



农业资源与环境学报

Journal of Agricultural Resources and Environment

ISSN 2095-6819, CN 12-1437/S

《农业资源与环境学报》网络首发论文

题目：水稻突变体 Osfc116 的镉高效积累与吸附特性及其对酶解产糖产醇的促进作用

作者：高冰, 余俊生, 魏锋, 王艳婷, 彭良才, 余华

网络首发日期：2025-09-25

引用格式：高冰, 余俊生, 魏锋, 王艳婷, 彭良才, 余华. 水稻突变体 Osfc116 的镉高效积累与吸附特性及其对酶解产糖产醇的促进作用[J/OL]. 农业资源与环境学报. <https://link.cnki.net/urlid/12.1437.S.20250925.1626.004>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

水稻突变体 *Osfc116* 的镉高效积累与吸附特性及其对酶解产糖产醇的促进作用

高冰¹, 余俊生¹, 魏锋², 王艳婷¹, 彭良才^{1,2}, 余华¹

(1. 湖北工业大学生命科学与健康工程学院, 武汉 430068; 2. 华中农业大学植物科学技术学院, 武汉 430070)

摘要: 重金属镉污染修复与农业生物质资源化协同利用是环境与能源领域的重要研究方向。传统植物修复存在重金属积累与生物质利用脱节的问题, 而调控植物生理特性实现“修复、转化、再利用”的闭环是突破关键。本研究以水稻突变体 *Osfc116* 为材料, 解析了镉胁迫下其镉积累、生物质转化及残渣吸附的协同机制。结果显示, 与野生型 (WT) 相比, *Osfc116* 积累镉的能力显著增强, 其幼苗及成熟秸秆镉含量分别较 WT 提高了 70.0% 和 25.9%, 这与细胞壁组分调控相关。具体机制在于: *Osfc116* 的细胞壁果胶含量较 WT 提升了 16.2%~33.4%, 伴随糖醛酸和去甲酯化半乳糖醛酸的沉积增强, 促使羧基与羟基等负电基团增多, 从而显著提升对 Cd^{2+} 的结合能力, 构成其高效镉积累的核心基础。同时, *Osfc116* 的木质纤维素结晶度 (CrI)、聚合度 (DP) 显著降低, 使生物质降解效率提高 49.1%, 乙醇产率也同步提升; 同时, 秸秆中约 88.9% 的 Cd^{2+} 可通过预处理及酶解过程释放并回收。此外, 利用 *Osfc116* 发酵后的残渣可高效吸附重金属 Cd^{2+} , 最大吸附量较 WT 提高了 31.0%, 这与残渣中活性基团及孔隙结构相关。因此, 本研究建立了“高效积累镉—生物质易降解—残渣高效吸附”的途径, 为重金属污染修复与农业生物质资源化的协同利用提供了理论依据和实践思路。

关键词: 水稻秸秆; 镉积累; 酶解; 生物乙醇; 生物吸附剂

Cadmium accumulation and adsorption of the rice mutant *Osfc116* enhancing saccharification and ethanol production

GAO Bing¹, YU Junsheng¹, WEI Feng², WANG Yanting¹, PENG Liangcai^{1,2}, YU Hua¹

(1. School of Life and Health Sciences, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China; 2. College of Plant Science & Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: The synergistic remediation of heavy metal pollution and the valorization of agricultural biomass represent a significant research direction in the environmental and energy fields. Traditional phytoremediation is often hampered by the decoupling of heavy metal accumulation from biomass utilization. A key breakthrough lies in modulating plant physiological traits to establish a closed-loop "remediation-conversion-reuse" system. In this study, we investigated the synergistic mechanisms of cadmium (Cd) accumulation, biomass conversion, and residue adsorption in the rice mutant *Osfc116* under Cd stress. Results showed that, compared to the wild type (WT), *Osfc116* possessed a significantly enhanced capacity for Cd accumulation, with Cd content in its seedlings and mature straw increasing by 70% and 25.9%, respectively. This enhancement was attributed to the modulation of cell wall components. Specifically, the pectin content in the cell walls of *Osfc116* was elevated by 16.2%–33.4% over WT. The enhanced deposition of uronic and de-esterified galacturonic acids increased the abundance of negatively charged groups (carboxyl, hydroxyl), which greatly strengthened Cd^{2+} binding and underpinned the high Cd accumulation capacity. Concurrently, the lignocellulose of *Osfc116* exhibited significantly lower crystallinity (CrI) and degree of polymerization (DP), which increased its biomass degradation efficiency by 49.1% and concurrently boosted ethanol yield. During this process, approximately 88.9% of the Cd^{2+} in the straw was released and recovered through pretreatment and enzymatic hydrolysis. Furthermore, the fermentation residue of *Osfc116* served as an effective biosorbent for heavy metal Cd^{2+} , with its maximum adsorption capacity showing a 31.0% increase over the WT residue, a feature linked to its abundant active functional groups and porous structure. Therefore, this study establishes an integrated efficient Cd accumulation, facile biomass degradation, and high-capacity residue adsorption pathway, providing a theoretical basis and practical strategy for the

synergistic utilization of phytoremediation and agricultural biomass valorization.

Keywords: rice straw; Cd accumulation; enzymatic hydrolysis; bioethanol; biosorbent

水稻作为我国重要的粮食作物，每年产生的秸秆总量超过 1×10^9 t，其秸秆是一种极具开发潜力的生物质资源。水稻秸秆的细胞壁主要由纤维素、半纤维素、木质素和果胶质等组成，形成复杂的三维网状结构，不仅维持细胞的形态和机械强度，还能抵御外界环境胁迫^[1,2]。然而，秸秆细胞壁的抗降解特性使其难以高效利用，传统处理方法往往需要消耗大量能量，增加了生物质转化的成本。已有研究表明，通过遗传改良调控细胞壁组分，可显著降低降解障碍，提高木质纤维素酶解效率和乙醇产量^[3]。

纤维素乙醇的生产过程主要包括生物质预处理、酶解糖化和乙醇发酵三个关键步骤。其中，预处理（物理、化学或生物法）可降低纤维素的结晶度（CrI）和聚合度（DP），减少非纤维素多糖和木质素对纤维素的物理屏障作用，并削弱木质素对纤维素酶的非特异性吸附，从而提高酶解效率^[4]。值得注意的是，乙醇发酵后的残渣富含羧基、羟基等活性基团，并具有丰富的孔隙结构，可作为高效、可再生的重金属吸附材料^[5]。

镉（Cd）是土壤重金属污染中毒性最强、迁移性最高且易生物积累的污染物之一，来源于采矿、工业废水排放及含镉产品加工等活动。其通过食物链进入人体后可造成肾脏、骨骼等器官损害。植物修复技术因其成本低、环境友好且适用于大面积污染治理的特点，被认为是重金属污染修复的有效手段之一^[6]。

本实验室前期研究发现，通过甲基磺酸乙酯（EMS）诱变获得的水稻突变体 *Osfcl16* 表现出显著的细胞壁结构变化，包括纤维素含量降低、机械强度减弱，以及木聚糖和木质素含量增加^[7-8]。进一步分析表明，该突变体的戊糖（木糖和阿拉伯糖）含量上升，而己糖（葡萄糖、甘露糖和半乳糖）在纤维素和非纤维素组分（如果胶和木聚糖）中均有所减少，提示 *Osfcl16* 可能在水稻细胞壁聚合物合成中具有广泛调控功能。基于此，本研究以 *Osfcl16* 为材料，探索一种既能高效去除和回收镉，又能实现木质纤维素资源化利用的绿色策略，以期在重金属污染修复与生物质能源开发之间建立协同增效的新途径^[9]。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究中所用到的水稻秸秆材料种植于华中农业大学实验基地，两种材料分别为野生型中花 11（WT）与突变体 *Osfcl16*。为了全面评估水稻的镉积累能力，本研究设置水稻幼苗和成熟秸秆两组实验。（1）水稻土培：在含 25 kg 土壤的盆中生长，实验组每千克土壤中添加 100 mg 的 CdCl_2 ，每个盆种植 4 株水稻，设置不含镉为对照组。收获成熟期的水稻，干燥后经粉碎机粉碎后过 40 目筛，50 °C 烘箱烘干至质量恒定后保存。（2）水稻水培：将发芽的水稻种子放入 96 孔板中正常水培生长 15 d，然后，在实验组中施加 $0.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CdCl_2 对照组只用蒸馏水培养，再培养 15 d，收获去掉根部的幼苗，粉碎、干燥后保存备用。

1.2 镉含量测定

将干燥的水稻秸秆样品（0.100 g）添加到瓷坩埚中，并转移到马弗炉中。将温度逐渐升高至 200 °C，持续 1 h，并在 600 °C 下放置 6~8 h。用 1.0% HNO_3 （V/V）溶解灰分，并洗涤 3 次，收集所有溶液至 25 mL 容量瓶中。使用原子吸收光谱仪（安捷伦 240Z-GFAA）测量镉含量。所有样品均以独立的三次重复进行测量。

1.3 细胞壁成分测定

如 Xu 等所述^[10]，植物细胞壁测定采用分步分离的方法，以提取可溶性糖、果胶、半纤维素和纤维素部分。对于纤维素测定，是将样品溶解在 67% H_2SO_4 （V/V）中，并通过蒽酮/ H_2SO_4 法计算己糖。冷水浴的条件下沿管壁缓慢加入 2.0 mL 0.20%（m/V）硫酸蒽酮试剂，快速摇匀。沸水中加热 5 min，冷却至室温，利用可见光分光光度计测定波长 620 nm 的吸光度，以测定纤维素。通过测定 $4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 上清液的总己糖和戊糖来计算半纤维素含量，于样

品中加入 5 mL 4 mol·L⁻¹ KOH (含 1 mg·mL⁻¹ NaHB₄), 室温 150 r·min⁻¹ 振荡 1 h 后, 离心, 沉淀再用 5 mL 4 mol·L⁻¹ KOH 洗 1 次, 5 mL 蒸馏水洗 2 次, 收集上清, 测己糖和戊糖含量。通过测定草酸铵上清液的己糖、戊糖和糖醛酸来计算果胶含量。于样品中加入 5.0 mL 0.5% (m/V) 草酸铵, 在沸水中加热 1 h, 每隔 10 min 摇匀。冷却后, 离心 5 min, 收集上清液。沉淀再依次用 5 mL 0.5% 草酸铵洗 1 次, 5 mL 蒸馏水洗 2 次, 收集所有上清液, 定容。使用 UV-VIS 光谱仪 (V-1100D, 上海美普达仪器有限公司) 进行戊糖、己糖和糖醛酸分析。此外, 采用两步酸水解法测定总木质素, 将样品放入索氏提取器中用苯-乙醇 (67:33, V/V) 抽提 4 h, 抽提后的粉末在通风橱中风干, 将风干后材料转入 250 mL 三角瓶中, 加入 10.0 mL 67.0% (V/V) 硫酸, 放入摇床, 30°C 120 r·min⁻¹ 水平摇动 1.5 h, 加入 200 mL dH₂O, 120°C, 水解 1 h; 将水解液用 G3 坩埚式过滤器过滤, 将残渣转移到坩埚式过滤器中, 滤液定容至 250.0 mL, 取 1.0 mL 于玻璃比色管中, 用 2.88% (V/V) 硫酸稀释, 205 nm 测定其 OD 值, 所有实验 3 个独立重复。半纤维素的单糖成分分别通过 GC-MS (岛津 GCMS-QP2010 Plus) 测定。

1.4 纤维素结晶度 (CrI) 和聚合度 (DP) 的测定

纤维素结晶度 (CrI) 是由 Rigaku-D/MAX X 射线衍射仪 (Ultima III, 日本) 按照公式测量的。CrI% = 100% × (I₂₀₀ - I_{am}) / I₂₀₀。I₂₀₀ 是 200 峰的强度 (I₂₀₀, θ = 22.5°), 代表结晶纤维素, 而 I_{am} (I_{am}, θ = 18.5°) 是 200 峰和 110 峰之间的最小强度, 代表非结晶纤维素。如前所述, 纤维素的聚合度 (DP) 通过铜乙二胺粘度法测定。

1.5 免疫标记检测细胞壁多糖

取水稻三叶期的水稻叶脉 3~5 mm 长, 浸没在 4% 的多聚甲醛中进行固定, 用酒精脱水, 二甲苯透明, 后浸入石蜡中包埋, 凝固后用石蜡切片机 (RM2265, Leica) 进行切片, 厚度为 8 mm。将叶脉切片首先 3% 脱脂奶粉封闭, CCRC-M38 抗体标记 2 h, 二级荧光抗体标记暗处理 2 h, 用配备了荧光光学系统的 Olympus BX61 显微镜观察荧光。

1.6 水稻秸秆预处理、酶解和发酵

称取 0.300 g 干燥秸秆粉末, 加入不同浓度的 NaOH (0.5%, 1%, m/V), 置于 50°C, 150 r·min⁻¹ 下反应 2 h 进行预处理, 随后在 3 000 g 离心 5 min, 并用 10 mL 蒸馏水洗涤残渣 5 次, 直至上清为中性。在预处理后的生物质残渣中加入纤维素复合酶和吐温-80, 使最终浓度分别为 1.6 g·L⁻¹ (10.6 FPU·g⁻¹ 生物质) 和 1%。所有实验均独立重复 3 次。利用酿酒酵母 (安琪酵母有限公司, 宜昌) 将碱预处理水稻秸秆酶解释放的总己糖一起培养进行乙醇发酵。按照 He 等^[11] 的描述通过 K₂Cr₂O₇ 方法测定乙醇产量。

1.7 镉的吸附

吸附的实验方法如 Xu 等^[12] 所述, 发酵剩余的固体残渣用蒸馏水冲洗三次, 然后用超纯水冲洗三次。收集洗涤后的残渣, 置于 50°C 的空气烘箱中干燥, 并将其作为生物吸附剂样品储存, 用于以下实验。通过添加 Cd(NO₃)₂ 制备 Cd²⁺ 溶液, 用不同类型的生物吸附剂在 50 mL 试管中以 150 r·min⁻¹ 的转速进行了 4 h 的分批吸附实验。混合均匀后, 通过 0.45 μm 膜过滤器过滤样品, 并通过配备空气-乙炔火焰的火焰原子吸收分光光度计 (FAAS HITACHI Z-2000, 日本) 检测滤液中的残余 Cd²⁺ 浓度。将上述吸附结果进行 Langmuir 和 Freundlich 等温模型拟合, 如 (1) (2) 所示。

$$\text{Langmuir 模型: } q_e = \frac{b q_{\max} C_e}{1 + b C_e} \rightarrow \frac{C_e}{q_e} = \frac{C_e}{q_{\max}} + \frac{1}{q_{\max} b} \quad (1)$$

式中: q_e 是平衡吸附金属量 (mg·g⁻¹), $q_{\max}$ 是单层最大吸附容量 (mg·g⁻¹), b 是平衡吸附常数 (L·mg⁻¹), 其与吸附剂吸附能力有关, 大小反应了吸附剂与金属离子之间的结合力, C_e 是吸附平衡时金属离子溶液浓度 (mg·L⁻¹)。以 C_e 为横坐标, C_e/q_e 为纵坐标, 经过线性拟合即得 Langmuir 等温吸附模型拟合图, 通过线性方程的斜率和截距可计算 $q_{\max}$ 和 b 值。

Freundlich 模型: $q_e = K_F C_e^{\frac{1}{n}} \rightarrow \ln q_e = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln C_e$ (2)

式中: 其中 q_e 是平衡吸附金属量 ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), C_e 是吸附平衡时金属离子溶液浓度, $K_F (\text{L}\cdot\text{g}^{-1})$ 和 n 是 Freundlich 常数。 K_F 与吸附量有关, n 与吸附强弱有关。以 $\ln C_e$ 为横坐标, $\ln q_e$ 为纵坐标作图, 经过线性拟合得到 Freundlich 等温吸附模型方程, 通过斜率和截距可计算相关参数。

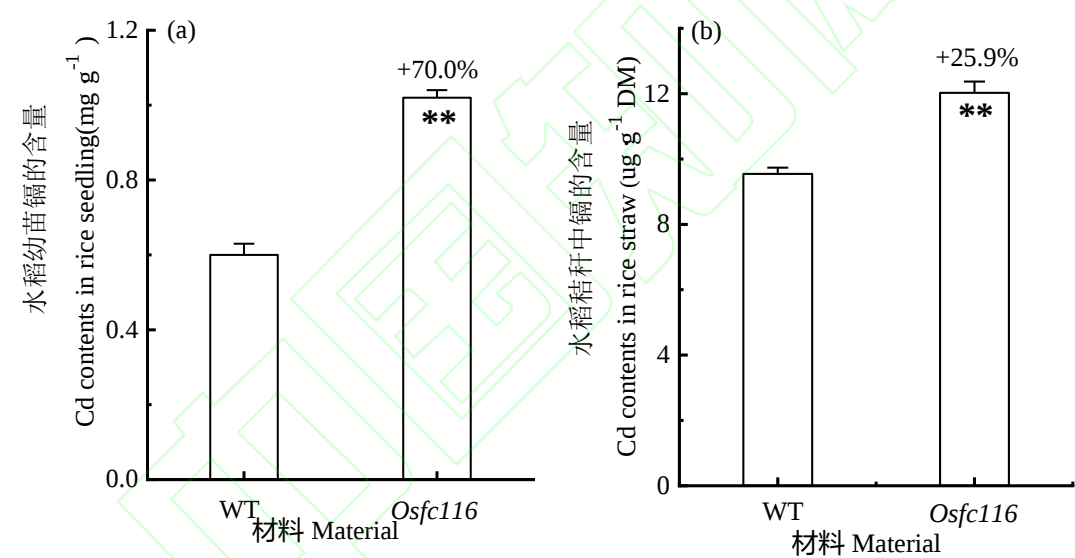
1.8 统计分析

方差分析、回归系数和 Spearman 等级相关系数使用 SPSS 16.0 完成。两次测量之间的配对比较采用 t 检验。图表绘制与回归分析在 Origin 8.5 中完成, 包括最佳拟合曲线的折线图和柱状图。

2 结果与分析

2.1 水稻突变体镉积累量的增加

为了全面评估水稻突变体 *Osfc116* 的镉积累能力, 本研究同时对幼苗阶段和成熟秸秆进行了测定。在水稻幼苗中, *Osfc116* 的幼苗镉含量与 WT(图 1 a,b)相比有显著提高($P<0.01$), 镉含量从 $0.6 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 提高到 $1.02 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 提高了 70.0%; 在成熟水稻秸秆中, 镉含量从 $9.55 \text{ ug}\cdot\text{g}^{-1}$ 提高至 $12.03 \text{ ug}\cdot\text{g}^{-1}$, 提高了 25.9%。由此可见, 与 WT 相比, 突变体 *Osfc116* 可以积累更多的镉, 在修复镉污染方面具有明显优势。



*和**表示两个样品之间的显著差异, $P<0.05$ 和 0.01 ($n=3$)。DM: 干物质量。

* and ** indicated significant difference between two samples by t-test at $P<0.05$ and 0.01 ($n=3$).

DM: Dry matter.

图1 水稻突变体 (*Osfc116*) 和野生型 (WT) 的木质纤维组织的对 Cd 的积累

Figure 1 Cd accumulation with lignocellulose tissues of rice mutant (*Osfc116*) and WT

为进一步解析镉胁迫对植物产生的影响, 本研究进一步分析水稻细胞壁组成 (表 1), 发现在镉胁迫后, 水稻细胞壁的各组分发生较大变化, 且成熟水稻秸秆与幼苗变化趋势一致。纤维素显著降低 7.3%~9.89%; 半纤维素显著升高 3.22%~8.48%; 果胶质显著升高 16.18%~33.41%, 木质素变化不显著。对比四种细胞壁组分, 发现镉胁迫后, 果胶质含量提升幅度更大, 表明果胶是可能是积累镉的重要成分, 特别是在成熟水稻秸秆中, *Osfc116* 拥有更高的果胶含量与糖醛酸含量, 是其可积累较多镉的原因。

表1 水稻秸秆与幼苗的细胞壁成分

Table 1 Cell wall composition of rice stem and seedling incubated with Cd

		细胞壁组成 (% DM)						
		Cell wall composition(% DM)						
材料	处理	纤维素	纤维素变化量	半纤维素	半纤维素变化量	木质素	果胶	果胶变化量
Material	Treatment	Cellulose	Change in cellulose	Hemicellulose	Change in hemicellulose	Lignin	Pectin	Change in pectin
秸秆 Straw	对照	32.26 ± 0.82		19.11 ± 0.06		13.93 ± 0.13	2.98 ± 0.09	
	WT Control							
	含镉	29.67 ± 0.98*	- 8.02%	20.60 ±	+ 7.81%	12.84 ± 0.13	3.85 ± 0.09**	+ 29.22%
	+ Cd			0.34*				
	对照	28.90 ± 0.72		21.43 ± 0.45		15.41 ± 0.60	3.13 ± 0.07	
	Osfc116 Control							
幼苗 Seedling	含镉	26.05 ± 0.42*	- 9.89%	23.25 ±	+ 8.48%	14.76 ± 0.36	4.23 ± 0.05**	+ 33.41%
	+ Cd			0.27**				
	对照	14.80 ± 0.39		23.45 ± 0.48		25.44 ± 0.55	2.41 ± 0.07	
	WT Control							
	含镉	13.72 ± 0.09*	- 7.30%	24.61 ±	+ 4.95%	23.90 ± 0.15	2.80 ± 0.05**	+ 16.18%
	+ Cd			0.64*				
Osfc116	对照	12.05 ± 0.59		24.85 ± 0.07		23.53 ± 0.10	2.40 ± 0.03	
	WT Control							
	含镉	11.10 ± 0.01*	- 7.88%	25.65 ±	+ 3.22%	24.63 ± 0.81	2.89 ± 0.02**	+ 20.42%
	+ Cd			0.10*				

注：“*”和“**”分别表示处理间差异显著（*P* < 0.05）和极显著（*P* < 0.01）。

Note: * and ** indicate significant differences between treatments at *P* < 0.05 and *P* < 0.01, respectively.

果胶是细胞壁的重要组成成分，含有较多的羟基和羧基，对细胞壁吸附重金属离子有重要作用^[12]。为进一步解析 Cd 对果胶的影响，本研究测定果胶的镉含量，发现 *Osfc116* 果胶镉含量显著高于 WT（图 2 a），在秸秆和幼苗中分别提高 8.1%和 19.7%。进一步分析果胶糖醛酸的含量后，发现成熟水稻秸秆的糖醛酸含量显著升高（图 2 b），同时 *Osfc116* 糖醛酸含量和占比高于 WT（图 2 c），表明镉能够促进糖醛酸的积累。M38 抗体标记的是具有游离羧基的去甲酯化半乳糖醛酸表位，荧光强度增加说明镉胁迫促进了去甲酯化半乳糖醛酸在细胞壁中的沉积，由此产生更多可与镉离子结合的羧基，使镉离子被固定在细胞壁中^[13, 14]。通过对糖醛酸的特异性抗体 M38 免疫荧光检测（图 2 d），镉处理导致 *Osfc116* 的荧光强度高于 WT，结果证明镉处理增加了果胶中糖醛酸的积累，以产生更多羧基、羟基等负电基团，从而促进细胞壁对正电 Cd²⁺的吸收。与 WT 相比，突变体 *Osfc116* 具有更高的糖醛酸含量，在镉积累方面具有明显的优势。

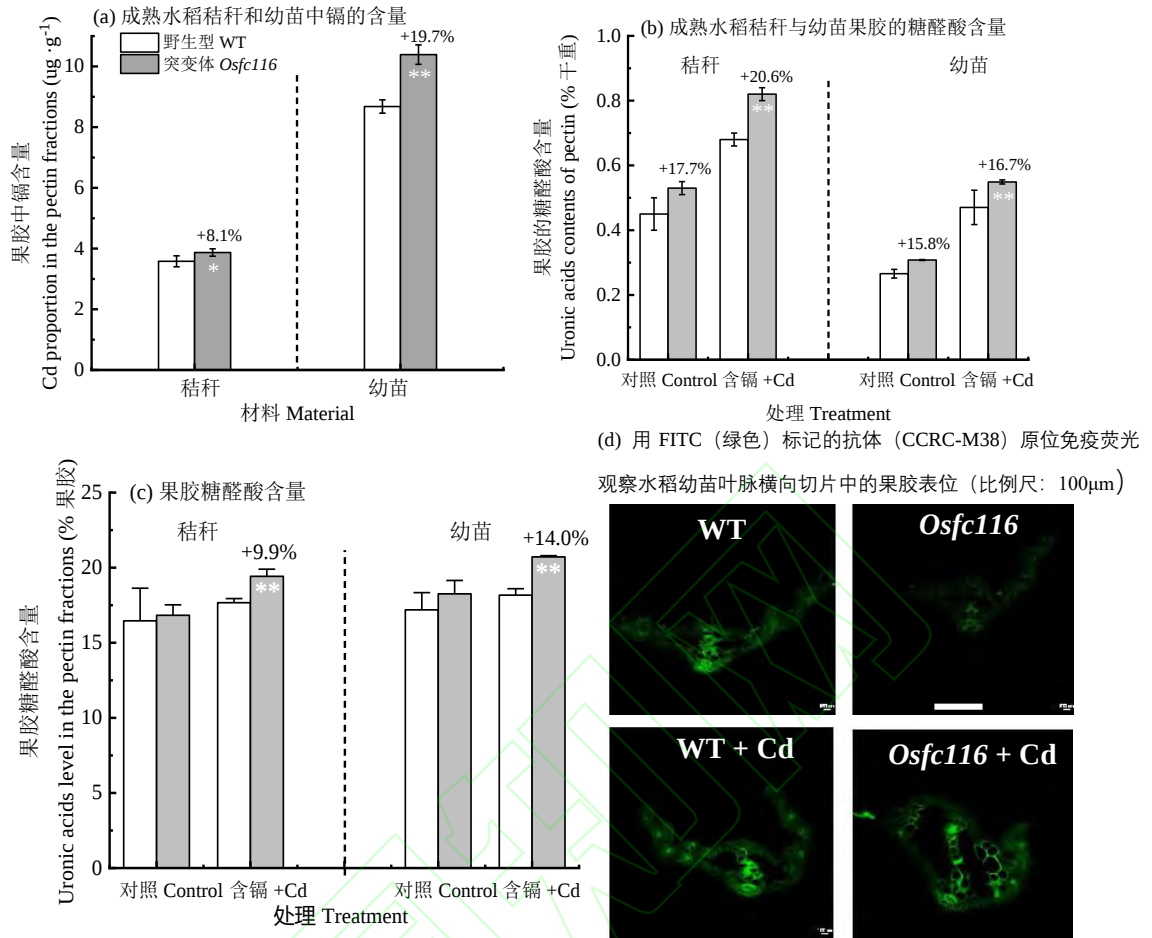


图2 镉胁迫下水稻突变体 (*Osfc116*) 和野生型 (WT) 的木质纤维素组织果胶含量的增加
Figure 2 Enhanced pectin deposition with lignocellulose tissues of rice mutant (*Osfc116*) and WT supplied with CdCl_2 .

2.2 镉胁迫促进物质糖醛酸的释放与产糖产醇

为探究镉胁迫对糖醛酸与戊、己糖释放的影响,本研究测定 0~1% NaOH 预处理后,糖醛酸与酶解己糖含量,发现随着预处理强度增加,己糖的释放量逐渐升高,且 *Osfc116* 的己糖释放量显著高于 WT (图 3a, b)。同时,糖醛酸的释放量随预处理浓度的升高而增加,且两种水稻表现相同的变化趋势,WT 从 0.59% 提高到 1.12%, *Osfc116* 从 0.6% 提高至 1.19%。将糖醛酸和酶解效率进行相关性分析后,发现呈现显著的正相关 (图 5 d),与 Li 等^[15]报道一致。当使用 0.5% NaOH 预处理时,WT 的酶解效率从 54.04% 提高至 75.98%, *Osfc116* 从 59.74% 提高至 89.10%,随着碱预处理浓度提高,WT 和 *Osfc116* 的酶解效率分别从 80.97%、85.58% 提高至 96.67% 和 100% (图 3 b)。此外,本研究对酶解的己糖用酵母发酵产乙醇,发现在低浓度 NaOH 处理下,WT 与 *Osfc116* 的乙醇产率无明显差异,但 (图 3 c) 经 1% NaOH 处理后,WT 和 *Osfc116* 乙醇产率分别提高 8.8% 和 8.6%,原因可能是随着预处理强度增加,可发酵糖的释放量增加,提高乙醇产率。由此可见,镉胁迫的水稻经温和处理可促进秸秆酶解产糖,且突变体 *Osfc116* 达到完全降解,并能提高乙醇产率。

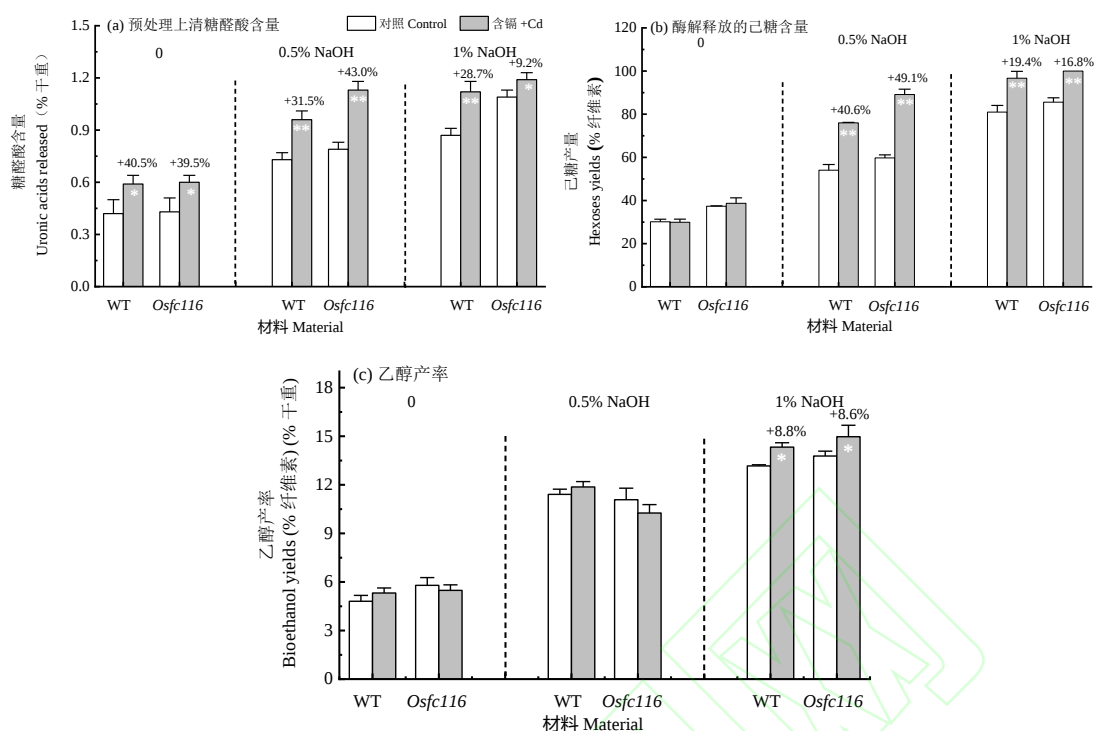
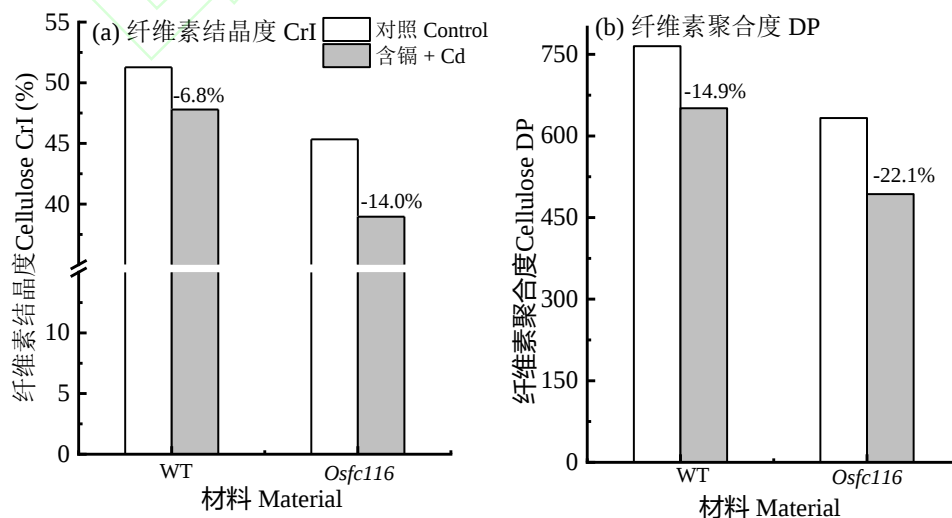


图3 镉胁迫下水稻突变体 (*Osfc116*) 和野生型 (WT) 的糖醛酸、己糖和生物乙醇产量

Figure 3 Uronic acids, hexoses and bioethanol yields obtained in rice mutant (*Osfc116*) and WT grown with soil pots supplied with CdCl_2 .

2.3 镉胁迫改变木质纤维素结构特征

本研究测定影响木质纤维降解的主要因素：纤维素聚合度 (DP)、纤维素结晶度 (CrI)、半纤维素分支度 (Xyl/Ara) (图 4)。经镉胁迫后水稻秸秆纤维素 CrI 和 DP，均呈现下降的趋势，且突变体变化的幅度更大，表明 *Osfc116* 受镉胁迫后纤维素结构改变大，更易被纤维素酶水解。半纤维素分支度是影响细胞壁降解的重要因素^[16]，分析半纤维素分支度后，发现经镉胁迫的 WT 和 *Osfc116* 的 Xyl/Ara 分别下降 5.9% 和 11.8%，有利于纤维素的降解。分析上述三种因子与酶解效率的相关性后 (图 5 a、b、c)，发现均呈显著的负相关 ($P < 0.05$)，表明经过镉胁迫后，水稻秸秆抗降解屏障被破坏，预处理后可将更多纤维素暴露，更容易被纤维素酶降解。值得注意的是，*Osfc116* 在镉胁迫后具有较低的 DP、CrI、Xyl/Ara，导致突变体更容易降解，与文献报道一致^[17]，进一步凸显突变体在重金属积累与降解的优势。



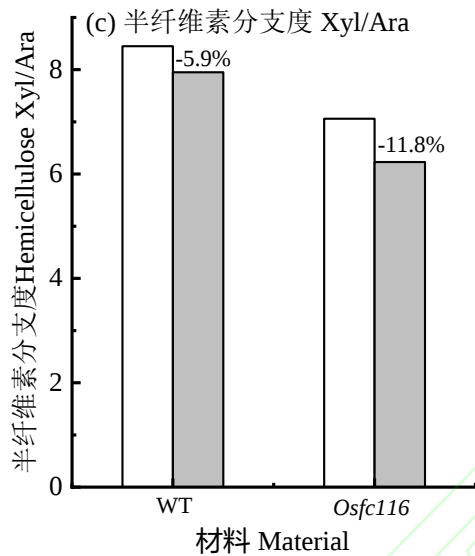


图 4 突变体 (*Osf116*) 和野生型 (WT) 经镉处理 ($100\text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$) 后纤维素和半纤维素特征的变化
Figure 4 Alteration of cellulose and hemicellulose features in rice mutant (*Osf116*) and WT grown with soil pots supplied with $100\text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}\text{ CdCl}_2$ (+Cd).

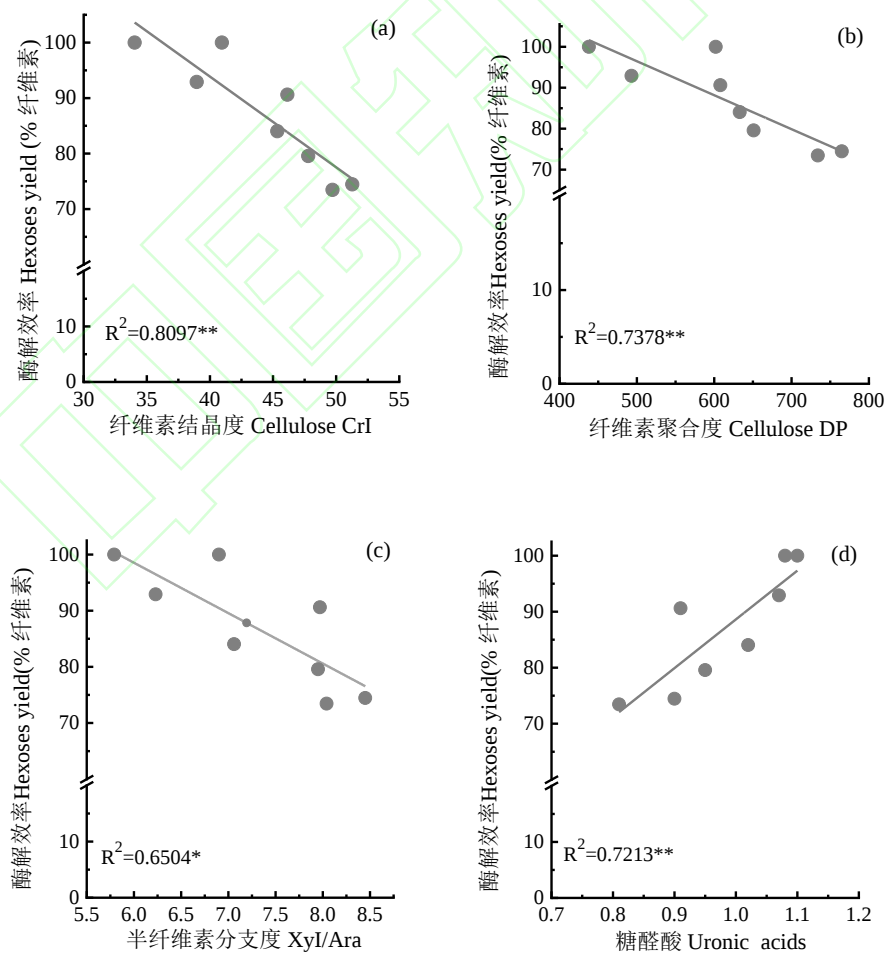


图 5 酶解效率的相关性分析
Figure 5 Correlation analysis of enzymatic hydrolysis.

2.4 镉的释放与回收

本研究测定了从碱预处理、酶解过程中释放的 Cd^{2+} (表 2), 结果显示, *Osfcl16* 和 WT 在预处理及酶水解所得上清液中均可收集到 85% 以上的 Cd^{2+} 。特别是在 1% NaOH 预处理并进行酶水解后, *Osfcl16* 释放的镉达 88.9% (占总镉), 比 WT 高 2.9%。这一现象可能与 NaOH 处理过程中可释放糖醛酸, 富含羧基、羟基等配位基的可溶性有机物, 可与 Cd^{2+} 形成可溶性络合物, 从而提高溶液中镉的检测比例。剩余的 Cd^{2+} 则可利用乙醇发酵后收集的固体残渣进行吸附回收。因此, *Osfcl16* 不仅表现出较高的生物质酶解产糖、产醇能力, 还可在体内通过木质纤维组织积累镉, 在体外通过预处理、酶解等过程释放镉以便收集, 显示出作为生物能源原料与重金属修复植物的双重潜力。

表 2 酶解产糖后水稻茎中的镉分布 (n = 3)

Table 2 The distribution of Cd in rice stem after enzymatic hydrolysis process. (n = 3)

材料	质量 (g)	Cd 总量 (ug)	NaOH	残渣	残渣 Cd 含量	上清液 Cd	Cd 释放比例
Samples	Dry weight	Total Cd content	(%)	质量 (g)	(ug)	含量 (ug)	(%)
				Residue weight	Residue Cd content	Supernatant Cd content	Cd released percentage
WT + Cd	1.00	9.55±0.19	0	0.76±0.02	1.64±0.20	7.90±0.18	82.7±2.5
			0.5	0.44±0.05	1.42±0.16	8.13±0.15	85.1±1.2
			1	0.24±0.03	1.23±0.18	8.31±0.10	87.0±1.8
<i>Osfcl16</i> + Cd	1.00	12.03±0.35		0.79±0.07	1.88±0.12	10.14±0.18	84.3±0.8
				0.49±0.05	1.41±0.14	10.62±0.12	88.3±1.5
				0.23±0.04	1.33±0.12	10.70±0.10	88.9±1.2

2.5 乙醇发酵残渣对镉的吸附性能

研究表明秸秆废弃物已经被应用于重金属吸附^[18], 但生物质降解产生的废弃残渣作为生物吸附剂的研究较少。因此, 本研究用 1% NaOH 预处理、酶解与发酵产乙醇后的残渣作为吸附剂。首先测定不同 pH 下对 Cd^{2+} 的吸附能力 (图 6 a), 发现随着 pH 值升高, Cd^{2+} 吸附效率先增加后基本保持不变, 当 pH 值为 7 时, 吸附效率达到最高, 发酵残渣吸附效果高于原样, *Osfcl16* 吸附效率高于 WT。结果表明 Cd^{2+} 吸附的最佳 pH 值为 7。

为了进一步探究发酵残渣对 Cd^{2+} 的吸附能力, 本研究采用不同初始浓度的镉溶液进行吸附实验 (图 6 b)。随着初始浓度增加, 秸秆吸附容量逐渐增加, *Osfcl16* 均高于 WT。结合不同初始浓度下的吸附效率, 发现在 Cd^{2+} 初始浓度为 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时吸附效率最高达 95%, 故 Cd^{2+} 的最佳吸附浓度为 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。本研究对该吸附过程进行等温模型拟合 (图 6 f, 表 3), 发现 Cd^{2+} 吸附更加复合 Langmuir 的单层吸附模型 ($R^2 > 0.98$)。值得注意的是, 经过模型计算后得最大吸附容量 (q_{max}) (表 3), *Osfcl16* 发酵残渣对 Cd^{2+} 吸附量为 $6.73 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 与 WT 相比提高 31%。

本研究测定不同吸附剂投加量下重金属的吸附效率 (图 6 c), 随着吸附剂投加量增加, *Osfcl16* 和 WT 发酵残渣呈现相同趋势, Cd^{2+} 吸附效率先增加后下降, 投加量为 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时吸附效率达到最高。对比发酵残渣与原样秸秆, 前者的吸附效率高于后者, 核心是木质素官能团在数量和可极性上的双重优化。一方面, 镉胁迫使突变体木质素本身含有更多的羟基、羧基等活性官能团; 另一方面, 经预处理发酵后进一步暴露这些官能团, 通过配位键、静电引力增强了与 Cd^{2+} 的结合能力^[19,20]。此外, 本研究测定反应温度对吸附效率的影响, 发现随着温度变化 ($15^\circ\text{C} \sim 55^\circ\text{C}$) 秸秆吸附效率几乎保持不变 (图 6 d), 表明反应温度不是影响 Cd^{2+} 吸附的主要因素。

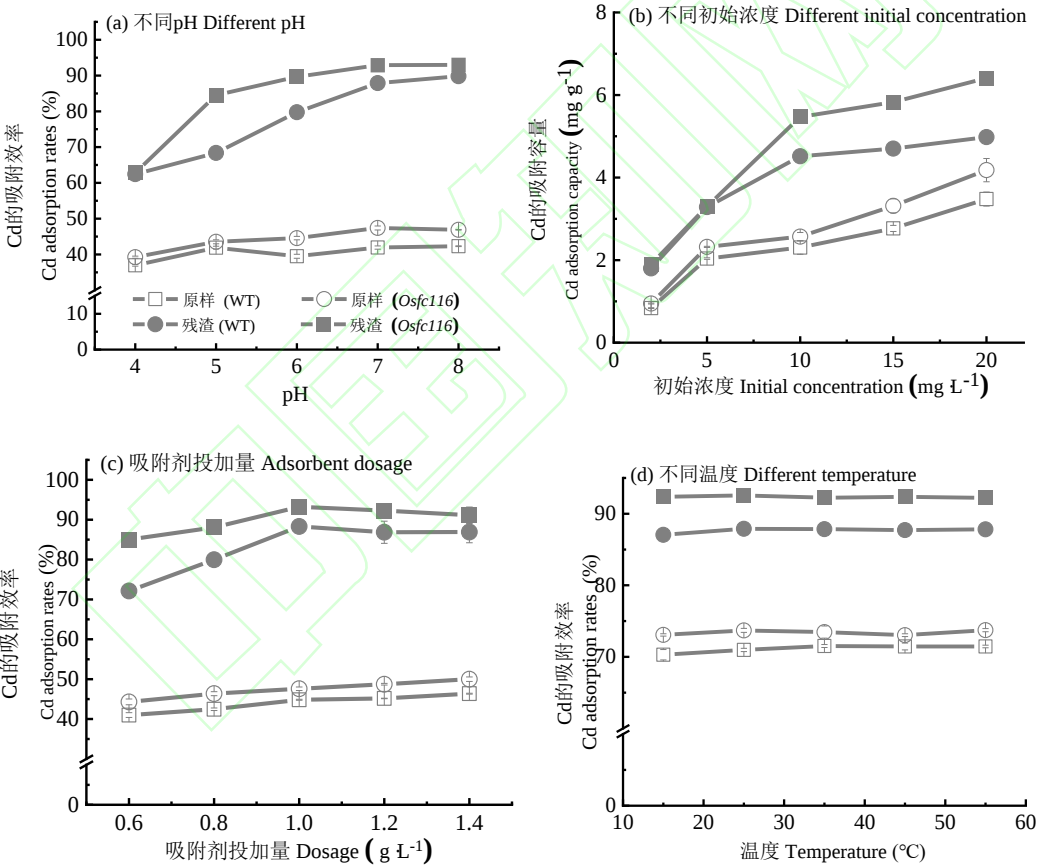
研究表明, 在较长的吸附反应过程中, 吸附和解吸速率可以达到平衡状态^[21]。在本研究中, 发酵残渣和原材料都被用来与含镉溶液吸附反应不同的时间 (1、5、10、30、60、120、

180、240、300 min) (图 6 e), 在反应开始阶段 (5 min), 吸附反应快速, 溶液中 Cd^{2+} 迅速与残渣的活性位点结合, 溶液中超过 50% 的 Cd^{2+} 被去除; 在 60 min 时, 所有样品的吸附均达到饱和吸附状态; 此后 Cd^{2+} 吸附较慢, 主要是因为吸附在表面上的吸附位点饱和, 这表明 60 min 是 Cd^{2+} 吸附的最佳时间。值得注意的是, 两种发酵残渣对 Cd^{2+} 的吸附率远高于其原材料, 而 *Osf116* 相对于 WT 仍然具有较高的吸附率, 这与上述发现一致。

表 3 朗格缪尔和弗罗因德利希等温吸附模型的相关参数

Table 3 Parameters of Langmuir and Freundlich equations for adsorption of Cd on rice straw and residues.

	生物吸附剂 Biosorbent	朗格缪尔 Langmuir			弗罗因德利希 Freundlich		
		$q_{\max}$ (mg g ⁻¹)	b (L mg ⁻¹)	R^2	K_F	n	R^2
原材料	WT	4.11	0.22	0.9311	0.92	2.11	0.8704
Raw	<i>Osf116</i>	4.98	0.21	0.9022	1.08	2.08	0.8728
残渣	WT	5.15	1.40	0.9974	2.76	4.15	0.9719
Residues	<i>Osf116</i>	6.73	0.97	0.9847	3.32	3.93	0.9560



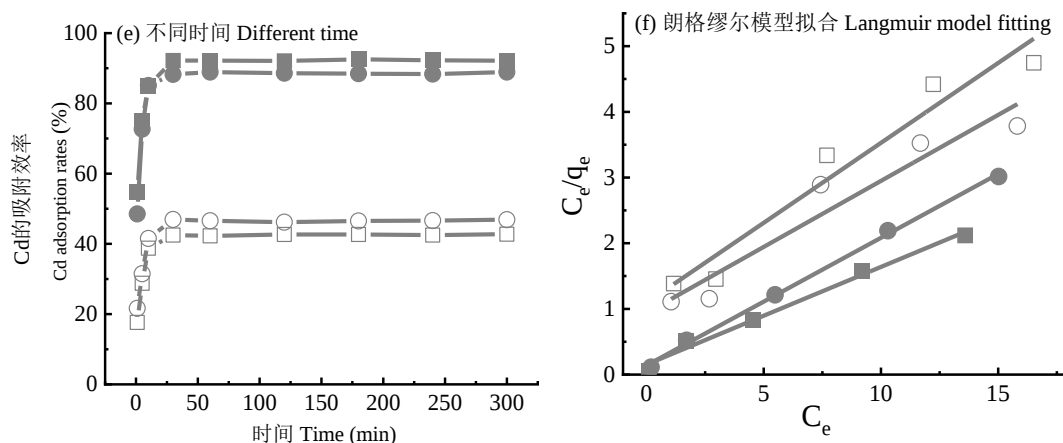


图 6 在不同反应条件下生物吸附剂对 Cd^{2+} 吸附能力的比较

Figure 6 Comparison of the Cd^{2+} adsorption capacities with biosorbents of the *Osfc116* mutant sample under various incubation conditions

3 讨论

3.1 含重金属的水稻秸秆无害化处理和高效酶解产糖产醇

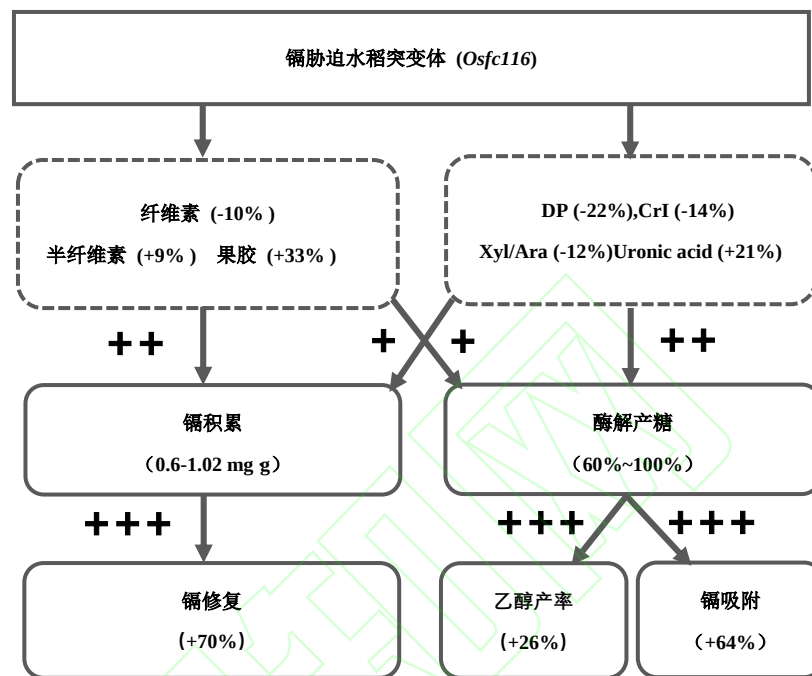
本研究将水稻突变体 *Osfc116* 种植于镉污染土壤中，发现其不仅能够有效修复镉污染，还能通过温和碱预处理和酶解过程释放约 90% 的 Cd^{2+} 至上清液，实现重金属的高效回收与秸秆的无害化处理。同时，该过程可促进木质纤维素的高效糖化，为后续乙醇发酵提供充足底物。水稻株型变化是内在生理特性（细胞壁组分和结构）改变的体现，从根本上决定了镉积累能力、生物质可转化性及残渣吸附潜力，是后续实验中各项性能差异的核心因素；预处理作为外在干预，仅能基于株型变化带来的内在优势发挥辅助作用。

在镉胁迫条件下，*Osfc116* 的细胞壁组分发生显著变化，表现为纤维素含量降低、半纤维素和果胶质增加。这些变化不仅增强了植株的镉积累能力，还削弱了秸秆的抗降解屏障，从而促进酶解过程生成更多的己糖，提高乙醇发酵效率。进一步分析表明，半纤维素和果胶质的增加是植物应对镉胁迫的重要解毒机制，它们所含的羧基和羟基等带负电基团能够吸附镉离子，从而减少游离镉对植物的毒害。

3.2 发酵液中镉的无害化处理和发酵残渣的综合利用

本研究通过整合生物质预处理、酶促水解和酵母发酵工艺，成功实现了水稻秸秆的全量资源化利用。在燃料乙醇生产过程中产生的发酵残渣（主要成分为木质素，并含有少量未完全水解的半纤维素和纤维素）因其丰富的活性官能团（ $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 等）和多孔结构特性，展现出对 Cd^{2+} 优异的吸附性能。将该残渣制备成生物吸附剂，系统优化了吸附条件，确定最佳参数为：pH 7、温度 25°C 、反应时间 1 h、 Cd^{2+} 初始浓度 $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、吸附剂投加量 $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。等温吸附模型拟合结果表明，该吸附过程更符合 Langmuir 单层吸附模型 ($R^2=0.9022\sim0.9974$)，最大吸附量可达 $6.73 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

值得注意的是，研究发现镉胁迫可显著改变 *Osfc116* 细胞壁的组成和结构，使其纤维素、半纤维素和果胶的含量及结构特性发生明显变化。这种改变不仅促进了生物质的酶解效率，提高了乙醇产率（较 WT 提高 26%），同时使 *Osfc116* 的镉积累量提升 70%，发酵残渣吸附性能增强 64%。基于这些发现，本研究创新性地提出了“植物修复重金属污染-生物乙醇生产-废水处理”的利用模式（图 7），不仅为重金属污染修复提供了新思路，同时通过将秸秆转化为高附加值产品，显著提升了木质纤维资源的综合利用率，实现了环境效益与经济效益的双赢。



“+”表示促进作用，促进作用随“+”增多而增强

The symbol "+" indicates a promoting effect, and the more "+" symbols there are, the stronger the promoting effect.

图 7 水稻突变体镉胁迫促进酶解产糖产醇与镉吸附的流程

Figure 7 Flow Chart of cadmium stress promoting enzymatic hydrolysis, sugar, and alcohol production, and cadmium adsorption in mutant rice

3.3 存在的不足

本研究主要在实验室条件下开展，土壤环境单一且生物质转化工艺尚未验证规模化可行性。与此同时，细胞壁重构与镉积累及酶解效率提升的分子机制尚不完全明确，有待进一步研究。

4 结论

(1) 突变体 *Osfcl16* 在镉胁迫下细胞壁成分发生显著变化，表现为纤维素含量降低，半纤维素和果胶含量升高，这一结构改变不仅增强了对 Cd^{2+} 的积累能力，还削弱了抗降解屏障，从而促进酶水解效率，提高己糖产量和乙醇产率，为生物质能源化利用提供了内在优势。

(2) 突变体 *Osfcl16* 秸秆经预处理、酶解后，可将 90% 的镉释放并回收，显著提升重金属回收效率。在实际生产中，可将该突变体用于镉污染农田的修复，同时兼顾秸秆的资源化利用。

(3) 突变体 *Osfcl16* 发酵残渣在 pH 7、25°C、反应时间 1 h 的条件下，残渣的最大 Cd^{2+} 吸附量达 $6.73 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，显示其优异的吸附性能，结合其前期在镉积累和乙醇产出中的优势，体现出秸秆在能源生产与环境修复中的协同资源化潜力。在实际应用中，可将残渣制备为生物吸附剂，用于废水中重金属的去除与回收，构建“农田修复-生物质利用-废水治理”的闭环工艺，提高生态和经济效益。

参考文献

- [1] WANG Y T, FAN C F, HU H Z, et al. Genetic modification of plant cell walls to enhance biomass yield and biofuel production in bioenergy crops[J]. *Biotechnology Advances*, 2016, 34(5): 997-1017.
- [2] AI Y H, WANG H L, LIU P, et al. Insights into contrastive cellulose nanofibrils assembly and nanocrystals catalysis from dual regulations of plant cell walls[J]. *Science Bulletin*, 2024, 2095-9273.
- [3] ZHANG R, GAO H R, WANG Y T, et al. Challenges and perspectives of green-like lignocellulose pretreatments selectable for low-cost biofuels and high-value bioproduction [J]. *Bioresource Technology*, 2023, 369:128315.
- [4] WANG M, WANG Y X, LIU J Y, et al. Integration of advanced biotechnology for green carbon[J]. *Green Carbon*, 2024, 2(2): 164-175.
- [5] ZHANG R, HU Z, PENG H, et al. High density cellulose nanofibril assembly leads to upgraded enzymatic and chemical catalysis of fermentable sugars, cellulose nanocrystals and cellulase production by precisely engineering cellulose synthase complexes[J]. *Green Chemistry*, 2023, 25(3): 1096-1106.
- [6] ZHANG M L, WEI F, GUO K, et al. A novel *FC116/BC10* mutation distinctively causes alteration in the expression of the genes for cell wall polymer synthesis in rice[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 21(7):1366.
- [7] WANG Y T, WEN J X, LI S F, et al. Upgrading pectin methylation for consistently enhanced biomass enzymatic saccharification and cadmium phytoremediation in rice *Ospmes* site-mutants[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 262:130137.
- [8] FU Y S, GAO H R, YU H, et al. Specific lignin and cellulose depolymerization of sugarcane bagasse for maximum bioethanol production under optimal chemical fertilizer pretreatment with hemicellulose retention and liquid recycling[J]. *Renewable Energy*, 2022, 200:1371-1381.
- [9] JIN W X, CHEN L, HU M, et al. Tween-80 is effective for enhancing steam-exploded biomass enzymatic saccharification and ethanol production by specifically lessening cellulase absorption with lignin in common reed[J]. *Applied Energy*, 2016, 175: 82-90.
- [10] XU C B, XIA T, WANG J T, et al. Selectively desirable rapeseed and corn stalks distinctive for low-cost bioethanol production and high-active biosorbents[J]. *Waste and Biomass Valorization*, 2020, 12(2): 795-805.
- [11] HE B Y, HAO B, YU H Z, et al. Double integrating *XYL2* into engineered *saccharomyces cerevisiae* strains for consistently enhanced bioethanol production by effective xylose and hexose co-consumption of steam-exploded lignocellulose in bioenergy crops[J]. *Renewable Energy*, 2022, 186: 341-349.
- [12] XU C B, ZHU J J, YU H Z, et al. Recyclable cascading of arsenic phytoremediation and lead removal coupled with high bioethanol production using desirable rice straws[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2021, 168: 107950.
- [13] CHENG S Z, YU H, HU M, et al. *Miscanthus* Accessions distinctively accumulate cadmium for largely enhanced biomass enzymatic saccharification by increasing hemicellulose and pectin and reducing cellulose CrI and DP[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 263: 67-74.

- [14] 林迪,丰晨晨,陈悦,等.镉与聚苯乙烯微塑料复合胁迫对小油菜生长发育、生理特征及冠层温度影响效应研究[J].生态与农村环境学报,2024, 40(02):255-265. LIN D,FENG C C,CHEN Y,et al. Study on the effects of cadmium and polystyrene microplastic composite stress on the growth development physiological characteristics and canopy temperature of *brassica napus* (Rapeseed)[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*,2024,40(02):255-265.
- [15] LI Y, SUN H Y, FAN C F, et al. Overproduction of fungal endo- β -1,4-glucanase leads to characteristic lignocellulose modification for considerably enhanced biomass enzymatic saccharification and bioethanol production in transgenic rice straw[J]. *Cellulose*, 2019, 26(15): 8249-8261.
- [16] ZHANG A Y, HU Z, HU X, et al. Large-scale screening of diverse barely lignocelluloses for simultaneously upgrading biomass enzymatic saccharification and plant lodging resistance coupled with near-infrared spectroscopic assay[J]. *Industrial Crops and Products*, 2023, 194: 116324.
- [17] WANG R S, LIANG R H, DAI T T, et al. Pectin-based adsorbents for heavy metal ions: A review[J]. *Trends in Food Science and Technology*, 2019, 91: 319-329.
- [18] WANG Y T, HUANG J F, LI Y, et al. Ammonium oxalate-extractable uronic acids positively affect biomass enzymatic digestibility by reducing lignocellulose crystallinity in *Miscanthus*[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 196: 391-398.
- [19] 吴珂,郑毅,李丽,等.香根草对水体中镉-扑草净复合污染的吸收去除动态[J].生态与农村环境学报,2023,39(03):402-411. WU K,ZHENG Y,LI L,et al,Dynamic absorption and removal of cadmium and propanil composite pollution in water by vetiver grass.[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*,2023,39(03):402-411.
- [20] CHENG L L, WANG L Q, WEI L Y, et al. Combined mild chemical pretreatments for complete cadmium release and cellulosic ethanol co-production distinctive in wheat mutant straw[J]. *Green Chemistry*, 2019, 21(13): 3693-3700.
- [21] ZHANG Y Q, XU C B, LU J, et al. An Effective strategy for dual enhancements on bioethanol production and trace metal removal using *Miscanthus* straws[J]. *Industrial Crops and Products*, 2020, 152: 112393.