【环境与能源 / Environment and Energy】

重金属镉抗性菌的筛选及促生、修复效果

何欢¹, 谢若兰¹, 丁森旭¹, 余江^{1,2,3}

1) 四川大学建筑与环境学院, 四川成都 610065; 2) 四川大学新能源与低碳技术研究院, 四川成都 610065;

3) 四川大学宜宾产业技术研究院, 四川宜宾 644010

摘要: 为考察微生物-植物联合体系对土壤重金属镉(Cd)污染的修复效果, 通过菌株筛选与盆栽实验, 筛选一株具有较高Cd耐受和促生能力的菌株, 探究植物促生菌对黑麦草富集能力、土壤理化性质和重金属赋存形态的影响。研究结果显示, 伯克霍尔德氏菌株 YXL1 呈淡黄色、杆状、边缘圆滑, 平均长度为 5 μm , 且耐受重金属镉的质量浓度达 250 mg/L。YXL1 产吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)能力为 31.56 mg/L, 产铁载体能力为 0.89, 溶磷能力为 46.18 mg/L。在 YXL1 与黑麦草的联合修复体系中, 土壤的有机质和有效磷质量浓度均显著提高, 分别增加了 4.08 g/kg 和 2.54 mg/kg; 土壤中弱酸可提取态 Cd 和还原态 Cd 的质量分数分别达 16.25% 和 12.53%; 与仅种植黑麦草的对照组相比, 联合修复体系黑麦草的富集 Cd 能力提高了 2.76 倍。研究发现, 以 YXL1 和黑麦草联合修复体系处理 Cd 污染农田土壤, 4 a 后耕作层土壤的 Cd 含量降低到《土壤环境质量农用地土壤污染风险管控标准(试行)》(GB 15618—2018)规定的风险筛选值(0.3 mg/kg)以下, 可实现农用地的安全利用。

关键词: 生物材料; 镉; 镉抗性菌株; 土壤理化性质; 促生特性; 植物萃取; 重金属污染

中图分类号: X53; X172

文献标志码: A

doi: 10.3724/SP.J.1249.2021.04374

Screening of cadmium resistant bacteria and their effects on plant growth promotion and remediation in soil

HE Huan¹, XIE Ruolan¹, DING Senxu¹, and YU Jiang^{1, 2, 3}

1) College of Architecture and Environment, Sichuan University, Chengdu 610065, Sichuan Province, P. R. China

2) Institute of New Energy and Low Carbon Technology, Sichuan University, Chengdu 610065, Sichuan Province, P. R. China

3) Yibin Institute of Industrial Technology, Sichuan University, Yibin 644010, Sichuan Province, P. R. China

Abstract: In order to investigate the remediation effect of the microbial-plant joint system on soil heavy metal Cd pollution, we carry out strain screening and pot experiment to explore the effects of plant growth-promoting bacteria on the accumulation capacity of ryegrass, soil physical and chemical properties and heavy metal speciation. The results show that the microscopic morphology of *Burkholderia* sp. YXL1 is pale yellow, rod-shaped and smooth edge with an average length of 5 μm , and it possesses strong growth-promoting ability and can tolerate cadmium content about 250 mg/L. The capacity of IAA production, siderophore and phosphate-solubilizing substances are 31.56 mg/L, 0.89 and 46.18 mg/L, respectively. In the YXL1-ryegrass joint remediation system, the organic matter and available phosphorus content in the soil are significantly increased by 4.08 g/kg and 2.54 mg/kg, respectively. The

Received: 2020-12-08; **Accepted:** 2021-02-23; **Online (CNKI):** 2021-06-11

Foundation: National Key R & D Program of China (2018YFC1802605); Key Science and Technology Program of Sichuan Province (2017GZ0383, 2017SZ0181); Strategic Cooperation Project of Sichuan University and Yibin City (2019CDYB-26)

Corresponding author: Professor YU Jiang. E-mail: yuj@scu.edu.cn

Citation: HE Huan, XIE Ruolan, DING Senxu, et al. Screening of cadmium resistant bacteria and their effects on plant growth promotion and remediation in soil [J]. Journal of Shenzhen University Science and Engineering, 2021, 38(3): 374-379. (in Chinese)

contents of weak acid extractable Cd and reducible Cd in the soil reach 16.25% and 12.53%, respectively. Compared with the control group, the ability of ryegrass to extract Cd from the soil is 2.76 times higher than that of the ryegrass treatment. The results also show that the Cd content of the cultivated layer soil is below the risk screening value (<0.3 mg/kg) in the Soil Environmental Quality Agricultural Land Soil Pollution Risk Control Standard (GB 15618—2018) to realize the safe use of agricultural land in the YXL1- ryegrass joint remediation system after 4 years.

Key words: biomaterials; Cd; Cd resistant bacteria; soil physicochemical properties; growth-promoting properties; phytoextraction; heavy metal pollution

由于污灌、矿山开采和冶炼等人为活动,重金属镉(Cd)愈来愈多地暴露在环境中。Cd毒性较大,对粮食安全造成了极大危害^[1]。因此,对Cd污染农田的治理与修复已迫在眉睫。

单一重金属修复技术均具有一定局限性,微生物-植物联合修复技术由于成本低和安全绿色等优点,受到广泛关注^[2]。植物促生菌是一种附着于土壤或者植物根际的菌类,近些年来被广泛用于土壤重金属污染修复研究领域^[3]。植物促生菌能够合成植物生长发育所必需物质,增加富集植物生物量,提升植物萃取能力^[4]。另一方面,植物促生菌还可改良土壤肥力,将土壤中氮、磷和钾转换为植物易获取态,提升富集植物对土壤重金属的富集效果^[5]。在实际应用方面,植物促生菌-植物联合修复体系对修复土壤重金属Cd污染方面拥有巨大潜力。MA等^[6-7]报道了植物促生菌能显著增加伴矿景天和香根草对Cd的富集能力。但从矿区周边污染土壤中筛选植物促生菌,探究本土微生物对土壤理化性质和Cd赋存形态的影响却鲜见报道。因此,本研究在中国四川省川南地区某硫铁矿区周边污染农田采集植物根际土壤,以重金属压力培养法及菌株促生特性进行初筛,通过室内盆栽实验,探究所筛选菌株对黑麦草的富集效果,以及对土壤理化性质和Cd赋存形态的影响,以期对Cd污染农用地的修复策略提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验仪器

本实验所用仪器有:UV2350紫外分光光度计(上海-尤尼柯仪器有限公司生产)、LDZX-50KBS高压灭菌锅(上海申安医疗器械厂生产)、HZQ-X500C恒温振荡器(上海一恒科学仪器有限公司生产)、SW-CJ-1FD型单人单面净化工作台(苏州净化设备有限公司生产)、JSM-7500F扫描电子显微镜(日本

捷欧路公司生产)和303-2A电热恒温培养箱(绍兴市严氏风机有限公司生产)。

1.2 培养基的配置及灭菌条件

LB (Luria-Bertani) 培养基(1 L): 胰蛋白胨 10.0 g, 酵母浸出粉 5.0 g, NaCl 10.0 g, 蒸馏水 1 L, pH 值为 7.0~7.4。配制 LB 固体培养基时加入 1.5%~2.0% (质量分数) 琼脂粉。

无铁培养基(1 L): $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.5 g, KH_2PO_4 2.5 g, 甘油 0.5 g, 酪蛋白胨 5.0 g, 蒸馏水 1 L, pH 值为 7.0~7.2。

无机磷培养基(1 L): 葡萄糖 10.0 g, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 5.0 g, MgCl_2 5.0 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.25 g, KCl 0.2 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1 g, 蒸馏水 1 L, pH 值为 7.0。

灭菌条件: 121 °C, 0.155 MPa, 30 min。

1.3 实验土壤及高浓度耐受镉菌株筛选

本实验菌株所用土壤系中国四川省川南地区某硫铁矿区受污染农田土,总镉含量为 3.47 mg/kg,有效态镉含量为 1.30 mg/kg。蒸馏水溶解 3.0 g 原土装于三角瓶后,放置恒温振荡器中 20 min。超净台中接种已灭菌 LB 培养基,接种量为 1.5%。通过测定促生特性及高浓度 Cd 压力培养法^[8],菌株在 Cd 的质量浓度为 250 mg/L 的质量培养基上稳定生长后,采用平板划线法进行分离纯化。保存 1.5 mL 菌液进行细菌种属鉴定。

促生特性的测定: 菌株产吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)的测定参考文献[9]的方法,产铁载体能力测定参考文献[10]的方法,溶磷能力测定参考文献[11]的方法。

生长曲线的测定: 将上述分离纯化后菌液接种于已灭菌 LB 培养基,接种量为 1.0%。依次添加 10 g/L 的 Cd^{2+} 母液,使 LB 培养基中 Cd^{2+} 的质量浓度为 0~250 mg/L,采用 $D(600)$ 值测定微生物生长曲线。

1.4 基因组 DNA 提取和 PCR 扩增

基因组 DNA 用 DP336 试剂盒提取。菌种鉴定

通用引物为 27F (5'-GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-TACGGCTA CCTTGTACGAC-3'). 聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 体系: IS Mix 25 μL , PF (10P) 1 μL , PR (10P) 1 μL , gDNA 1 μL , dH₂O 22 μL . PCR 扩增条件: 98 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 39 个循环 (98 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 15 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 20 s), 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保留. PCR 产物电泳条带切割所需 DNA 目条带, 纯化的 PCR 产物用引物直接测序. 待测菌种送至北京擎科伟业生物技术公司进行测序. 用 NCBI 的 Genbank 进行 Blast 比对, 确定菌株分类.

1.5 实验设计

设计空白对照组 (CK)、YXL1、黑麦草、YXL1 + 黑麦草共 4 个实验组, 每组设置 3 个平行对照组, 共计 12 盆, 每盆装土 1.0 kg, 栽植 50 株黑麦草, 草籽购买自成都绿牧天下科技有限公司.

1.6 样品采集及数据分析

土壤: 黑麦草栽种 45 d 后, 采集根际土壤, 自然风干, 研磨后封存, 测定 pH 值和有机质、速效钾、全氮、有效磷的质量浓度^[12]. 镉赋存形态采用 BCR 连续提取法^[13] 进行测定, 每步结束后采用 0.45 μm 聚醚砜树脂滤头过滤定容至 10 mL 离心管, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存待测.

植物: 黑麦草栽种 45 d 后, 小心采集黑麦草植株样品, 用超纯水洗净, 放入烘箱在 105 $^{\circ}\text{C}$ 杀青 30 min, 70 $^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒重^[14]. 称量测重, 随后加 5 mL 硝酸进行微波消解, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存待测.

重金属: 用 ICP-MS 测定 Cd 含量, 检出限为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

数据分析: 运用 Microsoft Excel 2010 和 SPSS 22.0 进行数据统计分析, OriginPro 10.1 制图.

2 结果与讨论

2.1 促生菌株 (重金属抗性菌) 促生特性分析

IAA 是一种植物活性生长素, 在调节植物生长和缓解重金属胁迫方面有重要作用. SALAZAR 等^[15] 发现 IAA 可以改善植物根系微生态环境, 加强富集植物对土壤重金属的富集能力. 在镉的质量浓度为 250 mg/L 时分离出 7 种菌株, 命名为 YXL1 ~ YXL7. 测定 7 种菌株生产 IAA、铁载体以及溶磷的能力 (表 1). 从表 1 可知, YXL1 生产 IAA 的能力最强, 为 31.56 mg/L , 表明 YXL1 菌株具有较强的促生能力. 当植物根际铁元素含量较少时, 微生

物分泌对 Fe^{3+} 具有较强络合作用的小分子物质, 即铁载体. 铁载体通过与重金属配位、螯和等多种化学作用, 将重金属从土壤中溶出, 转变为植物易提取态^[16]. 在实际应用中, 铁载体能够促进植物对土壤中 Cd 的萃取^[17-18]. 本研究中除 YXL5 外, 其他 6 种菌株的产铁载体能力均大于 0.5, 原因可能是受试土壤周边存在历史遗留硫铁矿矿渣堆体, 从而导致铁元素土壤背景值含量较高, 使得微生物产铁载体能力较弱. 植物促生菌的溶磷能力能够加快土壤中的无机磷向植物易吸收形态转化的进程. KUMAR 等^[19] 发现具有溶磷能力的细菌可以增加小麦产量. YXL1 和 YXL2 有较强溶磷作用, 分别为 46.18 mg/L 和 34.89 mg/L , 表明 YXL1 和 YXL2 具有较强的将土壤中磷转换为植物易获取磷的能力. 通过产 IAA、产铁载体与溶磷能力, 综合筛选出 YXL1 为促生特性最优细菌, 用于开展后续室内盆栽实验.

表 1 菌株促生特性测定结果

Table 1 Results of strains' growth promoting properties

菌株	ρ (IAA)/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	产铁载 体能力	ρ (溶磷)/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
YXL1	31.56 $\pm$ 4.97	0.89 $\pm$ 0.01	46.18 $\pm$ 0.82
YXL2	24.65 $\pm$ 3.18	0.76 $\pm$ 0.03	34.89 $\pm$ 0.48
YXL3	13.79 $\pm$ 3.87	0.84 $\pm$ 0.02	10.38 $\pm$ 0.63
YXL4	16.79 $\pm$ 3.46	0.67 $\pm$ 0.06	16.75 $\pm$ 0.58
YXL5	13.25 $\pm$ 3.98	0.45 $\pm$ 0.02	24.34 $\pm$ 0.73
YXL6	26.16 $\pm$ 2.16	0.92 $\pm$ 0.04	19.85 $\pm$ 0.57
YXL7	19.37 $\pm$ 1.94	0.78 $\pm$ 0.06	12.48 $\pm$ 0.87

2.2 重金属抗性菌的分离、鉴定结果分析

通过高质量浓度 Cd 压力培养法, YXL1 在接种 3 次并稳定生长后, 采用平板划线法进行分离纯化, 于 LB 培养基中发现该菌株呈淡黄色、圆润、有光泽、中间略微隆起, 见图 1 (a). 通过扫描电子显微镜 (scanning electron microscopy, SEM) 发现菌株呈长杆状, 见图 1 (b), 平均长度为 5 μm . 表明高浓度 Cd^{2+} 并未明显改变细胞形态, YXL1 对 Cd^{2+} 具有较强的耐受能力.

国内外已发现多种能够促进植株生长的根际微生物^[20-21], 表明植物促生菌种属对于构建微生物库至关重要. 在 NCBI 的 GenBank 中进行 Blast 比对, 发现 YXL1 与伯克霍尔德氏菌株同源性为 99%, 可确定 YXL1 菌株为伯克霍尔德氏菌. 利用 Neighbor-Joining 方法构建 YXL1 菌株系统发育树, 各节点平均置信度高于 70 (图 2).

图1 YXL1 菌株形态学特征

Fig. 1 YXL1 strain morphological characteristics

图2 基于16S rDNA的YXL1菌株系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of YXL1 based on 16S rDNA

将YXL1以1%接种量接种于100 mL三角瓶中,培养24 h,测定菌株生长曲线(图3)。由图3可见,在0~5 h,YXL1细菌处于适应期,生长速率较为平缓,于5~20 h迅速繁殖,20 h后达到生长稳定期。此外,Cd²⁺对细菌生长具有较强的抑制作用,添加Cd²⁺时D(600)值小于未添加Cd²⁺时,表明Cd²⁺对YXL1生长有较强抑制。当Cd质量浓度大于200 mg/L时,在前11 h培养时期,YXL1生长曲线较为平缓,表明YXL1菌株对高浓度重金属

培养液需要一个适应过程,但11 h后开始迅速分裂繁殖,对Cd²⁺表现出极高的抗逆性和耐受性。

图3 YXL1 菌株在不同Cd²⁺质量浓度下的生长曲线Fig. 3 Growth curve of strain YXL1 under different Cd²⁺ concentration stress

2.3 YXL1 菌株可增强黑麦草对重金属镉的修复效果

土壤的pH值对Cd赋存形态具有决定性作用^[22]。添加YXL1菌株后,土壤的pH值略微增高,但无显著差异。YXL1对黑麦草修复Cd污染土壤效果的影响见表2。由表2可知,与CK组相比,单独施加YXL1时,土壤中有有效磷的质量浓度增加了1.04 mg/kg。与黑麦草联合使用时,土壤有效磷的质量浓度进一步增加,各处理组有效磷的质量浓度分别为CK组的1.12、1.17和1.30倍,由此也验证了YXL1菌株应用在实际盆栽实验中同样具有较高的溶磷能力。此外,YXL1+黑麦草组中的有机质质量浓度显著增加,高达25.05 g/kg,原因是添加YXL1后,土壤酶活性增强,进而土壤有机质含量增加^[23]。微生物与植物共同构成土壤微生态系统,系统内部相互影响、相互作用。在YXL1+黑麦草联合体系中,重金属赋存形态及黑麦草生物量均发生显著变化。与黑麦草对照组相比,YXL1+黑麦草的株高和干质量分别为30.10 cm和1.67 g,分别增加17.12%和49.11%,由此印证了YXL1菌株对黑麦草生长具有显著促进作用。YXL1增加了土壤中重金属Cd的流动性,土壤中弱酸可提取态Cd和还原态Cd分别达到了16.25%和12.53%,提高了黑麦草对重金属的富集能力。

由于黑麦草具有生长周期快,抗外界干扰能力强和耐寒等特点,常作为重金属富集植物用于修复重金属污染土壤。从表2可知,与黑麦草对照组相

比, YXL1 + 黑麦草对植物中 Cd 的富集量达 0.58 mg/kg, 提高了 2.76 倍. 若按照每平方米土地种植 3 000 株黑麦草、每年种植 3 季、耕作层为 0 ~ 20 cm、土壤容重为 1 100 kg/m³ 推算, 春耕种植低积累作物, 冬季休耕时种植黑麦草对土壤中重金属 Cd 进行萃取, 该矿区周边农用地耕作层重金属 Cd 含量在 4 a 后可降低到《土壤环境质量农用地土壤污染风险管控标准 (试行)》(GB 15618—2018) 规定的风险筛选值(0.3 mg/kg) 以下, 从而大大降低重金属 Cd 对人体危害, 实现矿区周边重金属污染农用地的安全利用.

表 2 YXL1 对黑麦草修复 Cd 污染土壤效果的影响

Table 2 Effect of strain YXL1 on remediation of Cd contaminated soil by ryegrass

组别	株高/cm	干质量/g	pH 值	w (总氮)/ (g·kg ⁻¹)
CK	—	—	6.13	1.17
YXL1	—	—	6.17	1.39
黑麦草	25.70	1.12	6.23	1.41
YXL1 + 黑麦草	30.10	1.67	6.37	1.44

组别	w (有机质)/ (g·kg ⁻¹)	w (速效钾)/ (mg·kg ⁻¹)	w (有效磷)/ (mg·kg ⁻¹)	w (弱酸可提取态 Cd)/%
CK	20.97	119.33	8.43	8.56
YXL1	23.39	123.67	9.47	10.42
黑麦草	22.36	125.33	9.90	9.97
YXL1 + 黑麦草	25.05	122.67	10.97	12.53

组别	w (还原态 Cd)/%	w (氧化态 Cd)/%	w (残渣态 Cd)/%	w (植物中镉)/(mg·kg ⁻¹)
CK	46.68	32.61	1.17	—
YXL1	46.11	29.12	1.39	—
黑麦草	43.87	32.85	1.41	0.21
YXL1 + 黑麦草	38.77	32.45	1.44	0.58

3 结 论

1) 通过重金属压力实验以及促进菌筛选实验, 从污染矿区原土中筛选出一株具有较强促生能力且

耐高质量浓度重金属镉的植物促生菌 (重金属抗性菌) *Burkholderia* sp. YXL1.

2) YXL1 与黑麦草联合处理后, 土壤有机质和有效磷含量大幅度提升. 与黑麦草单独处理相比, YXL1 能显著增加黑麦草生物量, 并能将重金属从土壤中溶出, 以提升黑麦草对 Cd 的富集能力.

3) 将 YXL1 + 黑麦草以间套种耕作方式处理重金属镉污染农用地, 测算 4 a 后土壤中 Cd 含量可降低到《土壤环境质量农用地土壤污染风险管控标准 (试行)》(GB 15618—2018) 规定的风险筛选值(0.3 mg/kg) 以下, 表明 YXL1 可作为一种微生物修复材料修复 Cd 污染农田且具有良好应用前景.

基金项目: 国家重点研发计划资助项目 (2018YFC1802605); 四川省科技重点资助项目 (2017GZ0383, 2017SZ0181); 四川大学宜宾市人民政府市校战略合作资助项目 (2019CDYB-26)

作者简介: 何 欢 (1996—), 四川大学硕士研究生. 研究方向: 土壤污染治理与修复. E-mail: 528857401@qq.com

引 文: 何 欢, 谢若兰, 丁森旭, 等. 重金属镉抗性菌的筛选及促生、修复效果[J]. 深圳大学学报理工版, 2021, 38 (3): 374-379.

参考文献 / References:

- [1] ZHAO Fangjie, MA Yibing, ZHU Yongguan, et al. Soil contamination in China: current status and mitigation strategies [J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(2): 750-780.
- [2] KANG C H, KWON Y J, SO J S. Bioremediation of heavy metals by using bacterial mixtures [J]. Ecological Engineering, 2016, 89: 64-69.
- [3] 韩 辉, 王晓宇, 蔡 红, 等. 重金属固定植物促生细菌的筛选及其阻控小麦富集重金属效应[J]. 环境科学, 2019, 40(7): 3339-3346.
HAN Hui, WANG Xiaoyu, CAI Hong, et al. Isolation of heavy metal immobilizing and plant growth-promoting bacteria and its effects on reducing heavy metal accumulation in wheat [J]. Environmental Science, 2019, 40 (7): 3339-3346. (in Chinese)
- [4] WANG Liang, LIN Hai, DONG Yingbo, et al. Isolation of vanadium-resistance endophytic bacterium PRE01 from *Pteris vittata* in stone coal smelting district and characterization for potential use in phytoremediation [J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, 341: 1-9.
- [5] ESTRADA-BONILLA G, DURRER A, CARDOSO E J B N. Use of compost and phosphate-solubilizing bacteria affect sugarcane mineral nutrition, phosphorus availability, and the soil bacterial community [J]. Applied Soil Ecology, 2021, 157: 103760.

- [6] MA Ying, OLIVEIRA R S, NAI Fengjiao, et al. The hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola* harbors metal-resistant endophytic bacteria that improve its phytoextraction capacity in multi-metal contaminated soil [J]. *Journal of Environmental Management*, 2015, 156: 62-69.
- [7] LIU Huakang, XIE Yanluo, LI Junjie, et al. Effect of *Serratia* sp. K3 combined with organic materials on cadmium migration in soil-*Vetiveria zizanioides* L. system and bacterial community in contaminated soil [J]. *Chemosphere*, 2020, 242: 125164.
- [8] 蒋森, 张丹, 支月娥, 等. 强化龙葵富集镉根际促生菌的分离、筛选与鉴定 [J]. *微生物学通报*, 2019, 46(9): 2231-2240.
- JIANG Miao, ZHANG Dan, ZHI Yue'e, et al. Isolation, screening and identification of plant growth promoting rhizobacteria to enrich cadmium accumulation in *Solanum nigrum* L. [J]. *Microbiology China*, 2019, 46(9): 2231-2240. (in Chinese)
- [9] MA Ying, RAJKUMAR M, ZHANG Chang, et al. Inoculation of *Brassica oxyrrhina* with plant growth promoting bacteria for the improvement of heavy metal phyto remediation under drought conditions [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 320: 36-44.
- [10] MA Ying, RAJKUMAR M, ZHANG Chang, et al. Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal phyto remediation [J]. *Journal of Environmental Management*, 2016, 174: 14-25.
- [11] RAJKUMAR M, FREITAS H. Influence of metal resistant-plant growth-promoting bacteria on the growth of *Ricinus communis* in soil contaminated with heavy metals [J]. *Chemosphere*, 2008, 71: 834-842.
- [12] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 86-115.
- BAO Shidan. Analysis of soil and agrochemistry [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 86-115. (in Chinese)
- [13] QUEVAUVILLER P, RAURET G, GRIEPINK B. Single and sequential extraction in sediments and soils [J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1993, 51(1/2/3/4): 231-235.
- [14] 贺玉龙, 余江, 谢世前, 等. 可生物降解螯合剂 GLDA 强化三叶草修复镉污染土壤 [J]. *环境科学*, 2020, 41(2): 979-985.
- HE Yulong, YU Jiang, XIE Shiqian, et al. Enhanced phytoextraction of cadmium contaminated soil by trifolium-repens with biodegradable chelate GLDA [J]. *Environmental Science*, 2020, 41(2): 979-985. (in Chinese)
- [15] SALAZAR J M, RODRIGUEZ H J, CID V C, et al. Auxin effects on Pb phytoextraction from polluted soils by *Tegetes minuta* L. and *Bidens pilosa* L.; extractive power of their root exudates [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, Materials, 311: 63-69.
- [16] YIN Kun, WU Yixuan, WANG Shasha, et al. A sensitive fluorescent biosensor for the detection of copper ion inspired by biological recognition element pyoverdine [J]. *Sensor and Actuators B Chemical*, 2016, 232: 257-63.
- [17] WANG Q, XIONG D, ZHAO P, et al. Effect of applying an arsenic-resistant and plant growth-promoting rhizobacterium to enhance soil arsenic phyto remediation by *Populus deltoides* LH05-17 [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2011, 111(5): 1065-1074.
- [18] DIMKPA C O, MERTEN D, ALE S, et al. Metal-induced oxidative stress impacting plant growth in contaminated soil is alleviated by microbial siderophores [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41: 154-62.
- [19] KUMAR A, MAURYA B R, RAGHUWANSHI R. Isolation and characterization of PGPR and their effect on growth, yield and nutrient content in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2014, 3(4): 121-128.
- [20] TRUYENS S, JAMBON I, CROES S, et al. The effect of longterm Cd and Ni exposure on seed endophytes of *Agrostis capillaris* and their potential application in phyto remediation of metal-contaminated soils [J]. *International Journal Phytoremediation*, 2014, 16: 643-659.
- [21] TAGHAVI S, GARAFOLA C, MONCHY S, et al. Genome survey and characterization of endophytic bacteria exhibiting a beneficial effect on growth and development of poplar trees [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75: 748-57.
- [22] 郭晓方, 卫泽斌, 许田芬, 等. 不同 pH 值混合螯合剂对土壤重金属淋洗及植物提取的影响 [J]. *农业工程学报*, 2011, 27(7): 96-100.
- GUO Xiaofang, WEI Zebin, XU Tianfen, et al. Effects of mixture of chelating agents with different pH values on phytoextraction and heavy metals removal [J]. *Transactions of the CSAE*, 2011, 27(7): 96-100. (in Chinese)
- [23] 莫雪, 陈斐杰, 游冲, 等. 黄河三角洲不同植物群落土壤酶活性特征及影响因子分析 [J]. *环境科学*, 2020, 41(2): 895-904.
- MO Xue, CHEN Feijie, YOU Chong, et al. Characteristics and factors of soil enzyme activity for different plant communities in Yellow River Delta [J]. *Environmental Science*, 2020, 41(2): 895-904. (in Chinese)

【中文责编: 坪梓; 英文责编: 远鹏】