

大麦中镉的亚细胞分布和化学形态及PCs合成的基因型差异

陆仲烟^{1,2}, 刘仲齐^{1,2*}, 宋正国^{1,2}, 张长波^{1,2}, 孙东发³

(1. 农业部环境保护科研监测所生态毒理与环境修复研究中心, 天津 300191; 2. 农业部产地环境与农产品安全重点开放实验室, 天津 300191; 3. 华中农业大学植物科学技术学院, 武汉 430070)

摘要:为探明不同基因型大麦对镉耐性和转运能力差异, 选取大麦耐镉品种华 10118 和敏感品种华 2255 进行水培试验, 比较不同镉处理下大麦根系和地上部中镉的亚细胞分布和化学形态的差异, 并研究了根系和叶片中 PCs 含量对镉转运能力的影响。结果表明: 华 10118 对镉的转运能力较差, 地上部镉含量较低; 镉在两个大麦品种中主要分布于细胞壁和胞液中, 基本各占 35%~44%, 细胞器占 5%~26%, 华 2255 的细胞器组分中镉含量显著大于华 10118, 可能是华 2255 耐镉性差的原因。两个基因型大麦根系中的镉以醋酸提取态为主, 而地上部中以 NaCl 提取态最多; 华 2255 的乙醇提取态、去离子水提取态和 NaCl 提取态的镉含量较高, 可能是其对镉转运能力较强和耐受性差的原因。华 2255 根系和叶片中的 PC₂ 和 PC₃ 含量都显著高于华 10118, 根系合成较多的 PC₂ 和 PC₃ 有助于镉从根部向地上部的转运。

关键词: 大麦; 镉; 亚细胞分布; 化学形态; 植物螯合肽

中图分类号: X171.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2013)11-2125-07 doi:10.11654/jaes.2013.11.004

Subcellular Distribution and Chemical Forms of Cd and the Synthesis of Phytochelatins (PCs) in Different Barley Genotypes

LU Zhong-yan^{1,2}, LIU Zhong-qi^{1,2*}, SONG Zheng-guo^{1,2}, ZHANG Chang-bo^{1,2}, SUN Dong-fa³

(1. Centre for Research in Ecotoxicology and Environmental Remediation, Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China; 2. Key Laboratory of Production Environment and Agro-Product Safety, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China; 3. College of Plant Technology of Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Cadmium has similar accumulation in different genotypes, but these genotypes suffer from different Cd toxicity. A hydroponic experiment was carried out to study the subcellular distribution and chemical forms of Cd in plant roots and shoots using a Cd-tolerant variety Hua10118 and a Cd-sensitive variety Hua2255. The effects of phytochelatins (PCs) in the roots and leaves on the Cd transport rate were also examined. Experimental results showed that Cd transport rates and Cd concentrations in shoots of Hua10118 were lower than those of Hua2255. Cadmium distributed mainly in cell wall and cytosol in both varieties, each accounting for 35%~44%. Cadmium in the organelles was only 5%~26%. Cadmium concentration in cell organelles of hua2255 was higher than that of hua10118, probably resulting in more sensitivity of hua2255 to Cd. The predominant form of Cd in the roots was HAc-extractable Cd, but NaCl-extractable Cd in the shoots. The amounts of ethanol-extractable, water-extractable and NaCl-extractable Cd were higher in hua2255 than that in hua10118, leading to different Cd transport and tolerance between two varieties. The concentrations of PC₂ and PC₃ were remarkably higher in the roots and shoots of hua2255 than in hua10118, implying that synthesis of more PC₂ and PC₃ in root facilitated Cd transfer to shoot.

Keywords: barley; cadmium; subcellular distribution; chemical form; phytochelatins

收稿日期: 2013-04-01

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项; 国家自然科学基金项目(41071217)

作者简介: 陆仲烟(1988—), 男, 广西百色人, 硕士研究生, 主要从事土壤生态与修复的研究。E-mail: luzhongyan666@sina.com

* 通信作者: 刘仲齐 E-mail: liuzhongqi508@163.com

镉是植物生长发育的非必需元素,因其毒性大、污染范围广而备受关注^[1]。镉在植物中累积到一定程度后会阻碍光合作用,降低蒸腾速率,引起氧化胁迫,导致养分亏缺,影响作物正常生理代谢,严重时可导致死亡^[2-4]。在长期的适应过程中,某些植物形成了一些有效的机制来降低镉的毒害,比如限制镉的吸收,镉的外排,减少在细胞敏感部位的累积,镉与细胞壁的结合,与螯合物和有机酸合并区隔于液泡中^[5-7]。

一般而言,镉在植物体内的积累量随着根、茎、叶、种子而降低,地上部镉的积累是引起植物受害的重要原因,限制镉从根部向地上部的转移是某些耐镉作物适应镉胁迫的重要机制^[8]。然而,有些植物(如超富集植物)能够在地上部积累大量的镉,而不受到影响,还有些不同基因型作物间各器官的镉积累量虽无差异,但其受害程度却有明显差异。表明镉在细胞内的亚细胞分布和镉的不同化学形态是影响其毒性的的重要因素^[9]。Wu等^[10]研究发现,镉敏感大麦品种细胞器中的镉含量比镉耐性品种高,而耐镉品种细胞壁中的镉含量较高,在镉敏感品种中,大部分的镉是以水溶态等无机盐形式存在的。所以,研究镉的亚细胞分布和化学形态对于阐明大麦的耐镉机制具有重要意义。

植物螯合肽(PCs)的合成被认为是植物适应镉胁迫的普遍机制^[11]。镉与PCs结合后能转运至液泡中区隔起来,进而直接影响着镉的转运与分配^[12]。镉胁迫下,不同基因型作物合成PCs的能力存在着差异,了解各器官中PCs的含量,对研究不同基因型作物中镉的吸收、转运、分布和耐性机制有着重要意义。

本研究采用耐镉和镉敏感两个大麦品种,研究镉的化学形态和亚细胞分布的差异,探讨PCs含量对镉的转运和分布的影响,旨在探明不同基因型大麦对镉耐性和转运能力的差异,为小麦低镉积累品种的筛选提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

镉敏感大麦华2255,耐镉大麦华10118(华中农业大学提供)。

1.2 大麦水培试验

选取饱满均一的大麦种子,在5%的NaClO溶液中浸泡15 min后,用去离子水洗净。然后在恒温箱中25℃暗光催芽12 h,播种于填满蛭石的育苗盘中。待幼苗长出两片叶后,选大小均一的幼苗移到装有8 L

营养液的塑料盆(长34 cm、宽25 cm、高12 cm)中,盆上盖有带小圆孔的硬塑料板,幼苗用海绵固定于小圆孔中。每盆移植50株。幼苗移植3 d后,换营养液,同时分别向各处理的营养液中加入一定量的CdCl₂溶液,使镉的浓度分别达到:0 mg·L⁻¹(CK),2 mg·L⁻¹(Cd1),10 mg·L⁻¹(Cd2)。每个处理设3次重复。培养期间,每2 d换一次营养液,每次都加入CdCl₂溶液使营养液中镉的浓度达到各处理所设定的值。营养液为Hoagland营养液,用0.1 mol·L⁻¹HCl和0.1 mol·L⁻¹NaOH调节pH值至6.5。培养期间,向营养液中不断泵气,每次换营养液时随机移动塑料盆的位置,以保证外界条件的一致性。水培试验的整个过程都在人工气候室中进行,昼夜时间为16 h/8 h,昼夜温度为25℃/20℃,白天光照为105 μmol·m⁻²·s⁻¹,相对湿度为60%。

1.3 样品采集与处理

移栽30 d后取样。一部分幼苗用去离子水洗净后分根和叶迅速取0.2 g鲜样包于锡纸中,置于液氮中冷冻,然后放入-80℃冰箱中储存,用于PCs含量的测定。将根系浸泡于20 mmol·L⁻¹的Na₂-EDTA溶液中15 min,去掉根系表面残留的镉^[13]。再用去离子水洗净,一部分直接用于镉亚细胞分布的测定,另一部分分别剪碎后迅速取0.5 g鲜样包于锡纸中,置于液氮中冷冻,然后放入-80℃冰箱中储存,用于化学形态的测定。其余部分根和地上部分别装入信封中,置于烘箱中105℃杀青15 min,再于75℃下烘至恒重。称量地上部和根干重,粉碎,用于镉含量测定。

1.4 镉的亚细胞分离

将新鲜的水稻根系和叶片0.5 g分别置于研钵中,加入预冷的提取缓冲液充分研磨成匀浆液。提取缓冲液组成为:250 mmol·L⁻¹蔗糖,50 mmol·L⁻¹Tris-HCl(pH 7.5)和1 mmol·L⁻¹的二硫赤鲜醇。实验操作过程均在4℃下进行,具体操作参照Weigle和Wang的方法^[9,14]。将匀浆液在3000 r·min⁻¹下离心15 min,沉淀即为细胞壁组分。上清液在15 000 r·min⁻¹下离心30 min,沉淀为细胞器组分,上清液为胞液组分(包括细胞质及液泡)。

1.5 镉不同化学形态的提取

植物细胞内镉的不同化学形态用5种不同的提取液分步提取,这5种提取液分别为:①80%乙醇,提取无机镉,包括硝酸镉、氯化镉、氨基酚镉等;②去离子水,提取水溶镉,有机酸复合物和Cd(H₂PO₄)等;③1 mol·L⁻¹NaCl,提取果胶镉和蛋白镉等;④2%乙

酸,提取不溶或难溶的 CdHPO_4 、 $\text{Cd}_3(\text{PO}_4)_2$ 和其他难溶的磷酸镉;⑤ $0.6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl,提取草酸镉。具体步骤参照 Yang 等^[15]的方法进行。取 0.5 g 冷冻的样品在提取液中研磨成匀浆,按 $1:100(\text{W}:\text{V})$ 的比例加入相应的提取液。然后在 25°C 下摇 22 h ,在 5000 g 下离心 10 min ,取上清液。在接下来的 4 h 中,每 2 h 用相同的提取液重复以上操作,将 3 次离心所得的上清液混合^[16]。采用逐步提取的方法用余下的提取液重复以上操作。将 5 种提取液分别所得的上清液在电热板上 70°C 蒸至恒重。

1.6 镉含量的测定及转移系数的计算

烘干并粉碎后的样品 (150 mg)、亚细胞分离出的组分、经不同提取液提取出来的样品和提取结束后所得的残渣用 $10 \text{ mL HNO}_3\text{--HClO}_4(4:1, \text{V}:\text{V})$ 在电热板上消煮。镉含量采用原子吸收分光光度计 (AAS, ZEEnit 700, Analytikjena, Germany) 测定。植物对镉的转移系数 (TF)=地上部镉含量/根部镉含量^[16]。

1.7 植物螯合肽 (PCs) 的测定

1.7.1 样品前处理

参照居学海等^[17]方法,将 0.2 g 鲜样在液氮中研磨至粉末状,用 $1.8 \text{ mL } 0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ TFA (内含 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DTPA) 进行提取,充分混匀后 $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min ,分别吸取上清液或标准溶液 $250 \mu\text{L}$,加 $650 \mu\text{L } 200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HEPES 和 $25 \mu\text{L } 20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ TCEP,充分混合后室温下放置 5 min ,使二硫键充分转换为还原态。加入 $20 \mu\text{L } 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ mBBr, 25°C 室温下避光衍生化 30 min ,然后加入 $100 \mu\text{L } 1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MSA,终止衍生化反应。将衍生样品用 $0.20 \mu\text{m}$ 尼龙注射过滤器进行过滤, 4°C 避光保存^[17]。

1.7.2 色谱条件

高效液相色谱 (1200 series, Agilent technologies, Germany) 进行上机测定,色谱柱型号为: XDB-C18 column ($4.6 \text{ mm} \times 30 \text{ mm}, 1.8 \mu\text{m}$, Agilent Technologies,

USA)。柱温 25°C ,流动相流速 $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,其组成为 0.1% 三氟乙酸 (TFA) 和乙腈 (ACN)。采用梯度淋洗,淋洗梯度条件为: $0 \sim 20 \text{ min}, 8\% \sim 26\%$ 乙腈; $20 \sim 22 \text{ min}, 26\% \sim 100\%$ 乙腈; $22 \sim 24 \text{ min}, 100\%$ 乙腈; $24 \sim 28 \text{ min}, 100\% \sim 8\%$ 乙腈; $28 \sim 30 \text{ min}, 8\%$ 乙腈。采用荧光检测器进行检测,其激发光和发射光分别为 380 nm 和 470 nm 。总进样时间为 30 min ,进样体积为 $20 \mu\text{L}$ 。所得数据用 Chem Station 软件进行处理分析。

1.8 数据分析

所有数据采用 Excel 和 SAS8.0 进行统计分析,单方面分类的方差分析 (One-way ANOVA), Duncan's multiple-range test 多重比较检验显著性差异 ($P \leq 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 耐镉能力和镉累积转运能力在大麦基因型间的差异

在镉胁迫下,大麦生长受阻,植株矮小、叶片黄化。随着镉胁迫程度的加深,其受害症状更为明显,敏感品种华 2255 受害更为严重。如表 1 所示,在正常生长条件下,华 10118 和华 2255 的根部和地上部生物量无显著差异。在镉胁迫下,两个品种的根部和地上部干重都显著降低。在 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的镉胁迫条件下,华 10118 的生物量均显著高于华 2255 ($P \leq 0.05$),根部分别高出 45% 和 68% ,地上部分分布高出 24% 和 20% 。表明华 10118 耐镉能力比华 2255 强。

随着镉胁迫程度的提高,镉含量也随之上升。相同浓度镉处理下,两个品种大麦根部镉含量无显著差异,但在 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的镉胁迫下,华 2255 的地上部镉含量显著高于华 10118 ($P \leq 0.05$),分别高出 49.66% 和 31.84% 。

随着镉处理浓度的提高,大麦对镉的转移系数下降。在 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的镉处理下,华 2255 对镉的转移系数显著高于华 10118 ($P \leq 0.05$),分别高出 48% 和 40% (表 1)。表明大麦耐镉品种对镉的转运能

表 1 不同基因型大麦根部和地上部干重、镉含量及其转运系数

Table 1 Dry biomass, Cd concentrations and transfer ratios in roots and shoots of different barley genotypes

镉处理浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	品种	干重/ $\text{mg} \cdot \text{株}^{-1}$		镉含量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$		转移系数
		根系	地上部	根系	地上部	
0 (CK)	华 10118	139.33±6.36a	670±11.54a	1.87±0.1c	0.96±0.18e	0.51±0.05a
	华 2255	135.67±2.92a	663.33±8.82a	2.04±0.15c	1.06±0.04e	0.52±0.06a
2 (Cd1)	华 10118	87±1.53b	497±11.93b	305.69±7.44b	70.98±3.52d	0.23±0.03d
	华 2255	60±2.89c	400.67±5.78c	311.44±7.95b	106.23±5.68c	0.34±0.03b
10 (Cd2)	华 10118	68.33±2.73c	376.67±17.64c	940.66±13.78a	195.87±6.99b	0.21±0.02d
	华 2255	40.68±1.76d	315.33±12.98d	913.4±15.36a	258.24±14.4a	0.28±0.04c

注:同一列数据中不同字母表示差异显著 ($P \leq 0.05$)。

力较差,耐镉品种能减少镉从根部向地上部的转运。

2.2 镉的亚细胞分布

如表 2 所示,在亚细胞水平上,镉在两个大麦品种的根系中都主要分布于细胞壁组分,其次为胞液组分,在细胞器中的分布最少。两个品种的细胞壁和胞液中镉所占的比例无显著差异,但镉在华 10118 的细胞器中所占的比例明显高于华 2255。比较两个品种各亚细胞组分中镉含量可发现,根系细胞壁和胞液中镉含量无显著差异,但在 2 mg·L⁻¹ 和 10 mg·L⁻¹ 的镉胁迫下,华 2255 中细胞器的镉含量比华 10118 分别高出 91.63%和 35.93%,品种间差异显著($P\leq 0.05$)。表明根系细胞器中较高的镉含量是敏感品种华 2255 对镉敏感的主要原因。

镉在地上部各亚细胞组分中的分布情况与根部相比有较大差异。在华 10118 的各组分中,镉含量是细胞壁>胞液>细胞器,但细胞器组分中镉所占比例分别减少到 5.88%和 9.25%。而在华 2255 中,镉在胞液中的比例最高,其次为细胞壁,在 2 mg·L⁻¹ 的镉胁迫下,镉在胞液和细胞壁中所占的比例分别为 44.10%和 35.80%,在 10 mg·L⁻¹ 时分别为 39.08%和

36%。镉在华 10118 的细胞壁中所占的比例显著高于华 2255,在细胞器中显著低于华 2255($P\leq 0.05$),在胞液中两者无显著差异。由于华 2255 将镉从根部向地上部转运的能力较强,其地上部镉含量显著高于华 10118($P\leq 0.05$)。华 2255 地上部的各亚细胞组分中镉含量都高于华 10118,其中,细胞器镉增幅最大,细胞壁最小。在 2 mg·L⁻¹ 的镉胁迫下,华 2255 的细胞壁、细胞器和胞液中镉含量分别比华 10118 高出 19.40%、291.1%和 54.21%;在 10 mg·L⁻¹ 的镉胁迫下,分别高出 7.57%、255.13%和 18.70%。以上结果表明,大麦耐镉品种华 10118 能将细胞器中镉的浓度维持在较低水平,从而减轻毒害,耐镉品种能将大部分的镉分布在细胞壁和胞液中。

2.3 镉的化学形态

在 2 mg·L⁻¹ 的镉胁迫下,两个大麦品种根系中镉以 HAc 提取态的含量最高,分别为 32.3%和 28%,其次为 NaCl 提取态和 HCl 提取态,去离子水提取态的含量最低,分别占总量的 8.7%和 9%(图 1)。当镉处理水平提高到 10 mg·L⁻¹ 时,镉在各个提取形态中的分布与 2 mg·L⁻¹ 镉处理的水平基本一致,在高浓度处

表 2 不同基因型大麦中镉的亚细胞分布
Table 2 Subcellular distribution of Cd in different barley genotypes

器官	处理	镉含量/mg·kg ⁻¹					
		细胞壁		细胞器		胞液	
		华 10118	华 2255	华 10118	华 2255	华 10118	华 2255
根	Cd1	129.79±3.38a(42.46)	113.16±3.3ab(36.34)	43.85±1.96d(14.35)	84.03±2.47c(26.98)	122±4.72ab(39.91)	108.97±5.03b(34.99)
	Cd2	404.98±3.19a(43.05)	381.21±1.33ab(41.74)	126.8±2.03d(13.48)	172.36±3.19c(18.87)	386±1.30ab(41.04)	340.93±3.30b(37.33)
地上部	Cd1	31.85±2.66c(44.87)	38.03±2.42b(35.80)	4.17±0.10e(5.88)	16.31±0.58d(15.35)	30.38±1.41c(42.8)	46.85±1.26a(44.10)
	Cd2	86.7±2.39ab(44.26)	93.26±1.18a(36.11)	18.12±1.11d(9.25)	64.35±3.37c(24.92)	85.03±2.37b(43.41)	100.93±2.82a(39.08)

注:同一行数据中不同字母表示差异显著($P\leq 0.05$)。括号内数字为亚细胞各组分中的镉含量占总量的百分数。

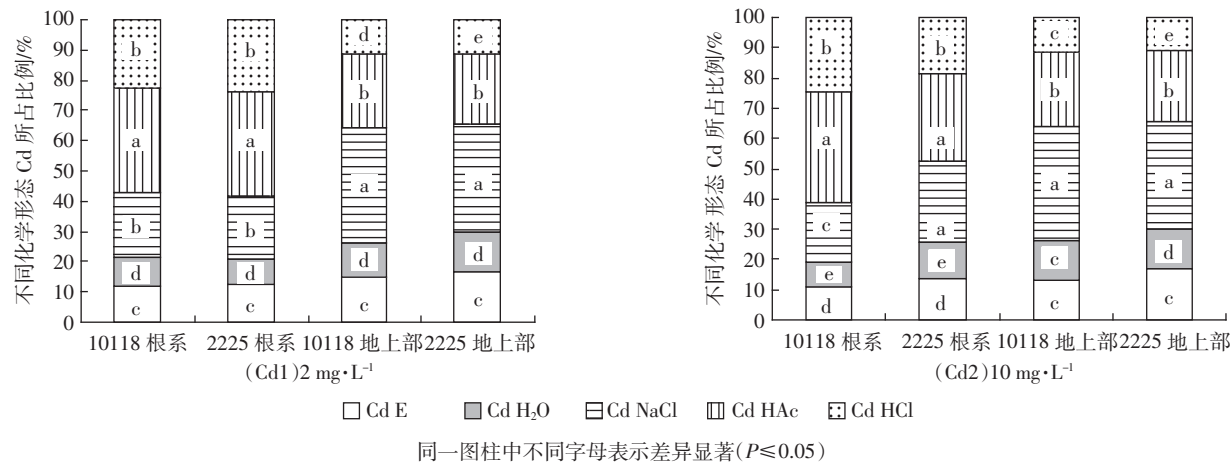


图 1 不同镉处理下两个大麦品种中镉不同提取形态的分配比例

Figure 1 Percentages of different chemical forms of Cd in two different barley genotypes under different Cd stress

理时,NaCl、HAc、HCl 提取态总和有所增加。在 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的镉处理下,华 2255 根系中 NaCl 提取态分别比华 10118 高出 28.88%和 36.31%,差异显著($P\leq 0.05$);华 10118 根系中乙醇提取态(Cd E),去离子水提取态和 NaCl 提取态的总和要显著小于华 2255,而 HAc 和 HCl 提取态的显著高于华 2255(表 3)。

在地上部, $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉处理下,两个品种都以 NaCl 提取态的含量最高,分别占总量的 36%和 35.7%,其次为 HAc 提取态,HCl 提取态的含量最低,分别为 11%和 11.2%(图 1)。在 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的镉处理下,其形态分布与 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 水平的镉处理基本一致。华 2255 中各个提取态的镉含量都显著高于华 10118。表明维持较低的乙醇提取态、去离子水提取态和 NaCl 提取态是大麦的耐镉机制之一。

2.4 镉胁迫下不同基因型大麦的 PCs 含量

大麦根系和叶片的 PCs 含量都随着镉处理浓度的提高而增加。在 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的镉胁迫下,华 2255 的根系和叶片中 PC_2 的含量分别比华 10118 高出 37.5%和 44.12%,品种间差异显著($P\leq 0.05$),华 2255 根系中 PC_3 的含量比华 10118 高出 11.32%,品种间无显著差异,但华 2255 的叶片中 PC_3 含量比华 10118 高出 18.5%,品种间差异显著($P\leq 0.05$), PC_4 在两个品种间无显著差异,在根系和叶片中都未检测到 PC_5 (图 2a、图 2c)。在 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的镉胁迫下,华 2255 的根系和叶片中 PC_2 和 PC_3 的含量都显著高于华 10118, PC_4 和 PC_5 在两个大麦品种间的含量无显著差异(图 2b、图 2d)。

表明在镉胁迫下,镉敏感大麦品种华 2255 能合成较多的 PCs,且主要以 PC_2 和 PC_3 的形式存在。高浓度镉胁迫能促进稳定的长 PCs 形态的合成。同时也

表明了合成 PCs 并非大麦耐镉的主要机制。

3 讨论

生物量的降低是作物受镉毒害后最直接的反应,其降低程度也反过来指示着作物的耐镉能力^[18]。在本试验中,华 2255 受镉胁迫后生物量的下降程度明显大于华 10118,说明其耐镉性比华 10118 差,与之前我们进行的大麦耐镉品种筛选的试验结果相同。转移系数是衡量植物将镉从根部转运到地上部能力大小的重要指标,转移系数越大,其转运能力就越强^[19]。本研究结果表明大麦耐镉品种华 10118 将镉从根部转运至地上部的能力较弱,能将大部分的镉截留在根系中,降低了镉通过食物链进入人体的风险。这可能是因为不同基因型大麦中镉的亚细胞分布、化学形态和合成 PCs 的能力不同,导致了其不同的耐性特征和对镉的转移能力的差异。

为证明以上假设,测定了镉的亚细胞分布、镉不同提取形态和各 PCs 形态的含量。结果显示,两个品种根系细胞壁和胞液中镉含量都无显著差异,但华 2255 的细胞器中镉含量显著高于华 10118。这与前人的研究结果相似。Wu 等^[10]研究发现,镉敏感的大麦品种中,细胞器的镉含量较耐镉品种高。He 等^[13]研究了野生型和突变型水稻品种对镉的吸收积累和亚细胞分布的差异,结果表明突变型水稻细胞器中能积累较多的镉,这也是导致其生物量降低的重要原因。细胞器是植物细胞代谢中较活跃的部分,也是最容易受镉毒害的组分。细胞器中镉含量的提高是敏感大麦品种对镉耐性较低的重要原因。相对细胞壁和胞液而言,细胞器中镉的比例只占了很小的一部分,而两个大麦品种的地上部镉含量相差悬殊,表明细胞器中的镉对

表 3 不同基因型大麦中镉的化学形态

Table 3 Chemical forms of Cd in different barley genotypes

器官	处理	品种	Cd 含量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$					
			Cd E	Cd H ₂ O	Cd NaCl	Cd HAc	Cd HCl	Cd R
根	Cd1	华 10118	34.69±1.81c	26.45±0.60d	61.18±2.85b	98.89±4.13a	65.26±2.53b	1.94±0.15e
		华 2255	39.43±1.20c	28.12±2.46d	78.85±1.03a	87.23±3.74a	58.12±1.52b	1.86±0.14e
	Cd2	华 10118	100.39±6.70d	78.34±8.04e	178.72±5.41c	338.60±4.39a	225.76±5.43b	4.07±0.30f
		华 2255	121.75±2.34c	106.57±3.27c	243.61±4.7a	258.84±5.02a	167.47±6.41b	4.86±0.57d
地上部	Cd1	华 10118	9.96±0.62c	8.04±0.13c	25.54±0.45a	16.58±0.93b	7.82±0.53c	0.52±0.03d
		华 2255	17.64±0.50c	13.82±0.91d	37.87±1.21a	24.47±1.41b	12.09±1.13d	0.36±0.05e
	Cd2	华 10118	24.83±1.12c	24.78±0.39c	71.82±2.02a	46.96±0.2b	22.17±0.3c	1.63±0.04d
		华 2255	44.67±2.67c	35.33±2.44d	93.77±4.73a	60.89±1.65b	29.21±1.25e	1.21±0.13f

注:同一行中不同字母表示差异显著($P\leq 0.05$)。

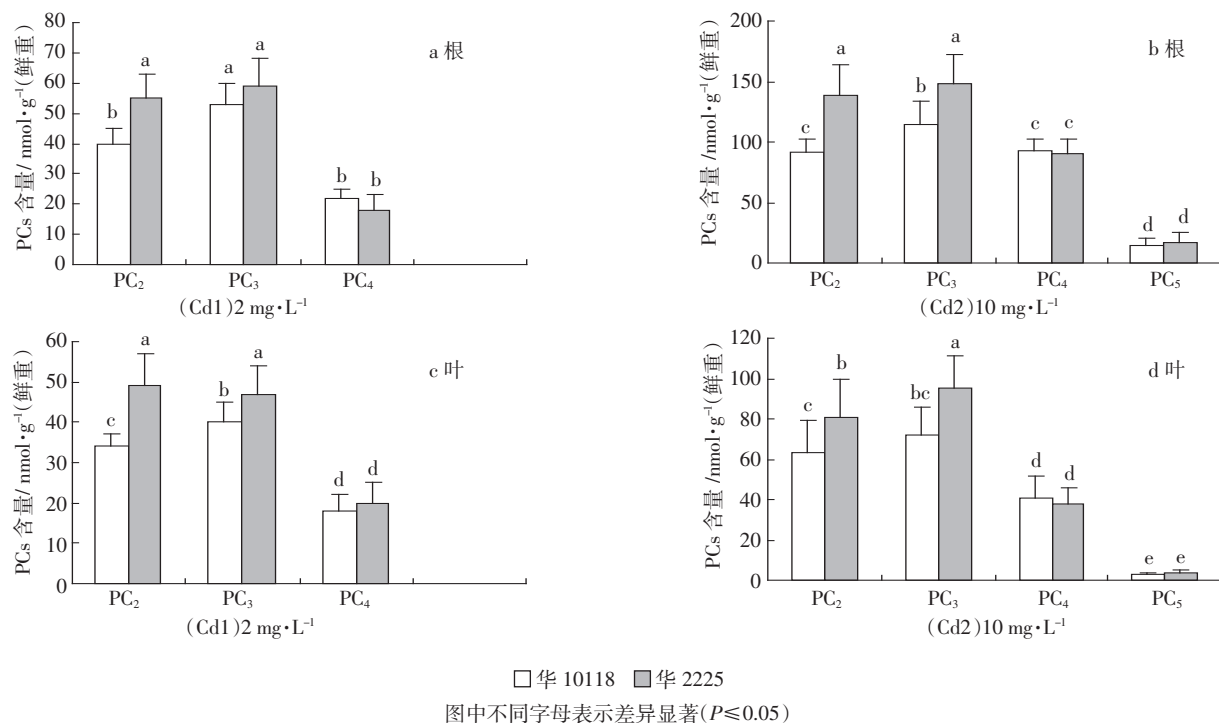


图 2 不同基因型大麦中 PCs 含量

Figure 2 Concentrations of phytochelatins (PCs) in different barley genotypes

大麦转运能力的影响并不能起主导作用。与敏感品种相比,耐性品种华 10118 的地上部细胞壁组分能结合较多的镉,而细胞器组分中镉含量较少,这可能是耐性品种抗镉胁迫的一个重要原因。

镉的化学形态直接决定它的活性、毒性和迁移能力,乙醇提取态和去离子水提取态的镉(主要为硝酸盐、氯化物等无机盐或水溶性有机酸盐形态)的迁移能力和毒性都比醋酸和盐酸提取态的镉(主要为难溶性磷酸盐和草酸盐)强得多;镉对蛋白有很强的亲和性,镉与蛋白结合后容易引起其活性降低,同时也降低酶的活性,阻碍作物的新陈代谢^[20-21]。本实验中,两个品种大麦根系中镉以醋酸提取态的含量最高,表明大麦根系中难溶性磷酸盐形态的镉最多,难溶性磷酸盐主要结合在细胞壁中,这与镉亚细胞分布中细胞壁镉含量最多的结果一致。华 2225 中乙醇提取态、去离子水提取态的总和显著高于华 10118, NaCl 提取态的镉含量也显著高于华 10118。这可能是敏感型大麦品种镉转运能力较高和对镉耐性较弱的主要原因。李枝^[22]研究发现,与高积累型杂交水稻品种相比,低积累型水稻品种中镉的去离子水提取态和乙醇提取态的含量较低,而醋酸和盐酸提取态的含量较高。与 2 mg·L⁻¹ 镉处理相比,在 10 mg·L⁻¹ 的镉处理水平下, NaCl 提取态、HCl 提取态和 HAc 提取态的镉所占比例显著

提高,表明高浓度镉胁迫下,大麦产生了某些解毒机制,降低了水溶性有机盐镉和无机盐镉的比例。

与短链 PCs(PC₂、PC₃)相比,长链 PCs(PC₄、PC₅)对镉的亲性更强,结合后能形成更稳定的化合物^[23]。长链 PCs 的合成对镉的解毒具有更重要的意义。本试验中,检测到的 PCs 大多是以短链的 PC₂ 和 PC₃ 为主,只有在高浓度镉诱导下,才能合成少量的长链 PC₅。敏感大麦品种华 2225 中的 PCs 总量显著高于耐镉品种华 10118,但多出的部分主要为 PC₂ 和 PC₃, PC₄ 和 PC₅ 在两个品种间无显著差异,表明 PCs 的合成不是大麦耐镉的主要机制。华 2225 的地上部镉含量显著高于华 10118,表明 PC₂ 和 PC₃ 极有可能促进镉从根部向地上部的转运。与 PCs 结合的镉主要是被 NaCl 溶液所提取,华 2225 中 NaCl 提取态的镉含量显著高于华 10118,这与华 2225 中 PCs 含量高于华 10118 的结果相一致。Guo 等^[24]通过大量研究发现,PCs 含量较高的植物,其地上部镉积累量也较高。Florijn 等^[25]研究发现,镉高积累型玉米品种根部 PCs 含量比低积累品种高。万敏等^[26]研究结果也表明,高镉小麦品种莱州 953 根部细胞中 PCs 含量显著大于烟 86103 品种,其地上部镉积累量也显著高于烟 86103。在本实验中,华 2225 根系中 PCs 含量高于华 10118,其对镉的转移能力和地上部镉含量也较高。本

研究结果进一步验证了Guo等的结论。

4 结论

(1)与镉敏感品种华2255相比,大麦耐镉品种华10118对镉的转运能力较差,其地上部镉含量也较低。

(2)大麦细胞壁和胞液对镉结合能力相似,各占40%左右,品种间无显著差异。细胞器中镉含量较高是敏感大麦品种易受镉毒害的原因。

(3)大麦根系中以醋酸提取态和盐酸提取态的难溶镉化合物含量较高,而地上部中以NaCl提取态含量最高。敏感大麦品种华2255中,乙醇提取态、去离子水提取态和NaCl提取态的镉含量较耐性品种高,这可能是其对镉转运能力较强和耐受性差的原因。

(4)耐镉大麦品种华10118的PCs含量比敏感品种华2255低;合成较多的PC₂和PC₃可能是敏感品种对镉转运能力较强,进而导致地上部镉含量较高的原因。同时也表明了PCs的合成并非是大麦耐镉性的主导因素。

参考文献:

- [1] 陈志良,莫大伦,仇荣亮.镉污染对生物有机体的危害及防治对策[J]. 环境保护科学, 2001, 27(4):37-39.
CHEN Zhi-liang, MO Da-lun, QIU Rong-ling. Biological damage of soil cadmium(Cd) pollution and its control[J]. *Environmental Protection Science*, 2001, 27(4):37-39.
- [2] DalCorso G, Farinati S, Maistri S, et al. How plants cope with cadmium: Staking all on metabolism and gene expression[J]. *J Integr Plant Biol*, 2008, 50(1):1268-1280.
- [3] Yoshihara T, Hodoshima H, Miyano Y, et al. Cadmium inducible Fe deficiency responses observed from macro and molecular views in tobacco plants[J]. *Plant Cell Rep*, 2006, 25(1):365-373.
- [4] Schützendübel A, Schwanz P, Teichmann T, et al. Cadmium-induced changes in anti-oxidative systems, hydrogen peroxide content, and differentiation in Scot spine roots[J]. *Plant Physiol*, 2001, 127(1):887-898.
- [5] Vogeli-Lange R, Wagner G J. Subcellular localization of cadmium and cadmium-binding peptides in tobacco leaves[J]. *Plant Physiol*, 1990, 92(1):1086-1093.
- [6] Clemens S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants[J]. *Biochimie*, 2006, 88(1):1707-1719.
- [7] Verbruggen N, Hermans C, Schat H. Mechanisms to cope with arsenic or cadmium excess in plants[J]. *Plant Biology*, 2009, 12(1):364-372.
- [8] Wagner G J. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health[J]. *Advances in Agronomy*, 1993, 51(1):173-212.
- [9] Wang Xin, Liu Yun-guo, Zeng Guang-ming, et al. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Beckhamia nivea*(L.) Gaud[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2008, 62(1):389-395.
- [10] 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(1):1437-1446.
- [11] Cobbett C, Goldsbrough P. Phytochelatin and metallothioneins: Roles in heavy metal detoxification and homeostasis[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 2002, 53(1):159-182.
- [12] Guo Jiang-bo, Xu Wen-zhong, Ma Mi. The assembly of metals chelation by thiols and vacuolar compartmentalization conferred increased tolerance to and accumulation of cadmium and arsenic in transgenic *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 199(1):309-313.
- [13] He Jun-yu, Zhu Cheng, Ren Yan-fang, et al. Uptake, subcellular distribution, and chemical forms of cadmium in wild-type and mutant rice [J]. *Pedosphere*, 2008, 18(3):371-377.
- [14] Weigel H J, Jager H J. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants[J]. *Plant Physiol*, 1980, 65(1):480-482.
- [15] Yang J R, He J Q, Zhang G X, et al. Tolerance mechanism of crops to Cd pollution[J]. *Chin J Appl Ecol*, 1995, 6(1):87-91.
- [16] Stoltz E, Greger M. Accumulation properties of As, Cd, Cu, Pb and Zn by four wetland plant species growing on submerged mine tailings[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2002, 47(1):271-280.
- [17] Ju Xu-hai, Tang Shi-rong, Jia Yan, et al. Determination and characterization of cysteine, glutathione and phytochelatin(PC₂-6) in *Lolium perenne* L. exposed to Cd stress under ambient and elevated carbon dioxide using HPLC with fluorescence detection[J]. *Journal of Chromatography B*, 2011, 879(1):1717-1724.
- [18] Wang X F, Zhou Q X. Ecotoxicological effects of cadmium on three ornamental plants[J]. *Chemosphere*, 2005, 60(1):16-21.
- [19] 李 云, 张世熔, 张少卿, 等. 野苘蒿对镉的富集及其镉耐性[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(7):1296-1302.
LI Yun, ZHANG Shi-rong, ZHANG Shao-qing, et al. Cadmium tolerance and accumulation characteristics of *crassocephalum crepidioides*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(7):1296-1302.
- [20] Baker A J M. Metal tolerance[J]. *New Phytol*, 1987, 106(1):93-111.
- [21] Salt D E, Smith R D, Raskini. Phytoremediation[J]. *Annu Rev Plant Mol, Biol*, 1998, 49(1):643-668.
- [22] 李 枝. Cd胁迫下杂交水稻不同部位Cd的化学形态和亚细胞分布研究[D]. 成都:四川农业大学, 2009.
LI Zhi. Chemical forms and subcellular distribution of Cd in different organs of hybrid rice under Cd stress[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2009.
- [23] Satofuka H, Amano S, Atomi H, et al. Rapid method for detection and detoxification of heavy metal ions in water environments using phytochelatin[J]. *J Biosci Bioeng*, 1999, 88(1):287-292.
- [24] Guo Y L, Marschner H. Uptake, distribution, and binding of cadmium and nickel in different plant species[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1995, 18(12):2691-2706.
- [25] Florijn P J, van Beusichem M L. Cadmium distribution in maize inbred lines: Effects of pH and level of Cd supply[J]. *Plant and Soil*, 1993, 153(1):79-84.
- [26] 万 敏, 周 卫, 林 葆. 镉积累不同类型的小麦细胞镉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.