

叶面喷施S-烯丙基-L-半胱氨酸对水稻砷转运影响机制

郎耀臻, 刘斌, 王常荣, 刘仲齐, 孔维勇, 刘月敏, 黄永春

引用本文:

郎耀臻, 刘斌, 王常荣, 刘仲齐, 孔维勇, 刘月敏, 黄永春. 叶面喷施S-烯丙基-L-半胱氨酸对水稻砷转运影响机制[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(7): 1436-1443.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2023-0049>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

叶面喷施S-烯丙基-L-半胱氨酸对晚稻籽粒中铅含量的影响

程六龙, 黄永春, 周桂华, 刘仲齐, 张长波, 王常荣, 王晓丽

农业环境科学学报. 2020, 39(10): 2134-2142 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0900>

叶面喷施苹果酸对水稻Cd积累特性的影响

王惠君, 薛卫杰, 张昕, 张长波, 黄永春, 任兴华, 刘仲齐

农业环境科学学报. 2021, 40(2): 269-278 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0823>

叶面喷施二巯基丁二酸对晚稻籽粒镉及矿质元素含量的影响

杨晓荣, 黄永春, 刘仲齐, 王常荣, 张长波

农业环境科学学报. 2019, 38(8): 1802-1808 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0588>

叶面喷施不同浓度锌对水稻锌镉积累的影响

吕光辉, 许超, 王辉, 帅红, 王帅, 李佰重, 朱奇宏, 朱捍华, 黄道友

农业环境科学学报. 2018, 37(7): 1521-1528 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0709>

外源亚精胺对水稻吸收积累镉砷的影响

刘书锦, 黄益宗, 李颜, 魏祥东, 铁柏清

农业环境科学学报. 2020, 39(10): 2172-2180 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0828>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

郎耀臻, 刘斌, 王常荣, 等. 叶面喷施S-烯丙基-L-半胱氨酸对水稻砷转运影响机制[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(7): 1436–1443.

LANG Y Z, LIU B, WANG C R, et al. Effects of foliar sprayed S-allyl-L-cysteine on arsenic transport in rice plants[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(7): 1436–1443.

叶面喷施S-烯丙基-L-半胱氨酸对水稻砷转运影响机制

郎耀臻^{1,2}, 刘斌³, 王常荣¹, 刘仲齐¹, 孔维勇¹, 刘月敏^{2*}, 黄永春^{1*}

(1. 农业农村部环境保护科研监测所, 天津 300191; 2. 天津城建大学环境与市政工程学院, 天津 300384; 3. 广西农业科学院农业资源与环境研究所, 南宁 530007)

摘要: 膳食稻米是我国人群摄入高致癌风险无机砷(iAs)的主要来源, 开发降低稻米砷(As)含量生产措施对保护人体健康具有重要意义。本文以我国南方主栽水稻品种“中早35”为试验材料, 采用盆栽试验研究了开花期叶面喷施S-烯丙基-L-半胱氨酸(SAC)对水稻籽粒和营养器官中总As含量的影响并揭示其潜在的分子机制。结果表明: 当SAC喷施浓度达到 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时籽粒和根中总As含量分别显著降低42.3%和20.6%, 但旗叶中总As含量显著增加了72.4%; 荧光染色观察试验表明旗叶中 H_2O_2 含量显著降低, 同时SOD和CAT酶活性分别显著升高61.8%和105.3%。喷施SAC后水稻顶端第一节中Lsi6转运子编码基因以及Lsi3转运子编码基因分别显著下调59.8%和36.3%, 据此推测喷施SAC可能显著降低了水稻从通向旗叶膨大维管束流中卸载 As^{III} 和向连接稻穗弥散维管束装载 As^{III} 的能力, 导致籽粒中总As含量显著降低而旗叶中总As含量显著升高。旗叶植物螯合素(PCs)合成酶OsPCS1和负责向细胞液泡中转运 As^{III} 的OsABCC1转运子编码基因分别显著上调57.6%和61.0%, 表明喷施SAC增加了旗叶合成PCs并向液泡中分隔 As^{III} 的能力从而降低了叶片的 As^{III} 胁迫。水稻根部Lsi1、Lsi2、Lsi3转运子编码基因分别显著下调了27.2%、23.8%、29.5%, 表明水稻根部对 As^{III} 的吸收、转运能力降低, 同时可能也预示着 As^{III} 向木质部导管中装载 As^{III} 的能力降低。综上, 喷施SAC通过调控 As^{III} 转运子编码基因表达降低了水稻籽粒和根中总As含量, 同时缓解了As胁迫。

关键词: 水稻; 砷; S-烯丙基-L-半胱氨酸; 转运子; 基因表达

中图分类号: X173; X56; S511 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2023)07-1436-08 doi:10.11654/jaes.2023-0049

Effects of foliar sprayed S-allyl-L-cysteine on arsenic transport in rice plants

LANG Yaozhen^{1,2}, LIU Bin³, WANG Changrong¹, LIU Zhongqi¹, KONG Weiyong¹, LIU Yuemin^{2*}, HUANG Yongchun^{1*}

(1. Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin 300191, China; 2. School of Environmental and Municipal Engineering, Tianjin Chengjian University, Tianjin 300384, China; 3. Agricultural Resource and Environment Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China)

Abstract: Dietary rice is the main source of inorganic arsenic (iAs) with a high carcinogenic risk for the population, therefore developing countermeasures to reduce the arsenic (As) content in rice is of great importance. Here, we investigated the effect of foliar spraying of S-allyl-L-cysteine (SAC) on the total As content in rice grains and nutritive organs during flowering and identified the potential molecular mechanism of SAC using the main rice cultivar "ZhongZao 35" in southern China. The experimental results showed that the As content in grains and roots significantly decreased by 42.3% and 20.6%, respectively, when the SAC spraying concentration reached $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, but significantly increased in flag leaves by 72.4%. Fluorescence staining showed that the H_2O_2 content in flag reduced significantly, while

收稿日期: 2023-01-27 录用日期: 2023-03-06

作者简介: 郎耀臻(1997—), 男, 山西忻州人, 硕士研究生, 主要研究方向为重金属污染防治。E-mail: 936048366@qq.com

*通信作者: 黄永春 E-mail: nylib@126.com; 刘月敏 E-mail: lyuenn@126.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(42077153); 广西创新驱动发展专项资金项目(桂AA22036001-3)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(42077153); Special Funds for Innovation-driven Development Projects of Guangxi, China(Gui AA22036001-3)

the SOD and CAT enzyme activities significantly increased by 61.8% and 105.3%, respectively. The genes encoding Lsi6 and Lsi3 transporters in the first rice node were significantly downregulated by 59.8% and 36.3%, respectively, after SAC spraying; thus, significantly reducing the ability of rice to unload As^{III} from the vascular stream leading to the expansion of vascular bundle in the flag leaves and load As^{III} into the diffused vascular bundle connected to the rice spike. Moreover, it resulted in a significant decrease in the total As content in the grains and a significant increase in the flag leaves. The genes encoding OsPCS1, a phytochelatins-(PCs)-synthesizing enzyme, and OsABCC1, an As^{III} transporter in cell vacuole, were significantly upregulated by 57.6% and 61.0% respectively, indicating that SAC spraying increased the ability of flag leaves to synthesize PCs and compartmentalize As^{III} into the vacuole, thereby reducing As^{III} stress in the leaves. The genes encoding Lsi1, Lsi2, and Lsi3 transporters in rice roots were significantly downregulated by 27.2%, 23.8%, and 29.5%, respectively, indicating that the uptake and transport capacity of As^{III} in rice roots was reduced, which further minimized the loading capacity of As^{III} into the xylem ducts. In conclusion, spraying SAC reduces As content in grains and roots by regulating the expression of genes encoding As^{III} related transporter and alleviates As stress.

Keywords: rice; arsenic; S-allyl-L-cysteine; transporter; gene expression

As 是一种在自然界广泛分布并对人和动、植物都具有较高毒性的非金属元素^[1]。土壤 As 含量超标不仅与地质因素有关,还受含 As 金属矿藏开采、含 As 肥料和农药的施用以及工业生产等多种因素影响^[2-3]。目前,As 污染影响涉及全球 70 个国家的 2 亿人口^[4]。我国土壤 As 污染点位超标率达到 2.7%,仅次于重金属 Cd、Ni。不同形态的 As 毒性差异较大,其中以无机 As(iAs)毒性最高。早在 2004 年,国际癌症研究协会就把 iAs 列为一类致癌物^[5]。已有研究表明,食用稻米大约占我国人群 iAs 平均摄入量的 60%^[6-7]。目前水稻已经成为我国第一大粮食作物,全国有 2/3 人口以稻米为主粮^[8]。水稻对 As 的富集能力远超其他禾本科谷物,因此开发降低稻米 As 污染生产措施并探讨其潜在机制对保护人体健康具有重要意义。

在稻田淹水条件下土壤 As 主要以亚砷酸(As^{III})形态存在^[9],通常占 As 总量的 70%~90%,其余部分为五价 As(As^{V})以及少量的有机砷^[6]。As 是植物的必需元素,在水稻体内主要借助与其化学性质相似的磷酸或硅酸通道完成转运。 As^{V} 的吸收主要由磷酸转运蛋白 OsPT8 介导^[10],进入细胞后 As^{V} 可被还原成 As^{III} ^[11-13]继续向顶端运输。 As^{III} 在化学性质上更加接近于硅酸,因此在水稻体内 As^{III} 的吸收和转运主要由硅转运子完成^[14]。水稻根系主要通过 Lsi1 和 Lsi2 两种转运子接力完成对 As^{III} 的吸收和转运。Lsi1 主要在水稻根系外皮层和内皮层细胞膜的向外一侧表达,它可以让 As^{III} 渗透通过^[14-15]。此外,还有研究表明在 As^{V} 胁迫下 Lsi1 转运子可向外部介质中排出 As^{III} ,表明它在一定条件下还具有双向运输功能^[16]。进入根细胞的 As^{III} 在 Lsi2 转运子的外排作用下继续向中柱方向的质外体运输^[17]。但是 As^{III} 如何向根部木质部导

管装载以及怎样在地上部的节中从木质部导管中卸载下来并向叶中分布目前尚未见确切报道。Huang 等^[18]的最新研究表明 Lsi3 转运子负责向根系木质部装载硅,Yamaji 等^[19]的研究指出进入木质部导管的硅被 Lsi6 转运子卸载并被分配进叶鞘、叶片等营养器官中。这些研究为 As^{III} 在水稻体内的可能转运通道提供了重要线索。到目前为止,已经有多篇报道支持 Lsi3 和 Lsi6 转运子在 As^{III} 的转运过程中发挥作用^[20-21]。水稻 OsABCC1 转运子则与 As^{III} 的解毒作用密切相关。该转运子定位于细胞液泡膜上,可以将与植物螯合素(PCs)结合态 As^{III} 区隔进液泡中储存起来^[22]。水稻 PCs 合成酶(OsPCS)是一种诱导,酶同时也是 PCs 的生物合成限速酶,在 As 诱导下水稻主要产生 OsPCS1 型合成酶^[23]。OsABCC1 转运子可以在水稻的根、叶、节、花序梗和穗轴等多种器官中表达^[20],该转运子不仅可与 PCs 合成酶 OsPCS1 协同起到降低水稻组织 As 胁迫作用,还可以通过将 As^{III} 区隔进液泡限制 As^{III} 向籽粒中转运起到降低籽粒总 As 含量的作用。

S-烯丙基-L-半胱氨酸(SAC)是一种由半胱氨酸衍生的水溶性化合物,在成熟期大蒜中含量较丰富,是大蒜素的主要成分之一^[24]。有报道表明 SAC 具有多种生物活性,对重金属中毒有一定的缓解作用,在医疗上具有较好应用前景^[25]。已有研究表明,通过叶面喷施 SAC 可有效缓解水稻 Cd 胁迫^[25]。但通过喷施 SAC 降低水稻籽粒中 As 含量,缓解水稻 As 胁迫的研究尚未见报道。本文于水稻开花期叶面喷施 SAC 主要探究其对水稻籽粒及其他营养器官中 As 含量的影响和对水稻 As 胁迫的影响及降低水稻籽粒中 As 含量的潜在机制,有望为降 As 叶面调理剂的研发提供理论基础和数据支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验以我国南方主栽水稻品种“中早35”为试验材料,盆栽土壤取自广西壮族自治区桂平市重金属As污染稻田(表层10~15 cm),过筛混匀后备用,土壤pH为4.95、有机质含量为24.54 g·kg⁻¹、阳离子交换量为7.64 cmol·kg⁻¹、总As含量为50 mg·kg⁻¹。试验中采用的SAC为分析纯,购于中国医药集团有限公司。盆栽试验在农业农村部环境保护科研监测所玻璃温室中开展。

1.2 水稻盆栽试验

将水稻种子浸泡在含有5%过氧化氢的水溶液中消毒30 min,捞出漂浮在水面的瘪籽以及病籽,选取下沉的饱满种子,用去离子水反复清洗4~5遍。将冲洗干净种子均匀分散在育苗盘上,放置在生化培养箱中黑暗条件下28℃恒温催芽36 h后转移到人工气候室进行培养。待水稻幼苗长至两叶一心时,选取长势一致的水稻幼苗移至装有1/10 Hoagland营养液的8 L水培箱中进行培养。待水稻幼苗长至四叶一心期时,选取长势一致的幼苗移栽至装有4 kg稻田As污染土壤的土培盆中。每盆移栽水稻幼苗3株。生长期定期防病、防虫处理并保持盆中水深3 cm左右。

1.3 盆栽试验设计

盆栽试验共设置4个SAC喷施试验处理组和1个不喷SAC的对照处理组(CK),每个处理设置5盆重复。4个喷施处理组分别喷施0.05、0.1、0.2、0.4 mmol·L⁻¹的SAC,CK只喷施蒸馏水。在水稻开花灌浆初期,将不同浓度SAC溶液用手动喷雾器均匀喷至水稻植株表面。第一次喷施后,间隔24 h进行第二次喷施。每盆每次喷施40 mL。于第二次喷施SAC后间隔72 h收取水稻旗叶、顶端第一节(穗下节)鲜样,同步采集水稻新鲜幼嫩根尖样品。待水稻成熟后,收取水稻完整植株在70℃烘箱中烘干,备用。

1.4 测定方法

1.4.1 水稻植株总As含量测定

将烘干的成熟水稻分为籽粒、穗轴、第一节间(穗轴与顶端第一节之间部分,穗颈)、旗叶、顶端第一节和根,共计6个部分。将水稻籽粒在砵谷机上脱壳后用万能粉碎机粉碎,其余水稻营养器官样品用剪刀剪碎后用万能粉碎机粉碎。称取粉碎后的样品各0.5 g于消解管中,加入7 mL MOS(Metal oxide semiconduc-

tor)级浓硝酸浸泡隔夜。在恒温电热消解炉上110℃高温消解至澄清,冷却后用蒸馏水转移至容量瓶中并准确定容至25.0 mL,用原子荧光光度计(AFS-9760)测定样品中As含量。

1.4.2 水稻植株As^{III}转运基因相对表达水平的测定

向收获的水稻新鲜样品(旗叶、顶端第一节、根)中加入液氮充分研磨,采用OMEGA植物总RNA试剂盒提取样品总RNA,获得的总RNA样品经HiScript[®] II Q RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)R223试剂盒预处理后,在经BIO-RAD CFX96反转录获得cDNA样品。样品在经ChamQTM Universal SUBR[®] qPCR Master Mix Q711试剂盒进行处理后进行实时定量聚合酶链式反应。采用Actin1做内参基因,利用2^{-ΔΔCt}法计算基因相对表达水平。实时荧光定量PCR引物由中科合成(天津)生物科技有限公司设计合成(表1)。

表1 实时荧光定量PCR引物
Table 1 Primers for real-time PCR

引物名称	5'→3'
<i>Actin1</i> -F	TCCATCTTGGCATCTCTCAG
<i>Actin1</i> -R	GTACCCTCATCAGGCATCTG
<i>Lsi1</i> -F	CGGTGGATGTGATCGGAACCA
<i>Lsi1</i> -R	CGTCGAAC TTGTTGCTCGCCA
<i>Lsi2</i> -F	ATCTGGGACTTCATGCCCC
<i>Lsi2</i> -R	ACGTTTGATGCGAGGTTGG
<i>Lsi3</i> -F	CTGTATCCCTGTTGCCAGCTG
<i>Lsi3</i> -R	TAATCCGGCATGCGTACTTG
<i>Lsi6</i> -F	GAGTTCGACAACGTCTAATCGC
<i>Lsi6</i> -R	AGTACACGGTACATGTATACACG
<i>OsABCC1</i> -F	AACAGTGGCTTATGTTCTCAAG
<i>OsABCC1</i> -R	AACTCCTCTTTCTCCAATCTCTG
<i>OsPCS1</i> -F	CGAAGATTCCATTTCACAGA
<i>OsPCS1</i> -R	TCGAGGATATCGGTGAAAGC

1.4.3 抗氧化酶活性测定

采用SOD和CAT试剂盒测定旗叶中抗氧化酶活性^[26],试剂盒购自索莱宝(北京)公司。

1.4.4 旗叶H₂O₂含量测定及显微观察

剪取新鲜旗叶样品浸泡在10 μmol·L⁻¹的H₂DCF-DA(2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯)溶液中,在黑暗处避光孵育2 h后取出,用无菌去离子水反复清洗去除染液。将染色后的旗叶固定在载玻片上,用倒置荧光显微镜在激发波长488 nm条件下观察荧光强度。

1.5 数据处理及计算方法

转移系数(TF_{ab})=a器官As积累量/b器官As积累量。采用Excel 2010软件进行数据计算和绘制柱状

图,采用SPSS 22统计软件进行单因素方差分析(ANOVA)、Duncan多重比较以及差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 对水稻籽粒和营养器官As含量的影响

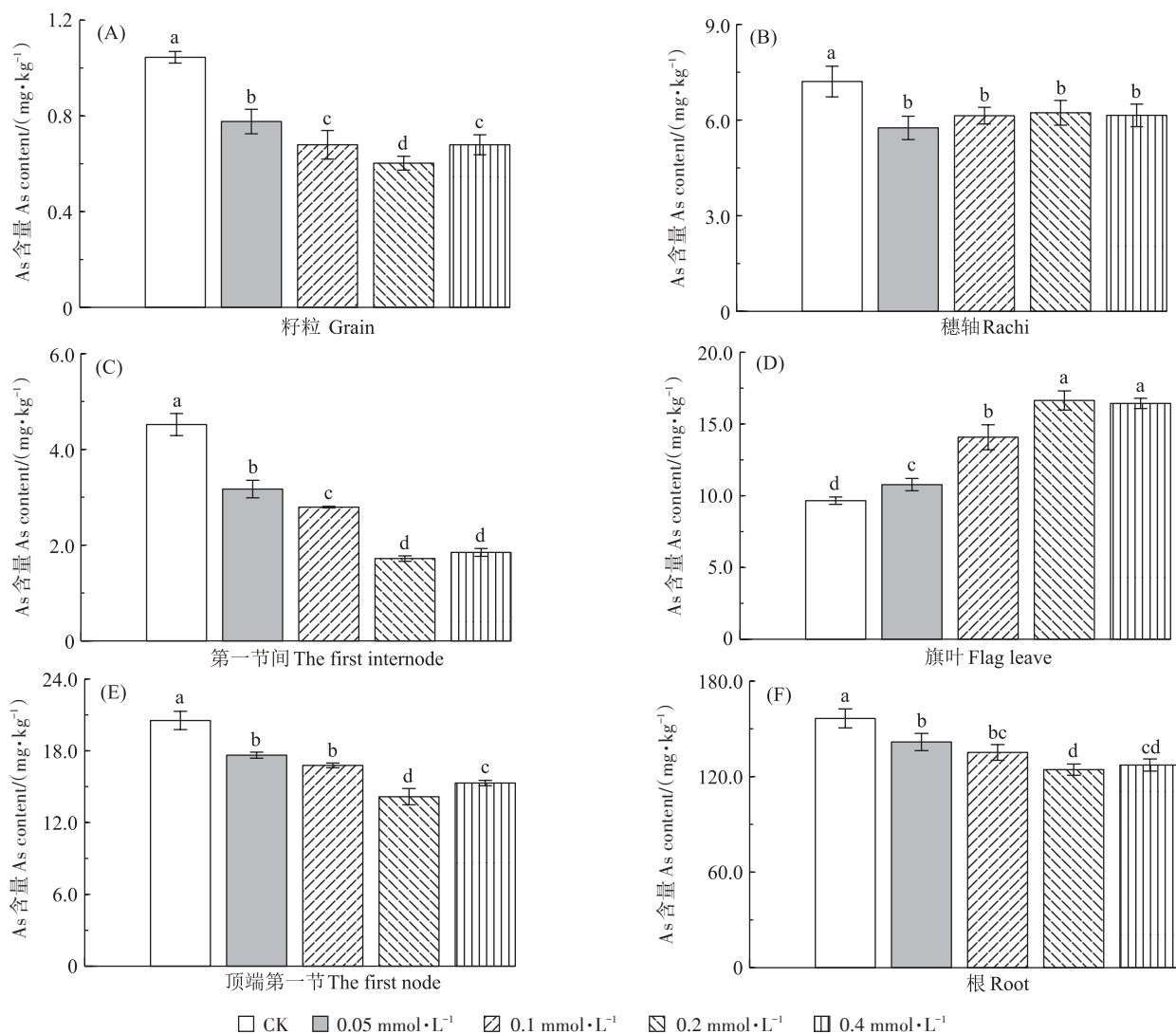
由图1A可见,叶面喷施SAC可显著降低水稻籽粒和穗轴中总As含量。随着SAC喷施浓度增加,籽粒中总As含量呈显著降低趋势,当喷施浓度达到 $0.2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,籽粒中的总As含量达到最低值,与CK相比显著降低42.3%。随着SAC喷施浓度增加到 $0.4\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,籽粒中总As含量反而出现显著增加,表明SAC的最佳喷施浓度为 $0.2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

水稻叶面喷施SAC后,与CK相比,穗轴中的总As含量呈显著下降趋势(图1B),但不同SAC喷施处

理间穗轴总As含量未出现显著差异。当SAC喷施浓度为 $0.2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,穗轴总As含量与CK相比显著降低约15.7%。

由图1C、图1E可见,水稻第一节间和顶端第一节节的总As含量变化趋势与籽粒大致相同,随着SAC喷施浓度的增加第一节间和顶端第一节中总As含量均出现显著降低趋势。与CK相比,当SAC喷施浓度达到 $0.2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,第一节间和顶端第一节中总As含量均降至最低值,其中第一节间总As含量与CK相比显著降低61.9%,顶端第一节总As含量与CK相比显著降低31.0%。可见,开花期叶面喷施SAC显著降低了水稻第一节间和顶端第一节中的总As含量。

喷施SAC后旗叶中总As含量变化趋势如图1D所示。随着SAC喷施浓度增加,与CK相比,旗叶中



不同小写字母表示处理间差异达到5%显著水平,下同。

Different lowercase letters indicate significant difference between different treatments at 5% level. The same below.

图1 喷施SAC对水稻器官中As含量的影响

Figure 1 Effects of foliar application SAC on As content in rice organs

的总As含量呈显著上升趋势。当喷施浓度为 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,旗叶中的总As含量达到最高值,与CK相比显著增加了72.4%。

水稻根部总As含量远高于其他营养器官和籽粒中总As含量(图1F)。喷施SAC后水稻根部总As含量随着喷施浓度的增加呈现显著降低趋势。当SAC喷施浓度达到 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,根部总As含量降到最低值,与CK相比显著降低20.6%。

2.2 对水稻不同营养器官间As转移系数的影响

转移系数(TF)可以直观地体现出As从一个营养器官向另一个营养器官的迁移能力。由图2可见,喷施SAC后As由穗轴向籽粒的转移系数($TF_{\text{籽粒/穗轴}}$)、由顶端第一节向第一节间的转移系数($TF_{\text{第一节间/第一节}}$)都呈现出显著降低趋势。随着喷施浓度的增加,当SAC喷施浓度达到 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,TF达到最低值。与对照处理相比, $TF_{\text{籽粒/穗轴}}$ 显著降低52.1%, $TF_{\text{第一节间/第一节}}$ 显著降低45.0%。然而,经不同浓度SAC处理后As由顶端第一节向旗叶的转移系数($TF_{\text{旗叶/第一节}}$)呈现出逐渐增加趋势。当喷施浓度达到 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, $TF_{\text{旗叶/第一节}}$ 达到最大值,与对照处理相比,显著增加了148.7%。综上可见,开花期在叶面喷施SAC显著降低了As由穗轴向籽粒和由顶端第一节向第一节间中的迁移,显著增加了As由顶端第一节向旗叶中的迁移。

2.3 对顶端第一节、旗叶、根中As^{III}相关转运基因表达水平的影响

试验过程中测定了喷施SAC对水稻顶端第一节中As^{III}相关转运子编码基因*Lsi3*、*Lsi6*以及旗叶中与解除As胁迫有关的*OsABCC1*、*OsPCS1*基因相对表达水平的影响,结果如图3所示。随着SAC喷施浓度的增加顶端第一节中*Lsi3*和*Lsi6*基因相对表达水平与CK相比呈现出显著下调趋势(图3A)。当喷施浓度达到 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,顶端第一节中*Lsi3*和*Lsi6*基因

相对表达水平下调至最低值,与CK相比分别下调36.3%和59.8%。

随着SAC喷施浓度的增加,旗叶中*OsPCS1*和*OsABCC1*基因相对表达水平出现显著上调趋势(图3B)。当SAC喷施浓度达到 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,旗叶中*OsPCS1*和*OsABCC1*的基因相对表达水平上调至最高值,与CK相比分别上调57.6%和61.0%。

试验过程中测定了喷施 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SAC对水稻根尖中三个As^{III}吸收、转运基因表达水平的影响。由图3C可见,叶面喷施 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SAC处理显著下调了根中*OsLsi1*、*OsLsi2*、*OsLsi3*基因相对表达水平,与CK相比三个基因的表达水平分别下调27.2%、23.8%和29.5%。

2.4 对水稻旗叶As胁迫的影响

由图4可见,随着SAC喷施浓度的增加,水稻旗叶中超氧化物歧化酶(SOD)与过氧化氢酶(CAT)活性(以鲜质量计)与CK相比均出现显著增强趋势。当SAC喷施浓度达到 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,旗叶中SOD和CAT活性最强,与CK相比分别显著升高61.8%和105.3%。

叶片组织中 H_2O_2 经染色后在488 nm激发波长下发出绿色荧光,其强度与 H_2O_2 含量呈正相关。由图5可见,不喷施SAC的CK旗叶中的绿色荧光强度最强,表明叶片中 H_2O_2 含量最高,受As胁迫程度最严重。随着SAC喷施浓度的增加,旗叶叶片荧光强度逐渐减弱,表明细胞中 H_2O_2 含量出现逐渐降低趋势。当喷施浓度为 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,旗叶叶片荧光强度最弱,表明此时旗叶叶片受As胁迫程度最轻。

3 讨论

全球大约有50%人口以稻米为主粮^[27],这一数字在我国进一步扩大到2/3^[8]。稻米中As主要以iAs和

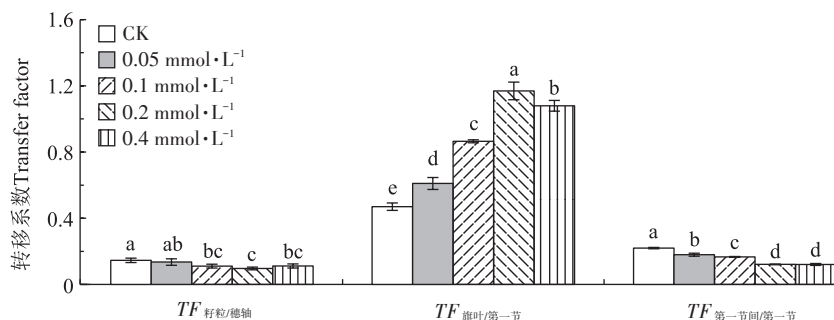


图2 喷施SAC对不同器官间As的转移系数的影响

Figure 2 Effects of foliar application SAC on the As transfer factors between rice organs

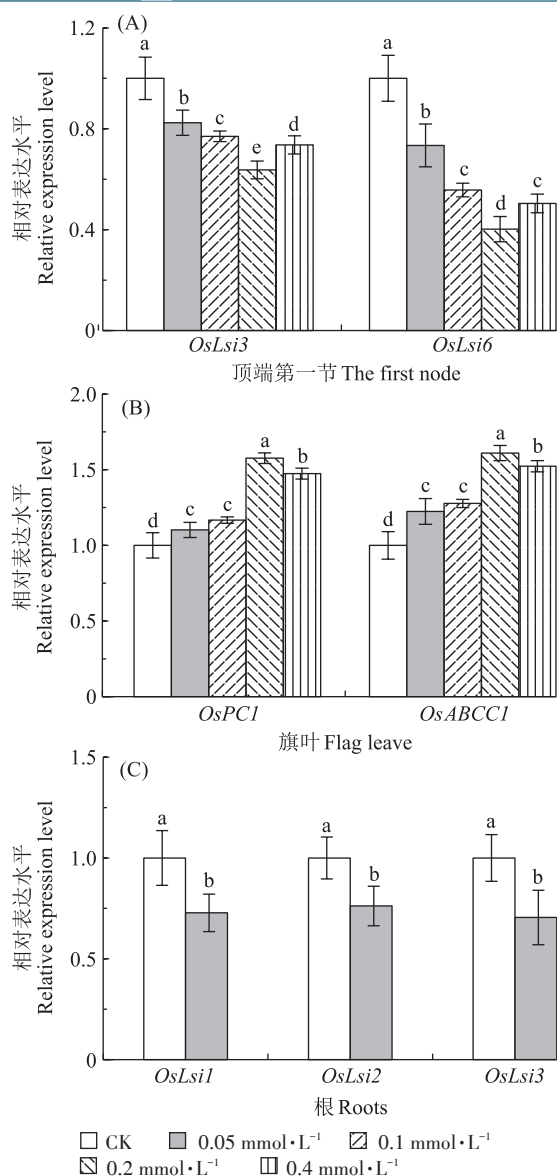


图3 喷施SAC对水稻基因相对表达水平的影响

Figure 3 Effects of foliar application SAC on relative expression levels of genes in rice

二甲基胂酸(DMA)形态存在^[6],因此膳食稻米是我国人群摄入iAs的主要途径,占到总平均摄入量的60%^[7]。叶面喷施技术是一种成本较低且易于大面积推广应用的降低稻米中重金属含量的农艺措施,目前

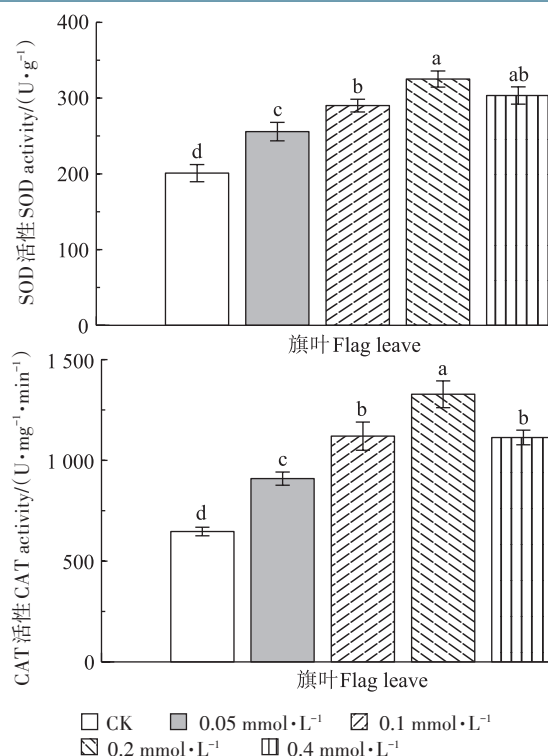


图4 喷施SAC对水稻旗叶SOD、CAT酶活性的影响

Figure 4 Effects of foliar application SAC on SOD and CAT activities of rice flag leaves

开发出了硅肥^[28]、锌肥^[29]、小分子酸类^[30]等多种类型重金属叶面阻控剂。SAC是蒜素的主要成分之一,有研究表明水培试验喷施SAC可以显著降低镉对水稻幼苗的胁迫作用,在田间喷施可降低籽粒中Cd含量^[25]。但是喷施SAC是否会降低水稻籽粒中总As含量及其潜在降低机制尚无报道。

禾本科植物的节具有复杂、有序的维管束结构,在矿质元素的转运、分配中起到关键作用^[31-32]。水稻顶端第一节连接着旗叶和稻穗,从下层节间运输上来的矿质元素在顶端第一节中通过木质部维管束间的转运分配给旗叶和稻穗。水稻灌浆期,在顶端第一节中高效表达的Lsi6转运子从通向旗叶的木质部膨大维管束流中高效卸载硅,在Lsi3转运子接力作用下把硅装载进连通稻穗的木质部弥散维管束中并继续向

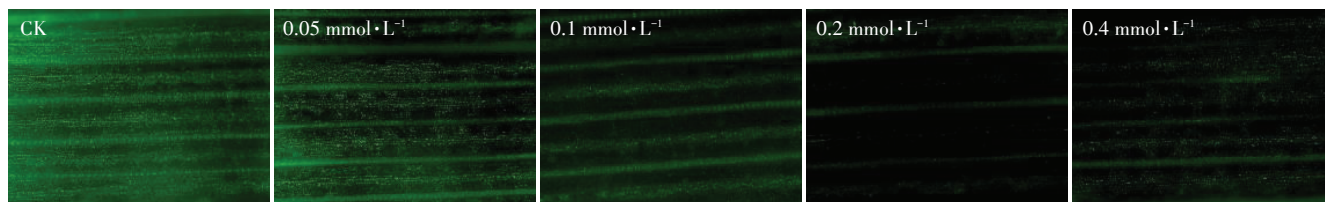


图5 喷施SAC对水稻旗叶As胁迫的影响

Figure 5 Effects of foliar application SAC on As stress in rice flag leaves

稻穗中转运^[33]。有报道表明,当敲除 Lsi6 转运子后水稻旗叶中的硅含量将显著增加,同时稻壳中硅含量显著降低^[34],说明敲除 Lsi6 转运子后显著降低了顶端第一节中硅从旗叶向稻穗中的分配,导致旗叶中硅含量增加而稻壳中含量降低。本研究中,喷施 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 SAC 后顶端第一节中 Lsi3、Lsi6 转运子编码基因表达水平与对照处理相比分别显著下调了 36.3% 和 59.8%,水稻籽粒中总 As 含量显著降低 42.3%,旗叶中总 As 含量显著增加 72.4%。据这一结果推测,喷施 SAC 下调 Lsi3、Lsi6 转运子编码基因表达水平可能同时降低了 As^{III} 从通向旗叶的膨大维管束卸载能力以及向连接稻穗的弥散维管束装载能力,导致水稻籽粒中总 As 含量出现显著降低而旗叶中总 As 含量出现显著增加。同时由图 3A 和图 1A 中可见,当 SAC 喷施浓度达到 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, Lsi3、Lsi6 基因下调幅度最大,当进一步升高 SAC 喷施浓度时两基因下调幅度反而出现显著减小趋势。与之对应籽粒中总 As 含量也在喷施 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SAC 时达到最低值,说明 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为最佳喷施浓度。

水稻吸收及向中柱运输硅和 As^{III} 主要通过 Lsi1、Lsi2 转运子。Lsi1 转运子属于 NIP 亚支水通道蛋白,可以允许硅酸和 As^{III} 渗透通过,抑制 Lsi1 的表达将导致 As^{III} 吸收的减少^[14]。一般认为 Lsi1 是一种单向被动吸收转运子,但也有研究表明当水稻根在 As^{V} 胁迫下 Lsi1 可以向外部介质中排出 As^{III} ,由此证实 Lsi1 是一种双向 As^{III} 转运子^[16]。Lsi2 是一种内排性硅和 As^{III} 转运子^[17]。Lsi1 和 Lsi2 都定位于水稻根系的内皮层和外皮层,但是 Lsi1 位于远端而 Lsi2 位于近端^[15,17]。Lsi2 通过消耗 ATP 主动将 As^{III} 向中柱方向运输,一方面在内皮层和外皮层中维持一种低 As^{III} 浓度,另一方面形成的浓度差可驱动 As^{III} 向内流过 Lsi1 转运子。Lsi3 也是一个内排转运子,主要负责向木质部装载硅,该转运子主要在根部中柱鞘表达且没有极性,敲除 Lsi3 导致水稻在低硅条件下吸收量减少^[18]。在本研究中,当 SAC 喷施浓度达到 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, Lsi1、Lsi2、Lsi3 转运子编码基因表达水平与 CK 相比分别显著下调 27.2%、23.8% 和 29.5%。这一结果表明,水稻根部对 As^{III} 的吸收、向中柱方向的运输能力出现显著降低。同时 Lsi3 基因显著下调可能预示着 As^{III} 向根部木质部导管的装载能力也出现显著降低。在此情况下,水稻根部总 As 含量与对照处理相比显著降低 20.6%。

在重金属胁迫作用下,植物会启动自身抗氧化系

统大量合成抗氧化酶消除体内超氧自由基、过氧化氢、单线态氧等造成植物氧化损伤的物质^[35]。在本研究中,喷施 SAC 后水稻旗叶中 SOD 与 CAT 活性与 CK 相比均出现显著增加趋势。当 SAC 喷施浓度达到 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,旗叶中 SOD 和 CAT 与 CK 相比分别显著升高 61.8% 和 105.3%,表明喷施 SAC 增强了水稻自身抗氧化损伤能力,有助于解除 As 胁迫。荧光显微观察也表明随着 SAC 喷施浓度增加叶片中过氧化氢荧光强度显著减弱,表明过氧化氢含量显著减少。此外,将 As 区隔进液泡中也是一种重要的植物解毒机制,该过程依赖 PCs。在水稻细胞中,PCs 巯基与 As 螯合形成的复合物被位于液泡膜上的 OsABCC1 转运子区隔进液泡中储存起来,该过程是植物解毒的终极步骤^[22]。PCs 是一种由谷胱甘肽聚合而成富含巯基的多肽,由 PCs 介导的重金属脱毒是植物和少数产生 PCs 生物体所特有的解毒机制。水稻中存在两种 PCs 合成酶即 OsPCS1 和 OsPCS2,其中 OsPCS1 对 As 具有较高的响应活性,而 OsPCS2 则对镉等重金属的响应活性更高^[24]。在本研究中,喷施 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SAC 后,水稻旗叶中编码 OsPCS1 和 OsABCC1 的基因表达水平分别显著上调 57.6% 和 61.0%,表明叶片中 PCs 的合成量显著增加,同时向液泡中转运的 PCs 结合态 As^{III} 含量也显著增加。上述这些结果表明,喷施 SAC 可通过增加抗氧化酶活性和向液泡中储存 As^{III} 达到降低 As 胁迫作用。

4 结论

(1) 开花期喷施 S-烯丙基-L-半胱氨酸(SAC)可以显著降低水稻籽粒中总 As 含量,当喷施浓度为 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时效果最佳。

(2) 开花期叶面喷施 SAC 可以显著缓解水稻 As 胁迫。

(3) 开花期喷施 SAC 显著下调了 As^{III} 吸收和转运关键基因的表达水平,但是增加了向液泡中区隔 As 的基因表达水平,最终导致籽粒中总 As 含量显著降低。

参考文献:

- [1] ABEDIN M J, COTTER-HOWELLS J, MEHARG A A. Arsenic uptake and accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) irrigated with contaminated water[J]. *Plant and Soil*, 2002, 240(2): 311-319.
- [2] TULI R, CHAKRABARTY D, TRIVEDI P K, et al. Recent advances in arsenic accumulation and metabolism in rice[J]. *Molecular Breeding*, 2010, 26(2): 307-323.
- [3] KUMARATHILAKA P, SENEWEERA S, MEHARG A, et al. Arsenic speciation dynamics in paddy rice soil-water environment: Sources,

- physico-chemical, and biological factors: A review[J]. *Water Research*, 2018, 140:403–414.
- [4] SODHI K K, KUMAR M, AGRAWAL P K, et al. Perspectives on arsenic toxicity, carcinogenicity and its systemic remediation strategies[J]. *Environmental Technology and Innovation*, 2019, 16:100462.
- [5] MEHARG A A, WILLIAMS P N, ADOMAKO E, et al. Geographical variation in total and inorganic arsenic content of polished (white) rice [J]. *Environmental Science and Technology*, 2009, 43:1612–1617.
- [6] 赵方杰. 水稻砷的吸收机理及阻控对策[J]. 植物生理学报, 2014, 50(5):569–576. ZHAO F J. Mechanisms of arsenic uptake by rice and mitigation strategies[J]. *Plant Physiology Journal*, 2014, 50(5):569–576.
- [7] LI G, SUN G X, WILLIAMS P N, et al. Inorganic arsenic in Chinese food and its cancer risk[J]. *Environment International*, 2011, 37(7):1219–1225.
- [8] 凌启鸿, 张洪程, 丁艳锋, 等. 水稻高产技术的新发展——精确定量栽培[J]. 中国稻米, 2005(1):3–7. LING Q H, ZHANG H C, DING Y F, et al. New development of rice high yield technology – precise quantitative cultivation[J]. *China Rice*, 2005(1):3–7.
- [9] MESTROT A, UROIC M K, PLANTEVIN T, et al. Quantitative and qualitative trapping of arsines deployed to assess loss of volatile arsenic from paddy soil[J]. *Environmental Science and Technology*, 2009, 43(21):8270–8275.
- [10] WANG P T, ZHANG W W, MAO C Z, et al. The role of *OsPT8* in arsenate uptake and varietal difference in arsenate tolerance in rice[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(21):6051–6059.
- [11] 于焕云, 崔江虎, 乔江涛, 等. 稻田镉污染阻控原理与技术应用[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(7):1418–1426. YU H Y, CUI J H, QIAO J T, et al. Principle and technique of arsenic and cadmium pollution control in paddy field[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(7):1418–1426.
- [12] SHI S, WANG T, CHEN Z, et al. *OsHAC1;1* and *OsHAC1;2* function as arsenate reductases and regulate arsenic accumulation[J]. *Plant Physiology*, 2016, 172(3):1708–1719.
- [13] XU J, SHI S, WANG L, et al. *OsHAC4* is critical for arsenate tolerance and regulates arsenic accumulation in rice[J]. *New Phytologist*, 2017, 215(3):1090–1101.
- [14] MA J F, YAMAJI N, MITANI N, et al. Transporters of arsenite in rice and their role in arsenic accumulation in rice grain[J]. *PNAS*, 2008, 105(29):9931–9935.
- [15] MA J F, TAMAI K, YAMAJI N, et al. A silicon transporter in rice[J]. *Nature*, 2006, 440:688–691.
- [16] ZHAO F J, AGO Y, MITANI N, et al. The role of the rice aquaporin *Lsi1* in arsenite efflux from roots[J]. *New Phytologist*, 2010, 186(2):392–399.
- [17] MA J F, YAMAJI N, MITANI N, et al. An efflux transporter of silicon in rice[J]. *Nature*, 2007, 448:209–212.
- [18] HUANG S, YAMAJI N, SAKURAI G, et al. A pericycle-localized silicon transporter for efficient xylem loading in rice[J]. *New Phytologist*, 2022, 234:197–208.
- [19] YAMAJI N, MITANI N, MA J F. A transporter regulating silicon distribution in rice shoots[J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(5):1381–1389.
- [20] PAN D D, YI J C, LI F B, et al. Dynamics of gene expression associated with arsenic uptake and transport in rice during the whole growth period[J]. *BMC Plant Biology*, 2020, 20:133.
- [21] MOUSAVI S R, NIKNEJAD Y, FALLAH H, et al. Methyl jasmonate alleviates arsenic toxicity in rice[J]. *Plant Cell Reports*, 2020, 39:1041–1060.
- [22] SONG W Y, YAMAKI T, YAMAJI N, et al. A rice ABC transporter, *OsABCC1*, reduces arsenic accumulation in the grain[J]. *PNAS*, 2014, 111(44):15699–15704.
- [23] HAYASHI S, TANIKAWA H, KURAMATA M, et al. Domain exchange between *Oryza sativa* phytochelatin synthases reveals a region that determines responsiveness to arsenic and heavy metals[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2020, 523:548–553.
- [24] NUMAGAMI Y, OHNISHI S T. S-Allylcysteine inhibits free radical production, lipid peroxidation and neuronal damage in rat brain ischemia[J]. *Journal of Nutrition*, 2001, 131(3):1100–1105.
- [25] 程六龙. S-烯丙基-L-半胱氨酸对水稻镉转运的影响[D]. 北京:中国农业科学院, 2021:54–55. CHENG L L. Effects of S-allyl-L-cysteine on cadmium transport in rice[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2021:54–55.
- [26] ABBAS T, RIZWAN M, ALI S, et al. Effect of biochar on cadmium bioavailability and uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in a soil with aged contamination[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 140:37–47.
- [27] XU Y, MA K, ZHAO Y, et al. Genomic selection: A breakthrough technology in rice breeding[J]. *The Crop Journal*, 2021, 9(3):669–677.
- [28] LIU C P, LI F B, LUO C L, et al. Foliar application of two silica sols reduced cadmium accumulation in rice grains[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 161:1466–1472.
- [29] ZHEN S, SHUAI H, XU C, et al. Foliar application of Zn reduces Cd accumulation in grains of late rice by regulating the antioxidant system, enhancing Cd chelation onto cell wall of leaves, and inhibiting Cd translocation in rice[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 770:145302.
- [30] 王惠君, 薛卫杰, 张昕, 等. 叶面喷施苹果酸对水稻Cd积累特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(2):269–278. WANG H J, XUE W J, ZHANG X, et al. Effects of foliar application with malic acid on the accumulation of cadmium in rice[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(2):269–278.
- [31] YAMAJI N, MA J F. The node, a hub for mineral nutrient distribution in graminaceous plants[J]. *Trends in Plant Science*, 2014, 19(9):556–563.
- [32] YAMAJI N, MA J F. Node-controlled allocation of mineral elements in Poaceae[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2017, 39:18–24.
- [33] YAMAJI N, SAKURAI G, MITANI-UENO N, et al. Orchestration of three transporters and distinct vascular structures in node for intervascular transfer of silicon in rice[J]. *PNAS*, 2015, 112(36):11401–11406.
- [34] YAMAJI N, MA J F. A transporter at the node responsible for intervascular transfer of silicon in rice[J]. *The Plant Cell*, 2009, 21(9):2878–2883.
- [35] MITTLER R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance[J]. *Trends in Plant Science*, 2002, 7(9):405–410.

(责任编辑:叶飞)