

外源硒和耐硒细菌对镉胁迫下水稻生长、生理和硒镉积累的影响

王波, 张然然, 杨如意, 石晓菁, 苏楠楠, 朱濛, 咎树婷

引用本文:

王波, 张然然, 杨如意, 等. 外源硒和耐硒细菌对镉胁迫下水稻生长、生理和硒镉积累的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(12): 2710–2718.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0437>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

叶面喷施硅硒联合水分管理对水稻镉吸收转运特征的影响

高敏, 周俊, 刘海龙, 胡远妹, 徐磊, 梁家妮, 黄贵凤, 周静

农业环境科学学报. 2018, 37(2): 215–222 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1201>

硒砷交互作用对水稻幼苗生理特性及砷硒累积的影响

刘锦嫦, 熊双莲, 马烁, 高菲, 涂书新

农业环境科学学报. 2018, 37(3): 423–430 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1157>

稻田镉砷污染阻控原理与技术应用

于焕云, 崔江虎, 乔江涛, 刘传平, 李芳柏

农业环境科学学报. 2018, 37(7): 1418–1426 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0730>

硒镉高背景区茶叶中硒和砷、汞、镉的积累与浸出特征研究

杨如意, 杨程, 石晓菁, 张梦婷, 高业能

农业环境科学学报. 2019, 38(9): 2023–2030 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0258>

农艺调控措施对水稻镉积累的影响及其机理研究

沈欣, 朱奇宏, 朱捍华, 许超, 何演兵, 黄道友

农业环境科学学报. 2015, 34(8): 1449–1454 <https://doi.org/10.11654/jaes.2015.08.003>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

王波, 张然然, 杨如意, 等. 外源硒和耐硒细菌对镉胁迫下水稻生长、生理和硒镉积累的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(12): 2710–2718.

WANG Bo, ZHANG Ran-ran, YANG Ru-yi, et al. Effect of exogenous selenium (Se) and Se-tolerant bacterium on the growth, physiology, and Se and cadmium (Cd) accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) grown under Cd stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(12): 2710–2718.



开放科学 OSID

外源硒和耐硒细菌对镉胁迫下水稻生长、生理和硒镉积累的影响

王波^{1,2,3}, 张然然¹, 杨如意^{1,2,3*}, 石晓菁¹, 苏楠楠¹, 朱濛^{1,2,3}, 咎树婷^{1,2,3}

(1. 安徽师范大学生态与环境学院, 安徽 芜湖 241002; 2. 安徽省水土污染治理与修复工程实验室, 安徽 芜湖 241002; 3. 皖江流域退化生态系统的恢复与重建省部共建协同创新中心, 安徽 芜湖 241002)

摘要: 镉是我国农田土壤中毒性最强和最普遍的污染物之一。硒镉间的拮抗作用已被大量研究所证实, 但硒的施用量和耐硒细菌对植物硒镉积累的影响尚不明确。本文通过盆栽试验, 研究了添加外源硒和接种耐硒细菌 *Lysinibacillus macrolides* DS15 菌株对镉胁迫下水稻的生长、生理代谢以及硒镉含量的影响。研究表明, 外源硒使水稻株高显著增加, 促进了水稻对硒的积累, 降低了超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 和过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 活性。与对照相比, 低硒 ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Na}_2\text{SeO}_3$) 和高硒处理 ($2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Na}_2\text{SeO}_3$) 使水稻根际土壤有效镉含量分别下降了 32.24% 和 9.43%, 并减少了水稻地上部分对镉的积累和镉向地上部的运输。低硒处理对土壤中镉的钝化以及对镉胁迫的缓解作用均显著优于高硒处理。与对照相比, 不接种 *L. macrolides* 时高硒处理反而造成水稻镉含量显著增加。接种 *L. macrolides* 使水稻生物量增加了 1.79 倍, 降低了水稻的硒含量, 使 SOD 和 CAT 活性升高, 根际土壤有效镉含量下降了 18.46%, 降低了水稻对镉的积累和运输。外源硒和接种 *L. macrolides* 的交互作用对水稻硒、镉积累和运输均有显著影响, 低硒、接种处理可以降低水稻镉含量, 而高硒、接种处理可减少镉向地上部分的运输。研究表明, 适量的硒和接种 DS15 可以降低土壤中镉的有效性, 减少水稻对镉的积累和运输。

关键词: 水稻; 镉污染; 拮抗作用; 耐硒细菌

中图分类号: X17 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2020)12-2710-09 doi:10.11654/jaes.2020-0437

Effect of exogenous selenium (Se) and Se-tolerant bacterium on the growth, physiology, and Se and cadmium (Cd) accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) grown under Cd stress

WANG Bo^{1,2,3}, ZHANG Ran-ran¹, YANG Ru-yi^{1,2,3*}, SHI Xiao-jing¹, SU Nan-nan¹, ZHU Meng^{1,2,3}, ZAN Shu-ting^{1,2,3}

(1. School of Ecology and Environment, Anhui Normal University, Wuhu 241002, China; 2. Anhui Provincial Engineering Laboratory of Water and Soil Pollution Control and Remediation, Wuhu 241002, China; 3. Collaborative Innovation Center of Recovery and Reconstruction of Degraded Ecosystem in Wanjiang Basin Co-founded by Anhui Province and Ministry of Education, Anhui Normal University, Wuhu 241002, China)

Abstract: Cadmium (Cd) is among the most toxic and widespread pollutants in agricultural soils in China. The antagonism between selenium (Se) and Cd has been extensively investigated in the past decades. However, the effects of Se application amount and Se-tolerant bacteria on Se and Cd accumulation in plants remain poorly understood. A pot experiment was conducted to investigate the effects of exogenous Se and inoculation with Se-tolerant bacterium *Lysinibacillus macrolides* strain DS15 on the growth, physiology, and Se and Cd

收稿日期: 2020-04-17 录用日期: 2020-07-15

作者简介: 王波 (1974—), 女, 吉林柳河人, 博士, 主要从事植物逆境生理生态、环境污染与食品安全等研究。E-mail: wangbohky@163.com

*通信作者: 杨如意 E-mail: yangruiyi@ahnu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (41771355); 安徽省自然科学基金面上项目 (1508085SMC211); 污染控制与资源化研究国家重点实验室开放基金 (PCRRF18012)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China (41771355); The Anhui Provincial Natural Science Foundation (1508085SMC211); The Open Project of the State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse (PCRRF18012)

accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) grown under Cd stress. The results showed that exogenous Se increased the shoot length of rice, increased Se accumulation, and decreased the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) enzymes. Low ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Na_2SeO_3) and high ($2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Na_2SeO_3) Se additions significantly decreased the availabilities of Cd in rhizosphere soil by 32.24% and 9.43%, respectively, thereby reducing Cd accumulation in shoot and transportation in rice. The effects of low Se treatment on the immobilization of Cd in soil and the alleviation of Cd stress were consistently superior to those of high Se treatment, while excessive Se increased Cd content in rice shoot and root under sterilization condition compared to the control. Inoculation with Se-tolerant *L. macrolides* increased rice biomass by 1.79 times but decreased Se contents in rice, and thus, it induced the increase of SOD and CAT activities. *L. macrolides* reduced the availability of Cd in rhizosphere soil by 18.46%, and thus, it decreased Cd accumulation and transportation in rice. Interaction between exogenous Se and inoculation with *L. macrolides* affected the accumulation and transportation of Se and Cd in rice significantly. Low Se and inoculation with *L. macrolides* decreased Cd uptake in rice, while high Se and inoculation with *L. macrolides* decreased the transportation of Cd. This study indicates that low Se and Se-tolerant bacterium can decrease the availability of Cd in soil, and thus, reduce the accumulation and transportation of Cd in rice.

Keywords: *Oryza sativa* L.; cadmium contamination; antagonism; selenium-tolerant bacteria

近年来,随着工业化和城市化进程的加快,矿山开采、重金属冶炼、污泥施用等人类活动使土壤重金属污染问题日益严重^[1]。2014年发布的《全国土壤污染状况调查公报》显示,我国耕地土壤的点位超标率达19.4%^[2],其中,镉的超标率最高,达7%。镉在全国水稻土中的浓度介于 $0.01 \sim 5.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,中位值为 $0.23 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[3]。同时,镉也是毒性最强、危害最大的重金属之一。镉已被国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)列为一类致癌物,对作物生长也具有显著抑制作用,引起了国内外学者的广泛关注^[4-5]。

硒是人类和其他动物必需的微量元素之一,具有抗氧化、抗癌、增强免疫力等多种功能^[6]。近年来,大量研究表明,硒与镉、汞、砷、锑等重金属存在拮抗作用,能够降低重金属活性,从而减少作物对重金属的积累^[7-10]。但是,硒与重金属的相互作用与硒的施用量、形态、施用方式、施用时间,以及土壤背景值等多种因素有关,过量的硒可能加重镉的毒性^[11]。土壤微生物作为土壤生态系统中的重要活性组分,对重金属的迁移、转化、生物富集等过程有重要影响^[12]。研究发现,许多微生物可以在厌氧或好氧状态下将硒酸盐或亚硒酸盐还原为纳米单质硒(Se nanoparticles, SeNPs),且纳米单质硒也具有较强的抗氧化作用,并能与重金属结合形成难溶的复合物^[13-15]。例如:一种土壤中分离的假单胞菌在液相介质中可以将亚硒酸盐和镉离子转化为纳米CdSe,从而将硒和镉同时从液相介质中去除^[16]。与此类似,在线虫体内微生物也可以合成纳米CdSe,并将其排出体外,显著降低镉的毒害作用^[17]。此外,根际微生物还会影响植物对硒的

积累^[18-19],并改变硒在植物体内的分布和赋存形态^[20]。但截至目前,在镉污染土壤中能否利用硒和土壤微生物实现镉的原位钝化,以保障食品安全,国内外相关报道还很少。

人类活动和地质条件是造成重金属污染的两大原因,地质高背景区土壤中的重金属受自然过程和人为活动的共同影响,其生物地球化学过程、作物富集特征、健康效应与人为污染区存在显著区别^[21-22]。本研究团队从硒镉高背景区稻田土壤中分离到一株耐硒的赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus macrolides*),该菌对亚硒酸盐的还原效率、还原率和耐受水平均远高于已报道的绝大多数细菌^[13]。该耐硒细菌一方面通过还原亚硒酸盐降低了土壤中硒的有效性,另一方面也可能在土壤中形成纳米CdSe,从而降低镉的有效性。因此,其对硒镉高背景土壤中硒和镉的有效性,以及植物硒、镉积累的影响值得深入研究。本研究通过盆栽试验,探讨了施用外源硒和接种该耐硒细菌对镉胁迫下水稻生理代谢、生长和硒镉积累的影响。本研究结果可以为硒镉高背景区富硒资源的科学、合理利用,以及安全、优质农产品的生产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 土壤、植物与耐硒细菌

供试土壤(0~20 cm的表土)取自安徽省石台县仙寓镇大山村天然富硒稻田($30^{\circ}01'22''\text{N}$, $117^{\circ}21'35''\text{E}$),该土壤镉背景值较高($0.19 \sim 1.82 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。土壤取回后剔除枯枝落叶和碎石等杂质,风干后过5 mm的尼龙筛。供试土壤的pH为6.18,有机质含量为 $34.14 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,总磷和有效磷含量分别为 $0.89 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和

22.50 mg·kg⁻¹。土壤中硒、铜、镉、铅的总量分别为0.79、14.80、0.58 mg·kg⁻¹和41.57 mg·kg⁻¹。水稻生长基质按照石英砂:土=3:1(质量比)混匀,121℃高压蒸汽灭菌20 min,老化一周后使用。本试验选用的水稻(*Oryza sativa* L.)为杂交籼型两优6号,购于芜湖市种子公司。该品种在皖南地区种植面积广泛,具有穗大粒多、高抗白叶枯病、高抗感稻瘟病等特点。本试验所用的耐硒细菌为一株好氧的、格兰氏阳性 *L. macrolides* DS15 菌株,分离自大山村天然富硒土壤中的水稻根际。 Na_2SeO_3 对DS15的最低抑菌浓度(Minimal inhibitory concentration, MIC)为220 mmol·L⁻¹,DS15能够在36 h内将1.0 mmol·L⁻¹的 Na_2SeO_3 全部还原为纳米单质硒,还原产物的平均粒径为162 nm,形态为无定形硒^[13]。

1.2 盆栽试验

本试验为两因子交叉设计,两个因子分别为施硒处理和接种耐硒细菌处理(接种DS15或灭菌,分别记为+DS和-DS)。将灭菌后的生长基质置于口径为17.0 cm、底径为11.8 cm、高为14.5 cm的塑料盆中,每盆装2.0 kg,向生长基质中加入配制好的 CdCl_2 水溶液,使生长基质中镉的浓度达到2 mg·kg⁻¹,待生长基质风干后分别按0、0.5、2.0 mg·kg⁻¹的施用量加入配制好的 Na_2SeO_3 水溶液,分别记为CK、LO和HI。盆栽试验中硒和镉的施用量均按照该富硒高镉土壤中硒、镉的背景值设定^[13]。将 *L. macrolides* DS15 菌株接种于LB培养基中,在30℃、180 r·min⁻¹条件下摇床培养48 h,离心菌液收集菌体,并用无菌水稀释100倍备用,然后将扩繁稀释后的 *L. macrolides* DS15 菌株菌液均匀喷洒到生长基质表面并混匀。接种的菌液浓度为 6×10^6 CFU·mL⁻¹,每盆生长基质接种菌液的量为100 mL。水稻种子在催芽前先用0.5%的 NaClO 进行消毒处理,然后用蒸馏水清洗3次,在气候培养箱中催芽后播种于塑料盆中,每盆植株的总数为6株。本试验共6个处理,每个处理设4次重复($n=24$)。水稻在温室中进行培养,塑料盆按完全随机区组进行摆放,且每周调换位置,避免温室环境不一致造成的误差。温室中保持自然光照和温度,温度范围在18~32℃。为保证水稻的正常生长,试验期间添加两次Hoagland营养液。

1.3 取样与测定

水稻种植4个月后进行取样,取少许叶片测定其鲜质量,同步测定总叶绿素含量和抗氧化物酶活性。将新鲜的水稻叶片剪成碎片后称取0.2 g,加入

体积比为1:1的丙酮和乙醇的提取液10 mL,待水稻叶片完全变白,在663 nm和645 nm的波长下测定吸光度,计算叶绿素含量(Chlorophyll, CHL)。丙二醛(Malonyldialdehyde, MDA)含量采用硫代巴比妥酸(0.5% thiobarbituric acid, TBA)法测定^[23]。取0.2 g新鲜水稻叶片将其剪成1~2 cm的碎片后置于研钵中,接着加入1.5 mL pH为7.8、浓度为0.05 mmol·L⁻¹的磷酸缓冲液研磨成匀浆,然后转移至离心管中,在低温高速离心机中进行离心,上清液即酶液。超氧化物歧化酶(SOD)用氮蓝四唑光化还原法测定^[24],过氧化氢酶(CAT)用过氧化氢分解量法测定^[25]。

将水稻整株从塑料盆中取出,抖动根部,用毛刷将根表附着的土壤轻轻取下作为根际土壤^[26]。根际土壤有效镉用二乙烯三胺五乙酸(Diethylenetriamine-pentaacetic acid, DTPA)浸提,火焰原子吸收法测定^[27]。用自来水和蒸馏水分别清洗水稻植株,拍照后晾干称质量。将水稻植株分为地上部分和根部,测定地上部分和根部的长度,然后放入烘箱中60℃烘干至恒质量,测定干质量。水稻总生物量根据样品总鲜质量,剩余样品鲜质量和干质量进行计算。水稻样品粉碎后过100目筛,水稻镉含量采用火焰原子吸收法测定^[27],水稻硒含量采用微波消解原子荧光法测定^[28]。水稻籽粒中镉的积累主要受镉从根部向地上部分转移过程的影响^[29],转移系数按下式计算:

$$\text{硒(镉)转移系数(TF)} = \frac{\text{水稻地上部硒(镉)含量}}{\text{水稻根部硒(镉)含量}} \times 100\%$$

1.4 数据分析

试验数据均采用SPSS 20.0进行统计分析。首先,进行双因素方差分析(Two-way ANOVA),阐明添加外源硒和接种耐硒细菌两个因子的主效应和因子间的交互作用。其次,进行单因素方差分析(One-way ANOVA),探明单个因子的影响。不同处理间的差异采用最小显著性差异法(Least significant difference, LSD)进行多重比较。在方差分析之前先进行正态性检验和方差齐性检验,显著性水平为5%。

2 结果与分析

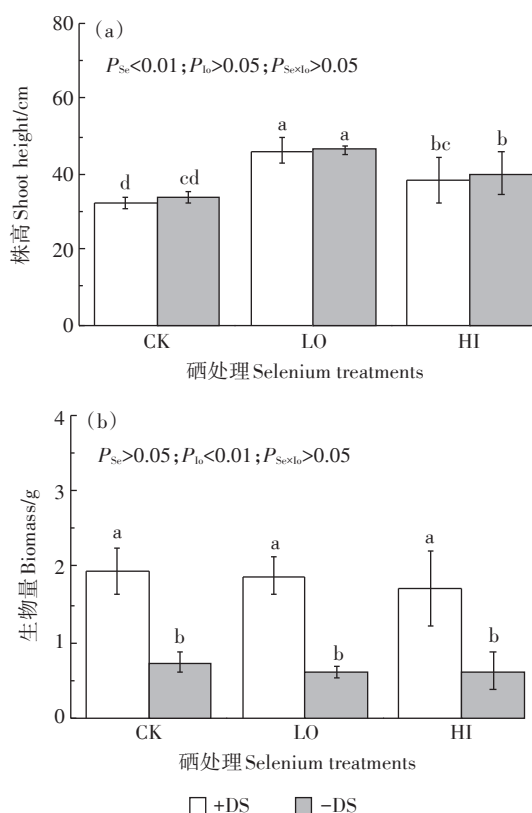
2.1 外源硒和耐硒细菌对水稻生长的影响

双因素方差分析表明,施硒对水稻总生物量和根长的影响不显著,但外源硒可以明显提高水稻的株高($R^2=0.725$, $P<0.01$,图1a),低硒处理中水稻的株高达到最大值,与对照相比提高了39.74%;高硒处理中水

稻的株高比对照增加了18.65%,但显著低于低硒处理($P<0.01$)。单因素方差分析与双因素方差分析的结果类似,无论是否接种DS15菌株,水稻株高均表现为低硒处理>高硒处理>对照(图1a)。

接种DS15对水稻株高和根长均无明显影响,但生物量与灭菌处理相比增加了178.79%($R^2=0.852$, $P<0.01$)。单因素方差分析结果显示,外源硒对水稻生物量的影响不显著。接种DS15使水稻生物量在CK、LO、HI 3个硒处理中分别比灭菌处理增加了163.51%、213.33%和175.81%,均达到极显著水平($P<0.01$,图1b)。

对于水稻的生长,硒处理和接种DS15菌株两个因子间均无明显的交互作用。



图中数据为平均值±标准差。 P_{Se} 、 P_{Io} 和 $P_{Se \times Io}$ 分别表示双因素方差分析中硒处理、接种处理,以及硒处理和接种处理的交互作用的显著性水平。不同字母表示单因素方差分析中不同处理之间

存在显著差异($P<0.05$)。下同

The data are means $\pm$ SD. P_{Se} , P_{Io} and $P_{Se \times Io}$ represent the significance levels of Se treatment, inoculation treatment and interaction between Se treatment and inoculation treatment, respectively, according to two-way ANOVA. The different letters indicate significant differences among treatments according to one-way ANOVA ($P<0.05$). The same below

图1 外源硒和接种耐硒细菌对水稻株高和生物量的影响

Figure 1 Effect of exogenous selenium (Se) application and inoculation with Se-tolerant bacterium on shoot height and biomass of rice

2.2 外源硒和耐硒细菌对水稻生理代谢的影响

双因素方差分析表明,外源硒、耐硒细菌,以及因子间的交互作用对水稻MDA含量均无显著影响(图2a)。单因素方差分析显示,在不接种DS15时,低硒处理的MDA含量显著低于高硒处理($P<0.01$),但施硒处理与对照之间无显著差异;当接种DS15后,外源硒对水稻MDA含量无显著影响。在所有硒处理中,接种DS15对水稻MDA含量均无显著影响(图2a)。

双因素方差分析显示,外源硒显著影响水稻总叶绿素含量($R^2=0.420$, $P<0.05$,图2b),低硒处理显著低于对照。单因素方差分析的结果与MDA含量类似,在不接种DS15时,低硒处理的总叶绿素含量显著低于对照和高硒处理($P<0.05$)。同样,在所有硒处理中接种DS15对水稻总叶绿素含量均无显著影响($P>0.05$,图2b)。

硒处理、接种处理,以及两者的交互作用对水稻SOD活性均有显著影响($R^2=0.806$, $P<0.05$),外源硒显著降低SOD活性,而接种耐硒细菌的作用刚好相反(图2c)。单因素方差分析表明,接种DS15时施硒处理的水稻SOD活性均显著低于对照($P<0.01$),而不接种情况下仅高硒处理的SOD活性显著低于对照($P<0.01$)。对照处理中,接种DS15显著增加水稻SOD活性,但是在施硒处理中接种DS15的作用不明显(图2c)。

CAT活性主要受硒处理和接种处理共同影响,外源硒降低水稻CAT活性,而接种耐硒细菌会提高CAT活性($R^2=0.572$, $P<0.05$),其变化趋势与SOD活性相似,相比而言接种处理对CAT活性的影响更显著。单因素分析表明,接种DS15时,低硒处理使水稻CAT活性显著降低($P<0.01$),但高硒处理的作用不明显;不接种条件下,施硒对CAT活性的影响未达到显著水平。接种DS15使CAT活性趋于升高,在对照和高硒处理中达到显著水平($P<0.05$,图2d)。

2.3 外源硒和耐硒细菌对水稻镉含量的影响

硒处理和接种处理对根际土壤镉有效性均有显著影响($R^2=0.548$, $P<0.05$),外源硒和接种耐硒细菌均显著降低镉有效性(图3a)。接种DS15时,施硒处理显著降低根际土壤镉有效性($P<0.05$),降幅分别达50.65%和28.31%;不接种DS15时,施硒处理对根际土壤镉有效性的影响不显著。施硒处理中,接种DS15使根际土壤中镉的有效性显著降低,低硒和高硒处理中降幅分别达38.09%和28.95%($P<0.05$,图3a)。

添加外源硒,以及硒处理与耐硒细菌的交互作用

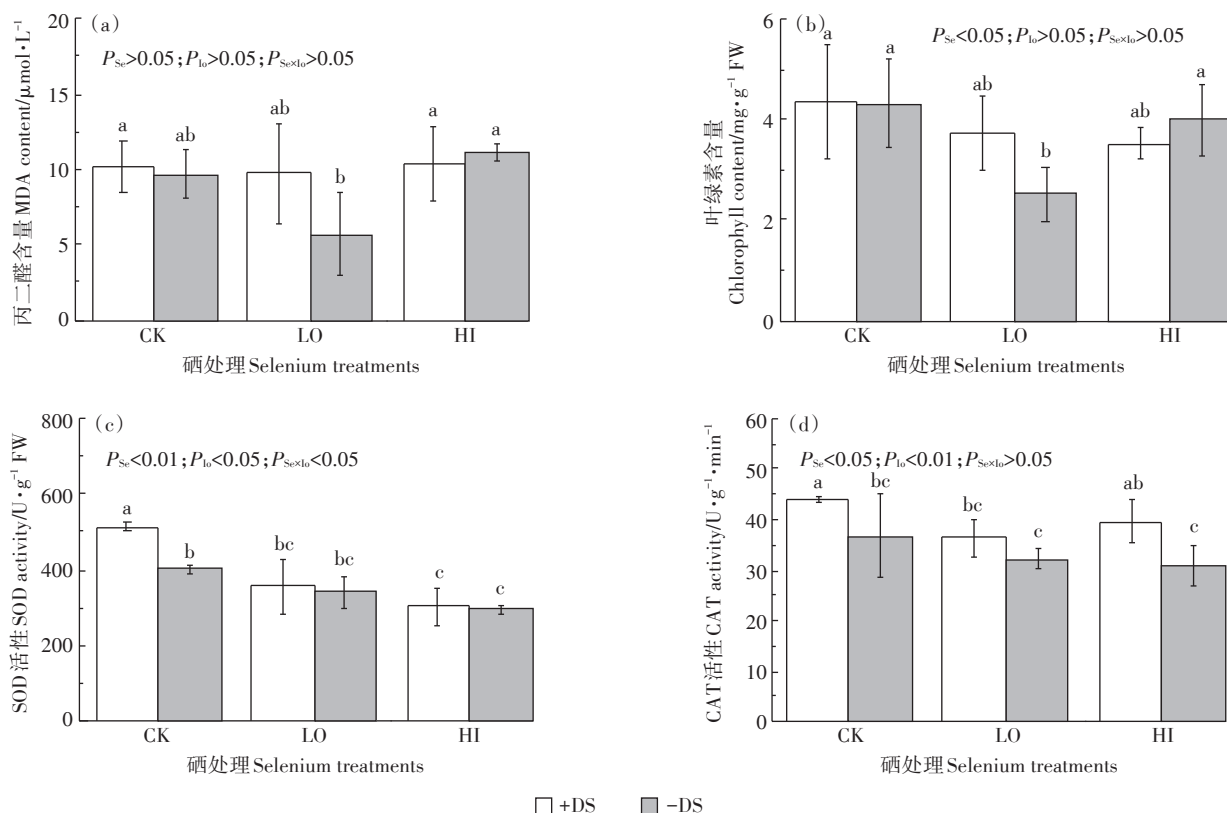


图2 外源硒和接种耐硒细菌对水稻MDA、叶绿素含量及SOD、CAT酶活性的影响

Figure 2 Effect of exogenous selenium (Se) application and inoculation with Se-tolerant bacterium on MDA, chlorophyll contents and SOD, CAT activities of rice

对水稻根部镉含量有极显著影响 ($R^2=0.803$, $P<0.01$, 图3b), 低硒处理中水稻根部镉的含量显著低于对照和高硒处理 ($P<0.01$)。从单个因子的影响来看, 当接种DS15时, 根镉含量在不同硒处理之间均有显著差异, 表现为低硒处理<高硒处理<对照; 但不接种DS15时, 对照和低硒处理均显著低于高硒处理。在对照和高硒处理中, 接种DS15对根镉含量均有显著影响, 但高硒处理中接种DS15显著降低根镉含量, 而对照则刚好相反, 这与根际土壤中镉有效性的变化趋势一致 (图3b)。

硒处理、接种处理和两者的交互作用对水稻地上部分镉含量有极显著影响 ($R^2=0.931$, $P<0.01$), 施硒和接种DS15使地上部分镉含量趋于降低 (图3c)。从单因素方差分析结果看, 接种DS15时, 施硒处理的地上部分镉含量比对照分别降低77.19%和76.12%; 不接种DS15时, 3个硒处理中地上部分镉含量均有显著差异, 依次为高硒处理>对照>低硒处理。在施硒处理中, 接种DS15可降低地上部分镉含量, 但仅在高硒处理中达到极显著水平 ($P<0.01$, 图3c)。

镉的转运系数 (Transportation factor, TF) 均小于

27%, 并受施硒处理、接种处理和两者交互作用的显著影响 ($R^2=0.855$, $P<0.01$, 图3d), 施硒和接种DS15使镉向地上部分的转运趋于降低。接种DS15时, 施硒处理显著减少镉的转运; 不接种DS15时, 仅低硒处理可显著降低镉的转运 (图3d)。接种DS15均使镉的运输呈下降趋势, 其中在高硒处理中达到极显著水平 ($P<0.01$)。

2.4 外源硒和耐硒细菌对水稻硒含量的影响

硒处理、接种处理和两者的交互作用对水稻根部 ($R^2=0.985$, $P<0.05$) 和地上部分硒的积累 ($R^2=0.992$, $P<0.01$) 均有显著影响, 但硒的转运主要受硒处理控制 ($R^2=0.864$, $P<0.01$), 接种DS15的影响不明显 (图4)。单因素方差分析的结果表明, 无论是否接种DS15, 水稻中硒的含量均随着施硒水平的增加而升高 (图4a、图4b); 低硒处理对硒的转运影响不明显, 但高硒处理使硒向水稻地上部分的转运显著增加 (图4c)。在高硒处理中, 接种DS15使地上部分的硒含量, 以及硒的转运显著降低, 而低硒处理中接种DS15使水稻根部硒含量显著增加, 对照中接种DS15对水稻硒含量和转运的影响不明显。

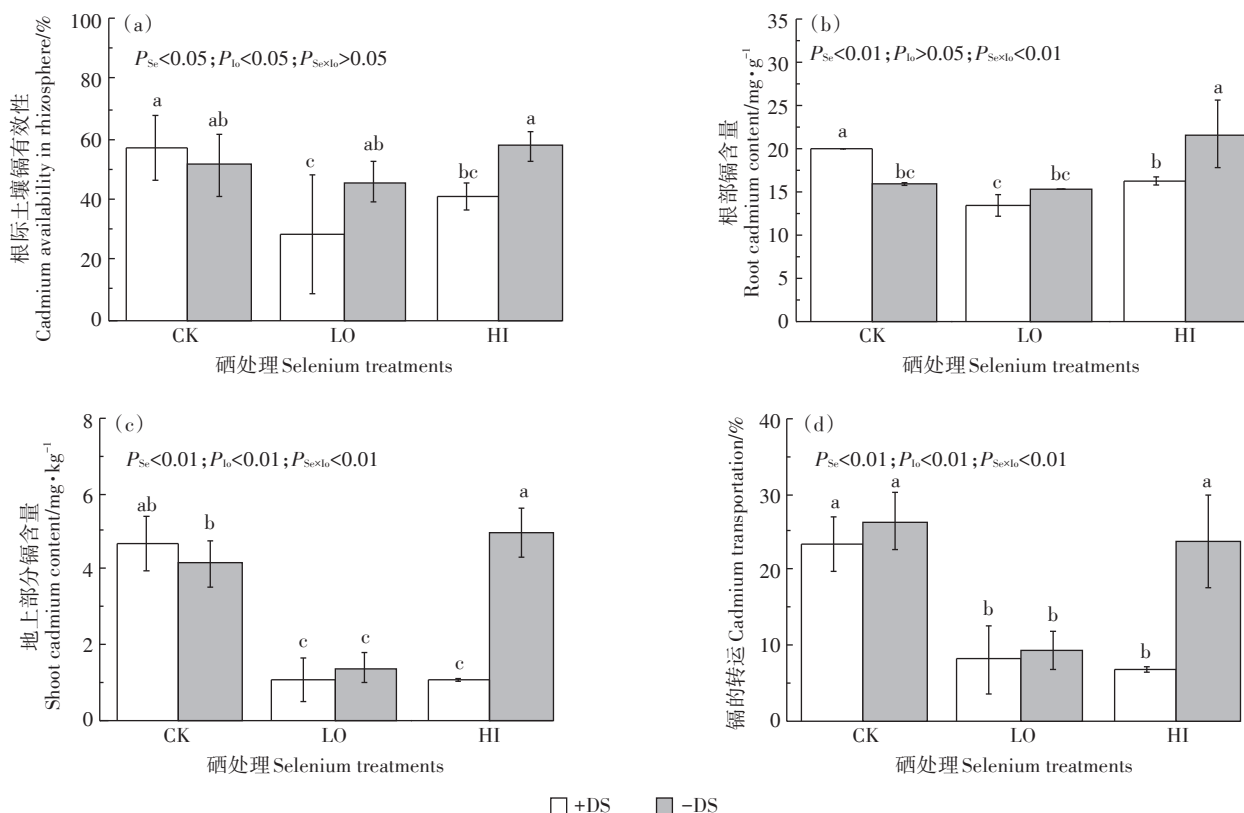


图3 外源硒和接种耐硒细菌对水稻根际有效镉、根部和地上部镉含量、镉转运的影响

Figure 3 Effect of exogenous selenium(Se) application and inoculation with Se-tolerant bacterium on cadmium(Cd) availability in rhizosphere of rice, root and shoot Cd contents, and Cd transportation

3 讨论

地质高背景区土壤中重金属的富集往往具有显著的母岩继承性,其中在广西、贵州、云南等省份广泛分布的喀斯特碳酸盐岩地区是典型的镉地球化学异常区^[30-31]。另外,我国发现的富硒土壤多数发育于寒武系的黑色页岩,通常也具有硒镉背景值较高的特征^[21,32-33]。近年来,硒与重金属之间的相互作用已成为环境与健康研究领域的热点问题之一。虽然目前已有大量研究证实了硒镉存在拮抗作用,但绝大部分研究成果都是来自盆栽试验,硒和镉的施用量、形态都与硒镉高背景区存在显著差异。本研究发现,添加外源硒能够促进水稻地上部分的伸长,显著增加水稻硒含量和硒向地上部的运输,但总生物量并无显著变化。接种耐硒细菌显著增加了水稻生物量,这说明该细菌不仅影响硒的形态,可能还具有一定的促生作用^[34]。从对植物生理和生长的影响而言,适量的硒可以缓解镉胁迫引起的氧化应激反应,减少镉的积累,但过量的硒有可能进一步加重镉的毒害效应^[11]。在不接种耐硒细菌时,低硒处理中水稻MDA含量显著

低于高硒处理,而施硒处理与对照相比MDA含量的变化不明显。硒与镉的相互作用不仅取决于两者的总量,也与其存在形态、比例关系密切相关^[35]。本研究所用土壤硒背景值较高,而过高的硒对水稻等作物会产生一定胁迫^[11],这可能是导致施硒处理对MDA含量影响不明显的重要原因之一。另外,由于耐硒细菌可以将亚硒酸盐还原成纳米单质硒,因此在一定程度上会减弱硒对镉的拮抗作用。本研究发现,在不接种DS15菌株时,低硒处理对叶绿素的合成产生了明显的抑制作用,但高硒处理反而未产生抑制,这种现象目前报道较少,其原因尚不明确。多数情况下,适量的硒处理会增加镉胁迫下叶绿素的含量,但硒浓度过高则会对叶绿素合成产生显著抑制^[36]。然而,赵园园^[37]发现,1 μmol·L⁻¹的低硒处理对镉胁迫下油菜L338的叶绿素总量产生了明显抑制,但高硒处理与对照无显著差异,其结果与本研究基本相同。从水稻叶片的MDA含量可以看出,低硒处理中MDA含量最低,因此叶绿素合成受到抑制并不是氧化胁迫造成的,这可能跟不同的作物品种对硒、镉剂量的差异化响应有关^[37]。外源硒显著降低SOD和CAT活性,但相

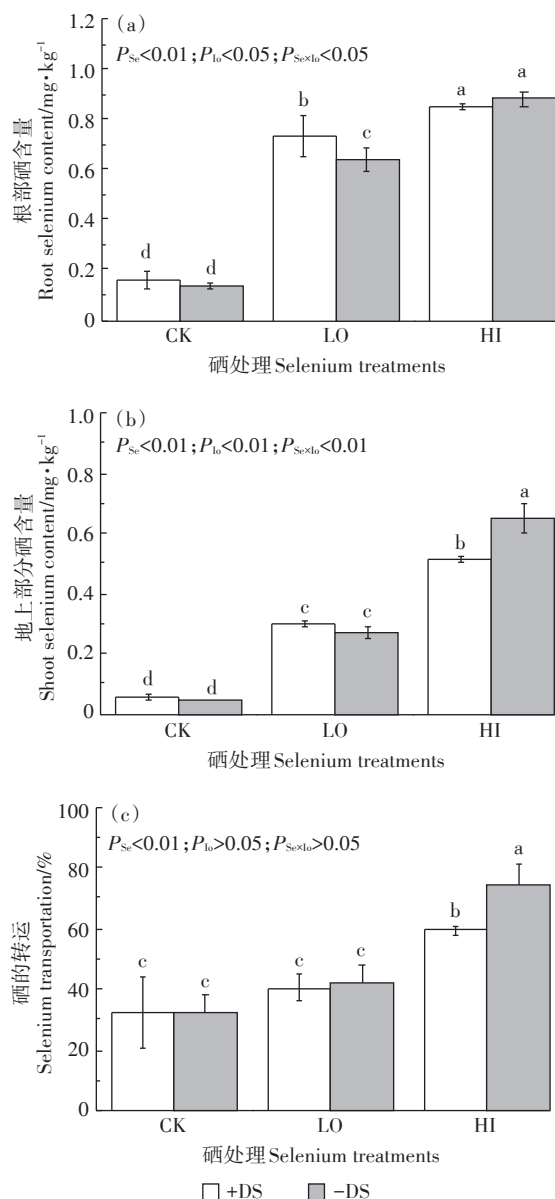


图4 外源硒和接种耐硒细菌对水稻地上部、根部硒含量、硒转运的影响

Figure 4 Effect of exogenous selenium (Se) application and inoculation with Se-tolerant bacterium on root and shoot Se contents of rice, and Se transportation

对而言外源硒对CAT活性的影响较小,在不接种情况下CAT活性变化不明显,这与前人的研究结果是一致的^[11],可能是因为CAT与镉的解毒作用关系不大。本研究结果显示,接种耐硒细菌可能具有双重作用,一方面导致硒的有效性下降,从而使对照处理中SOD活性、对照和高硒处理中CAT活性均显著高于不接种处理(图2c、图2d);另一方面,这些亚硒酸盐还原菌有可能会通过合成纳米CdSe而降低镉的有效性^[16],起到钝化镉的作用,从而降低了水稻植株对镉

的积累和运输(图3)。同时,这两方面作用的综合结果与土壤硒水平密切相关。在高硒处理中接种DS15使土壤镉有效性显著下降,水稻的镉积累量和镉的运输也显著降低;但是,在对照处理中接种DS15的作用却与此相反,水稻根际有效镉增加了10.83%,根部镉积累量极显著增加。同样,外源硒也显著降低根际土壤中镉的有效性,以及水稻植株对镉的吸收和运输,其作用效果均在低硒处理中达到最佳。最近的研究表明,外源硒减少水稻对镉的积累可能与促进根系泌氧,增强根表铁膜的阻隔作用有关^[38]。但是,由于本研究未获得籽粒镉的数据,而且水稻籽粒积累镉的过程受多种因素影响^[29,39],因此无法通过植株中镉的积累量预测外源硒和接种耐硒细菌是否能降低籽粒中镉的积累量。前期研究发现,硒镉高背景区土壤中硒对水稻和茶叶中镉的积累量无显著影响^[21,40],这与大量盆栽试验的结果有明显不同。Zhang等^[35]发现,在硒镉高背景区土壤中有效态硒镉的摩尔比对玉米的镉积累量有显著影响,当比值较大时(≥ 0.7)会阻碍镉的吸收,叶片中硒代蛋氨酸与镉相结合;反之,当比值较小时(< 0.7)则会增加玉米对镉的积累量,叶片中硒代胱氨酸与镉共存。大山村地区土壤有效硒平均占比小于6%^[41],茶园土壤中有效硒为17.54%,而有效镉为57.31%^[21],这可能是硒镉拮抗现象不明显的重要原因之一。

本研究结果表明,外源硒对镉胁迫下水稻生长、生理代谢和镉积累的影响与其施用量密切相关。耐硒细菌会影响硒和镉的有效性,减少镉的吸收和运输,但可能对抗氧化酶产生不利影响,硒镉高背景区土著微生物的作用值得关注。

4 结论

(1)外源硒可以促进水稻地上部分伸长,接种耐硒细菌能够增加水稻生物量。

(2)外源硒和耐硒细菌对丙二醛(MDA)含量的影响不明显,外源硒显著降低超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性,而接种耐硒细菌的作用刚好相反,这可能跟耐硒细菌对亚硒酸盐的转化有关。

(3)外源硒显著增加水稻对硒的积累和运输,降低根际土壤镉活性,减少了水稻对镉的积累和运输。硒处理均在低浓度下效果最佳,不接种DS15时过量施用硒会增加水稻的镉积累量。

(4)高硒处理中,接种耐硒细菌使水稻地上部分硒含量显著降低,但对根际土壤镉具有钝化作用,因

此降低了水稻对镉的积累和运输。

参考文献:

- [1] Zhao F J, Ma Y B, Zhu Y G, et al. Soil contamination in China: Current status and mitigation strategies[J]. *Environmental Science and Technology*, 2015, 49(2): 750–759.
- [2] 中华人民共和国环境保护部, 中华人民共和国国土资源部. 全国土壤污染状况调查公报[R]. 2014.
- Ministry of Environmental Protection Resources of the People's Republic of China, The Ministry of Land and Resources of the People's Republic of China. Report on the national soil contamination survey [R]. 2014.
- [3] Liu X J, Tian G J, Jiang D, et al. Cadmium(Cd) distribution and contamination in Chinese paddy soils on national scale[J]. *Environmental Sciences and Pollution Research*, 2016, 23: 17941–17952.
- [4] Grioni S, Agnoli C, Krogh V, et al. Dietary cadmium and risk of breast cancer subtypes defined by hormone receptor status: A prospective cohort study[J]. *International Journal of Cancer*, 2019, 144(9): 2153–2160.
- [5] 伍钧, 吴传星, 孟晓霞, 等. 重金属低积累玉米品种的稳定性 and 环境适应性分析[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(11): 2160–2167.
- WU Jun, WU Chuan-xing, MENG Xiao-xia, et al. The analysis of stability and adaptability on low accumulation of heavy metals in various cultivars of *Zea mays*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(11): 2160–2167.
- [6] Rayman M P. The importance of selenium to human health[J]. *Lancet*, 2000, 356(9225): 233–241.
- [7] Kumar A, Singh R P, Singh P K, et al. Selenium ameliorates arsenic induced oxidative stress through modulation of antioxidant enzymes and thiols in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Ecotoxicology*, 2014, 23(7): 1153–1163.
- [8] Ding Y Z, Wang R G, Guo J K, et al. The effect of selenium on the sub-cellular distribution of antimony to regulate the toxicity of antimony in paddy rice[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(7): 5111–5123.
- [9] Wan Y N, Yu Y, Wang Q, et al. Cadmium uptake dynamics and translocation in rice seedling: Influence of different forms of selenium[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safe*, 2016, 133: 127–134.
- [10] Wang Y J, Dang F, Evans R D, et al. Mechanistic understanding of MeHg-Se antagonism in soil-rice systems: The key role of antagonism in soil[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 19477.
- [11] Ding Y Z, Feng R W, Wang R G, et al. A dual effect of Se on Cd toxicity: Evidence from plant growth, root morphology and responses of the antioxidative systems of paddy rice[J]. *Plant and Soil*, 2014, 375: 289–301.
- [12] Wang M L, Wu S J, Guo J A, et al. Immobilization of cadmium by hydroxyapatite converted from microbial precipitated calcite[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 366: 684–693.
- [13] Zhang J, Wang Y, Shao Z Y, et al. Two selenium tolerant *Lysinibacillus* sp. strains are capable of reducing selenite to elemental Se efficiently under aerobic conditions[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2019, 77: 238–249.
- [14] Lampis S, Zonaro E, Bertolini C, et al. Selenite biotransformation and detoxification by *Stenotrophomonas maltophilia* SeITE02: Novel clues on the route to bacterial biogenesis of selenium nanoparticles[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 324: 3–14.
- [15] Wang X N, Zhang D Y, Pan X L, et al. Aerobic and anaerobic biosynthesis of nano-selenium for remediation of mercury contaminated soil [J]. *Chemosphere*, 2017, 170: 266–273.
- [16] Ayano H, Miyake M, Terasawa K, et al. Isolation of a selenite-reducing and cadmium-resistant bacterium *Pseudomonas* sp. strain RB for microbial synthesis of CdSe nanoparticles[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2014, 117(5): 576–581.
- [17] Li L L, Cui Y H, Lu L Y, et al. Selenium stimulates cadmium detoxification in *Caenorhabditis elegans* through thiols-mediated nanoparticles formation and secretion[J]. *Environmental Science and Technology*, 2019, 53(5): 2344–2352.
- [18] Durán P, Acuña J J, Gianfreda L, et al. Endophytic selenobacteria as new inocula for selenium biofortification[J]. *Applied Soil Ecology*, 2015, 96: 319–326.
- [19] Xu X, Cheng W, Liu X, et al. Selenate reduction and selenium enrichment of tea by the endophytic *Herbaspirillum* sp. strain WT00C[J]. *Current Microbiology*, 2020, 77: 588–601.
- [20] Lindblom S D, Valdez-Barillas J R, Fakra S C, et al. Influence of microbial associations on selenium localization and speciation in roots of *Astragalus* and *Stanleya* hyperaccumulators[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2013, 88: 33–42.
- [21] 杨如意, 杨程, 石晓菁, 等. 硒镉高背景区茶叶中硒和砷、汞、镉的积累与浸出特征研究[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(9): 2023–2030.
- YANG Ru-yi, YANG Cheng, SHI Xiao-jing, et al. Selenium, arsenic, mercury and cadmium in tea leaves and infusion of a green tea grown in an area with a high geological background of selenium and cadmium[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(9): 2023–2030.
- [22] 唐豆豆, 袁旭音, 汪宜敏, 等. 地质高背景农田土壤中水稻对重金属的富集特征及风险预测[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(1): 18–26.
- TANG Dou-dou, YUAN Xu-yin, WANG Yi-min, et al. Enrichment characteristics and risk prediction of heavy metals for rice grains growing in paddy soils with a high geological background[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(1): 18–26.
- [23] Ben A N, Ben H K, Debez A, et al. Physiological and antioxidant responses of the perennial halophyte *Crithmum maritimum* to salinity [J]. *Plant Science*, 2005, 168(4): 889–899.
- [24] Stewart R R C, Bewley J D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes[J]. *Plant Physiology*, 1980, 65: 245–248.
- [25] Aebi H. Catalase *in vitro*[J]. *Methods in Enzymology*, 1984, 105: 121–126.
- [26] Wang X P, Zabowski D. Nutrient composition of Douglas-fir rhizosphere and bulk soil solutions[J]. *Plant and Soil*, 1998, 200: 12–20.
- [27] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 373–375.

- BAO Shi-dan. Method of soil chemistry analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000:373-375.
- [28] Gao J, Liu Y, Huang Y, et al. Daily selenium intake in a moderate selenium deficiency area of Suzhou, China[J]. *Food Chemistry*, 2011, 126:1088-1093.
- [29] Uruguchi S, Mori S, Kuramata M, et al. Root-to-shoot Cd translocation via the xylem is the major process determining shoot and grain cadmium accumulation in rice[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(9):2677-2688.
- [30] 刘鸿雁, 涂宇, 顾小凤, 等. 地球化学高背景农田土壤重金属镉的累积效应及环境影响[J]. 山地农业生物学报, 2018, 37(5):1-5.
- LIU Hong-yan, TU Yu, GU Xiao-feng, et al. Accumulative effect and environmental impact of cadmium in farmland soil with high background of geochemistry[J]. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*, 2018, 37(5):1-5.
- [31] 郭超, 文字博, 杨忠芳, 等. 典型岩溶地质高背景土壤镉生物有效性及其控制因素研究[J]. 南京大学学报(自然科学版), 2019, 55(4):678-687.
- GUO Chao, WEN Yu-bo, YANG Zhong-fang, et al. Factors controlling the bioavailability of soil cadmium in typical Karst areas with high geogenic background[J]. *Journal of Nanjing University (Natural Science)*, 2019, 55(4):678-687.
- [32] 赵万伏, 宋垠先, 管冬兴, 等. 典型黑色岩系分布区土壤重金属污染与生物有效性研究[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(7):1332-1341.
- ZHAO Wan-fu, SONG Yin-xian, GUAN Dong-xing, et al. Pollution status and bioavailability of heavy metals in soils of a typical black shale area[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(7):1332-1341.
- [33] Chang C Y, Yin R S, Zhang H, et al. Bioaccumulation and health risk assessment of heavy metals in the soil-rice system in a typical seleniferous area in central China[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2019, 38(7):1577-1584.
- [34] Shabanamol S, Divya K, George T K, et al. Characterization and in planta nitrogen fixation of plant growth promoting endophytic diazotrophic *Lysinibacillus sphaericus* isolated from rice (*Oryza sativa*) [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2018, 102:46-54.
- [35] Zhang Z Z, Yuan L X, Qi S H, et al. The threshold effect between the soil bioavailable molar Se:Cd ratio and the accumulation of Cd in corn (*Zea mays* L.) from natural Se-Cd rich soils[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 688:1228-1235.
- [36] Wang C R, Rong H, Zhang X B, et al. Effects and mechanisms of foliar application of silicon and selenium composite soils on diminishing cadmium and leaf translocation and affiliated physiological and biochemical responses in hybrid rice (*Oryza sativa* L.) exposed to cadmium and lead[J]. *Chemosphere*, 2020, 251:126347.
- [37] 赵园园. 硒对镉胁迫下油菜生长及根部镉响应的调控[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019.
- ZHAO Yuan-yuan. Selenium regulated plant growth and cadmium response in root of rape under cadmium stress[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019.
- [38] Huang G X, Ding C F, Li Y S, et al. Selenium enhances iron plaque formation by elevating the radial oxygen loss of roots to reduce cadmium accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 398:122860.
- [39] Uruguchi S, Fujiwara T. Cadmium transport and tolerance in rice: Perspective for reducing grain cadmium accumulation[J]. *Rice*, 2012, 5:5.
- [40] Yang B B, Yang C, Shao Z Y, et al. Selenium (Se) does not reduce cadmium (Cd) uptake and translocation in rice (*Oryza sativa* L.) in naturally occurred Se-rich paddy fields with a high geological background of Cd[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2019, 103:127-132.
- [41] Xing K, Zhou S B, Wu X G, et al. Concentrations and characteristics of selenium in soil samples from Dashan Region, a selenium-enriched area in China[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2015, 61(6):889-897.