



请通过网上投稿系统投稿 网址:http://www.aes.org.cn

#### 土壤外源钒施加对玉米中钒积累、亚细胞分布和非蛋白巯基含量的影响

侯明, 霍岩, 张志专, 韦明奉

引用本文:

侯明, 霍岩, 张志专, 等. 土壤外源钒施加对玉米中钒积累、亚细胞分布和非蛋白巯基含量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(5): 964–972.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0065

#### 您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

#### 钒胁迫下枸杞和芥菜幼苗蛋白的分子分布研究

侯明,赵军平,李明沅,甘焕辉 农业环境科学学报. 2016, 35(4): 634-639 https://doi.org/10.11654/jaes.2016.04.004

硅对镉胁迫条件下两个水稻品种镉亚细胞分布、非蛋白巯基物质含量的影响

李江遐,张军,马友华,蔡慢弟,高飞 农业环境科学学报. 2018, 37(6): 1066-1071 https://doi.org/10.11654/jaes.2017-0928

Sr2+在印度芥菜幼苗中的富集、亚细胞分布及贮存形态研究

赖金龙,杨垒滟,付倩,何娇,陶宗娅,罗学刚 农业环境科学学报. 2015, 34(11): 2055-2062 https://doi.org/10.11654/jaes.2015.11.003

磷镉交互作用对白骨壤幼苗体内镉的亚细胞分布和生理特性的影响

王岚, 戴闽玥, 严重玲 农业环境科学学报. 2018, 37(4): 640-646 https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1193

柳叶箬对Pb胁迫的生理响应及其体内Pb的亚细胞分布研究 陈顺钰,韩航,陈加松,蔡丽平,侯晓龙,刘爱琴,周垂帆 农业环境科学学报.2017,36(5):884-890 https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1575



关注微信公众号,获得更多资讯信息

侯 明, 霍 岩, 张志专, 等. 土壤外源钒施加对玉米中钒积累、亚细胞分布和非蛋白巯基含量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(5): 964-972.

HOU Ming, HUO Yan, ZHANG Zhi-zhuan, et al. Effects of exogenous vanadium stress on vanadium accumulation and subcellular distribution, and non-protein thiol content in maize(*Zea mays* L.) crops[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(5): 964–972.



# 土壤外源钒施加对玉米中钒积累、亚细胞分布和非蛋白巯基含量的影响

侯 明,霍 岩,张志专,韦明奉

(桂林理工大学化学与生物工程学院,广西 桂林 541004)

摘 要:本研究旨在探讨玉米对钒(V)的耐受性机制及富集机理。采用差速离心法和DTNB[5,5′-二硫代双(2-硝基苯甲酸)]比色法,研究了不同V浓度(0、100、200、300、500 mg·kg<sup>-1</sup>)胁迫下,V在玉米中的积累、亚细胞分布和非蛋白巯基物质对V胁迫的响应。 结果表明,V在玉米各部位中积累顺序为:根>叶>茎>>子实,其中74.8%~95.6%的V富集于根部。随着V胁迫浓度的增加,V的富 集系数(BF)从0.061增加到0.306,而转运系数(TF)从0.336下降到0.108,从而降低了过量V对玉米茎叶的毒性。V主要积累于植 物亚细胞组分的细胞壁(F1)和可溶性组分(F4)中,两者在茎叶中占总累积量的60.76%~75.75%,在根中占总累积量的82.66%~ 87.02%。土壤中一定的V浓度(V≤300 mg·kg<sup>-1</sup>)可促进玉米幼苗体内非蛋白巯基(NPT)和植物螯合肽(PCs)的合成,植物也通过消 耗谷胱甘肽(GSH)来合成植物螯合肽(PCs),从而降低V的毒性。因此,玉米幼苗抗V毒性的机制包括细胞壁沉积和重金属分区, 以及非蛋白巯基化合物的合成。

关键词:钒;玉米幼苗;积累;亚细胞分布;非蛋白巯基化合物 中图分类号:X53 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2020)05-0964-09 doi:10.11654/jaes.2020-0065

## Effects of exogenous vanadium stress on vanadium accumulation and subcellular distribution, and non-protein thiol content in maize(Zea mays L.) crops

HOU Ming, HUO Yan, ZHANG Zhi-zhuan, WEI Ming-feng

(College of Chemistry and Bioengineering, Guilin University of Technology, Guilin 541004, China)

**Abstract**: The purpose of the present study is to investigate vanadium(V)-tolerance and -enrichment mechanisms in maize(*Zea mays* L.) crops. Maize seedlings were treated with varying concentrations of V(0, 100, 200, 300, and 500 mg•kg<sup>-1</sup>) to investigate the differences in bio-accumulation and subcellular distribution of V and the responses of non-protein thiols(NPTs) to V exposure in maize seedlings by differential centrifugation and 5,5'-dithio bis-(2-nitrobenzoic acid) colorimetry, respectively. The findings revealed that V bioaccumulation in different parts of maize plants decreased in the following order; roots>leaves>stems>grains; 74.8%~95.6% of V was accumulated in the roots. With an increase in V concentration, the bioconcentration factor increased from 0.061 to 0.306, whereas the translocation factor decreased from 0.336 to 0.108, thereby reducing the toxicity of excessive V to the stems and leaves of maize seedlings. V was mainly accumulated in the cell wall(F1) and soluble component(F4) of plant, both of which account for 60.76% to 75.75% of the total accumulation in the shoots, and from 82.66% to 87.02% of the total accumulation in the roots. V at certain concentrations in soil(<300 mg•kg<sup>-1</sup>) could promote the synthesis of NPTs and phytochelatins(PCs); plants utilize glutathione to synthesize PCs, thereby reduce the toxicity of V. Thus, the strategies employed by maize seedlings against V toxicity involve cell wall deposition, heavy metal compartmentalization, and thiol compound synthesis. **Keywords**; vanadium; maize(*Zea mays* L.) seedling; accumulation; subcellular distribution; non-protein thiol compound

收稿日期:2020-01-15 录用日期:2020-03-15

作者简介:侯明(1957—),女,博士,教授,研究方向为环境污染控制和生态毒理。E-mail:glhou@glut.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金项目(41561077)

Project supported : The National Natural Science Foundation of China (41561077)

965

目前,重金属对农业生态系统的污染已引起全球 的广泛关注。当植物受到重金属毒害时,植物细胞通 过自身防御功能使重金属选择性分布,避免重金属对 植物重要的组织、细胞及细胞器的损害<sup>[1]</sup>。Mwamba 等<sup>21</sup>发现,在甘蓝型油菜中,Cd的大部分积累在可溶 性部分,相比之下,在细胞壁和液泡中则有较多的Cu 被隔离。Zhang等<sup>[3]</sup>、司江英等<sup>[4]</sup>和沈奕昕等<sup>[5]</sup>研究表 明,Cd、Pb和Cu主要分布在玉米的细胞壁区域,其次 为细胞溶质部分,细胞器中分布很少,目植物根部的 金属含量明显高于茎叶部分。Hou等<sup>66</sup>研究发现,芥 菜和小白菜的根部 V 的 73.4%~78.6%、茎中的 74.9%~ 79.8%、叶片中的86.6%~93.2%积累在细胞壁和可溶 性部分,这表明在植物V积累和解毒过程中,细胞壁 和液泡共同起作用。细胞壁是重金属进入细胞的第 一道屏障,它阻止了重金属离子进入细胞质,这种抑 制能力直接反映了植物对重金属的耐受性。研究植 物亚细胞中重金属的分布,对于揭示金属对植物的毒 理和植物耐受性具有重要意义。非蛋白巯基(NPT) 是防止植物受到重金属毒害的植物体内重要组成部 分。非蛋白巯基化合物主要包括谷胱甘肽(GSH)、植 物螯合素(PCs)和半胱氨酸(Cvs)等,是植物去除重金 属的主要成分,重金属与巯基类物质的络合是植物对 重金属胁迫的响应<sup>[7]</sup>。PCs是富含半胱氨酸的多肽物 质,其主要生理功能是PCs通过与细胞内-SH基团反 应形成毒性更低的金属络合物,并将其存储在细胞液 泡中,避免游离的重金属离子迁移至细胞质中,从而 降低毒性作用。Aborode等<sup>[8]</sup>研究表明GSH和PCs在 拟南芥的亚硒酸盐和砷酸盐解毒中起着重要作用。 李冬琴等19研究表明,NPT可与水稻中的Cd螯合从而 降低Cd的毒性。可见,不同植物在不同的重金属胁 迫下产生不同的巯基蛋白质,这些巯基化合物对于植 物自身的解毒机制起重要作用。

V被认为是植物生长非必需的微量元素。低浓 度V会促进植物生长发育,但高浓度V对植物产生毒 性作用[10-11]。研究表明,V对植物更具有流动性和毒 性[12]。近年来,V污染对土壤和生物的影响引起了人 们的关注。Imtiaz等[13]研究表明,V显著增加了所有 基因型鹰嘴豆的酶活性,降低了蛋白质含量、植物的

生物量以及根和茎的长度,植物根部积累了大量的 V。Saco等<sup>[14]</sup>和Yang等<sup>[15]</sup>研究表明,从营养生长到生 殖生长,菜豆和大豆均受到了V的影响。V主要积累 在植物的根中,只有低于20%转运至地上部分。随 着土壤中V浓度的增加,细胞壁中V浓度与根中总V 浓度的比值也随之增加,植物可能产生自我防御系统 以承受V毒性。Tian等<sup>[16]</sup>研究表明,大白菜中的V从 根到叶部的转运极低,但土壤中活动性最高的V通常 为五价态,而叶片中的V(W)占优势(占总V的60%~ 80%),表明大白菜中V具有生物还原性。中国的V 产量占全球V产量的57%,在中国西南部有26.49%的 土壤被V污染<sup>[17]</sup>,广西岩溶地区的独特环境条件使土 壤中全V和可溶态V含量较高,其耕层土壤中V含量 平均值达106.28 mg·kg<sup>-1</sup>,个别地区石灰岩土壤背景高 达565.7 mg·kg<sup>-1[18]</sup>,这有可能使V在作物中积累,进而 影响人体健康。近年来人们关注到V对蔬菜类植物生 长的影响,而粮食作物的研究较少,尤其是作物本身对 V 的解毒机理罕见报道。甜玉米是华南地区广泛种植 的农作物,保证甜玉米的优质高产是这个新兴农业优 势产业可持续发展的基础。因此,本文以甜玉米为研 究对象,在以往的水培研究成果199基础上,通过在土壤 中施加外源V,研究了盆栽试验培养模式下,V在玉米 植物体内的生物积累、V的亚细胞分布和非蛋白巯基 化合物对V的响应差异,旨在从细胞分子水平探讨V 在植物中的生物学效应,阐明植物的耐性机制,为环境 中V污染的风险评估和预防提供科学依据。

#### 材料与方法 1

#### 1.1 材料

以桂林理工大学雁山校区附近农田土壤作为盆 栽试验用土壤,土壤部分理化性质的测定参考刘光崧 等[20]文献,结果见表1。

土壤经风干,除去石块和垃圾,每盆(上直径×下 直径×高:27 cm×17 cm×23 cm)称取过筛(3.2 mm)后 的土壤7 kg,每千克土壤施用 N[CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>] 0.2 g、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)0.2 g、K<sub>2</sub>O(K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)0.1 g作为底肥,这些分析 纯试剂均以粉末形式与土壤混匀。

供试玉米(Zea mays L.)种子为正甜68超甜玉米

表1 土壤部分埋化性/
-------------

	Table 1 Physical and chemical properties of the soil									
рН	有机质 Organic matter/g·kg <sup>-1</sup>	阳离子交换量CEC/ cmol·kg <sup>-1</sup>	全氮 Total N/ g•kg <sup>-1</sup>	全磷 Total P/ g•kg <sup>-1</sup>	全钾 Total K/ g•kg <sup>-1</sup>	全钒 Total V/ mg•kg <sup>-1</sup>				
5.51	9.05	6.98	0.91	0.76	13.5	95.17				

966

种子(广东金作农业科技有限公司)。

#### 1.2 试验处理

盆栽试验共设计5个不同的V处理(0、100、200、 300、500 mg V·kg<sup>-1</sup>土壤),分别以NH4VO<sub>3</sub>(AR)固体 粉末的形式加入,每个处理6个重复,每盆土壤充分 混匀后陈化平衡7d,备用。

挑选籽粒饱满的甜玉米种子,用0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>消毒 30 min,洗净,用纯水浸泡6h后于30℃烘箱中催芽, 将已萌发小芽的玉米种子播种于盆栽土壤中,所有盆 都随机排列并偶尔改变位置。待幼苗长至3片叶,每 盆定为5株,按大田栽培管理要求,按期浇水以保持 土壤湿度。当甜玉米幼苗生长至5片叶时(约38d), 收获每个处理的4盆玉米植株,另外2盆在玉米含苞 结籽后再收获(约93 d)。第一次收获的植物分成根 和茎叶(幼苗期)用水洗净(根部用0.1 mol·L<sup>-1</sup>EDTA 溶液浸泡15 min,以除去表面吸附的金属离子,再用 水洗净),再用纯水洗涤2次。将样品分成两部分,一 部分样品(2盆10株)用吸水纸吸干植物表面水分后, 剪碎混合,分别准确称取每份1.000g的植物鲜样,置 于-20 ℃冰箱中保存,用于 V 的亚细胞分布和非蛋白 巯基含量的分析测定。第二次收获的植株分为根、 茎、叶和子实(成熟期),如上述方法洗净后,将样品 (包括第一次收获的另2盆样品)放入烘箱100℃杀青 10 min,置于 60 ℃烘箱 3 d。用分析天平记录植物干 质量后,将样品制成粉末状,放入干燥器以备测定V 含量。

试验所用试剂均为分析纯,水为重蒸馏水。

#### 1.3 测定内容与方法

1.3.1 V的亚细胞分级

取出上述预处理好的新鲜(或冰冻)植物样,将 根、茎叶分别剪碎,将样品与提取液[0.25 mol・L<sup>-1</sup>蔗 糖+50 mmol・L<sup>-1</sup> Tris-HCl缓冲液(pH7.5)+1 mmol・L<sup>-1</sup> 二硫苏糖醇(C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>)]按1:10(g:mL)的比例混合, 在冰浴中用玛瑙研钵将样品研磨成匀浆,按下列步骤 进行细胞组分逐级离心分离:匀浆液在1500 r・min<sup>-1</sup> 下离心 20 min,沉淀为细胞壁及未破碎残渣(F<sub>1</sub>);上 清液在 2500 r・min<sup>-1</sup>下离心 10 min,沉淀为细胞核 (F<sub>2</sub>);上清液在10 000 r・min<sup>-1</sup>下离心 30 min,沉淀为 线粒体和叶绿体(F<sub>3</sub>);上清液为核蛋白和可溶性组分 (F<sub>4</sub>)。全部操作在4℃下进行。

1.3.2 非蛋白巯基(NPT)、谷胱甘肽(GSH)和植物螯 合态(PCs)含量的测定

在研钵中放入1g鲜样组织,加液氮研磨,加入预

冷的50g·L<sup>-1</sup>磺基水杨酸(SSA,含6.3 mmol·L<sup>-1</sup>DTPA, pH<1)3 mL和少量石英砂,冰浴研磨至匀浆。在4℃ 11 000 r·min<sup>-1</sup>下离心15 min,收集上清液定容至5 mL,4℃冷藏,按Keltjens等<sup>[21]</sup>的5,5′-二硫代双(2-硝 基苯甲酸)(DTNB)比色法测定NPT含量。在研钵内放 入1g鲜样组织,加入预冷的50g·L<sup>-1</sup>三氯乙酸(TCA)3 mL和少量石英砂,冰浴研磨至匀浆,按上述方法离心 并收集上层清液,测定GSH含量。试验结果均为3次 重复试验的平均值。植物螯合肽(PCs)含量的测定:

 PCs含量=NPT总量 - GSH含量
 (1)

 1.3.3 V含量的测定
 (1)

准确称取一定量的植物样品粉末和已蒸干浓缩的不同亚细胞组分,分别用HNO<sub>3</sub>和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(V:V=2:1)在电热板上消解直至溶液澄清,纯水定容后用石墨炉原子吸收光谱法测定样品中V含量(GFAAS,novAA 400P,Analytik Jena AG)。试验结果为3次重复试验的平均值,采用生物组分分析标准参考物质菠菜(GBW10015,GSB-6)和柑橘叶(GBW10020,GSB-11)进行样品中V的质量控制。

#### 1.4 数据分析

转运系数(Translocation factor, TF)和富集系数 (Bioconcentration factor, BF)计算公式分别为:

TF=地上部V含量/地下部V含量<sup>[22]</sup> (2)

F=植物中V含量/十壤中V含量[23] ()	3)	)
	$\sim$ ,	,

使用 DPS 数据处理系统和 Microsoft Excel 2010 进行统计分析,并用 Duncan 多重性方法比较分析同 一品种不同处理间的差异显著性。所得结果表示为 平均值±标准偏差(平均值±SD,n=3)。

#### 2 结果与分析

#### 2.1 玉米植株的生物量

如表2所示,玉米植株的叶片占植株生物量的 11.7%~88.5%,茎占21.0%~34.2%,子实占14.6%~ 29.9%,根占10.8%~14.1%。不同生长期玉米植株各 器官生物量随V的胁迫浓度增大变化趋势不同。V 处理浓度增大,幼苗期玉米植株各器官生物量逐渐增 加,成熟期生物量则呈下降趋势。当V浓度在100~ 500 mg·kg<sup>-1</sup>,与对照相比较,幼苗期植物根和茎叶分 别增加8.5%~138.0%和27.2%~126.6%,而成熟期的 植物根、茎、叶和子实分别下降9.9%~31.8%、5.2%~ 38.4%、31.5%~60.9%和34.7%~51.4%。

#### 2.2 玉米不同器官中 V 的积累

由表3结果可见,在不同V浓度胁迫下,幼苗期

#### 农业环境科学学报 第39卷第5期

甜玉米各部分V积累量依次为:根>茎叶,成熟期则 为:根>叶>茎>>子实。多数V积累在根部,且根部V 含量远高于地上部。如图1所示,根部V含量约占总 量的74.8%~95.6%,茎叶部V含量约占总量的4.4%~ 24.6%,子实中V含量约占0.1%~0.6%,表明玉米植株 将V从地下部向地上部运输的能力较弱。随着V浓 度增大,植株各部分V含量均呈现上升趋势,但根部 增幅明显大于茎叶。土壤经过500 mg·kg<sup>-1</sup>V处理 后,与对照相比较,幼苗的根和茎叶中V含量显著增 加1635.7%和118.8%,成熟期的根、茎、叶和子实V 含量增加3342.6%、1681.5%、753.3%和403.3%。同 一生长期土壤经过不同浓度V处理,植物根部V含量 具有显著性差异(P<0.05)。此外,土壤中V浓度较低 (V<100 mg·kg<sup>-1</sup>)并不明显影响幼苗期茎叶、成熟期 叶和子实中V含量。

如表4所示,随着土壤中V浓度增加,各生长期 玉米植株V的富集系数(BF)逐渐增大,但转运系 数(TF)呈下降趋势。成熟期的BF(root/soil)明显高于幼

表2 不同 V 处理对玉米植株生物量分配的影响(g, 干质量)

Table 2 Dry biomass of different pa	arts of maize( <i>Zea mavs</i> L	) seedlings under	V stress(g,DW)
-------------------------------------	----------------------------------	-------------------	----------------

V处理浓度	幼苗期 Se	幼苗期 Seedling stage		成熟期 Maturity stage				
V concentration/mg $\cdot$ kg <sup>-1</sup>	根 Roots	茎叶 Shoots	根 Roots	茎 Stems	叶 Leaves	子实 Grains		
0	0.26±0.01c	1.74±0.01d	11.34±0.16a	34.18±0.28a	29.94±0.26a	29.95±0.20a		
100	$0.29 \pm 0.08 \mathrm{c}$	2.22±0.01c	$10.22\pm0.24b$	$32.38 \pm 0.20 \mathrm{b}$	$20.52{\pm}0.24\mathrm{b}$	$19.50\pm0.22\mathrm{b}$		
200	$0.48 \pm 0.01 \mathrm{b}$	$3.77 \pm 0.02 \mathrm{b}$	9.10±0.23c	30.52±0.27c	18.21±0.16c	18.32±0.16c		
300	$0.53 \pm 0.02 \mathrm{b}$	$3.86 \pm 0.01 \mathrm{b}$	8.63±0.15d	$26.48{\pm}0.20\mathrm{d}$	$15.41{\pm}0.17\mathrm{d}$	$16.10{\pm}0.22\mathrm{d}$		
500	0.63±0.04a	5.22±0.13a	7.73±0.15e	$21.06\pm0.18e$	11.70±0.22e	14.56±0.22e		

注:表中数据为"均值±标准差"(n=3)。采用Duncan法检验,同一列中不同字母代表有显著差异(P<0.05),DW表示"干质量"。下同。

Note: Values are means  $\pm$  SD (n=3). Duncan test is used. Different letters in the same column indicate significant differences (P<0.05) based on multiple comparisons, "DW" means "dry weight". The same below.

表3 不同生长时期玉米根、茎和叶中 V 含量 $(mg \cdot kg^{-1} DW)$ 

Table 3 V content in stems, leaves and roots of maize(Zea mays L.) plant in different growth periods(mg·kg<sup>-1</sup>DW)

V处理浓度 V concentration/mg·kg <sup>-1</sup>		幼苗期 Seedling stage				成熟期 Maturity stage							
		根 Ro	ots	茎叶 Sh	oots	根 Roots		茎 Stems	5	叶 Leaves	-	子实 G	rains
0		3.41±0.	.19e	0.75±0.	06d	$5.19{\pm}0.27\mathrm{e}$		0.48±0.04	d	1.23±0.09	d	0.04±0	.01d
100		9.53±0.	.40d	0.79±0.	01d	$21.91{\pm}0.34\mathrm{d}$		1.30±0.06	ie -	2.10±0.05	d	0.05±0	.01d
200		17.44±0	0.31c	1.13±0.	03c	46.23±0.55c		1.97±0.13	ie	4.37±0.16	c	0.09±0	.01c
300		28.01±0	.91b	1.65±0.	08b	$76.40{\pm}0.50\mathrm{b}$		3.05±0.23	b	5.98±0.43	b	0.13±0	.01b
500		59.16±0	<b>).</b> 41a	2.73±0.	12a	178.65±1.02a		8.57±0.09	a	10.45±0.30	)a	0.20±0	.02a
100 80 %/trantion of V content/例 90 40 - 0 - 0	0 V	100 「浓度 V con 成熟期」	200 centration. Maturity st	300 /mg·kg <sup>-1</sup> tage	500	函 子 一 例 子 一 の 人	Proportion of V content/%		100 V浓度V 幼	)  200 / concentrati 苗期 Seedlin,	300 on/mg•kg <sup>-1</sup> g stage		500
				根 Roots	□叶 Lea	ves 🛛 茎 Stem	s	⊠子实Grai	ns				

图1 玉米植株器官中V含量所占比例

Figure 1 Proportion of V content in organs of mazie(Zea mays L.) crops

苗期,表明根系在生长过程中积累了更多V。当土 壤中的V浓度为0mg·kg<sup>-1</sup>,BF(grain/soil)的最大值仅有 0.000 46,随着土壤 V浓度增加, BF(grain/soil)值先下降后 上升,但始终低于对照,可见子实对V富集能力很小。 在玉米生长期,不同V浓度胁迫时根到茎的TF(shoot/root) 和根到子实的TF(grain/root)差异较大。对于V处理过的 土壤,幼苗期和成熟期的根到茎叶的TF值[TF(shoot/root)] 以及成熟期的根到子实的TF值[TF(grain/root)],均明显小 于对照的TF值,随着V处理浓度的增加,玉米茎叶和 子实的TF显著下降。土壤V浓度从100 mg·kg<sup>-1</sup>到 500 mg·kg<sup>-1</sup>,与对照组相比,玉米幼苗期的TF(shoot/root) 值下降了 62.4% 和 79.2%, 成熟期的 TF(shoot/root) 下降 53.1% 和68.1%,并且TF(grain/root)值较小(均小于0.01), 表明V从玉米根到子实的转运极少。可见,随着V胁 迫浓度增大,玉米植株积累V的能力增强,由于植物 根部固持V的能力增强,减少了V从根部向地上部分 的运输,转运能力逐渐降低。

### 2.3 V在玉米幼苗中的亚细胞分布

V在玉米幼苗的亚细胞分布结果如表5、图2所

示。玉米植株茎叶中V主要分布在细胞壁(F<sub>1</sub>)和可溶性组分(F<sub>4</sub>),分别占总量的31.94%~64.86%和10.89%~28.82%,在细胞核(F<sub>2</sub>)和叶绿体、线粒体组分(F<sub>3</sub>)中分配较少,仅占14.54%~19.07%和9.71%~20.17%。随着V胁迫浓度增大,玉米茎叶中V在F<sub>1</sub>的含量明显增加,而在F<sub>4</sub>中的含量显著降低,F<sub>2</sub>和F<sub>3</sub>的含量变化较小。

植物根部 V 的亚细胞组分分配与地上部明显不同,升高的 V 浓度被可溶性组分(F<sub>4</sub>)吸收,其次是细胞壁(F<sub>1</sub>),F<sub>1</sub>和 F<sub>4</sub>之和占总量的 82.66%~87.02%。随着 V 胁迫浓度增加,根中 V 在 F<sub>1</sub>和 F<sub>4</sub>中的分配变化与茎叶相同,当 V 浓度从 100 mg·kg<sup>-1</sup>增加到 500 mg·kg<sup>-1</sup>,F<sub>1</sub>的比例从 28.06%增加到 54.36%,而 F<sub>4</sub>的比例 从 57.37%降到 30.36%,F<sub>2</sub>和 F<sub>3</sub>的比例变化不大,二者 之和占总量的 12.98%~17.34%。

#### 2.4 V胁迫对玉米中NPT、GSH和PCs含量的影响

玉米幼苗中非蛋白巯基(NPT)含量对比如图 3 (A)所示,可以看出,随着 V浓度增大,茎叶和根中 NPT含量均为先上升后下降,且茎叶中 NPT含量增加

|--|

Table 4 Bioconcentration factor(BF) and translocation factor(TF) of V in different growth periods of maize(Zea mays L.) plant

v hun we me	幼苗期 See	edling stage	成熟期 Maturity stage			
V 处理依度	富集系数	转运系数	根富集系数	子实富集系数	转运系数	转运系数
	$BF_{(\text{root/soil})}$	$TF_{(\text{shoot/root})}$	$BF_{(root/soil)}$	$BF_{(grain/soil)}$	$TF_{(\text{shoot/root})}$	$TF_{(\rm grain/root)}$
0	0.040	0.222	0.061	0.000 46	0.336	0.007 6
100	0.052	0.083	0.119	0.000 26	0.158	0.002 2
200	0.061	0.065	0.162	0.000 31	0.139	0.001 8
300	0.073	0.059	0.199	0.000 34	0.120	0.001 7
500	0.101	0.046	0.306	0.000 35	0.108	0.001 1

#### 表5 玉米幼苗茎叶和根亚细胞组分中的V含量 $(mg \cdot kg^{-1}$ 鲜质量)

Table 5 V content in the subcellular fractions in shoots and roots of maize (Zea mays L.) seedlings under V stress(mg·kg<sup>-1</sup> FW)

V处理浓度 V concentration/mg·kg⁻¹		细胞壁 Cell wall(F <sub>1</sub> )	细胞核 Nucleus(F <sub>2</sub> )	线粒体和叶绿体 Mitochondrion and chloroplast(F <sub>3</sub> )	可溶性组分 Soluble fraction(F <sub>4</sub> )
茎叶Shoots	0	0.084±0.002c	0.050±0.002c	0.053±0.001c	$0.076 \pm 0.003 \mathrm{b}$
	100	$0.166 \pm 0.008c$	0.070±0.001c	$0.061 \pm 0.004 \mathrm{c}$	$0.101 \pm 0.009 \mathrm{b}$
	200	$0.204 \pm 0.007 c$	$0.081 \pm 0.004 c$	$0.067 \pm 0.002 \mathrm{c}$	$0.114 \pm 0.021 \mathrm{b}$
	300	$0.795{\pm}0.026\mathrm{b}$	$0.243{\pm}0.017\mathrm{b}$	$0.205 \pm 0.014 \mathrm{b}$	0.321±0.019a
	500	2.055±0.110a	0.461±0.010a	0.308±0.023a	0.345±0.016a
根 Roots	0	$0.176 \pm 0.108 e$	$0.040{\pm}0.002{\rm d}$	$0.045\pm0.004\mathrm{d}$	$0.397 \pm 0.017 e$
	100	0.662±0.021d	$0.168{\pm}0.010\mathrm{d}$	0.175±0.004 5d	1.353±0.061d
	200	$1.913 \pm 0.033 c$	$0.484 \pm 0.038 c$	0.553±0.056c	$3.030 \pm 0.220 c$
	300	4.601±0.045b	$0.941{\pm}0.044\mathrm{b}$	$0.917 \pm 0.065 \mathrm{b}$	$4.996 \pm 0.300 \mathrm{b}$
	500	13.895±0.239a	1.979±0.045a	1.928±0.173a	7.760±0.278a



□ 细胞壁 Cell wall □ 细胞核 Nucleus ☑ 线粒体和叶绿体 Mitochondrion and chloroplast □ 可溶性组分 Soluble fraction
 图 2 玉米幼苗中 V 的亚细胞组分分配比例

Figure 2 Percentages of subcellular fractions of V in maize(Zea mays L.) seedlings

明显,根部变化平缓。茎叶和根中NPT在V浓度为 300 mg·kg<sup>-1</sup>时达最大值,分别为2.47 μmol·g<sup>-1</sup>和1.61 μmol·g<sup>-1</sup>,相比于对照增加了32.88%和20.24%,当V 浓度大于300 mg·kg<sup>-1</sup>,NPT含量下降,仍然高于对照, 茎叶比对照增加了5.76%,而根系与对照比较没有显 著性差异(*P*<0.05)。

从图 3(B)中可以看出,随着 V 胁迫浓度增大,玉 米幼苗茎叶和根中谷胱甘肽(GSH)含量逐渐降低,在 V 浓度为 100 mg·kg<sup>-1</sup>和 500 mg·kg<sup>-1</sup>,与对照相比较, 茎叶中 GSH含量下降了 16.7% 和 82.6%,根中 GSH含 量下降了 13.1% 和 38.3%,茎和根的平均降幅分别为 45.9% 和 23.6%。不同 V 浓度处理下,玉米幼苗各部 分 GSH 含量差异达显著性水平(*P*<0.05)。与 NPT 不 同,根部 GSH 含量高于地上部。

同NPT相似,随着V胁迫浓度增加,植物螯合肽 (PCs)含量呈先增加后降低的变化趋势(图3C),V胁 迫使得PCs主要积累在玉米的茎叶部。在V浓度为 300 mg·kg<sup>-1</sup>,茎叶和根中PCs含量达最大值1.88 µmol·g<sup>-1</sup>和0.54 µmol·g<sup>-1</sup>,相比于对照增加207.9%和 600.2%,可见,根系PCs含量的增幅远大于茎叶(P< 0.05)。当V浓度大于300 mg·kg<sup>-1</sup>,PCs含量下降,但 仍远高于对照。茎叶中PCs含量远高于根中PCs含 量,各V处理下玉米茎叶和根中PCs含量存在显著性 差异(P<0.05)。

#### 3 讨论

植物生物量一定程度上反映植物的生长活力,常 作为敏感植物对逆境的响应参数并用于测量植物对 金属胁迫的耐性。和Tian等<sup>116</sup>研究的V对大白菜生

长的影响结果相似,在玉米幼苗期,植物生命力旺盛, 适量外源V激发了自身的防御系统,并刺激了新陈代 谢机能,促进了作物生长,所以,在一定范围内随着V 胁迫浓度增大,玉米植株各器官生物量增加。这种影 响也可能是土壤施加外源V时,由于加入的钒酸铵的 量增加,土壤中有效氮含量升高,而苗期土壤钒的生 物有效性较低,因此随着土壤V浓度增加,玉米植株 各器官生物量增加。当玉米植株发育到了成熟期,子 实迅速生成,成为光合产物的运输和转移中心,干质 量不再增加(表3)。此时,植物积累V含量超过自身 的防御能力,会伤害植物细胞结构,破坏其生理代谢 功能,所以,V胁迫明显抑制植株生长发育,植物叶片 出现卷缩和发黄,生物量显著下降,这与先前 Imtiaz 等<sup>[13]</sup>研究 V 使鹰嘴豆生物量明显下降相同。表明在 逆境下,重金属胁迫激活了植物代谢系统,加速了自 身对重金属的吸收,反过来又抑制了植物的代谢活 动,对植物产生毒害作用[24]。

玉米植物中V的分布(表3、图1)表明,玉米不同 器官对V的积累能力不同。随着V胁迫浓度增加,植 物根系对V的吸收显著增加,使得V在植物体内的分 布规律表现为,在新陈代谢旺盛的器官(如根部)蓄积 量较大,而在营养储存器官(如茎部、叶片)蓄积量则 较少,这与Yang等<sup>[15]</sup>和Qian等<sup>[25]</sup>研究结果一致。玉 米根中V含量较高,可能与V进入玉米作物根皮层细 胞后,与细胞中的蛋白质、多糖类和核酸等结合形成 稳定的大分子螯合物或不稳定性有机大分子而沉积 有关,根已被证明是一个屏障,限制了金属从根运输 到茎叶,从而减少了V对玉米茎叶的伤害<sup>[14]</sup>。随着V 胁迫浓度升高,富集系数BF值增加,转运系数





TF(shoot/root)和TF(grain/root)值明显下降,BF和TF值均小于 0.5,可见玉米植株对V的富集能力较低,且有较强的 阻止V从根系向地上部转运的能力,缓解了V对植物 的毒害。玉米将V从根部转运到子实中的能力极低 [TF(grain/root)<0.01],说明玉米根系对V的固持可以降低 V通过食物链对人体造成的危害。事实证明,根中V 含量高于其他组织中的V含量是玉米的重要耐受机 制。与非耐性植物相比,耐金属植物的根中总是积累 较高浓度的有毒金属,而茎叶中则较低<sup>[26]</sup>,所以玉米 是V的耐性植物。

#### 农业环境科学学报 第39卷第5期

金属在植物组织中的选择性分布,对于植物是否 受到有毒金属损伤具有重要的意义。玉米幼苗茎叶 和根中V大多数积累在细胞壁,其次是可溶性组分. 两者占总V的65%(茎叶)和85%(根)以上,表明细胞 对玉米作物的耐受性起重要作用。这与关于Cd在生 菜和萝卜中亚细胞分布报道一致[27-28]。在亚细胞水 平上,细胞壁沉积和液泡区域化被认为是最重要的两 种重金属解毒机制<sup>[26,29]</sup>,V在根和茎叶的细胞壁组分 中比例较高(图2.F.比例高达50%以上),表明细胞 壁是储存V的重要部位,能束缚V并限制跨膜转运, 以维持植物细胞中正常生理活动。当细胞壁中结合 位点达饱和后,V将进入植物细胞和液泡中<sup>[30]</sup>。液泡 中含有多种蛋白质、有机酸和有机碱。它们可以与V 结合形成螯合物将 V 限制在液泡中[31-32],从而降低过 量 V 对植物的影响。试验还发现,在高浓度 V 胁迫 下,植物细胞壁中V比例显著增加,可溶性组分比例 减少,两组分比例之和保持稳定(图2),这进一步说 明,大部分V可能与细胞壁结合或积聚在空泡中,使 得细胞质的区隔化作用增强,可以有效抵御高浓度V 进入细胞器组分。这既有利于满足植物体细胞对微 量元素V的需求,又减轻了过量V对细胞器的伤害, 从而保证维持植物细胞的正常生理代谢功能。前 述可知,V在玉米幼苗根中积累的比例很高(图1,占 V总量的74.8%~95.6%), 而根细胞中, 以细胞壁(F<sub>1</sub>) 和可溶性组分(F<sub>4</sub>)为主要组分的亚细胞分布保留了 大部分V(图2,占根中V总量的82.66%~87.02%),这 就抵抗了V从根向茎叶的转运,有助于减少V对植物 的伤害。所以,V在玉米植物中的亚细胞分布规律体 现了玉米幼苗对V的耐性反应。

巯基化合物在植物的金属耐受机制中起重要作用<sup>[26]</sup>。NPT的合成是由细胞中的各种金属和准金属 诱导的,主要通过螯合金属离子来实现防御金属毒 性<sup>[33]</sup>,玉米幼苗内不同部位NPT含量反映植物对V的 耐受能力。Mahdavian等<sup>[34]</sup>发现,Pb暴露能诱导骆驼 蓬的NPT显著增加。随着V胁迫浓度增加,玉米幼苗 根和茎叶中NPT含量增加,而茎叶中NPT增加得更 多,茎叶部NPT含量显著高于根部,可见,V显著促进 玉米茎叶部非蛋白巯基化合物的合成,以修复和保护 蛋白质的-SH基团免受金属毒性而不被氧化,减轻重 金属对植物的毒害。

GSH作为植物中最重要的非蛋白巯基化合物和 最丰富低分子量多肽,总是直接或间接地(作为酶和 PCs的底物)参与植物抗逆性,它是细胞中关键非酶 抗氧化剂,能清除几种潜在的有毒ROS(例如O5. 或·OH),并帮助细胞应对由氧化所引起的氧化应 激[35]。在金属毒性情况下,有毒金属离子具有高度活 性并且与生物分子-SH基团具有高亲和力,细胞通过 合成植物螯合素 PCs,减少细胞质中游离金属离子浓 度来保护基本生物分子(如蛋白质)的-SH基 团<sup>[26,36-37]</sup>。本研究中,在V暴露下玉米幼苗中GSH降 低,而PCs含量显著增加,植物消耗大量的GSH来合 成PCs用于解毒,显然,GSH在预防V损伤中起重要 作用。尽管由于GSH合成的减少而更多形成了可与 V 螯合的 PCs, 但随着 V 胁迫浓度增加(>500 mg· kg<sup>-1</sup>),会使GSH减少到足以对其他细胞过程产生有 害影响,这将对植物存在潜在危害,最终表现为抑制 生长。由于茎叶有比根更高的 NPT 浓度以消耗 GSH 浓度,因此在玉米内部对V具有更高耐受性可归因于 PCs对V的螯合能力增强。可见,在玉米植物的解毒机 制中,在V胁迫下PCs似乎比GSH发挥更强的作用。

#### 4 结论

(1)玉米植株根部积累V含量显著高于茎叶部, 大大降低了V由根部向茎叶和子实的转运,避免了过量V对植物的损伤。

(2)在外源V的胁迫下,玉米体内V在细胞壁沉 积和液泡区室化作用,以及NPT、GSH和PCs对V的 螯合,是重要的解毒机制。

(3)玉米植株能将吸收的V隔离在植物根部,未 表现出明显的中毒症状,玉米是V的耐性植物。

#### 参考文献:

[1] 李江遐,张 军,马友华,等. 硅对镉胁迫条件下两个水稻品种镉亚 细胞分布、非蛋白巯基物质含量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(6):1066-1071.

LI Jiang-xia, ZHANG Jun, MA You-hua, et al. Effects of silicon on cadmium subcellular distribution and non-protein thiol matrix content of two rice varieties under cadmium stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(6):1066-1071.

- [2] Mwamba T M, Li L, Gill R A, et al. Differential subcellular distribution and chemical forms of cadmium and copper in *Brassica napus*[J]. *Ecotox Environ Safe*, 2016, 134:239–249.
- [3] Zhang X F, Hu Z H, Yan T X, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate Cd phytotoxicity by altering Cd subcellular distribution and chemical forms in *Zea mays*[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 171:352-360.
- [4] 司江英, 赵海涛, 汪晓丽, 等. 不同铜水平下玉米细胞内铜的分布和

化学形态的研究[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(2):452-456. SI Jiang-ying, ZHAO Hai-tao, WANG Xiao-li, et al. Effects of different copper levels on subcellular distribution and chemical forms of copper in maize cells[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27 (2):452-456.

- [5] 沈奕昕,李 元,祖艳群,等.不同玉米(Zea mays L.)品种根细胞壁 多糖对 Pb胁迫的响应[J]. 生态环境学报, 2018, 27(5):950-956. SHEN Yi- xin, LI Yuan, ZU Yan-qun, et al. Responses of polysaccharide in root cell wall of maize (Zea mays L.) cultivars to Pb stress[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2018, 27(5):950-956.
- [6] Hou M, Hu C, Xiong L, et al. Tissue accumulation and subcellular distribution of vanadium in *Brassica juncea* and *Brassica chinensis*[J]. *Microchemical Journal*, 2013, 110:575-578.
- [7] Song W Y, Mendoza-Cózatl D G, Lee Y, et al. Phytochelatin-metal (loid) transport into vacuoles shows different substrate preferences in barley and *Arabidopsis*[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2014, 37 (5): 1192–1201.
- [8] Aborode F A, Raab A, Voigt M, et al. The importance of glutathione and phytochelatins on the selenite and arsenate detoxification in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2016, 49: 150– 161.
- [9] 李冬琴, 王丽丽, 李智鸣, 等. 镉胁迫对高低积累型水稻幼苗非蛋白 巯基含量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(12):2697-2704. LI Dong-qin, WANG Li-li, LI Zhi-ming, et al. Effects of cadmium stress on non-protein sulfhydryl content of high and low accumulation rice seedlings[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2019, 38(12): 2697-2704.
- [10] Sánchez T, Martín S, Saco D. Some responses of two Nicotiana tabacum L. cultivars exposed to vanadium[J]. Journal of Plant Nutrition, 2014, 37(5):777-784.
- [11] Hou M, Li M, Yang X, et al. Responses of nonprotein thiols to stress of vanadium and mercury in maize (*Zea mays L.*) seedlings[J]. *Bulle*tin of Environmental Contamination and Toxicology, 2019, 102(3): 425-431.
- [12] Larsson M A, Baken S, Gustafsson J P, et al. Vanadium bioavailability and toxicity to soil microorganisms and plants[J]. *Environmental Toxi*cology and Chemistry, 2013, 32(10):2266–2273.
- [13] Imtiaz M, Tu S, Xie Z, et al. Growth, V uptake, and antioxidant enzymes responses of chickpea(*Cicer arietinum* L.) genotypes under vanadium stress[J]. *Plant and Soil*, 2015, 390(1/2):17–27.
- [14] Saco D, Martín S, San Jose P. Vanadium distribution in roots and leaves of *Phaseolus vulgaris*: Morphological and ultrastructural effects
   [J]. *Biologia Plantarum*, 2013, 57(1):128–132.
- [15] Yang J, Wang M, Jia Y, et al. Toxicity of vanadium in soil on soybean at different growth stages[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 231:48– 58.
- [16] Tian L, Yang J, Alewell C, et al. Speciation of vanadium in Chinese cabbage(*Brassica rapa* L.) and soils in response to different levels of vanadium in soils and cabbage growth[J]. *Chemosphere*, 2014, 111: 89–95.
- [17] Yang J, Teng Y, Wu J, et al. Current status and associated human

农业环境科学学报 第39卷第5期

health risk of vanadium in soil in China[J]. Chemosphere, 2017, 171: 635-643.

[18] 中国环境监测总站. 中国土壤元素背景值[M]. 北京:环境科学出版社, 1990.

China National Environmental Monitoring Station. Background value of soil elements in China[M]. Beijing: Environmental Science Press, 1990.

- [19] 侯 明,杨心瀚,霍 岩,等. 钒在不同品种玉米幼苗中的亚细胞 分布和动态变化[J]. 生态环境学报, 2019, 28(11):2299-2306.
  HOU Ming, YANG Xin-han, HUO Yan, et al. Subcellular distribution and dynamic changes of vanadium in different maize varieties seedlings[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2019, 28(11):2299-2306
- [20] 刘光崧,蒋能慧,张连第,等.土壤理化分析与剖面描述[M].北京:中国标准出版社,1996.
   LIU Guang-song, JIANG Neng-hui, ZHANG Lian-di, et al. Soil physical and chemical analysis[M]. Beijing: China Standard Press, 1996.
- [21] Keltjens W G, Van Beusichem M L. Phytochelatins as biomarkers for heavy metal stress in maize (*Zea mays L.*) and wheat (*Triticum aestivum L.*): Combined effects of copper and cadmium[J]. *Plant and Soil*, 1998, 203(1):119–126.
- [22] Tanhan P, Kruatrachue M, Pokethitiyook P, et al. Uptake and accumulation of cadmium, lead and zinc by Siam weed [*Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson][J]. *Chemosphere*, 2007, 68(2):323–329.
- [23] Tiwari K K, Singh N K, Patel M P, et al. Metal contamination of soil and translocation in vegetables growing under industrial wastewater irrigated agricultural field of Vadodara, Gujarat, India[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2011, 74(6):1670–1677.
- [24] Patra M, Bhowmik N, Bandopadhyay B, et al. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2004, 52(3):199-223.
- [25] Qian Y, Gallagher F J, Feng H, et al. Vanadium uptake and translocation in dominant plant species on an urban coastal brownfield site[J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 476:696–704.
- [26] Weng B, Xie X, Weiss D J, et al. Kandelia obovata(S. L.) Yong tolerance mechanisms to cadmium: Subcellular distribution, chemical forms and thiol pools[J]. Marine Pollution Bulletin, 2012, 64 (11) : 2453–2460.
- [27] 贾月慧, 韩莹琰, 刘 杰, 等. 生菜对镉胁迫的生理响应及体内镉
   的累积分布[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(8):1610-1618.
   JIA Yue-hui, HAN Ying-yan, LIU Jie, et al. The physiological re-

sponse of lettuce to cadmium stress and the accumulation and distribution of cadmium in the body[J]. *Journal of Agro–Environment Science*, 2018, 37(8):1610–1618.

- [28] Xin J, Zhao X H, Tan Q L, et al. Comparison of cadmium absorption, translocation, subcellular distribution and chemical forms between two radish cultivars (*Raphanus sativus L.*)[J]. *Ecotoxicology and Envi*ronmental Safety, 2017, 145:258-265.
- [29] Zhang H Z, Guo Q J, Yang J X, et al. Subcellular cadmium distribution and antioxidant enzymatic activities in the leaves of two castor (*Ricinus communis* L.) cultivars exhibit differences in Cd accumulation[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, 120:184–192.
- [30] Rodríguez-Rosales M P, Jiang X, Gálvez F J, et al. Overexpression of the tomato K\*/H\* antiporter LeNHX2 confers salt tolerance by improving potassium compartmentalization[J]. *New Phytologist*, 2008, 179 (2):366–377.
- [31] Zhao Y, Wu J, Shang D, et al. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in the edible seaweed, *Porphyra yezoensis*[J]. *Food Chemistry*, 2015, 168:48–54.
- [32] Fu Q, Lai J, Tao Z, et al. Characterizations of bio-accumulations, subcellular distribution and chemical forms of cesium in *Brassica juncea*, and *Vicia faba*[J]. *Journal of Environmental Radioactivity*, 2016, 154: 52-59.
- [33] Wei Z, Wong J W, Chen D. Speciation of heavy metal binding nonprotein thiols in Agropyron elongatum by size-exclusion HPLC-ICP-MS[J]. Microchemical Journal, 2003, 74(3):207-213.
- [34] Mahdavian K, Ghaderian S M, Schat H. Pb accumulation, Pb tolerance, antioxidants, thiols, and organic acids in metallicolous and nonmetallicolous *Peganum harmala* L. under Pb exposure[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2016, 126:21–31.
- [35] Bhoomika K, Pyngrope S, Dubey R S. Effect of aluminum on protein oxidation, non-protein thiols and protease activity in seedlings of rice cultivars differing in aluminum tolerance[J]. *Journal of Plant Physiol*ogy, 2014, 171(7):497-508.
- [36] Sun Q, Wang X R, Ding S M, et al. Effects of interactions between cadmium and zinc on phytochelatin and glutathione production in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 2005, 20(2):195–201.
- [37] Vázquez S, Goldsbrough P, Carpena R O. Comparative analysis of the contribution of phytochelatins to cadmium and arsenic tolerance in soybean and white lupin[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2009, 47(1):63-67.