

抗镉细菌分离鉴定及其对镉胁迫水稻幼苗生长的影响

张芯瑜¹, 印宁鸿¹, 陈丹丹¹, 徐 樾¹, 罗 婧¹, 许爱清^{1,2*}

¹湖南科技大学生命科学与健康学院, 湖南 湘潭

²重金属污染土壤生态修复与安全利用湖南省普通高等学校重点实验室, 湖南 湘潭

收稿日期: 2023年3月28日; 录用日期: 2023年6月1日; 发布日期: 2023年6月9日

摘 要

目的: 旨在分离筛选有利于水稻种植的抗镉菌种资源。方法: 从水稻根际土壤分离纯化抗镉细菌, 采用火焰原子吸收分光光度法测定菌株对镉的吸附去除率, 利用水培法检测抗镉细菌对镉胁迫水稻幼苗生长的影响, 运用16S rRNA基因序列分析来鉴定菌株的种属。结果: 分离得到4株抗镉细菌Cdr-1~Cdr-4, 其中菌株Cdr-2在含镉400 mg/L的培养液生长后, 对镉离子吸附去除率为61.27%。菌株Cdr-2对无镉水稻营养液中培养的水稻幼苗具有促生长作用, 但它对受10 mg/L镉胁迫的水稻幼苗生长有加强毒害作用。经16S rRNA基因测序鉴定菌株Cdr-2为产气克雷伯氏菌。结论: 从水稻根际土壤分离出一株兼有抗镉性和促生长性的产气克雷伯氏菌Cdr-2。意义: 研究结果可为产气克雷伯氏菌Cdr-2在水稻种植上应用提供参考。

关键词

镉, 水稻, 抗镉细菌, 产气克雷伯氏菌

Isolation and Identification of Cadmium-Resistant Bacteria and Their Influence on Growth of Cadmium-Stressed Rice Seedlings

Xinyu Zhang¹, Ninghong Yin¹, Dandan Chen¹, Yue Xu¹, Jing Luo¹, Aiqing Xu^{1,2*}

¹School of Life and Health Science, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan Hunan

²Ecological Remediation and Safe Utilization of Heavy Metal-Polluted Soils, College of Hunan Province, Xiangtan Hunan

*通讯作者。

文章引用: 张芯瑜, 印宁鸿, 陈丹丹, 徐樾, 罗婧, 许爱清. 抗镉细菌分离鉴定及其对镉胁迫水稻幼苗生长的影响[J]. 微生物前沿, 2023, 12(2): 63-70. DOI: 10.12677/amb.2023.122008

Abstract

Aim: Isolating and screening of the cadmium-resistant bacteria (Cd-r-BA) that were benefited to rice cultivation. **Methods:** The Cd-r-BA was isolated from rice rhizospheric soil. The adsorption and removal rate of cadmium when the Cd-r-BA grows in cadmium-containing broth was detected by the flame atomic absorption spectrometric method. The effects of Cd-r-BA to cadmium-stressed rice seedlings were detected by using water culture method. The identification of the object bacterium was depended on its 16S rRNA gene sequence. **Results:** The results showed that four Cd-r-BA strains of Cdr-1~Cdr-4 were screened out. Especially, when the strain Cdr-2 grows in broth containing 400 mg/L of cadmium, the adsorption and removal rate of 61.27% cadmium was detected. The growth of the rice seedlings was prompted by the strain Cdr-2 under cadmium-free rice culture nutrients in water culture box, while the toxic effects of the cadmium to the rice seedlings was enhanced by the strain Cdr-2 under 10 mg/L of cadmium condition. The strain Cdr-2 was identified as species *Klebsiella aerogenes* by 16S rRNA gene sequencing. **Conclusion:** The conclusion was drawn that a *Klebsiella aerogenes* strain Cdr-2 that characterized by cadmium-resistance and growth-promoting was isolated and screened from rice rhizospheric soil. **Significance:** The results could provide reference data for the application of strain Cdr-2 to the rice cultivation.

Keywords

Cadmium, Rice Plant, Cadmium-Resistant Bacteria, *Klebsiella aerogenes*

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

镉(Cadmium, Cd)是元素周期表第五周期 IIB 族元素。镉是生物体非必需元素,对于动植物都是一种毒性非常强的重金属,被国际癌症机构 IARC 列为致癌类物质。Cd 由于其在环境中具有很强的迁移转化特性及对人体的高度危害性而被列为《国家重金属污染综合防治“十二五”规划》重点关注的 5 大重金属污染元素之一[1] [2]。据 2014 年全国土壤污染状况调查公报数据统计:中国受重金属污染耕地面积约为 2000 万 hm²,占耕地面积的 1/5 左右,以中轻度污染为主,镉污染点位超标率达 7.0%,居所有无机污染物之首[3]。重金属铅、镉等进入土壤环境当中,会长期蓄积并破坏土壤本身的自净能力,使土壤成为污染物的“储存库”。土壤中固定态的镉,经植物根系活化转变后具有较高的可移动性,通过自由扩散或载体蛋白运输的方式经质外体或共质体途径进入植物根系,再由木质部装载经蒸腾作用向地上部分转运[4] [5] [6] [7],最后转运至植物的可食用部分,通过食物链传递,危害人体健康。

水稻(*Oryza sativa* L.)是世界上最重要、消耗最大的粮食作物之一,对其产量的需求随着世界人口的不断增长正不断增加[8] [9]。水稻也是我国第一大粮食作物,因此保证大米中镉的低含量具有重要意义。在镉污染环境中,水稻根系从环境中吸收镉离子后,会把大部分镉离子转化成难溶态镉固定在根系组织中,只有少数可溶态镉被转运到地上部,茎基部压缩的蘖节和地上伸长的 4~5 个节间以及节和叶片继续对镉进行层层拦截,将其储存在茎基、节和叶片中[10] [11] [12]。水稻开花以后,茎叶中储存的部分镉离

子被活化,和 Mn、Zn 等营养元素一起向穗轴和稻米中转运[12]。镉和营养物质流经穗轴维管束到达籽粒基部,籽粒基部对转运而来的小分子化合物进行选择吸收后运输至籽粒内部。镉毒害也会影响农作物气孔开闭状态并减缓光合效率,破坏叶绿体膜导致叶绿素降解[13],从而造成水稻产量下降。

水稻从稻田吸收 Cd 并在稻米中积累,人们在食用含 Cd 的大米后,镉从消化道进入人体,则会出现呕吐、胃肠痉挛、腹痛、腹泻等症状,甚至可因肝肾综合症死亡。大部分 Cd 会被吸收并积累在体内产生毒性,危害人体健康。Cd 在人体器官中积累,其中肾脏和肝脏的积累量占体内 Cd 总量的约 60%。长期的 Cd 毒性易导致脏器功能受损,严重的甚至诱发癌变[14] [15] [16]。

微生物修复即利用微生物将环境中的污染物降解或转化为其它无害物质的过程。微生物修复可应用于水体或土壤的重金属污染修复。土壤微生物群落与土壤重金属污染之间的关系是当今国内外环境科学领域的一个研究热点。一方面,重金属污染会对土壤微生物群落产生影响,如降低土壤微生物量、可培养细菌菌落数量,或明显改变土壤微生物群落的结构[17]。一定浓度重金属能够改进水稻根际微生物群落结构和碳源利用[18]。另一方面,某些微生物菌剂可以有效钝化土壤中的镉,有利于减轻镉对水稻的污染。当肠杆菌和丛毛单胞菌共同培养时,可以将溶液中的镉离子沉淀并完全去除,减少水稻对镉离子的吸收,使稻米中镉含量显著下降[19]。从镉污染土壤分离筛选的一株食酸代尔夫特(*Delftia acidovorans*) B9,通过盆栽试验发现向早稻品种中添加 B9 活菌体能增加稻米重量,比对照组重量增加 23.14% [20]。这些研究表明将抗镉菌种制成微生物菌剂应用在水稻种植领域时,完全有可能降低水稻体内镉含量,提高稻谷产量的同时也能保证稻谷的品质。

本研究在分离筛选抗(耐)镉细菌资源过程中,从水稻根际土壤中分离纯化得到一株兼有抗镉性和促生长性的产气克雷伯氏菌 Cdr-2。研究结果为水稻栽培积累了有应用潜力菌种资源的参考性实验数据。

2. 材料与方法

2.1. 材料与仪器

采样土壤: 采自湘潭市某有色金属冶炼厂附近的水稻根际土壤样品; 水稻种子: Y 两优 1928 (长沙利诚种业有限公司); 牛肉膏, 蛋白胨, 氯化钠, 琼脂粉, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (AR, 天津市科密欧化学试剂有限公司), 镉离子标准溶液(1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 国家有色金属及电子材料分析测试中心); Yoshida 水稻营养液(800 \times 母液)。

全自动高压蒸汽灭菌器(登冠), 电热恒温鼓风干燥箱, 立式恒温振荡器, 洁净工作台, 人工气候培养箱(上海一恒), 高速冷冻离心机(卢湘仪), 原子吸收分光光度计(AA-7000, 岛津), 植物水培盒(6 孔, 容积 1 L)。

2.2. 实验方法

2.2.1. 抗镉细菌的分离纯化

在湘潭市某有色金属冶炼厂附近的稻田中随机采取 4 份水稻根际土样。制作含 Cd^{2+} 100 mg/L 的牛肉膏蛋白胨固体培养基平板, 各取 1 g 土样分别加入 50 mL 灭菌生理盐水制成土样悬液, 移取 0.2 mL 土样悬液涂布平板后置于 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 48 hr。每个土样挑取 2 个菌落用于划线分离纯化得到纯菌落, 转接到斜面培养基, 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 48 hr 后, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保藏备用。

2.2.2. 菌株的抗镉能力和镉去除能力检测

配制含 Cd^{2+} 浓度为 0, 200 mg/L、400 mg/L 和 600 mg/L 的牛肉膏蛋白胨培养液, 分装成 20 mL/瓶。无菌操作移取抗镉菌 Cdr-1、Cdr-2、Cdr-3 或 Cdr-4 种子液 200 μL , 分别接种于灭菌培养液中, 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温

震荡培养 48 hr, 观察培养液的浊度。移取 1.5 ml 含 Cd^{2+} 为 200 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L 的 48 hr 培养液, 转速 10,000 r/min 离心 10 min 收集培养液上清。用去离子水稀释上清液使其中 Cd^{2+} 浓度为 1 mg/L 以下。将镉离子标准溶液(1000 mg/L)用去离子水稀释, 配制 Cd^{2+} 浓度分别为 0.1 mg/L、0.2 mg/L、0.4 mg/L、0.6 mg/L、0.8 mg/L 和 1.0 mg/L 的稀释液, 用于制作火焰原子吸收分光光度法测镉浓度的标准曲线。利用火焰原子吸收分光光度法测量各上清液吸光值(Abs 228.8 nm), 根据标准曲线拟合公式计算上清液中的镉残留量以及镉离子的吸附去除率。

2.3. 菌株对水稻种子发芽的影响

称取水稻种子 100 g 放入洁净保鲜盒中, 先用无菌水浮选去除瘪谷等杂质, 用 0.2% 高锰酸钾溶液浸泡种子消毒 0.5 hr, 无菌水清洗后用 28℃ 无菌水浸泡种子, 置于恒温培养箱中 28℃ 温育至种子破口露白。把破口露白的萌发种子随机分成 5 组, 标记为 CK (空白对照)、1#、2#、3# 和 4# 组, 每组平行重复 3 小组。处理方式是: CK (空白对照): 不接触任何细菌处理; 1# 组~4# 组: 将萌发种子分别放入用无菌生理盐水稀释 100 倍的 Cdr-1、Cdr-2、Cdr-3 或 Cdr-4 菌株的 48 hr 培养液, 使种子沾上相应菌液。每小组随机挑取 50 颗沾上菌液的种子摆放在带湿润纱布的平板上, 放入 28℃ 恒温培养箱中培养, 观察菌株对水稻种子发芽的影响情况。

2.4. 菌株对镉胁迫水稻幼苗生长的影响

按说明书用无菌去离子水稀释水稻营养液母液制成工作液。取 6 个植物水培盒, 分别盛装按表 1 处理的水稻培养液 1000 mL。从 2.3 中随机选取各处理中长势状态基本一致的水稻芽苗, 用定植海绵固定在植物水培盒定植孔中, 其中 5 孔各定植 2 株水稻芽苗, 留下 1 个空孔用于通气和观察水情, 放入人工气候培养箱中培养。培养条件是 28℃、湿度 95%、60% 光照培养 12 hr; 28℃、湿度 95%、黑暗培养 12 hr。交替培养共 15 天, 观察记录水稻幼苗的长势。培养结束后测量水稻幼苗生理指标, 包括株高、根长、叶片数、干重等, 比较分析菌株对镉胁迫水稻幼苗生长的影响。

Table 1. The treatment types of rice nutrient solution in the plant hydroponics boxes

表 1. 植物水培盒中的水稻培养液处理方式

编号	组名	Yoshida 营养液/ml	菌液体积(菌株)	硝酸镉母液(3000 mg/L)/ml
1#	正常对照组	1000	0	0
2#	10 mg/L 镉胁迫组	998.3	0	1.7
3#	Cd-2 菌株处理组	990	10 ml (Cd-2)	0
4#	10 mg/L 镉胁迫 + Cd-2 菌株处理组	988.3	10 ml (Cd-2)	1.7
5#	Cd-3 菌株处理组	990	10 ml (Cd-3)	0
6#	10 mg/L 镉胁迫 + Cd-3 菌株处理组	988.3	10 ml (Cd-3)	1.7

2.5. 菌株的 16S rRNA 基因序列分析

用牛肉膏蛋白胨培养液培养 Cdr-2 菌株 48 hr 后, 取 1.5 mL 含菌培养液 10,000 r/min 离心 10 min, 收集菌体细胞, 委托上海生工生物工程有限公司(武汉)进行菌样的 16S rRNA 基因测序, 测序引物为细菌 16S rRNA 基因的通用引物 27F/1492R。所测序列提交到 GenBank 数据库进行 BLAST 比对搜索相似序列, 鉴定所测菌株 Cdr-2 的种属类别。

在构建菌株 Cdr-2 与克雷伯氏菌属典型菌株的系统发育树时, 首先在 LPSN 数据库中检索克雷伯氏

菌属(*Klebsiella*)下列出的菌种名,找到部分典型菌株的 16S rRNA 基因序列在 Genbank 中的登录号;其次运用 ClustalW1.8.3 程序将所选典型菌株与待测菌株 Cdr-2 的 16S rRNA 基因序列进行多序列比对;最后运用分子进化遗传分析软件 MEGA7.0.26 构建 N-J 系统发育树。系统发育树的可靠性检测的自举值设定为 1000 次,以大肠杆菌(*E. coli*)典型菌株做外群。

3. 结果与分析

3.1. 抗镉细菌的分离纯化

从水稻根际土壤样品中分离筛选到 4 株抗镉细菌, Cdr-1#~Cdr-4#。其菌落呈圆形,光滑湿润,淡黄色,边缘较平整。

3.2. 菌株的抗镉能力和镉去除率检测

根据观察各菌株在培养液中的菌体生长浑浊程度判断,菌株 Cdr-1 在 Cd^{2+} 浓度 400 mg/L 和 600 mg/L 的培养液中不生长,其它三个菌株都能耐受 Cd^{2+} 浓度 600 mg/L。

实验测得镉浓度的标准曲线拟合公式: $Abs = 0.61510 Conc + 0.028249$ ($R = 0.9987$)。各抗镉菌株对镉离子吸附去除能力分析结果见表 2。结果表明在实验条件下,各菌株在含镉培养基中生长繁殖后,镉离子吸附去除率在 50% 左右。在初始镉 400 mg/L 培养液生长时,菌株 Cdr-4 的吸附去除率最高,为 65.30%,其次是菌株 Cdr-2,为 61.27%。

Table 2. Detection results of biosorption and removal of cadmium ion capability of the cadmium-resistant bacteria

表 2. 抗镉菌株对镉离子吸附去除能力检测分析结果

菌株编号	初始镉浓度 (mg/L)	稀释倍数	吸光值 (228 nm)	测定镉浓度 (mg/L)	残留镉浓度 (mg/L)	镉去除率 (%)
Cdr-1	200	200	0.3195	0.4735	94.70	52.65
Cdr-1	400	400	0.2897	0.4215	168.60	57.85
Cdr-1	600	600	0.3279	0.4872	292.32	51.28
Cdr-2	200	200	0.3320	0.4938	98.76	50.62
Cdr-2	400	400	0.2665	0.3873	154.92	61.27
Cdr-2	600	600	0.3581	0.5363	321.78	46.37
Cdr-3	200	200	0.3322	0.4941	98.82	50.59
Cdr-3	400	400	0.3322	0.4941	197.64	50.59
Cdr-3	600	600	0.3340	0.4971	298.26	50.29
Cdr-4	200	200	0.3239	0.4907	98.14	50.93
Cdr-4	400	400	0.2417	0.3470	138.80	65.30
Cdr-4	600	600	0.3286	0.4883	292.98	51.17

3.3. 菌株对水稻种子萌发的影响

种子催芽 48 hr 后,所有水稻种子已破口露白,都能正常萌发,说明水稻种子的活力正常。培养 48 hr 后观察,2#组、3#组水稻芽苗的长势与空白对照基本一致,1#组显得稍矮,4#组较差。结果表明 Cdr-2 菌株和 Cdr-3 菌株对水稻芽苗没有病害感染作用。

3.4. 菌株对镉胁迫水稻幼苗生长的影响

培养 15 天后,各水培盒中水稻幼苗的长势情况见图 1。直观显示 1#和 2#长势相当;3#与 1#相比株

高增加非常明显；4#、5#、6#的幼苗有营养不良、黄化萎蔫迹象。结果表明，10 mg/L 的镉离子对水稻幼苗茎秆部分生长的胁迫作用不明显；Cdr-2 菌株对无镉胁迫水稻幼苗的正常生长具有促进作用；Cdr-2 菌株与 10 mg/L 的镉离子处理组(4#)、Cdr-3 菌株处理组(5#)、Cdr-3 菌株与 10 mg/L 的镉离子处理组(6#)中水稻幼苗的生长遭受胁迫抑制。



Figure 1. Photo of the growth status of rice-seedlings on water culture box (From left to right: code of treatments 1#~6#)

图 1. 各水培盒中水稻幼苗的长势情况照片(左→右处理编号 1#~6#)

水稻幼苗的生理指标测量及其分析结果见表 3。数据显示，10 mg/L 镉胁迫组(编号 2#)的根长比正常对照组(编号 1#)显著降低，表明镉离子能够引起对根细胞的生长发育直接毒害作用。菌株 Cdr-2 处理组(编号 3#)的株高值、干重值都最大，表明菌株 Cdr-2 对水稻幼苗生长有显著的促进作用。菌株 Cdr-3 处理组(编号 5#)、含 10 mg/L 镉离子处理组(编号 2#、4#、6#)株高、根长、干重的指标值都较正常对照组(编号 1#)低，表明在含 10 mg/L 的镉离子水培环境中，菌株 Cdr-2 更加重了对水稻幼苗的胁迫作用，在不含镉或者含 10 mg/L 的镉离子水培环境中，Cdr-3 菌株都抑制水稻幼苗的生长。

Table 3. Detection and analysis results of the physiological indexes of rice-seedlings

表 3. 水稻幼苗生理指标测量与分析结果

编号	组名	叶片众数	株高/cm		根长/cm		干重均值/g
			均值	标准差	均值	标准差	
1#	正常对照组	4	16.1	2.132	17.4	3.017	0.7163
2#	10 mg/L 镉胁迫组	4	15.5	3.697	9.3	2.139	0.5324
3#	Cd-2 菌株处理组	4	28.7	4.138	12.3	1.231	0.9203
4#	10 mg/L 镉胁迫 + Cd-2 菌株处理组	3	10.5	4.137	6.5	2.082	0.3176
5#	Cd-3 菌株处理组	3	7.7	1.824	6.5	1.743	0.3019
6#	10 mg/L 镉胁迫 + Cd-3 菌株处理组	3	6.5	2.227	5.3	1.419	0.2003

3.5. 菌株 Cdr-2 的 16S rRNA 基因序列分析

测得 Cdr-2 菌株 16S rRNA 基因序列在 GenBank 中进行 BLAST 搜索比对分析, 显示所测序列仅与 *Klebsiella aerogenes* 的一些菌株的 16S rRNA 基因具有 99% 以上的同源性一致性。结果表明菌株 Cdr-2 的亲缘种是 *Klebsiella aerogenes* (产气克雷伯氏菌)。菌株 Cdr-2 与克雷伯氏菌属的一些典型菌株构建的系统发育树见图 2, 表明菌株 Cdr-2 与 *Klebsiella aerogenes* G3_AM (登录号 MT373520) 聚类在一个分枝, 两者的亲缘关系最近。

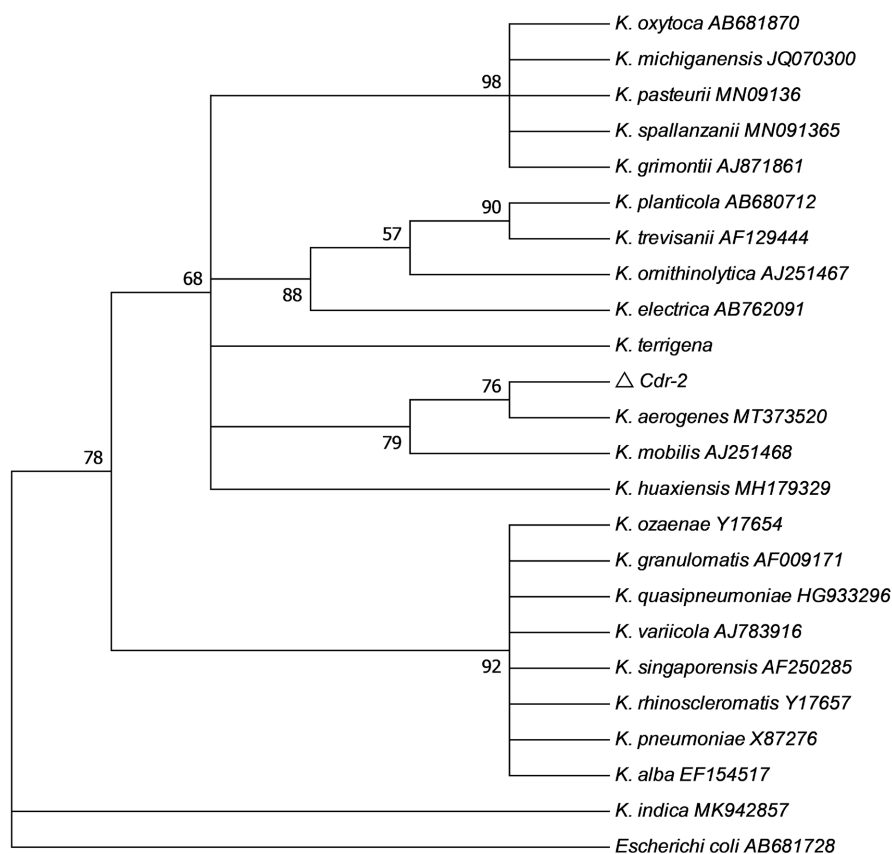


Figure 2. Neighbor-joining phylogenetic consensus tree based on the 16S rRNA gene partial sequences of strain Cdr-2 and type strains of genus *Klebsiella*

图 2. 基于 16S rRNA 基因构建菌株 Cdr-2 与克雷伯氏菌属典型菌株的 N-J 系统发育树

4. 结论

从水稻根际土壤中分离纯化得到 4 株抗镉细菌, 菌株 Cdr-1~Cdr-4。在实验条件下, 各菌株在含镉培养液中生长繁殖后, 镉离子吸附去除率在 50% 左右。其中在含镉 400 mg/L 培养液中, 菌株 Cdr-4 的镉离子吸附去除率为 65.30%, 菌株 Cdr-2 为 61.27%。水培结果表明, 10 mg/L 的镉离子对水稻幼苗茎秆生长的胁迫作用不明显, 但对根的生长发育有明显的毒害作用; Cdr-2 菌株对无镉胁迫水稻幼苗的正常生长具有促进作用; 在含 10 mg/L 的镉离子水培环境中, 菌株 Cdr-2 更加重了对水稻幼苗的胁迫作用; 在不含镉或者含 10 mg/L 的镉离子水培环境中, Cdr-3 菌株都抑制水稻幼苗的生长。经 16S rRNA 基因测序, 鉴定 Cdr-2 菌株为产气克雷伯氏菌(*Klebsiella aerogenes*)。研究发现了产气克雷伯氏菌 Cdr-2 菌株的强抗镉性以及促水稻幼苗生长性能, 为该菌株的进一步开发利用奠定了基础。

基金项目

湖南省教育厅资助科研项目(19K030); 湖南省自然科学基金项目(2020JJ6026)。

参考文献

- [1] 龚伟群, 潘根兴. 中国水稻中 Cd 吸收及其健康风险的有关问题[J]. 科技导报, 2006, 24(5): 43-48.
- [2] 李鑫. 土壤重金属污染防治法律制度研究[D]: [硕士学位论文]. 太原: 山西财经大学, 2012.
- [3] 李剑睿, 徐应明, 林大松, 等. 农田重金属污染原位钝化修复研究进展[J]. 生态环境学报, 2014, 23(4): 721-728.
- [4] Liu, Z. (2014) Research Advance on the Mechanism of Cadmium Transport in Rice. *Meteorological and Environmental Research*, **5**, 48-52.
- [5] Clemens, S., Aarts, M.G.M., Thomine, S. and Verbruggen, N. (2013) Plant Science: The Key to Preventing Slow Cadmium Poisoning. *Trends in Plant Science*, **18**, 92-99. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.08.003>
- [6] 王学华, 戴力. 作物根系镉滞留作用及其生理生化机制[J]. 中国农业科学, 2016, 49(22): 4323-4341.
- [7] 吴博晗, 吴向阳, 李霞, 等. 镉对水稻及种植土壤影响的研究进展[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(18): 25-33.
- [8] 韩笑, 卢磊. 根际促生菌提高水稻对非生物胁迫耐受性的研究进展[J]. 生命科学, 2019, 31(3): 289-295.
- [9] 张亚东, 刘海学, 赵里曼. 作物镉胁迫研究进展及其在水稻中的应用展望[J]. 种子科技, 2021, 39(2): 30-31, 34.
- [10] 刘仲齐, 张长波, 黄永春. 水稻各器官镉阻控功能的研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(4): 721-727.
- [11] 黄永春, 张长波, 任兴华, 等. 土壤和茎基部镉含量对稻米镉污染风险的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 29(5): 989-999.
- [12] Xue, W., Wang, P., Tang, L., *et al.* (2021) Citric Acid Inhibits Cd Uptake by Improving the Preferential Transport of Mn and Triggering the Defense Response of Amino Acids in Grains. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **211**, Article ID: 111921. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.111921>
- [13] Sebastian, A. and Prasad, M.N.V. (2018) Exogenous Citrate and Malate Alleviate Cadmium Stress in *Oryza sativa* L.: Probing Role of Cadmium Localization and Iron Nutrition. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **166**, 215-222. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.09.084>
- [14] Hansen, J.C., Grn, P., Jespersen, B.A., *et al.* (1989) Cadmium Exposure in Denmark. Based on Analyses of Liver and Kidney Tissues. *Danish Medical Bulletin*, **36**, 499-502.
- [15] Satarug, S., Baker, J.R., Reilly, P.E.B., *et al.* (2002) Cadmium Levels in the Lung, Liver, Kidney Cortex and Urine Samples from Australians without Occupational Exposure to Metals. *Archives of Environmental Health*, **57**, 69-77. <https://doi.org/10.1080/00039890209602919>
- [16] Lech, T. and Sadlik, J.K. (2017) Cadmium Concentration in Human Autopsy Tissues. *Biological Trace Element Research*, **179**, 172-177. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-0959-5>
- [17] 曾晓希. 抗重金属微生物的筛选及其抗镉机理和镉吸附特性研究[D]: [博士学位论文]. 长沙: 中南大学, 2010.
- [18] 丁自立. 抗耐镉, 铬重金属菌株筛选及水稻根际土壤微生态效应研究[D]: [博士学位论文]. 武汉: 华中农业大学, 2016.
- [19] Wang, X., Xu, Q., Hu, K., *et al.* (2023) A Coculture of Enterobacter and Comamonas Reduces Cd Accumulation in Rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **36**, 95-108. <https://doi.org/10.1094/MPMI-09-22-0186-R>
- [20] 刘玉玲. 抗镉细菌的筛选及其对水稻吸收积累镉的影响[D]: [硕士学位论文]. 长沙: 湖南农业大学, 2018.