

引用格式:

李一路, 郭照辉, 肖蓉, 程伟, 张敏, 胡丹, 王玉双, 单世平, 魏小武. 外源柠檬酸杆菌对水稻镉吸收和亚细胞分布及生理特性的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2023, 49(1): 35–42.

LI Y L, GUO Z H, XIAO R, CHENG W, ZHANG M, HU D, WANG Y S, SHAN S P, WEI X W. Effects of exogenous addition of *Citrobacter* sp. on Cd uptake and the subcellular distribution of Cd and physiological characteristics in rice[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2023, 49(1): 35–42.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



外源柠檬酸杆菌对水稻镉吸收和亚细胞分布及生理特性的影响

李一路¹, 郭照辉^{1,2}, 肖蓉¹, 程伟¹, 张敏¹, 胡丹¹, 王玉双^{1*}, 单世平^{1,2}, 魏小武¹

(1.湖南省微生物研究院 湖南 长沙 410009; 2.湖南省农用微生物应用工程技术研究中心, 湖南 长沙 410009)

摘要: 为探究外源柠檬酸杆菌(*Citrobacter* sp.)对水稻抗镉胁迫的影响, 以在培养土中添加外源柠檬酸杆菌 XT1-2-2 菌悬液(处理组)和未加菌悬液(对照组)的盆栽水稻为研究对象, 分析分蘖期水稻在 3 种 Cd 质量浓度(0、5、10 mg/kg)处理下 XT1-2-2 对 Cd 的吸收、转运、亚细胞分布及生理特性(可溶性糖和抗坏血酸)的影响。结果表明: 与对照组相比, 处理组水稻根、茎、叶的 Cd 质量分数均显著降低; Cd 质量浓度为 0、5 mg/kg 时, 根茎间的转运系数也显著低于对照组的; 处理组水稻根中的细胞壁、细胞膜和可溶性部分的 Cd 质量分数均显著低于对照组的, 根系细胞壁中 Cd 分配比例增加, 可溶性部分 Cd 分配比例降低; 菌株 XT1-2-2 处理的水稻茎、叶中的可溶性糖的质量分数显著低于对照组的, 而抗坏血酸的质量分数显著高于对照组的, 且随 Cd 处理质量浓度的增加, 抗坏血酸的质量分数逐渐增加。综上所述, 加入外源柠檬酸杆菌 XT1-2-2 可以降低分蘖期水稻各组织对 Cd 的吸收, 影响 Cd 在根茎间的转运以及 Cd 在根系亚细胞内的分配比例, 降低茎、叶中的可溶性糖的质量分数, 增加茎叶中的抗坏血酸的质量分数, 进而有效增强水稻对 Cd 的抗性。

关键词: 水稻; 柠檬酸杆菌; 镉; 亚细胞分布; 生理特性

中图分类号: S511.01

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2023)01-0035-08

Effects of exogenous addition of *Citrobacter* sp. on Cd uptake and the subcellular distribution of Cd and physiological characteristics in rice

LI Yilu¹, GUO Zhaohui^{1,2}, XIAO Rong¹, CHENG Wei¹, ZHANG Min¹, HU Dan¹,
WANG Yushuang^{1*}, SHAN Shiping^{1,2}, WEI Xiaowu¹

(1.Hunan Institute of Microbiology, Changsha, Hunan 410009, China; 2.Hunan Province Engineering Research Center for Agricultural Microbiology Application, Changsha, Hunan 410009, China)

Abstract: In order to learn about the effects of exogenous addition of *Citrobacter* sp. on rice resistance to cadmium stress, a pot experiment was carried out on the potted rices treated by *Citrobacter* sp XT1-2-2 suspension(test group) and no suspension(control group). The effects of strain XT1-2-2 on the Cd uptake, transport, subcellular distribution and physiological characteristics(soluble sugar and ascorbic acid) of tillering ricewere analyzed when the rice treated by three concentrations(0, 5, 10 mg/kg) of Cd. The results showed that compared with the control group, the Cd mass fractions of rice roots, stems and leaves were significantly decreased after the XT1-2-2 treatment; the transport coefficient between roots and stems was significantly lower than that of the control when treated with 0, 5 mg/kg of Cd; the mass fractions of

收稿日期: 2022-05-05

修回日期: 2022-12-27

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32171633); 长沙市自然科学基金项目(kq2014172); 湖南省自然科学基金青年基金项目(2021JJ40307)

作者简介: 李一路(1989—), 女, 湖南耒阳人, 硕士, 助理研究员, 主要从事稻田重金属污染治理研究, 506827790@qq.com; *通信作者, 王玉双, 硕士, 高级农艺师, 主要从事重金属污染修复技术研究, 378303751@qq.com

Cd in the cell wall, cell membrane and soluble part of rice roots treated with strain XT1-2-2 were significantly lower than those of the control group, and the distribution proportion of Cd in the root cell wall was increased, while the distribution proportion of Cd in the soluble part was decreased; the mass fractions of soluble sugar in rice stems and leaves treated with XT1-2-2 were significantly lower than those of the control; the mass fractions of ascorbic acid in rice stems and leaves treated with XT1-2-2 were significantly higher than those of the control, and the mass fraction of ascorbic acid increase with increase in the mass concentration of Cd treatment. In conclusion, the application of *Citrobacter* sp. XT1-2-2 reduced the uptake of Cd in rice tissues at the tillering stage, affected the transport of Cd between roots and stems and the distribution ratio of Cd in root subcellular, the mass fractions of soluble sugar in stems and leaves decreased, and the mass fractions of ascorbic acid in stems and leaves increased, thus enhancing the resistance of rice to Cd stress effectively.

Keywords: rice; *Citrobacter* sp.; Cd; subcellular distribution; physiological characteristics

矿山资源的开发利用、工业废水的排放、农业化学品的不合理使用等导致农田重金属污染问题日益显现,特别是镉(Cd)污染农田问题受到了社会各界的高度关注^[1]。水稻是吸收镉能力较强的大宗谷类作物之一,这也使得稻米镉污染比较严重^[2]。此外,镉具有极强的生物毒性,在土壤中不易降解且具有生物累积性,易通过食物链在动植物和人体积累,直接威胁人体健康^[3]。如何有效治理和安全高效利用镉污染耕地已成为当前农业生产中亟待解决的难题。

在已有的重金属修复技术中,微生物修复因为成本低和对环境友好等优点吸引了大批科研工作者的关注^[4]。研究者们分离和筛选出了一批既对重金属耐受性强又能促进植物生长的功能微生物,通过对其的应用来降低土壤中Cd的生物活性和植物对Cd的吸收。但这些报道大多关注于微生物-土壤之间的研究^[5-7],少有关于水稻在镉胁迫下微生物对水稻组织亚细胞分布、镉转运及其生理特性影响的报道。

柠檬酸杆菌可被归属于一类非传统的硫酸盐还原细菌,已有研究表明其具有硫酸盐还原活性,产生的H₂S与重金属离子结合形成沉淀^[8-9]。WANG等^[10]筛选出一株柠檬酸杆菌 *Citrobacter freundii* JPG1,可以有效地去除废水中的铜离子。周玉杰^[11]通过包埋柠檬酸杆菌来有效去除废水中的萘、菲。但有关柠檬酸杆菌在土壤重金属修复中的应用鲜有报道。SHAN等^[9]在镉污染稻田中分离出1株高耐镉柠檬酸杆菌 XT1-2-2,该菌可以钝化土壤中的镉,降低水稻对镉的吸收。本研究以柠檬酸杆菌

XT1-2-2为试验菌株,考察镉在水稻各组织中的迁移转化、亚细胞分布及其生理特性差异,探讨柠檬酸杆菌对水稻镉累积的影响,旨在为利用柠檬酸杆菌进行稻田镉污染修复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

水稻品种为湘晚籼13号,种子购于湖南省水稻研究所。盆栽用土取自湖南省益阳市水稻土。土壤基本理化性质:pH 5.98;全氮、全钾、全磷、碱解氮、速效钾的质量分数分别为1.97、2.06、0.64、0.12、20.9 g/kg;速效磷、有机质、全镉的质量分数分别为15.2、23.1、0.35 mg/kg。试验菌株柠檬酸杆菌 XT1-2-2为SHAN等^[9]前期从湖南省浏阳市镉污染稻田土中分离所得。

1.2 试验设计

盆栽试验于2021年4—8月在湖南省微生物研究院宁乡水稻基地进行。移苗前60 d对盆栽用土进行装盆并加Cd(CdCl₂·2.5H₂O)陈化,每盆栽土4 kg,配置适宜浓度的Cd溶液与盆栽土混匀。移苗前一天进行盆栽施肥,待苗长至三叶一心时移栽至盆栽桶内,之后按常规管理。

试验共设置:0、5、10 mg/kg 3个Cd处理水平,分别记为Cd0、Cd5、Cd10。每个Cd处理水平分别设置2组,一组为不加菌的对照组CK,分别为CK1、CK2、CK3,另一组为加了外源菌XT1-2-2处理的试验组XT,分别为XT1、XT2、XT3。每个处理组设置3个重复,每盆栽3株水稻苗。水稻移栽38 d后进行取样。

将培养至对数期的柠檬酸杆菌 XT1-2-2 离心, 收集菌体, 用去离子水清洗 3 次后重悬于去离子水中, 使其终浓度约为 10^8 cfu/mL。取适量重悬液加入试验组盆栽土内, 与土充分混匀, 对照组加入等体积的去离子水并充分混匀。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 水稻植株各器官亚细胞的分离

参照文献[12]分离水稻组织亚细胞, 并略作改动。分别称取分蘖期根、茎和叶鲜样各 1.0 g, 加入 20 mL 提取液(含 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 7.5)、250 mmol/L 蔗糖、1.0 mmol/L 二硫赤藓糖醇(DTE)、5.0 mmol/L 抗坏血酸、1.0%聚乙烯吡咯烷酮(PVPP))后, 在研钵中冰浴研磨成匀浆。首先将匀浆液过 240 μ m 尼龙布, 残渣为细胞壁组分(F1); 滤液经高速冷冻离心机(Model Centrifuge 5910R, Eppendorf. Germany)4 $^{\circ}$ C 下 10 000 r/min 离心 35 min, 沉淀为细胞器组分(F2); 取上清液经高速冷冻离心机(Model Optima XPN, Beckman USA)于 4 $^{\circ}$ C 下 50 000 r/min 离心 40 min, 沉淀为细胞膜组分(F3), 最后上清液为可溶性组分(F4)。

1.3.2 Cd 质量浓度的测定

将冷冻真空干燥的 F1、F2、F3 以及 60 $^{\circ}$ C 烘干至恒重的水稻根、茎和叶样品粉碎, 置于干燥器中保存。将浓 HNO₃、HClO₄ 和 HF 混合溶液(体积比为 4 : 2 : 2)在 180 $^{\circ}$ C 的高温板上消解样品, 待消解完全后采用电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS, Agilent-7500cx)测定镉的含量^[13]。

$$T_{A-B} = C_B / C_A \times 100\% \quad (1)$$

式中: T_{A-B} 为 A、B 部位 Cd 转运效率; C_B 为

B 器官中的 Cd 含量; C_A 为 A 器官中的 Cd 含量。

1.3.3 生理生化指标的测定

参照文献[14]的方法测定茎、叶中的抗坏血酸和可溶性糖的含量。

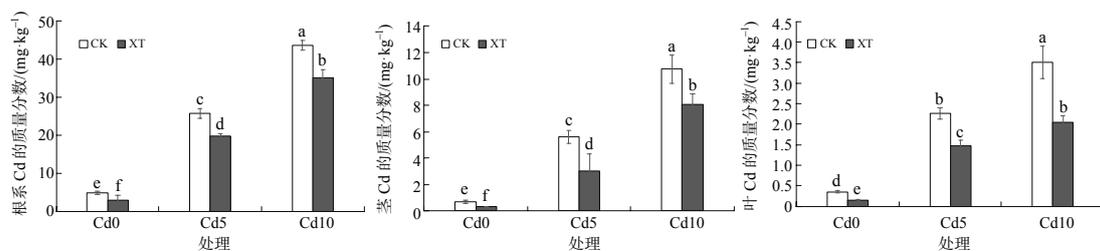
1.4 数据分析

采用 Microsoft Excel 2013 进行数据处理及图表绘制; 采用 SPSS 25.0 进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 Cd 处理下菌株 XT1-2-2 对水稻各组织 Cd 的含量及转运的影响

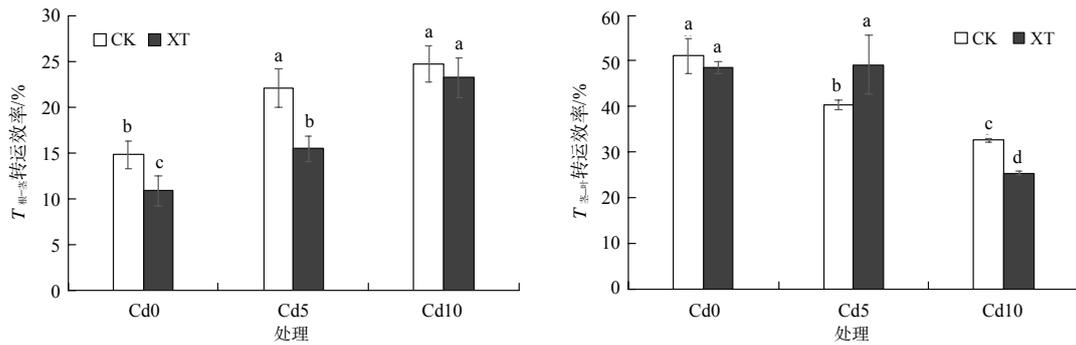
由图 1 可以看出, 水稻各组织 Cd 的质量分数均随 Cd 处理浓度的增大而增加。Cd 在根、茎、叶中的积累量依次降低。在 Cd0、Cd5 和 Cd10 处理下, 加菌 XT1-2-2 处理的试验组水稻根、茎和叶的 Cd 质量分数均显著低于对照组; 相比对照组, 试验组水稻根部 Cd 的质量分数分别降低了 40.46%、22.96%和 19.31%; 茎中 Cd 的质量分数分别降低了 56.78%、45.83%和 25.05%; 叶中 Cd 的质量分数分别降低了 58.77%、35.24%和 41.88%。计算不同 Cd 处理水平下水稻组织间的镉转运系数, 结果如图 2 所示。在 Cd0、Cd5 处理水平下, 试验组水稻 $T_{根-茎}$ 均显著低于相应的对照组。从茎叶间的镉转运效率来看, 在 Cd5 处理时, 试验组水稻 $T_{茎-叶}$ 显著高于对照组, 而在 Cd10 处理中, 试验组水稻 $T_{茎-叶}$ 显著低于对照组。以上结果说明, 菌株 XT1-2-2 的处理可以降低水稻组织对镉的吸收, 降低土壤中的镉从根部向茎的转运, 而对茎叶间 Cd 转运的影响程度可能与 Cd 处理的质量浓度相关。



不同字母表示处理间的差异有统计学意义($P < 0.05$)。

图 1 不同处理组中水稻各组织的 Cd 的质量分数

Fig.1 Cd contents in different organs of rice in different treatment groups



不同字母表示处理间的差异有统计学意义($P < 0.05$)。

图2 不同处理组中水稻各组织间 Cd 的转运效率

Fig.2 Cd transport efficiency among rice tissues in different treatment groups

2.2 Cd 处理下菌株 XT1-2-2 对水稻根系亚细胞 Cd 含量的影响

由表 1 可以看出,随着 Cd 处理浓度的升高,水稻根系各亚细胞的镉质量分数均呈上升趋势。Cd0、Cd10 处理时,试验组各亚细胞组分的 Cd 质量分数均显著低于相应的对照组;Cd5 处理时,除了细胞器外,试验组各亚细胞组分的 Cd 质量分数均显著低于相应的对照组。从 Cd 在亚细胞的分配

比例(图 3)来看,水稻根系中的 Cd 主要集中在 F1 组分(约占 49.19%~63.28%),其后依次为 F4、F3、F2。在同一 Cd 处理水平下,试验组 F1 结合的 Cd 分配比例均高于对照组,而 F4 组分结合的 Cd 分配比例均低于对照组。以上结果说明菌株 XT1-2-2 的处理可以影响 Cd 在水稻根系的亚细胞分布,增加水稻根系细胞壁 Cd 的分配比例,减少可溶性部分 Cd 的分配比例。

表 1 不同处理组中水稻各亚细胞组分的 Cd 的质量分数

Table 1 Subcellular Cd contents in the cells of rice in different treatment groups

器官	组别	Cd 的质量分数/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)			
		细胞壁(F1)	细胞器(F2)	细胞膜(F3)	可溶部分(F4)
根	XT1	(0.140±0.021)a	(0.012±0.002)a	(0.024±0.003)a	(0.055±0.008)a
	CK1	(0.329±0.033)b	(0.021±0.004)b	(0.057±0.007)b	(0.158±0.018)b
	XT2	(1.656±0.036)a	0.119±0.013	(0.289±0.031)a	(0.553±0.057)a
	CK2	(2.296±0.214)b	0.118±0.022	(0.367±0.035)b	(1.208±0.126)b
	XT3	(2.926±0.305)a	(0.308±0.033)a	(0.527±0.058)a	(1.586±0.160)a
	CK3	(3.411±0.322)b	(0.446±0.046)b	(0.726±0.078)b	(2.351±0.244)b
茎	XT1	(0.019±0.003)a	(0.003±0.001)a	0.013±0.002	0.027±0.004
	CK1	(0.034±0.007)b	(0.007±0.002)b	0.018±0.005	0.043±0.007
	XT2	(0.116±0.008)a	0.040±0.008	(0.165±0.009)a	0.276±0.014
	CK2	(0.198±0.016)b	0.053±0.007	(0.194±0.012)b	0.290±0.150
	XT3	(0.254±0.012)a	0.042±0.007	(0.175±0.013)a	(0.313±0.013)a
	CK3	(0.362±0.019)b	0.047±0.004	(0.233±0.012)b	(0.426±0.016)b
叶	XT1	0.016±0.003	0.002±0.001	(0.012±0.001)a	0.017±0.001
	CK1	0.024±0.006	0.002±0.001	(0.018±0.003)b	0.021±0.002
	XT2	(0.123±0.004)a	0.016±0.002	0.053±0.005	0.126±0.006
	CK2	(0.148±0.011)b	0.018±0.004	0.062±0.004	0.113±0.007
	XT3	(0.165±0.007)a	0.027±0.002	(0.051±0.006)a	(0.153±0.009)a
	CK3	(0.226±0.010)b	0.032±0.004	(0.067±0.007)b	(0.179±0.006)b

同列数据不同字母表示在相同 Cd 处理浓度下同一器官同一亚细胞组织的差异有统计学意义($P < 0.05$)。

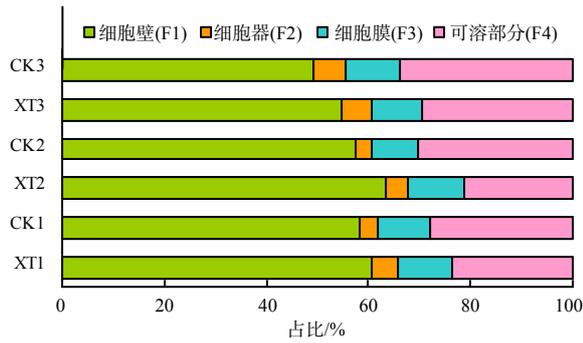


图 3 水稻根系各亚细胞组分的 Cd 占比

Fig.3 The proportion distribution of Cd within the subcellular of rice roots

2.3 Cd 处理下菌株 XT1-2-2 对水稻茎中亚细胞 Cd 含量的影响

由表 1 可以看到，不同 Cd 浓度处理下，试验组水稻茎 F1 组分 Cd 质量分数均显著低于对照组。Cd5 处理时，试验组 F3 组分 Cd 质量分数显著低于对照组。当 Cd10 处理时，试验组 F3、F4 组分 Cd 质量分数显著低于对照组。从分配比例(图 4)来看，水稻茎中的 Cd 主要分布于 F4 组分，其次为 F1 和 F3。相比对照组，试验组 F1 组分中 Cd 的比例下降，而 F4 和 F3 组分中 Cd 比例有不同程度的增加。说明菌株 XT1-2-2 的处理主要影响水稻茎中细胞壁和细胞膜中的 Cd 质量浓度，且增加了细胞膜和可溶性部分 Cd 的分配比例，减少了细胞壁 Cd 的分配比例。

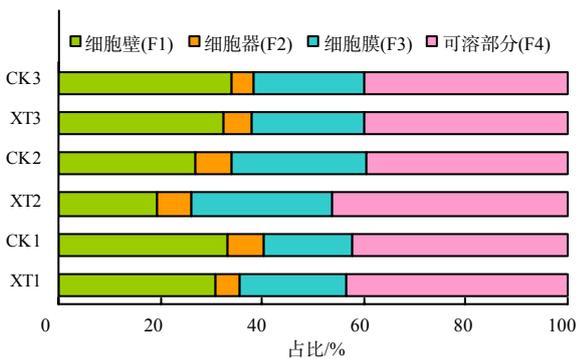


图 4 水稻茎中各亚细胞组分的 Cd 占比

Fig.4 The proportion distribution of Cd within the subcellular of rice stems

2.4 不同浓度 Cd 处理下菌株 XT1-2-2 对水稻叶中 Cd 亚细胞分布的影响

由表 1 可知，叶中的 Cd 主要分布于 F1 和 F4 组分，其次为 F3 组分。在 Cd10 处理中，试验组水稻叶 F1、F3 和 F4 组分 Cd 质量分数均显著低于对照组。从分配比例(图 5)来看，随着 Cd 处理浓度的增加，试验组和对照组中的 F3 的分配比例均下降，F1 和 F4 的 Cd 分配比例增加。在同一 Cd 处理水平，相比对照组，试验组 F1 组分的分配比例均有下降，而 F4 组分的分配比例均有增加。说明菌株 XT1-2-2 的加入主要减少了细胞壁中 Cd 的分配比例，增加了细胞可溶性组分中 Cd 的分配比例。

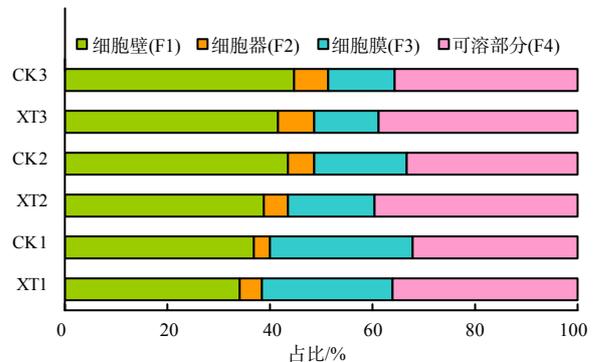
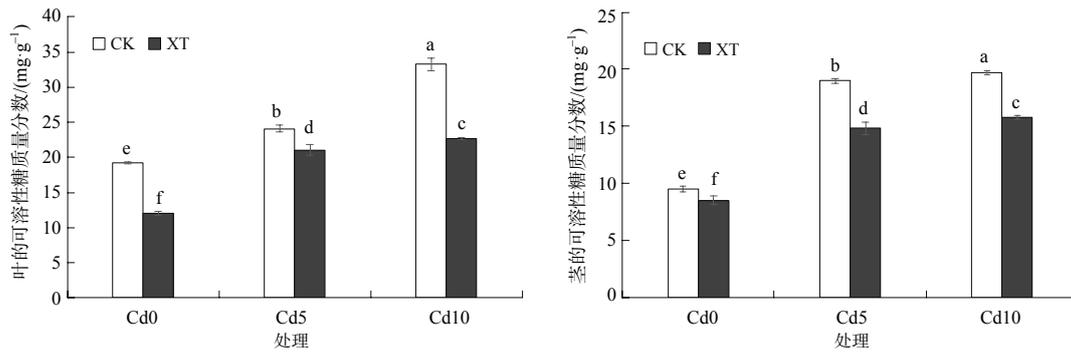


图 5 水稻叶中各亚细胞组分的 Cd 占比

Fig.5 The proportion distribution of Cd within the subcellular of rice leaves

2.5 Cd 处理下菌株 XT1-2-2 对水稻不同部位可溶性糖含量的影响

从图 6 可以看出，随着 Cd 处理浓度的升高，水稻叶中的可溶性糖质量分数均呈上升趋势；比较不同处理水稻组织的可溶性糖的质量浓度，发现试验组水稻茎、叶中的可溶性糖质量分数均显著低于对照组；在叶片中，试验组水稻可溶性糖质量分数分别为相应对照的 61.80%、86.31%和 69.80%；在茎中，试验组水稻可溶性糖质量分数分别为相应对照的 88.02%、76.01%和 80.08%。以上结果说明，Cd 胁迫可以促进可溶性糖在水稻茎、叶中的累积，但菌株 XT1-2-2 的加入降低了水稻茎、叶中可溶性糖的质量分数，这也说明菌株 XT1-2-2 处理可在一定程度上缓解镉对水稻的毒害。



不同字母表示处理间的差异有统计学意义($P < 0.05$)。

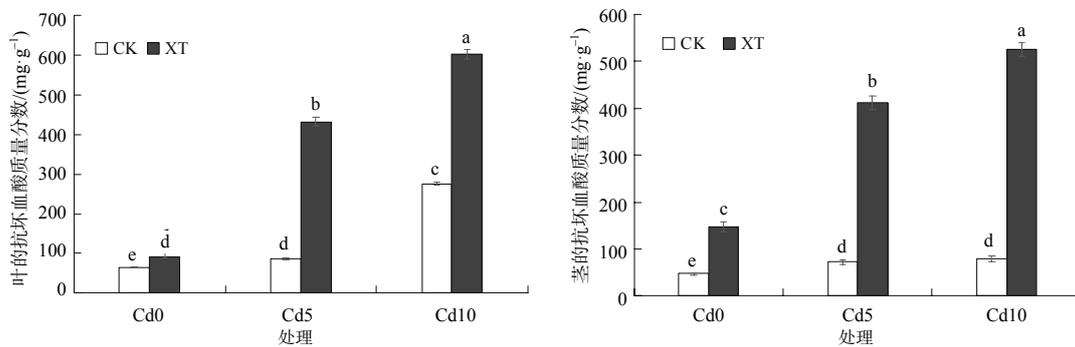
图6 不同Cd处理下水稻茎和叶中的可溶性糖的质量分数

Fig.6 The soluble sugar content of rice tissue under different treatments

2.6 Cd处理下菌株XT1-2-2对水稻不同部位抗坏血酸含量的影响

从图7可以看出,随着Cd处理浓度的升高,试验组和对照组水稻叶中的抗坏血酸质量分数均显著增加;试验组水稻茎中的抗坏血酸质量分数也显著增加,Cd5、Cd10处理的对照组水稻茎中的抗坏血酸质量分数有所增加,但差异不显著。在同一Cd浓度水平,试验组茎、叶的抗坏血酸质量浓度均

显著高于对照组。当Cd0、Cd5和Cd10处理时,试验组叶中的抗坏血酸质量分数分别是相应对照组的1.40、4.99和2.18倍;试验组茎中的抗坏血酸质量分数分别是相应对照组的3.11、5.66和6.52倍。以上结果说明,Cd胁迫可以促进抗坏血酸在水稻茎、叶中的累积,菌株XT1-2-2处理可以促使水稻茎、叶中合成更多的抗坏血酸。



不同字母表示处理间的差异有统计学意义($P < 0.05$)。

图7 不同处理组中水稻组织抗坏血酸的质量分数

Fig.7 The soluble sugar content of rice tissue under different treatments

3 结论与讨论

土壤中的微生物可以在高镉污染的土壤中自然生存,并通过细胞代谢、氧化还原、吸附吸收、生物转化等功能调控土壤中Cd的含量及形态,降低Cd的生物利用度^[15]。本试验中使用的柠檬酸杆菌XT1-2-2(*Citrobacter* sp.)镉耐受性强,可以促进水稻的生长及增产,并且可以降低水稻组织对镉的吸收^[9]。本研究中,随着Cd处理浓度的增加,添加了菌株XT1-2-2处理的分蘖期水稻各组织中的镉质量分数均显著低于对照,根系Cd质量分数比相应对照

组分别降低了40.46%、22.96%和19.31%,茎中的Cd质量分数分别降低了56.78%、45.83%和25.05%;叶中的Cd质量分数分别降低了58.77%、35.24%和41.88%。这与前人^[2,9,16]的研究结果基本一致,且Cd处理浓度越低时,菌株XT1-2-2处理对分蘖期水稻各组织的降镉效果越好。这可能是因为柠檬酸杆菌在水稻根际定殖,通过细胞外吸附、胞内摄取和产生CdS沉淀等方式,将土壤中更多的可还原态镉钝化为氧化态镉,进而降低了土壤中可以利用的有效态镉的含量,当环境中Cd浓度较高时,菌株富集会受到一定的影响,水稻受到的胁迫也更大。土壤中

的Cd通过水稻根系吸收并向地上部分转移,因此,Cd转运能力也决定了水稻对镉的耐受力,其中水稻根到茎的转运力最为关键^[17]。已有研究表明,水稻组织间的镉转运系数与水稻的品种、生长的时期以及镉胁迫的程度都有关^[17-19]。本研究中,Cd0、Cd5处理时,对照组水稻根茎间的转运系数显著高于菌株XT1-2-2处理的水稻。这可能是由于对照组水稻组织中的Cd含量高于处理组;其次,在中低度镉胁迫下,菌株XT1-2-2的处理可能可以诱导水稻根系镉转运相关基因的差异表达,从而影响相关镉转运蛋白的合成,进而影响镉在根茎间的转运^[20]。

Cd进入细胞后会分布到各细胞器中产生毒性。普遍认为,水稻主要通过细胞壁沉降和可溶性部分的区室化来缓解重金属的毒害^[21]。有研究表明,Cd主要分布在细胞壁中,其次是分布于可溶性部分和细胞器中^[22]。本研究中,随着Cd胁迫浓度的增加,水稻组织的各亚细胞组分的镉质量分数呈上升趋势,并且主要分布在细胞壁或者可溶性部分,但菌株XT1-2-2的加入对水稻组织亚细胞Cd的质量分数及分布产生了影响,添加了XT1-2-2的水稻根系的细胞壁、细胞膜和可溶性组分以及茎中的细胞壁的Cd质量分数均显著低于相应对照组,根系细胞壁Cd的比例增加,可溶性组分Cd的比例降低。这可能是因为菌株XT1-2-2的加入使水稻根系分泌物发生了改变,增加了根系细胞壁的负电荷集团,从而增加了与重金属结合的有效位点;其次,菌株XT1-2-2的加入可能诱导相关外排转运蛋白的表达,跨膜外排的重金属离子被细胞壁中负电荷基团结合而滞留在细胞壁^[20];第三,菌株XT1-2-2的加入可能诱导根中与细胞壁代谢相关的基因过表达,使细胞壁增厚,从而抑制镉向胞内运输^[23]。但具体原因还需进一步从分子层面进行探讨。

可溶性糖作为一种重要的渗透调节物质,其含量的增加可以保护细胞免受损伤^[24]。本研究中,随着Cd胁迫浓度的升高,各处理组水稻茎、叶中的可溶性糖的质量分数均逐渐增加,这与前人^[25-26]的研究结果一致。这可能是水稻对Cd胁迫的一种适应,通过增加可溶性糖含量来降低Cd对水稻的毒性^[27]。本研究也发现,加了菌株XT1-2-2的试验组水稻茎、叶中的可溶性糖含量显著低于对照组,这也说明菌株XT1-2-2的加入在一定程度上可以缓解镉对水稻

的毒害。抗坏血酸作为一种重要的抗氧化剂,在增强抗环境胁迫和促进植物生长中起着重要作用^[28]。有研究^[29]发现,特异性调控水稻根系抗坏血酸的合成可以清除根系活性氧(ROS),增强水稻对盐胁迫的耐受性。李枝^[26]的研究结果表明,在镉胁迫下低镉积累水稻品种茎、叶中的抗坏血酸含量显著高于高镉积累水稻品种的。本研究中,随着镉处理浓度的升高,水稻茎、叶中的抗坏血酸质量分数均增加,且加菌处理的试验组抗坏血酸质量分数显著高于对照组,其增幅也明显高于对照。究其原因,可能是在镉胁迫下水稻组织会产生更多的ROS和自由基,从而造成氧损伤,而菌株XT1-2-2的加入可以促进水稻茎、叶合成更多的抗坏血酸来直接或间接清除ROS,增强植物的抗逆性,但具体机制还有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] LI Y, PANG H D, HE L Y, et al. Cd immobilization and reduced tissue Cd accumulation of rice(*Oryza sativa* Wuyun-23) in the presence of heavy metal-resistant bacteria[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 138: 56-63.
- [2] LIN X Y, MOU R X, CAO Z Y, et al. Characterization of cadmium-resistant bacteria and their potential for reducing accumulation of cadmium in rice grains[J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 569/570: 97-104.
- [3] CLEMENS S, MA J F. Toxic heavy metal and metalloid accumulation in crop plants and foods[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2016, 67: 489-512.
- [4] PENG W H, LI X M, SONG J X, et al. Bioremediation of cadmium- and zinc-contaminated soil using *Rhodobacter sphaeroides*[J]. *Chemosphere*, 2018, 197: 33-41.
- [5] BOLAN N, KUNHIKRISHNAN A, THANGARAJAN R, et al. Remediation of heavy metal(loid)s contaminated soils: to mobilize or to immobilize?[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 266: 141-166.
- [6] ANKATI S, PODILE A R. Changes in root exudates and root proteins in groundnut-*Pseudomonas* sp. interaction contribute to root colonization by bacteria and defense response of the host[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2019, 38(2): 523-538.
- [7] XU S Z, XING Y H, LIU S, et al. Role of novel bacterial *Raoultella* sp. strain X13 in plant growth promotion and cadmium bioremediation in soil[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103(9): 3887-3897.

- [8] 杨丽平, 郑小红, 曾国驱, 等. 1株具硫酸盐还原功能的柠檬酸杆菌的分离及其生理特性研究[J]. 环境科学, 2010, 31(3): 815–820.
- [9] SHAN S P, GUO Z H, LEI P, et al. Increased biomass and reduced tissue cadmium accumulation in rice via indigenous *Citrobacter* sp. XT1-2-2 and its mechanisms[J]. Science of the Total Environment, 2020, 708: 135224.
- [10] WANG X Y, HUANG N, SHAO J, et al. Coupling heavy metal resistance and oxygen flexibility for bioremoval of copper ions by newly isolated *Citrobacter freundii* JPG1[J]. Journal of Environmental Management, 2018, 226: 194–200.
- [11] 周玉杰. 柠檬酸杆菌的固定化及处理含萘、菲有机废水的特性研究[D]. 成都: 西南交通大学, 2018.
- [12] LIU J G, QU P, ZHANG W, et al. Variations among rice cultivars in subcellular distribution of Cd: the relationship between translocation and grain accumulation[J]. Environmental and Experimental Botany, 2014, 107: 25–31.
- [13] HJ 766—2015 固体废物 金属元素的测定 电感耦合等离子体质谱法[S].
- [14] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [15] LIMCHAROENSUK T, SOOKSAWAT N, SUMARN-ROTE A, et al. Bioaccumulation and biosorption of Cd²⁺ and Zn²⁺ by bacteria isolated from a zinc mine in Thailand[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2015, 122: 322–330.
- [16] SHI X Y, ZHOU G T, LIAO S J, et al. Immobilization of cadmium by immobilized *Alishewanella* sp. WH16-1 with alginate-lotus seed pods in pot experiments of Cd-contaminated paddy soil[J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, 357: 431–439.
- [17] 龙小林, 向珣朝, 徐艳芳, 等. 镉胁迫下水稻和粳稻对镉的吸收、转移和分配研究[J]. 中国水稻科学, 2014, 28(2): 177–184.
- [18] 唐杰, 徐强, 王昌全, 等. Cd胁迫下不同水稻品种组织细胞中Cd的转运分配研究[J]. 生态环境学报, 2016, 25(12): 2014–2020.
- [19] WAN Y N, WANG K, LIU Z, et al. Effect of selenium on the subcellular distribution of cadmium and oxidative stress induced by cadmium in rice(*Oryza sativa* L.)[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2019, 26(16): 16220–16228.
- [20] MIYADATE H, ADACHI S, HIRAZUMI A, et al. OsHMA3, a P1B-type of ATPase affects root-to-shoot cadmium translocation in rice by mediating efflux into vacuoles[J]. The New Phytologist, 2011, 189(1): 190–199.
- [21] SIEBERS N, SIANGLIW M, TONGCUMPOU C. Cadmium uptake and subcellular distribution in rice plants as affected by phosphorus: soil and hydroponic experiments[J]. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2013(ahead).
- [22] HAO X Q, LI T X, YU H Y, et al. Cd accumulation and subcellular distribution in two ecotypes of *Kyllinga brevifolia* Rottb as affected by Cd treatments[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2015, 22(10): 7461–7469.
- [23] ELSEN A, GERVACIO D, SWENNEN R, et al. AMF-induced biocontrol against plant parasitic nematodes in *Musa* sp.: a systemic effect[J]. Mycorrhiza, 2008, 18(5): 251–256.
- [24] KARALIJA E, SELOVIĆ A. The effect of hydro and proline seed priming on growth, proline and sugar content, and antioxidant activity of maize under cadmium stress[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018, 25(33): 33370–33380.
- [25] 胡春霞, 王秀芹. 外源水杨酸对镉胁迫下油菜渗透调节物质和保护酶活性的影响[J]. 鞍山师范学院学报, 2010, 12(2): 40–42.
- [26] 李枝. Cd胁迫下杂交水稻不同部位Cd的化学形态和亚细胞分布研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2009.
- [27] NAYYAR H, WALIA D P. Water stress induced proline accumulation in contrasting wheat genotypes as affected by calcium and abscisic acid[J]. Biologia Plantarum, 2003, 46(2): 275–279.
- [28] GALLIE D R. L-ascorbic Acid: a multifunctional molecule supporting plant growth and development[J]. Scientifica, 2013, 2013: 795964.
- [29] WANG Y Y, ZHAO H, QIN H, et al. The synthesis of ascorbic acid in rice roots plays an important role in the salt tolerance of rice by scavenging ROS[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(11): 3347.

责任编辑: 毛友纯
英文编辑: 柳正