

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20210603001

李慧君, 明荔莉, 张文生. 植物对镉吸收、转运及耐性调控机制研究进展[J]. 生态毒理学报, 2022, 17(2): 86-95

Li H J, Ming L L, Zhang W S. Uptake, translocation and tolerance mechanism of cadmium in plants: A review [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2022, 17(2): 86-95 (in Chinese)

植物对镉吸收、转运及耐性调控机制研究进展

李慧君^{1,3,4}, 明荔莉², 张文生^{1,3,4,*}

1. 北京师范大学天然药物教育部工程研究中心, 北京 100088
2. 拱北海关技术中心, 珠海 519000
3. 地表过程与资源生态国家重点实验室珠海基地, 珠海 519087
4. 北京师范大学中药资源保护与利用北京市重点实验室, 北京 100875

收稿日期: 2021-06-03 录用日期: 2021-08-10

摘要: 随着工农业的发展, 我国土壤镉污染现象普遍。土壤中的镉移动性强、毒性高, 易被植物吸收, 产生毒害效应。为全面了解镉在植物体内的吸收、转运过程及植物镉耐性的分子调控机制, 本文系统综述了植物体内镉吸收、转运的吸收蛋白和排出蛋白的种类、分布及功能, 并对植物镉耐性基因表达的转录因子调控和 microRNA 调控研究进行了总结与展望, 以期对植物对镉的吸收、转运及耐性调控机制研究提供参考。

关键词: 镉; 植物; 吸收; 转运; 耐性

文章编号: 1673-5897(2022)2-086-10 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Uptake, Translocation and Tolerance Mechanism of Cadmium in Plants: A Review

Li Huijun^{1,3,4}, Ming Lili², Zhang Wensheng^{1,3,4,*}

1. Engineering Research Center of Natural Medicine, Ministry of Education, Beijing Normal University, Beijing 100088, China
2. Technical Center of Gongbei Customs District of China, Zhuhai 519000, China
3. Zhuhai Branch of State Key Laboratory of Earth Surface Processes and Resource Ecology, Beijing Normal University, Zhuhai 519087, China
4. Beijing Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Protection and Utilization, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

Received 3 June 2021 accepted 10 August 2021

Abstract: In the development of industry and agriculture in China, cadmium pollution in soil is widespread. Cadmium in soil is highly mobile and toxic, which can be easily absorbed by plants and produce toxic effects to human. In order to fully understand the process of cadmium uptake, transportation and accumulation in plants, the types of absorption proteins and excretion proteins involved in cadmium uptake and transport in plants were systematically reviewed in this paper. Furthermore, the research on the transcription factors and microRNA regulation of cadmium tolerance genes expression in plants was summarized to better understand the molecular mechanism of cadmium tolerance regulation in plants. Finally, the future research direction was discussed in order to provide

基金项目: 国家重点研发计划(2019YFC1803400); 广东省普通高校重点领域专项(2021ZDZX2053)

第一作者: 李慧君(1993—), 女, 博士研究生, 研究方向为土壤重金属污染对药用植物的影响, E-mail: lihj@mail.bnu.edu.cn

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: zws@bnu.edu.cn

some reference for the research on the regulation mechanism of cadmium uptake, transport and tolerance in plants.

Keywords: cadmium; plants; uptake; translocation; tolerance

镉(cadmium, Cd)是自然界中普遍存在的一种重金属元素,具有较高的生物毒性。自然状态下,土壤中 Cd 含量处于较低水平。然而,随着工农业的发展,我国遭受 Cd 污染的土地面积不断增加,农田土壤 Cd 污染尤为突出^[1]。采矿、冶炼、污水灌溉、污泥培肥和磷肥施用等人类活动以及大气沉降是农田土壤 Cd 污染的主要来源。2014 年,我国原环境保护部和原国土资源部公布的《全国土壤污染状况调查公报》数据显示,我国耕地土壤重金属污染点位超标率达 19.4%,其中 Cd 的点位超标率为 7.0%,污染最为严重^[2]。与其他重金属相比,土壤中的 Cd 迁移性较强、生物毒性较高,容易被作物吸收、富集,进入食物链,最终危害人体健康^[3-4]。因此,Cd 污染受到人们的广泛关注。

Cd 是植物生长发育过程中的非必需金属元素。研究表明,Cd 吸收会导致细胞损伤,干扰细胞正常生理代谢过程,影响植物生长发育^[5]。为抵御 Cd 毒害,植物进化出了多种解毒机制,主要包括限制根系 Cd 吸收、阻止 Cd 进入细胞、螯合作用、液泡储存和激活抗氧化防御系统等^[6]。在不断认识植物对 Cd 毒性生理调控的同时,人们开始探索其背后的分子机制。本文围绕植物对 Cd 吸收、转运的吸收蛋白和排出蛋白,以及调控 Cd 耐性基因表达的转录因子和 microRNA 这 4 个方面总结相关研究进展,以为今后相关研究提供参考。

1 植物对镉的吸收、转运 (Uptake, translocation of cadmium in plants)

1.1 镉吸收蛋白

重金属吸收蛋白是 Cd 进入根细胞的主要转运蛋白,一般定位在细胞质膜上,负责将重金属转运至细胞质,包括锌/铁蛋白(ZIP)家族、天然抗性巨噬细胞蛋白(NRAMP)家族和黄色条纹蛋白(YSL)家族等。

ZIP 家族是锌转运蛋白(ZRT)和铁转运蛋白(IRT)家族的总称,优先参与锌(Zn)和铁(Fe)的吸收、转运,同时也参与根系对 Cd 的吸收过程。拟南芥中的 *AtIRT1* 是从植物中克隆出的第一个 ZIP 家族基因,它是缺 Fe 情况下根部诱导的 Fe^{2+} 高亲和吸收蛋白^[7]。目前,已在拟南芥、水稻、苜蓿和大豆等植物中鉴定出了 100 多个 ZIP 家族基因,该家族成员具有广泛的底物特异性,参与 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Cu^{2+} 等多

种金属离子的吸收转运^[8]。Zheng 等^[9]发现 Cd 胁迫下,*AtIRT1* 和 *OsZIP1* 基因表达上调,证明了 *AtIRT1* 和 *OsZIP1* 分别参与拟南芥和水稻根系对 Cd^{2+} 的吸收。在缺铁的情况下,水稻中 *OsIRT1* 和 *OsIRT2* 会促进根部吸收 Cd,且 *OsIRT1* 较 *OsIRT2* 对 Cd 表现出更高的敏感性^[10]。Zn/Cd 超积累植物东南景天能通过位于细胞质膜的 SaZIP4 蛋白超吸收 Zn 和 Cd^[11]。最近,Tan 等^[12]发现,*OsZIP5* 和 *OsZIP9* 协同作用,参与水稻对 Zn 和 Cd 的吸收。研究表明,Fe 和 Zn 均与 Cd 的吸收存在一定竞争关系,即在 Cd 胁迫下,植物将减少对 Zn/Fe 的吸收^[13]。大多数 ZIP 蛋白的表达是由 Zn、Fe 或 Mn 元素缺乏诱导的,调控 ZIP 家族蛋白的内源表达对维持细胞金属稳态至关重要,主要是由于该家族基因参与了植物根系对金属的吸收及金属在植物不同组织部位的运输和分配^[14]。

NRAMP 家族是一个膜整合蛋白家族,最初被认为只能转运 Fe^{2+} ,之后的研究发现其对 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Mn^{2+} 等离子转运也具有重要的调控作用^[8]。如 AtNRAMP3 和 AtNRAMP4 位于拟南芥液泡膜上,参与 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Cd^{2+} 从液泡向细胞质的转运^[15-17]。水稻中 *OsNRAMP1* 和 *OsNRAMP5* 是同源质膜基因,主要在根部表达,具有向根细胞转运 Cd 和 Mn 的能力^[18-19]。其中,*OsNRAMP5* 是水稻中主要的 Cd 吸收蛋白,几乎承担了 90% 的 Cd 吸收转运^[20]。Tang 等^[21]通过敲除 *OsNRAMP5* 得到的突变体水稻较普通野生型水稻根和芽中 Cd 含量明显降低。Chang 等^[22]发现 *OsNRAMP5* 过表达可提高水稻根系中 Cd 的积累,但是茎和籽粒中 Cd 积累显著降低,研究者认为主要是因为 Cd 在根系的径向运输受到干扰,从而影响了其在木质部的装载。此外,Zhang 等^[23]在东南景天中发现了一种新的参与 Cd 和 Zn 超积累的质膜转运蛋白——SaNRAMP1,烟草过表达 *SaNRAMP1* 能显著增加体内 Cd、Zn 和 Mn 的积累。李亚敏等^[24]根据模式生物 *Nramp* 基因的保守序列,克隆测序得到了玉米 *Nramp1* 基因,Cd 胁迫实验发现玉米叶片和根系中 *ZmNramp1* 基因的表达量与 Cd 含量呈现显著正相关关系,证实了该基因与玉米中重金属 Cd 的吸收转运具有密切联系。

YSL 蛋白是寡肽转运蛋白(OPT)家族的一员,主要参与植物中金属与植物载体(PS)或烟碱胺(NA)

螯合物的吸收转运。玉米 *ZmYS1* 是第一个被鉴定出的 YSL 家族蛋白,作为载体参与 Fe(III)-PS 的跨膜吸收和运输^[25],同时在不同植物体内、不同组织部位介导细胞对 Cd^{2+} 、 Fe^{2+} 和 Zn^{2+} 的吸收转运。Feng 等^[26]在超富集植物龙葵中克隆得到了 *SnYSL3* 基因,发现 Cd 胁迫会刺激 *SnYSL3* 表达上调,将 *SnYSL3* 在酵母中表达可以促进 $\text{Cd}^{2+}/\text{Fe}^{2+}/\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ -NA 复合物的转运,首次报道了 *SnYSL3* 参与 Cd-NA 复合物的转运。Wang 等^[27]将从印度芥菜中分离得到的 *BjYSL7* 在烟草中过表达后发现,茎中 Cd 含量显著高于野生型植株,这说明 *BjYSL7* 可能介导了 Cd 向地上部分的运输。紫花苜蓿 *MsYSL1* 定位于质膜,过量的 Mn、Cd、Pb 或缺 Fe、Zn、Cu 会刺激其在根中表达,表明 *MsYSL1* 可能参与包括 Cd 在内的多种重金属-NA 复合物的转运^[28]。

1.2 镉排出蛋白

排出蛋白的功能是将重金属排出细胞质,或运载至液泡,是植物根细胞中 Cd 进入木质部或区隔在液泡中的主要转运蛋白。重金属 ATP 酶(HMA)和 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ 反向转运蛋白(CAX)是植物体内重要的 Cd 排出蛋白。

HMA 是一类能够利用 ATP 水解产生的能量驱动离子进行跨膜运输的转运蛋白,在 Cd 向地上部运输和液泡区室化中发挥重要作用。*HMA* 家族基因在拟南芥和水稻中的研究相对成熟。Wong 和 Cobbett^[29]研究发现,敲除 *AtHMA2* 和 *AtHMA4* 基因后,Cd 在拟南芥根茎间的转移几乎完全消失,证明了定位于质膜的 *HMA2* 和 *HMA4* 是负责拟南芥根茎间 Cd 转运的主要因素。Liedschulte 等^[30]在烟草中也有类似的发现:敲除 *NtHMA4* 基因会导致根部 Cd 向茎的转移减少 90% 以上。水稻中 *OsHMA2* 基因主要在根部维管束薄壁细胞中表达,与拟南芥的 *AtHMA2* 和 *AtHMA4* 功能类似,参与 Cd 在木质部的装载^[31]。而 *HMA3* 位于液泡膜上,在植物的不同组织部位广泛分布,具有区隔化 Cd 和 Zn 的功能。Ueno 等^[32]首次报道了水稻 *OsHMA3* 基因位于根部细胞液泡膜上,可选择性地将 Cd 区隔在液泡中,限制 Cd 向地上部的转运。而 Shao 等^[33]则在控制 *OsHMA2* 表达的前提下发现,过表达 *OsHMA3* 会促进水稻各组织部位 Cd 向液泡转运,从而降低水稻籽粒中的 Cd 含量。最近,吴海涛等^[34]从野生重金属耐受性植物伴矿景天中克隆到一个 *HMA* 家族的基因——*SpHMA2*,该基因高表达可提高模式植物拟

南芥的 Cd 耐受性及地上部分积累,说明 *SpHMA2* 是一个对 Cd 正响应的基因,且在 Cd 胁迫时,可能主要负责 Cd 从地下往地上部的转运。

CAX 是一类定位在细胞质膜、液泡膜、叶绿体类囊体膜及线粒体膜上的转运蛋白,能够与 HMA 蛋白家族协同作用参与细胞质中二价阳离子向液泡的转移积累^[35]。植物液泡膜的 CAX 主要是 Ca^{2+} 转运蛋白,介导 Ca^{2+} 从细胞质进入液泡,同时也具有转运 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Mn^{2+} 等离子子的能力。对参与 Cd 转运的 CAX 基因研究较多的是拟南芥。拟南芥中包含 6 个 CAX 家族成员,即 *CAX1* ~ *CAX6*,均具有转运 Cd 的能力,其中 *CAX2* 和 *CAX4* 编码蛋白对 Cd 的转运能力最强^[36-37]。Korenkov 等^[38-39]将 *AtCAX2* 和 *AtCAX4* 在烟草中表达发现,烟草根部细胞质中 Cd、Zn 和 Mn 向液泡转运增加,并且 *CAX2* 和 *CAX4* 对 Cd 吸收最敏感。这可能是由于 Cd^{2+} 具有与 Ca^{2+} 相似的离子半径,使得这 2 个离子竞争相同的膜转运蛋白^[40]。最近,廖琼等^[41]发现甘蓝型油菜 CAX 家族共包含 17 个成员,并且 CAX 基因主要在地下部表达,其中 *BnaC4*、*CAX1-2* 和 *BnaC3*。*CAX2-2* 是该家族的核心基因,并受 Cd^{2+} 胁迫的显著诱导。陈少鹏等^[42]克隆了越橘中 *VcCAX2* 基因,发现该基因在越橘根系中表达量随着 Cd 胁迫程度的提高呈现增加的趋势。

此外,ATP 结合盒转运蛋白(ABC)在植物细胞 Cd 的外排过程中也发挥着重要转运作用。MRP (ABCC)和 PDR(ABCG)是目前研究较为深入的 ABC 转运蛋白亚族。如 Brunetti 等^[43]通过 Cd 特征荧光物定位实验证明 *AtABCC3* 存在时,Cd 在拟南芥液泡中的分布远多于细胞质,并且推测 *AtABCC3* 将 Cd 以植物螯合肽(PCs)-Cd 复合体的形式转运到液泡区隔。Kim 等^[44]发现了定位于拟南芥根部表皮细胞质膜的 *AtPDR8* 具有将 Cd 排出细胞外的功能。

总之,由于 Cd 是植物的非必需元素,因此植物体内没有 Cd 的特异性转运蛋白,Cd 在植物体内的跨膜转运主要利用特异性较低的必需元素 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Mn^{2+} 等二价阳离子的转运蛋白。Cd 在植物根系吸收、转运的主要转运蛋白如图 1 所示。

2 植物镉耐受性调控机制 (The tolerance mechanism of cadmium in plants)

2.1 转录因子调控

转录因子(transcriptional factors, TFs)可通过与特定基因的顺式作用元件结合调控下游基因的表达,

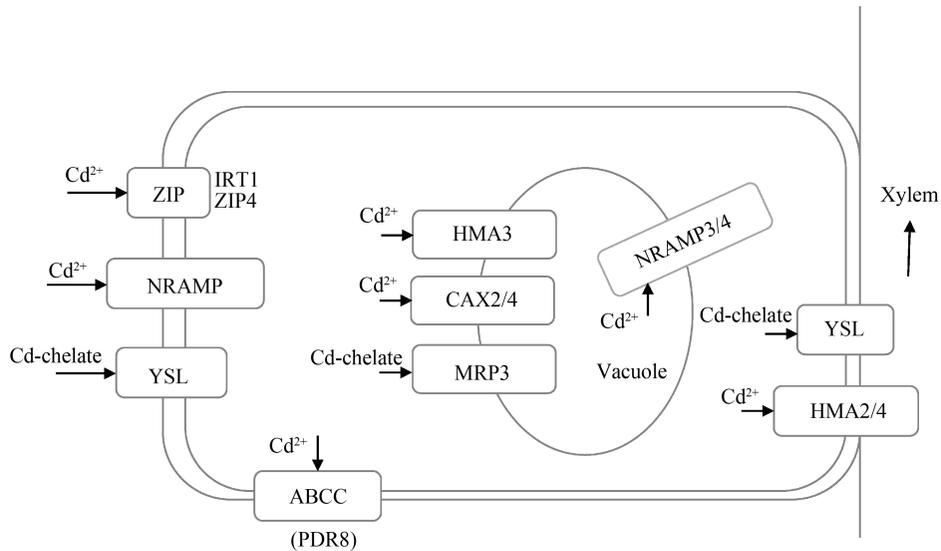


图 1 镉在植物体内吸收、转运的主要转运蛋白示意图^[45]

Fig. 1 Schematic diagram of the main transporters involved in Cd uptake and translocation in plants^[45]

在植物响应逆境胁迫的过程中发挥重要作用^[46]。大量研究表明,WRKY、MYB 和 bHLH 等转录因子家族均参与植物 Cd 耐性的调控。

WRKY 蛋白是植物特有的一类转录因子,同时也是植物中最大的转录因子家族之一,主要通过启动子区域的 W-box 元件结合调控下游靶基因的表达。如大麻的 40 个 WRKY 转录因子中有 14 个成员参与 Cd 胁迫响应^[47]。Liu 等^[48]的研究表明,AtWRKY18、AtWRKY40 和 AtWRKY60 能与特定基因启动子区的 W-box 结合,从而负调控拟南芥的 Cd 耐性。AtWRKY12 对拟南芥 Cd 耐性也具有负调控作用。Han 等^[49]揭示了 AtWRKY12 作用机制主要是其能与 *GSH1* 启动子结合,直接抑制 *GSH1* 基因的表达,间接干扰 Cd 解毒物质 PCs 的合成。而 Sheng 等^[50]则发现拟南芥的 WRKY13 转录因子可以与 *PDR8* 启动子直接结合,激活 Cd 排出蛋白 PDR8 的表达,减少细胞内 Cd 积累,正调控拟南芥的 Cd 耐性。Hong 等^[51]用 Cd 处理玉米幼苗,发现 *ZmWRKY4*、超氧化物歧化酶(SOD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)基因表达上调,并推测可能是由于 *ZmWRKY4* 可以激活 *ZmSOD4* 和 *ZmAPX* 的表达,从而促进抗氧化酶的合成,提高玉米的 Cd 耐性。此外,在 Cd 超积累植物中也发现了参与调控 Cd 耐性的 WRKY 转录因子。如王影等^[52]从超积累型东南景天中获得了一条新的东南景天 WRKY 转录因子家族基因——*SaWRKY7*,并发现其在早期响

应 Cd 胁迫诱导表达,推测其可能在东南景天 Cd 积累或 Cd 耐受过程中发挥重要作用。

MYB 转录因子是一类结构中含有一段高度保守的 DNA 结构域(MYB)的转录因子,分为 1R-MYB、R2R3-MYB、R1R2R3-MYB 和 4R-MYB 这 4 类,其中 R2R3-MYB 数量最多,多数 R2R3-MYB 转录因子可以正调控植物对逆境的响应。如丁杰等^[53]从大豆根系中获得了 16 个与 Cd 胁迫应答相关的 *R2R3-MYB* 基因,进一步分析发现,大豆根系中的 *MYB* 基因主要通过调控重金属 Cd 的吸收、转运、解毒过程来缓解 Cd 的毒害作用。Agarwal 等^[54]研究发现,拟南芥中 R2R3-MYB 亚家族的 *AtMYB4* 基因过表达可显著提高植株的 Cd 耐性,并认为主要是由于 MYB4 能特异性激活 *PCSI* 和 *MT1C* 基因的表达,促进 PCs 和金属硫蛋白(MTs)的合成,从而降低 Cd 毒性。除了直接作用于 Cd 解毒物质合成过程的基因,MYB 转录因子还可以通过脱落酸(ABA)信号途径调控植物 Cd 耐性。如 Zhang 等^[55]发现拟南芥 R2R3-MYB 转录因子 MYB49 具有正调控 Cd 耐性作用,并认为 MYB49 主要通过与 *ABI5* 互作,干扰 MYB49 与下游基因 *bHLH38* 和 *bHLH101* 的直接结合,减少 Cd 吸收蛋白 IRT1 的合成,提高植株对 Cd 的耐受性。此外,Hu 等^[56]报道了水稻中 1R-MYB 亚家族基因 *OsMYB45* 可被 Cd 诱导表达,该基因突变会抑制 *OsCATA* 和 *OsCATA* 的表达,降低过氧化氢酶(CAT)的活性,这可能是 MYB45 转录

因子调控 Cd 耐性的方式。

bHLH 转录因子家族成员均含有由 50 ~ 60 个氨基酸组成的典型 bHLH 结构域,该结构域分为 N 端的碱性区域和 C 端的螺旋-环-螺旋(HLH)区域 2 个不同的功能区^[57]。碱性区域通常包括 10 ~ 18 个氨基酸,具有 DNA 的结合位点,能够识别靶基因启动子区的 E-box 和/或 G-box 元件;HLH 区域由 2 个 α -螺旋以及连接 2 个螺旋的环状结构组成,是二聚体形成的结合域^[58]。Wu 等^[59]研究发现 Cd 胁迫可以提高拟南芥中 bHLH 家族基因 *FIT*、*AtbHLH38* 和 *AtbHLH39* 的表达,并且过表达 *FIT/AtbHLH38* 或 *FIT/AtbHLH39* 可增强植株 Cd 耐性。进一步实验证明 *FIT/AtbHLH38* 或 *FIT/AtbHLH39* 过表达一方面能够启动重金属区室化基因的表达(如 *HMA3*、*MTP3*、*IREG2* 和 *IRT2*),从而将 Cd 区隔在根部,抑制 Cd 向地上部分转运;另一方面还能启动尼克酰胺合成酶基因(*NAS1* 和 *NAS2*)的表达,从而促进植物体内铁螯合物尼克酰胺(NA)的合成,增加 Fe 的吸收转运,减少 Cd 的积累。最近,Yao 等^[60]在拟南芥中也有类似发现;bHLH104 能够正调控 4 个重金属解毒基因的表达,即 *IREG2*、*MTP3*、*HMA3* 和 *NAS4*,从而提高拟南芥的 Cd 耐性。此外,人们在大豆中也发现了参与其 Cd 耐性调控的 bHLH 转录因子。如 Xu 等^[61]发现 Cd 处理会诱导大豆根部 bHLH 转录因子 *GmORG3* 表达上调,过表达 *GmORG3* 可以提高植物的 Cd 耐性,其作用机制可能是由于植物对 Fe 的吸收转运增强,从而限制了 Cd 向地上部分的转运。刘晓庆等^[62]则从大豆根系中筛选得到了响应 Cd 胁迫的 *GmbHLH041* 基因。实验发现,*GmbHLH041* 基因在 Cd 胁迫 24 h 后表达量显著提高,说明该基因在大豆 Cd 胁迫应答中可能发挥着重要作用。

2.2 microRNA 调控

microRNA(miRNA)是一类长度约 20 ~ 24 个核苷酸、内源性、非编码 RNA 分子,可通过与靶序列互补结合,降解靶 mRNA、抑制翻译、DNA 甲基化,在转录和转录后水平调控靶基因的表达,是植物生长发育及应答非生物胁迫过程中的重要调控因子^[63]。近年来,人们利用微阵列芯片技术和高通量测序技术在不同植物中检测出大量 Cd 胁迫应答相关的 miRNA。如 Ding 等^[64]采用微阵列芯片技术在水稻中识别出 19 个 Cd 胁迫应答相关 miRNA,其中 miR528 表达上调,其余 18 个表达下调。

Tang 等^[65]则通过高通量测序技术从水稻中鉴定出 163 个 Cd 胁迫差异表达 miRNA,并且根部与地上部展示出不同的基因表达变化。最近,Jian 等^[66]采用高通量测序技术对甘蓝型油菜中 Cd 胁迫应答的 miRNA 进行全基因组分析,共鉴定出 39 个差异表达 miRNA,包括 8 个已知的和 31 个新的 miRNA,并推测 miRNA 可能通过调控转录因子表达、生物胁迫防御、离子稳态及次生代谢物的合成以响应 Cd 胁迫。

目前,关于植物 miRNA 对 Cd 胁迫的响应机制研究也在逐步开展,已有许多响应 Cd 胁迫的 miRNA 及其对应靶基因的研究报道(图 2)。Cd 胁迫相关 miRNA 的靶基因多为调节性基因,包括调控下游基因表达的转录因子和参与信号转导的蛋白激酶等。miR166 的靶基因为同源异形域-亮氨酸拉链(HD-ZIP)转录因子。Ding 等^[67]发现 Cd 胁迫下水稻根系中 miR166 表达受到显著抑制,而过表达 miR166 则可以降低 Cd 向地上部的转运,减少籽粒中 Cd 积累。进一步实验发现,miR166 可能通过负调控其靶基因 *OsHB4*(一种 HD-ZIP 转录因子)的表达,进而调节 *OsHMA2* 和 *OsHMA3* 等 Cd 耐性基因的表达,影响水稻中 Cd 的吸收、转运和解毒。miR390 的靶基因则为富含亮氨酸的类受体蛋白激酶(RLK)^[68]。水稻过表达 miR390 可以显著抑制 miR390 靶基因 *OsSPK*(一种 RLK)的表达,但 *OsSPK* 与 Cd 转运蛋白之间的调控关系有待进一步验证。此外,miRNA 对 Cd 胁迫的响应还涉及抗氧化防御方面。如 miR398 靶基因是可清除活性氧(ROS)的 *CSD*,Cd 胁迫下 miR398 在小麦叶中表达下调会导致 *CSD* 活性提高,增强植株的 Cd 耐性^[69]。

目前,关于植物对重金属 Cd 的耐性机制研究不断深入。通常,Cd 离子进入植物细胞后会影响其正常的代谢活动。植物感受到 Cd 离子的胁迫后,能够通过信号传导途径激活体内抗氧化酶及相关金属转运蛋白的表达,从而避免或缓解 Cd 离子对细胞的毒害作用。在转录及转录后水平上,植物的镉耐性涉及一系列复杂的调控网络,在今后的研究中有待进一步探索和挖掘。

3 总结与展望(Summary and prospect)

Cd 污染是一个严重的环境问题。土壤中的 Cd 进入植物细胞后不仅影响植物的生长发育与代谢过程,还会经过食物链传递危害人体健康。因此,Cd 在植物体内的吸收和转运一直是研究的热点。目前,

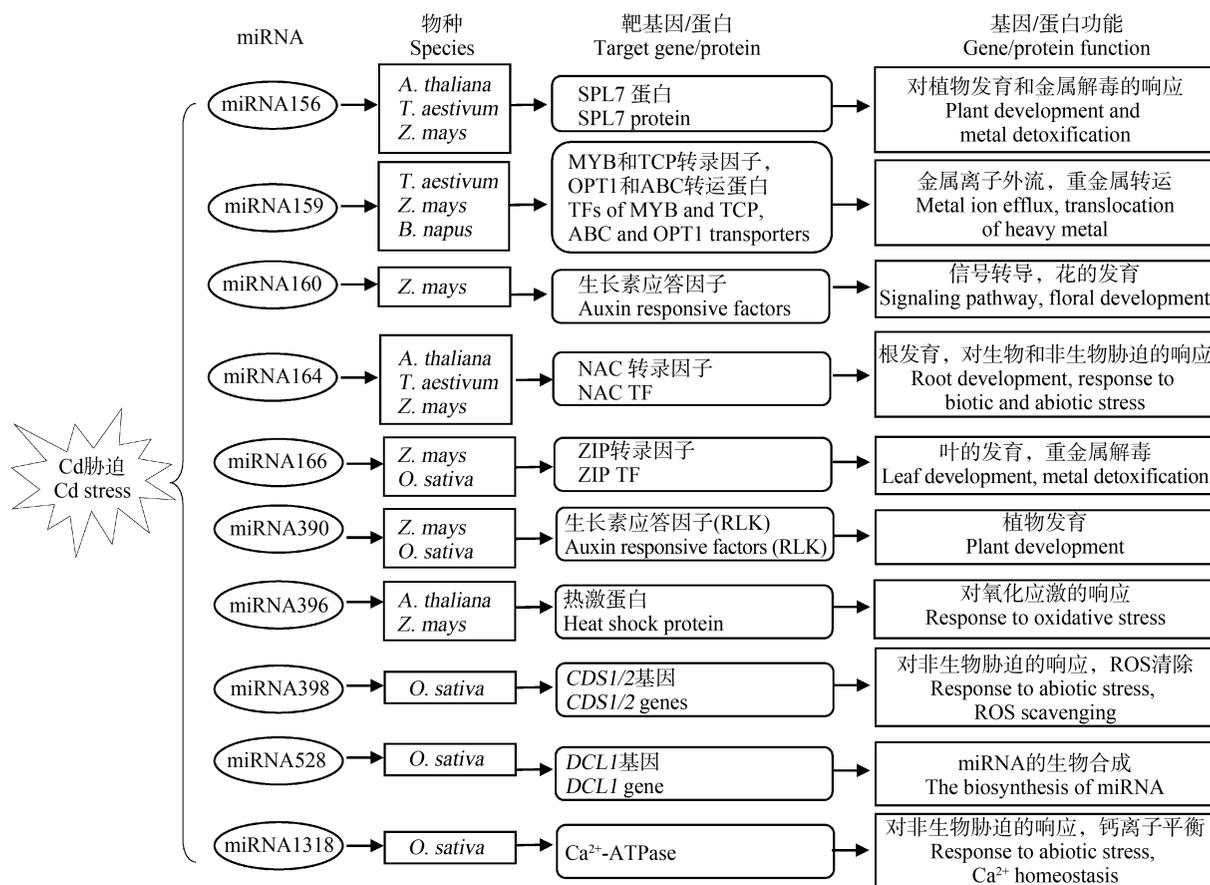


图 2 响应 Cd 胁迫的 miRNA 及其靶基因^[63, 70-71]

注: *A. thaliana* 为拟南芥, *T. aestivum* 为小麦, *Z. mays* 为玉米, *B. napus* 为甘蓝型油菜, *O. sativa* 为水稻; ROS 表示活性氧。

Fig. 2 miRNAs and their target genes in response to Cd stress^[63, 70-71]

Note: *A. thaliana* is *Arabidopsis thaliana*; *T. aestivum* is *Triticum aestivum*; *Z. mays* is *Zea mays*; *B. napus* is *Brassica napus*;

O. sativa is *Oryza sativa*; ROS stands for reactive oxygen species.

研究者对于土壤中的 Cd 经植物根系吸收,并向地上部分转运过程已经有了较好了解,尤其是 Cd 转运蛋白功能研究取得了一定进展。同时,随着在生理生化水平上对植物 Cd 解毒机制认识的深入,其背后的分子调控机制也在逐渐得以揭示,已发现多个参与调控植物 Cd 耐性基因表达的转录因子及 miRNA。但植物对 Cd 的吸收、转运是一个十分复杂的过程,关于植物 Cd 耐性的具体分子调控机制仍有待进一步探索。如解析 Cd 转运蛋白的晶体结构是理解这些转运蛋白的分子作用机制的关键;探究 Cd 胁迫下不同转运蛋白之间的相互关系及协调作用有助于明确这些转运蛋白的功能调控;挖掘响应 Cd 胁迫转录因子和 miRNA 的靶基因将成为阐明 Cd 耐性基因表达调控分子机理的主要研究内容。此外,植物遭受 Cd 胁迫时,细胞内存在一系列信号传递,今后的研究还应关注这些信号因子对基

因表达的影响,以及不同信号通路之间的对话,从而进一步明确植物响应 Cd 胁迫的调控网络。

通讯作者简介:张文生(1966—),男,博士,教授,主要研究方向为中药与健康毒理。

参考文献 (References):

[1] 和君强,刘代欢,邓林,等. 农田土壤镉生物有效性及暴露评估研究进展[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(6): 69-82
He J Q, Liu D H, Deng L, et al. Bioavailability and exposure assessment of cadmium in farmland soil: A review [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(6): 69-82 (in Chinese)

[2] 陈能场,郑煜基,何晓峰,等.《全国土壤污染状况调查公报》探析[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(9): 1689-1692

- Chen N C, Zheng Y J, He X F, et al. Analysis of the Report on the National General Survey of Soil Contamination [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(9): 1689-1692 (in Chinese)
- [3] 徐佳慧, 王萌, 张润, 等. 土壤镉污染的生物毒性研究进展[J]. *生态毒理学报*, 2020, 15(5): 82-91
- Xu J H, Wang M, Zhang R, et al. Toxicity of cadmium pollution in soil to organisms: A review [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2020, 15(5): 82-91 (in Chinese)
- [4] 杨晓远, 王海娟, 王宏斌. 龙葵(*Solanum nigrum* L.)超富集镉的生理和分子机制研究进展[J]. *生态毒理学报*, 2020, 15(6): 72-81
- Yang X Y, Wang H J, Wang H B. Advances in physiological and molecular mechanisms of cadmium hyperaccumulation by *Solanum nigrum* L [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2020, 15(6): 72-81 (in Chinese)
- [5] Leng Y, Li Y, Wen Y, et al. Transcriptome analysis provides molecular evidences for growth and adaptation of plant roots in cadmium-contaminated environments [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 204: 111098
- [6] Qin S Y, Liu H E, Nie Z J, et al. Toxicity of cadmium and its competition with mineral nutrients for uptake by plants: A review [J]. *Pedosphere*, 2020, 30(2): 168-180
- [7] Eide D, Broderius M, Fett J, et al. A novel iron-regulated metal transporter from plants identified by functional expression in yeast [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996, 93(11): 5624-5628
- [8] 杨茹月, 李彤彤, 杨天华, 等. 植物基因工程修复土壤重金属污染研究进展[J]. *环境科学研究*, 2019, 32(8): 1294-1303
- Yang R Y, Li T T, Yang T H, et al. Advances in enhanced phytoremediation by genetic engineering technology for heavy metal pollution in soil [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2019, 32(8): 1294-1303 (in Chinese)
- [9] Zheng X, Chen L, Li X F. *Arabidopsis* and rice showed a distinct pattern in ZIPs genes expression profile in response to Cd stress [J]. *Botanical Studies*, 2018, 59(1): 22
- [10] Nakanishi H, Ogawa I, Ishimaru Y, et al. Iron deficiency enhances cadmium uptake and translocation mediated by the Fe²⁺ transporters OsIRT1 and OsIRT2 in rice [J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2006, 52(4): 464-469
- [11] Yang Q Y, Ma X X, Luo S, et al. SaZIP4, an uptake transporter of Zn/Cd hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2018, 155: 107-117
- [12] Tan L T, Qu M M, Zhu Y X, et al. Zinc transporter5 and zinc transporter9 function synergistically in zinc/cadmium uptake [J]. *Plant Physiology*, 2020, 183(3): 1235-1249
- [13] 韩佳慧, 万思涛, 俞娇, 等. 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[J]. *植物生理学报*, 2019, 55(10): 1449-1457
- Han J H, Wan S T, Yu J, et al. Progress on zinc and iron transporter (ZIP) involved in Cd transport in plants [J]. *Plant Physiology Journal*, 2019, 55(10): 1449-1457 (in Chinese)
- [14] Fu X Z, Zhou X, Xing F, et al. Genome-wide identification, cloning and functional analysis of the zinc/iron-regulated transporter-like protein (ZIP) gene family in trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L. raf.) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 588
- [15] Lanquar V, Lelièvre F, Bolte S, et al. Mobilization of vacuolar iron by AtNRAMP3 and AtNRAMP4 is essential for seed germination on low iron [J]. *The EMBO Journal*, 2005, 24(23): 4041-4051
- [16] Lanquar V, Ramos M S, Lelièvre F, et al. Export of vacuolar manganese by AtNRAMP3 and AtNRAMP4 is required for optimal photosynthesis and growth under manganese deficiency [J]. *Plant Physiology*, 2010, 152(4): 1986-1999
- [17] Pottier M, Oomen R, Picco C, et al. Identification of mutations allowing Natural Resistance Associated Macrophage Proteins (NRAMP) to discriminate against cadmium [J]. *The Plant Journal*, 2015, 83(4): 625-637
- [18] Sasaki A, Yamaji N, Yokosho K, et al. Nramp5 is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice [J]. *The Plant Cell*, 2012, 24(5): 2155-2167
- [19] Chang J D, Huang S, Yamaji N, et al. OsNRAMP1 transporter contributes to cadmium and manganese uptake in rice [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2020, 43(10): 2476-2491
- [20] Huang W X, Zhang D M, Cao Y Q, et al. Differential cadmium translocation and accumulation between *Nicotiana tabacum* L. and *Nicotiana rustica* L. by transcriptome combined with chemical form analyses [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 208: 111412
- [21] Tang L, Mao B G, Li Y K, et al. Knockout of OsNramp5 using the CRISPR/Cas9 system produces low Cd-accumulating indica rice without compromising yield [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 14438
- [22] Chang J D, Huang S, Konishi N, et al. Overexpression of the manganese/cadmium transporter OsNRAMP5 reduces cadmium accumulation in rice grain [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020, 71(18): 5705-5715
- [23] Zhang J, Zhang M, Song H Y, et al. A novel plasma

- membrane-based NRAMP transporter contributes to Cd and Zn hyperaccumulation in *Sedum alfredii* Hance [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2020, 176: 104121
- [24] 李亚敏, 巩宗强, 贾春云, 等. 玉米镉转运基因 ZmNramp1 的鉴定及对镉胁迫的响应[J]. *生态学杂志*, 2021, 40(7): 2016-2023
- Li Y M, Gong Z Q, Jia C Y, et al. Identification of the cadmium transport gene ZmNramp1 in maize and its response to cadmium stress [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2021, 40(7): 2016-2023 (in Chinese)
- [25] Curie C, Panaviene Z, Loulergue C, et al. Maize yellow stripe1 encodes a membrane protein directly involved in Fe(III) uptake [J]. *Nature*, 2001, 409(6818): 346-349
- [26] Feng S S, Tan J J, Zhang Y X, et al. Isolation and characterization of a novel cadmium-regulated yellow stripe-like transporter (SnYSL3) in *Solanum nigrum* [J]. *Plant Cell Reports*, 2017, 36(2): 281-296
- [27] Wang J W, Li Y, Zhang Y X, et al. Molecular cloning and characterization of a *Brassica juncea* yellow stripe-like gene, BjYSL7, whose overexpression increases heavy metal tolerance of tobacco [J]. *Plant Cell Reports*, 2013, 32(5): 651-662
- [28] Chen H M, Zhang C, Guo H P, et al. Overexpression of a *Miscanthus sacchariflorus* yellow stripe-like transporter MsYSL1 enhances resistance of *Arabidopsis* to cadmium by mediating metal ion reallocation [J]. *Plant Growth Regulation*, 2018, 85(1): 101-111
- [29] Wong C K E, Cobbett C S. HMA P-type ATPases are the major mechanism for root-to-shoot Cd translocation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *New Phytologist*, 2009, 181(1): 71-78
- [30] Liedschulte V, Laparra H, Battey J N D, et al. Impairing both HMA4 homeologs is required for cadmium reduction in tobacco [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2017, 40(3): 364-377
- [31] Takahashi R, Ishimaru Y, Shimo H, et al. The OsHMA2 transporter is involved in root-to-shoot translocation of Zn and Cd in rice [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2012, 35(11): 1948-1957
- [32] Ueno D, Yamaji N, Kono I, et al. Gene limiting cadmium accumulation in rice [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(38): 16500-16505
- [33] Shao J F, Xia J X, Yamaji N, et al. Effective reduction of cadmium accumulation in rice grain by expressing OsHMA3 under the control of the OsHMA2 promoter [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(10): 2743-2752
- [34] 吴海涛, 袁博, 刘佳兰, 等. 异源表达伴矿景天 *SpHMA2* 基因提高拟南芥对重金属镉的耐性及地上部分积累[J]. *应用与环境生物学报*, 2022, 28(3): 1-10
- Wu H T, Yuan B, Liu J L, et al. Ectopic expression of *SpHMA2* of *Sedum plumbizincicola* enhanced cadmium tolerance and shoot accumulation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2022, 28(3): 1-10 (in Chinese)
- [35] Li Z R, Mei X Y, Li T, et al. Effects of calcium application on activities of membrane transporters in *Panax notoginseng* under cadmium stress [J]. *Chemosphere*, 2021, 262: 127905
- [36] Wu Q Y, Shigaki T, Williams K A, et al. Expression of an *Arabidopsis* Ca²⁺/H⁺ antiporter CAX1 variant in petunia enhances cadmium tolerance and accumulation [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2011, 168(2): 167-173
- [37] Shigaki T, Hirschi K D. Diverse functions and molecular properties emerging for CAX cation/H⁺ exchangers in plants [J]. *Plant Biology*, 2006, 8(4): 419-429
- [38] Korenkov V, Hirschi K, Crutchfield J D, et al. Enhancing tonoplast Cd/H antiport activity increases Cd, Zn, and Mn tolerance, and impacts root/shoot Cd partitioning in *Nicotiana tabacum* L. [J]. *Planta*, 2007, 226(6): 1379-1387
- [39] Korenkov V, Park S, Cheng N H, et al. Enhanced Cd²⁺-selective root-tonoplast-transport in tobaccos expressing *Arabidopsis* cation exchangers [J]. *Planta*, 2007, 225(2): 403-411
- [40] Mei H, Cheng N H, Zhao J, et al. Root development under metal stress in *Arabidopsis thaliana* requires the H⁺/cation antiporter CAX4 [J]. *New Phytologist*, 2009, 183(1): 95-105
- [41] 廖琼, 周婷, 肖燕, 等. 甘蓝型油菜钙离子转运蛋白 CAX 家族基因生物信息学及其对镉胁迫响应表达分析[J]. *植物生理学报*, 2019, 55(5): 596-608
- Liao Q, Zhou T, Xiao Y, et al. Identification and bioinformatics analysis of CAX family genes and their expression response to Cd²⁺ stress in *Brassica napus* [J]. *Plant Physiology Journal*, 2019, 55(5): 596-608 (in Chinese)
- [42] 陈少鹏, 庄倩倩, 段肖琪, 等. 越橘 VcCAX2 基因的克隆与生物信息学及其在 Cd 胁迫下的表达分析[J]. *分子植物育种*, 2021, 19(1): 111-117
- Chen S P, Zhuang Q Q, Duan X Q, et al. VcCAX2 gene cloning, bioinformatics and its expression analysis under Cd stress [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 19(1): 111-117 (in Chinese)
- [43] Brunetti P, Zanella L, de Paolis A, et al. Cadmium-inducible expression of the ABC-type transporter AtABCC₃ increases phytochelatin-mediated cadmium tolerance in *Ara-*

- bidopsis* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66 (13): 3815-3829
- [44] Kim D Y, Bovet L, Maeshima M, et al. The ABC transporter AtPDR8 is a cadmium extrusion pump conferring heavy metal resistance [J]. *The Plant Journal*, 2007, 50(2): 207-218
- [45] Ismael M A, Elyamine A M, Moussa M G, et al. Cadmium in plants: Uptake, toxicity, and its interactions with selenium fertilizers [J]. *Metallomics*, 2018, 11(2): 255-277
- [46] Shahzad R, Jamil S, Ahmad S, et al. Harnessing the potential of plant transcription factors in developing climate resilient crops to improve global food security: Current and future perspectives [J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2021, 28(4): 2323-2341
- [47] Xin P F, Gao C S, Cheng C H, et al. Identification and characterization of hemp WRKY transcription factors in response to abiotic stresses [J]. *Biologia Plantarum*, 2016, 60(3): 489-495
- [48] Liu Z Q, Fang H H, Pei Y X, et al. WRKY transcription factors down-regulate the expression of H₂S-generating genes, LCD and DES in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Science Bulletin*, 2015, 60(11): 995-1001
- [49] Han Y Y, Fan T T, Zhu X Y, et al. WRKY12 represses GSH₁ expression to negatively regulate cadmium tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Molecular Biology*, 2019, 99(1-2): 149-159
- [50] Sheng Y B, Yan X X, Huang Y, et al. The WRKY transcription factor, WRKY13, activates PDR8 expression to positively regulate cadmium tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2019, 42(3): 891-903
- [51] Hong C Y, Cheng D, Zhang G Q, et al. The role of ZmWRKY₄ in regulating maize antioxidant defense under cadmium stress [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, 482(4): 1504-1510
- [52] 王影, 邱文敏, 李鹤, 等. 东南景天 SaWRKY7 基因对镉胁迫的响应研究[J]. *南京林业大学学报: 自然科学版*, 2019, 43(3): 59-66
- Wang Y, Qiu W M, Li H, et al. Research on the response of SaWRKY₇ gene to cadmium stress in *Sedum alfredii* Hance [J]. *Journal of Nanjing Forestry University: Natural Sciences Edition*, 2019, 43(3): 59-66 (in Chinese)
- [53] 丁杰, 张晓娜, 朴春兰, 等. 大豆根系中应答镉胁迫的 R2R3-MYB 基因分析[J]. *生态学杂志*, 2018, 37(7): 2030-2039
- Ding J, Zhang X N, Piao C L, et al. Analysis of the R2R3-MYB genes in soybean roots in response to Cd stress [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2018, 37(7): 2030-2039 (in Chinese)
- [54] Agarwal P, Mitra M, Banerjee S, et al. 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 PCS, and MT1C in *Arabidopsis* [J]. *Plant Science*, 2020, 297: 110501
- [55] Zhang P, Wang R L, Ju Q, et al. The R2R3-MYB transcription factor MYB49 regulates cadmium accumulation [J]. *Plant Physiology*, 2019, 180(1): 529-542
- [56] Hu S B, Yu Y, Chen Q H, et al. OsMYB45 plays an important role in rice resistance to cadmium stress [J]. *Plant Science*, 2017, 264: 1-8
- [57] Pires N, Dolan L. Origin and diversification of basic-helix-loop-helix proteins in plants [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2009, 27(4): 862-874
- [58] Sajeevan R S, Nataraja K N. Molecular cloning and characterization of a novel basic helix-loop-helix-144 (bHLH144)-like transcription factor from *Morus alba* (L.) [J]. *Plant Gene*, 2016, 5: 109-117
- [59] Wu H L, Chen C L, Du J, et al. Co-overexpression FIT with AtbHLH38 or AtbHLH39 in *Arabidopsis*-enhanced cadmium tolerance via increased cadmium sequestration in roots and improved iron homeostasis of shoots [J]. *Plant Physiology*, 2011, 158(2): 790-800
- [60] Yao X N, Cai Y R, Yu D Q, et al. bHLH104 confers tolerance to cadmium stress in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2018, 60(8): 691-702
- [61] Xu Z L, Liu X Q, He X L, et al. The soybean basic helix-loop-helix transcription factor ORG3-like enhances cadmium tolerance via increased iron and reduced cadmium uptake and transport from roots to shoots [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1098
- [62] 刘晓庆, 陈华涛, 张红梅, 等. 大豆 GmbHLH041 基因的生物信息学分析及对镉胁迫的响应[J]. *华北农学报*, 2018, 33(3): 14-18
- Liu X Q, Chen H T, Zhang H M, et al. Bioinformatics analysis of GmbHLH041 of soybean and its response to cadmium stress [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2018, 33(3): 14-18 (in Chinese)
- [63] Das B, Sen A, Roy S, et al. miRNAs: Tiny super-soldiers shaping the life of rice plants for facing "stress"-ful times [J]. *Plant Gene*, 2021, 26: 100281
- [64] Ding Y F, Chen Z, Zhu C. Microarray-based analysis of cadmium-responsive microRNAs in rice (*Oryza sativa*) [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(10): 3563-3573
- [65] Tang M F, Mao D H, Xu L W, et al. Integrated analysis of miRNA and mRNA expression profiles in response to Cd

- exposure in rice seedlings [J]. *BMC Genomics*, 2014, 15 (1): 835
- [66] Jian H J, Yang B, Zhang A X, et al. Genome-wide identification of microRNAs in response to cadmium stress in oilseed rape (*Brassica napus* L.) using high-throughput sequencing [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(5): 1431
- [67] Ding Y F, Gong S H, Wang Y, et al. microRNA166 modulates cadmium tolerance and accumulation in rice [J]. *Plant Physiology*, 2018, 177(4): 1691-1703
- [68] Ding Y F, Ye Y Y, Jiang Z H, et al. microRNA390 is involved in cadmium tolerance and accumulation in rice [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 235
- [69] Qiu Z B, Hai B Z, Guo J L, et al. Characterization of wheat miRNAs and their target genes responsive to cadmium stress [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, 101: 60-67
- [70] Pagano L, Rossi R, Paesano L, et al. miRNA regulation and stress adaptation in plants [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2021, 184: 104369
- [71] Noman A, Aqeel M. miRNA-based heavy metal homeostasis and plant growth [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2017, 24 (11): 10068-10082
- ◆