不同硫浓度下叶面施硒对水稻幼苗镉的 亚细胞分布及化学形态的影响

张 雯,林匡飞*,周 健,张 卫,刘莉莉,张茜茜

(华东理工大学 国家环境保护化工过程环境风险评价与控制重点实验室,上海 200237)

摘 要:采用水培的方式,通过叶面喷施硒(Se),根部施加硫(S)与镉(Cd),研究了不同硫浓度下叶面施硒对水稻幼苗体内 Cd 的亚 细胞分布和化学形态的影响。结果表明,在不同处理条件下,细胞壁组分所占比例均为 Cd10>Cd1(Cd10 代表浓度为 10 mg·L⁻¹ 的 Cd,下同)。随着 S 的增加以及叶面施 Se 可溶性组分中 Cd 的比例有所升高,表明 S 与 Se 的供应能促进 Cd 向液泡转移。NaCl 提取 态所占比例趋势为 S720>S48>S0、Se500>Se0,而乙醇和去离子水等活性较高的提取态所占比例有所下降,说明 S 的添加以及叶面 施 Se 能够促使 Cd 向活性较低的提取态转移。然而相对于无 S,在高浓度 S 情况下,施 Se 并未显著增加 Cd 在液泡中以及 F_{Nd} 提取 态的比例,推测 S 与 Se 之间相互竞争,从而未产生协同作用。

关键词:硫;叶面施硒;镉;亚细胞分布;化学形态

中图分类号:X171.5 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2014)05-0844-09 doi:10.11654/jaes.2014.05.004

Effects of Selenium Foliar Spray on Subcellular Distribution and Chemical Forms of Cadmium in Rice Seedlings in Different Sulfur Concentrations

ZHANG Wen, LIN Kuang-fei*, ZHOU Jian, ZHANG Wei, LIU Li-li, ZHANG Qian-qian

(State Environmental Protection Key Laboratory of Environmental Risk Assessment and Control on Chemical Process, East China University of Science & Technology, Shanghai 200237, China)

Abstract: Cadmium(Cd) is a toxic heavy metal to rice. Sulfur(S) and selenium(Se) may alleviate its toxicity by changing Cd distribution and species in rice seedlings. Here, we investigated the subcellular distribution and chemical forms of Cd in rice seedlings under different S concentrations and foliar-applied Se using hydroponic experiment. The proportion of Cd in cell wall was larger under 10 mg Cd \cdot L⁻¹ than under 1 mg Cd \cdot L⁻¹. As solution S and foliar-sprayed Se increased, soluble Cd increased while Cd in cell wall decreased, indicating the enhanced translocation of Cd to vacuole by the supply of S and Se. Also, the percentage of NaCl-extraction Cd fraction increased while that of ethanol-extractable Cd decreased with increasing supplies of S and Se, illustrating that the presence of S and Se could promote Cd transfer to less active forms. However, Se supply did not significantly increase Cd transfer into the vacuole and NaCl-extractable fraction under high S concentrations, implying competition between S and Se.

Keywords: sulfur; foliar spraying selenium; cadmium; subcellular distribution; chemical forms

Cd 是一种对植物危害较大的重金属,有研究人员报道过有关植物如何耐受 Cd 毒害以及缓解 Cd 毒

- 基金项目:国家自然科学基金(40871223,40901148,41001316);中央 高校基本科研业务费专项资金资助(WB0911011, WB1214059)
- 作者简介:张 雯(1986—),女,河北人,博士研究生,主要从事植物毒 理学研究。E-mail:mengxinyu2006@126.com
- *通信作者:林匡飞 E-mail:kflin@ecust.edu.cn

害的机制^{III}。水稻是亚洲种植最多的一种农作物,其体 内重金属含量,尤其是镉含量及其对人类造成的损害 多见报道。S和Se为维持植物体生长的必需元素,并 且均能够抑制Cd对植物体的毒害^[2-6]。同时在元素周 期表中S和Se属于同组元素,因此在化学性质以及 吸收、转运和进入生物大分子有相似之处,且高等植 物对SeO²⁺与SO²+的同化途径也类似。

植物耐受重金属方式主要有根部滞留、细胞壁固

收稿日期:2014-01-29

定化、液泡区室化以及植物螯合态(PCs)等^[7]。在植物 应对重金属的毒性方面,细胞壁的固定和液泡区室化 起着相当重要的作用^[8]。在植物体内,存在一些极性化 合物,它们通过螯合重金属离子和限制其移动而缓解 重金属的毒性^[7]。如植物螯合态(PCs)能够被镉等重金 属诱导所生成,它通过螯合重金属而缓解重金属对植 物的伤害^[9]。Cd 在超积累植物东南景天体内主要以蛋 白质结合态存在^[10],液泡能够最终储存这些结合态物 质也被认为是植物耐受镉的重要机制^[11]。

喷硒是一种富集 Se 的有效操作手段^[12]。在一定程 度上,喷施硒来提高植物体内的硒含量能缓解重金属 的胁迫作用^[13-14]。目前,仍缺少有关硫和硒共同添加对 Cd 亚细胞分布以及化学形态的影响的研究。因此,本 文在水培条件下通过叶面施硒,根部施加硫与镉,利 用差速离心法和化学试剂逐步提取法研究了不同硫 浓度下叶面施硒对水稻幼苗中 Cd 的亚细胞分布和化 学形态的影响,以说明 S 与 Se 存在情况下 Cd 在水稻 幼苗体内的分布和化学形态,并解释由不同位点进入 水稻幼苗,S 与 Se 如何通过影响 Cd 在水稻幼苗体内 的亚细胞分布及化学形态从而缓解 Cd 的毒性。

1 材料与方法

1.1 试验设计

实验研究对象为淮稻"6号"。选用颗粒饱满的淮 稻种子,用1.2%的次氯酸钠溶液消毒20min,去离子 水漂洗3次后均匀摆在铺有湿滤纸的培养皿中,之后 放于暗室人工气候培养箱中,在32℃条件下催芽。催 芽后,将幼芽移入霍格兰营养液中培养,置于人工气 候培养箱中进行培养。人工气候箱条件:白天温度 28 ℃,湿度 80%,光照 16 h,光照强度为 12 000 lx;夜间 温度 20 ℃,湿度 70%,8h 黑暗。至四叶期时挑选形态 相似、长度相当的水稻幼苗移入 250 mL 的烧杯中进 行不同浓度处理(每组处理 50 株)。在水培溶液中加 入不同浓度的硫和镉溶液,设置3个硫浓度:0(S0)、 48(S48)、720 mg·L⁻¹(S720)以 Na₂SO₄ 加入;3 个镉浓 度:0(Cd0)、1(Cd1)、10 mg·L⁻¹(Cd10),以 CdCl₂的形 态加入;两个硒浓度:0(Se0)、500 mg·L⁻¹(Se500),以 Na₂SeO₄加入。实验共进行18个处理,每个处理均设 3次重复。所有实验均在模拟自然状态的人工气候培 养箱内进行。曝毒时间为12d,每3d更换1次营养 液,同时进行叶面喷硒,为防止硒落入水培溶液,以锡 箔纸隔开。喷施程度以叶正反面均匀布满雾状水滴为 最佳。12 d 后取样。待测样品用 Na2-EDTA 溶液浸泡 20 min 后用去离子水清洗并用滤纸吸干,分装后于 -70 ℃冰箱内保存。

1.2 水稻幼苗体内亚细胞组分的提取

取 0.2 g 左右的水稻幼苗根、叶样品,加入到 10 mL 由 250 mmol·L⁻¹ 蔗糖、50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl(pH 7.5)以及 10 mmol·L⁻¹ 二硫苏糖醇组成的缓冲液中研 磨成匀浆。使用差速离心法¹¹⁵将匀浆在不同转速下进 行离心,得到以下 4 个组分:细胞壁、细胞核和叶绿 体、线粒体以及细胞可溶性组分。所有操作均在 4 ℃ 进行,并测定 Cd 全量计算回收率¹¹⁶,回收率为 88%~ 95%。之后将各组分进行微波消解,消解液组成为 HNO₃和 H₂O₂(5:1)。Cd 含量的测定采用原子吸收法。

1.3 水稻幼苗体内镉的化学形态提取

将 0.2 g 水稻幼苗的根、叶剪成 1~2 mm² 左右碎 片置于烧杯内,采用化学试剂逐步提取法^[17]提取 Cd 的不同化学形态。五种萃取剂如下:乙醇(80%,F_E)、 去离子水(F_W)、氯化钠(1 mol·L⁻¹,F_{NaCl})、醋酸(2%, F_{HAc})、盐酸(0.6 mol·L⁻¹,F_{HCl})以及残渣态(F_R)。

1.4 数据分析

数据用 Origin8.0 作图,并用 SPSS 进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同镉浓度下水稻幼苗的生长情况

由表1可以看出,随着Cd浓度的增大,水稻幼苗生物量减小,说明Cd浓度的增加会抑制水稻幼苗生物量。相对于1mg·L⁻¹Cd,在10mg·L⁻¹Cd条件下,水稻幼苗的生长受到很大的抑制(P<0.05)。

2.2 不同硫浓度下叶面施硒对水稻幼苗中镉的亚细 胞分布的影响

由表2可知,当Cd从1mg·L⁻¹提高到10mg·L⁻¹

表1 水稻幼苗生物量

Table 1 Biomass of rice seedlings					
部位 Parts	Cd 浓度/mg·L ⁻¹ Cd concentration	植株干重/g Dry weight of rice	幼苗长度/cm Rice height		
地上部	0	$0.424 \pm 0.005 a$	17.33±0.55a		
Aboveground	1	$0.405 \pm 0.003 a$	16.31±0.41a		
	10	$0.369{\pm}0.003{\rm b}$	$12.47{\pm}0.33\mathrm{b}$		
根部 Root	0	0.224±0.001a	12.04±0.21a		
	1	$0.206 \pm 0.002a$	11.33±0.22a		
	10	$0.173{\pm}0.002{\rm b}$	$7.45 \pm 0.13 \mathrm{b}$		

注:表中不同小写字母代表不同 Cd 浓度处理下的显著性差异(P< 0.05)。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences between Cd treatments (P<0.05).

表 2 Cd 在水稻幼苗体内的亚细胞分布

处理 Treatments/mg・L ⁻¹		ts/mg•L ⁻¹	Cd 含量 Cd contents/mg·kg ⁻¹					
Cd	Se	s	部位 Parts	细胞壁 Cell wall	细胞核 叶绿体 Nucleus chloroplast	线粒体 Mitochondrion	可溶性组分 Soluble fraction	
1	0	0	根部 Root	34.81±2.46a	7.72±0.55a	6.12±0.43c	6.25±0.44c	
		48		$14.75{\pm}1.04\mathrm{b}$	3.71±0.26b	8.58±0.61a	21.59 ± 1.53 b	
		720		$15.08 \pm 1.07 \mathrm{b}$	7.98±0.56a	$7.55 \pm 0.53 \mathrm{b}$	45.59±3.22a	
		0	地上部 Aboveground	$11.28\pm0.8b$	2.7±0.19a	3.64±0.26a	6.11±0.43c	
		48		19.14±1.35a	$1.57 \pm 0.11 \mathrm{b}$	2.31±0.16b	12.44±0.88a	
		720		$8.81 \pm 0.62 c$	2.9±0.2a	1.7±0.12c	$9.87 \pm 0.7 \mathrm{b}$	
	500	0	根部 Root	29.03±2.05a	9.11±0.64a	5.5±0.39a	8.62±0.61c	
		48		$20.39{\pm}1.44\mathrm{b}$	$6.85 \pm 0.48 \mathrm{b}$	5.97±0.42a	34.04±2.41a	
		720		$6.43 \pm 0.45 c$	3.31±0.23c	2.09 ± 0.15 b	$20.92 \pm 1.48 \mathrm{b}$	
		0	地上部 Aboveground	16.45±1.16a	$2.26\pm0.16b$	2.83±0.2a	29.96±2.12a	
		48		$11.15 \pm 0.79 \mathrm{b}$	2.85±0.2a	2.44±0.17a	25.51±1.8b	
		720		9.21±0.65c	3.17±0.22a	$1.19 \pm 0.08 \mathrm{b}$	$24.05{\pm}1.7\mathrm{b}$	
10	0	0	根部 Root	73.89±5.22a	9.12±0.64a	6.18±0.44a	11.47±0.81c	
		48		$41.71{\pm}2.95\mathrm{b}$	6.32 ± 0.45 b	6.34±0.45a	$28.51{\pm}2.02\mathrm{b}$	
		720		$25.79{\pm}1.82\mathrm{c}$	$9.07 \pm 0.64 \mathrm{c}$	$4.26\pm0.3b$	47.48±3.36a	
		0	地上部 Aboveground	$43.46{\pm}3.07\mathrm{b}$	4.11±0.29a	6.65±0.47a	$10.14\pm0.72c$	
		48		56.49±3.99a	4.32±0.31a	$3.6 \pm 0.25 \mathrm{b}$	15.18±1.07a	
		720		$29.16{\pm}2.06{\rm c}$	4.58±0.32a	7.2±0.51a	$13.75 \pm 0.97 \mathrm{b}$	
	500	0	根部 Root	84.92±6a	13.52±0.96a	9.75±0.69a	21.36±1.51c	
		48		$53.3 \pm 3.77 \mathrm{b}$	$7.61\pm0.54\mathrm{b}$	$7.29 \pm 0.52 \mathrm{b}$	$37.72\pm2.67b$	
		720		$27.23{\pm}1.93{\rm c}$	4.7±0.33c	$5.85 \pm 0.41 c$	54.12±3.83a	
		0	地上部 Aboveground	$27.32{\pm}1.93\mathrm{b}$	2.3±0.16b	$2.88\pm0.2b$	19.88±1.41c	
		48		39±2.76a	5.67±0.4a	4.85±0.34a	$33.85 \pm 2.39 \mathrm{b}$	
		720		$31.57 \pm 2.23 \mathrm{b}$	6.89±0.49a	$2.58 \pm 0.18 \mathrm{b}$	40.68±2.88a	

Table 2 Subcellular distribution of Cd in rice seedlings

注:表中不同小写字母代表不同S浓度处理下的显著性差异(P<0.05)。下同。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences between different sulfur treatments (P<0.05). The same below.

时,Cd 在水稻幼苗体内的亚细胞分布均有升高,其中 在细胞壁和可溶性组分中 Cd 含量有更多的增长,说明 细胞壁和可溶性组分为贮存 Cd 的主要亚细胞组分,显 示了细胞壁的固定以及液泡区室化在植物耐受重金属 中所起的作用^[13,18]。在不同处理下,由于 Cd 由根部进入 水稻幼苗,因此根部的亚细胞组分中 Cd 含量大于地上 部。在相同 Se、Cd 浓度下,水稻幼苗的根部和地上部的 细胞壁中 Cd 含量会随着 S 浓度的升高而下降。

由图 1 和图 2 可知,随着 Cd 浓度从 1 mg·L⁻¹ 增 大到 10 mg·L⁻¹,水稻幼苗细胞壁中 Cd 含量的比例均 有所增加,说明水稻幼苗应对 Cd 胁迫的第一道屏障 是细胞壁。

在相同的 Se、Cd 条件下,随着 S 浓度的增加,细胞可溶性组分中 Cd 的百分比有不同比例的升高,而相对于地上部,根部升高的比例更大。如 Se0、Cd10 条

件下,在水稻幼苗根部,相对于正常S浓度,高浓度S 对可溶性组分Cd的百分比的提升比例根部为 59.4%,地上部为33.1%。在其他条件下相较地上部, 水稻幼苗根部的可溶性组分Cd的百分比增长率更 高。以上结果表明增加S浓度能够促使Cd向液泡 (可溶性组分)转移;根部相对于地上部增长幅度更大 可能是由于S的作用点在根部,导致了在根部生成大 量与S有关的植物螯合肽,与Cd结合而将Cd转移 至液泡中贮存。

在相同的 S、Cd 条件下,相较于未施 Se,叶面施 Se 也增加了可溶性组分 Cd 的百分比,且在地上部相 对于根部的增长幅度更大,如在 S0、Cd10,S48、Cd10, S720、Cd10 条件下,地上部施 Se 处理较 Se0 处理的 可溶性组分 Cd 百分比增幅分别为 138.3%、110.7%和 94.1%,而根部 Cd 百分比增幅分别为 44.7%、3.5%、





Figure 1 Percentages of subcellular distribution of cadmium in rice seedlings at 1 mg·L⁻¹ of Cd concentration



Figure 2 Percentages of subcellular distribution of cadmium in rice seedlings at 10 mg • L⁻¹ of Cd concentration

7.4%。以上结果说明叶面施 Se 也能够促使 Cd 向含 有液泡的细胞可溶性部分转移;而百分比在地上部相 对于根部提高比例更大是由于 Se 的作用位点在水稻 幼苗地上部,且 Se 与 S 性质相类似,也能形成 Cd 转 运蛋白。有文献¹¹⁹称 Se 能够替代 S 在合成金属硫蛋 白时的某些功能,因此能够解释叶面施 Se 也能促进 Cd 向液泡(可溶性组分)转移的机制。

液泡是植物细胞贮存重金属的重要场所,由以上 结果可知,S和Se的供应能够促进Cd向液泡转移说 明了S和Se均能够缓解水稻幼苗的Cd毒害^[20-21]。而

农业环境科学学报 第 33 卷第 5 期

S 和 Se 的不同作用点对可溶性组分中 Cd 的百分比 增长的影响表明 S 和 Se 均能合成 Cd 螯合蛋白而将 Cd 存储于液泡中,从而使得 Cd 在水稻幼苗根部与地 上部间转运。

2.3 不同硫浓度下叶面施硒对水稻幼苗中镉的化学 形态分布的影响

由表 3 可知,不同处理下在水稻幼苗的根部和地 上部,随着 Cd 浓度从 1 mg·L⁻¹增加至 10 mg·L⁻¹,Cd 不同提取态含量均有明显的增加,其中乙醇提取态 (F_E)和氯化钠提取态(F_{NaCl})两种 Cd 提取态含量较高。 观察 Se 对 Cd 的化学形态分布的影响,发现叶面施 Se 后,F_{NaCl}含量增加,F_E含量下降,二者在地上部的变化 比根部更加显著。

对比图 3 和图 4 可以发现在相同浓度 S、Se 条件下, Cd 浓度的升高使得 F_E 与 F_W 所占百分比显著升高。同时还可以看出在不同浓度处理下,水稻幼苗根部和地上部中 F_E 、 F_W 、 F_{NaCl} 和 F_{HAe} 所占比例较高,其中 F_{NaCl} 和 F_E 百分比更高,分别为19.76%~55.84%和

9.43%~47.81%。而另外两种提取态 F_{HCI} 和 F_R 所占比 例较小,

在 Cd 浓度相同的情况下,随着 S 和 Se 浓度的升高,水稻幼苗根部 F_{NaCI} 的百分比明显上升(图 3 和 4)。如在 Se0、Cd10条件下,当 S 浓度由 0 升高到 720 mg·L⁻¹时, F_{NaCI} 的百分比由 25.17%增加到 56.85%,这 主要由于 F_{NaCI} 提取的 Cd 形态为蛋白态,而 S 是合成 这类螯合蛋白的必需元素,因此 S 浓度的升高能够促 进蛋白质的合成从而使蛋白态 Cd 比例增加。而 Se 的 喷施也能促进蛋白态 Cd 比例的升高,且主要作用位 点在地上部。

对比图 3、图 4 中 A 和 B 还可以看出,在水稻幼 苗的不同部位和不同 Cd 浓度时,在无添加 S 时,叶 面施 Se 显著促进了 Cd 向活性较低的 F_{NaCl} 的化学形 态转移,说明 Se 的添加也能够促进部分 Cd 螯合蛋白 的合成。然而随着 S 浓度的增加,相较于未施 Se,叶 面施 Se 条件下,F_{NaCl} 百分比的增长幅度会随之降低。 尤其在添加高浓度 S 的情况下,施 Se 并未显著增加

	Table 3 Contents of different chemical forms of Cd in rice seedling								
处理 Treatments/mg・L ⁻¹		s/mg•L ⁻¹	刘/ 户 D ,	Cd 含量 Cd contents/mg·kg ⁻¹					
Cd	Se	S	前小 Parts	F_{E}	$\mathbf{F}_{\mathbf{W}}$	F _{NaCl}	$F_{\rm HAc}$	F _{HCl}	$\mathbf{F}_{\mathbf{R}}$
1	0	0	根部 Root	25.26±3.28a	7.5±1.7a	15.31±5.05b	2.47±0.81c	3.26±1.08a	1.11±0.14a
		48		$16.83 \pm 2.19 \mathrm{c}$	$3.46 \pm 0.78 \mathrm{b}$	$17.1 \pm 5.64 \mathrm{b}$	$7.86 \pm 2.59 \mathrm{b}$	$2.52 \pm 0.83 \mathrm{b}$	0.86±0.11a
		720		$20.24{\pm}2.63{\rm b}$	$2.78{\pm}0.63{\rm b}$	36.78±12.14a	11.48±3.79a	3.67±1.21a	1.25±0.16a
		0	地上部 Aboveground	11.35±1.48a	4.46±1.01a	$6.14 \pm 2.03 c$	$1.25\pm0.41c$	$0.4\pm0.13c$	$0.14 \pm 0.02a$
		48		$7.02 \pm 0.91 \mathrm{b}$	4.42±1a	14.29±4.72a	6.81±2.25a	2.18±0.72a	0.74±0.1a
		720		$2.2\pm0.29c$	$2.91 \pm 0.66 \mathrm{b}$	$11.15{\pm}3.68\mathrm{b}$	$4.92{\pm}1.62\mathrm{b}$	$1.57 \pm 0.52 \mathrm{b}$	$0.54 \pm 0.07a$
	500	0	根部 Root	17.31±2.25a	$1.58 \pm 0.36c$	$20.1{\pm}6.63{\rm b}$	$9.28 \pm 3.06 \mathrm{b}$	$2.97{\pm}0.98{\rm b}$	1.01±0.13a
		48		18.68±2.43a	4.34±0.98a	25.55±8.43a	13.09±4.32a	4.19±1.38a	1.42±0.19a
		720		$4.07 \pm 0.53 \mathrm{b}$	$2.1\pm0.48b$	$16.23 \pm 5.36c$	$7.24 \pm 2.39 c$	2.32 ± 0.76 b	0.79±0.1a
		0	地上部 Aboveground	14.78±1.92a	$1.15\pm0.26c$	21.97±7.25a	9.91±3.27a	3.17±1.05a	$1.08 \pm 0.14a$
		48		$8.42 \pm 1.09 \mathrm{b}$	$3.69{\pm}0.84{\rm b}$	$17.84 \pm 5.89 \mathrm{b}$	8.7±2.87a	2.78±0.92a	0.95±0.12a
		720		$3.19 \pm 0.41 c$	4.85±1.1a	21.22±7a	$6.12 \pm 2.02 \mathrm{b}$	$1.96 \pm 0.65 \mathrm{b}$	0.67±0.09a
10	0	0	根部 Root	47.74±6.21a	14.97±3.39a	$25.33{\pm}8.36\mathrm{b}$	8.83±2.91a	2.82±0.93a	0.96±0.12a
		48		$37.3 \pm 4.85 \mathrm{b}$	$10.18 \pm 2.31 \mathrm{b}$	$26.26{\pm}8.67\mathrm{b}$	6.4±2.11c	2.05±0.68a	0.7±0.09a
		720		$21.68{\pm}2.82{\rm c}$	$5.13 \pm 1.16c$	49.23±16.25a	$7.39\pm2.44b$	2.36±0.78a	0.8±0.1a
		0	地上部 Aboveground	$24.62 \pm 3.2 \mathrm{b}$	13.73±3.11a	$12.72\pm4.2c$	9.3±3.07a	2.97±0.98a	1.01±0.13a
		48		35.05±4.56a	$8.33{\pm}1.89{\rm c}$	28.35±9.35a	$5.51{\pm}1.82{\rm c}$	$1.76 \pm 0.58 \mathrm{b}$	0.6±0.08a
		720		$9.06 \pm 1.18c$	$11.31\pm2.56b$	$23.01{\pm}7.59\mathrm{b}$	$7.53\pm2.48\mathrm{b}$	2.41±0.79a	0.82±0.11a
	500	0	根部 Root	29.7±3.86a	16.7±3.78a	56.28±18.57a	18.8±6.2a	6.01±1.98a	2.05±0.27a
		48		28.02±3.64a	$10.86 \pm 2.46 c$	42.76±14.11c	16.99±5.61a	5.44±1.79a	$1.85 \pm 0.24a$
		720		$12.86 \pm 1.67 \mathrm{b}$	$13.97 \pm 3.16 \mathrm{b}$	$48.35{\pm}15.96\mathrm{b}$	11.7±3.86b	$3.74 \pm 1.24 \mathrm{b}$	$1.27 \pm 0.17 \mathrm{b}$
		0	地上部 Aboveground	12.97±1.69a	16.53±3.75a	$22.65{\pm}7.47{\rm c}$	$0.56 \pm 0.19 \mathrm{c}$	$0.18 \pm 0.06 \mathrm{c}$	$0.06 \pm 0.01 \mathrm{b}$
		48		14.3±1.86a	$9.67 \pm 2.19 \mathrm{b}$	$34.61 \pm 11.42 b$	17.94±5.92a	5.74±1.89a	1.95±0.25a
		720		12.43±1.62a	$10.41 \pm 2.36 \mathrm{b}$	40.87±13.49a	$13.19 \pm 4.35 \mathrm{b}$	$4.22 \pm 1.39 \mathrm{b}$	1.43±0.19a

表 3 水稻幼苗体内不同化学形态的 Cd 含量

2014年5月



A 为 Se0 处理; B 为 Se500 处理。下同

A represents Se0 treatment; B Se500 treatment. The same below

图 3 Cd=1 mg·L⁻¹ 时,水稻幼苗根部 Cd 的化学形态百分比

Figure 3 Percentages of Cd chemical forms in rice roots at 1 mg • L⁻¹ of Cd concentration







 F_{NaCl} 化学态的比例。如在 Se0、Cd1 时增长百分比为 20.39%,而在 Se500、Cd1 时为 11.11%。这可能是由于 与 S 类似,Se 也是合成某些螯合蛋白的重要成分^[22], 因此会与 S 竞争^[23],从而影响蛋白的合成以及与 Cd 的螯合,造成 F_{NaCl} 百分比的下降。

从图 3 和图 4 中可以看出,活性较高的 Cd 提取 态 F_{E} 与 F_{W} 变化趋势随着 S 浓度增加和叶面施 Se 呈 下降趋势,说明 S 与 Se 浓度的升高会促使 Cd 向活性 较低的状态转移。

3 讨论

高浓度 Cd 对水稻幼苗生长的抑制显著强于低浓度 Cd。植物耐受重金属的方式主要有根部滞留、金属排泄、细胞壁固定化、液泡区室化以及植物络合素络合等^[11]。其中在植物应对重金属的毒性方面,细胞壁的固定和液泡区室化起着较为重要的作用^[24]。有研

究表明,Cd 在东南景天中主要分布在细胞壁和细胞 可溶性部分,且细胞壁组分 Cd 比例随着 Cd 浓度的 增加而逐渐增加^[13]。本研究与上述结果类似,随着 Cd 浓度的增大,细胞壁会固定更多的 Cd,此时 Cd²⁺主要 与水稻幼苗细胞壁上的果胶、蛋白质和多糖等成分结 合,减少其跨膜运输及向细胞内转移而降低原生质中 的 Cd 浓度,说明细胞壁是保护原生质体的第一道屏 障。大部分 Cd²⁺进入细胞后会与一些蛋白质螯合,从 而富集在液泡中以使其他细胞器免受毒害^[2-27]。

植物螯合态(PCs)的解毒机制是水稻应对镉胁迫 的重要机制^[28]。PCs 能够被镉等重金属诱导所生成,其 主要生理功能是络合重金属而缓解重金属的毒害^[29]。 此外,谷胱甘肽(GSH)和非蛋白巯基(NPT)也是缓解 重金属胁迫的主要因素。这些物质的特点是富含半胱 氨酸残基(-SH),与硫吸收代谢密切相关。在植物体 内,Cd 主要是以 PC-Cd 或 Cd-GSHx 螯合物的形态 迁移。较高的 GSH 或者 PC 含量有助于 Cd 从根部向 地上部的转移^[30]。Se 与 S 性质相近,因此也能够形成 螯合 Cd 的蛋白^[31]。研究证明,GSH 等这些物质都是能 与 Cd 结合后进行细胞内的转移从而降低毒性,富集 部位是以液泡为主的细胞可溶性组分。本研究也证实 了 S 和 Se 在从根部和地上部进入植物体内后会促进 这些蛋白类物质与 Cd 结合,并能转移到液泡中从而 降低 Cd 毒性。然而,如图 3~图 6 中,在高浓度 S 条件 下,施 Se 并未显著提高 F_{NCI} 化学态的比例,这可能是 由于 Se 在与 S 竞争的过程中,Se 干扰了 S 的代谢, 从而使得 S 合成相关螯合蛋白受到阻碍,因此 Cd 的 F_{NCI} 化学态相较于无 S 时并无显著增加。

随着 5 种提取剂极性逐渐增强,所提取出的重金 属形态的活性依次降低^[32]。其中 80%乙醇主要提取活 性较高的无机盐;1 mol·L⁻¹氯化钠主要提取活性较低 的与蛋白质结合的重金属^[33]。在超积累植物东南景天 体内,增加 S 的浓度可提高 Cd 的氯化钠提取态百分

农业环境科学学报 第33卷第5期

比,液泡能够最终储存这些结合态物质也被认为是植物耐受镉的重要机制^[11]。在东南景天中 Cd 也主要是以 F_{NdCl}和 F_w存在,外加 Cd 也会对植物体内镉的化学形态产生影响^[30]。本研究也证明了 S 和 Se 对 Cd 化学形态的影响,随着 S 浓度的升高和叶面施 Se,水稻幼苗中的 Cd 以活性较低的 F_{NdCl}为主,由于在亚细胞分布中,可溶性组分 Cd 主要是与蛋白结合之后,即 F_{NdCl}提取态,而转移进液泡中的 Cd,因此 Cd 的化学形态分布与本研究中的亚细胞分布的结果相对应。

4 结论

(1)在不同处理条件下,细胞壁组分所占比例均 表现为 Cd10>Cd1,说明细胞壁的固定作用是应对 Cd 胁迫程度增大时的首要应对机制。随着 S 浓度的升 高,细胞可溶性组分 Cd 所占比例有所上升,且在根 部的增长比例更大。水稻幼苗叶面施 Se 后相较于未 施 Se,可溶性组分 Cd 的百分比也会有所上升,且在



图 5 Cd=1 mg·L⁻¹时,水稻幼苗地上部 Cd 的化学形态百分比

Figure 5 Percentages of Cd chemical forms in aboveground parts of rice seedlings at 1 mg·L⁻¹ of Cd concentration



Figure 6 Percentages of Cd chemical forms in aboveground parts of rice concentration

地上部的增长幅度更大。在 S 和 Se 存在下可溶性组分 Cd 的比例增大,说明 S 和 Se 能促进 Cd 向液泡转移,并且能够缓解 Cd 对水稻幼苗的毒害。

(2)在不同处理条件下,随着 S 和 Se 浓度的升高, F_{NaCl} 百分比有所升高,而 F_E和 F_w比例下降,说明 Cd 会向活性较低的状态转变,从而 Cd 毒性得到缓解。 相对于无 S,在高浓度 S 情况下,施 Se 并未显著增加 Cd 在液泡中以及 F_{NaCl} 提取态的比例,说明此时 Se 与 S 产生相互竞争,Se 影响了 S 的代谢。

参考文献:

[1] 张金彪, 黄维南. 镉对植物的生理生态效应的研究进展[J]. 生态学报, 2000, 20(3):514-523.

ZHANG Jin-biao, HUANG Wei-nan. Advances on physiological and ecological effects of cadmium on plants[J]. *Acta Ecological Sinica*, 2000, 20(3):514-523.

 [2] 彭 诚. 硒对镉胁迫下白菜幼苗生理特性的影响[J]. 湖北民族学院 学报(自然科学版), 2008, 26(1):97-99.
 PENG Cheng. Effects of Se on some physiological characteristics of pakchoi young seedling under Cd stress[J]. Journal of Hubei Institute for

Nationalities(Natural Sciences), 2008, 26(1):97–99.
[3] 王立新,张海芸,郁建锋,等. 硒对汞、镉复合污染下豌豆幼苗生长的影响[J].常熟理工学院学报(自然科学), 2009, 23(4):71–74.
WANG Li-xin, ZHANG Hai-yun, YU Jian-feng, et al. Effect of Se on seeding growth of pea under Hg and Cd combined pollution[J]. Journal of Changshu Institute of Technology, 2009, 23(4):71–74.

- [4] 孙 新,杨志敏,徐朗莱.缺硫条件下油菜对镉毒害的敏感性[J].南京农业大学学报,2003,26(4):56-59.
 SUN Xin, YANG Zhi-min, XU Lang-lai. Sensitivity of oilseed rape to cadmium under the sulfur deficiency[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2003, 26(4):56-59.
- [5] 孙 新,杨志敏,徐朗莱. 镉诱导油菜叶片氧化胁迫及硫化物的络合作用[J]. 西北植物学报,2003,23(9):1506-1511.
 SUN Xin, YANG Zhi-min, XU Lang-lai. Cadmium-induced peroxidation and production of sulfur-related complex in the leaf of oilseed rape
 [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2003, 23(9):1506-1511.
- [6] Reese R N, White C A, Winge D R. Long-distance transport of reduced sulfur in spruce(*Picea abies* L.)[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1992, 43:1243–1250.
- [7] Fu X, Dou C, Chen Y, et al. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Phytolacca americana* L.[J]. *Journal of Hazard Material*, 2011, 186(1):103–107.
- [8] Luis E H, Esther L R, Agustin G. Influence of cadmium on the uptake, tissue accumulation and subcellular distribution of manganese in pea seedlings[J]. *Plant Science*, 1998, 132:139–150.
- [9] 翁南燕,周东美,汪 鹏,等.铜镉复合胁迫下硫素对小麦幼苗铜镉 吸收、亚细胞分布及毒性的影响[J]. 生态毒理学报, 2011, 6(1):87-93.

WENG Nan-yan, ZHOU Dong-mei, WANG Peng, et al. Influence of sulfur on subcellular distribution, uptake and toxicity of Cu and Cd to wheat seedlings[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2011, 6(1):87–93.

- [10] 李会合,杨肖娥. 硫对超积累东南景天镉累积、亚细胞分布和化学 形态的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2009,15(2):395-402. LI Hui-he, YANG Xiao-e. Effects of sulfur on accumulation, subcellular distribution and chemical forms of cadmium in hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2009, 15(2):395-402.
- [11] Da-Rosa-Correa A X, Rorig L R, Verdinelli M A, et al. Cadmium phytotoxicity: Quantitative sensitivity relationships between classical endpoints and antioxidative enzyme biomarkers[J]. Science of Total Environment, 2006, 357(1-3):120-127.
- [12] 张海英,韩 涛,田 磊,等. 草莓叶面施硒对其重金属镉和铅积累的影响[J]. 园艺学报, 2011, 38(3):409-416.
 ZHANG Hai-ying, HAN Tao, TIAN Lei, et al. Effects of cadmium and lead accumulation in strawberry growing period by spraying se-fertilizer to leaves[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2011, 38(3):409-416.
- [13] 吕选忠, 官象雷, 唐 勇. 叶面喷施锌或硒对生菜吸收镉的拮抗作用研究[J]. 土壤学报, 2006, 43(5):868-872.
 LÜ Xuan-zhong, GUAN Xiang-lei, TANG Yong. Antagonistic effect of foliar application of Se or Zn on absorption of Cd in lettuce[J]. Acta Pedologica Sinica, 2006, 43(5):868-872.
- [14] 周鑫斌,施卫明,杨林章.叶面喷硒对水稻籽粒硒富集及分布的影响[J]. 土壤学报, 2007, 44(1):73-80.
 ZHOU Xin-bin, SHI Wei-ming, YANG Lin-zhang. Effect of foliar application of selenite on selenium accumulation and distribution in rice
 [J]. Acta Pedologica Sinica, 2007, 44(1):73-80.
- [15] Vogeli–Lange R, Wagner G J. Subcellular localization of cadmium and cadmium–binding peptides in tobacco leaves: Implication of a transport function for cadmium–binding peptides[J]. *Plant Physiology*, 1990, 92 (4):1086–1093.
- [16] Weigel H J, Jager H J. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants[J]. *Plant Physiology*, 1980, 65(3):480–482.
- [17] 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(10):1437–1446.
- [18] Li D D, Zhou D M, Wang P, et al. Subcellular Cd distribution and its correlation with antioxidant enzymatic activities in wheat(*Triticum aestivum*) roots[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2011, 74(4): 874–881.
- [19] Chen C, Zhang P, Hou X, et al. Subcellular distribution of selenium and Se-containing proteins in human liver[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1999, 1427(2):205–215.
- [20] Jacob C, Giles G I, Giles N M, et al. Sulfur and selenium: The role of oxidation state in protein structure and function[J]. Angewandte Chemie (International ed. in English), 2003, 42(39):4742–4758.
- [21] Mendoza-Cozatl D, Loza-Tavera H, Hernandez-Navarro A, et al. Sulfur assimilation and glutathione metabolism under cadmium stress in yeast, protists and plants[J]. *FEMS Microbiology Review*, 2005, 29(4): 653–671.

农业环境科学学报 第 33 卷第 5 期

- [22] Badiello R G, Feroci, Fini A. Interaction between trace elements:selenium and cadmium ions[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 1996, 10(3):156–162.
- [23] Feroci G, Fini A. Study of the antioxidant effect of several selenium and sulfur compounds[J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biolo*gy, 1998, 12(2):96–100.
- [24] He J, Zhu C, Ren Y, et al. Uptake, subcellular distribution, and chemical forms of cadmium in wild-type and mutant rice[J]. *Pedosphere*, 2008, 18(3):371–377.
- [25] 王 芳,丁 杉,张春华,等.不同镉耐性水稻非蛋白巯基及镉的亚细胞和分子分布[J].农业环境科学学报,2010,29(4):625-629.
 WANG Fang, DING Shan, ZHANG Chun-hua, et al. Non-protein thiols, subcellular and molecular distribution of cadmium in two rice cultivars with difference tolerance[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2010, 29(4):625-629.
- [26] 王 芳,杨 勇,张 燕,等.不同蔬菜对镉的吸收累积及亚细胞分布[J].农业环境科学学报,2009,28(1):44-48.
 WANG Fang, YANG Yong, ZHANG Yan, et al. Accumulation and sub-cellular distribution of cadmium in vegetables grown in hydroponic so-lution[J]. Journal of A gro-Environment Science, 2009, 28(1):44-48.
- [27] 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 genotypes differing in shoot/root Cd partitioning [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2003, 36(6):671-675.

- [28] He J Y, Ren Y F, Zhu C, et al. Effects of cadmium stress on seed germination, seedling growth and seed amylase activities in rice(*Oryza sati-va*)[J]. *Rice Science*, 2008, 15(4):319–325.
- [29] Arteel G E, Sies H. The biochemistry of selenium and the glutathione system[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2001, 10(4): 153–158.
- [30] Zembala M, Filek M, Walas S, et al. Effect of selenium on macro- and microelement distribution and physiological parameters of rape and wheat seedlings exposed to cadmium stress[J]. *Plant and Soil*, 2009, 329(1-2):457-468.
- [31] Wu L, Guo X, Banuelos G S. Selenium and sulfur accumulation and soil selenium dissipation in planting of four herbaceous plant species in soil contaminated with drainage sediment rich in both selenium and sulfur[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2003, 5(1):25–40.
- [32]周小勇, 仇荣亮, 胡鹏杰, 等. 镉和铅对长柔毛委陵菜体内锌的亚细胞分布和化学形态的影响[J]. 环境科学, 2008, 29(7):2028-2037.
 ZHOU Xiao-yong, QIU Rong-liang, HU Peng-jie, et al. Effects of cadmium and lead on subcellular distribution and chemical form of zinc in *Potentilla griffithii* var. velutina [J]. Environmental Science, 2008, 29 (7):2028-2037.
- [33] 周小勇, 仇荣亮, 李清飞. 锌对长柔毛委陵菜中铅的分布和化学形态的影响[J]. 环境科学学报, 2008, 28(10): 2065-2075.
 ZHOU Xiao-yong, QIU Rong-liang, LI Qing-fei. Effects of zinc on distribution and chemical form of lead in *Potentilla griffithii* var. velutina
 [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2008, 28(10): 2065-2075.