

金属抗性促生细菌 *Burkholderia* sp. 减缓玉米幼苗镉毒害和阻抗镉转运

庄杰, 孙乐妮, 杨恩东, 欧阳文凯, 曹媛媛, 张夕红

引用本文:

庄杰, 孙乐妮, 杨恩东, 欧阳文凯, 曹媛媛, 张夕红. 金属抗性促生细菌 *Burkholderia* sp. 减缓玉米幼苗镉毒害和阻抗镉转运[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(4): 763–773.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2023-0711>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

叶面喷施两种典型纳米材料对苋菜积累多环芳烃的影响

袁彬彬, 周东美, 马晓玥, 方国东, 高娟

农业环境科学学报. 2020, 39(9): 1908–1915 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0160>

镉耐性固定细菌的筛选及其对不同品种小麦镉吸收的阻控效应

孙乐妮, 郭迎雪, 侯雪婷, 庄杰, 杨章泽, 陈兆进, 田伟

农业环境科学学报. 2020, 39(9): 1878–1887 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0291>

外源硒和耐硒细菌对镉胁迫下水稻生长、生理和硒镉积累的影响

王波, 张然然, 杨如意, 石晓菁, 苏楠楠, 朱濛, 咎树婷

农业环境科学学报. 2020, 39(12): 2710–2718 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0437>

镉抗性细菌的筛选及其生物矿化硫化镉去除溶液中的镉离子

徐韶足, 张美丽, 秦俊梅, 曹晓霞, 刘奋武

农业环境科学学报. 2021, 40(6): 1289–1296 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0191>

氮肥对双季稻根表铁膜形成及双季稻镉积累的影响

张玉盛, 周亮, 肖欢, 匡瑜, 敖和军, 田伟, 肖峰, 向焱赞, 张小毅

农业环境科学学报. 2021, 40(2): 260–268 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0873>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

庄杰, 孙乐妮, 杨恩东, 等. 金属抗性促生细菌 *Burkholderia* sp. 减缓玉米幼苗镉毒害和阻抗镉转运[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(4): 763–773.

ZHUANG J, SUN L N, YANG E D, et al. Alleviation of Cd toxicity and impedance of Cd transport in maize seedlings by the metal resistant-plant growth promoting bacterium *Burkholderia* sp.[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2024, 43(4): 763–773.



开放科学 OSID

金属抗性促生细菌 *Burkholderia* sp. 减缓玉米幼苗镉毒害和阻抗镉转运

庄杰, 孙乐妮*, 杨恩东, 欧阳文凯, 曹媛媛, 张夕红

(安徽农业大学生命科学学院, 合肥 230036)

摘要:为探明金属抗性促生细菌对减缓玉米镉毒害和阻抗镉转运的影响,本研究采用砂培试验向营养液中添加不同浓度重金属镉,研究接种镉抗性促生细菌 YM3(*Burkholderia* sp.)对玉米苗干质量、生理指标、镉含量及金属转运基因表达情况的影响。结果表明,接种菌株 YM3 能促进玉米生长,且在镉胁迫环境中菌株促生效果更显著,使玉米根、茎、叶干质量分别增加 9.09%~40.00%、63.33%~84.41%、48.50%~67.48%;接种处理玉米叶绿素总量增加 1.70%~53.17%、根系活力增加 7.40%~16.93%;游离脯氨酸降低 3.04%~21.82%;当镉浓度为 12 mg·L⁻¹时,丙二醛含量降低 26.37%;接种菌株显著降低玉米地上部镉含量,使茎、叶镉含量分别降低 13.64%~41.84%和 17.85%~20.29%;q-PCR 对金属转运相关基因 *HMA2*、*HMA3* 和 *Nramp5* 进行表达量的检测,结果表明接种菌株对重金属转运相关基因转录水平的表达调控受镉浓度影响。在 0 mg·L⁻¹和 8 mg·L⁻¹镉处理中,接菌处理 *HMA2*、*HMA3* 和 *Nramp5* 表达量在根中均表现为下调,在 8 mg·L⁻¹和 12 mg·L⁻¹镉处理中,接菌处理 *HMA2* 和 *Nramp5* 表达量在叶中均表现为下调。接菌处理通过不同程度影响基因 *HMA2*、*HMA3* 和 *Nramp5* 表达量来阻控玉米苗对镉的吸收转运。研究表明,在镉胁迫环境下接种镉抗性促生菌株 *Burkholderia* sp. YM3 能促进玉米苗生长,减缓玉米苗镉毒害,并阻控镉从根部向地上部转运,这对于玉米安全生产具有重要应用潜力。

关键词:金属抗性促生细菌;玉米;镉;转运基因;生理特性

中图分类号:S513;X17;X53 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2024)04-0763-11 doi:10.11654/jaes.2023-0711

Alleviation of Cd toxicity and impedance of Cd transport in maize seedlings by the metal resistant-plant growth promoting bacterium *Burkholderia* sp.

ZHUANG Jie, SUN Leni*, YANG Endong, OUYANG Wenkai, CAO Yuanyuan, ZHANG Xihong

(School of Life Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: A sand culture experiment was conducted to investigate how metal-resistant and plant growth-promoting bacterium alleviate Cd toxicity and reduce Cd transport in maize. Different concentrations of Cd were added to the nutrient solution to assess how inoculation with Cd resistant and plant growth promoting bacterium YM3(*Burkholderia* sp.) affect the dry weight, physiological indicators, Cd content, and metal transport gene expression in maize seedlings. The results showed that inoculation with the bacterial strain YM3 could promote maize growth. Moreover, this growth promoting effect was more pronounced under Cd stress, resulting in an increase in dry weight of maize roots, stems, and leaves by 9.09%–40.00%, 63.33%–84.41%, and 48.50%–67.48%, respectively. Total chlorophyll content and root activity of maize increased by 1.70%–53.17% and 7.40%–16.93%, respectively, after inoculation. Free proline decreased by 3.04%–21.82%. At a Cd concentration of 12 mg·L⁻¹, malondialdehyde content decreased by 26.37%. Inoculation of the YM3 strain significantly reduced the Cd

收稿日期:2023-09-02 录用日期:2023-12-04

作者简介:庄杰(1997—),女,安徽宿州人,硕士研究生,主要研究方向为重金属胁迫下微生物与植物互作。E-mail:1712789521@qq.com

*通信作者:孙乐妮 E-mail:sunleni@ahau.edu.cn

基金项目:安徽省高校自然科学基金项目(KJ2021A0169);安徽省自然科学基金项目(2008085MD120)

Project supported: Natural Science Foundation of the Higher Education Institutions of Anhui Province, China (KJ2021A0169); Natural Science Foundation of Anhui Province, China(2008085MD120)

content of the aboveground parts of maize, resulting in a reduction in Cd content of 13.64%–41.84% for stems and leaves and 17.85%–20.29% for leaves. q-PCR was used to detect the expression levels of metal transport related genes *HMA2*, *HMA3*, and *Nramp5*. The results showed that the YM3-regulated expression of heavy metal transport related genes was influenced by Cd concentration. In the inoculated 0 and 8 mg·L⁻¹ Cd treatments, the expression levels of *HMA2*, *HMA3*, and *Nramp5* in the roots were down regulated. In the inoculated 8 and 12 mg·L⁻¹ Cd treatments, the expression levels of *HMA2* and *Nramp5* in the leaves were also down regulated. The inoculation treatment inhibited the absorption and transportation of Cd in maize seedlings by varying degrees, affecting the expression levels of the genes *HMA2*, *HMA3* and *Nramp5*. In summary, inoculation with Cd resistant and plant growth promoting *Burkholderia* sp. strain YM3 under Cd stress can promote the growth of maize seedlings, alleviate Cd toxicity in maize seedlings, and prevent Cd transport from roots to aboveground parts, which has the potential to promote safe production of maize.

Keywords: metal resistant and plant growth promoting bacteria; maize; Cd; transport gene; physiological trait

20世纪以来,由于农药、化肥过度施用、工业废水排放以及矿山开采,我国土壤镉等重金属污染问题日益严重。土壤中镉等重金属含量过高会抑制种子的萌发,降低植物光合效率,导致细胞膜脂过氧化,抑制呼吸作用,形成氧化胁迫,甚至导致植物死亡^[1]。而在重金属镉污染地区种植农作物会导致农产品中镉含量超过《食品安全国家标准 食品中污染物限量》(GB 2762—2022)规定的限量值,增加消费者对重金属镉的摄入量,严重威胁人类的身体健康。

重金属抗性促生细菌是一类通过自身的响应机制能在重金属胁迫下稳定生长且促进植物生长的细菌。研究发现,重金属抗性促生细菌能通过产生吡啶乙酸和铁载体、溶磷和固氮等多种机制直接或间接促进植物生长,通过氧化还原、胞内转化与积累、胞外螯合与沉淀作用等降低环境中重金属的有效性,并可以调控植物对重金属的吸收和积累^[2–4]。已有研究表明,在重金属污染环境中,接种重金属抗性促生细菌可以有效促进小麦、水稻、大豆等作物生长,提高作物对镉的耐受能力,降低根际重金属有效性,减少作物对镉的吸收^[5–8]。目前报道的阻控重金属吸收的促生细菌主要为 *Bacillus* 和 *Pseudomonas* 属的菌株,此外还有 *Enterobacter*、*Bradyrhizobium* 等属菌株^[9]。玉米作为第三大粮食作物,具有生物量大,生长周期短,适应性强,可食用、饲用和作为工业加工原材料的众多特点。在我国人均耕地资源有限的情况下,利用中轻度污染土壤生产安全可靠的农产品是一种切实可行的措施。然而矿区周边农田及地质高背景区玉米生长受镉毒害,且籽粒中镉含量超标现象已引起研究者关注^[10–11]。目前,一些生物措施已被用来降低镉污染环境下玉米籽粒重金属含量^[12]。例如, Wang 等^[13]在砂培和土培环境下接种具有吸附固定镉能力的 *Bacillus cereus* 使玉米籽粒镉含量分别降低 10.6%~39.9% 和 17.4%~38.6%。Moreira 等^[14]分别接种促生细菌 *Ral-*

stonia eutropha 和 *Chryseobacterium humi* 增加了玉米生物量和根部镉的吸收,降低了玉米地上部镉含量。接种 *Acinetobacter* sp. 和 *Serratia* sp. 提高了玉米的光合色素含量和抗氧化酶活性,减少过氧化氢和丙二醛的产生,降低根部和地上部镉含量,减轻了镉对玉米的毒害作用^[15–16]。重金属抗性促生细菌与玉米的相互作用,可以促进玉米的生长,降低重金属在植物体内的积累,对于保障玉米等作物安全生产具有重要意义。

重金属转运相关基因表达水平可影响植物对环境中重金属的吸收和转运^[17–18]。重金属 ATP 酶 (*HMA*s) 对镉具有底物特异性,其中 *HMA2* 和 *HMA3* 在镉从根到地上部的转运和固存过程中发挥着重要作用。在水稻中, *OsHMA2* 定位于细胞膜,负责镉从根部向地上部的转运, *OsHMA2* 的敲除或沉默显著减少了镉和锌在水稻叶片中的积累^[19]。在玉米基因组中鉴定出 *ZmHMA* 基因家族的 12 个成员,并根据结构和功能特性将其分为 6 个簇,其中 *ZmHMA2* 和 *ZmHMA3* 定位于细胞质膜,是控制不同镉条件下玉米叶片中镉积累的候选基因^[20]。 *OsHMA3* 参与将镉螯合到水稻根液泡中^[21],限制地上部镉积累。 *ZmHMA3* 被证实与玉米籽粒镉积累有关^[22]。自然抗性相关巨噬细胞蛋白 (*Nramp*) 家族是跨膜蛋白,也参与重金属镉的转运。 *OsNramp5* 是水稻中重要的镉转运蛋白,水稻中 *OsNramp5* 的基因敲除导致根和地上部镉含量比野生型植株显著降低^[23]。 *Nramp5* 同源物的表达水平和转运活性在水稻、小麦和玉米中有所不同。 *OsNramp5* 在水稻中的表达水平是 *TaNramp5A* 和 *TaNramp5D* 在小麦中或 *ZmNramp5* 在玉米中的 4~5 倍,这可能是水稻比小麦和玉米能积累更高镉的主要原因^[24]。已有部分研究表明,植物根际微生物会产生信号分子,上调或下调植物中金属转运相关基因的表达。有研究^[25–26]显示对玉米施加 *Achromobacter* sp. 后 *HMA3* 和 *Nramp5* 在根和地上部的表达水平均显著降低,对小

麦施加 *Pseudomonas taiwanensis* WRS8 使得小麦根系 *HMA2* 表达水平显著下调,表明菌株可以通过调控镉转运相关基因的表达来阻控植物对镉的吸收与转运,从而减缓作物受镉的毒害作用。

到目前为止,金属抗性促生细菌对阻控作物吸收重金属的效果已取得一定进展,但不同微生物菌种与不同作物间的互作方式和效果不同,关于微生物对缓解植物重金属毒害的生理及分子机制尚需深入研究。*Burkholderia* 是常见的植物根际促生菌属,具有较大的遗传和代谢多样性,展现出促进植物生长和调节番茄、黑麦草、大豆吸收积累重金属的能力^[27-29]。有研究表明,*Burkholderia* sp. 可以改变水稻根际土壤中微量营养元素和镉的生物有效性,增加必需营养元素的吸收,降低镉在水稻中的积累^[30]。关于 *Burkholderia* 属细菌减缓玉米受镉毒害及阻控镉吸收转运的生理及分子机制鲜见报道。为探明 *Burkholderia* 属金属抗性促生细菌对减缓玉米镉毒害和阻抗镉转运的影响,本研究采用砂培试验探究不同镉浓度下接种镉抗性促生细菌 *Burkholderia* sp. 对玉米生长、生理特性、镉吸收及转运等的影响,旨在为微生物-作物联合作用降低玉米受镉毒害作用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

LB 液体培养基:氯化钠 10.0 g,酵母粉 5.0 g,蛋白胨 10.0 g, pH7.2, 蒸馏水 1 000 mL。

有氮液体培养基:蔗糖 10.0 g,硫酸铵 1.0 g,磷酸氢二钾 2.0 g,七水硫酸镁 0.5 g,氯化钠 0.1 g,酵母膏 0.5 g,碳酸钙 0.5 g, pH7.2, 蒸馏水 1 000 mL。

供试玉米品种为隆平 206,购自安徽隆平高科种业有限公司;供试菌株为本实验室从生长于污染土壤的玉米根际分离筛选的镉抗性促生细菌,编号为 YM3^[31],经 16S rDNA 序列分析鉴定为 *Burkholderia* sp.,NCBI 序列号为 MK355632。

1.2 方法

1.2.1 菌株镉耐受性及促生特性

配制含镉离子 ($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$) 浓度为 0、50、100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 LB 液体培养基。将种子液接种于含镉的 LB 液体培养基,28 $^{\circ}\text{C}$,160 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$,摇床振荡培养,培养期间取样测定菌液 $\text{OD}_{600\text{nm}}$,以研究菌株对镉的耐受性。

产 IAA 能力测定参考 Gordon 等^[32]的方法,并做一定修改。将菌株接种于含镉 ($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$) 浓度为 0、50、100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,色氨酸浓度为 0.5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的有氮

培养基中,28 $^{\circ}\text{C}$,150 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床振荡培养 24 h 和 48 h,离心取上清,加入 50 μL 10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的正磷酸和 2 mL 的 Sackowski's 显色剂,混匀后于 30 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗避光显色 30 min 后,于 530 nm 处测定吸光值。

1.2.2 试验设计

采用水培试验种植玉米,以石英砂作为固体基质,将石英砂用稀 HNO_3 处理并用自来水及蒸馏水多次冲洗后,定量分装于一次性塑料杯中,每杯加入 135 mL Hoagland 营养液以及定量镉母液,依据前期预试验中玉米苗生长状况,使镉浓度分别达到 8 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 12 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。试验设置不同镉浓度 (0、8 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 12 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、接种及不接种 *Burkholderia* sp. YM3 处理,每个镉浓度分为不接菌对照组和接菌处理组,共 6 个处理,分别为 0CK、0YM3、8CK、8YM3、12CK、12YM3,每个处理设 4 个重复。根据试验设计,选取颗粒饱满、大小均匀的玉米种子 2 粒,经催芽和菌悬液 ($1 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$) 浸种处理后,种于杯中,并接种菌株 YM3 菌悬液 ($1 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$) 5 mL。以无菌水处理作为对照,植物放置于人工气候培养室内(培养室条件 26 $^{\circ}\text{C}$ /18 $^{\circ}\text{C}$,白天/晚上;12 h/12 h,光照/黑暗,相对湿度 68%~75%) 培养。每 2~3 d 定期补充无镉 Hoagland 营养液,20 d 后收获植物样品。

1.3 测定方法

1.3.1 生物量的测定

收获的植物样品,直尺测量株高(茎基部到叶尖)和根长(茎基部到根尖)。样品经去离子水冲洗干净后,先 105 $^{\circ}\text{C}$ 杀青 30 min,再 65 $^{\circ}\text{C}$ 烘干至质量恒定并称量干质量。

1.3.2 生理指标测定

选取相同部位的实验材料参照相关实验书籍^[33]进行生理指标测定,并基于鲜质量进行结果计算。叶片丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定。脯氨酸含量采用磺基水杨酸法测定波长 520 nm 下吸光值计算脯氨酸浓度。叶片叶绿素含量测定采用乙醇-丙酮混合液(1:1, V/V)浸泡后,分光光度法测定波长 663、645 nm 和 652 nm 下吸光度,根据 Arnon 方法计算叶绿素含量^[34]。植物根系活力采用氯化三苯基四氮唑(TCC)法测定 485 nm 下吸光度,求出四氮唑还原量。

1.3.3 镉含量的测定

准确称取 0.15 g 烘干磨碎后的玉米组织于消煮管中,经 HNO_3 : HClO_4 (优级纯, V:V=87:13) 混合酸液浸泡,于 XT-9916 微波消解仪消解后,用原子分光光

度计测定镉含量。

转运系数(TF)=地上各组织镉含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)/根部镉含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

1.3.4 荧光定量PCR检测基因表达特性

(1)总RNA提取与cDNA合成

采用Plant Total RNA Isolation Kit试剂盒提取生长20 d玉米幼苗根部和叶片RNA,经过电泳和Nano-Drop 2000定量检测RNA纯度和完整性,用GenStar反转录试剂盒合成cDNA模版。

(2)实时荧光定量PCR反应扩增

参考Sun等^[25]对HMA2、HMA3和Nramp5进行相对定量分析,所用反应程序为:95℃预变性1 min,95℃变性10 s,60℃退火15 s,40个循环。反应体系为20 μL ,包括2 $\times$ T5 Fast qPCR Mix 10 μL 、10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Primer F 1 μL 、10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Primer R 1 μL 、cDNA 1 μL 、ddH₂O补充至20 μL 。使用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算基因的相对表达含量^[35], $\Delta\text{Ct}=\text{Ct}(\text{目的基因})-\text{Ct}(\text{内参基因})$, $\Delta\Delta\text{Ct}=\Delta\text{Ct}(\text{实验组})-\Delta\text{Ct}(\text{对照组})$ 。

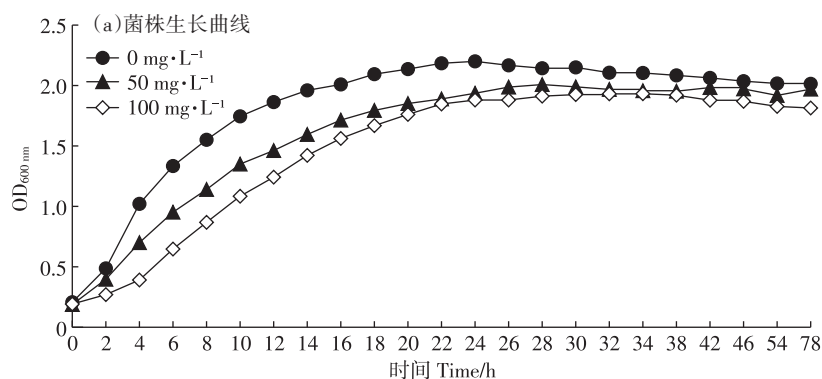
1.4 数据分析

试验数据均用Excel 2010版、SPSS 17.0版进行处理和分析。采用SPSS 17.0进行单因素方差分析(ANOVA)、双因素方差分析(Two-way ANOVA),新复极差法(Duncan法)进行多重比较分析($P<0.05$),利用Excel 2010作图。采用Origin 2021软件对玉米幼苗各指标进行Pearson相关性分析并作图。

2 结果与分析

2.1 镉耐受性及促生特性

菌株YM3对镉耐受性及促生特性如图1所示。



不同小写字母表示不同处理间存在显著差异 $P<0.05$ 。下同。

Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments, $P<0.05$. The same below.

图1 菌株在不同镉浓度下生长曲线及动态产IAA能力

Figure 1 Growth curve and dynamic IAA production ability of the strain under different Cd concentrations

随培养液中镉浓度的升高,菌株YM3的长势逐渐变弱,主要生长势表现为镉0处理>镉50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理>镉100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理。当镉浓度为100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,菌株YM3在0~4 h出现迟缓期。总体而言,镉对菌株YM3生长表现微弱抑制作用,但在高浓度镉环境中(镉50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)菌株仍能正常生长,表明菌株YM3具有较强的镉耐受性。在培养液中含镉或无镉时,菌株均能产生IAA。当培养液中镉浓度为0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,随着培养时间延长菌株产IAA能力逐渐增强。在培养液中镉浓度为50、100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,菌株在培养24 h时即可高量产生IAA,且随培养时间延长,IAA产量没有显著变化。在相同培养时间段内,镉的添加能刺激菌株产生更多IAA。

2.2 玉米的生物量

接种菌株YM3对玉米苗株高、根长、干质量生物量的影响如表1所示。接种菌株YM3可以促进玉米生长,且在重金属污染环境下对玉米生物量的促进作用更加显著。当没有镉胁迫时,接种菌株对地下部促生作用更明显,使根系干质量显著增加23.08%;而在镉胁迫时,接种菌株能显著促进玉米地上部和地下部生物量。当镉浓度为8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,根、茎、叶干质量比对照分别增加9.09%、63.33%、48.50%;镉浓度为12 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,根、茎、叶干质量分别增加40.00%、84.41%、67.48%。双因素分析结果表明,接菌和不同镉浓度处理对玉米株高、茎干质量和叶干质量有极显著影响,且两者存在交互作用,接菌和不同镉浓度处理对玉米根干质量有极显著影响,但两者不存在交互作用。

2.3 玉米叶片丙二醛和游离脯氨酸的含量

如图2(a)所示,未接菌处理组中,随着培养基质

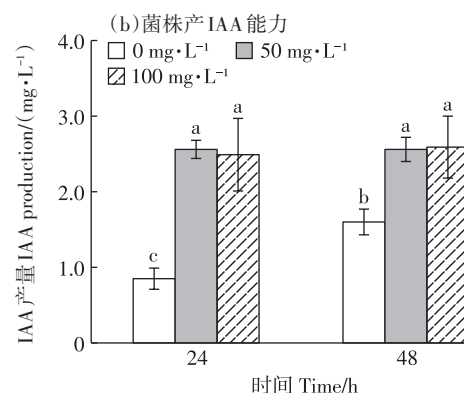


表1 菌株YM3对玉米生物量的影响

Table 1 Effects of strain YM3 on the biomass of maize seedlings

镉浓度 Cd content	处理 Treatment	株高 Height/cm	根长 Root length/cm	根干质量 Root dry weight/(g·pot ⁻¹)	茎干质量 Stem dry weight/(g·pot ⁻¹)	叶干质量 Leaf dry weight/(g·pot ⁻¹)
0 mg·L ⁻¹	CK	62.33±1.15a	14.83±0.58ab	0.13±0.03bc	0.15±0.04a	0.35±0.08a
	YM3	62.17±3.40a	15.33±0.58a	0.16±0.02a	0.16±0.02a	0.37±0.04a
8 mg·L ⁻¹	CK	51.33±2.02c	13.83±1.26b	0.11±0.01cd	0.09±0.02c	0.20±0.01c
	YM3	54.83±3.33b	14.67±0.76ab	0.12±0.01cd	0.15±0.01a	0.30±0.03b
12 mg·L ⁻¹	CK	43.33±2.75d	13.33±0.29b	0.10±0.02d	0.07±0.01c	0.16±0.02d
	YM3	52.17±2.31bc	13.5±0.50b	0.14±0.02ab	0.12±0.02b	0.27±0.02b
双因素分析Two-way ANOVA						
A		**	**	**	**	**
B		**	ns	**	**	**
A×B		*	ns	ns	**	**

注:同一列数据中标不同小写字母的值在 $P<0.05$ 水平上差异显著。A:接菌处理;B:不同镉浓度处理;*: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ns:交互作用不显著。

Note: CK refers to the non-bacterial control group; YM3 is treated with bacteria, and the values of different lowercase letters in the same column of data show significant differences at the $P<0.05$ level. A: Inoculation treatment; B: Treatment with different Cd content; *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ns: The interaction is not significant.

中镉浓度的增加,玉米叶片中MDA含量逐渐增加,其中镉 $8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $12\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理分别是镉 $0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理的1.29倍和1.51倍。而接菌处理组,MDA增加量在逐渐减小,直至不再增加,当镉浓度为 $0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,分别比相应对照0CK和8CK增加54.16%和31.80%,而当镉浓度为 $12\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,MDA含量比相应对照12CK减少26.37%,说明在高浓度镉胁迫下,接种菌株有助于缓解镉对植物的伤害。如图2(b)所示,随着培养基质中镉浓度增加,未接菌组中玉米叶片脯氨酸含量逐渐增高。与对照相比,接菌处理使脯氨酸含量出现不同程度的降低。当镉浓度为 $0, 8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,接种菌株YM3使玉米叶片脯氨酸含量有一定程度减少,分别比相应对照0CK和8CK减少了3.04%和7.87%,而在 $12\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉

胁迫下,脯氨酸含量比相应对照12CK显著降低了21.82%。

2.4 玉米叶片叶绿素的含量

如图3所示,随着培养基质中镉浓度增加,未接菌组中玉米叶片叶绿素含量逐渐降低,表明玉米受到镉的毒害作用。在无镉胁迫环境下,接种菌株YM3使叶绿素含量略有增加,而在镉胁迫环境下,接种菌株YM3可以显著增加叶绿素含量,其中叶绿素a增加量为27.06%~46.32%,叶绿素b增加量为27.60%~68.82%,叶绿素总量增加量为29.70%~53.17%,且当镉浓度为 $8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,菌株YM3促进玉米叶绿素合成的作用更加显著。

2.5 玉米的根系活力

如图4所示,随着培养基质中镉浓度增加,未接

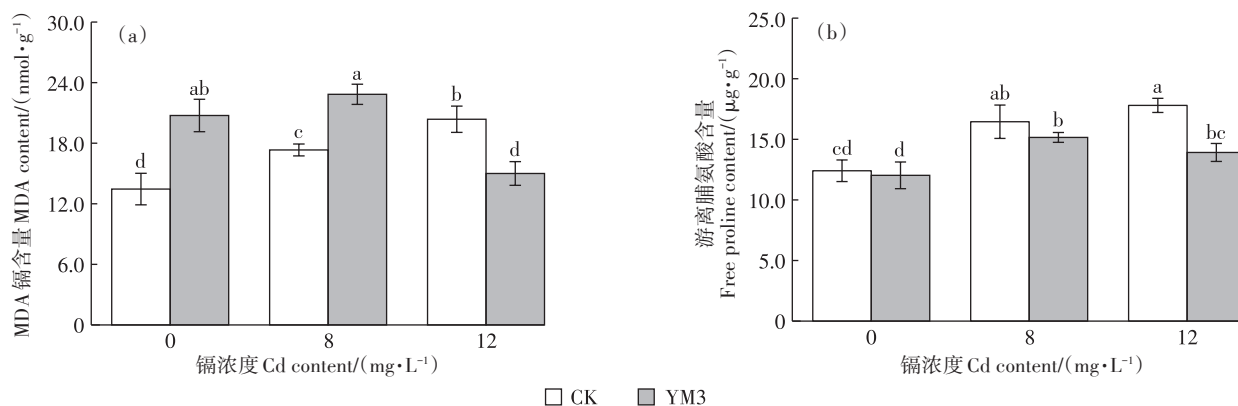


图2 不同处理对玉米叶片丙二醛和游离脯氨酸含量的影响

Figure 2 Effects of different treatments on the content of malondialdehyde and free proline in maize leave

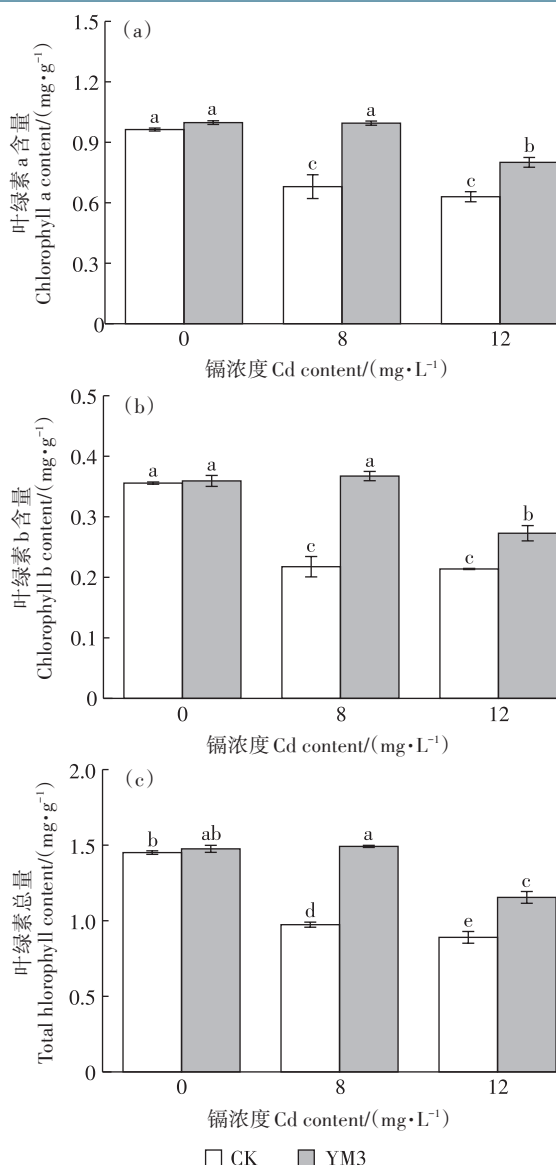


图3 不同处理对玉米叶片叶绿素含量的影响

Figure 3 Effects of different treatments on chlorophyll content in maize leaves

菌处理中玉米根系活力逐渐减弱,表明玉米根系受到镉的毒害作用。接种菌株YM3可以有效提高玉米根系活力,在没有镉胁迫时,促进效果最显著,比相应对照0CK增加了16.93%;在镉胁迫时,接菌处理也增强了根系活力,其中镉8 mg·L⁻¹和12 mg·L⁻¹时,接菌比相应对照8CK和12CK分别增加了7.40%和12.64%。

2.6 玉米的镉含量及镉转运

如图5所示,接种菌株YM3显著增加玉米根部镉含量,8 mg·L⁻¹和12 mg·L⁻¹镉处理下其增加量分别为8.19%和50.00%。然而接种菌株YM3却使玉米茎和叶镉含量显著降低,其中当镉浓度为8 mg·L⁻¹时,镉含量分别减少13.64%和20.29%,当镉浓度为12 mg·

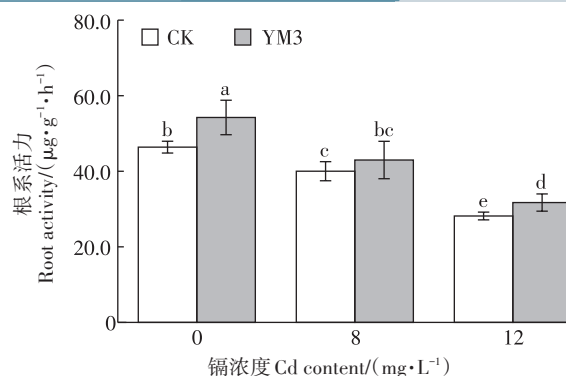


图4 不同处理对玉米根系活力的影响

Figure 4 Effects of different treatments on maize root activity

L⁻¹时,其分别减少41.84%和17.85%。接种菌株YM3也显著降低了玉米中镉的转移系数。接种的玉米根-茎转移系数在镉浓度为8 mg·L⁻¹和12 mg·L⁻¹时,分别比相应对照减少20.16%和60.90%,而根-叶转移系数分别比对照减少26.16%和45.31%。

2.7 转运相关基因在玉米中的相对表达

对玉米根部和叶部进行镉转运相关基因表达量的测定,结果如图6所示,除玉米叶*Nramp5*外,镉胁迫使未接菌处理组玉米*HMA2*、*HMA3*和*Nramp5*表达量呈下调趋势。与未接菌对照相比,接菌处理使0、8 mg·L⁻¹镉处理玉米根中*HMA2*和*Nramp5*表达量显著下调了24.18%~61.96%,而叶中*HMA2*和*Nramp5*在镉8、12 mg·L⁻¹处理下显著下调23.58%~44.18%。接种细菌使0 mg·L⁻¹镉处理叶中*HMA2*表达量显著上调,可能是*HMA2*还与植物中锌等其他微量营养元素吸收有关。与未接菌对照相比,接菌玉米根中*HMA3*随着镉浓度的增加表达量显著下调,下调幅度为18.00%~58.80%,接菌玉米叶在镉0、8 mg·L⁻¹处理下*HMA3*表达量微弱上调,上调幅度为7.28%~23.83%,而在12 mg·L⁻¹镉处理下*HMA3*表达量显著下调,而根中*HMA3*在0、8 mg·L⁻¹时均显著下调,12 mg·L⁻¹时下降不显著。

2.8 相关性分析

相关性分析结果如图7所示。生物量各指标之间存在一定正相关性,比如株高与茎干质量和叶干质量存在极显著相关性,而根茎干质量与叶干质量也存在显著或极显著相关性,相关系数可达0.64和0.97;植物生理特性与生物量之间主要表现为叶绿素含量与株高、地上部干质量(茎叶)呈极显著正相关,脯氨酸与株高和根部及地上部干质量呈显著或极显著负相关,并与地上部镉含量呈显著正相关;根系活力与生物量呈正相关,其中与株高呈显著正相关,相关系

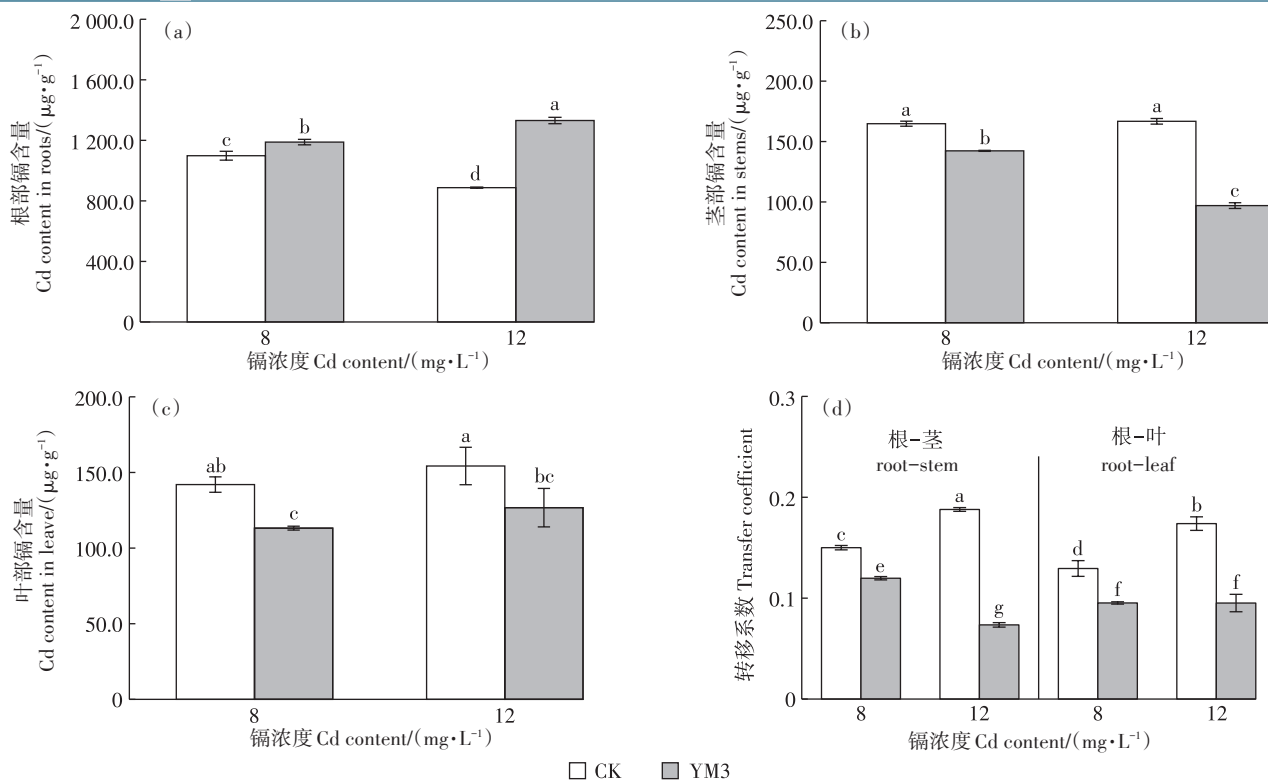


图5 不同处理对玉米镉含量的影响.

Figure 5 Effects of different treatments on Cd content in maize

数为0.63;此外根系活力还与叶绿素含量呈显著正相关。镉含量与生物量之间也表现出一定相关性,除根镉含量与生物量存在正相关外,茎部和叶部镉含量主要与生物量存在负相关性,其中茎部镉含量与根干质量、茎干质量、叶干质量表现极显著或显著相关性,叶部镉含量与株高、茎部和叶部干质量均表现极显著相关性,相关系数可达-0.87~-0.95;此外,地上部镉含量(茎叶)还与叶部脯氨酸含量呈显著正相关性。根镉与茎镉和叶镉含量分别呈极显著和显著负相关性,与绝大多数金属转运基因表达呈负相关,其中与叶部 *HMA2* 呈显著负相关,相关系数为-0.68。茎镉含量与叶镉含量呈正相关,与叶 *HMA2* 和 *HMA3* 呈极显著正相关,相关系数为0.84和0.80。叶镉含量主要与金属转运基因表达呈正相关,其中与根 *HMA2* 呈显著正相关,与根 *HMA3* 和叶 *Nramp5* 呈极显著正相关。

3 讨论

重金属抗性促生细菌通过产生促生长物质等机制能在重金属胁迫环境中促进植物的生长发育。本研究发现, *Burkholderia* sp. YM3 能显著促进玉米地上部和地下部干质量的增加,并增强玉米根系活力,有利于玉米的生长。这可能与该菌株产生的促生长物

质吲哚乙酸有关^[36]。吲哚乙酸是常见的植物生长素,可通过影响植物细胞分裂、细胞伸长和分化来促进根系发育及植物生长。本研究中发现,菌株 *Burkholderia* sp. YM3 在镉胁迫环境下能产生更多的促生长物质吲哚乙酸,它的合成参与了植物的生长发育过程及其防御策略,这有利于增强菌株在胁迫环境下发挥促生作用^[37-38]。植物根系对植物生长具有重要作用,植物根系不仅与水分、无机盐等营养物质吸收有关,还与多种有机物的合成、储藏和转化相关,根系活力的强弱代表着植物根系吸收与合成的能力,植物的生长发育以及产量的形成都受根系活力的制约^[39]。接种菌株通过促进根系活力,能增强植物对营养物质的吸收利用,进而促进植物生长。

重金属镉是植物生长的非必需元素,重金属胁迫会导致植物叶绿体结构遭到破坏,抑制植物的光合作用。本试验中镉胁迫使玉米叶绿素含量降低,但接种菌株可以显著提高玉米叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量,且在镉浓度为 8 mg·L⁻¹ 时效果最为显著,说明接种菌株 YM3 显著促进了玉米叶绿素的合成,提高了玉米的光合作用,这与宋兰萍等^[40]研究结果一致。丙二醛含量是植物细胞膜质过氧化程度的重要体现,重金属胁迫下丙二醛含量增多,使植物膜脂过

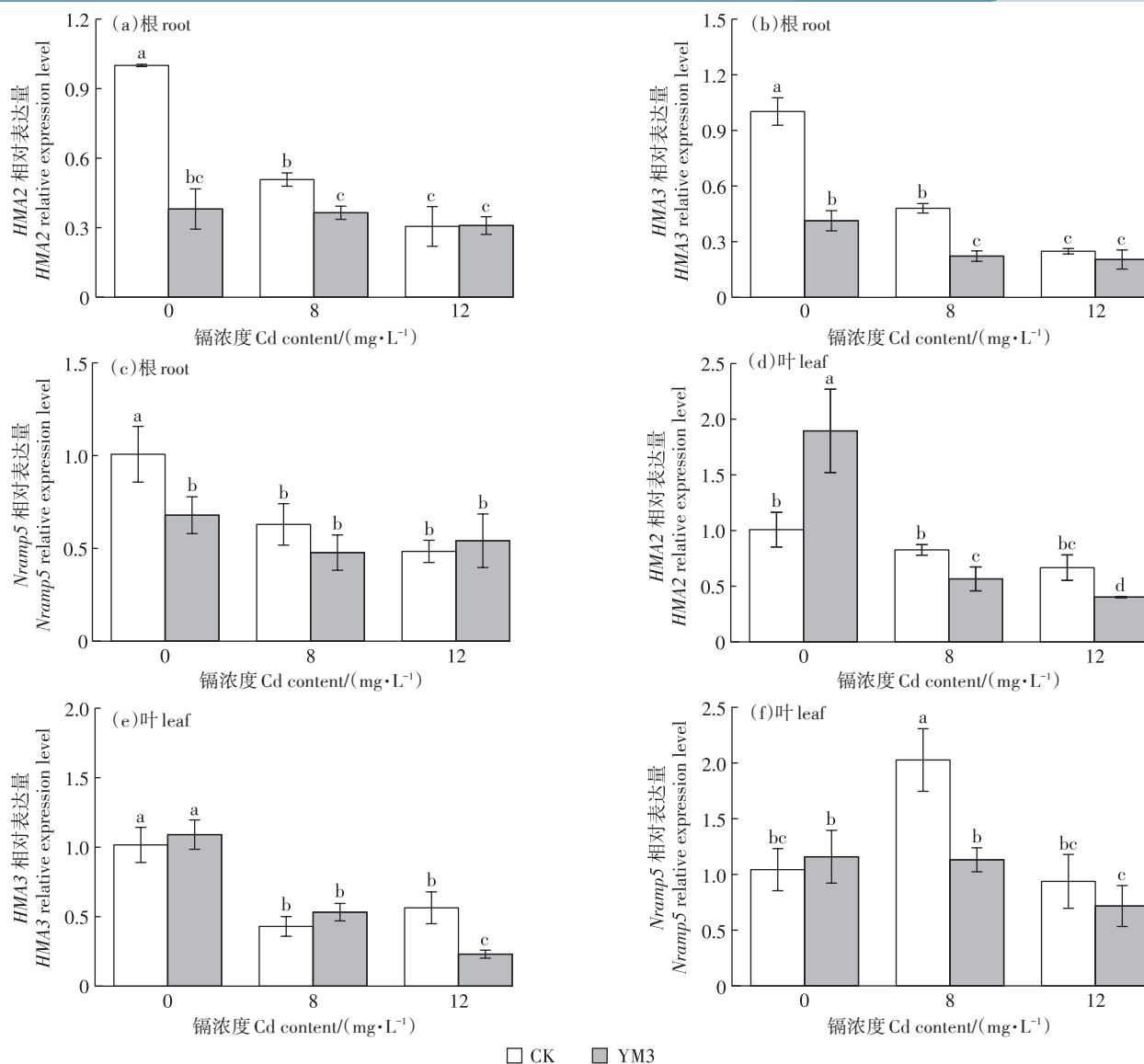


图6 不同处理对玉米金属转运基因表达量的影响

Figure 6 Effects of different treatments on transport gene expression in maize

氧化损伤。脯氨酸是一种重要的植物渗透调节物质,通常植物会在胁迫环境下积累一定量的游离脯氨酸来调节植物的受损伤程度,脯氨酸含量也在一定程度上反映了植物受胁迫程度^[41]。Wang等^[42]试验发现,镉胁迫下接种鞘氨醇单胞菌 *Sphingomonas* Sa MR12 可以显著降低油菜中游离脯氨酸含量。Rizvi等^[43]研究发现,在镉胁迫下小麦接种假单胞菌 CPSB1 能够显著降低小麦脯氨酸和丙二醛水平,提高小麦对镉的耐受性。本试验接种菌株 YM3 后,在低镉环境下与对照相比可以显著降低丙二醛的增加量,且在镉浓度较高时,可以明显比对照降低 26.37%,表明菌株缓解了镉对玉米的膜质过氧化程度。接种菌株 YM3 导致游离脯氨酸含量的下降,也反映出玉米没有受到严重的

镉胁迫。玉米叶绿素合成的增加、游离脯氨酸和丙二醛含量的降低,表明接种菌株 YM3 可以提高玉米抵抗重金属的胁迫能力,减少玉米细胞因重金属而产生的损伤。

根是植物从环境中吸收重金属镉的主要器官,镉通过植物根从地下部向地上部逐渐转运。根际微生物能与植物互作,可通过调控金属转运基因的表达来阻控植物对重金属的吸收与转运。本试验在镉胁迫环境下,接种菌株 YM3 导致玉米根部镉含量增加了 8.19%~50.00%,但接种的玉米茎和叶镉含量显著降低,并且接种的玉米中转运系数(根-茎和根-叶)均显著低于未接种的对照组,这些结果表明该菌株的接种一方面可能通过促进根系生长促进了根部对镉吸

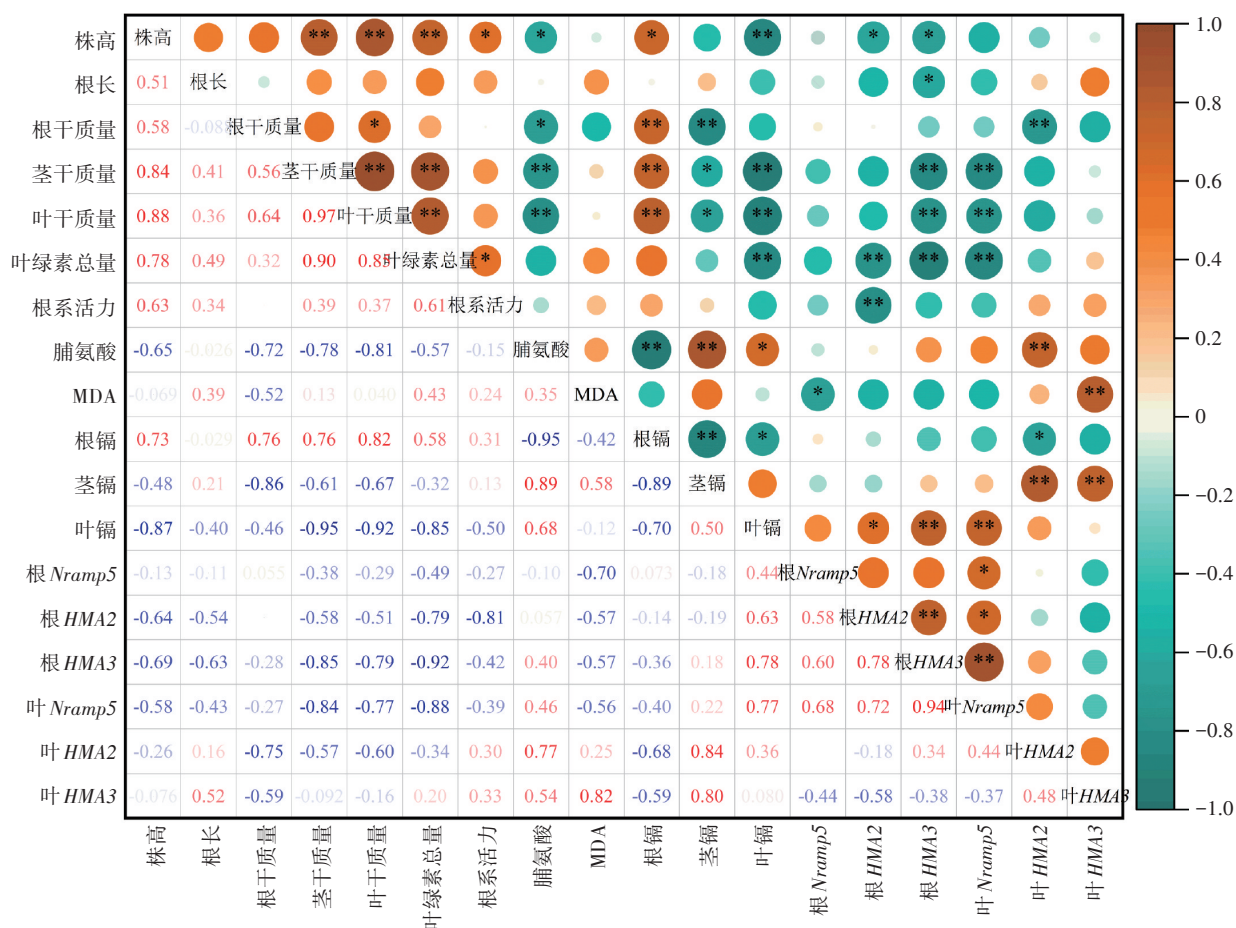


图7 植物各指标之间的相关性分析

Figure 7 Correlation analysis between various plant indicators

收,另一方面主要通过将镉阻留在根部,减少镉从根部向地上部的转运,这与 Ahmad 等^[44]研究发现菌株 *Klebsiella* sp. CIK-518 和 *Leifsonia* sp. CIK-521 与玉米的作用结果相一致。在重金属胁迫下,植物体内与重金属转运相关基因表达量的改变是调节重金属转运和响应重金属胁迫的常见机制之一^[45]。*HMA2*、*HMA3* 和 *Nramp5* 定位于玉米细胞质膜,被证实是与重金属运输呈正相关的重要转运基因^[20,24],它们的表达可以调节植物中重金属从根到地上组织的运输。有研究表明当 *HMA2*、*NRAMP5* 和 *HMA3* 被沉默或表达下调时,植物地上部分镉含量显著降低^[46-47]。本试验中,基因表达随植物生长环境中镉浓度变化的现象表明,*HMA2*、*HMA3* 和 *Nramp5* 这三种基因与玉米植株体内重金属的吸收和转运有关。接种菌株 *Burkholderia* sp. YM3 在一定镉浓度环境下通过降低玉米根部 *HMA2*、*HMA3* 和 *Nramp5* 三种基因的表达,阻抗镉从根向地上部的转运,降低了地上部镉含量,这与 Cheng

等^[26]及 Chen 等^[48]报道的硼和硅的联合施用,下调了水稻 *OsHMA2*、*OsHMA3* 和 *OsNramp5* 表达,降低了水稻中镉的积累和毒性的研究结果一致。本研究中,玉米苗根部镉含量与地上部镉含量以及绝大多数金属转运基因表达呈负相关,而叶部镉含量主要与金属转运基因表达呈正相关,其中与根 *HMA2* 和根 *HMA3* 呈显著正相关。这些结果进一步表明, *Burkholderia* sp. YM3 菌株接种主要通过下调 *HMA2*、*HMA3* 和 *NRAMP5* 表达量,阻抗镉从根部向地上部转运。研究还发现,菌株对重金属转运相关基因转录水平的表达调控受镉浓度及组织部位影响,低浓度镉环境下,菌株主要调控根部金属转运基因表达,高浓度镉环境下,菌株主要调控地上部金属转运基因表达,这可能是由于根部高浓度镉处理限制了菌株与植物根的相互作用,减弱了菌株对根部基因的调控作用。近年来关于玉米重金属转运基因的研究逐渐受到关注,但大多数基因在玉米中的调控机制尚不明确,不同的微生物

物菌种、玉米品种、重金属种类及浓度等,对缓解玉米重金属毒害及调节玉米重金属转运基因可能都存在一定影响,需进一步深入研究。

4 结论

(1) 镉对玉米有毒害作用,镉胁迫能显著降低玉米幼苗地上部和地下部生物量,增加叶片丙二醛和脯氨酸含量,降低根系活力和叶片叶绿素含量。

(2) 接种 *Burkholderia* sp. YM3 可从生长及生理方面减缓玉米受镉毒害程度。在不同镉浓度条件下接种菌株 YM3,可以有效增加玉米生物量,提高玉米根系活力,促进玉米苗生长;增加玉米总叶绿素含量,有效缓解重金属镉对玉米光合作用的抑制;同时菌株还能使脯氨酸和丙二醛的含量降低,有效提高了玉米抵抗重金属胁迫的能力,降低玉米细胞受损伤程度。

(3) 接种菌株 YM3 能调控玉米苗中 *HMA2*、*HMA3* 和 *NRAMP5* 的表达,来阻控玉米苗对镉的吸收转运,但这种调控受镉浓度和植物组织的影响。

参考文献:

- [1] 熊敏先, 吴迪, 许向宁, 等. 土壤重金属镉对高等植物的毒性效应研究进展[J]. 生态毒理学报, 2021, 16(6): 133-149. XIONG M X, WU D, XU X N, et al. Advances in toxic effects of soil heavy metal Cd on higher plants[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2021, 16(6): 133-149.
- [2] ETESAMI H, MAHESHWARI D K. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: action mechanisms and future prospects[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 156: 225-246.
- [3] ETESAMI H. Bacterial mediated alleviation of heavy metal stress and decreased accumulation of metals in plant tissues: mechanisms and future prospects[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 147: 175-191.
- [4] 劳昌玲, 罗立强, 沈亚婷, 等. 微生物与重金属相互作用过程与机制研究进展[J]. 环境科学研究, 2020, 33(8): 1929-1937. LAO C L, LUO L Q, SHEN Y T, et al. Progress in the study of interaction process and mechanism between microorganisms and heavy metals[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2020, 33(8): 1929-1937.
- [5] 唐飞, 陈亚刚, 龙新宪. 金属抗性促生菌对玉米的生长和累积镉的影响[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(10): 1941-1949. TANG F, CHEN Y G, LONG X X. The effect of metal resistant growth promoting bacteria on the growth and accumulation of Cd in maize[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(10): 1941-1949.
- [6] VAZQUEZ A, ZAWOZNIK M, PATRICIA BENAVIDES M, et al. *Azospirillum brasilense* Az39 restricts cadmium entrance into wheat plants and mitigates cadmium stress[J]. *Plant Science*, 2021, 312: 111056.
- [7] WANG Y J, ZHANG X Y, HE X S, et al. Effects of *Pseudomonas* TCd-1 on rice (*Oryza sativa*) cadmium uptake, rhizosphere soils enzyme activities and cadmium bioavailability under cadmium contamination[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 218: 112249.
- [8] GUO J K, 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 and Soil*, 2014, 375(1/2): 205-214.
- [9] GUO J K, MUHAMMAD H, LV X, et al. Prospects and applications of plant growth promoting rhizobacteria to mitigate soil metal contamination: a review[J]. *Chemosphere*, 2020, 246: 125823.
- [10] 张传华, 王钟书, 刘力, 等. 地质高背景区土壤-玉米重金属综合质量评价[J]. 环境科学, 2023, 44(7): 4142-4150. ZHANG C H, WANG Z S, LIU L, et al. Comprehensive quality assessment of soil-maize heavy metals in high geological background area[J]. *Environmental Science*, 2023, 44(7): 4142-4150.
- [11] WEI X D, ZHOU Y T, JIANG Y J, et al. Health risks of metal(loid)s in maize (*Zea mays* L.) in an artisanal zinc smelting zone and source fingerprinting by lead isotope[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 742: 140321.
- [12] 王娟, 苏德纯. 基于文献计量的小麦玉米重金属污染农田修复治理技术及效果分析[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(3): 493-500. WANG J, SU D C. Analysis of the effects of heavy metal pollution remediation technologies in wheat and maize fields based on bibliometrics[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(3): 493-500.
- [13] WANG J F, LI W L, AHMAD I, et al. Biomineralization of Cd²⁺ and inhibition on rhizobacterial Cd mobilization function by *Bacillus cereus* to improve safety of maize grains[J]. *Chemosphere*, 2021, 283: 131095.
- [14] MOREIRA H, MARQUES A P, FRANCO A R, et al. Phytomanagement of Cd-contaminated soils using maize (*Zea mays* L.) assisted by plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, 21: 9742-9753.
- [15] TANWIR K, JAVED M T, ABBAS S, et al. *Serratia* sp. CP-13 alleviates Cd toxicity by morpho-physio-biochemical improvements, antioxidative potential and diminished Cd uptake in *Zea mays* L. cultivars differing in Cd tolerance[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 208: 111584.
- [16] ABBAS S, JAVED M T, SHAHID M, et al. *Acinetobacter* sp. SG-5 inoculation alleviates cadmium toxicity in differentially Cd tolerant maize cultivars as deciphered by improved physio-biochemical attributes, antioxidants and nutrient physiology[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 155: 815-827.
- [17] CHAUDHARY K, JAN S, KHAN S. Heavy metal ATPase (*HMA2*, *HMA3*, and *HMA4*) genes in hyperaccumulation mechanism of heavy metals[M]// AHMAD P. Plant metal interaction: emerging remediation techniques. Amsterdam: Elsevier, 2016: 545-556.
- [18] STERCKEMAN T, THOMINE S. Mechanisms of cadmium accumulation in plants[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2020, 39(4): 322-359.
- [19] TAKAHASHI R, ISHIMARU Y, SHIMO H, et al. The *OsHMA2* transporter is involved in root-to-shoot translocation of Zn and Cd in rice [J]. *Plant Cell & Environment*, 2012, 35(11): 1948-1957.
- [20] CAO Y H, ZHAN X W, LIU Y J, et al. Genome-wide identification of *ZmHMA*s and association of natural variation in *ZmHMA2* and *ZmHMA3* with leaf cadmium accumulation in maize[J]. *Peer J*, 2019, 7:

- e7877.
- [21] MIYADATE H, ADACHI S, HIRAIZUMI A, et al. *OsHMA3*, a P1B-type of ATPase affects root-to-shoot cadmium translocation in rice by mediating efflux into vacuoles[J]. *New Phytologist*, 2011, 189(1): 190–199.
- [22] TANG B, LUO M J, ZHANG Y X, et al. Natural variations in the P-type ATPase heavy metal transporter gene *ZmHMA3* control cadmium accumulation in maize grains[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2021, 72(18): 6230–6246.
- [23] SASAKI A, YAMAJI N, YOKOSHO K, et al. *Nramp5* is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice[J]. *Plant Cell*, 2012, 24(5): 2155–2167.
- [24] SUI F Q, CHANG J D, TANG Z, et al. *Nramp5* expression and functionality likely explain higher cadmium uptake in rice than in wheat and maize[J]. *Plant and Soil*, 2018, 433: 377–389.
- [25] SUN L N, ZHANG X H, OUYANG W K, et al. Lowered Cd toxicity, uptake and expression of metal transporter genes in maize plant by ACC deaminase-producing bacteria *Achromobacter* sp.[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 423: 127036.
- [26] CHENG C, WANG Q, WANG Q X, et al. Wheat-associated *Pseudomonas taiwanensis* WRS8 reduces cadmium uptake by increasing root surface cadmium adsorption and decreasing cadmium uptake and transport related gene expression in wheat[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 268: 115850.
- [27] MANNAA M, PARK I, SEO Y S. Genomic features and insights into the taxonomy, virulence, and benevolence of plant-associated *Burkholderia* species[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(1): 121.
- [28] GUO J K, ZHAO J, REN X H, et al. Effects of *Burkholderia* sp. D54 on growth and cadmium uptake of tomato, ryegrass and soybean plants [J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2020, 17: 1149–1158.
- [29] PEIX A, MATEOS P F, RODRIGUEZ-BARRUECO C, et al. Growth promotion of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by a strain of *Burkholderia cepacia* under growth chamber conditions[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(14): 1927–1935.
- [30] WANG C R, HUANG Y C, YANG X R, et al. *Burkholderia* sp. Y4 inhibits cadmium accumulation in rice by increasing essential nutrient uptake and preferentially absorbing cadmium[J]. *Chemosphere*, 2020, 252: 126603.
- [31] 孙乐妮, 郭迎雪, 侯雪婷, 等. 镉耐性固定细菌的筛选及其对不同品种小麦镉吸收的阻控效应[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(9): 1878–1887. SUN L N, GUO Y X, HOU X T, et al. Effect of Cd-tolerant and immobilizing bacteria on Cd uptake in different wheat cultivars[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(9): 1878–1887.
- [32] GORDON A S, WEBER R P. Colorimetric estimation of indole acetic acid[J]. *Plant Physiology*, 1951, 26: 192–195.
- [33] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 130–260. LI H S. Plant physiology and biochemistry experiment principle and technology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 130–260.
- [34] ARNON D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*[J]. *Plant Physiology*, 1949, 24: 1–5.
- [35] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method[J]. *Methods*, 2001, 25: 402–408.
- [36] BAZIE T S, WOO K S, GU L H, et al. Effectiveness of multi-trait *Burkholderia contaminans* KNU17B11 in growth promotion and management of banded leaf and sheath blight in maize seedling[J]. *Microbiological Research*, 2018, 214: 8–18.
- [37] CARLOS M H J, STEFANI P V Y, JANETTE A M, et al. Assessing the effects of heavy metals in ACC deaminase and IAA production on plant growth-promoting bacteria[J]. *Microbiological Research*, 2016, 188: 53–61.
- [38] AHMED M. Remediation of metalliferous soils through the heavy metal resistant plant growth promoting bacteria: paradigms and prospects[J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2019, 12(7): 1365–1377.
- [39] HODGE A, BERTA G, DOUSSAN C, et al. Plant root growth, architecture and function[J]. *Plant and Soil*, 2009, 321: 153–187.
- [40] 宋兰萍, 徐晓阳, 洪婉悦, 等. 镉耐性菌 Cdq4-2 对黑麦草生长特性及镉吸收的影响[J]. 中国环境科学, 2023, 43(3): 1386–1396. SONG L P, XU X Y, HONG W Y, et al. Effect of Cd-tolerant bacteria on *Lolium perenne* growth and its Cd enrichment[J]. *China Environmental Science*, 2023, 43(3): 1386–1396.
- [41] MEHMOOD S, SAEED D A, RIZWAN M, et al. Impact of different amendments on biochemical responses of sesame (*Sesamum indicum* L.) plants grown in lead-cadmium contaminated soil[J]. *Plant Physiology Biochemistry*, 2018, 132: 345–55.
- [42] WANG Q, GE C, XU S, et al. The endophytic bacterium *Sphingomonas* SaMR12 alleviates Cd stress in oilseed rape through regulation of the GSH-AsA cycle and antioxidative enzymes[J]. *BMC Plant Biology*, 2020, 20(1): 63.
- [43] RIZVI A, KHAN M S. Biotoxic impact of heavy metals on growth, oxidative stress and morphological changes in root structure of wheat (*Triticum aestivum* L.) and stress alleviation by *Pseudomonas aeruginosa* strain CPSB1[J]. *Chemosphere*, 2017, 185: 942–952.
- [44] AHMAD I, AKHTAR M J, ASGHAR H N, et al. Differential effects of plant growth-promoting rhizobacteria on maize growth and cadmium uptake[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2016, 35: 303–315.
- [45] 王越, 郭兆来, 袁鑫奇, 等. 植物应对重金属污染的遗传机理[J]. 环境生态学, 2020, 2(12): 32–40, 60. WANG Y, GUO Z L, YUAN X Q, et al. The genetic mechanism of plants responding to heavy metal pollution[J]. *Environmental Ecology*, 2020, 2(12): 32–40, 60.
- [46] GUO Q, TIAN X, MAO P, et al. Functional characterization of *IIH-MA2*, a P1B2-ATPase in *Iris lactea* response to Cd[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2019, 157: 131–139.
- [47] ISHIKAWA S, ISHIMARU Y, IGURA M, et al. Ion-beam irradiation, gene identification, and marker-assisted breeding in the development of low-cadmium rice[J]. *PNAS*, 2012, 109(47): 19166–19171.
- [48] CHEN D M, CHEN D Q, XUE R R, et al. Effects of boron, silicon and their interactions on cadmium accumulation and toxicity in rice plants [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 367: 447–455.

(责任编辑: 叶飞)