

镉积累差异水稻品种生长发育对清除 NO 的响应

曾晶¹, 周旋², 荣湘民^{1*}, 张振华^{1*}

(1 湖南农业大学资源环境学院/东方科技学院, 湖南长沙 410128; 2 湖南省土壤肥料研究所, 湖南长沙 410125)

摘要:【目的】研究一氧化氮(NO)对镉(Cd)胁迫下水稻苗期生理生化及氮代谢响应的调节作用,探讨通过清除NO提高水稻耐Cd能力的措施。【方法】以Cd高积累(TN1)和Cd低积累(春江06)品种为材料,进行了Cd胁迫(40 μmol/L)水培试验。以Cd胁迫营养液为对照,在对照基础上设置添加硝普钠(Cd+SNP)、添加NO清除剂CPTIO(Cd+CPTIO)、添加硝酸还原酶抑制剂钨酸钠(Cd+TU)处理,共4个处理。处理后12天,测定不同处理对水稻幼苗生长、NO₃⁻-N分配、根系特性及光合特性的影响。【结果】NO对高Cd和低Cd积累水稻品种的影响不同。与对照相比,Cd+SNP处理降低高Cd积累水稻品种幼苗地上部和地下部NO₃⁻-N含量,但对幼苗生物量和氮素吸收没有显著抑制效果;Cd+CPTIO处理会提高幼苗生长、氮素积累量及氮效率($P < 0.05$);增加或清除NO处理均显著降低了地上部和地下部的Cd含量。对于低Cd积累水稻品种,Cd+SNP、Cd+CPTIO、Cd+TU处理间幼苗生物量、氮素吸收量均无显著差异。【结论】品种基因型对NO信号的调节敏感度不同,高Cd积累品种清除NO处理可以显著抑制Cd的吸收和向地上部的运转,促进幼苗的生长和对氮素的吸收利用,抑制硝酸还原酶活性处理缓解Cd胁迫促进幼苗生长的效果不稳定。而对于低Cd积累水稻品种,清除NO处理也有一定的缓解Cd吸收和向地上运转的效果,但其重要性不如基因本身的拒Cd能力。因此,Cd胁迫下,高Cd积累水稻品种采用清除NO的措施可有效缓解Cd胁迫,促进水稻的生长,但对于低Cd积累水稻品种,清除NO也可以进一步降低Cd的向上运输,但是对水稻幼苗生长和氮素利用的影响不显著。

关键词:水稻基因型;镉胁迫;NO信号;NO清除剂;NR还原酶抑制剂

Response of growth and development of rice cultivars with different cadmium accumulation to removing NO

ZENG Jing¹, ZHOU Xuan², RONG Xiang-min^{1*}, ZHANG Zhen-hua^{1*}

(1 College of Resource and Environment/College of Oriental Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2 Hunan Institute of Soil and Fertilizer, Changsha 410125, China)

Abstract:【Objectives】Nitric oxide (NO) is an active signal molecule that can influence plants response to various stress. This study evaluates the regulatory effect of NO on the physiological, biochemical and nitrogen metabolism of rice seedlings under Cd stress.【Methods】Rice cultivars of high and low Cd accumulation (TN1 and Chunjiang 06) were investigated in Cd stress (40 μmol/L) hydroponic trials. The treatments included Cd stress solution (i.e., control), the addition of sodium nitroprusside to increase NO content (Cd+SNP), the addition of CPTIO to remove NO (Cd+CPTIO), and the addition of NR inhibitor to inhibit NO (Cd+TU). Data was collected on NO₃⁻-N distribution, root development, photosynthetic characteristics, and growth of the rice seedlings.【Results】The effects of NO on the rice varieties with high- and low- Cd accumulation was different ($P < 0.05$). 1) The cultivar with high-Cd accumulation recorded low NO₃⁻-N content in the aboveground and underground parts of the rice seedlings, however, no inhibition effect was found in the biomass and N uptake of the seedlings in response to NO regulation in Cd+SNP treatment. Cd+CPTIO treatment increased growth, N accumulation, and N

收稿日期: 2020-05-13 接受日期: 2020-09-26

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0800500); 国家自然科学基金区域创新发展联合基金重点项目(U19A2050)。

联系方式: 曾晶 E-mail: 43140784@qq.com

* 通信作者 荣湘民 E-mail: rongxm2005@126.com; 张振华 E-mail: zhzh1468@163.com

use efficiency of rice seedling ($P < 0.05$). The addition and elimination of NO significantly reduced the Cd contents in the aboveground and underground parts of rice seedlings. 2) The treatments (Cd+SNP, Cd+CPTIO and Cd+TU) had no significant effect on seedling growth, N uptake of the low-Cd accumulation cultivar.

【 Conclusions 】 The rice cultivar with high Cd accumulation is sensitive to NO regulation but not the cultivar with low Cd accumulation. For the high Cd rice cultivar, removing NO inhibits the absorption and movement of Cd from the root to the shoot, but promotes the absorption and utilization of N and the growth of seedlings. The effect of inhibiting nitrate reductase activity concerning the alleviation of Cd stress to promote seedling growth was instability. For the low Cd accumulation rice cultivar, the elimination of NO has a certain effect on alleviating Cd absorption. However, this effect is less important than the Cd rejection of gene itself. Therefore, removing NO could be considered a useful way of alleviating Cd stress in high-Cd accumulated rice cultivars.

Key words: rice cultivar; cadmium stress; NO signal; CPTIO; tungstate

由于长期大量施用化肥、污水灌溉、矿物开采和加工以及大气沉降等原因,造成农田土壤镉(Cd)污染越来越严重。过量Cd会导致植物严重的毒害效应,还会随着食物链进行累积,最终损害人类自身的健康和发展^[1-2]。水稻是吸Cd能力强的大宗谷类作物,Cd毒害会阻碍水稻根系生长,影响种子萌发及植株生长,导致生物量和产量的下降;在生理上会造成氧化胁迫以及叶绿素、糖类、蛋白质等大分子合成受阻,体内养分失调及其它一系列生理代谢紊乱^[3]。Cd还可能通过改变水稻细胞质膜的透性来影响一些营养元素的吸收和积累,导致植株和籽粒中营养元素和成分的变化^[4-5]。因此,增强水稻抗Cd性是提高稻米质量安全水平的关键,对保证农业生产可持续发展及食品安全具有重要意义。

一氧化氮(NO)是氧化还原信号分子,属于活性氮(RNS)范畴,广泛参与植物生理发育过程和植物对逆境胁迫的应答过程^[6-7]。研究表明,信号分子NO在调控根系对Cd的吸收及植株对Cd的耐性方面发挥重要作用,能有效提高植株抗氧化能力、缓解Cd对幼苗的伤害、增强根部固定作用^[8-10]。NO参与Cd胁迫下植物对重金属离子的吸收与转移,通过诱导基因表达,使Cd积累在根部,从而缓解Cd对地上部的毒害^[2]。刘柿良等^[11]发现,100 $\mu\text{mol/L}$ 硝普钠(SNP)可缓解25 mg/kg Cd胁迫对长春花幼苗生长的抑制。Ye等^[12]发现,外源NO处理可降低番茄根系细胞壁果胶甲酯化的程度,增加细胞壁对金属离子的固持作用,减少进入根系细胞中的Cd。但NO的过度积累可能也会损害植物体^[13]。

植株体内NO含量是调控植物应答Cd胁迫的关键因素^[10],而NO合成系统对Cd胁迫引起的细胞内NO积累的调控机制尚不清楚。NO在植物体内的合成包括酶促反应途径和非酶促反应途径两种,酶促反应途径主要有一氧化氮合成酶(NOS)途径、硝酸

还原酶(NR)途径、亚硝酸还原酶(Ni-NOR)途径及其他途径^[14]。NR和NOS则被认为是植物体内NO合成的关键酶。与NOS相比,植物中更多报道的是NR依赖型NO的产生,利用NAD(P)H作为电子源,将硝酸盐转化为亚硝酸盐^[15]。阚奇^[16]发现,NR依赖型NO的产生是通过改变细胞壁多糖组分和对果胶的分子修饰来增加Cd在细胞壁中累积,而内源NO会促进Cd在三七根部的富集,减少Cd向地上部分的转移。而NO₃⁻来源的NO能增强玉米抵抗Cd胁迫的耐受性^[17]。故研究植物体内NO水平调控对于应答Cd胁迫具有重要意义。

相关研究指出,非生物胁迫水平下通过添加NO合成抑制剂L-NAME和钨酸盐(tungstate)能分别抑制NOS途径和NR途径产生的NO,而添加NO清除剂CPTIO可有效清除植物体内NO^[18]。Hsu等^[19]发现,Cd胁迫时,NO供体SNP处理可增强水稻叶片的Cd耐性、降低H₂O₂和MDA的含量;且SNP的作用能被CPTIO消除。Besson-Bard等^[8]发现,CPTIO或L-NAME可缓解Cd胁迫对拟南芥根系生长的抑制作用。Luo等^[20]发现,添加Tungstate或L-NAME能降低番茄植株对Cd的吸收。目前认为,外源NO会影响Cd胁迫下水稻幼苗地上部和根部Cd及微量元素的积累,且影响程度与水稻品种有关,具有显著的基因型差异,但影响机制较为复杂^[2]。因此,研究不同Cd累积型水稻品种对Cd胁迫的生理响应和调控措施意义重大。以具有Cd积累差异的典型水稻品种—高Cd积累品种(TN1)和低Cd积累品种(春江06)为供试材料^[21],研究外源NO对Cd胁迫条件下水稻苗期生长发育、NO₃⁻-N分配以及光合特性的影响,探讨NO缓解重金属Cd对植株的毒害作用,以期增强水稻重金属抗逆性提供科学理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

以高 Cd 积累品种‘TN1’和低 Cd 积累品种‘春江 06’为两个供试水稻品种,均由中国科学院上海生命科学院植物生理生态研究所提供。供试调理剂为 4-羧基苯-4,4,5,5-四甲基咪唑-1-氧-3-氧化物(CPTIO)、钨酸钠,均由上海源叶生物科技有限公司提供。其中,钨酸盐是钼酸盐类似物,在体内抑制活性 NR 的形成,并阻断 NR 依赖的 NO 生成^[22],而 CPTIO 可提供一个氧原子结合 NO 生成 NO₂,并清除 NO₂^[23]。

1.2 试验设计

在水培试验中,以 Cd 胁迫营养液为对照(Cd),在对照基础上设置添加硝普钠(Cd+SNP)、添加 NO 清除剂 CPTIO(Cd+CPTIO)、添加硝酸还原酶抑制剂钨酸钠(Cd+TU)处理,两个水稻品种共 8 个处理,每个处理重复 4 次,随机区组排列。

水稻水培试验于 2016 年 3—7 月在湖南农业大学植物营养课题组人工气候室中进行。白天温度 28℃,夜晚温度 22℃,相对湿度 70%,光照采用自然日照。水培采用 Yoshida 营养液,培养容器为长 50 cm、宽 20 cm、高 8 cm 的塑料盆,上面漂浮 6 个 96 孔板(横排 12 个、竖排 8 个),每孔板播种 24 粒。

播种前先将水稻种子放入培养皿中,垫吸水纸一张并加适量水,放入 30℃ 培养箱内催芽 3 天,催芽后种子用去离子水培养 2 天,再用 Yoshida 营养液继续培养。营养液每 3 天更换一次,并每天用 0.1 mol/L NaOH 或 0.1 mol/L HCl 调节 pH 为 5.5。预培养 30 天左右,待水稻生长情况一致时开始进行 Cd 胁迫处理(40 μmol/L),以及 NO 供体硝普钠(SNP, 5 μmol/L)、NO 清除剂(CPTIO, 80 μmol/L)和 NR 抑制剂钨酸钠(TU, 100 μmol/L)处理^[24]。同时,营养液每 3 天更换一次,并每天用 0.1 mol/L NaOH 或 0.1 mol/L HCl 调节 pH 为 5.5。在处理 12 天后,随机取水稻样 6 株。

1.3 测定项目及方法

在植株苗期取样,测定植株地上、地下部生物量、总吸氮量、硝态氮含量、功能叶叶绿素含量、光合速率、蒸腾速率、气孔导度和胞间 CO₂ 浓度,以及根系活力、根长、根总表面积、根总吸收面积、根活跃吸收面积和地上部、地下部 Cd 含量,并

计算氮素生理利用效率等指标,氮素生理利用效率(kg/kg) = 单株生物量/单株总吸氮量。

叶绿素含量采用乙醇浸提比色法测定。取水稻植株顶部第一片展开叶,去掉中脉剪碎,准确称取 0.1 g,放入研钵中,加少量石英砂和 2~3 mL 96% 乙醇,研成匀浆,再加入 10 mL 乙醇继续研磨至组织发白,将提取液全部倒入离心管中并用乙醇冲洗倒入离心管,提取液总量达 25 mL,静置 3~5 min。摇匀后再离心 10 min,取上清液分别在 665、649 和 470 nm 波长下进行比色。

光合速率采用 LI-6400 便携式光合仪测定。于上午 9:30—11:30 测定植株叶片光合速率(*Pn*)、蒸腾速率(*Ts*)、气孔导度(*Gs*)和胞间 CO₂ 浓度(*Ci*)。仪器测试采取开放式气路,CO₂ 浓度约为 380 μmol/L,人工光源。

硝态氮含量采用水杨酸比色法测定。取样后,剪碎、混匀,称取 1.0 g 样品于 10 mL 离心管中,加去离子水约 8 mL,置沸水浴中提取 30 min,用自来水冷却,定容至 10 mL 并摇匀。吸取 0.1 mL 待测样液于 10 mL 离心管中,加入 5% 水杨酸-硫酸溶液 0.4 mL,混匀后置室温下冷却 20 min,加入 9.5 mL 8% 氢氧化钠溶液,冷却至室温后,在 410 nm 波长下进行比色。

根系活力采用氯化三苯基四氮唑(TTC)法测定。称取根尖 2~3 cm 样品 0.5 g,放入 10 mL 烧杯,加入 0.4% TTC 和 pH 7 磷酸缓冲液各 5 mL,把根充分浸没在溶液内,37℃ 下暗培养 2 h,此后加入 1 mol/L 硫酸终止反应。将根取出,吸干表面水份放入研钵内,加入少量石英砂用 2 mL 乙酸乙酯研磨。红色提取液移入 10 mL 试管,并用少量乙酸乙酯将残渣洗涤多次后移入试管,最后加入乙酸乙酯使总量达 10 mL,在 485 nm 波长下比色。用单位根鲜重的四氮唑还原强度来表示根系活力。

根长、根总表面积采用 WinRHIZO 根系分析系统测定。取植株根系置于盛有一薄层水的透明器皿中,用计算机扫描仪扫描图像。

根总吸收面积、根活跃吸收面积采用甲烯蓝法测定。将待测洗净沥干的植物根系依次放入 3 个盛有 10 倍根体积的甲烯蓝溶液(0.0002 mol/L)烧杯中,在每个烧杯中浸入溶液 1.5 min。再将浸过根系的甲烯蓝溶液稀释 10 倍后在 660 nm 波长下进行比色。

植株地上部和地下部 Cd 含量采用电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定。按地上部和地下部分别

取样, 在 105℃ 杀青 30 min, 70℃ 烘干至恒重, 粉碎混匀。准确称取样品 0.1 g 置于 10 mL 离心管中, 加入 5 mL 浓 HNO₃, 在沸水浴中消煮至溶液澄清无浑浊固体颗粒, 冷却后定容至 10 mL, 干过滤至塑料瓶中备用。定容稀释一定倍数后, 用 ICP 质谱仪测定 Cd 含量。

1.4 数据处理

试验数据采用 Microsoft Excel 2007 进行统计分析, 采用 SPSS 16.0 统计软件进行单因素方差分析, 多重比较采用邓肯氏新复极差法, 并用 SigmaPlot 10.0 软件作图。

2 结果与分析

2.1 Cd 积累差异水稻品种苗期生物量及氮效率比较

由表 1 可知, 高 Cd 积累品种 (TN1) 中, 添加 NO 处理 (Cd+SNP) 的幼苗生物量和总吸氮量与 Cd 对照没有显著差异 ($P > 0.05$); 清除 NO 处理 (Cd+CPTIO) 显著提高水稻苗期生物量、总吸氮量和氮效率 ($P < 0.05$); 而抑制 NR 酶活性处理 (Cd+TU) 对苗期生物量和总吸氮量没有显著影响 ($P > 0.05$)。低 Cd 积累品种 (春江 06) 各处理的幼苗生物量和总吸氮量间均无显著差异。说明 Cd 胁迫下, 正常或者是高 NO 不会抑制高 Cd 积累水稻品种苗期的生长和氮素吸收, 而清除 NO 可促进幼苗的生长, 增加对氮素的吸收, 并提高氮素利用效率; 低 Cd 积累水稻品种苗期生长及氮效率不受 NO 供应的影响。

2.2 Cd 积累差异水稻品种苗期 NO₃⁻含量及分配

2.2.1 Cd 积累差异水稻品种不同部位 NO₃⁻-N 含量比较 如图 1 所示, 高 Cd 和低 Cd 积累品种中, 过量 NO 供应 (Cd+SNP) 处理的幼苗地上部和地下部 NO₃⁻-N 含量低于甚至显著低于正常 NO 供应 (Cd、Cd+TU) 和低 NO 供应 (Cd+CPTIO) 处理, 而其他 3 个处理间差异不显著 ($P > 0.05$)。这说明 Cd 胁迫下, 增加 NO 不利于水稻幼苗地上部和地下部的氮素吸收。

2.2.2 Cd 积累差异水稻品种苗期地下部与地上部硝态氮含量比值的比较 如图 2 所示, 高 Cd 积累品种 (TN1) 中, 低 NO 供应 (Cd+CPTIO) 处理显著降低水稻幼苗的 [NO₃⁻-N]_{地下部/地上部}, 较 Cd、Cd+SNP 和 Cd+TU 处理分别显著降低 37.79%、29.61% 和 35.15% ($P < 0.05$), 而两个正常 NO 供应 (Cd、Cd+TU) 处理和高 NO 供应 (Cd+SNP) 处理差异不显著 ($P > 0.05$)。低 Cd 积累品种 (春江 06) 中, Cd+CPTIO、Cd+TU 和 Cd+SNP 处理间水稻苗期 [NO₃⁻-N]_{地下部/地上部} 差异不显著 ($P > 0.05$), Cd 处理比 Cd+TU 和 Cd+CPTIO 处理分别提高 72.34% 和 67.01%, 差异达显著水平 ($P < 0.05$), 而 Cd+SNP 与 Cd 处理间差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.3 Cd 在 Cd 积累差异水稻品种植株体内的分配

2.3.1 Cd 积累差异水稻品种植株各部位 Cd 含量比较

如图 3 所示, 高 Cd 积累品种 (TN1) 中, 增加或降低 NO 均显著降低水稻幼苗地上部和地下部的 Cd 含量 ($P < 0.05$)。低 Cd 积累品种 (春江 06) 中,

表 1 不同处理下高 Cd 和低 Cd 积累水稻品种 (TN1 和春江 06) 幼苗生物量及氮效率

Table 1 Biomass and nitrogen use efficiency of seedlings of high- and low-Cd accumulation cultivars (TN1 and Chunjiang 06) under different treatments

品种 Cultivar	处理 Treatment	生物量 (g/plant) Biomass	总吸氮量 (mg/plant) Total N uptake	氮素生理利用效率 (kg/kg) Physiological nitrogen use efficiency
TN1	Cd	0.14 ± 0.019 b	2.48 ± 0.27 ab	54.88 ± 2.35 b
	Cd+SNP	0.12 ± 0.036 b	2.08 ± 0.59 b	58.28 ± 1.18 b
	Cd+TU	0.13 ± 0.012 b	2.07 ± 0.23 b	64.49 ± 5.13 a
	Cd+CPTIO	0.16 ± 0.012 a	2.58 ± 0.16 a	63.84 ± 0.91 a
春江 06 Chunjiang 06	Cd	0.14 ± 0.011 a	2.12 ± 0.16 a	65.10 ± 1.48 a
	Cd+SNP	0.14 ± 0.017 a	2.01 ± 0.20 a	69.26 ± 1.42 a
	Cd+TU	0.15 ± 0.014 a	2.14 ± 0.25 a	72.06 ± 6.51 a
	Cd+CPTIO	0.15 ± 0.009 a	2.20 ± 0.16 a	68.79 ± 3.58 a

注 (Note): 表中同列数据后不同小写字母代表处理间差异达显著水平 ($P < 0.05$) Values followed by different lower case letters in the same column represent significant difference among treatments ($P < 0.05$).

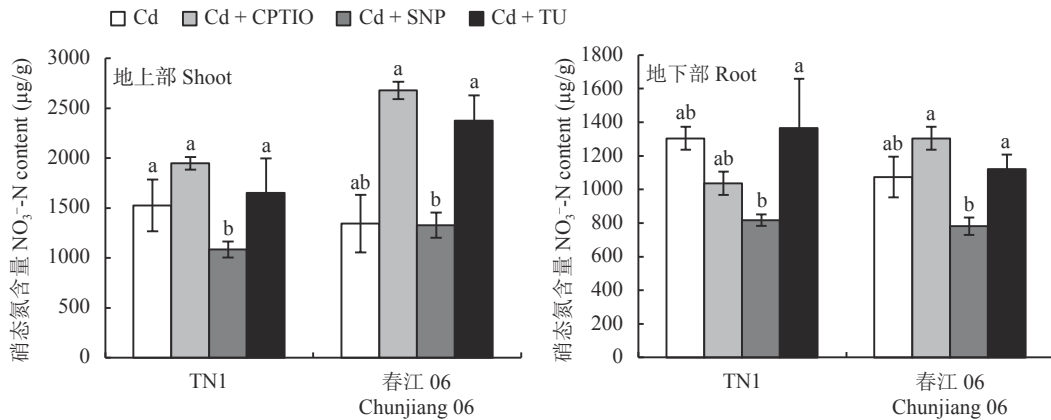


图1 不同处理下高 Cd 和低 Cd 积累差异水稻品种 (TN1 和春江 06) 的苗期各部位硝态氮含量

Fig. 1 NO₃⁻-N content in above- and under-ground part of seedlings of high- and low-Cd accumulation cultivars (TN1 and Chunjiang 06) under different treatments

[注 (Note): 方柱上不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)

Different lower case letters above the bars represent significant difference between treatments ($P < 0.05$.)

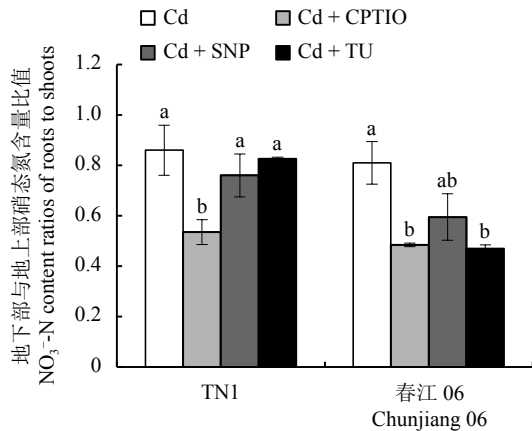


图2 不同处理下高 Cd 和低 Cd 积累差异水稻品种 (TN1 和春江 06) 的苗期地下部与地上部硝态氮含量比值

Fig. 2 NO₃⁻-N content ratios of roots to shoots in seedlings of high- and low-Cd accumulation cultivars (TN1 and Chunjiang 06) under different treatments

[注 (Note): 方柱上不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$) Different lower case letters above the bars represent significant difference between treatments ($P < 0.05$.)]

低 NO 处理 (Cd+CPTIO) 显著提高幼苗地上部 Cd 含量 ($P < 0.05$), 而对地下部 Cd 含量没有显著影响 ($P > 0.05$); 抑制 NR 酶活性处理 (Cd+TU) 处理显著降低幼苗地上部的 Cd 含量 ($P < 0.05$), 地下部 Cd 含量虽有下降, 但未达显著水平 ($P > 0.05$)。这说明 NO 缓解两个品种 Cd 胁迫的机理不同。

2.3.2 高 Cd 和低 Cd 积累水稻品种地下部与地上部 Cd 含量比值的比较 如图 4 所示, 高 Cd 积累品种 (TN1) 和低 Cd 积累品种 (春江 06) 的苗期地下部与地上部 Cd 含量比值在各处理间差异均不显著

($P > 0.05$), 但春江 06 中比值明显高于 TN1。说明在 Cd 胁迫下, 低 Cd 积累品种地下部积累的 Cd 向地上部的运输较少, 抗 Cd 胁迫的能力明显提高, 而 NO 对不同品种地下部与地上部 Cd 含量比值没有显著影响。

2.4 Cd 积累差异水稻苗期根系特性比较

如图 5 所示, 高 Cd 积累品种 (TN1) 中, Cd+CPTIO 处理水稻苗期根系活力分别与其他处理差异显著 ($P < 0.05$); Cd+SNP 处理比 Cd+TU 处理显著降低 16.41% ($P < 0.05$)。说明 Cd 胁迫下, 清除 NO 会显著降低高 Cd 积累品种水稻苗期植株的根系活力。对于低 Cd 积累品种 (春江 06), Cd+CPTIO 处理苗期根系活力比 Cd+SNP 和 Cd+TU 处理分别显著降低 36.06% 和 44.59% ($P < 0.05$); Cd 处理比 Cd+SNP、Cd+TU 处理分别显著降低 36.06% 和 44.59% ($P < 0.05$)。说明 Cd 胁迫下, 清除 NO 能显著降低低 Cd 积累品种水稻苗期植株的根系活力, 而增加 NO 则显著提高根系活力。

对于 TN1 品种, Cd+CPTIO 处理苗期总根长比 Cd+TU 处理提高 32.4%, 差异显著 ($P < 0.05$)。说明 Cd 胁迫下, NO 清除能显著增加高 Cd 积累品种水稻苗期植株的总根长。对于春江 06 品种, 各处理苗期总根长差异不显著 ($P > 0.05$)。说明 Cd 胁迫下, NO 对低 Cd 积累品种水稻苗期植株总根长无显著影响。

对于 TN1 品种, Cd+TU 处理苗期总根表面积比 Cd 和 Cd+CPTIO 处理分别降低 21.4% 和 19.35%, 差异显著 ($P < 0.05$)。说明 Cd 胁迫下, 清除 NO 能显著增加高 Cd 积累品种水稻苗期植株的总根表面积。对于春江 06 品种, 各处理苗期总根表面积无显著差

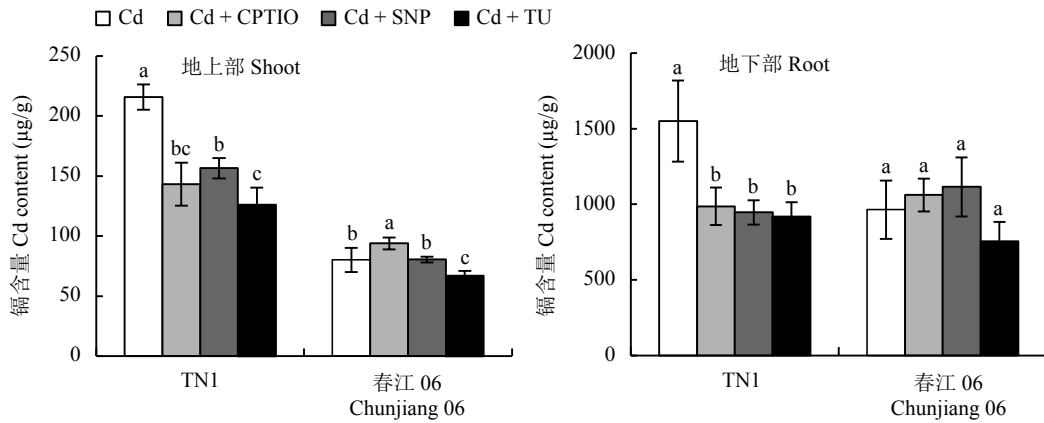


图3 不同处理下高 Cd 和低 Cd 积累水稻品种 (TN1 和春江 06) 的苗期地上部和地下部 Cd 含量

Fig. 3 Cd content in seedling shoots and roots of high- and low Cd-accumulation cultivars (TN1 and Chunjiang 06) under different treatments

[注 (Note): 方柱上不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)

Different lower case letters above the bars represent significant difference between treatments ($P < 0.05$].

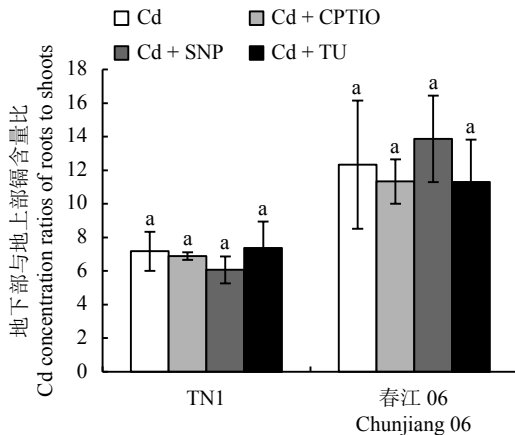


图4 不同处理下高 Cd 和低 Cd 积累水稻品种 (TN1 和春江 06) 的苗期地下部与地上部 Cd 含量比

Fig. 4 Cd content ratios of roots to shoots in seedlings of high- and low-Cd accumulation cultivars (TN1 and Chunjiang 06) under different treatments

[注 (Note): 方柱上不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)
Different lower case letters above the bars represent significant difference between treatments ($P < 0.05$].

异 ($P > 0.05$)。说明 Cd 胁迫下, NO 对 Cd 低积累品种水稻苗期植株总根表面积无显著影响。

对于 TN1 品种, Cd+CPTIO 处理苗期根总吸收面积最高, Cd+SNP 处理次之, Cd+CPTIO 处理与 Cd+TU 处理差异显著 ($P < 0.05$); 根活跃吸收面积各处理间差异不显著 ($P > 0.05$)。对于春江 06 品种, 各处理苗期的根总吸收面积和根活跃吸收面积均没有显著差异 ($P > 0.05$)。说明 Cd 胁迫下, NO 对低 Cd 积累品种的水稻苗期根总吸收面积和根活跃吸收面积无显著影响。

2.5 Cd 积累差异水稻品种苗期光合特性比较

由表 2 可知, Cd 胁迫下, 增加 NO 供给显著降低高 Cd 积累品种 (TN1) 幼苗叶片 SPAD 值, 但对光合速率、气孔导度、胞间二氧化碳浓度和蒸腾速率均没有显著影响; 而减少 NO 供应或者抑制 NR 活性不仅显著降低幼苗叶片的 SPAD 值, 还显著降低幼苗的光合速率。而在低 Cd 积累品种 (春江 06) 中, NO 供应的变化对幼苗的 4 个光合效率指标均无显著影响 ($P > 0.05$), 但清除 NO 显著提高幼苗叶片的蒸腾速率 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 NO 对 Cd 积累差异水稻品种 Cd 累积及 NO_3^- -N 分配的影响

与其他重金属元素相比, Cd 更易被植物体吸收、转运和累积^[21]。在重金属胁迫下, 适宜浓度的外源 NO 可通过提高植株抗氧化酶系统的活性来缓解胁迫^[25], 并促进纤维素的合成来增加植物对重金属的吸收和累积^[26-28]。朱涵毅等^[2]发现, 1.5 mmol/L SNP 能明显缓解 Cd 胁迫对两种水稻苗期生长的抑制, 提高苗期对 Cd 的耐性。本研究中, 增加 NO 会抑制高 Cd 积累品种植株的生长, 而 Cd 低积累品种中 NO 的增加可增加自身抗氧化能力^[10], 进而提升植株对 Cd 胁迫的耐性。

Michele 等^[29]发现, Cd 胁迫诱导拟南芥悬浮细胞的程序性死亡依赖于 NO, 且 100 和 150 $\mu\text{mol/L}$ Cd 胁迫先诱导 NO 的爆发, 而 NO 通过信号功能诱导 H_2O_2 的大量积累, 导致细胞的程序性死亡。本研

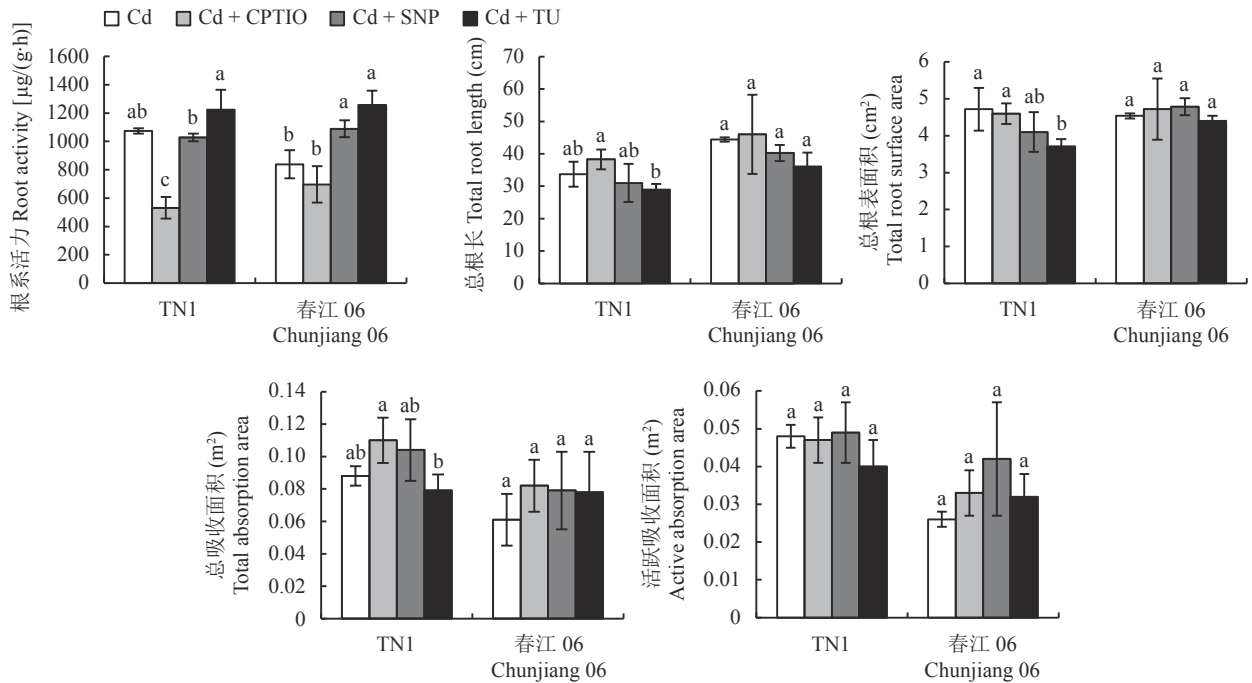


图 5 不同处理下高 Cd 和低 Cd 积累水稻品种 (TN1 和春江 06) 的苗期根系特性

Fig. 5 The root characteristics of seedlings of high- and low Cd-accumulation cultivars (TN1 and Chunjiang 06) under different treatments

[注 (Note) : 方柱上不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)

Different lower case letters above the bars represent significant difference between treatments ($P<0.05$.)

表 2 不同处理下 Cd 积累差异水稻品种 (TN1 和春江 06) 的苗期光合特性

Table 2 Photosynthetic characteristics of seedlings of high- and low-Cd accumulation cultivars (TN1 and Chunjiang 06) under different treatments

品种 Cultivar	处理 Treatment	SPAD	光合速率 P_n [$\text{CO}_2 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$]	气孔导度 G_s [$\text{H}_2\text{O mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$]	胞间 CO_2 浓度 C_i ($\text{CO}_2 \mu\text{mol}/\text{mol}$)	蒸腾速率 Tr [$\text{H}_2\text{O mmol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$]
TN1	Cd	39.3 ± 0.9 a	11.83 ± 0.23 a	0.068 ± 0.003 a	398.93 ± 14.11 a	1.62 ± 0.019 a
	Cd+SNP	35.9 ± 0.7 b	11.66 ± 0.18 a	0.059 ± 0.008 a	382.45 ± 33.58 a	1.54 ± 0.21 ab
	Cd+TU	36.3 ± 1.1 b	7.76 ± 0.32 b	0.055 ± 0.006 ab	355.15 ± 74.25 a	1.48 ± 0.10 ab
	Cd+CPTIO	37.3 ± 0.3 b	7.74 ± 1.13 b	0.047 ± 0.016 b	338.62 ± 63.56 a	1.17 ± 0.38 b
春江 06 Chunjiang 06	Cd	38.3 ± 1.6 a	7.19 ± 0.76 b	0.027 ± 0.007 a	256.83 ± 40.07 a	0.71 ± 0.19 b
	Cd+SNP	36.3 ± 1.8 a	9.83 ± 0.61 a	0.041 ± 0.009 a	284.69 ± 51.02 a	0.99 ± 0.15 ab
	Cd+TU	36.4 ± 2.6 a	10.02 ± 0.44 a	0.041 ± 0.007 a	297.77 ± 27.74 a	0.79 ± 0.083 b
	Cd+CPTIO	37.2 ± 1.9 a	10.17 ± 0.91 a	0.046 ± 0.011 a	302.32 ± 53.76 a	1.18 ± 0.27 a

注 (Note) : P_n —光合速率 Photosynthetic rate; G_s —气孔导度 Stomatal conductance; C_i —胞间 CO_2 浓度 Intercellular CO_2 concentration; Tr —蒸腾速率 Transpiration rate. 同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$) Values followed by different lower case letters in the same column represent significant difference between treatments ($P<0.05$).

究结果表明, NO 的累积会加重植株对 Cd 的敏感性, 而加入 NO 抑制剂和清除剂之后, 将解除 NO 的高浓度抑制效应, 降低 NO 浓度之后则有效缓解 Cd 胁迫对水稻的抑制作用。鲜靖苹^[30]发现, 添加 NOS 抑制剂、NR 抑制剂、NO 清除剂可显著抑制草

地早熟禾内源 NO 的产生, NOS 途径可能是草地早熟禾内源 NO 产生的主要途径^[31]。而阚奇^[16]指出, Cd 诱导的三七内源 NO 含量上升主要来源于硝酸还原酶途径。同时, Besson-Bard 等^[8]认为, Cd 胁迫诱导的 NO 过量积累与 NR 调控的 NO 生成无关。但

NO 可能通过诱导根部 IRT1 基因的上调表达, 截留 Cd 大量积累在根部, 减少地上部 Cd 的积累而缓解 Cd 毒害。在本研究中, Cd 胁迫条件下, 与高 Cd 积累品种相比, 低 Cd 积累品种地下部能积累更多的 Cd 以抵抗 Cd 的胁迫, 清除 NO 将增加低 Cd 积累品种地上部的 Cd 含量, 而 NO 通过抑制对 Cd 的吸收和转运来缓解 Cd 胁迫, 这可能与 Cd 或 NO 浓度、处理时间以及作物品种等方面密切相关。

本研究中, 增加 NO 能显著降低 Cd 胁迫下高 Cd 积累品种中植株地上部和地下部的 NO_3^- -N 含量; 而减少 NO 会显著提高低 Cd 积累品种中植株地上部的 NO_3^- -N 含量, 增加 NO 则降低低 Cd 积累品种中植株地下部的 NO_3^- -N 含量。因此, Cd 毒害会影响植物对营养元素的吸收和运输, 导致其体内营养元素的不足或营养元素间失去平衡, 而 NO 在调控 NO_3^- -N 转运分配的过程中起到关键性作用。此外, NO 对低 Cd 积累品种苗期的氮效率差异没有显著影响, 而减少 NO 会提高高 Cd 积累水稻品种的氮素利用效率。这可能是由于在植株的生长过程中已有一定浓度的 NO, 而 NO 的缓解作用呈现出低浓度促进、高浓度抑制的趋势^[28], 故在较低 NO 浓度条件下, Cd+SNP 处理的缓解效果显著, 可增强植株对 Cd 的耐性。

3.2 NO 对 Cd 积累差异水稻品种生长的影响

Cd 会影响植物细胞膜的透性, 影响对矿质营养的吸收, 导致酶活性的降低, 从而破坏植物正常的生理功能^[32-33]。相关研究发现, Cd 对植物的毒害在形态上主要表现为根、茎生长迟缓和叶片失绿、卷曲^[34-35]。高荣侠^[36]发现, SNP 可显著缓解 Cd 胁迫对黄瓜幼苗生长的抑制, 进而促进幼苗的生长。本研究结果表明, NO 的减少能促进高 Cd 积累品种植株的生长, 这可能是由于加入 NO 抑制剂和清除剂之后, 降低植株自身 NO 浓度, 解除 NO 的高浓度抑制效应, 有效缓解 Cd 胁迫的抑制作用。

Correa-Aragunde 等^[27]发现, 低浓度 SNP (10 nmol/L) 能促进纤维素合成, 并增加番茄根系中纤维素含量, 利于根系的生长。陈秀兰等^[37]发现, 外源 NO 可提高 Cd 胁迫下水稻种子的发芽指数和活力指数, 增加幼苗的根长、芽长以及根、芽的鲜重。本研究中, 清除 NO 显著降低高 Cd 积累品种水稻植株的根系活力, 而增加 NO 则显著提高低 Cd 积累品种植株的根系活力。这主要是因为 Cd 胁迫时, 外源 NO 处理显著增加水稻根系细胞壁的果胶和半纤

维素含量, 增强根系细胞对 Cd 离子的固定作用, 从而减弱 Cd 胁迫对根系生长的抑制作用^[38]。而低 Cd 积累品种中, NO 的变化对植株根总吸收面积、根活跃吸收面积, 以及总根长、总根表面积均无显著影响, 这主要是由品种的遗传特性所决定, 而受 NO 的影响较小^[2]。

3.3 NO 对 Cd 积累差异水稻品种光合特性的影响

Cd 会抑制植物叶绿素合成酶的活性, 减少叶绿素含量, 导致光合系统中色素蛋白复合体的团聚, 降低光合速率, 抑制叶片光合和蒸腾作用, 从而影响植株对营养元素的吸收及转运, 抑制植物的正常生长, 导致叶片的脱落^[5,39]。而 NO 主要是通过提高植株叶片的叶绿素、脯氨酸和可溶性蛋白含量来缓解植株氮素胁迫, 或者修复损伤的叶绿体, 从而增强植物的光合作用^[40-41]。张义凯等^[5]和王全辉等^[42]发现, SNP 能显著缓解 Cd 胁迫对黑麦草植株造成的伤害, 明显提高其生长量、叶绿素含量、脯氨酸含量、净光合速率、蒸腾速率、气孔导度, 但降低叶片胞间 CO_2 浓度。同时, NO 有助于叶绿素含量的平衡, 可能是因为 NO 能促进 Cd 胁迫下类囊体膜蛋白复合体的组装和稳定^[43], 增强叶绿体对光能的吸收和利用能力^[36]。本研究中, NO 的增加显著降低高 Cd 积累品种叶片 SPAD 值, 而 NO 的清除显著降低高 Cd 积累品种的光合速率、气孔导度和蒸腾速率。而增加 NO 显著提高低 Cd 积累品种的光合速率, 清除 NO 则显著提高低 Cd 积累品种的蒸腾速率。这同样与 Cd 浓度、处理时间以及作物品种密切相关, 并具有显著的基因型差异, 且机制较为复杂^[2]。

4 结论

1) 抑制 NR 活性虽有降低 Cd 向上运输的效果, 但会抑制水稻苗期氮素代谢, 影响氮素营养, 从而降低生物量和根系的生长, 故不宜通过抑制氮代谢酶活性来消除 Cd 胁迫对水稻植株的影响。

2) NO 清除剂能降低水稻苗期根系中 NO, 抑制根系中 Cd 向地上部的运输, 利于根系的生长, 并提高苗期的生物量和吸氮量, 降低 Cd 含量。故在实践中, 可考虑选择 NO 清除剂来提高重金属 Cd 污染土壤或地区农作物的安全生产。

3) 低 Cd 积累品种具有抑制 Cd 向上运输的能力, 而 NO 清除剂抑制 Cd 向上运输的效果可能远低于品种本身的抑制效果。故选用 NO 清除剂提高作物抗 Cd 污染的措施需要考虑作物的 Cd 积累特性。

参 考 文 献:

- [1] 冯世静, 杨途熙, 张艳军, 等. 镉胁迫对杨树光合特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(3): 539–547.
Feng S J, Yang T X, Zhang Y J, *et al.* Effects of cadmium on photosynthetic gas exchange and chlorophyll fluorescence of two species of poplar[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(3): 539–547.
- [2] 朱涵毅, 陈益军, 劳佳丽, 等. 外源NO对镉胁迫下水稻幼苗抗氧化系统和微量元素积累的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(2): 603–609.
Zhu H Y, Chen Y J, Lao J L, *et al.* The effect of exogenous nitric oxide on activities of antioxidant enzymes and microelements accumulation of two rice genotypes seedlings under cadmium stress[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(2): 603–609.
- [3] Wu F B, Dong J, Jia G X, *et al.* Genotypic difference in the responses of seedling growth and Cd toxicity in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Agricultural Sciences in China*, 2006, 5(1): 68–76.
- [4] Liu J G, Liang J S, Li K Q, *et al.* Correlations between cadmium and mineral nutrients in absorption and accumulation in various genotypes of rice under cadmium stress[J]. *Chemosphere*, 2003, 52(9): 1467–1473.
- [5] 张义凯, 崔秀敏, 杨守祥, 等. 外源NO对镉胁迫下番茄活性氧代谢及光合特性的影响[J]. 应用生态学报, 2010, 21(6): 1432–1438.
Zhang Y K, Cui X M, Yang S X, *et al.* Effects of exogenous nitric oxide on active oxygen metabolism and photosynthetic characteristics of tomato seedlings under cadmium stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(6): 1432–1438.
- [6] Arora D, Jain P, Singh N, *et al.* Mechanisms of nitric oxide crosstalk with reactive oxygen species scavenging enzymes during abiotic stress tolerance in plants[J]. *Free Radical Research*, 2015, 50(3): 291–303.
- [7] Liu W J, Xu F J, Lv T, *et al.* Spatial responses of antioxidative system to aluminum stress in roots of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 627: 462–469.
- [8] Besson-Bard A, Gravot A, Richaud P, *et al.* Nitric oxide contributes to cadmium toxicity in *Arabidopsis* by promoting cadmium accumulation in roots and by up-regulating genes related to iron uptake[J]. *Plant Physiology*, 2009, 149(3): 1302–1315.
- [9] 刘柿良, 潘远智, 杨容子, 等. 外源一氧化氮对镉胁迫下长春花质膜过氧化、ATPase及矿质营养吸收的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(2): 445–458.
Liu S L, Pan Y Z, Yang R J, *et al.* Effects of exogenous NO on mineral nutrition absorption, lipid peroxidation and ATPase of plasma membrane in *Catharanthus roseus* tissues under cadmium stress[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2014, 20(2): 445–458.
- [10] 关美艳. 一氧化氮清除系统在拟南芥应答镉胁迫过程中的作用及其机制[D]. 杭州: 浙江大学博士学位论文, 2018.
Guan M Y. The mechanisms of nitric oxide scavenging systems in regulating *Arabidopsis* response to cadmium stress[D]. Hangzhou: PhD Dissertation of Zhejiang University, 2018.
- [11] 刘柿良, 杨容子, 潘远智, 等. 外源NO对镉胁迫下长春花质膜过氧化ATP酶活性及光合特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(12): 2360–2368.
Liu S L, Yang R J, Pan Y Z, *et al.* Effects of exogenous nitric oxide on lipid peroxidation and ATPase activity in plasma membrane and photosynthetic characteristics of *Catharanthus roseus* under cadmium stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(12): 2360–2368.
- [12] Ye Y Q, Jin C W, Fan S K, *et al.* Elevation of NO production increases Fe immobilization in the Fe-deficiency roots apoplast by decreasing pectin methylation of cell wall[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 10746–10758.
- [13] Da Silva C J, Batista Fontes E P, Modolo L V. Salinity-induced accumulation of endogenous H₂S and NO is associated with modulation of the antioxidant and redox defense systems in *Nicotiana tabacum* L. cv. Havana[J]. *Plant Science*, 2017, 256: 148–159.
- [14] Liu S L, Yang R J, Ma M D, *et al.* Effects of exogenous NO on the growth, mineral nutrient content, antioxidant system, and ATPase activities of *Trifolium repens* L. plants under cadmium stress[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2015, 37(1): 1721–1737.
- [15] Yamasaki H, Sakihama Y. Simultaneous production of nitric oxide and peroxynitrite by plant nitrate reductase: In vitro evidence for the NR-dependent formation of active nitrogen species[J]. *Febs Letters*, 2000, 468(1): 89–92.
- [16] 阚奇. NO对三七根中镉富集和皂苷含量调控的机理研究[D]. 昆明: 昆明理工大学硕士学位论文, 2016.
Kan Q. The mechanisms of NO in Cd accumulation and the saponins synthesis in *Panax notoginseng* roots[D]. Kunming: MS Thesis of Kunming University of Science and Technology, 2016.
- [17] 徐一馨. 非酶促NO₂⁻来源的NO对玉米抵抗干旱及重金属镉的作用研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2013.
Xu Y X. Studies of non enzymatic nitric oxide produced by NO₂⁻ in maize seedlings resistance to drought and cadmium stress[D]. Yangling, Shaanxi: MS Thesis of Northwest A&F University, 2013.
- [18] Cui J X, Zhou Y H, Ding J G, *et al.* Role of nitric oxide in hydrogen peroxide-dependent induction of abiotic stress tolerance by brassinosteroids in cucumber[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2011, 34(2): 347–358.
- [19] Hsu Y T, Kao C H. Role of abscisic acid in cadmium tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings[J]. *Plant Cell and Environment*, 2003, 26(6): 867–874.
- [20] Luo B F, Du S T, Lu K X, *et al.* Iron uptake system mediates nitrate-facilitated cadmium accumulation in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(8): 3127–3136.
- [21] Luo J S, Huang J, Zeng D L, *et al.* A defensin-like protein drives cadmium efflux and allocation in rice[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 645–653.
- [22] Bright J, Desikan R, Hancock J T, *et al.* ABA-induced NO generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H₂O₂ synthesis[J]. *The Plant Journal*, 2006, 45(1): 113–122.
- [23] Keszler A, Zhang Y, Hogg N. Reaction between nitric oxide, glutathione, and oxygen in the presence and absence of protein: How are S-nitrosothiols formed?[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2010, 48(1): 55–64.
- [24] Sun H W, Li J, Song W J, *et al.* Nitric oxide generated by nitrate reductase increases nitrogen uptake capacity by inducing lateral root

- formation and inorganic nitrogen uptake under partial nitrate nutrition in rice[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(9): 2449–2459.
- [25] Wang L, Yang L, Yang F, *et al.* Involvements of H₂O₂ and metallothionein in NO-mediated tomato tolerance to copper toxicity[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2010, 167(15): 1298–1306.
- [26] Xu J, Wang W, Sun J, *et al.* Involvement of auxin and nitric oxide in plant Cd-stress responses[J]. *Plant and Soil*, 2011, 346(1–2): 107–119.
- [27] Correa-Aragunde N, Lombardo C, Lamattina L. Nitric oxide: an active nitrogen molecule that modulates cellulose synthesis in tomato roots[J]. *New Phytologist*, 2008, 179(2): 386–396.
- [28] 刘安琪. NO对小麦幼苗铜镉胁迫的缓解效应及其蛋白质组学研究[D]. 河南新乡: 河南师范大学硕士学位论文, 2018.
- Liu A Q. Nitric oxide effect on growth and proteomics in wheat under copper and cadmium stress[D]. Xinxiang, Henan: MS Thesis of Henan Normal University, 2018.
- [29] Michele D R, Vurro E, Rigo C, *et al.* Nitric oxide is involved in cadmium-induced programmed cell death in *Arabidopsis* suspension cultures[J]. *Plant Physiology*, 2009, 150(1): 217–228.
- [30] 鲜靖苹, 王勇, 马晖玲. 一氧化氮信号途径参与草地早熟禾耐镉机制的研究[J]. *草地学报*, 2019, 27(6): 1577–1586.
- Xian J P, Wang Y, Ma H L. Study on cadmium-resistant mechanism of *Poa pratensis* mediated by NO signaling pathway[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2019, 27(6): 1577–1586.
- [31] 王勇, 鲜靖苹, 王海龙, 等. 外源NO对镉胁迫下草地早熟禾种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. *核农学报*, 2020, 34(1): 169–176.
- Wan Y, Xian J P, Wang H L, *et al.* Effects of exogenous nitric oxide on seed germination and physiological characteristics of *Poa pratensis* under cadmium stress[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2020, 34(1): 169–176.
- [32] 张鑫, 李昆伟, 陈康健, 等. 镉胁迫对丹参生长及有效成分积累的影响研究[J]. *植物科学学报*, 2013, 31(6): 583–589.
- Zhang X, Li K W, Chen K J, *et al.* Effects of cadmium stress on seedlings growth and active ingredients in *Salvia miltiorrhiza*[J]. *Plant Science Journal*, 2013, 31(6): 583–589.
- [33] Zhang G, Fukami M, Sekimoto H. Influence of cadmium on mineral concentrations and yield components in wheat genotypes differing in Cd tolerance at seedling stage[J]. *Field Crops Research*, 2002, 77(2–3): 93–98.
- [34] Singh R P, Agrawal M. Variations in heavy metal accumulation, growth and yield of rice plants grown at different sewage sludge amendment rates[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2010, 73(4): 632–641.
- [35] Bindhu S J, Bera A K. Effect of foliar spray of cadmium on growth, yield parameters and yield of mungbean[J]. *Environment & Ecology*, 2000, 18(4): 969–971.
- [36] 高荣侠. 黄瓜幼苗对镉胁迫下外源一氧化氮与铁氰化钾的响应[J]. *北方园艺*, 2014, (7): 1–4.
- Gao R X. Response of exogenous nitric oxide and potassium ferricyanide under cadmium stress in cucumber seedlings[J]. *Northern Horticulture*, 2014, (7): 1–4.
- [37] 陈秀兰, 何俊瑜, 任艳芳, 等. 外源硝普钠对镉胁迫下水稻种子萌发和幼苗生理特性的影响[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2012, 38(1): 36–40.
- Chen X L, He J Y, Ren Y F, *et al.* Effect of nitroprusside on seed germination and seedling physiological characteristics of rice under cadmium stress[J]. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences Edition)*, 2012, 38(1): 36–40.
- [38] Xiong J, Lu H, Lu K X, *et al.* Cadmium decreases crown root number by decreasing endogenous nitric oxide, which is indispensable for crown root primordia initiation in rice seedlings[J]. *Planta*, 2009, 230(4): 599–610.
- [39] Faller P, Kienzler K, Krieger-Liszkay A. Mechanism of Cd²⁺ toxicity: Cd²⁺ inhibits photoactivation of photosystem II by competitive binding to the essential Ca²⁺ site[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 2005, 1706(1–2): 158–164.
- [40] 陈静, 刘连涛, 孙红春, 等. NO对缺氮胁迫下棉花幼苗生理生长的调控效应[J]. *中国农业科学*, 2013, 46(14): 3065–3071.
- Chen J, Liu L T, Sun H C, *et al.* Regulatory effects of exogenous nitric oxide on physiological growth of cotton seedlings under nitrogen stress[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(14): 3065–3071.
- [41] 陈静, 刘连涛, 孙红春, 等. 外源NO对缺氮胁迫下棉花幼苗形态及生长的调控效应[J]. *中国农业科学*, 2014, 47(23): 4565–4575.
- Chen J, Liu L T, Sun H C, *et al.* Regulatory effects of exogenous nitric oxide on morphology of cotton seedlings under nitrogen stress[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(23): 4565–4575.
- [42] 王全辉, 梁雪, 董元杰, 等. 外源NO对镉胁迫下黑麦草生长的缓解效应[J]. *中国草地学报*, 2012, 34(2): 30–35.
- Wang Q H, Liang X, Dong Y J, *et al.* Ameliorating effects of exogenous nitric oxide on ryegrass seedlings under cadmium stress [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2012, 34(2): 30–35.
- [43] Diego G, Elena G, Pilar P, *et al.* Acclimation to future atmospheric CO₂ levels increases photochemical efficiency and mitigates photochemistry inhibition by warm temperatures in wheat under field chambers[J]. *Physiologia Plantarum*, 2009, 137(1): 86–100.