

叶面喷施2,3-二巯基丁二酸降低水稻幼苗茎叶镉含量的机制

王晓丽, 王常荣, 刘仲齐, 黄益宗, 孔维勇, 黄永春, 刘斌

引用本文:

王晓丽, 王常荣, 刘仲齐, 黄益宗, 孔维勇, 黄永春, 刘斌. 叶面喷施2,3-二巯基丁二酸降低水稻幼苗茎叶镉含量的机制[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(5): 974-983.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0861>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

叶面喷施二巯基丁二酸对晚稻籽粒镉及矿质元素含量的影响

杨晓荣, 黄永春, 刘仲齐, 王常荣, 张长波

农业环境科学学报. 2019, 38(8): 1802-1808 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0588>

生菜对镉胁迫的生理响应及体内镉的累积分布

贾月慧, 韩莹琰, 刘杰, 高凡, 梁琼, 俞萍, 刘超杰, 张鑫, 苏博伟

农业环境科学学报. 2018, 37(8): 1610-1618 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0033>

镉在黄瓜幼苗中的化学形态及亚细胞分布

闫雷, 朱园辰, 陈辰, 张思佳, 丁宫尧, 喇乐鹏, 曲娟娟

农业环境科学学报. 2019, 38(8): 1864-1871 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0395>

海藻糖对镉胁迫下水稻幼苗生长的影响

李昉峻, 周其文, 漆新华, 宋正国

农业环境科学学报. 2019, 38(8): 1827-1834 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0114>

镉胁迫下硅对水稻幼苗生长与生理响应的影响

李天哲, 陈爱婷, 李彩, 杨丹, 何娜, 刘鸣达

农业环境科学学报. 2018, 37(6): 1072-1078 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1526>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

王晓丽, 王常荣, 刘仲齐, 等. 叶面喷施2,3-二巯基丁二酸降低水稻幼苗茎叶镉含量的机制[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(5): 974–983.

WANG X L, WANG C R, LIU Z Q, et al. Mechanism of foliar spraying of 2,3-dimercaptosuccinic acid (DMSA) affects cadmium content in shoots of rice seedlings[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(5): 974–983.

叶面喷施2,3-二巯基丁二酸降低水稻幼苗茎叶镉含量的机制

王晓丽¹, 王常荣¹, 刘仲齐¹, 黄益宗¹, 孔维勇¹, 黄永春^{1*}, 刘斌^{2*}

(1. 农业农村部环境保护科研监测所, 天津 300191; 2. 广西农业科学院农业资源与环境研究所, 南宁 537000)

摘要:为探寻叶面喷施2,3-二巯基丁二酸(DMSA)降低水稻幼苗茎叶镉含量的潜在机制,在人工气候室内,采用水培实验方法研究了镉在幼苗不同部位的累积情况及喷施DMSA对镉胁迫的影响。结果表明:随着DMSA喷施浓度增加,茎基镉含量呈显著增加趋势,当DMSA喷施浓度达到 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时茎基镉含量与对照(不喷施DMSA)处理相比显著增加57.3%,同时镉由茎基向地上部的转移效率降低52.7%。在此基础上,探寻了镉在茎基细胞中的赋存形态及镉的亚细胞分布情况,结果表明茎基中难溶态镉含量与对照处理相比显著增加了80.8%,细胞壁中镉含量达到对照处理的2.1倍。进一步对细胞壁各组分镉含量进行测定发现,果胶组分中镉含量随着DMSA喷施浓度增加呈现出显著升高趋势,与对照处理相比最高增加99.5%。此外,喷施DMSA后茎基中总植物螯合素(PCs)和谷胱甘肽(GSH)含量均呈现出显著增加趋势,最高分别达到对照处理组的2.2倍和3.1倍。喷施DMSA显著缓解了镉胁迫,幼苗地上部超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性分别升至对照处理的3.0倍和2.7倍,荧光标记试验表明叶片中过氧化氢含量随DMSA喷施浓度增加呈现显著降低趋势。研究表明,喷施DMSA显著增加了水稻幼苗茎基巯基化合物含量,从而提高了对镉的拦截能力,降低了镉由茎基向幼苗地上部转运效率,使水稻幼苗地上部镉含量显著降低,同时喷施DMSA还可显著缓解幼苗镉胁迫。

关键词:水稻;镉;2,3-二巯基丁二酸;茎基;细胞壁

中图分类号:X173;X53;S511 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2023)05-0974-10 doi:10.11654/jaes.2022-0861

Mechanism of foliar spraying of 2,3-dimercaptosuccinic acid (DMSA) affects cadmium content in shoots of rice seedlings

WANG Xiaoli¹, WANG Changrong¹, LIU Zhongqi¹, HUANG Yizong¹, KONG Weiyong¹, HUANG Yongchun^{1*}, LIU Bin^{2*}

(1. Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin 300191, China; 2. Agricultural Resource and Environment Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 537000, China)

Abstract: In order to explore the potential mechanism of foliar spraying of 2,3-dimercaptosuccinic acid (DMSA) to reduce the cadmium (Cd) content in the stems and leaves of rice seedlings, the accumulation of Cd in different organs of the seedlings and the effects on Cd stress were studied in an artificial climate chamber by using a hydroponic experiment. The results showed that with the increase of DMSA spraying concentration, the Cd content of the shoot base significantly increased. When the DMSA spraying concentration reached $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, the Cd content of the shoot base significantly increased by 57.3% compared with the control treatment, and the transfer factor of Cd

收稿日期:2022-08-30 录用日期:2022-11-03

作者简介:王晓丽(1998—),女,河北保定人,硕士研究生,主要研究方向为重金属污染防治。E-mail:2830516430@qq.com

*通信作者:黄永春 E-mail:nylab@126.com;刘斌 E-mail:gxliubin@126.com

基金项目:国家自然科学基金项目(42077153);农业农村部环境保护科研监测所基本科研业务费(2021-HYC-11)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(42077153); Basic Scientific Research Expenses of Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs(2021-HYC-11)

from the shoot base to the shoot decreased by 52.7%. It was found that when the concentration of DMSA reached $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, insoluble Cd content increased significantly by 80.8% compared with the control treatment. The subcellular distribution test showed that the Cd content of the cell wall increased significantly with the DMSA spraying concentration. When the spraying concentration reached $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, the Cd content of the cell wall was about 2.1 times that of the control group. Further analysis of the Cd content of cell wall components showed that the Cd content in pectin increased with DMSA spraying concentration, and the highest increase was 99.5% when compared with the control treatment. In addition, after spraying DMSA, total phytochelatin and glutathione content of the stem base showed significant increasing trends, and the highest measured values were 2.2 times and 3.1 times those of the control group, respectively. After spraying DMSA, the activities of SOD and CAT in shoots increased to 3.0 times and 2.7 times, respectively. A fluorescence labeling test showed that the content of hydrogen peroxide in leaves also decreased significantly. The above results showed that the spraying of DMSA significantly increased the content of sulfhydryl compounds in the stem base of rice seedlings, improved the ability to intercept cadmium, reduced the efficiency of Cd transport from the stem base to the shoots of rice seedlings, and significantly decreased Cd content in the shoots of rice seedlings. Furthermore, this study shows that the spraying of DMSA can significantly alleviate Cd stress in rice seedlings.

Keywords: rice; cadmium; 2, 3-dimercaptosuccinic acid (DMSA); shoot base; cell wall

镉(Cd)是一种有较强致癌风险^[1]的高毒非必需重金属元素。环境中的镉主要来自于矿山开采^[2]、污水灌溉^[3]、施用有机肥^[4]以及大气沉降^[5]等多种途径。当前,镉已经成为我国耕地中最主要的重金属污染元素,其点位超标率高达7.0%^[6]。在我国南方部分水稻主产区,土壤镉污染问题尤为突出,这给水稻安全生产带来潜在威胁。目前水稻已成为我国第一大粮食作物,同时水稻也是一种对镉富集能力较强的大宗农作物^[7],即使土壤镉浓度在较低水平下也可能会出现稻米镉含量超标现象。我国大部分人口以稻米为主粮,有研究表明我国人口摄入的镉约56.0%来源于食用镉污染稻米^[8]。由此可见,镉被水稻吸收后不仅会影响水稻的生长发育^[9],而且还会对人体健康造成潜在威胁。由稻田土壤镉污染导致的稻米镉超标问题已经引起全球环境科学家的广泛关注。

为实现水稻的安全生产,农业生产中已研发出多种有效的降镉措施,如土壤重金属钝化技术^[10-11]、水份调控技术^[12]、植物修复技术^[13]、筛选种植低镉累积品种^[14]等。近年来,随着我国无人机产业的快速发展,无人机喷施技术在农业生产上得到广泛应用,这极大提高了田间生产效率,显著降低了生产成本,同时也助推了重金属叶面阻控技术的快速发展。有研究表明,水稻籽粒中的镉主要来源于营养生长阶段累积在茎叶中的镉^[15],以及灌浆期由根部吸收转运的镉^[16]。在水稻灌浆期提高水稻营养器官对镉的拦阻能力,大幅阻断镉从营养器官向籽粒中转运可显著降低稻米中镉含量。已有研究表明,于水稻灌浆期喷施硅元素^[17]、锌元素^[18-19]、硒元素^[20]、小分子酸^[21]等都具有显著降低水稻籽粒中镉含量的作用。这些技术主

要通过增加茎秆细胞壁拦阻能力^[22]或通过离子拮抗作用以及生理调控等机制达到降低水稻籽粒镉含量的目的。目前开发出的重金属叶面阻控剂产品大部分用于水稻开花灌浆期,但是在实际生产中发现适宜喷施时间窗口较短,因此存在在窗口期内较难完成大面积推广应用的问题,而且在水稻开花期常遇到降雨等不适宜喷施的气象条件,这就更加缩短了施工窗口期。因此生产上更希望开发出在苗期至抽穗期喷施也可降低水稻镉含量的叶面阻控剂产品。

前期本课题组已研究发现,在田间条件下于水稻开花期喷施2,3-二巯基丁二酸(DMSA)可显著降低水稻籽粒中的镉含量^[23]。水培试验也表明,喷施DMSA可显著减少镉由根部向茎叶转运,降低水稻幼苗茎叶镉含量^[24]。DMSA是一种含有双巯基的重金属螯合剂,在人和动物体内其可与重金属形成螯合物,进而通过排泄系统排出体外实现解毒功能^[25],医疗上可以作为人和动物的重金属解毒剂。但是到目前为止,尚不清楚叶面喷施DMSA降低水稻幼苗茎叶镉含量的潜在机制。本研究拟借助水培试验,系统研究叶面喷施DMSA对镉在水稻幼苗根、茎基、茎叶等不同器官中分布的影响以及对水稻幼苗营养器官镉胁迫的缓解作用。利用分步提取技术研究喷施DMSA对水稻幼苗不同营养器官中镉化学形态的影响,采用差速离心技术研究镉在幼苗茎基中的亚细胞分布情况,借助高效液相色谱分析茎基中总植物螯合素(PCs)和谷胱甘肽(GSH)含量。并在此基础上,进一步探究镉在水稻茎基细胞壁不同组分(包括果胶、半纤维素、纤维素)中的分布情况,以揭示喷施DMSA降低水稻幼苗茎叶镉含量的潜在机制。

1 材料与方法

1.1 供试材料与培养方法

以我国南方主栽水稻品种之一“中早35”作为试验材料。将饱满均一的种子在 H_2O_2 中浸泡消毒30 min后用去离子水反复冲洗多次,然后均匀铺在育苗盘上,在去离子水中进行第一阶段培养。待种子发芽后移至人工气候室内,直至水稻幼苗长至两叶一心期,将其转移至盛有1/10 Hoagland 营养液的水培箱中进行第二阶段培养,随时观察水稻幼苗生长情况并补充营养液。水稻幼苗长至三叶一心期时,挑选长势一致的幼苗在去离子水中饥饿处理1 d后转移至含有 $2.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CdCl_2 的1/10 Hoagland 营养液中继续培养3 d,待喷药处理。水培试验在人工气候室内完成。人工气候室条件参数为昼夜时间16 h/8 h,昼夜温度28 °C/20 °C,相对湿度60%。

1.2 试验处理及样品采集

水稻幼苗在96孔水培箱中培养,每孔种植3株水稻幼苗,每箱共计288株。水稻幼苗镉胁迫浓度统一设定为 $2.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。将适量DMSA溶于pH=7.4的磷酸缓冲液中,用蒸馏水稀释至300.0 mL,分别配制成浓度为0.2、0.4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和1.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的DMSA溶液,每个浓度喷施处理设定5次重复,每个重复喷施288株幼苗,5次重复共计1 440株幼苗,同时设置只喷施磷酸缓冲液的对照处理(CK)。待水稻幼苗转移至水培箱并经Cd胁迫处理3 d后,立即进行第1次DMSA喷施处理,以后每隔3 d喷施1次,共喷施4次。最后一次喷施处理3 d后采集样品。采集的幼苗样品用剪刀分为根、茎基及茎叶3个部分后分别装于信封中,于70 °C烘箱中烘干后备用。

1.3 测定方法

1.3.1 镉含量

参照Gutsch等^[26]的方法测定水稻营养器官中的镉含量。将烘干后的植株样品取出并研磨成粉。准确称取粉碎后的根部样品0.15 g,茎基样品0.10 g,茎叶样品0.25 g。将称取的样品置于消煮管中,加入7.0 mL MOS级的浓 HNO_3 浸泡过夜。在电热消解仪上于110 °C下加热消解2.5 h,待样品冷却至室温后加入1.0 mL H_2O_2 继续消解1.5 h,将温度升至170 °C继续消解至管内剩余硝酸体积小于0.5 mL后停止加热。待温度降至室温后用去离子水将样品转移定容至25.0 mL。用原子吸收光谱仪测定样品中镉含量。

1.3.2 镉化学形态

采用分步提取法测定水稻样品中镉的化学形态,参照Guan等^[27]的方法进行试验。提取剂依次为80.0%乙醇,去离子水,1.0 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钠,2.0%醋酸,0.6 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸。准确称取3.0 g新鲜的水稻幼苗样品加入20.0 mL提取剂于低温下匀浆,在25 °C下恒温振荡22 h后以3 000 g离心10 min,倒出上清液。再向离心管中加入同种20.0 mL提取剂于25 °C恒温振荡2 h重复提取一次,3 000 g离心10 min,合并两次上清液于聚四氟乙烯消煮管中。每一种提取液均重复上述操作,共分5次进行提取。提取液经 HNO_3 - H_2O_2 消解后,用原子吸收光谱仪测定样品镉含量。将乙醇及去离子水提取组分合并在一起作为可溶性组分,其余组分作为难溶性组分。

1.3.3 镉亚细胞分布

参照Xiao等^[28]的方法进行镉亚细胞分布试验。称取新鲜的水稻幼苗样品0.5 g,加入20.0 mL经预冷的匀浆缓冲液(0.25 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖、50.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl缓冲液和1.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 二硫赤鲜糖醇),低温下匀浆。匀浆液过80 μm 尼龙网后再用提取液冲洗尼龙网2次,收集合并滤液,残余在尼龙网上的部分为细胞壁和细胞壁残基。滤液于4 °C下以20 000 g离心45 min,上清液即为可溶性组分,沉淀为细胞器组分。参照1.3.1中的方法采用 HNO_3 - H_2O_2 消解,原子吸收光谱仪测定镉含量。

1.3.4 细胞壁组分

参照Zhong等^[29]的方法测定细胞壁组分。称取水稻幼苗组织0.5 g,经过液氮冷却后研磨成粉末,用7 mL 75.0%的乙醇将粉末转移至15.0 mL离心管中,再在冰浴中静置20 min。冷却后的匀浆液于1 000 g下离心10 min,沉淀依次用5.0 mL冷冻丙酮、5.0 mL甲醇-氯仿(1:1)、5.0 mL甲醇洗涤3次。弃掉所有上清液,离心沉淀冷冻干燥过夜。经过干燥的沉淀即为粗细胞壁组分。①果胶组分提取:向细胞壁粗提物中加入5.0 mL 0.5%的草酸铵缓冲液(含有0.1% NaBH_4),在沸水中提取1 h,离心收集上清液;②半纤维素I提取:将步骤①中剩余沉淀用5.0 mL含有0.1% NaBH_4 的4.0% KOH水溶液常温提取24 h,3 000 g离心,上清液中即为半纤维素I组分,离心收集沉淀用于下一步提取;③半纤维素II提取:将步骤②中离心获得的沉淀继续用5.0 mL含有0.1% NaBH_4 的24.0% KOH溶液常温提取24 h,3 000 g离心,上清液中为半纤维素II组分;④纤维素提取:将步骤③中剩余沉淀部分冻干作为纤维素组分。提取液经消解后用原子吸收光

谱仪测定提取液中镉含量。

1.3.5 植物螯合素(PCs)和谷胱甘肽(GSH)含量

参照周蓉等^[30]的方法测定样品中巯基化合物PCs和GSH含量。称取0.5 g新鲜的水稻样品置于液氮中研磨成粉末,将粉末转移至2.0 mL的EP管中,加入1.0 mL含有0.1%三氟乙酸(TFA)和6.3 mmol·L⁻¹ DT-PA的提取缓冲液振荡混合均匀。于4℃下12 000 g离心10 min,取250.0 μL上清液分别加入650.0 μL的HEPES缓冲液和25.0 μL的TCEP溶液,混合均匀后于25℃下孵育5 min。再加入20.0 μL mabr溶液,于25℃避光条件下衍生化30 min。衍生化结束后向混合液中加入100.0 μL 1.0 mmol·L⁻¹的MSA终止衍生化反应,经0.22 μm滤膜过滤后用HPLC测定巯基化合物含量,采用外标法定性和定量。将PCs2、PCs3、PCs4含量相加,作为总PCs含量。

1.3.6 过氧化氢(H₂O₂)含量

参照Tyburski等^[31]的方法,采用2',7'-二氯二氢荧光素二乙酯(DCFHA)标记法测定水稻根系与茎叶中的H₂O₂含量。准确称取50.0 μmol·L⁻¹的DCFHA于容量瓶中,加入pH为7.5的50.0 mmol·L⁻¹磷酸缓冲液充分溶解并定容至1 000.0 mL。将水稻幼苗根系或叶片在配制好的DCFHA样品中浸泡2 h后取出,经50.0 mmol·L⁻¹磷酸缓冲液反复冲洗3次后在荧光显微镜下观察荧光强度。激发波长488 nm,发射波长525 nm。

1.3.7 过氧化氢酶(CAT)与超氧化物歧化酶(SOD)活性

CAT与SOD活性均使用试剂盒测定,试剂盒购买于索莱宝公司。

1.4 数据分析与处理

采用Excel进行相关数据的计算处理和制图。利用SPSS 17.0软件进行统计分析和差异显著性检验。方差分析和多重比较采用单因素(ANOVA)和Duncan检验。

转移效率为相邻器官之间Cd含量的比值。

2 结果与分析

2.1 喷施DMSA对水稻幼苗茎叶和根部镉含量的影响

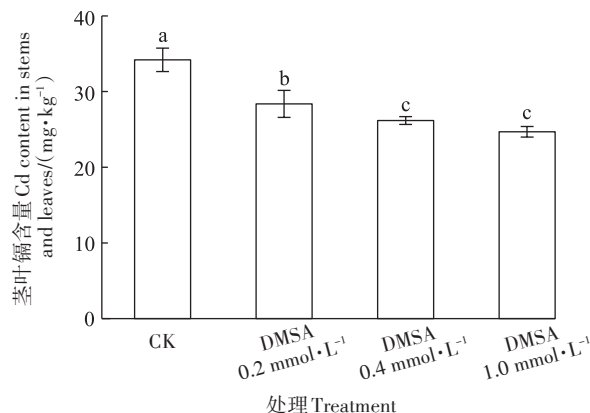
由图1可见,喷施DMSA后水稻茎叶镉含量随着DMSA喷施浓度的增加出现显著降低趋势。当DMSA喷施浓度达到0.4 mmol·L⁻¹时,水稻幼苗茎叶中镉含量降低27.8%,增加DMSA喷施浓度至1.0 mmol·L⁻¹时,水稻幼苗茎叶镉含量继续出现降低趋势,但与喷施0.4 mmol·L⁻¹的DMSA处理相比未达显著水平,表

明0.4 mmol·L⁻¹的DMSA为最佳降镉喷施浓度。

水稻幼苗根系中富集的镉浓度较高(图2),可以达到1 200.0 mg·kg⁻¹以上。随着DMSA喷施浓度增加,水稻幼苗根部镉含量未出现显著降低或升高趋势,表明喷施DMSA对水稻幼苗根部镉含量无显著影响。

2.2 喷施DMSA对水稻幼苗茎基镉含量和镉转移效率的影响

水稻幼苗茎基中富集了较高浓度的镉(图3),CK处理的幼苗茎基镉含量达到275.0 mg·kg⁻¹。随着DMSA喷施浓度增加,水稻幼苗茎基中镉含量呈现显著增加趋势。当DMSA喷施浓度达到1.0 mmol·L⁻¹时茎基镉含量达到433.0 mg·kg⁻¹,与CK处理相比增加了57.3%。结果表明喷施DMSA显著增加了水稻茎



图中不同小写字母表示处理间差异达到5%显著水平($n=4$)。下同。
Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments at 5% level ($n=4$). The same below.

图1 喷施DMSA对水稻幼苗茎叶镉含量的影响

Figure 1 Effects of foliar application DMSA on Cd content in rice seedling stems and leaves

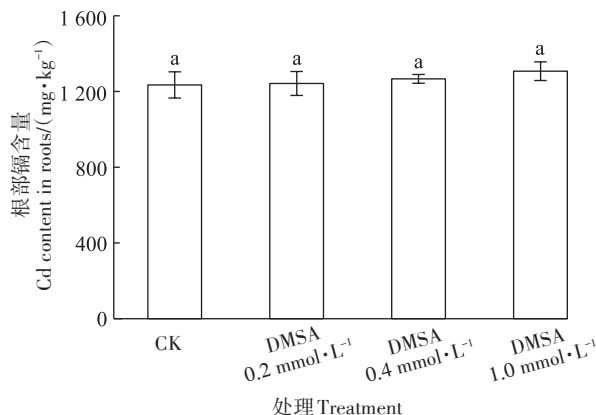


图2 喷施DMSA对水稻幼苗根部镉含量的影响

Figure 2 Effects of foliar application DMSA on Cd content in rice seedling roots

基对镉的富集能力。

由图4可知,随着DMSA喷施浓度的增加,镉由水稻幼苗根部向茎基的转移效率出现显著增加趋势。当喷施浓度达到 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时根到茎基的转移效率增加了45.5%。然而,镉由水稻幼苗茎基向茎叶的转移效率则出现显著降低趋势,当喷施浓度达到 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时茎基到茎叶的转移效率显著降低了52.7%。以上数据表明,水稻茎基中累积了大量镉,喷施DMSA改变了镉由根到茎基以及由茎基到茎叶的转移效率,降低了镉由茎基向茎叶转运。

2.3 喷施DMSA对水稻幼苗根部和茎基镉形态的影响

水稻幼苗根部镉主要以难溶态镉形式存在(图5),其占据根部总镉含量的75.0%以上。随着DMSA喷施浓度的增加,各试验处理间根部难溶态镉含量出现显著增加趋势,而可溶态镉含量未出现显著变化。当DMSA喷施浓度达到 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,根部难溶态镉含量与CK相比显著增加18.1%。

由图6可见,水稻幼苗茎基中镉的化学形态与根

部镉赋存形态类似,大部分以难溶态镉形式存在。随着DMSA喷施浓度的增加,水稻幼苗茎基难溶态镉含量出现显著增加趋势。当DMSA喷施浓度达到 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,难溶态镉含量与CK相比显著增加80.8%,但是喷施DMSA对茎基可溶态镉含量无显著影响。

2.4 喷施DMSA对水稻幼苗茎基镉亚细胞分布的影响

水稻幼苗茎基细胞壁中镉含量最高(图7)。喷施DMSA后水稻幼苗茎基细胞壁中镉含量随着DMSA喷施浓度的增加出现显著增加趋势。喷施浓度达到 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时细胞壁中的镉含量约是CK组的2.1倍。但是,喷施DMSA对水稻茎基细胞器和可溶性组分中镉含量无显著影响。由以上结果可知,茎基中的镉主要沉积在茎基细胞壁中。

2.5 喷施DMSA对镉在细胞壁组分中分布的影响

由图8可见,水稻茎基细胞壁的果胶组分中镉含量最高。随着DMSA喷施浓度的增加,果胶、半纤维素

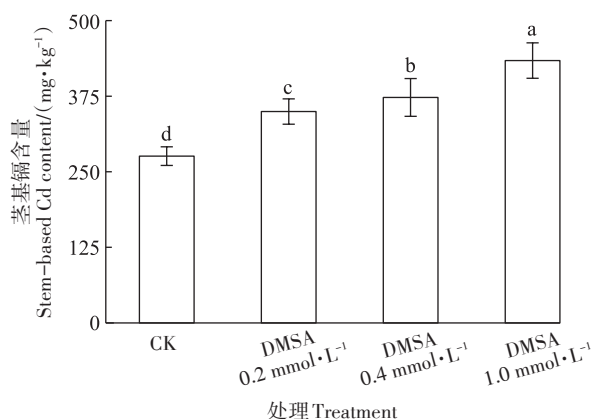


图3 喷施DMSA对幼苗茎基镉含量的影响

Figure 3 Effects of foliar application DMSA on Cd content in stem base

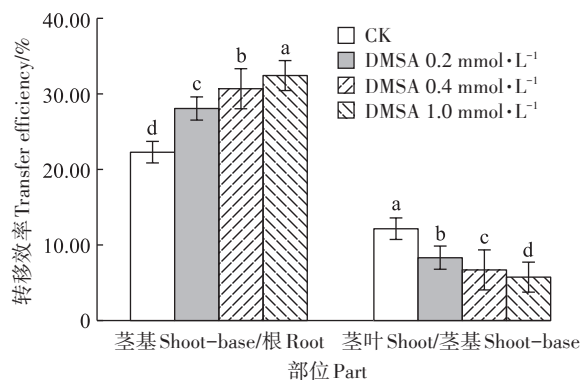


图4 喷施DMSA对幼苗镉转移效率的影响

Figure 4 Effects of foliar application DMSA on Cd transfer factors

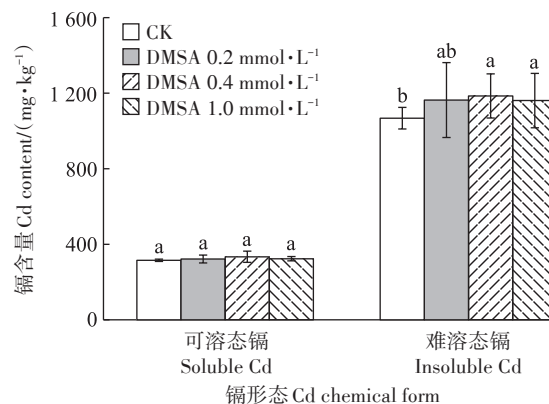


图5 喷施DMSA对水稻幼苗根部镉形态的影响

Figure 5 Effects of foliar application DMSA on Cd chemical form in rice seedling roots

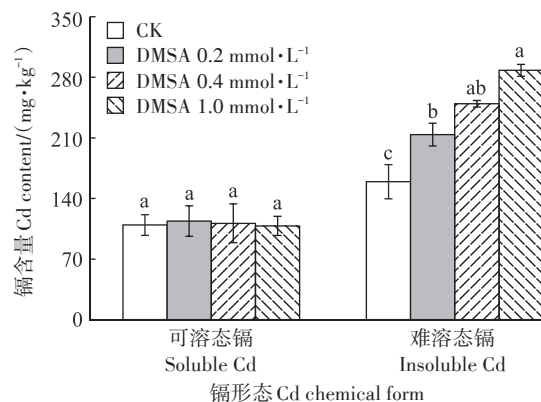


图6 喷施DMSA对水稻幼苗茎基镉形态的影响

Figure 6 Effects of foliar application DMSA on Cd chemical form in rice seedling stem base

I、半纤维素Ⅱ组分中镉含量均出现显著增加趋势。当DMSA喷施浓度达到 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,果胶中镉含量与CK处理相比显著增加99.5%,半纤维素Ⅰ中的镉含量显著增加65.5%,半纤维素Ⅱ中镉含量显著增加31.6%,但是纤维素中镉含量未出现显著变化。

2.6 喷施DMSA对茎基PCs和GSH含量的影响

随着DMSA喷施浓度的增加,水稻幼苗茎基中

GSH含量出现显著增加趋势(图9)。当DMSA喷施浓度达到 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时茎基中GSH含量达到CK处理的3.1倍,表明喷施DMSA显著增加了茎基GSH的含量。

由图10可见,随着DMSA喷施浓度的增加,水稻幼苗茎基中总PCs含量也出现显著增加趋势。当DMSA喷施浓度达到 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时茎基中总PCs含量达到CK处理的2.2倍,表明喷施DMSA显著增加了

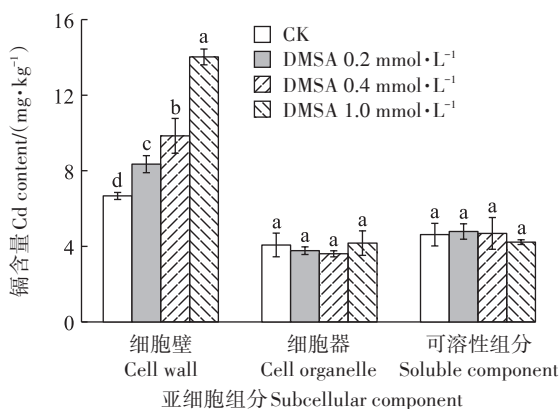


图7 喷施DMSA对水稻茎基镉亚细胞分布的影响

Figure 7 Effects of foliar application DMSA on Cd subcellular distribution in rice seedling stem base

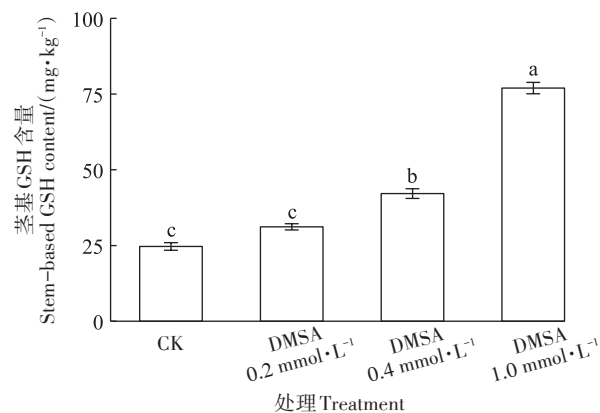


图9 喷施DMSA对水稻幼苗茎基GSH含量的影响

Figure 9 Effects of foliar application DMSA on GSH content in rice seedling stem base

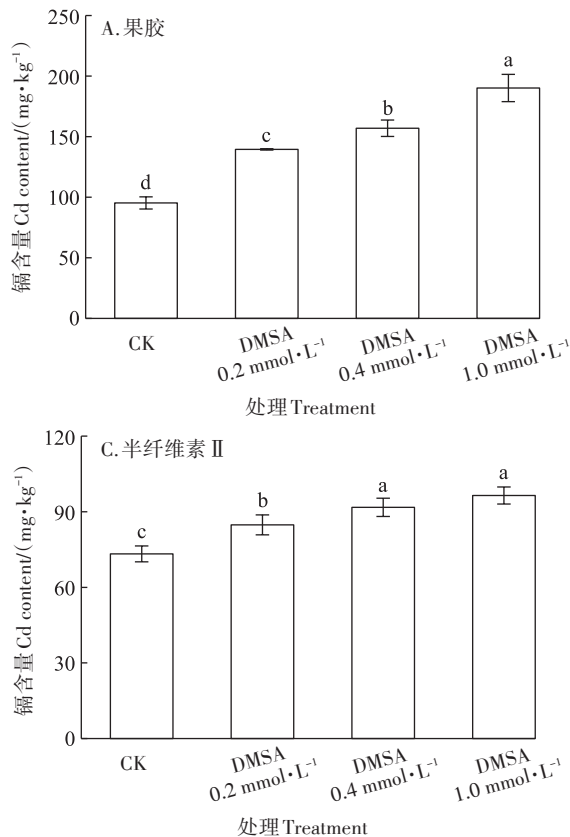


图8 喷施DMSA对镉在水稻幼苗茎基细胞壁组分中分布的影响

Figure 8 Effects of foliar application of DMSA on Cd distribution rice stem base cell wall

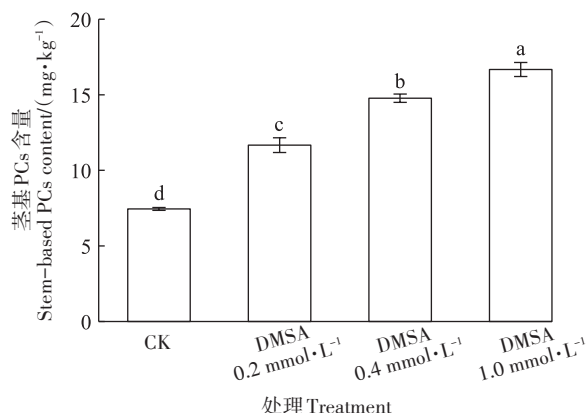


图10 喷施DMSA对水稻幼苗茎基PCs含量的影响

Figure 10 Effects of foliar application DMSA on PCs content in rice seedling stem base

茎基PCs的含量。

2.7 喷施DMSA对水稻幼苗镉胁迫的影响

由图11可见,在激发波长为488 nm条件下, H_2O_2 分子经标记后在荧光显微镜下发出绿色荧光。CK处理幼苗叶片发出的绿色荧光强度最强,表明此时叶片中 H_2O_2 含量最高,叶片受到的镉胁迫强度最大。随着DMSA喷施浓度增加, H_2O_2 荧光强度出现显著降低趋势。当喷施浓度达到 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,叶片发出的绿色荧光强度最低,表明此时叶片在镉胁迫下产生的 H_2O_2 量最少,镉胁迫程度最低。

由图12可见,不同试验处理的幼苗根部都发出较强的绿色荧光,水稻幼苗根部 H_2O_2 荧光强度未随着DMSA喷施浓度增加出现显著降低趋势,说明喷施DMSA对根部镉胁迫未产生显著缓解作用。

随着DMSA喷施浓度的增加,水稻幼苗茎叶中CAT与SOD的活性均呈现显著增加趋势(图13),当

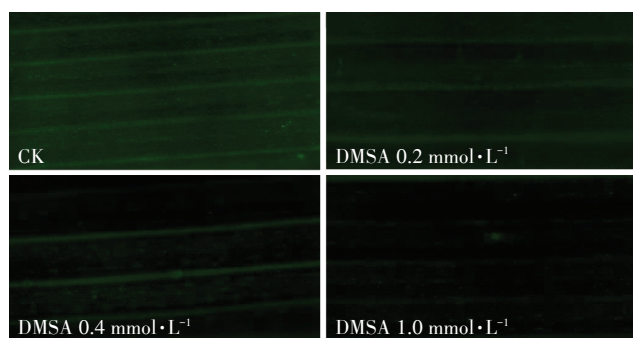


图11 喷施DMSA对水稻幼苗叶片镉胁迫的影响

Figure 11 Effects of foliar application DMSA on Cd stress in rice seedling leaves

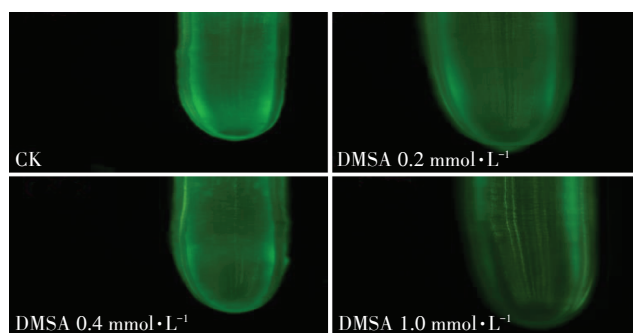


图12 喷施DMSA对水稻幼苗根部镉胁迫的影响

Figure 12 Effects of foliar application DMSA on Cd stress in rice seedling roots

DMSA喷施浓度达到 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,茎叶中CAT和SOD活性分别达到CK处理的2.7倍和3.0倍,但是对水稻幼苗根部CAT与SOD活性未造成显著影响。以上结果表明,喷施DMSA缓解了镉对水稻幼苗茎叶的胁迫,但是对水稻幼苗根部的镉胁迫未产生显著缓解作用。

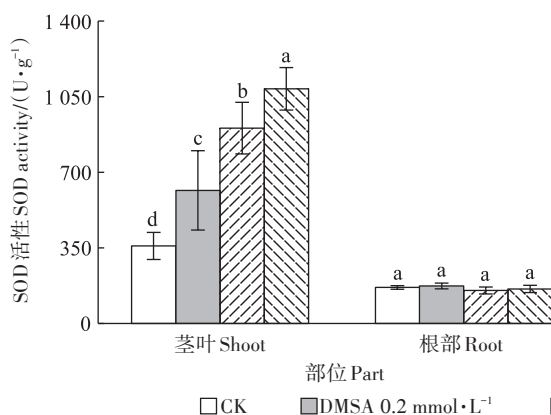
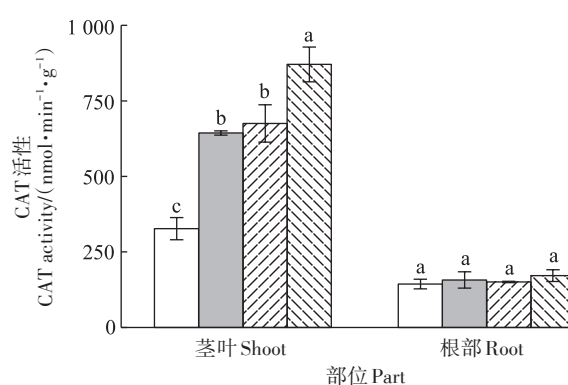


图13 喷施DMSA对水稻幼苗CAT、SOD活性的影响

Figure 13 Effects of foliar application DMSA on CAT and SOD activities of rice seedlings



3 讨论

3.1 水稻幼苗茎基对镉的拦阻作用

拦阻镉由水稻根部向茎叶转运对实现水稻安全生产、保障人体健康具有重要意义。水稻茎基部位是镉由根向茎叶转运的必经之路,增加水稻茎基对镉的拦阻作用可有效降低水稻茎叶镉含量。Wang等^[32]的研究表明,低镉累积水稻品种与高镉累积水稻品种间茎基镉含量存在显著差异,低镉累积水稻品种D62B茎基镉含量是高镉累积水稻品种Wujin4B的1.57倍,低镉累积品种的茎基累积了更高浓度的镉,降低了镉向水稻茎叶转运,茎基对镉的拦阻作用是影响水稻籽粒中镉含量的重要原因。Li等^[33]对油菜镉转运的研究也表明,茎基是抑制镉由根部向茎叶中转运的重要拦阻器官。上述两篇文献对茎基含硫化化合物浓度变化的研究发现,PCs和GSH等显著增加对镉具有螯合功能的巯基化合物含量,而正是由于这些含硫螯合物含量的增加导致大量镉被拦阻在茎基中。PCs和GSH是植物体内重要的解毒物质,它们的分子结构中含有的活性巯基可以和多种重金属元素如镉、砷、铅等形成螯合物^[34]。在本研究中,喷施DMSA显著增加了水稻茎基镉含量。当DMSA喷施浓度达到 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,茎基镉含量与CK处理相比显著增加了57.3%,镉由茎基向茎叶中的转移效率显著降低了52.7%。与之相应,茎叶中镉含量则显著降低了27.8%。同时对茎基含巯基化合物PCs、GSH的测定结果表明,随着DMSA喷施浓度增加,幼苗茎基中PCs和GSH的含量分别达到CK处理的2.2倍和3.1倍。据此推测,喷施DMSA增加了茎基巯基化合物PCs和GSH的合成,进而导致大量镉被PCs、GSH通过螯合作用固定在茎基部位,减少了向茎叶转运。

水稻通过改变储存在营养器官中镉的化学形态从而起到自我解毒的作用^[35],一方面通过增加难溶态镉的含量而降低活性镉对水稻自身的胁迫作用,另一方面大量研究表明难溶态镉一般分布于细胞壁与液泡中,因此难溶态镉含量的增加还可能影响到镉的亚细胞分布^[29]。本研究中随着DMSA喷施浓度的增加,茎基难溶态镉含量与CK处理相比显著增加80.8%。由此可见,茎基中虽然储存了大量的镉,但是大部分以难溶态形式存在,因此未对水稻幼苗生长造成显著影响。此外,茎基中镉大部分以难溶态形式存在减少了储存在茎基中镉向幼苗茎叶转运,本研究中镉由茎基向茎叶的转移效率与CK相比显著降低了52.7%。

3.2 茎基细胞壁对镉的拦阻作用

植物根部细胞壁是阻碍镉进入植物细胞的第一道屏障^[36]。植物细胞壁主要由果胶、半纤维素、纤维素等多糖构成。其中果胶是一种由 α -1,4-半乳糖醛酸聚合链构成的多糖,包含大量含有阴离子的羧基基团,因此对金属阳离子表现出高度亲和性,对镉离子具有强键合能力。在所有的细胞壁多糖中果胶是固定镉的最主要组分,尤其是当果胶脱甲基化以后对镉的固持能力更加突出^[37]。半纤维素包含多种功能基团(如羧基、羟基、醛基),因此也能够与镉键合阻止镉向细胞质转移。植物细胞壁中的半纤维素和果胶在与镉键合过程中发挥最重要作用。镉胁迫通常会诱导植物根细胞壁中合成更多的果胶和半纤维素,从而导致细胞壁对镉的持留容量增加^[38]。前人研究表明,细胞壁对镉具有重要的拦截作用,而且大部分拦截的镉分布在果胶和半纤维素组分中。截止到目前,大部分关于细胞壁拦阻镉的报道都集中在对水稻根系的研究方面,对茎基和茎秆报道较少。本研究中喷施DMSA显著增加了水稻幼苗茎基镉含量,对幼苗根部镉含量无显著影响。对幼苗茎基细胞壁镉含量的测定结果表明,细胞壁镉含量随着DMSA喷施浓度升高呈现显著增加趋势,细胞壁中镉含量最高达到CK处理的2.1倍。进一步对细胞壁果胶组分镉含量的测定结果表明,细胞壁中大部分镉存在于果胶组分中,其次是半纤维素组分,而且随着DMSA喷施浓度增加两组分中的镉含量也出现逐渐增加趋势。以上结果进一步表明,喷施DMSA增加了水稻幼苗茎基对镉的拦阻作用,而且茎基中的镉主要分布在细胞壁的果胶和半纤维素多糖组分中。

3.3 喷施DMSA对镉胁迫的影响

重金属胁迫对植物生长具有重要影响,可能导致农作物植株矮小、叶片失绿等,解除镉胁迫恢复作物正常生长对提高作物产量和品质具有重要意义。喷施叶面阻控剂往往在一定程度上会同时降低营养器官中重金属含量,因此大部分叶面阻控剂成分都具有一定的缓解重金属胁迫的功能。Li等^[39]通过水培试验和田间试验发现,叶面喷施茉莉酸可以显著降低水稻籽粒和茎叶中镉含量,同时还可以显著提高叶片中CAT、SOD活性,显著缓解水稻镉胁迫。叶面喷施苹果酸^[21]、硅^[17]、硒^[20]等也可显著降低镉含量,缓解镉胁迫导致的氧化损伤功能。重金属胁迫引发的氧化损伤往往导致细胞膜损伤,进而产生大量丙二醛(MDA),该指标是表征植物氧化损伤程度的重要指

标之一。杨晓荣等^[24]的研究表明叶面喷施 DMSA 可以显著减少叶片组织中 MDA 含量。本研究中,喷施 DMSA 使水稻茎叶中具有抗氧化损伤功能的 CAT 和 SOD 活性升高,最高分别达到 CK 处理的 2.7 倍和 3.0 倍,同时荧光标记试验结果表明 H_2O_2 荧光强度随着 DMSA 喷施浓度升高出现显著降低,说明叶面喷施 DMSA 使水稻叶片受到的镉胁迫得到有效缓解。但是本研究中水稻幼苗根部 H_2O_2 荧光强度随着 DMSA 喷施浓度升高未出现显著降低趋势,同时喷施 DMSA 也未对根部镉含量造成显著影响,这些结果表明喷施 DMSA 对水稻幼苗根部镉胁迫无显著缓解作用。

4 结论

(1) 喷施 2,3-二巯基丁二酸通过显著增加水稻幼苗茎基中植物螯合素和谷胱甘肽含量增加了茎基对镉的拦阻作用,从而减少镉向茎叶转运,降低水稻幼苗茎叶中镉含量。

(2) 水稻幼苗茎基中滞留的镉主要被固定在细胞壁果胶组分和纤维素 II 组分中。

参考文献:

- [1] WILLIAMS P N, LEI M, SUN G X, et al. Occurrence and partitioning of cadmium, arsenic and lead in 530 mine impacted paddy rice: Hunan, China[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(3): 637–642.
- [2] MUHAMAD R, SHAFATQAT A, MUHAMAD A, et al. Cadmium stress in rice: toxic effects, tolerance mechanisms, and management: a critical review[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23: 17859.
- [3] LIU W H, ZHAO J Z, OUYANG Z Y, et al. Impacts of sewage irrigation on heavy metal distribution and contamination in Beijing, China[J]. *Environment International*, 2005, 31(6): 805–812.
- [4] NICHOLSON F A, CHAMBERS B J, WILLIAMS B J R, et al. Heavy metal contents of livestock feeds and animal manures in England and Wales[J]. *Bioresource Technology*, 1999, 70: 23–31.
- [5] PENG H, CHEN Y L, WENG L P, et al. Comparisons of heavy metal input inventory in agricultural soils in north and south China: a review[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 660: 776–786.
- [6] 高中原, 肖荣波, 王鹏, 等. 融合自然-人为因子改进回归克里格对土壤镉空间分布预测[J]. *环境科学*, 2021, 42(1): 343–352. GAO Z Y, XIAO R B, WANG P, et al. Improved regression kriging prediction of the spatial distribution of the soil cadmium by integrating natural and human factors[J]. *Environmental Science*, 2021, 42(1): 343–352.
- [7] URAGUCHI S, KAMIYA T, SAKAMOTO T, et al. Low-affinity cation transporter (*OsLCT1*) regulates cadmium transport into rice grains[J]. *PNAS*, 2011, 108(52): 20959–20964.
- [8] SONG Y, WANG Y, MAO W, et al. Dietary cadmium exposure assessment among the Chinese population[J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): 1–12.
- [9] MICHEL H, SOPHIE H, TINA K, et al. Short-term effects of cadmium on leaf growth and nutrient transport in rice plants[J]. *Plant Science*, 2021, 313: 111054.
- [10] LI Q N, LIANG W Y, LIU F, et al. Simultaneous immobilization of arsenic, lead and cadmium by magnesium-aluminum modified biochar in mining soil[J]. *Journal of Environmental Management*, 2022, 310: 114792.
- [11] 吴义茜, 宋常志, 徐应明, 等. 巯基化凹凸棒石对水稻土中镉钝化效应的动态变化特征[J]. *环境科学学报*, 2021, 41(9): 3792–3802. WU Y X, SONG C Z, XU Y M, et al. Dynamic characteristics of the immobilization effect of thiolated attapulgite on cadmium in paddy soil [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2021, 41(9): 3792–3802.
- [12] HU P J, LI Z, YUAN C, et al. Effect of water management on cadmium and arsenic accumulation by rice (*Oryza sativa* L.) with different metal accumulation capacities[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2013, 13: 916–924.
- [13] 张云霞, 宋波, 宾娟, 等. 超富集植物藜香薷 (*Ageratum conyzoides* L.) 对镉污染农田的修复潜力[J]. *环境科学*, 2019, 40(5): 2453–2459. ZHANG Y X, SONG B, BIN J, et al. Remediation potential of *Ageratum conyzoides* L. on cadmium contaminated farmland[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(5): 2453–2459.
- [14] 柳赛花, 纪雄辉, 谢运河, 等. 基于 GGE 双标图和 BLUP 分析筛选镉砷同步低累积水稻品种[J]. *生态环境学报*, 2021, 30(2): 405–411. LIU S H, JI X H, XIE Y H, et al. Screening of cadmium-arsenic synchronous low-accumulation rice cultivars based on GGE bi-standard map and BLUP analysis[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2021, 30(2): 405–411.
- [15] KASHIWAGI T, SHINDOH K, HIROTSU N, et al. Evidence for separate translocation pathways in determining cadmium accumulation in grain and aerial plant in rice[J]. *BMC Plant Biology*, 2009, 9(1): 8.
- [16] 喻华, 上官宇先, 涂仕华, 等. 水稻籽粒中镉的来源[J]. *中国农业科学*, 2018, 51(10): 1940–1947. YU H, SHANGGUAN Y X, TU S H, et al. Sources of cadmium accumulated in rice grain[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(10): 1940–1947.
- [17] LIU C P, LI F B, LUO C L, et al. Foliar application of two silica sols reduced cadmium accumulation in rice grains[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 161: 1466–1472.
- [18] ZHEN S, SHUAI H, XU C, et al. Foliar application of Zn reduces Cd accumulation in grains of late rice by regulating the antioxidant system, enhancing Cd chelation onto cell wall of leaves, and inhibiting Cd translocation in rice[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 770: 145302.
- [19] 韩潇潇, 任兴华, 王培培, 等. 叶面喷施锌离子对水稻各器官镉积累特性的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2019, 38(8): 1809–1817. HAN X X, REN X H, WANG P P, et al. Effects of foliar application with zinc on the characteristics of cadmium accumulation in organs of rice plants[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(8): 1809–1817.
- [20] 刘永贤, 潘丽萍, 黄雁飞, 等. 外源喷施硅与硅对水稻籽粒镉累积的影响[J]. *西南农业学报*, 2017, 30(7): 1588–1592. LIU Y X,

- PAN L P, HUANG Y F, et al. Effects of selenium or silicon foliar fertilizer on cadmium accumulation in rice[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2017, 30(7): 1588–1592.
- [21] 王惠君, 薛卫杰, 张昕, 等. 叶面喷施苹果酸对水稻Cd积累特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(2): 269–278. WANG H J, XUE W J, ZHANG X, et al. Effects of foliar application with malic acid on the accumulation of cadmium in rice[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(2): 269–278.
- [22] WEI W, PENG H, XIE Y H, et al. The role of silicon in cadmium alleviation by rice root cell wall retention and vacuole compartmentalization under different durations of Cd exposure[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 226: 112810.
- [23] 杨晓荣, 黄永春, 刘仲齐, 等. 叶面喷施二巯基丁二酸对晚稻籽粒镉及矿质元素含量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(8): 1802–1808. YANG X R, HUANG Y C, LIU Z Q, et al. Foliar application of DMSA; effects on Cd and other mineral elements in rice grains[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(8): 1802–1808.
- [24] 杨晓荣, 黄永春, 刘仲齐, 等. 叶面喷施2, 3-二巯基丁二酸对水稻幼苗镉吸收转运及抗氧化系统的影响[J]. 环境科学, 2020, 41(7): 3441–3448. YANG X R, HUANG Y C, LIU Z Q, et al. Effects of foliar spraying of 2, 3-dimercaptosuccinic acid on cadmium uptake, transport, and antioxidant system of rice seedlings[J]. *Environmental Sciences*, 2020, 41(7): 3441–3448.
- [25] 姚青, 杨国宝, 王皓, 等. 巯基螯合剂治疗重金属中毒研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2022, 36(4): 314–320. YAO Q, YANG G B, WANG H, et al. Research progress in sulfhydryl chelating agents in treatment of heavy metal poisoning[J]. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2022, 36(4): 314–320.
- [26] GUTSCH A, ZOUAGHI S, RENAUT J, et al. Changes in the proteome of *Medicago sativa* leaves in response to long-term cadmium exposure using a cell-wall targeted approach[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(9): 2498.
- [27] GUAN M Y, ZHANG H H, PAN W, et al. Sulfide alleviates cadmium toxicity in *Arabidopsis* plants by altering the chemical form and the subcellular distribution of cadmium[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 627: 663–670.
- [28] XIAO Y T, DU Z J, BUSSO C A, et al. Differences in root surface adsorption, root uptake, subcellular distribution, and chemical forms of Cd between low and high-Cd-accumulating wheat cultivars[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27: 1417–1427.
- [29] ZHONG H, LAUCHLI A. Changes of cell wall composition and polymer size in primary roots of cotton seedlings under high salinity[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1993, 44(4): 773–778.
- [30] 周蓉, 曹赵云, 牟仁祥. 柱前衍生高效液相色谱-荧光检测法测定水稻中7种巯基化合物[J]. 色谱, 2015, 33(1): 35–39. ZHOU R, CAO Z Y, MOU R X. Determination of seven biothiols in rice by high performance liquid chromatography-fluorescence detection with pre-column derivatization[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2015, 33(1): 35–39.
- [31] TYBURSKI J, DUNAJSKA K, TRETYN A. Reactive oxygen species localization in roots of *Arabidopsis thaliana* seedlings grown under phosphate deficiency[J]. *Plant Growth Regulation*, 2009, 59: 27–36.
- [32] WANG K J, YU H Y, YE D H, et al. The critical role of the shoot base in inhibiting cadmium transport from root to shoot in a cadmium-safe rice line (*Oryza sativa* L.)[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 765: 142710.
- [33] LI J S, SU Z, YU J, et al. Shoot base responds to root-applied glutathione and functions as a critical region to inhibit cadmium translocation from the roots to shoots in oilseed rape (*Brassica napus*) [J]. *Plant Science*, 2021, 305: 110822.
- [34] URAGUCHI A, TANAKA N, HOFMANN C, et al. Phytochelatin synthase has contrasting effects on cadmium and arsenic accumulation in rice grains[J]. *Plant Cell Physiology*, 2017, 58: 1730–1742.
- [35] XUE W J, ZHANG C B, WANG P P, et al. Rice vegetative organs alleviate cadmium toxicity by altering the chemical forms of cadmium and increasing the ratio of calcium to manganese[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 184: 109640.
- [36] YU H Y, WU Y, HUANG H G, et al. The predominant role of pectin in binding Cd in the root cell wall of a high Cd accumulating rice line (*Oryza sativa* L.) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 206: 111210.
- [37] HUANG Y Y, HUANG B F, SHEN C, et al. Boron supplying alters cadmium retention in root cell walls and glutathione content in *Capsicum annuum* [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 432: 128713.
- [38] WU X, SONG H, GUAN C, et al. Boron alleviates cadmium toxicity in *Brassica napus* by promoting the chelation of cadmium onto the root cell wall components[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 728: 138833.
- [39] LI Y, ZHANG S N, BAO Q L, et al. Jasmonic acid alleviates cadmium toxicity through regulating the antioxidant response and enhancing the chelation of cadmium in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Environmental Pollution*, 2022, 304: 119178.

(责任编辑:李丹)