

镉硫交互处理对水稻吸收累积镉及其蛋白质 巯基含量的影响*

安志装 王校常 严蔚东 施卫明[†]

(土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008)

摘要 研究了不同硫镉浓度组合短期处理(6 d)对水稻幼苗吸收累积镉的影响及其植株体内蛋白质和非巯基硫蛋白含量的变化。结果表明,短期单镉胁迫处理下,水稻幼苗的生物量没有明显变化,但是镉硫交互作用明显地影响镉在水稻苗中的累积。供硫处理能有效地增加镉在水稻叶片中的累积。不同镉、硫处理下植株体内缓冲液可提态蛋白质含量变化不明显。镉胁迫明显增加植株体内 PT 含量,尤其是根中 PT 的含量。供硫也能显著地提高 PT 的含量。硫镉交互作用对植株体内 PT 含量的影响更为明显。上述结果证实,介质中硫的充分供应在有效地提高植物对镉胁迫耐性的同时,也显著地促进镉在水稻地上部的积累。

关键词 水稻苗; 镉; 硫; 非蛋白巯基; 镉硫交互作用; 镉的积累

中图分类号 X173

文献标识码 A

镉是一种重要的环境污染重金属元素,随着工农业的快速发展,我国农田镉污染面积和污染程度都有增无减^[1]。污染土壤中的镉可以通过植物根系的吸收而在农产品中累积,再通过食物链造成对人畜的毒害^[2]。因此,植物对镉的吸收转运过程和耐性机制,以及污染土壤的治理等方面的研究受到了十分的重视。

许多农作物如水稻和蔬菜等基本上属于非耐镉植物。镉胁迫通常造成植物生长受阻,叶绿素减少等,甚至死亡绝收^[3,4]。同时,这些植物也能在一定程度上表现出对镉胁迫的适应性机制。其中一个重要的适应性机制是植物螯合肽解毒机制。大量的研究表明,镉等重金属胁迫能够诱导植物体内植物螯合肽(Phytochelatins, PCs)的产生^[5-7]。PCs 是一种富含半胱氨酸的多肽物质,其主要生理功能是络合金属(植物微量营养和非必需重金属)元素,从而减轻或避免过量金属离子对植物体的伤害。除此之外,植物体内的谷胱甘肽(GSH)、非蛋白巯基(PT)也可能是植物消除重金属镉胁迫的主要成份之一,在非超积累植物对重金属的耐性中起着重要的作用^[5-9]。这些植物组分的特点之一是都含硫,富含

半胱氨酸残基(-SH)。因此植物螯合肽等的合成与植物硫吸收代谢过程有密切的关系^[5,10]。对植物螯合肽进行的相关生理生化及基因方面的大量研究表明,谷胱甘肽(γ -Glu-Cys-Gly, GSH)是其合成的直接前体^[5,7,8,11],而 GSH 则又由含巯基的谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸合成而来^[12]。在镉胁迫下,植株体内 GSH 合成酶、硫代谢相关酶的活性都明显提高。如镉胁迫下玉米苗 ATP 硫化酶和 5'-dehydrolylsulfate 还原酶活性明显增强^[13,14]。另一方面,也有报道表明镉在植物体内可能主要是以 PG-Cd 络合物或者是 Cd-GSH_x 络合物的形式运输^[15],因此,植物体内高 PC 或 GSH 含量可能有助于镉从根向地上部的转运。McIntunglin 等曾报道,高硫肥料(30~120 mmol L⁻¹)施入土壤时,甜菜地上部镉的累积有增加的趋势^[16]。近来,ocito 等报道,镉胁迫能够明显地诱导植物根系中的高亲和吸硫系统的表达,从而促进了硫素的吸收和植株体内含硫物质的代谢^[17]。这些结果似乎说明了如果提高植物中的硫含量就可能有助于增强植物对有害重金属胁迫的抗性或耐性。但是,迄今为止,有关这方面的直接证据尚鲜有报道。

因此,本试验采用营养液培养方法研究了不同

* 本研究得到了国家自然科学基金项目(39700083)、国家基础研究重点发展规划项目(G1999011808)和中国科学院南京土壤研究所土壤圈物质循环开放研究实验室项目的部分资助

[†] 通讯作者: E-mail: wmsi@iss.s.c.cn

作者简介: 安志装(1969~),男,博士,现为中国科学院地理科学与资源研究所博士后,主要从事土壤重金属污染植物修复方面的研究

收稿日期: 2003-09-10; 收到修改稿日期: 2004-01-15

硫浓度处理在缓解短期镉胁迫中的作用效果, 以及植物体内镉、蛋白质及非蛋白巯基含量的变化, 同时也研究了镉硫之间的可能相互作用, 如硫素的大量或充足供应是否可能促进水稻对镉的耐性或者其向地上部的转运, 以期探索镉硫交互作用条件下水稻镉吸收积累的变化规律。

1 材料与方法

1.1 供试植物及土壤

供试水稻品种为粳稻品种苏香粳 (*Oryza Sativa* L. Suxi ngjing), 由中国科学院常熟农业生态试验站提供。水稻生长营养液为木村 B 配方, 其中硫酸盐以相应阳离子氯化物代替, 铁以 Fe-EDTA 形态供应。均用分析纯化学试剂配制。试验于 2001 年 4 月在中国科学院南京土壤研究所温室中进行。光照, 温湿度没有控制。

1.2 Cd×S 交互作用的水培试验

水稻种子用漂白粉溶液表面灭菌 30 min, 经无菌水漂洗几次后放在湿滤纸上于 25℃ 黑暗下催芽^[8]。待胚根长至 2 cm 长左右, 置于尼龙网上, 先用自来水预培养至 2 片叶, 然后再转入盛有 1/4 木村营养液的 1 L 白瓷盆中继续进行预培养至五叶期, 每盆 9 株。取生长比较一致的 5 片叶幼苗进行试验。设计如下处理: Cd (CdCl₂) 水平分别为: 0、10、100 μmol L⁻¹ (分别表示为 Cd0、Cd10、Cd100); S (SO₄) 水平分别为: 2、6、12 mmol L⁻¹ (分别表示为 S2、S6、S12)。Cd×S 共 9 个处理, 3 次重复。处理时间为 7 d。调节处理营养液 pH 至 5.5。每 3 d 换一次营养液。处理结束时, 分别收获根系和植株地上部, 收获的植物样品先用自来水多次冲洗, 然后用蒸馏水冲洗, 吸水纸吸干样品表面水分, 测定鲜重。然后, 将一部分样品放入烘箱烘干, 供测定生物量及镉含量; 另一部分用液氮冷冻处理后冷冻 (-20℃) 保存或直接分析其非蛋白质巯基和蛋白质含量。

1.3 重金属镉的测定

烘干粉碎植株样品用硝酸-高氯酸消化后, 用原子吸收分光光度计测定^[18]。

1.4 非蛋白巯基的测定

参照文献[19]中的方法进行。称取水稻鲜样 1.00 g, 加 2.0 ml 5% (v/v) 磺基水杨酸, 再加入少许洗净的石英砂研磨混匀, 冰浴 30 min, 在 8 000 g, 4℃, 离心 15 min。取上清液 200.0 μl 放入 5ml 离心管中, 加 2.0 ml 0.2 mmol L⁻¹ 的 Tris-HCl (pH 8.2) 和 0.15 ml

10 mmol L⁻¹ 的 5,5' 双二硫 (2-硝基苯甲酸) (DT B), 室温下放置 20 min, 然后在分光光度计 412 nm 波长下用分光光度计比色测定。以等量的未加 DT B 的溶液作空白调零点, 用 GSH 作标准。

1.5 缓冲溶液浸提态蛋白质含量的测定

参照文献[20,21]中的方法进行。称取水稻鲜样 1.000 g, 加 0.2 mmol L⁻¹ 磷酸缓冲溶液 (pH 7.5) 5.0 ml, 加少量石英砂研磨, 提取液转入离心管于 10 000 g, 4℃ 条件下离心 20 min, 取上清液 50.0 μl 至 10 ml 小试管中, 加入考马斯亮蓝显色剂 5.0 ml, 于室温下放置 5 min 后, 于 595 nm 波长下用分光光度计比色测定。以 BSA 作蛋白质标样, 绘制标准曲线。

1.6 统计分析

所有数据都是 3 个重复的平均值。标准差及显著性检验采用 SPSS10 的 A OVA 分析软件处理。

2 结果分析

2.1 镉硫处理对水稻苗生物量的影响

镉硫处理 7 d, 对水稻苗生物量的影响结果见图 1。在图 1A 中可以看出, 无论是单镉或单硫处理还是镉硫复合处理, 水稻幼苗的根干重基本上没有受到明显的抑制影响, 也没有观察到明显的硫镉交互作用。地上部干重的变化与根变化基本一致, 没有受到明显的胁迫影响(图 1B)。一般来说, 镉胁迫下会导致植物生长明显受抑制。但在本试验条件下没有观察到生物量的明显下降, 这可能与本试验的处理时间较短有关。

镉胁迫下, 植物根系生长较地上部更敏感地受到抑制。因此, 比较了镉硫处理下水稻幼苗根冠比的变化。如表 1 所示, 本试验条件下, 水稻根冠比也没有发生显著的变化。

2.2 镉硫处理对水稻体内含镉量的影响

从植株含镉量结果(图 2)来看, 当外源不供镉时, 植株内的镉含量在检测范围以下; 当介质添加镉后, 植物吸收的镉绝大部分积累在根部, 根的镉含量变化于 300~400 mg kg⁻¹ 范围内, 约是地上部的 10 倍左右。各处理间差异显著 ($P < 0.01$), 并表现出明显的硫镉交互作用。随着介质中镉浓度的增加, 根中镉含量也显著地增加; 而且在 2~6 mmol L⁻¹ SO₄²⁻ 范围内, 介质中供硫水平的提高也能进一步促进镉在根中的积累, 但增加的幅度随着生长介质中供硫水平的升高而降低。当外界硫浓度达到 12 mmol L⁻¹ 时, 根中镉含量甚至出现了显著地下降。

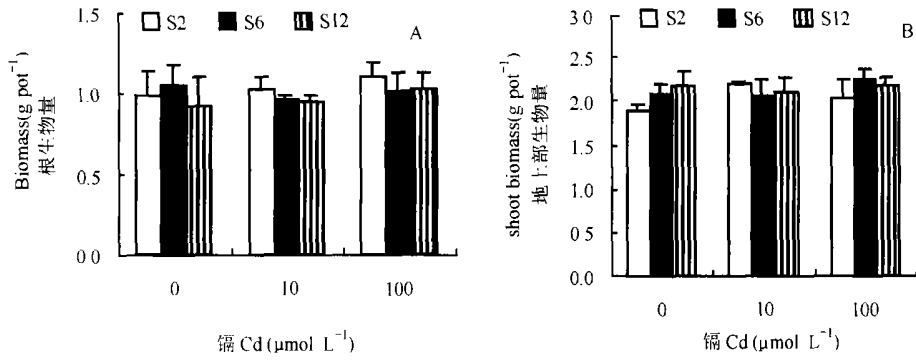


图1 硫镉共存条件下的镉胁迫处理对水稻苗生物量的影响(A: 根; B: 茎叶)

Fig. 1 Effects of Cd stress on biomass of rice seedling in the presence of SO_4^{2-} (A: Root; B: Shoot)

表1 不同浓度硫镉共存条件下镉胁迫处理对水稻幼苗根冠比的影响

Table 1 Change in root/shoot ratio of rice seedling under Cd stress in the presence of S^{2-} at different concentration

SO_4^{2-} (mmol L ⁻¹)	镉浓度 Cd concentration ($\mu\text{mol L}^{-1}$)		
	0	10	100
2	0.53	0.50 b	0.54
6	0.54	0.50 b	0.48 b
12	0.49 b	0.45b	0.47 b

* 不同字母标明其有 5% 的显著性差异 Difference letter indicates significant difference at level of 5%

该变化趋势在中 (10 $\mu\text{mol L}^{-1}$) 和高 (100 $\mu\text{mol L}^{-1}$) 二级镉浓度下是一致的 (图 2A)。表明, 中低浓度的硫供应有利于镉在水稻根中的累积, 但是高浓度的硫供应反而降低镉在根中的累积。介质中硫浓度过高时, 可能抑制了镉的吸收, 或者是促进了根部镉向地上部的转运。

通过分析水稻幼苗茎中含镉量的变化, 表明随着介质镉浓度的增加, 水稻幼苗茎中镉含量也表现为显著增加的结果 (图 2B), 这与根部镉含量变化规律相一致。但是, 外源供硫水平对水稻茎中镉含量的影响更为显著。硫浓度的增加导致了茎中镉浓度

的明显下降, 在高浓度镉胁迫下, 这种下降效应尤其明显, 茎部镉含量与外源供硫浓度呈显著地负相关。

图 2B 的结果还表明, 叶片中镉含量的变化规律与根部和茎部的相反, 介质中镉浓度从 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 增加到 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 对叶部镉含量的变化影响不大; 而外源供硫水平对叶部镉含量的影响非常显著。随供硫浓度的升高, 叶片中镉的浓度显著增加。这清楚地表明, 硫的供应促进了镉向水稻叶部的转运, 从高浓度供硫条件水稻下根部和茎部镉含量的下降来看, 供硫促进镉在叶部的积累不是由于促进了水稻根系吸镉, 更可能是促进了根部和茎部累积态镉向叶部的转运。

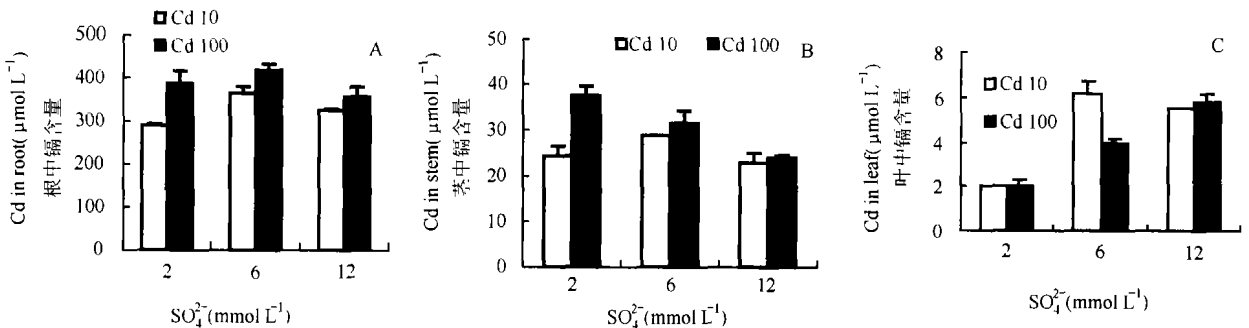


图2 不同浓度硫镉共存条件下镉胁迫处理对水稻植株不同部位镉的累积的影响(A: 根; B: 茎; C: 叶)

Fig. 2 Effect of Cd stress on Cd concentration in different part of rice seedling in the presence of S^{2-} at different concentration (A: Root; B: Stem; C: Leaf)

2.3 水稻苗体内蛋白质含量的变化

随镉胁迫加剧, 根部的缓冲液可提态蛋白质含量有增加的趋势。当硫浓度在 12 mmol L^{-1} 及镉 $100 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ 时(在 $\text{Cd } 100 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1} + \text{SO}_4^{2-} 12 \text{ mmol L}^{-1}$ 处理下), 缓冲液可提态蛋白质含量显著性地高于其他处理 ($p < 0.05$)。而 $\text{Cd } 0 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1} + \text{SO}_4^{2-} 2 \text{ mmol L}^{-1}$ 的处理, 其缓冲液可提态蛋白质浓度则显著地低于其他处理 ($p < 0.05$) (表 2)。表现出明显的硫镉交互作用效果 ($p < 0.05$)。

茎部的可提态蛋白质含量平均是根的 2~4 倍

(表 2)。除了 $\text{Cd } 10 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1} + 2 \text{ mmol L}^{-1} \text{SO}_4^{2-}$ 处理, 其茎部可提态蛋白质的含量相对较高外, 其他处理间茎部可提态蛋白质含量无显著差异。叶片的缓冲液可提态蛋白质显著地高于根和茎的同形态蛋白质含量。但是, 无论是单镉处理还是硫镉复合处理都没有显著地影响其含量的变化。

上述结果表明, 缓冲液可提态蛋白质并不能很好地反映水稻等植物对短期镉胁迫的响应。本文的结果不支持将缓冲液可提态蛋白质用作为反映植物镉胁迫响应的生理指标。

表 2 镉胁迫和镉硫双处理条件下植株体内磷酸缓冲液可提态蛋白质含量的变化

Table 2 Phosphate-buffer-extracted protein in rice seedling under cadmium stress and interaction between cadmium and sulfate

	硫处理浓度 SO_4^{2-} (mmol L^{-1})	镉处理浓度 Cd concentration ($\mu\text{mol L}^{-1}$)		
		0	10	100
根	2	1.08 ± 0.13	1.65 ± 0.19	1.29 ± 0.06
Root	6	1.46 ± 0.12	1.46 ± 0.36	1.23 ± 0.02
	12	1.32 ± 0.18	1.53 ± 0.37	1.76 ± 0.19
茎	2	3.46 ± 0.39	5.17 ± 0.13	4.28 ± 0.34
Stem	6	3.96 ± 0.03	3.59 ± 0.13	4.35 ± 0.46
	12	4.21 ± 0.11	3.71 ± 0.53	3.88 ± 0.09
叶	2	19.34 ± 0.76	19.55 ± 2.26	19.07 ± 1.29
Leaf	6	21.70 ± 4.48	18.32 ± 0.37	18.20 ± 1.17
	12	—*	18.45 ± 1.24	20.47 ± 2.49

* 样品分析中出现问题 Mistake in analysis

2.4 镉硫处理对水稻苗中非蛋白巯基含量的影响

植物体内的非蛋白巯基 (non-protein thiol, PT) 包括植物螯合多肽 (PCs)、谷胱甘肽 (GSH)、 γ -谷氨酰半胱氨酸 (γ -EC)、半胱氨酸, 这些富含硫物质与重金属胁迫和硫素代谢都有密切的关系。因此, 我们分析了镉硫双处理下水稻植株各部位 PT 含量的变化。结果(图 3)表明, 在正常无镉条件下, 外源供硫水平的提高对水稻植株中的 PT 含量影响有限, 只有 $6 \text{ mmol L}^{-1} \text{SO}_4^{2-}$ 处理的根和叶片 PT 含量有所提高, 但是 $12 \text{ mmol L}^{-1} \text{SO}_4^{2-}$ 处理下水稻根、茎和叶 PT 含量与对照没有显著的差异。镉胁迫处理则显著地增加了水稻植株各部位的 PT 含量。在 2 mmol L^{-1} 供硫水平下, $10 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ 和 $100 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ Cd 胁迫处理下的水稻根中 PT 含量, 约是无镉对照

处理的 2~2.5 倍。茎和叶中 PT 含量要明显低于根中 PT 的量, 约为根中 PT 的 60%~80% 左右, 但镉胁迫处理同样也显著地提高了茎和叶中 PT 含量(图 3B 和 3C)。

在镉胁迫下同时增加供硫水平从总体上说, 有促进植株 PT 水平升高的作用, 尤其是根和茎中的 PT 含量, 尽管这种促进效应在不同浓度镉硫组合上表现不完全一致。

3 讨论

本研究结果显示, 镉胁迫和高供硫的短期处理下水稻生长没有受到明显的抑制, 根冠比例与无镉对照相比也没有差异。硫作为植物生长的必需营养

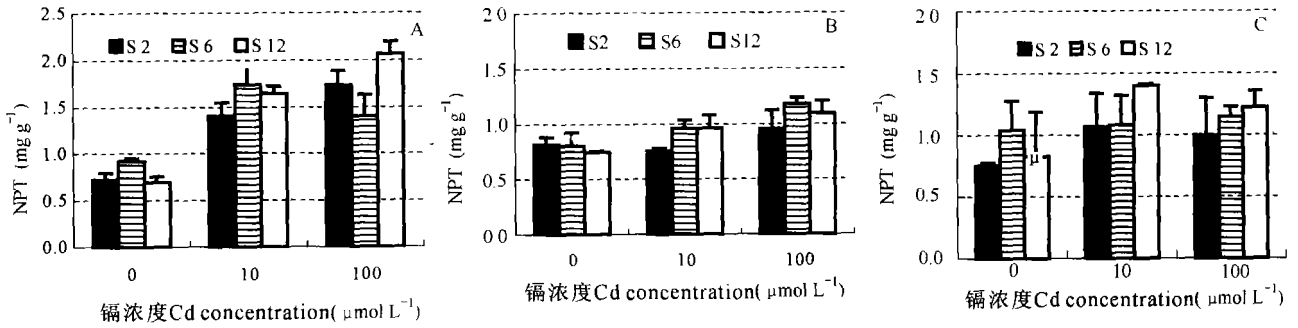


图3 镉胁迫和镉硫双处理下水稻植株内 PT 含量变化(A: 根; B: 茎; C: 叶)

Fig. 3 Change in PT content in rice seedling under cadmium stress and interaction between cadmium and sulfate (A: Root; B: Stem; C: Leaf)

元素, 在较宽的浓度范围内都不会对植物生长有明显的抑制作用。甚至有报道^[22]表明, 即使外界供硫浓度达到 $8\sim 48\text{ mmol L}^{-1}$ 时, Swiss 甜菜的生长仍然没有受到明显的影响。在本实验中, 供硫浓度在 $2\sim 12\text{ mmol L}^{-1}$ 之间, 虽然已经明显超过满足植物生长所需的硫浓度, 但是尚不足以表现负面效应, 这与以往的报道是一致的。而镉的情况则显著不同。在通常情况下, 镉胁迫会显著地抑制植物生长, 抑制程度与镉的浓度、处理时间、供试植物的种类、品种和生长期等因素有很大的关系。Hsu 和 Ko 报道, 用 $10\sim 50\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ 镉处理水稻苗 6 d 后, 耐性强的水稻品种 T G67 其叶绿素和蛋白质含量没有明显的变化, 而镉敏感品种 T 1 其叶绿素和蛋白质含量都出现显著的下降^[23]。镉胁迫耐性的基因型或品种差异在其他植物上也普遍存在^[24-26]。分析本实验条件下镉胁迫没有明显抑制水稻生长的可能原因, 一是镉胁迫处理时间较短, 植株生物量上的差异尚不能反映出来; 二是实验材料可能属于对镉胁迫有较高耐性的水稻品种。不同镉浓度下水稻植株体内镉含量差异明显, 而且镉主要累积在根部, 其他一些研究也报道了同样的结果。以往有研究表明, 在田间条件下高量硫肥的施入导致了镉在甜菜中的累积^[17], 但也有相反的报道, 认为硫肥施用与水稻镉累积没有明显的关系^[27]。我们的结果证明, 外源供硫水平的提高会降低镉在根部的累积, 促进向地上部的转运, 在叶片的累积量增加。这种促进作用的具体机制目前还不清楚。因为供硫水平的提高通常导致 SO_4^{2-} 和包括 PT 及含硫氨基酸等含硫物质在植物体内的累积^[28, 29]。镉胁迫同样也能促进植物对硫的吸收代谢。如镉胁迫通过增加其吸收速度 V_{max} 而促进了植物对硫的吸收, 受到镉胁迫时, 许多植物如大豆、烟草、蕃茄、土豆及玉米, 其 γ -谷氨酰

半胱氨酸合成酶活性明显增强, 导致 GSH 的增加; GSH 的前体半胱氨酸被大量诱导合成^[30, 31]; 植物体内硫代谢的两个关键酶 ATP 硫化酶及 APS 还原酶的活性同样被诱导^[13, 32]。由于镉硫之间存在如此的相互作用关系, 因此, 在镉胁迫环境下, 供硫水平的提高为进一步促进植物体内 GSH 和 PCs 等物质的合成提供了丰富的硫源, 这些 PT 物质与镉络合形成络合物数量增加, 从而促进了镉从根系向地上部的转运。由此推论, 在应用植物修复技术清除重金属污染土壤中的重金属时, 适当增施硫肥可能有助于提高植物修复效率, 实际效果如何有待进一步研究。另外, 由于含硫化肥的使用或酸雨的影响等因素导致农田土壤中硫水平的提高, 可能会增加镉等重金属在稻米等农产品中的积累, 对该安全风险有必要引起关注和进行研究。

参考文献

- [1] Zhu YM, Zhou QX. Soil pollution and geo-environment protection in China. In: C o Z H. ed. International Symposium on Soil, Human and Environment Interactions. Beijing: China Science & Technology Press. 1998. 237~244
- [2] FAO/WHO, Joint Committee on Food Additives and Contaminants, Position Paper on Cadmium. 27th Session. 20~24 March. The Hague, The Netherlands, 1995. 32
- [3] Sindilo LM, Durazo HC, Gomez MM, et al. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of peapods. J. Exp. Bot. 2001, 52(364): 2115~2126
- [4] Wojcik M, Tukendorf A. Cd-tolerance of maize, rye and wheat seedlings. Acta Physiol. Plant, 1999, 21: 99~107
- [5] Cobbett CT. Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. Plant Physiol., 2000, 123: 825~832
- [6] Sill DE, Smith RD, Riskin I. Phytoremediation. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1998, 49: 643~668
- [7] Ruser WE. Phytochelatins and related peptides. Plant Physiology, 1995, 109(4): 1141~1149

- [8] Steffens J C. The heavy metal-binding peptides of plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1990, 41: 553~ 575
- [9] 安志装, 王校常, 严蔚东等. 植物螯合肽及其在重金属胁迫下的适应机制. *植物生理学通讯*, 2001, 37(5): 463~ 467. An Z Z, Wang X C, Yan W D, *et al.* Phytochelatins and its protective mechanism under heavy metal stress (in Chinese). *Plant Physiol. Comm.* 2001, 37(5): 463~ 467
- [10] Leustek T, Martin M, Bick J, *et al.* Pathways and regulation of sulfur metabolism revealed through molecular and genetic studies. *Annu. Rev. Plant Physiol., Plant Mol. Biol.* 2000, 51: 141~ 165
- [11] Lison E H, Asp H, Borum N J F. Influence of prior Cd²⁺ exposure on the uptake of Cd²⁺ and other elements in the phytochelatin-deficient mutant, *cat-3*, of *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.*, 2002, 368: 447~ 453
- [12] Saito K. Regulation of sulfate transport and synthesis of sulfate-containing amino acids. *Current Opinion Plant Bio.*, 2000, 3: 188~ 195
- [13] Lee S, Leustek T. The effect of cadmium on sulfate assimilation enzymes in *Brassica Juncea*. *Plant Sci.*, 1999, 141: 201~ 207
- [14] Hussain S, Schumt D, Brunold C. Regulation of assimilatory sulfate reduction by cadmium in *Zea mays* L. *Plant Physiol.*, 1988, 88: 1407~ 1410
- [15] Guo Y, Marschner H. Uptake, distribution and binding of cadmium and nickel in different plant species. *J Plant Nutr.*, 1995, 18: 2691~ 2706
- [16] Mclughlin M J, Lambrechts R M, Smolders E, *et al.* Effects of sulfate on cadmium uptake by Swiss chard: II. Effects due to sulfate addition to soil. *Plant Soil.* 1998, 202(2): 217~ 222
- [17] Cocito F F, Pirovano L, Cocucci M, *et al.* Cadmium-induced sulfate uptake in maize roots. *Plant Physiol.*, 2002, 129: 1872~ 1879
- [18] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科学出版社, 2000. Lu S K, Analysis methods in Soil and Agricultural Chemistry (in Chinese). Beijing: The Publisher of China Agricultural Sciences, 2000
- [19] Ram Devi S, Prasad M V. Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum* L. (Coontail), a free floating macrophyte: Response of antioxidant enzymes and antioxidants. *Plant Sci.*, 1998, 138: 157~ 165
- [20] 徐云岭, 余叔文. 苜蓿盐适应愈伤组织中蛋白质性质和组成的变化. *植物生理学报*, 1992, 18(3): 246~ 252. Xu Y L, Yu S W. Changes in protein properties and protein pattern in salt-treated alfalfa callus (in Chinese). *Acta Phytophysiologica Sinica*. 1992, 18(3): 246~ 252.
- [21] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochem.*, 1976, 72: 248~ 254
- [22] Mclughlin M J, Andrew S J, Smith M K, *et al.* Effects of sulfate on cadmium uptake by Swiss chard: I. Effects of complexation and calcium competition in nutrient solutions. *Plant Soil.* 1998, 202(2): 211~ 216
- [23] Hsu Y T Y, Ko C H. Changes in protein and amino acid contents in two cultivars of rice seedlings with different pro-panolol tolerance to cadmium. *Plant Growth Regulation*, 2003, 40: 147~ 155
- [24] Dunbar K R, Mclughlin M J, Reld R J. The uptake and partitioning of cadmium in two cultivars of potato (*Solanum tuberosum* L.). *J. Exp. Bot.*, 2003, 54(381): 349~ 354
- [25] Stolt J P, Sneller F E C, Bryngelsson T, *et al.* Phytochelatin and cadmium accumulation in wheat. *Environ. Exp. Bot.*, 2003, 49: 21~ 28
- [26] 吴启堂, 王广寿, 谭秀芳等. 不同水稻、菜心品种和化肥形态对作物吸收累积镉的影响. *华南农业大学学报*, 1994, 15(4): 1~ 6. Wu Q T, Wang G S, Tan X F, *et al.* Effect of crop cultivars and chemical fertilizers on the cadmium accumulation in plants (in Chinese). *J. South China Agric. Univ.*, 1994, 15(4): 1~ 6
- [27] 衣纯真, 傅桂平, 张福锁. 不同钾肥对水稻镉吸收和运移的影响. *中国农业大学学报*, 1996, 1(3): 65~ 70. Yi C Z, Fu G P, Zhang F S, Effect of different potash fertilizers on Cd uptake and translocation in rice (in Chinese). *J. Chin. Agric. Univ.*, 1996, 1(3): 65~ 70
- [28] Marschner H. Mineral nutrition of Higher Plants. London: Academic Press, 1995. 255~ 264
- [29] Jensen H H, Battley J R. Sulfur nutrition of rye seedlings. Influence of fertilizer nitrogen and sulfur rates. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1984, 48: 100~ 107
- [30] Howarth J R, Dominguez-solis J, Gutierrez-leal G, *et al.* The serine acetyltransferase gene family in *Arabidopsis thaliana* and the regulation of its expression by cadmium. *Plant Mol. Biol.*, 2003, 51: 589~ 598
- [31] Dominguez-Solis J R, Gutierrez-Alcalá G, Vega JM, *et al.* The cytosolic O⁶-acetylserine (thiol) lyase gene is regulated by heavy metals and its function in cadmium tolerance. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276: 9297~ 9302
- [32] Heiss S, Schfer H J, Höggerker A. Cloning sulfur assimilation genes of *Brassica Juncea* L., cadmium differentially affects the expression of putative low-affinity sulfate transport and isoforms of ATP sulfurylase and APS reductase. *Plant Mol. Biol.*, 1999, 39: 847~ 857

EFFECTS OF SULFATE AND CADMIUM INTERACTION ON CADMIUM ACCUMULATION AND CONTENT OF NONPROTEIN THIOLS IN RICE SEEDLING

An Zhizhu^{ng} W ng Xi och^{ng} Y n Weidong Shi Weiming[†]

(State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture,

Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract Accumulation of cadmium and nonprotein thiols (NP) in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings affected by short-term treatment of different combinations of sulfate and cadmium was studied. The results showed that short-term(6 days) Cd stress did not cause significant decline of the seedling biomass, but the interaction between cadmium and sulfate did affect cadmium accumulation in rice seedlings. It was observed that increasing sulfate supply could considerably enhance cadmium transport from root to shoot, thus resulting in higher accumulation of cadmium in leaf. Both of cadmium only stress and higher level of sulfate supply increased NP content in seedlings, particularly in roots, although level of the phosphate buffer-extractible proteins in plants was kept unchanged. Supply of cadmium and sulfate together could further increase NP content in seedlings, indicating positive effect of the interaction on NP. It was concluded that sufficient supply of sulfate could improve rice tolerance to cadmium stress but also enhance cadmium accumulation in the leaf.

Key words Rice seedling; Cadmium; Sulfate; nonprotein thiols; Interaction of sulfate and cadmium; Cadmium accumulation