

水稻幼苗镉吸收动力学特性的遗传多样性分析

王龙^{1,2}, 高子平², 李文华², 徐菽², 张长波², 杨庆文³, 汤继华^{1,*}, 刘仲齐^{1,2,*}

¹河南农业大学农学院, 郑州450002; ²农业部环境保护科研监测所, 天津300191; ³中国农业科学院作物科学研究所, 北京100081

摘要: 在人工气候室水培条件下, 对19份水稻核心种质和5份水稻品种的幼苗耐镉特性和镉离子(Cd^{2+})吸收动力学特性进行了研究, 试验结果表明, 水稻幼苗的根系生物量和镉含量都存在广泛的遗传差异。在 $0\sim 4.45\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的外界环境中, 不同基因型水稻幼苗根系的 Cd^{2+} 吸收动力学特征都符合米氏方程, 但特征值 F_{max} 和 K_{m} 在基因型间有明显差异。 F_{max} 最小为 $37.8\ \text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$, 最大为 $87.5\ \text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$ 。当根系 F_{max} 值高于 $55.5\ \text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$ 时, 地上部的 Cd^{2+} 积累动力学特征也符合米氏方程; 但当根系 F_{max} 值小于 $50.8\ \text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$ 时, 地上部的 Cd^{2+} 积累动力学特征却符合线性方程, 此时截距 a 与 K_{m} 值有密切关系, K_{m} 值为 $0.5\sim 1.3\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 a 为正, K_{m} 值为 $2.9\sim 3.9\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 a 为负。在 $4.45\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的Cd胁迫环境下, 根系和地上部的Cd积累量与米氏方程的 F_{max} 和线性方程的斜率 b 表现出显著的线性相关。Cd转运效率既与环境中的 Cd^{2+} 浓度有关, 也与地上部的Cd积累特性有关。地上部Cd积累特性符合线性方程的水稻品种, 其转运效率随着环境中 Cd^{2+} 浓度的增加而持续升高, 而地上部Cd积累特性符合米氏方程的水稻品种, 其转运效率往往随着环境中 Cd^{2+} 浓度的升高而降低。这些结果说明水稻根系和地上部对 Cd^{2+} 的吸收存在不同的阻控机制, Cd^{2+} 吸收特性和转运效率在基因型间有丰富的遗传多样性。根系 F_{max} 小且地上部线性方程斜率 b 也小的基因型多为根系Cd积累量低和Cd转运率低的低积累种质资源。

关键词: 水稻; 吸收动力学; 镉(Cd); 转运效率; 遗传多样性

我国农业已进入一个作物高产、农产品优质和环境保护并重的多目标时期。然而近年来, 由于部分工矿企业的污染失控、化肥和农药的过量施用、不合标准的污水灌溉等因素(Murakami等2007), 使得大面积的稻田遭到了不同程度的重金属污染, 特别是镉(Cd)污染尤为严重(简敏菲等2015; 张永平等2014)。水稻是全球也是我国最主要的粮食作物, 对酸性土壤和灌溉水中低浓度的 Cd^{2+} 具有很高的富集效率(Liu 2014), 能在根系、茎秆中进行累积并向籽粒中转移, 造成稻米Cd含量超标(居学海等2014; 胡莹等2005), 直接或间接通过食物链危及人类健康(张永平等2014)。因此, 控制稻米籽粒镉积累是提高稻米质量安全水平的关键。

根系是水稻吸收水分和营养的主要器官, 根冠和根毛是根系行使吸收功能的主要区域(Liu 2014)。 Cd^{2+} 通过植物根系进入植物体有质外体和共质体两种途径, 质外体途径主要由细胞间隙、细胞壁和细胞膜间隙等自由空间组成; 共质体途径主要由胞间连丝和内膜系统构成。 Cd^{2+} 可以通过非选择性阳离子通道和 K^{+} 通道进行跨膜运输(张参俊等2015; 王玉倩等2010; Zhou等2015)。细胞壁中的负电荷能使金属离子在细胞膜外富集起来, 增加了跨膜梯度, 从而推动 Cd^{2+} 进入细胞内(Wojcik等2005)。 Cd^{2+} 也可以通过植物ABC转运蛋白

(ATP-binding cassette)、硝酸盐转运蛋白(NRT)、铁蛋白(FER)、自然抗性巨嗜细胞蛋白(NRAMPs)等进行跨膜运输(Liu 2014; Uraguchi和Fujiwara 2013; Pinto和Ferreira 2015)。水根稻系吸收 Cd^{2+} 后, 一部分积累在根系细胞壁和液泡中, 一部分通过根系细胞的跨膜运输进入木质部, 通过茎秆运输到叶片、颖壳和籽粒等部位(Liu 2014)。Fujimaki等(2010)和Kobayashi等(2013)研究表明, 茎节是负责 Cd^{2+} 由根向上一个茎节和穗转运的器官, 镉在茎节中完成由木质部向韧皮部的转运, 同时也完成镉在微管间的转运(Yamaguchi等2012)。Uraguchi等(2009)研究发现, 木质部装载及运输对水稻地上部镉积累起决定作用, 通过木质部向地上部转运是决定水稻茎秆和谷粒镉积累量的关键, 而非根系对镉的吸收能力。

离子吸收动力学在植物矿质营养代谢过程中占有十分重要的地位。离子吸收动力学参数可定量地描述作物根系吸收离子的效率以及建立数学模型来描述离子迁移, 并为预测植物对离子的吸收提供依据(赵学强等2006)。Epstein和Hagen

收稿 2015-10-22 修定 2015-12-28

资助 中国农科院科技创新工程项目(2015-cxgc-lzq)和公益性行业(农业)科研专项(201403015)。

* 共同通讯作者(E-mail: Tangjihua1@163.com; liu-zhongqi508@163.com)。

(1952)首次将Michaelis-Menten酶动力学方程用于研究大麦根系的离子吸收过程,发现离子吸收速率 $F=F_{\max} \times S/(K_m+S)$,式中, S 为外液离子浓度, F_{\max} 为离子最大吸收速率, K_m 为米氏常数,代表吸收速率为最大吸收速率的1/2时外界离子浓度, K_m 值越小,说明根系吸收系统对该离子的亲和力大; F_{\max} 值越大,说明根系吸收系统对该离子的吸收潜能越大。近年来的研究表明,玉米、菠菜和番茄等植物吸收 Cd^{2+} 的过程也符合米氏方程(Sterckeman等2011; Degryse等2012; Chen等2008), K_m 值在物种之间差异很大。水稻对 Cd^{2+} 有较强的富集能力,但对其吸收转运 Cd^{2+} 的动力学特征并不十分清楚。为了客观地评价米氏方程特征值 F_{\max} 和 K_m 对水稻 Cd^{2+} 吸收动力学特性的影响及其基因型间的遗传多样性,本研究以部分水稻核心种质资源和水稻品种为材料,对它们的 Cd^{2+} 吸收动力学特征进行了比较研究,旨在准确鉴别和筛选低镉积累的水稻种质资源提供参考依据。

材料与方法

1 供试材料

试验材料共24份,编号为R1~R24(表1),包括来自水稻核心资源库的19份品系和5个南方大面积推广的水稻(*Oryza sativa* L.)品种(即‘深优9595’、‘两优668’、‘广两优1128’、‘两优128’、‘T优227’)。

2 培养与处理方法

挑选大小一致、颗粒饱满的水稻种子,用5%的次氯酸钠溶液消毒15 min,先用自来水冲洗4~6

次,然后用去离子水漂洗3次后均匀摆在铺有湿滤纸的培养皿中,之后放于28°C条件下的恒温培养箱中黑暗催芽24 h,将已露白的种子播种于已消毒的含蛭石的育苗盘中,并在人工气候室中进行培养。在水稻出苗后,用1/4Hoagland营养液进行浇灌培养,长至三叶一心期,挑选大小均匀一致的水稻幼苗移入装有去离子水的塑料盆中饥饿1 d(24 h),之后将幼苗用海绵固定移栽到装有8 L的塑料盆(长34 cm、宽25 cm、高12 cm)中,进行不同浓度的Cd胁迫处理,每个处理50株。实验共进行5个处理,各处理中加入一定量的 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 溶液,使 Cd^{2+} 浓度分别为0(对照)、0.27、0.53、0.89、2.67和4.45 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。每个处理设3次重复。培养期间,每2 d更换一次处理液,并用0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl和0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH调节pH值为5.5,每次换处理液时随机移动塑料盆的位置,以保证外界条件的一致性。所有实验均在模拟自然状态的人工气候培养室内进行,人工气候室条件:白天温度28°C,湿度80%,光照16 h,光照强度400 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$;夜间温度20°C,湿度70%,8 h黑暗。

3 Cd含量的测定

培养5 d后收样。将根系浸泡于20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 溶液中15 min,去掉根系表面残留的 Cd^{2+} ,然后用超纯水清洗整个植株,用吸水纸吸干表面水分,将植株根系和地上部分分离,分别装入信封袋中,置于烘箱中105°C杀青20 min,再于75°C下烘至恒重,用万分之一分析天平称干重,记录地上部分和根系的重量,然后测定Cd含量。

参照温娜等(2015)的方法,将0.25 g样品与7

表1 不同胁迫强度下根系和地上部生物量及Cd含量的遗传多样性分析

Table 1 Analysis of genetic diversity of the root and above-ground biomass and Cd concentration under different stress intensity

Cd^{2+} 浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	根系				地上部			
	干重		Cd含量		干重		Cd含量	
	均值/g	CV/%	均值/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	CV/%	均值/g	CV/%	均值/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	CV/%
0	0.022 ^b	20.06	11.31	47.08	0.090 ^a	33.42	1.33	64.02
0.27	0.026 ^a	21.08	108.99	45.81	0.093 ^a	37.32	6.88	56.51
0.53	0.024 ^{ab}	20.08	200.79	35.42	0.091 ^a	34.47	11.17	42.85
0.89	0.021 ^{bc}	18.74	277.23	30.72	0.085 ^b	29.74	15.68	36.13
2.67	0.018 ^c	16.43	442.78	22.21	0.082 ^b	23.29	30.41	24.81
4.45	0.017 ^c	15.75	562.82	21.56	0.084 ^b	21.14	38.87	20.88

同列不同小写字母表示不同处理间的显著差异性($P < 0.05$); CV: coefficient of variation, 表示变异系数。

mL MOS级浓硝酸摇匀后过夜, 用ED 54-iTouch电热消解仪消煮, 消煮温度控制在110°C, 2.5 h后加入1 mL H₂O₂, 继续消煮1.5 h, 消煮至溶液颜色变为无色冒白烟, 最后赶酸至体积为1 mL左右, 消煮完成后, 用去离子水定容到25 mL, 用原子吸收光谱仪-石墨炉法(AAS, ZEE nit 700, Analytikjena, 德国)测定样品Cd含量, 以国家标准物质进行质量控制(Li等2010)。

4 数据分析

相对生物量(%)=(Cd胁迫下水稻干重/CK水稻干重)×100

转运效率(%)=100×(地上部Cd含量×地上部生物量)/(地上部Cd含量×地上部生物量+根系Cd含量×根系生物量)

所有数据采用Excel 2007和Origin8.6进行统计分析和作图, 并用 SPSS 16.0软件在95%的可靠性置信区间下进行相关性分析。

实验结果

1 耐镉特性的遗传多样性分析

相对生物量是反映水稻幼苗耐Cd特性的一个重要指标。随Cd²⁺浓度的增加, 不同基因型水稻幼苗根系和地上部相对生物量呈现先增后降的趋势(图1), 这可能与镉毒害对植物的“低促高抑”现象有关; 相对于地上部的相对生物量, 根系的变化更显著, 说明根系对外界环境的变化更为敏感。

遗传变异系数是遗传变异潜力大小的标志, 表示群体中直接选择的范围。按变异系数划分变

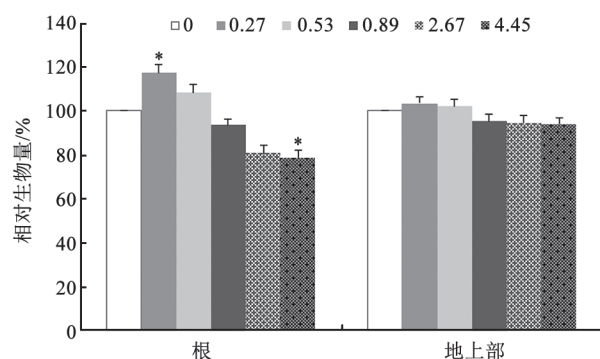


图1 不同Cd²⁺浓度对根系和地上部相对生物量的影响

Fig.1 The effect of different Cd²⁺ concentrations on the root and above-ground relative biomass

*:表示不同处理的显著差异性($P < 0.05$); 图例为Cd²⁺处理浓度($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 图4同此。

异程度, 0~10%为较低、10%~20%为中等、20%以上为较高(魏云山等2014)。不同基因型水稻生物量及Cd含量在同一镉浓度下变异系数有较大差异(表1), 在0.27 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时变异系数最大, 根系生物量和Cd含量分别达到21.08%和45.81%, 地上部分别为37.32%和56.51%; 在4.45 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时变异系数最小, 根系生物量和Cd含量分别为15.75%和21.56%, 地上部分别为21.14%和20.88%。根系和地上部Cd含量随着外界Cd²⁺浓度的增加而增加, 且根系Cd含量是地上部的30~100倍。

2 水稻幼苗根系和地上部Cd²⁺吸收动力学特征

不同基因型水稻幼苗根系Cd²⁺吸收动力学过程都符合米氏方程(表2), 即随着环境Cd²⁺浓度的增大, 水稻幼苗根系对Cd²⁺的吸收速率不断增大并逐渐趋于饱和, 当溶液中Cd²⁺浓度达到2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 根系对Cd²⁺的吸收速率不再随Cd²⁺浓度的增加而明显增加(图2-A和C)。而地上部Cd²⁺积累动力学特征分成2大类(表2): 一类符合线性方程(图2-B), 另一类符合米氏方程(图2-D)。

最大吸收速率 F_{max} 和亲和系数 K_m 在基因型间有明显差异。根系 F_{max} 的变化范围在37.8~87.5 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$ 之间, 品种间的变异系数为25.7%; 根系 K_m 在基因型间也有显著差异, 最大值为3.88 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 最小值为0.47 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 品种间的变异系数为56%。根系 F_{max} 值小于50.8 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$ 的12份品系和新品种‘深优9595’, 其地上部Cd²⁺积累动力学特征符合线性方程 $y=a+bx$, 截距 a 与根系 K_m 值有密切关系, 当 K_m 值小于1.3 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 a 为正, K_m 值大于2.9 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 a 为负。根系的 F_{max} 值大于55.5 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$ 的11份基因型, 其地上部的Cd²⁺积累动力学特征也符合米氏方程。这些结果说明根系和地上部对Cd²⁺的吸收和转运存在不同阻控机制, 根系的 F_{max} 和 K_m 不仅影响根系中的Cd积累量, 而且影响地上部的Cd吸收特性和积累量。

3 米氏方程的特征值与Cd积累的关系

米氏方程特征值可定量地描述作物根系吸收离子的效率以及作物对环境的适应水平。 F_{max} 值越大, 说明根系吸收系统吸收转运该离子的潜能越大。 F_{max} 值既与品种本身的生理特性有关, 也与环境浓度有关。当根际环境中的Cd浓度小于2.67 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 根系和地上部Cd积累量虽然与 F_{max} 表现出正相关趋势, 但未达显著水平(图3中未给出),

表2 水稻幼苗根系和地上部 Cd²⁺吸收动力学参数的遗传多样性Table 2 Genetic diversity in kinetic parameters of Cd²⁺ absorption in root and shoot of rice seedlings

代号	品种名	根系			地上部				
		$F_{\max}/\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$	$K_m/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	R^2	Cd 4.45 mg·kg ⁻¹	a	b	R^2	Cd 4.45 mg·kg ⁻¹
R1	‘古154’	37.85	1.11	0.994	413.85	0.64	0.598	0.987	44.01
R2	‘桂花黄’	33.38	0.62	0.967	476.79	0.52	0.370	0.997	28.99
R3	‘铁秆乌’	47.29	0.68	0.992	563.01	0.42	0.370	0.982	31.45
R4	‘青四矮16B’	48.77	1.28	0.940	504.69	0.21	0.844	0.998	53.41
R5	‘黑督4’	48.81	1.11	0.983	539.54	0.42	0.279	0.979	43.45
R6	‘山酒谷’	49.26	0.87	0.915	599.75	0.49	0.658	0.997	45.44
R7	‘光壳香糯’	49.61	0.48	0.992	618.98	0.51	0.372	0.984	35.29
R8	‘深优9595’	49.85	0.71	0.945	579.77	0.26	0.691	0.991	43.88
R9	‘特青选恢’	50.51	0.88	0.983	583.68	0.48	0.579	0.994	40.39
R10	‘雷火占’	38.67	2.94	0.981	324.05	-0.23	0.710	0.998	39.68
R11	‘秋前白’	41.15	3.88	0.975	410.18	-0.11	0.928	0.998	30.65
R12	‘饿死牛’	49.79	3.88	0.991	352.61	-0.21	0.949	0.995	52.88
R13	‘解放粳’	50.77	3.84	0.994	400.53	-0.19	0.793	0.993	46.23

代号	品种名	根系			地上部				
		$F_{\max}/\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$	$K_m/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	R^2	Cd 4.45 mg·kg ⁻¹	$F_{\max}/\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$	$K_m/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	R^2	Cd 4.45 mg·kg ⁻¹
R14	‘麻麻谷’	55.47	1.38	0.978	577.81	3.86	1.64	0.987	38.72
R15	‘JWR 221’	60.05	2.35	0.983	546.58	2.13	0.92	0.994	21.49
R16	‘粳7623’	62.47	1.37	0.963	677.23	4.06	1.18	0.962	44.99
R17	‘27760’	44.12	1.24	0.996	670.71	2.83	2.03	0.977	25.66
R18	‘两优668’	65.57	1.87	0.988	612.79	3.94	1.05	0.998	42.87
R19	‘柳沙1号’	68.19	2.48	0.996	584.15	3.39	1.61	0.995	33.22
R20	‘广两优1128’	75.02	3.39	0.994	585.34	3.51	1.58	0.996	34.79
R21	‘梅花糯’	77.05	2.95	0.975	649.81	3.11	1.58	0.995	31.21
R22	‘两优128’	79.64	2.42	0.952	736.53	3.65	0.91	0.993	41.92
R23	‘T优227’	85.78	3.13	0.986	698.73	4.17	2.37	0.979	36.43
R24	‘齐头白谷’	87.47	2.19	0.996	800.62	4.14	1.03	0.995	45.94

Cd 4.45 mg·kg⁻¹: 外界处理浓度为4.45 μmol·L⁻¹的Cd积累量。下同。

只有当根际环境中的Cd浓度为4.45 μmol·L⁻¹时,根系中的Cd积累量与根系 F_{\max} 值才呈明显的正相关(图3-A和C),地上部Cd积累量与地上部的b值(图3-B)或 F_{\max} 值(图3-D)也呈极显著的正相关。这说明无论地上部的Cd积累特征是符合米氏方程还是线性方程,在Cd浓度为4.45 μmol·L⁻¹的环境中胁迫5 d,水稻幼苗根系和地上部的Cd积累量也能够反映出不同基因型间的遗传多样性。

4 基因型和胁迫强度对Cd²⁺转运效率的影响

转运效率(S/R)是衡量植物对重金属分配和转移能力的重要指标,其值越大表示植物转运重金属的能力越强(张磊等2013)。水稻幼苗Cd²⁺吸收动力学特征直接影响Cd²⁺转运效率。地上部分Cd²⁺积累速率为线性方程的水稻品种表现为持续升高

(图4-A)。地上部分Cd²⁺积累速率符合米氏方程的水稻品种,其Cd²⁺转运效率表现为偏态分布,当环境中Cd²⁺浓度较低时,有些品种(如R15、R19)在0.89 μmol·L⁻¹浓度下转运效率最高,而另一些品种(如R23、R20)最高转运效率出现在2.67 μmol·L⁻¹(图4-B)。不同水稻品种Cd²⁺分配比值和转运效率差异很大,有的水稻品种(如R12)从根系向地上部转运的Cd²⁺较多,转移效率高达48.5%;而有的水稻品种(如R10)吸收的Cd²⁺大部分截留在根系中,转运到地上部的Cd只有7.8%。说明茎基部是抑制Cd从根系向地上部转运的关键所在。因此,从转运效率和地上部Cd积累量来看,R2(‘桂花黄’)为地上部Cd²⁺吸收动力学特征符合线性方程的低积累品种,因其Cd转运效率低而降低了地上部的Cd积累

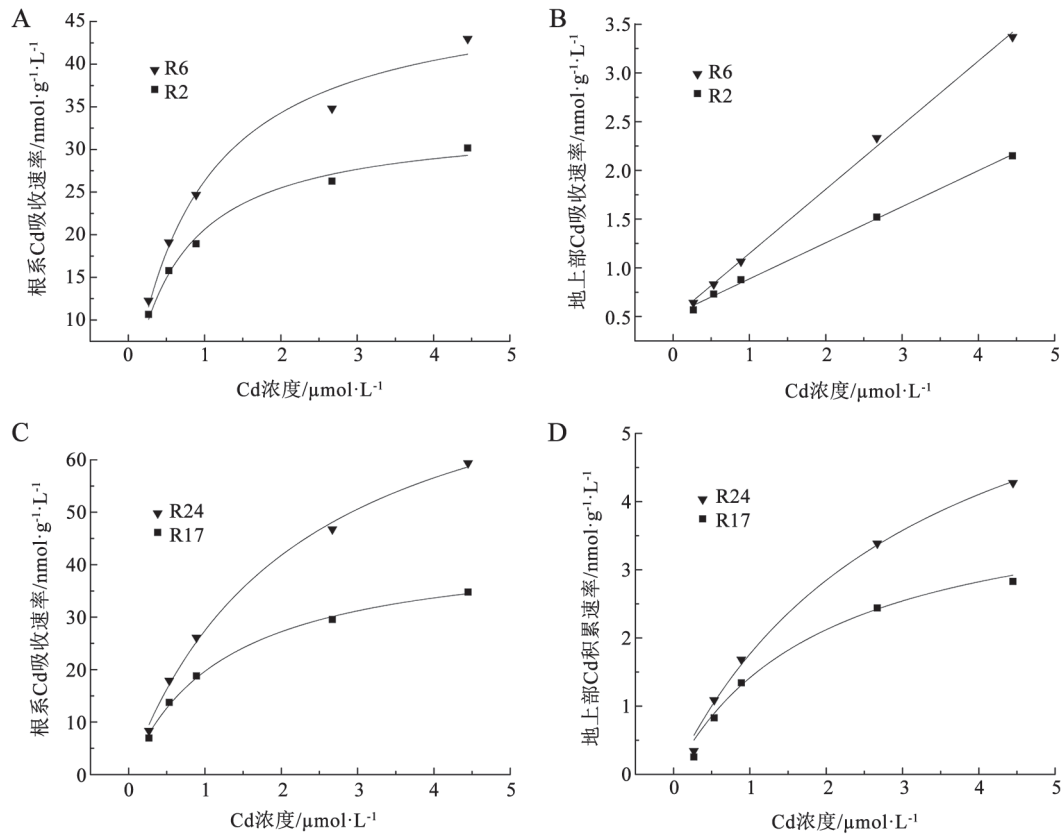


图2 水稻幼苗根系和地上部Cd²⁺吸收动力学特征

Fig.2 The kinetic characteristics of Cd²⁺ absorption in the root and shoot of rice seedling

R2和R6为根系符合米氏方程(A)而地上部却符合线性方程(B)的水稻品种; R17和R24为根系符合米氏方程(C)而地上部也符合米氏方程(D)的水稻品种。

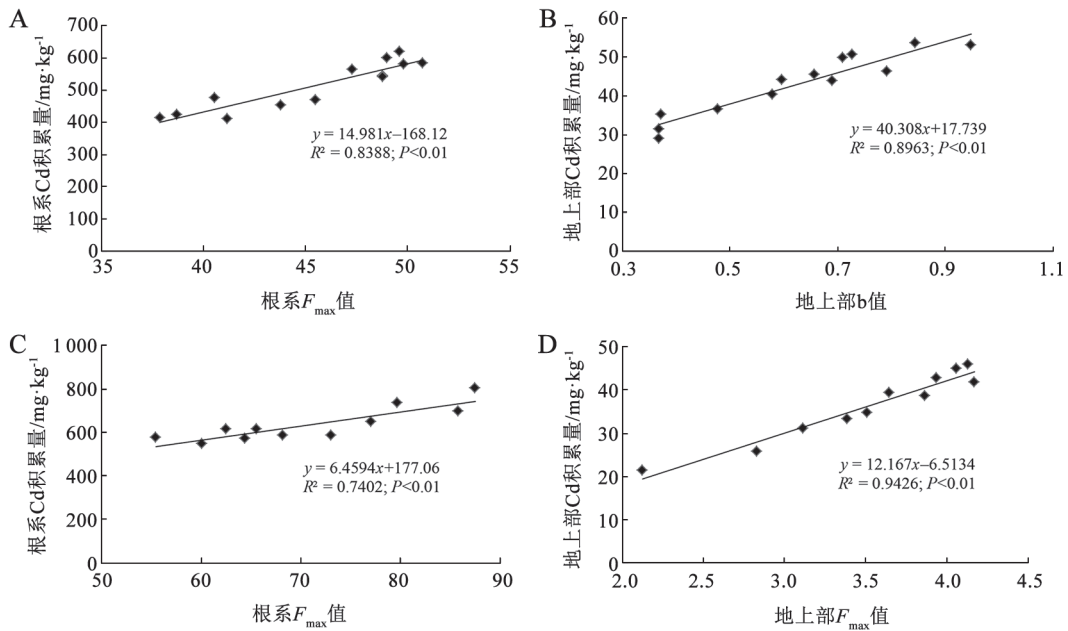


图3 动力学参数 F_{max} 和 b 值与Cd 4.45积累量的相关性

Fig.3 The correlation of Cd 4.45 accumulation between the kinetic parameters F_{max} and b value

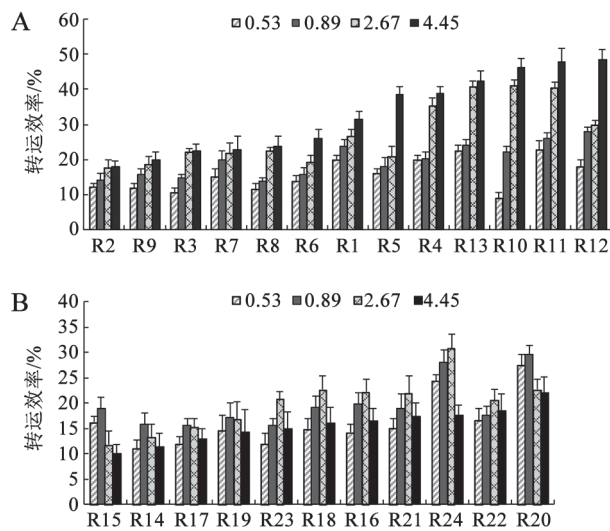


图4 转运效率与地上部Cd吸收特性的关系

Fig.4 The relationship between transport efficiency and absorption characteristics of Cd

A: 地上部Cd积累特征表现为线性方程; B: 地上部Cd吸收特性表现为米氏方程。

量; R12 (‘饿死牛’)为地上部Cd²⁺吸收动力学特征符合线性方程的高积累品种。R15 (‘JWR221’)为地上部Cd²⁺吸收动力学特性符合米氏方程的低积累品种; R24 (‘齐头白谷’)为地上部Cd²⁺吸收动力学特性符合米氏方程的高积累品种。

讨 论

利用耗竭法对完整植株进行离子吸收动力学研究是目前测定养分吸收动力学常用的方法,米氏方程特征值已被广泛用来表征植物根系吸收离子的效率,揭示不同植物对元素吸收差异的本质(华海霞等2006)。本研究结果表明,随外界Cd²⁺浓度的增加,根系和地上部相对生物量呈现先增后降的趋势(图1),镉的这种“低促高抑”现象在大豆、花生等作物上也有报道(张丽娜等2007; 黄运湘等2006; 王丽香等2013),说明镉虽然是植物生长发育的非必需微量元素,但低浓度对植物生长仍具有一定促进作用。遗传背景不同的水稻品系,其幼苗的耐Cd能力和Cd积累能力存在显著的遗传差异,为低镉积累品种选育提供了丰富的遗传资源。

不同基因型水稻幼苗根系Cd²⁺吸收的动力学特征都符合米氏方程(图2-A和C),即随着外界Cd²⁺浓度的增大,水稻对Cd²⁺的吸收速率不断增大,并

逐渐趋于饱和,当溶液中Cd²⁺达到一定浓度时,水稻对Cd²⁺的吸收速率不再随Cd²⁺浓度的增加而明显增加。其他植物的Cd吸收特性也是如此(吴晓丽等2008; 侯明和陈如2014)。地上部Cd²⁺积累动力学特征分成2大类:一类符合线性方程(图2-B),另一类符合米氏方程(图2-D)。说明根系和地上部对Cd²⁺的吸收都存在阻控机制,只有当根系生长受到毒害,阻控机制才被激活,限制Cd²⁺的吸收和转运。这可能是由于水稻根系对低浓度的Cd²⁺主要通过共质体途径进行主动吸收(Uraguchi等2009),需要有转运体或者跨膜蛋白参与;当根系周围Cd²⁺浓度超过一定的临界值后,被动运输对根系内Cd²⁺的积累发挥了主导作用。本试验的研究结果还表明,采用多个Cd胁迫水平对不同基因型Cd²⁺吸收转运效率进行研究比采用单一Cd水平更准确,也更能反映实际。Cd²⁺的吸收动力学参数可作为筛选和培育植物品种的早期较好指标,可以用来评价品种之间的耐Cd能力的差异,同时为预测和描述植物对离子的吸收以及离子在体内的迁移提供参考。

根系吸收的Cd²⁺一部分沉积在细胞壁上和液胞中,少部分储存在细胞器中(He等2008; Hidenori等2011; Yan等2010; Yu等2012),细胞质中的部分Cd²⁺通过共质体系统转运到地上部分。根系的“过滤”作用有效抑制了Cd²⁺向地上部分的转运,致使茎叶中的Cd积累速率大幅度下降。本研究发现,水稻幼苗地上部的Cd²⁺积累动力学特征既受根系 F_{max} 的影响,又受地上部自身遗传特性的影响。根系 F_{max} 值小于50.8 nmol·g⁻¹(DW)·h⁻¹的13份基因型,其地上部Cd²⁺吸收动力学特征符合线性方程。这可能是由于根系 F_{max} 小的基因型,其根系细胞质中可移动的Cd²⁺浓度较低,对于根系和地上部的生长发育没有造成明显的毒害,所以,地上部的Cd积累量表现为依赖于环境中Cd²⁺浓度的线性方程。这类基因型的Cd转运效率也随着环境中Cd²⁺浓度的增加而持续提高(图4-A)。根系的 F_{max} 值大于55.5 nmol·g⁻¹(DW)·h⁻¹的基因型,其根系中的Cd²⁺浓度通常较高,根系生长受到一定的毒害并激活了地上组织中的阻控机制,限制了Cd²⁺向地上组织中的转运,因而其地上部的Cd²⁺积累动态也符合米氏方程。这类基因型的Cd转运效率表现为偏态分布,当环境中的Cd²⁺浓度超过一定的临界值后,转运效

率随着环境中 Cd^{2+} 浓度的增加而大幅度下降(图4-B)。对不同的水稻资源和品种而言, 激活地上组织阻控机制的Cd阈值有明显的差异, 有的为 $0.89 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 有的为 $2.67 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

水稻对 Cd^{2+} 吸收、积累和转运是一个比较复杂的过程, 受环境因素和基因型的共同影响。基因型间的遗传多样性主要表现在对 Cd^{2+} 的最大吸收速率 F_{\max} 和向地上部的转运效率上。根系 F_{\max} 值小于 $50.8 \text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$ 的13份基因型, 其地上部 Cd^{2+} 积累动力学特征符合线性方程, Cd转运效率也随着环境中 Cd^{2+} 浓度的增加而持续升高; 根系的 F_{\max} 值大于 $55.5 \text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$ 的基因型, 其地上部的 Cd^{2+} 积累动力学特征也符合米氏方程, 这类基因型的Cd转运效率随着环境中 Cd^{2+} 浓度的增加而降低。无论地上部的Cd积累特征是符合米氏方程还是线性方程, 在 Cd^{2+} 浓度为 $4.45 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的环境中胁迫5 d, 水稻幼苗根系和地上部的Cd积累量能够反映出不同基因型间的遗传多样性, 但是否和稻谷Cd积累量一致, 还需要进一步验证。

参考文献

- Chen WP, Chang AC, Wu LS, Kwon SI, Bottoms R (2008). Modeling uptake kinetics of cadmium by field-grown lettuce. *Environ Pollut*, 152 (1): 147–152
- Degryse F, Shahbazi A, Verheyen L, Erik S (2012). Diffusion limitations in root uptake of cadmium and zinc, but not nickel, and resulting bias in the Michaelis constant. *Plant Physiol*, 160 (2): 1097–1109
- Epstein E, Hagen CE (1952). A kinetic study of the absorption of alkali cations by barley roots. *Plant Physiol*, 27 (3): 457–474
- Fujimaki S, Suzui N, Ishioka NS, Naoki K, Sayuri I, Mitsuo C (2010). Tracing cadmium from culture to spikelet: noninvasive imaging and quantitative characterization of absorption, transport, and accumulation of cadmium in an intact rice plant. *Plant Physiol*, 152 (4): 1796–1806
- He JY, Zhu C, Ren YF, Yan YP, Cheng C, Jiang DA (2008). Uptake, subcellular distribution, and chemical forms of cadmium in wild-type and mutant rice. *Pedosphere*, 18 (3): 371–377
- Hidenori M, Saki A, Aya H, Kouichi T, Nobushige N, Tomohiko K, Kazunao K, Ikuko K, Kanji S, Hidekazu T, et al (2011). OsHMA3, a $\text{P}_{1\text{B}}$ -type of ATPase affects root-to-shoot cadmium translocation in rice by mediating efflux into vacuoles. *New Phytol*, 189 (1): 190–199
- Hou M, Chen R (2014). Absorption kinetics of vanadium by *Lycium barbarum* seedlings. *Chin J Soil Sci*, 45 (5): 1247–1251 (in Chinese with English abstract) [侯明, 陈如(2014). 枸杞幼苗对钒(V)的吸收动力学特性研究. *土壤通报*, 45 (5): 1247–1251]
- Hu Y, Zhu YG, Huang YZ, Liu YX, Wang KR (2005). Effects of combined contaminations of vanadium and cadmium on cadmium, vanadium and phosphorus uptake by rice in solution culture. *Acta Sci Cir*, 25 (2): 198–202 (in Chinese with English abstract) [胡莹, 朱永官, 黄益宗, 刘云霞, 王凯荣(2005). 钒镉复合污染对水稻吸收积累镉、钒和磷的影响. *环境科学学报*, 25 (2): 198–202]
- Hua HX, Liang YC, Lou YS, Zhang J (2006). Comparison of research methods for silicon uptake kinetics of rice. *J Plant Nutr Fert*, 12 (3): 358–362 (in Chinese with English abstract) [华海霞, 梁永超, 娄运生, 张杰(2006). 水稻硅吸收动力学参数固定方法的研究. *植物营养与肥料学报*, 12 (3): 358–362]
- Huang YX, Liao BH, Xiao LT, Liu SC, Wang ZK (2006). Effects of Cd^{2+} on seedling growth and phytohormone contents of *Glycine max*. *Chin J Envir Sci*, 27 (7): 1398–1401 (in Chinese with English abstract) [黄运湘, 廖柏寒, 肖浪涛, 刘素纯, 王志坤(2006). 镉处理对大豆幼苗生长及激素含量的影响. *环境科学*, 27 (7): 1398–1401]
- Jian MF, Yang YP, Yu HP, Gong QL, Chen YL (2015). Influences of different cadmium concentration stress on chlorophyll and its photosynthetic fluorescence characteristics of ramie (*Boehmeria nivea*). *Plant Physiol J*, 51 (8): 1331–1338 (in Chinese with English abstract) [简敏菲, 杨叶萍, 余厚平, 龚秋林, 陈勇玲(2015). 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫对苧麻叶绿素及其光合荧光特性的影响. *植物生理学报*, 51 (8): 1331–1338]
- Ju XH, Zhang CB, Song ZG, Han LN, Lu ZY, Wang JA, Liu ZQ (2014). Changes in cadmium accumulation in rice organs during grain development and their relationship with genotype and cadmium levels in soil. *Plant Physiol J*, 50 (5): 634–640 (in Chinese with English abstract) [居学海, 张长波, 宋正国, 韩立娜, 陆仲烟, 王景安, 刘仲齐(2014). 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. *植物生理学报*, 50 (5): 634–640]
- Kobayashi NI, Tanoi K, Hirose A, Nakanishi TM (2013). Characterization of rapid intervascular transport of cadmium in rice stem by radioisotope imaging. *J Exp Bot*, 64 (2): 507–517
- Li Z, Tang S, Deng X, Wang R, Song Z (2010). Contrasting effects of elevated CO_2 on Cu and Cd uptake by different rice varieties grown on contaminated soils with two levels of metals: implication for phytoextraction and food safety. *J Hazard Mater*, 177 (1–3): 352–361
- Liu ZQ (2014). Research advance on the mechanism of cadmium transport in rice. *Meteor Environ Res*, 5 (5): 48–52
- Murakami M, Ae N, Ishikawa S (2007). Phytoextraction of cadmium by rice (*Oryza sativa* L.), soybean (*Glycine max* (L.) Merr.), and maize (*Zea mays* L.). *Environ Pollut*, 145 (1): 96–103
- Pinto E, Ferreira IM (2015). Cation transporters/channels in plants: Tools for nutrient biofortification. *J Plant Physiol*, 179: 64–82
- Sterckeman T, Redjala T, Morel JL (2011). Influence of exposure solution composition and of plant cadmium content on root cadmium short-term uptake. *Environ Exp Bot*, 74 (3): 131–139
- Uraguchi S, Fujiwara T (2013). Rice breaks ground for cadmium-free cereals. *Curr Opin Plant Biol*, 16 (3): 328–334
- Uraguchi S, Mori S, Kuramata M, Kawasaki A, Arao T, Ishikawa S (2009). Root-to-shoot Cd translocation via the xylem is the major process determining shoot and grain cadmium accumulation

- in rice. *J Exp Bot*, 60 (9): 2677–2688
- Wang LX, Chen H, Guo F, Zhang X, Fan ZX, Wan SB (2013). Effects of cadmium on peanut growth and mineral nutrient uptake. *J Agro-Environ Sci*, 32 (6): 1106–1110 (in Chinese with English abstract) [王丽香, 陈虎, 郭峰, 张欣, 范仲学, 万书波(2013). 镉胁迫对花生生长和矿质元素吸收的影响. *农业环境科学学报*, 32 (6): 1106–1110]
- Wang YQ, Wang XL, Shan YH, Sheng HJ, Feng K (2010). Effects of environmental factors on nonselective cation channels mediated potassium uptake of wheat roots. *J Plant Nutr Fert*, 16 (4): 913–917 (in Chinese with English abstract) [王玉倩, 汪晓丽, 单玉华, 盛海君, 封克(2010). 环境因素对小麦根系非选择性阳离子通道(NSCCs)转运钾的影响. *植物营养与肥料学报*, 16 (4): 913–917]
- Wei YS, Ding SR, Zhou XC, Liu YC, Zhang HT (2014). Analysis of genetic diversity and high yield characteristics of the selected offspring from Mung Bean Cultivar Daminglv. *J Plant Genet Res*, 15 (6): 1364–1368 (in Chinese with English abstract) [魏云山, 丁素荣, 周学超, 刘迎春, 张洪涛(2014). 大明绿豆选后代遗传多样性与高产特征分析. *植物遗传资源学报*, 15 (6): 1364–1368]
- Wen N, Wang JA, Liu ZQ (2015). Analysis of genotypic and environmental effects on cadmium content in rice by AMMI model. *J Agro-Environ Sci*, 34 (5): 817–823 (in Chinese with English abstract) [温娜, 王景安, 刘仲齐(2015). 利用AMMI模型分析稻米镉含量的基因型与环境互作效应. *农业环境科学学报*, 34 (5): 817–823]
- Wojcik M, Vangronsyeld J, Dhaen J, Tukiendorf A (2005). Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens*: II. Localization of cadmium in *Thlaspi caerulescens*. *Environ Exp Bot*, 53 (2): 163–171
- Wu XL, Luo YM, Xu YC, Yan GL (2008). The kinetics characteristic of Cd²⁺ absorption of *Typha angustifolia*. *Guihaia*, 28 (4): 511–514 (in Chinese with English abstract) [吴晓丽, 罗玉明, 徐迎春, 鄂贵龙(2008). 狭叶香蒲吸收Cd²⁺的动力学特征. *广西植物*, 28 (4): 511–514]
- Yamaguchi N, Ishikawa S, Abe T, Baba K, Arao T, Terada Y (2012). Role of the node in controlling traffic of cadmium, zinc and manganese in rice. *J Exp Bot*, 63 (7): 2729–2737
- Yan YF, Choi DH, Kim DS, Lee BW (2010). Genotypic variation of cadmium accumulation and distribution in rice. *J Crop Sci Bio-technol*, 13 (2): 69–73
- Yu H, Xiang Z, Zhu Y, Wang J, Yang Z, Yang ZY (2012). Subcellular and molecular distribution of cadmium in two rice genotypes with different levels of cadmium accumulation. *J Plant Nutr*, 35 (1): 71–84
- Zhang L, Yang WW, Zhang CL, Liu WR, Li XF, Cao JH, Pan LP (2013). Cadmium tolerance, accumulation and translocation between 'super' rice, hybrid rice and conventional rice. *Southwest China J Agric Sci*, 26 (6): 2185–2188 (in Chinese with English abstract) [张磊, 杨惟薇, 张超兰, 刘宛茹, 黎晓峰, 曹建华, 潘丽萍(2013). 不同水稻类型对镉的耐性、累积性与转运性质研究. *西南农业学报*, 26 (6): 2185–2188]
- Zhang LN, Zong LG, Ren C, Shen ZG (2007). Effects of Si on rice seedling growth and uptake of Cd in the low level of Cd pollution. *J Agro-Environ Sci*, 26 (2): 494–499 (in Chinese with English abstract) [张丽娜, 宗良纲, 任僊, 沈振国(2007). 硅对低镉污染水平下水稻幼苗生长及吸收镉的影响. *农业环境科学学报*, 26 (2): 494–499]
- Zhang SJ, Yin J, Zhang CB, Wang JA, Liu ZQ (2015). Effects of non-selective cation channels on accumulation and transfer of cadmium in rice seedlings. *J Agro-Environ Sci*, 34 (6): 1028–1033 (in Chinese with English abstract) [张参俊, 尹洁, 张长波, 王景安, 刘仲齐(2015). 非选择性阳离子通道对水稻幼苗镉吸收转运特性的影响. *农业环境科学学报*, 34 (6): 1028–1033]
- Zhang YP, Fan HW, Yang SJ, Chen YY (2014). Alleviating effects of exogenous salicylic acid on growth, photosynthesis and reactive oxygen metabolism in melon seedlings under cadmium stress. *Plant Physiol J*, 50 (10): 1555–1562 (in Chinese with English abstract) [张永平, 范红伟, 杨少军, 陈幼源(2014). 外源水杨酸对镉胁迫下甜瓜幼苗生长、光合作用和活性氧代谢的缓解效应. *植物生理学报*, 50 (10): 1555–1562]
- Zhao XQ, Jie XL, Li YT, Xu XJ, Tan JF, Hua DL (2006). Study on potassium uptake kinetics by different genotype wheat. *J Plant Nutr Fert*, 12 (3): 307–312 (in Chinese with English abstract) [赵学强, 介晓磊, 李有田, 许仙菊, 谭金芳, 化党领(2006). 不同基因型小麦钾离子吸收动力学分析. *植物营养与肥料学报*, 12 (3): 307–312]
- Zhou Y, Xia XM, Lingle CJ (2015). Cadmium–cysteine coordination in the BK inner pore region and its structural and functional implications. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112 (16): 5237–5242

Genetic diversity of cadmium absorption kinetic characteristics in rice (*Oryza sativa*) seedlings

WANG Long^{1,2}, GAO Zi-Ping², LI Wen-Hua², XU You², ZHANG Chang-Bo², YANG Qing-Wen³, TANG Ji-Hua^{1,*}, LIU Zhong-Qi^{1,2,*}
¹College of Agronomy, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; ²Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China; ³Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

Abstract: 24 rice (*Oryza sativa* ssp. *indica*) cultivars including 19 core germplasms and 5 modern cultivars were used to study the characteristics of tolerance and absorption kinetics of rice seedlings to cadmium under hydroponic conditions in phytotron. The results showed that there were extensive genetic differences in root biomass and cadmium content of rice seedlings. The Cd²⁺ absorption kinetic characteristics of roots in rice seedlings from different genotypes was well described with Michaelis-Menten equation when Cd²⁺ concentration around root varied from 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ to 4.45 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, but Cd²⁺ uptake kinetic parameters F_{max} and K_{m} among genotypes had obvious differences. F_{max} varied from 37.8 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$ to 87.5 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$. The above-ground Cd²⁺ accumulation kinetic characteristics was also well fitted by Michaelis-Menten equation when the root F_{max} was higher than 55.5 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$. However, the above-ground Cd²⁺ accumulation kinetic characteristics was well fitted by a linear equation when F_{max} was lower than 50.8 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})\cdot\text{h}^{-1}$. There was a close relationship between intercept a and K_{m} value at this time. The intercept a of above-ground was positive when K_{m} varied from 0.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ to 1.3 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ but negative when K_{m} varied from 2.9 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ to 3.9 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. When Cd²⁺ concentration around root was 4.45 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, the Cd accumulation in root and above-ground was significantly and linearly correlated with the F_{max} of Michaelis-Menten equation as well as with the slope b of linear equation. Cd transport efficiency was associated with Cd²⁺ concentration in environment, and also with Cd accumulation characteristics of above-ground. The Cd transport efficiency of rice varieties was rising with the increase of Cd²⁺ concentration in the environment when their above-ground Cd²⁺ absorption kinetic characteristics was well fitted with linear equation, but increased first and then decreased when their above-ground Cd²⁺ absorption kinetic characteristics was accorded with Michaelis-Menten equation. These results suggest that there are different control mechanisms in root and above-ground for Cd absorption. Cd²⁺ absorption features and transport efficiency have abundant genetic diversity among genotypes. Most rice core germplasms with small root F_{max} and slope b in the linear equation of above ground Cd²⁺ absorption are the excellent genotypes with both low Cd accumulation in root and Cd transport efficiency from root to shoot.

Key words: rice; absorption kinetics; cadmium; transport efficiency; genetic diversity

Received 2015-10-22 Accepted 2015-12-28

This work was supported by the Funds of Science and Technology Innovation Project from the Chinese Academy of Agricultural Sciences (Grant No. 2015-exgc-lzq) and Public Welfare Industry (Agricultural) Scientific Research Project (Grant No. 201403015).

*Co-corresponding author (E-mail: Tangjihua1@163.com; liuzhongqi508@163.com).