



# FH-1 和 NJ-1 混合菌发酵液缓解铅与莠去津复合胁迫下的大豆生长

刘雪微, 翟乾行, 董英楠, 刘悦, 吴昱霖, 李沛霖, 张浩

(吉林农业大学 植物保护学院, 吉林 长春 130118)

**摘要:**为探究 FH-1 和 NJ-1 混合菌发酵液缓解铅( $Pb^{2+}$ )与莠去津复合胁迫对大豆种子及幼苗生长发育的影响。本研究采用液相色谱法测定了不同  $Pb^{2+}$  浓度下 FH-1 和 NJ-1 (3:2) 混合细菌对莠去津降解的影响。结果表明:添加 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1 和 0.2  $mol \cdot L^{-1} Pb^{2+}$  后, 第 1 天时低浓度 0.02  $mol \cdot L^{-1} Pb^{2+}$  对莠去津降解率有促进作用, 随着  $Pb^{2+}$  浓度的增加莠去津降解率均受到抑制作用; 当培养第 3 天和第 5 天时, 添加各浓度  $Pb^{2+}$  后莠去津降解率均受到抑制作用。同时种子萌发试验和幼苗盆栽试验进一步表明,  $Pb^{2+}$  与莠去津复合胁迫对大豆种子萌发、幼苗生长及根部发育均有显著抑制作用( $P < 0.05$ ), 且高于单一胁迫; 而加入 FH-1 和 NJ-1 混合菌发酵液后, 大豆种子发芽率和发芽长度分别提高了 36.36% 和 46.76%。幼苗的相对茎叶干重和根长分别恢复 38.60% 和 60.20%。此外, FH-1 和 NJ-1 混合菌发酵液灌根后, 将  $Pb^{2+}$  与莠去津复合胁迫下大豆幼苗根部 SOD 和 POD 活性分别提高了 38.21% 和 6.17%, MDA 含量降低了 59.27%。而添加混合菌发酵液后使受  $Pb^{2+}$  与莠去津复合胁迫影响下土壤的根系活力与细菌数量分别恢复了 37.63% 和 37.55%。因此 FH-1 和 NJ-1 混合菌发酵液可以通过诱导抗性提高抗氧化酶活性与根系活力, 减轻  $Pb^{2+}$  与莠去津复合胁迫下对大豆的伤害, 进而促进幼苗生长。

**关键词:** 铅; 莠去津; 复合胁迫; 细菌发酵液; 抗氧化酶

## Mitigation of Soybean Growth under Combined Lead and Atrazine Stress by FH-1 and NJ-1 Mixed Bacterial Fermentation Broth

LIU Xuewei, ZHAI Qianhang, DONG Yingnan, LIU Yue, WU Yulin, LI Peilin, ZHANG Hao

(College of Plant Protection, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

**Abstract:** To investigate the effects of the fermentation broth of mixed bacteria FH-1 and NJ-1 in mitigating the combined stress of lead ( $Pb^{2+}$ ) and atrazine on the growth and development of soybean seeds and seedlings. The effects of mixed bacteria FH-1 and NJ-1 on the degradation of atrazine at different concentrations of  $Pb^{2+}$  were determined by liquid chromatography. The experimental results indicate that, after adding 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1 and 0.2  $mol \cdot L^{-1} Pb^{2+}$ . At the first day, the low concentration of 0.02  $mol \cdot L^{-1} Pb^{2+}$  promoted the degradation rate of atrazine, and with the increase of  $Pb^{2+}$  concentration, the degradation rate of atrazine was inhibited. At the third and fifth days of culture, the degradation rate of atrazine was inhibited by adding  $Pb^{2+}$  atrazine at different concentrations. The results of seed germination test and seedling pot test showed that the combined stress of  $Pb^{2+}$  and atrazine significantly inhibited soybean seed germination, seedling growth and root development ( $P < 0.05$ ), and was higher than that of single stress; while the germination length and germination rate of soybean seeds increased by 46.76% and 36.36%, respectively, after the addition of mixed bacterial fermentation broth. Meanwhile, the relative stem and leaf dry weight and root length of seedlings were restored by 38.60% and 60.20%, respectively. In addition, root irrigation with the mixed bacterial fermentation solution increased the SOD and POD activities of seedlings roots under complex stress by 38.21% and 6.17%, respectively, and reduced the MDA content by 59.27%. And the reduced root vigor and bacterial population in the soil affected by the combined stress recovered 37.63% and 37.55%, respectively, after the addition of the mixed bacterial fermentation broth. Therefore, the fermentation broth of FH-1 and NJ-1 mixed bacteria can improve the antioxidant enzyme activity and root vigor to mitigate the damage of  $Pb^{2+}$  and atrazine combined stress on soybean seedlings, and then promote seedling growth.

**Keywords:** Pb; atrazine; compound stress; bacterial fermentation broth; antioxidase

随着工农业的快速发展, 农药和重金属污染物大量进入环境, 在各种环境介质中形成复合污染。很多重金属和农药污染物在环境中都具有持久性和较高的毒性, 对生态环境具有潜在危害<sup>[1]</sup>。土壤中重金属和农药共同污染, 造成了严重的全球土壤环境问题, 两者的相互作用使土壤污染情况更加复

杂<sup>[2]</sup>。吡虫啉与 Cd 单一及复合污染对蚯蚓的生态环境造成危害<sup>[3]</sup>, 此外还会造成植物的损伤。甲霜灵与镉复合污染对烟草生长发育及光合性能均产生一定生态毒性效应, 且毒性效应会随着烟草发育进程而改变<sup>[4]</sup>。氯嘧磺隆与重金属镉、铜复合胁迫下, 小麦种子根茎长度, 发芽率显著受到抑制, 其中

收稿日期: 2022-04-10

基金项目: 长春市科技发展计划项目(21ZGN12); 国家级大学生创新创业训练计划项目(202110193013)。

第一作者: 刘雪微(2001—), 女, 硕士研究生, 主要从事农药微生物降解与生物修复研究。E-mail: m13179207889@163.com。

通讯作者: 张浩(1964—), 女, 教授, 博导, 主要从事农药毒理学研究。E-mail: zhanghao100@jlau.edu.cn。

根长对复合污染的敏感程度最高<sup>[5]</sup>。氯氰菊酯与金属离子铜的复合作用对大白菜种子的发芽也表现出抑制作用的影响<sup>[6]</sup>,与个体效应相比,植物对重金属-农药复合污染更为敏感,容易受到更严重损伤<sup>[7]</sup>。

铅(Pb)是土壤污染较为严重的重金属元素之一,会使一些作物受到不同程度的铅污染毒害<sup>[8-9]</sup>。有研究表明,铅能够抑制种子萌发和植株生长,并在烟株体内积累,影响烟草品质<sup>[10-12]</sup>。莠去津作为玉米田常见的除草剂,极易对后茬的大豆作物产生药害,研究表明,土壤中莠去津的有效含量超过 $0.1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,大豆的萌发和生长便会受到抑制<sup>[13-15]</sup>。功能性微生物是一种微生物资源,其发酵液可促进农作物生长、增强抗逆性<sup>[16]</sup>。相关研究结果表明碱蓬内生真菌 EF11-01 提取物可以显著提高水稻对镉胁迫的抗性,同时促进生长,增强抗氧化酶活性来提高防御能力<sup>[17-19]</sup>。

微生物复合菌剂相较于单一菌剂具有明显优势,可在土壤中迅速繁殖,长期发挥作用提高土壤肥力,并加快对目标污染物的降解速率<sup>[20]</sup>。多菌灵降解菌株 *Rhodococcus qingshengii* djl-6 和啮虫脲降解菌株 *Pigmentiphaga* D-2 进行复配可加强对复合农药残留土壤的修复效果<sup>[21]</sup>。菌株 D1、D2 复合微生物菌剂可将浓度为 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的毒死蜱在5 d 降解86.57%<sup>[22]</sup>。复合菌株 LSNSY15-4 和 D 按照体积比1:1进行混合培养后可促进烟草植株的生长,其效果高于单一菌株<sup>[23]</sup>。

土壤污染问题并不是单一出现的,更多情况是多种污染源以复合形式出现,目前针对土壤中铅( $\text{Pb}^{2+}$ )和莠去津复合胁迫影响大豆生长的研究相对较少。本研究测定了不同 $\text{Pb}^{2+}$ 浓度下 FH-1 和 NJ-1 混合菌发酵液对莠去津降解的影响,以及 $\text{Pb}^{2+}$ 、莠去津单一和复合胁迫对大豆种子及幼苗生长发育的影响;测定 FH-1 和 NJ-1 混合菌发酵液对 $\text{Pb}^{2+}$ 与莠去津复合胁迫下大豆幼苗的抗氧化酶活性及丙二醛含量,明确了 FH-1 和 NJ-1 混合菌发酵液诱导大豆幼苗抵抗复合胁迫的抗性关系,旨在缓解 $\text{Pb}^{2+}$ 与莠去津复合胁迫对大豆幼苗产生的药害响应,恢复幼苗的生长发育,以期为进一步开发多功能性菌剂资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料及仪器

*Klebsiella variicola* FH-1 ( Genbank accession number MH250202) 和 *Arthrobacter* sp. NJ-1 ( Genbank accession number MH250203) 由吉林农业大学植物

保护学院农药教研室从吉林农业大学科学试验站(中国,长春)中常年施用莠去津的黑土土壤(pH6.54,土壤有机质含量为 $18.57\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )中分离提供。供试大豆品种为吉大豆5号(吉林大学植物科学学院提供)。试验前大豆需要用75%乙醇和1%次氯酸钠溶液分别处理5次,每次1 min,然后无菌去离子水冲洗3遍,风干备用。莠去津(中国山东克赛金农生物科技有限公司,纯度>97%);乙酸铅(天津市福晨化学试剂厂)。色谱纯甲醇和乙腈(上海麦克林生化科技股份公司)。

Agilent1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),SW-CJ-IF 型超净工作台(郑州南北仪器设备有限公司),JJ500 型电子天平(常熟市双杰测试仪器厂),DSX-280B 型压力灭菌锅(河南仪器仪表设备有限公司),KQ-250DE 型医用数控超声波清洗器(深圳拓能达科技有限公司),GL-16LX 型立式高速冷冻离心机(苏州欧倍科学仪器有限公司生产),HZQ-F100 型振荡培养箱(常州诺基仪器有限公司),UV-2450 型紫外可见分光光度计(岛津仪器苏州有限公司)。

1.2 供试培养基

1.2.1 LB 培养基 胰蛋白胨 10.0 g,酵母浸粉 5.0 g, NaCl 10.0 g,蒸馏水 1 L,pH7.0~7.5,在121℃高温下灭菌20 min。

1.2.2 LB 固体培养基 胰蛋白胨 10.0 g,酵母浸粉 5.0 g,氯化钠 10.0 g,琼脂 20.0 g,蒸馏水 1 L,pH7.0,在121℃高温下灭菌20 min。

1.2.3 无机盐培养基 蔗糖 10.0 g, $\text{NH}_4\text{Cl}$  1.0 g, $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.50 g, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.20 g, $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1.50 g, NaCl 1.0 g,蒸馏水 1 L,pH7.0,在115℃高温下灭菌15 min。

1.3 方法

1.3.1  $\text{Pb}^{2+}$ 对混合菌降解莠去津的影响 将-80℃保存的菌株 FH-1 和 NJ-1 细菌菌液接种于适量 LB 液体培养基 $30\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇床培养12 h后,将液体转至无菌50 mL离心管中, $8\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min,去除上清液,无菌水稀释菌体细胞 $\text{OD}_{600}$ 约等于1.0,分别吸取3 mL FH-1 菌液和2 mL NJ-1<sup>[24]</sup>共同接种到100 mL 新鲜的无机盐液体培养基中,同时添加莠去津使溶液浓度为 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,并设置不同浓度的重金属离子 $\text{Pb}^{2+}$ 作为胁迫因子,梯度为0.02,0.04,0.06,0.08,0.1和0.2 $\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。 $\text{Pb}^{2+}$ 以乙酸铅形式添加,用1 $\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  HCl 和1 $\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaOH 调节溶液的pH至7.0,分别在处理的第1,3,5天吸取1 mL的无机盐培养液,利用0.22 $\mu\text{m}$ 的滤膜过滤,测定培养液中的莠去津浓度,计算莠去津

降解率,所有试验重复 3 次,以未接种混合菌为对照。

莠去津的液相色谱检测条件为:Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),可变波长紫外检测器,检测波长 220 nm。C18 色谱柱(5  $\mu\text{m}$ ,250 mm  $\times$  4.6 mm;安捷伦 Zorbax RRHD Eclipse Plus,北京普和生物科技有限公司,中国,长春),流动相为水:甲醇(60:40),样品以 1.0 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup> 的流速运行,柱温为 30  $^{\circ}\text{C}$ 。

1.3.2 混合菌发酵液的制备 将 -80  $^{\circ}\text{C}$  保存的菌株 FH-1 和 NJ-1 细菌菌液接种于适量 LB 液体培养基 30  $\pm$  2  $^{\circ}\text{C}$ 、180 r $\cdot$ min<sup>-1</sup> 摇床培养 12 h 后,分别吸取 3 mL FH-1 菌液和 2 mL NJ-1 共同接种到 100 mL 新鲜的 LB 液体培养基中,180 r $\cdot$ min<sup>-1</sup> 摇床培养 5 d。在前期的试验中已经通过优化混合菌复配比例来提高莠去津的生物降解特性,当菌株 FH-1 和 NJ-1 的体积比为 3:2 时,其相容性及对莠去津的生物降解效果最好<sup>[24]</sup>。将液体转至无菌 50 mL 离心管中,8 000 r $\cdot$ min<sup>-1</sup> 离心 10 min,吸取上清液,去除离心下来的菌体,通过 0.22  $\mu\text{m}$  的滤膜对上清液进行过滤,过滤后的液体为 FH-1 和 NJ-1 的混合菌发酵液(简称为混合菌发酵液),置于 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱保存。

1.3.3 混合菌发酵液缓解复合胁迫下大豆种子的发芽影响 试验设 5 个处理:(1)添加无菌水(CK);(2)添加 1 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup> 莠去津;(3)添加 50 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup> Pb<sup>2+</sup>;(4)添加 50 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup> Pb<sup>2+</sup> + 1 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup> 莠去津;(5)添加 20 mL 混合菌发酵液处理大豆种子后,再添加 50 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup> Pb<sup>2+</sup> + 1 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup> 莠去津。各处理都用 1 mol $\cdot$ L<sup>-1</sup> HCl 和 1 mol $\cdot$ L<sup>-1</sup> NaOH 调节溶液的 pH7.0。

挑选圆润饱满的大豆种子,经次氯酸钠溶液(5%)消毒 15 min 后,再用无菌水反复冲洗 3 次。将消毒后的大豆种子分别浸泡于无菌水与混合菌发酵液(都为 20 mL)中,25  $^{\circ}\text{C}$ 、140 r $\cdot$ min<sup>-1</sup> 摇床中充分震荡 6 h 后取出,于无菌工作台上风干。向铺有无菌滤纸的培养皿内放入 20 粒大豆种子,按试验设计 5 个处理分别向培养皿中放入相应的莠去津及 Pb<sup>2+</sup> 溶液,转入培养箱 25  $^{\circ}\text{C}$  下进行萌芽试验。60 h 后记录大豆种子在 5 个处理下的萌发率与发芽长度。以上试验重复 3 次。

1.3.4 混合菌发酵液对复合胁迫下大豆生长生理指标的影响 试验设 5 个处理:(1)添加无菌水正常生长的大豆为对照(CK);(2)添加 1 mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup> 莠去津(Atrazine);(3)添加 50 mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup> Pb<sup>2+</sup>(Pb);(4)添加 50 mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup> Pb<sup>2+</sup> + 1 mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup> 莠去津(Atrazine

+ Pb + FN);(5)添加 50 mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup> Pb<sup>2+</sup> + 1 mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup> 莠去津后,在大豆幼苗生长 3 d 后取 20 mL 的混合菌发酵液灌入大豆的根部进行修复处理(Atrazine + Pb + FN)。

用体积为 1 L 的塑料花盆,每盆装入 3 年未使用莠去津的 500 g 土壤(样品采集自吉林农业大学玉米试验田 43 $^{\circ}$ 48'49.22''N 和 125 $^{\circ}$ 25'18.20''E, pH6.4,有机质含量 2.65%),选择大豆幼苗长出 2 片真叶后,长势大小一致的大豆幼苗分别移栽至 5 个处理的土壤盆中,每盆 6 棵,3 次重复。将大豆植株置于自然光照下培养 5 d 后分别收取大豆植株的地上部分与地下部分用于生长指标的测定。

将第 5 天大豆植株的地上部分与地下部分洗净,用滤纸吸干表面水分。分别称取样品 0.1 g,放入 1.5 mL 离心管中,再分别加入 4  $^{\circ}\text{C}$  保存的磷酸盐缓冲液 0.9 mL, -80  $^{\circ}\text{C}$  预冻 8 h 后在研磨器下制备成匀浆,12 000 r $\cdot$ min<sup>-1</sup> 低温离心 5 min,吸取上清液用于相关指标测定。丙二醛含量采用硫代巴比妥酸法测定<sup>[25]</sup>,抗氧化酶 POD 的测定<sup>[26]</sup>;SOD 活性的测定<sup>[27]</sup>,根系活力的测定采用 TTC 方法<sup>[28]</sup>,以上生理指标的测定均重复 3 次。

1.3.5 混合菌发酵液对复合胁迫下土壤细菌影响 分别取 5 个处理(详见 1.3.4)的种植大豆植株土壤 10 g,放入 50 mL 灭菌的离心管中,再加入 40 mL,无菌水 25  $^{\circ}\text{C}$ 、140 r $\cdot$ min<sup>-1</sup> 摇床中充分混匀 2 h,12 000 r $\cdot$ min<sup>-1</sup> 离心 5 min,吸取上清液采用稀释涂布平板法测定各处理土样的细菌<sup>[29]</sup>。

### 1.4 数据分析

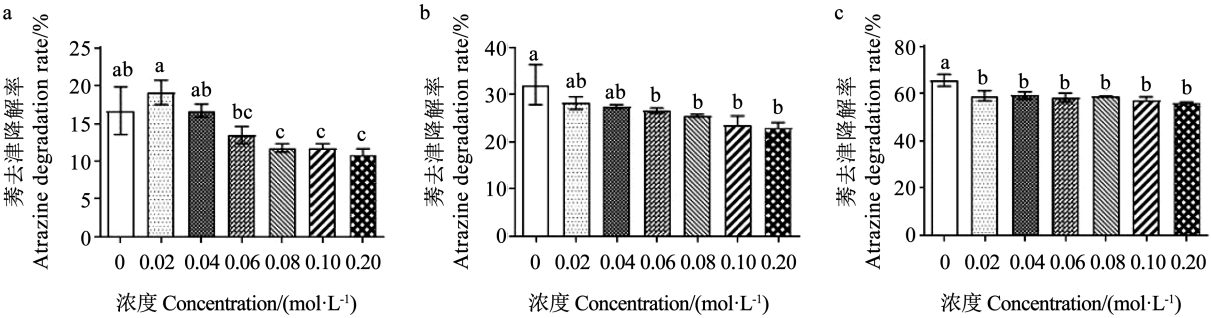
采用 GraphPad prism 进行绘图。再利用 SPSS 19 软件对数据进行单因素方差分析(ANOVA),采用 Turkey's Method 进行多重比较,结果用“平均值  $\pm$  标准差”表示其中  $P < 0.05$  为显著性差异。每个试验 3 次重复。

## 2 结果与分析

### 2.1 Pb<sup>2+</sup> 浓度对混合菌降解莠去津的影响

由图 1a 可见,第 1 天莠去津降解率分别为 19.14%、16.74%、13.48%、11.77%、11.67% 和 10.81%,对照组莠去津降解率为 16.70%,与 CK 相比较,0.02 mol $\cdot$ L<sup>-1</sup> 莠去津降解率未受到影响,其它添加 Pb<sup>2+</sup> 后均受到不同程度的抑制。当培养到第 3 天和第 5 天时,由图 1b 和图 1c 可见,莠去津降解率均受到不同 Pb<sup>2+</sup> 浓度的抑制,并低于 CK。随着时间延长 Pb<sup>2+</sup> 浓度一直在影响莠去津的降解。





注:不同小写字母表示显著性差异( $P < 0.05$ ) ; a. 第1天; b. 第3天; c. 第5天。  
Note: Different lowercase letters indicate significant difference( $P < 0.05$ ) ; a. 1 d; b. 3 d; c. 5 d.

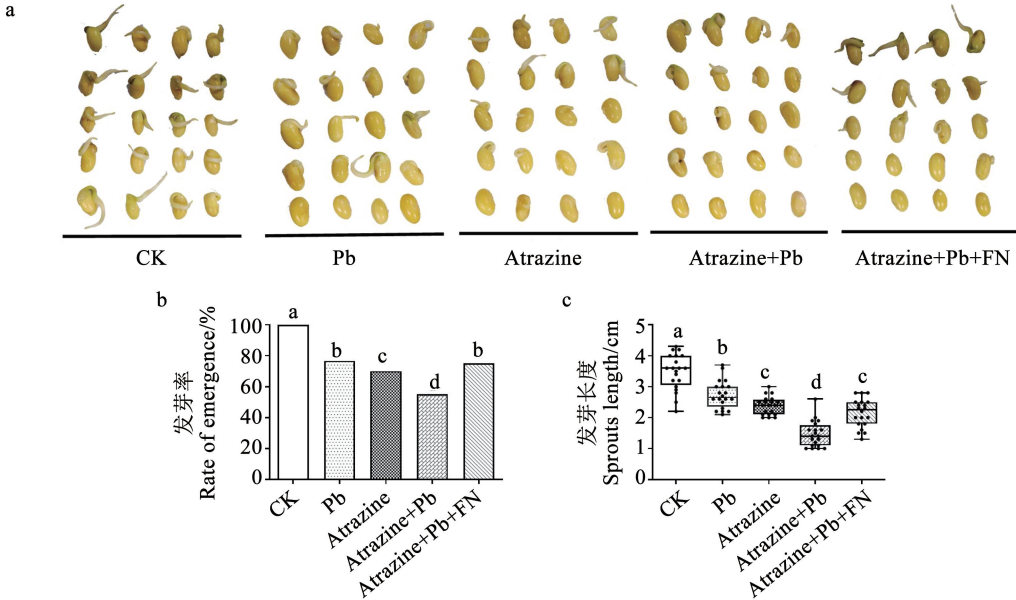
图1  $Pb^{2+}$  浓度对 FH-1 和 NJ-1 混合菌降解莠去津的影响

Fig. 1 Effects of different  $Pb^{2+}$  concentrations on atrazine degradation by FH-1 and NJ-1 mixed bacteria

2.2 复合胁迫下混合菌发酵液对大豆种子发芽的影响

由图 2a 可见,在  $Pb^{2+}$ 、莠去津单一胁迫以及复合胁迫下,5 种处理下大豆的芽呈现不同程度的卷曲;由图 2b 和图 2c 可见,CK 处理下大豆种子的发芽率和发芽长度分别为 100% 和 3.48 cm,与 CK 处理相比较,添加  $Pb^{2+}$  和莠去津大豆的发芽率和发芽长度都有不同程度的下降, $Pb^{2+}$  处理分别下降了 23.33% 和 21.12%;莠去津处理分别下降了 30.00%

和 31.47%,说明大豆种子的萌发更容易受到莠去津的抑制。此外,复合胁迫下大豆种子发芽率与发芽长度显著下降( $P < 0.05$ ),分别下降了 45.00% 和 57.90%,可见大豆种子萌发的正常生理活动受到了  $Pb^{2+}$  与莠去津的复合毒害影响。混合菌发酵液处理将复合胁迫下大豆种子分别提高了 36.36% 和 46.76%,表明混合菌发酵液可以增强大豆种子的萌发,并有效地缓解  $Pb^{2+}$  与莠去津复合胁迫下的毒害趋势。



注:不同小写字母表示显著性差异( $P < 0.05$ ) ; a. 发芽形态; b. 发芽率; c. 发芽长度。  
Note: Different lowercase letters indicate significant difference( $P < 0.05$ ) ; a. Germination morphology; b. Germination rate; c. Germination length.

图2  $Pb^{2+}$  与莠去津复合胁迫下 FH-1 和 NJ-1 混合菌发酵液对大豆种子的影响

Fig. 2 Effects of FH-1 and NJ-1 fermentation broth on soybean seeds under  $Pb^{2+}$  and atrazine combined stress

2.3 复合胁迫下混合菌发酵液对大豆幼苗生长量的影响

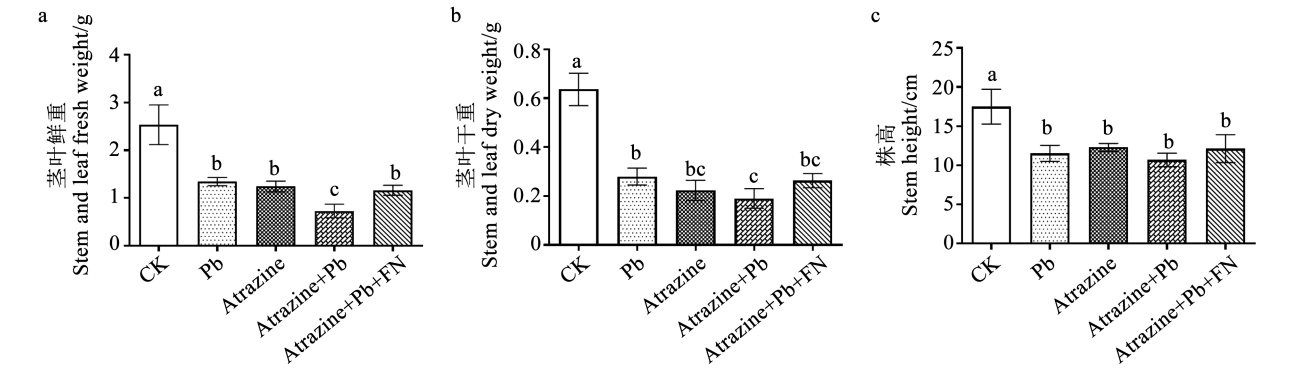
由图 3a 可见,CK 处理下大豆幼苗的茎叶鲜重为 2.54 g,可以看出复合胁迫对大豆幼苗的茎叶鲜重抑制最为显著( $P < 0.05$ ),相较于 CK 处理下降了 71.22%;而在混合菌发酵液处理后,在复合胁迫

的水平上茎叶鲜重提升了 59.36%。由图 3b 可见,不同胁迫及混合菌发酵液处理下大豆幼苗的茎叶干重与 CK 比均有显著差异( $P < 0.05$ ),CK 处理下大豆幼苗的茎叶干重为 0.64 g。相较于 CK,复合胁迫处理下降低了 70.16%;而混合菌发酵液处理后,在复合胁迫水平上茎叶干重提升了 38.60%。由图

3c 可见,大豆幼苗的株高在混合菌发酵液的作用下,并未显示出显著的恢复效果( $P < 0.05$ ),可能是由于前期幼苗发育迟缓等原因造成的。由此推测  $Pb^{2+}$  和莠去津复合胁迫使大豆幼苗萎蔫甚至致死的风险增加,而混合菌发酵液可以作为修复剂,促进在  $Pb^{2+}$ 、莠去津单一或复合胁迫下大豆幼苗的修复。

2.4 复合胁迫下混合菌发酵液对大豆幼苗根系的影响

如图 4a 所示,复合胁迫处理对大豆幼苗根的生长形态表现出的抑制作用,大豆幼苗根部出现干皱,卷曲的现象,分叉数与根面积明显减少,而混合菌发酵液能解除复合胁迫造成的毒害现象。

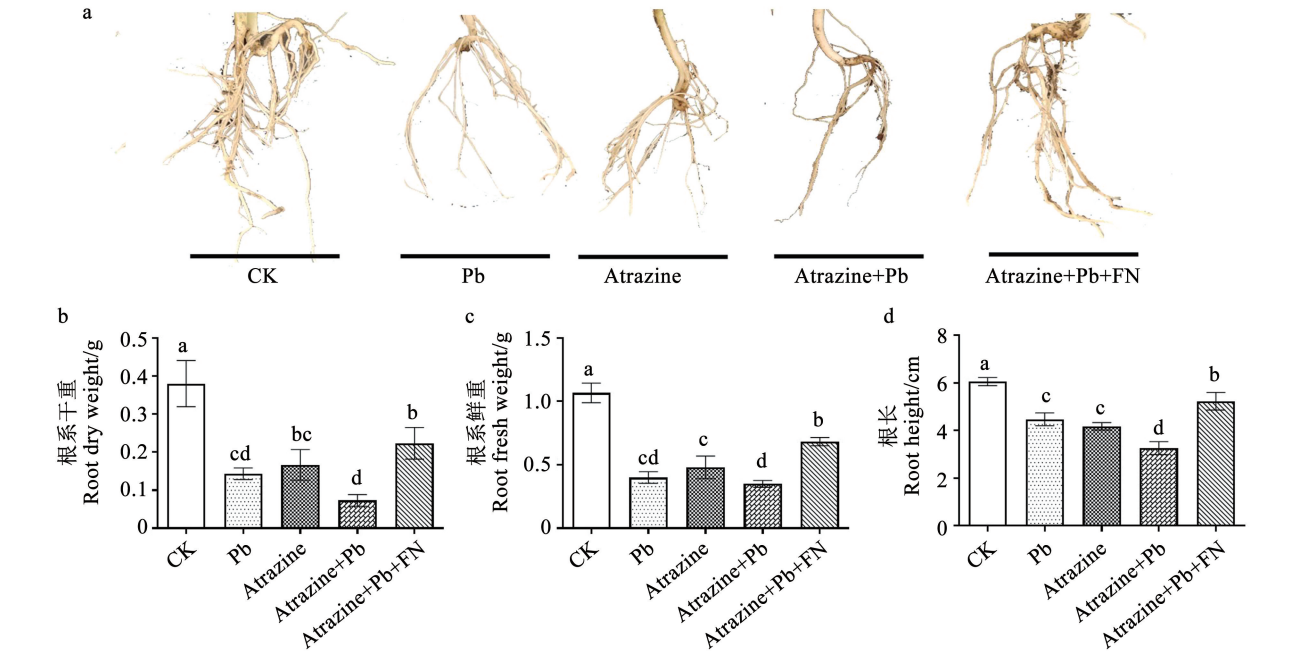


注:不同小写字母表示显著性差异( $P < 0.05$ ); a. 地上部分鲜重; b. 干重; c. 株高。  
Note: Different lowercase indicate significant difference ( $P < 0.05$ ); a. Above ground fresh weight; b. Dry weight; c. Plant height.

图 3  $Pb^{2+}$  和莠去津复合胁迫下 FH-1 和 NJ-1 混合菌发酵液对大豆幼苗生长量的影响  
Fig. 3 Effects of FH-1 and NJ-1 fermentation broth on the growth of soybean seedlings under  $Pb^{2+}$  and atrazine combined stress

如图 4b ~ d 所示,在添加无菌水 (CK) 时,大豆幼苗的根干重、鲜重和根长分别为 0.38 g、1.07 g 和 6.06 cm。与 CK 对比,50  $mg \cdot L^{-1}$   $Pb^{2+}$  胁迫下根干重、鲜重和根长分别减少了 63.16%、62.62% 和 26.24%,均显著降低;1  $mg \cdot L^{-1}$  莠去津胁迫下根干重、鲜重和根长分别降低了 55.26%、55.14% 和 31.02%,表明大豆幼苗的根部干重和鲜重受到来自

$Pb^{2+}$  的抑制作用高于莠去津,从根长抑制来看,两者无显著差异( $P < 0.05$ )。同时添加  $Pb^{2+}$  和莠去津后,大豆幼苗的根部生长形态受到的抑制作用与单一胁迫对比显著加强 ( $P < 0.05$ ),分别减少了 81.58%、67.29% 和 46.04%。而添加混合菌发酵液后明显缓解了  $Pb^{2+}$  与莠去津复合胁迫下对大豆根的毒害影响,分别恢复了 204.55%、33.33% 和 60.20%。



注:不同小写字母表示显著性差异, $P < 0.05$ ; a. 根部形态; b. 干重; c. 鲜重; d. 根长。  
Note: Different lowercase indicate significant difference ( $P < 0.05$ ); a. Root morphology; b. Dry weight; c. Fresh weight; d. Root length.

图 4  $Pb^{2+}$  与莠去津复合胁迫下 FH-1 和 NJ-1 混合菌发酵液对大豆幼苗根系的影响

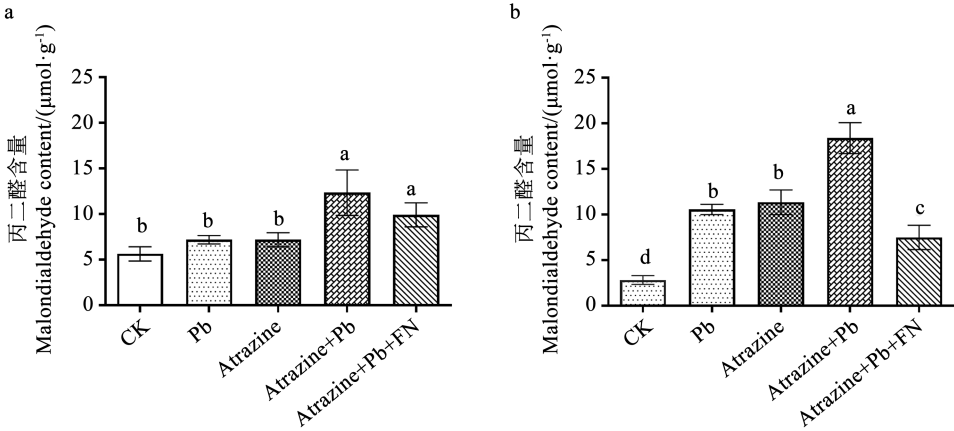
Fig. 4 Effects of FH-1 and NJ-1 on root system of soybean seedlings under combined stress of  $Pb^{2+}$  and atrazine

2.5 复合胁迫下混合菌发酵液对大豆幼苗MDA含量的影响

如图5a和5b所示,CK处理下大豆叶部及根部的MDA含量分别为5.65和2.83  $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 。与CK相比,50  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{Pb}^{2+}$ 胁迫下分别增加了27.42%和272.81%,MDA含量在大豆根部及叶部均出现上升趋势,但叶部变化不显著( $P<0.05$ ),说明 $\text{Pb}^{2+}$ 对大豆幼苗叶部的生长发育破坏程度较小;莠去津胁迫(1  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )下分别上升了27.31%和300.90%,莠去津胁迫对根部的MDA含量影响略高于 $\text{Pb}^{2+}$ 胁迫,但未达到显著差异; $\text{Pb}^{2+}$ 与莠去津复合胁迫下,

分别显著增加了177.63%和549.42% ( $P<0.05$ ),表明复合胁迫对大豆幼苗叶部及根部的伤害程度更深;添加混合菌发酵液后,相较于复合胁迫分别下降了42.32%和59.27%,根部表现出显著差异 ( $P<0.05$ )。

结果表明 $\text{Pb}^{2+}$ 与莠去津复合胁迫污染,对大豆幼苗的叶部和根部细胞均有破坏作用,对其生长发育有明显抑制,而混合菌发酵液可以减低大豆幼苗细胞中MDA含量积累的程度,缓解复合胁迫的毒害作用。同时,试验结果也表明相较于叶部,混合菌发酵液对其根部的修复效应更显著。



注:不同小写字母表示显著性差异( $P<0.05$ ); a. 叶部丙二醛含量; b. 根部丙二醛含量。  
Note: Different lowercase indicate significant difference ( $P<0.05$ ); a. MDA content of leaf; b. MDA content of root.

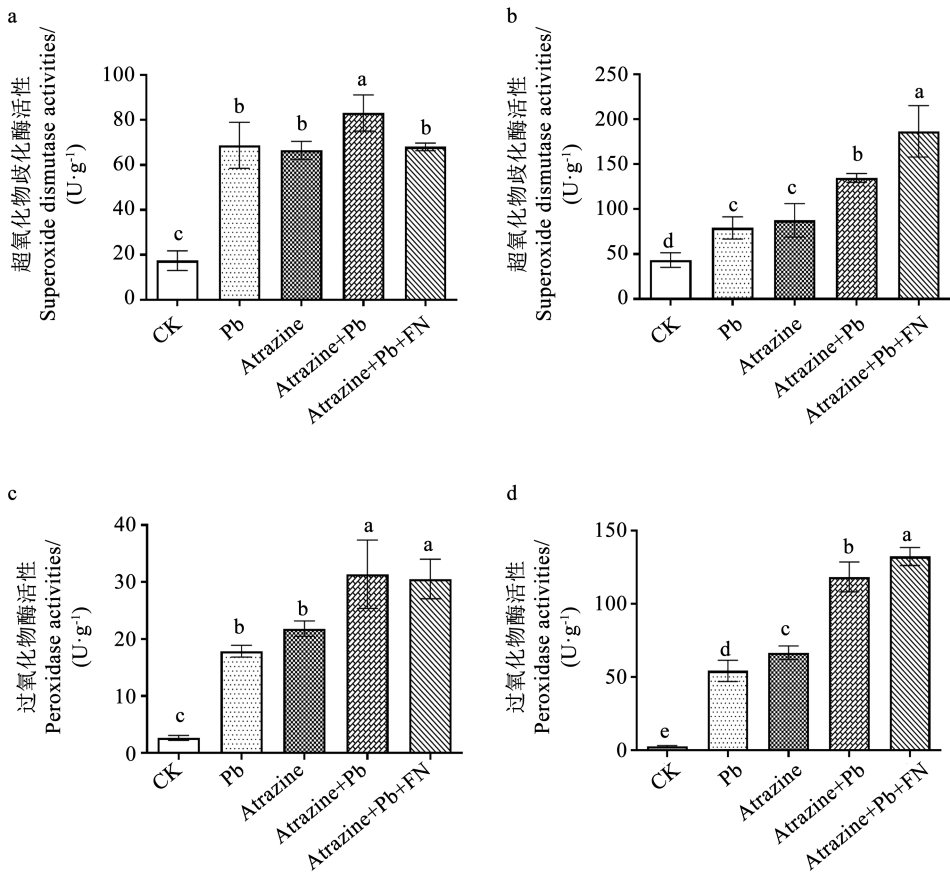
图5  $\text{Pb}^{2+}$ 与莠去津复合胁迫下FH-1和NJ-1混合菌发酵液对大豆幼苗丙二醛的影响  
Fig.5 Effects of FH-1 and NJ-1 on malondialdehyde (MDA) in soybean seedlings under combined stress of  $\text{Pb}^{2+}$  and atrazine

2.6 复合胁迫下混合菌发酵液对大豆幼苗抗氧化酶活性的影响

如图6a和6b所示,CK处理下大豆幼苗的叶部及根部的SOD含量分别为17.44和43.39  $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 。与CK相比,50  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{Pb}^{2+}$ 胁迫下分别增加294.45%和82.51%,呈显著上升的趋势( $P<0.05$ );1  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 莠去津胁迫下SOD活性也呈上升趋势,分别增加281.53%和101.92%; $\text{Pb}^{2+}$ 与莠去津复合胁迫下分别升高了377.03%和210.63%,由此说明复合胁迫比单一胁迫更能引起大豆幼苗叶部和根部的SOD的响应;添加混合菌发酵液后分别提高了221.63%和330.24%,说明在复合胁迫污染的土壤中添加混合菌发酵液,根部比叶部恢复效果更好,并增加了大豆幼苗根部的SOD酶的积累,利于清除由复合胁迫造成的抑制大豆幼苗生长发育的活性氧和自由基。

如图6c和6d所示,CK处理下大豆幼苗的叶部及根部的POD含量分别为2.65和21.85  $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 。与CK相比,50  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{Pb}^{2+}$ 胁迫下分别增加5.75倍和1.48倍,呈上升的趋势;1  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 莠去津胁迫分别增加了7.24倍和2.05倍,也可以引起POD活性的增长;在 $\text{Pb}^{2+}$ 与莠去津复合胁迫下分别升高了10.84倍和4.42倍,说明 $\text{Pb}^{2+}$ 与莠去津复合胁迫下的POD酶活性增长最为显著,且变化幅度大于单一胁迫( $P<0.05$ );添加混合菌发酵液后分别提高了5.63倍和4.75倍。

总体上,大豆幼苗叶片和根部的抗氧化酶变化是 $\text{Pb}^{2+}$ 与莠去津复合胁迫最明显,其次是莠去津胁迫,最后是 $\text{Pb}^{2+}$ 胁迫。而混合菌发酵液缓解 $\text{Pb}^{2+}$ 与莠去津复合胁迫对大豆幼苗的毒害作用可能是由于显著提高了大豆幼苗根部的抗氧化酶活性,从而延缓了植物细胞的衰老。



注:不同小写字母表示显著性差异( $P < 0.05$ ); a. 叶部超氧化物歧化酶活性; b. 根部超氧化物歧化酶活性; c. 叶部过氧化物酶活性; d. 根部过氧化物酶活性。

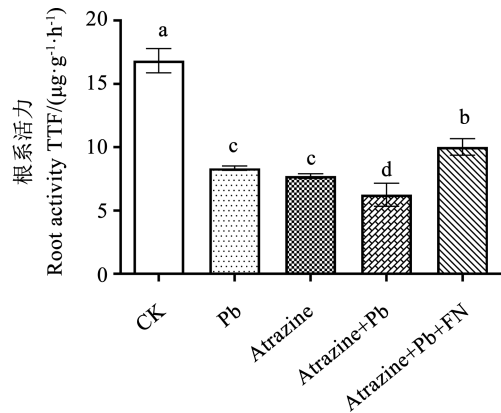
Note: Different lowercase indicate significant difference ( $P < 0.05$ ); a. Leaf position SOD activity; b. Root position SOD activity; c. Leaf position POD activity; d. Root position POD activity.

图 6  $\text{Pb}^{2+}$  与莠去津复合胁迫下 FH-1 和 NJ-1 混合菌发酵液对大豆幼苗抗氧化酶的影响

Fig. 6 Effects of FH-1 and NJ-1 on antioxidant enzymes of soybean seedlings under combined stress of  $\text{Pb}^{2+}$  and atrazine

### 2.7 复合胁迫下混合菌发酵液对大豆幼苗根系活力的影响

如图 7 所示,CK 处理下大豆幼苗的 TTF(根系活力)为  $16.84 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。与 CK 相比, $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Pb}^{2+}$  胁迫下根系活力降低了 50.41%,显著降低了大豆幼苗的根系活力 ( $P < 0.05$ );  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  莠去津胁迫下根系活力减少了 54.15%,也显示出抑制作用,但未表现出显著差异 ( $P < 0.05$ );  $\text{Pb}^{2+}$  与莠去津复合胁迫下根系活力降低了 62.86%,对大豆幼苗的根系活力有极显著影响 ( $P < 0.05$ ),同时复合胁迫下的大豆幼苗的根系活力均显著低于单一胁迫处理,表明复合胁迫对大豆幼苗的根系生长产生的毒害作用更大。 $\text{Pb}^{2+}$  与莠去津复合胁迫下,混合菌发酵液处理促使根系活力恢复了 37.63%。表明混合菌发酵液能提高大豆幼苗复合胁迫下的根系活力,并显著高于复合胁迫下的根系活力 ( $P < 0.05$ ),但未将复合胁迫下幼苗根系活力恢复到非胁迫水平。



注:不同小写字母表示显著性差异( $P < 0.05$ )。

Note: Different lowercase indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

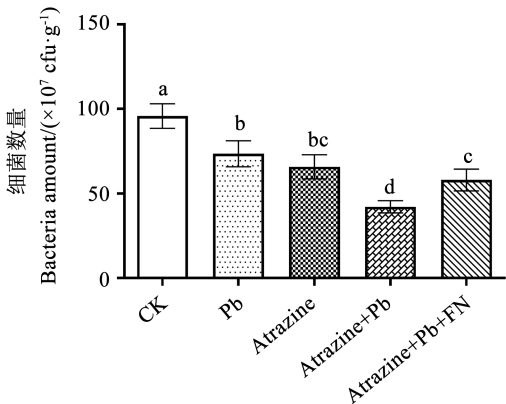
图 7  $\text{Pb}^{2+}$  与莠去津复合胁迫下 FH-1 和 NJ-1 混合菌发酵液对大豆根系活力的影响

Fig. 7 Effects of FH-1 and NJ-1 on root activity of soybean seedlings under combined stress of  $\text{Pb}^{2+}$  and atrazine



2.8 复合胁迫下混合菌发酵液对土壤细菌数量的影响

如图 8 所示,未处理的 CK 土壤中细菌总数为  $9.58 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ ,与 CK 相比, $\text{Pb}^{2+}$  胁迫( $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )下土壤中细菌总数显著降低了 23.30%; $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  莠去津胁迫下,土壤中细菌总数降低了 31.30%; $\text{Pb}^{2+}$  与莠去津复合胁迫下土壤中细菌的数量显著 ( $P < 0.05$ ) 减少了 56.00%,表明  $\text{Pb}^{2+}$  与莠去津复合胁迫对土壤中的细菌数量具有显著的抑制作用。同时,混合菌发酵液处理在一定程度上提高了  $\text{Pb}^{2+}$  与莠去津复合胁迫下土壤中的 37.55% 细菌数量。



注:不同小写字母表示显著性差异, $P < 0.05$ 。  
Note: Different lowercase indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

图 8  $\text{Pb}^{2+}$  与莠去津复合胁迫下 FH-1 和 NJ-1 混合菌发酵液对土壤细菌数量的影响  
Fig. 8 Effects of FH-1 and NJ-1 fermentation broth on soil bacterial population under combined stress of  $\text{Pb}^{2+}$  and atrazine

3 讨论

当前,进入土壤中的环境污染物不再是单一污染的理想状态,农药和重金属作为比较普遍的污染物种类可以对植物产生严重的毒害作用<sup>[30-31]</sup>。有研究表明,在高浓度重金属存在时,微生物受到毒性从而抑制分解代谢基因的表达降低对农药的降解,进而影响降解菌在田间的实际应用效能<sup>[32]</sup>。前期试验研究中发现 在 FH-1 菌株中存在 *atzA*、*atzC*、*trzN*、*trzD* 4 种常见莠去津降解基因,在降解莠去津的过程中存在 AEEO [4,6-双(乙氨基)-1,3,5-三嗪-2(1H)-酮]、MEET [2-羟基-4,6-双(乙氨基)-1,3,5-三嗪] 和 HEIT (2-羟基-4-乙氨基-6-异丙氨基-1,3,5-三嗪) 三种降解产物<sup>[33]</sup>。接下来根据 FH-1 菌株的基因组及在降解莠去津过程的转录组学测定,预测了 4 个降解基因,并验证了 ORFs 3597 编码的

蛋白质 PydC 参与莠去津降解途径中的缩二脲水解<sup>[33]</sup>。田间应用时重金属与莠去津复合胁迫污染土壤下的混合菌对大豆幼苗的修复效果,随着添加  $\text{Pb}^{2+}$  浓度的增长,混合菌对莠去津的降解能力受到抑制。同时在盆栽试验中  $\text{Pb}^{2+}$  与莠去津复合胁迫下对大豆种子以及幼苗的生长量的抑制效果显著大于单一胁迫,说明双重逆境胁迫加剧了大豆体内大量活性氧的产生,引起膜脂过氧化导致生长抑制<sup>[34]</sup>。此外,复合胁迫下对大豆幼苗根长显示出明显的抑制效应,可能是由于复合胁迫导致大豆根尖细胞有丝分裂速度减慢无法正常分裂,抑制其根的伸长<sup>[35]</sup>。但在添加混合菌发酵液后,这些不利的情況得到显著改善,说明混合菌发酵液能够有效缓解  $\text{Pb}^{2+}$  与莠去津对大豆的伤害。

MDA 含量在植物衰老生理和抗性生理研究中是常用的指标,其含量可以反映植物遭受衰老或逆境伤害的程度。超氧化物歧化酶 (SOD) 与过氧化物酶 (POD) 是植物在逆境条件下酶促防御系统的关键酶之一,可以清除体内过剩的自由基,从而提高植物的抗逆性,延缓植物衰老。相关研究表明,外源胁迫会对植物体内的细胞造成氧化损伤,并产生丙二醛 (MDA) 降低植物的代谢功能同时抑制生长<sup>[36]</sup>。植物为了维持细胞的氧化平衡,会通过增强自身的超氧化物歧化酶 (SOD) 以及过氧化物酶 (POD) 的活性消除细胞的氧化应激损伤<sup>[37]</sup>。在  $\text{Pb}^{2+}$  与莠去津复合胁迫的基础上添加混合菌发酵液减低了 MDA 含量并增强了抗氧化酶的活性,激活大豆幼苗自身的抗氧化酶活性,提高了植物细胞清除活性氧的能力,从而维持了植物细胞完整性以缓解复合胁迫的毒害作用,恢复大豆幼苗的部分生长状态<sup>[38]</sup>。值得注意的是,相较于叶部,混合菌发酵液诱导大豆幼苗根部的抗氧化酶系统消除复合胁迫产生的损伤效应更显著。可能是在土壤中的  $\text{Pb}^{2+}$  与莠去津首先接触根部,被大豆根系吸收后才向叶片传导,从而使根部积累的伤害更多,这与已有研究结果一致<sup>[39]</sup>。

混合菌发酵液通过提高根系活力,加强根系代谢的旺盛程度和养分吸收能力来缓解  $\text{Pb}^{2+}$  与莠去津复合胁迫下一系列毒害效应,包括减少吸收和阻碍运输以达到解毒作用<sup>[40]</sup>。土壤微生物种群数量是表征土壤生态系统群落结构和稳定性的重要参数,可以预测土壤环境污染状况的变化过程。已有研究结果表明  $\text{Cd}^{2+}$  和乐果复合处理对土壤细菌平



均抑制率为 50.23%,表现出复合抑制效应<sup>[41]</sup>。试验结果表明,混合菌发酵液有助于恢复 Pb<sup>2+</sup> 与莠去津复合胁迫污染下土壤细菌数量和群落的构建。

4 结论

混合菌发酵液能够与大豆幼苗建立良好的共生关系,促进 Pb<sup>2+</sup> 与莠去津复合胁迫下植物生长,改善植物根系构型,增加根长、提高根系活力。此外,混合菌发酵液还能诱导抗氧化酶活性,增强超氧化物歧化酶(SOD)以及过氧化物酶(POD)的活性消除大豆幼苗细胞中由 Pb<sup>2+</sup> 与莠去津复合胁迫产生的氧化应激损伤,同时恢复土壤中细菌的数量,提高对 Pb<sup>2+</sup> 与莠去津复合胁迫的抗性。因此,将细菌 FH-1 和 NJ-1 的混合发酵液应用于 Pb<sup>2+</sup> 与莠去津复合胁迫污染土壤的修复具有重要的现实意义。同时重金属与农药复合污染对土壤微生物及植物在分子水平上的毒害机理研究,复合污染的剂量——效应过程与机制以及重金属与农药复合污染污染物的浓度水平的组合关系仍待于进一步研究,为制定环境污染防治与治理标准提供科学依据。

参考文献

[1] 杨永猛,陶玉龙,窦华山,等. 农药与重金属复合污染的生态毒理学研究进展[J]. 农药学报, 2021, 23(1): 10-21. (YANG Y M, TAO Y L, DOU H S, et al. Progress in research on ecological toxicity of combined pollution of pesticide and heavy metals[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2021, 23(1): 10-21.)

[2] SONG B, ZENG D, GONG J, et al. Evaluation methods for assessing effectiveness of in situ remediation of soil and sediment contaminated with organic pollutants and heavy metals [J]. Environment International, 2017, 105: 43-55.

[3] 阎晓静. 土壤中吡虫啉与镉单一及复合污染对蚯蚓的毒性效应及其机理[D]. 泰安: 山东农业大学, 2022. (YAN X J. Toxic effects and mechanism of single and combined pollution of imidacloprid and cadmium on earthworms in soil [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2022.)

[4] 刘跃东,刘祥,林伟,等. 甲霜灵与镉复合污染对烟草生长发育及光合性能的影响[J]. 中国烟草科学, 2019, 40(1): 41-48. (LIU Y D, LIU X, LIN W, et al. Combined effects of metalaxyl and cadmium on growth and photosynthetic performance of tobacco [J]. Chinese Tobacco Science, 2019, 40(1): 41-48.)

[5] AWAN S A, KHAN I, RIZWAN M, et al. A new technique for reducing accumulation, transport, and toxicity of heavy metals in wheat (*Triticum aestivum* L.) by bio-filtration of river wastewater [J]. Chemosphere, 2022, 294: 133642.

[6] SHARMA K K, TRIPATHY V, SHARMA K, et al. Long-term monitoring of 155 multi-class pesticide residues in Indian vegetables and their risk assessment for consumer safety[J/OL]. Food Chemistry, 2021, DOI:10.1016/j.foodchem.2021131518.

[7] SINGH N, GUPTA K V, KUMAR A, et al. Synergistic effects of heavy metals and pesticides in living systems [J]. Frontiers in Chemistry, 2017, 5: 70.

[8] ABDEL-WARITH A A, YOUNIS M E, AI-ASGAH N A, et al. Bioaccumulation of lead nitrate in tissues and its effects on hematological and biochemical parameters of *Clarias gariepinus* [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2020, 27: 840-845.

[9] 唐春东,郭兆来,曾铭,等. 重金属镉污染对植物氮代谢影响的研究进展[J]. 环境生态学, 2020, 2(12): 15-22. (TANG C D, GUO Z L, ZENG M, et al. Research progress on the effects of toxic element metal cadmium stress on nitrogen metabolism in plants[J]. Environmental Ecology, 2020, 2(12): 15-22.)

[10] 贺非,李强,徐坚强,等. 烟草重金属的来源、迁移规律及防控措施[J]. 农业工程技术, 2020, 40(23): 95-96. (HE F, LI Q, XU J Q, et al. Origin, migration and control measures of tobacco heavy metals[J]. Agricultural Engineering Technology, 2020, 40(23): 95-96.)

[11] VY A, AKP B. Adsorption of lead ion concentration from the aqueous solution using tobacco leaves [J]. Materials Today: Proceedings, 2021, 37, 489-496.

[12] 陈佳琦. 转 *NiP1C1* 基因烟草对重金属铅和汞的抗性研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学, 2018. (CHEN J Q. Overexpression of the iron transporter *NiP1C1* in tobacco mediates sensitivity to lead and mercury [D]. Harbin: Harbin Normal University, 2018.)

[13] 胡乃华. 大豆异黄酮通过刺激 BEX2/BNIP3/NIX 通路激活线粒体自噬保护 SH-SY5Y 神经元[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(1): 26. (HU N H. Soy isoflavones protect SH-SY5Y neurons by stimulating the BEX2/BNIP3/NIX pathway by activating mitochondrial autophagy[J]. Natural Product Research and Development, 2022, 34(1): 26.)

[14] GIMENEZ C, CABRERA R, REINA M, et al. Fungal endophytes and their role in plant protection[J]. Current Organic Chemistry, 2007,11: 707-720.

[15] 王帅,张子戎,胡涛涛,等. 田间残留阿特拉津对小粒大豆苗期生理影响及抗性品种筛选[J]. 延边大学农学报, 2018, 40(3): 95-101. (WANG S, ZHANG Z X, HU L T, et al. Physiological effects of field residual atrazine on seedlings of small grain soy bean and screening of resistant varieties[J]. Journal of Agricultural Science Yanbian University, 2018, 40(3): 95-101.)

[16] SHU C H, JAISWAL R, PENG Y Y, et al. Improving bioactivities of *Momordica charantia* broth through fermentation using mixed cultures of *Lactobacillus plantarum*, *Gluconacetobacter* sp. and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Process Biochemistry, 2022, 117: 142-152.

[17] GAO N, ZHANG J P, PAN Z Q, et al. Biodegradation of atrazine by mixed bacteria of *Klebsiella variicola* Strain FH-1 and *Arthrobacter* sp. NJ-1 [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2020, 105: 481-489.

[18] ZADEL U, NESME J, MICHALKE B, et al. Changes induced by heavy metals in the plant-associated microbiome of *Miscanthus × giganteus* [J]. Science of The Total Environment, 2019,

711; 134433.

[19] RATH M, MITCHELL T R, GOLD S E. Volatiles produced by *Bacillus mojavensis* RRC101 act as plant growth modulators and are strongly culture-dependent[J]. Microbiological Research, 2018, 208: 76-84.

[20] 唐志远, 王雪玲, 刘可星. 高效油脂降解的复合菌剂构建及降解性能优化[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(7): 269-272. (TANG Z Y, WANG X L, LIU K X. Construction of high-efficiency oil-degrading compound bacteria agent and optimization of degradation performance [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2020, 48(7): 269-272. )

[21] 李锦涛, 杨涵, 陈洋, 等. 降解多菌灵和啉虫脒残留的复合菌剂研发及初步应用[J]. 土壤, 2022, 54(3): 646-652. (LI J T, YANG H, CHEN Y, et al. Development and preliminary application of compound bacterial agent for degrading carbendazim and acetamiprid residues[J]. Soils, 2022, 54(3): 646-652. )

[22] 牛明芬, 刘知远, 李卓坪, 等. 降解毒死蜱的高效复合微生物菌剂的制备及研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(2): 381-385. (NIU M F, LIU Z Y, LI Z P, et al. Preparing and researching the efficient comple microbial community for degradating chlorpyrifos [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2010, 29(2): 381-385. )

[23] 王嘉伟, 彭玉龙, 苟剑渝, 等. 烟草复合微生物菌剂的构建及其促生抗病效应[J]. 安徽农业大学学报, 2023, 50(1): 50-57. (WANG J W, PENG Y L, GOU J Y, et al. Establishment of tobacco composite microorganism agent and its effects on plant growth promotion and disease resistance [J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2023, 50(1): 50-57. )

[24] PAN Z Q, WU Y L, ZHAI Q H, et al. Immobilization of bacterial mixture of *Klebsiella variicola* FH-1 and *Arthrobacter* sp. NJ-1 enhances the bioremediation of atrazine-polluted soil environments [J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1056264.

[25] 翟晓虎, 杨海锋, 陈慧英, 等. 丙二醛的毒性作用及检测技术研究进展[J]. 上海农业学报, 2018, 34(1): 144-148. (ZHAI X H, YANG H F, CHEN H Y, et al. Research progress in the toxicity and determination technology of malondialdehyde [J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2018, 34(1): 144-148. )

[26] 张智超, 高明, 赵昊, 等. 土壤微生物对二氯喹啉酸污染及 *Enterobacter ludwigii* EM1 修复的响应[J]. 河南农业科学, 2022, 51(4): 68-76. (ZHANG Z C, GAO M, ZHAO H, et al. Response of soil microecology to quinclorac contamination and remediation by *Enterobacter ludwigii* EM1 [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2022, 51(4): 68-76. )

[27] 覃楠楠. 外源水杨酸对干旱胁迫下分枝结薯期甘薯植株生理指标的影响[D]. 浙江: 浙江大学, 2020. (QIN N N. Effects of exogenous salicylic acid on physiological indexes of sweet potato plants at branching-tubering stage under drought stress [D]. Zhejiang: Zhejiang University, 2020. )

[28] 高春香, 杨玉辉. 兴安盟水稻不同生育类型品种灌浆后期根系活力和籽粒灌浆特性研究[J]. 中国农学通报, 2020, 36(19): 1-7. (GAO C X, YANG Y H. Root activity and late grain filling characteristics of rice varieties with different growth types in Xing'an league[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2020, 36(19): 1-7. )

[29] QIAN S, CHATTOPADHYAY R, PANCHANATHAN S, et al. A two-stage weighting framework for multi-source domain adaptation

[J]. Advances in Neural Information Processing Systems, 2011, 9: 505-513.

[30] SAINI S, KAUR N, PATI P K. Phytohormones: Key players in the modulation of heavy metal stress tolerance in plants [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 223: 112578.

[31] JAMLA M, KHARE T, JOSHI S, et al. Omics approaches for understanding heavy metal responses and tolerance in plants[J]. Current Plant Biology, 2021, 27: 100213.

[32] CAI J J, ZHOU M H, DU X D, et al. Enhanced mechanism of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid degradation by electrochemical activation of persulfate on Blue-TiO<sub>2</sub> nanotubes anode [J]. Separation and Purification Technology, 2021, 254: 117560.

[33] ZHANG J, LIANG S, WANG X, et al. Biodegradation of atrazine by the novel *Klebsiella variicola* strain FH-1 [J]. Biomed Research International, 2019: 4756579.

[34] YANG S K, YUSOFF K, AJAT M, et al. Combinatorial antimicrobial efficacy and mechanism of linalool against clinically relevant *Klebsiella pneumoniae* [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 635016

[35] 刘晓涵, 李雪利, 王悦霖, 等. 外源添加肉桂醛提高烟草幼苗抵御盐胁迫机理的研究[J]. 中国烟草学报, 2021, 27(4): 59-65. (LIU X H, LI X L, WANG Y L, et al. Mechanism of exogenous cinnamaldehyde additive in enhancing resistance to salt stress for tobacco seedlings[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2021, 27(4): 59-65. )

[36] 丁羽萱, 王尧, 姚羿安, 等. 外源  $\gamma$ -氨基丁酸对发芽大豆酚类物质富集及抗氧化能力的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(13): 72-78. (DING Y X, WANG Y, YAO Y A, et al. Effect of exogenous  $\gamma$ -aminobutyric acid on the accumulation of phenolics and antioxidant capacity in germinated soybean [J]. Food Science, 2021, 42(13): 72-78. )

[37] 张萍, 张金艳. 莠去津的环糊精包合物对稗草幼苗除草效果的影响[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2011, 23(3): 13-15, 23. (ZHANG P, ZHANG J Y. The effect of atrazine cyclodextrin inclusion on barnyard grass seedlings weeding [J]. Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2011, 23(3): 13-15, 23. )

[38] 侯赛赛, 蒲子天, 张弛, 等. 丛枝菌根真菌缓解土壤过量微量元素和重金属对植物毒害的研究进展[J]. 土壤通报, 2023, 54(3): 739-749. (HOU S S, PU Z T, ZHANG C, et al. Research progress in arbuscular mycorrhizal fungi alleviating the toxicity of soil excessive trace elements and heavy metals to plants [J]. Chinese Journal of Soil Science, 2023, 54(3): 739-749. )

[39] 王若男, 乜兰春, 张双双, 等. 植物抗重金属胁迫研究进展[J]. 园艺学报, 2019, 46(1): 157-170. (WANG R N, NIE L C, ZHANG S S, et al. Research progress on plant resistance to heavy metal stress[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2019, 46(1): 157-170. )

[40] YAASHIKAA P R, KUMAR P S, JEEVANANTHAM S, et al. A review on bioremediation approach for heavy metal detoxification and accumulation in plants[J]. Environmental Pollution, 2022, 301: 119035.

[41] OUYANG X, MA J, LI P, et al. Comparison of the effects of large-grained and nano-sized biochar, ferrihydrite, and complexes thereof on Cd and As in a contaminated soil-plant system[J]. Chemosphere, 2021, 280: 130731.