

不同浓度钙·锌抑制剂对烟草镉积累及亚细胞分布的影响

宋晓慧¹, 秦仕华², 陆引罡^{2*} (1. 安顺学院资源与环境工程学院, 贵州安顺 561000; 2. 贵州大学, 贵州贵阳 550025)

摘要 [目的]探讨钙锌互作对镉元素在烟草体内亚细胞分布的影响。[方法]以烟草南江三号为研究材料,通过添加不同浓度钙、锌2种抑制剂,采用土培盆栽试验,研究烟草镉的亚细胞分布。[结果]烟草叶部和根部的整个亚细胞中,镉含量分布大小顺序为胞液、细胞壁、叶绿体、线粒体。土壤中镉浓度为1 mg/kg时,加入钙抑制剂100 mg/kg,烟草根部叶绿体、细胞器和胞液的镉含量均下降,而细胞壁中的镉含量增加;加入锌抑制剂50 mg/kg,烟草所有亚细胞中的镉含量均有所下降,说明加入锌抑制剂50 mg/kg比加入钙抑制剂100 mg/kg的效果好。土壤镉浓度为5 mg/kg时,烟草根部和叶部细胞器的镉含量都有所上升,其余3个亚细胞中的镉含量减少。[结论]烟草中镉在胞液中的分布多于细胞壁,叶绿体和线粒体镉含量少,在不同浓度钙、锌处理下烟草对镉的耐性加强,镉在烟草体内结合在细胞壁上,通过主动运输进入胞液,胞液区室化作用明显,可能是烟草耐镉的主要机制,减少烟叶镉含量的重要途径。

关键词 钙/锌;烟草;镉;吸收;亚细胞分布

中图分类号 X503.231 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)10-0008-03

Effects of Different Concentrations of Calcium and Zinc Inhibitors on Accumulation and Subcellular Distribution of Cadmium in Tobacco

SONG Xiao-hui¹, QIN Shi-hua², LU Yin-gang^{2*} (1. College of Resources and Environmental Engineering, Anshun University, Anshun, Guizhou 561000; 2. Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025)

Abstract [Objective] The aim was to explore effects of different concentrations of calcium and zinc inhibitors on cadmium accumulation and subcellular distribution in tobacco. [Method] Taking Nanjiang 3 as material, we studied the subcellular distribution of cadmium in tobacco by soil culture pot experiment with adding different concentrations of calcium and zinc inhibitors. [Result] The cadmium content in whole subcellular of leaves and roots of tobacco was in order of cytosol, cell wall, chloroplast and mitochondria. When the concentration of cadmium in soil was 1 mg/kg, and the concentration of calcium inhibitor was 100 mg/kg, the cadmium decreased in cytosol, chloroplast and organelles of tobacco root, but increased in cell wall; when the concentration of cadmium in soil was 1 mg/kg, and the concentration of zinc inhibitor was 50 mg/kg, the cadmium decreased in all subcellular of tobacco, which indicated that adding 50 mg/kg zinc inhibitor had better effect than adding 100 mg/kg calcium inhibitor. When the concentration of cadmium in soil was 5 mg/kg, the concentration of cadmium in organelles of tobacco leaves and roots all increased, while the concentration of cadmium in the other 3 subcellular decreased. [Conclusion] The cadmium in cytosol is more than that in cell wall, and the cadmium in chloroplast and mitochondria was little. The tolerance of tobacco under different concentrations of calcium and zinc is strengthened. The cadmium in tobacco is combined on cell wall, and then transported into cytosol, and the cytosol has strong chamber, which may be main mechanism and important way to reduce cadmium in tobacco.

Key words Calcium and zinc; Tobacco; Cadmium; Absorption; Subcellular distribution

镉(Cd)是常见的化学污染物,其毒性对生物各个器官及组织有严重的损伤^[1]。烟草是一种生物量较高的经济作物,对镉有较强的富集和向上运输能力,且有75%~81%的镉转运在叶子中,具有超积累植物的主要特征,在土壤镉污染的植物修复方面有较大的应用潜力^[2-4]。钙(Ca)、锌(Zn)是植物生长的必需营养元素,并且均能在烟草吸收镉的过程中起到竞争作用,从而减轻甚至抑制镉对植物的损伤^[5-10]。同时在元素周期表中钙和锌属于同族元素,所以在化学性质以及进入生物大分子方面有相似之处。

从细胞和亚细胞的角度进行研究,植株为了降低镉元素对自身的伤害而表现出不同的分布状态和分布密度。同时,也有研究表明,重金属元素镉在不同植株叶细胞内的分布部位和各部位的分布比重差异较显著,有的主要集中在细胞壁中,有的却在叶细胞的其他部位^[11-12]。目前,关于钙锌互作对镉的亚细胞分布的研究还很少。鉴于此,笔者以烟草南江三号为研究材料,采用土培盆栽的试验方法,研究了钙锌互作对镉元素在烟草体内的亚细胞分布的影响,以期说明钙锌共存的情况下镉在烟草体内亚细胞的分布,同时解释由不同

位点进入烟草体内,钙锌如何通过影响镉在烟草体内的亚细胞分布从而缓解镉的毒性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试品种。烟草品种:南江三号。

1.1.2 供试土壤。土壤为酸性黄砂泥,肥力中等。去除表面10 cm土层,再取土。自然风干,过1 cm筛,把不同浓度的镉溶液均匀喷洒于土壤表面,塑料纸封闭,平衡30 d,再添加不同浓度的抑制剂。设置不同浓度的钙锌,在移栽之前加入土壤中。

1.1.3 供试抑制剂。重金属制剂:碳酸钙、硫酸锌。

1.2 试验设计 设钙、锌、镉3个因素,采用3因素3水平试验设计方法,从27个处理中选取12个(表1)。每个处理设3个重复,在烟草不同的生长时期取样进行测定。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 植株中镉的测定。采用湿式消解法^[13],用AS-500型石墨炉进行测定。

1.3.2 亚细胞的提取测定。称取烟草鲜样1.00 g,在10 mL缓冲液[250 mmol/L蔗糖、50 mmol/L Tris-HCl(pH 7.5)、10 mmol/L二硫苏糖醇]中4℃研磨成匀浆,采用差速离心法^[14]得到细胞壁、线粒体、叶绿体、胞液4个亚细胞组分。所有操作均在4℃条件下进行。

基金项目 湖南中烟公司资助项目(700377111206)。

作者简介 宋晓慧(1988—),女,河南林州人,硕士研究生,研究方向:植物营养生理与遗传。*通讯作者,教授,从事植物营养生理与遗传研究。

收稿日期 2017-01-12

1.4 数据处理 采用 Microsoft Excel 和 SPSS 17.0 软件处理 数据。

表 1 不同浓度处理的试验设计

Table 1 The test design of different concentration treatments

试验编号 Test No.	处理 Treatments	组合 Combination	Cd mg/kg	Ca mg/kg	Zn mg/kg
1	CK	Cd ₁ Ca ₁ Zn ₁	0	0	0
2	Cd1	Cd ₂ Ca ₁ Zn ₁	1	0	0
3	Cd5	Cd ₃ Ca ₁ Zn ₁	5	0	0
4	221	Cd ₂ Ca ₂ Zn ₁	1	100	0
5	212	Cd ₂ Ca ₁ Zn ₂	1	0	50
6	223	Cd ₂ Ca ₂ Zn ₃	1	100	100
7	231	Cd ₂ Ca ₃ Zn ₁	1	200	0
8	312	Cd ₃ Ca ₁ Zn ₂	5	0	50
9	313	Cd ₃ Ca ₁ Zn ₃	5	0	100
10	321	Cd ₃ Ca ₂ Zn ₁	5	100	0
11	323	Cd ₃ Ca ₂ Zn ₃	5	100	100
12	332	Cd ₃ Ca ₃ Zn ₂	5	200	50

2 结果与分析

2.1 钙/锌抑制后镉在烟草叶部亚细胞组的含量及分配 由图 1、2 可知,土壤中镉浓度为 1 mg/kg 时,在锌浓度为 50 mg/kg 和钙浓度为 200 mg/kg 时,胞液中的镉含量较高,而细胞壁、叶绿体、线粒体 3 种亚细胞中的镉含量比锌浓度为 100 mg/kg、钙/锌复合抑制剂浓度都是 100 mg/kg 时的含量都低;镉含量在细胞质、线粒体、叶绿体、细胞壁中的分配比率分别为 30.4% ~ 31.7%、5.6% ~ 11.1%、0.67% ~ 4.45% 和 55.7% ~ 61.9%;土壤中镉浓度为 5 mg/kg 时,加入钙、锌抑制剂后,在钙浓度为 100 mg/kg、锌浓度为 100 mg/kg、钙/锌浓度为 100 mg/kg 3 种情况下,烟株细胞壁中镉含量都明显下降,从 70.7% 降至 13.8% ~ 47.5%,而胞液中镉含量有上升趋势,对叶绿体和线粒体 2 个亚细胞无抑制作用。镉含量在烟草叶部亚细胞中的大小顺序为胞液、细胞壁、叶绿体、线粒体,各个处理间差异不显著,各个亚细胞部位间镉含量差异极显著。

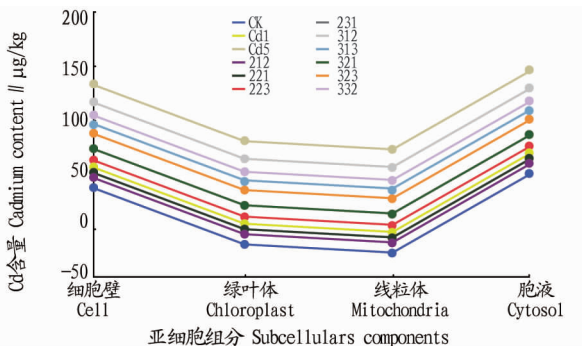


图 1 烟草叶部不同亚细胞的镉含量

Fig. 1 The cadmium content in different subcellulars of tobacco leaf

2.2 钙/锌抑制后镉在烟草根部亚细胞组的含量及分配 由图 3、4 可知,土壤中镉浓度为 1 mg/kg 时,锌抑制剂浓度为 50 mg/kg、钙抑制剂浓度为 200 mg/kg 时,胞液中的镉含量较高;在添加钙浓度为 200 mg/kg 的处理中,总的镉含量比

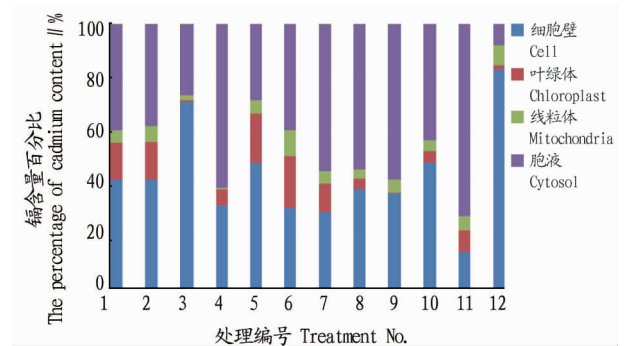


图 2 烟草叶部亚细胞 Cd 含量百分比

Fig. 2 The percentage of cadmium content in subcellular of tobacco leaf

添加锌抑制剂浓度为 50 mg/kg 的处理高。细胞壁、叶绿体、线粒体 3 个部位的镉含量比添加钙抑制剂浓度为 100 mg/kg 和钙/锌浓度均为 100 mg/kg 的处理含量低。土壤中镉浓度为 5 mg/kg 时,锌浓度为 50 mg/kg、锌浓度为 100 mg/kg、钙/锌抑制剂浓度均为 100 mg/kg、钙浓度为 100 mg/kg 4 个处理中,烟草细胞壁镉含量的分配率从 62.97% 降至 45.59%,而在胞液中的镉含量还有上升趋势,对叶绿体和线粒体 2 个亚细胞区室中的镉含量及分配率没有作用。镉含量在烟草根部整个亚细胞的大小顺序为胞液、细胞壁、叶绿体、线粒体,各个处理间差异不显著,各个亚细胞部位间镉含量差异极显著。

3 结论与讨论

该研究结果表明,随着镉浓度的增加,烟草亚细胞组分中镉的分配呈现不同的趋势,细胞壁和胞液中的镉含量提高,其中细胞壁部分增加最大,镉的分配比率显著增加,镉在线粒体、叶绿体中的分配比率明显减少,表明随着镉浓度的增加,细胞壁和胞液 2 个细胞组分对镉的固持和区室化作用增强,降低了镉对线粒体、叶绿体等新陈代谢活跃部位的影响,从而减轻镉对植物生理活动的影响,该试验的前期研究结果证明了这一点^[15]。陆仲烟等^[16]研究发现镉在 2 个大麦

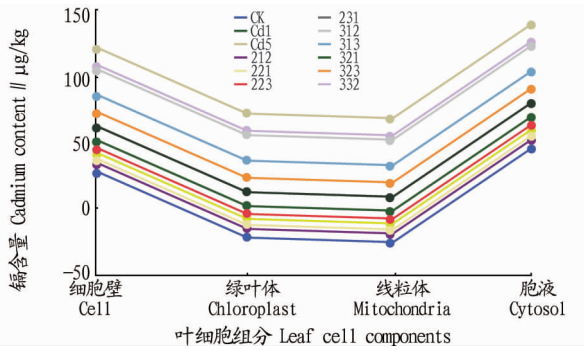


图3 烟草根部不同亚细胞的镉含量

Fig. 3 The cadmium content in different subcellulars of tobacco root

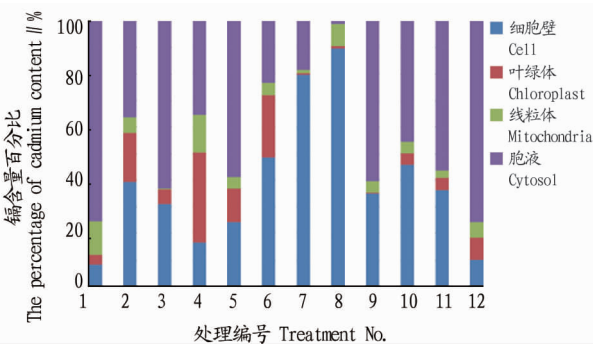


图4 烟草根部镉亚细胞镉含量百分比

Fig. 4 The percentage of cadmium content in subcellular of tobacco root

品种的根系亚细胞中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,2个品种的细胞壁和胞液中镉所占的比率无显著差异。细胞壁作为镉进入细胞质的“防火墙”,对镉的限制固定作用非常明显,也是重金属胁迫的作用信号分子和代谢位点,与植物重金属耐性有重要关联,研究结果与Chen等^[17]、Dalcorsio等^[18]、刘清泉等^[19]的研究结论一致,加入钙锌抑制剂后,细胞壁的镉含量呈上升趋势,胞液的镉含量减少,可能是细胞壁固定镉的能力有限,当细胞壁固定镉的能力处于饱和状态时,镉离子跨膜进入细胞后,仅有一小部分被线粒体和叶绿体吸收,另一部分镉区室化于胞液内,杨亚洲等^[20]在碱蓬和滨藜对镉和钠吸收、转运及亚细胞分布特性的研究中也说明这一问题。

关于重金属进入植株,最开始的研究认为钙、锌、铁等金属离子进入的通道也是镉进入体内的通道,因为这些金属离子在化合价、化学性质、物理特性等方面都有一定的相近性。细胞壁中含有负电荷,这些负电荷能通过磁极效应吸引金属离子大量地聚集在细胞膜外,当金属离子达到一定的程度,就会推动金属离子穿过细胞壁进入细胞内部。通常认为,镉在根部主要积累于质外体,尤其是细胞壁中^[21]。细胞对镉元素的抑制作用主要集中在细胞壁上,当作用时间短、作用浓度低的情况下细胞壁抑制作用尤其明显。因此,研究镉的

亚细胞分布,对阐明镉在烟草中的吸收抑制机制具有重要意义。

该研究结果显示烟草亚细胞的镉含量,加入钙锌抑制剂后,细胞壁和胞液之间有变化,叶绿体和线粒体无明显效果,可能是因为在培养过程中没有给烟草很适宜的生存环境和条件,或者是试验条件的限制;因此,烟草耐镉是否是细胞壁的固定、胞液的区室化作用这2个方面,实际情况仍需进一步试验验证。

参考文献

- [1] 朱善良,陈龙. 镉毒性损伤及其机制的研究进展[J]. 生物学教学,2006,31(8):2-5.
- [2] LUGON-MOULIN N,ZHANG M,GADANI F,et al. Critical review of the science and options for reducing cadmium in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) and other plants[J]. *Advances in agronomy*,2004,83:111-180.
- [3] MENCH M,TANCOGUE J,GOMEZ A,et al. Cadmium bioavailability to *Nicotiana tabacum* L., *Nicotiana rustica* L., and *Zea mays* L. grown in soil amended or not amended with cadmium nitrate [J]. *Biol Fert Soils*,1989,8(1):48-53.
- [4] 赵秀兰,李彦娥. 烟草积累与忍耐镉的品种差异[J]. 西南大学学报(自然科学版),2007,29(3):110-114.
- [5] 关昕昕,严重玲,刘景春,等. 钙对镉胁迫下小白菜生理特性的影响[J]. 厦门大学学报(自然科学版),2011,50(1):132-137.
- [6] 汪洪,周卫,林葆. 钙对镉胁迫下玉米生长及生理特性的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2001,7(1):78-87.
- [7] 詹绍军,喻华,冯文强,等. 不同有机物料与石灰对小麦吸收镉的影响[J]. 水土保持学报,2011,25(2):214-217.
- [8] 刘丽莉,冯涛,向言词,等. 外源钙对镉胁迫下芥菜型油菜幼苗生长和生理特性的影响[J]. 农业环境科学学报,2009,28(5):978-983.
- [9] 宋正国,徐明岗,丁永祯,等. 共存阳离子(Ca、Zn、K)对土壤镉有效性的影响[J]. 农业环境科学学报,2009,28(3):485-489.
- [9] 任继凯,陈清朗,陈灵芝,等. 土壤镉污染与作物[J]. 植物生态学与地植物学丛刊,1982,6(2):131-141.
- [10] YE H B,YANG X E,HE B,et al. Response of *Sedum alfredii* Hance towards Cd/Zn complex-pollution and accumulation of the heavy metals [J]. *Journal of agro-environment science*,2003,22(5):513-518.
- [11] TESTER M. Plant ion channels: Whole cell and single channel studies [J]. *New phytologist*,1990,114(3):305-340.
- [12] 孙光闻,朱祝军,方学智. 小白菜镉和钙的亚细胞分布及钙、镉互作的影响[J]. 华北农学报,2010,25(6):229-232.
- [13] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京:中国农业出版社,2013.
- [14] VÖGELI-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.
- [15] 宋晓慧,陆引罡,何丹,等. 烟草对镉的吸收及镉在亚细胞中的分布[J]. 江苏农业科学,2014,42(5):116-117.
- [16] 陆仲烟,刘仲齐,宋正国,等. 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[J]. 农业环境科学学报,2013,32(11):2125-2131.
- [17] CHEN G C,LIU Y Q,WANG R M,et al. Cadmium absorption by willow root: The role of cell walls and their subfractions[J]. *Environ Sci Pollut R*,2013,20(8):5665-5672.
- [18] DALCORSO G,FARINATI S,FURINI A. Regulatory networks of cadmium stress in plants[J]. *Plant Signal Behav*,2010,5(6):663-667.
- [19] 刘清泉,陈正华,沈振国,等. 细胞壁在植物重金属耐性中的作用[J]. 植物生理学报,2014,50(5):605-611.
- [20] 杨亚洲,张春华,郑青松,等. 碱蓬和滨藜对镉和钠吸收、转运及亚细胞分布特性的比较研究[J]. 农业环境科学学报,2015,34(4):619-626.
- [21] WÓJCIK M,VANGRONSVELD J,D'HAEN J,et al. Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens*: II. Localization of cadmium in *Thlaspi caerulescens*[J]. *Environ Exp Bot*,2005,53(2):163-171.