

· 专题论坛 ·

## 水稻镉积累特性的生理和分子机制研究概述

王璐瑶<sup>1,2</sup>, 陈睿<sup>3</sup>, 赵守清<sup>3</sup>, 闫慧莉<sup>1</sup>, 许文秀<sup>1</sup>, 刘若溪<sup>1,2</sup>, 麻密<sup>1</sup>, 虞轶俊<sup>4\*</sup>, 何振艳<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>中国科学院植物研究所北方资源植物重点实验室, 北京 100093; <sup>2</sup>中国科学院大学, 北京 100049

<sup>3</sup>温岭市植保耕肥能源总站, 温岭 317500; <sup>4</sup>浙江省耕地质量与肥料管理总站, 杭州 310000

**摘要** 我国的稻米镉超标对国民身体健康造成严重威胁, 而选育低镉积累的水稻(*Oryza sativa*)品种是降低稻米镉含量行之有效的策略, 因此有必要了解水稻对镉的积累特性及其生理过程和相关功能基因。该文概述了镉在水稻根部的吸收、木质部中的装载与运输、茎节中的分配、叶片中再分配以及籽粒镉积累等过程的生理和分子机制研究进展, 以为低镉水稻的选育和安全生产提供理论参考。

**关键词** 水稻, 镉, 积累, 生理机制, 分子机制

王璐瑶, 陈睿, 赵守清, 闫慧莉, 许文秀, 刘若溪, 麻密, 虞轶俊, 何振艳 (2022). 水稻镉积累特性的生理和分子机制研究概述. 植物学报 57, 236–249.

镉(cadmium, Cd)是一种对动植物具有显著毒性的重金属元素(Hamid et al., 2019), 易被作物吸收, 可通过食物链富集到人体, 产生潜在的健康风险。镉在人体中长期积累会对生殖系统、免疫系统和心血管系统造成损伤, 严重危害人类健康。

水稻(*Oryza sativa*)是我国的第一主粮作物(Li et al., 2018)。Song等(2017)研究表明, 大米在我国膳食镉摄入量中贡献率达58.6%, 远高于其它食物, 且南方人群膳食镉摄入量明显高于北方人群。以湖南为例, 2014–2016年大米镉超标情况调查显示, 546份样品中检测到水稻籽粒镉含量范围为0.17–1.55 mg·kg<sup>-1</sup>, 镉超标率达42.5%–70% (Wang et al., 2016; 徐晶晶等, 2016; 王欣梅等, 2019)。由此可见, 我国的稻米镉超标问题对国民身体健康存在严重威胁。

选育具有低吸收、低积累的水稻品种是降低稻米镉超标风险的经济有效策略(刘维涛和周启星, 2010)。近年来, 科研人员在探究水稻镉积累特性及挖掘优质低镉基因资源等方面开展了大量工作(Clemens, 2019; 郭韬等, 2019; Zhao and Wang, 2020; 潘晨阳等, 2021), 为低镉水稻的分子设计育

种提供了有力支持(李婷等, 2021)。本文综述了水稻镉积累特性的主要生理过程以及镉运输、螯合和转录调控等环节的相关分子机制, 以为培育低镉水稻提供理论参考。

### 1 水稻镉积累特性

水稻易积累镉。Arthur等(2000)根据植物体内镉的积累量, 将植物分为低积累型(如豆科)、中等积累型(如禾本科)和高积累型(如十字花科) 3种类型, 水稻属于中等积累型。有研究表明, 与其它农作物如玉米(*Zea mays*)、小麦(*Triticum aestivum*)和大豆(*Glycine max*)相比, 水稻具有更强的镉积累特性。杨居荣等(1994)对比了水稻、小麦、玉米、萝卜(*Raphanus sativus*)、油菜(*Brassica campestris*)和番茄(*Lycopersicon esculentum*)等14类作物的镉积累情况, 结果显示水稻的单位组织镉吸收量为219.83 μg·g<sup>-1</sup>, 居14种作物之首。李铭红等(2008)分析了农作物对重金属镉的富集特征, 结果表明不同农作物对镉的富集系数大小排序为水稻>大豆>大麦(*Hordeum vulgare*)>玉米>小麦。张蕾等(2017)也发现作物可食部分镉浓

收稿日期: 2021-12-20; 接受日期: 2022-01-20

基金项目: 中国科学院任务/战略性先导科技专项(A类) (No.XDA24010404)、地方横向项目(No.2021C040)、国家自然科学基金(No.32000196)和国家重点研发计划(No.2017YFD0800900)

\* 通讯作者。E-mail: yuyijun0806@163.com; hezhenyan@ibcas.ac.cn

度从大到小为水稻>大豆>小麦>玉米。

水稻由根、茎、叶和籽粒等器官组成,不同器官的镉积累量不同,整体趋势为根系>茎>叶鞘>叶>籽粒。周静等(2018)对48个湖南主栽品种进行盆栽实验,结果显示根系的镉富集系数为5.50–11.06,茎秆为0.30–0.54,叶片为0.22–0.39,糙米为0.03–0.11,总体趋势表现为根系>茎秆>叶片>糙米。严勋等(2019)用含有 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ CdCl}_2$ 的营养土进行水稻盆栽实验,然后测定不同器官的镉含量,结果表明根系、茎、叶鞘、叶和糙米的镉含量分别为15.2–27.2、2.62–3.91、1.23–1.91、1.06–1.71和0.07–0.68  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,总体趋势也表现为根系>茎>叶鞘>叶>糙米。

使用微区X射线荧光光谱仪(micro-X-ray fluorescence spectroscopy, Micro-XRF)和扫描电子显微镜-X射线能谱分析(scanning electron microscopy and X-ray energy dispersive analysis, SEM-EDX)等对镉在根和茎中的原位分布进行观察,发现镉在水稻根尖的分生区和成熟区及根毛中均有积累(Tefera et al., 2020)。横截面扫描结果显示,镉的横向积累随根位置的变化存在差异:在距离根尖10%处镉主要分布在内皮层和外皮层区域;在距根尖30%处镉在内皮层的分布更加集中(Qi et al., 2020)。茎节中的镉含量高于旗叶和稻穗。在茎节I(Node I)中,镉主要分布于大维管组织(enlarge vascular bundle, EVB)的木质部和周围的薄壁细胞桥(parenchyma cell bridge, PCB),其中镉在EVB的木质部中含量较高(Yamaguchi et al., 2012)。在籽粒中,一些品种的镉离子在胚乳中均匀分布,而另一些品种的镉离子主要分布在淀粉胚乳外层和糊粉层(Gu et al., 2020)。

## 2 水稻镉积累的生理机制

水稻镉积累是多细胞、多组织和多器官协同作用的复杂生理过程。水稻镉积累主要包括4个环节:(1)根部对镉的吸收与区隔化;(2)木质部的装载与运输;(3)水稻茎节处对镉的分配;(4)叶片中镉的再分配和籽粒镉积累(Uraguchi and Fujiwara, 2013; Li et al., 2017)。

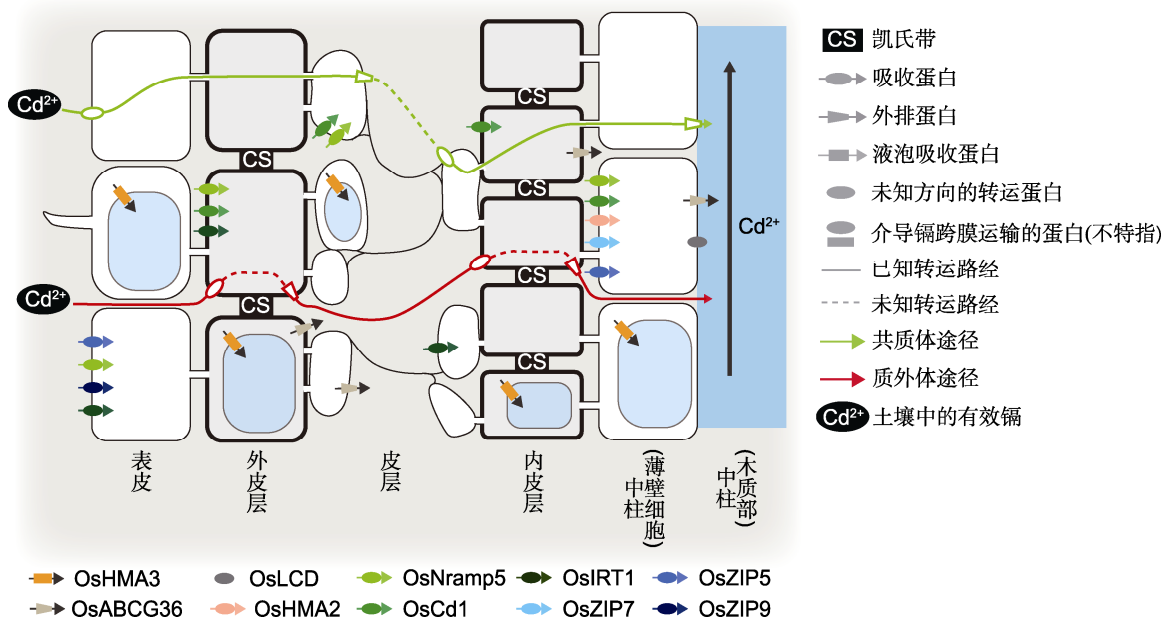
### 2.1 根部对镉的吸收和区隔化

镉在土壤中有多种形态,包括参与构成矿物晶体的镉、附着在次生矿物表面的镉、与土壤中其它物质形成化合物的镉、有机质中包含的镉以及在土壤溶液中

游离的镉等。在上述所有形态中,一部分镉可以被水稻根吸收,其含量随根部周围土样的pH值和有机质状态发生变化,这部分被称为有效态的镉,亦称有效镉(贾沛菡, 2019)。土壤中的有效镉最先与根部的表皮细胞接触。在表皮外存在2层类似防护网的结构,可有效阻碍镉向水稻根内侧流动。一层是由铁和锰形成的“铁膜”,在水稻根的外侧呈斑块状分布,且状态随水稻的不同生育期发生改变(Gu et al., 2020)。铁膜可与镉进行竞争性抑制,从而降低根部对镉的吸收能力(Mao et al., 2019)。另一层是表皮细胞的细胞壁,在细胞壁中含有大量纤维素、半纤维素、果胶和木质素(刘婷, 2017),这些物质可与镉螯合,进而抑制其在根部的移动。

当镉通过铁膜和细胞壁后,经2种途径向根内部移动(Li et al., 2017)。一是共质体途径,镉通过转运蛋白进入细胞内部,随后经胞间连丝在共质体内移动,属于主动运输;另一种是质外体途径,镉离子顺浓度梯度通过细胞间隙移动到内皮层,属于被动运输(Lux et al., 2011)。由于水稻的内、外皮层具有凯氏带,通过质外体途径运输的镉被内、外皮层阻挡(Li et al., 2017),需要通过转运蛋白进入内、外皮层细胞,进一步转运至中柱(图1)。在镉通过细胞膜的转运过程中,镉与其它离子之间的拮抗作用是影响根部吸收镉的因素之一。由于镉离子的半径及核外电子构象与多个植物必需的二价阳离子接近,所以镉会同某些营养元素如锌、铁和锰使用共同通道进入细胞(Conn and Gilliam, 2010; 马卉等, 2019)。目前,多个镉转运蛋白已被证明可以转运其它二价离子。例如,OsNRAMP5同时具有转运锰的能力(Tang et al., 2017); OsNRAMP1同时也是1个铁转运蛋白(Takahashi et al., 2011a); OsZIP1、OsZIP3和OsZIP6都是典型的锌铁转运蛋白(Liu et al., 2019)。金属转运体底物的非特异性导致离子之间相互拮抗,进而影响水稻根部对镉的吸收(马卉等, 2019)。

根部吸收的镉一部分被细胞壁间的螯合物质吸附,另一部分被区隔化到液泡中,从而在根中滞留。Nocito等(2011)的研究表明,镉处理可增强水稻根部对镉的螯合和区隔化能力,从而限制镉由根向地上部转运。随着外界的 $\text{Cd}^{2+}$ 浓度由 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加至 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,根系对镉的滞留能力可从49%增至79%,从而降低镉向水稻地上部的转运比例。



**图1** 水稻根部镉转运蛋白及镉在根中的径向转运示意图(Li et al., 2017; Zhao and Wang, 2020)  
 土壤中游离态的镉可在转运蛋白的协助下经共质体和质外体途径向根部中柱流动, 也可直接扩散至根内并向中柱转移。OsIRT2、OsFWL4、OsZIP1、OsNrap1和OsABCG43在根部表达但组织定位不明确(图中未标注)。

**Figure 1** Schematic of Cd transporters in rice root and its radial transport route (Li et al., 2017; Zhao and Wang, 2020)  
 With the help of transporter, the free Cd in soil can flow to root central column through the symplast and explast pathways, and can also directly diffuse into root and transfer to the central column. OsIRT2, OsFWL4, OsZIP1, OsNrap1 and OsABCG43 are expressed in root, but their tissue localization is not clear (not marked in the figure).

## 2.2 木质部的装载与运输

一部分被根吸收的镉可穿过内外皮层进入维管束向木质部空腔移动, 进入木质部空腔后镉会在根压以及蒸腾拉力的作用下随着木质部汁液运往地上部, 并且木质部空腔内镉的浓度会随着蒸腾速率的变化而改变(刘婷, 2017)。

木质部装载是水稻籽粒镉积累水平的决定性因素之一。Uraguchi等(2009)通过比较不同品种水稻木质部装载能力与地上各器官镉含量的关系, 发现糙米中的镉含量与根部镉积累量无关, 可随着木质部汁液中镉浓度的增加而积累。Ishikawa等(2011)使用正电子发射示踪成像系统(positron-emitting tracer imaging system, PETIS)比较了镉在高积累与低积累水稻品种内部的动态变化, 发现在高积累品种中镉向地上部转运的能力更强, 表明木质部运输在水稻镉积累中发挥重要作用。

## 2.3 茎节对镉的分配

茎节是叶片和茎秆的连接处, 是水稻镉转运的关键部

位(Fujimaki et al., 2010)。现代水稻品种通常含有13–18个茎节, 但在生殖阶段只有上部的4–5个节间伸长, 当根据节点的发展情况从底部对茎节进行编号时, 将使用阿拉伯数字。例如, Node 1、Node 2……Node n; 在生殖生长阶段, 当茎节从上到下编号时, 会使用罗马数字, 例如Node I、Node II……Node n (Yamaji and Ma, 2014)。水稻的每个茎节之间都分布有相互连通的维管束, 茎节内部有3种不同的维管组织类型: (1) 大维管组织(EVB), 包括木质部和韧皮部, 木质部导管的面积较大, 其面积可达相邻维管组织的10倍; (2) 过渡维管组织(transit vascular bundle, TVB), 包括木质部和韧皮部, 无特殊结构; (3) 分散维管组织(diffuse vascular bundle, DVB), 分布在EVB周围, 包括木质部和韧皮部。茎节内的镉可从EVB向DVB转运, 在EVB和DVB之间分布有多层富含胞间连丝的薄壁细胞, 被称为薄壁细胞桥(PCB) (Yamaji and Ma, 2014, 2017)。

根中的镉随液流进入EVB的木质部, 其中一部分镉可通过木质部卸载, 经由PCB介导的横向运输, 以

及DVB的再装载过程进入DVB内; 另一部分镉进入叶片, 在叶片内的镉会再活化, 通过韧皮部回到茎节, 并且通过茎节基部的筛管流入DVB的韧皮部内(图2) (Yamaji and Ma, 2014)。由于韧皮部是镉沉积到籽粒的主要通道, 而且Node I的DVB直接连接到水稻的圆锥花序, 因此镉通过PCB或茎节基部的筛管从EVB向DVB转移对于镉进入籽粒具有重要意义(Uraguchi and Fujiwara, 2013)。

### 2.4 叶片中镉的再分配和籽粒镉积累

灌浆期叶片的镉含量下降, 茎秆和穗中镉含量上升, 暗示水稻成熟期间, 积累在叶片中的镉被重新分配到其它器官(Kashiwagi et al., 2009)。

开花后7-16天是水稻籽粒积累镉的关键时期, 稻米中镉的来源有2个: (1) 营养生长期其它器官内

积累的镉; (2) 生殖生长期根部直接转运的镉。营养生长期积累的镉约占籽粒总镉含量的60%, 生殖生长期积累的镉约占40% (Rodda et al., 2011)。韧皮部是镉向水稻籽粒以及地上其它部位运输的主要途径, 镉主要以螯合物的形态移动(Tanaka et al., 2003)。Tanaka等(2007)通过计算韧皮部对稻米镉积累的贡献率, 发现籽粒中至少有91%的镉来自韧皮部汁液, 表明镉主要经穗部茎节的韧皮组织进入籽粒。

### 3 水稻镉积累的分子机制

水稻镉积累是多基因控制的数量性状, 其调控的分子机制十分复杂, 涉及离子的跨膜运输、镉的螯合及转录调控等多个环节。近年来, 研究人员在揭示水稻镉积累的分子机制上取得了系列进展(表1)。

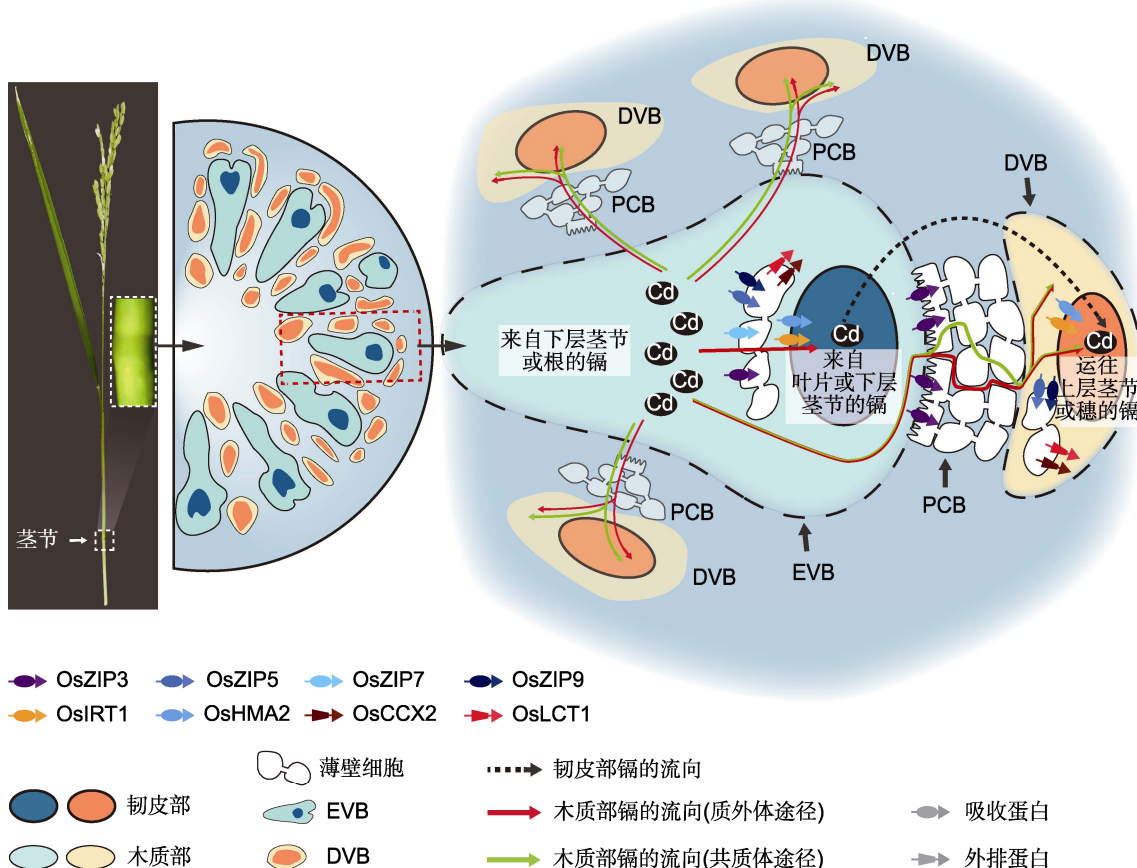


图2 水稻茎节镉转运蛋白及镉在水稻茎节内部的转运示意图(Uraguchi and Fujiwara, 2013; Yamaji and Ma, 2014, 2017)  
 EVB: 大维管组织; DVB: 分散维管组织; PCB: 薄壁细胞桥

Figure 2 Schematic of Cd transporters in rice nodes and transport routes of Cd within nodes in rice (Uraguchi and Fujiwara, 2013; Yamaji and Ma, 2014, 2017)  
 EVB: Enlarge vascular bundle; DVB: Diffuse vascular bundle; PCB: Parenchyma cell bridge

表1 水稻中已报道的镉积累相关基因

Table 1 Cadmium accumulation related genes reported in rice

基因名称	基因ID	主要表达部位	亚细胞定位	参考文献
转运蛋白				
<i>OsNRAMP1</i>	<i>LOC_Os07g15460</i>	根部, 具体组织不明	质膜	Takahashi et al., 2011b
<i>OsNRAMP2</i>	<i>LOC_Os03g11010</i>	幼苗芽中表达, 具体组织不明	液泡膜	Zhao et al., 2018
<i>OsNRAMP5</i>	<i>LOC_Os07g15370</i>	根表皮、外皮层、皮层外侧以及维管束木质部周围组织	质膜	Ishikawa et al., 2012; Ishimaru et al., 2012
<i>OsZIP1</i>	<i>LOC_Os01g74110</i>	根部, 具体组织不明	质膜	Liu et al., 2019
<i>OsZIP3</i>	<i>LOC_Os04g52310</i>	茎节处大维管束周围薄壁细胞	质膜	Sasaki et al., 2015
<i>OsZIP5</i>	<i>LOC_Os05g39560</i>	根表皮和维管束木质部周围薄壁细胞, 茎节大维管束木质部、分散维管束木质部和韧皮部周围薄壁细胞	质膜	Tan et al., 2020
<i>OsZIP6</i>	<i>LOC_Os05g07210</i>	根部和地上部, 具体组织不明	质膜	Kavitha et al., 2015
<i>OsZIP7</i>	<i>LOC_Os05g10940</i>	根中柱内薄壁细胞, 茎节大维管束周围薄壁细胞	质膜	Tan et al., 2019
<i>OsZIP9</i>	<i>LOC_Os05g39540</i>	根表皮, 茎节大维管束木质部、分散维管束木质部和韧皮部周围薄壁细胞	质膜	Tan et al., 2020
<i>OsIRT1</i>	<i>LOC_Os03g46470</i>	根部伸长区表皮和外皮层, 根部成熟区皮层内部; 根中柱韧皮部伴胞; 茎节韧皮部	质膜	Ishimaru et al., 2006; Nakanishi et al., 2006
<i>OsIRT2</i>	<i>LOC_Os03g46454</i>	根部, 具体组织不明	质膜	Nakanishi et al., 2006
<i>OsABCG36</i>	<i>LOC_Os01g42380</i>	根部除表皮外全部组织	质膜	Fu et al., 2019
<i>OsABCG43</i>	<i>LOC_Os07g33780</i>	根部和地上部, 具体组织不明	\	Oda et al., 2011
<i>OsCd1</i>	<i>LOC_Os03g02380</i>	根部全部组织	质膜	Yan et al., 2019
<i>OsHMA2</i>	<i>LOC_Os06g48720</i>	根部中柱鞘, 茎节大维管束和分散维管束的韧皮部	质膜	Yamaji et al., 2013
<i>OsHMA3</i>	<i>LOC_Os07g12900</i>	根部全部组织	液泡膜	Ueno et al., 2010
<i>OsFWL4</i>	<i>LOC_Os03g61440</i>	根、旗叶和叶鞘, 具体组织不详	\	Xiong et al., 2018
<i>OsCCX2</i>	<i>LOC_Os03g45370</i>	茎节分散维管束以及大维管束的薄壁细胞	质膜	Hao et al., 2018
<i>OsLCT1</i>	<i>LOC_Os06g38120</i>	叶片, 第1节节点处大维管束和分散维管束周围的薄壁细胞	质膜	Uraguchi et al., 2011
<i>OsLCD</i>	<i>LOC_Os01g72670</i>	叶片韧皮部伴胞; 根部维管束	细胞质, 细胞核	Shimo et al., 2011
<i>OsMTP1</i>	<i>LOC_Os05g03780</i>	根和茎, 具体组织不明; 叶片特定的筛管细胞	质膜	Yuan et al., 2012
<i>OsPCR1</i>	<i>LOC_Os10g02300</i>	苗期的根部; 生殖期的节间I、节间II和小穗	质膜	Song et al., 2015; Wang et al., 2019
<i>OsPCR3</i>	<i>LOC_Os02g52550</i>	\	\	Wang et al., 2019
螯合蛋白				
<i>CAL1</i>	<i>LOC_Os02g41904</i>	根外皮层和中柱木质部周围薄壁细胞, 叶鞘木质部周围薄壁细胞	\	Luo et al., 2018
<i>OsMTI-1b</i>	<i>LOC_Os03g17870</i>	\	\	Ansarypour and Shahpiri, 2017
<i>OsPCS1</i>	<i>LOC_Os05g34290</i>	\	\	Uraguchi et al., 2017; Das et al., 2017
<i>OsPCS2</i>	<i>LOC_Os06g01260</i>	\	\	Das et al., 2017
<i>OsCDT1</i>	<i>LOC_Os06g05120</i>	根和茎	\	Kuramata et al., 2009
转录调控				
<i>OsNAC3</i>	<i>LOC_Os07g12340</i>	\	\	王宝祥等, 2020
<i>OsNAC300</i>	<i>LOC_Os12g03050</i>	根部, 具体组织不明	\	Hu et al., 2021
<i>OsMYB45</i>	<i>LOC_Os06g45890</i>	叶片、谷壳、雄蕊、雌蕊和侧根	\	Hu et al., 2017
<i>OsHsfA4a</i>	<i>LOC_Os01g54550</i>	\	\	Shim et al., 2009
<i>OsTTA</i>	<i>LOC_Os03g13590</i>	\	\	Tanaka et al., 2018

### 3.1 镉转运的分子机制

镉转运蛋白通常定位于质膜和液泡膜并参与离子的跨膜运输, 可实现植物细胞对镉的吸收、外排以及液泡区隔化等过程, 在水稻镉转运系统中扮演重要角色。目前在水稻的根和茎节等器官已鉴定到多个镉转运相关蛋白(图1)。

#### 3.1.1 根部镉转运蛋白

根部是水稻中镉含量最高的器官(肖美秀等, 2006), 也是镉进入水稻的第一门户。鉴定水稻根部镉转运相关蛋白可为从根部阻控镉进入水稻提供有效途径。目前, 已在水稻根中鉴定到多个转运蛋白家族成员参与镉运输(图1), 如天然抗性相关巨噬蛋白(natural resistance associated macrophage protein, NRAMP)家族、重金属转运ATP酶(heavy metal transporting ATPase, HMA)家族以及锌铁转运蛋白(Zinc-regulated transporters and iron-regulated transporter-like protein, ZIP)家族, 在根部对镉的吸收、区隔化和木质部装载等过程中发挥重要作用。

(1) NRAMP家族 NRAMP家族有2个成员被报道参与镉离子在水稻根中的运输过程。*OsNRAMP1*因缺铁而高度上调, *OsNRAMP1*定位于质膜, 参与根部对镉和铁的吸收, 不同品种间Cd积累的差异由根系中*OsNRAMP1*表达水平的差异造成(Takahashi et al., 2011a, 2011b)。*OsNRAMP5*主要在水稻根部表皮、外皮层、皮层外侧以及木质部周围组织表达, 编码的蛋白定位于质膜, 参与根部对镉的吸收作用, *OsNRAMP5*还可以转运 $Fe^{2+}$ 和 $Mn^{2+}$ 。碳离子束辐照诱变*OsNRAMP5*产生的突变体*osnramp5*根部对镉的吸收明显下降, 导致茎秆和籽粒的镉含量降低(Ishikawa et al., 2012), *OsNRAMP5i* RNAi植株根部锰离子含量降低, 茎秆以及木质部汁液锰离子和铁离子含量下降(Ishimaru et al., 2012)。镉污染稻田试验结果表明, *OsNRAMP5*的CRISPR/Cas9敲除株系, 其根部和地上部镉浓度显著降低, 籽粒镉含量平均降低98%, 同时锰含量下降41% (Tang et al., 2017)。

(2) ZIP家族 ZIP家族包括锌转运调控蛋白(Zn-regulated transporter, ZRT)以及铁转运调控蛋白(iron-regulated transporter-like protein, IRT)两类。在水稻中, *OsZIP1*、*OsZIP5*、*OsZIP7*、*OsZIP9*、

*OsIRT1*和*OsIRT2*均参与根部对镉的转运过程。锌和镉元素具有相似的化学和物理性质, 与其它作物相比, 水稻籽粒中锌的含量较低, 镉的含量较高。研究锌和镉转运的分子机制有助于控制水稻的锌镉平衡, 在保障安全性的同时提高稻米的营养(Tan et al., 2019, 2020)。

在参与根部镉转运的ZIP家族中, *OsZIP1*、*OsZIP5*、*OsZIP7*和*OsZIP9*属于ZRT类。Liu等(2019)发现, *OsZIP1*是一种限制水稻锌、铜和镉过量积累的金属外排转运蛋白。*OsZIP1*在根中大量表达, 在转录和翻译水平上可被过量的锌、铜和镉充分诱导, *OsZIP1*定位于质膜和内质网。过表达*OsZIP1*的转基因水稻在3种元素的胁迫下长势更好, 植株中积累量更少; 而突变体*oszip1*和RNAi植株3种元素在根中积累量增加, 呈现显著敏感表型。在*OsZIP1*的转录区存在H3K9me2的组蛋白修饰, 当水稻受镉胁迫时, 在该基因外显子的246 bp范围内有明显的去甲基化现象, 推测镉胁迫可以通过表观遗传调控机制增强*OsZIP1* mRNA的转录。同年3月, Tan等(2019)报道*OsZIP7*参与锌和镉的转运。*OsZIP7*编码一种质膜定位蛋白, 在根和茎节的维管束薄壁细胞中表达, 在水稻中敲除*OsZIP7*后导致根和茎节的镉滞留, 表明其可能参与根中木质部的装载以及镉在茎节维管束间的转移。Tan等(2020)鉴定了另外2个ZIP家族基因, 发现*OsZIP5*和*OsZIP9*是串联重复基因, 在水稻锌镉转运过程中起协同作用。*OsZIP5*和*OsZIP9*在根表皮均有表达, 编码具有吸收活性的质膜定位蛋白。*OsZIP5*的功能与*OsZIP9*相同, 但作用相对较弱。突变体*oszip5*、*oszip9*或*oszip5/oszip9*的锌/镉积累量降低, 与单突变体相比, 双突变体*oszip5/oszip9*表现出增强的缺锌表型。

*OsIRT1*和*OsIRT2*属于IRT类转运蛋白基因, 编码水稻 $Fe^{2+}$ 转运体, 主要在根中表达(Bughio et al., 2002; Ishimaru et al., 2006)。在水稻生殖阶段, 采用间歇灌溉方式, 稻田释放积水可增强水稻籽粒中镉的积累。池塘水的释放提高了土壤的含氧量, 使得镉溶解度增加, 铁溶解度降低, 这可能是籽粒镉含量增加的原因之一。Nakanishi等(2006)从分子角度进一步解释了这一现象, 通过酵母体系研究发现, 铁转运蛋白*OsIRT1*和*OsIRT2*同时具有镉离子转运活性。水稻缺铁可诱导铁的吸收和转运, 镉在该过程中被

同时吸收和转运,暗示水稻的铁转运系统参与镉的积累过程。

(3) ABC家族 ATP结合盒超家族转运蛋白(ATP-binding cassette transporter superfamily, ABC)是一类在原核生物、植物和动物细胞中均有分布的初级转运蛋白,OsABCG36和OsABCG43参与水稻根部的镉转运。OsABCG36属于ABCG亚家族,又称OsPDR9,介导根部细胞对镉或镉螯合物的外排,对于水稻镉的耐受性起重要作用。受镉诱导后,OsABCG36在根部除表皮以外的组织中表达。OsABCG36定位于质膜,具有外排活性。敲除OsABCG36可增加根细胞汁液中的镉积累,增强镉敏感性,但不影响对其它金属(包括铝、锌、铜和铅)的耐受性(Fu et al., 2019)。OsABCG43同样属于ABCG亚家族,又称OsPDR5,具有镉转运活性。Oda等(2011)通过酵母文库筛选鉴定到可提高酵母镉抗性的基因OsABCG43。OsABCG43在根和地上部均有表达,镉处理可诱导OsABCG43在根中的表达,但具体作用机制不明。

(4) OsCd1基因 主要协同转运蛋白超家族(major facilitator superfamily, MFS)成员OsCd1具有镉转运的功能。OsCd1为镉的次级主动转运蛋白,主要在水稻根的质膜上表达,其缺失可显著降低水稻对镉的吸收效率和籽粒镉积累量,说明该基因参与调控水稻根部镉吸收和籽粒镉积累过程。进一步研究表明,在籼稻和粳稻中,OsCd1基因型出现显著分化,其中OsCd1<sup>V449</sup>主要在粳稻中存在,其镉转运能力显著低于籼稻基因型OsCd1<sup>D449</sup>。田间试验表明,将粳稻基因型OsCd1<sup>V449</sup>导入籼稻品种后,含有OsCd1<sup>V449</sup>的水稻近等基因系籽粒镉含量显著降低,表明OsCd1<sup>V449</sup>基因型在低镉籼稻育种方面具有很大的应用潜力(Yan et al., 2019)。

(5) HMA家族 HMA家族在水稻的镉转运和维持稳态中发挥作用。该家族有2个成员(OsHMA2和OsHMA3)被报道参与水稻根部的镉转运。OsHMA2在根维管束中表达,编码定位于质膜上的吸收蛋白,OsHMA2同时具有转运锌和镉的能力,OsHMA2的突变体叶片中锌和镉的浓度降低,根中锌浓度升高,表明OsHMA2在锌和镉向木质部装载的过程中起作用。OsHMA2过表达水稻籽粒中的镉浓度降低,对培育低镉水稻具有潜在的应用价值(Takahashi et al., 2012)。Ueno等(2010)从一个由高镉积累品种和低镉

积累品种杂交而来的定位群体中分离得到OsHMA3。OsHMA3定位于根部细胞的液泡膜,可选择性地将镉区隔化至根的液泡中,限制镉从根向地上部转移。OsHMA3在低镉品种和高镉品种中表达水平相似,但在酵母突变体 $\Delta ycf1$ 中,低镉品种Nipponbare的OsHMA3n具有功能,高镉品种Anjana Dhan的OsHMA3a则失去功能,这种差异可能是由单一氨基酸突变所致。Miyadate等(2011)证实OsHMA3可以通过调节根部液泡对镉的区隔化影响镉由水稻根向地上部的转移速率。水稻高镉品种CKK(Cho-Ko-Koku)先前被证明具有较强的根向地上部转运率。该性状由位于qCdT7的1个隐性等位基因(OsHMA3mc)控制。由于OsHMA3mc的转运功能丧失,无法介导镉向液泡的运输,使得根部有更多的镉可装载到木质部,导致CKK中镉向地上部转移速率增加。Liu等(2020)发现OsHMA3启动子-683 bp到-557 bp区域存在7个核苷酸的变异,并存在明显的籼粳分化,OsHMA3启动子区的序列变异是控制籼稻和粳稻之间镉积累差异的因素之一。籼稻品种携带OsHMA3低表达等位基因GCC7<sup>93-11</sup>,根部液泡区隔化能力弱,使更少的镉隔离在根部液泡,导致更多的镉向地上部运输;而粳稻品种含OsHMA3高表达等位基因GCC7<sup>PA64s</sup>,根部液泡区隔化能力强,使较多的镉隔离于根部液泡中,导致较少的镉运往地上部。这可能是籼稻籽粒镉积累量高、粳稻籽粒镉积累量低的原因之一。将OsHMA3表达水平高的等位基因GCC7<sup>PA64s</sup>导入93-11背景中能够使籽粒镉浓度降低36.9%,且对包括产量在内的农艺性状无明显影响。

(6) OsFWL4基因 膜蛋白家族(membrane protein family, MPF)成员通常都含有PLAC8结构域CCXXXXCPC或CLXXXXCPC,其成员OsFWL4被报道可能参与水稻的镉转运。在酵母突变体 $\Delta ycf1$ 中表达OsFWL4可增强酵母的抗镉性,OsFWL4的RNAi植株地上部镉含量显著降低,镉从根向地上部的转运减少。上述结果表明,OsFWL4可能直接作为一种转运蛋白,参与镉从水稻根向地上部的转运(Xiong et al., 2018)。

### 3.1.2 茎节镉转运蛋白

镉主要通过韧皮部进入籽粒,茎节是镉由木质部向韧皮部转移的关键部位(Fujimaki et al., 2010),因此

茎节镉代谢分子机制的解析对于培育低镉水稻同样至关重要。已鉴定的茎节镉转运蛋白包括ZIP和植物钙/阳离子转运蛋白超家族(cation/calcium superfamily, CaCA)等。镉在水稻茎节处转运的分子机制见图2。

(1) *OsCCX2*基因 阳离子/钙交换体(cation/Ca exchangers, CCXs)属于CaCA家族, CaCA家族成员可以通过转运 $H^+$ 、 $K^+$ 或 $Na^+$ 实现 $Ca^{2+}$ 的逆浓度梯度跨膜运输。有研究表明, *OsCCX2*可能通过水稻茎节中的钙转运途径参与籽粒的镉积累(Hao et al., 2018)。*OsCCX2*编码质膜定位的外排转运蛋白, 主要在茎节维管组织的木质部区域表达。在突变体*ccx2*中, 籽粒的镉含量下降, 根部和茎节的镉含量显著升高, 且不影响水稻的产量, 表明*OsCCX2*可能参与镉在茎节木质部导管间的转移。*OsCCX2*作为CaCA家族成员, 参与镉在水稻中的转运和积累, 但其具体作用机制尚不清晰。

(2) *OsLCT1*基因 *OsLCT1*属于低亲和力阳离子转运蛋白(low-affinity cation transporter, LCT), 定位于质膜, 具有镉外排活性。在水稻生殖期叶片和茎节中观察到*OsLCT1*强表达, 在Node I的大维管束和茎分散维管束周围可检测到*OsLCT1*的转录本。RNAi敲除*OsLCT1*不影响镉在茎节木质部的转运, 但韧皮部介导的镉转运减少, 表明*OsLCT1*在镉向籽粒运输的茎节韧皮部起作用。*OsLCT1*敲除植株在籽粒中积累的镉约为对照植株的一半, 并且*OsLCT1*对水稻籽粒中其它金属含量和植株生长无显著负面影响(Uraguchi et al., 2011)。

(3) *OsZIP3*基因 *OsZIP3*在水稻的茎节(Node I)中表达, 编码一种典型的锌转运蛋白, *OsZIP3*负责从大维管束木质部卸载锌(Sasaki et al., 2015)。Zheng等(2018)发现*OsZIP3*同时具有转运镉的能力, 但在水稻镉积累中的具体机制仍有待探究。

### 3.1.3 叶片镉转运蛋白

叶片是水稻在生殖生长期前积累矿质元素的重要器官, 水稻进入生殖生长期后, 大量的元素可从叶片经由韧皮部向稻穗转移。镉在水稻中没有特定的转运蛋白, 会随同其它金属元素积累到叶片, 并在生殖生长期再分配到籽粒。籽粒中的镉一部分来自生殖生长期叶片的再分配, 目前已鉴定到2个叶片镉转运蛋白,

但其详细的分子机制还有待深入研究。

(1) *OsLCD*基因 *OsLCD*是新发现的基因, 与其它已知基因不同源。*OsLCD*主要在叶片韧皮部伴胞和根部维管束中表达, 编码的蛋白定位于细胞质和细胞核中。田间试验发现*lcd*突变体抗镉性增强, 籽粒镉含量下降, 2009年籽粒镉含量降低55%, 2010年籽粒镉含量降低43%, 干重和产量与野生型相比无显著差异(Shimo et al., 2011)。

(2) *OsMTP1*基因 阳离子扩散促进子蛋白家族(cation diffusion facilitator, CDF)在细菌、真菌、植物和动物中均有发现, 分为3个亚家族: Zn-CDF、Fe/Zn-CDF和Mn-CDF。它们的结构通常包含4-6个跨膜域(transmembrane domain, TMD), N端和C端均位于胞质内, 其中TMDs I、II、V和VI介导金属离子跨膜运输。在植物中CDF又称金属耐受性蛋白(metal tolerance proteins, MTPs)。*OsMTP1*主要在叶片的维管束中表达, 编码1个定位于细胞膜上的二价阳离子转运蛋白, 对锌、镉和其它重金属的有效转运以及维持植物体内离子稳态是必需的。水稻*OsMTP1*的RNAi株系幼苗对重金属的敏感性增强, 改变了成熟水稻不同器官中重金属的积累(Yuan et al., 2012)。

### 3.1.4 其它转运蛋白

除以上蛋白外, 前人也鉴定到一些蛋白具有镉转运活性, 但由于组织表达和亚细胞定位等实验证据有限, 其在水稻镉积累中的角色仍有待深入解析。

(1) YSL家族 黄色条纹蛋白家族(yellow stripe-like family, YSL)参与铁、锰和铜等金属离子的转运, 镉诱导可使*OsYSL6*、*OsYSL15*和*OsYSL18*的表达量上调, 但其具体功能有待深入研究(Sebastian and Prasad, 2015, 2016; Bari et al., 2021)。

(2) *OsNRAMP2*基因 Zhao等(2018)通过全基因组关联分析(genome-wide association studies, GWAS)鉴定到镉积累性状相关的基因*OsNRAMP2*。*OsNRAMP2*定位于液泡膜, *OsNRAMP2*的氨基酸序列在不同(高低)镉积累材料之间存在差异, 来自低镉积累材料的等位基因可显著增加酵母对镉的敏感性和积累。

(3) *OsZIP6*基因 *OsZIP6*定位于质膜, 参与根部细胞对离子的吸收, 使用膜片钳技术在非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)卵细胞中验证*OsZIP6*的底物包含

铁、钴、镉、锌、锰和镍6种金属离子(Kavitha et al., 2015)。

### 3.2 镉螯合的分子机制

镉在水稻体内有2种形态,分别为游离态和螯合态。其中,游离态的镉会刺激植物体内的NADPH氧化酶,从而产生活性氧(ROS),激活植物的应激反应,对植株造成伤害(Chmielowska-Bak et al., 2014)。在水稻中,镉主要以螯合物的形态移动(Tanaka et al., 2003)。镉离子可与富含半胱氨酸等结构的蛋白结合形成螯合物,进而降低镉的毒性及对细胞的伤害。

(1) *CAL1*基因 *CAL1* (*cadmium accumulation in leaf1*)编码一个富含半胱氨酸且有8个硫醇基团的防御素蛋白(defensin-like protein),在根外皮层和木质部薄壁细胞中表达。*CAL1*通过螯合细胞质中的镉,促进镉分泌到细胞外空间,从而降低细胞质镉浓度,同时通过木质部导管推动镉的远距离运输。*CAL1*对水稻籽粒中镉的积累或其它必需金属元素的积累无明显影响,可为培育双功能水稻品种提供一种有效的分子工具,在修复水稻土的同时生产安全的谷物(Luo et al., 2018; Zhao and Huang, 2018)。

(2) *OsMT1-1b*基因 *OsMT1-1b*是一个金属硫蛋白(metallothioneins, MTs)。MTs是一类普遍存在的低分子量、富含半胱氨酸的蛋白质,为能够被金属诱导的金属螯合蛋白,在维持细胞内金属稳态、消除金属毒性、保护细胞免受氧化损伤等方面发挥重要作用。MTs能够通过其半胱氨酸残基的巯基结合金属离子。植物有几种MT亚型,根据半胱氨酸残基的排列可分为4种类型,MT的I、II、III类蛋白,在其N端和C端区域包含2个富含半胱氨酸的簇,由30–40个残基隔开。第IV类MT称为E<sub>c</sub>型,有3个富含半胱氨酸的簇,每个簇由10–15个残基隔开。*OsMT1-1b*属于I类MT。*OsMT1-1b*的C端富含半胱氨酸,能与Ni<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>和Zn<sup>2+</sup>形成复合物(Malekzadeh and Shahpiri, 2017)。经体外测定,重组蛋白GST-*OsMT1-1b*对镉、镍、锌和铜的亲合力为Ni<sup>2+</sup>/Cd<sup>2+</sup>>Zn<sup>2+</sup>>Cu<sup>2+</sup>(Nezhad et al., 2013)。*OsMT1-1b*可以增强酵母的抗镉性,同时提高酵母细胞中镉的含量(Ansarypour and Shahpiri, 2017),但是其在水稻镉代谢中的作用仍有待探究。

(3) 植物络合素合酶 植物络合素(phytoche-

latins, PCs)广泛存在于植物中,是一类富含半胱氨酸的小分子化合物,在植物抗重金属胁迫过程中发挥重要作用。植物络合素合酶(phytochelatin synthases, PCSs)在PCs的上游发挥作用,*OsPCS1*和*OsPCS2*是水稻中的植物络合素合成酶。*OsPCS1*的T-DNA插入系籽粒中砷的积累增加,镉的积累减少,表明水稻中砷和镉至少存在部分不同的PC依赖途径(Uraguchi et al., 2017)。2017年,Mrinal K. Maiti团队以胚乳特异的方式进行内含子发夹RNA介导的*OsPCS*基因沉默,有效下调了*OsPCS1*和*OsPCS2*的表达,籽粒中镉的含量下降约51%,砷的含量下降约35%(Das et al., 2017)。Hayashi等(2020)构建了*OsPCS1*和*OsPCS2*的嵌合蛋白(*OsPCS2*的183个C端氨基酸被*OsPCS1*的185个C端氨基酸取代),并进行体外植物络合素合成实验,发现嵌合蛋白对亚砷酸盐的反应强于镉。

(4) *OsCDT1*基因 *OsCDT1* (*Oryza sativa cadmium tolerance1*)编码一种富含半胱氨酸的蛋白,其在酵母中异源表达可显著降低酵母体内的镉含量。在拟南芥中异源表达*OsCDT1*可显著增强转基因材料对镉的抗性。*OsCDT1*可能具有直接结合镉的能力,但其在水稻中的分子机制仍不清晰(Kuramata et al., 2009)。

### 3.3 镉响应的转录调控机制

转录调控是基因表达的关键步骤,转录因子在其中发挥重要作用。转录因子通过调控水稻中镉相关基因的时空表达参与水稻对镉的响应。目前鉴定到部分转录因子可能参与水稻对镉的响应。

(1) NAC家族 NAC (no apical meristem, NAM; *Arabidopsis* transcription activation factor, ATAF; cup-shaped cotyledon, CUC)转录因子是植物特有的转录因子家族,参与植物的多种逆境反应。NAC家族蛋白的N端存在保守的结构域,可与DNA结合并参与转录因子在细胞核的定位,C端是结构可以变化的转录调控区。*OsNAC3*是一个水稻耐镉转录调控因子,可提高镉敏感菌*Δycf1*耐性。水稻*OsNAC3*的T-DNA插入突变体*nac3*耐镉能力降低,并且*OsNAC3*可使烟草(*Nicotiana tabacum*)叶片对镉的抗性增强,推测转录因子*OsNAC3*参与水稻对镉胁迫的应答(王宝祥等, 2020)。*OsNAC300*在根中表达且受镉诱导,过表

达株系的抗镉性增强, 缺失突变体的抗镉性减弱, 表明其在水稻耐镉中发挥作用。RNA-seq、荧光素酶和ChIP-qPCR研究表明, *OsCHS1*、*OsPR10a*和*OsPR10b*可能受*OsNAC300*基因调控。其中, *OsCHS1*参与类黄酮的合成, 可以降低ROS水平, 减轻镉胁迫对细胞的伤害; *OsPR10a*和*OsPR10b*可增强水稻对生物胁迫和非生物胁迫的耐受性(Hu et al., 2021)。

(2) *OsMYB45* 基因 MYB (v-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog)是植物中典型的转录因子家族, 包含负责结合DNA的MYB结构域。该结构域的氨基酸序列组合有4种, MYB家族被划分为1R-MYB、R2R3-MYB、R1R2R3-MYB和R1R2R3R4-MYB四类。*OsMYB45*属于1R-MYB, 在水稻对镉胁迫的耐受性中起重要作用。*OsMYB45*在水稻叶片、外壳、雄蕊、雌蕊和侧根中高度表达, 受镉胁迫诱导。*osmyb45*突变体在镉处理后表现为老叶坏死和株高变矮, 叶片中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的含量升高、过氧化氢酶活性降低, 推测*OsMYB45*可能参与细胞内过氧化物的清除过程, 进而减弱镉离子对细胞造成的伤害, 提高植株抗镉性(Hu et al., 2017)。

(3) *OsHsfA4a*基因 *OsHsfA4a*是水稻的热休克转录因子(heat shock transcription factors, Hsfs)。当*OsHsfA4a*的表达量下降时水稻的耐镉性降低。进一步研究表明, *OsHsfA4a*可能通过诱导水稻根部的金属硫蛋白的表达来提高水稻的抗镉性, 但具体机制有待深入研究(Shim et al., 2009)。

(4) *OsTTA*基因 *OsTTA*是从水稻突变体*lc5* (*low cadmium 5*)中鉴定到的PHD-finger (plant homeodomain-finger)家族转录因子, 可以调节金属转运蛋白的转录。在突变体中, *OsNramp1*、*OsZIP1*和*OsIRT1*的表达量下降, 突变体中包括镉在内的多种二价金属离子浓度降低(Tanaka et al., 2018)。

## 4 展望

近30年来, 众多研究团队致力于解析水稻镉积累的生理过程及其相关分子元件, 有助于全面了解镉从土壤向水稻籽粒转移和积累的机制, 为进一步培育低镉水稻品种奠定了重要理论基础(黄新元和赵方杰, 2018; 安婷婷等, 2021)。研究人员开发了多种方法, 如XRF和PETIS使得镉在水稻体内运输以及在不同

组织内的分布可视化; 利用正向遗传学和反向遗传学鉴定了多个参与水稻籽粒镉积累的重要基因, 如*OsNRAMP5*、*CAL1*、*OsCd1*和*OsHMA3*。

围绕低镉水稻品种的培育, 利用水稻镉积累分子元件可开展如下研究: (1) 调节根部镉转运蛋白(如*OsCd1*、*OsNRAMP5*和*OsABCG36*)的活性或基因表达水平, 以降低水稻根部对镉的吸收能力; (2) 挖掘根部液泡区隔化、木质部装载和细胞壁发育等相关基因(如*OsHMA3*), 增强根部对镉的滞留能力; (3) 利用茎节镉转运生理机制及功能基因(如*OsLCT1*和*OsZIP3*), 降低镉在茎节内不同维管束之间的转运能力; (4) 解析叶片镉转运蛋白(如*OsLCD*), 提升叶片对镉的储存能力; (5) 利用螯合蛋白(如*CAL1*、*OsPCS1*和*OsPCS2*), 辅助提升水稻液泡对镉的隔离能力。

由于水稻镉积累过程极其复杂, 其分子机制仍有待深入探究。前期的研究主要集中于揭示单基因的功能, 而水稻镉积累性状受多基因协同调控, 因此需结合上下游与表观调控等解析水稻镉积累的调控网络, 进而与其它性状的分子通路相关联, 将有助于培育优质、安全、高产和抗病等综合性状优良的水稻品种。

## 参考文献

- 安婷婷, 黄帝, 王浩, 张一, 陈应龙 (2021). 植物响应镉胁迫的生理生化机制研究进展. 植物学报 56, 347–362.
- 郭韬, 余泓, 邱杰, 李家洋, 韩斌, 林鸿宣 (2019). 中国水稻遗传学研究进展与分子设计育种. 中国科学: 生命科学 49, 1185–1212.
- 黄新元, 赵方杰 (2018). 植物防御素调控水稻镉积累的新机制. 植物学报 53, 451–455.
- 贾沛菡 (2019). 水稻对镉的吸收受不同介质条件与生育期的影响及其与籽粒积累镉的关系. 硕士论文. 杭州: 浙江大学. pp. 1–103.
- 李铭红, 李侠, 宋瑞生 (2008). 受污农田中农作物对重金属镉的富集特征研究. 中国生态农业学报 16, 675–679.
- 李婷, 胡敏骏, 徐君, 蒋玉根, 闫慧莉, 虞轶俊, 何振艳 (2021). 镉低积累水稻品种选育研究进展. 中国农业科技导报 23(11), 36–46.
- 刘婷 (2017). 镉在不同基因型水稻根系的分布及转运特征. 硕士论文. 杭州: 浙江大学. pp. 1–85.
- 刘维涛, 周启星 (2010). 重金属污染预防品种的筛选与培育. 生态环境学报 19, 1452–1458.

- 马卉, 焦小雨, 许学, 李娟, 倪大虎, 许蓉芳, 王钰, 汪秀峰 (2020). 水稻重金属镉代谢的生理和分子机制研究进展. 作物杂志 (1), 1–8.
- 潘晨阳, 叶涵斐, 周维永, 王盛, 李梦佳, 路梅, 李三峰, 朱旭东, 王跃星, 饶玉春, 戴高兴 (2021). 水稻籽粒镉积累QTL定位及候选基因分析. 植物学报 56, 25–32.
- 王宝祥, 谭明普, 刘艳, 徐大勇, 郑青松, 赵海燕, 张杰 (2020). 水稻转录因子OsNAC3在提高植物耐镉能力中的应用. 中国专利, CN111041035A. 2020-04-21.
- 王欣梅, 肖革新, 曹贤文, 梁进军, 吴少伟 (2019). 湖南省大米中镉污染风险监测现状分析及应对策略. 环境卫生学杂志 9, 396–400, 404.
- 肖美秀, 林文雄, 陈祥旭, 梁义元 (2006). 镉在水稻体内的分配规律与水稻镉耐性的关系. 中国农学通报 22, 379–381.
- 徐晶晶, 吴波, 张玲妍, 郭书海, 李刚, 李凤梅 (2016). 基于贝叶斯方法的湖南湘潭稻米Cd超标风险评估. 应用生态学报 27, 3221–3227.
- 严勋, 唐杰, 李冰, 王昌全, 徐强, 蔡欣, 付铄岚 (2019). 不同水稻品种对镉积累的差异及其与镉亚细胞分布的关系. 生态毒理学报 14(5), 244–256.
- 杨居荣, 贺建群, 黄翌, 蒋婉茹 (1994). 农作物Cd耐性的种内和种间差异I. 种间差. 应用生态学报 5, 192–196.
- 张蕾, 吴隆坤, 李博睿, 吴思, 王健欣 (2017). 农作物镉积累的品种差异及其机理研究进展. 北方园艺 (2), 184–190.
- 周静, 杨洋, 孟桂元, 马国辉, 陈艳艳 (2018). 不同镉污染土壤下水稻镉富集与转运效率. 生态学杂志 37, 89–94.
- Ansarypour Z, Shahpiri A (2017). Heterologous expression of a rice metallothionein isoform (*OsMTI-1b*) in *Saccharomyces cerevisiae* enhances cadmium, hydrogen peroxide and ethanol tolerance. *Braz J Microbiol* 48, 537–543.
- Arthur EE, Crews EH, Morgan EC (2000). Optimizing plant genetic strategies for minimizing environmental contamination in the food chain. *Int J Phytoremediat* 2, 1–21.
- Bari MA, El-Shehawi AM, Elseehy MM, Naheen NN, Rahman MM, Kabir AH (2021). Molecular characterization and bioinformatics analysis of transporter genes associated with Cd-induced phytotoxicity in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiol Biochem* 167, 438–448.
- Bughio N, Yamaguchi H, Nishizawa NK, Nakanishi H, Mori S (2002). Cloning an iron-regulated metal transporter from rice. *J Exp Bot* 53, 1677–1682.
- Chmielowska-Bak J, Gzyl J, Rucinska-Sobkowiak R, Arasimowicz-Jelonek M, Deckert J (2014). The new insights into cadmium sensing. *Front Plant Sci* 5, 245.
- Clemens S (2019). Safer food through plant science: reducing toxic element accumulation in crops. *J Exp Bot* 70, 5537–5557.
- Conn S, Gilliam M (2010). Comparative physiology of elemental distributions in plants. *Ann Bot* 105, 1081–1102.
- Das N, Bhattacharya S, Bhattacharyya S, Maiti MK (2017). Identification of alternatively spliced transcripts of rice phytochelatin synthase 2 gene *OsPCS2* involved in mitigation of cadmium and arsenic stresses. *Plant Mol Biol* 94, 167–183.
- Fu S, Lu YS, Zhang X, Yang GZ, Chao D, Wang ZG, Shi MX, Chen JG, Chao DY, Li RB, Ma JF, Xia JX (2019). The ABC transporter ABCG36 is required for cadmium tolerance in rice. *J Exp Bot* 70, 5909–5918.
- Fujimaki S, Suzui N, Ishioka NS, Kawachi N, Ito S, Chino M, Nakamura SI (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, 1796–1806.
- Gu Y, Wang P, Zhang S, Dai J, Chen HP, Lombi E, Howard DL, Van Der Ent A, Zhao FJ, Kopittke PM (2020). Chemical speciation and distribution of cadmium in rice grain and implications for bioavailability to humans. *Environ Sci Technol* 54, 12072–12080.
- Hamid Y, Tang L, Yaseen M, Hussain B, Zehra A, Aziz MZ, He ZL, Yang XE (2019). Comparative efficacy of organic and inorganic amendments for cadmium and lead immobilization in contaminated soil under rice-wheat cropping system. *Chemosphere* 214, 259–268.
- Hao XH, Zeng M, Wang J, Zeng ZW, Dai JL, Xie ZJ, Yang YZ, Tian LF, Chen LB, Li DP (2018). A node-expressed transporter *OsCCX2* is involved in grain cadmium accumulation of rice. *Front Plant Sci* 9, 476.
- Hayashi S, Tanikawa H, Kuramata M, Abe T, Ishikawa S (2020). Domain exchange between *Oryza sativa* phytochelatin synthases reveals a region that determines responsiveness to arsenic and heavy metals. *Biochem Biophys Res Commun* 523, 548–553.
- Hu SB, Shinwari KI, Song YXR, Xia JX, Xu H, Du BB, Luo L, Zheng LQ (2021). OsNAC300 positively regulates cadmium stress responses and tolerance in rice roots. *Agronomy* 11, 95.
- Hu SB, Yu Y, Chen QH, Mu GM, Shen ZG, Zheng LQ (2017). *OsMYB45* plays an important role in rice resistance to cadmium stress. *Plant Sci* 264, 1–8.
- Ishikawa S, Ishimaru Y, Igura M, Kuramata M, Abe T,

- Senoura T, Hase Y, Arao T, Nishizawa NK, Nakanishi H (2012). Ion-beam irradiation, gene identification, and marker-assisted breeding in the development of low-cadmium rice. *Proc Natl Acad Sci USA* **109**, 19166–19171.
- Ishikawa S, Suzui N, Ito-Tanabata S, Ishii S, Igura M, Abe T, Kuramata M, Kawachi N, Fujimaki S (2011). Real-time imaging and analysis of differences in cadmium dynamics in rice cultivars (*Oryza sativa*) using positron-emitting  $^{107}\text{Cd}$  tracer. *BMC Plant Biol* **11**, 172.
- Ishimaru Y, Suzuki M, Tsukamoto T, Suzuki K, Nakazono M, Kobayashi T, Wada Y, Watanabe S, Matsuhashi S, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK (2006). Rice plants take up iron as an  $\text{Fe}^{3+}$ -phytosiderophore and as  $\text{Fe}^{2+}$ . *Plant J* **45**, 335–346.
- Ishimaru Y, Takahashi R, Bashir K, Shimo H, Senoura T, Sugimoto K, Ono K, Yano M, Ishikawa S, Arao T, Nakanishi H, Nishizawa NK (2012). Characterizing the role of rice NRAMP5 in manganese, iron and cadmium transport. *Sci Rep* **2**, 286.
- Kashiwagi T, Shindoh K, Hirotsu N, Ishimaru K (2009). Evidence for separate translocation pathways in determining cadmium accumulation in grain and aerial plant parts in rice. *BMC Plant Biol* **9**, 8.
- Kavitha PG, Kuruvilla S, Mathew MK (2015). Functional characterization of a transition metal ion transporter, OsZIP6 from rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiol Biochem* **97**, 165–174.
- Kuramata M, Masuya S, Takahashi Y, Kitagawa E, Inoue C, Ishikawa S, Youssefian S, Kusano T (2009). Novel cysteine-rich peptides from *Digitaria ciliaris* and *Oryza sativa* enhance tolerance to cadmium by limiting its cellular accumulation. *Plant Cell Physiol* **50**, 106–117.
- Li F, Wang JH, Xu L, Wang SX, Zhou MH, Yin JW, Lu AX (2018). Rapid screening of cadmium in rice and identification of geographical origins by spectral method. *Int J Environ Res Public Health* **15**, 312.
- Li H, Luo N, Li YW, Cai QY, Li HY, Mo CH, Wong MH (2017). Cadmium in rice: transport mechanisms, influencing factors, and minimizing measures. *Environ Pollut* **224**, 622–630.
- Liu CL, Gao ZY, Shang LG, Yang CH, Ruan BP, Zeng DL, Guo LB, Zhao FJ, Huang CF, Qian Q (2020). Natural variation in the promoter of *OsHMA3* contributes to differential grain cadmium accumulation between *Indica* and *Japonica* rice. *J Integr Plant Biol* **62**, 314–329.
- Liu XS, Feng SJ, Zhang BQ, Wang MQ, Cao HW, Rono JK, Chen X, Yang ZM (2019). OsZIP1 functions as a metal efflux transporter limiting excess zinc, copper and cadmium accumulation in rice. *BMC Plant Biol* **19**, 283.
- Luo JS, Huang J, Zeng DL, Peng JS, Zhang GB, Ma HL, Guan Y, Yi HY, Fu YL, Han B, Lin HX, Qian Q, Gong JM (2018). A defensin-like protein drives cadmium efflux and allocation in rice. *Nat Commun* **9**, 645.
- Lux A, Martinka M, Vaculik M, White PJ (2011). Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. *J Exp Bot* **62**, 21–37.
- Malekzadeh R, Shahpiri A (2017). Independent metal-thiolate cluster formation in C-terminal Cys-rich region of a rice type 1 metallothionein isoform. *Int J Biol Macromol* **96**, 436–441.
- Mao P, Zhuang P, Li F, McBride MB, Ren WD, Li YX, Li YW, Mo H, Fu HY, Li ZA (2019). Phosphate addition diminishes the efficacy of wollastonite in decreasing Cd uptake by rice (*Oryza sativa* L.) in paddy soil. *Sci Total Environ* **687**, 441–450.
- Miyadate H, Adachi S, Hiraizumi A, Tezuka K, Nakazawa N, Kawamoto T, Katou K, Kodama I, Sakurai K, Takahashi H, Satoh-Nagasawa N, Watanabe A, Fujimura T, Akagi H (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**, 190–199.
- Nakanishi H, Ogawa I, Ishimaru Y, Mori S, Nishizawa NK (2006). Iron deficiency enhances cadmium uptake and translocation mediated by the  $\text{Fe}^{2+}$  transporters OsIRT1 and OsIRT2 in rice. *Soil Sci Plant Nutr* **52**, 464–469.
- Nezhad RM, Shahpiri A, Mirlohi A (2013). Heterologous expression and metal-binding characterization of a type 1 metallothionein isoform (OsMT1-1b) from rice (*Oryza sativa*). *Protein J* **32**, 131–137.
- Nocito FF, Lancilli C, Dendena B, Lucchini G, Sacchi GA (2011). Cadmium retention in rice roots is influenced by cadmium availability, chelation and translocation. *Plant Cell Environ* **34**, 994–1008.
- Oda K, Otani M, Uraguchi S, Akihiro T, Fujiwara T (2011). Rice *ABCG43* is Cd inducible and confers Cd tolerance on yeast. *Biosci Biotechnol Biochem* **75**, 1211–1213.
- Qi XL, Tam NFY, Li WC, Ye ZH (2020). The role of root apoplastic barriers in cadmium translocation and accumulation in cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) with different Cd-accumulating characteristics. *Environ Pollut* **264**, 114736.
- Rodda MS, Li G, Reid RJ (2011). The timing of grain Cd accumulation in rice plants: the relative importance of remobilisation within the plant and root Cd uptake post-

- flowering. *Plant Soil* **347**, 105–114.
- Sasaki A, Yamaji N, Mitani-Ueno N, Kashino M, Ma JF** (2015). A node-localized transporter OsZIP3 is responsible for the preferential distribution of Zn to developing tissues in rice. *Plant J* **84**, 374–384.
- Sebastian A, Prasad MNV** (2015). Operative photo assimilation associated proteome modulations are critical for iron-dependent cadmium tolerance in *Oryza sativa* L. *Protoplasma* **252**, 1375–1386.
- Sebastian A, Prasad MNV** (2016). Iron plaque decreases cadmium accumulation in *Oryza sativa* L. and serves as a source of iron. *Plant Biol* **18**, 1008–1015.
- Shim D, Hwang JU, Lee J, Lee S, Choi Y, An G, Martinoia E, Lee Y** (2009). Orthologs of the class A4 heat shock transcription factor HsfA4a confer cadmium tolerance in wheat and rice. *Plant Cell* **21**, 4031–4043.
- Shimo H, Ishimaru Y, An G, Yamakawa T, Nakanishi H, Nishizawa NK** (2011). *Low cadmium (LCD)*, a novel gene related to cadmium tolerance and accumulation in rice. *J Exp Bot* **62**, 5727–5734.
- Song WY, Lee HS, Jin SR, Ko D, Martinoia E, Lee Y, An G, Ahn SN** (2015). Rice PCR1 influences grain weight and Zn accumulation in grains. *Plant Cell Environ* **38**, 2327–2339.
- Song Y, Wang Y, Mao WF, Sui HX, Yong L, Yang DJ, Jiang DG, Zhang L, Gong YY** (2017). Dietary cadmium exposure assessment among the Chinese population. *PLoS One* **12**, e0177978.
- Takahashi R, Ishimaru Y, Nakanishi H, Nishizawa NK** (2011a). Role of the iron transporter OsNRAMP1 in cadmium uptake and accumulation in rice. *Plant Signal Behav* **6**, 1813–1816.
- Takahashi R, Ishimaru Y, Senoura T, Shimo H, Ishikawa S, Arai T, Nakanishi H, Nishizawa NK** (2011b). The OsNRAMP1 iron transporter is involved in Cd accumulation in rice. *J Exp Bot* **62**, 4843–4850.
- Takahashi R, Ishimaru Y, Shimo H, Ogo Y, Senoura T, Nishizawa NK, Nakanishi H** (2012). The OsHMA2 transporter is involved in root-to-shoot translocation of Zn and Cd in rice. *Plant Cell Environ* **35**, 1948–1957.
- Tan LT, Qu MM, Zhu YX, Peng C, Wang JR, Gao DY, Chen CY** (2020). ZINC TRANSPORTER5 and ZINC TRANSPORTER9 function synergistically in Zinc/Cadmium uptake. *Plant Physiol* **183**, 1235–1249.
- Tan LT, Zhu YX, Fan T, Peng C, Wang JR, Sun L, Chen CY** (2019). *OsZIP7* functions in xylem loading in roots and inter-vascular transfer in nodes to deliver Zn/Cd to grain in rice. *Biochem Biophys Res Commun* **512**, 112–118.
- Tanaka K, Fujimaki S, Fujiwara T, Yoneyama T, Hayashi H** (2003). Cadmium concentrations in the phloem sap of rice plants (*Oryza sativa* L.) treated with a nutrient solution containing cadmium. *Soil Sci Plant Nutr* **49**, 311–313.
- Tanaka K, Fujimaki S, Fujiwara T, Yoneyama T, Hayashi H** (2007). Quantitative estimation of the contribution of the phloem in cadmium transport to grains in rice plants (*Oryza sativa* L.). *Soil Sci Plant Nutr* **53**, 72–77.
- Tanaka N, Uruguchi S, Kajikawa M, Saito A, Ohmori Y, Fujiwara T** (2018). A rice PHD-finger protein OsTITANIA, is a growth regulator that functions through elevating expression of transporter genes for multiple metals. *Plant J* **96**, 997–1006.
- Tang L, Mao BG, Li YK, Lv QM, Zhang LP, Chen CY, He HJ, Wang WP, Zeng XF, Shao Y, Pan YL, Hu YY, Peng Y, Fu XQ, Li HQ, Xia ST, Zhao BR** (2017). Knockout of *OsNramp5* using the CRISPR/Cas9 system produces low Cd-accumulating indica rice without compromising yield. *Sci Rep* **7**, 14438.
- Tefera W, Liu T, Lu LL, Ge J, Webb SM, Seifu W, Tian SK** (2020). Micro-XRF mapping and quantitative assessment of Cd in rice (*Oryza sativa* L.) roots. *Ecotoxicol Environ Saf* **193**, 110245.
- Ueno D, Yamaji N, Kono I, Huang CF, Ando T, Yano M, Ma JF** (2010). Gene limiting cadmium accumulation in rice. *Proc Natl Acad Sci USA* **107**, 16500–16505.
- Uruguchi S, Fujiwara T** (2013). Rice breaks ground for cadmium-free cereals. *Curr Opin Plant Biol* **16**, 328–334.
- Uruguchi S, Kamiya T, Sakamoto T, Kasai K, Sato Y, Nagamura Y, Yoshida A, Kyojuka J, Ishikawa S, Fujiwara T** (2011). Low-affinity cation transporter (*OsLCT1*) regulates cadmium transport into rice grains. *Proc Natl Acad Sci USA* **108**, 20959–20964.
- Uruguchi S, Mori S, Kuramata M, Kawasaki A, Arai 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**, 2677–2688.
- Uruguchi S, Tanaka N, Hofmann C, Abiko K, Ohkama-Ohtsu N, Weber M, Kamiya T, Sone Y, Nakamura R, Takanezawa Y, Kiyono M, Fujiwara T, Clemens S** (2017). Phytochelatin synthase has contrasting effects on cadmium and arsenic accumulation in rice grains. *Plant Cell Physiol* **58**, 1730–1742.
- Wang FJ, Tan HF, Han JH, Zhang YT, He X, Ding YF, Chen ZX, Zhu C** (2019). A novel family of PLAC8 motif-containing/PCR genes mediates Cd tolerance and Cd

- accumulation in rice. *Environ Sci Eur* **31**, 82.
- Wang ME, Chen WP, Peng C** (2016). Risk assessment of Cd polluted paddy soils in the industrial and township areas in Hunan, Southern China. *Chemosphere* **144**, 346–351.
- Xiong WT, Wang P, Yan TZ, Cao BB, Xu J, Liu DF, Luo MZ** (2018). The rice "fruit-weight 2.2-like" gene family member OsFWL4 is involved in the translocation of cadmium from roots to shoots. *Planta* **247**, 1247–1260.
- Yamaguchi N, Ishikawa S, Abe T, Baba K, Arai T, Terada Y** (2012). Role of the node in controlling traffic of cadmium, zinc, and manganese in rice. *J Exp Bot* **63**, 2729–2737.
- Yamaji N, Ma JF** (2014). The node, a hub for mineral nutrient distribution in graminaceous plants. *Trends Plant Sci* **19**, 556–563.
- Yamaji N, Ma JF** (2017). Node-controlled allocation of mineral elements in Poaceae. *Curr Opin Plant Biol* **39**, 18–24.
- Yamaji N, Xia JX, Mitani-Ueno N, Yokosho K, Ma JF** (2013). Preferential delivery of zinc to developing tissues in rice is mediated by P-type heavy metal ATPase OsHMA2. *Plant Physiol* **162**, 927–939.
- Yan HL, Xu WX, Xie JY, Gao YW, Wu LL, Sun L, Feng L, Chen X, Zhang T, Dai CH, Li T, Lin XN, Zhang ZY, Wang XQ, Li FM, Zhu XY, Li JJ, Li ZC, Chen CY, Ma M, Zhang HL, He ZY** (2019). Variation of a major facilitator superfamily gene contributes to differential cadmium accumulation between rice subspecies. *Nat Commun* **10**, 2562.
- Yuan LY, Yang SG, Liu BX, Zhang M, Wu KQ** (2012). Molecular characterization of a rice metal tolerance protein, OsMTP1. *Plant Cell Rep* **31**, 67–79.
- Zhao FJ, Huang XY** (2018). Cadmium phytoremediation: Call Rice CAL1. *Mol Plant* **11**, 640–642.
- Zhao FJ, Wang P** (2020). Arsenic and cadmium accumulation in rice and mitigation strategies. *Plant Soil* **446**, 1–21.
- Zhao JL, Yang W, Zhang SH, Yang TF, Liu Q, Dong JF, Fu H, Mao XX, Liu B** (2018). Genome-wide association study and candidate gene analysis of rice cadmium accumulation in grain in a diverse rice collection. *Rice* **11**, 61.
- Zheng X, Chen L, Li XF** (2018). *Arabidopsis* and rice showed a distinct pattern in ZIPs genes expression profile in response to Cd stress. *Bot Stud* **59**, 22.

## Research Progress of the Physiological and Molecular Mechanisms of Cadmium Accumulation in Rice

Luyao Wang<sup>1,2</sup>, Jian Chen<sup>3</sup>, Shouqing Zhao<sup>3</sup>, Huili Yan<sup>1</sup>, Wenxiu Xu<sup>1</sup>  
Ruoxi Liu<sup>1,2</sup>, Mi Ma<sup>1</sup>, Yijun Yu<sup>4\*</sup>, Zhenyan He<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Plant Resources, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

<sup>2</sup>University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; <sup>3</sup>Wenling Crop Protection and Tillage Fertilizer and Energy Sources Station, Wenling 317500, China; <sup>4</sup>Zhejiang Station for Management of Arable Land Quality and Fertilizer, Hangzhou 310000, China

**Abstract** The wide occurrence of Cadmium (Cd)-contaminated rice in China poses significant public health risk. Breeding rice varieties with low-Cd accumulation is an effective strategy to reduce Cd accumulation in rice grain. It is necessary to understand the characteristics of Cd accumulation in rice, its physiological process and related functional genes. Here, we review the advances in physiological and molecular mechanisms of Cd uptake in roots, loading and translocation in xylem, distribution in nodes, redistribution in leaves, and accumulation in grains, which will provide theoretical reference for breeding and safe production of low-Cd rice.

**Key words** rice, cadmium, accumulation, physiological mechanisms, molecular mechanisms

**Wang LY, Chen J, Zhao SQ, Yan HL, Xu WX, Liu RX, Ma M, Yu YJ, He ZY** (2022). Research progress of the physiological and molecular mechanisms of cadmium accumulation in rice. *Chin Bull Bot* **57**, 236–249.

\* Authors for correspondence. E-mail: yuyijun0806@163.com; hezhenyan@ibcas.ac.cn

(责任编辑: 朱亚娜)