

镉胁迫下两种水稻 GSH 和 GST 应答差异的研究

胡延玲¹, 张春华², 居婷¹, 葛滢¹

(1.南京农业大学资源与环境科学学院,江苏 南京 210095;2.南京农业大学生命科学学院分子生物技术示范试验室,江苏 南京 210095)

摘要 还原型谷胱甘肽(GSH)和谷胱甘肽转硫酶(GST)是水稻解毒系统中的重要组成部分。采用水培法研究了耐性不同的两种水稻(特优 559 和 K 优 818)在不同程度镉(Cd)胁迫下 GSH 和 GST 的变化情况。结果表明,Cd 处理导致两种水稻生物量减少、Cd 吸收积累增加,水稻根部 Cd 含量和积累量均高于地上部,但 Cd 从水稻根部向地上部的转运存在明显的种间差异,耐性较弱的特优 559 的 Cd 转移率(S/R)随处理 Cd 浓度提高而上升,而耐性较强的 K 优 818 则恰好相反,将 Cd 更多地钝化在根部。两种水稻 GSH 和 GST 的变化趋势也有所不同,Cd 胁迫使特优 559 的 GSH 含量和 GST 活性显著增加,而 K 优 818 的 GSH 在低浓度 Cd 处理时出现了小幅下降,但其 GST 活性变化与特优 559 相似,根部增幅更为显著。以上结果说明,水稻 GSH 和 GST 在 Cd 解毒和钝化过程中发挥了重要的作用,而且其应答机制存在着一定的基因型差异,这可能与两品种 GST 同工酶的组成、表达和功能不同有关。

关键词 水稻;Cd 胁迫;GSH;GST

中图分类号:Q945.78 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2009)02-0305-06

Differential Responses of GSH and GST in Two Rice Cultivars Under Cd Stress

HU Yan-ling¹, ZHANG Chun-hua², JU Ting¹, GE Ying¹

(1.College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract Reduced glutathione(GSH) and glutathione S-transferase(GST)are important components in the defence system of plants. The conjugation of GSH to a variety of cytotoxic substances is catalyzed by GST. However, the function of GST in the detoxification of heavy metal stress is not well understood. In this study, two rice cultivars (Teyou 559 and Kyou 818)with different Cd tolerance were hydroponically cultured to study the variation of GSH and GST under different Cd treatments(0, 5 and 20 mg·L⁻¹). It was shown that Cd treatment reduced the biomass and increased Cd uptake and accumulation of two rice cultivars. Cadmium content and accumulation in rice roots were higher than those in shoots. However, Cd translocation from roots to shoots differed significantly between the two cultivars. The ratio of Cd concentration in shoots over roots (S/R)increased for the less tolerant Teyou 559 but decreased for the more tolerant Kyou 818 when more Cd was added in the solutions. The variation of GSH content and GST activity also differed for the two cultivars. Cadmium stress significantly promoted GSH and GST in Teyou 559. However, the GSH content of Kyou 818 slightly declined under the low Cd treatment. Nevertheless, its GST activity changed with the similar trend with Teyou 559, and it increased more significantly in roots. The above results revealed that rice GSH and GST play important roles in Cd detoxification and immobilization, and their response mechanisms also exhibited genotypic differences, which may be related to the difference in composition, expression and function of GST isoenzymes in the two rice cultivars.

Keywords rice; Cd stress; GSH; GST

镉(Cd)是一种有毒的重金属元素,易被植物根吸收并转运到地上组织^[1],并通过食物链富集后威胁人类健康。研究表明,Cd 的毒性主要表现在植物体内

活性氧物质(AOS)积累引起的膜脂和蛋白的氧化损伤,以及由此导致的细胞死亡^[2-5]。植物体内存在多种解除 Cd 毒害的机制^[6],其中抗氧化系统能有效清除植物体内产生的 AOS,如单线态氧(¹O₂),羟自由基(OH·),超氧阴离子(O₂⁻)以及 H₂O₂ 等^[7-8],因此在解毒过程中发挥着重要的作用。

在植物抗氧化系统中,还原型谷胱甘肽(GSH)是重要的非酶类抗氧化剂,能清除 AOS,减少氧化胁迫

收稿日期 2008-04-11

基金项目 国家自然科学基金(30700479);中国博士后科研基金(20060390288)

作者简介 胡延玲(1984—),女,硕士生,主要研究方向为植物逆境生理。

通讯联系人 葛滢 E-mail yingge711@njau.edu.cn

迫^[9],此外,它是植物络合素(PC)的前体^[10],能结合细胞内自由态 Cd,将 Cd 转运到液泡或非原生质体,从而解除 Cd 的毒害。GSH 与有毒物质的结合和转运通常需要谷胱甘肽转硫酶(GST)的参与^[11]。植物 GST 有多种类、多功能的特点^[12-13],可催化 GSH 结合过氧化产物^[14]或络合自由态 Cd^[15],也具有谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPOX)的功能,降低细胞中活性氧物质的浓度^[16],因此在植物防御 Cd 胁迫的过程中具有重要的作用。

水稻是一种重要的粮食作物,然而土壤 Cd 污染对稻米品质造成了巨大威胁,控制稻米 Cd 累积已成为国内外的研究热点^[17]。水稻在众多农作物中具有特殊性,即在根系积累很多,但向地上部转运的 Cd 并不多,而且不同基因型差别很大^[18-19]。本课题组的研究结果显示,在 Cd 胁迫下,水稻根部 Cd 含量明显多于地上部,但其干重减少量却比地上部少,而 GSH 的含量和 GST 的活性均显著高于地上部^[20],GSH 和 GST 与 Cd 处理存在明显的剂量-效应关系,由此可知 GSH 和 GST 在解毒过程中发挥了重要作用。有学者认为,GSH 和 GST 参与了 Cd 在植物根部的钝化过程,在 GST 的调控下,GSH 或植物络合素(PC)能与 Cd 结合并转运至液泡,使细胞质中的 Cd 保持在低水平,从而减少 Cd 向地上部的转运^[21-23],但这一观点尚未在水稻上得到证实。为了进一步验证水稻 GSH 和 GST 在降低 Cd 毒害、控制 Cd 转运中的作用,本文在前期品种筛选的基础上^[24],采用耐性和转运差异明显的两个水稻品种,研究了不同 Cd 处理下水稻地上部和根部 GSH 和 GST 的变化情况,并讨论了不同水稻品种 GSH、GST 应答机制的差异。

1 材料与方法

1.1 材料培养

选用特优 559(Cd 耐性较弱、转运较多)和 K 优 818(Cd 耐性较强、转运较少)作为供试水稻品种^[24]。水培营养液参照国际水稻研究所(IRRI)推荐的标准配置。供试 Cd 试剂为分析纯 CdCl₂·2.5H₂O。种子经浸泡、消毒(15%双氧水、30 min)、催芽后用水培养,1 周后换为 1/2 倍浓度的营养液(pH 调至 5.5),每 3 d 更换 1 次。

1.2 胁迫处理

4 叶期时进行 Cd 胁迫,设较低浓度(5 mg·L⁻¹)和较高浓度(20 mg·L⁻¹)两个处理,每处理 3 个重复,并不加 Cd 作为对照,每天更换营养液,5 d 后收获。

1.3 样品处理和测定

1.3.1 干样制备及测定

挑选大小均匀的幼苗 15 株,分别收获地上部和根部,去离子水洗净后用吸水纸吸干。90 °C 杀青 15 min,70 °C 烘 24 h,干样粉碎待测。采用微波消解仪(Milestone Ethos T)消解植物样品,用 ICP-AES(Perkin-Elmer Optimal 2100DV)测定样品 Cd 含量。

1.3.2 GSH、GST 活性和蛋白含量测定

称取 0.5 g 鲜样,加入 3 mL 预冷的 1.0 mmol·L⁻¹ EDTA 溶液,冰浴研磨,匀浆中加入 1:1 的 HClO₄,使终浓度为 0.3 mol·L⁻¹,低温离心(10 000 r·min⁻¹)15 min。上清液 pH 调至 7~8,参照张承圭等^[25]的方法测定 GSH 含量。

称取 0.5 g 鲜样,加入 3 mL 预冷的 0.1 mol·L⁻¹ PBS(pH6.5),冰浴研磨,低温离心(10 000 r·min⁻¹)15 min,残渣加入 1 mL 提取液二次离心 10 min。采用南京建成生物工程研究所试剂盒测定 GST 活性,规定每毫克组织蛋白,在 37 °C 反应 1 min 扣除非酶促反应、使反应体系中 GSH 浓度降低 1 μmol·L⁻¹ 为一个酶活力单位(U)。蛋白质含量采用考马斯亮蓝比色法^[26]。

水稻样品的 GSH、蛋白含量和 GST 活性由酶标仪(TECAN Infinite M200)测定。

1.4 数据统计分析

运用 SPSS 13.0 软件进行数据统计分析。种内差异采用 one-way ANOVA,品种差异采用 Paired-Samples T-test。

2 结果与分析

2.1 Cd 对水稻地上部生物量的影响

由表 1 可见,Cd 胁迫使水稻地上部生物量减少,并且高 Cd(20 mg·L⁻¹)比低 Cd(5 mg·L⁻¹)的抑制作用更加明显,但两种水稻受到的生长抑制程度不同,K 优 818 的耐性较强,在 Cd 浓度高达 20 mg·L⁻¹ 时该品种的地上部干重也没有明显减少(表 1),而特优 559 对 Cd 胁迫较为敏感,在高 Cd 处理下地上部鲜重减少了 47.79%,干重减少了 31.53%,比 K 优 818 相应降幅分别高 22.21%和 25.97%。

2.2 水稻 Cd 含量、累积量和转移率

随着处理 Cd 浓度的增加,两种水稻植株 Cd 含量和累积量都明显提高,处理间差异达极显著(表 2),但水稻地上部 Cd 含量远少于根,根部向地上部转运 Cd 的能力呈现品种差异(表 2)。有趣的是,两种

表 1 Cd 对水稻地上部生物量的影响(g·15 株⁻¹)
Table 1 Effects of Cd on rice shoot biomass(g·15 plant⁻¹)

Cd 处理浓度/mg·L ⁻¹	鲜重/g			干重/g		
	0(CK)	5	20	0(CK)	5	20
特优 559	6.55±0.01a	4.68±0.55b(-28.55)	3.42±0.42c(-47.79)	1.11±0.04a	0.92±0.12b(-17.11)	0.76±0.10b(-31.53)
K 优 818	5.20±0.54a	4.48±0.53ab(-13.85)	3.87±0.19b(-25.58)	0.90±0.07a	0.86±0.09a(-4.44)	0.85±0.05a(-5.56)
种间差异	*	ns	ns	ns	ns	ns

注:同一品种鲜/干重数据后不同字母表示差异显著(P<0.05, LSD 检验),下同。

Different letters after the data of fresh/dry weight of the same cultivar express significant difference(P<0.05, LSD test).The same below.

* 表示相同处理下品种差异显著(P<0.05, Paired-Samples T Test) ns 表示差异不显著,下同。

* significant difference between two cultivars in the same treatment(P<0.05) ns-no significant difference. The same blow.

括号内的数据表示与对照(CK)相比的增减百分数。

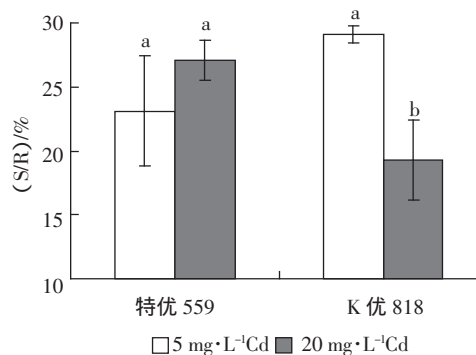
Data in parentheses express increase/decrease percentage compared with control(CK).

水稻 Cd 转移率(地上部和根部 Cd 浓度比, S/R)在不同 Cd 处理下变化情况不同(图 1) 当 Cd 浓度为 5 mg·L⁻¹ 时,特优 559 地上部 Cd 含量、累积量和 S/R 值都低于 K 优 818,而当 Cd 处理达到 20 mg·L⁻¹ 时,特优 559 地上部 Cd 含量和累积量均显著高于 K 优 818, S/R 值为 29.1%,比 K 优 818 高 9.82%(图 1)。这说明在 Cd 胁迫严重时, K 优 818 比特优 559 更有效地将 Cd 钝化在根部,以达到解毒和限制转运的目的。

2.3 水稻 GSH 含量

Cd 胁迫 5 d 后,特优 559 植株体内 GSH 含量随 Cd 浓度增大而明显增加(表 3),低 Cd 胁迫下根部 GSH 含量比对照提高了 59.58%,而高 Cd 胁迫使得 GSH 增加了 3 倍,处理间差异显著(表 3);地上部 GSH 也表现出相同趋势,但增幅不及根部,这与根部

Cd 含量更高、受到的胁迫更强是一致的。无 Cd 胁迫时, K 优 818 植株体内 GSH 含量皆高于特优 559,但



不同字母表示差异显著(P<0.05)
Different letters express significant difference

图 1 不同 Cd 处理下水稻植株 Cd 转移率(S/R)

Figure 1 Cd translocation ratio(S/R)under different Cd treatments

表 2 水稻植株 Cd 含量与累积量

Table 2 Cd content(mg·kg⁻¹ DW)and accumulation(μg·plant⁻¹)in rice seedlings

Cd 处理浓度/mg·L ⁻¹	品种	特优 559		K 优 818		品种差异
		Cd 含量/mg·kg ⁻¹ DW				
Shoot	0(CK)	0 C	0 C	0 C	0 C	ns
	5	105.28± 9.42 B	134.60± 2.98 B			*
	20	291.23± 31.51 A	191.30± 25.18 A			*
Root	0(CK)	0.97± 0.01 C	0.97± 0.01 C			ns
	5	461.69± 46.69 B	462.61± 2.73 B			ns
	20	1073.55± 91.63 A	995.60± 32.33 A			ns
Cd 累积量/μg·plant ⁻¹						
	Shoot	0(CK)	0 C	0 C	0 C	0 C
5		6.39± 0.27 B	7.76± 0.99 B			ns
20		14.58± 1.41 A	10.75± 1.23 A			**
Root	0(CK)	0.02± 0.00 C	0.02± 0.00 C			ns
	5	10.31± 2.22 B	9.33± 0.95 B			ns
	20	17.29± 1.47 A	18.53± 1.62 A			ns

在低 Cd 处理下出现了下降,经 20 mg·L⁻¹ Cd 处理后 GSH 含量虽高于对照但仍比特优 559 低(表 3) 这可能和特优 559 的 Cd 含量更多有关。

2.4 水稻 GST 活性分析

从表 4 数据可以看出,无论对照还是处理,水稻根部 GST 活性都显著高于地上部(表 4),这是因为根部 Cd 含量和累积量更高(表 2),需要表达更多 GST 以缓解毒害。Cd 胁迫下特优 559 水稻体内的解毒酶 GST 活性显著增强,但不同部位变化规律不一样。低 Cd 胁迫后,特优 559 地上部 GST 活性提高了 103.5%,高 Cd 处理则比对照提高了 133.2%,而该品种根部 GST 活性相比对照增幅仅为 12.26%和 47.76%。对照组特优 559 和 K 优 818 根部 Cd 含量均为 0.97 mg·kg⁻¹(表 2),但前者的 GST 活性是后者的两倍多。与特优 559 相比,K 优 818 地上部 GST 活性的增加量较小,而根部 GST 活性则在低 Cd 处理下急剧上升,当 Cd 胁迫进一步增强时又有所下降,但比对照高 74.57%。以上结果说明,Cd 胁迫下两个水稻品种 GST 的响应不同,存在着解毒机制的差异。

2.5 水稻 GSH、GST 与 Cd 相关指标的相关性分析

相关分析(表 5)表明,无论是地上部还是根部,特优 559 植株 GSH 含量和 GST 活性与其他生理指标如 Cd 含量、鲜重和干重都有很好的相关性,其中与 Cd 含量表现出显著或极显著正相关,而与生物量呈显著或极显著的负相关。这表明随着溶液 Cd 浓度增加,特优 559 植株 Cd 含量上升,Cd 胁迫加重,水稻生长受到抑制,而在水稻防御机制中起着重要作用的 GSH 含量和 GST 活性也随之提高,以减轻毒害。而 K

表 5 水稻 GSH、GST 与各生理指标的相关系数

Table 5 Correlation coefficients of GSH and GST with the physiological parameters of rice

项目	特优 559		K 优 818	
	地上部	根部	地上部	根部
Cd vs GSH	0.946**	0.922**	0.282	0.156
Cd vs GST	0.835**	0.715*	0.757*	0.449
干重 vs GSH	-0.891**	—	0.253	—
干重 vs GST	-0.790*	—	-0.394	—
鲜重 vs GSH	-0.929**	—	0.049	—
鲜重 vs GST	-0.894**	—	-0.719*	—

优 818 却没有表现出这种明显的剂量-效应关系,除了地上部 GST 的活性和地上部 Cd 含量及鲜重显著相关外,其余指标与 GSH 和 GST 的相关性均不显著。不过,与特优 559 相比,K 优 818 具有更强的耐性,可见其 GSH 和 GST 协同作用较为复杂,可能存在其他解毒机制。

3 讨论

本试验采用了耐性不同的两个水稻品种,研究了 Cd 的吸收转运与水稻 GSH 含量和 GST 活性的关系,以探讨 GSH 和 GST 在解毒和钝化过程中的作用。从地上部干重数据(表 1)来看,Cd 胁迫下特优 559 的降幅明显高于 K 优 818,表明 K 优 818 具有更强的耐性。植物的耐 Cd 机制包括限制 Cd 的吸收、提高抗氧化物质浓度、增强 Cd 的螯合和区隔化作用等几个方面^[27-29]。在 Cd 处理下,两种水稻根部 Cd 吸收和累积无明显不同(表 2),而 Cd 向地上部的转运存在明显

表 3 Cd 胁迫对水稻 GSH 的影响($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)

Table 3 Effect of Cd exposure on GSH content($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)in rice seedlings

项目	Cd 处理浓度/mg·L ⁻¹					
	Shoot			Root		
	0(CK)	5	20	0(CK)	5	20
特优 559	28.78±1.36c	41.04±5.66b(42.60)	54.86±7.39a(90.62)	15.09±1.60b	24.08±4.95b(59.58)	61.30±7.94a(306.2)
K 优 818	38.94±10.89a	36.77±5.79a(-5.57)	45.32±9.00a(16.38)	47.14±25.71a	34.45±9.79a(-26.92)	52.26±3.64a(10.86)
种间差异	ns	ns	ns	ns	ns	ns

表 4 Cd 胁迫对水稻 GST 活性的影响($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{prot}$)

Table 4 Effect of Cd exposure on the activity of GST($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{prot}$)in rice seedlings

项目	Cd 处理浓度/mg·L ⁻¹					
	Shoot			Root		
	0	5	20	0	5	20
特优 559	51.58±7.80b	104.96±20.88a(103.5)	120.26±4.59a(133.2)	380.99±146.52b	427.70±21.32ab(12.26)	562.96±8.02a(47.76)
K 优 818	71.91±0.24b	81.34±2.59b(13.11)	149.41±33.58a(107.8)	185.49±44.74b	446.90±90.26a(140.9)	323.81±42.72a(74.57)
种间差异	*	ns	ns	ns	ns	**

的品种差异,而且这种差异还与 Cd 处理浓度有关,当 Cd 处理浓度为 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,特优 559 和 K 优 818 的 Cd 转移率分别为 23.1% 和 29.1%,但差异不显著;当 Cd 浓度上升至 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,两个品种的转移率分别为 27.1% 和 19.3%,差异显著(图 1)。特优 559 体内的 GSH 和 GST 与 Cd 含量、干鲜重表现出显著或极显著的相关性,而 K 优 818 只有地上部的 GST 活性和 Cd 含量及鲜重显著相关。这些都说明在不同程度的 Cd 胁迫下,耐性较强的 K 优 818 可能存在着不同的解毒机制。GSH 是细胞中含量较多的抗氧化剂,既可减少活性氧物质,又能螯合自由态 Cd 离子^[30]; GST 则调控 GSH 与有毒物质的结合,促进细胞内 Cd 的区隔化过程,因此 Cd 胁迫下 GSH 和 GST 的变化在一定程度上能解释水稻耐性的种间差异。

在本试验中,两种水稻 GSH 含量的变化具有不同的规律。例如,Cd 胁迫诱导特优 559 植株 GSH 含量升高,而 K 优 818 在低 Cd 处理下却有所下降,根部甚至减少了 26.92%(表 4),说明这两个品种的 GSH 应答机制不一致。造成 K 优 818 植株 GSH 减少的可能原因有以下几种:一是部分 GSH 被合成为 PC,这在 Yan 等^[31]和 Aina 等^[31]的研究中得到了证实;二是 GSH 在 GST 调控下与 Cd 结合^[15],形成 GS-Cd 络合物向液泡转运^[33];三是作为还原底物合成了抗坏血酸^[14]。尽管在不同 Cd 处理下 K 优 818 的 GSH 含量出现了降低或升高,但该品种地上部干重减少量比特优 559 小(表 1),表明除了 GSH 外,该品种水稻还存在其他解除 Cd 毒害的机制。

GST 在植物耐逆性中具有重要的作用,可在多种生物或非生物胁迫条件下被诱导,催化 GSH 与有害物质的结合,并通过 ATP-结合转运酶的作用将聚合物运输至液泡,从而达到解毒的目的^[12]。除此之外,某些 GST 同功酶具有 GPOX 活性,能迅速降解由 AOS 引发的膜脂过氧化产物^[34],减少氧化胁迫引起的损伤。研究表明,Cd 胁迫下 GST 活性显著提高^[14,23,35]。本试验也得到了类似的结果,低浓度 Cd 胁迫下 GST 活性增强,根部尤其明显。两个品种根部 GST 活性远高于地上部,但在 Cd 影响下的变化规律不同,在未受到 Cd 胁迫时,特优 559 的根部 GST 活性是 K 优 818 的 2 倍,说明不同基因型水稻 GST 同功酶的组成和表达可能有所不同,这在其他研究中也有所体现^[14,20,36]。

相对特优 559 而言,K 优 818 的 GST 对 Cd 胁迫更加敏感,在 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 处理下 GST 活性增加了

140.9%,比同处理下特优 559 的 GST 活性还要高,这很可能与 GSH 的下降(表 3)有关。在高 Cd 胁迫下,K 优 818 根部 GST 活性比低 Cd 处理略有下降,但仍远高于对照。与此同时,该品种根部 GSH 含量转而上升,Cd 转移率(S/R)下降,比同浓度下特优 559 的转移率低 9.82%(图 1)。正如 Foyer 等^[34]指出,当一类抗氧化物质被大量消耗后,其他解毒过程就会启动,从而维持细胞的正常状态。因此可以推测,相对于特优 559 而言,K 优 818 可能具备更好的 GSH 和 GST 协同作用机制,从而减少了 Cd 毒害引起的生物量下降。

4 结论

本研究采用耐性不同的两个水稻品种,分析了不同程度 Cd 胁迫下 GSH 和 GST 应答机制的差异,揭示了水稻 GSH 和 GST 在 Cd 解毒和钝化过程中的重要作用。由于水稻 GST 同功酶数目众多,不同的亚类在维持水稻正常代谢、解除污染物毒害、参与信号传导、调控细胞程序性死亡等方面发挥着不同的作用^[11-12,37]。因此,在今后的研究中,需要确定与 Cd 解毒和钝化有关的 GST 同功酶,深入研究它们的功能。显然,这对于揭示耐性水稻的解毒机制、提高水稻抗性、减少稻米 Cd 的积累具有重要的意义。

参考文献:

- [1] Yang M G, Lin X Y, Yang X E. Impact of Cd on growth and nutrient accumulation of different plant species[J]. *Chin J Appl Ecol*, 1998(19): 89-94.
- [2] 徐红霞,翁晓燕,毛伟华,等.镉胁迫对水稻光合、叶绿素荧光特性和能量分配的影响[J].*中国水稻科学*, 2005, 19(4): 338-342.
XU Hong-xia, WENG Xiao-yan, MAO Wei-hua, et al. Effects of cadmium stress on photosynthesis, chlorophyll fluorescence characteristics and excitation energy distribution in leaves of rice[J]. *Chinese J Rice Sci*, 2005, 19(4): 338-342.
- [3] 王贵民,陈国祥,王习达,等.水稻两优培九与汕优 63 苗期 Cd 毒害下抗性差异的研究[J].*农业环境科学学报*, 2004, 23(2): 217-220.
WANG Gui-min, CHEN Guo-xiang, WANG Xi-da, et al. Resistance differences between two cultivars Liangyuipeijiu and shanyou63 under Cd²⁺ stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2004, 23(2): 217-220.
- [4] Shah K, Kumar R G, Verma S, et al. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings[J]. *Plant Sci*, 2001(161): 1135-1144.
- [5] Cristina Pagliano, Marco Raviolo, Francesca Dalla Vecchia, et al. Evidence for PSII donor side damage and photoinhibition induced by cadmium treatment on rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2006(84): 70-78.
- [6] Sanita di Toppi L, Gabbriellini R. Response to cadmium in higher

- plants[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 1999(41) :105-130.
- [7] S Kanazawa, S Sano, T Koshiba, et al. Changes in antioxidative in cucumber cotyledons during natural senescence comparison with those during dark-induced senescence[J]. *Physiol Plant*, 2000(109) :211-216.
- [8] M Becana, D A Dalton, J F Moran, et al. Reactive oxygen species and antioxidants in legume nodules[J]. *Physiol Plant*, 2000(109) :372-381.
- [9] Noctor G, Gomez L, Vanacker H, et al. Interactions between biosynthesis compartmentation and transport in the control of glutathione homeostasis and signaling[J]. *J Exp Bot*, 2002, 53(372) :1283-1304.
- [10] Xiang C, Oliver D J. Glutathione metabolic genes coordinately respond to heavy metals and jasmonic acid in Arabidopsis[J]. *Plant Cell*, 1998, 10(9) :1539-1550.
- [11] Marrs K A. The functions and regulation of glutathione S-transferases in plants[J]. *Annu Rev Plant Phys Plant Mol Biol*, 1996(47) :127-158.
- [12] Edwards R, Dixon D P, Walbot V. Plant glutathione S-transferases: enzymes with multiple functions in sickness and in health[J]. *Trends in Plant Science*, 2000(5) :193-198.
- [13] Wagner U, Edwards R, Dixon D P, et al. Probing the diversity of the Arabidopsis glutathione S-transferase gene family[J]. *Plant Molecular Biology*, 2002(49) :515-532.
- [14] Dixit V, Pandey V, Shyam R. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad)[J]. *J Exp Bot*, 2001(52) :1101-1109.
- [15] Adams P D B, Gomes D S, Pinto M L C C, et al. The role of glutathione transferases in cadmium stress[J]. *Toxicol Lett*, 2004(154) :81-88.
- [16] Kilili K G, Atanassova N, Vardanyan A, et al. Differential roles of tau class glutathione S-transferases in oxidative stress[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004(279) :24540-24551.
- [17] 程旺大, 姚海根, 张国平, 等. 镉胁迫对水稻生长和营养代谢的影响[J]. *中国农业科学*, 2005, 38(3) :528-537.
CHENG Wang-da, YAO Hai-gen, ZHANG Guo-ping, et al. Effect of cadmium on growth and nutrition metabolism in rice[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(3) :528-537.
- [18] 王凯荣, 龚惠群. 两种基因型水稻对环境 Cd 吸收与再分配差异性比较研究[J]. *农业环境保护*, 1996, 15(4) :145-149, 176.
WANG Kai-rong, GONG Hui-qun. Comparative studies on the difference of the uptake and redistribution of environmental Cd by two genic rice[J]. *Agro-Environmental Protection*, 1996, 15(4) :145-149, 176.
- [19] 宋阿琳, 姜运生, 梁永超. 不同水稻品种对铜镉的吸收与耐性研究[J]. *中国农学通报*, 2006, 22(9) :408-411.
SONG A-lin, LOU Yun-sheng, LIANG Yong-chao, et al. Research on copper and cadmium uptake and tolerance in different rice varieties[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2006, 22(9) :408-411.
- [20] ZHANG Chun-hua, GE Ying. Response of glutathione and glutathione S-transferase in rice seedlings exposed to cadmium stress[J]. *Rice Science*, 2008, 15(1) :73-76.
- [21] 蔡保松, 张国平. 大、小麦对镉的吸收、运输及在籽粒中的积累[J]. *麦类作物学报*, 2002, 22(3) :82-86.
CAI Bao-song, ZHANG Guo-ping. Cadmium absorption and mobilization in barley and wheat plants and its accumulation in grains[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2002, 22(3) :82-86.
- [22] Marrs K A, Walbot V. Expression and RNA splicing of the maize glutathione S-transferase Bronze2 gene is regulated by cadmium and other stresses[J]. *Plant Physiol*, 1997(113) :93-102.
- [23] Iannelli M A, Pietrini F, Fiore L, et al. Antioxidant response to cadmium in Phragmites australis plants[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2002(40) :977-982.
- [24] 居婷, 张春华, 胡延玲, 等. 水稻对镉的吸收转运与耐性的关系研究[J]. *安徽农业学报*, 2008, 36(9) :3506-3508.
JU Ting, ZHANG Chun-hua, HU Yan-ling, et al. Studies on the relationship among cadmium absorption, translocation and tolerance in rice[J]. *Journal of Anhui Agri Sci*, 2008, 36(9) :3506-3508.
- [25] 张承圭, 王传怀, 袁玉荪, 等. 生物化学仪器分析及技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 1994: 96.
ZHANG Cheng-gui, WANG Chuan-huai, YUAN Yu-sun, et al. Biochemical instrument analysis and technology[M]. Beijing: Higher education press, 1994: 96.
- [26] Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Anal Biochem*, 1976(72) :248-254.
- [27] R K Mehra, R D Tripath. Phytochelatin and metal tolerance[C]//S B Agrawal, M Agrawal(Eds.). *Environmental Pollution and Plant Responses*. CRC Press, Boca Raton, 2000. 367-382.
- [28] 江行玉, 赵可夫. 植物重金属伤害及其抗性机理[J]. *应用与环境生物学报*, 2001, 7(1) :92-99.
JIANG Xing-yu, ZHAO Ke-fu. Mechanism of heavy metal injury and resistance of plants[J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2001, 7(1) :92-99.
- [29] 张军, 束文圣. 植物对重金属镉的耐受机制[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2006, 32(1) :1-8.
ZHANG Jun, SHU Wen-sheng. Mechanisms of heavy metal cadmium tolerance in plants[J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2006, 32(1) :1-8.
- [30] D D Perrin, A E Watt. Complex formation of zinc and cadmium with glutathione[J]. *Biochem Biophys Acta*, 1971, 230(1) :96-104.
- [31] Yan S, Tsay C, Chen Y. Isolation and characterization of phytochelatin synthase in rice seedlings[J]. *Proc Natl Sci Counc ROC(B)*, 2000, 24(4) :202-207.
- [32] Aina R, Labra M, Fumagalli P, et al. Thiol-peptide level and proteomic changes in response to cadmium toxicity in *Oryza Sativa* L. roots[J]. *Environ Exp Botany*, 2007(59) :381-392.
- [33] Li Z, Lu Y, Zhen R, et al. A new pathway for vacuolar cadmium sequestration in *Saccharomyces cerevisiae* YCF1-catalyzed transport of bis(glutathionato)cadmium[J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1997(94) :42-47.
- [34] Christine H Foyer, Humberto Lopez-Delgado, James F Dat, et al. Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling[J]. *Physiologia Plantarum*, 1997(100) :241-254.
- [35] Mauch F, Dudler R. Differential induction of distinct glutathione S-transferases of wheat by xenobiotics and by pathogen attack[J]. *Plant Physiol*, 1993(102) :1193-1201.
- [36] Deng F, Hatzios K K. Purification and characterization of two glutathione S-transferase isozymes from indica-type rice involved in herbicide detoxification[J]. *Pesticide Biochem Physiol*, 2002b(72) :10-23.
- [37] David P Dixon, Adrian Laphorn, Robert Edwards. Plant glutathione transferases[J]. *Genome Biology*, 2002, 3(3) :reviews 3004.1-reviews 3004.10.