

Cd胁迫对水稻亲本材料Cd吸收分配的影响

张路¹, 张锡洲^{1*}, 李廷轩¹, 余海英¹, 戢林²

(1.四川农业大学资源环境学院, 成都 611130; 2.四川农业大学城乡建设学院, 四川 都江堰 611830)

摘要:采用土培试验,以前期筛选出的水稻Cd安全亲本材料D62B为试验材料,以普通材料Luhui17为对照,研究不同生育期水稻Cd安全亲本材料在1、4、16 mg·kg⁻¹ Cd处理浓度下对Cd的吸收、分配及转运特征。结果表明:(1)在不同Cd处理浓度下,水稻Cd安全亲本材料D62B生长受到了一定程度的抑制,且随Cd处理浓度的提高生物量均显著降低。当Cd处理浓度为16 mg·kg⁻¹时,D62B在分蘖期、抽穗期和成熟期的生物量分别较1 mg·kg⁻¹ Cd处理降低了52.05%、43.06%和32.34%。(2)D62B地上部Cd含量和转移系数在不同生育期均显著低于Luhui17,成熟期谷壳、糙米Cd含量也较低。当Cd处理浓度为1 mg·kg⁻¹和4 mg·kg⁻¹时,D62B的糙米Cd含量均低于食品安全国家标准0.2 mg·kg⁻¹,表现出Cd安全亲本材料的“安全性”。(3)随Cd处理浓度的提高,D62B对Cd的吸收速率显著增加,且在分蘖期其吸收速率达到最大。在各处理下,D62B对Cd的吸收速率与Luhui17差异不显著。但D62B对Cd的转运速率在4 mg·kg⁻¹和16 mg·kg⁻¹ Cd处理下则显著低于Luhui17,成熟期差异达到最大,分别为Luhui17的46.52%和66.68%。(4)D62B地上部Cd的亚细胞分布表现为细胞壁>可溶部分>细胞器,Luhui17为可溶部分>细胞壁>细胞器,地下部则均表现为可溶部分>细胞壁>细胞器。随Cd处理浓度的增加,Luhui17地下部细胞壁的分配比例显著降低,在16 mg·kg⁻¹ Cd处理浓度下,Luhui17细胞壁的分配比例显著低于D62B。综上所述,最终表现出D62B具有籽粒Cd低积累的特点,可为培育Cd安全水稻品种提供优良的种质资源。

关键词:水稻;Cd安全亲本材料;吸收;转运;亚细胞分布

中图分类号:X503.231 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2014)12-2288-08 doi:10.11654/jaes.2014.12.002

Effects of Cadmium Stress on Uptake and Distribution of Cadmium in Different Rice Varieties

ZHANG Lu¹, ZHANG Xi-zhou^{1*}, LI Ting-xuan¹, YU Hai-ying¹, JI Lin²

(1.College of Resource and Environmental Science, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2.College of Urban and Rural Construction, Sichuan Agricultural University, Dujiangyan 611830, China)

Abstract: It is important to minimize the influx of cadmium (Cd) to the human food chain. Here the characteristics of uptake and distribution of Cd in a pollution-safe rice variety were studied in a pot experiment to provide Cd safety rice germplasm resources. Cadmium pollution-safe rice variety was D62B, and common variety Luhui17 as the control. Cadmium concentrations used were 1 mg·kg⁻¹, 4 mg·kg⁻¹, and 16 mg·kg⁻¹. Compared with Luhui 17, D62B growth was inhibited to some extent at all Cd levels. The biomass of D62B significantly decreased with increasing Cd concentrations. The Cd concentrations in shoot and translocation coefficient of D62B were significantly lower than those of Luhui17 during the growth periods. At mature stage, the Cd concentrations in brown rice and chaff were also significantly lower than those of Luhui17. At 1 mg Cd·kg⁻¹ and 4 mg Cd·kg⁻¹, the Cd concentrations in brown rice of D62B were lower than the National Food Safety Standards (0.2 mg·kg⁻¹). The rates of Cd uptake by D62B were the greatest at tillering stage, and increased as Cd concentrations increased. The Cd translocation rate of D62B was significantly lower than that of Luhui17 at 4 mg·kg⁻¹ and 16 mg·kg⁻¹. At mature stage, the Cd translocation of D62B was only 46.52% and 66.68% of that of Luhui17 at 4 mg·kg⁻¹ and 16 mg·kg⁻¹. Cadmium absorbed by D62B accumulated about 44%~49% in cell walls and about 37% in soluble fraction, and the lowest in cellular organelles, while more than 48% of Cd in Luhui17 was localized in soluble fraction. In roots, majority of Cd was located in soluble fraction and cell walls, but percentages of Cd in cell wall was significantly lower in Luhui 17 than D62B at 16 mg·Cd kg⁻¹. In conclusion, Cd pollution-safe rice variety D62B has low accumulation of Cd in brown rice, and could be considered as Cd safety rice germplasm resources for Cd-polluted farmlands.

Keywords: rice; Cd pollution-safe plant; uptake; translocation; subcellular distribution

收稿日期:2014-06-30

基金项目:四川省科技支撑计划(2013NZ0044);四川省科技支撑计划(2014NZ0008);四川省教育厅项目(14ZB0017);四川农业大学“211工程”双支计划项目资助

作者简介:张路(1989—),女,四川成都人,硕士研究生,主要从事土壤污染防治与安全生产方面的研究。E-mail:zhangluxqw@163.com

*通信作者:张锡洲 E-mail:zhangxzhou@163.com

长期以来,我国在矿产资源的开发,农用化肥、有机肥的施用,种、养殖业中畜禽粪便的排放以及工业化、城镇化进程中累积形成的重金属污染问题已逐步显现^[1]。因而,Cd在生态环境中的迁移已成为人类健康风险研究以及环境污染治理的重点和热点问题之一^[2-3]。水稻作为我国的第一大粮食作物,其籽粒中的Cd含量直接影响到我国的粮食安全。

研究表明,Cd在水稻体内的积累和分配受到多个过程的影响,包括根系对Cd的活化和吸收、地上部茎叶之间的分配以及Cd在植株体内的区室化作用等^[4-5]。郑陶等^[6]研究表明,当土壤Cd浓度达50 mg·kg⁻¹时,由于水稻Cd高积累材料根系向地上部的转移能力显著高于普通材料,造成两者地上部Cd含量差异较大。Uraguchi等^[4]通过比较两种籽粒Cd积累型水稻品种指出,木质部对Cd的运输能力是决定水稻地上部以及籽粒中Cd积累的主要过程。同时也有研究表明,水稻品种间籽粒Cd含量的差异主要与Cd在地上部的分配比率以及Cd从地上部向籽粒的迁移率显著相关^[7-8]。基于Cd在组织水平上的研究,在细胞水平上植株主要通过区室化作用降低其体内Cd的移动性。国内外已有研究表明,在一些超富集植物中Cd主要分布于细胞壁,其次为可溶部分,细胞器含量最低^[9-11]。但在小麦、大麦和水稻等作物中,Cd的分布普遍表现为可溶部分>细胞壁>细胞器,且Cd高积累品种可溶部分所占的比例显著高于Cd低积累型品种^[12-14],表明Cd的亚细胞分布对植株体内Cd的有效性有直接的影响。目前,已有不少研究^[4-5,7]对Cd在水稻各器官的积累和转运特征进行探讨,但基于Cd的亚细胞分布,并从微观层次探讨水稻对Cd的耐性机制还鲜见报道。本文通过分析水稻在不同生育期对Cd的吸收、分配及转运特征,结合分析其Cd的亚细胞分布特点,以探讨限制水稻Cd安全亲本材料对Cd的吸收转运可能存在的机制。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为前期通过土培试验及大田试验筛选获得的水稻Cd安全亲本材料D62B和普通材料Luhui17。两类水稻亲本材料均为籼稻,生育期基本一致[(150±5)d],其中D62B为保持系,Luhui17为恢复系,均由四川农业大学农学院提供。

供试土壤为冲积性水稻土,采自四川省成都市温江区,其基本化学性质为:pH6.50、有机质17.60 g·

kg⁻¹、全氮1.12 g·kg⁻¹、碱解氮227.00 mg·kg⁻¹、速效磷9.64 mg·kg⁻¹、速效钾49.28 mg·kg⁻¹、土壤Cd含量0.31 mg·kg⁻¹。

1.2 试验设计与处理

土培试验于2013年5月至10月在四川农业大学有防雨设施的网室中进行。分别设置3个Cd处理水平:1 mg·kg⁻¹(Cd1)、4 mg·kg⁻¹(Cd4)和16 mg·kg⁻¹(Cd16),每个处理重复9次,两个水稻亲本材料共54盆。供试土壤经风干磨碎过10目筛,在10 L的塑料桶中每盆装土10 kg(干土重),于秧苗移栽前30 d添加Cd处理。将相应量的CdCl₂·2.5H₂O(分析纯试剂)配成溶液,与土壤混合均匀。所有盆钵按照完全随机排列并加水高出土面2~3 mm后陈化30 d,平衡后测定Cd1、Cd4和Cd16条件下土壤Cd有效量分别为0.31、1.62、5.44 mg·kg⁻¹。在移栽前一天进行施肥,其中氮(N)、磷(P₂O₅)、钾肥(K₂O)用量分别为200、100、105 mg·kg⁻¹土,分别选用尿素、磷酸二氢钾、氯化钾(均为分析纯)。

水稻种子经30%的H₂O₂消毒30 min后用清水冲洗干净,然后用0.1%的次氯酸钠溶液浸泡10 h,再冲洗干净。将种子转入35~38℃恒温培养箱中催芽,播种于已消毒的石英砂育苗盘中进行培养。在水稻出苗后,用1/4浓度的营养液进行浇灌培养,营养液选择国际水稻所常规配方。培养至三叶期选取长势一致的秧苗进行移栽,并按照常规管理,做好防病防虫工作并做好长势记录。

分别于分蘖期、抽穗期以及成熟期采样,每次采样3次重复。将植株样品分为两组,用自来水冲洗干净,根部在20 mmol·L⁻¹ Na₂-EDTA溶液中浸泡15 min以去除表面的Cd,再用蒸馏水润洗,最后用吸水纸擦干^[15]。第一组分为地上部和地下部,经液氮固定后储存于-75℃超低温冰箱中,以供亚细胞的测定;第二组分为地上部和地下部,105℃下杀青0.5 h后,75℃烘干后称重,最后用不锈钢粉碎机粉碎装样备用。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 水稻亚细胞组分的分离

亚细胞的分离参照Wang等^[16]的方法,并略作改动。分别称取根系及地上部1.0 g鲜样,加入20 mL提取液,其组成为0.25 mol·L⁻¹蔗糖+50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl缓冲液(pH7.5)+1.0 mmol·L⁻¹二硫赤藓糖醇(C₄H₁₀O₂S₂),在研钵中冰浴研磨成匀浆。匀浆液在高速冷冻离心机(Model ALLEGRA-64R, Beckman Coulter, Inc. USA)4℃下以4000 r·min⁻¹离心15 min,沉淀部分为细胞壁

部分。将上清液在 $16\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 30 min , 底层碎片为细胞器部分。最后得到上清液为可溶部分(主要包括细胞质、有机物、无机离子和液泡内的大分子)。

1.3.2 Cd 含量的测定

细胞壁和细胞器部分在 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下烘干至恒重, 采用 $\text{HNO}_3\text{--HClO}_4$ 消化。植株 Cd 含量采用 $\text{HNO}_3\text{--HClO}_4$ 消化, 土壤有效态 Cd 含量采用 DTPA 提取, 用火焰原子吸收分光光度计(AAnalyst 800, Perkin Elmer, USA)测定 Cd 含量, 其中谷壳及糙米 Cd 含量采用石墨炉分析。以国家标准物质 GBW10044 GSB—22 为内标控制分析质量。

1.4 数据处理与分析

转移系数=地上部 Cd 含量/根系 Cd 含量; 籽粒转移系数=籽粒 Cd 含量/茎叶 Cd 含量; 吸收速率=(单位时间植株 Cd 积累量/根系干重) $\times 100\%$; 转运速率=(单位时间地上部 Cd 积累量/根系干重) $\times 100\%$ ^[6-7]。

数据采用 DPS 11.0 进行统计分析, LSD 法进行多重比较; 图表制作采用 Origin 8.0 和 Excel 2007。

2 结果与分析

2.1 Cd 对水稻亲本材料生物量的影响

由表 1 可知, 随着 Cd 处理浓度的提高, D62B 及 Luhui17 生物量均有降低的趋势, 且在 Cd16 处理下生物量最低。在 Cd16 处理下, Cd 安全亲本材料 D62B 生物量在分蘖期、抽穗期和成熟期与 Cd1 处理相比, 分别降低了 52.05%、43.06% 和 32.34%, 普通材料 Luhui17 则分别降低了 59.08%、58.41% 和 34.52%。由降低幅度可知, D62B 在整个生育期受到的胁迫程度要小于 Luhui17, 表现出 D62B 对 Cd 胁迫具有更强的耐性。

2.2 水稻亲本材料的 Cd 吸收转运特征

结果表明(表 2), 两类水稻亲本材料地上部和地下部 Cd 含量在分蘖期、抽穗期和成熟期均随 Cd 处理浓度的提高显著增加。D62B 地上部 Cd 含量在 Cd1、Cd4 和 Cd16 处理下均显著低于 Luhui17, 且随 Cd 处理浓度的增加两水稻亲本材料间差异明显增

表 1 Cd 处理对水稻亲本材料生物量的影响($\text{g}\cdot\text{株}^{-1}$)

Table 1 Effects of Cd treatments on biomass of rice plants($\text{g}\cdot\text{plant}^{-1}$)

Cd 处理 Cd treatment	分蘖期 Tillering stage		抽穗期 Heading stage		成熟期 Mature stage	
	D62B	Luhui17	D62B	Luhui17	D62B	Luhui17
Cd1	5.11 $\pm$ 0.558a	4.13 $\pm$ 0.176a	19.25 $\pm$ 1.046a	17.36 $\pm$ 1.199a	38.28 $\pm$ 0.243a	36.09 $\pm$ 4.130a
Cd4	3.58 $\pm$ 0.262b	2.82 $\pm$ 0.365b	12.36 $\pm$ 0.696b	10.10 $\pm$ 0.284b	27.27 $\pm$ 2.718b	30.76 $\pm$ 2.310b
Cd16	2.45 $\pm$ 0.078c	1.69 $\pm$ 0.301c	10.96 $\pm$ 1.213b	7.22 $\pm$ 0.329c	25.90 $\pm$ 1.177b	23.63 $\pm$ 0.759c

注: 同列不同小写字母表示处理间差异显著($P\leq 0.05$)。下同。

Note: Different small letters within one column mean significant difference between Cd treatments at 0.05 levels. The same as below.

表 2 Cd 处理下水稻亲本材料 Cd 含量及转移系数的变化

Table 2 Cadmium concentrations and translocation coefficients of rice plants under different Cd treatments

生育期 Growth stage	Cd 处理 Treatment	Cd 含量 Cd concentrations/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$				转移系数 Translation coefficients	
		地上部 Shoots		地下部 Roots			
		D62B	Luhui17	D62B	Luhui17	D62B	Luhui17
分蘖期 Tillering stage	Cd1	6.82 $\pm$ 0.205c	11.71 $\pm$ 0.825c*	51.04 $\pm$ 1.063c	62.17 $\pm$ 3.808c*	0.13 $\pm$ 0.008a	0.19 $\pm$ 0.024a*
	Cd4	10.89 $\pm$ 0.022b	15.38 $\pm$ 0.555b*	94.63 $\pm$ 1.558b	96.81 $\pm$ 10.678b	0.12 $\pm$ 0.016a	0.16 $\pm$ 0.022a*
	Cd16	17.25 $\pm$ 0.467a	28.32 $\pm$ 0.389a*	155.66 $\pm$ 9.255a	198.68 $\pm$ 5.048a*	0.11 $\pm$ 0.005b	0.14 $\pm$ 0.011b*
抽穗期 Heading stage	Cd1	2.10 $\pm$ 0.038c	3.95 $\pm$ 0.317c*	21.16 $\pm$ 1.860c	26.66 $\pm$ 1.392c*	0.10 $\pm$ 0.013a	0.15 $\pm$ 0.009a*
	Cd4	5.60 $\pm$ 0.748b	10.26 $\pm$ 0.702b*	102.80 $\pm$ 6.838b*	87.03 $\pm$ 3.628b	0.05 $\pm$ 0.004b	0.12 $\pm$ 0.003b*
	Cd16	13.10 $\pm$ 0.517a	19.27 $\pm$ 0.528a*	146.24 $\pm$ 6.454a	146.59 $\pm$ 2.239a	0.09 $\pm$ 0.001a	0.13 $\pm$ 0.004b*
成熟期 Mature stage	Cd1	0.84 $\pm$ 0.047c	1.29 $\pm$ 0.143c*	19.49 $\pm$ 1.211c	17.89 $\pm$ 1.046c	0.04 $\pm$ 0.004a	0.07 $\pm$ 0.010a*
	Cd4	2.08 $\pm$ 0.001b	3.18 $\pm$ 0.007b*	80.04 $\pm$ 2.381b	76.24 $\pm$ 4.768b	0.03 $\pm$ 0.001b	0.04 $\pm$ 0.003b*
	Cd16	6.90 $\pm$ 0.052a	10.68 $\pm$ 0.416a*	176.19 $\pm$ 4.928a*	151.86 $\pm$ 0.916a	0.04 $\pm$ 0.001a	0.07 $\pm$ 0.003ab*

注: * 表示材料间差异显著($P\leq 0.05$)。下同。

Note: * mean significant difference between two rice varieties at 0.05 levels. The same as below.

加。当 Cd 处理浓度为 $16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, D62B 在各生育期地上部 Cd 含量分别为 Luhui17 的 60.91%、67.98% 和 64.61%, 差异达到最大。对地下部而言, D62B 和 Luhui17 在三个生育期均未表现出显著差异。转移系数可用来体现植物从根系向地上部运输 Cd 的能力。由表 2 可知, 随着生育期的推进, 两类水稻亲本材料向地上部转运 Cd 的能力均明显降低, 且在分蘖期、抽穗期和成熟期 D62B 的转移系数均显著低于 Luhui17。这说明 D62B 根系对 Cd 的固定能力强于 Luhui17, 继而体现出 D62B 地上部 Cd 含量显著低于 Luhui17。

由表 3 可知, 随 Cd 处理浓度的提高, D62B 和 Luhui17 在成熟期其谷壳及糙米 Cd 含量均显著增加。其中在 Cd1 处理条件下, 两水稻亲本材料的糙米 Cd 含量均小于 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。随着 Cd 处理浓度的提高, Luhui17 的糙米 Cd 含量在 Cd4 处理条件下高达 $0.86 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 为 D62B 的 7.16 倍, 已严重超过食品安全国家标准 GB 2762—2012 ($\text{Cd} < 0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。就籽粒转移系数而言, D62B 在 Cd4 和 Cd16 处理下籽粒转移系数未表现出差异, Luhui17 则随着 Cd 处理浓度的提高呈现先上升后下降的趋势, 且 D62B 的籽粒转移系数在各个 Cd 处理浓度下均显著低于普通材料 Luhui17, 其中在 Cd4 和 Cd16 处理下, D62B 分别比 Luhui17 低 76.47% 和 66.67%。可见, 安全亲本材料 D62B 不仅根系对 Cd 的固定能力强于 Luhui17, 其茎叶向籽粒运输 Cd 的能力也明显低于 Luhui17, 因而 D62B 具有籽粒 Cd 低积累的特点。

2.3 不同 Cd 处理对水稻亲本材料吸收速率和转运速率的影响

2.3.1 吸收速率

由图 1 分析可知, 随 Cd 处理浓度的提高两水稻亲本材料对 Cd 的吸收速率显著增加, 在 Cd16 处理

下达到最大。当 Cd 处理浓度为 $16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, D62B 对 Cd 的吸收速率在分蘖期、抽穗期和成熟期分别为 Cd1 处理的 2.85、4.90、9.00 倍, Luhui17 在三个生育期则分别为 Cd1 处理的 2.39、5.49、8.54 倍。但是, 在相同 Cd 处理浓度下, 两水稻亲本材料间对 Cd 的吸收速率差异并不显著。这表明两水稻亲本材料对 Cd 的吸收积累能力差异并不显著, 造成其地上部 Cd 含量差异的原因可能是 Cd 在水稻体内的转运机制不同。

2.3.2 转运速率

由图 2 可知, 随 Cd 处理浓度的提高, D62B 和 Luhui17 对 Cd 的转运速率均显著增加。随着生育期的推进, 两类水稻亲本材料对 Cd 的转运速率均显著降低。通过比较 D62B 和 Luhui17 的转运速率可知, 在不同 Cd 处理浓度下, D62B 对 Cd 的转运速率均小于 Luhui17, 且在高 Cd 处理浓度下差异达到显著。当 Cd 处理浓度为 $16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 分蘖期 D62B 对 Cd 的转运速率为 $1.93 \mu\text{g Cd} \cdot \text{g}^{-1} \text{ RDW} \cdot \text{d}^{-1}$, 显著低于 Luhui17 ($2.60 \mu\text{g Cd} \cdot \text{g}^{-1} \text{ RDW} \cdot \text{d}^{-1}$)。抽穗期和成熟期 D62B 的转运速率分别为 Luhui17 的 64.33% 和 65.15%。可见, 高 Cd 处理浓度下, D62B 能够通过自身根系对 Cd 的固定, 降低 Cd 向地上部运输的可能, 导致其转运速率显著低于普通材料, 继而造成地上部 Cd 含量差异显著。

2.4 Cd 在水稻亲本材料中的亚细胞分布

由表 4 可知, 水稻 Cd 安全亲本材料 D62B 地上部各亚细胞组分中的 Cd 含量表现为细胞壁>可溶部分>细胞器, 且随着 Cd 处理浓度的增加各组分的差异明显加大。在 Cd16 处理下, D62B 细胞壁 Cd 含量分别为可溶部分和细胞器的 1.32 倍和 3.64 倍。普通材料 Luhui17 则表现为可溶部分>细胞壁>细胞器, 在 Cd16 处理下可溶部分 Cd 含量分别为细胞壁和细胞

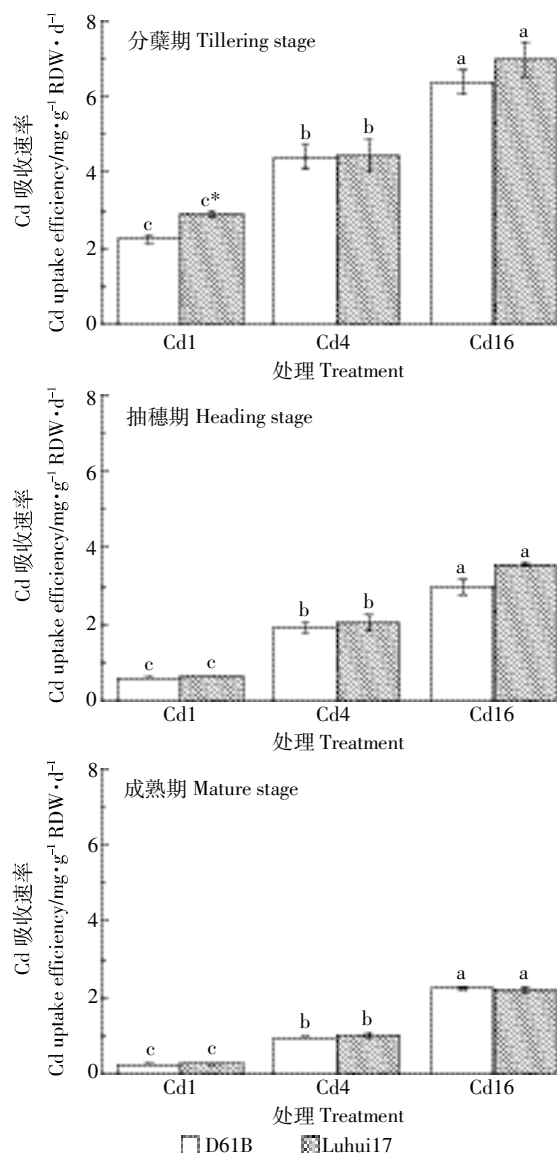
表 3 Cd 处理下成熟期水稻亲本材料籽粒各部分 Cd 含量及籽粒转移系数的变化

Table 3 Cadmium concentrations in grain and translocation coefficients of rice at mature stage under Cd treatments

材料 Variety	Cd 处理 Treatment	Cd 含量 Cd concentrations/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$		籽粒转移系数 Translation coefficient
		谷壳 Chaff	糙米 Brown rice	
D62B	Cd1	nd	nd	—
	Cd4	$0.44 \pm 0.044\text{b}$	$0.12 \pm 0.008\text{b}$	$0.04 \pm 0.002\text{a}$
	Cd16	$0.92 \pm 0.098\text{a}$	$0.52 \pm 0.013\text{a}$	$0.04 \pm 0.004\text{a}$
Luhui17	Cd1	$0.28 \pm 0.068\text{c}$	$0.20 \pm 0.003\text{c}$	$0.10 \pm 0.009\text{b}$
	Cd4	$1.50 \pm 0.099\text{b}^*$	$0.86 \pm 0.045\text{b}^*$	$0.17 \pm 0.016\text{a}^*$
	Cd16	$2.80 \pm 0.191\text{a}^*$	$2.12 \pm 0.108\text{a}^*$	$0.12 \pm 0.015\text{b}^*$

注: nd 表示未检出。

Note: nd means Cd didn't be detected.



同种水稻亲本材料的不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P \leq 0.05$), * 表示材料间差异显著 ($P \leq 0.05$)。下同
Different small letters within the same rice variety mean significant difference between different treatments at 0.05 levels, * mean significant difference between two rice varieties at 0.05 levels. The same as below

图1 Cd处理下水稻亲本材料Cd吸收速率的变化

Figure 1 Rates of Cd uptake by rice plants under different Cd treatments

器的1.64倍和4.10倍。这表明两类水稻亲本材料地上部对Cd的解毒机制可能存在差异。比较两类材料地上部各亚细胞组分的Cd含量差异可知,D62B地上部可溶部分的Cd含量均显著低于Luhui17,在Cd1、Cd4和Cd16处理下分别为Luhui17的67.39%、54.17%和49.58%;细胞壁则在Cd1和Cd4处理下显著低于Luhui17,在Cd16处理下差异不显著,表明在高Cd处理浓度下细胞壁对Cd的固定作用在限制

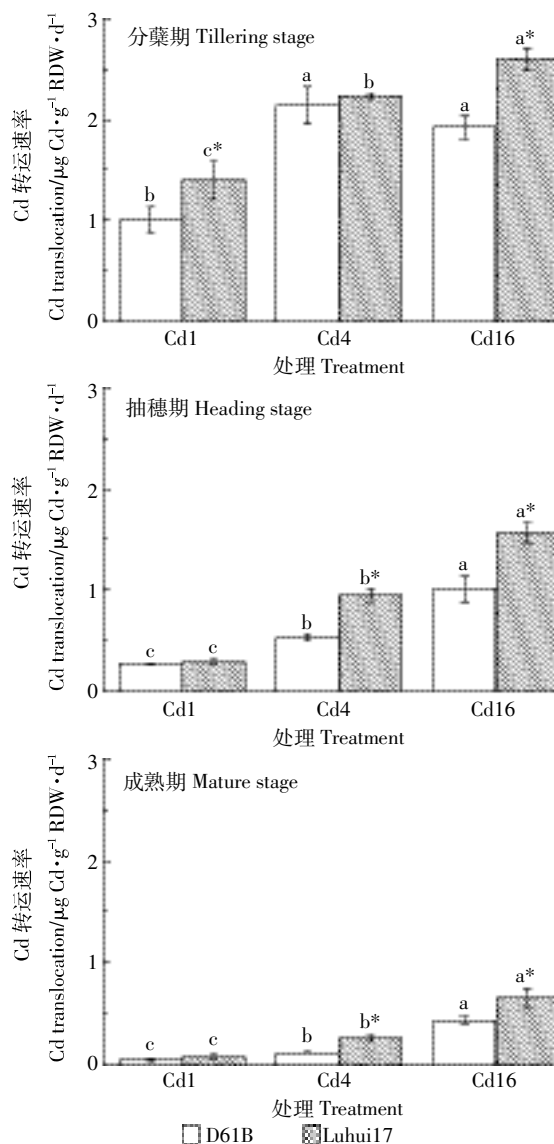


图2 Cd处理下水稻亲本材料Cd转运速率的变化

Figure 2 Cadmium translocation rates of rice plants under different Cd treatments

D62B地上部Cd的转运中起着重要作用。

对地下部而言,两类水稻亲本材料中Cd的亚细胞分布均表现为可溶部分>细胞壁>细胞器。且D62B在不同Cd处理浓度下可溶部分均显著低于Luhui17,相差达1.13~1.46倍。D62B细胞壁的Cd含量在Cd1和Cd4处理下显著低于Luhui17,但在Cd16处理下显著高于Luhui17,表明D62B在高Cd处理浓度下细胞壁对Cd的固定能力显著高于Luhui17,限制了Cd向地上部的移动。

结合图3可知,随Cd处理浓度的提高,D62B地上部各亚细胞组分的分配比例变化不明显,Luhui17随Cd处理浓度的提高其可溶部分的分配比例显著

表 4 Cd 在水稻亲本材料各部位亚细胞组分中的分布 ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{FW}$)
Table 4 Subcellular distribution of Cd in shoots and roots of rice plants ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{FW}$)

材料 Varieties	Cd 处理 Cd treatment	可溶部分 Soluble fraction		细胞壁 Cell wall		细胞器 Organelle	
		地上部 Shoot	地下部 Root	地上部 Shoot	地下部 Root	地上部 Shoot	地下部 Root
D62B	Cd1	0.93±0.075b	6.29±0.149a	1.19±0.019a	4.52±0.298b	0.33±0.047c	0.78±0.085c
	Cd4	1.30±0.033b	10.00±0.701a	1.56±0.186a	6.28±0.429b	0.61±0.006c	1.39±0.034c
	Cd16	1.77±0.154b	22.45±0.312a	2.33±0.108a	14.70±0.076b*	0.64±0.017c	3.62±0.181c
Luhui17	Cd1	1.38±0.007a*	8.34±0.286a*	1.50±0.229a*	5.31±0.148b*	0.39±0.027b	0.95±0.054c*
	Cd4	2.40±0.384a*	14.61±0.136a*	1.95±0.037b*	7.80±0.188b*	0.78±0.026c*	1.89±0.104c*
	Cd16	3.57±0.184a*	25.43±0.027a*	2.18±0.226b	13.25±0.159b	0.87±0.072c*	4.07±0.137c*

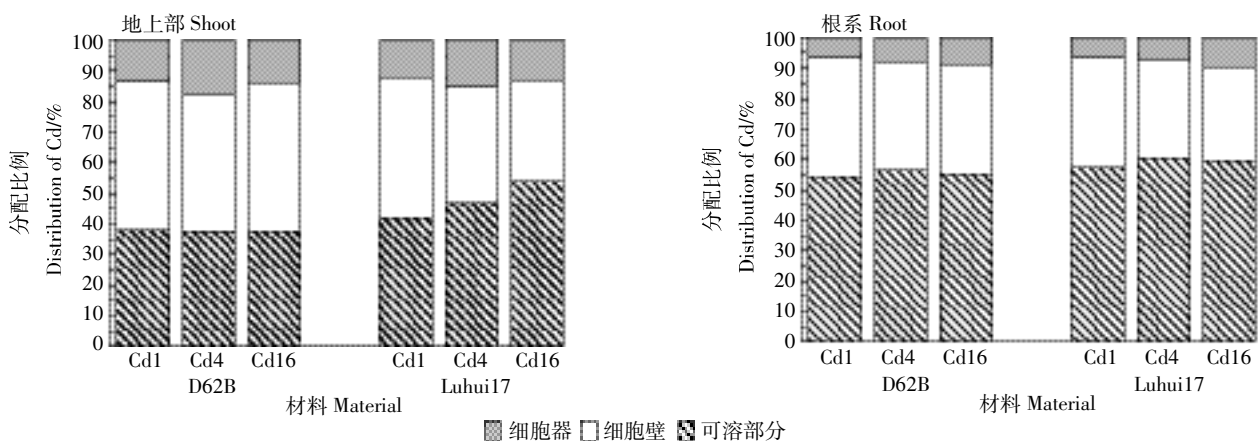


图 3 Cd 在水稻亲本材料地上部和根系中分布的相对百分比

Figure 3 Proportion of subcellular distribution of Cd in shoots and roots of rice plants

增加,细胞壁的分配比例明显降低。比较两类水稻亲本材料可知,在 Cd1 处理下其亚细胞的分配比例差异不显著,但随着 Cd 处理浓度的提高,Luhui17 可溶部分的分配比例显著高于 D62B,在 Cd16 处理下差异最大。此时,Luhui17 可溶部分的分配比例为 D62B 的 1.44 倍,细胞壁的分配比例仅为 D62B 的 67.12%,表明 D62B 地上部对 Cd 的固定能力明显高于 Luhui17,继而降低了 Cd 在地上部的有效性。对于地下部而言,两水稻亲本材料在 Cd1 和 Cd4 处理下其亚细胞组分的分配比例并无显著差异,但在 Cd16 处理下 Luhui17 细胞壁 Cd 的分配比例明显降低,表明 D62B 根系在高 Cd 处理浓度下对 Cd 的限制作用强于 Luhui17。

3 讨论

3.1 不同 Cd 处理对水稻亲本材料生长的影响

在高 Cd 处理浓度下,植株常常会表现出根系生长受阻、水分和养分的吸收受抑制、光合强度和呼吸强度下降、碳水化合物代谢失调及其他一系列生理代谢紊乱,最终表现出生物量和产量的下降^[17-18]。Obata

等^[19]研究表明,当 Cd 毒害达到一定程度,植株就会表现出生长迟缓、植株矮小、褪绿等中毒症状,严重影响其产量。Liu 等^[20]则指出,当土壤中 Cd 含量大于 $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,小麦的生长和结实状况已受到影响,当 Cd 含量达到 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,其产量显著降低。本研究表明,在分蘖期当 Cd 处理浓度为 $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时两类水稻亲本材料的生长并未受到影响,但当 Cd 处理浓度达到 $4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,两水稻亲本材料的生长均已受到明显的抑制作用,生物量显著下降。已有研究表明,Cd 对水稻的伤害程度会随着生育进程而减弱,继而对水稻生育后期干物质质量合成的毒害作用相对较轻^[21]。本研究结果表明,分蘖期和抽穗期 D62B 和 Luhui17 的生物量降低幅度较大,成熟期的降低幅度较小。在 Cd16 处理下,成熟期两水稻亲本材料虽单株籽粒产量显著降低,但 D62B 的籽粒产量降低幅度依然低于 Luhui17,表明 D62B 后期籽粒的形成受到的抑制作用低于普通材料,即表现出 D62B 对 Cd 具有一定的“适应”能力。

3.2 不同 Cd 处理下水稻亲本材料对 Cd 的吸收转运特征

研究表明,对于同一水稻品种,其各部位的 Cd

含量会随土壤 Cd 浓度的提高而增加,且根、茎、叶、籽粒间存在显著的相关性^[22]。对不同品种而言,尽管 Cd 在体内的分布依旧表现为根>茎叶>籽粒,但各器官间 Cd 含量的相关性很差,表明不同水稻品种对 Cd 的积累、分布存在显著差异^[23]。本研究结果表明,随 Cd 处理浓度的提高,两类水稻亲本材料 Cd 含量均显著增加,其根系 Cd 含量差异不大,但 Cd 安全亲本材料 D62B 茎叶以及籽粒 Cd 含量均显著低于普通材料 Luhui17。Cd 自根部向地上部迁移的能力是决定植株耐性的重要机制之一^[24]。即根系能够通过限制 Cd 向地上部的运输,降低 Cd 对地上部的毒害作用,从而提高作物的耐性。本研究结果表明,D62B 根系向地上部的转移系数显著低于 Luhui17,说明 D62B 根系对 Cd 的固持能力明显强于 Luhui17,即表现出 D62B 根系对 Cd 具有一定的“忍耐”能力。

Kukier 等^[25]研究发现,水稻体内 Cd 的吸收和转运是一个主动过程。李鹏等^[9]研究表明,水稻对 Cd 的吸收速率表现为幼穗分化前期>中期>抽穗后期。本研究结果表明,两类水稻亲本材料对 Cd 的吸收速率在分蘖期最强,抽穗期显著降低,到成熟期则趋于平稳。这主要是由于水稻分蘖期是营养生长的旺盛期,在该期间其形态建成较快,对养分的需求也最为强烈,因而在吸收营养元素时 Cd 会通过主动运输和被动扩散(浓度梯度)被水稻吸收。在不同生育期两水稻亲本材料对 Cd 的吸收速率均未表现出显著差异,表明两水稻亲本材料对 Cd 的日积累能力差异不显著。就转运速率而言,在高 Cd 处理浓度下 D62B 的转运速率均显著低于普通材料 Luhui17,造成 D62B 地上部对 Cd 的积累能力较低。正是由于这种较低的转运能力,致使 D62B 在中低度污染土壤上的糙米 Cd 含量低于食品安全国家标准限值,表现出籽粒 Cd 低积累的特点。

3.3 Cd 在水稻亲本材料中的亚细胞分布特征

本研究表明,在分蘖期水稻对 Cd 的吸收积累能力最强,因此水稻对 Cd 的解毒机制也更加明显。Cd 在细胞壁的沉淀作用以及细胞内的区隔化分布是植物体内部解毒的两个重要途径^[26]。细胞壁是重金属进入细胞内的第一道屏障,Cd 进入植株体后首先会被细胞壁固定,活性降低^[27]。对 Cd 超富集植物东南景天的研究表明,Cd 主要分布在细胞壁当中(61.13%~63.14%),且矿山生态型所占的比例显著高于非矿山生态型^[28]。Ramos 等^[26]对莴苣的研究也有相似的结果。但在小麦、大麦及水稻等作物中,细胞中的 Cd 主要

分布于可溶部分,其次为细胞壁,仅有少量 Cd 分布于细胞器中^[12-14]。这可能是由于植物对 Cd 的解毒策略不同。本研究中,在两类水稻亲本材料地下部的 Cd 主要分布于可溶部分,D62B 地上部主要分布于细胞壁,普通材料 Luhui17 则同样以可溶部分为主,表明 D62B 地上部细胞壁对 Cd 的固定能力要高于 Luhui17,限制了 Cd 向细胞内的转移,继而减小了 Cd 对水稻植株的毒害作用,表现为 D62B 具有更强的耐性。

4 结论

(1)Cd 安全亲本材料 D62B 在不同生育期对 Cd 的吸收积累能力与普通材料无显著差异,但 Cd 在植株体内的转运能力则显著低于普通材料,表现出 Cd 在其地上部的分配较低,成熟期糙米 Cd 含量显著低于普通材料 Luhui17。

(2)当 Cd 处理浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,Cd 安全亲本材料 D62B 的糙米 Cd 含量低于食品安全国家标准($\text{Cd} < 0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。当 Cd 处理浓度高于 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,Luhui17 已存在 Cd 暴露风险问题。因此,D62B 作为 Cd 安全亲本材料可用于培育 Cd 安全水稻品种。

(3)D62B 叶片 Cd 的亚细胞分布为细胞壁>可溶部分>细胞器,Luhui17 为可溶部分>细胞壁>细胞器。根系中则均为可溶部分>细胞壁>细胞器。D62B 对 Cd 的固持能力较强,降低了 Cd 在体内的有效性,减小了 Cd 在生育后期向籽粒转移 Cd 的可能。

参考文献:

- [1] 邹飞波,张国平. 不同 Cd 水平下大麦幼苗生长和 Cd 及养分吸收的品种间差异[J]. 应用生态学报, 2002, 13(12):1595-1599.
WU Fei-bo, ZHANG Guo-ping. Differences between barley cultivars in seedling growth and in uptake of cadmium and nutrients under various Cd levels[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(12):1595-1599.
- [2] Chaney R L, Reeves P G, Ryan J A, et al. An improved understanding of soil Cd risk to human and low cost methods to phytoextract Cd from contaminated soils to prevent soil Cd risks[J]. *Biomaterials*, 2004, 17:549-553.
- [3] 史 静,李正文,龚伟群,等. 两种常规水稻 Cd、Zn 吸收与器官分配的生育期变化:品种、土壤和 Cd 处理的影响[J]. 生态毒理学报, 2007, 2(1):32-40.
SHI Jing, LI Zheng-wen, GONG Wei-qun, et al. Uptake and partitioning of Cd and Zn by two non-hybrid rice cultivars in different growth stages: Effect of cultivars, soil type and Cd spike[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2007, 2(1):32-40.

- [4] Uruguchi S P, Mori S S, Kuramata M, et al. Root-to-shoot Cd translocation via the xylem is the major process determining shoot and grain cadmium accumulation in rice[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(9):2677-2688.
- [5] 李 鹏, 葛 滢, 吴龙华, 等. 两种籽粒 Cd 含量不同水稻的 Cd 吸收转运及其生理效应差异初探[J]. 中国水稻科学, 2011, 25(3):291-296.
LI Peng, GE Ying, WU Long-hua, et al. Uptake and translocation of cadmium and its physiological effects in two rice cultivars differed in grain cadmium concentration [J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2011, 25(3):291-296.
- [6] 郑 陶, 李廷轩, 张锡洲, 等. 水稻 Cd 高积累品种对 Cd 的富集特性[J]. 中国农业科学, 2013, 46(7):1492-1500.
ZHENG Tao, LI Ting-xuan, ZHANG Xi-zhou, et al. Accumulation characteristics of cadmium-accumulated rice cultivars with high cadmium accumulation[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(7):1492-1500.
- [7] Zhang H J, Zhang X Z, Li T X, et al. Variation of cadmium uptake, translocation among rice materials and detecting for potential cadmium-safe cultivars[J]. *Environmental Earth Sciences*, 2014, 71:277-286.
- [8] Liu J G, Qian M, Cai G L, et al. Uptake and translocation of Cd in different rice cultivars and the relation with Cd accumulation in rice grain[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2007, 143:443-447.
- [9] Fu X P, Dou C M, Chen Y G, et al. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Phytolacca americana* L.[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 186:103-107.
- [10] Xu Q S, Min H L, Cai S J, et al. Subcellular distribution and toxicity of cadmium in *Potamogeton crispus* L.[J]. *Chemosphere*, 2012, 89:114-120.
- [11] 周守标, 徐礼生, 吴龙华, 等. Cd 和锌在皖景天细胞内的分布及化学形态[J]. 应用生态学报, 2008, 19(11):2515-2520.
ZHOU Shou-biao, XU Li-sheng, WU Long-hua, et al. Subcellular distribution and chemical forms of Cd and Zn in *Sedum jinianum*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(11):2515-2520.
- [12] 万 敏, 周 卫, 林 葆. Cd 积累不同类型的小麦细胞 Cd 的亚细胞和分子分布[J]. 中国农业科学, 2003, 36(6):671-675.
WAN Min, ZHOU Wei, LIN Bao. Subcellular and molecular distribution of cadmium in two wheat genotypes differing in shoot/root Cd partitioning[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, 36(6):671-675.
- [13] Wu F B, Dong J, Qian Q Q, et al. Subcellular distribution and chemical form of Cd and Cd-Zn interaction in different barley genotypes[J]. *Chemosphere*, 2005, 60:1437-1446.
- [14] He J Y, Zhu C, Ren Y F, et al. Uptake, subcellular distribution, and chemical forms of cadmium in wild-type and mutant rice[J]. *Pedosphere*, 2008, 18(3):371-377.
- [15] Naraho N, Gaur P. Effects of cations, including heavy metals, on cadmium uptake by *Lemna polyrhiza* L.[J]. *Biometals*, 1995, 8:95-98.
- [16] Wang X, Liu Y G, Zeng G M, et al. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Beckmeria nivea*(L.) Gaud[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2008, 62:389-395.
- [17] 秦 丽, 祖艳群, 李 元. Cd 对超积累植物断续菊生长生理的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(增刊):048-052.
QIN Li, ZU Yan-qun, LI Yuan. Effects of Cd on the physiological characteristics and growth of the *Sonchus asper* L. Hill[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(Suppl):48-52.
- [18] 朱志勇, 李友军, 郝玉芬, 等. Cd 对小麦(*Triticum aestivum*)干物质积累、转移及籽粒产量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(2):252-258.
ZHU Zhi-yong, LI You-jun, HAO Yu-fen, et al. Effects of Cd on accumulations and translocation of biomasses and yield of different wheat (*Triticum aestivum*) cultivars[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(2):252-258.
- [19] Obata H, Umebayashi M. Effect of cadmium on mineral nutrient concentration in plant differing in tolerance for cadmium[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1997, 20:97-105.
- [20] Liu X L, Zhang S Z. Intraspecific differences in effects of contamination of cadmium and arsenate on early seedlings growth and metal uptake by wheat[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2007, 19:1221-1227.
- [21] Brune A, Urbach W, Dietz K J. Compartmentation and transport of zinc in barley primary leaves as basic mechanism involved in zinc tolerance[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2008, 17:153-162.
- [22] Uruguchi S P, Fujiwara T. Cadmium transport and tolerance in rice: Perspectives for reducing grain cadmium accumulation[J]. *Rice*, 2012, 5(5):1-8.
- [23] 李坤权, 刘建国, 陆小龙, 等. 水稻不同品种对 Cd 吸收及分配的差异[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(5):529-532.
LI Kun-quan, LIU Jian-guo, LU Xiao-long, et al. Uptake and distribution of cadmium in different rice cultivars[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2003, 22(5):529-532.
- [24] 肖美秀, 林文雄, 陈祥旭, 等. Cd 在水稻体内的分配规律与水稻 Cd 耐性的关系[J]. 中国农学通报, 2006, 22(2):379-381.
XIAO Mei-xiu, LIN Wen-xiong, CHEN Xiang-xu, et al. The relation between the law of Cd distribution in rice and the Cd-tolerance[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2006, 22(2):379-381.
- [25] Kukier U, Chaney R L. Growing rice grain with controlled cadmium concentrations[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2002, 25(8):1793-1820.
- [26] Ramos I, Esteban E, Lucena J J, et al. Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of *Lactuca* sp. Cd-Mn interaction[J]. *Plant Science*, 2002, 162:761-767.
- [27] 于 辉, 杨中艺, 杨知建, 等. 不同类型 Cd 积累水稻细胞 Cd 化学形态及亚细胞和分子分布[J]. 应用生态学报, 2008, 19(10):2221-2226.
YU Hui, YANG Zhong-yi, YANG Zhi-jian, et al. Chemical forms and subcellular and molecular distribution of Cd in two Cd-accumulation rice genotypes[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(10):2221-2226.
- [28] Ni T H, Zhang W Y. Subcellular distribution of cadmium in mining ecotype *Sedum alfredii*[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2003, 45(8):925-928.