

水稻营养器官镉积累特性对稻米镉含量的影响

张昕, 张长波, 黄永春, 王常荣, 薛卫杰, 刘仲齐

引用本文:

张昕, 张长波, 黄永春, 王常荣, 薛卫杰, 刘仲齐. 水稻营养器官镉积累特性对稻米镉含量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(4): 707-715.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0945>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

氮肥对双季稻根表铁膜形成及双季稻镉积累的影响

张玉盛, 周亮, 肖欢, 匡瑜, 敖和军, 田伟, 肖峰, 向焱赞, 张小毅

农业环境科学学报. 2021, 40(2): 260-268 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0873>

粒肥施用时间对双季稻乳熟期亚细胞镉分布的影响

张玉盛, 张小毅, 肖欢, 敖和军, 向焱赞, 田伟, 肖峰

农业环境科学学报. 2021, 40(7): 1402-1410 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1443>

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>

外源硒和耐硒细菌对镉胁迫下水稻生长、生理和硒镉积累的影响

王波, 张然然, 杨如意, 石晓菁, 苏楠楠, 朱濛, 咎树婷

农业环境科学学报. 2020, 39(12): 2710-2718 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0437>

Delftia sp.B9对镉胁迫下水稻种子萌发及幼苗镉积累的影响

刘玉玲, 彭鸥, 铁柏清, 刘亦婷, 罗海艳, 李丹阳, 刘寿涛

农业环境科学学报. 2019, 38(8): 1855-1863 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0261>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

张昕, 张长波, 黄永春, 等. 水稻营养器官镉积累特性对稻米镉含量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(4): 707–715.

ZHANG X, ZHANG C B, HUANG Y C, et al. Effects of characteristics of cadmium accumulation in vegetative organs on cadmium content in rice[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(4): 707–715.



开放科学 OSID

水稻营养器官镉积累特性对稻米镉含量的影响

张昕, 张长波, 黄永春, 王常荣, 薛卫杰, 刘仲齐*

(农业农村部产地环境污染防治重点实验室, 农业农村部环境保护科研监测所, 天津 300191)

摘要:为了明确水稻营养器官对镉的拦截作用,对3个水稻基因型关键器官的镉积累特性进行了比较研究。盆栽试验结果表明:高镉积累型水稻T优705茎基部(蘖节)、穗轴和籽粒的镉含量及穗轴向籽粒转运镉的比例显著高于低镉积累型水稻朝阳1号B和湘早籼24。稻穗在含镉 $0.9\sim 4.5\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的Hoagland营养液中灌浆时,T优705籽粒基部拦截镉的能力最弱,稻米镉含量(y)和穗轴中的镉含量(x)呈显著线性相关($y=ax+b$),穗轴中的镉含量每增加1.0 mg,朝阳1号B、湘早籼24和T优705稻米中的镉含量分别增加0.01、0.11 mg和0.14 mg。在 $0.9\sim 18.0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的镉溶液中,进入离体叶片的镉离子数量直接决定着叶绿素的衰减速率,镉含量每增加1.0 mg,朝阳1号B和湘早籼24的叶绿素含量降低0.02 mg左右,而T优705的叶绿素含量只降低0.01 mg。在相同的镉胁迫环境中,T优705离体叶片的氧化损伤程度较轻,释放的 O_2 和 H_2O_2 数量显著少于朝阳1号B和湘早籼24。这些结果表明,低镉积累型水稻籽粒基部对镉的拦截能力强,叶片耐镉性差,而高镉积累型水稻籽粒基部对镉的拦截能力弱,叶片耐镉性强;离体稻穗的镉转运特性和离体叶片的耐镉能力可以作为快速筛选低镉积累水稻品种的重要依据。

关键词:水稻;镉;离体稻穗;离体叶片;转移因子;叶绿素

中图分类号:S511;X173 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2022)04-0707-09 doi:10.11654/jaes.2021-0945

Effects of characteristics of cadmium accumulation in vegetative organs on cadmium content in rice

ZHANG Xin, ZHANG Changbo, HUANG Yongchun, WANG Changrong, XUE Weijie, LIU Zhongqi*

(Key Laboratory of Original Agro-Environmental Pollution Prevention and Control, Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin 300191, China)

Abstract: To clarify the inhibiting ability of vegetative organs on the transport of cadmium, the characteristics of cadmium accumulation in key organs of three genotypes of rice were studied. The results of a pot experiment showed that cadmium contents in basal stems, panicles, and grains, and the transfer factor of cadmium from basal stems to panicles of T You 705 were higher than those of Zhaoyang 1B and Xiangzaoxian 24. When detached panicles were cultured in Hoagland solution with $0.9\sim 4.5\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ cadmium, the cadmium content in grains and panicles showed a significant linear correlation. As the cadmium content increased by 1.0 mg, the cadmium content in the grains of Zhaoyang 1B, Xiangzaoxian 24, and T You 705 increased by 0.01, 0.11 mg, and 0.14 mg, respectively. The basal grains of T You 705 had the weakest ability to intercept cadmium. The amount of cadmium ions that entered detached leaves directly determined the decay rate of chlorophyll. When detached leaves were exposed to a $0.9\sim 18.0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ cadmium solution, the chlorophyll contents of Zhaoyang 1B and Xiangzaoxian 24 decreased about 0.02 mg for every 1.0 mg of cadmium absorbed by the detached leaves. The chlorophyll content of T You 705 decreased 0.01 mg under the same condition. Under the same cadmium stress environment, the degree of oxidative damage of T You

收稿日期:2021-08-22 录用日期:2021-11-08

作者简介:张昕(1994—),女,黑龙江哈尔滨人,博士研究生,从事植物营养学研究。E-mail:dawnzhang19@163.com

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

基金项目:国家重点研发计划项目(2017YFD0801100);中国农科院科技创新工程项目(CAAS-XTCX2016018)

Project supported: The National Key Research and Development Program of China (2017YFD0801100); Funds for Science and Technology Innovation Project from the Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS-XTCX2016018)

705 was weakest, and the amount of O_2^- and H_2O_2 released was significantly less than in Zhaoyang 1B and Xiangzaoxian 24. These results indicate that the cadmium interception ability of basal grains in low cadmium-accumulating varieties is stronger than the ability in high cadmium-accumulating varieties and that leaves of low cadmium-accumulating varieties are more sensitive to cadmium stress than leaves of high cadmium-accumulating varieties. The cadmium transport characteristics of detached panicles and the cadmium tolerance of detached leaves can be used as criteria for screening low accumulation genotypes.

Keywords: rice; cadmium; detached panicle; detached leave; transport factor; chlorophyll

随着我国工业化和城镇化的快速发展,废弃物排放量显著增加,由此导致的土地重金属污染受到人们的广泛关注。镉是重金属污染土壤中最常见的元素之一,具有较高的可移动性,可以通过自由扩散或载体蛋白运输的方式进入植物根系,再通过质外体和共质体途径向木质部转运^[1-2],最后转运至植物的可食用部分,通过食物链传递,危害人体健康。水稻是我国第一大粮食作物,也是全球食用量最高的谷物,因此探究稻米积累镉的特性、筛选低镉积累水稻基因型对于保证稻米品质安全具有重要意义。

水稻积累镉的能力受环境因素和基因型的共同调控。环境因素中土壤有效态镉含量、生长季节、水分管理措施等影响水稻根系对镉的吸收,在多个地点同时种植早稻和晚稻,发现晚稻各器官中的镉含量通常高于早稻^[3-4]。水稻根系对镉的阻控能力、叶片对镉的耐受程度以及镉在水稻各器官内的积累量和分配比例均存在基因型差异^[5-7]。在镉污染环境中,水稻根系通过根表铁锰膜拦截和细胞壁固定等方式阻控镉进入根系维管束的过程,地上部各器官会对镉进行层层固定和拦截,只有少数镉离子转运到稻米中^[8-9]。水稻开花以后,发育籽粒成为代谢中心,叶片和茎秆中储备的各种营养物质开始向籽粒转运,镉会随着锰、锌等营养元素一起转运至籽粒中^[3]。灌浆期间的物质流向及其生理调控机制较为复杂,发育籽粒的选择性吸收、营养器官中的矿质元素含量以及叶片蒸腾速率等因素都会影响镉向籽粒的转运^[10-13],镉在籽粒中积累量易受水稻发育状态和自然因素的干扰。稻穗离体培养法常用来进行营养生理和抗逆生理的研究^[14-15],是否可以快速鉴别稻穗各部位镉积累特性及其在水稻基因型间的差异,尚未见报道。以高镉和低镉积累品种为试验材料,将离体稻穗放置在镉胁迫强度相同的环境中进行镉转运特性的比较,可以最大限度地排除环境因素的干扰和下部器官镉含量的差异对上部器官镉吸收转运特性的影响,可用于探究穗下节和穗颈等器官对籽粒镉积累量的贡献率,比较籽粒基部维管束镉拦截特性在基因型间的差异。

镉离子进入叶肉细胞后,通过干扰呼吸作用,产生大量的活性氧,包括氧的一电子还原产物超氧阴离子(O_2^-)、二电子还原产物过氧化氢(H_2O_2)等。细胞内活性氧积累过多会对细胞质膜和细胞器造成损伤,抑制细胞生长,甚至导致细胞死亡,同时影响植物的光合作用、呼吸作用和物质代谢过程^[16]。不同基因型叶片在镉胁迫下对镉的敏感性不同,因此活性氧的积累水平存在差异。将水稻叶片浸泡在镉溶液中进行胁迫,并检测叶片的氧化损伤状况,能够快速辨别叶片耐镉特性在基因型间的差异。2-7-二氯氢化荧光素乙二脂(H_2DCFDA)荧光探针标记法可以用来检测细胞内 H_2O_2 的积累水平, H_2DCFDA 是一种具有细胞膜渗透性的非荧光还原型分子,进入细胞后易被 H_2O_2 氧化脱去乙酸酯基团转化为绿色荧光物质,在荧光显微镜激发光源下可观测到绿色荧光,即为 H_2O_2 存在。氮蓝四唑(NBT)染色法能够检测 O_2^- 的存在,在 O_2^- 存在的条件下 NBT 被还原为肉眼可见的蓝色的甲腈。本文采用离体培养和盆栽试验相结合的方法,对3种水稻基因型的镉积累特性和耐镉能力进行分析,比较离体培养法与盆栽试验结果的相关性,以期快速筛选低镉积累水稻基因型提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与地点

以“朝阳1号B”(61)、“湘早籼24”(X24)和“T优705”(R705)3种水稻基因型为试验材料,其中X24和R705为湖南省大面积推广的籼稻,X24为低镉积累水稻,R705为高镉积累水稻^[17-18]。61是来自国家水稻核心资源库的地方品种。

离体稻穗和离体叶片试验在农业农村部环境保护科研监测所(简称环保所)人工气候室内进行,盆栽试验在环保所玻璃温室中进行。

1.2 培养与处理方法

挑选饱满的水稻种子,在体积分数为5%的 H_2O_2 溶液中浸泡30 min进行消毒,随后将种子冲洗干净并在育苗盘上进行萌发。待种子发芽后移入蛭石盘中

进行自然生长,期间用四分之一 Hoagland 营养液浇灌。水稻生长至 20 cm 左右时,将离体稻穗和离体叶片试验所需要的水稻人工插秧至环保所温室内的无污染试验田中,基因型间设置空行;盆栽试验所需水稻插秧至土培盆中,每盆 10 株,每个基因型设置 4 个重复。盆栽试验的土壤采自于天津市某土壤污染区 0~20 cm 的表层土,镉含量为 $1.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, pH 为 7.5 左右;盆体积为 8 L,每盆装土 4.0 kg。生长期间浇灌保持水深 2 cm 左右。水稻成熟后将其从土壤中连根拔出,洗净根表残留土壤,烘干至恒质量后分样,测定各器官镉含量。

于水稻开花期对无污染试验田中同日开花的稻穗进行标记,开花后 15 d,将稻穗从倒一节下 0.5 cm 处剪断,去除叶鞘和叶片,进行离体稻穗试验。将稻穗放入含有不同镉浓度的十分之一 Hoagland 营养液中培养 5 d,处理液中的镉($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$)浓度设置为 5 个梯度,分别是 0.9、1.8、2.7、3.6 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 4.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,处理 2.5 d 时更换一次处理液。样品在 75 °C 的恒温烘箱中烘干至恒质量,测定镉含量。

剪取水稻健康叶片进行离体叶片试验,将叶片均匀分成 3 cm 小段放入培养皿中,加入等量离体叶片试验处理液,在十分之一 Hoagland 营养液和 100 万倍的表面活性剂(商用三硅氧烷)中添加 0.9、4.5、9.0、13.5、18.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 镉处理,设置 3 组重复。叶片浸泡 12 h 后采用 H_2DCFDA 染色法检测 H_2O_2 分布、NBT 染色法检测 O_2^- 分布,观测叶片氧化损伤状况;浸泡 3 d 后,用去离子水将叶片冲洗干净,一部分用于测定叶绿素含量,另一部分于 75 °C 恒温烘干,测定镉含量。

1.3 镉含量的测定

参照本实验室原有的方法,称取穗轴和籽粒干样各 0.5 g 于消解管中,加 7 mL MOS 级硝酸过夜,次日于 ED54 电热消解仪上保持 110 °C 进行消解,2.5 h 后冷却消煮管,加入 1 mL 过氧化氢溶液,待反应平缓后,继续保持 110 °C 消解 1.5 h,随后将仪器升温至 165 °C 赶酸,用去离子水冲洗消煮管,定容至 25 mL 后转移至塑料小白瓶保存消解液,用原子吸收仪(AAS ZEE nit 700)测定样品镉含量。

1.4 叶绿素含量的测定

称取离体叶片鲜样 0.1 g 于 95% 乙醇中研磨,过滤定容至 25 mL,将 95% 乙醇设置为空白对照,用紫外分光光度计(UV-2010 型)分别在波长 665 nm 和 649 nm 处用测定样品光密度 OD 值,计算叶绿素含量。

1.5 氧化损伤的测定

将镉溶液中处理过的新鲜叶片浸泡在 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2DCFDA 溶液中,避光孵育 2 h,染色后用灭菌后的去离子水清洗干净,将样品放置在 20% 的甘油中保存,防止叶片脱水卷曲。将叶片固定在载玻片上,在三目倒置荧光显微镜(测维光电 LWD300-38LT)488 nm 处观察,绿色荧光的分布和强度代表叶肉细胞中 H_2O_2 的位置和数量。

将镉溶液中处理过的新鲜叶片浸泡在 6 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NBT 溶液中,在 60 kPa 真空环境下避光孵育 2 h,将染色好的叶片置于无水乙醇中,在水浴锅中加热 2 h 进行脱色,冷却后将样品放置在 20% 的甘油中保存,将叶片固定在载玻片上放在显微镜下观察,蓝色斑点的分布和强度代表 O_2^- 的位置和数量。

1.6 数据统计及分析

转移系数(TF_{ab})=a 器官镉积累量/b 器官镉积累量
叶绿素 a(鲜质量)($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)=(11.75×A665-2.35×A649)×0.1

叶绿素 b(鲜质量)($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)=(18.61×A649-3.96×A665)×0.1

叶绿素总量(鲜质量)($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)=叶绿素 a 含量+叶绿素 b 含量

采用 Excel 对数据进行处理并完成绘图,采用 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA)、差异显著性检验(Duncan, $P < 0.05$)及相关性分析(Pearson)。

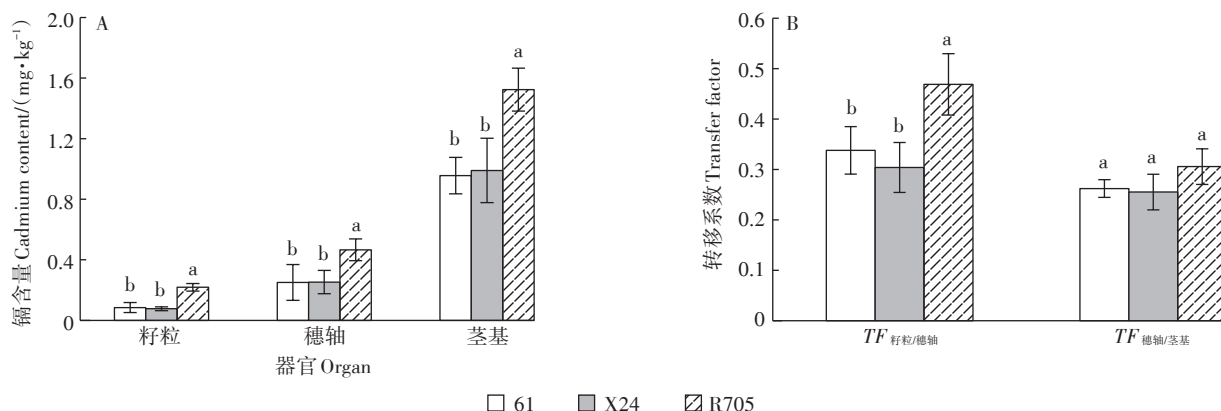
2 结果与分析

2.1 水稻各器官镉含量的基因型差异

水稻茎秆由节间和节构成,节上着生叶和芽。茎基部有 7~13 个节间不伸长,称为蘖节,是拦截镉的主要部位。在镉含量为 $1.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、pH 为 7.5 左右的土壤中进行盆栽试验,发现水稻成熟期 61 和 X24 的籽粒、穗轴和茎基中的镉含量均显著低于 R705,61 和 X24 各器官镉含量无显著差异(图 1A)。转移系数代表镉在器官间的转运能力,其数值越大表示镉的转运能力越强。镉从穗轴向籽粒的转运效率明显高于从茎基向穗轴的转运(图 1B); $TF_{\text{穗轴/茎基}}$ 在 3 个基因型之间无显著差异,61 和 X24 的 $TF_{\text{籽粒/穗轴}}$ 显著低于 R705。说明 R705 穗轴和籽粒基部拦截镉的能力较 61 和 X24 弱,其茎基拦截镉的贡献率更大。

2.2 离体稻穗镉的吸收动力学特征

水稻离体稻穗在含镉 0.9~4.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的处理液



不同小写字母代表不同基因型间差异达到5%显著水平
Different lowercase letters indicate significant difference between different genotypes at 5% level

图1 3个基因型水稻籽粒、穗轴、茎基镉含量以及转移系数在基因型间的差异

Figure 1 Cadmium content in grains, rachises and basal stems among three genotypes and transfer factor of cadmium between different organs

中培养5 d后,计算镉的平均流速($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$),发现随着处理液中镉浓度的升高,3个基因型水稻籽粒中镉的吸收动力学特征均符合线性方程 $y=ax+b$ (图2A)。处理液中镉浓度每增加 $1\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,X24和R705籽粒中的镉积累速率约增加 $0.44\sim 0.49\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,而61籽粒中的镉积累速率只增加 $0.14\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 。穗轴中的镉积累速率显著大于籽粒,其中X24和R705穗轴镉的吸收动力学特征符合线性方程,61穗轴镉的吸收动力学特征符合指数方程(图2B)。当处理液中的镉浓度低于 $2.7\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,穗轴镉积累速率随着处理液中镉浓度提高而增加的幅度较小,积累速率的增长幅度在3个基因型间差异不显著;当处理液中的镉浓度增加至 $3.6\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 后,61穗轴中的镉积累速率提升加快。处理液中的镉浓度相同时,61穗轴镉积累速率始终高于X24和R705。在 $0.9\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫下,3个基因型水稻籽粒吸收镉的最大速率为 $2.03\sim 4.58\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,穗轴吸收镉的最大速率为 $11.54\sim 15.62\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,在 $4.5\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫下,3个基因型水稻籽粒吸收镉的最大速率为 $2.53\sim 6.16\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,穗轴吸收镉的最大速率为 $23.84\sim 53.11\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 。

离体稻穗籽粒中的镉含量在基因型间表现出显著差异。当处理中的镉浓度为 $0.9\sim 4.5\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,R705籽粒中的镉含量高于61和X24籽粒中镉含量(图2C)。61籽粒中的镉含量在处理间的差异未达显著水平,X24和R705籽粒中的镉含量都随着处理液中镉浓度的增加而显著升高。当处理液的镉浓度为 $4.5\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,籽粒中镉含量在基因型间的差异最

为明显,61和X24籽粒中的镉含量分别为 $0.03\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $0.06\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,而R705籽粒中的镉含量达到 $0.08\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;R705的籽粒镉含量是61籽粒镉含量的2.44倍,是X24籽粒镉含量的1.29倍。

处理液浓度对离体稻穗穗轴镉含量的影响在基因型间表现出差异。61穗轴中镉含量在各浓度镉胁迫下均高于X24和R705穗轴镉含量(图2D)。随处理液中镉浓度升高,61和X24穗轴中镉含量显著增加,而R705穗轴中镉含量在低镉浓度胁迫下增加不显著,当处理液中镉浓度达到 $4.5\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时镉含量显著增加。在 $0.9\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫下,穗轴镉含量在基因型间差异不明显,为 $0.16\sim 0.21\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。在 $4.5\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫下,61穗轴镉含量则明显高于X24和R705穗轴镉含量,达到 $0.72\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,X24和R705穗轴镉含量差异不明显,镉含量为 $0.35\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 左右。

2.3 离体稻穗镉转运特性的基因型差异

穗轴是穗节和穗颈中各种离子向籽粒输送的末端出口。分别对3个基因型离体稻穗籽粒和穗轴镉含量进行相关性分析,发现都符合线性方程 $y=ax+b$,但斜率在基因型间有显著差异(图3A)。61的斜率显著小于X24和R705,穗轴中镉含量每增加 1.0mg ,61籽粒中镉含量增加 0.01mg ,X24籽粒中镉含量增加 0.11mg ,R705籽粒中镉含量增加 0.14mg 。说明61籽粒基部对镉的拦截能力显著大于X24和R705,R705籽粒基部对镉的拦截能力最弱。

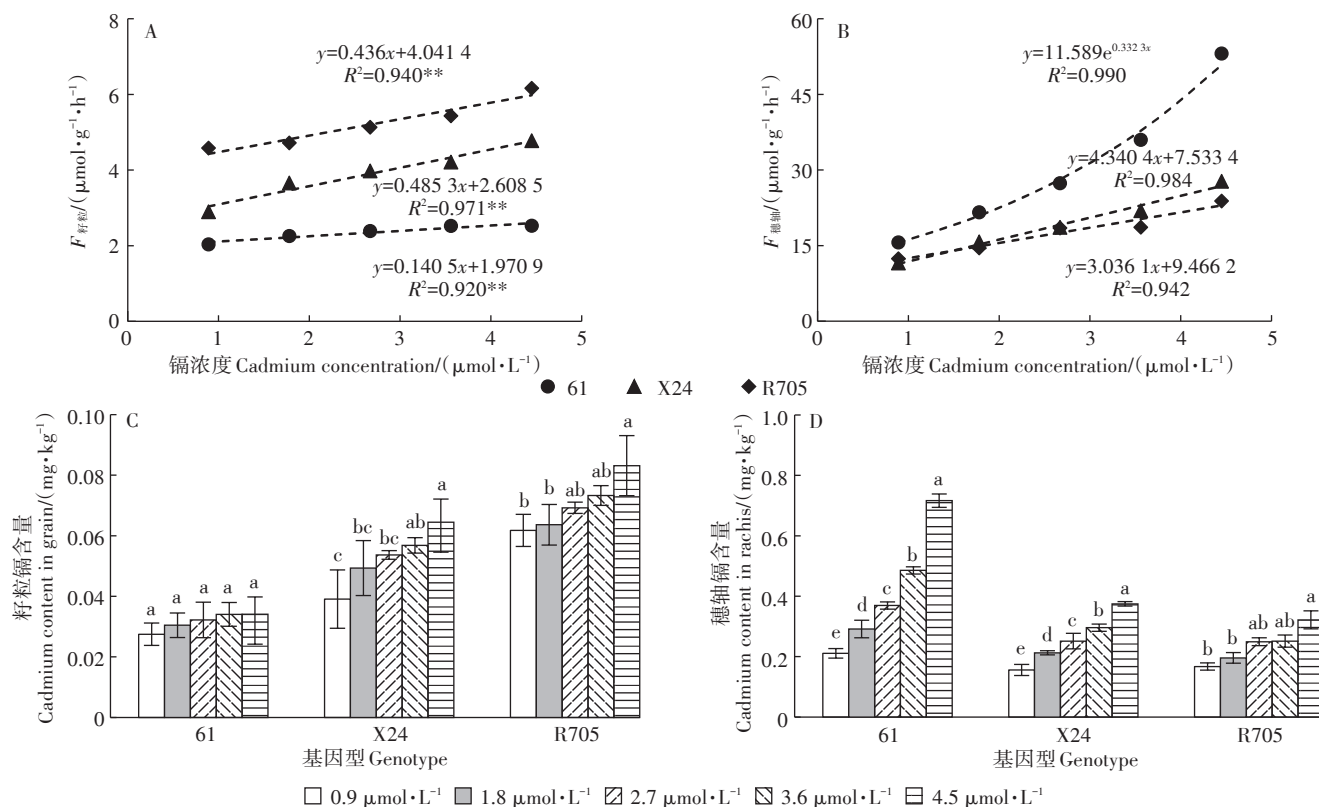
转移系数是判断穗轴向籽粒转运镉能力的重要依据,对5个浓度镉胁迫下穗轴向籽粒的转移因子进

行计算,发现随处理液中镉浓度增加,3个基因型 $TF_{\text{穗轴/籽粒}}$ 均逐渐减小,但转运能力在基因型间存在显著差异;在相同浓度镉胁迫下,61和X24的 $TF_{\text{穗轴/籽粒}}$ 均显著低于R705,且61的 $TF_{\text{穗轴/籽粒}}$ 显著低于X24(图3B)。在 $0.9 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 镉胁迫下,61的 $TF_{\text{穗轴/籽粒}}$ 为0.13, X24和R705的 $TF_{\text{穗轴/籽粒}}$ 分别为0.25和0.37,是

61的1.92倍和2.84倍;当镉胁迫提高到 $4.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, X24和R705的 $TF_{\text{穗轴/籽粒}}$ 下降到0.17和0.25,但仍大于61在低镉胁迫时的 $TF_{\text{穗轴/籽粒}}$ 。在 $4.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 镉胁迫下,61的 $TF_{\text{穗轴/籽粒}}$ 仅有0.05。

2.4 不同基因型离体叶片镉积累特性的差异

离体叶片浸泡在 $0.9 \sim 4.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的镉溶液中培



不同小写字母代表同一基因型不同处理间差异达到5%显著水平。下同

Different lowercase letters indicate significant difference between different treatments of the same genotype at 5% level. The same below

图2 3个基因型离体稻穗籽粒和穗轴中镉的积累速率及镉含量

Figure 2 Accumulation rate of cadmium in detached grains and rachises among three genotypes, contents of cadmium in detached grains and rachises among three genotypes

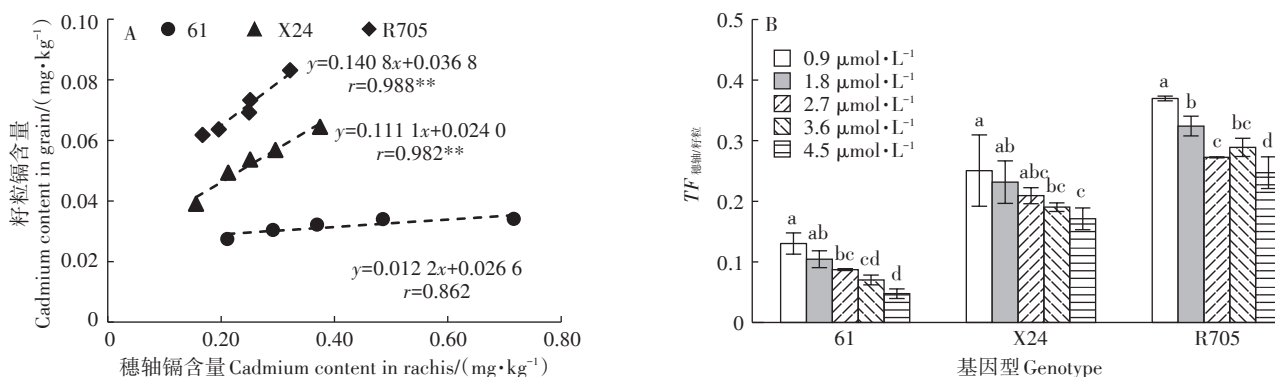


图3 籽粒和穗轴镉含量相关性及 $TF_{\text{穗轴/籽粒}}$ 的基因型差异

Figure 3 Relationship between cadmium content of grains and rachises, transfer factors of cadmium from rachises to grains among three genotypes

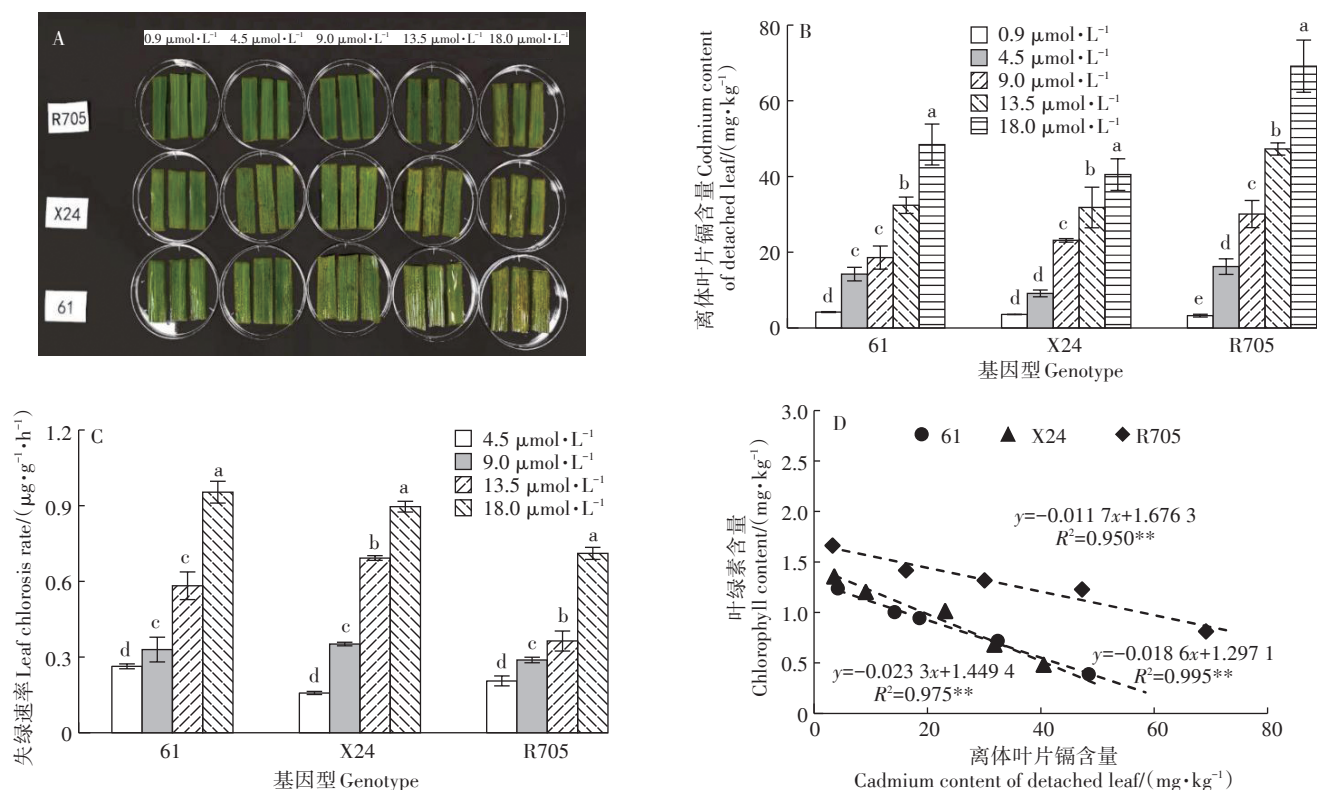


图4 三个基因型离体叶片失绿情况、镉含量、失绿速率及离体叶片镉含量和叶绿素含量相关性

Figure 4 Etiolating of detached leaves, cadmium content and leaf chlorosis rate of detached leaves among three genotypes, relationship between cadmium content of detached leaves and chlorophyll content of detached leaves

养3 d后,会随镉胁迫增强和时间推移而逐渐变黄(图4A)。3个基因型水稻在自然生长条件下叶片颜色较为均一,施加不同浓度镉胁迫后,X24和61在中等浓度的镉胁迫下就出现失绿现象,且失绿速率快,说明X24和61对镉胁迫更加敏感。X24在镉胁迫达到 $13.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时出现明显的失绿现象;61在镉胁迫达到 $18.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时叶片黄化较为严重;R705叶片在高镉胁迫下仍保持绿色。

离体叶片处理3 d后测定镉积累量,发现离体叶片镉含量随处理液镉浓度升高而增加,并且在基因型间存在差异(图4B)。在 $0.9 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫下,R705镉含量最低,但3个基因型间无显著差异;当镉胁迫浓度在 $4.5\sim 18.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间时,R705镉含量始终高于61和X24。基因型间镉含量差异在 $18.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫时达到最大,R705镉含量分别是61和X24的1.48倍和1.70倍。R705离体叶片镉积累的速率比61和X24快,61和X24离体叶片在低镉浓度下镉积累速率缓慢且稳定。

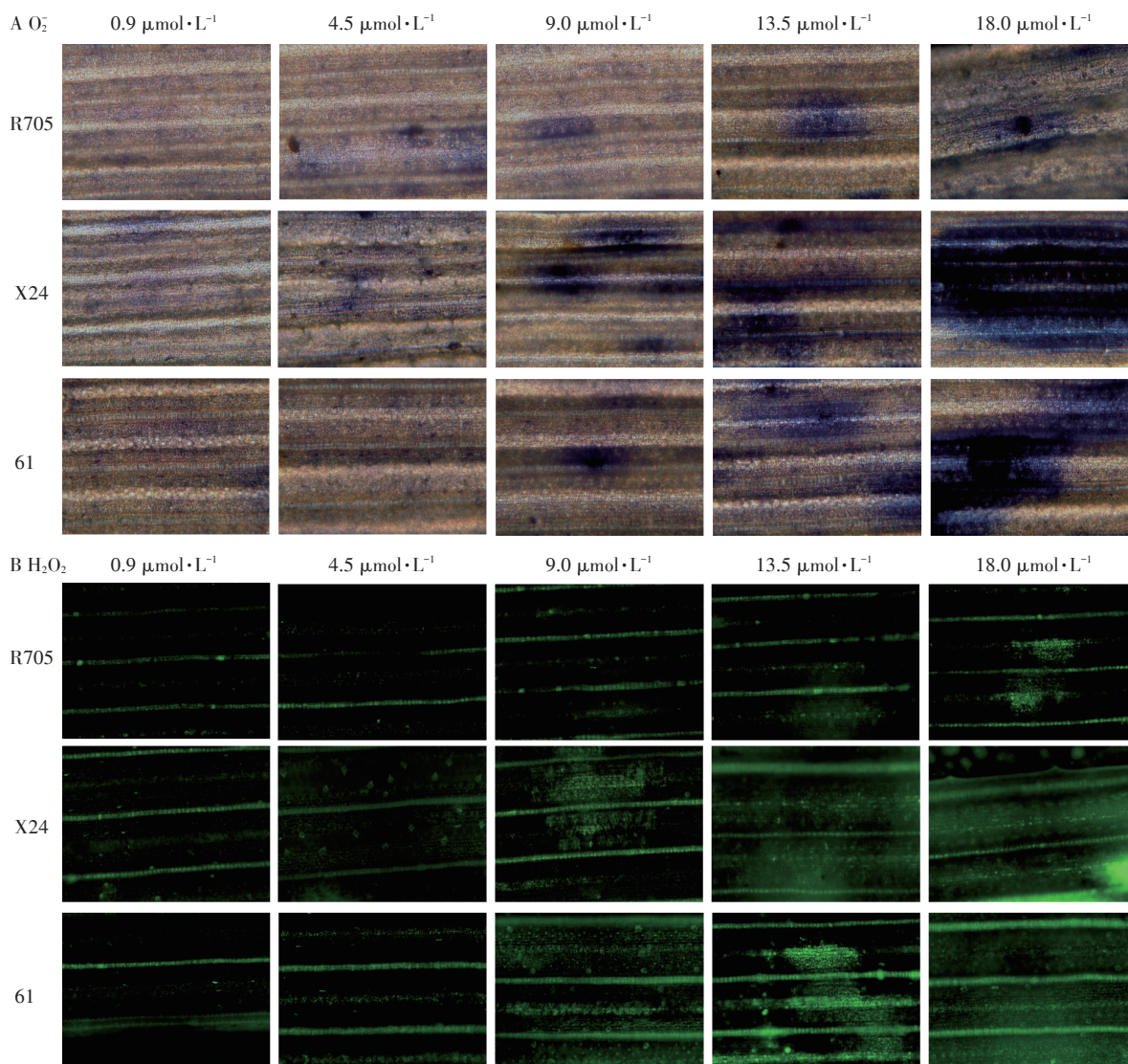
叶片受到镉胁迫后,叶绿体被破坏并分解,叶片失绿状态反映其耐镉特性,计算离体叶片失绿速率,发现随镉胁迫增强,3个基因型离体叶片失绿速率均

显著加快,且随镉胁迫增强失绿速率加快幅度增大(图4C)。在镉胁迫浓度低于 $9.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,3个基因型离体叶片失绿速率均较慢。当镉胁迫浓度达到 $13.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,61和X24失绿速率加快,分别是R705的1.60倍和1.90倍。在 $18.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫时,R705失绿速率也显著加快。

对离体叶片中镉含量和叶绿素含量进行相关性分析,发现二者呈现负相关性,相关性符合线性方程 $y=ax+b$ (图4D)。斜率反映了叶绿素含量降低的幅度,R705的斜率最小,其叶片每吸收1 mg的镉,其叶绿素含量降低0.01 mg,61和X24的叶片每吸收1 mg的镉,叶绿素含量降低0.02 mg。说明61和X24叶片对镉胁迫的敏感性较强,R705叶片对镉毒害的反应较为迟钝。

2.5 离体叶片耐镉能力的基因型差异

通过NBT染色法和 H_2DCFDA 染色法分别检测 O_2^- 和 H_2O_2 在离体叶片中的分布情况,观测镉胁迫对叶片造成的氧化损伤强度,结果见图5,图片中深蓝色部分代表 O_2^- 的存在(图5A),绿色荧光部分代表 H_2O_2 的存在(图5B)。离体叶片氧化损伤强度随胁迫增强而增加,不同基因型对镉胁迫的敏感性存在显著

图5 离体叶片中 O_2^- 和 H_2O_2 的分布情况Figure 5 The distribution of O_2^- and H_2O_2 in detached leaves

差异。在低镉浓度胁迫下,3个基因型离体叶片均有点状分布的 O_2^- 存在,在高镉浓度胁迫下 X24 和 61 离体叶片中有大面积 O_2^- 存在, R705 叶片中 O_2^- 只有小面积的存在,说明随镉胁迫增强, X24 和 61 的氧化损伤更加严重,对镉胁迫更为敏感, R705 叶片具有较强的耐镉能力。观察叶片中 H_2O_2 的分布情况发现,叶脉首先受到氧化损伤,随镉胁迫增强,叶肉细胞中 H_2O_2 的含量也会增加。R705、X24 和 61 叶脉分别在镉胁迫为 13.5、9.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时出现严重的氧化损伤,叶肉在镉胁迫为 18.0、9.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 13.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时出现较为严重的氧化损伤。

3 讨论

在相同的自然环境中,低镉积累品种的稻米镉含

量显著低于高镉积累品种,但稻米镉含量的遗传稳定性很差,同一品种的稻米镉含量在不同年份和不同地点可以相差 2~4 倍^[19-21]。在盆栽试验中表现为低镉积累的品种,在田间试验中未必表现出低镉积累特性。然而,无论是田间试验还是盆栽试验,水稻穗轴和籽粒中的镉含量总是高度线性相关,灌浆期高镉积累品种营养器官的镉输出量总是显著高于低镉积累品种^[5,18]。为了排除环境因素的干扰,本研究将不同品种的稻穗及穗下节浸泡在相同浓度镉溶液中,比较稻米镉含量在水稻基因型间的遗传差异,发现离体稻穗籽粒和穗轴的镉含量均随镉浓度的增强而增加,高镉积累水稻 T 优 705 籽粒镉含量显著高于低镉积累品种湘早粳 24 和朝阳 1 号 B 籽粒镉含量,这说明在下部营养器官镉含量相同的情况下,高镉积累水稻的籽粒

和穗轴吸收转运镉的能力更强。根据离体稻穗籽粒镉含量的高低,可以区分高镉和低镉积累品种,为快速筛选种质资源提供新的思路 and 依据。

水稻根系从环境中吸收镉离子后,会把大部分镉离子转化成难溶态镉固定在根系组织中,只有少数可溶态镉被转运到地上部,茎基部压缩的蘖节和地上伸长的4~5个节间以及节和叶片会继续对镉进行层层拦截,将其储存在茎基、节和叶片中^[18,22-23]。水稻开花以后,茎叶中储存的部分镉离子被活化,和锰、锌等营养元素一起向穗轴和稻米中转运。镉和营养物质流经穗轴维管束到达籽粒基部,籽粒基部对转运而来的小分子化合物进行选择性吸收后运输至籽粒内部。本研究发现,镉从3个基因型水稻的茎基向穗轴转运的比例($TF_{\text{穗轴/茎基}}$)均小于 $TF_{\text{籽粒/穗轴}}$,说明水稻茎基对镉的固定能力较强,能有效减少镉向上部器官转运。在离体稻穗试验中,高镉积累水稻T优705的 $TF_{\text{籽粒/穗轴}}$ 显著高于低镉积累品种湘早粳24和朝阳1号B,说明T优705籽粒基部对镉的拦截作用较弱。由此可见,籽粒基部对镉具有识别和拦截作用,根据镉浓度在籽粒和穗轴间的比例可以快速判断发育籽粒镉积累特性在基因型间的差异,从而筛选籽粒基部对镉的拦截能力较强的低镉积累品种。

光合作用和呼吸作用是叶片产能的生理基础,水稻叶片表面的气孔是养分进入叶片的主要途径之一,因此浸泡在水中的叶片在光照条件充足的情况下仍可保持生物活性。光合参数、叶绿素含量、活性氧自由基含量和抗氧化保护酶活性等生理指标通常作为判断叶片生理活性的指标^[24]。镉毒害会影响气孔开闭状态并减缓光合效率,破坏叶绿体膜导致叶绿素降解^[25],低镉胁迫不会使整个细胞膜丧失功能,对细胞的损伤具有局部性,造成活性氧的积累^[26-28]。叶片中叶绿素和活性氧含量能在一定程度上反映细胞膜对镉的识别能力和叶片的耐镉特性。本试验将健康叶片浸泡在浓度递增的镉溶液中处理3 d或12 h,发现T优705离体叶片镉含量最高,失绿速率最慢,叶片中 O_2 和 H_2O_2 积累量少;而湘早粳24和朝阳1号B叶片镉积累量低,失绿快,叶片中 O_2 和 H_2O_2 积累量多。这些结果说明,高镉积累基因型T优705离体叶片耐镉能力强,而低镉积累基因型湘早粳24和朝阳1号B的叶片对镉敏感,容易产生氧化损伤。因此,离体叶片耐镉性试验可以作为快速筛选镉跨膜运输能力和水稻抗镉氧化损伤能力的有效手段。

4 结论

(1)根据离体稻穗稻米和穗轴中的镉含量,可以快速准确地区分高镉积累和低镉积累基因型。离体稻穗在含镉营养液中灌浆时,稻米和穗轴镉含量显著线性相关,穗轴镉含量每增加1.0 mg,朝阳1号B、湘早粳24和T优705籽粒中的镉含量分别增加0.01、0.11 mg和0.14 mg。

(2)稻米镉含量由水稻各器官镉含量和镉在器官间的转运能力共同决定。低镉积累型水稻湘早粳24和朝阳1号B茎基、穗轴和籽粒中镉含量均显著低于高镉积累型水稻T优705,且湘早粳24和朝阳1号B籽粒基部拦截镉的能力强于T优705。

(3)离体叶片耐镉性试验可以作为快速筛选镉跨膜运输能力和水稻抗镉氧化损伤能力的有效手段。在 $0.9\sim 18.0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的镉溶液中,离体叶片对镉的敏感性在基因型间存在差异,T优705离体叶片镉含量高,失绿速率慢,叶片中 O_2 和 H_2O_2 积累量少;朝阳1号B和湘早粳X24叶片镉含量低,失绿快,叶片中 O_2 和 H_2O_2 积累量多。

参考文献:

- [1] LIU Z. Research advance on the mechanism of cadmium transport in rice[J]. *Meteorological and Environmental Research*, 2014, 5:48-52.
- [2] CLEMENS S, AARTS M, THOMINE S, et al. Plant science: The key to preventing slow cadmium poisoning[J]. *Trends in Plant Science*, 2013, 18(2):92-99.
- [3] LIU Y, ZHANG C B, ZHAO Y, et al. Effects of growing seasons and genotypes on the accumulation of cadmium and mineral nutrients in rice grown in cadmium contaminated soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2016:1282.
- [4] KANG Z, ZHANG W, QIN J, et al. Yield advantage and cadmium decreasing of rice in intercropping with water spinach under moisture management[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 190: 110102.
- [5] 文志琦, 赵艳玲, 崔冠男, 等. 水稻营养器官镉积累特性对稻米镉含量的影响[J]. *植物生理学报*, 2015(8):107-113. WEN Z Q, ZHAO Y L, CUI G N, et al. Effects of cadmium accumulation characteristics in vegetative organs on cadmium content in grains of rice[J]. *Plant Physiology Journal*, 2015(8):107-113.
- [6] 王龙, 杨益新, 高子平, 等. 水稻幼苗镉积累特征和离体叶片耐镉性的基因型差异[J]. *生态毒理学报*, 2016, 11(6):187-196. WANG L, YANG Y X, GAO Z P, et al. Genotypic difference of cadmium accumulation characteristics and cadmium tolerance in detached leaves of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2016, 11(6):187-196.
- [7] ZHAO Y L, ZHANG C B, WANG C R, et al. Increasing phosphate in-

- hibits cadmium uptake in plants and promotes synthesis of amino acids in grains of rice[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 257(3):113496.
- [8] 刘仲齐, 张长波, 黄永春. 水稻各器官镉阻控功能的研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(4):721-727. LIU Z Q, ZHANG C B, HUANG Y C. Research advance on the functions of rice organs in cadmium inhibition: A review[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(4):721-727.
- [9] 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.
- [10] ADIL F, SEHAR S, HAN Z, et al. Zinc alleviates cadmium toxicity by modulating photosynthesis, ROS homeostasis, and cation flux kinetics in rice[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 265:114979.
- [11] 成勤勤. 关于水稻幼穗分化发育的研究[D]. 扬州:扬州大学, 2006. CHENG Q Q. Study on rudimentary panicle development in rice[D]. Yangzhou:Yangzhou University, 2006.
- [12] DU Y, QI Z Q, YU J J, et al. Effects of panicle development stage and temperature on rice panicle blast infection by *Magnaporthe oryzae* and visualization of its infection process[J]. *Plant Pathology*, 2021, 70(6):1436-1444.
- [13] 苏达. 磷营养对水稻籽粒锌生物有效性的影响及其与植酸等磷酸肌醇谱含量的关系[J]. 作物学报, 2020, 46(2):228-237. SU D. Influence of phosphorus on rice (*Oryza sativa* L.) grain zinc bioavailability and its relation to inositol phosphate profiles concentration[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2020, 46(2):228-237.
- [14] MO Z W, HUANG J X, XIAO D, et al. Supplementation of 2-Ap, Zn and La improves 2-Acetyl-1-Pyrroline concentrations in detached aromatic rice panicles *in vitro*[J]. *PLoS One*, 2016, 11(2):e0149523.
- [15] 苏达, 王复标, 雷炳婷, 等. 外源磷处理对水稻籽粒植酸含量及相关代谢基因表达的影响[J]. 中国水稻科学, 2015(2):159-166. SU D, WANG F B, LEI B T, et al. The response of phytic acid and its expression profiles in rice (*Oryza sativa* L.) grain as induced by phosphorus supply[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2015(2):159-166.
- [16] QIN S Y, LIU H, NIE Z J, et al. Toxicity of cadmium and its competition with mineral nutrients for uptake by plants: A review[J]. *Pedosphere*, 2020, 30(2):13-25.
- [17] 温娜. 利用AMMI模型分析稻米镉含量的基因型与环境互作效应[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(5):817-823. WEN N. Analysis of genotypic and environmental effects on cadmium content in rice by AMMI model[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2015, 34(5):817-823.
- [18] 居学海, 张长波, 宋正国, 等. 水稻籽粒发育过程中各器官镉积累量的变化及其与基因型和土壤镉水平的关系[J]. 植物生理学报, 2014(5):634-640. JU X H, ZHANG C B, SONG Z G, et al. Changes in cadmium accumulation in rice organs during grain development and their relationship with genotype and cadmium levels in soil[J]. *Plant Physiology Journal*, 2014(5):634-640.
- [19] 张烁, 陆仲烟, 唐琦, 等. 水稻叶面调理剂的降Cd效果及其对营养元素转运的影响[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(11):156-162. ZHANG S, LU Z Y, TANG Q, et al. Effects of foliar modulators on cadmium accumulation and transport of nutrient elements in rice[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(11):156-162.
- [20] 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):145-151. 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):145-151.
- [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] 黄永春, 张长波, 任兴华, 等. 土壤和茎基部镉含量对稻米镉污染风险的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(5):63-73. HUANG Y C, ZHANG C B, REN X H, et al. Effects of cadmium content in soil and stem base on the risk of cadmium contamination in rice[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(5):63-73.
- [23] XUE W J, WANG P P, TANG L, et al. Citric acid inhibits Cd uptake by improving the preferential transport of Mn and triggering the defense response of amino acids in grains[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 211:111921.
- [24] 李可, 禹晴, 徐云姬, 等. 水稻叶片早衰突变体的农艺与生理性状研究进展[J]. 中国水稻科学, 2020, 34(2):104-114. LI K, YU Q, XU Y J, et al. Research progress in agronomic and physiological traits of early leaf senescence mutants in rice[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2020, 34(2):104-114.
- [25] SEBASTIAN A, PRASAD M. Exogenous citrate and malate alleviate cadmium stress in *Oryza sativa* L.: Probing role of cadmium localization and iron nutrition[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 166:215-222.
- [26] STIRBET A, LAZÁR D, KROMDIJK J, et al. Chlorophyll a fluorescence induction: Can just a one-second measurement be used to quantify abiotic stress responses?[J]. *Photosynthetica*, 2018(10):86-104.
- [27] GRAJEK H, RYDZYŃSKI D, PIOTROWICA-CIELAK A, et al. Cadmium ion-chlorophyll interaction-examination of spectral properties and structure of the cadmium-chlorophyll complex and their relevance to photosynthesis inhibition[J]. *Chemosphere*, 2020, 261:127434.
- [28] 郑宏春, 刘皎, 王涵, 等. 植物细胞吸收镉的机理及镉对植物气孔发育的影响[J]. 地球环境学报, 2019, 10(5):496-502. ZHENG H C, LIU J, WANG H, et al. Mechanism of plant cell absorb cadmium and its influence on stoma development[J]. *Journal of Earth Environment*, 2019, 10(5):496-502.

(责任编辑:叶飞)