

单质硫抑制水稻植株甲基汞累积的效应与机制

黄英梅^{1,2,3}, 钟松雄^{3#}, 朱忆雯³, 王向琴³, 李芳柏^{3*}

1. 中国科学院广州地球化学研究所, 广东 广州 510640; 2. 中国科学院大学, 北京 100049;
3. 广东省科学院生态环境与土壤研究所/广东省农业环境综合治理重点实验室, 广东 广州 510650

摘要: 重金属元素汞, 尤其甲基汞, 极易从土壤中转运到水稻植株中, 并通过食物链对人类健康构成严重威胁。单质硫被广泛用于降低水稻籽粒中甲基汞的累积, 然而其对水稻生长性状的影响、对甲基汞的吸收和转运的调控机制尚不明确。采用水稻盆栽试验, 设置了对照组(汞污染土采自贵州省铜仁市万山汞矿, 总汞质量分数为 40.3 mg·kg⁻¹)和单质硫修复组(添加量为 100 mg·kg⁻¹), 比较了两组土壤和硫代硫酸铵提取态甲基汞水平、土壤理化性质(包括氧化还原电位、酸碱度、溶解性有机碳、硫酸根)、土壤汞转化基因(*dsrA* 和 *dsrB*)丰度, 以及水稻的生长状况、叶片叶绿素水平、不同组织甲基汞的质量分数和分配。结果表明, 单质硫处理显著促进水稻的生长, 提高叶片叶绿素的合成(增加了 27.4%); 增加了水稻根和茎中甲基汞的累积, 降低了根、茎和叶到籽粒的转运, 最终降低了水稻籽粒中甲基汞的累积和质量分数(减少了 14.7%)。同时, 单质硫显著提高了土壤中硫酸根的水平(增加了 124%), 刺激了硫酸盐还原菌活性, 其可能在参与汞甲基化过程的同时参与了厌氧环境下甲基汞的降解, 从而显著降低了土壤甲基汞的水平(减少了 11.6%)。水稻籽粒和整株水稻中的甲基汞质量分数与土壤硫代硫酸铵提取态甲基汞质量分数呈显著正相关($P < 0.01$), 而土壤溶解性有机碳和硫酸根的质量分数与土壤硫代硫酸铵提取态甲基汞质量分数呈显著负相关($P < 0.01$)。该研究证明了单质硫在土壤-水稻体系中抵御重金属胁迫的重要作用, 为制定降低汞污染以及实现稻米减毒脱毒的措施提供了理论基础和现实依据。

关键词: 硫; 甲基汞; 硫酸盐还原菌; 汞积累; 水稻

DOI: 10.16258/j.cnki.1674-5906.2023.06.013

中图分类号: X171.5; X53

文献标志码: A

文章编号: 1674-5906(2023)06-1115-08

引用格式: 黄英梅, 钟松雄, 朱忆雯, 王向琴, 李芳柏, 2023. 单质硫抑制水稻植株甲基汞累积的效应与机制[J]. 生态环境学报, 32(6): 1115-1122.

HUANG Yingmei, ZHONG Songxiong, ZHU Yiwen, WANG Xiangqian, LI Fangbai, 2023. Effects and mechanism of element sulfur inhibiting methylmercury accumulation in rice plants [J]. Ecology and Environmental Sciences, 32(6): 1115-1122.

汞 (mercury, Hg) 是一类毒性很强的重金属污染物, 人类活动包括化石燃料的燃烧、有色金属的冶炼、烧碱的制造、汞矿的干馏和水泥工业是土壤中汞污染的主要来源 (Feng et al., 2008a; Wang et al., 2012; Natasha et al., 2020; Liu et al., 2022)。最新全国土壤质量调查结果显示, 大约 1.6% 的农用地土壤汞超过了 II 类标准 (总汞 (total Hg, THg) 质量分数为 0.3–1.0 mg·kg⁻¹, 因此我国土壤汞污染问题十分严峻 (Zhao et al., 2015a)。研究发现, 在淹水的稻田土壤中, 在包含 *hgcAB* 的微生物群落, 如硫酸盐还原菌 (sulfate-reducing bacteria, SRB)、铁还原菌 (iron-reducing bacteria, FeRB) 和产甲烷菌的驱动下, 无机汞可转化为甲基汞

(methylmercury, MeHg) (Gilmour et al., 2013; Parks Jerry et al., 2013; Liu et al., 2014)。甲基汞是一种神经毒素, 可以积累在水稻籽粒中并通过水稻摄取威胁人类的健康 (Feng et al., 2008b), 例如 1956 年日本发生的水俣病和 1971 年伊拉克因食用受甲基汞污染的小麦导致的甲基汞中毒等可怕的历史性甲基汞污染事件 (Man et al., 2021)。受甲基汞污染的水稻植株不仅存在于汞矿区, 也存在于化工厂、燃煤电厂、冶炼厂和氯碱厂附近的稻田中 (Zhao et al., 2020)。在中国, 汞污染地区的当地居民日常暴露甲基汞的来源中, 水稻摄取这一途径占 94%–96% (Zhang et al., 2010), 并且由于农作物全球化, 远离汞污染地区的居民也会由于水稻摄取暴露于

基金项目: 国家自然科学基金项目 (42030702; 42207052); 区域联合基金-青年基金项目 (2021A1515110574)

作者简介: 黄英梅 (1994 年生), 女, 博士研究生, 研究方向为土壤-水稻体系汞的迁移转运机制及修复。E-mail: huangyingmei3691@gmail.com

#共同第一作者: 钟松雄 (1990 年生), 男, 博士, 研究方向为土壤-水稻系统镉铁锌同位素分馏特征与迁移转运机制。E-mail: sxzhong@soil.gd.cn

***通讯作者:** 李芳柏 (1968 年生), 男, 研究员, 博士, 研究方向为红壤铁循环与农田重(类)金属污染防治。E-mail: cefbli@soil.gd.cn

收稿日期: 2023-03-16

甲基汞的风险下(Liu et al., 2019)。据报道,在贵州省万山汞矿区,水稻甲基汞质量分数均值高达 $140 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Horvat et al., 2003),即使在废弃的汞矿附近,水稻中可食用部分甲基汞质量分数均值也高于 $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Qiu et al., 2008)。因此,探明稻田土壤-水稻体系中甲基汞的吸收转运机制,可为稻田土壤汞污染定向控制提供理论依据。

硫(Sulfur)是一种重要的营养元素,有益于植物的生长发育(Yuan et al., 2021)。植物硫不足时也会影响叶绿素的生成和蛋白质的合成,导致作物产量和品质的降低(Singh et al., 2011; Yuan et al., 2021)。研究发现,单质硫可以有效缓解稻田土壤汞污染(Li et al., 2017; Yuan et al., 2021),同时还可以降低水稻中总汞和甲基汞的累积(Rothenberg et al., 2016)。硫可以提高水稻根系中植物螯合肽(phytochelatins, PCs)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)、金属硫蛋白(metallothioneins, MTs)和非蛋白类硫醇(nonprotein thiols, NPTs)等硫醇分子的合成(Li et al., 2017),这些硫醇分子对重金属有很高的亲和力,可以抑制重金属向水稻地上部的转运(Li et al., 2017)。与硫的其他形态相比,单质硫(elemental sulfur, S(0))具有更高的效率、更缓慢的释放速度以及更低廉的价格,因此单质硫在农业生产中经常被用作肥料来解决硫不足的问题(Zhao et al., 2015b; Mattiello et al., 2017)。另一方面,在新汞沉积的汞污染土壤中添加单质硫不仅可以通过促进Hg(II)-硫醇复合物(RS-Hg-SR)向硫化汞(HgS)的转化,降低汞在根际土中的移动性(Li et al., 2017),还可以促进水稻根表铁膜的形成,有助于降低总汞和甲基汞在水稻籽粒的累积(Hu et al., 2007; Li et al., 2017)。然而,在以HgS为主要形态的汞污染土壤中添加单质硫,则会增加水稻中甲基汞的累积,并通过促进HgS向有机结合态的汞(如Hg(GS)₂)或氯化汞(HgCl₂)增加汞的移动性(Li et al., 2019),这种不一致的情况可能是土壤类型不同所致。

然而,当前的研究主要集中在单质硫降低水稻甲基汞累积效应方面,缺乏单质硫对甲基汞在土壤-水稻体系中迁移转运机制影响的研究。据此,本研究通过土壤盆栽实验,研究了单质硫($100 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)对汞污染土壤甲基汞质量分数、水稻植株的生长以及甲基汞吸收转运的影响,进一步阐明了单质硫对土壤-水稻体系抵御重金属胁迫的关键作用,有助于制定稻田汞污染修复策略。

1 材料和方法

1.1 供试土壤和水稻

盆栽试验用土为贵州省贵阳市万山汞矿周边

汞污染稻田表层土壤($27^{\circ}32'57.52''\text{N}$, $109^{\circ}12'47.38''\text{E}$)。土壤的总汞和甲基汞的质量分数分别为 $(40.3\pm 0.950) \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $(7.35\pm 1.48) \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。土壤酸碱度(pH)、阳离子交换力(cation exchange capacity, CEC)、总碳、有机质和总硫分别为 (7.33 ± 0.20) 、 $(26.0\pm 0.10) \text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $2.82\%\pm 0.02\%$ 、 $(31.5\pm 2.40) \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $(1.62\pm 0.01) \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。供试水稻品种为日本晴(Nipponbare, *Oryza sativa* L. japonica)。

1.2 盆栽试验与样品采集

土壤经自然风干、去除杂物、碾碎并过 0.85mm 筛网,后用于盆栽试验。在先前的研究中,为了探究汞污染土壤中添加单质硫对水稻汞的累积和分配的影响,设置了 0 、 50 、 100 、 $500 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 单质硫处理组进行探究。研究发现,低剂量的硫处理可以同时降低水稻中总汞和甲基汞的累积,同时发现, $100 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 单质硫处理比 $50 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 单质硫处理下水稻根部总汞和甲基汞质量分数下降更明显(Li et al., 2017)。前期研究发现,单质硫处理可能有利于水稻根部对汞的固定,因此,以 $100 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 为单质硫的处理浓度。本研究共设计对照(Control)和单质硫(Sulfur, $100 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 2个处理组,每个处理设置3个重复。每盆装 7kg 土壤,将单质硫与土壤混匀,淹水自然老化1周后每盆栽种4株水稻苗,整个生育期保持 3cm 深上覆水。在水稻成熟期(第105天),采集整株水稻,并将水稻植株分为根、茎、叶、籽粒,同时收集水稻根际土壤样品,并将其分成两份,一份快速冷冻于 -80°C 超低温冰箱保存以备微生物分析,另一份与植物样品一起进行冷冻干燥(-78°C , 10Pa)(Alpha 2-4 LD plus, Christ, Germany)。随后,对土壤样品进行研磨,对干燥后的植物样品进行称质量、粉碎后过 0.075mm 筛网,转入自封袋中备用。

1.3 生长参数和理化指标分析

使用便携式多参数数字分析仪(HQ40d; Hach, Loveland, Colorado, USA)原位测定土壤Eh和pH,使用刻度尺测量水稻株高,使用便携式叶绿素荧光分析仪(SPAD-502 Plus CHLOROPHYLL METER)(Konica Minolta (China) Investment Co., Ltd., Shanghai)测量水稻第1叶的相对叶绿素水平。使用离子色谱检测 SO_4^{2-} (ICS-600, Thermo Fisher, USA)(Ontiveros-Valencia et al., 2012; Shu et al., 2016);使用总有机碳分析仪(Shimadzu, Japan)检测土壤中溶解性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)(Chen et al., 2018; Zhang et al., 2023);使用 $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_3$ 试剂($0.0135 \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, Sigma-Aldrich, USA)提取土壤中生物可利用的

MeHg (Zhu et al., 2015), 并分别利用 $\text{CuSO}_4\text{-methanol}$ 试剂和 KOH 溶剂提取土壤和植物样品中的 MeHg (Man et al., 2021), 随后将提取液中的 MeHg 经过二氯甲烷萃取、超纯水反萃取、乙基化、捕集后, 利用气相色谱冷蒸汽原子荧光 (GC-CVAFS, Brooks Rand model III, Seattle, USA) 进行测量 (USEPA, 1998)。为进行质量控制, 加入标准物质 CC580 (河口沉积物) 和 TORT-3 (龙虾肝胰腺) 与土壤和植物样品同时进行提取, MeHg 回收率分别为 103%–131% 和 117%–129% ($n=3$)。重复样品的数据标准差 (standard deviation, SD) 在 7% 范围内, 分析空白中 MeHg 质量浓度低于 1.55 ng L^{-1} 。

MeHg 生物富集因子 B :

$$B = w_{(\text{rice})} / w_{(\text{soil})} \quad (1)$$

式中:

$w_{(\text{rice})}$ ——水稻 MeHg 平均质量分数;

$w_{(\text{soil})}$ ——土壤 MeHg 质量分数 (Pandey et al., 2016; Shu et al., 2016; Buscaroli, 2017)。

MeHg 转运系数 T :

$$T = w_{(\text{stem/leaf/grain})} / w_{(\text{root/stem/leaf})} \quad (2)$$

式中:

$w_{(\text{stem/leaf/grain})}$ ——水稻茎/叶/籽粒中 MeHg 质量分数;

$w_{(\text{root/stem/leaf})}$ ——水稻根/茎/叶中 MeHg 质量分数 (Man et al., 2021)。

1.4 土壤微生物 DNA 的提取和功能基因的定量检测

准确称量 0.25 g 冷冻的土壤样品, 用 DNeasy PowerSoil Pro Kit (QIAGEN Inc., USA) 进行土壤微生物 DNA 的提取, 随后对编码异化亚硫酸盐还原酶 (*dsr*, dissimilatory sulfite reductase) *dsrA*、*dsrB* 基因进行绝对定量 (Dranguet et al., 2017; Zhou et al., 2020)。实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 反应体系为 25 μL , 2 种基因引物 (表 1) 和 qRT-PCR 反应条件参考先前报道 (Zhou et al., 2020), 使用 CFX 384 real-Time PCR Detection System (BioRad, USA) 进行扩增反应, 根据浓度和阈值形成标准曲线, 扩增效率为 90%–115%。

表 1 实时荧光定量 PCR 所用引物序列与扩增条件

Table 1 Lists of primer pairs and thermal cycling parameters for qRT-PCR

功能基因	引物名称	引物序列 (5'-3')	扩增程序
<i>dsrA</i>	DSR1F	ACSCACTGGAAGCACG	95 °C 40 s; 94 °C 60 s, 56 °C 40 s, 72 °C 2 min, 40 cycles; 72 °C 4 min
	DSR1R	GTGTAGCAGTTACCGCA	
<i>dsrB</i>	DSRp2060F	CAACATCGTYCAYACCCAGGG	95 °C 30 s; 95 °C 5 s, 55 °C 34 s, 72 °C 34 s, 40 cycles; 72 °C 4 min
	DSR4R	GTGTAGCAGTTACCGCA	

1.5 统计分析

根据 3 个生物学重复计算数据的平均值和标准差, 采用 SPSS 18.0 统计软件进行单因素方差分析和 t 检验分析比较每个参数在各个处理间差异显著性, 使用 SigmaPlot 14.0 软件 (Systat Software, Inc.) 对试验结果进行绘图。

2 结果与讨论

2.1 单质硫对土壤和 $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_3$ 提取态中甲基汞 (MeHg) 质量分数的影响

由图 1 可知, 对照土壤中 MeHg 质量分数为 $8.21 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 添加单质硫处理后, 土壤中 MeHg 质量分数显著下降 11.6% ($P<0.01$)。先前的研究发现, 土壤中单质硫可以被还原为硫化物 S^{2-} , 其可以与 Hg 结合形成稳定的、不溶的 HgS , 难以被微生物利用, 抑制汞的甲基化过程, 导致 MeHg 质量分数的下降 (Li et al., 2017)。 $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_3$ 提取态 MeHg 水平可以指示稻田土壤中可被植物吸收利用的 MeHg 的水平 (Shu et al., 2016)。如图 1

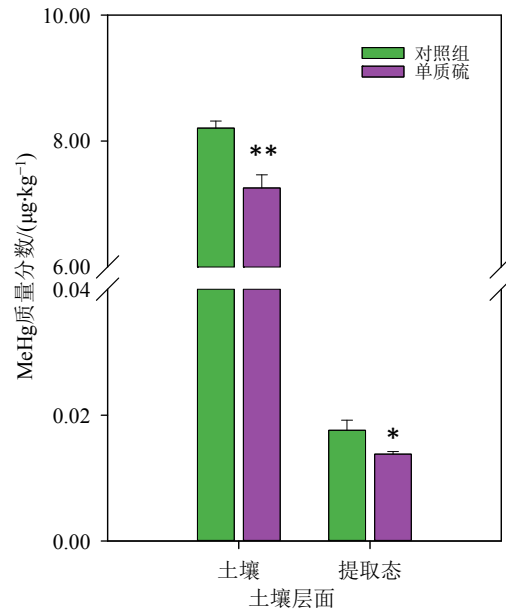


图 1 对照和单质硫 ($100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 处理组土壤和 $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_3$ 提取态甲基汞质量分数

Figure 1 MeHg contents in soils and $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_3$ extract in control and S(0) ($100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) treatments

所示, 对照土壤中 $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_3$ 提取态 MeHg 质量分数为 $0.0176 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 单质硫处理组土壤中 $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_3$ 提取态 MeHg 质量分数降低至 $0.0138 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 显著下降了 21.8% ($P<0.05$)。这表明单质硫可以显著降低土壤中和可被植物所利用的 MeHg 质量分数, 从而降低土壤中 MeHg 被水稻吸收的几率。

2.2 单质硫对土壤性质的影响

施加单质硫, 对土壤理化性质有显著影响。相比对照组, 单质硫处理组中土壤 Eh、pH 均下降(图 2a、b), 而 DOC 质量分数显著提高 10.0% ($P<0.01$) (图 2c)。DOC 质量分数的提高与硫的氧化还原有关, 该过程抑制 DOC 的还原降解 (Wang et al., 2020)。对照土壤中 SO_4^{2-} 质量分数为 $27.0 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 单质硫处理组土壤 SO_4^{2-} 的质量分数显著提高到 $60.3 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (提高 124%, $P<0.01$) (图 2d)。此外, qRT-PCR 结果显示, 单质硫处理组中 *dsrA* 和 *dsrB* 基因拷贝数相比于对照组分别提高 80.8% ($P<0.01$) 和 28.1% ($P<0.05$) (图 2e)。*dsrA* 和 *dsrB* 基因编码异化亚硫酸盐还原酶, 它可以在硫酸盐还原过程中催化亚硫酸盐转化为硫化物, 因此可作为硫酸盐还原菌的标志 (Gao et al., 2022)。硫酸盐还原菌具有双重效应, 即在甲基汞的产生和去甲基化过程中起重要作用 (Zhou et al., 2020)。具体而言, 一方面, 淹水稻田土壤形成的厌氧环境有利于硫酸盐还原菌、铁还原菌、产甲烷菌等包含 *hgcAB* 的微生物群落驱动无机汞的甲基化过程 (Gilmour et al., 2013; Parks Jerry et al., 2013; Liu et al., 2014), 导致水稻中 MeHg 的大量累积 (Zhang et al., 2010), 另一方面, 稻田土壤中也同时发生 MeHg 的去甲基化过程 (Zhou et al., 2020), 在相对较低的 Hg 浓度下, 硫酸盐还原菌、产甲烷菌和好氧甲烷氧化菌驱动了氧化去甲基化过程

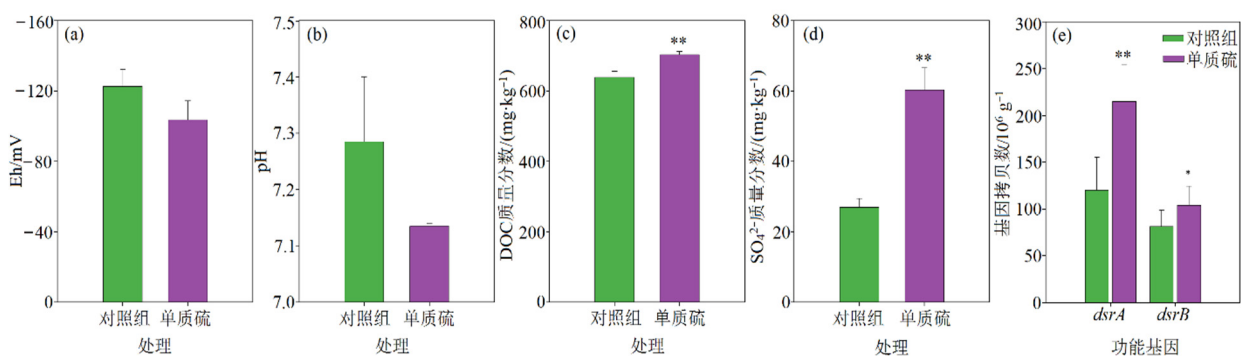
(Oremland Ronald et al., 1991; Kronberg et al., 2018)。因此, 结果表明单质硫处理提高了土壤中 SO_4^{2-} 的质量分数, 刺激了硫酸盐还原菌的活性, 而硫酸盐还原菌可能在参与汞甲基化过程的同时, 参与了去甲基化过程, 在一定程度上促进了 MeHg 的降解, 进而影响土壤中 MeHg 质量分数, 但具体的机制需要进一步研究。

2.3 单质硫对水稻植株生长的影响

与对照相比, 单质硫处理组中水稻株高显著增加 ($P<0.05$) (图 3a), 水稻根、茎、叶和籽粒的生物量分别提高 26.8%、64.7% ($P<0.01$)、40.0% 和 40.4% ($P<0.01$) (图 3b)。相似地, 有研究发现, 在汞污染的水培液中添加单质硫 ($100 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 可以提高水稻植株的株高、根长和鲜物质质量 (Huang et al., 2024), 并且发现添加硫也能改善汞胁迫下生菜和欧洲油菜的生长 (Najafi et al., 2020; Yuan et al., 2021)。与对照相比, 单质硫处理组中水稻叶片的相对叶绿素水平 (SPAD) 显著提高 27.4% ($P<0.01$) (图 3c), 表明汞胁迫下添加单质硫可以促进水稻植株的光合作用能力, 促进植株的生长。亦有研究发现, 植物缺硫会导致水稻光合作用器官合成叶绿素的水平急剧下降 (Lunde et al., 2008), 这进一步证实单质硫在汞污染稻田土壤-水稻体系中具有促进水稻生长的作用。

2.4 单质硫对植株中甲基汞质量分数的影响

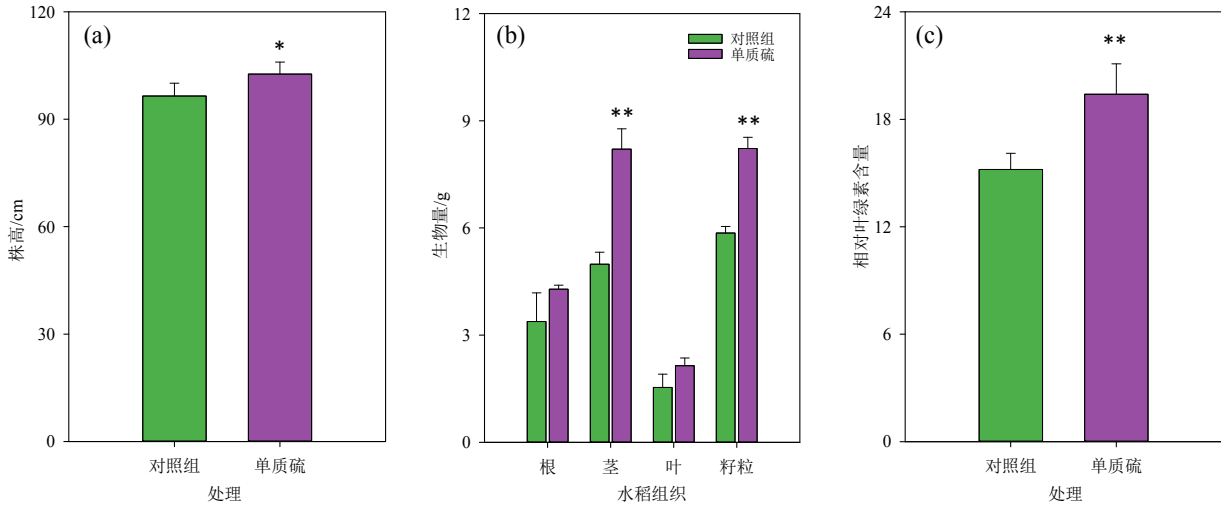
对照组中整株水稻和籽粒中 MeHg 质量分数分别为 $16.9 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $39.2 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 而单质硫处理组中整株水稻和籽粒中 MeHg 质量分数分别下降至 $13.9 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $33.5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 下降率为 17.8% ($P<0.01$) 和 14.7% ($P<0.05$) (图 4a)。与对照组相比, 单质硫处理组中水稻叶片和茎的 MeHg 质量分数分别下降 8.05% 和 6.05%, 而根部 MeHg 质量分数增加了 16.9% (图 4a)。此外, 对照组中水稻



(a) 氧化还原电位; (b) 酸碱度; (c) 溶解性有机碳质量分数; (d) 硫酸根质量分数; (e) 功能基因 (*dsrA* 和 *dsrB*) 拷贝数

图2 对照和单质硫 ($100 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 处理组土壤理化性质和功能基因拷贝数的检测

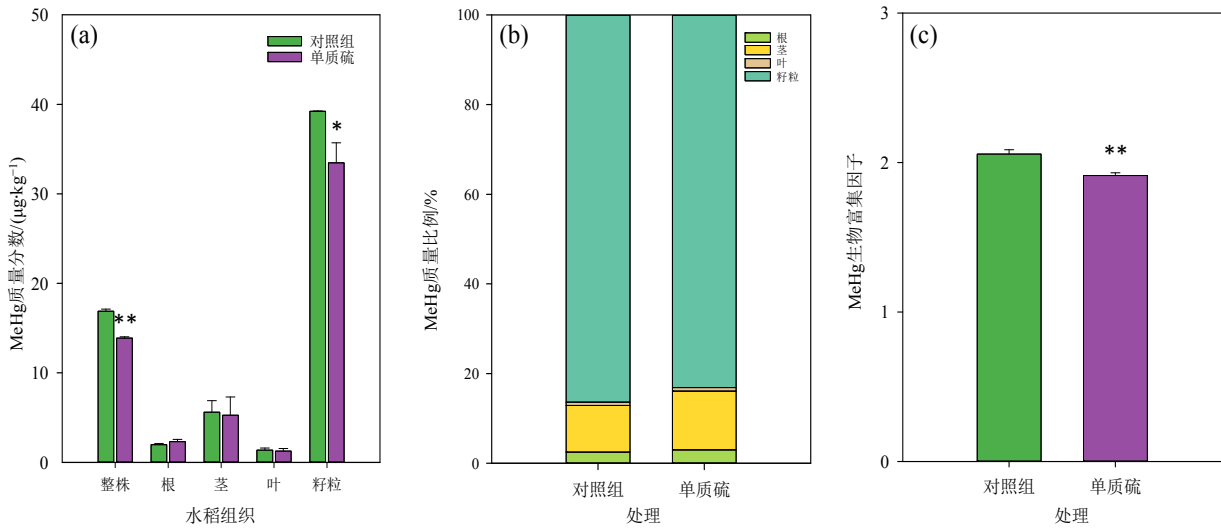
Figure 2 Determination of physicochemical properties and functional gene copies of soils in control and S(0) ($100 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) treatments



(a) 水稻株高；(b) 水稻不同组织的生物量(干质量)；(c) 水稻叶片相对叶绿素含量 (SPAD值)

图3 对照和单质硫 (100 mg·kg⁻¹) 处理组水稻生长指标的检测

Figure 3 Determination of rice growth parameters in control and S(0) (100 mg·kg⁻¹) treatments



(a) 水稻不同组织中甲基汞的质量分数；(b) 水稻不同组织中甲基汞质量的比例；(c) 甲基汞的生物富集因子

图4 对照和单质硫 (100 mg·kg⁻¹) 处理组水稻不同组织的甲基汞质量分数和分配及甲基汞的生物富集因子

Figure 4 The contents and distribution of MeHg in different tissues of rice plants and bioaccumulation factors of MeHg in control and S(0) (100 mg·kg⁻¹) treatments

籽粒中 MeHg 质量的比例为 86.4%，而单质硫处理组中水稻籽粒中 MeHg 质量的比例降低至 83.1%，但根和茎中 MeHg 质量的比例与对照组相比，分别提高了 20.9%和 25.7% (图 4b)，表明添加单质硫后降低了水稻籽粒中 MeHg 的分配，可能与单质硫提高了 MeHg 在水稻根部和茎部的分配有关。对照组中水稻植株 MeHg 的富集因子为 2.06，而单质硫处理组中水稻植株 MeHg 的富集因子显著下降至 1.91 ($P < 0.01$) (图 4c)，表明添加单质硫能抑制水稻从土壤中吸收 MeHg，可能与添加单质硫后土壤 MeHg 质量分数的降低有关 (Li et al., 2017)。

与对照组相比，单质硫处理降低了水稻根部到茎、叶片 MeHg 的转运 (表 2)，这可以用来解释添加单质硫后水稻叶片和茎中 MeHg 质量分数下降，而根部 MeHg 质量分数升高。此外，单质硫处理组中根、茎和叶到籽粒 MeHg 的转运系数下降，表明单质硫处理抑制了其他部位到水稻籽粒 MeHg 的转运，导致水稻籽粒 MeHg 质量分数下降 (图 4a)。

水稻籽粒中 MeHg 的生物积累被认为主要通过水稻根部从土壤中吸收 MeHg (Strickman et al., 2017)，MeHg 进入水稻根细胞后，可以与巯基结合形成甲基汞-半胱氨酸复合物 (MeHg-cysteine)，随

表2 对照和单质硫(100 mg·kg⁻¹)处理组水稻植株甲基汞的转运系数

Table 2 The translocation factor of MeHg of rice plants in control and S(0) (100 mg·kg⁻¹) treatments

处理	茎-根	叶-根	籽粒-根	叶-茎	籽粒-茎	籽粒-叶
对照组	2.83	0.696	19.8	0.246	7.00	28.5
单质硫	2.28	0.548	14.5	0.240	6.36	26.4

后以一种类似于营养物质的形式在植物体内被转运,并最终分配至水稻籽粒中累积(Tang et al., 2020)。本结果表明,单质硫处理组水稻籽粒 MeHg 累积的下降,可能与单质硫处理降低了土壤 MeHg 的质量分数、抑制了水稻植株从土壤中吸收 MeHg 和 MeHg 在水稻植株内的转运过程有关。

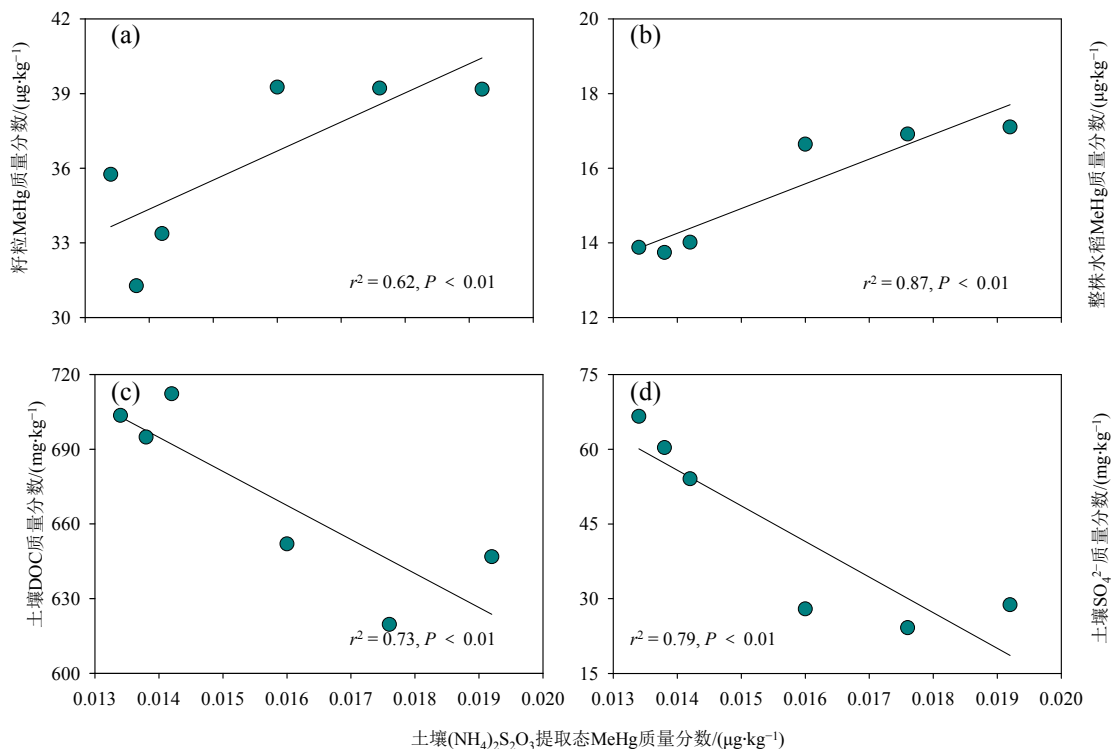
2.5 相关性分析

相关性分析表明,整株水稻 MeHg 质量分数、水稻籽粒中 MeHg 质量分数与土壤(NH₄)₂S₂O₃ 提取态 MeHg 质量分数之间均具有显著正相关关系(图 5a、b)。土壤(NH₄)₂S₂O₃ 提取态 MeHg 可被水稻直接吸收利用,其质量分数的降低可以导致水稻籽粒中 MeHg 质量分数的下降。同时,我们发现土壤中 DOC 质量分数、SO₄²⁻质量分数与土壤(NH₄)₂S₂O₃

提取态 MeHg 质量分数之间均具有显著负相关关系(图 5c、d)。在之前研究中发现,DOC 通过将二价汞还原成零价汞降低 Hg 的生物有效性,从而减少 MeHg 的产生(Tang et al., 2020),而在汞污染土壤中添加硫酸盐可以通过促进土壤中有机结合态(RS-Hg-SR)向残渣态(HgS)的转化,同时促进水稻根表铁膜的形成,降低水稻植株中 MeHg 的累积(Li et al., 2017)。

3 结论

在汞污染土壤中添加单质硫降低了土壤和(NH₄)₂S₂O₃ 提取态中 MeHg 的质量分数,刺激了硫酸盐还原菌的活性,其可能在参与汞甲基化过程的同时参与厌氧环境下去甲基化过程,在一定程度上促进了 MeHg 的降解。单质硫处理可以提高水稻光合作用能力,从而促进水稻植株的生长。此外,单质硫处理抑制了水稻植株从土壤中吸收 MeHg 的过程以及 MeHg 在水稻植株内的转运过程,尤其是其它部位到水稻籽粒的转运,从而导致水稻籽粒中 MeHg 累积的下降。本研究为降低汞污染地区水稻植株中 MeHg 的生物累积以及稻田 MeHg 污染修复提供了理论支持。



(a) 籽粒甲基汞质量分数, (b) 整株水稻甲基汞质量分数, (c) 土壤 DOC 质量分数, (d) 土壤 SO₄²⁻质量分数与土壤(NH₄)₂S₂O₃ 提取态甲基汞质量分数之间的相关性分析

图5 水稻甲基汞质量分数和土壤理化指标与土壤(NH₄)₂S₂O₃ 提取态甲基汞质量分数之间的相关性分析
Figure 5 Correlations analysis between MeHg contents in rice plants and physicochemical properties in soils and MeHg contents in (NH₄)₂S₂O₃ extract

参考文献:

- BUSCAROLI A, 2017. An overview of indexes to evaluate terrestrial plants for phytoremediation purposes (Review) [J]. *Ecological Indicators*, 82: 367-380.
- CHEN D D, LIU T X, LI X M, et al., 2018. Biological and chemical processes of microbially mediated nitrate-reducing Fe(II) oxidation by *Pseudogulbenkiania* sp. strain 2002 [J]. *Chemical Geology*, 476(4): 59-69.
- DRANGUET P, LE FAUCHEUR S, COSIO C, et al., 2017. Influence of chemical speciation and biofilm composition on mercury accumulation by freshwater biofilms [J]. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 19(1): 38-49.
- FENG X B, LI P, QIU G L, et al., 2008b. Human exposure to methylmercury through rice intake in mercury mining areas, Guizhou province, China [J]. *Environmental Science & Technology*, 42(1): 326-332.
- FENG X B, QIU G L, 2008a. Mercury pollution in Guizhou, southwestern China-An overview [J]. *Science of The Total Environment*, 400(1-3): 227-237.
- GAO H, WANG C, CHEN J, et al., 2022. Enhancement effects of decabromodiphenyl ether on microbial sulfate reduction in eutrophic lake sediments: A study on sulfate-reducing bacteria using *dsrA* and *dsrB* amplicon sequencing [J]. *Science of The Total Environment*, 843: 157073.
- GILMOUR C C, PODAR M, BULLOCK A L, et al., 2013. Mercury methylation by novel microorganisms from new environments [J]. *Environmental Science & Technology*, 47: 11810-11820.
- HORVAT M, NOLDE N, FAJON V, et al., 2003. Total mercury, methylmercury and selenium in mercury polluted areas in the province Guizhou, China [J]. *Science of The Total Environment*, 304(1-3): 231-256.
- HU Z Y, ZHU Y G, LI M, et al., 2007. Sulfur (S)-induced enhancement of iron plaque formation in the rhizosphere reduces arsenic accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings [J]. *Environmental Pollution*, 147(2): 387-393.
- HUANG Y M, YI J C, LI X M, et al., 2024. Transcriptomics and physiological analyses reveal that sulfur alleviates mercury toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 135: 10-25.
- KRONBERG R-M, SCHAEFER J K, BJÖRN E, et al., 2018. Mechanisms of methyl mercury net degradation in alder swamps: the role of methanogens and abiotic processes [J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 5(4): 220-225.
- LI Y Y, WANG Y J, ZHANG Q J, et al., 2019. Elemental sulfur amendment enhance methylmercury accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) grown in Hg mining polluted soil [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 379: 120701.
- LI Y Y, ZHAO J T, GUO J X, et al., 2017. Influence of sulfur on the accumulation of mercury in rice plant (*Oryza sativa* L.) growing in mercury contaminated soils [J]. *Chemosphere*, 182: 293-300.
- LIU M D, ZHANG Q R, CHENG M H, et al., 2019. Rice life cycle-based global mercury biotransport and human methylmercury exposure [J]. *Nature Communications*, 10(1): 5164.
- LIU Y R, YU R Q, ZHENG Y M, et al., 2014. Analysis of the microbial community structure by monitoring an Hg methylation gene (*hgcA*) in paddy soils along an Hg gradient [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(9): 2874-2879.
- LIU Z X, XU Z Y, XU L F, et al., 2022. Modified biochar: Synthesis and mechanism for removal of environmental heavy metals [J]. *Carbon Research*, 1(1): 8.
- LUNDE C, ZYGADLO A, SIMONSEN H T, et al., 2008. Sulfur starvation in rice: the effect on photosynthesis, carbohydrate metabolism, and oxidative stress protective pathways [J]. *Physiologia Plantarum*, 134(3): 508-521.
- MAN Y, WANG B, WANG J X, et al., 2021. Use of biochar to reduce mercury accumulation in *Oryza sativa* L.: A trial for sustainable management of historically polluted farmlands [J]. *Environment International*, 153: 106527.
- MATTIELLO E M, DA SILVA R C, DEGRYSE F, et al., 2017. Sulfur and zinc availability from co-granulated Zn-enriched elemental sulfur fertilizers [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(6): 1108-1115.
- NAJAFI S, RAZAVI S M, KHOSHKAM M, et al., 2020. Effects of green synthesis of sulfur nanoparticles from *Cinnamomum zeylanicum* barks on physiological and biochemical factors of Lettuce (*Lactuca sativa*) [J]. *Physiology Molecular Biology of Plants*, 26: 1055-1066.
- NATASHA, SHAHID M, KHALID S, et al., 2020. A critical review of mercury speciation, bioavailability, toxicity and detoxification in soil-plant environment: Ecotoxicology and health risk assessment [J]. *Science of The Total Environment*, 711: 134749.
- ONTIVEROS-VALENCIA A, ZIV-EL M, ZHAO H P, et al., 2012. Interactions between nitrate-reducing and sulfate-reducing bacteria coexisting in a hydrogen-fed biofilm [J]. *Environmental Science & Technology*, 46(20): 11289-11298.
- OREMLAND RONALD S, CULBERTSON CHARLES W, WINFREY MICHAEL R, 1991. Methylmercury decomposition in sediments and bacterial cultures: Involvement of methanogens and sulfate reducers in oxidative demethylation [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(1): 130-137.
- PANDEY S K, BHATTACHARYA T, CHAKRABORTY S, 2016. Metal phytoremediation potential of naturally growing plants on fly ash dumpsite of Patratu thermal power station, Jharkhand, India [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 18(1): 87-93.
- PARKS JERRY M, JOHS A, PODAR M, et al., 2013. The genetic basis for bacterial mercury methylation [J]. *Science*, 339(6125): 1332-1335.
- QIU G L, FENG X B, LI P, et al., 2008. Methylmercury accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) grown at abandoned mercury mines in Guizhou, China [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(7): 2465-2468.
- ROTHENBERG S E, ANDERS M, AJAMI N J, et al., 2016. Water management impacts rice methylmercury and the soil microbiome [J]. *Science of The Total Environment*, 572: 608-617.
- SHU R, WANG Y, ZHONG H, 2016. Biochar amendment reduced methylmercury accumulation in rice plants [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 313: 1-8.
- SINGH S P, SCHWAN A L, 2011. 4.20-Sulfur metabolism in plants and related biotechnologies [M]. *Comprehensive Biotechnology (Second Edition)*. Burlington: Academic Press: 257-271.
- STRICKMAN R J, MITCHELL C P J, 2017. Accumulation and translocation of methylmercury and inorganic mercury in *Oryza sativa*: An enriched isotope tracer study [J]. *Science of The Total Environment*, 574: 1415-1423.
- TANG Z Y, FAN F L, DENG S P, et al., 2020. Mercury in rice paddy fields and how does some agricultural activities affect the translocation and transformation of mercury-A critical review [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 202: 110950.
- USEPA 1998. Method 1630, Methyl Mercury in Water by Distillation, Aqueous Ethylation, Purge and Trap, and CVAFS [S]. Washington, DC: US Environmental Protection Agency.
- WANG G X, HU Z Y, LI S Y, et al., 2020. Sulfur controlled cadmium dissolution in pore water of cadmium-contaminated soil as affected by DOC under waterlogging [J]. *Chemosphere*, 240: 124846.

- WANG J X, FENG X B, ANDERSON C W, et al., 2012. Remediation of mercury contaminated sites-A review [J]. *Journal of Hazardous Material*, 221-222: 1-18.
- YUAN H Y, LIU Q Q, GUO Z, et al., 2021. Sulfur nanoparticles improved plant growth and reduced mercury toxicity via mitigating the oxidative stress in *Brassica napus* L [J]. *Journal of Cleaner Production*, 318(1): 128589.
- ZHANG H, FENG X B, LARSSSEN T, et al., 2010. In inland China, rice, rather than fish, is the major pathway for methylmercury exposure [J]. *Environmental Health Perspectives*, 118(9): 1183-1188.
- ZHANG Y F, WANG X Q, YANG Y, et al., 2023. Retention and transformation of exogenous Hg in acidic paddy soil under alternating anoxic and oxic conditions: Kinetic and mechanistic insights [J]. *Environmental Pollution*, 323: 121335.
- ZHAO C C, DEGRYSE F, GUPTA V, et al., 2015b. Elemental sulfur oxidation in Australian cropping soils [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 79(1): 89-96.
- ZHAO F J, MA Y B, ZHU Y G, et al., 2015a. Soil contamination in China: Current status and mitigation strategies [J]. *Environmental Science & Technology*, 49(2): 750-759.
- ZHAO L, MENG B, FENG X, 2020. Mercury methylation in rice paddy and accumulation in rice plant: A review [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 195: 110462.
- ZHOU X Q, HAO Y Y, GU B H, et al., 2020. Microbial communities associated with methylmercury degradation in paddy soils [J]. *Environmental Science & Technology*, 54(13): 7952-7960.
- ZHU D W, ZHONG H, ZENG Q L, et al., 2015. Prediction of methylmercury accumulation in rice grains by chemical extraction methods [J]. *Environmental Pollution*, 199: 1-9.

Effects and Mechanism of Element Sulfur Inhibiting Methylmercury Accumulation in Rice Plants

HUANG Yingmei^{1,2,3}, ZHONG Songxiong^{3#}, ZHU Yiwen³, WANG Xiangqian³, LI Fangbai^{3*}

1. Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, 510640, P. R. China;

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049, P. R. China;

3. Institute of Eco-environmental and Soil Sciences, Guangdong Academy of Sciences/

Guangdong Key Laboratory of Integrated Agro-environmental Pollution Control and Management, Guangzhou, 510650, P. R. China

Abstract: The heavy metal mercury (Hg), especially methylmercury (MeHg), is highly prone to transfer from soil to rice plants, posing a significant threat to human health through the food chain. Element sulfur (S(0)) is widely used to reduce the accumulation of MeHg in rice grains. However, the effects of S(0) on rice growth traits and the regulatory mechanism of MeHg uptake and translocation remain unclear. Therefore, this study conducted a rice pot experiment, including the control treatment (Hg-contaminated soil from the Wanshan Hg mine in Tongren City, Guizhou Province, with a total mercury (THg) content of 40.3 mg·kg⁻¹) and the S(0) treatment (added at a content of 100 mg·kg⁻¹). A comparison was made between the two treatments in terms of soil properties (including redox potential, pH, dissolved organic carbon, and sulfate), MeHg levels in the soil and (NH₄)₂S₂O₃ extract, abundance of soil Hg transformation genes (*dsrA* and *dsrB*), rice growth conditions, leaf chlorophyll level, MeHg content and distribution in different tissues of rice plants. The results showed that S(0) treatment significantly promoted rice growth and increased leaf chlorophyll synthesis (an increase of 27.4%). Furthermore, S(0) treatment increased the accumulation of MeHg in rice roots and stems, reduced its transportation from roots, stems, and leaves to grains, and ultimately decreased the accumulation and content of MeHg in rice grains (a decrease of 14.7%). On the other hand, S(0) significantly increased the level of sulfate in the soil (an increase of 124%), stimulated the activity of sulfate-reducing bacteria, which may participate in both the Hg methylation process and the degradation of MeHg in anaerobic environment, thereby significantly reducing the MeHg level in soils (a decrease of 11.6%). The MeHg contents in rice grains and whole plants showed a significant positive correlation with the MeHg content in (NH₄)₂S₂O₃ extract ($P < 0.01$), while the content of dissolved organic carbon and sulfate in the soil showed a significant negative correlation with the MeHg content in (NH₄)₂S₂O₃ extract ($P < 0.01$). Therefore, this study demonstrated the important role of S(0) in the soil-rice system in mitigating heavy metal stress and provided a theoretical basis and practical evidence for the development of measures to reduce Hg pollution and achieve rice attenuation and detoxification.

Keywords: sulfur; methylmercury; sulfate-reducing bacteria; Hg bioaccumulation; rice