

司 勇, 王丽红, 周 青. 外源 La(Ⅲ)和 Si 对水稻幼苗植硅体固镧能力的影响[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(10): 2101–2109.

SI Yong, WANG Li-hong, ZHOU Qing. Effect of exogenous lanthanum and silicon on the biosequestration ability of lanthanum by phytoliths in rice seedlings [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2018, 37(10): 2101–2109.

外源 La(Ⅲ)和 Si 对水稻幼苗植硅体固镧能力的影响

司 勇^{1,2,3}, 王丽红^{1,2}, 周 青^{1,2,4*}

(1. 江南大学环境与土木工程学院, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学食品科学与技术国家重点实验室, 江苏 无锡 214122; 3. 皖西学院环境与旅游学院, 安徽 六安 237012; 4. 苏州科技大学江苏省水处理技术和材料合作创新中心, 江苏 苏州 215009)

摘 要:为研究环境中稀土元素(REEs)和硅(Si)对植物植硅体固镧能力(PLSA)的影响,以水稻(*Oryza sativa* L.)为代表,通过设置不同浓度镧[La(Ⅲ)]和 Si 正交实验,利用微波消解法提取根、茎和叶植硅体,以电感耦合等离子体原子发射光谱和实时荧光定量 PCR 等实验手段揭示环境 La(Ⅲ)对水稻各器官 PLSA 的影响。结果显示,低浓度 La(Ⅲ)使叶哑铃型植硅体大小和根 *Lsi1* 表达增加,促进叶和根 PLSA,而高浓度 La(Ⅲ)会减少叶哑铃型植硅体大小,降低根 *Lsi1* 和 *Lsi2* 表达,抑制根、茎和叶 PLSA。外源 La(Ⅲ)是提高根、茎和叶植硅体镧固定效率的重要因素。与单一 La(Ⅲ)浓度影响相比,La(Ⅲ)与 Si 的复合处理显著促进叶和茎 PLSA,外源 Si 能够缓解高浓度 La(Ⅲ)对根、茎和叶 PLSA 的抑制作用。研究证明不同浓度的外源 La(Ⅲ)和 Si 能够改变水稻不同器官的 PLSA。

关键词:水稻;镧;硅;植硅体;植硅体镧

中图分类号:X503.231 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2018)10-2101-09 doi:10.11654/jaes.2018-0345

Effect of exogenous lanthanum and silicon on the biosequestration ability of lanthanum by phytoliths in rice seedlings

SI Yong^{1,2,3}, WANG Li-hong^{1,2}, ZHOU Qing^{1,2,4*}

(1. School of Environment and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. College of Resources Environment and Tourism Management, West Anhui University, Lu'an 237012, China; 4. Jiangsu Cooperative Innovation Center of Technology and Materials for Water Treatment, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China)

Abstract: Rare earth elements (REEs) in the environment enter plant tissues through the plant's roots, after which they can be sequestered by phytoliths in plants. Silicon (Si) can affect the formation of plant phytoliths. Currently, the effects of REEs and Si on the sequestration ability of lanthanum [La(Ⅲ)] by the phytoliths (PLSA) in plants are not yet fully understood. In this study, rice (*Oryza sativa* L.) was selected as a representative of plants, and orthogonal experiments were set up under various concentrations of La(Ⅲ) and Si. Phytoliths were extracted from different parts of rice seedlings (roots, stems, and leaves) via the microwave digestion method, and the effects of exogenous La(Ⅲ) on the PLSA of different rice organs were revealed by using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and quantitative real-time PCR. The results showed that a low concentration of La(Ⅲ) increased the size of dumbbell phytoliths in leaves and the expression level of *Lsi1* in roots and promoted the PLSA in roots and leaves. Meanwhile, a high concentration of La(Ⅲ) decreased the size of dumbbell phytoliths in leaves and the expression levels of *Lsi1* and *Lsi2* in roots and inhibited the PLSA in roots, stems, and leaves. Exogenous La(Ⅲ) was an important factor for promoting the sequestration efficiency of La(Ⅲ) by phytoliths in leaves, stems, and roots. Com-

收稿日期:2018-03-15 录用日期:2018-05-17

作者简介:司 勇(1980—),男,辽宁鞍山人,博士研究生,主要从事稀土污染生态学和生物地球化学硅碳循环研究。E-mail:si58@163.com

*通信作者:周 青 E-mail:qingzhou510@yahoo.com

基金项目:江苏省普通高校科研创新计划项目(KYLX15_1164);国家自然科学基金项目(31170477, 21371100, 21501068)

Project supported: Research and Innovation Project for Postgraduates of Higher Education Institutions of Jiangsu Province(KYLX15_1164); The National Natural Science Foundation of China(31170477, 21371100, 21501068)

pared to the single treatment with La(Ⅲ), the combined treatment with La(Ⅲ) and Si promoted the PLSA in leaves and stems significantly and exogenous Si alleviated the inhibitory effects of a high concentration of La(Ⅲ) on the PLSA of leaves, roots, and stems. This study demonstrated that different concentrations of exogenous La(Ⅲ) and Si could change the PLSA in different organs of rice seedlings.

Keywords: rice; lanthanum; silicon; phytolith; phytLa

植硅体(Phytolith)也称植物蛋白石,是沉积在各种植物组织细胞壁、细胞间隙和细胞腔中的一种无定型水合硅^[1]。植硅体能够包裹植物的活细胞器,例如叶绿体、线粒体、质粒或其他细胞器^[2]。前人利用植硅体包裹碳作为安全碳汇并提出许多有效管理未来气候变化的方法^[3]。植硅体是植物体内的胶体硅通过发生聚合作用而形成,与植物的硅吸收联系密切。尽管硅(Silicon)不是高等植物必需的基本元素,但其几乎存在于所有的植物种类中^[4],对控制植物疾病非常有效,能增加叶、茎、叶鞘等器官的抵抗能力^[5],并且能缓解化学胁迫(如盐、金属毒害、营养失衡等)和物理胁迫(如干旱、辐射、高温、低温、UV等)^[4-7]。此外,硅能改进植物叶片的光截获能力,从而激发冠层光合作用^[5]。这些有益影响都归结于植物根对硅的吸收能力^[8]。

稀土元素在工业中有着广泛的应用^[9]。人类对稀土资源日益增加的需求,引发了稀土元素在环境中的持续释放^[9],从而加速稀土元素在环境中的积累^[10]。与其他稀土元素相比,镧(Lanthanum)的数量在微肥和环境中的较多^[11],因而大量的毒理研究集中在植物对镧的吸收方面。生理研究显示,镧对植物生理功能具有“低促高抑”效应(Hormesis),如低浓度(如30~35 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ LaCl_3)促进辣根(*Armoracia rusticana* Gaertn.)细胞伸长,高浓度(大于80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ LaCl_3)抑制细胞伸长甚至破坏细胞^[12]。镧可调控菜豆(*Phaseolus vulgaris* Linn.)和玉米(*Zea mays* L.)过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)^[13]活性,降低丙二醛(MDA)含量,维持膜透性及光合能力,减轻镉(Cd)对2种作物胁迫伤害。镧还能以胞吞作用影响钙调蛋白(CaM)的表达^[14],阻碍镧在细胞间和器官间有效运输。

水稻(*Oryza sativa* L.)是典型的硅高积累作物,其硅含量是植物大量营养元素如氮、磷、钾等的几倍甚至更高^[4-5]。水稻各种器官中硅的高积累主要源自根硅内流(*Lsi1*)和外流(*Lsi2*)载体对硅的主动运输。如果敲除*Lsi1*和*Lsi2*,水稻的硅吸收会显著减少^[15]。水稻*Lsi1*和*Lsi2*均可编码一种水通道蛋白,两者编码的蛋白分别拥有6个和11个横跨膜区域^[16-17]。植物植硅

体会包裹受到镧污染的活细胞物质,将镧元素吸附在表面或固定在内部^[18]。这可能会影响植物体内物质转运、能量交换和信息传递等一系列功能实现。目前,外源镧与植物植硅体镧固定之间的关系还不清晰,植硅体在植物镧固定中的作用鲜有报道。本研究采用微波消解和实时PCR等一系列方法,考察镧和硅对水稻根、茎和叶植硅体镧固定的影响,以及对稻根基因绝对定量表达的影响,探讨植硅体镧固定的原因,为深入理解植硅体对植物镧的减毒机制,以及客观评价稀土污染的环境风险和农作物的食品安全提供参考。

1 材料与方法

1.1 试材培养与处理

在可控条件温室(Rheem puffer hubbard environmental™,美国)中开展水培实验。供试水稻种子为淮稻8号。种子用3%(V/V)双氧水消毒20 min,去离子水冲洗若干次并浸种24 h后,置于恒温培养箱28℃萌发48 h。萌发后种子播种于装有石英砂的塑料容器(5 L),并灌入1/2高度Hoagland营养液。可控温室光强为400 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光照时长13 h(光)/11 h(暗),相对湿度为70%~80%,昼温35℃,夜温25℃。待长至两叶一心时,将幼苗移栽至5 L塑料容器中,每个容器栽种96株,添加4 L营养液,每2 d更换营养液一次。3 d后开始添加有效硅($\text{NaSiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$,表示为Si)和有效镧[LaCl_3 , La(Ⅲ)]。培养液pH保持5.5。基于当前全球土壤中镧水平^[9,19]和土壤中单硅酸水平^[20],实验设置9个处理:对照(CK)、Si 15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、Si 210 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、La(Ⅲ) 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、La(Ⅲ) 300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Si+20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ La(Ⅲ)、15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Si+300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ La(Ⅲ)、210 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Si+20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ La(Ⅲ)、210 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Si+300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ La(Ⅲ);用NaOH溶液与体积比为3:1的 H_2SO_4 和 HNO_3 的混合溶液调制pH至5.5。每2 d用1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ KH_2PO_4 溶液喷洒叶部,以补充磷素。每3 d换一次含硅和镧的无磷营养液。每个处理3个重复。

1.2 植硅体含量与形态测定

待测植物器官和种子用超声波浴清洗15 min,再用超纯水冲洗若干次。将样品置于恒温鼓风干燥箱,

105℃烘干20 min,然后降为75℃烘至恒质量。烘干后样品需粉碎待测。

提取植硅体用微波消解方法^[21],并用Walkley-Black type digest方法处理^[22]。植硅体用鼓风恒温干燥箱75℃烘干至恒质量,用事先称质量的离心管密封并称量以计算植硅体含量。植硅体含量计算方法见公式(1),并参见文献[1,18]。

$$\text{植硅体含量}=\frac{\text{植硅体质量}}{\text{水稻样品干质量}}\times 100\% \quad (1)$$

植硅体形态分析使用Lu等^[23]描述的热消解方法,从植物消解液中取5 μL均匀一致的液体,用中性树脂制成固定玻片,用光学显微镜观察代表性植硅体形态^[24]。

1.3 元素测定

样品(植硅体或植物)置于高纯石墨坩埚,均匀混入偏硼酸锂(BLiO₂,无水,纯度99.99%),置于马弗炉灰化^[18]。温控过程参见文献[18]。冷却后,灰分用稀硝酸溶解,期间用磁力搅拌器缩短溶解时间。样品镉含量和硅含量分别用电感耦合等离子发射光谱(ICP-AES)和钼蓝比色法测定^[25]。用土壤标准物质(GBW07405,GSS-5)和植物标准物质(GBW 07603,GSV-2)监控,误差率<5%。水稻植硅体La含量为La(Ⅲ)在植硅体中的质量分数(%wt)。水稻器官植硅体La含量(PhytLa content of organs,PLCO,%)计算方法见公式(2),并参见文献[18],式中植硅体含量用公式(1)计算得出。植硅体镉固定能力(Sequestration ability of phytoliths on La,PLSA)用PLCO与La含量(%)比值估算,计算方法见公式(3),并参见文献[18]。其中,植硅体La含量和La含量分别为植硅体和植物稀硝酸溶解液的ICP-AES实测值。

$$\text{PLCO}=\text{植硅体含量}\times\text{植硅体La含量}\times 100\% \quad (2)$$

$$\text{PLSA}=\text{PLCO}/\text{La含量} \quad (3)$$

1.4 基因绝对表达量测定

实时荧光定量法(RT-PCR)检测稻根基因(*Lsi1*和*Lsi2*)的绝对定量水平^[16-17]。基因测序公司:上海美吉生物医疗有限公司。RNA提取:上海美吉生物柱式植物总RNA抽提纯化试剂盒(SK8661)。反转录:上海美吉生物第一链cDNA合成试剂盒(SK2445)。RT-PCR反应体系(10 μL反应体系)如下:1 μL cDNA(×10);7.4 μL ddH₂O;0.8 μL引物-F;0.8 μL引物-R(引物见表1)。加好样的孔板放在定量PCR仪(ABI 7500,杭州朗基科学仪器有限公司)中进行反应:95℃反应5 min,95℃反应5 s,55℃反应30 s,72℃反应

表1 目的基因的引物序列
Table 1 The primer sequence of the target genes

基因 Gene	引物 Primer	5'-3'
<i>Lsi1</i>	<i>Lsi1</i> F	CGGTGGATGTGATCGGAACCA
	<i>Lsi1</i> R	CGTCGAAC TTGTTGCTCGCCA
<i>Lsi2</i>	<i>Lsi2</i> F	ATCTGGGACTTCATGGCCC
	<i>Lsi2</i> R	ACGTTTGATGCGAGGTTGG

40 s,40个循环。最后测出各目的基因的绝对表达量。

1.5 统计分析

使用One-way ANOVA方法进行数据统计学分析,并用Duncan's multiple range test方法分析处理组间的差异显著性。数据统计和做图利用Excel和SPSS软件完成。

2 结果与分析

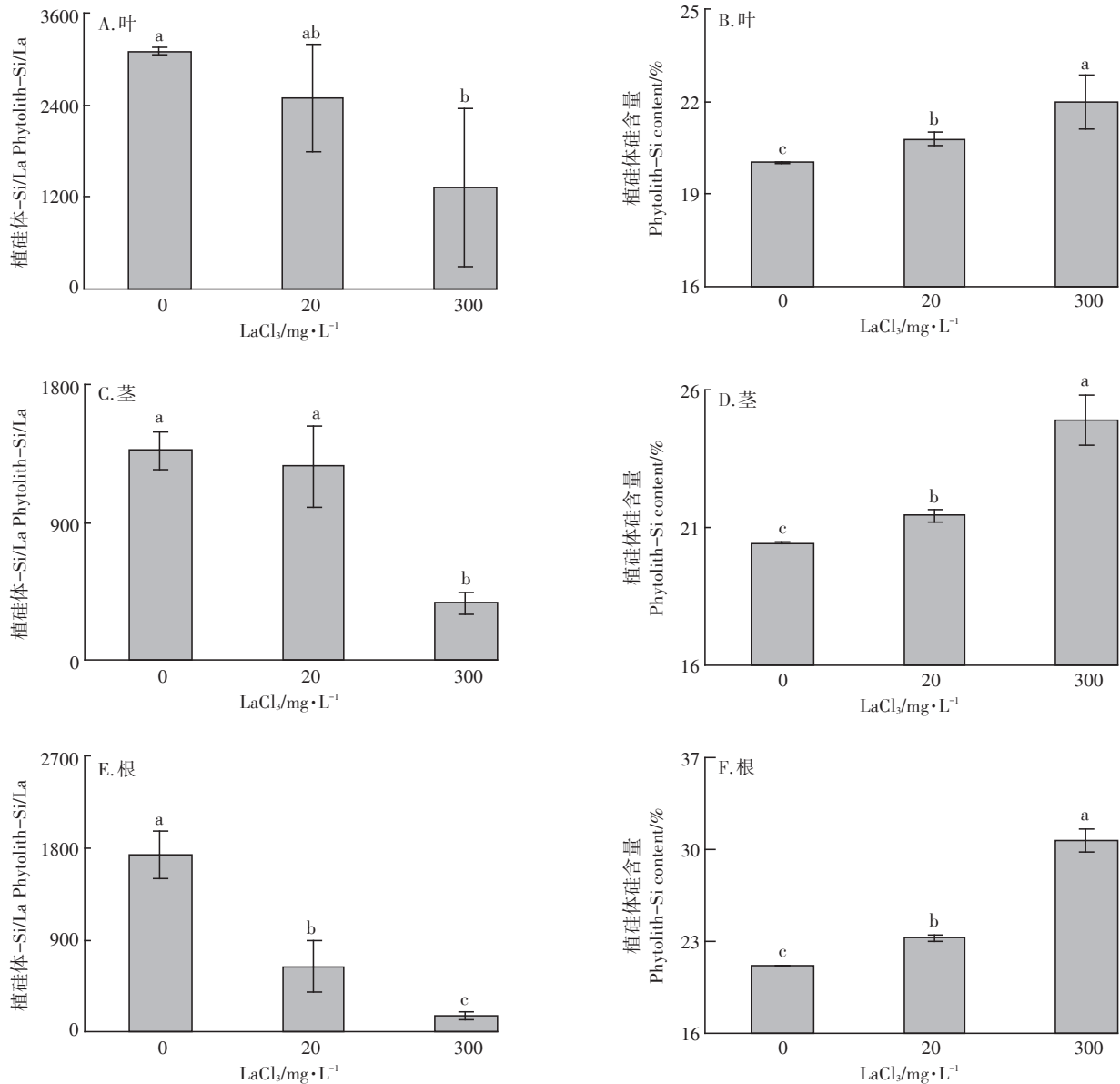
2.1 镉对水稻幼苗各器官植硅体Si/La和植硅体Si含量的影响

La(Ⅲ)对水稻植硅体Si/La和植硅体Si含量的影响见图1。与CK相比,叶、茎和根中的植硅体Si/La伴随镉浓度升高均显著下降。当镉浓度为20 mg·L⁻¹时,与CK相比,各器官植硅体Si/La下降幅度顺序为根>叶>茎;而当镉浓度为300 mg·L⁻¹时,与CK相比各器官植硅体Si/La的下降幅度顺序为根>茎>叶。与植硅体Si/La变化趋势相反,根、茎和叶植硅体Si含量均伴随镉浓度增加而递增。当镉浓度为20 mg·L⁻¹时,与CK相比,各器官植硅体Si含量增加幅度差别不显著;而当镉浓度为300 mg·L⁻¹时,各器官植硅体Si含量增加幅度顺序则为根>茎>叶。

此外,本研究还将文献[26]中植硅体SiO₂含量转换为植硅体Si含量,并将文献[26]植硅体Si含量与其Si含量相比,结合本研究数据统计如图2所示。结果显示,文献[26]中茎的植硅体Si含量与Si含量比值显著大于叶,而本研究不同器官植硅体Si含量与Si含量比值从大到小排序为根>茎>叶;另外,图中本研究数据略低于文献[26]。

2.2 镉和硅对水稻幼苗各器官PLSA的影响

La(Ⅲ)和SiO₂对水稻PLSA影响如图3所示。(1)与CK相比,20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)使水稻幼苗叶、根中PLSA增加,茎中PLSA减少,300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)则使PLSA均减少。与CK相比,15 mg·L⁻¹ SiO₂和210 mg·L⁻¹ SiO₂均使叶、茎、根中PLSA增加;(2)与CK、15 mg·L⁻¹ SiO₂处理相比,20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+15 mg·L⁻¹ SiO₂组叶、



图中 A、C、E 为用不同镧浓度预处理的水稻幼苗各器官中的植硅体 Si/La 平均值。这里不考虑硅的浓度变化,下同。图 B、D、F 为用不同镧浓度预处理的水稻幼苗各器官中的植硅体 Si 含量平均值。不同的字母代表用 Duncan's Multiple Rang Test 统计方法得出的 $P < 0.05$ 水平下的显著差异。误差线代表平均值的标准差, $n=3$ 。下同

A, C, E The average ratio of Si/La in leaf phytoliths of rice seedlings in the pretreatments with different La level regardless of Si level.

B, D, F The average content of Si in leaf phytoliths of rice seedlings in the pretreatments with different La level regardless of Si level.

Means with various letters are significantly different at the $P < 0.05$ level of confidence according to Duncan's Multiple Range Test.

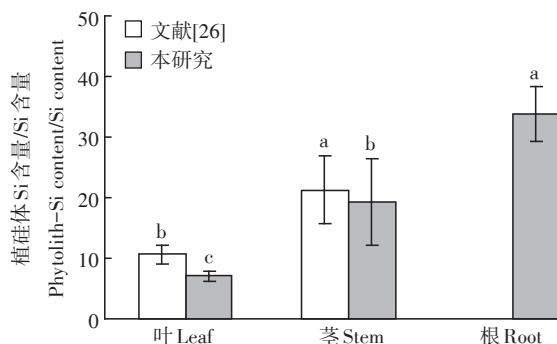
Error bars represent the standard deviations of the mean. $n=3$. The same below

图 1 $\text{La}(\text{III})$ 对水稻幼苗各器官植硅体 Si/La 和植硅体 Si 含量的影响

Figure 1 Variation of phytolith Si/La and phytolith Si content in the combined treatments with different La level in various rice seedlings' tissues

茎、根中 PLSA 均显著增加。20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{La}(\text{III}) + 15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{SiO}_2$ 组叶和茎 PLSA 均高于 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{La}(\text{III})$ 处理,根则相反。与 CK 相比,20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{La}(\text{III}) + 210 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{SiO}_2$ 组 PLSA 均显著增加。20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{La}(\text{III}) + 210 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{SiO}_2$ 组叶和茎高于 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{La}(\text{III})$ 处理,

根 PLSA 则相反。与 210 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{SiO}_2$ 处理相比,20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{La}(\text{III}) + 210 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{SiO}_2$ 组的茎 PLSA 增加,叶和根中 PLSA 则均下降;(3) 300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{La}(\text{III}) + 15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{SiO}_2$ 组的叶、茎 PLSA 低于 CK,根 PLSA 高于 CK。300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{La}(\text{III}) + 15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{SiO}_2$ 组 3 种器官 PLSA 都高



文献[26]数据为5种基因型成熟期水稻的平均值和标准差,本研究数据为不受La(Ⅲ)影响的幼苗期水稻3个处理的平均值和标准差

The data from Li et al.^[26] were the means and the standard deviations of 5 genotypic mature rices, and the data of this study were the means and the standard deviations of 3 treatments of rice seedling regardless of La(Ⅲ) level

图2 水稻各器官植硅体Si含量与Si含量的比值

Figure 2 Variation of the ratio of phytolith Si content and Si content in different parts of rice

于300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)处理,低于15 mg·L⁻¹ SiO₂处理。300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+210 mg·L⁻¹ SiO₂组的叶和根PLSA显著高于CK,茎PLSA则显著低于CK。300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+210 mg·L⁻¹ SiO₂组3种器官PLSA均高于300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)处理,叶、茎PLSA均显著低于210 mg·L⁻¹ SiO₂处理,而根则相反。

2.3 镉和硅对水稻幼苗叶哑铃形植硅体形态的影响

水稻器官中哑铃型植硅体居多。SiO₂和La(Ⅲ)对叶哑铃型植硅体形态特征的影响如图4。(1)与CK相比,20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)使水稻幼苗叶植硅体变大,而300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)则使其变小,并且形状趋向于不规则。与CK相比,15 mg·L⁻¹ SiO₂使叶植硅体变大,而210 mg·L⁻¹ SiO₂反而使其变小,但排列更加规则有序,密度增加。(2)与CK、La(Ⅲ)和SiO₂单一处理相比,20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+15 mg·L⁻¹ SiO₂组植硅体变小;而20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+210 mg·L⁻¹ SiO₂组植硅体较CK和210 mg·L⁻¹ SiO₂组尺寸变大,但与20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)组相比变化不显著。(3)300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+15 mg·L⁻¹ SiO₂组植硅体尺寸大于CK和300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)组,但小于15 mg·L⁻¹ SiO₂组。另外,300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+210 mg·L⁻¹ SiO₂组植硅体尺寸均比CK、300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)组和210 mg·L⁻¹ SiO₂组大。

2.4 硅和镉对水稻幼苗根Lsi1和Lsi2表达的影响

La(Ⅲ)和SiO₂对水稻幼苗根运载体Lsi1和Lsi2基因表达的影响如图5所示。(1)与CK相比,15 mg·L⁻¹ SiO₂使根Lsi1和Lsi2表达水平显著减少,210 mg·L⁻¹

SiO₂使Lsi1显著增加,而Lsi2变化不大。与CK相比,20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)虽然使Lsi1表达水平略微增加,但却使Lsi2显著下降。300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)使Lsi1和Lsi2表达水平均显著低于CK,约为其1/2,其中Lsi2最低。(2)与CK和20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)单一处理相比,20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+15 mg·L⁻¹ SiO₂组的Lsi1表达水平增加,而Lsi2则减少。对比15 mg·L⁻¹ SiO₂单一处理,20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+15 mg·L⁻¹ SiO₂组的Lsi1和Lsi2表达水平均显著增加。与CK相比,20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+210 mg·L⁻¹ SiO₂组的Lsi1表达水平显著增加,而Lsi2则显

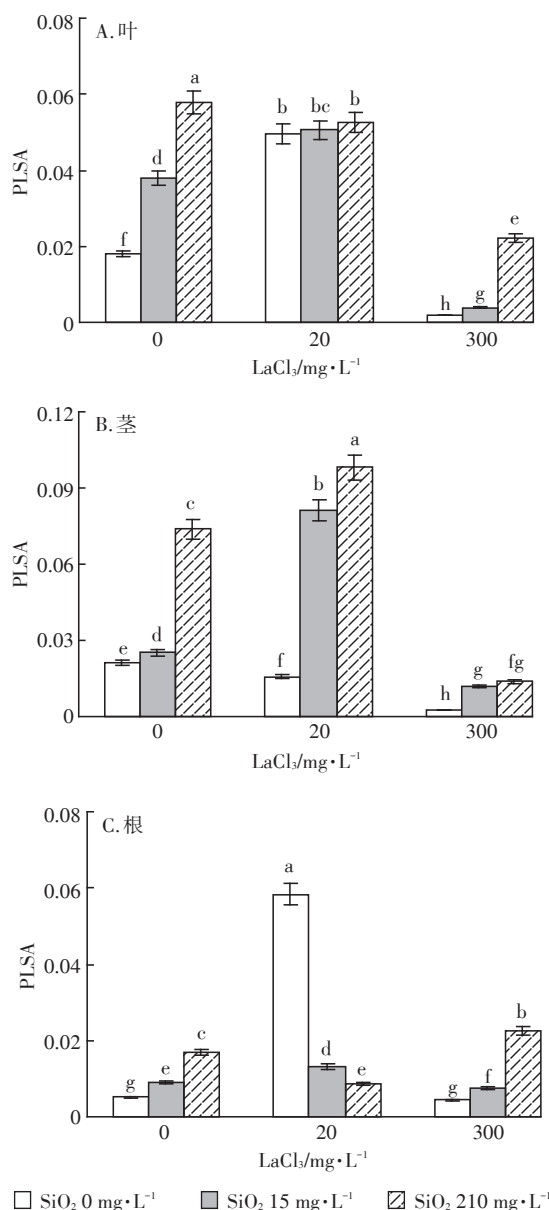


图3 La(Ⅲ)和SiO₂对水稻幼苗叶、茎和根PLSA的影响
Figure 3 The PLSA in leaves, stems and roots of rice seedlings with the pretreatments with different La and Si levels

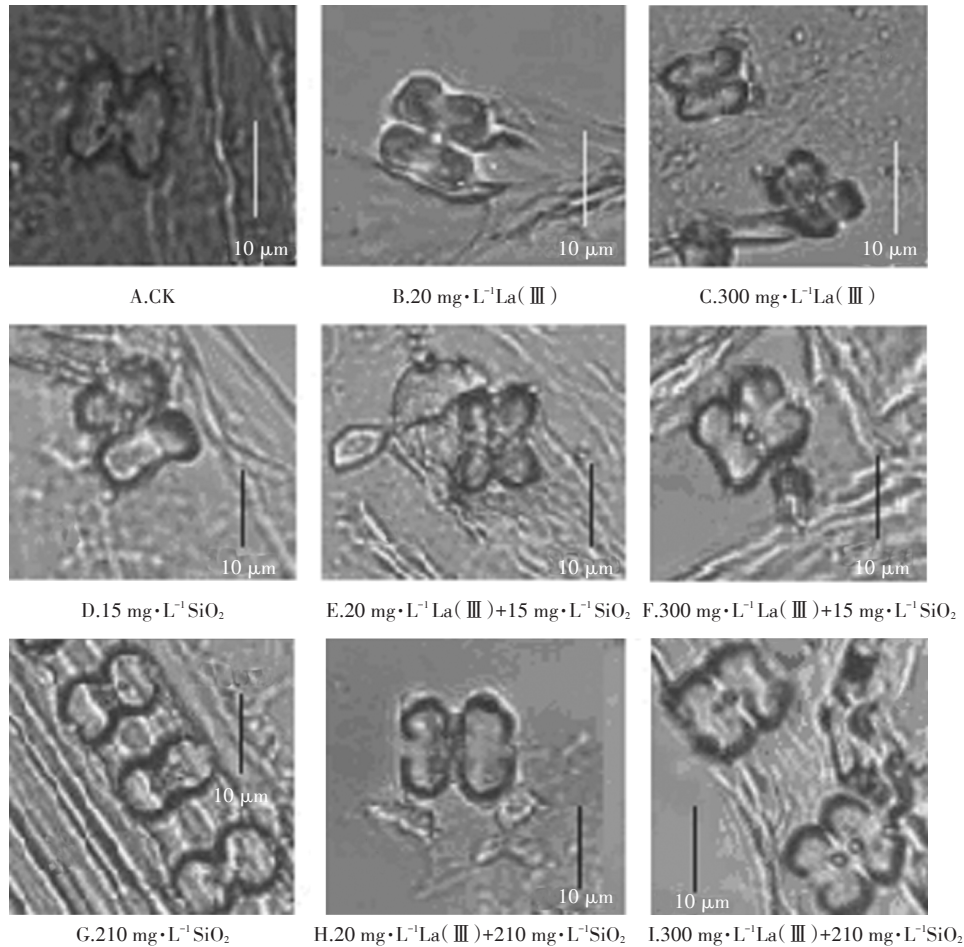


图4 La(Ⅲ)和SiO₂对水稻幼苗叶哑铃型植硅体的影响

Figure 4 Effects of La(Ⅲ) and SiO₂ on dumb-bell phytoliths in rice seedlings

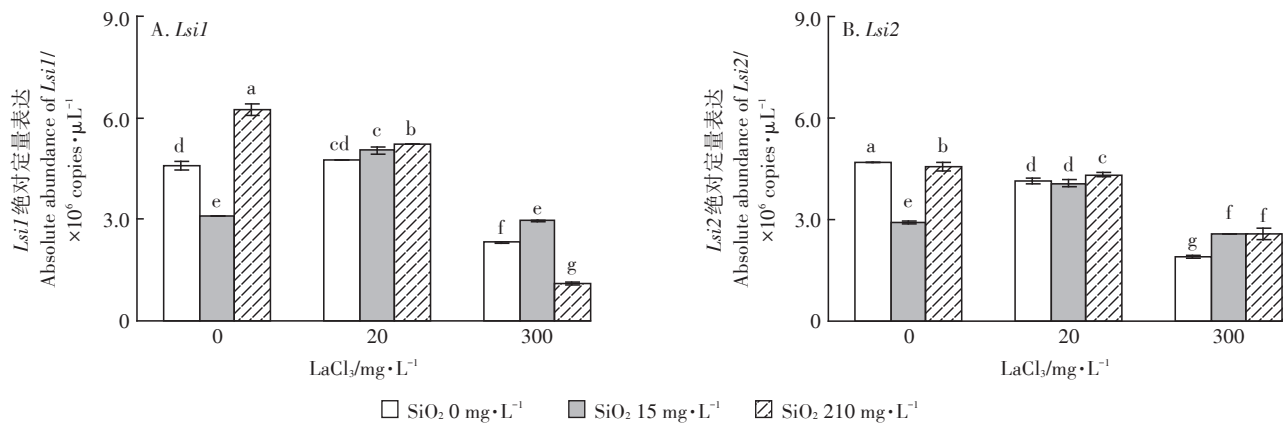


图5 La(Ⅲ)与SiO₂对水稻幼苗根系*Lsi1*(A)和*Lsi2*(B)基因绝对定量表达的影响

Figure 5 The absolute quantification of *Lsi1*(A) and *Lsi2*(B) gene in the roots of rice seedling under various La and Si concentration

著减少。20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+210 mg·L⁻¹ SiO₂组的*Lsi1*和*Lsi2*表达水平均显著高于20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)单一处理,并均显著低于210 mg·L⁻¹ SiO₂单一处理。(3)300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+15 mg·L⁻¹ SiO₂组的*Lsi1*和*Lsi2*表达水平均小于CK,并均略微小于15 mg·L⁻¹ SiO₂单一处理,

但都显著高于300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)单一处理。300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+210 mg·L⁻¹ SiO₂组的*Lsi1*和*Lsi2*表达水平平均显著低于CK和210 mg·L⁻¹ SiO₂单一处理,其中*Lsi1*表达水平约为CK的1/4,为最小值。300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+210 mg·L⁻¹ SiO₂组*Lsi1*表达水平显著低于300 mg·L⁻¹

La(Ⅲ)单一处理,而其*Lsi2*则相反。

图6是9种处理水稻根*Lsi1*和*Lsi2*基因的表达水平与3种器官PLSA之间的相关性。统计分析表明,水稻根PLSA与*Lsi1*和*Lsi2*基因的表达水平相关性均不显著,其相关系数分别为0.139 3和0.221 1, $P>0.05$ 。与根相反,茎PLSA分别与根*Lsi1*和*Lsi2*基因表达水平呈现显著相关性,相关系数分别为0.725 6和0.638 8, $P<0.01$ 。与茎类似,叶PLSA与根*Lsi1*和*Lsi2*之间相关性都很显著,相关系数分别为0.739 3和0.717 3, $P<0.01$ 。

3 讨论

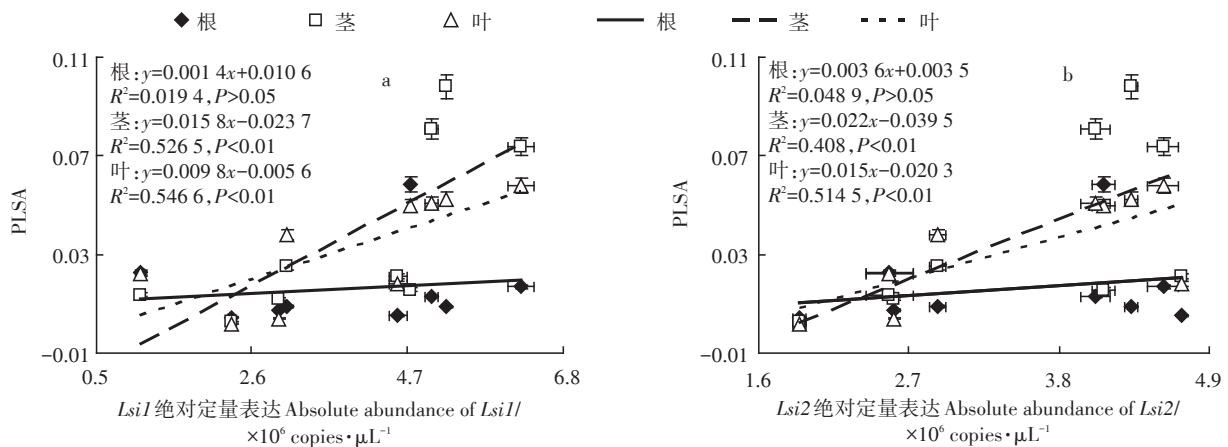
3.1 镧对水稻器官植硅体固镧效率的影响

理解REEs对植物影响的关键是弄清稀土在植物中的固定方式,即REEs是以何种形式赋存在植物体内? Kameník等^[27]发现,在无REEs污染地区生长的植物中形成的植硅体含有少量REEs。弄清植硅体在植物La(Ⅲ)固定中的作用至关重要。目前,外源La(Ⅲ)对植物不同器官植硅体固镧能力的影响机理并不清晰,相关研究未见报道。本研究发现(图1),伴随外源La(Ⅲ)浓度增加,水稻幼苗各器官植硅体Si/La均出现减少趋势,而植硅体Si含量则均呈现增加趋势,说明La(Ⅲ)应用可以通过植物各器官植硅体积累而增强植硅体的固镧效率。根是水稻吸收环境元素的主要器官^[28]。图1显示,在La(Ⅲ)胁迫下(20 mg·L⁻¹或300 mg·L⁻¹)根植硅体Si/La降幅均显著低于叶

和茎,而植硅体Si含量则相反,说明根植硅体通过Si-O-La-O-Si键形成的复合结构^[18]更稳定,能在结构上吸收更多的La(Ⅲ),固镧效率更高。这与之前有关水稻秸秆植硅体溶解度会随环境中Al³⁺浓度增加而降低的观点一致^[29]。因为这意味着植硅体会通过增加自身Si积累而同时提升自身的La(Ⅲ)束缚能力和稳定性,进而缓解La(Ⅲ)毒性。可见,水稻植硅体La(Ⅲ)固定能力的变化与外源La(Ⅲ)密切相关。我们推测这主要是由植硅体结构上的特点决定的。植硅体主要是由水合无定型硅组成^[1],在这种物质的化学结构中,许多不同的羟基伴随在硅的周围,这些硅与羟基组成的结构几乎没有重复,这种硅结构有很低的表面电荷^[30]。随着植硅体结构变得复杂,无定型硅的表面电荷会轻微下降^[31]。这些性能使植硅体更易与La(Ⅲ)结合^[18],形成非常稳定的植硅体-La(Ⅲ)复合体,提升植物对La(Ⅲ)的固定能力。

3.2 镧和硅对水稻器官植硅体固镧能力的影响

本课题组发现^[18],水稻叶、茎和根植硅体积累量与植硅体镧固定存在密切的联系,植硅体在各器官对外源La(Ⅲ)的响应存在“低促高抑”趋势,但从上到下器官依次减弱。本研究发现,除茎以外,20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)促进了叶和根的PLSA。通过观察水稻幼苗叶哑铃型植硅体也发现,20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)使植硅体变大(图4B)。然而,仅根*Lsi1*表达获得促进。细胞内流硅酸大于外流硅酸,从而使质外体硅存贮增加,增加植硅体固定La(Ⅲ)污染细胞概率,提高固镧效率



图中a为稻根*Lsi1*与各器官PLSA之间的相关性;b为稻根*Lsi2*与各器官PLSA之间的相关性。误差线代表3个重复平均值标准差,样本数 $n=9$ 。

a: *Lsi1* vs. PLSA; b: *Lsi2* vs. PLSA. Error bars represent the standard deviations of the mean of three replicates. Sample number $n=9$.

图6 水稻幼苗根*Lsi1*和*Lsi2*基因绝对定量表达与根茎叶PLSA之间的相关性

Figure 6 Correlations between the absolute quantification of *Lsi1* and *Lsi2* gene in the roots of rice seedling and the PLSA in the different organs of rice seedling under various Si and La levels.

和能力。因此,植硅体La(Ⅲ)复合结构稳定性、植硅体大小和根*Lsi1*表达水平是促进PLSA增加的重要因素。这可能与La(Ⅲ)对水稻的Hormesis效应有关^[32]。另外,单一300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)处理使叶、茎和根PLSA均受到显著抑制。通过观察叶哑铃型植硅体也发现,此时植硅体显著变小,而且根*Lsi1*和*Lsi2*均显著减少,说明水稻*Lsi1*和*Lsi2*的表达会因为过高浓度La(Ⅲ)而共同受到抑制,抑制其体内硅转运和吸收,进而通过抑制植硅体形成,降低植硅体在各器官中的固钼能力。

通过对水稻各器官PLSA的La(Ⅲ)和Si复合影响分析,我们归结以下四点:(1)20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+15 mg·L⁻¹ SiO₂组与单一15 mg·L⁻¹ SiO₂处理相比,叶、茎、根PLSA和根*Lsi1*、*Lsi2*表达水平都增加,*Lsi1*和*Lsi2*相互协作,共同提升了植硅体固钼能力。该组与单一20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)处理相比,叶、茎PLSA与根*Lsi1*都增加,而根PLSA则与*Lsi2*都减少,表明根*Lsi1*可能是地上部植硅体固钼能力增加的主要因素,而*Lsi2*则相反。同时鉴于该组叶哑铃型植硅体变小,根*Lsi2*可能与植硅体形态改变有关。(2)20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+210 mg·L⁻¹ SiO₂组与单一20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)处理相比,除根PLSA外,叶、茎PLSA与根*Lsi1*、*Lsi2*都显著增加;而该组与单一210 mg·L⁻¹ SiO₂处理相比,叶根PLSA与根*Lsi1*、*Lsi2*都显著减少。这些说明根*Lsi1*、*Lsi2*可能是提升20 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)影响下叶植硅体固钼能力的主要因素。而高浓度SiO₂则为叶植硅体较多产出和较大尺寸提供保证。(3)300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+15 mg·L⁻¹ SiO₂组与单一300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)处理相比,叶、茎、根PLSA,叶哑铃型植硅体大小,根*Lsi1*、*Lsi2*都显著增加,而与单一15 mg·L⁻¹ SiO₂处理相比,叶、茎、根PLSA,叶哑铃型植硅体大小,根*Lsi1*、*Lsi2*都显著减少,说明根*Lsi1*、*Lsi2*和叶植硅体形态都可能调控水稻植硅体固钼能力,同时也说明15 mg·L⁻¹ SiO₂能缓解300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)的抑制作用。(4)300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)+210 mg·L⁻¹ SiO₂组与单一300 mg·L⁻¹ La(Ⅲ)处理相比,叶、茎、根PLSA,叶哑铃型植硅体大小和根*Lsi2*都显著增加,而与单一210 mg·L⁻¹ SiO₂处理相比,根PLSA和*Lsi2*仍然显著增加,说明*Lsi2*可能是影响根植硅体固钼能力的重要因素。原因可能是由于高浓度Si和高浓度La(Ⅲ)的复合胁迫会使根部外皮层和内皮层的细胞内流硅酸受到抑制,减少水稻从外部吸收硅,同时通过增加同一细胞的外流作用^[33],促使Si从细胞中更多地流向质外体,进而提升

了根植硅体固钼能力。

文献显示^[34],*Lsi1*和*Lsi2*表达主要负责了不同基因型水稻幼芽和根部的硅吸收。本研究发现,水稻根部*Lsi1*和*Lsi2*表达量分别与茎、叶PLSA之间呈现显著正相关,而与根PLSA之间相关性较差(图6),表明根*Lsi1*和*Lsi2*表达水平是决定水稻叶、茎植硅体固钼能力的关键因素。水稻根有高度发达的通气组织,在外皮层和内皮层之间没有皮质细胞^[35],较难将近端*Lsi2*载体排出的硅酸在质外体中聚合形成植硅体。受本课题组植硅体提取技术的限制,根植硅体提取的数量稀少^[18],增加了统计误差。因此,根在硅吸收系统中的独特作用可能是导致本研究根PLSA-*Lsi1*、*Lsi2*有较差相关性的主要原因。根PLSA与*Lsi1*和*Lsi2*的真实相关性有待今后通过改进植硅体提取技术进行验证。

4 结论

(1)外源La(Ⅲ)应用能够提升水稻叶、茎、根植硅体与钼复合结构的稳定性,增加植硅体固钼效率。低浓度La(Ⅲ)可以使叶哑铃型植硅体大小和根*Lsi1*表达水平增加,促进叶和根PLSA。而过高浓度La(Ⅲ)则会使叶哑铃型植硅体大小、根*Lsi1*、*Lsi2*和叶、茎、根PLSA受到抑制。

(2)低浓度La(Ⅲ)和Si复合处理能提升叶和茎PLSA,根*Lsi1*是影响叶植硅体固钼能力的重要因素。外源Si能够缓解高浓度La(Ⅲ)对叶、茎和根PLSA的抑制作用,根*Lsi2*是影响根PLSA的重要因素。

参考文献:

- [1] Song Z, Liu H, Si Y, et al. The production of phytoliths in China's grasslands: Implications to the biogeochemical sequestration of atmospheric CO₂[J]. *Global Change Biology*, 2012, 18(12):3647-3653.
- [2] Carter J A. Atmospheric carbon isotope signatures in phytolith-occluded carbon[J]. *Quaternary International*, 2009, 193(1):20-29.
- [3] Zuo X X, Lü H Y, Gu Z Y. Distribution of soil phytolith-occluded carbon in the Chinese Loess Plateau and its implications for silica-carbon cycles[J]. *Plant & Soil*, 2014, 374(1/2):223-232.
- [4] Epstein E. Silicon[J]. *Annual Review of Plant Physiology & Plant Molecular Biology*, 1999, 50:641-664.
- [5] Ma J F, Takahashi E. Soil, fertilizer and plant silicon research in Japan [M]. Holland:Elsevier Science, 2002.
- [6] Ma J F. Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses[J]. *Soil Science & Plant Nutrition*, 2004, 50(1):11-18.
- [7] Richmond K E, Sussman M. Got silicon? The non-essential beneficial plant nutrient[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2003, 6(3):268-

- 272.
- [8] Takahashi E, Ma J F, Miyake Y. The possibility of silicon as an essential element for higher plants[J]. *Comments Agricultural Food Chemistry*, 1990, 2(2):99–122.
- [9] Hu Z, Haneklaus S, Sparovek G, et al. Rare earth elements in soils[J]. *Communications in Soil Science & Plant Analysis*, 2006, 37(9/10):1381–1420.
- [10] EPA/600/R-12/572. Rare earth elements: A review of production, processing, recycling, and associated environmental issues[J]. *Office of Research & Development*, 2012, EPA/600/R-12/572.
- [11] Hu Z Y, Richter H, Sparovek G, et al. Physiological and biochemical effects of rare earth elements on plants and their agricultural significance: A review[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2004, 27(1):183–220.
- [12] Wang L, Li J, Zhou Q, et al. Rare earth elements activate endocytosis in plant cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(35):12936–12941.
- [13] Huang X, Zhou Q. Alleviation effect of lanthanum on cadmium stress in seedling hydroponic culture of kidney bean and corn[J]. *Journal of Rare Earths*, 2006, 24(2):248–252.
- [14] Wang L, Cheng M, Chu Y, et al. Responses of plant calmodulin to endocytosis induced by rare earth elements[J]. *Chemosphere*, 2016, 154:408–415.
- [15] Tamai K, Ma J F. Reexamination of silicon effects on rice growth and production under field conditions using a low silicon mutant[J]. *Plant & Soil*, 2008, 307(1/2):21–27.
- [16] Ma J F, Tamai K, Yamaji N, et al. A silicon transporter in rice[J]. *Nature*, 2006, 440(7084):688–691.
- [17] Ma J F, Yamaji N, Mitani N, et al. An efflux transporter of silicon in rice[J]. *Nature*, 2007, 448(7150), 209–212.
- [18] Si Y, Wang L H, Zhou Q, et al. Effects of lanthanum and silicon stress on bio-sequestration of lanthanum in phytoliths in rice seedlings[J]. *Environmental Science & Pollution Research*, 2018, 25(11):10752–10770.
- [19] Biasioli M, Fabietti G, Barberis R, et al. An appraisal of soil diffuse contamination in an industrial district in Northern Italy[J]. *Chemosphere*, 2012, 88(10):1241–1249.
- [20] Sommer M, Kaczorek D, Kuzyakov Y, et al. Silicon pools and fluxes in soils and landscapes: A review[J]. *Journal of Plant Nutrition & Soil Science*, 2006, 169:310–329.
- [21] Parr J F, Dolic V, Lancaster G, et al. A microwave digestion method for the extraction of phytoliths from herbarium specimens[J]. *Review of Palaeobotany & Palynology*, 2001, 116(3/4):203–212.
- [22] Walkley A, Black I A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method[J]. *Soil Science*, 1934, 37(1):29–38.
- [23] Lu H, Zhang J, Wu N, et al. Phytoliths analysis for the discrimination of foxtail millet (*Setaria italica*) and common millet (*Panicum miliaceum*) [J]. *PLoS One*, 2009, 4(2):e4448.
- [24] Meunier J D, Colin F, Alarcon C. Biogenic silica storage in soils[J]. *Geology*, 1999, 27(9):835–838.
- [25] Mortlock R A, Froelich P N. A simple method for the rapid determination of biogenic opal in pelagic marine sediments[J]. *Deep Sea Research Part A Oceanographic Research Papers*, 1989, 36(9):1415–1426.
- [26] Li Z M, Song Z L, Cornelis J T. Impact of rice cultivar and organ on elemental composition of phytoliths and the release of bio-available silicon[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2014, 5:529.
- [27] Kameník J, Mizera J, Řanda Z. Chemical composition of plant silica phytoliths[J]. *Environmental Chemistry Letters*, 2013, 11(2):189–195.
- [28] Marschner H. Mineral nutrition in higher plants (Second Edition) [M]. *Journal of Ecology*, 1995, 76(4):1250.
- [29] Nguyen N M, Dultz S, Guggenberger G. Effects of pretreatment and solution chemistry on solubility of rice-straw phytoliths[J]. *Journal of Plant Nutrition & Soil Science*, 2014, 17(3):349–359.
- [30] Williams R J P. Introduction to silicon chemistry and biochemistry [M]//Evered D, O'Connor M, eds. Silicon biochemistry, Ciba Foundation Symposium 121, John Wiley & Sons, Chichester, 1986:24–39.
- [31] Fraysse F, Pokrovsky O S, Schott J, et al. Surface chemistry and reactivity of plant phytoliths in aqueous solutions[J]. *Chemical Geology*, 2009, 258(3/4):197–206.
- [32] Hu H, Wang L, Li Y, et al. Insight into mechanism of lanthanum (Ⅲ) induced damage to plant photosynthesis[J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2016, 127:43–50.
- [33] Ma J F, Yamaji N. Functions and transport of silicon in plants[J]. *Cellular & Molecular Life Sciences Cmls*, 2008, 65(19):3049–3057.
- [34] Ma J F, Yamaji N, Tamai K, et al. Genotypic difference in Si uptake and expression of Si transporter genes in rice[J]. *Plant Physiology*, 2007, 145(3):919–924.
- [35] Kawai M, Samarajeewa P K, Barrero R A, et al. Cellular dissection of the degradation pattern of cortical cell death during aerenchyma formation of rice roots[J]. *Planta*, 1998, 204(3):277–287.