



假单胞菌TCd-1对不同镉耐性水稻品种镉吸收及根际土壤酶活性与镉形态的影响

柳玲林, 汪敦飞, 黄明田, 肖清铁, 游武, 钱鑫, 郑新宇, 林瑞余

Effects of *Pseudomonas* TCd-1 inoculation on Cd uptake, rhizosphere soils enzyme activities and Cd bioavailability in rice (*Oryza sativa*) varieties with different Cd tolerance

LIU Linglin, WANG Dunfei, HUANG Mingtian, XIAO Qingtie, YOU Wu, QIAN Xin, ZHENG Xinyu, and LIN Ruiyu

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12357/cjea.20210854>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

铜绿假单胞菌对镉胁迫水稻苗期生长与镉积累的影响

Effects of *Pseudomonas aeruginosa* on the growth and cadmium accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) seedling under Cd stress
中国生态农业学报(中英文). 2018, 26(6): 884–891

伴矿景天间作方式对辣椒根围土壤镉迁移与有效性的影响

Influence of intercropping *Sedum plumbizincicola* with *Capsicum annuum* on the migration and availability of soil cadmium
中国生态农业学报(中英文). 2021, 29(9): 1604–1614

施氮量对玉米/大豆套作系统土壤微生物数量及土壤酶活性的影响

Effects of nitrogen application rate on soil microbial quantity and soil enzymes activities in maize/soybean intercropping systems
中国生态农业学报(中英文). 2017, 25(10): 1463–1474

镉-乙草胺胁迫对蚯蚓-土壤-玉米系统的影响

The combined effects of cadmium and acetochlor on an earthworm-soil-maize system
中国生态农业学报(中英文). 2021, 29(3): 549–558

外源Cd在不同品种水稻组织中的细胞分布和化学形态特征研究

Histocyte distribution and cadmium forms in different rice cultivar seedlings with exogenous cadmium supply
中国生态农业学报(中英文). 2017, 25(6): 903–910

二种钾肥对海泡石钝化修复镉污染土壤效应影响的研究

Effect of potassium fertilizers on immobilization remediation of Cd-polluted soils using sepiolite
中国生态农业学报(中英文). 2018, 26(8): 1249–1256



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

DOI: 10.12357/cjea.20210854

柳玲林, 汪敦飞, 黄明田, 肖清铁, 游武, 钱鑫, 郑新宇, 林瑞余. 假单胞菌 TCd-1 对不同镉耐性水稻品种镉吸收及根际土壤酶活性与镉形态的影响[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2022, 30(8): 1362–1371

LIU L L, WANG D F, HUANG M T, XIAO Q T, YOU W, QIAN X, ZHENG X Y, LIN R Y. Effects of *Pseudomonas* TCd-1 inoculation on Cd uptake, rhizosphere soils enzyme activities and Cd bioavailability in rice (*Oryza sativa*) varieties with different Cd tolerance[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2022, 30(8): 1362–1371

假单胞菌 TCd-1 对不同镉耐性水稻品种镉吸收及根际土壤酶活性与镉形态的影响*

柳玲林¹, 汪敦飞¹, 黄明田¹, 肖清铁^{1,2}, 游武¹, 钱鑫¹, 郑新宇^{1,2}, 林瑞余^{1,2**}

(1. 福建农林大学生命科学学院/福建省农业生态过程与安全监控重点实验室 福州 350002; 2. 福建农林大学作物生态与分子生理学福建省高校重点实验室 福州 350002)

摘要: 为探究假单胞菌 TCd-1 降低水稻镉吸收的根际生态机制, 以高镉耐性水稻品种‘特优 671’和低镉耐性水稻品种‘百香 139’为材料, 通过盆栽土培试验, 研究了接种 TCd-1 菌株对 10 mg·kg⁻¹ 镉处理水稻镉吸收、根际土壤镉形态及酶活性的影响。结果表明: 接种菌株后高、低镉耐性水稻品种各部位的镉含量显著降低 ($P<0.05$), 镉富集系数分别降低 35.14% 和 47.79%, 转移系数无显著变化; 根际土壤可交换态镉含量分别显著降低 15.89% 和 23.81% ($P<0.05$), 铁锰氧化结合态镉含量显著提高 39.58% 和 28.81% ($P<0.05$), 有机态镉含量显著提高 36.11% 和 25.00% ($P<0.05$); 低镉耐性水稻品种根际土壤酸性磷酸酶、脲酶、蔗糖酶、纤维素酶和过氧化氢酶活性依次提高 26.74%、12.07%、62.50%、81.17% 和 5.13%, 多酚氧化酶活性降低 12.40%, 高镉耐性水稻的酸性磷酸酶、脲酶、蔗糖酶、纤维素酶和多酚氧化酶活性依次降低 7.19%、9.39%、25.53%、16.20% 和 11.44%, 过氧化氢酶活性提高 5.13%。可见, 假单胞菌 TCd-1 主要通过降低根际土壤镉的生物有效性、恢复土壤酶活性, 进而提高水稻耐镉能力并抑制水稻对镉的吸收与积累, 对高、低不同镉耐性水稻品种, 接种 TCd-1 菌株后其镉富集特性、根际土壤酶活性及不同镉形态含量占比均表现出显著差异。

关键词: 水稻; 镉污染; 假单胞菌 TCd-1; 土壤镉形态; 生物有效性; 土壤酶活性; 微生物修复

中图分类号: Q939.9; X53

开放科学码(资源服务)标识码(OSID):



Effects of *Pseudomonas* TCd-1 inoculation on Cd uptake, rhizosphere soils enzyme activities and Cd bioavailability in rice (*Oryza sativa*) varieties with different Cd tolerance*

LIU Linglin¹, WANG Dunfei¹, HUANG Mingtian¹, XIAO Qingtie^{1,2}, YOU Wu¹, QIAN Xin¹, ZHENG Xinyu^{1,2}, LIN Ruiyu^{1,2**}

(1. College of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University / Fujian Provincial Key Laboratory of Agroecological Processing and Safety Monitoring, Fuzhou 350002, China; 2. Key Laboratory of Crop Ecology and Molecular Physiology of Fujian Province University, Fuzhou 350002, China)

* 国家重点研发计划项目 (2017YFD0800900) 和福建省自然科学基金项目 (2009J01056, 2013J01083, 2015J01081) 资助

** 通信作者: 林瑞余, 主要从事农业生态研究。E-mail: lrylin2004@163.com

柳玲林, 主要从事环境生态研究。E-mail: 1046456539@qq.com

收稿日期: 2021-12-02 接受日期: 2022-01-19

* This work was supported by the National Key R&D Program of China (2017YFD0800900) and the Natural Science Foundation of Fujian Province (2009J01056, 2013J01083, 2015J01081).

** Corresponding author, E-mail: lrylin2004@163.com

Received Dec. 2, 2021; accepted Jan. 19, 2022

Abstract: Heavy metal contamination in rice (*Oryza sativa*) is a serious problem. Microbial remediation is a promising technique to reduce Cd accumulation in rice. To explore the rhizosphere-associated ecological mechanism of *Pseudomonas* TCd-1-induced reduction of Cd uptake in rice, two rice varieties, high Cd-tolerant variety ‘Teyou 671’ and low Cd-tolerant variety ‘Baixiang 139’, were used. A set of soil culture pots treated with $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd were employed to evaluate the effects of *Pseudomonas* TCd-1 inoculation on rice Cd uptake and enzymes activities in rhizosphere soils. The results showed that the Cd content in different parts of both the high and low Cd-tolerant rice varieties significantly decreased ($P < 0.05$) after inoculation of *Pseudomonas* TCd-1, and the bioconcentration factor (BCF) of Cd decreased by 35.14% and 47.79% ($P < 0.05$), respectively. However, no significant changes were found in the translocation factor (TF). Meanwhile, in rhizosphere soils of the high and low Cd-tolerant rice varieties, the content of exchangeable Cd decreased by 15.89% and 23.81% ($P < 0.05$), Fe-Mn oxide bound Cd increased by 39.58% and 28.81% ($P < 0.05$), and organic matter Cd increased by 36.11% and 25.00% ($P < 0.05$), respectively. In addition, the activities of acid phosphatase, urease, saccharase, cellulase, and catalase significantly increased by 26.74%, 12.07%, 62.50%, 81.17%, and 5.13%, respectively; while the polyphenol oxidase activity decreased by 12.40% in the rhizosphere soils of low Cd-tolerant rice variety. In rhizosphere soils of high Cd-tolerant rice variety, the activities of acid phosphatase, urease, sucrase, cellulase, and polyphenol oxidase decreased by 7.19%, 9.39%, 25.53%, 16.20%, and 11.44%, respectively; while catalase activity increased by 5.13%. There were significant differences in enrichment characteristics, rhizosphere soil enzymes activities, and the proportions of different chemical forms of Cd in rhizosphere soils of different Cd-tolerant rice varieties after inoculation with the TCd-1 strain. The results indicated that inoculation with the strain may partly remediate the changes in soil enzymes activities caused by Cd pollution. In conclusion, *Pseudomonas* TCd-1 can improve Cd tolerance and inhibit Cd uptake and accumulation in rice, mainly by reducing the bioavailability of soil Cd and restoring the changes in soil enzymes activities caused by Cd pollution.

Keywords: Rice; Cd pollution; *Pseudomonas* TCd-1; Soil Cd form; Bioavailability; Soil enzyme activity; Microbial remediation

稻米镉污染严重威胁我国粮食安全, 镉污染土壤是稻米镉污染的重要来源^[1-2]。如何修复镉污染稻田已成为当前农业研究的热点问题。微生物修复是一种利用特定的微生物降低土壤中有害污染物活性或使污染物降解成无害物质的修复技术, 具有耗资少、操作简单且不会破坏土壤结构等优点, 被认为是最具应用前景的土壤修复技术之一^[3]。陆仲烟等^[4]发现伯克氏菌 (*Burkholderia* sp.) D54 能显著提高水稻 (*Oryza sativa*) 的耐镉能力, 降低水稻地上部镉含量。何小三等^[5]利用铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 菌剂进行水稻镉污染修复试验, 发现添加菌剂处理后水稻‘PI312777’根、茎鞘、叶镉含量分别显著降低 17.2%~41.2%、1.4%~59.9% 和 31.1%~62.6%。Li 等^[6]在镉污染土壤中接种耐镉芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*) H3 和根瘤菌 (*Neorhizobium huautlense*) T1-17, 发现菌株通过降低镉的生物有效性使土壤水溶性镉降低 79.0%~96.0%, 稻米镉含量降低 45.0%~72.0%。汪敦飞等^[7]研究发现, 铜绿假单胞菌通过提高水稻根系活力、增强水稻光合作用和抗氧化酶活性, 促进了苗期水稻的生长。Wang 等^[8]应用假单胞菌 TCd-1 处理镉污染下具有强化感作用的水稻‘PI312777’, 发现接种菌株后水稻根、茎、叶和糙米的镉含量均显著降低, 改变了土壤酶活性和镉的生物有效性。文欢欢等^[9]将假单胞菌 TCd-1 接种到 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 镉处理的高镉耐性水稻‘特优 671’和低镉耐性水稻‘百香 139’中, 发现该菌通过提高水稻根

系活力和光合作用, 促进了水稻的生长, 并显著降低分蘖期、抽穗期、成熟期水稻各部位的镉含量, 且不同镉耐性水稻品种间存在明显的差异。但假单胞菌 TCd-1 影响不同镉耐性水稻镉吸收及其根际过程的机理尚不清楚。为此, 本研究将从假单胞菌 TCd-1 菌株影响水稻根际土壤酶活性、镉生物有效性的角度, 阐明菌株降低不同镉耐性水稻镉吸收的根际微生态机制, 以期为其应用菌株修复镉污染水稻提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

高镉耐性水稻品种‘特优 671’(TY) 和低镉耐性水稻品种‘百香 139’(BX) 均为课题组前期从近年我国主栽的 238 份水稻品种中筛选得到^[10]。供试菌株假单胞菌 TCd-1 为课题组前期从水稻根际土壤筛选得到的耐镉菌株 (专利号: CN103952333A)。菌悬液培养条件: 牛肉膏 0.5%, 酵母粉 1.0%, 氯化镁 0.5%, pH 6.3, 温度 33 °C, 接菌量 1.25%, 转速 160 rpm, 培养 24 h 后用于接种。接种前取菌悬液 100 mL 在 4 °C、12 000 rpm 下离心 15 min, 去上清液, 菌株沉淀物用无菌水稀释至 100 mL, 稀释后的菌液浓度测定为 $(5.33 \pm 0.24) \times 10^{10} \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。盆栽土壤取自福建农林大学水稻田, 基本理化性质为: pH 5.8, 全氮为 $0.31 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全磷为 $0.38 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全钾为 $0.46 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 有机质为 $25.40 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 总镉含量为 $0.18 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

1.2 水稻盆栽管理与取样

试验于 2019 年 3—7 月在福建农林大学生命科学学院温室中进行。在直径 18 cm、高 15 cm 的塑料盆钵加入 2.5 kg 水稻土, 每盆施氮肥(以纯 N 计) 375 mg、磷肥(以 P_2O_5 计) 250 mg 和钾肥(以 K_2O 计) 250 mg。土壤镉处理采用氯化镉(AR), 镉处理浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (以纯镉计), 每周混匀搅动一次, 陈化 4 周后用于水稻栽培。在 3 叶 1 心期, 选择长势一致的水稻秧苗, 每盆移栽 1 株。待水稻返青后接种 TCd-1 菌株, 接种量 $20\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ (即每千克土壤接种 20 mL 稀释后的 TCd-1 菌液)。试验共设 4 个处理, 各处理 3 次重复: 1) CK: 不加镉且不接种菌株; 2) Cd: 加镉但不接种菌株; 3) CKB: 不加镉但接种菌株; 4) CdB: 加镉且接种菌株。

试验期间定期浇水, 保持浅水 2~3 cm。在水稻成熟期取样, 取样时将水稻整株取出, 采用抖落法采集根际土壤, 置于室内自然风干, 过 100 目筛后用于酶活性及镉形态分析。收获的水稻洗净根部后将其分为根、地上部和籽粒 3 个部位, 分别置于烘干箱 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 杀青 1 h 后, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒重, 测定生物量。

1.3 根际土壤酶活性测定方法

参照《土壤酶及其研究法》^[11], 测定土壤酸性磷酸酶(ACP)、脲酶(URE)、蔗糖酶(SUC)、纤维素酶(CUE)、过氧化氢酶(CAT)和多酚氧化酶(PPO)活性。

1.4 根际土壤镉形态与含量的测定

土壤镉形态提取方法参照 Tessier 等^[12]的 5 步连续提取法, 将土壤中的镉分为可交换态(exchangeable cadmium, EXC-Cd)、碳酸盐结合态(carbonate bound cadmium, Crab-Cd)、铁锰氧化物结合态(Fe-Mn oxides bound cadmium, FeMnO₂-Cd)、有机结合态(organic matter cadmium, OM-Cd)以及残渣态(residual cadmium, RES-Cd) 5 种形态, 各提取态经 $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$ 消解、定容后用火焰原子吸收分光光度法测定镉含量。

1.5 水稻植株镉含量测定

将各部位植物干样磨成粉末状, 称取 0.50 g 置于硬质玻璃试管中, 采用 $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$ 法消解样品, 消解液经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤、定容后, 采用火焰原子吸收分光光度法测定镉含量。全株镉含量为各部位镉含量的加权平均值, 镉富集系数(BCF)=全株镉含量/土壤镉含量, 转移系数(TF)=地上部镉含量/根部镉含量, 镉富集量=各部位的镉含量×生物量。

1.6 数据处理与统计分析

采用 Excel 2016 和 SPSS 25.0 软件对数据进行统

计分析。采用单因素(One-way ANOVA)和 Duncan 法进行方差分析和多重比较($\alpha=0.05$), 用 Pearson 相关系数对水稻镉含量、镉富集量、土壤酶及土壤镉形态进行相关分析。利用 Excel 2016 和 Origin 2021b 软件进行作图。图表中数据为平均值±标准差。

2 结果与分析

2.1 假单胞菌 TCd-1 对不同镉耐性水稻品种镉富集能力的影响

多因素方差分析表明(表 1), 水稻各部位镉含量、镉富集量、镉富集系数(BCF)及转移系数(TF)在不同镉耐性水稻品种(V)、镉处理(Cd)及菌处理(B)间均存在显著差异($P<0.05$), 其中 BCF 与菌处理和水稻品种×菌处理间无显著相互作用, 籽粒镉富集量与水稻品种间无显著相互作用, 地上部和籽粒镉富集量与水稻品种×镉处理间无显著的相互作用, 其余各指标在水稻品种、镉处理及菌处理两两因素及三因素间存在显著的互作关系。

由表 1 可知, CK 处理下, 接种菌株后水稻品种‘特优 671’各部位的镉含量、镉富集量和富集系数(BCF)、转移系数(TF)均未发生显著性变化; 水稻品种‘百香 139’除根部镉含量显著提高 207.27%($P<0.05$)外其余部位镉含量均无显著变化, 而根部、地上部及全株镉富集量依次显著提高 320.05%、22.81% 和 36.15%($P<0.05$), TF 显著下降 68.73%($P<0.05$), BCF 提高 6.72%。 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 镉处理下, 接种菌株后水稻‘特优 671’根部、地上部、籽粒及全株镉含量依次显著下降 30.49%、40.35%、28.57%、34.53%($P<0.05$), 镉富集量依次下降 33.72%、43.13%、29.61%、37.52%($P<0.05$), BCF 下降 35.14%($P<0.05$), 但对 TF 无显著影响; 水稻‘百香 139’根部、地上部、籽粒及全株镉含量依次显著下降 52.20%、46.64%、39.10%、47.74%($P<0.05$), 镉富集量依次下降 29.80%、18.46%、0.09%、20.55%($P<0.05$), BCF 显著下降 47.19%($P<0.05$), 对 TF 亦无显著影响。结果表明镉污染条件下接种菌株能显著降低不同镉耐性水稻品种各部位的镉含量及镉富集量。

2.2 假单胞菌 TCd-1 对水稻根际土壤酶活性的影响

多因素方差分析表明(表 2), 水稻根际土壤 ACP、URE、CUE、CAT 活性在水稻品种、镉处理及菌处理间均存在显著差异($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 且水稻品种与镉处理、水稻品种与菌处理间均存在显著的相互作用; 镉处理及菌处理互作对 URE 和 CUE 活性有极显著影响($P<0.01$); SUC 活性在水稻品种间差异显

表 1 菌和 Cd 交互处理对不同镉耐性水稻各部位镉含量、富集系数 (BCF)、转移系数 (TF) 及镉富集量的影响

Table 1 Effects of *Pseudomonas* TCd-1, Cd and their interaction on Cd contents, bioconcentration factor (BCF), translocation factor (TF) and Cd accumulation of different Cd-tolerant varieties of rice

处理 Treatment	镉含量 Cadmium content (mg·kg ⁻¹)				富集系数 BCF	转移系数 TF	镉富集量 Cadmium accumulation (μg·plant ⁻¹)			
	根部 Root	地上部 Aerial part	籽粒 Grain	全株 Whole plant			根部 Root	地上部 Aerial part	籽粒 Grain	全株 Whole plant
TY-CK	0.28±0.04g	0.05±0.02f	0.03±0.00d	0.09±0.02e	0.52±0.10de	0.18±0.03d	4.05±0.31f	3.51±1.06f	0.99±0.24d	7.56±1.38f
TY-CKB	0.33±0.03g	0.09±0.03f	0.06±0.01d	0.12±0.03e	0.67±0.18cde	0.26±0.08d	4.07±0.22f	6.99±2.58f	2.25±0.38d	11.06±2.88f
TY-Cd	35.72±0.21a	3.47±0.21c	0.84±0.01b	7.53±0.42b	0.74±0.04cd	0.10±0.01e	342.60±13.33a	231.57±5.70b	28.94±2.62a	574.17±16.71a
TY-CdB	24.83±0.10b	2.07±0.10d	0.60±0.03c	4.93±0.16c	0.48±0.02e	0.08±0.00e	227.06±5.92b	131.69±6.66c	20.37±1.46c	358.75±12.58b
BX-CK	0.55±0.03f	1.50±0.06e	0.02±0.01d	1.39±0.05d	7.74±0.28b	2.75±0.08d	3.84±0.33f	81.81±3.74c	0.67±0.31d	85.64±4.01e
BX-CKB	1.69±0.07e	1.46±0.02e	0.08±0.02d	1.49±0.02d	8.26±0.10a	0.86±0.04b	16.13±0.57e	100.47±5.83d	2.69±0.67d	116.60±6.40d
BX-Cd	13.18±0.02c	8.47±0.43a	1.33±0.01a	9.07±0.40a	0.89±0.39c	0.64±0.03c	65.34±2.39c	289.05±8.20a	22.96±2.22b	354.38±10.56b
BX-CdB	6.30±0.06d	4.52±0.25b	0.81±0.08b	4.74±0.23c	0.47±0.02e	0.72±0.03c	45.87±1.03d	235.69±1.55b	22.98±1.09b	281.56±2.33c
显著性 Significance										
水稻品种 Rice variety (V)	**	**	**	**	**	**	**	**	NS	**
镉处理 Cadmium treatment (Cd)	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
菌处理 Bacterial treatment (B)	**	**	**	**	NS	**	**	**	*	**
V×Cd	**	**	**	**	**	**	**	NS	NS	**
V×B	**	**	**	**	NS	**	**	**	**	**
Cd×B	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
V×Cd×B	**	**	**	**	*	**	**	**	**	**

表中同列不同小写字母表示处理间在 $P<0.05$ 水平差异显著; *和**分别表示在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平差异显著; NS表示无显著性差异。TY: 高镉耐性水稻品种‘特优 671’; BX: 低镉耐性品种‘百香 139’; CK: 不加镉且不接种菌株; CKB: 不加镉但接种菌株; Cd: 加镉但不接种菌株; CdB: 加镉且接种菌株。In the table, different lowercase letters in the same column mean significant differences among treatments at $P<0.05$. * and ** mean significant differences at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively. NS means no significant difference. TY: high Cd-tolerant rice variety ‘Teyou 671’; BX: low Cd-tolerant rice variety ‘Baixiang 139’; CK: control treatment without Cd and *Pseudomonas* TCd-1; CKB: control treatment without Cd but with *Pseudomonas* TCd-1 inoculation; Cd: treatment of 10 mg·kg⁻¹ Cd; CdB: treatment with inoculation of *Pseudomonas* TCd-1 and 10 mg·kg⁻¹ Cd.

著, 水稻品种及镉处理间对 PPO 活性存在显著交互效应 ($P<0.05$), 水稻品种、水稻品种×镉处理和水稻品种×菌处理以及水稻品种×镉处理×菌处理对 SUC 活性有极显著影响 ($P<0.01$), 水稻品种×镉处理、镉处理×菌处理间对 PPO 活性存在显著的相互作用 ($P<0.05$)。可见不同镉耐性水稻品种的根际土壤酶活性存在显著差异, 菌和镉处理均显著影响两个水稻品种的根际土壤酶活性。

由表 2 可知, CK 处理下, 接种菌株后‘特优 671’根际土壤中 ACP 和 CUE 活性分别比 CK 提高 13.21% 和 8.22% ($P<0.05$), 其余酶活性无显著差异; ‘百香 139’根际土壤中 URE 活性降低 38.43% ($P<0.05$), CAT 和 PPO 活性分别提高 8.33% 和 9.73% ($P<0.05$), 其余酶活性无显著差异。

10 mg·kg⁻¹ 镉处理下, ‘特优 671’根际土壤中的 ACP、URE 和 CUE 活性比 CK 处理分别显著提高 31.13%、23.13% 和 10.91% ($P<0.05$), CAT 活性降低 15.22%; 与 Cd 处理相比, 接种菌株后 ACP、URE、SUC、CUE 和 PPO 活性分别降低 7.19%、9.39%、25.53%、16.20% 和 11.44% ($P<0.05$), CAT 活性提高 5.13% ($P<0.05$)。Cd 处理下, ‘百香 139’根际土壤

CAT 和 PPO 活性比 CK 处理 分别显著提高 8.33% 和 12.20% ($P<0.05$), ACP、URE、SUC 和 CUE 活性分别显著降低 12.24%、19.44%、17.24% 和 13.29% ($P<0.05$); 接种菌株后除 PPO 活性降低 12.40% 外 ($P<0.05$), ACP、URE、SUC、CUE 和 CAT 活性分别提高 26.74%、12.07%、62.50%、81.17% 和 5.13% ($P<0.05$)。结果表明, 镉处理下 6 种土壤酶对两种水稻根际土壤的响应存在相反的差异表现, 且添加假单胞菌 TCd-1 均能显著恢复由镉对土壤酶活性带来的影响。

2.3 假单胞菌 TCd-1 对水稻根际土壤镉形态的影响

多因素方差分析表明 (表 3), 水稻根际土壤中 FeMnO₂-Cd 含量在水稻品种、镉处理及菌处理间均存在显著的相互作用 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), EXC-Cd、Crab-Cd、FeMnO₂-Cd 和 RES-Cd 含量在水稻品种间差异显著, 镉处理及菌处理交互对 EXC-Cd、FeMnO₂-Cd 和 OM-Cd 含量有显著影响, 且镉处理对 5 种形态的镉都有极显著的影响 ($P<0.01$), 水稻品种×镉处理和水稻品种×菌处理以及水稻品种×镉处理×菌处理对 Crab-Cd 含量有显著影响 ($P<0.05$)。

由表 3 可知, CK 处理下, 不同镉耐性水稻根际

表 2 菌和 Cd 交互处理对不同镉耐性水稻品种根际土壤酶活性的影响

Table 2 Effect of *Pseudomonas* TCd-1, Cd and their interaction on enzymes activities in rhizosphere soil of different Cd-tolerant varieties of rice

处理 Treatment	酸性磷酸酶 Acid phosphatase (ACP) [mg·g ⁻¹ (FW)·(24 h) ⁻¹]	脲酶 Urease (URE) [mg·g ⁻¹ (FW)· (24 h) ⁻¹]	蔗糖酶 Sucrase (SUC) [mg·g ⁻¹ (FW)· (24 h) ⁻¹]	纤维素酶 Cellulase (CUE) [mg·g ⁻¹ (FW)·(24 h) ⁻¹]	过氧化氢酶 Catalase (CAT) [mL·g ⁻¹ (FW)·(20 min) ⁻¹]	多酚氧化酶 Polyphenol oxidase (PPO) [mg·g ⁻¹ (FW)· (24 h) ⁻¹]
TY-CK	1.06±0.01d	1.47±0.02f	0.46±0.01a	13.02±0.86b	0.46±0.01a	16.16±1.00a
TY-CKB	1.20±0.01c	1.49±0.00f	0.46±0.03a	14.09±0.11a	0.45±0.00a	17.07±0.30a
TY-Cd	1.39±0.01a	1.81±0.02c	0.47±0.02a	14.44±0.34a	0.39±0.00c	16.08±0.48a
TY-CdB	1.29±0.01b	1.64±0.00e	0.35±0.00c	12.10±0.50c	0.41±0.01b	14.24±0.77b
BX-CK	0.98±0.01e	2.16±0.01a	0.29±0.01d	8.88±0.030d	0.36±0.00d	14.59±0.46b
BX-CKB	0.96±0.01e	1.33±0.02g	0.29±0.00d	9.18±0.13d	0.39±0.01c	16.01±0.74a
BX-Cd	0.86±0.00f	1.74±0.02d	0.24±0.01e	7.70±0.030e	0.39±0.00c	16.37±0.75a
BX-CdB	1.09±0.12d	1.95±0.03b	0.39±0.02b	13.95±0.04a	0.41±0.01b	14.34±0.24b
显著性 Significance						
水稻品种 Rice variety (V)	**	**	**	**	**	*
镉处理 Cd treatment (Cd)	**	**	NS	**	**	*
菌处理 Bacterial treatment (B)	**	**	NS	**	**	*
V×Cd	**	**	**	**	**	*
V×B	*	**	**	**	**	NS
Cd×B	NS	**	NS	**	NS	**
V×Cd×B	**	**	**	**	**	NS

表中同列不同小写字母表示处理间在 $P<0.05$ 水平差异显著; *和**分别表示在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平差异显著; NS表示无显著性差异。TY: 高镉耐性水稻品种‘特优671’; BX: 低镉耐性品种‘百香139’; CK: 不加镉且不接种菌株; CKB: 不加镉但接种菌株; Cd: 加镉但不接种菌株; CdB: 加镉且接种菌株。In the table, different lowercase letters in the same column mean significant differences among treatments at $P<0.05$. * and ** mean significant differences at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively. NS means no significant difference. TY: high Cd-tolerant rice variety ‘Teyou 671’; BX: low Cd-tolerant rice variety ‘Baixiang 139’; CK: control treatment without Cd and *Pseudomonas* TCd-1; CKB: control treatment without Cd but with *Pseudomonas* TCd-1 inoculation; Cd: treatment of 10 mg·kg⁻¹ Cd; CdB: treatment with inoculation of *Pseudomonas* TCd-1 and 10 mg·kg⁻¹ Cd.

表 3 菌和镉交互处理对不同镉耐性水稻根际土壤中不同形态镉含量的影响

Table 3 Effect of *Pseudomonas* TCd-1, Cd and their interaction on different forms of cadmium in rhizosphere soil of different Cd-tolerant varieties of rice

处理 Treatment	可交换态镉 Exchangeable cadmium (EXC-Cd)	碳酸盐结合态镉 Carbonate bound cadmium (Crab-Cd)	铁锰氧化结合态镉 Fe-Mn oxides bound cadmium (FeMnO ₂ -Cd)	有机态镉 Organic matter cadmium (OM-Cd)	残渣态镉 Residual cadmium (RES-Cd)
TY-CK	0.08±0.00e	0.04±0.00c	0.03±0.00d	0.01±0.01c	0.01±0.00c
TY-CKB	0.06±0.01e	0.05±0.01c	0.03±0.00d	0.02±0.00c	0.01±0.00c
TY-Cd	4.09±0.55a	2.05±0.30a	1.92±0.29b	0.72±0.12b	0.59±0.09b
TY-CdB	3.44±0.28b	1.81±0.15a	2.68±0.20a	0.98±0.08a	0.70±0.06b
BX-CK	0.04±0.01e	0.02±0.01c	0.02±0.00d	0.01±0.00c	0.07±0.01c
BX-CKB	0.05±0.01e	0.02±0.01c	0.01±0.00d	0.01±0.00c	0.08±0.01c
BX-Cd	2.73±0.11c	1.39±0.23b	0.59±0.03c	0.80±0.07b	3.94±0.53a
BX-CdB	2.08±0.14d	1.85±0.11a	0.76±0.05c	1.00±0.08a	4.07±0.24a
显著性 Significance					
水稻品种 Rice variety (V)	**	*	**	NS	**
镉处理 Cadmium treatment (Cd)	**	**	**	**	**
菌处理 Bacterial treatment (B)	*	NS	**	**	NS
V×Cd	**	*	**	NS	**
V×B	NS	*	*	NS	NS
Cd×B	*	NS	**	**	NS
V×Cd×B	NS	*	*	NS	NS

表中同列不同小写字母表示处理间在 $P<0.05$ 水平差异显著; *和**分别表示在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平差异显著; NS表示无显著性差异。TY: 高镉耐性水稻品种‘特优671’; BX: 低镉耐性品种‘百香139’; CK: 不加镉且不接种菌株; CKB: 不加镉但接种菌株; Cd: 加镉但不接种菌株; CdB: 加镉且接种菌株。In the table, different lowercase letters in the same column mean significant differences among treatments at $P<0.05$. * and ** mean significant differences at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively. NS means no significant difference. TY: high Cd-tolerant rice variety ‘Teyou 671’; BX: low Cd-tolerant rice variety ‘Baixiang 139’; CK: control treatment without Cd and *Pseudomonas* TCd-1; CKB: control treatment without Cd but with *Pseudomonas* TCd-1 inoculation; Cd: treatment of 10 mg·kg⁻¹ Cd; CdB: treatment with inoculation of *Pseudomonas* TCd-1 and 10 mg·kg⁻¹ Cd.

土壤各种镉形态含量及占比具有显著差异,‘特优 671’根际土壤 EXC-Cd 含量占比最大,达 47.06%;‘百香 139’根际土壤中的 RES-Cd 含量占比最大,达 43.75%;接种菌株后两种水稻根际土壤中的 5 种镉形态含量均未发生显著性变化。在 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 镉处理下,接种菌株后‘特优 671’根际土壤中 EXC-Cd 和 Crab-Cd 含量分别降低 15.89% ($P<0.05$) 和 11.71%,而 FeMnO_2 -Cd、OM-Cd 和 RES-Cd 含量分别升高 39.58% ($P<0.05$)、36.11% ($P<0.05$) 和 18.64%。与 Cd 处理相比,CdB 处理下‘百香 139’根际土壤中 EXC-Cd 含量降低 23.81% ($P<0.05$),而 Crab-Cd、 FeMnO_2 -Cd、OM-Cd 和 RES-Cd 含量依次升高 33.09% ($P<0.05$)、28.81%、25.00% ($P<0.05$) 和 3.30%。

2.4 稻米镉含量与土壤镉形态及土壤酶活性的相关性

如图 1A 所示,在未接种菌株处理下,‘特优 671’植株根部、地上部及籽粒的镉含量及镉富集量与根际土壤中 EXC-Cd、Crab-Cd、 FeMnO_2 -Cd、OM-Cd、RES-Cd 等 5 种形态镉含量以及 URE、ACP、CUE 活性均呈显著正相关 ($P<0.05$),与 CAT 活性呈显著负相关 ($P<0.05$);‘百香 139’各部位的镉含量及镉富集量与根际土壤中 5 种形态镉含量和 PPO、CAT 等酶活性均呈显著正相关 ($P<0.05$),而与 URE、ACP、SUC、CUE 活性显著负相关 ($P<0.05$)。

由图 1B 可知,接种菌株后,‘特优 671’植株根部、地上部及籽粒不同部位镉含量和镉富集量与 5 种土壤镉形态、URE 和 ACP 活性呈显著正相关 ($P<0.05$),与根际土壤 PPO、CAT、SUC、CUE 活性呈显著负相关 ($P<0.05$);‘百香 139’各部位镉含量及镉富集量与根际土壤中 URE、SUC、CUE 活性及 5 种土壤镉形态均呈显著正相关 ($P<0.05$),而与 PPO 呈显著负相关 ($P<0.05$)。

3 结论与讨论

3.1 假单胞菌 TCd-1 通过降低不同镉耐性水稻品种的镉富集能力减轻了镉污染

植物对镉吸收能力主要取决于其物种特性,同时受多种因子调控^[13]。根系是植物从土壤中吸收镉的重要器官,也是植物积累镉的主要部位^[14]。研究表明,在土壤背景条件下,低耐性水稻品种根部和地上部的镉含量显著高于高耐性水稻品种,其 BCF、TF 亦显著高于高耐性水稻品种,表现出更强的镉吸收与转运能力(表 1);接种假单胞菌 TCd-1 能够进一步促进低耐性水稻品种根部的镉吸收,并降低 TF,但对高耐性水稻品种根部的镉吸收及 TF 无显著影响

(表 1)。在添加镉的处理中,低耐性水稻品种的 BCF、TF 亦均显著高于高耐性水稻品种,地上部镉含量显著高于高耐性水稻品种,表现出更强的镉吸收与转运能力,但高耐性水稻品种吸收的镉主要积累在根部(表 1);接种菌株显著降低了不同耐性水稻品种各部位的镉含量,其主要作用机制是降低了镉污染水稻的 BCF,降低了水稻根系的镉吸收,但对其 TF 无显著影响。可见,低镉耐性水稻品种具有更高的 TF,吸收的镉更易转移并积累至地上部,而高镉耐性水稻品种吸收的镉主要积累在根部,两者在应答镉污染上表现出不同的适应对策。低镉耐性水稻品种根部吸收的镉转移至地上部,将直接降低水稻的光合作用与生长,这是导致其镉耐性降低的主要原因^[9]。前人研究表明,土壤微生物能够通过生物吸附、生物积累、沉淀、络合和转化等方式来缓解土壤重金属对植物的胁迫^[15]。一些菌株可通过固定土壤中的镉^[6],促进土壤钙、镁等元素的淋溶^[16],改变土壤酶活性和镉的生物有效性^[8],从而降低水稻籽粒中镉的积累。本研究发现,接种假单胞菌 TCd-1 显著降低了镉污染下水稻各部位的镉含量,主要表现为降低了水稻根系对镉的吸收,从而抑制了水稻的镉富集作用。表明假单胞菌 TCd-1 参与了水稻的镉富集过程,这可能与假单胞菌 TCd-1 既是植物根际促生菌,兼具镉耐性与富集能力,能够整合、固定或转化土壤的镉,减轻镉毒害有关^[17]。但菌株对不同镉耐性水稻品种根际过程的影响有待进一步的深入研究加以阐明。

3.2 假单胞菌 TCd-1 通过降低土壤镉的生物有效性抑制水稻的镉吸收

重金属的生物有效性是指重金属能被生物吸收或对生物产生毒性的有效性状^[18]。重金属在土壤中经过络合、吸附、凝聚、溶解、沉淀等各种化学反应可形成各种具有不同生物有效性的赋存形态^[19]。镉极易被植物吸收利用^[20],其在土壤中的赋存形态直接影响镉的生物有效性,其中可交换态(EXC-Cd)与碳酸盐结合态(Crab-Cd)易直接被植物吸收利用,铁锰氧化物结合态(FeMnO_2 -Cd)和有机物结合态(OM-Cd)镉可因环境转变为其他形态,较难被植物利用,残渣态镉(RES-Cd)几乎不能被植物利用^[21]。本研究发现,在自然背景条件下,水稻根际土壤中各种形态的镉含量均较低,接种菌株对不同镉耐性水稻品种根际土壤镉形态均无显著影响(表 3)。镉处理下,低镉耐性水稻品种根际的 EXC-Cd 含量远低于高耐性水稻品种,但 RES-Cd 含量显著高于高耐性水稻品种,这可能与低镉耐性水稻品种对镉的吸收及转

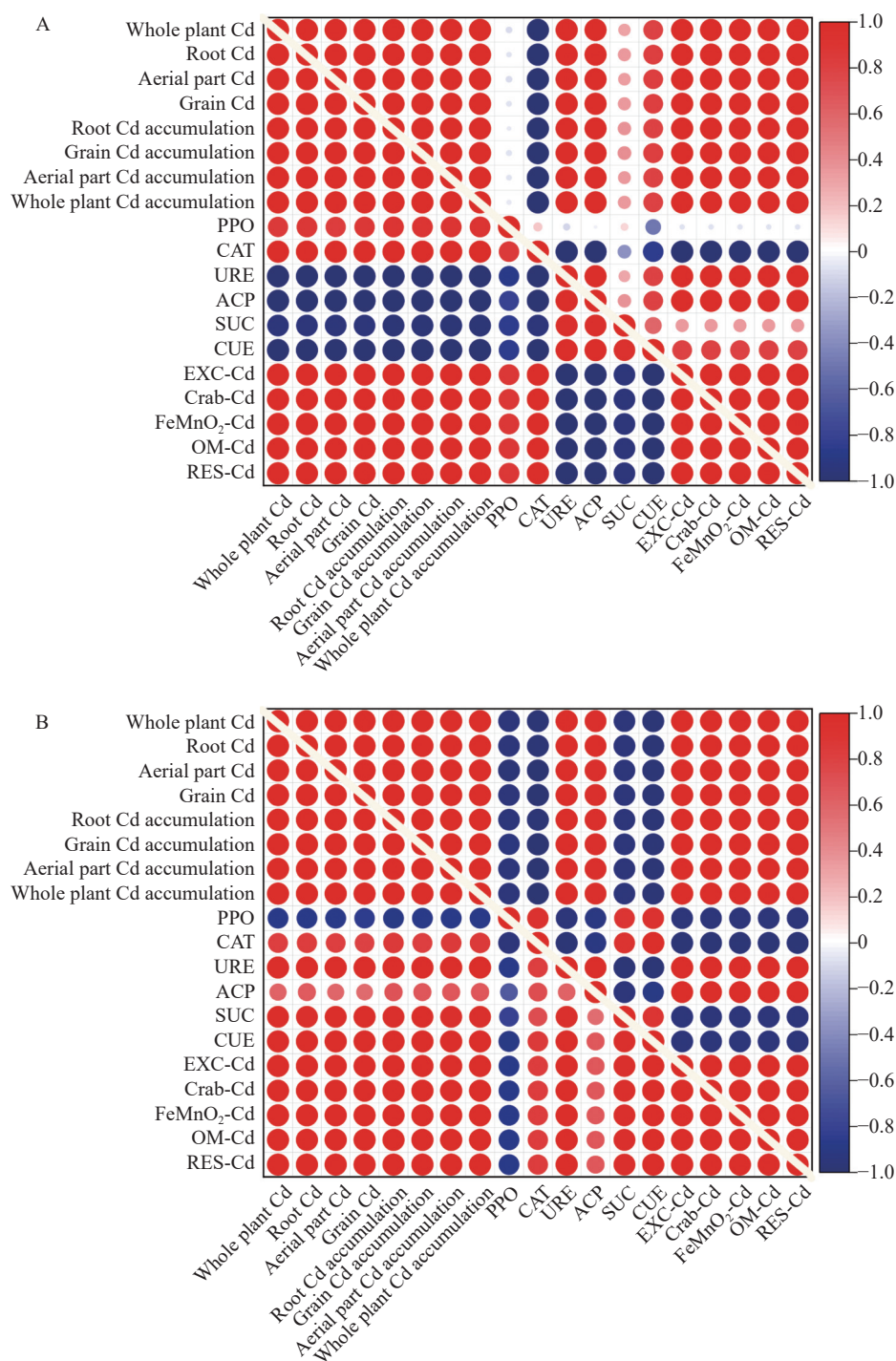


图 1 高镉耐性(上三角矩阵)和低镉耐性(下三角矩阵)水稻接种假单胞菌 TCd-1 前(A)后(B)的镉含量、镉富集量、土壤酶活性及镉形态的相关性

Fig. 1 Correlation among Cd content, Cd accumulation, soil enzyme activity and soil Cd forms contents for high Cd-tolerant rice variety 'Teyou 671' (upper triangular matrix) and low Cd-tolerant rice variety 'Baixiang 139' (lower triangular matrix) before (A) and after (B) *Pseudomonas* TCd-1 inoculation

Whole plant Cd: 全株镉含量; Root Cd: 根镉含量; Aerial part Cd: 地上部镉含量; Grain Cd: 籽粒镉含量; Root Cd accumulation: 根部镉富集量; Grain Cd accumulation: 籽粒镉富集量; Aerial part Cd accumulation: 地上部镉富集量; Whole plant Cd accumulation: 全株镉富集量; PPO: 多酚氧化酶活性; CAT: 过氧化氢酶活性; URE: 脲酶活性; ACP: 酸性磷酸酶活性; SUC: 纤维素酶活性; CUE: 蔗糖酶活性; EXC-Cd: 可交换态镉含量; Crab-Cd: 碳酸盐结合态镉含量; FeMnO₂-Cd: 铁锰氧化物结合态镉含量; OM-Cd: 有机结合态镉含量; RES-Cd: 残渣态镉含量。蓝色表示负相关, 红色表示正相关, 颜色越深, 相关性越强。右边的数值代表 Pearson 相关性指数。PPO: polyphenol oxidase activity; CAT: catalase activity; URE: urease activity; ACP: acid phosphatase activity; SUC: cellulase activity; CUE: invertase activity; EXC-Cd: exchangeable Cd content; Crab-Cd: carbonate bound Cd content; FeMnO₂-Cd: Fe-Mn oxides bound Cd content; OM-Cd: organic matter Cd content; RES-Cd: residual Cd content. Blue indicates a negative correlation, red indicates a positive correlation, the darker the color, the stronger the correlation. The numbers on the right represent the Pearson index.

移能力较强,为适应镉污染环境,通过根系分泌、螯合、沉淀等过程钝化并抑制镉吸收有关^[22-23]。接种菌株后,高镉耐性水稻品种根际土壤中 EXC-Cd 含量降低,FeMnO₂-Cd 和 OM-Cd 含量提高,Crab-Cd 和 RES-Cd 含量无显著变化;类似地,低镉耐性水稻品种根际土壤的 EXC-Cd 含量降低,Crab-Cd 和 OM-Cd 含量提高,FeMnO₂-Cd 和 RES-Cd 含量无显著变化。表明假单胞菌 TCd-1 可显著降低水稻根际土壤 EXC-Cd 含量,从而有效抑制水稻的镉吸收。菌株亦可提高低镉耐性水稻品种根际土壤 Crab-Cd、OM-Cd 含量及高镉耐性水稻品种 FeMnO₂-Cd、OM-Cd 含量,促进易被植物利用的有效态向无效态转化^[17],减少水稻对有效态镉的吸收与富集,从而降低镉对植物的毒害。这可能与假单胞菌 TCd-1 的添加能提高水稻根际土壤 pH,进而影响土壤镉形态变化有关^[8],也可能与植物不仅可通过分泌外源调节物质影响土壤重金属的赋存形态^[14],还可利用根际微生物的氧化、还原等生物化学作用降低重金属生物有效性,减轻重金属对植物和微生物自身的毒害有关^[24]。

3.3 假单胞菌 TCd-1 通过恢复根际土壤酶活性增强了水稻的耐镉能力

土壤酶由土壤动物、土壤微生物和植物根系共同作用产生^[25],是土壤生化反应的催化剂,能够直接或间接参与重金属的生物地球化学循环过程,其活性受环境因子等多种因素影响^[26]。土壤 URE、ACP、SUC 和 CUE 是维持生态系统碳和养分循环过程的重要水解酶^[27],CAT 和 PPO 则参与了土壤氧化还原反应,与土壤有机质的转化、腐殖质的形成密切相关^[28]。一些研究表明,土壤酶活性可敏感地反映土壤理化性质及重金属污染程度^[29-30]。本研究表明,不同镉耐性水稻品种根际土壤酶活性对镉污染表现出不同的应答模式,其中高镉耐性水稻品种根际土壤中的 ACP、URE、CUE 活性在镉胁迫下显著升高,而 CAT 活性显著降低,SUC、PPO 活性无显著变化,接种菌株后 ACP、URE、SUC、CUE 和 PPO 活性显著下降,而 CAT 活性显著升高(表 2);低镉耐性水稻品种根际土壤的 ACP、URE、SUC 和 CUE 活性均显著下降,CAT 和 PPO 活性显著上升,接种菌株后,ACP、URE、SUC、CUE 和 CAT 活性显著上升,而 PPO 活性下降(表 2)。由此可见,镉污染能够导致水稻根际土壤酶活性发生明显的变化,这与重金属能占据部分酶的活性位点进而抑制酶活有关,也可能促进酶活性位点与底物的配合而提升酶活^[31]。接种假单胞菌 TCd-1 则能够明显地修复因镉污染导致的土壤酶活的改变,有利于土壤物质循环功能的恢复。

土壤微生物是土壤酶的主要来源^[31],土壤镉污染会通过抑制土壤微生物的生长,从而影响酶的分泌与活性^[32]。外源添加有益微生物不仅可以影响土壤酶活性,还能改变重金属有效性及水稻的生理活性,改善植株根际微生态环境而有利于水稻生长^[33]。假单胞菌 TCd-1 分离自水稻根际土壤,属于植物根际促生菌,Qian 等^[34]利用高通量 16S rRNA 基因测序技术,发现假单胞菌 TCd-1 显著改变了不同镉浓度下水稻根际细菌群落的 α 多样性、群落组成和物种间的相互作用。细菌群落的变化可能有助于创造有利的根际微生物环境,恢复镉污染下对水稻根际微生物菌群结构平衡,促进根际土壤生化过程,进而促进水稻生长,减少水稻根系对镉的吸收。考察水稻镉含量与土壤酶活及土壤镉形态之间相关性可知(图 1),接种假单胞菌 TCd-1 前后,除 CAT 活性之外,其余土壤酶活性与水稻各部位的镉含量和土壤镉形态之间的相关性变化显著,假单胞菌 TCd-1 降低水稻镉吸收与改变其根际土壤酶活性密切相关。

4 结论

接种假单胞菌 TCd-1 可以显著降低 10 mg·kg⁻¹ 镉污染水稻根部、地上部、籽粒等部位的镉含量,且显著影响了不同镉耐性水稻品种的镉吸收富集特性,低镉耐性水稻品种的 Cd 富集系数和转移系数变化较高镉耐性水稻品种更显著。接种假单胞菌 TCd-1 降低镉的生物有效性,并恢复镉污染土壤中的土壤酶活性,进而有效缓解土壤中镉的毒害作用,降低水稻各部位对镉的吸收和积累,最终降低水稻的镉含量。

参考文献 References

- [1] SHARMA R K, ARCHANA G. Cadmium minimization in food crops by cadmium resistant plant growth promoting rhizobacteria[J]. *Applied Soil Ecology*, 2016, 107: 66–78
- [2] CHEN H P, TANG Z, WANG P, et al. Geographical variations of cadmium and arsenic concentrations and arsenic speciation in Chinese rice[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 238: 482–490
- [3] 杨海, 黄新, 林子增, 等. 重金属污染土壤微生物修复技术研究进展[J]. *应用化工*, 2019, 48(6): 1417–1422
- [4] YANG H, HUANG X, LIN Z Z, et al. Research progress on microbial remediation technology for heavy metal contaminated soil[J]. *Applied Chemical Industry*, 2019, 48(6): 1417–1422
- [5] 陆仲烟, 宋正国, 郭军康, 等. 伯克氏菌对水稻种子萌发及初生幼苗耐镉性的影响[J]. *农业资源与环境学报*, 2013, 30(6): 87–90
- [6] LU Z Y, SONG Z G, GUO J K, et al. Effects of *Burkholderia* on rice seed germination and Cd-tolerance of rice seedlings[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2013,

- 30(6): 87–90
- [5] 何小三, 王微, 肖清铁, 等. 铜绿假单胞菌对镉胁迫水稻苗期生长与镉积累的影响[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(6): 884–891
HE X S, WANG W, XIAO Q T, et al. Effects of *Pseudomonas aeruginosa* on the growth and cadmium accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) seedling under Cd stress[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2018, 26(6): 884–891
 - [6] 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
 - [7] 汪敦飞, 郑新宇, 肖清铁, 等. 铜绿假单胞菌对镉胁迫苗期水稻根系活力及叶片生理特性的影响[J]. 应用生态学报, 2019, 30(8): 2767–2774
WANG D F, ZHENG X Y, XIAO Q T, et al. Effects of *Pseudomonas aeruginosa* on root activity and leaf physiological characteristics in rice (*Oryza sativa* L.) seedling under cadmium stress[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(8): 2767–2774
 - [8] WANG Y J, ZHENG X Y, HE X S, et al. Effects of *Pseudomonas* TCd-1 on rice (*Oryza sativa*) cadmium uptake, rhizosphere soils enzyme activities and cadmium bioavailability under cadmium contamination[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 218: 112249
 - [9] 文欢欢, 郑新宇, 肖清铁, 等. 镉污染条件下水稻对假单胞菌TCd-1微生物修复的生理响应[J]. 生态学报, 2022, 42(5): 1924–1933
WEN H H, ZHENG X Y, XIAO Q T, et al. Physiological response of cadmium-contaminated rice to *Pseudomonas* TCd-1 microbial repair[J]. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(5): 1924–1933
 - [10] 朱胜男. 不同镉耐性水稻间作系统对镉污染的生理响应[D]. 福州: 福建农林大学, 2020
ZHU S N. Physiological response of rice intercropping systems with different cadmium tolerance to cadmium pollution[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2020
 - [11] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986
GUAN S Y. Soil Enzyme and Its Study Method[M]. Beijing: Beijing Agricultural Press, 1986
 - [12] TESSIER A, CAMPBELL P G C, BISSON M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals[J]. *Analytical Chemistry*, 1979, 51(7): 844–851
 - [13] 孙亚莉, 徐庆国, 贾巍. 镉胁迫对水稻的影响及其调控技术研究进展[J]. 中国农学通报, 2017, 33(10): 1–6
SUN Y L, XU Q G, JIA W. Advance in cadmium stress on rice and its regulation and control technology[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2017, 33(10): 1–6
 - [14] LI Z M, LIANG Y, HU H W, et al. Speciation, transportation, and pathways of cadmium in soil-rice systems: a review on the environmental implications and remediation approaches for food safety[J]. *Environment International*, 2021, 156: 106749
 - [15] SIRIPORNADULSIL S, SIRIPORNADULSIL W. Cadmium-tolerant bacteria reduce the uptake of cadmium in rice: potential for microbial bioremediation[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2013, 94: 94–103
 - [16] MA Y, OLIVEIRA R S, FREITAS H, et al. Biochemical and molecular mechanisms of plant-microbe-metal interactions: relevance for phytoremediation[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 918
 - [17] 马莹, 骆永明, 滕应, 等. 根际促生菌及其在污染土壤植物修复中的应用[J]. 土壤学报, 2013, 50(5): 1021–1031
MA Y, LUO Y M, TENG Y, et al. Plant growth promoting rhizobacteria and their role in phytoremediation of heavy metal contaminated soils[J]. Acta Pedologica Sinica, 2013, 50(5): 1021–1031
 - [18] 姜庭, 杨丽娟. 土壤重金属的生物有效性及对植物的毒害作用[J]. 吉林农业科学, 2009, 34(5): 28–32
LOU T, YANG L J. Bioavailability of heavy metals in the soil and the toxic effect of plant[J]. *Journal of Jilin Agricultural Sciences*, 2009, 34(5): 28–32
 - [19] 罗海艳, 李丹阳, 刘寿涛, 等. 铁锰改性椰壳炭对土壤镉形态及水稻吸收积累镉的影响[J]. 环境科学研究, 2019, 32(5): 857–865
LUO H Y, LI D Y, LIU S T, et al. Effects of Fe-Mn modified coconut shell biochar on cadmium speciation and accumulation in rice[J]. Research of Environmental Sciences, 2019, 32(5): 857–865
 - [20] 刘霞, 刘树庆, 王胜爱, 等. 重金属复合污染对土壤微生物生态特征的影响研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(S1): 17–21
LIU X, LIU S Q, WANG S A, et al. Influence on ecological characteristics of microorganisms in soils polluted by compound heavy metals[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2007, 26(S1): 17–21
 - [21] 张芬, 杨长明, 潘睿捷. 青山水库表层沉积物重金属污染特征及生态风险评价[J]. 应用生态学报, 2013, 24(9): 2625–2630
ZHANG F, YANG C M, PAN R J. Pollution characteristics and ecological risk assessment of heavy metals in surface sediments of Qingshan Reservoir in Lin'an City, Zhejiang Province of East China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2013, 24(9): 2625–2630
 - [22] 张锡洲, 张洪江, 李廷轩, 等. 水稻镉耐性差异及镉低积累种质资源的筛选[J]. 中国生态农业学报, 2013, 21(11): 1434–1440
ZHANG X Z, ZHANG H J, LI T X, et al. Differences in Cd-tolerance of rice and screening for Cd low-accumulation rice germplasm resources[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2013, 21(11): 1434–1440
 - [23] 于辉, 杨中艺, 杨知建, 等. 不同类型镉积累水稻细胞镉化学形态及亚细胞和分子分布[J]. 应用生态学报, 2008, 19(10): 2221–2226
YU H, YANG Z Y, YANG Z J, et al. Chemical forms and subcellular and molecular distribution of Cd in two Cd-accumulation rice genotypes[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19(10): 2221–2226
 - [24] 张连忠, 路克国, 王宏伟, 等. 重金属和生物有机肥对苹果

- 根区土壤微生物的影响[J]. *水土保持学报*, 2005, 19(2): 92-95
- ZHANG L Z, LU K G, WANG H W, et al. Effect of heavy metal and bio-fertilizer on microorganisms in soil of apple root[J]. *Journal of Soil Water Conservation*, 2005, 19(2): 92-95
- [25] 曾路生, 廖敏, 黄昌勇, 等. 镉污染对水稻土微生物量、酶活性及水稻生理指标的影响[J]. *应用生态学报*, 2005, 16(11): 2162-2167
- ZENG L S, LIAO M, HUANG C Y, et al. Effects of Cd contamination on paddy soil microbial biomass and enzyme activities and rice physiological indices[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(11): 2162-2167
- [26] 宫占元, 张国庆, 于文莹, 等. 哈茨木霉菌对水稻幼苗根际土壤微生物和酶活性的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2013, 31(4): 167-171
- GONG Z Y, ZHANG G Q, YU W Y, et al. Effects of *Trichoderma harzianum* on microorganisms and enzymatic activities in rhizosphere soil during rice seedling stage[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2013, 31(4): 167-171
- [27] 耿玉清, 王冬梅. 土壤水解酶活性测定方法的研究进展[J]. *中国生态农业学报*, 2012, 20(4): 387-394
- GENG Y Q, WANG D M. Research advances on the measurement methods for soil hydrolytic enzymes activities[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2012, 20(4): 387-394
- [28] 许云翔, 何莉莉, 刘玉学, 等. 施用生物炭6年后对稻田土壤酶活性及肥力的影响[J]. *应用生态学报*, 2019, 30(4): 1110-1118
- XU Y X, HE L L, LIU Y X, et al. Effects of biochar addition on enzyme activity and fertility in paddy soil after six years[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(4): 1110-1118
- [29] 刘树庆. 保定市污灌区土壤的Pb、Cd污染与土壤酶活性关系研究[J]. *土壤学报*, 1996, 33(2): 175-182
- LIU S Q. Relationship between soil Pb and Cd pollution and enzyme activities in waste water irrigated area of Baoding City[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 1996, 33(2): 175-182
- [30] 和文祥, 陈会明, 冯贵颖, 等. 汞铬砷元素污染土壤的酶监测研究[J]. *环境科学学报*, 2000, 20(3): 338-343
- HE W X, CHEN H M, FENG G Y, et al. Study on enzyme index in soils polluted by mercury, chromium and arsenic[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2000, 20(3): 338-343
- [31] 蒲生彦, 王宇, 陈文英, 等. 植物根际土壤酶对重金属污染的响应机制研究综述[J]. *生态毒理学报*, 2020, 15(4): 11-20
- PU S Y, WANG Y, CHEN W Y, et al. Review on the mechanism of plant rhizosphere soil enzyme response to heavy metal pollution[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2020, 15(4): 11-20
- [32] 罗虹, 刘鹏, 宋小敏. 重金属镉、铜、镍复合污染对土壤酶活性的影响[J]. *水土保持学报*, 2006, 20(2): 94-96, 121
- LUO H, LIU P, SONG X M. Effect of compound pollution of Cd, Cu and Ni on soil enzyme activities[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2006, 20(2): 94-96, 121
- [33] 刘辉, 吴小芹, 任嘉红, 等. 荧光假单胞菌与红绒盖牛肝菌共接种对杨树根际土壤酶活性及微生物多样性的影响[J]. *林业科学*, 2019, 55(1): 22-30
- LIU H, WU X Q, REN J H, et al. Effect of co-inoculation with *Pseudomonas fluorescens* and *Xerocomus chrysenteron* on the soil enzyme activity and microbial diversity in poplar rhizosphere[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2019, 55(1): 22-30
- [34] QIAN X, LÜ Q X, HE X S, et al. *Pseudomonas* sp. TCd-1 significantly alters the rhizosphere bacterial community of rice in Cd contaminated paddy field[J]. *Chemosphere*, 2022, 290: 133257