

综述 Reviews

植物响应镉胁迫的生理与分子机制研究进展

张星雨, 叶志彪, 张余洋*

华中农业大学园艺林学学院, 园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉430070

*通信作者(yyzhang@mail.hzau.edu.cn)

摘要: 重金属污染日益严峻, 以镉(Cd)最为严重。镉是植物非必需元素, 能够导致植物营养缺陷、光合作用强度降低、氧化应激等; 轻则抑制植物生长, 重则导致植物死亡。植物体内没有专一的镉转运蛋白, 镉通常竞争性地借助锌、铁、钙等二价金属离子的转运体进入植物的各器官和组织。植物经过长期的演化, 形成了一套应对镉胁迫的复杂机制: 土壤中的镉进入植物根系后, 根系细胞壁果胶的羧基自由基($-\text{COO}^-$)能够与 Cd^{2+} 发生静电结合, 阻碍部分镉进入原生质; 部分进入原生质的镉一方面在植物螯合肽的作用下被转化为不具生物活性的无毒螯合物, 另一方面在转运蛋白的作用下被转运至其他组织细胞或代谢活性较低的液泡内, 减轻镉对原生质的集中性毒害, 防止其破坏正常的生理生化反应; 过量的镉则会引起植物体内的代谢紊乱, 以及植物组织中活性氧增加, 造成氧化胁迫。由超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)等组成的抗氧化系统可有效清除过量的活性氧, 防止活性氧对细胞造成不可逆破坏。本文重点就植物应对镉胁迫的生理和分子机制及其调控网络进行综述, 并对今后相关的研究和应用方向进行讨论, 以期对植物响应镉胁迫的相关研究提供参考。

关键词: 植物; 重金属; 镉; 果胶; 植物螯合肽; 转运蛋白; 抗氧化系统

Advances in physiological and molecular mechanism of plant response to cadmium stress

ZHANG Xingyu, YE Zhibiao, ZHANG Yuyang*

College of Horticulture & Forestry Sciences, Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

*Corresponding author (yyzhang@mail.hzau.edu.cn)

Abstract: Heavy metal pollution, especially cadmium, is becoming increasingly serious. Cadmium is a non-essential element in plants, which can reduce photosynthetic capacity, leads to plant nutritional defects and oxidative stress, and subsequently results in growth retardation and even plant death. There is no specific transporter for cadmium in plants, and cadmium is generally transferred to the organs and tissues of plants by competing for the transporters of divalent metal ions such as zinc, iron, and calcium. After long-term evolution, plants have formed a set of complex mechanisms to deal with cadmium stress. The $-\text{COO}^-$ of pectin in the root cell wall can electrostatically combine with Cd^{2+} , preventing cadmium from entering the protoplasm. After entering the protoplast, cadmium is transformed into non-bioactive or

收稿 2021-05-15 修定 2021-05-27

资助 科技部国家重点研发计划项目(2018YFD1000800和2017YFD0101902)和农业农村部大宗蔬菜产业技术体系项目(CARS-23-A-03)。

non-toxic chelates under the activity of phytochelatin. On the other hand, it is transported to other tissues or vacuoles with low metabolic activity under the action of transporters, thus reducing the concentrated toxicity of cadmium to protoplasts and preventing the destruction of physiological and biochemical reactions. Excessive cadmium will cause metabolic disorders, and the reactive oxygen species content in plant tissues increases to generate oxidative stress. The antioxidant system composed of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), and ascorbate peroxidase (APX) can effectively eliminate excess reactive oxygen species and prevent them from causing irreversible damage to cells. In this paper, the physiological and molecular mechanisms and regulatory networks of plant response to cadmium stress are reviewed. The related research and application perspectives in the future are discussed, providing a reference for studies on plant response to cadmium stress.

Key words: plant; heavy metal; cadmium; pectin; phytochelatin; transporter; antioxidant system

由于采矿、工业活动以及农药的过度使用等人为原因,很多地区出现了农产品镉污染问题(覃艳淑等2019; Franzaring等2019; 冯哲伟等2019)。镉是我国农田污染中的主要重金属元素,也是植物非必需元素,具有强生物毒性和快速迁移的特点,能够导致植物营养缺陷、叶绿素合成抑制、光合作用降低、氧化应激等,抑制植物生长,甚至导致植物死亡(Liu等2018)。植物应对镉胁迫主要有4道防线:(1)细胞壁果胶负责积累固定镉,阻碍镉进入原生质;(2)镉进入原生质后,植物螯合肽(phytochelatin, PC)负责与镉发生螯合作用,将镉变为不具生物活性的无毒螯合物;(3)转运蛋白负责将镉转运至代谢活性较低的液泡内,或负责将镉排出,缓解镉对原生质的毒害作用,防止其破坏正常的生理生化反应;(4)抗氧化系统负责在镉毒害发生后清除植物体内过量的活性氧(reactive oxygen species, ROS),防止活性氧对细胞造成不可逆破坏(图1)。近年来关于植物响应镉胁迫的相关生理与分子机制多从以下四个方面进行研究。

1 植物细胞壁果胶阻碍镉吸收的分子机理

研究表明,镉在细胞中的分布量依次为:细胞壁>细胞质和液泡>细胞器。细胞壁作为细胞应对镉胁迫的第一道防线,与胞间层组成的质外体能够阻碍重金属进入原生质体,避免造成细胞毒害(孙敏2010; 张旭红等2003)。

细胞壁组成物质较为复杂,主要有果胶、纤维素和半纤维素等;由于果胶大量存在于胞间层,且

含有大量带负电荷的羧酸根离子($-\text{COO}^-$),能够与 Cd^{2+} 发生静电结合,所以细胞壁果胶被认为是将镉阻滞在细胞壁的关键物质(王兴华和戴力2016)。Zhu等(2012)研究发现,对拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)进行缺磷处理后,细胞壁中果胶含量和控制果胶去酯化的果胶甲酯酶(pectin methylesterase, PME)活性显著下降,导致镉在根系细胞壁中的固持量下降,增加了镉在拟南芥中的转运系数(translocation factor, TF),即镉从根向茎转移能力增加。Xu等(2015)发现,镉处理后拟南芥根、茎、叶的果胶含量和PME活性均显著增加,更多携带 $-\text{COO}^-$ 的果胶参与镉的固持,阻碍镉进入原生质。郭军康等(2018)发现番茄(*Solanum lycopersicum*)细胞壁果胶含量及PME活性和细胞壁镉累积量呈正相关。Jia等(2019)对番茄进行镉处理后,也得到了类似的结果。

果胶在细胞壁中以高度甲酯化的形式存在。果胶的甲酯化程度越高,与金属阳离子的结合率就越低。PME参与果胶的去甲酯化过程,使果胶分子携带大量羧基,增强果胶对金属阳离子的固持能力(郑绍建2014)。PME基因在植物体内是一个多基因家族,由其控制合成的PME具有多种异构体,其中一种能够将果胶连续去甲酯化,从而产生大量的 $-\text{COO}^-$ 。PME的活性受到细胞壁pH、果胶甲酯化程度和金属阳离子价态等因素的影响;通常金属阳离子的价态越高, PME的活性越高(Schmohl等2000)。Paynel等(2009)发现,植物能够通过上调PME基因表达,增加对镉的适应性。Mi-

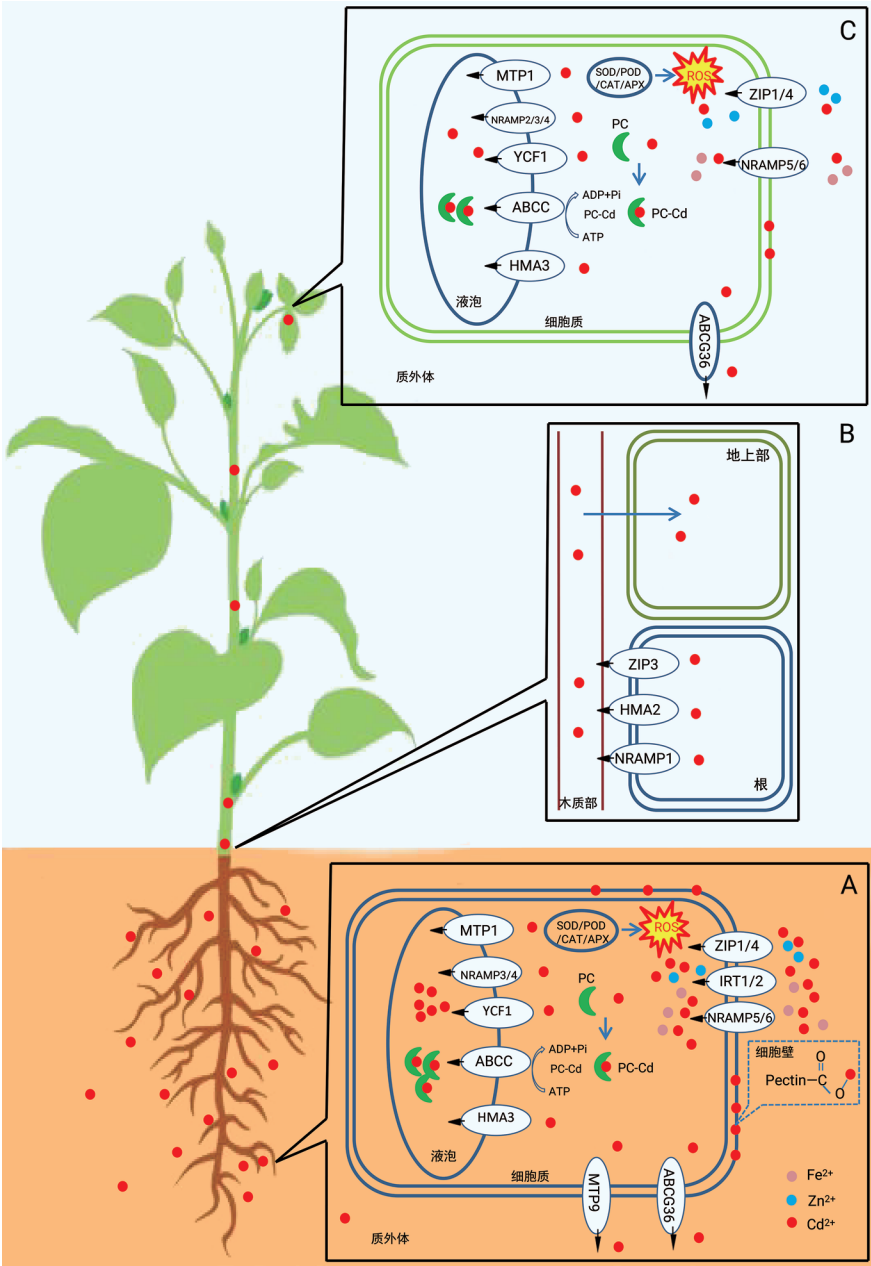


图1 植物响应镉胁迫的分子机制

Fig. 1 Molecular mechanism of plant response to cadmium stress

A: 土壤中的镉通过植物根系进入植物体内, 一部分被根系细胞壁果胶(pectin)固持, 其余通过争夺锌、铁、钙等二价金属离子的转运体, 如ZIP1/4、IRT1/2、NRAMP5/6, 进入植物的各器官和组织; 细胞质中的植物螯合肽(PC)与镉结合形成无毒的PC-Cd复合物, 通过位于液泡膜上的ABCC蛋白家族转运至代谢活性较低的液泡内; MTP1、NRAMP3/4、YCF1、HMA3等定位于液泡膜的转运蛋白负责将部分细胞质中的镉运至液泡内; MTP9、ABCG36负责将多余的镉排出细胞, 将其分散到其他组织细胞中; 镉积累到一定程度后会引发植物体内活性氧(ROS)的爆发, 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)等抗氧化酶负责清除植物细胞内过量的活性氧。B: ZIP3、HMA2、NRAMP1参与镉的木质部装载, 将镉从根系转运至地上部。C: 植物地上部响应镉胁迫的调控网络; 与A的区别在于NRAMP2主要在地上部表达, IRT1/2和MTP9主要在根系表达。箭头表示小分子的流动。

cheli等(2001)发现植物*PME1*基因表达量随镉处理浓度的增加而提高。Jia等(2019)也发现番茄幼苗*SIPME1*基因的表达量随镉处理时间的增加而提高。这些结果说明植物受到镉胁迫后能够通过上调*SIPME1*基因的表达,降低果胶甲酯化程度,使果胶固持更多的镉,减少镉进入原生质的数量,来应对镉的进一步胁迫。

*QUAI*基因由Bouton等(2002)通过筛选拟南芥突变体文库发现,属于拟南芥糖基转移酶家族成员之一,编码一个膜定位的糖基转移酶。在*QUA*等位基因突变体*qual-1*和*qual-2*中的细胞壁半乳糖醛酸水平比野生型低25%,说明*QUAI*基因在细胞壁果胶合成中具有非常重要的作用。Jia等(2019)研究表明,对番茄幼苗进行镉处理后,随着处理时间的增加,*SIPQUAI*的相对表达量逐渐增加至6.57倍,说明植物感受到镉胁迫后可以通过上调*SIPQUAI*表达,合成更多的果胶来应对镉胁迫。

另外,尽管目前关于细胞壁固持镉的研究大多聚焦在果胶上,但也有研究发现拟南芥中有大量的镉被固定在细胞壁的半纤维素中(Zhu等2013)。水稻(*Oryza sativa*)细胞壁半纤维素和果胶可分别结合总镉的56%和23% (Ma等2015)。在水稻镉安全材料中,半纤维素对镉的固持量是果胶的7.74~8.40倍(李芹等2019)。细胞壁固持镉的能力不是仅仅依靠单一的物质,而是多种物质共同作用的结果。从最新研究来看,半纤维素同样在细胞壁固持镉的过程中发挥重要作用,但关于半纤维素固持镉的机制以及其中牵涉到的基因的相关研究目前还较少,有待进一步深入研究。

综上,镉从土壤进入植物根系后,根系细胞便会随即作出反应,启动应对镉胁迫的第一道防线:上调*QUAI*和*PME1*基因的表达,增加果胶和PME的合成,固持已入侵的镉,减少镉对细胞的破坏。但细胞从感应重金属镉的入侵到作出反应的信号转导机制目前还有待研究。

2 PC缓解镉毒害的分子机理

PC是植物体内合成的一系列小分子多肽,在重金属解毒机制中发挥重要作用。PC由植物螯合肽合酶(phytochelatase, PCS)催化,以还原

型谷胱甘肽(glutathione, GSH)为底物合成(Grill等1989)。PC与镉发生螯合主要是通过PC中半胱氨酸的巯基(-SH)结合 Cd^{2+} 形成Cd-PC复合物,然后转移至液泡,从而减轻游离 Cd^{2+} 对细胞的毒害(Hirata等2005; Mehra等1995)。

关于PC的研究起步较早。1986年,Steffens等(1986)发现暴露在过量的重金属环境中的番茄细胞通过产生PC来缓解重金属毒害。1995年,Howden等(1995)发现拟南芥突变体*cad-1*由于不能在细胞中积累PC而表现为对镉高度敏感。从1999年开始,编码PCS的*PCS*基因从拟南芥(Ha等1999)、芥菜(*Brassica juncea*; Heiss等2003)、大蒜(*Allium sativum*; Zhang等2005)等多种植物中相继克隆成功。PC在重金属积累方面的出色表现引起了植物修复工作者的高度关注,他们认为在植物中过表达*PCS*基因可能会积累更多的重金属并提高重金属耐受性,进而用于土壤修复。Sauge-Merle等(2003)在大肠杆菌(*Escherichia coli*)中表达编码PCS的拟南芥基因*AtPCSI*,促进了大肠杆菌积累重金属。Gisbert等(2003)在野生烟草(*Nicotiana glauca*)中异源表达小麦基因*TaPCSI*,大大提高了其对铅(Pb)和镉等重金属的耐受性。Pomponi等(2005)同样发现,在烟草(*N. tabacum*)中过表达*AtPCSI*,增强了烟草的镉积累量和镉耐受性。但值得注意的是,PC不是基因的直接翻译产物,而需要以GSH为底物,由PCS催化合成,因此GSH和PC生物合成之间的最佳平衡是植物有效的镉耐受性所必需的。细胞内PC的增加往往伴随着GSH的减少,单一过表达*PCS*基因可以短暂提升细胞内PC的积累量,但GSH的积累量也会相应地快速减少,这可能会使GSH与PC的生物合成发生严重失衡,导致细胞代谢紊乱。这导致部分研究得出相反结论:过表达*PCS*基因后不仅没有增加植物的耐镉性,反而导致了植物对镉的高度敏感(Wojas等2008; Li等2004; Lee等2003a, b)。由此可见,植物通过PC与多种因子协同调控镉胁迫响应。Guo等(2008)借鉴了前人研究的经验,在拟南芥中同时过表达大蒜*AsPCSI*基因和面包酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) *GSH1*基因后,拟南芥的镉积累能力和镉耐受性显著高于单一基因过表达的拟南芥和野生型拟南芥。

因此, 在植物应对镉胁迫的PC途径中, *PCSI*和*GSHI*基因发挥了重要作用。在镉越过第一道防线细胞壁入侵原生质后, 细胞启动第二道防线: 上调*PCSI*和*GSHI*基因的表达, 促进PC的生物合成, 与游离 Cd^{2+} 发生螯合作用生成Cd-PC复合物, 然后运往液泡隔离, 完成镉的解毒作用。除了*PCSI*和*GSHI*基因外, 最近有研究发现MYB4转录因子(Agarwal等2020)、*FCI* (Song等2017)、*MAN3* (Chen等2015)基因也参与了PC应对镉胁迫途径。三者都主要作用于*PCSI*基因, 并促进其表达, 但调控机制还不够明确。

目前在拟南芥以及水稻、小麦等作物上针对PC途径开展了大量研究。在番茄等园艺作物上针对PC途径也开展了耐镉研究。在番茄中过表达*SIGSHI*基因可以降低镉在叶片中的积累, 从而缓解镉诱导的番茄叶片失绿症状(王晓2013)。

另外, 虽然PC在植物对镉的解毒机制中发挥了重要作用, 能够通过与镉的螯合作用来降低镉的毒性, 但在作物低镉育种中这很难成为育种的主要目标。其原因是: 增加PC合成能够增强植株对镉的解毒能力, 但可能也会导致果实中的镉含量增加; 而PC合成过少会导致植株对镉高度敏感, 影响生长发育。

3 植物转运蛋白在镉胁迫响应中的作用

镉元素是非必需元素, 在植物体内没有专一的转运蛋白, 只能竞争性地借助其他二价金属离子的转运体, 完成由表皮到维管束和由根部到地上部的运输。另外还有一类植物应对镉胁迫的关键膜蛋白位于液泡, 负责将 Cd^{2+} 、 Mn^{2+} 等重金属离子或者金属螯合物转运至液泡, 减少作为生理生化反应中心的原生质受到的镉毒害。植物体内的转运蛋白种类多且数量庞大, 其中参与植物镉胁迫响应的主要包括锌/铁转运蛋白、重金属ATP酶、阳离子扩散促进因子、天然抗性巨噬细胞蛋白、ATP结合盒转运蛋白等。

3.1 锌/铁转运蛋白

锌元素调控转运蛋白家族(zinc-regulated transporter, ZRT)和铁元素调控转运蛋白家族(iron-regulated transporter, IRT)合称为锌铁转运蛋白(ZRT/

IRT-like protein, ZIP), 主要负责将 Zn^{2+} 转运至细胞质内, 同时还具有转运 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 和 Cd^{2+} 的功能(韩佳慧等2019; 曹玉巧等2018)。ZIP蛋白一般由309~476个氨基酸组成, 具有众多功能位点, 如N-糖基化位点、蛋白激酶C磷酸化位点、酪蛋白激酶II磷酸化位点等, 这些是ZIP蛋白发挥功能的重要结构基础(张岗等2015)。对ZIP蛋白家族的功能研究主要集中在拟南芥和水稻中。何小林(2017)发现铁元素关键转运体IRT1与 Cd^{2+} 的亲合性较高, 外源供铁可竞争性抑制拟南芥对镉的吸收。Connolly等(2002)对拟南芥进行缺铁培养6 d后发现, 镉元素在拟南芥根部的积累增加, 地上部积累减少, 且过表达*AtIRT1*后拟南芥对镉元素更敏感。Gao等(2013)分析东南景天(*Sedum alfredii*)的转录组发现, 镉胁迫极大地诱导了*SaZIP1*在植物根和地上部的表达, 并且*SaZIP1*在镉超富集生态型东南景天中的表达水平比非镉超富集生态型植株高近100倍。Ting等(2011)发现, 镉处理水稻根中*OsZIP3*的表达水平显著增加, 认为*OsZIP3*参与水稻根部镉元素的吸收及镉元素从根部往地上部的运输。马骁骁(2015)对东南景天的研究也得出了相似的结论。Tian等(2017)研究发现, 添加外源茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)能够提高小米(*Setaria italica*)对镉的耐受性, 认为这与ZIP4蛋白的表达受到抑制有关。同时, Zeng等(2017)发现镉处理后拟南芥*AtZIP4*的表达水平比对照增加了193倍。经研究发现, *AtZIP2*、*AtZIP5*、*AtZIP6*也参与了镉的吸收与转运(Milner等2013; Wu等2009)。尽管目前对ZIP蛋白家族的研究较多, 但其调控镉积累的研究依旧不够深入, 多数停留在与镉吸收、转运的相关性上, ZIP蛋白在植物各器官中的分布差异以及转运和吸收镉的机制还有待进一步深入研究。

3.2 重金属ATP酶

P型ATP酶定位于细胞膜上, 其功能在于利用ATP水解跨膜转运 K^{+} 、 $\text{H}^{+}/\text{K}^{+}$ 、 $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ 、 Ca^{2+} 以及某些重金属, 是一种参与能量转运的阳离子泵(Baxter等2003)。P型ATP酶主要有5个亚家族($\text{P}_{1\text{B}}$ 、 $\text{P}_{2\text{A}}/\text{P}_{2\text{B}}$ 、 $\text{P}_{3\text{A}}$ 、 P_4 、 P_5), 其中 $\text{P}_{1\text{B}}$ 型ATP酶广泛存在于植物中, 除了能转运植物生长发育所必需的金属离子外, 还能转运 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ag^{+} 等重金属离子, 因

此也称为重金属ATP酶(heavy metal ATPase, HMA; Argüello等2007)。Li等(2015)对毛果杨(*Populus trichocarpa*)的HMA家族进行了全基因组分析并利用不同重金属诱导HMA家族各基因的表达, 研究结果显示高浓度的镉、铅、银等重金属能够不同程度地调节毛果杨各组织中*PtHMA*的表达水平。其中*PtHMA1~PtHMA4*属于锌/钴(Co)/镉/铅亚组, 在毛果杨的叶中具有高表达水平; 而*PtHMA5~PtHMA8*属于铜(Cu)/银(Ag)亚组, 主要在根中表达。Sasaki等(2014)发现过表达*OsHMA3*后, 镉对水稻生长的抑制作用明显减轻, 水稻地上部的镉含量显著降低, 而根系中的镉含量显著上升。Kendziorrek等(2016)在番茄中过表达拟南芥的*AtHMA4*基因获得了相似的结果, 发现番茄叶片中镉含量显著减少, 根系中的镉含量显著增加。另外值得注意的是, HMA2和HMA3虽然同源, 但减少植物镉积累的机制却不同: HMA3定位于液泡膜, 主要通过将镉转运至根细胞的液泡中来防止镉向植物地上部转移; 而HMA2定位于细胞质膜, 主要通过直接调控 Zn^{2+} 和 Cd^{2+} 在细胞间的跨膜转运来调节植物地上部的镉浓度(Takahashi等2012; Satoh-Nagasawa等2012; Morel等2009; Hussain等2004)。Satoh-Nagasawa等(2012)发现水稻*OsHMA2*插入突变体地上部镉浓度显著降低, 认为*OsHMA2*功能缺失可能是减少水稻镉积累的关键所在。但过表达*OsHMA2*也能显著降低水稻叶片和籽粒中镉含量, 而不影响根部镉含量, 这说明植物体内离子趋于平衡, *OsHMA2*参与镉向木质部装载的过程受严格调控(Takahashi等2012)。总体来说, HMA家族在植物镉胁迫响应中发挥了重要作用, 这对作物低镉育种和植物修复重金属污染土壤的应用有着重要参考价值, 但各基因的功能和响应镉胁迫的机理以及在不同物种中的表达差异还有待进一步研究。

3.3 阳离子扩散促进因子

除了ZIP蛋白家族和HMA家族外, 阳离子扩散促进因子(cation diffusion facilitator, CDF)蛋白家族也是生物体内负责转运 Zn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 等金属离子的重要蛋白家族之一。CDF蛋白家族在植物中又称金属耐受蛋白家族(metal tolerance protein, MTP; Migocka等2015)。MTP蛋白家族中的各个成员在

植物细胞中的定位有所差别, 在对镉胁迫的响应中具有不同的功能特征。比如拟南芥*AtMTP1*定位于液泡膜, 通过主动运输将 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 等金属离子从细胞质基质转运至液泡中, 从而提高植物对金属的耐受性(Kawachi等2008; Desbrosses-Fonrouge等2005; Kobae等2004)。Persans等(2001)也发现重金属超富集植物遏蓝菜(*Thlaspi goesingense*)中, *TgMTP1*基因的高水平表达是其液泡积累金属离子能力强的原因之一。水稻*OsMTP1*蛋白定位于细胞质膜, 主要负责将 Ni^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 等重金属离子转入或转出细胞质, 以维持植物体内的离子稳态(Yuan等2012)。Migocka等(2015)的研究表明, 黄瓜(*Cucumis sativus*)中的MTP9蛋白定位于根细胞质膜, 在拟南芥中表达时可以促进拟南芥根细胞中的 Mn^{2+} 和 Cd^{2+} 外排, 从而增加对镉和锰的抗性, 但同时也会增加地上部镉和锰的含量。拟南芥中的MTP11膜蛋白则定位于高尔基体内膜, 过表达*AtMTP11*能够增加植株对重金属的耐受性。Peiter等(2007)认为这可能是通过高尔基体的囊泡转运和胞吐作用实现的。除此之外, 同样属于CDF蛋白家族的MTP4、CET2、CET3、CET4也参与了植物中镉的运输(Migocka等2014; Lang等2011; Jin等2009)。由于CDF蛋白成员数量多, 且其在植物中分布和功能上有差异, 目前CDF蛋白家族调控植物镉积累的具体机制还有待进一步研究。

3.4 天然抗性巨噬细胞蛋白

天然抗性巨噬细胞蛋白(natural resistance associated macrophage protein, NRAMP)家族是一个庞大的家族, 进化相对保守, 广泛参与植物中 Fe^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Mn^{2+} 等二价金属离子的运输; 金属结合位点保守的甲硫氨酸序列能够提高NRAMP对镉转运的优先性和效率(Bozzi等2016; Sasaki等2012)。目前研究显示, NRAMP的家族成员以不同方式参与植物中镉的转运: 部分成员定位于细胞质膜, 负责金属离子的吸收和细胞间的跨膜转运(杨猛2014; Sasaki等2012; Takahashi等2011); 另一部分成员主要定位于液泡膜, 负责将细胞中 Cd^{2+} 、 Mn^{2+} 等重金属离子转运至液泡中进行隔离, 以达到解毒的目的, 是植物应对重金属胁迫的一种响应方式(Zhao等2018; Oomen等2009; Thomine等2003)。Taka-

hashi等(2011)的研究发现, 镉高积累品种根中*OsNRAMP1*的表达量要高于镉低积累品种, 且过表达*OsNRAMP1*会显著增加水稻叶片中的镉含量。水稻*OsNRAMP3*位于细胞质膜, 主要在韧皮部细胞表达, 负责金属离子在细胞间的转运(杨猛2014)。水稻*NRAMP1*主要位于内皮层和中柱鞘细胞的质膜, 这为*NRAMP1*参与金属离子的木质部装载提供了重要证据(Tiwar等2014)。Sasaki等(2012)对水稻*OsNRAMP5*基因进行敲除后, 根和地上部的镉含量均下降, 但同时也导致了水稻的生长抑制, 产量减少。Cailliatte等(2009)在拟南芥中过表达*AtNRAMP6*基因引起了拟南芥对镉的超敏反应。杨校(2016)将水稻中的*OsNRAMP6*基因进行敲除后, 敲除系在镉胁迫条件下长势强于野生型对照。在镉高积累水稻品种中, *OsNRAMP2*主要在其地上部表达(Zhao等2018)。Li等(2019)的研究发现, *NRAMP2*主要在黑麦草(*Lolium perenne*)的叶片中表达; 且随镉处理浓度的提高, *NRAMP2*的表达量逐渐增加。赵首萍等(2015)发现在镉胁迫下, 镉高积累品种的番茄根系中*NRAMP3*具有更高的表达量, 其长势强于镉低积累品种。Oomen等(2009)的研究显示, *NRAMP3*和*NRAMP4*失活会导致拟南芥对镉的超敏反应; 将重金属超富集植物淡蓝菥蓂(*Thlaspi caerulescens*)的*TcNRAMP3*和*TcNRAMP4*基因转入后, 则能恢复拟南芥的正常生长。

3.5 ATP结合盒转运蛋白

ATP结合盒转运蛋白(ATP-binding cassette transporter, ABC)是植物中最大、最多样的蛋白家族之一, 负责金属螯合物、次生代谢物、脂类和植物激素等物质在生物膜之间的主动运输(Hwang等2016; Theodoulou和Kerr 2015; Verrier等2008)。ABC家族中参与植物镉胁迫响应的主要为C型ABC转运蛋白(ABCC亚家族), 其大多数成员定位于液泡膜, 负责将镉螯合物转运至液泡内, 以减少镉对细胞的毒害(Brunetti等2015)。ABCC亚家族的成员YCF1能够将GSH-Cd复合物转运至面包酵母的液泡内。在拟南芥中过表达*ScYCF1*能够增加其对镉的耐受性(Song等2003; Li等1997)。在拟南芥中, Park等(2012)发现ABCC1和ABCC2能够将镉隔离在液泡中以达到解毒的效果。*AtABCC3*、*AtABCC6*和

*AtABCC7*在镉胁迫下表达量显著上调, 可增加幼苗的耐镉性(Brunetti等2015; Gaillard等2008)。Bhati(2015)和Zhang等(2018)也得出了相似的研究结论, 认为小麦中的*TaABCC3*、*TaABCC4*、*TaABCC11*、*TaABCC14*以及甘蓝型油菜中*BnaABCC3*、*BnaABCC4*通过增加其转录水平来应对镉胁迫。值得注意的是, 在植物镉的解毒机制中, ABCC型的转运蛋白通常是与PC共同发挥作用的。例如, 在PC合成缺陷的拟南芥突变体*cad1-3*中过表达*AtABCC3*并不能使植株的耐镉性增加(Brunetti等2015)。最近有研究显示, 草莓(*Fragaria × ananassa*)中ABCC亚家族中的各基因主要在茎和叶中表达(Shi等2020), 这说明当草莓地上部的镉浓度增加到一定程度时, 才会启动ABCC-PC的防御机制, 但这是否适用于大多数植物还需要更多的研究结果来证实。除ABCC亚家族外, G型ABC转运蛋白(ABCG亚家族)中的ABCG36也参与了植物的镉胁迫响应过程。ABCG36定位于根细胞的质膜, 负责将镉从根细胞中排出, 从而增加植株的耐镉性(Fu等2019)。Wang等(2019)将毛白杨(*Populus tomentosa*)的*PtoABCG36*基因在拟南芥中过表达后, 拟南芥根系和地上部的镉含量均显著降低。ABCG36是目前已知的少数镉外排蛋白之一, 这对于低镉育种具有重要意义。

除上述五大家族外, 阳离子交换体(cation exchanger, CAX)家族、黄色条纹转运蛋白(yellow stripe-like transporter, YSL)家族以及低亲和性阳离子转运蛋白(low-affinity cation transporter, LCT)家族中的某些成员也参与了植物的镉胁迫响应进程。CAX家族中的*AtCAX1* (Wu等2011; Shigaki等2005)、*AtCAX2* (Hirschi等2000)和*AtCAX4* (Hirschi等2003)亚细胞定位于液泡膜, 负责将镉运输至液泡内。拟南芥中CAX家族对镉的亲和力存在差异, 表现为: *AtCAX4*>*AtCAX2*>*AtCAX1*。YSL家族中的YSL3 (Feng等2017)、YSL6 (Das等2011)、YSL7 (Wang等2013)以及LCT家族中LCT1 (Uraguchi等2014)、LCT2 (李曜魁等2016)已被证实参与植物的镉积累, 但确切功能还有待进一步研究。

由上可知, 大部分位于细胞质膜的转运蛋白能够促进镉在细胞间的流动和木质部的装载, 敲

除后获得的突变体虽积累更少的镉,但生长也会受到抑制。当土壤中植物生长所必需金属离子浓度较高时,镉在植物根系中的流通量会降低(Li等2017)。少数位于根细胞质膜的转运蛋白,如黄瓜CsMTP9转运蛋白(Migock等2015),能够将镉排出根细胞,同时也可能会增加地上部的镉含量。而位于液泡膜的转运蛋白赋予了植物耐镉性,一方面能够直接转运 Cd^{2+} 至液泡内,另一方面能够配合PC将 Cd^{2+} 转化为无毒的螯合物后再转运至液泡内,最终达到解毒的目的。这似乎是植物应对镉胁迫的最佳选择,通过根系中各类液泡膜转运体就能够将绝大多数的镉阻隔在根系液泡中,既减少了根系中镉的毒害又直接减少了镉的向上运输。但值得注意的是,某些液泡膜转运体主要在植物的地上部表达且可能会受到PC含量和镉浓度的限制,如拟南芥AtABCC3转运体(Brunetti等2015)和草莓FvABCC转运体(Shi等2020)等;这就意味着液泡膜转运体可能主要在镉高积累植物中发挥作用,在低镉积累植物应对镉胁迫的进程中并不起主要作用。因此,在研究液泡膜转运体在植物镉积累中的功能时,除了关注该蛋白本身,也应该关注该蛋白发挥功能的限制条件,这能够为低镉育种提高更加全面的理论基础。

因此,以上研究表明,当镉入侵细胞原生质后,部分 Cd^{2+} 与PC结合形成无毒螯合物,另一部分 Cd^{2+} 争夺其他二价金属离子的转运蛋白从根表皮细胞转移至维管束参与木质部装载,进而从根系转移至地上部。在此过程中,植物会启动应对镉胁迫的第三道防线:一方面上调液泡膜转运体相关基因的表达,加快将 Cd^{2+} 和镉的螯合物运往代谢活性低的液泡内,减轻镉对原生质的直接毒害;另一方面上调镉外排蛋白相关基因的表达,将过量的镉分散到其他组织细胞中,减轻镉的集中性毒害。

4 镉胁迫下植物抗氧化系统的响应及作用

一般情况下,活性氧在植物体内的产生和清除是动态的平衡状态。镉毒害会破坏活性氧的代谢平衡,导致植物体内活性氧的爆发,超氧阴离子(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)、羟基自由基($-\text{OH}$)等活性氧大量累积(Halliwell等2006),进而引起膜解体(Ji-

ang等2001)、激素失调(刘延吉等2008)、核酸降解(Shah等2001)等,严重时则会造成植物细胞的大量死亡。植物为了应对氧化胁迫,自身演化出了一套活性氧清除系统,抗氧化酶在其中扮演着重要角色。抗氧化酶主要包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)等。SOD负责歧化过量的 O_2^- 生成 H_2O_2 和 O_2 , POD、CAT和APX再负责将 H_2O_2 分解为 H_2O 和 O_2 (Bowler等1992; Elstner 1982)。

依据金属辅基的不同,植物中的SOD通常被分为3类: Cu/Zn-SOD、Fe-SOD和Mn-SOD。每一类都由细胞核的一个小基因家族编码,且亚细胞定位不同。Cu/Zn-SOD主要定位于细胞质或叶绿体, Fe-SOD定位于叶绿体, Mn-SOD主要定位于线粒体或过氧化物酶体(张玉秀等2013; 马长乐2002)。POD、CAT和APX均作用于 H_2O_2 ,但其机理有所区别: POD和APX对 H_2O_2 的亲合力较高,能够消除极低含量的 H_2O_2 ,但其催化过程需要还原性底物(司廉邦2019; 马长乐2002); CAT在催化过程中不需要借助其他还原力进行反应且酶活性较高,但与 H_2O_2 的亲合力较低,主要在 H_2O_2 浓度较高的时候发挥作用(Foyer等1994)。

在非生物胁迫下,植物会上调抗氧化酶基因的表达来减轻过量活性氧造成的氧化伤害。水稻在高温胁迫下显著上调了SOD、POD和CAT基因的表达量,维持了较高的酶活性来应对高温胁迫(王艳等2015)。在盐胁迫下,黄瓜幼苗体内的POD基因表达显著上调(李斌等2012)。在烟草中过表达Mn-SOD基因提高了植株对冷害的耐受性(Foyer等1994)。APX基因的过表达提高了植株对除草剂的抗性(Allen等1997)。

值得注意的是,植物抗氧化酶系统清除活性氧的效率虽高,但也有一定限度,通常限度的高低决定了植物对非生物胁迫的耐受程度。例如,镉处理后,玉米(*Zea mays*)体内SOD、CAT基因的表达量显著提高,酶的活性增强;但随着胁迫加剧,酶的活性便开始下降,基因的表达也受到抑制(赵士诚等2008)。而镉超富集植物龙葵(*Solanum nigrum*)在浓度逐渐提高的镉处理下,其体内SOD、POD、

CAT、APX的活性及其基因表达均逐渐上升(张玉秀等2013)。

近年来, 有研究发现促分裂原活化蛋白激酶基因*MAPK3* (Muhammad等2019)、硫代腺苷甲硫氨酸合成酶基因*SAMS1* (杨婉莹等2020)、番茄金属羧肽酶抑制剂基因*TCMP-1* (Manar等2020)也能够提高抗氧化酶的活性来增加植物对镉胁迫的耐受性, 但其中的机理目前还并不清楚。

综上, 当镉越过前三道防线后, 植物体内的镉便会逐渐积累, 破坏生理生化反应, 引起活性氧增加, 导致植物处于氧化胁迫状态。此时植物启动应对镉胁迫的最后一道防线: 上调抗氧化酶基因的表达水平, 提高抗氧化酶活性, 加速清除活性氧, 减少膜解体、核酸降解等不可逆转的伤害。

除了上述植物应对镉胁迫的4道防线外, 有研究者也对镉胁迫下植物的信号转导系统进行了研究, 发现在镉毒害发生后植物可通过传递信号分子, 诱导相关基因的表达, 加快激素、酶的合成等, 降低镉的毒害作用(袁博等2018)。

5 展望

重金属已逐渐成为人们重点关注的污染源。在镉污染环境下, 作物的生长发育会受到抑制, 产量和品质会受到影响; 而且作物镉超标可能引发镉中毒, 对人类的健康和安全构成严重威胁。

植物经过长期的演化, 形成了一套应对镉胁迫的复杂机制。目前, 植物的镉胁迫响应研究不断开展, 植物响应镉胁迫相关基因相继发掘, 丰富了人类对于植物响应镉胁迫的认知。植物响应镉胁迫的研究成果可以应用于两方面: (1)根据目前已发现的镉胁迫响应基因, 利用生物技术创建高积累耐镉材料, 建立镉富集植物的转化体系, 应用于矿山、冶炼厂址和镉产品制造地等镉污染土壤的修复工作; (2)筛选低镉积累型的作物品种, 开发相关分子标记, 通过聚合多个低镉积累基因, 创建低镉积累且高产优质的品种。

随着分子生物学以及生物技术领域的快速发展, 为了更加深入地认识植物镉胁迫响应进程, 往后针对镉和植物开展的研究需要回答以下几个问题: (1)植物如何感知镉入侵并作出响应? 其中的

感知机制和信号转导机制如何? (2)镉具体如何对植物造成毒害? (3)镉在植物根、茎、叶、果中如何分配? (4)植物中各基因如何协同作用应对镉胁迫?

除此之外, 尽管目前在拟南芥等模式植物和水稻等粮食作物中已经发现了很多参与镉胁迫响应的基因, 但番茄等园艺作物对镉胁迫响应的研究还很少。可利用全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)寻找更多的镉胁迫响应基因, 并深入研究其作用机制, 为植物修复和低镉育种打下基础。

参考文献(References)

- Agarwal P, Mitra M, Banerjee S, et al (2020). MYB4 transcription factor, a member of R2R3-subfamily of MYB domain protein, regulates cadmium tolerance via enhanced protection against oxidative damage and increases expression of *PCS1* and *MT1C* in *Arabidopsis*. *Plant Sci*, 297: e110501
- Allen RD, Webb RP, Schake SA (1997). Use of transgenic plants to study antioxidant defense. *Free Radical Bio Med*, 23: 473–479
- Argüello JM, Eren E, González-Guerrero M (2007). The structure and function of heavy metal transport P_{1B} -ATPases. *Biometals*, 20: 233–248
- Baxter J, Tchieu J, Sussman MR, et al (2003). Genomic comparison of P-type ATPase ion pumps in *Arabidopsis* and rice. *Plant Physiol*, 132: 618–628
- Bhati KK, Sharma S, Aggarwal S, et al (2015). Genome-wide identification and expression characterization of ABC-CC-MRP transporters in hexaploid wheat. *Front Plant Sci*, 6: e488
- Bouton S, Leboeuf E, Mouille G, et al (2002). *Quasimodo1* encodes a putative membrane-bound glycosyltransferase required for normal pectin synthesis and cell adhesion in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 14: 2577–2590
- Bowler C, Van Montagu M, Inzé D (1992). Superoxide dismutase and stress tolerance. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 43: 83–116
- Bozzi AT, Bane LB, Weihofen WA, et al (2016). Conserved methionine dictates substrate preference in Nramp-family divalent metal transporters. *Proc Natl Acad Sci USA*, 113: 10310–10315
- Brunetti P, Zanella L, De Paolis A, et al (2015). Cadmium-inducible expression of the ABC-type transporter *AtABCC3* increases phytochelatin-mediated cadmium tolerance in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 66: 3815–3829

- Cailliatte R, Lapeyre B, Briat JF, et al (2009). The NRAMP6 metal transporter contributes to cadmium toxicity. *Biochem J*, 422: 217–228
- Cao YQ, Nie QK, Gao Y, et al (2018). The studies on cadmium and its chelate related transporters in plants. *Crops*, (3): 15–24 (in Chinese with English abstract) [曹玉巧, 聂庆凯, 高云等(2018). 植物中镉及其螯合物相关转运蛋白研究进展. *作物杂志*, (3): 15–24]
- Chen J, Yang L, Gu J, et al (2015). *MAN3* gene regulates cadmium tolerance through the glutathione-dependent pathway in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol*, 205: 570–582
- Chou TS, Chao YY, Huang WD, et al (2011). Effect of magnesium deficiency on antioxidant status and cadmium toxicity in rice seedlings. *J Plant Physiol*, 168: 1021–1030
- Connolly EL, Fett JP, Guerinot ML (2002). Expression of the IRT1 metal transporter is controlled by metals at the levels of transcript and protein accumulation. *Plant Cell*, 14: 1347–1357
- Das S, Sen M, Saha C, et al (2011). Isolation and expression analysis of partial sequences of heavy metal transporters from *Brassica juncea* by coupling high throughput cloning with a molecular fingerprinting technique. *Planta*, 234: 139–156
- Desbrosses-Fonrouge AG, Voigt K, Schröder A, et al (2005). *Arabidopsis thaliana* MTP1 is a Zn transporter in the vacuolar membrane which mediates Zn detoxification and drives leaf Zn accumulation. *FEBS Lett*, 579: 4165–4174
- Elstner EF (1982). Oxygen activation and oxygen toxicity. *Ann Rev Plant Physiol*, 33: 73–96
- Feng S, Tan J, Zhang Y, et al (2017). Isolation and characterization of a novel cadmium-regulated Yellow Stripe-Like transporter (SnYSL3) in *Solanum nigrum*. *Plant Cell Rep*, 36: 281–296
- Feng ZW, Wang Z, Yang HB, et al (2019). Assessment of cadmium exposure in diets of residents in Xiacheng District, Hangzhou. *Chin J Food Hyg*, 31: 162–166 (in Chinese with English abstract) [冯哲伟, 王峥, 杨海斌等(2019). 杭州市下城区居民主要膳食中镉暴露评估. *中国食品卫生杂志*, 31: 162–166]
- Foyer CH, Descourvières P, Kunert KJ (1994). Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell Environ*, 17: 507–523
- Franzaring J, Fangmeier A, Schlosser S, et al (2019). Cadmium concentrations in German soybeans are elevated in conurbations and in regions dominated by mining and the metal industry. *J Sci Food Agr*, 99: 3711–3715
- Fu S, Lu Y, Zhang X, et al (2019). The ABC transporter ABCG36 is required for cadmium tolerance in rice. *J Exp Bot*, 70: 5909–5918
- Gaillard S, Jacquet H, Vavasseur A, et al (2008). *AtMRP6/AtABCC6*, an ATP-binding cassette transporter gene expressed during early steps of seedling development and up-regulated by cadmium in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol*, 8: 22
- Gao J, Sun L, Yang X, et al (2013). Transcriptomic analysis of cadmium stress response in the heavy metal hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance. *PLOS One*, 8: e64643
- Gisbert C, Ros R, De Haro A, et al (2003). A plant genetically modified that accumulates Pb is especially promising for phytoremediation. *Biochem Bioph Res Co*, 303: 440–445
- Grill E, Löffler S, Winnacker EL, et al (1989). Phytochelatin, the heavy-metal-binding peptides of plants, are synthesized from glutathione by a specific γ -glutamylcysteine dipeptidyl transpeptidase (phytochelatin synthase). *Proc Natl Acad Sci USA*, 86: 6838–6842
- Guo J, Dai X, Xu W, et al (2008). Overexpressing *GSH1* and *AsPCS1* simultaneously increases the tolerance and accumulation of cadmium and arsenic in *Arabidopsis thaliana*. *Chemosphere*, 72: 1020–1026
- Guo JK, Zhou R, Ren XH, et al (2018). Accumulation of Cd in cell wall pectin of tomato plants grown in greenhouse soil of different planting years. *J Agro-Environ Sci*, 37: 45–51 (in Chinese with English abstract) [郭军康, 周冉, 任心豪等(2018). 不同年限设施菜地番茄细胞壁果胶Cd累积的研究. *农业环境科学学报*, 37: 45–51]
- Ha SB, Smith AP, Howden R, et al (1999). Phytochelatin synthase genes from *Arabidopsis* and the yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Plant Cell*, 11: 1153–1163
- Halliwell B (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol*, 141: 312–322
- Han JH, Wan ST, Yu J, et al (2019). Progress on zinc and iron transporter (ZIP) involved in Cd transport in plants. *Plant Physiol J*, 55: 1449–1457 (in Chinese with English abstract) [韩佳慧, 万思涛, 俞娇等(2019). 参与植物体内镉元素转运的植物锌铁转运蛋白ZIP研究进展. *植物生理学报*, 55: 1449–1457]
- He XL (2017). The mechanisms of Fe and P on decreasing cadmium accumulation in plants (dissertation). Hangzhou: Zhejiang University (in Chinese with English abstract) [何小林(2017). 铁、磷营养降低植物Cd积累的机制(学位论文). 杭州: 浙江大学]
- Heiss S, Wachter A, Bogs J, et al (2003). Phytochelatin synthase (PCS) protein is induced in *Brassica juncea* leaves after prolonged Cd exposure. *J Exp Bot*, 54: 1833–1839
- Hirata K, Tsuji N, Miyamoto K (2005). Biosynthetic regulation of phytochelatin, heavy metal-binding peptides. *J Biosci Bioeng*, 100: 593–599

- Hirschi KD (2003). Strike while the ionome is hot: making the most of plant genomic advances. *Trends Biotechnol*, 21: 520–521
- Hirschi KD, Korenkov VD, Wilganowski NL, et al (2000). Expression of *Arabidopsis CAX2* in tobacco. Altered metal accumulation and increased manganese tolerance. *Plant Physiol*, 124: 125–133
- Howden R, Goldsbrough PB, Andersen CR, et al (1995). Cadmium-sensitive, *cad1* mutants of *Arabidopsis thaliana* are phytochelatin deficient. *Plant Physiol*, 107: 1059–1066
- Hussain D, Haydon MJ, Wang Y, et al (2004). P-type ATPase heavy metal transporters with roles in essential zinc homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 16: 1327–1339
- Hwang JU, Song WY, Hong D, et al (2016). Plant ABC transporters enable many unique aspects of a terrestrial plant's lifestyle. *Mol Plant*, 9: 338–355
- Jia H, Wang X, Wei T, et al (2019). Accumulation and fixation of Cd by tomato cell wall pectin under Cd stress. *Environ Exp Bot*, 167: 103829
- Jiang M, Zhang J (2001). Effects of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant Cell Physiol*, 42: 1265–1273
- Kawachi M, Kobae Y, Mimura T, et al (2008). Deletion of a histidine-rich loop of AtMTP1, a vacuolar $\text{Zn}^{2+}/\text{H}^{+}$ antiporter of *Arabidopsis thaliana*, stimulates the transport activity. *J Biol Chem*, 283: 8374–8383
- Kendziorrek M, Klimecka M, Barabasz A, et al (2016). Engineering high Zn in tomato shoots through expression of *AtHMA4* involves tissue-specific modification of endogenous genes. *BMC Genomics*, 17: 625
- Kobae Y, Uemura T, Sato MH, et al (2004). Zinc transporter of *Arabidopsis thaliana* AtMTP1 is localized to vacuolar membranes and implicated in zinc homeostasis. *Plant Cell Physiol*, 45: 1749–1758
- Lang M, Hao M, Fan Q, et al (2011). Functional characterization of *BjCET3* and *BjCET4*, two new cation-efflux transporters from *Brassica juncea* L. *J Exp Bot*, 62: 4467–4480
- Lee S, Moon JS, Ko TS, et al (2003a). Overexpression of *Arabidopsis* phytochelatin synthase paradoxically leads to hypersensitivity to cadmium stress. *Plant Physiol*, 131: 656–663
- Lee S, Petros D, Moon JS, et al (2003b). Higher levels of ectopic expression of *Arabidopsis* phytochelatin synthase do not lead to increased cadmium tolerance and accumulation. *Plant Physiol Bioch*, 41: 903–910
- Li B, Guo SR, Sun J, et al (2012). Effects of exogenous spermidine on cucumber seedling growth and reactive oxygen metabolism under salt stress. *Jiangsu J Agr Sci*, 28: 152–157 (in Chinese with English abstract) [李斌, 郭世荣, 孙锦等(2012). 外源Spd对盐胁迫下黄瓜幼苗生长和活性氧代谢的影响. *江苏农业学报*, 28: 152–157]
- Li D, Xu X, Hu X, et al (2015). Genome-wide analysis and heavy metal-induced expression profiling of the HMA gene family in *Populus trichocarpa*. *Front Plant Sci*, 6: 1149
- Li LZ, Tu C, Wu LH, et al (2017). Pathways of root uptake and membrane transport of Cd^{2+} in the zinc/cadmium hyperaccumulating plant *Sedum plumbizincicola*. *Environ Toxicol Chem*, 36: 1038–1046
- Li Q, Zhang M, Zhang XZ, et al (2019). Accumulation and distribution characteristics of Cd in roots of cadmium-safe rice line at tillering stage. *J Plant Nutr Fert*, 25: 443–452 (in Chinese with English abstract) [李芹, 张曼, 张锡洲等(2019). 水稻镉安全材料分蘖期根部镉积累分布特征. *植物营养与肥料学报*, 25: 443–452]
- Li Y, Dhankher OP, Carreira L, et al (2004). Overexpression of phytochelatin synthase in *Arabidopsis* leads to enhanced arsenic tolerance and cadmium hypersensitivity. *Plant Cell Physiol*, 45: 1787–1797
- Li Y, Qin Y, Xu W, et al (2019). Differences of Cd uptake and expression of *MT* family genes and *NRAMP2* in two varieties of ryegrasses. *Environ Sci Pollut R*, 26: 13738–13745
- Li YK, Tang L, Mao BG, et al (2016). Cloning and bioinformatics analysis of low-affinity cation transporter gene *OsLCT2* in indica rice (*Oryza sativa*). *Mol Plant Breeding*, 14: 1067–1074 (in Chinese with English abstract) [李曜魁, 唐丽, 毛毕刚等(2016). 籼稻低亲和阳离子转运蛋白基因*OsLCT2*的克隆与生物信息学分析. *分子植物育种*, 14: 1067–1074]
- Li ZS, Lu YP, Zhen RG, et al (1997). A new pathway for vacuolar cadmium sequestration in *Saccharomyces cerevisiae*: YCF1-catalyzed transport of bis(glutathionato)cadmium. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94: 42–47
- Liu S, Yang R, Tripathi DK, et al (2018). The interplay between reactive oxygen and nitrogen species contributes in the regulatory mechanism of the nitro-oxidative stress induced by cadmium in *Arabidopsis*. *J Hazard Mater*, 344: 1007–1024
- Liu YJ, Zhang L, Tian XY, et al (2008). The effects of salt stress on endogenous hormones, NADkase and Ca^{2+} -ATPase in leaves of *Puccinellia chinampoensis* seedlings. *Pratacult Sci*, 25: 51–54 (in Chinese with English abstract) [刘延吉, 张蕾, 田晓艳等(2008). 盐胁迫对碱茅幼苗叶片内源激素、NAD激酶及 Ca^{2+} -ATPase的效应. *草业科学*, 25: 51–54]
- Ma CL (2002). Cloning and differential gene expression of *SsAPX*, *SsCAT1* and *SsCAT2* in *Suaeda salsa* in response

- to salt stress (dissertation). Jinan: Shandong Normal University (in Chinese with English abstract) [马长乐(2002). 盐地碱蓬*SsAPX*、*SsCAT1*和*SsCAT2*基因的克隆及盐胁迫下的表达分析(学位论文). 济南: 山东师范大学].
- Ma J, Cai H, He C, et al (2015). A hemicellulose-bound form of silicon inhibits cadmium ion uptake in rice (*Oryza sativa*) cells. *New Phytol*, 206: 1063–1074
- Ma XX (2015). Functional analysis of two zinc transporters from the Zn/Cd hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance (dissertation). Hangzhou: Zhejiang University (in Chinese with English abstract) [马晓晓(2015). 锌/镉超积累植物东南景天(*Sedum alfredii* Hance)两个锌转运蛋白基因的功能研究(学位论文). 杭州: 浙江大学]
- Manara A, Fasani E, Molesini B, et al (2020). The tomato metalloprotease inhibitor I, which interacts with a heavy metal-associated isoprenylated protein, is implicated in plant response to cadmium. *Molecules*, 25: e700
- Mehra RK, Kodati VR, Abdullah R (1995). Chain length-dependent Pb(II)-coordination in phytochelatins. *Biochem Bioph Res Co*, 215: 730–736
- Micheli F (2001). Pectin methylesterases: cell wall enzymes with important roles in plant physiology. *Trends Plant Sci*, 6: 414–419
- Migocka M, Kosieradzka A, Papierniak A, et al (2014). Two metal-tolerance proteins, MTP1 and MTP4, are involved in Zn homeostasis and Cd sequestration in cucumber cells. *J Exp Bot*, 66: 1001–1015
- Migocka M, Papierniak A, Kosieradzka A, et al (2015). Cucumber metal tolerance protein CsMTP9 is a plasma membrane H^+ -coupled antiporter involved in the Mn^{2+} and Cd^{2+} efflux from root cells. *Plant J*, 84: 1045–1058
- Milner MJ, Seamon J, Craft E, et al (2013). Transport properties of members of the ZIP family in plants and their role in Zn and Mn homeostasis. *J Exp Bot*, 64: 369–381
- Morel M, Crouzet J, Gravot A, et al (2009). AtHMA3, a P_{1B} -ATPase allowing Cd/Zn/Co/Pb vacuolar storage in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 149: 894–904
- Muhammad T, Zhang J, Ma Y, et al (2019). Overexpression of a mitogen-activated protein kinase *SLMAPK3* positively regulates tomato tolerance to cadmium and drought stress. *Molecules*, 24: e556
- Oomen RJFJ, Wu J, Lelièvre F, et al (2009). Functional characterization of NRAMP3 and NRAMP4 from the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *New Phytol*, 181: 637–650
- Park J, Song WY, Ko D, et al (2012). The phytochelatin transporters AtABCC1 and AtABCC2 mediate tolerance to cadmium and mercury. *Plant J*, 69: 278–288
- Paynel F, Schaumann A, Arkoun M, et al (2009). Temporal regulation of cell-wall pectin methylesterase and peroxidase isoforms in cadmium-treated flax hypocotyl. *Ann Bot*, 104: 1363–1372
- Peiter E, Montanini B, Gobert A, et al (2007). A secretory pathway-localized cation diffusion facilitator confers plant manganese tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: 8532–8537
- Persans MW, Nieman K, Salt DE (2001). Functional activity and role of cation-efflux family members in Ni hyperaccumulation in *Thlaspi goesingense*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 9995–10000
- Pomponi M, Censi V, Di Girolamo V, et al (2005). Overexpression of *Arabidopsis* phytochelatin synthase in tobacco plants enhances Cd^{2+} tolerance and accumulation but not translocation to the shoot. *Planta*, 223: 180–190
- Qin YS, Tang W, Zhou FH, et al (2019). Cadmium pollution and its exposure assessment of vegetables sold in Guangxi in 2018. *J Food Safe Qual*, 10: 3952–3956 (in Chinese with English abstract) [覃艳淑, 唐文, 周芳华等 (2019). 2018年广西市售蔬菜镉污染现状及其暴露评估. *食品安全质量检测学报*, 10: 3952–3956]
- Sasaki A, Yamaji N, Ma JF (2014). Overexpression of *OsHMA3* enhances Cd tolerance and expression of Zn transporter genes in rice. *J Exp Bot*, 65: 6013–6021
- Sasaki A, Yamaji N, Yokosho K, et al (2012). Nramp5 is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice. *Plant Cell*, 24: 2155–2167
- Satoh-Nagasawa N, Mori M, Nakazawa N, et al (2012). Mutations in rice (*Oryza sativa*) heavy metal ATPase 2 (*OsHMA2*) restrict the translocation of zinc and cadmium. *Plant Cell Physiol*, 53: 213–224
- Sauge-Merle S, Cuiñé S, Carrier P, et al (2003). Enhanced toxic metal accumulation in engineered bacterial cells expressing *Arabidopsis thaliana* phytochelatin synthase. *Appl Environ Microb*, 69: 490–494
- Schmohl N, Pilling J, Fisahn J, et al (2000). Pectin methylesterase modulates aluminium sensitivity in *Zea mays* and *Solanum tuberosum*. *Physiol Plantarum*, 109: 419–427
- Shah K, Kumar RG, Verma S, et al (2001). Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Sci*, 161: 1135–1144
- Shi MY, Wang SS, Zhang Y, et al (2020). Genome-wide characterization and expression analysis of ATP-binding cassette (ABC) transporters in strawberry reveal the role of FvABCC11 in cadmium tolerance. *Sci Hortic*, 271: e109464
- Shigaki T, Barkla BJ, Miranda-Vergara MC, et al (2005). Identification of a crucial histidine involved in metal transport activity in the *Arabidopsis* cation/ H^+ exchanger CAX1. *J Biol Chem*, 280: 30136–30142

- Si LB (2019). Effects of tea polyphenols on physiological characteristics and antioxidant system related gene expression in wheat under salt stress (dissertation). Lanzhou: Northwest Normal University (in Chinese with English abstract) [司廉邦(2019). 茶多酚对盐胁迫下小麦生理特性及抗氧化系统相关基因表达的影响(学位论文). 兰州: 西北师范大学]
- Song J, Feng SJ, Chen J, et al (2017). A cadmium stress-responsive gene *AtFCI* confers plant tolerance to cadmium toxicity. *BMC Plant Biol*, 17: e187
- Song WY, Sohn EJ, Martinoia E, et al (2003). Engineering tolerance and accumulation of lead and cadmium in transgenic plants. *Nat Biotechnol*, 21: 914–919
- Steffens JC, Hunt DF, Williams BG (1986). Accumulation of non-protein metal-binding polypeptides (γ -glutamyl-cysteinyI)_n-glycine in selected cadmium-resistant tomato cells. *J Biol Chem*, 261: 13879–13882
- Sun M (2010). Characterization and analysis of chelates involved in compartmentation cadmium in rice plants (dissertation). Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences (in Chinese with English abstract) [孙敏(2010). 水稻植株中镉区室化关键螯合物的鉴定与分析(学位论文). 北京: 中国农业科学院]
- Takahashi R, Ishimaru Y, Senoura T, et al (2011). The OsN-RAMP1 iron transporter is involved in Cd accumulation in rice. *J Exp Bot*, 62: 4843–4850
- Takahashi R, Ishimaru Y, Shimo H, et al (2012). The OsH-MA2 transporter is involved in root-to-shoot translocation of Zn and Cd in rice. *Plant Cell Environ*, 35: 1948–1957
- Theodoulou FL, Kerr ID (2015). ABC transporter research: going strong 40 years on. *Biochem Soc T*, 43: 1033–1040
- Thomine S, Lelièvre F, Debarbieux E, et al (2003). AtN-RAMP3, a multispecific vacuolar metal transporter involved in plant responses to iron deficiency. *Plant J*, 34: 685–695
- Tian B, Zhang Y, Jin Z, et al (2017). Role of hydrogen sulfide in the methyl jasmonate response to cadmium stress in foxtail millet. *Front Biosci-Landmark*, 22: 530–538
- Tiwari M, Sharma D, Dwivedi S, et al (2014). Expression in *Arabidopsis* and cellular localization reveal involvement of rice NRAMP, OsNRAMP1, in arsenic transport and tolerance. *Plant Cell Environ*, 37: 140–152
- Uraguchi S, Kamiya T, Clemens S, et al (2014). Characterization of OsLCT1, a cadmium transporter from *indica* rice (*Oryza sativa*). *Physiol Plantarum*, 151: 339–347
- Verrier PJ, Bird D, Burla B, et al (2008). Plant ABC proteins – a unified nomenclature and updated inventory. *Trends Plant Sci*, 13: 151–159
- Wang H, Liu Y, Peng Z, et al (2019). Ectopic expression of poplar ABC transporter PtoABCG36 confers Cd tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Int J Mol Sci*, 20: 3293
- Wang JW, Li Y, Zhang YX, et al (2013). Molecular cloning and characterization of a *Brassica juncea*, yellow stripe-like gene, *BjYSL7*, whose overexpression increases heavy metal tolerance of tobacco. *Plant Cell Rep*, 32: 651–662
- Wang X (2013). Cloning of *LeGSH1* gene and its functional analysis in increasing tomato tolerance to cadmium toxicity (dissertation). Taian, Shandong: Shandong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [王晓(2013). 番茄*LeGSH1*基因的克隆及在耐镉性中的功能分析(学位论文). 山东泰安: 山东农业大学]
- Wang XH, Dai L (2016). Immobilization effect and its physiology and biochemical mechanism of the cadmium in crop roots. *Sci Agr Sin*, 49: 4323–4341 (in Chinese with English abstract) [王兴华, 戴力(2016). 作物根系镉滞留作用及其生理生化机制. 中国农业科学, 49: 4323–4341]
- Wang Y, Gao P, Huang M, et al (2015). Effects of high temperature on the activity and expression of antioxidant enzymes in rice flag leaves during the flowering stage. *Plant Sci J*, 33: 355–361 (in Chinese with English abstract) [王艳, 高鹏, 黄敏等(2015). 高温对水稻开花期剑叶抗氧化酶活性及基因表达的影响. 植物科学学报, 33: 355–361]
- Wojas S, Clemens S, Hennig J, et al (2008). Overexpression of phytochelatin synthase in tobacco: distinctive effects of *AtPCS1* and *CePCS* genes on plant response to cadmium. *J Exp Bot*, 59: 2205–2219
- Wu J, Zhao FJ, Ghandilyan A, et al (2009). Identification and functional analysis of two ZIP metal transporters of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Soil*, 325: 79–95
- Wu Q, Shigaki T, Williams KA, et al (2011). Expression of an *Arabidopsis* $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ antiporter CAX1 variant in petunia enhances cadmium tolerance and accumulation. *J Plant Physiol*, 168: 167–173
- Xu J, Chai T, Zhang Y, et al (2009). The cation-efflux transporter BjCET2 mediates zinc and cadmium accumulation in *Brassica juncea* L. leaves. *Plant Cell Rep*, 28: 1235–1242
- Xu SS, Lin SZ, Lai ZX (2015). Cadmium impairs iron homeostasis in *Arabidopsis thaliana* by increasing the polysaccharide contents and the iron-binding capacity of root cell walls. *Plant Soil*, 392: 71–85
- Yang M (2014). Functional analysis of rice NRAMP genes in Mn and Cd transport (dissertation). Wuhan: Huazhong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [杨猛(2014). 水稻NRAMP家族基因在Mn和Cd转运中的功能研究(学位论文). 武汉: 华中农业大学]

- Yang WY, Sun SS, Gong B, et al (2020). Effects of overexpressing *SISAMS1* on tomato tolerance to cadmium toxicity and antioxidant system. *J Nucl Agr Sci*, 34: 487–496 (in Chinese with English abstract) [杨婉莹, 孙莎莎, 巩彪等(2020). 超表达*SISAMS1*对番茄镉胁迫的缓解效应及抗氧化系统的影响. *核农学报*, 34: 487–496]
- Yang X (2016). The functional analysis of *OsNRAMP6* on rice Cd accumulation (dissertation). Changsha: Hunan Normal University (in Chinese with English abstract) [杨校 (2016). 水稻镉相关基因*OsNRAMP6*的功能研究(学位论文). 长沙: 湖南师范大学]
- Yuan B, Jin XX, Xiao W, et al (2018). Alleviating effect of 2,4-epibrassinolide (2,4-EBL) on tomato seedlings under cadmium (Cd). *Mol Plant Breeding*, 16: 2955–2965 (in Chinese with English abstract) [袁博, 金晓霞, 肖玮等 (2018). 外源表油菜素内酯(2,4-EBL)对镉(Cd)胁迫下番茄幼苗的缓解效应. *分子植物育种*, 16: 2955–2965]
- Yuan L, Yang S, Liu B, et al (2012). Molecular characterization of a rice metal tolerance protein, *OsMTP1*. *Plant Cell Rep*, 31: 67–79
- Zeng L, Zhu T, Gao Y, et al (2017). Effects of Ca addition on the uptake, translocation, and distribution of Cd in *Arabidopsis thaliana*. *Ecotox Environ Safe*, 139: 228–237
- Zhang G, Li YM, Li B, et al (2015). Cloning and expression analysis of a zinc-regulated transporters (ZRT), iron-regulated transporter (IRT)-like protein encoding gene in *Dendrobium officinale*. *China J Chin Mater Med*, 40: 42–47 (in Chinese with English abstract) [张岗, 李依民, 李标等(2015). 铁皮石斛锌铁调控转运蛋白基因的克隆与表达分析. *中国中药杂志*, 40: 42–47]
- Zhang H, Xu W, Guo J, et al (2005). Coordinated responses of phytochelatin and metallothioneins to heavy metals in garlic seedlings. *Plant Sci*, 169: 1059–1065
- Zhang XD, Zhao KX, Yang ZM (2018). Identification of genomic ATP binding cassette ABC transporter genes and Cd-responsive ABCs in *Brassica napus*. *Gene*, 664: 139–151
- Zhang XH, Gao YL, Lin AJ, et al (2003). Role of plant root cell walls in increasing plant resistance to metal ion toxicity. *Asian J Ecotox*, 3: 9–14 (in Chinese with English abstract) [张旭红, 高艳玲, 林爱军等(2003). 植物根系细胞壁在提高植物抵抗金属离子毒性中的作用. *生态毒理学报*, 3: 9–14]
- Zhang YX, Jin L, Feng SS, et al (2013). Effects of Cd on activity and gene expression of antioxidant enzymes in hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. *J Grad Univ Chin Acad Sci*, 30: 11–17 (in Chinese with English abstract) [张玉秀, 金玲, 冯珊珊等(2013). 镉对镉超累积植物龙葵抗氧化酶活性及基因表达的影响. *中国科学院研究生院学报*, 30: 11–17]
- Zhao J, Yang W, Zhang S, et al (2018). Genome-wide association study and candidate gene analysis of rice cadmium accumulation in grain in a diverse rice collection. *Rice*, 11: e61
- Zhao SC, Sun JW, Ma YZ, et al (2008). Effects of cadmium on reactive oxygen species metabolism, activities and gene expressions of superoxide dismutase and catalase in maize (*Zea mays*) seedling. *Sci Agr Sin*, 41: 3025–3032 (in Chinese with English abstract) [赵士诚, 孙静文, 马有志等(2008). 镉对玉米幼苗活性氧代谢、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性及其基因表达的影响. *中国农业科学*, 41: 3025–3032]
- Zhao SP, Zhang YZ, Zhang Q, et al (2015). Differential responses of two tomato cultivars to cadmium stress. *J Plant Nutr Fert*, 21: 1261–1268 (in Chinese with English abstract) [赵首萍, 张永志, 张棋等(2015). 两种基因型番茄对镉胁迫响应差异. *植物营养与肥料学报*, 21: 1261–1268]
- Zhen SJ (2014). The role of cell wall in plant resistance to nutritional stresses and the underlying physiological and molecular mechanisms. *Sci Sin Vitae*, 44: 334–341 (in Chinese with English abstract) [郑绍建(2014). 细胞壁在植物抗营养逆境中的作用及其分子生理机制. *中国科学: 生命科学*, 44: 334–341]
- Zhu XF, Lei GJ, Jiang T, et al (2012). Cell wall polysaccharides are involved in P-deficiency-induced Cd exclusion in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 236: 989–997
- Zhu XF, Wang ZW, Dong F, et al (2013). Exogenous auxin alleviates cadmium toxicity in *Arabidopsis thaliana* by stimulating synthesis of hemicellulose 1 and increasing the cadmium fixation capacity of root cell walls. *J Hazard Mater*, 263: 398–403