

# 镉和苄嘧磺隆复合污染胁迫对水稻的 基因应答机理的基因芯片分析

路超<sup>1,2,4</sup>, 姜慧敏<sup>1,2</sup>, 张建峰<sup>1,2</sup>, 葛才林<sup>3</sup>, 王泽港<sup>3</sup>, 杨俊诚<sup>1,2\*</sup>

(1.中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 北京 100081; 2.耕地培育技术国家工程实验室, 北京 100081; 3.扬州大学生物科学与技术学院, 扬州 225009; 4.北京市大兴区农林研究所, 北京 102600)

**摘要:**在前期研究的基础上设置镉( $\text{Cd}$ ,  $45 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )、苄嘧磺隆( $\text{BSM}$ ,  $0.25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )和镉与苄嘧磺隆复合( $++$ ,  $45 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd} + 0.25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{BSM}$ )污染为试验处理组, 在培养基中加入等量的蒸馏水作为对照( $\text{CK}$ ), 以丰美占和粤香占两个不同基因型水稻品种为材料, 利用 Affymetrix 水稻基因芯片, 研究了丰美占和粤香占幼苗根系中的基因表达对  $\text{Cd}$ 、 $\text{BSM}$  及其复合污染胁迫的基因应答情况。基因芯片分析数据表明, 经  $\text{Cd}$ 、 $\text{BSM}$  及其复合胁迫处理的两个水稻品种根系中共发现有 2144 个基因表达上调( $\text{ratio} \geq 2$ ), 共发现有 2346 个基因表达下调( $\text{ratio} \leq 0.5$ )。其中, 上调基因主要涉及硫吸收与代谢、抗氧化、植物解毒、泛素引导的蛋白质降解、伴侣蛋白等相关基因。这些基因的高效表达能有效地降低  $\text{Cd}$  和  $\text{BSM}$  对水稻植株的毒害作用, 进而使复合污染处理下的丰美占幼苗具有较高的对  $\text{Cd}$ (或  $\text{BSM}$ )胁迫的耐受性。

**关键词:**水稻; 复合污染; 基因表达; 基因芯片; 生物信息学

**中图分类号:** Q945.78    **文献标志码:** A    **文章编号:** 1672-2043(2013)03-0426-06    **doi:** 10.11654/jaes.2013.03.003

## Genome-wide Transcriptional Responses in Rice Roots to the Co-contamination of Cadmium and Bensulfuron-methyl by Microarray

LU Chao<sup>1,2,4</sup>, JIANG Hui-min<sup>1,2</sup>, ZHANG Jian-feng<sup>1,2</sup>, GE Cai-lin<sup>3</sup>, WANG Ze-gang<sup>3</sup>, YANG Jun-cheng<sup>1,2\*</sup>

(1. Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, CAAS, Beijing 100081, China; 2. National Engineering Laboratory for Improving Quality of Arable Land, Beijing 100081, China; 3. College of Bioscience and Biotechnology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 4. Beijing Daxing Fruit and Forestry Institute, Beijing 102600, China)

**Abstract:** Using the Affymetrix rice genome chip, it was explored that the gene transcriptional responses in YueXiangzhan and FengMeizhan rice roots to critical concentrations of cadmium ( $\text{Cd}$ ,  $45 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), bensulfuron-methyl ( $\text{BSM}$ ,  $0.25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) and their co-contamination ( $++$ ,  $45 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd} + 0.25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{BSM}$ ) respectively. The results of microarray analysis showed that 2144 genes were significantly up-regulated ( $\text{ratio} \geq 2$ ), and 2346 genes were down-regulated ( $\text{ratio} \leq 0.5$ ) in the roots of the rice varieties treated with  $\text{Cd}$ ,  $\text{BSM}$  and  $++$ . Those highly up-regulated genes were classified into several groups, including sulfur assimilation, detoxification, anti-oxidation, protein ubiquitination and chaperones and so on. It revealed the mechanism for which the treatment of  $\text{Cd}$  combined with  $\text{BSM}$  alleviated the toxic effects of  $\text{Cd}$  or  $\text{BSM}$  individual treatment on FengMeizhan seedlings.

**Keywords:** *Oryza sativa* L.; co-contamination; gene expression; microarray; bioinformatics

随着现代工农业的快速发展和污水排放、采矿冶炼、农药和化肥的大量施用等原因<sup>[1]</sup>, 以及土壤对污染

物的累积富集作用, 土壤污染日趋复杂化。土壤  $\text{Cd}$  污染状况不容乐观<sup>[2]</sup>, 受  $\text{Cd}$  污染耕地面积为  $1.33 \times 10^4 \text{ hm}^2$ <sup>[3]</sup>, 而且其进入食物链后对人类的健康将产生严重的危害<sup>[4]</sup>。随着我国农业栽培耕作方式趋于规模化和集约化发展, 除草剂的使用量日渐增大, 据国家统计局最新统计, 2011 年 1—11 月份, 我国除草剂的产量达  $105.7 \text{ 万 t}$ <sup>[5]</sup>, 而且随着环保意识的不断提高, 被公认为高效和环保农药的磺酰脲类除草剂发展迅猛,

收稿日期: 2013-01-09

**基金项目:** 国家重点基础研究计划“973”课题(2013CB127406); 国家自然科学基金项目(21107139); 农业部公益性行业科研专项(201103007); 科研院所技术开发研究专项资金(2012EG134235); 国家自然科学基金项目(20877101)

**作者简介:** 路超(1982—), 男, 河北廊坊人, 博士, 主要研究方向为环境生物技术。E-mail: luchaoxin2011@163.com

\* 通信作者: 杨俊诚 E-mail: yangjich@263.net

全球磺酰脲类除草剂市场销售额 2007 年达 20.35 亿美元<sup>[6]</sup>。我国是世界上水稻的生产大国,因此作为磺酰脲类除草剂中对水稻特异性较强的苄嘧磺隆在我国的使用量十分巨大<sup>[7]</sup>,2007 年我国苄嘧磺隆的使用量约为 420 t,其使用面积为 3.9 亿亩,占水稻总种植面积的 90.7%<sup>[8]</sup>。除草剂在土壤、水源和食品中残留量对人类健康构成的危害,已经引起各国环保和食品安全专家的高度重视<sup>[9]</sup>,对其残留的毒理研究也已经开展<sup>[10-11]</sup>。因此,重金属与磺酰脲类除草剂在土壤中共存所产生的复合污染成为客观现实,而对其应答机理的研究较早有人<sup>[12]</sup>提出,但与重金属单因素污染的植物基因应答机制研究相比,对重金属与磺酰脲类除草剂复合污染的基因应答机制的研究还处于开始阶段。

尽管目前有少量报告涉及磺酰脲类除草剂与重金属复合污染的研究,但这些工作主要局限于复合污染条件下植物对除草剂和重金属的吸收以及对植物伤害效应等方面,而有关植物体内的应答调控机制,尤其关于植物基因表达对磺酰脲类除草剂与重金属复合污染的应答和调控机制方面的研究还处于起步阶段,相关研究进展的公开报道很少。研究植物基因表达对磺酰脲类除草剂与重金属复合污染的应答和调控机制不仅可在理论上进一步阐明除草剂、重金属及其复合污染对植物影响的分子机理,在实践上也能获得农作物的高产、优质提供指导。因此,本文以丰美占和粤香占两个基因型水稻品种为材料,利用基因芯片技术,在 mRNA 转录水平上研究 Cd、苄嘧磺隆(BSM)及其复合污染对水稻的基因应答机制,为阐明 Cd、BSM 及其复合污染对水稻影响的分子机理提供理论依据,为构建水稻对 Cd、BSM 及其复合污染基因应答的调控网络奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

鉴于我们之前对 Cd、BSM 及其复合污染胁迫对粤香占和丰美占两个基因型水稻品种生长发育的影响<sup>[13]</sup>等研究积累,仍然选择粤香占和丰美占为试验供试材料。这两个水稻品种由广东省农业科学院水稻研究所选育,其中丰美占属籼型常规水稻,粤香占属早籼中熟常规稻品种,两种水稻在我国广泛种植。

### 1.2 水稻培养与处理

水稻种子在 10%的  $H_2O_2$  (V/V) 溶液中浸泡消毒 30 min,然后用去离子水充分冲洗。种子排放在不锈钢的金属网上,浸没在 25 ℃的水中发芽。发芽后的水

稻幼苗采用国际水稻研究所的完全培养液,在光温条件可控(14 h 光周期,75%的相对湿度,白天/夜晚温度 30 ℃/25 ℃)的培养箱内进行水培。当水稻幼苗长成三叶龄时进行污染处理,在培养基中加入  $CdCl_2$  和 BSM,最终处理浓度为 Cd ( $45 \mu mol \cdot L^{-1} Cd^{2+}$ )、BSM ( $0.25 \mu mol \cdot L^{-1}$  BSM) 和 Cd+BSM ( $45 \mu mol \cdot L^{-1} Cd^{2+} + 0.25 \mu mol \cdot L^{-1}$  BSM),在培养基中加入等量的蒸馏水作为对照(CK),应用  $1.0 mol \cdot L^{-1}$  HCl 及  $1.0 mol \cdot L^{-1}$  NaOH 调节培养液 pH 至 5.0 左右。Cd 和 BSM 污染处理浓度参照我们之前的研究<sup>[13]</sup>,选择的是能明显抑制水稻幼苗生长的临界浓度。每个处理设置 4 组重复,每日更换培养液 1 次。样品处理 3 d 后分别采样进行基因芯片分析。

### 1.3 基因芯片分析方法

采用 AFFYMETRIX 公司所开发的水稻表达谱芯片,研究丰美占和粤香占根系在 Cd、BSM 和复合处理条件下的基因表达情况,芯片杂交等工作由北京博奥公司的生物芯片实验室完成。

水稻根系总 RNA 采用 RNAprep pure plant kit (TIANGEN 公司,北京)提取。样品制备方法编号 AG-SPRI-01,样品质量控制方法及标准编号 AG-C01E-01。用 GCOS1.4 (Affymetrix® GeneChip® Operating Software1.4) 软件处理得到单张芯片结果中的 Call 值,并用 dChip2008 软件对 GCOS1.4 的输出结果进行数据分析。利用分子注释系统 (Molecule Annotation System/Mas3.0)<sup>[14]</sup>对基因芯片中检测到的差异表达基因进行序列比对、基因组比较和生物学功能查询。

### 1.4 基因芯片数据聚类分析

对两个水稻品种在 BSM、Cd 以及两者复合污染条件下的 Affymetrix® 水稻基因组芯片数据进行层次聚类(Hierarchical clustering)分析。利用 TMev 软件<sup>[15]</sup> (Mev4.3.02 software),根据基因的相对表达量对 6 个处理中的被调控基因( $ratio \geq 2$  或  $\leq 0.5$ )进行层次聚类分析。

基因相对表达量=处理测量值(BSM、Cd 和++)/对照测量值。

式中 BSM 为苄嘧磺隆处理;Cd 为镉处理;++为苄嘧磺隆和镉复合处理

## 2 结果与分析

通过对基因芯片数据的进一步检索分析,在两个水稻品种的 6 个处理中共有 4329 个基因的表达受到明显影响,其中 2144 个基因上调(丰美占 964 个;粤

香占 1599 个), 2346 个基因下调 (丰美占 917 个; 粤香占 1776 个)。

如图 1 所示, 两个水稻品种明显地表现出了对 3 种处理的不同响应。在上调基因方面, 粤香占相对于丰美占而言对 3 种处理一直保持着高响应状态, 其上调基因的数量接近于丰美占的 2 倍, 而且 3 种处理条件下的上调基因数量相近, 复合处理条件下的上调基因数量最多为 798 个基因; 而在丰美占中, Cd 处理条件下的上调基因数量最多, 为 485 个基因, 而且明显高于 BSM 和复合处理条件下的。在下调基因方面, 丰美占在 3 种处理条件下的变化规律与上调基因的相同, Cd 处理诱导的最多, 复合处理次之, BSM 处理诱导的数量最少; 但粤香占中复合处理诱导的下调基因数量几乎是 BSM 和 Cd 两者单独诱导数量的总和, 达到了 1122 个基因。丰美占和粤香占在上/下调基因数量以及 3 种处理条件下变化规律上的差异很可能是两个品种在复合污染条件下表现出不同生长状况的原因。

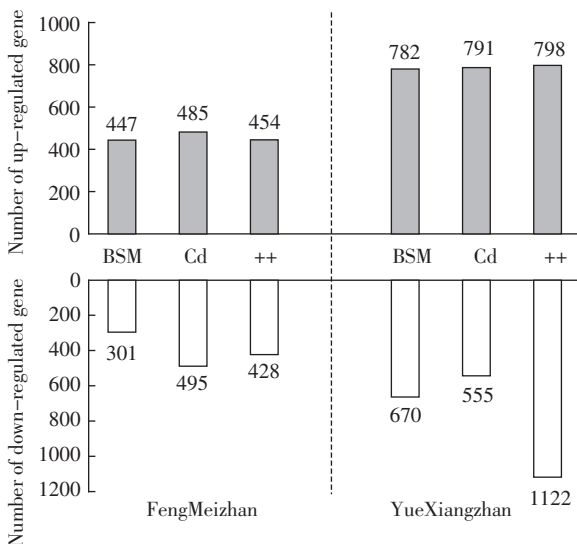


图 1 镉(Cd)、苄嘧磺隆(BSM)及其复合处理(++ ) 3 d 后水稻根系中的有效差异表达基因数量

Figure 1 All genes impacted by a bensulfuron-methyl(BSM), a cadmium (Cd) and their co-contamination(++ ) treatment

对全部差异表达基因的层次聚类分析(图 2)显示, F-BSM 和 Y-BSM、F-Cd 和 F-++、Y-Cd 和 Y-++ 分别被聚入 3 个平行的类别中, 而且 3 组间的距离基本相等。一方面说明两个水稻品种根系对 BSM 胁迫应答的基因类型基本相近, 另一方面这两品种根系对 Cd 胁迫应答的基因类型却存在着一定的差异, 而这一差异导致了两个水稻品种对 BSM+Cd 复合污染的

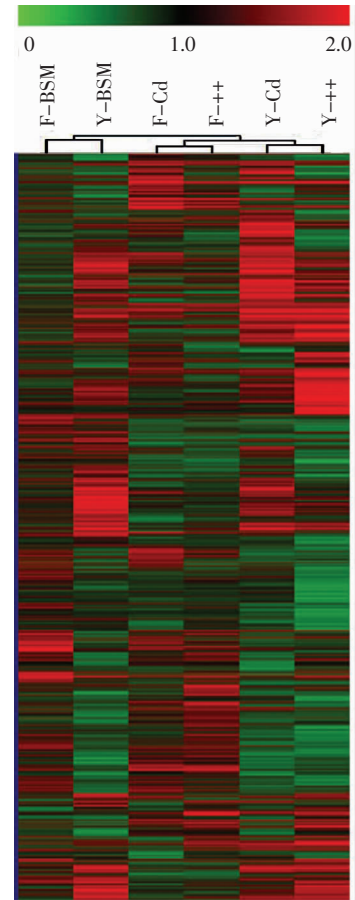


图 2 镉(Cd)、苄嘧磺隆(BSM)及其复合处理(++ )条件下丰美占(F)和粤香占(Y)根系中全部差异表达基因的层次聚类图

Figure 2 Hierarchical clustering of transcript abundance of all impacted genes in FengMeizhan(F) and YueXiangzhan(Y) roots following a bensulfuron-methyl(BSM), a cadmium (Cd) and their co-contamination(++ ) treatment

基因应答出现明显差异。由此可以推断, Cd 很可能在复合污染中起主导作用, 主要的应答基因类型由 Cd 决定。

利用 Mas3-capitalbio(<http://bioinfo.capitalbio.com/mas3/>)的 GO 注释功能对复合处理条件下的上调基因进行功能分类, 如表 1 所示, 在前 10 个基因功能类型中, 前 4 位都是涉及植物对各种刺激的应答相关基因, 其后是信号转导和包括氨基酸代谢、脂代谢、糖代谢在内的各类代谢相关基因。在 Cd 和 BSM 的外界污染的刺激下, 除了各种应激物质相关基因的表达水平被明显提高外, 水稻各项代谢相关基因的表达水平也被明显提高了, 大量的能量和营养物质都被用于维持植物的应激和生存, 从而导致用于正常生长的能量和营养物质减少, 植物生长受到抑制。这一结果与我们先前的试验结果相符, 不论哪种处理水稻的生长状况

表 1 丰美占和粤香占根系中 Cd+BSM 复合处理诱导上调表达基因的生物学过程 GO 检索

Table 1 GO index of all up-regulated genes under Cd+ BSM in FengMeizhan and YueXiangzhan roots by GO biological process

| GO Term                                         | p-Value   | q-Value   |
|-------------------------------------------------|-----------|-----------|
| GO:0009628 response to abiotic stimulus         | 6.57E-23  | 4.14E-21  |
| GO:0009719 response to endogenous stimulus      | 1.26E-17  | 3.96E-16  |
| GO:0009607 response to biotic stimulus          | 3.24E-14  | 4.08E-13  |
| GO:0006950 response to stress                   | 5.31E-13  | 5.36E-12  |
| GO:0006519 amino acid and derivative metabolism | 6.86E-12  | 4.80E-11  |
| GO:0006629 lipid metabolism                     | 3.33E-11  | 2.10E-10  |
| GO:0007165 signal transduction                  | 2.31E-10  | 1.21E-09  |
| GO:0009058 biosynthesis                         | 2.46E-08  | 1.03E-07  |
| GO:0005975 carbohydrate metabolism              | 8.76E-06  | 3.07E-05  |
| GO:0006118 electron transport                   | 2.03E-05  | 6.09E-05  |
| GO:0009605 response to external stimulus        | 2.17E-05  | 6.21E-05  |
| GO:0016043 cell organization and biogenesis     | 2.98E-05  | 8.17E-05  |
| GO:0006464 protein modification                 | 3.58E-05  | 9.02E-05  |
| GO:0000003 reproduction                         | 4.40E-05  | 1.07E-04  |
| GO:0006810 transport                            | 6.25E-05  | 1.46E-04  |
| GO:0019748 secondary metabolism                 | 7.34E-05  | 1.65E-04  |
| GO:0009056 catabolism                           | 1.00E-04  | 2.10E-04  |
| GO:0007585 respiratory gaseous exchange         | 1.08E-04  | 2.19E-04  |
| GO:0006544 glycine metabolism                   | 9.69E-04  | 0.001 743 |
| GO:0006350 transcription                        | 0.001 057 | 0.001 851 |

都明显低于对照组(CK)。

在对上调基因的分析中,我们发现一共有 35 个基因在两个品种的共 6 个处理中全部表达上调,这些基因包括氧化还原相关基因,如 Haem peroxidase、Nitrate reductase;植物解毒相关的基因,如 Cytochrome P450、RicMT、UDP-glucuronosyl/UDP-glucosyl-transferase family protein;蛋白质代谢相关基因,如 Peptidase S10 等。总体来说,这些上调基因主要涉及硫吸收与代谢、抗氧化、植物解毒、泛素引导的蛋白质降解、伴侣蛋白等方面,对相关基因在复合处理条件下的表达情况正在进一步的研究中。

### 3 讨论

在前期的研究中我们发现<sup>[13]</sup>,粤香占对 Cd 的耐受性强于丰美占,但在本实验浓度的 Cd+BSM 复合处理条件下,两个品种对 Cd 的耐受性出现了逆转。在复合处理条件下,Cd 对丰美占的毒害作用似乎得到了缓解,其生长量大于在 Cd 处理条件下的;而 Cd 对粤香占的毒害作用似乎被加强了,生长量低于其在 Cd 处理条件下的。这种有机无机复合污染条件下对植物毒性降低的研究已经广泛开展<sup>[16-17]</sup>,结果表明无机物,特别是重金属对植物毒害的降低主要是通过有机物与重金属反应形成复合物,或有机物刺激植物根

系分泌物质与重金属形成复合物等形式降低重金属的生物利用效率,从而减少毒害作用<sup>[18]</sup>。在我们随后的试验中进一步发现(数据未发表),苄嘧磺隆在本实验浓度下对水稻根系吸收 Cd 有一定的刺激作用,提高了水稻对 Cd 的利用效率,但对水稻茎叶中的 Cd 含量变化影响不显著。两个明显矛盾的现象在丰美占中同时发生,对其机理的研究就显得十分必要了。

基因芯片数据分析表明,粤香占在 3 种处理条件下诱导的上调基因数量都明显多于丰美占的,粤香占表现出了对外界胁迫伤害的高效应激水平,这与高抗性植物中发现的一类或几类基因的常态、高效过量表达是其具有高抗性的原因之一<sup>[19]</sup>的结论相符,而且也与前期生理学研究中粤香占在 Cd 和 BSM 单独处理条件下的生长状况好于丰美占的结果相符,但与复合处理条件下的情况不符。进一步对比丰美占、粤香占在 Cd 处理和复合处理中上/下调基因数量,我们发现丰美占在复合处理条件下的上/下调基因数量都少于 Cd 处理条件下的,这是一种植物所受胁迫降低的表现<sup>[20]</sup>,而且两个处理诱导的基因类型相似(图 2);粤香占表现出了明显的不同,复合处理诱导的上/下调基因数量都大于 Cd 处理条件下的,特别是下调基因数量,复合处理诱导的几乎是 Cd 处理诱导数量的 2 倍。

在除草剂应用领域有一种安全剂理论<sup>[21]</sup>,即安全剂是一种对植物无害的化学物质,它能够通过诱导编码除草剂代谢相关酶的基因过量表达,如 GSTs、细胞色素 P450s 等,从而加快植物对除草剂的代谢来降低其对植物的毒害作用<sup>[22]</sup>。这很可能是基因在时间上提前表达所造成的。同样,Herbette 等<sup>[23]</sup>在试验中发现 Cd 对拟南芥的基因类型诱导表达的时间效应大于浓度效应,即在不同 Cd 浓度的同一时间点上拟南芥被诱导的基因类型基本相同,而同一 Cd 浓度不同时间点间的诱导基因类型相同率很低,Cd 处理不同时间点的水稻基因应答顺序也被测定完成<sup>[24]</sup>。这种不同基因类型的先后应答顺序,很可能是复合处理条件下 Cd 对丰美占的毒害作用有所减轻的关键,BSM 起到了 Cd 的安全剂的作用。在复合处理中,可能由于 BSM 能够更快诱导相关基因的表达,BSM 能够诱导更多 ABA(数据未发表),或者与 Cd 共同诱导了更多基因的表达,同时 BSM 对丰美占的毒害作用又明显小于 Cd,所以丰美占合成了更多的保护植株的物质,如 GSTs<sup>[25-26]</sup>等,从而降低了 Cd 对丰美占的毒害作用。而粤香占在复合处理条件下更多的基因被抑制表达,很可能多个关键的抗胁迫基因被抑制从而降低粤香占对 Cd 的耐受性,从而造成其生长受到抑制。

#### 4 结论

植物为了抵抗外源物质的毒害作用,在其体内形成了多种主动和被动的防御体系。环境污染的日趋复杂化,对于研究植物防御、调节体系工作既是挑战也是机遇,它为我们提供了更多的研究对象。粤香占和丰美占在 Cd+BSM 复合处理条件下基因表达情况的差异为我们研究有机、无机复合污染情况下的植物调控机理和治理提供了很好的材料和研究方向。

粤香占在复合处理条件下 Cd 耐受性的下降,很可能是由于关键代谢、调控基因表达受到抑制造成的,这为研究水稻的 Cd 防御体系关键基因提供了研究对象;而丰美占在复合处理条件下 Cd 耐受性的提高为 Cd 污染治理提供了一个新的方向,即将安全剂理论应用到 Cd 污染治理中来,考虑开发研制出可以促进植物缓解 Cd 毒害作用的无害化学物质。

#### 参考文献:

- [1] 郭 丹,朱维琴,林 娟.杭州市主要地区农田土壤重金属污染评价及关联特征研究[J].杭州师范大学学报:自然科学版,2009,8(3):138-143.

- GUO Dan, ZHU Wei-qin, LIN Juan. Researches on assessment and correlation of heavy metal contamination in agricultural soils of Hangzhou [J]. *Journal of Hangzhou Normal University (Natural Science Edition)*, 2009, 8 (3):138-143.
- [2] 王凯荣.农田生态系统镉污染研究[D].武汉:华中农业大学博士学位论文,2004.
- WANG Kai-rong. Studies on cadmium pollution in farming ecosystems [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, Ph.D. Thesis. 2004.
- [3] 杜应琼,何江华,陈俊坚,等.铅、镉和铬在叶类蔬菜中的累积及其生长的影响[J].园艺学报,2003,30(1):51-55.
- DU Ying-qiong, HE Jiang-hua, CHEN Jun-jian, et al. Effects of heavy metals of Pb, Cd and Cr on the growth of vegetables and their uptake[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2003,30(1):51-55.
- [4] Imamul Huq S M, Joardar J C, Parvin S, et al. Arsenic contamination in food-chain: Transfer of arsenic to food materials through ground water irrigation[J]. *J Health Poul Nutr*, 2006, 23:305-316.
- [5] 束 放,邵振润.我国农药市场 2011 年概况及 2012 年展望[J].中国植保导刊,2012,1:47-49.
- SHU Fang, SHAO Zhen-run. China pesticide market general situation in 2011 and outlook of 2012 [J]. *China Plant Protection*, 2012, 1:47-49.
- [6] [Http://www.ampcn.com/news/detail/56203.asp](http://www.ampcn.com/news/detail/56203.asp)
- [7] Watkins S. The world market for crop protection products in rice[R]. UK: PJB Publications Ltd, 2003:61
- [8] 张敏恒.磺酰脲类除草剂的发展现状、市场与未来趋势[J].农药,2010,49(4):235-240.
- ZHANG Min-heng. The development situation, market and trend of sulfonylurea herbicides[J]. *Pesticides*, 2010,49(4):235-240.
- [9] Jennifer L F, Rayburn A L. Aquatic herbicides and herbicide contaminants: In vitro cytotoxicity and cell-cycle analysis[J]. *Environmental Toxicology*, 2006, 21(3):256-263.
- [10] 叶发兵,吴中华,董元彦,等.除草剂苄嘧磺隆对后茬作物的危害[J].湖北农业科学,2005,5:72-73.
- YE Fa-bing, WU Zhong-hua, DONG Yuan-yan, et al. Phytotoxicity of the herbicide bensulfuron methyl to next-season crop[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2005, 5:72-73.
- [11] 姜罡丞.苄嘧磺隆对斑马鱼的急性毒性和遗传毒性研究[J].安徽农业科学,2009,37(32):15879-15881.
- JIANG Gang-cheng. Study on the acute toxicity and genetics toxicity of bensulfuronk-methyl on *Danio rerio*[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2009, 37(32):15879-15881.
- [12] 杨俊诚,张建峰,韦东普,等.苄嘧磺隆对 Cd 的生物有效性影响的研究[J].农业环境科学学报,2006,25(2):291-294.
- YANG Jun-cheng, ZHANG Jian-feng, WEI Dong-pu, et al. Effect of bensulfuron methyl on the bioavailability of cadmium[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006,25(2):291-294.
- [13] 吴庆钰,杨俊诚,张建峰,等.镉与苄嘧磺隆复合污染对水稻某些生物学特性的影响[J].农业环境科学学报,2007,26(5):1789-1796.
- WU Qing-yu, YANG Jun-cheng, ZHANG Jian-feng, et al. Effects of cadmium and bensulfuron methyl co-contamination on some biological characteristics of rice[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(5):1789-1796.

- [14] <http://bioinfo.capitalbio.com/mas3/>
- [15] <http://mev.tm4.org>
- [16] Dermont G, Bergeron M, Richer-Lafèche M, et al. Remediation of metal-contaminated urban soil using flotation technique[J]. *Sci Total Environ*, 2009, 408:1199–1211.
- [17] Zhuang X, Chen J, Shim H, et al. New advances in plant growth-promoting rhizobacteria for bioremediation[J]. *Environ Int*, 2007, 33:406–413.
- [18] Jin Hee Park, Dane Lamb, Periyasamy Paneerselvam, et al. Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal (loid) contaminated soils[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 185:549–574.
- [19] Teruaki Taji, Motoaki Seki, Masakazu Satou, et al. Comparative genomics in salt tolerance between arabidopsis and arabidopsis-related halophyte salt cress using arabidopsis microarray[J]. *Plant Physiol*, 2004, 135:1697–1709.
- [20] Villiers F, Ducruix C, Hugouvieux V, et al. Investigating the plant response to cadmium exposure by proteomic and metabolomic approaches [J]. *Proteomics*, 2011, 11(9): 1650–1663.
- [21] Davies J, Caseley J C. Herbicide safeners: A review[J]. *Pestic Sci*, 1999, 55:1043–1058.
- [22] Riechers D E, Vaughn K C, Molin W T. The role of plant glutathione S-transferases in herbicide metabolism. [M]// Clark J M, Ohkawa H, et al. Environmental Fate and Safety Management of Agrochemicals. ACS Symposium Series 899. American Chemical Society, Washington, D C, 2005:216–232.
- [23] Herbette S, Taconnat L, Hugouvieux V, et al. Genome-wide transcriptome profiling of the early cadmium response of arabidopsis roots and shoots[J]. *Biochimie*, 2006, 88:1751–1765.
- [24] Ippei Ogawa, Hiromi Nakanishi, Satoshi Mori, et al. Time course analysis of gene regulation under cadmium stress in rice[J]. *Plant Soil*, 2009, 325:97–108.
- [25] Axarli I, Dhavala P, Papageorgiou A C. Crystallographic and functional characterization of the fluorodifen-inducible glutathione transferase from glycine max reveals an active site topography suited for diphenylether herbicides and a novel L-site[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2009, 385(3): 984–1002.
- [26] Moons A. Osgtu3 and osgtu4, encoding tau class glutathione S-transferases, are heavy metal- and hypoxic stress-induced and differentially salt stress-responsive in rice roots[J]. *Febs Letters*, 2003, 553(3): 427–432.