

# 水稻积累及耐受镉和砷的分子机制与育种实践

冀中英<sup>1</sup>, 李曜魁<sup>2</sup>, 孟前程<sup>1</sup>, 李兴容<sup>1</sup>, 赵炳然<sup>1,2</sup>, 唐丽<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>湖南大学生物学院隆平分院, 长沙 410125;

<sup>2</sup>湖南杂交水稻研究中心杂交水稻全国重点实验室, 长沙 410125)

**摘要:** 近些年来, 我国农田镉、砷污染日益严重, 导致稻米镉、砷超标事件时有发生。稻米是全球约一半人口的主粮, 也是人体从食物中摄入镉和砷的主要来源, 土壤中的镉和砷被水稻吸收后, 通过食物链的富集作用在人体内积累, 进而危害人体健康。因此, 减少镉、砷在稻米中的积累成为保障我国粮食质量和促进水稻产业发展亟待解决的重要问题。研究水稻对镉和砷的累积机制, 在此基础上培育镉、砷低积累水稻品种, 是解决稻米镉和砷超标最经济的方法, 对实现污染农田的稻米安全生产具有重要意义。本研究主要综述了农田镉和砷的存在形态及生物有效性, 阐述了水稻吸收、转运镉和砷的分子机制, 以及镉、砷耐受机制, 概述了镉、砷低积累水稻育种进展, 并对未来的发展方向进行了展望, 旨在为减少水稻籽粒镉、砷含量的研究提供一些参考。

**关键词:** 水稻; 镉; 砷; 低积累; 育种

## Molecular Mechanisms and Breeding Practices of Accumulation and Tolerance to Cadmium and Arsenic in Rice

Ji Zhong-ying<sup>1</sup>, Li Yao-kui<sup>2</sup>, Meng Qian-cheng<sup>1</sup>, Li Xing-rong<sup>1</sup>, Zhao Bing-ran<sup>1,2</sup>, Tang Li<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>Longping Branch, College of Biology, Hunan University, Changsha 410125;

<sup>2</sup>State Key Laboratory of Hybrid Rice, Hunan Hybrid Rice Research Center, Changsha 410125)

**Abstract:** In recent years, cadmium and arsenic contamination in China's farmland has become increasingly serious, resulting in the occurrence of excessive cadmium and arsenic in grains. Rice is the main food for about half of the world's population. Cadmium and arsenic in the soil will accumulate in the human body through the enrichment of the food chain after being absorbed by rice, thereby harming human health. Therefore, reducing the accumulation of cadmium and arsenic in rice has become an urgent and important issue to ensure grain quality security and promote the development of rice industry. To study the accumulation mechanism of cadmium and arsenic in rice and to cultivate rice varieties with low accumulation of cadmium and arsenic is the most economical way to solve the excessive cadmium and arsenic in grains, which is of great significance to realize the safe production of rice in contaminated farmland. In this review, we summarize the morphology and bioavailability of cadmium and arsenic in farmland, the molecular mechanism of cadmium and arsenic uptake and transport in rice, and the main mechanism of rice tolerance to cadmium and arsenic. We also review the progress in breeding of rice cultivars with low cadmium and arsenic level in grains, and prospected the future development direction. The purpose of this paper is providing some references for reducing cadmium and arsenic content in rice grains.

**Key words:** rice; cadmium; arsenic; low accumulation; breeding

收稿日期: 2022-05-04 修回日期: 2022-06-06 网络出版日期: 2022-06-23

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20220504002>

第一作者研究方向为水稻重金属积累与耐受, E-mail: jzy1179780375@163.com

通信作者: 唐丽, 研究方向为水稻重金属积累与耐受机理, E-mail: tangli@hhrrc.ac.cn

基金项目: 湖南省农业科技创新基金项目(2022CX19); 湖南省自然科学基金(2022JJ30034); 湖南省重点研发计划(2020NK2043)

**Foundation projects:** Agricultural Science and Technology Innovation Fund of Hunan Province (2022CX19); Natural Science Foundation of Hunan Province(2022JJ30034); Research and Development Projects in Key Areas of Hunan Province (2020NK2043)

由于矿山开采、冶炼、污染水灌溉及过度施用农药化肥等人为活动的长期进行,土壤镉(Cd, cadmium)、砷(As, arsenic)污染加剧。2014年我国发布的《全国土壤污染状况调查公报》显示,农田土壤Cd、As污染物的点位超标率分别为7.0%、2.7%<sup>[1]</sup>。从全国4个水稻主产区的19个省份收集了113份土壤样品,经检测发现,Cd、As超标率分别为33.6%、6.19%<sup>[2]</sup>。由于很多污染农田仍被用于水稻生产,导致稻米Cd、As含量超标事件时有发生。对中国南方部分Cd污染农田的米样抽检显示,有56%~87%的样本Cd含量超过国家限量标准值(200  $\mu\text{g/kg}$ )<sup>[3-4]</sup>。湖南某矿区附近农田的稻米As含量平均为303  $\mu\text{g/kg}$ <sup>[5]</sup>,郴州市工业区附近农田的稻米As含量范围高达500~7500  $\mu\text{g/kg}$ ,远超国家允许的无机As限量标准(200  $\mu\text{g/kg}$ )<sup>[4-6]</sup>。

水稻(*Oryza sativa* L.)是全球约一半人口的主粮,也是人体摄入Cd和As的主要来源<sup>[7-9]</sup>。在美国有毒物质和疾病登记署(ATSDR, agency for toxic substances and disease registry)2019年公布的有害物质排名中,Cd和As分别排名第7位和第1位<sup>[10]</sup>。人体长期摄入Cd,会对肾脏、骨骼、肺部等多个器官造成损害<sup>[11]</sup>;而长期暴露于As也使皮肤、胃、肠道等器官严重受损<sup>[12]</sup>。因此,解决稻米Cd、As超标问题对实现水稻安全生产、保障粮食安全具有重大意义,而培育并推广Cd、As低积累水稻品种是解决这一问题最经济、有效的方法。本研究主要综述了水稻吸收、转运、积累及耐受Cd、As的分子机制,以及Cd、As低积累水稻品种培育的进展,并对未来的发展方向提出了几点建议。

## 1 土壤中Cd和As的存在形式及生物有效性

Cd在土壤中以无机态+2价形式存在,As则不同,除+3价和+5价的无机态As,还包括甲基As。As的甲基化形式主要包含单甲基砷(MMA, monomethylarsonic acid)、二甲基砷(DMA, dimethylarsinic acid)和三甲基砷(TMA, trimethylarsenic acid)。

土壤的氧化还原状态(Eh)会影响土壤中Cd、As的生物有效性。水稻在营养生长期需要长时间灌溉,而在分蘖盛期和成熟前需要排水晒田,因此稻田会经历周期性的淹水和排水。淹水后,由于微生物活动消耗氧气,导致土壤Eh降低,硫酸盐被还原为硫化物,Cd<sup>2+</sup>与硫化物结合形成不溶的硫化镉沉淀,从而降低了Cd的生物有效性<sup>[13]</sup>。然而在还

原状态的土壤条件下,吸附As的铁(氢)氧化物还还原溶解,将As释放到土壤溶液中;另外,五价砷[As(V)]也会被还原为三价砷[As(III)],而土壤对As(III)的吸附能力弱于As(V),使得As(III)更容易分布在土壤溶液中,从而增加了As在淹水条件下的生物有效性<sup>[14-15]</sup>。稻田排水会使土壤条件从还原状态变为氧化状态,导致相反过程发生,Cd的生物有效性增加而As的生物有效性下降。盆栽试验也证明,有氧条件下生长的水稻比缺氧条件下生长的水稻会积累更多的Cd、更少的As<sup>[16-17]</sup>。

土壤酸碱度(pH)也是影响Cd、As生物有效性的重要因素。淹水条件下,酸性土壤的pH升高至中性,土壤中铁锰(氢)氧化物表面的吸附位点增加,促进对Cd<sup>2+</sup>的吸附,降低了Cd的生物有效性<sup>[18]</sup>。研究表明,pH(4.7~6.7)每下降1个单位,土壤中的可溶性Cd含量增加0.35~0.37倍<sup>[19]</sup>。与Cd相反,土壤pH升高会使As(V)的生物有效性增加,这是由于土壤pH升高伴随其中的OH<sup>-</sup>离子也逐渐增多,并与砷酸根(土壤溶液中As(V)的主要存在形式)竞争土壤颗粒表面的吸附位点,从而抑制土壤颗粒对砷酸根的吸附,增加了As的生物有效性<sup>[20]</sup>。在土壤pH<8时,As(III)主要以非解离的中性分子(亚砷酸)形式存在,这使pH对As(III)的生物有效性影响相对微弱<sup>[21]</sup>。以上研究表明,在稻田淹水和排水的过程中,Cd和As的生物有效性呈现相反的变化规律,这可能是稻米中Cd、As浓度呈负相关的主要原因<sup>[22]</sup>,因此,在Cd、As复合污染农田中,同时降低水稻籽粒的Cd和As积累成为农业生产和环境领域的一大难点。

## 2 水稻籽粒积累Cd和As的分子机制

水稻对Cd和As的吸收、转运和分配过程涉及多个转运蛋白的跨膜运输。目前已克隆和鉴定出多个参与该过程的Cd、As转运体基因。

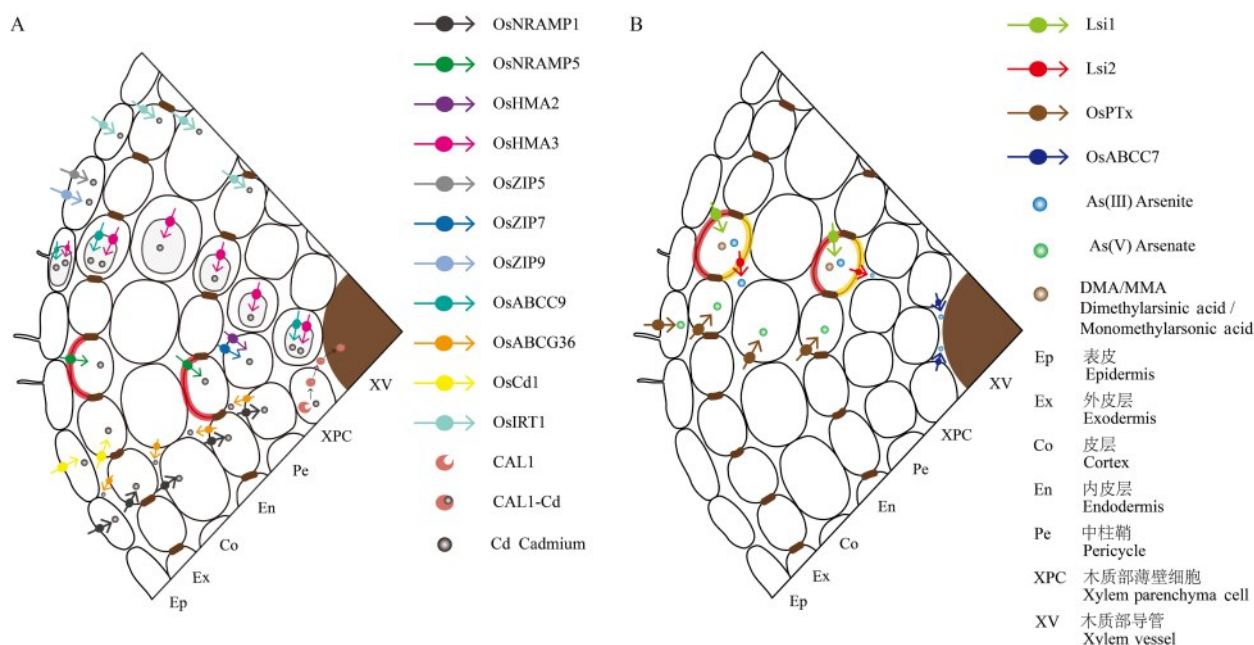
### 2.1 水稻根系对Cd和As的吸收

根系吸收的Cd总量决定了植株整体的Cd积累量,目前已发现OsNRAMP5、OsNRAMP1、OsIRT1、OsIRT2、OsCd1、OsZIP5和OsZIP9等转运体参与水稻对Cd的吸收<sup>[23-29]</sup>。OsNRAMP5作为自然抗性相关巨噬细胞蛋白(NRAMP, natural resistance-associated macrophage protein)家族的一员,位于水稻根部外皮层和内皮层质膜的远轴面(图1A),是介导水稻吸收Cd、锰(Mn, manganese)的主效转运蛋白,敲除OsNRAMP5显著降低根系对Cd、Mn的吸收能力,从而导致地上部和籽粒中的Cd、Mn含量下降<sup>[23]</sup>。然

而, Mn 是植物必需的矿质营养元素, 敲除 *OsNRAMP5* 也增加水稻在低 Mn 大田中减产的风险<sup>[23]</sup>。过表达 *OsNRAMP5* 导致植株根部 Cd、Mn 的吸收增强, 但由于破坏了 Cd 在根部的横向运输, 使得地上部的 Cd 积累减少<sup>[24]</sup>。OsNRAMP1 与 OsNRAMP5 的功能相似但不冗余, 敲除 *OsNRAMP1* 使水稻根部、地上部和籽粒中的 Cd、Mn 含量显著低于野生型, 与敲除 *OsNRAMP5* 相比, 敲除 *OsNRAMP1* 对 Cd、Mn 吸收的影响更小, 而同时敲除这两个基因会导致 Cd、Mn 的吸收大幅下降<sup>[25]</sup>。在酵母异源表达系统中, 铁(Fe, iron)转运体 OsIRT1 和 OsIRT2 显示出 Cd 的内流转运活性, *OsIRT1* 和 *OsIRT2* 在缺 Fe 条件下的表达上调, 从而促进水稻对 Cd 的吸收<sup>[26-27]</sup>。OsCd1 被证实参与水稻根系对 Cd 的吸收(图 1A), 敲除 *OsCd1* 减少了根部对 Cd 的吸收以及地上部 Cd 的积累, 同时也造成水稻缺 Mn, 引起结实率下降<sup>[28]</sup>。锌铁转运蛋白(ZIP, zinc regulated transporter, iron regulated transporter-like protein)家族的 OsZIP5 和 OsZIP9 也参与根系吸收 Cd 的过程, 两者均具有 Cd、锌(Zn, zinc)的内流转运活性(图 1A), *oszip5oszip9* 双敲除突变体对 Cd、Zn 的吸收能力显著低于野生型; 然而, 敲除 *OsZIP5* 或 *OsZIP9* 均会导致籽粒 Zn 含量和产量显著降低<sup>[29]</sup>。

水稻对不同形态 As 的吸收机制不同, As(III) 是

稻田淹水条件下 As 的主要形态。硅(Si, silicon)吸收途径是 As(III) 进入水稻根部的主要方式, 已报道硅转运蛋白 Lsi1 和 Lsi2 介导 Si 和 As(III) 的吸收<sup>[30-31]</sup>。Lsi1 (OsNIP2;1) 属于水通道蛋白家族中的类根瘤素 26 内在蛋白(NIP, nodulin 26-like intrinsic protein)亚家族, 其定位于根部内皮层、外皮层细胞质膜的远轴面(图 1B), 介导根细胞吸收 Si 和 As(III), 而 Lsi2 定位于同一细胞质膜的近轴面(图 1B), 负责将根细胞内的 Si 和 As(III) 朝中柱方向外排至质外体, 促进 Si 和 As(III) 横向运输至中柱<sup>[30-31]</sup>。与 Lsi1 相比, Lsi2 对籽粒 As 积累的影响更大, 利用化学诱变剂 N-甲基-N-亚硝基脲(MNU, N-Methyl-N-nitrosourea)和  $\gamma$  射线分别诱变处理 Taichung-65 和 Koshihikari, 共获得两个背景不同的硅吸收突变体 *lsi2*, 其籽粒 As 浓度分别降至各自野生型水稻的 63% 和 51%<sup>[30-31]</sup>。然而, 敲除 *Lsi2* 也显著降低水稻对 Si 的吸收和累积, 进而引起减产<sup>[32]</sup>。NIP 家族的 OsNIP3;2 也参与水稻侧根对 As(III) 的吸收, 但其对地上部 As 的积累贡献有限<sup>[33]</sup>。甲基化砷也是土壤和稻米中常见的一种有机 As 形态。有研究报道, Lsi1 可介导单甲基砷和较少的二甲基砷内流进入水稻根系, 与野生型植株相比, 诱变处理获得的 *lsi1* 对 MMA 和 DMA 的吸收能力分别降低 80% 和 50%, 而 *Lsi2* 不参与甲基化砷的吸收和运输<sup>[34]</sup>。



A: 水稻根部 Cd 的吸收和转运; B: 水稻根部 As 的吸收和转运。红色突出标注、黄色突出标注分别代表内皮层和外皮层的远轴面与近轴面

A: Uptake and transport of Cd in rice roots; B: Uptake and transport of As in rice roots. The red highlights and yellow highlights represent the distal and proximal sides of the exodermis and endodermis, respectively

图 1 水稻根部 Cd、As 的吸收转运

Fig.1 Uptake and transport of Cd and As in rice roots



As(V)主要存在于干水条件下的稻田。由于As(V)与磷酸盐(Pi, phosphate)具有相似的化学结构,因此磷酸盐转运蛋白也介导As(V)的吸收。目前已发现OsPT1、OsPT4和OsPT8对As(V)和Pi的吸收均有贡献<sup>[35-37]</sup>(图1B)。过表达*OsPT1*显著增加水稻对Pi和As(V)的吸收<sup>[35]</sup>。敲除*OsPT4*使水稻对As(V)的吸收减少<sup>[36]</sup>。两种不同背景的*ospt8*突变体对As(V)的吸收能力降低33%~57%<sup>[37]</sup>。

## 2.2 Cd和As由水稻根系向地上部分的转运

土壤中的Cd被水稻根系吸收后,大部分Cd被截留在根细胞的液泡中,少部分Cd由木质部装载并借助根压和蒸腾作用的动力运输到地上部。OsHMA3、OsABCC9均定位于根细胞液泡膜,通过将Cd区隔化在根细胞的液泡中,进而调节木质部装载的Cd总量<sup>[38-39]</sup>(图1A)。未被液泡区隔化的Cd通过转运体OsHMA2、OsZIP7、OsLCT2、CAL1、CAL2介导运输至地上部分<sup>[40-44]</sup>。OsHMA2是Zn、Cd转运体,营养生长阶段主要定位于根部中柱鞘的质膜(图1A),与野生型相比,*oshma2*突变体显著降低Zn、Cd由根到地上部分的转运率<sup>[40]</sup>。OsZIP7也是Zn、Cd转运体,*OsZIP7*敲除后导致Zn、Cd从根系向地上部的转运减少<sup>[41]</sup>(图1A)。OsLCT2定位于内质网,过表达*OsLCT2*可抑制Cd装载到木质部中,从而使糙米和稻草的Cd含量显著降低<sup>[42]</sup>。防御素类蛋白CAL1通过特异性地与Cd螯合,驱动

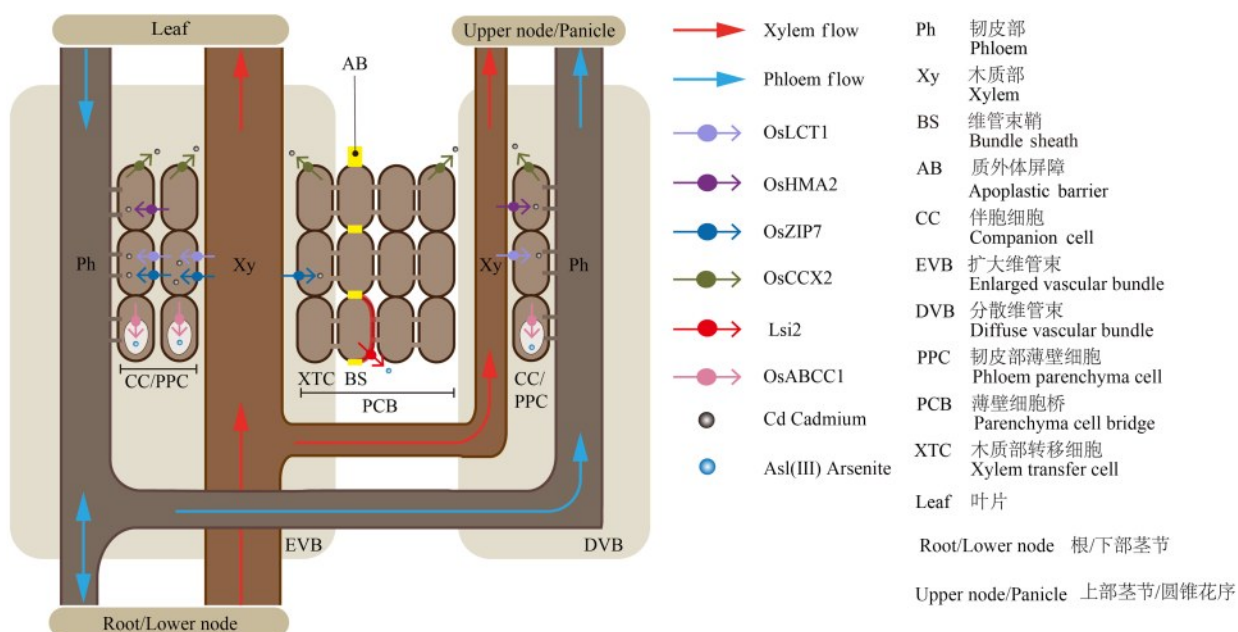
Cd从木质部薄壁细胞的细胞质分泌到木质部导管(图1A),从而促进Cd由根系运输到地上部<sup>[43]</sup>。CAL1仅定向调控叶等营养器官的Cd积累,但不影响籽粒Cd含量<sup>[43]</sup>。防御素类蛋白CAL2与CAL1的同源性为66%,其编码基因主要在根表达,且转录水平上不响应Cd胁迫,过表达*CAL2*增加了水稻籽粒、茎叶中的Cd含量<sup>[44]</sup>。

木质部装载也是决定水稻籽粒中As含量的关键过程。As(III)是木质部伤流液中As的主要存在形式。Tang等<sup>[45]</sup>发现*OsABCC7*在根中柱的木质部薄壁细胞中高表达,蛋白定位于质膜(图1B),其对As(III)与植物螯合肽(PCs, phytochelatins)复合物以及As(III)与谷胱甘肽复合物具有外排活性,可促进根系As(III)向地上部分的转运。

## 2.3 地上部Cd和As的运输和分配

茎节是地上部Cd和As的分配的枢纽。根系中的Cd和As转运到地上部分后,大部分的Cd和As在水稻茎节处发生由扩大维管束(EVBs, enlarged vascular bundles)向分散维管束(DVBs, diffuse vascular bundles)的转移。

目前,已鉴定出转运蛋白OsLCT1、OsHMA2、OsZIP7、OsCCX2参与茎节中Cd的转运和分配<sup>[40-41, 46-47]</sup>。转运蛋白OsLCT1主要在水稻生殖长期的水稻叶片和茎节中表达(图2),其RNAi株系木质部伤流液的Cd浓度较野生型无显著变化,而韧



红色突出标注代表维管束鞘细胞的远轴面

Yellow highlights represent the distal side of bundle sheath cell

图2 水稻茎节中Cd、As的转运

Fig.2 Transfer of Cd and As in rice nodes

皮部伤流液的Cd水平接近野生型的一半,这表明OsLCT1参与调节韧皮部Cd的运输<sup>[46]</sup>。OsHMA2和OsZIP7不仅参与Zn、Cd由根到地上部的转运,也参与茎节中Zn和Cd的分配(图2);*OsHMA2*的*Tos17*插入突变使上部茎节和籽粒的Zn、Cd含量较野生型显著降低,敲除*OsZIP7*也抑制Cd、Zn向上部茎节和糙米的运输<sup>[40-41]</sup>。钙/阳离子反向转运体OsCCX2定位于质膜,主要在茎节的木质部区域表达(图2),负责将Cd装载到茎节的木质部导管中,*OsCCX2*突变导致Cd在基部茎节处滞留,使籽粒中的Cd含量较野生型降低约一半<sup>[47]</sup>。

有关As在水稻地上部运输和分配的研究较少,目前报道的转运体主要有Lsi2、OsABCC1和OsPTR7<sup>[48-50]</sup>。*Lsi2*除了在根系表达外,也在茎节高表达(图2),其功能缺失突变导致茎节和旗叶的As(III)含量升高,而籽粒的As(III)积累量显著减少,表明Lsi2参与茎节中As(III)的分配<sup>[48]</sup>。*OsABCC1*定位于茎节韧皮部伴胞细胞的液泡膜(图2),负责将As(III)-PCs复合物隔离在液泡中,从而有效减少了As(III)向籽粒的转运<sup>[49]</sup>。Tang等<sup>[50]</sup>研究发现*OsPTR7*参与二甲基砷的长距离转运(表1)。

### 3 水稻耐受Cd、As胁迫的分子机制

为减轻Cd和As的毒害作用,水稻形成了耐受Cd和As的机制,主要包括外排、与硫醇类化合物络合和液泡隔离。

质膜转运蛋白OsABCG36可将Cd外排出根细胞,以此来增强水稻对Cd的耐受性<sup>[51]</sup>。Zhao等<sup>[52]</sup>研究表明,Lsi1不仅具有As(III)的内流转运活性,当土壤溶液含As(V)时,Lsi1将大量的As(III)外排出根细胞,这说明Lsi1是双向转运体,具有吸收和外排As(III)的双重功能。而水稻中As(V)的外排首先需要将As(V)还原为As(III),再由As(III)的转运体介导排出体外,目前在水稻中发现参与这一As还原过程的还原酶有OsHAC1;1、OsHAC1;2和OsHAC4<sup>[53-54]</sup>。

植物螯合肽是由谷氨酸(Glu)、半胱氨酸(Cys)和甘氨酸(Gly)组成的富含巯基的小分子多肽,它不是由基因直接编码形成,而是由PC合成酶(PCS, phytochelatin synthase enzyme)催化底物谷胱甘肽(GSH, glutathione)聚合而成<sup>[55]</sup>。Cd、As可以与PCs螯合形成PCs-Cd、PCs-As复合物,从而降低Cd和As的毒害效应。巯基化合物(包括Cys、GSH和PCs)的合成对重金属解毒有着重要影响。研究表明,敲除*OsPCS2*会增加水稻对Cd和As(III)

胁迫的敏感性<sup>[56-57]</sup>。*OsCADT1*突变上调了硫酸盐转运蛋白和硒酸盐转运蛋白的表达,从而增加硫酸盐、硒酸盐的吸收和积累,促进巯基化合物的合成,使更多游离的Cd<sup>2+</sup>被螯合,提高水稻对Cd的耐受性,同时也富集硒<sup>[58]</sup>。类似地,*osastol1*突变体通过提高水稻对硫酸盐和硒酸盐的吸收,增强了水稻对As的耐受性<sup>[59]</sup>。

液泡隔离对水稻耐受Cd、As的毒害也十分重要。过表达*OsHMA3*显著减少Cd由根向地上部的转移,这与*OsHMA3*将Cd隔离到根部液泡中的功能一致<sup>[60]</sup>。敲除*OsABCC9*使得突变体比野生型对Cd更敏感,并增加根部和地上部的Cd含量<sup>[39]</sup>。*OsABCC1*通过将As(III)-PCs转运至液泡隔离,参与水稻中As的解毒过程,敲除*OsABCC1*导致水稻对As的耐受性下降<sup>[49]</sup>。

## 4 Cd、As低积累水稻品种的培育

### 4.1 Cd低积累水稻品种的培育

OsNRAMP5是目前发现的对水稻吸收Cd贡献最大的转运蛋白,被广泛应用于Cd低积累水稻育种。理化诱变和基因编辑获得的*osnramp5*对Cd的吸收均大幅度降低<sup>[61-66]</sup>。对国内外水稻资源进行基因组高通量测序,筛选出*OsNRAMP1*和*OsNRAMP5*同时缺失的珞红3A和珞红4A,经Cd污染大田鉴定,其籽粒Cd含量分别为10和30 μg/kg<sup>[61-62]</sup>。通过理化诱变处理创制Cd低积累水稻新品种是实现种质资源创新的重要技术。Ishikawa等<sup>[63]</sup>利用碳离子束诱变粳稻品种越光,获得3个*osnramp5*突变体,籽粒Cd积累量均降至对照的3%以下。Cao等<sup>[64]</sup>用EMS获得籼稻品种93-11背景下的*OsNRAMP5*突变体*lcd1*,其籽粒Cd含量降低96%以上且不影响水稻的生长。韶也等<sup>[65]</sup>利用高通量靶向测序技术在诱变当代定向筛选到*OsNRAMP5*嵌合突变体,突变体自交后筛选得到Cd低积累水稻,并配组成杂交稻组合莲两优1号,镉污染田鉴定结果显示,其籽粒Cd含量低于30 μg/kg。利用CRISPR/Cas9技术同时敲除两系杂交稻骨干亲本华占和隆科638S中的*OsNRAMP5*基因,并配组获得隆两优华占背景的*osnramp5*,在重度Cd污染田鉴定发现,其糙米Cd含量低于50 μg/kg,且产量、米质等农艺性状较野生型无显著差异<sup>[66]</sup>。但用CRISPR/Cas9编辑黄华占、南粳46、淮稻5号、华占、五丰B、五山丝苗、中早35等不同遗传背景的*OsNRAMP5*均造成不同程度的减产<sup>[67-69]</sup>。不同报道中,敲除*OsNRAMP5*对水稻农艺性状的影

表1 水稻Cd和As转运体的编码基因  
Table 1 Encoding genes of Cd and As transporters in rice

| 基因名称<br>Gene name | 基因号<br>Gene ID                     | 主要表达部位<br>Main expression organ | 亚细胞定位<br>Subcellular localization | 功能<br>Function                                               | 参考文献<br>References |
|-------------------|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------|
| <i>OsNRAMP1</i>   | LOC_Os07g15460                     | 除中央维管束外的所有根细胞以及叶肉细胞             | 质膜                                | 参与根部Cd、Mn的吸收                                                 | [25]               |
| <i>OsNRAMP5</i>   | LOC_Os07g15370                     | 根部内、外皮层                         | 质膜                                | 参与根部Cd、Mn的吸收                                                 | [23]               |
| <i>OsIRT1</i>     | LOC_Os03g46470                     | 根部的表皮、外皮层、靠近内皮层的皮层细胞、中柱         | 质膜                                | 参与根部Cd、Fe的吸收                                                 | [26]               |
| <i>OsIRT2</i>     | LOC_Os03g46454                     | 根部                              | 质膜                                | 参与根部Cd、Fe的吸收                                                 | [27]               |
| <i>OsCd1</i>      | LOC_Os03g02380                     | 根部内皮层、外皮层、皮层薄壁细胞、中柱细胞           | 质膜                                | 参与根部Cd、Mn的吸收                                                 | [28]               |
| <i>OsZIP5</i>     | LOC_Os05g39560                     | 大部分组织(如根、茎、叶鞘、叶片、穗、颖壳等)         | 质膜                                | 参与根部Zn、Cd的吸收                                                 | [29]               |
| <i>OsZIP9</i>     | LOC_Os05g39540                     | 根、茎、颖壳                          | 质膜                                | 参与根部Zn、Cd的吸收                                                 | [29]               |
| <i>OsHMA2</i>     | LOC_Os06g48720                     | 根、基部茎、上部茎节                      | 质膜                                | 参与Zn、Cd从根部向地上部的转运及地上部的分配                                     | [40]               |
| <i>OsHMA3</i>     | LOC_Os07g12900                     | 根部                              | 液泡膜                               | 负责将Cd隔离在根部液泡中                                                | [38]               |
| <i>OsZIP7</i>     | LOC_Os05g10940                     | 根中柱和茎节维管束薄壁细胞                   | 质膜                                | 参与Zn、Cd从根部向地上部的转运及地上部的分配                                     | [41]               |
| <i>OsCAL1</i>     | LOC_Os02g41904/                    | 根、茎节、叶鞘                         | 细胞壁(分泌蛋白)                         | 参与Cd从根部向地上部的转运                                               | [43]               |
| <i>OsCAL2</i>     | LOC_Os04g44130                     | 根尖                              | 细胞壁                               | 参与Cd从根部向地上部的转运                                               | [44]               |
| <i>OsCCX2</i>     | LOC_Os03g45370                     | 茎节的木质部区域                        | 质膜                                | 参与地上部的Cd分配                                                   | [47]               |
| <i>OsLCT1</i>     | LOC_Os06g38120                     | 茎节、叶片                           | 质膜                                | 参与地上部的Cd分配                                                   | [46]               |
| <i>OsLCT2</i>     | GenBank accession number: MW757982 | 根部                              | 内质网                               | 参与Cd从根部向地上部的转运                                               | [42]               |
| <i>OsABCC9</i>    | LOC_Os04g13210                     | 根部                              | 液泡膜                               | 负责将Cd隔离在根部液泡中                                                | [39]               |
| <i>OsABCG36</i>   | LOC_Os01g42380                     | 根部                              | 质膜                                | 参与根部Cd的外排                                                    | [51]               |
| <i>Lsi1</i>       | LOC_Os02g51110                     | 根部内、外皮层                         | 质膜                                | 参与根部As(III)的吸收和外排以及部分DMA、MMA的吸收                              | [30-31, 34]        |
| <i>Lsi2</i>       | LOC_Os03g01700                     | 根部内皮层、外皮层、茎节                    | 质膜                                | 参与As(III)的根部吸收以及地上部的分配                                       | [30, 48]           |
| <i>OsNIP3;2</i>   | LOC_Os08g05590                     | 侧根、初生根的中柱                       | 质膜                                | 参与根部As(III)的吸收                                               | [33]               |
| <i>OsPTR7</i>     | LOC_Os01g04950                     | 地上部、根部                          | 质膜                                | 参与地上部的DMA分配                                                  | [50]               |
| <i>OsABCC1</i>    | LOC_Os04g52900                     | 根、茎节、叶                          | 液泡膜                               | 负责将As(III)-PCs隔离在液泡                                          | [49]               |
| <i>OsABCC7</i>    | LOC_Os04g49900                     | 根部中柱                            | 质膜                                | 参与As(III)-PC <sub>2</sub> 及As(III)-GS <sub>3</sub> 从根到地上部的转运 | [45]               |
| <i>OsPT1</i>      | LOC_Os03g05620                     | 根、地上部                           | 质膜                                | 参与根部As(V)的吸收                                                 | [35]               |
| <i>OsPT4</i>      | LOC_Os04g10750                     | 根、胚                             | 质膜                                | 参与根部As(V)的吸收                                                 | [36]               |
| <i>OsPT8</i>      | LOC_Os10g30790                     | 根尖、侧根                           | 质膜                                | 参与根部As(V)的吸收                                                 | [37]               |

响不同,可能是由于突变位点、遗传背景和种植条件不同,造成*osnramp5*地上部Mn积累量不同。此外,董家瑜等<sup>[70]</sup>发现敲除*OsNRAMP5*降低植株对低Mn和高温环境的耐受性。以上研究提示,在利用*OsNRAMP5*突变培育Cd低积累水稻品种时,需通过多年多点大田试验确定其适合种植的生态区。

分子标记辅助育种是开展低Cd新品种培育的有效策略。目前已有初步尝试,王天抗等<sup>[62]</sup>根据珞

红4A在7号染色体缺失处插入的DNA片段(Tons),开发出Tons分子标记,并借助Tons标记在珞红4A与IR28杂交的F<sub>2</sub>群体中筛选出低Cd新材料Tonys。*OsHMA3*启动子在籼粳亚种之间存在自然变异,将来自籼稻两系不育系培矮64s的*OsHMA3*强功能等位基因导入籼稻93-11中可使93-11的籽粒Cd含量降低36.9%,且不影响农艺性状<sup>[71]</sup>。Wang等<sup>[72]</sup>将粳稻品种IRAT129的低Cd积累



基因簇 *OsHMA3-OsNRAMP5-OsNRAMP1* 整合到 93-11 基因组中,显著降低了 93-11 的籽粒 Cd 含量(减少约 31.8%),且不影响产量。

过表达 *OsHMA3* 和下调 *OsLCT1* 的表达均可降低糙米 Cd 含量,且不影响水稻的生长、产量及其他矿质元素的含量<sup>[46, 60]</sup>,提示转基因技术在 Cd 低积累水稻育种中具有巨大潜力,但因转基因政策的限制,短期内尚不能应用。

## 4.2 As 低积累水稻品种的培育

与 Cd 相比,As 低积累水稻育种的报道相对较少。Si、Pi 对水稻生长发育、产量品质和抗逆性等方面至关重要,而 As(III)与 Si 共享转运途径,As(V)与 Pi 共享转运途径,突变 *Lsi2* 或敲除磷酸盐转运体基因尽管能显著降低籽粒 As 积累,但也不可避免地减少 Si、Pi 的吸收和积累,从而导致稻谷减产和植株生长受抑制的问题<sup>[30-32]</sup>。因此,As 低积累水稻育种迫切需要鉴定更多不影响水稻生长和产量的低 As 优异等位变异。在转基因育种方面,T-DNA 插入 *OsPTR7* 第 1 个内含子获得 *osptr7*,该突变体使籽粒 As 含量下降 43%,并对籽粒产量和氮含量无明显影响<sup>[50]</sup>。过表达 *OsNIP1;1* 或 *OsNIP3;3* 会影响 As 从根向地上部的转运,使籽粒中的 As 含量显著低于野生型,且对水稻主要农艺性状和产量无负面影响<sup>[73]</sup>。Deng 等<sup>[74]</sup>创制了表达两种不同液泡隔离基因(*ScYCF1* 和 *OsABCC1*)的转基因水稻,同时也表达细菌  $\gamma$  谷氨酰半胱氨酸合成酶以增加胞质溶胶中 GSH 和 PCs 的含量,该转基因水稻植株表现出糙米 As 积累量减少 70% 且 not 损害农艺性状。

籽粒中 Cd、As 的积累呈显著负相关<sup>[22]</sup>,这为 Cd、As 低积累水稻品种的筛选和培育带来难度。目前,Cd、As 低积累品种的筛选及培育报道很少,大量研究集中在通过改良水分管理、施用土壤改良剂等措施来同步降低籽粒的 Cd、As 含量。例如,营养生长期干水处理结合灌浆期淹水处理的水分管理模式为生产符合食品安全规定的稻米提供了一种方法<sup>[75]</sup>。将复合改良剂(石灰石、铁粉、硅肥和钙镁磷肥)施用于中度和重度镉砷复合污染土壤,不仅显著减少稻米 Cd、As 含量,还提升了稻米品质<sup>[76]</sup>。Ishikawa 等<sup>[63, 77]</sup>将粳稻越光背景的低 Cd 积累水稻(*osnramp5*)种植在 3 种水分管理模式(淹水、干湿交替、节水)的大田中,结果发现,与淹水条件相比,在干湿交替和节水条件下的籽粒 As 含量分别降低 27% 和 43.1%,且几乎检测不到籽粒 Cd 含量,但这两种水分管理模式可能对籽粒的产量和品质产生

负面影响。

## 5 展望

当前,我国部分稻米存在 Cd、As 含量超标的问题,威胁着食品安全和人体健康。近些年来,Cd 和 As 在水稻中吸收、转运、耐受的分子机制研究和 Cd、As 低积累品种的培育已取得了一系列进展,但在以下方面有待加强研究:(1)水稻 Cd、As 积累的分子机制研究多限于单个转运蛋白的功能解析,不同转运蛋白之间的相互关系及耦合效应研究相对不足,且转运蛋白上游的调控网络研究尚不清晰。(2)突变 Cd 转运体基因在降低稻米 Cd 积累的同时,可能造成水稻中 Mn、Fe、Zn 等必需矿质元素的缺乏,突变 As 转运体基因在降低稻米 As 积累的同时,可能造成水稻 Si、Pi 等元素的缺乏,已发现的不影响水稻生长发育和主要农艺性状的低 Cd 或低 As 等位基因还不足,因此,迫切需要在水稻自然群体中鉴定更多的低 Cd 和低 As 优异等位变异,以开展 Cd、As 低积累水稻的分子设计育种。(3)通过基因编辑,可对负责 Cd 积累的主效转运蛋白 *OsNRAMP5* 和负责 As 积累的主效转运蛋白 *Lsi2* 进行关键氨基酸残基的定向突变,尝试创制不吸收 Cd、专一性吸收 Mn 的 *OsNRAMP5* 理想型变异体,以及不吸收 As、专一性吸收 Si 的 *Lsi2* 理想型变异体。(4)由于在稻田淹水、排水过程中,籽粒 Cd 和 As 的积累变化规律表现相反,因此 Cd、As 复合污染土壤安全生产水稻面临巨大挑战。目前可通过稻田水分管理、施加土壤改良剂来控制水稻对 Cd、As 的吸收和积累;另外,种植 *OsNRAMP5* 突变的 Cd 低积累水稻材料<sup>[62, 65, 77]</sup>并结合干湿交替或节水的水分管理模式也为水稻实现 Cd、As 同降提供了一种可能的途径,但如何规避减产风险需要更多的探索。

## 参考文献

- [1] 中华人民共和国生态环境部. 全国土壤污染状况调查公报. 中国环保产业, 2014(5): 10-11  
Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China. The report on the national general survey of soil contamination. China Environmental Protection Industry, 2014 (5): 10-11
- [2] Mu T, Wu T, Zhou T, Li Z, Ouyang Y, Jiang J, Zhu D, Hou J, Wang Z, Luo Y, Christie P, Wu L. Geographical variation in arsenic, cadmium, and lead of soils and rice in the major rice producing regions of China. The Science of the Total Environment, 2019, 677: 373-381

- [3] Wang P, Chen H, Kopittke P M, Zhao F J. Cadmium contamination in agricultural soils of China and the impact on food safety. *Environmental Pollution*, 2019, 249: 1038-1048
- [4] GB 2762—2017《食品安全国家标准 食品中污染物限量》. 中国食品卫生杂志, 2018, 30(3): 329-340  
GB 2762—2017 “National Food Safety Standard Limits of Contaminants in Food”. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2018, 30 (3): 329-340
- [5] Zhu Y G, Sun G X, Lei M, Teng M, Liu Y X, Chen N C, Wang L H, Carey A M, Deacon C, Raab A, Meharg A A, Williams P N. High percentage inorganic arsenic content of mining impacted and nonimpacted Chinese rice. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42 (13): 5008-5013
- [6] Liao X Y, Chen T B, Xie H, Liu Y R. Soil as contamination and its risk assessment in areas near the industrial districts of Chenzhou city, Southern China. *Environment International*, 2005, 31 (6): 791-798
- [7] Rizwan M, Ali S, Adrees M, Rizvi H, Zia-Ur-Rehman M, Hannan F, Qayyum M F, Hafeez F, Ok Y S. Cadmium stress in rice: Toxic effects, tolerance mechanisms, and management: A critical review. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2016, 23 (18): 17859-17879
- [8] Li G, Sun G X, Williams P N, Nunes L, Zhu Y G. Inorganic arsenic in Chinese food and its cancer risk. *Environment International*, 2011, 37 (7): 1219-1225
- [9] Meharg A A, Norton G, Deacon C, Williams P, Adomako E E, Price A, Zhu Y, Li G, Zhao F J, McGrath S, Villada A, Sommella A, De Silva P M, Brammer H, Dasgupta T, Islam M R. Variation in rice cadmium related to human exposure. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47 (11): 5613-5618
- [10] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Delisted data table for the 2019 priority list of hazardous substances, the subject of toxicological profiles. (2020-1-17) [2022-05-04]. <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/#2019spl>
- [11] Nawrot T S, Staessen J A, Roels H A, Munters E, Cuypers A, Richart T, Ruttens A, Smeets K, Clijsters H, Vangronsveld J. Cadmium exposure in the population: From health risks to strategies of prevention. *Biomaterials: An International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry, and Medicine*, 2010, 23 (5): 769-782
- [12] Chen Y, Parvez F, Gamble M, Islam T, Ahmed A, Argos M, Graziano J H, Ahsan H. Arsenic exposure at low-to-moderate levels and skin lesions, arsenic metabolism, neurological functions, and biomarkers for respiratory and cardiovascular diseases: Review of recent findings from the Health Effects of Arsenic Longitudinal Study (HEALS) in Bangladesh. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2009, 239 (2): 184-192
- [13] Fulda B, Voegelín A, Kretzschmar R. Redox-controlled changes in cadmium solubility and solid-phase speciation in a paddy soil as affected by reducible sulfate and copper. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47 (22): 12775-12783
- [14] Xu X, Chen C, Wang P, Kretzschmar R, Zhao F J. Control of arsenic mobilization in paddy soils by manganese and iron oxides. *Environmental Pollution*, 2017, 231 (Pt 1): 37-47
- [15] Yamaguchi N, Nakamura T, Dong D, Takahashi Y, Amachi S, Makino T. Arsenic release from flooded paddy soils is influenced by speciation, Eh, pH, and iron dissolution. *Chemosphere*, 2011, 83 (7): 925-932
- [16] Li R Y, Stroud J L, Ma J F, McGrath S P, Zhao F J. Mitigation of arsenic accumulation in rice with water management and silicon fertilization. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43 (10): 3778-3783
- [17] Arao T, Kawasaki A, Baba K, Mori S, Matsumoto S. Effects of water management on cadmium and arsenic accumulation and dimethylarsinic acid concentrations in Japanese rice. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43 (24): 9361-9367
- [18] Wang J, Wang P M, Gu Y, Kopittke P M, Zhao F J, Wang P. Iron-manganese (oxyhydro) oxides, rather than oxidation of sulfides, determine mobilization of Cd during soil drainage in paddy soil systems. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53 (5): 2500-2508
- [19] Zhu H, Chen C, Xu C, Zhu Q, Huang D. Effects of soil acidification and liming on the phytoavailability of cadmium in paddy soils of central subtropical China. *Environmental Pollution*, 2016, 219: 99-106
- [20] 陈静, 王学军, 朱立军. pH对砷在贵州红壤中的吸附的影响. *土壤*, 2004, 36 (2): 211-214  
Chen J, Wang X J, Zhu L J. Effect of pH on adsorption and transformation of arsenic in red soil in guizhou. *Soils*, 2004, 36 (2): 211-214
- [21] 史高玲, 周东美, 余向阳, 姜来清, 童非, 樊广萍, 刘丽珠, 高岩. 水稻和小麦累积镉和砷的机制与阻控对策. *江苏农业学报*, 2021, 37 (5): 1333-1343  
Shi G L, Zhou D M, Yu X Y, Lou L Q, Tong F, Fan G P, Liu L Z, Gao Y. Mechanisms of cadmium and arsenic accumulation in rice and wheat and related mitigation strategies. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 37 (5): 1333-1343
- [22] Duan G, Shao G, Tang Z, Chen H, Wang B, Tang Z, Yang Y, Liu Y, Zhao F J. Genotypic and environmental variations in grain cadmium and arsenic concentrations among a panel of high yielding rice cultivars. *Rice*, 2017, 10 (1): 9
- [23] Sasaki A, Yamaji N, Yokosho K, Ma J F. Nramp5 is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice. *The Plant Cell*, 2012, 24 (5): 2155-2167
- [24] Chang J D, Huang S, Konishi N, Wang P, Chen J, Huang X Y, Ma J F, Zhao F J. Overexpression of the manganese/cadmium transporter *OsNRAMP5* reduces cadmium accumulation in rice grain. *Journal of Experimental Botany*, 2020, 71 (18): 5705-5715
- [25] Chang J D, Huang S, Yamaji N, Zhang W, Ma J F, Zhao F J. *OsNRAMP1* transporter contributes to cadmium and manganese uptake in rice. *Plant, Cell & Environment*, 2020, 43 (10): 2476-2491



- [26] Nakanishi H, Ogawa I, Ishimaru Y, Mori S, Nishizawa N K. Iron deficiency enhances cadmium uptake and translocation mediated by the  $\text{Fe}^{2+}$  transporters OsIRT1 and OsIRT2 in rice (Plant Nutrition). *Soil Science & Plant Nutrition*, 2006, 52 (4): 464-469
- [27] Ishimaru Y, Suzuki M, Tsukamoto T, Suzuki K, Nakazono M, Kobayashi T, Wada Y, Watanabe S, Matsushashi S, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa N K. Rice plants take up iron as an  $\text{Fe}^{3+}$ -phytosiderophore and as  $\text{Fe}^{2+}$ . *The Plant Journal*, 2006, 45 (3): 335-346
- [28] Yan H, Xu W, Xie J, Gao Y, Wu L, Sun L, Feng L, Chen X, Zhang T, Dai C, Li T, Lin X, Zhang Z, Wang X, Li F, Zhu X, Li J, Li Z, Chen C, Ma M, Zhang H, He Z. Variation of a major facilitator superfamily gene contributes to differential cadmium accumulation between rice subspecies. *Nature Communications*, 2019, 10 (1): 2562
- [29] Tan L, Qu M, Zhu Y, Peng C, Wang J, Gao D, Chen C. *ZINC TRANSPORTER5* and *ZINC TRANSPORTER9* function synergistically in zinc/cadmium uptake. *Plant Physiology*, 2020, 183 (3): 1235-1249
- [30] Ma J F, Yamaji N, Mitani N, Xu X Y, Su Y H, McGrath S P, Zhao F J. Transporters of arsenite in rice and their role in arsenic accumulation in rice grain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105 (29): 9931-9935
- [31] Ma J F, Tamai K, Yamaji N, Mitani N, Konishi S, Katsuhara M, Ishiguro M, Murata Y, Yano M. A silicon transporter in rice. *Nature*, 2006, 440 (7084): 688-691
- [32] Ma J F, Yamaji N, Mitani N, Tamai K, Konishi S, Fujiwara T, Katsuhara M, Yano M. An efflux transporter of silicon in rice. *Nature*, 2007, 448 (7150): 209-212
- [33] Chen Y, Sun S K, Tang Z, Liu G, Moore K L, Maathuis F J M, Miller A J, McGrath S P, Zhao F J. The Nodulin 26-like intrinsic membrane protein OsNIP3; 2 is involved in arsenite uptake by lateral roots in rice. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68 (11): 3007-3016
- [34] Li R Y, Ago Y, Liu W J, Mitani N, Feldmann J, McGrath S P, Ma J F, Zhao F J. The rice aquaporin Lsi1 mediates uptake of methylated arsenic species. *Plant Physiology*, 2009, 150 (4): 2071-2080
- [35] Kamiya T, Islam R, Duan G, Uruguchi S, Fujiwara T. Phosphate deficiency signaling pathway is a target of arsenate and phosphate transporter OsPT1 is involved in As accumulation in shoots of rice. *Soil Science & Plant Nutrition*, 2013, 59 (4): 580-590
- [36] Cao Y, Sun D, Ai H, Mei H, Liu X, Sun S, Xu G, Liu Y, Chen Y, Ma L Q. Knocking out *OsPT4* gene decreases arsenate uptake by rice plants and inorganic arsenic accumulation in rice grains. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51 (21): 12131-12138
- [37] Wang P, Zhang W, Mao C, Xu G, Zhao F J. The role of OsPT8 in arsenate uptake and varietal difference in arsenate tolerance in rice. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67 (21): 6051-6059
- [38] Ueno D, Yamaji N, Kono I, Huang C F, Ando T, Yano M, Ma J F. Gene limiting cadmium accumulation in rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107 (38): 16500-16505
- [39] Yang G, Fu S, Huang J, Li L, Long Y, Wei Q, Wang Z, Chen Z, Xia J. The tonoplast-localized transporter OsABCC9 is involved in cadmium tolerance and accumulation in rice. *Plant Science*, 2021, 307: 110894
- [40] Yamaji N, Xia J, Mitani-Ueno N, Yokosho K, Feng Ma J. Preferential delivery of zinc to developing tissues in rice is mediated by P-type heavy metal ATPase OsHMA2. *Plant Physiology*, 2013, 162 (2): 927-939
- [41] Tan L, Zhu Y, Fan T, Peng C, Wang J, Sun L, Chen C. *OsZIP7* functions in xylem loading in roots and inter-vascular transfer in nodes to deliver Zn/Cd to grain in rice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, 512 (1): 112-118
- [42] Tang L, Dong J, Tan L, Ji Z, Li Y, Sun Y, Chen C, Lv Q, Mao B, Hu Y, Zhao B. Overexpression of *OsLCT2*, a low-affinity cation transporter gene, reduces cadmium accumulation in shoots and grains of rice. *Rice*, 2021, 14 (1): 89
- [43] Luo J S, Huang J, Zeng D L, Peng J S, Zhang G B, Ma H L, Guan Y, Yi H Y, Fu Y L, Han B, Lin H X, Qian Q, Gong J M. A defensin-like protein drives cadmium efflux and allocation in rice. *Nature Communications*, 2018, 9 (1): 645
- [44] Luo J S, Xiao Y, Yao J, Wu Z, Yang Y, Ismail A M, Zhang Z. Overexpression of a defensin-like gene *CAL2* enhances cadmium accumulation in plants. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 217
- [45] Tang Z, Chen Y, Miller A J, Zhao F J. The C-type ATP-binding cassette transporter OsABCC7 is involved in the root-to-shoot translocation of arsenic in rice. *Plant & Cell Physiology*, 2019, 60 (7): 1525-1535
- [46] Uruguchi S, Kamiya T, Sakamoto T, Kasai K, Sato Y, Nagamura Y, Yoshida A, Kozuka J, Ishikawa S, Fujiwara T. Low-affinity cation transporter (OsLCT1) regulates cadmium transport into rice grains. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108 (52): 20959-20964
- [47] Hao X, Zeng M, Wang J, Zeng Z, Dai J, Xie Z, Yang Y, Tian L, Chen L, Li D. A node-expressed transporter OsCCX2 is involved in grain cadmium accumulation of rice. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 476
- [48] Chen Y, Moore K L, Miller A J, McGrath S P, Ma J F, Zhao F J. The role of nodes in arsenic storage and distribution in rice. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66 (13): 3717-3724
- [49] Song W Y, Yamaki T, Yamaji N, Ko D, Jung K H, Fujii-Kashino M, An G, Martinoia E, Lee Y, Ma J F. A rice ABC transporter, OsABCC1, reduces arsenic accumulation in the grain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the*

- United States of America, 2014, 111 (44): 15699-15704
- [50] Tang Z, Chen Y, Chen F, Ji Y, Zhao F J. OsPTR7 (OsNPF8.1), a putative peptide transporter in rice, is involved in dimethylarsenate accumulation in rice grain. *Plant & Cell Physiology*, 2017, 58 (5): 904-913
- [51] Fu S, Lu Y, Zhang X, Yang G, Chao D, Wang Z, Shi M, Chen J, Chao D Y, Li R, Ma J F, Xia J. The ABC transporter ABCG36 is required for cadmium tolerance in rice. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 70 (20): 5909-5918
- [52] Zhao F J, Ago Y, Mitani N, Li R Y, Su Y H, Yamaji N, McGrath S P, Ma J F. The role of the rice aquaporin Lsi1 in arsenite efflux from roots. *The New Phytologist*, 2010, 186 (2): 392-399
- [53] Shi S, Wang T, Chen Z, Tang Z, Wu Z, Salt D E, Chao D Y, Zhao F J. OsHAC1; 1 and OsHAC1; 2 function as arsenate reductases and regulate arsenic accumulation. *Plant Physiology*, 2016, 172 (3): 1708-1719
- [54] Xu J, Shi S, Wang L, Tang Z, Lv T, Zhu X, Ding X, Wang Y, Zhao F J, Wu Z. OsHAC4 is critical for arsenate tolerance and regulates arsenic accumulation in rice. *The New Phytologist*, 2017, 215 (3): 1090-1101
- [55] Pal R, Rai J P. Phytochelatins: Peptides involved in heavy metal detoxification. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2010, 160 (3): 945-963
- [56] Uruguchi S, Tanaka N, Hofmann C, Abiko K, Ohkama-Ohtsu N, Weber M, Kamiya T, Sone Y, Nakamura R, Takanezawa Y, Kiyono M, Fujiwara T, Clemens S. Phytochelatin synthase has contrasting effects on cadmium and arsenic accumulation in rice grains. *Plant & Cell Physiology*, 2017, 58 (10): 1730-1742
- [57] Hayashi S, Kuramata M, Abe T, Takagi H, Ozawa K, Ishikawa S. Phytochelatin synthase OsPCS1 plays a crucial role in reducing arsenic levels in rice grains. *The Plant Journal*, 2017, 91 (5): 840-848
- [58] Chen J, Huang X Y, Salt D E, Zhao F J. Mutation in *OsCADT1* enhances cadmium tolerance and enriches selenium in rice grain. *New Phytologist*, 2020, 226 (3): 838-850
- [59] Sun S K, Xu X, Tang Z, Tang Z, Huang X Y, Wirtz M, Hell R, Zhao F J. A molecular switch in sulfur metabolism to reduce arsenic and enrich selenium in rice grain. *Nature Communications*, 2021, 12 (1): 1392
- [60] Lu C, Zhang L, Tang Z, Huang X Y, Ma J F, Zhao F J. Producing cadmium-free *Indica* rice by overexpressing *OsHMA3*. *Environment International*, 2019, 126: 619-626
- [61] Lv Q, Li W, Sun Z, Ouyang N, Jing X, He Q, Wu J, Zheng J, Zheng J, Tang S, Zhu R, Tian Y, Duan M, Tan Y, Yu D, Sheng X, Sun X, Jia G, Gao H, Zeng Q, Li Y, Tang L, Xu Q, Zhao B, Huang Z, Lu H, Li N, Zhao J, Zhu L, Li D, Yuan L, Yuan D. Resequencing of 1,143 *Indica* rice accessions reveals important genetic variations and different heterosis patterns. *Nature Communications*, 2020, 11 (1): 4778
- [62] 王天抗, 李懿星, 宋书锋, 傅岳峰, 余应弘, 柏连阳, 李莉. 水稻籽粒镉低积累资源挖掘及其新材料创制. *杂交水稻*, 2021, 36 (1): 68-74
- Wang T K, Li Y X, Song S F, Fu Y F, Yu Y H, Bai L Y, Li L. Excavation of rice resources with low cadmium accumulation in grains and development of new materials. *Hybrid Rice*, 2021, 36 (1): 68-74
- [63] Ishikawa S, Ishimaru Y, Igura M, Kuramata M, Abe T, Senoura T, Hase Y, Arao T, Nishizawa N K, Nakanishi H. Ion-beam irradiation, gene identification, and marker-assisted breeding in the development of low-cadmium rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109 (47): 19166-19171
- [64] Cao Z Z, Lin X Y, Yang Y J, Guan M Y, Xu P, Chen M X. Gene identification and transcriptome analysis of low cadmium accumulation rice mutant (*lcd1*) in response to cadmium stress using MutMap and RNA-seq. *BMC Plant Biology*, 2019, 19 (1): 250
- [65] 韶也, 彭彦, 毛毕刚, 余丽霞, 唐丽, 李曜魁, 胡远艺, 张丹, 袁智成, 罗武中, 彭选明, 李文建, 周利斌, 柏连阳, 赵炳然. M<sub>1</sub>TDS技术及镉低积累杂交水稻亲本创制与组合选育. *杂交水稻*, 2022, 37 (1): 1-11
- Shao Y, Peng Y, Mao B G, Yu L X, Tang L, Li Y K, Hu Y Y, Zhang D, Yuan Z C, Luo W Z, Peng X M, Li W J, Zhou L B, Bai L Y, Zhao B R. M<sub>1</sub>TDS technology and creation of low-cadmium accumulation parents for hybrid rice breeding. *Hybrid Rice*, 2022, 37 (1): 1-11
- [66] Tang L, Mao B, Li Y, Lv Q, Zhang L, Chen C, He H, Wang W, Zeng X, Shao Y, Pan Y, Hu Y, Peng Y, Fu X, Li H, Xia S, Zhao B. Knockout of *OsNramp5* using the CRISPR/Cas9 system produces low Cd-accumulating *indica* rice without compromising yield. *Scientific Reports*, 2017, 7 (1): 14438
- [67] Wang T, Li Y, Fu Y, Xie H, Song S, Qiu M, Wen J, Chen M, Chen G, Tian Y, Li C, Yuan D, Wang J, Li L. Mutation at different sites of metal transporter gene *OsNramp5* affects Cd accumulation and related agronomic traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 1081
- [68] Yang C H, Zhan G Y, Huang C F. Reduction in cadmium accumulation in *Japonica* rice grains by CRISPR/Cas9-mediated editing of *OsNRAMP5*. *Journal of Integrative Agriculture*, 2019, 18 (3): 688-697
- [69] 龙起樟, 黄永兰, 唐秀英, 王会民, 芦明, 袁林峰, 万建林. 利用CRISPR/Cas9敲除 *OsNramp5* 基因创制低镉籼稻. *中国水稻科学*, 2019, 33 (5): 407-420
- Long Q Z, Huang Y L, Tang X Y, Wang H M, Lu M, Yuan L F, Wan J L. Creation of low-cd-accumulating *Indica* rice by disruption of *OSNRAMP5* gene via CRISPR/Cas9. *Chinese Journal of Rice Science*, 2019, 33 (5): 407-420
- [70] 董家瑜, 吴天昊, 孙远涛, 何含杰, 李曜魁, 彭彦, 冀中英, 孟前程, 赵炳然, 唐丽. 不同锰浓度环境下 *OsNRAMP5* 突变对水稻耐热性和主要经济性状的影响. *杂交水稻*, 2021, 36 (2): 79-88
- Dong J Y, Wu T H, Sun Y T, He H J, Li Y K, Peng Y, Ji Z Y, Meng Q C, Zhao B R, Tang L. Effects of *OsNRAMP5*

- mutation on heat tolerance and main economic traits of rice under the conditions of different manganese concentration. *Hybrid Rice*, 2021, 36 (2): 79-88
- [71] Liu C L, Gao Z Y, Shang L G, Yang C H, Ruan B P, Zeng D L, Guo L B, Zhao F J, Huang C F, Qian Q. Natural variation in the promoter of *OsHMA3* contributes to differential grain cadmium accumulation between *Indica* and *Japonica* rice. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2020, 62 (3): 314-329
- [72] Wang K, Yan T Z, Xu S L, Yan X, Zhou Q F, Zhao X H, Li Y F, Wu Z X, Qin P, Fu C J, Fu J, Zhou Y B, Yang Y Z. Validating a segment on chromosome 7 of *Japonica* for establishing low-cadmium accumulating indica rice variety. *Scientific Reports*, 2021, 11 (1): 6053
- [73] Sun S K, Chen Y, Che J, Konishi N, Tang Z, Miller A J, Ma J F, Zhao F J. Decreasing arsenic accumulation in rice by overexpressing *OsNIP1;1* and *OsNIP3;3* through disrupting arsenite radial transport in roots. *The New Phytologist*, 2018, 219 (2): 641-653
- [74] Deng F, Yamaji N, Ma J F, Lee S K, Jeon J S, Martinoia E, Lee Y, Song W Y. Engineering rice with lower grain arsenic. *Plant Biotechnology Journal*, 2018, 16 (10): 1691-1699
- [75] Huang B Y, Zhao F J, Wang P. The relative contributions of root uptake and remobilization to the loading of Cd and As into rice grains: Implications in simultaneously controlling grain Cd and As accumulation using a segmented water management strategy. *Environmental Pollution*, 2022, 293: 118497
- [76] Jiang Y, Zhou H, Gu J F, Zeng P, Liao B H, Xie Y H, Ji X H. Combined amendment improves soil health and brown rice quality in paddy soils moderately and highly Co-contaminated with Cd and As. *Environmental Pollution*, 2022, 295: 118590
- [77] Ishikawa S, Makino T, Ito M, Harada K, Nakada H, Nishida I, Nishimura M, Tokunaga T, Shirao K, Yoshizawa C, Matsuyama M, Abe T, Arao T. Low-cadmium rice (*Oryza sativa* L.) cultivar can simultaneously reduce arsenic and cadmium concentrations in rice grains. *Soil Science & Plant Nutrition*, 2016, 62(4):327-339