

不同根瘤菌菌株对 Cu 和 Cd 污染土壤中苜蓿的影响

郝思迪¹, 王 振¹, 董官勇², 万益帆¹, 邓 静¹, 胥思印¹, 田 鸿¹, 余秀梅^{1,①}

(1. 四川农业大学资源学院, 四川 成都 611130; 2. 苍溪县猕猴桃产业发展局, 四川 广元 628499)

摘要: 为了探明不同根瘤菌菌株对 Cu 和 Cd 污染土壤中苜蓿 (*Medicago sativa* Linn.) 的影响, 对 Cu 和 Cd 污染土壤中 (质量分数分别为 20 和 2 mg · kg⁻¹) 接种根瘤菌菌株 SM14-3、SM3-2、SM1 和 SM13-2 后苜蓿的生长指标、主要营养元素含量和相应重金属含量进行了比较, 并对这些指标进行了 Pearson 相关性分析。结果表明: Cu 和 Cd 污染土壤中, 未接种根瘤菌但施氮 (阳性对照) 的苜蓿地上和地下部 Cu 和 Cd 含量均显著 ($P < 0.05$) 低于未接种根瘤菌且不施氮 (阴性对照), 生长指标及地上和地下部 N 和 P 含量多显著高于阴性对照, 而地上和地下部 K 含量多低于阴性对照。Cu 污染土壤中, 接种 SM14-3、SM3-2 和 SM1 的苜蓿地上和地下部 Cu 含量均显著低于阴性对照, 接种 4 个根瘤菌菌株的苜蓿株高、根长、单株地上和地下部干质量、地上和地下部 N 和 P 含量以及地下部 K 含量多显著高于阴性对照。Cd 污染土壤中, 接种 SM14-3 的苜蓿地上和地下部 Cd 含量以及接种 SM3-2 和 SM1 的苜蓿地上部 Cd 含量均显著低于阴性对照; 接种 4 个根瘤菌菌株的苜蓿单株地上和地下部干质量多显著高于阴性对照; 接种 SM14-3 的苜蓿地上和地下部 N、P、K 含量均显著低于阴性对照, 而接种 SM3-2、SM1 和 SM13-2 的苜蓿地上和地下部 N、P、K 含量变化各异。比较来看, Cu 和 Cd 污染土壤中, 接种 SM14-3 和 SM3-2 的苜蓿各指标总体上表现较好。相关性分析结果表明: 地上部指标中, Cu 含量与 N 含量、P 含量和株高分别呈极显著 ($P < 0.01$) 负相关、显著正相关和显著负相关, Cd 含量与株高呈显著负相关; 地下部指标中, Cd 含量与单株地下部干质量和根长呈极显著负相关。研究结果显示: 供试根瘤菌菌株对 Cu 和 Cd 污染土壤中苜蓿的生长总体上有促进作用, 并在一定程度上阻隔苜蓿对土壤中 Cu 和 Cd 的吸收, 其中, SM14-3 和 SM3-2 的作用突出, 可作为 Cu 和 Cd 污染土壤中苜蓿高效、安全生产的备选菌株。

关键词: 苜蓿; 根瘤菌; 重金属污染土壤; 相关性分析; 共生固氮

中图分类号: Q948.1; S551⁺.7 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2024)04-0030-09

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2024.04.04

Effects of different rhizobial strains on *Medicago sativa* in Cu- and Cd-contaminated soil HAO Sidi¹, WANG Zhen¹, DONG Guanyong², WAN Yifan¹, DENG Jing¹, XU Siyin¹, TIAN Hong¹, YU Xiumei^{1,①} (1. College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2. Cangxi Kiwifruit Industry Development Bureau, Guangyuan 628499, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2024, 33(4): 30–38, 49

Abstract: In order to investigate the effects of different rhizobial strains on *Medicago sativa* Linn. in Cu- and Cd-contaminated soil, the growth indexes, major nutrient element contents, and corresponding heavy metal contents of *M. sativa* inoculated with rhizobial strains SM14-3, SM3-2, SM1, and SM13-2 in Cu- and Cd-contaminated soil (mass fractions of 20 and 2 mg · kg⁻¹ respectively) were compared, and the Pearson correlation analysis was conducted for these indexes. The results show that in Cu- and Cd-contaminated soil, the Cu and Cd contents in above- and under-ground parts of *M. sativa* uninoculated with rhizobia but applied with nitrogen (positive control) are both significantly ($P < 0.05$) lower than those of *M. sativa* uninoculated with rhizobia and not applied with nitrogen (negative control), the growth

收稿日期: 2024-02-01

基金项目: 四川省科技成果转化示范项目 (2022ZHCG0030); 成都市科技项目 (2023-YF08-00004-SN); 德阳市重点研发项目 (2022NZ015)

作者简介: 郝思迪 (2003—), 女, 四川达州人, 本科, 主要从事重金属污染土壤的生物修复研究。

①通信作者 E-mail: xiumeiyu@sicau.edu.cn

引用格式: 郝思迪, 王 振, 董官勇, 等. 不同根瘤菌菌株对 Cu 和 Cd 污染土壤中苜蓿的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2024, 33(4): 30–38, 49.

indexes and the N and P contents in above- and under-ground parts are mostly significantly higher than those of the negative control, while the K contents in above- and under-ground parts are mostly lower than those of the negative control. In Cu-contaminated soil, the Cu contents in above- and under-ground parts of *M. sativa* inoculated with SM14-3, SM3-2, and SM1 are all significantly lower than those of the negative control, and the plant height, root length, dry masses of above- and under-ground parts per plant, N and P contents in above- and under-ground parts, and K content in under-ground part of *M. sativa* inoculated with four rhizobial strains are mostly significantly higher than those of the negative control. In Cd-contaminated soil, the Cd contents in above- and under-ground parts of *M. sativa* inoculated with SM14-3, as well as the Cd content in above-ground part of *M. sativa* inoculated with SM3-2 and SM1, are all significantly lower than those of the negative control; the dry masses of above- and under-ground parts per plant of *M. sativa* inoculated with four rhizobial strains are mostly significantly higher than those of the negative control; the N, P, and K contents in above- and under-ground parts of *M. sativa* inoculated with SM14-3 are significantly lower than those of the negative control, while the N, P, and K contents in above- and under-ground parts of *M. sativa* inoculated with SM3-2, SM1, and SM13-2 show different variations. In comparison, in Cu- and Cd-contaminated soil, the indexes of *M. sativa* inoculated with SM14-3 and SM3-2 are generally better. The correlation analysis result shows that among indexes of above-ground part, Cu content shows an extremely significant ($P < 0.01$) negative correlation, a significant positive correlation, and a significant negative correlation with N content, P content, and plant height respectively, Cd content shows a significant negative correlation with plant height; among indexes of under-ground part, Cd content shows extremely significant negative correlations with dry mass of under-ground part per plant and root length. It is suggested that the test rhizobial strains have promoting effects on the growth of *M. sativa* in Cu- and Cd-contaminated soil in general, and hinder the absorption of Cu and Cd in soil by *M. sativa* to a degree, in which, SM14-3 and SM3-2 exhibit the prominent effects, and they can be used as candidate strains for efficient and safe production of *M. sativa* in Cu- and Cd-contaminated soil.

Key words: *Medicago sativa* Linn.; rhizobium; heavy metal contaminated soil; correlation analysis; symbiotic nitrogen fixation

重金属污染具有残留期长、不可逆、转移量小、毒性大、隐蔽性、化学性质复杂等特点,为土壤污染中最严重的问题^[1]。根据2014年公布的《全国土壤污染状况调查公报》^[2],国内土壤Cd和Cu的点位超标率分别为7.0%和2.1%。Cd不仅是一种非必需元素,而且是一种潜在的有毒重金属元素,较低浓度的Cd就可以影响植物的生长和生理生化过程^[3]。另外,Cd的毒害作用不仅表现在植物上,还会通过植物的吸收、转运和富集作用,进入食物链,从而进入人体,威胁人类的身体健康^[4]。Cu是植物生长发育过程中的一种必需微量元素,能够参与植物体内的多个生理生化反应,但土壤中Cu含量过高会对植物造成一定的毒害作用^[5]。因此,在Cd和Cu污染土壤中种植植物时,必须考虑植物产量及植物吸收和积累重金属的状况。

苜蓿(*Medicago sativa* Linn.)又名紫花苜蓿、紫苜蓿,为豆科(Fabaceae)多年生宿根草本植物,其耐盐能力较强,能与根瘤菌共生固氮,还能克服Cu、Cd、Cr等重金属污染土地极度贫瘠的生存条件(C、N、P等

营养元素含量极低)^[6]。研究发现,根瘤菌可直接螯合、沉淀、转化、吸附和积累重金属^[7],还可通过磷溶解、植物激素合成、铁载体释放、产生对植物有益的化合物等生理过程促进植物生长,同时降低植物体内的重金属含量^[8],增强植物在重金属污染造成的贫瘠土地中的抗逆性^[9]。刘忆等^[10]发现,紫花苜蓿与中华根瘤菌(*Sinorhizobium medicae* Chen)共生不但能够提高紫花苜蓿的产量,还能够增加根瘤数量;魏勇等^[11]认为,中华根瘤菌可促进紫花苜蓿生长,提高紫花苜蓿的产量。然而,关于不同重金属污染土壤中哪些根瘤菌菌株能够促进苜蓿的生长尚不清楚,不利于在重金属污染土壤中利用苜蓿-根瘤菌共生体系促进苜蓿高效生长。

鉴于此,本研究对Cu和Cd污染土壤中接种不同根瘤菌菌株后苜蓿的生长指标、主要营养元素(N、P、K)含量及相应重金属含量进行了比较,并对这些指标进行了Pearson相关性分析,以期探明不同根瘤菌菌株对Cu和Cd污染土壤中苜蓿的影响,为应用根瘤菌提高Cu和Cd污染土壤中苜蓿的高效种植提

供理论依据,并为重金属污染土地资源的高效利用与管理提供技术支持。

1 材料和方法

1.1 材料

实验用根瘤菌菌株分别为 SM14-3、SM3-2、SM1 和 SM13-2,其中,SM14-3 和 SM13-2 均属于慢生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium* Jordan), SM3-2 属于根瘤菌属 (*Rhizobium* Frank), SM1 属于中华根瘤菌属 (*Sinorhizobium* Chen)。供试的所有根瘤菌菌株均采用胡蓝方等^[12]的方法分离纯化获得,保存于-80℃冰箱中。

实验用苜蓿种子为苜蓿品种‘甘农9号’(‘Gannong No. 9’)的成熟种子,购于成都市温江区花木交易市场。

1.2 方法

1.2.1 根瘤菌菌悬液制备 将保存的根瘤菌菌株活化,使用无菌 YMA 液体培养基在 28℃ 条件下 $150\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡培养至对数中期,用无菌水将菌悬液稀释到 $1 \times 10^8\text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$,备用。

1.2.2 实验设计 用 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 模拟 Cu 污染土壤,用 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 模拟 Cd 污染土壤。为避免元素干扰,栽培用土壤均采用蛭石。根据预实验结果,设置土壤中 Cu 和 Cd 的质量分数分别为 20 和 $2\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。未添加 Cu 和 Cd 的土壤以及 Cu 和 Cd 污染土壤各设置 6 个处理组,即接种不同根瘤菌菌株的 4 个处理组(均不施氮)、未接种根瘤菌但施氮的处理组(阳性对照)以及未接种根瘤菌且不施氮的处理组(阴性对照)。其中,不施氮处理组使用无氮的 Hoagland 营养液,施氮处理组使用正常的 Hoagland 营养液。无氮和正常的 Hoagland 营养液均参照鲁一薇等^[13]的方法配制。

参照陈小芳等^[14]的方法将苜蓿种子进行消毒:先用体积分数 0.5% 的 NaClO 溶液浸泡 10 min,再用自来水冲洗 3 次,最后用蒸馏水冲洗 3 次。消毒完毕后,将种子置于无菌水湿润的滤纸上,室温发芽后分别移栽到装有 Cu 和 Cd 污染土壤的花盆(直径 20 cm、高 25 cm)中,每盆 4 kg 污染土壤。待苜蓿幼苗长出土表约 3 cm 时,接种根瘤菌菌液,每盆 100 mL。将花盆移到室外,定期浇水并补充相应的营养液。每盆 5 株,每个处理组 3 盆,视为 3 个重复。

3 个月后,观察接种根瘤菌的各处理组苜蓿植株,发现所有植株的根系均已形成根瘤;同时,取样测定相关指标。

1.2.3 生长指标测定 在不同处理组的每个盆中各取 3 株完整的苜蓿植株,用蒸馏水将植株冲洗干净后,吸干表面水分,使用直尺(精度 1 mm)测量株高(根颈至最高分枝处的距离)及主根长(根颈至根尖的距离);随后,将每个植株的地上和地下部分开,先于 105℃ 杀青 30 min,再于 80℃ 烘干至恒质量,然后使用电子天平(精度 0.01 g)分别称量单株地上和地下部的干质量。

1.2.4 营养指标测定 将烘干的地上和地下部分别研磨成粉末,过 60 目筛,各称取 0.3 g 样品粉末,采用浓 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 消解法^[15]进行消解,消煮液冷却后定容至 100 mL,过滤,滤液用于 N、P、K 含量测定。其中,N 含量测定采用凯氏定氮法^[16],P 含量测定采用钼锑抗比色法^[17],K 含量测定采用火焰光度法^[18]。每个处理组苜蓿地上和地下部的 N、P、K 含量均重复测定 3 次,结果取平均值。

1.2.5 Cu 和 Cd 含量测定 参照康占军等^[19]的方法测定 Cu 污染土壤中苜蓿地上和地下部的 Cu 含量以及 Cd 污染土壤中苜蓿地上和地下部的 Cd 含量。分别称取各处理组苜蓿地上和地下部样品粉末 0.5 g,使用混酸溶液 [$V(\text{HNO}_3) : V(\text{HClO}_4) = 4 : 1$] 进行消解,待消煮液冷却后定容至 50 mL;采用等离子体质谱法(ICP-MS)测定地上和地下部的 Cu 和 Cd 含量。每个处理组苜蓿地上和地下部的 Cu 和 Cd 含量均重复测定 3 次,结果取平均值。

1.3 数据统计与分析

采用 EXCEL 2016 软件对相关数据进行整理、计算和分析;采用 IBM SPSS Statistics 22 软件中的 Duncan's 新复极差法进行单因素方差分析;采用 Origin 2021 软件中的 Pearson 法对 Cu 和 Cd 污染土壤中苜蓿的相应重金属含量、生长指标和营养元素含量之间的相关性进行分析。

2 结果和分析

2.1 不同根瘤菌菌株对 Cu 和 Cd 污染土壤中苜蓿生长的影响

检测结果(表 1)表明:无论土壤有无重金属污染,未接种根瘤菌但施氮(阳性对照)的苜蓿株高、根

长及单株地上和地下部干质量均高于未接种根瘤菌且不施氮(阴性对照),并且多存在显著差异($P < 0.05$)。

无重金属污染土壤中,接种 SM14-3 的苜蓿株高及单株地上和地下部干质量均显著高于阴性对照,增幅分别为 117.95%、43.87%和 43.81%,而根长却略低于阴性对照;接种 SM3-2 的苜蓿株高、根长及单株地上和地下部干质量均显著高于阴性对照,增幅分别为 73.94%、57.36%、227.10%和 310.48%;接种 SM1 的苜蓿根长略低于阴性对照,而株高及单株地上和地下部

干质量则显著高于阴性对照,增幅分别为 38.43%、90.32%和 151.43%。与阳性对照相比,接种 SM14-3 的苜蓿株高显著升高(增幅为 73.85%),根长和单株地下部干质量略降低,单株地上部干质量显著降低;接种 SM1 的苜蓿株高和单株地上部干质量略升高,根长显著降低,单株地下部干质量显著升高(增幅为 43.48%);接种 SM3-2 的苜蓿株高、根长及单株地上和地下部干质量均显著升高,增幅分别为 38.75%、45.71%、79.15%和 134.24%;而接种 SM13-2 的苜蓿 4 个生长指标均显著降低。

表 1 不同根瘤菌菌株对 Cu 和 Cd 污染土壤中苜蓿生长指标的影响($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 1 Effects of different rhizobial strains on growth indexes of *Medicago sativa* Linn. in Cu- and Cd-contaminated soil ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

处理 Treatment			株高/cm Plant height	根长/cm Root length	单株地上部干质量/g Dry mass of above-ground part per plant	单株地下部干质量/g Dry mass of under-ground part per plant
重金属污染 Heavy metal contamination	菌株 Strain	施氮情况 Nitrogen application				
*	SM14-3	-	34.37±1.36a	19.60±1.25bc	2.23±0.09c	1.51±0.17c
*	SM3-2	-	27.43±3.01b	33.47±1.10a	5.07±0.37a	4.31±0.40a
*	SM1	-	21.83±2.26c	19.53±1.39c	2.95±0.14b	2.64±0.31b
*	SM13-2	-	12.50±2.29e	13.49±1.20d	1.33±0.15d	0.57±0.07e
*	—	+	19.77±1.95cd	22.97±0.90b	2.83±0.25b	1.84±0.02c
*	—	-	15.77±2.57de	21.27±3.18bc	1.55±0.37d	1.05±0.12d
20 mg · kg ⁻¹ Cu	SM14-3	-	16.93±1.10bc	30.00±2.51a	4.33±0.20a	3.96±0.57a
20 mg · kg ⁻¹ Cu	SM3-2	-	14.86±0.95d	19.86±0.25bc	1.90±0.02c	2.03±0.17b
20 mg · kg ⁻¹ Cu	SM1	-	21.51±1.10a	28.87±1.89a	2.34±0.39b	2.23±0.15b
20 mg · kg ⁻¹ Cu	SM13-2	-	15.37±1.18cd	19.80±0.26bc	1.37±0.25d	1.19±0.10c
20 mg · kg ⁻¹ Cu	—	+	17.07±0.31b	20.17±0.76b	1.01±0.10de	0.80±0.03cd
20 mg · kg ⁻¹ Cu	—	-	14.11±0.30d	17.05±1.15c	0.72±0.06e	0.62±0.05d
2 mg · kg ⁻¹ Cd	SM14-3	-	9.97±1.05b	9.80±0.46d	0.55±0.03bc	0.35±0.03c
2 mg · kg ⁻¹ Cd	SM3-2	-	10.20±0.40b	17.46±2.45b	0.31±0.01d	0.38±0.02c
2 mg · kg ⁻¹ Cd	SM1	-	8.26±1.47bc	12.70±1.10c	0.33±0.04cd	0.35±0.03c
2 mg · kg ⁻¹ Cd	SM13-2	-	7.30±1.00c	10.37±1.52cd	0.33±0.02cd	0.34±0.03c
2 mg · kg ⁻¹ Cd	—	+	21.90±1.49a	24.83±1.60a	2.69±0.26a	1.53±0.40a
2 mg · kg ⁻¹ Cd	—	-	8.54±0.25bc	11.54±0.75cd	0.76±0.09b	0.75±0.06b

¹⁾ *: 无重金属污染 No heavy metal contamination; —: 未接种根瘤菌 Uninoculated with rhizobia; -: 不施氮 Not applied with nitrogen; +: 施氮 Applied with nitrogen. 同列中不同小写字母表示相同重金属污染土壤中苜蓿同一指标在不同根瘤菌菌株间差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant differences ($P < 0.05$) in the same index of *M. sativa* between different rhizobial strains in the same heavy metal contaminated soil.

Cu 污染土壤中,接种 4 个根瘤菌菌株的苜蓿株高、根长及单株地上和地下部干质量均高于阴性对照,且多存在显著差异。其中,接种 SM14-3 的苜蓿根长及单株地上和地下部干质量最高,分别较阴性对照升高了 75.95%、501.39%和 538.71%;接种 SM1 的苜蓿株高最高,较阴性对照升高了 52.45%。与阳性对照相比,接种 SM14-3 的苜蓿株高略降低,接种 SM3-2 和 SM13-2 的苜蓿株高显著降低,而接种 SM1

的苜蓿株高显著升高(增幅为 26.01%);接种 SM14-3 和 SM1 的苜蓿根长显著升高,增幅分别为 48.74%和 43.13%,而接种 SM3-2 和 SM13-2 的苜蓿根长略降低;接种 SM14-3、SM3-2 和 SM1 的苜蓿单株地上和地下部干质量均显著升高,其中接种 SM14-3 的苜蓿单株地上和地下部干质量增幅最大,分别为 328.71%和 395.00%,而接种 SM13-2 的苜蓿单株地上和地下部干质量均略升高。

Cd 污染土壤中,接种 SM14-3 和 SM3-2 的苜蓿株高略高于阴性对照,而接种 SM1 和 SM13-2 的苜蓿株高略低于阴性对照;接种 SM14-3 和 SM13-2 的苜蓿根长略低于阴性对照,而接种 SM3-2 和 SM1 的苜蓿根长分别显著高于和略高于阴性对照;接种上述 4 个根瘤菌菌株的苜蓿单株地上和地下部干质量基本上显著低于阴性对照。与阳性对照相比,接种 4 个根瘤菌菌株的苜蓿株高、根长及单株地上和地下部干质量均显著降低。

比较而言, Cu 污染土壤中接种 SM14-3 和

SM13-2 的苜蓿生长指标多高于无重金属污染土壤中相应处理的苜蓿植株,而 Cu 污染土壤中接种 SM3-2 和 SM1 的苜蓿生长指标多低于无重金属污染土壤中相应处理的苜蓿植株。

2.2 不同根瘤菌菌株对 Cu 和 Cd 污染土壤中苜蓿氮、磷、钾含量的影响

检测结果(表 2)表明:无论土壤有无重金属污染,未接种根瘤菌但施氮(阳性对照)苜蓿地上和地下部 N 和 P 含量多高于未接种根瘤菌且不施氮(阴性对照),而 K 含量多低于阴性对照。

表 2 不同根瘤菌菌株对 Cu 和 Cd 污染土壤中苜蓿 N、P、K 含量的影响($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 2 Effects of different rhizobial strains on N, P, and K contents in *Medicago sativa* Linn. in Cu- and Cd-contaminated soil ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

处理 Treatment	菌株 Strain	施氮情况 Nitrogen application	N 含量/(mg · kg ⁻¹) N content		P 含量/(mg · kg ⁻¹) P content		K 含量/(mg · kg ⁻¹) K content	
			地上部 Above-ground part	地下部 Under-ground part	地上部 Above-ground part	地下部 Under-ground part	地上部 Above-ground part	地下部 Under-ground part
重金属污染 Heavy metal contamination	SM14-3	-	9.87±0.31d	11.11±0.23a	2.28±0.09c	1.56±0.15ab	2.99±0.15a	1.45±0.20a
	SM3-2	-	13.42±1.49c	9.13±0.31c	2.43±0.10bc	1.42±0.15b	2.30±0.06b	1.35±0.11ab
	SM1	-	15.36±1.01b	10.29±0.54b	2.66±0.06a	1.41±0.11b	2.30±0.06b	0.96±0.15c
	SM13-2	-	20.93±0.25a	4.90±0.43d	2.35±0.11bc	0.36±0.06d	2.37±0.20b	0.34±0.06d
	—	+	14.28±0.65bc	10.02±0.06bc	2.50±0.09ab	1.83±0.29a	2.89±0.11a	0.96±0.06c
	—	-	13.14±0.29c	9.89±0.09bc	1.94±0.10d	0.83±0.11c	2.96±0.10a	1.09±0.17bc
20 mg · kg ⁻¹ Cu	SM14-3	-	13.83±1.93b	9.87±0.14b	1.87±0.11d	1.50±0.20ab	1.94±0.06b	1.29±0.10b
20 mg · kg ⁻¹ Cu	SM3-2	-	13.29±0.28b	8.19±0.09c	2.29±0.08ab	1.40±0.30ab	2.07±0.10b	1.25±0.11b
20 mg · kg ⁻¹ Cu	SM1	-	15.92±0.14a	7.73±0.31c	2.44±0.02a	1.74±0.11a	2.37±0.10a	1.94±0.06a
20 mg · kg ⁻¹ Cu	SM13-2	-	13.37±0.17b	11.41±0.88a	2.40±0.04a	1.58±0.18ab	1.94±0.15b	1.22±0.06b
20 mg · kg ⁻¹ Cu	—	+	15.89±0.74a	9.56±0.42b	2.07±0.14c	1.31±0.13b	2.53±0.06a	0.63±0.15c
20 mg · kg ⁻¹ Cu	—	-	11.01±0.90c	2.58±0.31d	2.20±0.12bc	0.87±0.03c	2.50±0.11a	0.70±0.10c
2 mg · kg ⁻¹ Cd	SM14-3	-	9.87±0.09c	1.85±0.15e	1.50±0.08d	0.51±0.05d	1.58±0.10e	0.24±0.06e
2 mg · kg ⁻¹ Cd	SM3-2	-	20.23±0.38a	10.30±0.45a	2.19±0.10b	0.97±0.14c	3.51±0.20a	1.02±0.06b
2 mg · kg ⁻¹ Cd	SM1	-	10.77±0.89c	10.77±0.20a	2.49±0.06a	2.30±0.07a	2.99±0.15c	1.45±0.15a
2 mg · kg ⁻¹ Cd	SM13-2	-	10.42±0.22c	5.26±0.30d	1.87±0.10c	1.12±0.19c	3.32±0.06ab	0.66±0.06d
2 mg · kg ⁻¹ Cd	—	+	15.19±0.89b	8.87±0.66b	2.10±0.17bc	1.38±0.10b	2.30±0.11d	0.80±0.17cd
2 mg · kg ⁻¹ Cd	—	-	15.79±0.22b	7.11±0.68c	2.34±0.17ab	1.05±0.10c	3.10±0.06ab	0.96±0.11bc

¹⁾ *: 无重金属污染 No heavy metal contamination; —: 未接种根瘤菌 Uninoculated with rhizobia; -: 不施氮 Not applied with nitrogen; +: 施氮 Applied with nitrogen. 同列中不同小写字母表示相同重金属污染土壤中苜蓿同一指标在不同根瘤菌菌株间差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant differences ($P < 0.05$) in the same index of *M. sativa* between different rhizobial strains in the same heavy metal contaminated soil.

无重金属污染土壤中,接种 SM14-3 的苜蓿地上部 N 含量显著 ($P < 0.05$) 低于阴性对照,地下部 N 含量以及地上和地下部 P 和 K 含量均高于阴性对照,且多存在显著差异;接种 SM3-2 的苜蓿地上部 N 含量、地上和地下部 P 含量以及地下部 K 含量均高于阴性对照,但仅地上和地下部 P 含量存在显著差异,而地下部 N 含量和地上部 K 含量分别略低于和显著低于阴性对照;接种 SM1 的苜蓿地上和地下部 N 和

P 含量均高于阴性对照,且多存在显著差异,而地上和地下部 K 含量则分别显著低于和略低于阴性对照;接种 SM13-2 的苜蓿地上部 N 和 P 含量显著高于阴性对照,而地下部 N 和 P 含量以及地上和地下部 K 含量均显著低于阴性对照。与阳性对照相比,接种 4 个根瘤菌菌株的苜蓿地上和地下部 P 含量和地上部 K 含量总体上降低,且地下部 P 含量和地上部 K 含量多存在显著差异。

Cu 污染土壤中,接种 4 个根瘤菌菌株的苜蓿地上和地下部 N 和 P 含量以及地下部 K 含量多显著高于阴性对照,而地上部 K 含量多显著低于阴性对照。与阳性对照相比,接种 4 个根瘤菌菌株的苜蓿地上部 N 和 K 含量总体上显著降低,地上部 P 含量和地下部 K 含量总体上显著升高(其中接种 SM1 的 2 个指标增幅最大,分别为 17.87% 和 207.94%),地下部 P 含量也升高,但差异多不显著。

Cd 污染土壤中,接种 SM14-3 的苜蓿地上和地下部 N、P 和 K 含量均显著低于阴性对照;接种 SM3-2 的苜蓿地上和地下部 N 含量显著高于阴性对照,增幅分别为 28.12% 和 44.87%,P 含量略低于阴性对照,K 含量略高于阴性对照;接种 SM1 的苜蓿地上部 N 和 K 含量显著低于阴性对照,而地下部 N 和 K 含量以及地上和地下部 P 含量均高于阴性对照,且多存在显著差异;接种 SM13-2 的苜蓿地上和地下部 N 含量、地上部 P 含量以及地下部 K 含量均显著低于阴性对照,而地下部 P 含量和地上部 K 含量略高于阴性对照。与阳性对照相比,接种 SM14-3、SM1 和 SM13-2 的苜蓿地上部 N 含量显著降低,接种 SM3-2、SM1 和 SM13-2 的苜蓿地上部 K 含量显著升高;接种 SM14-3 和 SM13-2 的苜蓿地下部 N 和 K 含量以及地上部 P 含量均降低,而接种 SM3-2 和 SM1 的苜蓿上述 3 个指标均升高,且多存在显著差异。

相较于无重金属污染土壤中接种相应根瘤菌菌株的苜蓿,Cu 污染土壤中,接种 SM14-3 的苜蓿地上部 N 含量升高了 40.12%,接种 SM1 的苜蓿地上部 N 含量、地下部 P 含量以及地上和地下部 K 含量分别升高了 3.65%、23.40%、3.04% 和 102.08%,接种 SM13-2 的苜蓿地下部 N 含量、地上和地下部 P 含量以及地下部 K 含量分别升高了 132.86%、2.13%、338.89% 和 258.82%;Cd 污染土壤中,接种 SM3-2 的苜蓿地上和地下部 N 含量以及地上部 K 含量分别升高了 50.75%、12.81% 和 52.61%,接种 SM1 的苜蓿地下部 N 和 P 含量以及地上和地下部 K 含量分别升高了 4.66%、63.12%、30.00% 和 51.04%,接种 SM13-2 的苜蓿地下部 N 和 P 含量以及地上和地下部 K 含量分别升高了 7.35%、211.11%、40.08% 和 94.12%。

2.3 不同根瘤菌菌株对 Cu 和 Cd 污染土壤中苜蓿相应重金属含量的影响

检测结果(表 3)表明:在无重金属污染土壤中苜蓿的地上和地下部均未检测到 Cd 和 Cu;而在 Cu 污染土壤中苜蓿的地上和地下部均检测到 Cu,并在 Cd 污染土壤中苜蓿的地上和地下部均检测到 Cd。在 Cu 和 Cd 污染土壤中,未接种根瘤菌但施氮(阳性对照)的苜蓿地上和地下部的 Cu 和 Cd 含量均显著 ($P<0.05$) 低于未接种根瘤菌且不施氮(阴性对照)。

Cu 污染土壤中,接种 SM14-3 的苜蓿地上和地

表 3 不同根瘤菌菌株对 Cu 和 Cd 污染土壤中苜蓿相应重金属含量的影响 ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

Table 3 Effects of different rhizobial strains on corresponding heavy metal contents in *Medicago sativa* Linn. in Cu- and Cd-contaminated soil ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

处理 Treatment			Cu 含量/(mg · kg ⁻¹) Cu content		Cd 含量/(mg · kg ⁻¹) Cd content	
重金属污染 Heavy metal contamination	菌株 Strain	施氮情况 Nitrogen application	地上部 Above-ground part	地下部 Under-ground part	地上部 Above-ground part	地下部 Under-ground part
20 mg · kg ⁻¹ Cu	SM14-3	-	2.64±0.27c	10.89±0.72e		
20 mg · kg ⁻¹ Cu	SM3-2	-	4.03±0.72b	15.14±3.09cd		
20 mg · kg ⁻¹ Cu	SM1	-	3.93±0.28b	17.15±1.39c		
20 mg · kg ⁻¹ Cu	SM13-2	-	5.35±0.92a	30.13±1.98a		
20 mg · kg ⁻¹ Cu	—	+	3.29±0.44bc	12.98±1.41de		
20 mg · kg ⁻¹ Cu	—	-	6.19±1.07a	26.14±1.59b		
2 mg · kg ⁻¹ Cd	SM14-3	-			1.34±0.07c	12.42±0.24e
2 mg · kg ⁻¹ Cd	SM3-2	-			1.21±0.11c	17.40±3.22bc
2 mg · kg ⁻¹ Cd	SM1	-			1.69±0.48c	19.34±0.31b
2 mg · kg ⁻¹ Cd	SM13-2	-			3.87±0.31a	30.00±0.07a
2 mg · kg ⁻¹ Cd	—	+			1.12±0.28c	4.89±1.53f
2 mg · kg ⁻¹ Cd	—	-			2.77±0.84b	14.82±0.48cd

¹⁾ —: 未接种根瘤菌 Uninoculated with rhizobia; -: 不施氮 Not applied with nitrogen; +: 施氮 Applied with nitrogen. 同列中不同小写字母表示相同重金属污染土壤中苜蓿同一指标在不同根瘤菌菌株间差异显著 ($P<0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant differences ($P<0.05$) in the same index of *M. sativa* between different rhizobial strains in the same heavy metal contaminated soil.

下部 Cu 含量均最低,且显著低于阴性对照;接种 SM3-2 和 SM1 的苜蓿地上和地下部 Cu 含量也显著低于阴性对照;接种 SM13-2 的苜蓿地上部 Cu 含量略低于阴性对照,但地下部 Cu 含量显著高于阴性对照。与阳性对照相比,接种 SM14-3 的苜蓿地上和地下部 Cu 含量均降低,但差异不显著;接种 SM3-2、SM1 和 SM13-2 的苜蓿地上和地下部 Cu 含量均升高,其中,接种 SM1 的苜蓿地下部 Cu 含量以及接种 SM13-2 的苜蓿地上和地下部 Cu 含量显著升高。

Cd 污染土壤中,接种 SM14-3 的苜蓿地上和地下部 Cd 含量均显著低于阴性对照;接种 SM3-2 的苜蓿地上部 Cd 含量显著低于阴性对照,而地下部 Cd 含量略高于阴性对照;接种 SM1 的苜蓿地上部 Cd 含量也显著低于阴性对照,而地下部 Cd 含量显著高于阴性对照;接种 SM13-2 的苜蓿地上和地下部 Cd 含量均最高,且显著高于阴性对照,增幅分别为 39.71% 和 102.43%。与阳性对照相比,接种 SM14-3、SM3-2

和 SM1 的苜蓿地上部 Cd 含量均升高,但差异不显著;而接种这 3 个根瘤菌菌株的苜蓿地下部 Cd 含量以及接种 SM13-2 的苜蓿地上和地下部 Cd 含量均显著升高。

2.4 相关性分析

2.4.1 Cu 污染土壤中苜蓿指标间的相关性分析 对 Cu 污染土壤中苜蓿体内 Cu、N、P、K 含量及相关生长指标进行相关性分析,结果(表 4)表明:苜蓿地上部各指标中,Cu 含量与 N 含量呈极显著($P<0.01$)负相关,与 P 含量呈显著($P<0.05$)正相关,并与株高呈显著负相关;P 含量与株高呈显著负相关;K 含量与单株地上部干质量呈显著负相关;单株地上部干质量还与株高呈极显著正相关。苜蓿地下部各指标中,P 含量与 N 含量、K 含量和根长呈极显著正相关,与单株地下部干质量呈显著正相关;K 含量还与单株地下部干质量呈显著正相关,与根长呈极显著正相关;单株地下部干质量还与根长呈极显著正相关。

表 4 Cu 污染土壤中苜蓿各指标间的相关系数¹⁾

Table 4 Correlation coefficients between indexes of *Medicago sativa* Linn. in Cu-contaminated soil¹⁾

指标 Index	地上部指标间的相关系数 Correlation coefficient between indexes of above-ground part					
	Cu 含量 Cu content	N 含量 N content	P 含量 P content	K 含量 K content	单株干质量 Dry mass per plant	株高 Plant height
Cu 含量 Cu content	1.00					
N 含量 N content	-0.65 **	1.00				
P 含量 P content	0.50 *	0.16	1.00			
K 含量 K content	-0.25	0.28	0.02	1.00		
单株干质量 Dry mass per plant	-0.43	0.20	-0.39	-0.56 *	1.00	
株高 Plant height	-0.51 *	0.25	-0.56 *	-0.35	0.93 **	1.00
指标 Index	地下部指标间的相关系数 Correlation coefficient between indexes of under-ground part					
	Cu 含量 Cu content	N 含量 N content	P 含量 P content	K 含量 K content	单株干质量 Dry mass per plant	根长 Root length
Cu 含量 Cu content	1.00					
N 含量 N content	-0.41	1.00				
P 含量 P content	-0.44	0.74 **	1.00			
K 含量 K content	-0.08	0.27	0.76 **	1.00		
单株干质量 Dry mass per plant	-0.42	0.35	0.52 *	0.51 *	1.00	
根长 Root length	-0.42	0.37	0.62 **	0.67 **	0.85 **	1.00

¹⁾ *: $P<0.05$; **: $P<0.01$.

2.4.2 Cd 污染土壤中苜蓿指标间的相关性分析 对 Cd 污染土壤中苜蓿体内 Cd、N、P、K 含量及相关生长指标进行相关性分析,结果(表 5)表明:苜蓿地上部各指标中,Cd 含量与株高呈显著负相关;K 含量与 N 含量和 P 含量呈显著正相关;株高还与单株地上部

干质量呈显著正相关。苜蓿地下部各指标中,Cd 含量与单株地下部干质量和根长呈极显著负相关性;N 含量与 P 含量、K 含量和根长呈极显著正相关;P 含量与 K 含量也呈极显著正相关;单株地下部干质量与根长呈显著正相关。

表 5 Cd 污染土壤中苜蓿各指标间的相关系数¹⁾
Table 5 Correlation coefficients between indexes of *Medicago sativa* Linn. in Cd-contaminated soil¹⁾

指标 Index	地上部指标间的相关系数 Correlation coefficient between indexes of above-ground part					
	Cd 含量 Cd content	N 含量 N content	P 含量 P content	K 含量 K content	单株干质量 Dry mass per plant	株高 Plant height
Cd 含量 Cd content	1.00					
N 含量 N content	-0.31	1.00				
P 含量 P content	0.39	0.24	1.00			
K 含量 K content	0.39	0.48 *	0.84 *	1.00		
单株干质量 Dry mass per plant	-0.36	0.19	-0.32	-0.31	1.00	
株高 Plant height	-0.53 *	0.26	-0.36	-0.30	0.94 *	1.00

指标 Index	地下部指标间的相关系数 Correlation coefficient between indexes of under-ground part					
	Cd 含量 Cd content	N 含量 N content	P 含量 P content	K 含量 K content	单株干质量 Dry mass per plant	根长 Root length
Cd 含量 Cd content	1.00					
N 含量 N content	-0.06	1.00				
P 含量 P content	0.12	0.72 **	1.00			
K 含量 K content	0.083	0.92 **	0.70 **	1.00		
单株干质量 Dry mass per plant	-0.67 **	0.23	0.06	0.05	1.00	
根长 Root length	-0.61 **	0.54 **	0.18	0.31	0.78 *	1.00

¹⁾ * : $P<0.05$; ** : $P<0.01$.

3 讨论和结论

研究发现,根瘤菌不但能够促进豆科植物生长,部分根瘤菌还能有效阻隔豆科植物吸收和富集土壤中的重金属元素^[20],缓解重金属胁迫造成的毒害作用^[21-22],并且,不同根瘤菌对豆科植物体内重金属含量的影响不同^[23]。在 Cu 污染土壤中,与未接种根瘤菌且不施氮(阴性对照)相比,接种 SM14-3、SM3-2 和 SM1 能显著降低苜蓿地上部和地下部 Cu 含量,而接种 SM13-2 对苜蓿地上部 Cu 含量的降低效果不明显,甚至提高了苜蓿地下部的 Cu 含量,比较来看,SM14-3 对苜蓿吸收土壤中 Cu 的阻隔作用最佳,SM3-2 和 SM1 次之,SM13-2 的阻隔作用最差。在 Cd 污染土壤中,接种 SM14-3、SM3-2 和 SM1 能显著降低苜蓿地上部 Cd 含量,接种 SM14-3 能显著降低苜蓿地下部 Cd 含量,而接种 SM3-2 和 SM1 能显著提高苜蓿地下部 Cd 含量,接种 SM13-2 能显著提高苜蓿地上部和地下部 Cd 含量,比较来看,SM14-3 对苜蓿吸收土壤中 Cd 的阻隔作用最佳,SM3-2 和 SM1 仅对苜蓿地上部 Cd 含量提高有一定抑制作用,而 SM13-2 则促进苜蓿对土壤中 Cd 的吸收。说明不同根瘤菌菌株对苜蓿吸收土壤中重金属的能力影响不

同^[24]。另外,Cu 和 Cd 污染土壤中,接种根瘤菌的苜蓿地下部 Cu 和 Cd 含量均明显高于地上部,说明根瘤菌与苜蓿的共生体系能够促使重金属在苜蓿根部聚集^[25],这可能是因为根瘤菌的细胞壁富含羧基阴离子和磷酸阴离子,易结合环境中的活性金属阳离子^[26]。

株高、根长和干质量是表征苜蓿基本生长状况的重要指标。接种根瘤菌后,豆科植物的根部能形成具有固氮能力的根瘤,从而改善植物的生长性能,促进植物根系的生长和发育^[27]。在 Cu 污染土壤中,接种 SM14-3、SM13-2、SM3-2、SM1 的苜蓿株高、根长及单株地上和地下部干质量总体上高于阴性对照,说明苜蓿与根瘤菌共生固氮可以促进 Cu 污染土壤中苜蓿的生长,提高苜蓿的产量。研究发现,植物通过增加根长的方式在重金属污染较少的深层土壤中获取营养,从而缓解重金属污染对植物的毒害作用^[28],这可能是 Cu 污染土壤中接种根瘤菌的苜蓿生长指标提高的主要原因。但是,在 Cd 污染土壤中,接种 4 个根瘤菌菌株的苜蓿单株地上和地下部干质量总体上较阴性对照显著降低,说明接种这 4 个根瘤菌菌株后 Cd 污染土壤中的苜蓿受到更大的伤害。

相关研究表明:接种不同根瘤菌后,豆科植物的共生固氮效率完全不同^[29]。本研究结果显示:在 Cu

和 Cd 污染土壤中,苜蓿与 4 个根瘤菌菌株的共生固氮效率存在一定差异。Cu 污染土壤中,接种 SM14-3、SM13-2、SM3-2、SM1 的苜蓿地上和地下部 N 含量均显著高于阴性对照,说明这 4 个根瘤菌菌株对苜蓿地上和地下部 N 含量具有显著促进作用。Cd 污染土壤中,仅接种 SM3-2 的苜蓿地上和地下部 N 含量以及接种 SM1 的苜蓿地下部 N 含量显著高于阴性对照,说明在 Cd 污染土壤中,SM3-2 与苜蓿的共生体系具有较强的固氮能力,而 SM1 仅对苜蓿地下部 N 含量有显著促进作用。Hu 等^[30]认为,豆科植物在固氮过程中需要三磷酸腺苷(ATP)和磷酸盐的参与,由此推断,P 在苜蓿生长发育过程中十分重要。Cu 污染土壤中,接种 4 个根瘤菌菌株的苜蓿地上和地下部 P 含量总体上显著高于阴性对照,说明在 Cu 污染土壤中,这 4 个根瘤菌菌株对苜蓿体内 P 含量的升高有促进作用。Cd 污染土壤中,仅接种 SM1 的苜蓿地上和地下部 P 含量显著高于阴性对照,接种 SM14-3、SM13-2、SM3-2 的苜蓿地上和地下部 P 含量总体上均低于阴性对照,说明 SM1 能够显著促进苜蓿体内 P 含量的升高。师尚礼等^[31]发现,K 能够促进苜蓿根瘤菌的形成和生长,提高苜蓿的固氮效率和光合速率。Cu 污染土壤中,接种 4 个根瘤菌菌株的苜蓿地下部 K 含量显著高于阴性对照,说明这 4 个根瘤菌菌株对苜蓿结瘤及固氮能力有明显的促进作用。Cd 污染土壤中,仅接种 SM3-2 的苜蓿地上和地下部 K 含量高于阴性对照,接种 SM1 的苜蓿地下部 K 含量和接种 SM13-2 的苜蓿地上部 K 含量均高于阴性对照,说明 4 个根瘤菌菌株中,仅 SM3-2 能够同时促进苜蓿地上和地下部 K 含量的升高。总体来说,在 Cu 和 Cd 污染土壤中,SM3-2 能够促进苜蓿体内 N、P、K 含量的提高。

N、P、K 等大量营养元素的供应具有缓解植物重金属胁迫的作用^[32]。相关性分析结果表明:Cu 和 Cd 污染土壤中苜蓿地上和地下部的 N 含量与 Cu 和 Cd 含量均呈负相关,说明苜蓿体内 N 含量增加可有效降低苜蓿体内的重金属水平。苜蓿体内的 Cu 和 Cd 含量与株高、根长和单株干质量均呈负相关,其中,地上部 Cu 和 Cd 含量均与株高呈显著负相关,地下部 Cd 含量还与根长和单株地下部干质量呈极显著负相关,这是因为在植物生长过程中,污染土壤中的 Cu 和 Cd 容易被植物根系吸收,并被转运至地上部,从而破坏植物的细胞和组织,影响植物的正常生长发

育,阻碍植物质量、株高和根长增长^[33]。Cu 和 Cd 污染土壤中,苜蓿地上和地下部 N 含量与苜蓿单株干质量、株高和根长均呈正相关,并且,苜蓿地上和地下部的 N、P、K 含量与部分生长指标呈显著或极显著相关性,说明植株的 N、P、K 含量能够直接影响苜蓿的生长。

总体来看,SM14-3、SM3-2、SM1、SM13-2 可不同程度降低污染土壤中苜蓿体内的 Cu 和 Cd 含量,并促进苜蓿生长,SM14-3 和 SM3-2 还对苜蓿体内 N、P、K 含量提高有较好的促进效果。因此,可将 SM14-3 和 SM3-2 作为 Cu 和 Cd 污染土壤中苜蓿高效、安全生产的备选菌株。

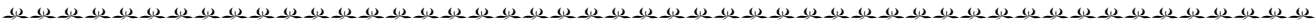
参考文献:

- [1] ZHANG Q, WANG C. Natural and human factors affect the distribution of soil heavy metal pollution: a review[J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2020, 231: 350.
- [2] 环境保护部,国土资源部. 全国土壤污染状况调查公报[EB/OL]. (2014-04-17) [2024-02-01]. https://www.gov.cn/foot/2014-04/17/content_2661768.htm?eqid=fa805cea0004841600000036472ffc7.
- [3] YANG S, ZU Y, LI B, et al. Response and intraspecific differences in nitrogen metabolism of alfalfa (*Medicago sativa* L.) under cadmium stress[J]. *Chemosphere*, 2019, 220: 69-76.
- [4] 叶文玲,吴凡,方清,等. 外源钙对镉胁迫下植物生长及耐镉机制研究[J]. *安徽农业大学学报*, 2020, 47(2): 237-242.
- [5] BRUN L A, MAILLET J, HINSINGER P, et al. Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils[J]. *Environmental Pollution*, 2001, 111(2): 293-302.
- [6] 孟跃辉,倪文,张玉燕. 我国尾矿综合利用发展现状及前景[J]. *中国矿山工程*, 2010, 39(5): 4-9.
- [7] 刘晓青,曹卫红,周卫红,等. 农田土壤重金属污染的生物修复技术研究现状、问题及展望[J]. *天津农业科学*, 2017, 24(2): 80-85.
- [8] JACH M E, SAJNAGA E, ZIAJA M. Utilization of legume-nodule bacterial symbiosis in phytoremediation of heavy metal-contaminated soils[J]. *Biology*, 2022, 11: 676.
- [9] NONNOI F, CHNNASWAMY A, DE LA TORRE V S G, et al. Metal tolerance of rhizobial strains isolated from nodules of herbaceous legumes (*Medicago* spp. and *Trifolium* spp.) growing in mercury-contaminated soils[J]. *Applied Soil Ecology*, 2012, 61: 49-59.
- [10] 刘忆,袁玲. 根瘤菌和 AM 真菌对紫花苜蓿结瘤和产质量的影响[J]. *土壤学报*, 2020, 57(5): 1292-1298.
- [11] 魏勇,吴茜茜,李应德,等. AM 真菌和根瘤菌对紫花苜蓿生长及其营养价值的影响[J]. *草业科学*, 2020, 37(6): 1115-1123.

(下转第 49 页 Continued on page 49)

续附表 1 Supplementary table 1 (Continued)

缺素处理 Element deficiency treatment	微量元素浓度/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) Microelement concentration								
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	H_3BO_3	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	MoO_3	KI	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
CK	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10
N	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10
P	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10
K	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10
Ca	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10
Mg	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10
S	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10
Fe			100.00	100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10
Mn	100.00	100.00	100.00		30.00	0.10	1.18	5.00	0.10
Cu	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00		1.18	5.00	0.10
Zn	100.00	100.00	100.00	100.00		0.10	1.18	5.00	0.10
B	100.00	100.00		100.00	30.00	0.10	1.18	5.00	0.10
Mo	100.00	100.00	100.00	100.00	30.00	0.10		5.00	0.10



(上接第 38 页 Continued from page 38)

- [12] 胡蓝方,李艳梅,沈 甜,等. 攀枝花钒钛磁铁尾矿土壤中苜蓿根瘤菌的多样性与促生效应[J]. 四川农业大学学报, 2019, 37(4): 504–510.
- [13] 鲁一薇,崔纪菡,郭 帅,等. 缺氮胁迫对谷子幼苗生长发育的影响[J]. 中国农业大学学报, 2022, 27(3): 18–25.
- [14] 陈小芳,于德花,宁 凯,等. 盐胁迫下苜蓿种质资源萌发特性综合评价[J]. 草地学报, 2017, 25(5): 1115–1125.
- [15] 王 新,贾永锋. 紫花苜蓿对土壤重金属富集及污染修复的潜力[J]. 土壤通报, 2009, 40(4): 932–935.
- [16] 李亚静,郭振清,杨 敏,等. 施氮量对强筋小麦氮素积累和氮肥农学利用效率的影响[J]. 麦类作物学报, 2020, 40(3): 343–350.
- [17] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 270.
- [18] 彭莉润,谢昶琰,刘慧冉,等. 不同梨砧木幼苗钾营养效率的差异[J]. 南京农业大学学报, 2018, 41(3): 465–472.
- [19] 康占军,岑 静,宋明义,等. 浙北水稻植株中硒及重金属元素分布特征[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(7): 349–351.
- [20] 黑泽文,向慧敏,章家恩,等. 豆科植物修复土壤重金属污染研究进展[J]. 生态科学, 2019, 38(3): 218–224.
- [21] PACHECO-INSAUTI M C, PONCE I T, QUIÑONES M A, et al. Effects of inoculation with stress-tolerant rhizobia on the response of alfalfa (*Medicago sativa* L.) to combined salinity and cadmium stress[J]. Plants, 2023, 12: 3972.
- [22] 马占强,赵龙飞,王 莉,等. 铜胁迫对苜蓿中华根瘤菌抗氧化酶系的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(6): 1058–1063.
- [23] 韦革宏,马占强. 根瘤菌-豆科植物共生体系在重金属污染环境修复中的地位、应用及潜力[J]. 微生物学报, 2010, 50(11): 1421–1430.
- [24] MANOJ S R, KARTHIK C, KADIRVELU K, et al. Understanding the molecular mechanisms for the enhanced phytoremediation of heavy metals through plant growth promoting rhizobacteria: a review [J]. Journal of Environment Management, 2020, 254: 109779.
- [25] CHEN J, LIU Y Q, YAN X W, et al. Rhizobium inoculation enhances copper tolerance by affecting copper uptake and regulating the ascorbate-glutathione cycle and phytochelatin biosynthesis-related gene expression in *Medicago sativa* seedlings [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 162: 312–323.
- [26] 黄益宗,郝晓伟,雷 鸣,等. 重金属污染土壤修复技术及其修复实践[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(3): 409–417.
- [27] HERRIDGE D F, PEOPLES M B, BODDEY R M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems [J]. Plant Soil, 2008, 311: 1–18.
- [28] 张春雨,王海娟,王宏镔. 赤霉素介导下植物对重金属的耐性机理[J]. 生态与农村环境学报, 2020, 36(2): 137–144.
- [29] WANG D, YANG S, TANG F, et al. Symbiosis specificity in the legume-rhizobial mutualism [J]. Cellular Microbiology, 2012, 14(3): 334–342.
- [30] HU Y F, QIAN C, ZHAO X, et al. Effects of nitrogen and phosphorus limitation on the growth and phosphorus allocation of alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2024, 24: 343–353.
- [31] 师尚礼,曹致中,赵桂琴. 苜蓿根瘤菌有效性及其影响因子分析[J]. 草地学报, 2007, 15(3): 221–226.
- [32] 安志装,王校常,施卫明,等. 重金属与营养元素交互作用的植物生理效应[J]. 土壤与环境, 2002, 11(4): 392–396.
- [33] 赵长风,王 椰,段士鑫,等. 铬胁迫下紫花苜蓿种子萌发和幼苗生理响应的主成分分析[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(19): 176–182.

(责任编辑: 佟金凤)