on *in situ* chemical oxidation for the remediation of petroleum contaminated soil and groundwater[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 432: 128738.

[2] 花莉, 成涛之, 梁智勇. 固定化混合菌对陕北黄土地区石油污染土壤的修复效果[J]. *生态环境学报*, 2022, 31(8): 1610-1615.

HUA L, CHENG T Z, LIANG Z Y. Remediation effect of petroleum-contaminated soil by immobilized mixed bacteria in northern Shaanxi Province of China[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2022, 31(8): 1610-1615.

[3] POLYAK Y M, BAKINA L G, MAYACHKINA N V, *et al.* Long-term effects of oil contamination on soil quality and metabolic function[J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2023, 46(1): 13.

[4] HUNG C M, HUANG C P, CHEN C W, *et al.* Activation of percarbonate by water treatment sludge-derived biochar for the remediation of PAH-contaminated sediments[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 265(Pt B): 114914.

[5] HATAMI E, ABBASPOUR A, DOROSTKAR V. Phytoremediation of a petroleum-polluted soil by native plant species in Lorestan Province, Iran[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26(24): 24323-24330.

[6] MUKOME F N D, BUELOW M C, SHANG J T, *et al.* Biochar amendment as a remediation strategy for surface soils impacted by crude oil[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 265 (Pt B): 115006.

[7] DUTTA T, KWON E, BHATTACHARYA S S, *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons and volatile organic compounds in biochar and biochar-amended soil: A review [J]. *Global Change Biology Bioenergy*, 2017, 9(6):990-1004.

[8] 赵丽娟, 麻冬梅, 王文静, 等. 外源褪黑素对盐胁迫下紫花苜蓿幼苗抗氧化能力以及光合作用效率的影响[J]. *西北植物学报*, 2021, 41(8): 1355-1363.

ZHAO L J, MA D M, WANG W J, *et al.* Effect of exogenous melatonin on antioxidant capacity and photosynthetic efficiency of alfalfa seedling under salt stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2021, 41(8): 1355-1363.

[9] KUZINA E, MUKHAMATDYAROVA S, SHARIPOVA Y, *et al.* Influence of bacteria of the genus *Pseudomonas* on leguminous plants and their joint application for bioremediation of oil contaminated soils[J]. *Plants*, 2022, 11(23): 3396.

[10] 柳晓东, 余天飞, 邓振山, 等. *Neorhizobium petrolearium* OS53 联合紫花苜蓿协同修复石油污染土壤研究[J]. *微生物学报*, 2024, 64(3): 854-868.

LIU X D, YU T F, DENG Z S, *et al.* *Neorhizobium petrolearium* OS53 combined with alfalfa (*Medicago sativa* L.) for remediation of petroleum-contaminated soil[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2024, 64(3): 854-868.

[11] PANCHENKO L, MURATOVA A, DUBROVSKAYA E, *et al.* Natural and technical phytoremediation of oil-contaminated soil[J]. *Life*, 2023, 13(1): 177.

[12] DOS SANTOS J J, MARANHO L T. Rhizospheric microorganisms as a solution for the recovery of soils contaminated by petroleum: A review [J]. *Journal of Environmental Management*, 2018, 210: 104-113.

[13] LEE S Y, LEE Y Y, CHO K S. Effect of *Novosphingobium* sp. CuT1 inoculation on the rhizoremediation of heavy metal- and diesel-contaminated soil planted with tall fescue[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2023, 30(6): 16612-16625.

[14] WANG A, FU W X, FENG Y, *et al.* Synergetic effects of microbial-phytoremediation reshape microbial communities and improve degradation of petroleum contaminants [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 429: 128396.

[15] 刘玉涛, 张凯, 马军妮, 等. 两株链霉菌对小麦幼苗生长及诱导抗性的影响[J]. *西北农业学报*, 2018, 27(5): 658-666.

LIU Y T, ZHANG K, MA J N, *et al.* Effects of two *Streptomyces* strains on growth and induced resistance of wheat seedlings[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2018, 27(5): 658-666.

[16] LI Y L, GUO Q, LI Y Z, *et al.* *Streptomyces pactum* Act12 controls tomato yellow leaf curl virus disease and alters rhizosphere microbial communities[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2019, 55(2): 149-169.

[17] 马军妮, 刘玉涛, 李玉龙, 等. 2 株链霉菌对玉米的促生增产作用及机理[J]. *应用生态学报*, 2017, 28(1): 315-326.

MA J N, LIU Y T, LI Y L, *et al.* Effects and mechanism of two *Streptomyces* strains on promoting plant growth and increasing grain yield of maize[J]. *Chinese Journal of Applied*

Ecology, 2017, 28(1): 315-326.

[18] 曹书苗. 放线菌强化植物修复土壤铅镉污染的效应及机理[D]. 西安: 长安大学, 2016.

[19] WANG N N, REN J, WANG L L, *et al.* A preliminary study to explain how *Streptomyces pactum* (Act12) works on phytoextraction: Soil heavy metal extraction, seed germination, and plant growth[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2023, 195(6): 757.

[20] AMJAD A. 利用密旋链霉菌和生物炭对工矿业污染土壤植物修复及降低重金属毒性的研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2017.

[21] ADEDEJI J A, TETTEH E K, OPOKU AMANKWA M, *et al.* Microbial bioremediation and biodegradation of petroleum products: A mini review[J]. *Applied Sciences*, 2022, 12(23): 12212.

[22] EZE M O, HOSE G C, GEORGE S C. Assessing the effect of diesel fuel on the seed viability and germination of *Medicago sativa* using the event-time model[J]. *Plants*, 2020, 9(9): 1062.

[23] ROY P, RUTTER A, GAINER A, *et al.* Phytotoxicity of weathered petroleum hydrocarbons in soil to boreal plant species[J]. *Environmental Research*, 2023, 238(Pt 1): 117136.

[24] HAIDER F U, EJAZ M, CHEEMA S A, *et al.* Phytotoxicity of petroleum hydrocarbons: Sources, impacts and remediation strategies[J]. *Environmental Research*, 2021, 197: 111031.

[25] BANDURA L, WOSZUK A, KOŁODYŃSKA D, *et al.* Application of mineral sorbents for removal of petroleum substances: A review[J]. *Minerals*, 2017, 7(3): 37.

[26] TOMAR R S, JAJOO A. A quick investigation of the detrimental effects of environmental pollutant polycyclic aromatic hydrocarbon fluoranthene on the photosynthetic efficiency of wheat (*Triticum aestivum*) [J]. *Ecotoxicology*, 2013, 22(8): 1313-1318.

[27] FU Z W, FENG Y R, GAO X, *et al.* Salt stress-induced chloroplastic hydrogen peroxide stimulates pdTPI sulfenylation and methylglyoxal accumulation[J]. *The Plant Cell*, 2023, 35(5): 1593-1616.

[28] ACHUBA F I, JA-ANNI M O. Effect of abattoir waste water on metabolic and antioxidant profiles of cowpea seedlings grown in crude oil contaminated soil[J]. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 2018, 7(1): 59-66.

[29] RUSIN M, GOSPODAREK J, BARCZYK G, *et al.* Antioxidant responses of *Triticum aestivum* plants to petroleum-derived substances[J]. *Ecotoxicology*, 2018, 27(10): 1353-1367.

[30] 徐岩, 纠松涛, 王继源, 等. 根域限制对葡萄根中 IAA 含量及其代谢相关基因表达的影响[J]. 西北植物学报, 2021, 41(1): 52-62.

XU Y, JIU S T, WANG J Y, *et al.* Effect of root restriction on IAA content and metabolism-related gene expression in roots of *Vitis vinifera* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2021, 41(1): 52-62.

[31] RAVANBAKHS M, SASIDHARAN R, VOESENEK L A C J, *et al.* Microbial modulation of plant ethylene signaling: Ecological and evolutionary consequences[J]. *Microbiome*, 2018, 6(1): 52.

[32] 李玉霞, 宋柳霆, 张雅琴, 等. 铁载体在环境污染与资源利用中的应用研究进展[J]. 地球科学与环境学报, 2023, 45(6): 1330-1340.

LI Y X, SONG L T, ZHANG Y Q, *et al.* Review on the application of siderophores in environmental pollution and resource utilization[J]. *Journal of Earth Sciences and Environment*, 2023, 45(6): 1330-1340.