

# 水稻叶片的生理性状和形态特征受铬胁迫的影响研究

刘晴<sup>1</sup> 孙露宏<sup>2</sup> 高世伟<sup>1</sup> 刘宇强<sup>1</sup> 常汇琳<sup>1</sup>  
马成<sup>1</sup> 王婧泽<sup>1</sup> 王翠玲<sup>3</sup> 聂守军<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>黑龙江省农业科学院绥化分院, 152000, 黑龙江绥化; <sup>2</sup>农业农村部稻米及加工品质与营养检验检测中心(桦川), 154000, 黑龙江佳木斯; <sup>3</sup>黑龙江省农业科学院农产品质量安全研究所, 150000, 黑龙江哈尔滨)

**摘要** 以绥粳309 (SJ309) 和龙庆稻31 (LQD31) 2个水稻品种为材料, 探究铬胁迫对水稻叶片生理性状与形态特征的影响。结果表明, 铬主要在水稻根部富集, 且SJ309比LQD31更有效地减少了铬的吸收与转移。在高浓度铬胁迫(100 μmol/L)下, 2个品种的气孔导度、蒸腾速率、水分利用率及光合色素等生理特性均下降, 叶片蒸气压亏缺、胞间CO<sub>2</sub>浓度和丙二醛含量则升高。经铬胁迫处理, 仅LQD31的气孔保卫细胞气孔面积增大、孔径闭合, 而SJ309无明显变化。与SJ309相比, LQD31的脱落酸和水杨酸含量显著增加, 导致参与气孔孔径调节的NCEDI和NCED2基因过度表达, 表明LQD31对铬胁迫更为敏感。此外, 铬胁迫使SJ309的非腺毛状体密度和长度显著增加, 表明其能抵御紫外线损伤及多种环境胁迫。综上, 水稻SJ309对铬胁迫耐受性更佳, 其超积累特性可用于铬污染土壤的植物修复。

**关键词** 铬胁迫; 水稻; 生理特性; 叶片; 形态特征

铬是一种具有膜渗透性和高毒性的非必需重金属, 可干扰组织细胞功能, 甚至导致植物死亡<sup>[1-2]</sup>, 土壤铬污染还会造成各类农作物减产。铬在环境中主要以三价(Cr<sup>3+</sup>)和六价(Cr<sup>6+</sup>)离子形态存在<sup>[3]</sup>。铬酸盐和重铬酸盐化合物是铬的含氧阴离子, 具有毒性、可溶于水且能释放游离的Cr<sup>6+</sup>, 其来源大多为钢铁、电镀、皮革和化工等人为活动, 而适量范围内的Cr<sup>3+</sup>并无毒性<sup>[4]</sup>。目前, 植物吸收和转运铬的具体机制尚不明确。

重金属进入植物根表皮层主要是通过共质体与质外体途径进行的短程运输, 以及木质部与韧皮部进行装卸的长程运输。植物对重金属的防御机制主要包括诱导产生金属硫蛋白、胁迫形成植物螯合肽及利用液泡对重金属进行区域化隔离<sup>[5]</sup>。植物通过细胞质膜吸收Cr<sup>6+</sup>, 此过程涉及磷酸盐和硫酸盐转运体能量依赖性的活性转运<sup>[3,5]</sup>。研究<sup>[6-8]</sup>表明, 较高浓度的Cr<sup>6+</sup>会对植物种子萌发、生长形态、生物量及产量产生不利影响。铬毒性会诱导植物产生活性氧(reactive oxygen species, ROS), 如超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)、过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)和羟自由基(·OH)

等, 进而干扰植物正常新陈代谢。ROS活性增强会破坏蛋白质、脂质和核酸等细胞结构。植物虽能通过产生超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)等抗氧化酶来清除ROS, 但在铬及其他重金属胁迫下, 这些抗氧化酶的活性会降低<sup>[6,9-10]</sup>。在较高浓度铬胁迫下, 小麦中丙二醛(malondialdehyde, MDA)浓度升高, 这是由ROS活性增强导致的氧化损伤所致<sup>[11]</sup>。

叶片生理性状与形态特征变化是植物对重金属胁迫作出的信息反馈。铬的植物毒性会减少实质细胞数量、改变叶绿体超微结构、抑制电子传递过程、缩小细胞间空间, 并导致叶片气孔导度异常, 进而使光合速率降低<sup>[12-13]</sup>。此外, 铬还会干扰细胞的矿物质吸收, 破坏水分平衡<sup>[6]</sup>。气孔的保卫细胞能对包括重金属胁迫在内的非生物胁迫作出快速响应, 通过调节气孔的孔径和面积来适应环境变化。在非生物胁迫条件下, 保卫细胞会积累更多脱落酸(abscisic acid, ABA), 促使气孔关闭。尽管ABA和水杨酸(salicylic acid, SA)可能通过改变

作者简介: 刘晴, 研究方向为水稻遗传育种, E-mail: 285394703@qq.com

聂守军为通信作者, 研究方向为水稻遗传育种, E-mail: nsj-0821@163.com

基金项目: 黑龙江省农业科技创新跨越工程农业科技基础创新优秀项目(CX22YQ25); 黑龙江省农业科技创新跨越工程重大需求科技创新科技攻关项目(CX23ZD02); 黑龙江省水稻现代农业产业技术协同创新推广体系; 黑龙江省农业科学院绥化分院科技创新项目(SHXY2022-01); 政府间国际科技创新合作(2022YFE0117800-4); 中国绿色食品发展中心农产品品质规格营养功能评价项目(GF-TSPZ-2024021)

收稿日期: 2024-09-12; 修回日期: 2024-11-09; 网络出版日期: 2025-05-22

气孔的协同作用来调节植物对非生物胁迫的耐受性<sup>[14-15]</sup>，但研究<sup>[16]</sup>指出，ABA 依赖基因 *NCED1* 和 *NCED2* 过表达会导致 ABA 积累，进而使气孔关闭、蒸腾速率下降。土壤中重金属浓度过高还会影响植物毛状体的结构完整性与分布。相关研究<sup>[17]</sup>显示，当砷浓度较高时，绿豆叶片正面和背面的毛状体密度均会降低。水稻叶片背面和正面的叶脉与表皮之间分布着腺毛状体和非腺毛状体，不过目前尚无研究报道水稻毛状体对土壤中较高浓度铬胁迫的反应情况。

水稻作为全球最重要的粮食作物之一，土壤重金属污染是其减产的主要原因之一。我国受重金属污染的土壤面积达上万公里，占耕地总面积的 15% 以上，以每年数万吨粮食遭重金属污染计算，直接经济损失高达 200 亿元<sup>[18-19]</sup>。工业废品中含有的化学物质，是促使有毒金属在水稻植物组织中迁移的主要诱因<sup>[20-21]</sup>。然而，目前尚未见关于  $\text{Cr}^{6+}$  毒性对水稻生理和形态影响的相关报道。本研究评估了  $\text{Cr}^{6+}$  毒性对 2 个水稻品种叶片不同生理及形态特征参数的影响，旨在阐明高浓度  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫降低水稻叶片各项生理特性与形态特征参数的机制，为应对水稻重金属污染问题提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为 2 个水稻品种绥粳 309 (SJ309) 和龙庆稻 31 (LQD31)，由黑龙江省农业科学院绥化分院提供。2 个水稻品种均属于常规水稻，种植普及率较高，且具有高产、优质、多抗和耐旱等特点。

### 1.2 试验方法

选取外观健康且大小均匀的种子，于实验室可控环境生长室中繁育发芽，将发芽种子在 18 h 光照/6 h 黑暗、30 °C/22 °C、相对湿度 50%~60% 以及光合有效辐射  $500 \pm 25 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  的环境条件下进行生长发育。2 周后，分别用含有 0 (CK)、25 ( $\text{Cr}_{25}$ )、50 ( $\text{Cr}_{50}$ ) 和 100  $\mu\text{mol}/\text{L}$  ( $\text{Cr}_{100}$ )  $\text{Cr}^{6+}$  的重铬酸钾溶液处理 2 种供试水稻。由于经 150  $\mu\text{mol}/\text{L}$  铬胁迫处理 20 d 后的 LQD31 大部分已死亡，因此，最终确定试验所需的铬胁迫浓度范围在 0~100  $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。对照组和各浓度处理组均进行 5 次重复试验。在第 3 周至第 5 周，按上述相同条件每 3 d 更换 1 次处理液，共处理 21 d。

### 1.3 测定指标与方法

**1.3.1 铬 ( $\text{Cr}^{6+}$ ) 含量** 经铬胁迫处理 3 周后，收获 2 个水稻品种的根和叶。于 60 °C 下干燥 24 h 后制样，称取 0.5 g 待测样品，使用 7 mL  $\text{HNO}_3$  进行微波消解，用水定容至 50 mL。使用 iCAP™ RQ ICP-MS 电感耦合等离子体质谱仪（赛默飞世尔科技公司）测定  $\text{Cr}^{6+}$  含量，绘制标准曲线，相关系数  $R^2 \geq 0.999$ 。

**1.3.2 生理性状与光合气体交换参数** 使用 CIRAS-3 便携式光合作用测定系统（PP Systems，美国）分析 CK 和  $\text{Cr}_{100}$  处理下 2 个水稻品种叶片的气孔导度 ( $G_s$ )、蒸腾速率 ( $T_r$ )、水分利用率 ( $WUE$ )、胞间  $\text{CO}_2$  浓度 ( $C_i$ )、蒸气压亏缺和叶片温度。

**1.3.3 叶片组织形态与生长指标** 经铬胁迫处理 3 周后，在真空室中，用甲醛-乙醇-乙酸 (formaldehyde-alcohol-acetic acid, FAA) 固定叶片 30 min，在初固定的 15 min 内需抽放真空数次。用碘化丙啶 (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，磷酸盐缓冲液) 对洗净的叶片染色 15 min，随后放入甘油中。利用 TCS SP8 激光扫描共聚焦显微系统 (徕卡，德国) 在 DMI600 倒置显微镜 (徕卡，德国) 上运行，配备 63×NA1.3 甘油浸没式透镜用于成像，在采集透射光图像的同时使用 488 nm 激发波长采集荧光图像。利用 ImageJ 软件测定水稻茎长、根长和侧根数。定量分析时进行 50 次重复试验。

**1.3.4 光合色素** 分别称取 CK 与  $\text{Cr}_{100}$  处理的 2 个水稻品种叶片样品 (25 mg)，用 1.5 mL 80% (v/v) 丙酮在 4 °C 避光处理 48 h。随后，将样品在 13 000 g 下离心 10 min，将上清液稀释 10 倍后在 663、645 和 480 nm 波长下测定吸光度<sup>[22]</sup>。计算叶绿素和类胡萝卜素含量：叶绿素含量 =  $(7.93 \times A_{663} + 19.53 \times A_{645}) \times f \times V / FW$ ，类胡萝卜素含量 =  $(A_{480} + 0.114 \times A_{663} - 0.638 \times A_{645}) \times f \times V / FW \times 112.5$ ，式中， $f$  表示稀释因子， $V$  表示样品溶液体积， $FW$  表示收获待测样品的鲜重 (mg)。

**1.3.5 抗氧化酶活性与丙二醛 (MDA) 含量** 采用硫代巴比妥酸 (thiobarbituric acid, TBA) 法测定 MDA 含量。称取 0.2 g 鲜叶样品，用 5 mL 含 10% 三氯乙酸的 0.25% TBA 溶液进行均质。在 95 °C 下煮沸 30 min，然后在 10 000 g 下离心 10 min，于 532 nm 波长处测定吸光度，然后减去在 600 nm 波长处测得的吸光度 (非特异性)。

参照 Larkindale 等<sup>[23]</sup>的方法，从 100 mg 叶片样品中提取抗氧化酶。用 2 mL 含有 1% 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) 和 1 mmol/L 乙二胺四乙酸 (EDTA) 的 100 mmol/L 磷酸盐缓冲液 (pH=7.0) 冷冻并研磨叶片样品。在 4 °C、13 000 g 下离心 20 min，将上清液分离并备用。

采用紫外分光光度法测定过氧化氢酶 (CAT) 活性，将 0.1 mL 酶提取物与 1 mL 50 mmol/L 磷酸钠缓冲液 (pH=7.0) 混匀，加入 0.1 mL 100 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引发反应，每隔 30s 记录 240 nm 处的吸光度变化，持续 2 min。采用愈创木酚法<sup>[24]</sup>测定过氧化物酶 (POD) 活性，将 100 μL 酶提取物与 0.9 mL 含有 1 mmol/L EDTA 的磷酸二氢钾缓冲液 (pH=7.0) 和 10 mmol/L 愈创木酚混合，加入 0.1 mL 100 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引发反应，室温孵育 5 min，于 470 nm 处记录吸光度变化。采用氮蓝四唑 (NBT) 光还原法测定超氧化物歧化酶 (SOD) 活性，将 0.1 mL 酶提取物加入 189 μL 1 mmol/L 硝基蓝四氮

唑和 39 μL 1 mmol/L 甲硫氨酸中，再用 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液 (pH=7.8) 定容，加入 3.9 μL 1 mmol/L 核黄素后，将反应混合物在 15 W 荧光灯下孵育 10 min，于 560 nm 处测量吸光度。CAT、POD 和 SOD 活性单位为 U/(mg prot·min)。

1.3.6 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 将 CK 和 Cr<sub>100</sub> 处理的 2 个水稻品种叶片用液氮速冻，并在 -80 °C 保存备用。使用 RNeasy Plant Mini Kit 试剂盒 (Qiagen, 德国) 提取总 RNA。基于 1 mg 总 RNA 采用 Reverse Transcription Supermix for RT-qPCR 逆转录预混液 (Bio-Rad, 美国) 获得 cDNA。对于相对转录水平，使用 CFX384 Touch™ 实时检测系统 (Bio-Rad, 美国)，按照说明和 iTaq Universal SYBR Green 超混合液 (Bio-Rad, 美国)，进行 qRT-PCR 的定量分析<sup>[25]</sup>。使用 Primer Quest 软件设计 qRT-PCR 中使用的基因特异性引物 (表 1)，所有反应均在 384 孔 PCR 板中进行。使用肌动蛋白 (内参基因) 将转录水平归一化。每个 qRT-PCR 试验均

表 1 qRT-PCR 引物信息  
Table 1 Information of the primers for qRT-PCR

编号 Code	基因 Gene	正向引物 Forward primer (5'→3')	反向引物 Reverse primer (3'→5')
1	<i>NCED1</i>	GCTCGGTCACTCACTCACTC	GCGTTCTTCTTCTGCCATAG
2	<i>NCED2</i>	CATGTCCTCACTCCCTTCTCA	GAAGCCAGCGAAGAAGTTTGG

进行 3 个重复。

1.3.7 脱落酸 (ABA) 和水杨酸 (SA) 含量 参考 Vadassery 等<sup>[26]</sup>的方法，采用超高效液相色谱法对防御性植物激素 (ABA 和 SA) 进行测定与分析。将 CK 和 Cr<sub>100</sub> 处理的 2 个水稻品种叶片用液氮速冻，并在 -80 °C 保存备用。叶片部分使用 Tissuelyser-II 组织研磨仪 (上海净信实业发展有限公司) 进行均质，于冻干机中保存过夜。取 20 mg 冻干样品用 1 mL 甲醇提取，甲醇中用 40 ng/mL D6-ABA 和 40 ng/mL D4-SA 作内标。将均质样品在振荡器中混合 30 min，然后在 4 °C 下以 13 000 g 离心 20 min。收集上清液，再次用 500 μL 甲醇提取匀浆并离心。合并提取物进行氮吹，并重新悬浮于 500 μL 甲醇中上机检测。

#### 1.4 数据处理

采用方差分析 (ANOVA) 进行统计检验，使用 Tukey 检验进行事后多重比较，使用 Origin 2021 软件进行统计分析，显著性水平  $P < 0.05$ ，图表中的数据用平均值 ± 标准差表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 铬胁迫下水稻根和叶中的铬含量

水稻植株根和叶片中铬 (Cr<sup>6+</sup>) 含量的测定结果如表 2 所示，2 个水稻品种根部铬积累量是叶的 11.1~26.6 倍，且随铬胁迫浓度升高，根和叶的铬积累量呈递增趋势。比较不同水稻品种根和叶中铬的

表 2 不同铬胁迫水平对水稻品种根和叶中 Cr<sup>6+</sup> 含量的影响

Table 2 Effects of different chromium stress levels on Cr<sup>6+</sup> content in roots and leaves of rice varieties mg/g

品种 Variety	处理 Treatment	根 Root	叶 Leaf
SJ309	CK	0.000±0.000e	0.000±0.000e
	Cr <sub>25</sub>	0.238±0.003d	0.012±0.001d
	Cr <sub>50</sub>	0.337±0.006c	0.013±0.004d
	Cr <sub>100</sub>	0.452±0.009b	0.017±0.003c
LQD31	CK	0.000±0.000e	0.000±0.000e
	Cr <sub>25</sub>	0.255±0.004d	0.023±0.002b
	Cr <sub>50</sub>	0.346±0.005c	0.025±0.003b
	Cr <sub>100</sub>	0.550±0.011a	0.034±0.005a

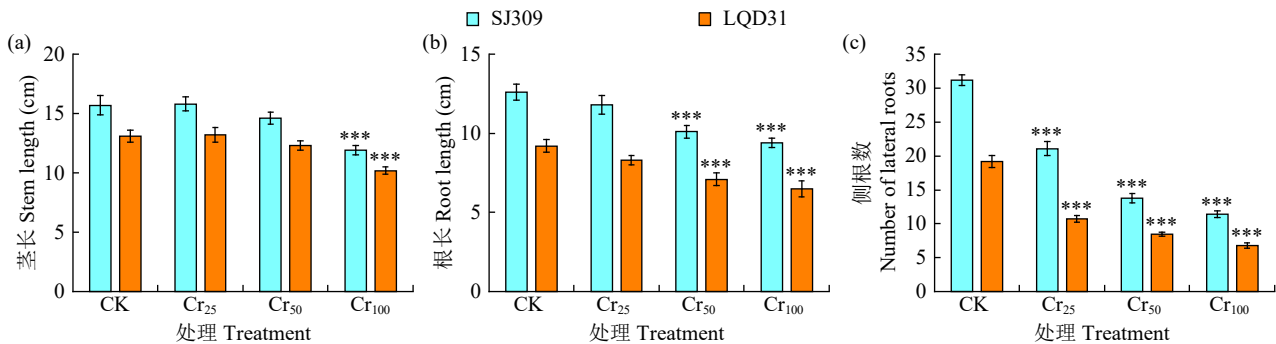
不同小写字母表示具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。Different lowercase letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

富集量发现, LQD31 的富集能力强于 SJ309, 在  $Cr_{100}$  处理下差值最大。然而, CK 处理下 SJ309 和 LQD31 的根和叶中均未检出铬, 说明铬不易在水稻植株体内向茎部和叶片转移, 且 SJ309 比 LQD31 能更有效地抑制植株对铬的吸收与转移。

## 2.2 铬胁迫下水稻幼苗的生长指标

由图 1 可知, 2 个水稻品种的茎长、根长和侧

根数均有不同程度的降低(图 1)。 $Cr_{100}$  处理下水稻植株的茎长、根长和侧根数均极显著减少, 与 SJ309 相比 LQD31 的降幅较大, 受铬胁迫影响更明显。然而, 与 CK 处理相比,  $Cr_{25}$  处理下 2 个水稻品种的茎长无明显变化, 只有在  $Cr_{100}$  处理下 SJ309 和 LQD31 的茎长受铬胁迫影响极显著, 分别下降了 24.2% 和 22.1%。



“\*\*\*”表示处理间差异达极显著水平 ( $P < 0.001$ ), 下同。

“\*\*\*” indicates extremely significant difference among treatments at  $P < 0.001$  level, the same below.

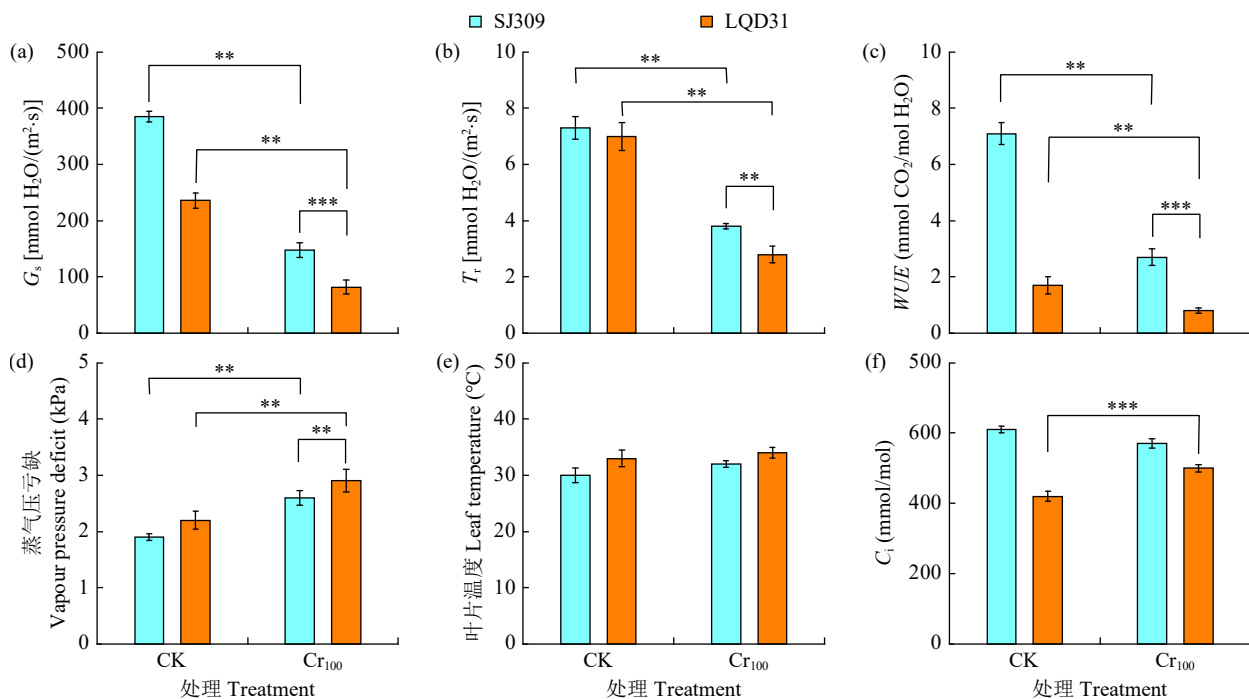
图 1 不同铬胁迫水平对水稻品种幼苗生长指标的影响

Fig.1 Effects of different chromium stress levels on seedling growth index of rice varieties

## 2.3 铬胁迫下水稻叶片的光合气体交换参数和生理性状

$Cr_{100}$  处理下, 水稻植株的  $G_s$  (图 2a)、 $T_r$  (图 2b) 和  $WUE$  (图 2c) 均有所下降, 蒸气压亏缺 (图

2d) 则有所上升。 $Cr_{100}$  处理下 SJ309 和 LQD31 的叶片温度分别提高了 6.3% 和 5.1%, 表明铬胁迫下水稻叶温在不同品种之间无显著差异 (图 2e)。由图 2f 可知, 铬胁迫对  $C_i$  具有一定的影响, SJ309



“\*\*”表示处理间差异达极显著水平 ( $P < 0.01$ ), 下同。

“\*\*” indicates extremely significant difference among treatments ( $P < 0.01$ ), the same below.

图 2 铬胁迫对不同水稻品种光合气体交换参数和生理性状的影响

Fig.2 Effects of chromium stress on photosynthetic gas exchange parameters and physiological traits of different rice varieties

的  $C_i$  减少 4.9%，LQD31 则增加 19.4%。Cr<sub>100</sub> 处理下 LQD31 的  $C_i$  增加导致  $G_s$  和  $T_r$  降低。较高的蒸气压亏缺导致 LQD31 植株的  $G_s$ 、 $T_r$  和  $WUE$  显著下降。

### 2.4 铬胁迫下水稻叶片的组织形态

由图 3a 可知，CK 处理下 SJ309 和 LQD31 叶片中的气孔保卫细胞为正常形态，Cr<sub>100</sub> 处理下 SJ309 叶片上的气孔保卫细胞保持正常形态，但

LQD31 的保卫细胞则出现变形。由图 3c 和图 3d 可知，SJ309 和 LQD31 的气孔面积均有所增加，增幅分别为 5.0% 和 30.8%。CK 处理下 2 个水稻品种叶片和 Cr<sub>100</sub> 处理下 SJ309 叶片的气孔孔径均为开放状态，但 Cr<sub>100</sub> 处理下 LQD31 叶片的气孔孔径关闭，SJ309 在 CK 和 Cr<sub>100</sub> 处理下的气孔孔径面积无显著差异。由图 3b 和图 3e 可知，Cr<sub>100</sub> 处理下 SJ309 和 LQD31 的气孔密度均有所增加，但不显著。

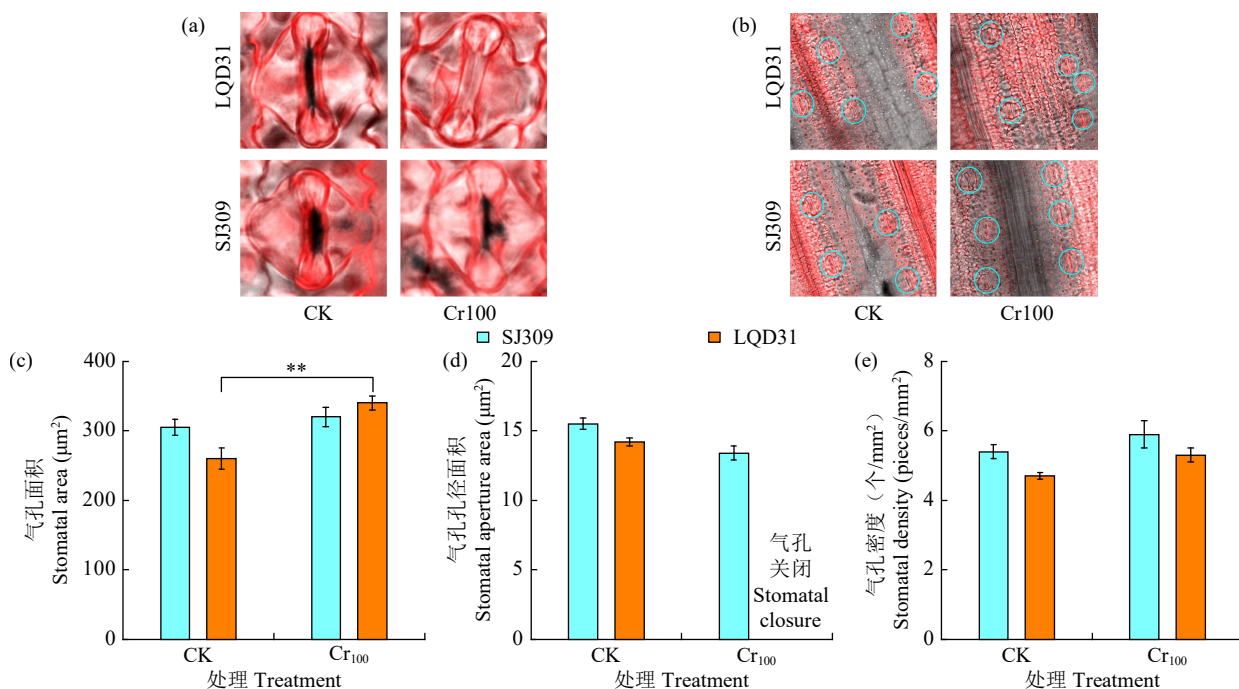


图 3 铬胁迫对不同水稻品种叶片气孔形态的影响

Fig.3 Effects of chromium stress on leaf stomatal morphology of different rice varieties

由图 4a 可知，CK 和 Cr<sub>100</sub> 处理下的水稻植株叶片上可观察到 2 种毛状体，即腺毛状体（腺毛，绿圈）和非腺毛状体（非腺毛，黄圈）。由图 4b 可知，CK 和 Cr<sub>100</sub> 处理下 2 个水稻品种叶片的腺毛和非腺毛密度有所不同，铬胁迫对 LQD31 的腺毛

和 SJ309 的非腺毛影响较为显著，增幅分别为 80.3% 和 183.7%。铬胁迫对不同品种非腺毛密度的影响结果相反，SJ309 的非腺毛密度增大，LQD31 的非腺毛密度则下降 11.9%。SJ309 和 LQD31 的腺毛长度在不同铬处理间无显著差异。在非腺毛状体

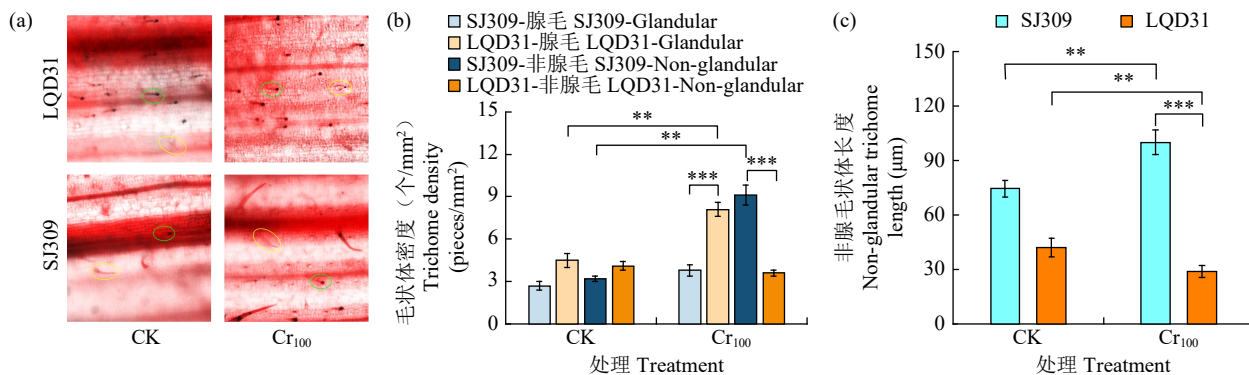


图 4 铬胁迫对不同水稻品种叶片毛状体形态的影响

Fig.4 Effects of chromium stress on leaf trichome morphology of different rice varieties

长度方面(图4c),Cr<sub>100</sub>处理下SJ309增加了37.2%,LQD31则减少了26.1%。

## 2.5 铬胁迫下水稻的光合色素与抗氧化酶活性

水稻的光合色素含量受铬胁迫的影响(图5a~b),Cr<sub>100</sub>处理下SJ309和LQD31叶片中叶绿素含量分别减少了22.0%和65.8%,类胡萝卜素含量分别减少了8.1%和65.2%,表明LQD31叶片受铬胁迫

的影响更为显著。Cr<sub>100</sub>处理下,SJ309的CAT活性降低了21.0%,LQD31则提高了16.3%(图5c);SJ309和LQD31的POD活性分别提高了3.0%和34.9%(图5d);SJ309的SOD活性降低了9.1%,LQD31则提高了7.0%(图5e);SJ309和LQD31的MDA含量分别提高了1.0%和34.2%,LQD31材料Cr<sub>100</sub>与CK处理相比有显著差异(图5f)。

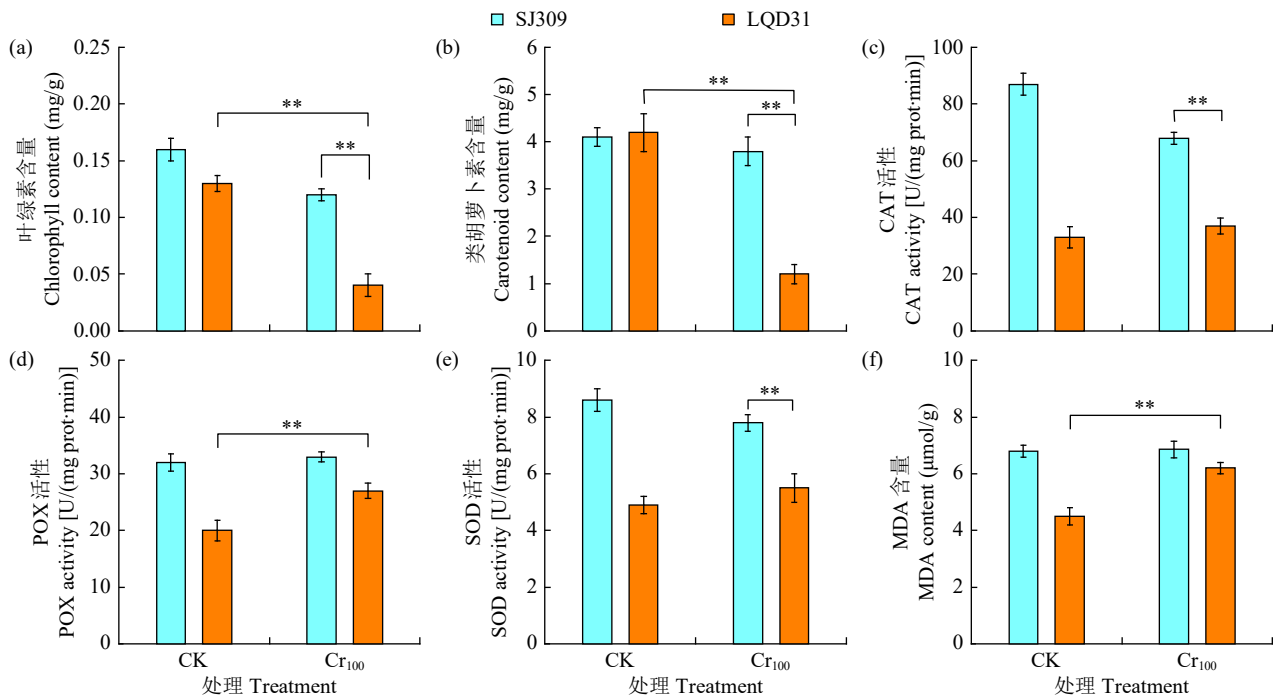


图5 铬胁迫对不同水稻品种光合色素与抗氧化酶活性的影响

Fig.5 Effects of chromium stress on photosynthetic pigments and antioxidant enzyme activities in different rice varieties

## 2.6 铬胁迫下水稻植物激素的调控与表达

基于CK与Cr<sub>100</sub>处理植物激素调控与表达的差异分析(图6),探究不同水稻品种气孔保卫细胞孔径的分子调控作用。Cr<sub>100</sub>处理下,SJ309和LQD31叶片中NCED1基因的表达水平分别下调了72.3%和上调了315.1%,NCED2基因的表达水平

分别下调了46.2%和上调了280.8%。SJ309和LQD31叶片中ABA含量分别增加了7.2%和30.7%,SA含量则分别为减少8.1%和增加43.0%。综上,铬胁迫下LQD31中ABA依赖的NCED1和NCED2基因水平上调,同时ABA和SA的协同作用增强,共同参与调控水稻叶片气孔孔径的关闭过程。

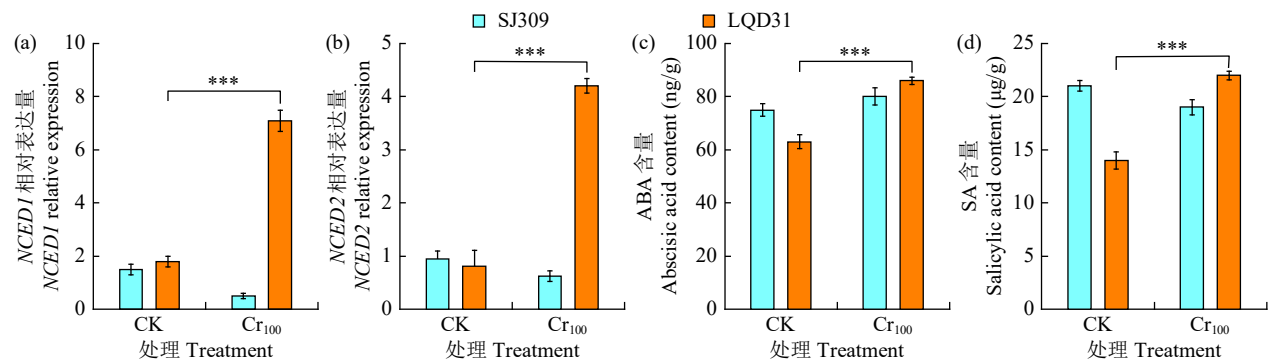


图6 铬胁迫对不同水稻品种植物激素调控与表达的影响

Fig.6 Effects of chromium stress on regulation and expression of plant hormones in different rice varieties

### 3 讨论

由水稻 LQD31 根和叶中铬富集量较高以及各项生理参数的检测结果可知, LQD31 因无法对铬毒性进行螯合与解离, 相较于 SJ309 更易在根部积累  $\text{Cr}^{6+}$ , 并经茎部向叶片转移。Daud 等<sup>[8]</sup>和 Singh 等<sup>[27]</sup>针对棉花和绿豆品种的研究均报道了类似对铬胁迫的反应。2 个水稻品种 SJ309 和 LQD31 的根部均积累了较高浓度的  $\text{Cr}^{6+}$ , 这是由于  $\text{Cr}^{6+}$  固定于根细胞的液泡中, 此为植物应对毒性的自然反应。由于根系是重金属元素的首要接触部位, 根部的重金属积累量高于茎和叶<sup>[28-29]</sup>。铬胁迫诱导的植物毒性效应表现为 2 个水稻品种生长参数下降。Jabeen 等<sup>[30]</sup>研究表明, 铬是毒性最强的金属, 会影响农作物植株的根长和侧根数, 本研究结果与其一致。根长缩短是由于根细胞壁的细胞分裂受到抑制, 茎长缩短则归因于叶片细胞的超微结构变形。

在铬胁迫条件下, LQD31 的  $G_s$ 、 $T_r$  和  $WUE$  显著降低, 证实了不同水稻品种对铬胁迫存在特定响应。Vernay 等<sup>[13]</sup>研究发现黑麦草植株在较高浓度的铬胁迫下, 其  $G_s$ 、 $T_r$  和  $WUE$  下降, 同时  $C_i$  升高, 本研究结果与其相似。光合作用参数的降低, 可能是由于  $\text{Cr}^{6+}$  穿透细胞膜引发叶绿素分解所致, 此外, 气孔对蒸气压亏缺和  $C_i$  的响应特性在物种内存在差异<sup>[6,31]</sup>, 这一结论与本研究结果相符。

较高浓度的  $\text{CO}_2$  和蒸气压亏缺会促使气孔关闭, 这可能与 LQD31 在气压不足、 $\text{CO}_2$  浓度升高时气孔保卫细胞孔径关闭有关。经铬胁迫处理后, 水稻叶片气孔面积增大, 表明铬及其他重金属的同化与沉积会干扰气孔的功能形态, 进而影响整体的光合气体交换参数, 这与 Chandra 等<sup>[32]</sup>的结果一致。铬胁迫下 LQD31 的保卫细胞变形, Chen 等<sup>[33]</sup>研究发现这可能是由于气孔保卫细胞细胞壁的含水量和机械性能改变, 引发膨压增大所致, 研究<sup>[34]</sup>中也观察到了类似的气孔保卫细胞变形现象。铬毒性导致水稻植株叶片缺水, 引发 SJ309 和 LQD31 气孔密度增大。植物接触铬后, 毛状体数量会发生变化, 而毛状体可能是金属元素的储存区域。LQD31 腺毛密度增加, 表明该品种水稻是植物精油以及各类挥发性和非挥发性次级代谢产物的来源, 这些代谢产物可为植物抵御食草动物提供保护<sup>[35]</sup>。重金属胁迫会影响水稻腺毛状体的形态和超微结构。此外, 铬毒性还会导致 SJ309 非腺毛状体密度和长度增加, 表明 SJ309 既能抵御紫外线造成

的损伤、稳定温度, 又能作为抵御食草动物的屏障, 同时也说明 SJ309 比 LQD31 更能耐受多种环境胁迫。

经  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫处理后, SJ309 水稻叶片中的 SOD 和 CAT 活性降低, 这一结果与 Tang 等<sup>[36]</sup>的研究一致, 证实氧化胁迫可能导致这 2 种抗氧化酶活性下降。然而, POD 在叶片组织中的定位可能促使水稻 POD 活性增强<sup>[37]</sup>。MDA 含量是反映 ROS 对植物膜造成损伤的重要指标之一。与 SJ309 相比, LQD31 的 MDA 含量更高, 表明其叶片细胞膜和超微结构可能因铬毒性而受损, Basit 等<sup>[10]</sup>研究发现这可能是由铬毒性引发的氧化应激导致 ROS 活性增加所致。2 个水稻品种中均发现 ROS 产生的氧化应激, 但 LQD31 受影响更为显著, 表明 SJ309 能更有效地消除 ROS 活性并抵御铬胁迫。 $\text{Cr}_{100}$  处理下, 2 个品种的叶绿素和类胡萝卜素含量均下降, 这与 ROS 的氧化应激有关, 且 LQD31 的光合色素受影响程度更为显著。

铬胁迫会导致依赖 ABA 的 *NCED1* 和 *NCED2* 基因过度表达。经铬胁迫处理的 LQD31 叶片, 其  $G_s$  下降且气孔关闭, 铝胁迫下的柑橘也呈现出类似现象<sup>[38]</sup>。相关研究<sup>[16,39]</sup>表明, 非生物胁迫下 *NCED1* 和 *NCED2* 基因的过度表达与蒸气压亏缺的增加有关, 与本研究结果一致。*NCED1* 和 *NCED2* 基因过量表达会促使更多 ABA 积累, 进而降低  $G_s$  和  $T_r$ , 最终导致气孔关闭。Zeng 等<sup>[40]</sup>研究发现保卫细胞中的 SA 和 ABA 信号具有协同作用, 在多种非生物胁迫下可协同调节气孔孔径大小。经铬胁迫处理的 LQD31 中 SA 和 ABA 含量增加, Prodhon 等<sup>[15]</sup>研究表明这些植物激素在气孔关闭过程中协同传递信号。

本研究不仅探究了水稻应对  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫的生理性状与形态特征适应机制, 还提出了一种依据多种生理及形态特征参数筛选抗  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫水稻品种的方法。基于在 SJ309 和 LQD31 中观察到的生理、形态及生化参数变化, 不同水稻品种对  $\text{Cr}^{6+}$  毒性的耐受能力存在差异。结果表明, SJ309 已具备多种对  $\text{Cr}^{6+}$  毒性的耐受机制, 可被视为一种超积累水稻植株, 可通过不同的基因表达将  $\text{Cr}^{6+}$  毒性螯合并解离至液泡中<sup>[27,41]</sup>。深入探究 SJ309 和 LQD31 中参与  $\text{Cr}^{6+}$  积累、转运和解毒机制的分子途径, 将为作物育种者在铬污染土壤中选择和培育水稻栽培品种提供更优的方案。SJ309 的超积累特性可用于铬污染土壤的植物修复, 因此, 作物育种者可采

用轮作策略以提高这 2 个水稻品种在铬污染土壤中的产量。

#### 4 结论

铬胁迫下, 2 个水稻品种植株的茎长、根长和侧根数均极显著减少, 铬主要富集于根部, 且 SJ309 比 LQD31 更有效减少铬的吸收与转移。二者气孔面积和密度均增加, LQD31 变化更明显, 其气孔保卫细胞变形、孔径闭合; 铬胁迫对 SJ309 毛状体形态影响较大。高浓度铬胁迫 ( $Cr_{100}$ ) 下, 2 个品种的气孔导度、蒸腾速率、水分利用率、光合色素含量、CAT 和 SOD 活性降低, 蒸气压亏缺、胞间  $CO_2$  浓度、MDA 含量和 POD 活性升高, LQD31 变化幅度更大, 对铬胁迫更敏感。ABA 和 SA 含量增加促使 *NCED1* 和 *NCED2* 基因过度表达, 导致 LQD31 叶片气孔导度降低、孔径关闭。水稻 SJ309 对铬胁迫耐受性更好, 其超积累特性可用于铬污染土壤的植物修复。

#### 参考文献

- [1] Chidambaram A, Sundaramoorthy P, Murugan A, et al. Chromium induced cytotoxicity in blackgram (*Vigna mungo* L.). *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 2009, 6(1): 17-22.
- [2] Reale L, Ferranti F, Mantilacci S, et al. Cyto-histological and morpho-physiological responses of common duckweed (*Lemna minor* L.) to chromium. *Chemosphere*, 2016, 145: 98-105.
- [3] Ali S, Mir R A, Tyagi A, et al. Chromium toxicity in plants: signaling, mitigation, and future perspectives. *Plants*, 2023, 12(7): 1502.
- [4] Singh D, Sharma N L, Singh C K, et al. Effect of chromium (VI) toxicity on morpho-physiological characteristics, yield, and yield components of two chickpea (*Cicer arietinum* L.) varieties. *PLoS ONE*, 2020, 15(12): e0243032.
- [5] Eleftheriou E P, Adamakis I D S, Panteris E, et al. Chromium-induced ultrastructural changes and oxidative stress in roots of *Arabidopsis thaliana*. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(7): 15852-15871.
- [6] Gill R A, Ali B, Islam F, et al. Physiological and molecular analyses of black and yellow seeded *Brassica napus* regulated by 5-aminolivulinic acid under chromium stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2015, 94: 130-143.
- [7] Samrana S, Ali A, Muhammad U, et al. Physiological, ultrastructural, biochemical, and molecular responses of glandless cotton to hexavalent chromium ( $Cr^{6+}$ ) exposure. *Environmental Pollution*, 2020, 266: 115394.
- [8] Daud M K, Ali S, Variath M T, et al. Chromium (VI)-induced leaf-based differential physiological, metabolic and microstructural changes in two transgenic cotton cultivars (J208, Z905) and their hybrid line (ZD14). *Journal of Plant Growth Regulation*, 2022, 41: 391-403.
- [9] Ma J, Lv C F, Xu M L, et al. Photosynthesis performance, antioxidant enzymes, and ultrastructural analyses of rice seedlings under chromium stress. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23: 1768-1778.
- [10] Basit F, Chen M, Ahmed T, et al. Seed priming with brassinosteroids alleviates chromium stress in rice cultivars via improving ROS metabolism and antioxidant defense response at biochemical and molecular levels. *Antioxidants*, 2021, 10(7): 1089.
- [11] Panda S K, Choudhury S. Chromium stress in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 2005, 17(1): 95-102.
- [12] Rucińska-Sobkowiak R. Water relations in plants subjected to heavy metal stresses. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2016, 38: 1-13.
- [13] Vernay P, Gauthier-Moussard C, Hitmi A. Interaction of bioaccumulation of heavy metal chromium with water relation, mineral nutrition and photosynthesis in developed leaves of *Lolium perenne* L. *Chemosphere*, 2007, 68(8): 1563-1575.
- [14] Daszkowska-Golec A, Szarejko I. Open or close the gate-stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions. *Frontiers in Plant Science*, 2013, 4: 138.
- [15] Prodhon M Y, Munemasa S, Nahar M N E N, et al. Guard cell salicylic acid signaling is integrated into abscisic acid signaling via the  $Ca^{2+}$ /CPK-dependent pathway. *Plant Physiology*, 2018, 178(1): 441-450.
- [16] Lee S C, Luan S. ABA signal transduction at the crossroad of biotic and abiotic stress responses. *Plant, Cell & Environment*, 2012, 35(1): 53-60.
- [17] Gupta P, Bhatnagar A K. Spatial distribution of arsenic in different leaf tissues and its effect on structure and development of stomata and trichomes in mung bean, *Vigna radiata* (L.) Wilczek. *Environmental and Experimental Botany*, 2015, 109: 12-22.
- [18] 马宪梅, 黄晓飞. 土壤铬污染现状 & 修复方法研究. *北方环境*, 2020, 32(5): 61-63.
- [19] 王元元, 谷子寒, 陈平平, 等. 镉污染稻田玉米对水稻的季节性替代种植可行性研究. *作物杂志*, 2022(4): 187-192.
- [20] 李虎, 吴子帅, 刘广林, 等. 不同栽培条件对水稻籽粒镉含量及主要性状的影响研究. *作物杂志*, 2024(4): 203-208.
- [21] Ochoa M, Tierra W, Tupuna-Yerovi D S, et al. Assessment of cadmium and lead contamination in rice farming soils and rice (*Oryza sativa* L.) from Guayas province in Ecuador. *Environmental Pollution*, 2020, 260: 114050.
- [22] Geider R J, Osborne B A. *Algal Photosynthesis*. Boston: Springer, 1992.
- [23] Larkindale J, Huang B R. Thermotolerance and antioxidant systems in *Agrostis stolonifera*: involvement of salicylic acid, abscisic acid, calcium, hydrogen peroxide, and ethylene. *Journal of Plant Physiology*, 2004, 161(4): 405-413.
- [24] Saha B, Mishra S, Awasthi J P, et al. Enhanced drought and salinity tolerance in transgenic mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern & Coss.] overexpressing *Arabidopsis* group 4 late embryogenesis abundant gene (*AtLEA4-1*). *Environmental and Experimental Botany*, 2016, 128: 99-111.
- [25] Kumar A, Panigrahy M, Panigrahi K C. Optimization of soil parameters and cost effective way of growing *Arabidopsis thaliana* from an Indian perspective. *International Journal of Basic and Applied Agricultural Research*, 2018, 16(1): 54-59.
- [26] Vadassery J, Reichelt M, Hause B, et al. CML42-mediated calcium signaling coordinates responses to *Spodoptera* herbivory and abiotic stresses in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 2012, 159(3): 1159-1175.
- [27] Singh S, Parihar P, Singh R, et al. Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 6: 165395.

- [28] Shanker A K, Djanaguiraman M, Sudhagar R, et al. Differential antioxidative response of ascorbate glutathione pathway enzymes and metabolites to chromium speciation stress in green gram (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek. cv CO 4) roots. *Plant Science*, 2004, 166(4): 1035-1043.
- [29] Feleafel M N, Mirdad Z M. Hazard and effects of pollution by lead on vegetable crops. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 2013, 26(3): 547-567.
- [30] Jabeen N, Abbas Z, Iqbal M, et al. Glycinebetaine mediates chromium tolerance in mung bean through lowering of Cr uptake and improved antioxidant system. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2016, 62(5): 648-662.
- [31] Atta M I, Bokhari T Z, Malik S A, et al. Assessing some emerging effects of hexavalent chromium on leaf physiological performance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 2013, 4(8): 945-949.
- [32] Chandra R, Kang H. Mixed heavy metal stress on photosynthesis, transpiration rate, and chlorophyll content in poplar hybrids. *Forest Science and Technology*, 2016, 12(2): 55-61.
- [33] Chen Y T, Li W L, Turner J A, et al. PECTATE LYASE LIKE12 patterns the guard cell wall to coordinate turgor pressure and wall mechanics for proper stomatal function in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 2021, 33(9): 3134-3150.
- [34] Gautam V, Kohli S K, Kapoor D, et al. Stress protective effect of *Rhododendron arboreum* leaves (MEL) on chromium-treated *Vigna radiata* plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2021, 40(1): 423-435.
- [35] Khetnon P, Busarakam K, Sukhaket W, et al. Mechanisms of trichomes and terpene compounds in indigenous and commercial Thai rice varieties against brown planthopper. *Insects*, 2022, 13(5): 427.
- [36] Tang S, Liu Y L, Zheng N, et al. Temporal variation in nutrient requirements of tea (*Camellia sinensis*) in China based on QUEFTS analysis. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 1745.
- [37] Zaheer I E, Ali S, Saleem M H, et al. Role of iron-lysine on morpho-physiological traits and combating chromium toxicity in rapeseed (*Brassica napus* L.) plants irrigated with different levels of tannery wastewater. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 155: 70-84.
- [38] Gavassi M A, Silva G S, da Silva C M S, et al. NCED expression is related to increased ABA biosynthesis and stomatal closure under aluminum stress. *Environmental and Experimental Botany*, 2021, 185: 104404.
- [39] Speirs J, Binney A, Collins M, et al. Expression of ABA synthesis and metabolism genes under different irrigation strategies and atmospheric VPDs is associated with stomatal conductance in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv Cabernet Sauvignon). *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(7): 1907-1916.
- [40] Zeng W, Melotto M, He S Y. Plant stomata: a checkpoint of host immunity and pathogen virulence. *Current Opinion in Biotechnology*, 2010, 21(5): 599-603.
- [41] Elango D, Devi K D, Jeyabalakrishnan H K, et al. Agronomic, breeding, and biotechnological interventions to mitigate heavy metal toxicity problems in agriculture. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2022, 10: 100374.

## Effects of Chromium Stress on Physiological Traits and Morphological Characteristics of Rice Leaves

Liu Qing<sup>1</sup>, Sun Luhong<sup>2</sup>, Gao Shiwei<sup>1</sup>, Liu Yuqiang<sup>1</sup>, Chang Huilin<sup>1</sup>,  
Ma Cheng<sup>1</sup>, Wang Jingze<sup>1</sup>, Wang Cuiling<sup>3</sup>, Nie Shoujun<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Suihua Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Suihua 152000, Heilongjiang, China;

<sup>2</sup>Quality and Nutrition Inspection and Testing Centre for Rice and Processed Products (Huachuan), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Jiamusi 154000, Heilongjiang, China; <sup>3</sup>Quality and Safety Institute of Agricultural Products, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150000, Heilongjiang, China)

**Abstract** Using two rice varieties, Suijing 309 (SJ309) and Longqingdao 31 (LQD31), as experimental materials, the effects of chromium (Cr) stress on the physiological traits and morphological characteristics of rice leaves were investigated. The results showed that Cr was primarily enriched in the roots of rice, and SJ309 was more effective than LQD31 in reducing the absorption and translocation of Cr. Under high-concentration Cr stress (100  $\mu\text{mol/L}$ ), the physiological characteristics such as stomatal conductance, transpiration rate, water use efficiency, and photosynthetic pigments decreased in both varieties, while leaf vapor pressure deficit, intercellular  $\text{CO}_2$  concentration, and malondialdehyde (MDA) content increased. After Cr stress treatment, only LQD31 exhibited an increase in the stomatal area of guard cells and closure of the stomatal aperture, whereas no significant changes were observed in SJ309. Compared with SJ309, the contents of abscisic acid (ABA) and salicylic acid (SA) in LQD31 increased significantly, leading to the overexpression of *NCED1* and *NCED2* genes involved in the regulation of stomatal aperture, which indicated that LQD31 was more sensitive to Cr stress. Furthermore, Cr stress significantly increased the density and length of non-glandular trichomes in SJ309, suggesting its ability to withstand UV damage and various environmental stresses. In summary, SJ309 demonstrates superior tolerance to Cr stress, and its hyperaccumulation characteristics can be utilized for the phytoremediation of Cr-contaminated soils.

**Key words** Chromium stress; Rice; Physiological characteristics; Leaf; Morphological characteristics