

肠杆菌对蓼科植物镉砷污染土壤修复机理研究

李艺, 王炳森, 黄媛媛, 姚亚威, 林嘉敏, 刘可慧, 于方明

引用本文:

李艺, 王炳森, 黄媛媛, 等. 肠杆菌对蓼科植物镉砷污染土壤修复机理研究[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(2): 304–312.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-1006>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

砷胁迫下吡啶乙酸对不同砷富集能力植物根系形态和生理的影响

和淑娟, 王宏斌, 王海娟, 赵宾, 李勤椿

农业环境科学学报. 2016, 35(5): 878–885 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016.05.009>

玉米套作蜈蚣草修复砷污染农田土壤的效应研究

邱丹, 杜芮萍, 孟德凯, 顾明华, 何冰, 韦燕燕, 王学礼

农业环境科学学报. 2017, 36(1): 101–107 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-0920>

稻田镉砷污染阻控原理与技术应用

于焕云, 崔江虎, 乔江涛, 刘传平, 李芳柏

农业环境科学学报. 2018, 37(7): 1418–1426 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0730>

砷氧化菌DWCY-1的分离鉴定及其修复砷污染水稻土的可能机理

周武先, 段媛媛, 游景茂, 赵诗晨, 卢超, 罗孝荣, 张美德

农业环境科学学报. 2018, 37(12): 2746–2754 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0749>

三聚磷酸钠与柠檬酸复合强化蜈蚣草修复砷污染土壤

向冬芳, 廖水蛟, 涂书新, 张丽梅, 谢天

农业环境科学学报. 2019, 38(8): 1973–1981 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0605>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

李 艺, 王炳森, 黄媛媛, 等. 肠杆菌对蓼科植物镉砷污染土壤修复机理研究[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(2): 304–312.

LI Yi, WANG Bing-sen, HUANG Yuan-yuan, et al. Mechanism study on the phytoremediation of cadmium- and arsenic-contaminated soil by Polygonaceae plants with *Enterobacter* sp.[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(2): 304–312.

肠杆菌对蓼科植物镉砷污染土壤修复机理研究

李 艺^{1,2}, 王炳森², 黄媛媛², 姚亚威², 林嘉敏², 刘可慧^{1,3}, 于方明^{1,2*}

(1. 广西师范大学珍稀濒危动植物生态与环境保护教育部重点实验室, 广西 桂林 541004; 2. 广西师范大学环境与资源学院, 广西 桂林 541004; 3. 广西师范大学生命科学学院, 广西 桂林 541004)

摘 要:通过盆栽试验研究了接种不同浓度肠杆菌对镉-砷复合污染土壤上蓼科植物水蓼(*Polygonum hydropiper* L.)和酸模叶蓼(*Polygonum lapathifolium* L.)生长、镉砷富集及抗氧化酶系统和非酶系统的影响。结果发现:接种肠杆菌显著提高水蓼和酸模叶蓼株高、株质量及叶片中叶绿素和类胡萝卜素的含量。当接种浓度为 3.4×10^7 CFU·g⁻¹土时,水蓼和酸模叶蓼根际土壤pH降低了0.35个和0.28个单位,根茎叶中的镉和砷含量分别为对照的1.64~2.74倍和1.21~2.51倍。接种肠杆菌还可以提高叶片中SOD、POD和CAT的活性以及GSH和PCs的含量,降低O₂[·]和MDA的含量,缓解重金属的毒害。结果表明,接种肠杆菌能通过提高植株抗氧化酶活性来减轻镉砷富集对水蓼和酸模叶蓼的胁迫,从而提高水蓼和酸模叶蓼对镉-砷复合污染土壤的修复效率。

关键词:水蓼;酸模叶蓼;肠杆菌;镉;砷

中图分类号:X53 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2020)02-0304-09 doi:10.11654/jaes.2019-1006

Mechanism study on the phytoremediation of cadmium- and arsenic-contaminated soil by Polygonaceae plants with *Enterobacter* sp.

LI Yi^{1,2}, WANG Bing-sen², HUANG Yuan-yuan², YAO Ya-wei², LIN Jia-min², LIU Ke-hui^{1,3}, YU Fang-ming^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Ecology of Rare and Endangered Species and Environmental Protection, Ministry of Education, Guilin 541004, China; 2. College of Environment and Resource, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China; 3. College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

Abstract: We conducted this study to investigate the effects of different *Enterobacter* sp. FM-1 inoculation levels on the growth, phytoremediation of cadmium and arsenic, antioxidant enzymatic system, and non-enzymatic system by Polygonaceae plants (*Polygonum hydropiper* L. and *Polygonum lapathifolium* L.) in cadmium-arsenic co-contaminated soil. The results indicated inoculation with *Enterobacter* sp. FM-1 promoted the growth of both plants. Furthermore, there were increased contents of chlorophyll and carotenoids in the leaves of *Polygonum hydropiper* L. and *Polygonum lapathifolium* L. Inoculation with *Enterobacter* sp. FM-1 (3.4×10^7 CFU·g⁻¹ soil) decreased rhizospheric soil pH. For both *Polygonum hydropiper* L. and *Polygonum lapathifolium* L., compared to that of the uninoculated control, the soil pH value decreased by 0.35 and 0.28, respectively. The content of cadmium and arsenic in the roots, stems, and leaves of the two plants increased 1.64~2.74 times and 1.21~2.51 times, respectively. Additionally, inoculation with *Enterobacter* sp. could not only increase the content of SOD, POD, and CAT in the leaves of *Polygonum hydropiper* L. and *Polygonum lapathifolium* L., but also increased the content of GSH and PCs. Moreover, the content of O₂[·] and MDA were effectively decreased. Our findings indicated that inoculation with *Enterobacter* sp. FM-1

收稿日期:2019-09-12 录用日期:2019-12-04

作者简介:李 艺(1986—),女,辽宁盖州人,博士,讲师,主要从事环境污染生物修复研究。E-mail:liy412@mailbox.gxnu.edu.cn

*通信作者:于方明 E-mail:fmyu1215@163.com

基金项目:国家自然科学基金项目(41967019, 41907096, 41661077);国家重点研发计划项目(2017YFD0801500);广西创新驱动发展专项项目(桂科AA17204047-3);广西自然科学基金项目(2018JJA150018)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China (41967019, 41907096, 41661077); The National Key R&D Program of China (2017YFD0801500); The Major Program for Science and Technology Development of Guangxi (GuiKe-AA17204047-3); The Natural Science Foundation of Guangxi (2018JJA150018)

helped plants alleviate heavy metal poisoning by increasing the activity of antioxidant enzymes. Hence, *Enterobacter* sp. FM-1 is potentially useful for cadmium and arsenic phytoremediation in cadmium-arsenic co-contaminated soil by *Polygonum hydropiper* L. and *Polygonum lapathifolium* L..

Keywords: *Polygonum hydropiper* L.; *Polygonum lapathifolium* L.; *Enterobacter* sp. FM-1; cadmium; arsenic

2014年《全国土壤污染状况调查公报》显示,全国土壤环境状况不容乐观。其中,镉污染点位超标率为7.0%,砷污染点位超标率为2.7%,在无机污染物中位列第一和第三^[1]。因此,对于土壤镉-砷污染的修复至关重要。植物-微生物联合修复是近年来土壤修复的研究热点。有研究表明,一些根际微生物对植物的生长具有显著的促进作用^[2],被称作“根际促生菌”。另外,部分耐重金属的微生物还能显著提高植物对重金属的富集能力^[3-4]。Nie等^[5]的研究表明,植物促生菌 *Enterobacter cloacae* CAL2 通过分泌氨基环丙烷羧酸脱氢酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC),有效促进了欧洲油菜(*Brassica napus* L.)对砷的富集。赵根成等^[6]的研究也表明,接种放线菌 PSQ、sh2 和细菌 TS37、C13 显著提高了蜈蚣草(*Pteris vittata* L.)对砷的富集。

研究表明,在植物受到外界胁迫时如重金属胁迫,植物体内的抗氧化酶及非酶抗氧化剂可以清除植物体内过多的活性氧物质,以减轻逆境胁迫对植物的损伤,是植物抵抗逆境胁迫的重要防御机制^[7]。根际微生物可通过提高植物对非生物逆境胁迫的忍耐能力从而促进植物在逆境胁迫下的生长。汤叶涛等^[8]研究发现,高浓度镉胁迫导致滇苦菜(*Picris divaricata*)体内 H₂O₂ 和丙二醛(MDA)含量以及阴离子超氧自由基产生速率显著提高。李燕等^[9]研究表明,重金属锰对短毛蓼(*Polygonum pubescens* Blume)的胁迫引起了植物体内 H₂O₂ 和 MDA 的累积,同时超氧化物歧化酶(SOD)活性随着外界重金属浓度的升高而升高。张子杨等^[10]的研究表明,接种 *Streptomyces pactum* Act1 对包心芥菜(*Brassica juncea*)的抗氧化酶系统有积极作用,可以有效降低 MDA 的含量,提高植物对镉的富集能力。Pandey 等^[11]的研究表明镉耐受菌 *Ochrobactrum* sp. 和砷耐受菌 *Bacillus* sp. 的接种可以有效提高水稻(*Oryza sativa* L.)根部的 SOD 含量,并且可以通过分泌 ACC 促进水稻的生长,提高其对镉和砷的富集能力。

水蓼(*Polygonum hydropiper* L.)^[12]和酸模叶蓼(*Polygonum lapathifolium* L.)^[13]作为两种常见的蓼科

植物,具有较好的锰富集和耐受能力。肠杆菌 FM-1 (*Enterobacter* sp. FM-1)为新发现的对镉具有一定耐性且对植物有一定促进作用的微生物^[14],但水蓼和酸模叶蓼对于镉和砷的富集性能,以及肠杆菌对其的促生特性尚未有研究报道。因此,本研究通过灌根的方式,研究了肠杆菌对水蓼和酸模叶蓼生长、镉和砷富集以及植物抗氧化酶系统和非酶系统的影响,旨在为镉-砷复合污染土壤的植物-微生物联合修复提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料

镉耐受菌——肠杆菌 FM-1, GenBank 登录号: MF664375; 中国典型培养物保藏中心保藏号: 2017825^[14]。水蓼和酸模叶蓼采自广西桂林漓江沿岸。

镉-砷复合污染土壤采自广西桂林阳朔思的村。土壤采集时先去除地表杂物,然后采用蛇形 5 点法采集 0~20 cm 的土壤,混合均匀后,置于塑料袋中运回实验室。土壤经自然风干后,一部分过 4 mm 筛,另一部分过 0.149 mm 的尼龙筛备用。土壤的理化性质采用鲁如坤的《土壤农业化学分析法》^[15]进行测定,结果见表 1。

1.2 实验方法

1.2.1 植物栽培

将过 4 mm 孔径筛的土壤装入直径为 25 cm 的黑

表 1 土壤理化性质

Table 1 Physical and chemical character of soil

项目 Items	参数 Value
总镉 Total Cd/mg·kg ⁻¹	44.87±2.76
水提态镉 Water soluble Cd/mg·kg ⁻¹	1.01±0.03
总砷 Total As/mg·kg ⁻¹	24.58±4.84
有效态砷 Bioavailable As/mg·kg ⁻¹	1.36±0.02
pH(1:1 m/V H ₂ O)	6.74±0.01
电导率 Electrical conductivity/dS·m ⁻¹	34.35±0.67
氧化还原电位 Oxidation-reduction potential/mV	365.32±2.57
总氮 Total nitrogen/g·kg ⁻¹	0.61±0.04
总磷 Total phosphorous/g·kg ⁻¹	1.68±0.25
有机质 Organic matter/mg·g ⁻¹	2.37±0.21

色塑料盆,每盆 2.5 kg;并加入基肥,基肥标准:N 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (以干土计,下同),以 NH_4NO_3 形式加入;P 和 K 分别为 80 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,以 KH_2PO_4 形式加入,每 30 d 施加追肥一次。水蓼和酸模叶蓼采用扦插的方式进行栽培,选取长势良好且粗细一致的茎,用自来水冲洗 2~3 次,洗掉泥土,用剪刀剪成长度约为 5 cm 的茎段,保留一个完整的节间和一个腋芽。将剪短的植物茎段插入装好土壤的盆中,保留腋芽于土壤上面。每盆扦插 4 株,定期浇水,保持在田间最大持水量的 60%。

1.2.2 微生物接种

在植物长出新芽且培养 15 d 后,以灌根的方式分别接种 OD₆₀₀ 值为 0.25、0.5 和 1.0 的菌悬液(其对应的浓度分别为 5.5×10^8 、 1.0×10^9 、 2.8×10^9 $\text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$) 30 mL 于未灭菌的土壤中,每 7 d 接种一次(在前期的试验中以 7 d 为间隔向土壤中接种菌悬液 1 次),保证土壤中的肠杆菌浓度维持在 6.6×10^6 、 1.2×10^7 、 3.4×10^7 $\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ 土左右。以不加肠杆菌为对照。

1.2.3 植物收获及重金属含量分析

待植物培养 60 d 后,取出植物样品,首先用自来水冲净,再浸入 20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 EDTA- Na_2 溶液中交换 20 min,以除去附着的重金属,最后用去离子水洗净,用吸水纸将水分吸干,用天平称量生物量。采集同一位置的叶片置于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱用于抗氧化酶和非酶物质的测定,其他部分分为植物根、茎和叶,并分开装入信封,在 $105\text{ }^\circ\text{C}$ 烘箱中杀青 30 min,且在 $70\text{ }^\circ\text{C}$ 下烘干 48 h 至恒质量。烘干的植物样品用不锈钢粉碎机磨碎,用于分析重金属含量。同时测定根际土壤的 pH 值^[16]、有效态砷含量^[17]以及水提态镉含量^[18]。

1.2.4 叶绿素、类胡萝卜素、 $\text{O}_2\cdot$ 、 H_2O_2 和丙二醛(MDA)含量的分析

水蓼和酸模叶蓼叶片中叶绿素、类胡萝卜素、 H_2O_2 和 $\text{O}_2\cdot$ 的分析参考 Li 等^[19]的方法,MDA 的分析采用 Quan 等^[20]的方法。

1.2.5 抗氧化酶活性的测定

准确称取 0.20 g 去叶脉剪碎的叶片于预冷研钵中,加 1 mL 预冷的 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液在冰浴上研磨成匀浆,加缓冲液至体积为 8 mL。在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下 10 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,上清液即为粗提液,用于超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)的测定。其中 SOD、CAT 和 POD 的分析参考 Parida 等^[21]和 Wu 等^[22]的方法。

1.2.6 巯基、谷胱甘肽和植物螯合肽含量分析

巯基($-\text{SH}$)、谷胱甘肽(GSH)和植物螯合肽(PCS)含量的分析采用 El-Zohri 等^[23]的方法。

1.3 数据处理

实验数据均以 3 次重复的平均数 $\pm$ 标准误差表示。方差分析采用 SPSS 19.0 软件完成,绘图采用 Excel 2010 软件完成。

2 结果与分析

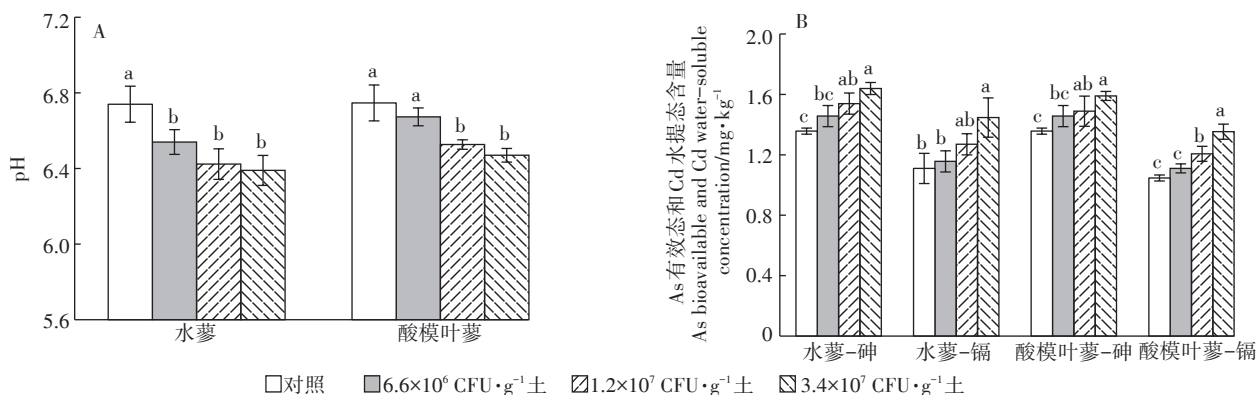
2.1 接种肠杆菌对根际土壤 pH、砷的有效态以及镉的水提态含量的影响

接种肠杆菌($\geq 1.2\times 10^7$ $\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ 土)显著降低了水蓼和酸模叶蓼根际土壤 pH,提高了砷的有效态以及镉的水提态含量。当接种浓度为 3.4×10^7 $\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ 土时,水蓼和酸模叶蓼根际土壤 pH 较对照下降了 0.35 个和 0.28 个单位(图 1A);水蓼根际土壤镉的水提态和砷的有效态含量分别为 1.45 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 1.64 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,较对照分别增加了 30% 和 21%;酸模叶蓼根际土壤镉的水提态和砷的有效态含量分别为 1.35 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 1.59 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,较对照分别增加了 29% 和 17%(图 1B)。

2.2 接种肠杆菌对植物生物量和重金属富集量的影响

接种肠杆菌对蓼科植物的株高、株质量有不同程度的影响。当接种浓度小于 3.4×10^7 $\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ 土时,水蓼的株高、株质量与对照间无显著差异($P>0.05$)。酸模叶蓼的株高随接种浓度的增加而显著提高($P<0.05$);当接种浓度为 6.6×10^6 $\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ 土时,酸模叶蓼的株质量与对照无差异($P>0.05$)。当浓度为 3.4×10^7 $\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ 土时,水蓼和酸模叶蓼的株高和株质量显著增加($P<0.05$),此时,水蓼的株高和株质量分别为对照的 1.54 倍和 1.45 倍。酸模叶蓼的株高和株质量分别为对照的 2.27 倍和 1.33 倍(图 2)。

另外,随着肠杆菌接种浓度的增加,水蓼和酸模叶蓼根茎叶中镉、砷含量呈增加的趋势。当接种浓度为 3.4×10^7 $\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$ 土时,除酸模叶蓼根中镉含量外,水蓼和酸模叶蓼根茎叶中的镉、砷含量显著高于对照($P<0.05$)。此时,水蓼根中的镉和砷含量最高,分别达到了 81.2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{DW}$ 和 33.9 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{DW}$,分别为对照的 1.64 倍和 1.68 倍(图 3A)。水蓼茎中的镉和砷含量分别为对照的 1.68 倍和 1.74 倍;酸模叶蓼茎中的镉和砷含量分别为对照的 2.51 倍和 1.21 倍(图 3B)。水蓼叶中的镉和砷含量分别为对照的 2.74 倍和 1.92 倍;酸模叶蓼叶中的镉和砷含量分别为对照的 2.12 倍和 1.86 倍(图 3C)。



数据表示平均值±标准偏差(n=3),不同小写字母代表各处理组间差异显著(P<0.05)。下同

Data is shown as mean±SE(n=3). The different lowercase letters indicate significant differences among treatments(P<0.05). The same below

图1 接种肠杆菌对水蓼和酸模叶蓼根际土壤pH、砷的有效态以及镉的水提态含量的影响

Figure 1 Effect of *Enterobacter* sp. addition on the pH and bioavailable concentration of arsenic and water-soluble concentration of cadmium in rhizosphere soil of *Polygonum hydropiper* L. and *Polygonum lapathifolium* L.

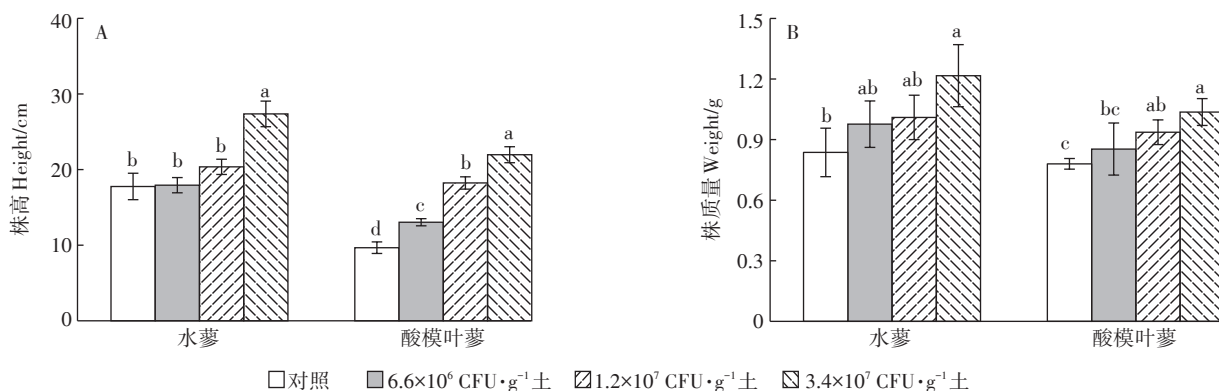


图2 接种肠杆菌对植物株高和株质量的影响

Figure 2 Effect of *Enterobacter* sp. addition on the height and weight of plant

2.3 接种肠杆菌对植物叶绿素和类胡萝卜素含量的影响

从表2中可以看出,接种肠杆菌($\geq 1.2 \times 10^7$ CFU·g⁻¹土)显著提高了水蓼和酸模叶蓼叶片中的叶绿素a、叶绿素b、类胡萝卜素含量以及水蓼叶片中的总叶绿素含量(P<0.05)。其中,接种浓度为 3.4×10^7 CFU·g⁻¹土时,水蓼和酸模叶蓼叶片中叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素、类胡萝卜素含量分别为对照的1.46、2.14、1.61、3.32倍和2.73、2.98、2.04、1.47倍。另外,接种浓度为 3.4×10^7 CFU·g⁻¹土时显著降低了水蓼和酸模叶蓼叶片中叶绿素a/叶绿素b的值(P<0.05),与对照相比分别降低了31.5%和40.5%。

2.4 接种肠杆菌对植物O₂^{·-}、H₂O₂、MAD含量及抗氧化酶活性的影响

从表3中可以看出,接种肠杆菌($\geq 1.2 \times 10^7$ CFU·g⁻¹土)显著降低了水蓼和酸模叶蓼叶片中O₂^{·-}、H₂O₂

和MAD的含量(P<0.05)。当接种浓度为 3.4×10^7 CFU·g⁻¹土时,水蓼和酸模叶蓼叶片中O₂^{·-}、H₂O₂、MAD的含量分别比对照降低了16.9%、74.9%、28.8%和19.5%、59.3%、19.6%。从表3中可以看出,接种浓度 $\geq 1.2 \times 10^7$ CFU·g⁻¹土时显著提高了水蓼叶片中SOD、POD、CAT的活性(P<0.05),分别为对照的1.65、12.81、2.19倍;当接种浓度为 3.4×10^7 CFU·g⁻¹土时显著提高了酸模叶蓼叶片中POD和CAT的活性,此时分别为对照的2.09倍和3.36倍。但接种肠杆菌对酸模叶蓼叶片中的SOD活性未产生显著影响(P>0.05)。

2.5 接种肠杆菌对植物-SH、PCs和GSH含量的影响

当接种肠杆菌浓度 $\geq 1.2 \times 10^7$ CFU·g⁻¹土时,水蓼和酸模叶蓼叶片中-SH、PCs和GSH的含量显著增加(P<0.05)。当接种浓度为 3.4×10^7 CFU·g⁻¹土时,水蓼和酸模叶蓼叶片中-SH、PCs、GSH的含量分别比对照增加了92%、97%、104%(图4A)和111%、124%、96%

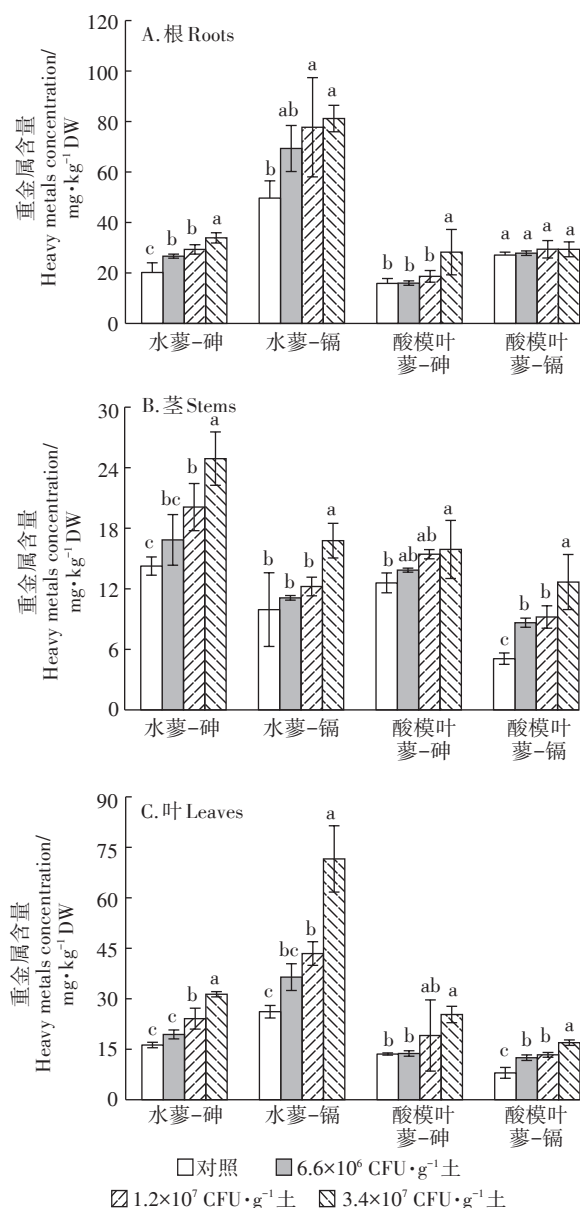


图3 接种肠杆菌对水蓼和酸模叶蓼根茎叶中砷、镉含量的影响

Figure 3 Arsenic and cadmium content in roots, stems and leaves of *Polygonum hydropiper* L. and *Polygonum lapathifolium* L. under different bacterial-inoculated level

(图4B)。

2.6 相关性分析

从表4可以看出,根际土壤pH、土壤镉水提态含量和砷有效态含量与接菌量呈极显著相关关系($P < 0.001$),而植物种类仅对根际土壤pH和镉水提态含量的变化产生显著影响($P < 0.05$)。接菌量与植物的交互作用对根际土壤pH和砷有效态含量以及镉水提态含量均没有显著影响($P > 0.05$)。

3 讨论

本研究发现,当肠杆菌FM-1接种浓度为 3.4×10^7 CFU·g⁻¹土时,水蓼和酸模叶蓼的株高和株质量显著增加($P < 0.05$)(图2),这表明肠杆菌有利于植物的生长,是一种良好的植物促生菌。有研究表明,植物根际促生菌可直接或间接地促进宿主植物的生长^[20],其促生机制主要包括:分泌植物生长素,如吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)、氨基环丙烷羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC)脱氢酶、铁载体(Siderophore)等促生物质^[22];分泌有机酸和释放矿质中难溶的营养元素促进植物生长^[21];通过固氮作用促进植物生长;提高植物的抗逆性等^[23]。另外,接种肠杆菌FM-1显著提高了水蓼和酸模叶蓼的叶绿素及类胡萝卜素含量(表2),叶绿素含量的增加有利于植物的光合作用,从而促进植物生长。这与Guo等^[24]通过在镉污染土壤中接种植物促生菌 *Bradyrhizobium* sp. YL-6,从而通过菌株分泌铁载体和吲哚乙酸,有效促进黑麦(*Lolium multiflorum* Lam.)和大豆(*Glycine max* L.)生长的研究结论相似。在我们的前期研究中发现肠杆菌FM-1可以通过分泌吲哚乙酸、铁载体及其具有良好的溶磷性,来促进积雪草对土壤中镉的富集^[25]。

本研究结果表明,接种肠杆菌FM-1降低了水蓼和酸模叶蓼根际土壤的pH(图1),促进了水蓼和酸模叶蓼根茎叶对镉和砷的富集(图3),这可能与土壤中能被植物直接利用的镉、砷浓度有关。大量的研究表明,土壤pH的降低有利于土壤水提态镉的增加,从而增加植物可利用镉含量,增加植物对镉的吸收。Rajkumar等^[26]发现植物促生菌 *Pseudomonas* sp. PsM6和 *Pseudomonas jessenii* PjM15通过分泌铁载体来提高土壤中重金属的生物可利用性,从而提高蓖麻(*Ricinus communis*)对重金属的富集。Prapagdee等^[27]发现植物促生菌 *Micrococcus* sp. MU1和 *Klebsiella* sp. BAM1通过分泌大量的吲哚乙酸来增加重金属的生物可利用性,从而提高向日葵(*Helianthus annuus*)对镉的富集。

土壤pH的降低一般不利于砷的溶解,但本实验中肠杆菌的添加降低了水蓼和酸模叶蓼根际土壤的pH(图1),而植物的砷含量却增加,这可能与微生物对土壤砷的作用有关。耐砷菌株 *Pseudomonas* 2-23T的添加明显提高了砷沉积物中砷的释放能力^[25]。抗砷菌株E、G可以增强蜈蚣草对砷的吸收能力^[28]。另

表2 接种肠杆菌对植物叶片中叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素、叶绿素a/叶绿素b和类胡萝卜素含量的影响

Table 2 Effects of *Enterobacter* sp. addition on the content of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, chlorophyll a/chlorophyll b and carotenoids in the leaves of *Polygonum hydropiper* L. and *Polygonum lapathifolium* L.

处理 Treatments	叶绿素 a Chlorophyll a/ mg·g ⁻¹ FW	叶绿素 b Chlorophyll b/ mg·g ⁻¹ FW	总叶绿素 Total chlorophyll/ mg·g ⁻¹ FW	叶绿素 a/叶绿素 b Chlorophyll a/ Chlorophyll b	类胡萝卜素 Carotenoid/ mg·g ⁻¹ FW
水蓼 <i>Polygonum hydropiper</i> L.					
对照 Control	2.13±0.11c	0.59±0.04c	2.72±0.15b	3.63±0.08a	0.19±0.01d
6.6×10 ⁶ CFU·g ⁻¹ 土	2.29±0.18c	0.69±0.11c	2.98±0.28b	3.34±0.30a	0.39±0.02c
1.2×10 ⁷ CFU·g ⁻¹ 土	2.88±0.02b	1.03±0.02b	3.91±0.03a	2.81±0.04b	0.50±0.02b
3.4×10 ⁷ CFU·g ⁻¹ 土	3.12±0.05a	1.26±0.09a	4.38±0.14a	2.49±0.14c	0.63±0.01a
酸模叶蓼 <i>Polygonum lapathifolium</i> L.					
对照 Control	1.18±0.15c	0.48±0.06c	2.29±0.21c	3.82±0.18a	0.36±0.01b
6.6×10 ⁶ CFU·g ⁻¹ 土	2.38±0.17b	0.67±0.09b	3.04±0.11b	3.62±0.69a	0.38±0.02b
1.2×10 ⁷ CFU·g ⁻¹ 土	2.28±0.21b	0.70±0.08b	2.98±0.13b	3.31±0.73a	0.51±0.03a
3.4×10 ⁷ CFU·g ⁻¹ 土	3.23±0.05a	1.43±0.13a	4.67±0.17a	2.27±0.17b	0.53±0.01a

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$, $n=3$)。下同。Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference among treatments ($P<0.05$, $n=3$). The same below.表3 接种肠杆菌对水蓼和酸模叶蓼叶片中MDA、O₂⁻、H₂O₂含量及抗氧化酶活性的影响Table 3 Effects of *Enterobacter* sp. addition on the content of MDA, O₂⁻, H₂O₂ and antioxidant enzyme activity in the leaves of *Polygonum hydropiper* L. and *Polygonum lapathifolium* L.

处理 Treatments	O ₂ ⁻ /nmol·g ⁻¹ ·min ⁻¹	H ₂ O ₂ /μmol·g ⁻¹ FW	MDA/nmol·g ⁻¹ FW	SOD/U·mg ⁻¹	POD/U·mg ⁻¹ ·min ⁻¹	CAT/U·mg ⁻¹ ·min ⁻¹
水蓼 <i>Polygonum hydropiper</i> L.						
对照 Control	8.9±0.3a	92.4±7.7a	5.2±0.2a	1 082.1±85.92c	52.0±4.0c	285.3±7.0c
6.6×10 ⁶ CFU·g ⁻¹ 土	8.7±0.2a	48.1±2.7b	3.8±0.1b	1 395.4±171.8b	45.3±1.2c	426.7±10.5b
1.2×10 ⁷ CFU·g ⁻¹ 土	7.5±0.4b	48.0±5.0b	3.9±0.2b	1 762.4±82.5a	332.7±12.7b	489.3±6.4b
3.4×10 ⁷ CFU·g ⁻¹ 土	7.4±0.4b	23.2±2.3c	3.7±0.1b	1 786.5±36.2a	666.3±13.6a	627.0±8.5a
酸模叶蓼 <i>Polygonum lapathifolium</i> L.						
对照 Control	8.2±0.3a	186.6±7.5a	5.1±0.1a	1 856.1±12.3a	10.3±1.2b	133.3±12.7c
6.6×10 ⁶ CFU·g ⁻¹ 土	6.8±0.5b	103.7±18.1b	4.3±0.1bc	1 805.3±20.2a	13.3±5.8b	278.7±16.3b
1.2×10 ⁷ CFU·g ⁻¹ 土	6.8±0.9b	78.9±2.2b	4.6±0.1b	1 853.5±28.2a	16.0±2.0ab	400.1±143.0ab
3.4×10 ⁷ CFU·g ⁻¹ 土	6.6±0.2b	76.0±12.1b	4.1±0.2c	1 826.7±47.1a	21.7±2.5a	448.0±46.5a

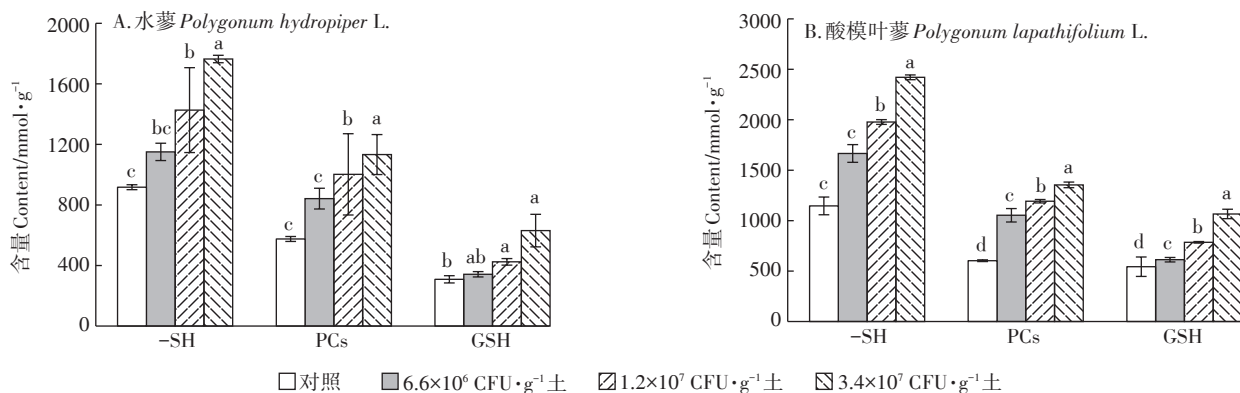


图4 接种肠杆菌对水蓼和酸模叶蓼叶片中-SH、PCs、GSH含量的影响

Figure 4 Effect of *Enterobacter* sp. addition on the content of -SH, PCs and GSH in the leaves of *Polygonum hydropiper* L. and *Polygonum lapathifolium* L.

表4 二元方差分析(F -值和 P -值)考察植物种类、接菌量及其交互作用对指标的影响Table 4 F -values and P -value of a Two-way ANOVA of measured parameters of *Polygonum hydropiper* L. and *Polygonum lapathifolium* L., treated with different inoculation level

变量 Variables	接菌量 Inoculation levels		植物种类 Types of plant		植物种类×接菌量 Types of plants × Inoculation levels	
	df	F -值	df	F -值	df	F -值
pH	3	24.28***	1	7.95*	3	0.88 ns
砷有效态 Bioavailable As	3	21.21***	1	0.99 ns	3	0.33 ns
镉水提态 Water soluble Cd	3	23.52***	1	5.22*	3	0.11 ns
株高 Height	3	107.04***	1	119.99***	3	6.80**
株质量 Weight	3	9.52**	1	6.33*	3	0.41 ns
根砷摄取量 As in roots	3	13.01***	1	25.89***	3	1.16 ns
茎砷摄取量 As in stems	3	15.08***	1	34.67***	3	4.19 ns
叶砷摄取量 As in leaves	3	13.28***	1	8.53*	3	0.20 ns
根镉摄取量 Cd in roots	3	8.32**	1	44.84***	3	0.99 ns
茎镉摄取量 Cd in stems	3	16.36***	1	23.72***	3	0.52 ns
叶镉摄取量 Cd in leaves	3	47.45***	1	361.79***	3	23.08***
叶绿素 a Chlorophyll a	3	85.11***	1	11.01**	3	9.78**
叶绿素 b Chlorophyll b	3	108.17***	1	4.43 ns	3	9.31**
类胡萝卜素 Carotenoids	3	1 223.21***	1	11.84**	3	323.56***
SOD	3	27.11***	1	107.20***	3	28.56***
POD	3	2 613.12***	1	7 857.39***	3	2 453.07***
CAT	3	27.41***	1	28.27***	3	0.49 ns
MDA	3	29.09***	1	39.33***	3	63.09***
-SH	3	97.53***	1	115.09***	3	4.04*
PCs	3	37.85***	1	12.68**	3	0.99 ns
GSH	3	68.74***	1	204.88***	3	3.96*
H ₂ O ₂	3	81.73***	1	176.37***	3	8.85**
O ₂ ·	3	14.85***	1	34.53***	3	2.15 ns

注: *表示 $P<0.05$, **表示 $P<0.01$, ***表示 $P<0.001$, ns 表示不显著。SOD 为超氧化物酶, POD 为过氧化物酶, CAT 为催化酶, MDA 为丙二醛, -SH 为巯基, PCs 为植物螯合肽, GSH 为谷胱甘肽。

Note: * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; ns: not significant; SOD: Superoxide dismutase; POD: Peroxidase; CAT: Catalase; MDA: Malondialdehyde; -SH: Acid-soluble thiol; PCs: Phytochelatins; GSH: Reduced glutathione.

外,这还可能与土壤砷的价态有关。通常在 $\text{pH}<7$ 时,随着土壤 pH 的升高,As(Ⅲ)的吸附量逐渐增加,As(Ⅴ)的吸附量逐渐降低^[29]。对于添加肠杆菌所引起的蓼科植物砷吸收量的增加,究竟是肠杆菌促进了土壤砷的溶解还是改变了砷的价态,还有待进一步研究。由此可见,在镉-砷复合污染土壤中接种肠杆菌 FM-1,不仅有效地促进了水蓼和酸模叶蓼的生长,而且提高了水蓼和酸模叶蓼对镉和砷的富集,是一种良好的植物促生菌。

当植物受到重金属胁迫时,会超量产生超氧自由基($\text{O}_2\cdot^-$)等活性氧物质(Reactive oxygen species, ROS)。超量活性氧物质的存在会造成植物体内 DNA、蛋白质被破坏以及膜脂过氧化等伤害症状^[30]。此时, SOD、POD 和 CAT 等抗氧化酶在去除环境应激活性氧

方面发挥着重要作用^[31]。SOD 可以有效清除植物体内多余的活性氧,是植物抗氧化酶系统中首先起作用的酶^[32]。在 SOD 作用下, $\text{O}_2\cdot^-$ 发生歧化反应产生大量的过氧化氢,而这些过氧化氢可以在植物体内 CAT 和 POD 的作用下被清除。植物叶片内的 CAT 可以有效清除植物体内多余的过氧化氢。本研究结果表明,接种肠杆菌 FM-1 能够更好地激活水蓼叶片中的 SOD、POD 和 CAT 的酶活性(表 3),加速催化水蓼叶片中 $\text{O}_2\cdot^-$ 向 H_2O_2 的转变。对于酸模叶蓼,尽管肠杆菌 FM-1 的接种也提高了酸模叶蓼叶片中 POD 和 CAT 的含量,但是相对水蓼而言,提高的幅度不大。因此,在应对镉-砷复合污染的胁迫时,水蓼的应激机制更为有效,所以在同等条件下,水蓼的根茎叶中可以富集更多的镉。这与沈亚琴等^[33]对接种丛枝菌根可以

有效激活玉米的抗氧化酶系统、帮助其缓解膜脂过氧化程度、减轻镉对玉米胁迫的研究结果相似。

抗氧化酶系统并非植物体清除氧化胁迫的唯一途径,植物还可以通过非酶物质(GSH、PCs)系统消除活性氧物质的胁迫。其中GSH是植物体内的抗氧化剂,当植物受到氧化胁迫时,植物叶绿体及其他细胞区室内会产生较高浓度的GSH参与活性氧物质的清除^[34];PCs可以通过螯合作用清除活性氧,是植物缓解重金属毒害的重要物质^[35-37]。当水蓼和酸模叶蓼根茎叶中镉、砷含量显著增加时,其叶片中的MDA含量显著降低,这表明两种植物的叶片并未受到膜脂过氧化的伤害,无氧化应激反应^[38]。这与秦余丽等^[39]对丛枝菌根(*Arbuscular Mycorrhiza*)-黑麦草(*Lolium multiflorum* L.)联合修复可以有效降低番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill.)叶片中的MDA含量的结果相似。这表明接种肠杆菌虽然促进了叶片中镉、砷含量的累积,但植物通过抗氧化酶和非酶系统消除了活性氧物质对植物的伤害,从而提高了水蓼和酸模叶蓼的叶绿素含量,有利于植物的生长。

4 结论

(1)接种肠杆菌可以降低根际土壤的pH;接种浓度为 3.4×10^7 CFU $\cdot$ g⁻¹土时,水蓼和酸模叶蓼根茎叶中的镉、砷含量均提高,表明肠杆菌促进了水蓼和酸模叶蓼对镉和砷的吸收。

(2)接种肠杆菌可以提高水蓼和酸模叶蓼叶片中叶绿素及类胡萝卜素的含量,同时提高株高和株质量,表明肠杆菌能够促进水蓼和酸模叶蓼的生长。

(3)接种肠杆菌可以提高水蓼和酸模叶蓼叶片中SOD、POD、CAT的活性,同时提高植物叶片中GSH及PCs的含量,降低O₂[·]及MDA的含量,有效缓解了重金属对植物的毒害。

参考文献:

- [1] 陈能场,郑煜基,何晓峰,等.《全国土壤污染状况调查公报》探析[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(9): 1689-1692.
CHEN Neng-chang, ZHENG Yu-ji, HE Xiao-feng, et al. Analysis of the bulletin of national soil pollution survey[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(9): 1689-1692.
- [2] 王 鹏,张 迪,李家东. 植物-微生物协同修复土壤重金属污染研究进展[J]. 广东化工, 2017, 44(8): 127-128.
WANG Peng, ZHANG Di, LI Jia-dong. Research progress of plant-microbial synergistic remediation for heavy metal contaminated soil[J]. *Guangdong Chemistry*, 2017, 44(8): 127-128.
- [3] Laurence B, Marc S A, Michel L. Phytoextraction of heavy metals by two Salicaceae clones in symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi during the second year of a field trial[J]. *Plant and Soil*, 2010, 33(2): 55-67.
- [4] Davide B, Matthias R, Klaus S, et al. Revealing structure and assembly cues for Arabidopsis root-inhabiting bacterial microbiota[J]. *Nature*, 2012, 488(7409): 91-95.
- [5] Nie L, Shah S, Rashid A, et al. Phytoremediation of arsenate contaminated soil by transgenic canola and the plant growth-promoting bacterium *Enterobacter cloacae* CAL2[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2002, 40(4): 355-361.
- [6] 赵根成,廖晓勇,阎秀兰,等. 微生物强化蜈蚣草累积土壤砷能力的研究[J]. 环境科学, 2010, 31(2): 431-436.
ZHAO Gen-cheng, LIAO Xiao-yong, YAN Xiu-lan, et al. Enhance of As accumulation by *Pteris vittata* L. affected by microorganisms[J]. *Environmental Science*, 2010, 31(2): 431-436.
- [7] 杨舒怡,陈晓阳,惠文凯,等. 逆境胁迫下植物抗氧化酶系统响应研究进展[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2016, 45(5): 481-489.
YANG Shu-yi, CHEN Xiao-yang, HUI Wen-kai, et al. Progress in responses of antioxidant enzyme systems in plant to environmental stresses[J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2016, 45(5): 481-489.
- [8] 汤叶涛,关丽捷,仇荣亮,等. 镉对超富集植物滇苦菜抗氧化系统的影响[J]. 生态学报, 2010, 20(2): 324-332.
TANG Ye-tao, GUAN Li-jie, QIU Rong-liang, et al. Antioxidative defense to cadmium in hyperaccumulator *Picris divaricata* V. [J]. *Acta Ecological Sinica*, 2010, 20(2): 324-332.
- [9] 李 燕,刘可慧,于方明,等. Mn对超富集植物短毛蓼(*Polygonum pubescens* Blume)抗氧化机理的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(12): 2422-2427.
LI Yan, LIU Ke-hui, YU Fang-ming, et al. Effects of manganese on enzymatic and non-enzymatic antioxidative defenses of the hyperaccumulator *Polygonum pubescens* Blume[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(12): 2422-2427.
- [10] 张子杨,郭瞻宇,管伟豆,等. 硫磺和放线菌强化植物修复土壤镉污染[J]. 中国环境科学, 2019, 39(5): 2106-2114.
ZHANG Zi-yang, GUO Zhan-yu, GUAN Wei-dou, et al. Combination of sulphur and actinomycete to enhance the efficiency of phytoremediation in cadmium contamination soil[J]. *China Environmental Science*, 2019, 39(5): 2106-2114.
- [11] Pandey S, Ghosh P K, Ghosh S, et al. Role of heavy metal resistant *Ochrobactrum* sp. and *Bacillus* spp. strains in bioremediation of a rice cultivar and their PGPR like activities[J]. *Journal of Microbiology*, 2013, 51(1): 11-17.
- [12] Wang H, Tang S, Liao X, et al. A new manganese-hyperaccumulator: *Polygonum hydropiper* L. [J]. *Ecology & Environment*, 2007, 16: 830-834.
- [13] Liu K, Yu F, Chen M, et al. A newly found manganese hyperaccumulator *Polygonum lapathifolium* Linn. [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2016, 18(4): 348-353.
- [14] Li Y, Liu K H, Wang Y, et al. Improvement of cadmium phytoremedia-

- tion by *Centella asiatica* L. after soil inoculation with cadmium-resistant *Enterobacter* sp. FM-1[J]. *Chemosphere*, 2018, 202:280-288.
- [15] 鲁如坤. 土壤农业化学分析法[M]. 北京:中国农业科技出版社, 1999.
- LU Ru-kun. Agrochemical analysis method of soil[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1999.
- [16] Yu F M, Liu K H, Ye P H, et al. Manganese tolerance and accumulation characteristics of a woody accumulator *Camellia oleifera*[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26:21329-21339.
- [17] Faust M B, Christians N E. Copper reduces shoot growth and root development of creeping bentgrass[J]. *Crop Science*, 2000, 40(2):498-502.
- [18] 杨 锚, 王火焰, 周健民, 等. 不同水分条件下几种氮肥对水稻土中外源镉转化的动态影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(5):1202-1207.
- YANG Miao, WANG Huo-yan, ZHOU Jian-min, et al. Effects of applying nitrogen fertilizers on transformation of external cadmium in the paddy soil with different soil moisture[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(5):1202-1207.
- [19] Li H S, Sun Q, Zhao S J. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000:130-248.
- [20] Quan R, Shang M, Zhang H, et al. Improved chilling tolerance by transformation with *betA* gene for the enhancement of glycinebetaine synthesis in maize[J]. *Plant Science*, 2004, 166(1):141-149.
- [21] Parida A K, Das A B, Mohanty P. Defense potentials to NaCl in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: Differential changes of isoforms of some antioxidative enzymes[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2004, 161(5):531-542.
- [22] Wu S, Hu C, Tan Q, et al. Effects of molybdenum on water utilization, antioxidative defense system and osmotic-adjustment ability in winter wheat (*Triticum aestivum*) under drought stress[J]. *Plant Physiology & Biochemistry*, 2014, 83:365-374.
- [23] El-Zohri M H, Cabala R, Frank H. Quantification of phytochelatin in plants by reversed-phase HPLC-ESI-MS-MS[J]. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 2005, 382(8):1871-1876.
- [24] Guo J, Chi J. Effect of Cd-tolerant plant growth-promoting rhizobium on plant growth and Cd uptake by *Lolium multiflorum* Lam. and *Glycine max* (L.) Merr. in Cd-contaminated soil[J]. *Plant & Soil*, 2014, 375(1/2):205-214.
- [25] 周 行, 祝贤彬, 刘紫薇, 等. 耐砷菌 *Pseudomonas* 2-23T 的分离鉴定及其对高砷沉积物中砷释放的影响[J]. 安全与环境工程, 2019, 26(5):40-45.
- ZHOU Xing, ZHU Xian-bin, LIU Zi-wei, et al. Isolation and identification of arsenic-resistant bacteria *Pseudomonas* 2-23T and its effect on the release of arsenic in high-arsenic sediment[J]. *Safety and Environmental Engineering*, 2019, 26(5):40-45.
- [26] Rajkumar M, Ae N, Prasad M N V, et al. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction[J]. *Trends in Biotechnology*, 2010, 28(3):142-149.
- [27] Prapagdee B, Chanprasert M, Mongkolsuk S. Bioaugmentation with cadmium-resistant plant growth-promoting rhizobacteria to assist cadmium phytoextraction by *Helianthus annuus*[J]. *Chemosphere*, 2013, 92(6):659-666.
- [28] 曾 东, 许振成. 抗砷菌对蜈蚣草生长及其砷吸收能力的影响[J]. 环境污染与防治, 2010, 32(5):43-46.
- ZENG Dong, XU Zhen-cheng. Effect of arsenite-resistant bacteria on growth and arsenite adsorption capacity of *Pteris vittata* L.[J]. *Environmental Pollution and Control*, 2010, 32(5):43-46.
- [29] 肖艳平, 尹 睿, 沈生元, 等. 丛枝菌根真菌在植物修复砷污染土壤中的作用[J]. 土壤, 2010, 42(2):171-177.
- XIAO Yan-ping, YIN Ru, SHEM Sheng-yuan, et al. Roles of Arbuscular mycorrhizal in plant remediation of arsenic-contaminated soil [J]. *Soils*, 2010, 42(2):171-177.
- [30] Ferreira P A A, Tiecher T, Tiecher T L, et al. Effects of *Rhizophagus clarus* and P availability in the tolerance and physiological response of *Mucuna cinereum* to copper[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, 122:46-56.
- [31] Lloveras J, Chocarro C, Torres L. Influence of phosphorus and potassium on alfalfa yield, taproot C and N pools, and transcript levels of key genes after defoliation[J]. *Crop Science*, 2009, 49(3):974-982.
- [32] 马旭俊, 朱大海. 植物超氧化物歧化酶(SOD)的研究进展[J]. 遗传, 2003, 25(2):225-231.
- MA Xu-jun, ZHU Da-hai. Functional roles of the plant superoxide dismutase[J]. *Hereditas(Beijing)*, 2003, 25(2):225-231.
- [33] 沈亚琴, 魏 源, 陈志鹏, 等. 镉胁迫下丛枝菌根真菌对玉米生长与砷吸收及抗氧化酶的影响[J]. 环境科学研究, 2017, 30(5):712-719.
- SHEN Ya-qin, WEI Yuan, CHEN Zhi-peng, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, antimony uptake and antioxidant enzymes of maize under antimony stress[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2017, 30(5):712-719.
- [34] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance[J]. *Trends in Plant Science*, 2002, 7(9):405-410.
- [35] Cao Z Z, Qin M L, Lin X Y, et al. Sulfur supply reduces cadmium uptake and translocation in rice grains (*Oryza sativa* L.) by enhancing iron plaque formation, cadmium chelation and vacuolar sequestration [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 238:76-84.
- [36] Maleva M, Borisova G, Chukina N, et al. Urea increased nickel and copper accumulation in the leaves of *Egeria densa* (Planch.) Casp. and *Ceratophyllum demersum* L. during short-term exposure[J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2018, 148:152.
- [37] Szabados L, Savouré A. Proline: A multifunctional amino acid[J]. *Trends in Plant Science*, 2010, 15(2):89-97.
- [38] Moore K, Nd R L. Measurement of lipid peroxidation[J]. *Free Radical Research Communications*, 1998, 28(6):659-671.
- [39] 秦余丽, 江 玲, 徐卫红, 等. 黑麦草与丛枝菌根对大田番茄抗性 & Cd 吸收的影响[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(6):1053-1061.
- QIN Yu-li, JIANG ling, XU Wei-hong, et al. Effect of ryegrass and Arbuscular mycorrhiza on tomato resistance and Cd absorption in the field[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(6):1053-1061.