

JHM厦大郑海雷组：NMT发现龙葵根在铵态氮处理下排Cd²⁺排H⁺更强 为证明铵态氮比硝酸盐具有更强的Cd解毒能力提供证据

基本信息

主题：NMT发现龙葵根在铵态氮处理下排Cd²⁺排H⁺更强 为证明铵态氮比硝酸盐具有更强的Cd解毒能力提供证据

期刊：Journal of Hazardous Materials

影响因子：10.588

研究使用平台：NMT重金属研究创新平台

标题：Ammonium has stronger Cd detoxification ability than nitrate by reducing Cd influx and increasing Cd fixation in Solanum nigrum L.

作者：厦门大学郑海雷、张露丹

检测离子/分子指标 Cd²⁺、H⁺ 检测样品

龙葵根（根冠、分生区、伸长区、成熟区、根毛区）、根原生质体

中文摘要

镉（Cd）是影响植物生长发育的有害重金属。氮（N）是植物必需的营养元素，适当的N管理可以提高Cd的耐性。本文研究的目的是探索不同形式的氮素对超积累植物龙葵（Solanum nigrum

）对Cd毒性的分子和生理响应的影响。本研究采用非损伤微测技术（NMT）

、Cd荧光染

色、生化方法和实时荧光

定量PCR技术，测定了生物量、光合参数和Cd²⁺

流速进行了测定。结果表明，铵态氮（NH₄⁺）比硝态氮（NO₃⁻

）具有更强的Cd解毒能力，

这可能与以下三个原因有关：（1）NH₄⁺

通过调控Cd转运相关基因的转录，减少Cd²⁺的内流和积累；（2）NH₄⁺

的改善作用伴随着Cd在根细胞壁中的保留增加；（3）NH₄⁺上调了SnExp的表达。

离子/分子流实验处理方法

2 mM KNO₃或1 mM (NH₄)₂SO₄+1 mM K₂SO₄培养14 d后

25 μM CdCl_2 处理幼苗30 min、24 h、5 d

50 μM CdCl_2 实时处理幼苗或者预处理40 min

离子/分子流实验结果

为了探究 NH_4^+ 缓解龙葵Cd胁迫的机制，研究用NMT检测了根和根原生质体中的 Cd^{2+} 净流速（图1）。结果表明， Cd^{2+} 内流在距离根尖大于2 mm的位置相对稳定，范围为5-10 $\text{pmol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ 。 Cd^{2+} 的内流集中在分生区，其次是伸长区和成熟区；此外，在根毛中 Cd^{2+} 流速较弱，而在根冠没有发现 Cd^{2+} 流。 NH_4^+ 处理的根部分生区 Cd^{2+} 内流速率显著低于 NO_3^- 处理；在伸长区， NH_4^+ 和 NO_3^- 处理之间的 Cd^{2+} 内流无显著差异。在Cd处理24 h和5 d后， NH_4^+ 处理后的根伸长区 Cd^{2+} 内流速率显著低于 NO_3^- 处理。为了评估细胞壁对 Cd^{2+} 流速的影响，作者从根中提取了原生质体。结果表明， NH_4^+ 处理的原生质体 Cd^{2+} 内流速率比硝酸盐处理弱。此外，用50 μM CdCl_2 瞬时添加或40 min预处理，均可观察到 NH_4^+ 处理的植株根部分生区较低的 Cd^{2+} 内流（图2）。这些结果表明， NH_4^+ 减少了根分生区和伸长区 Cd^{2+} 净内流速率。

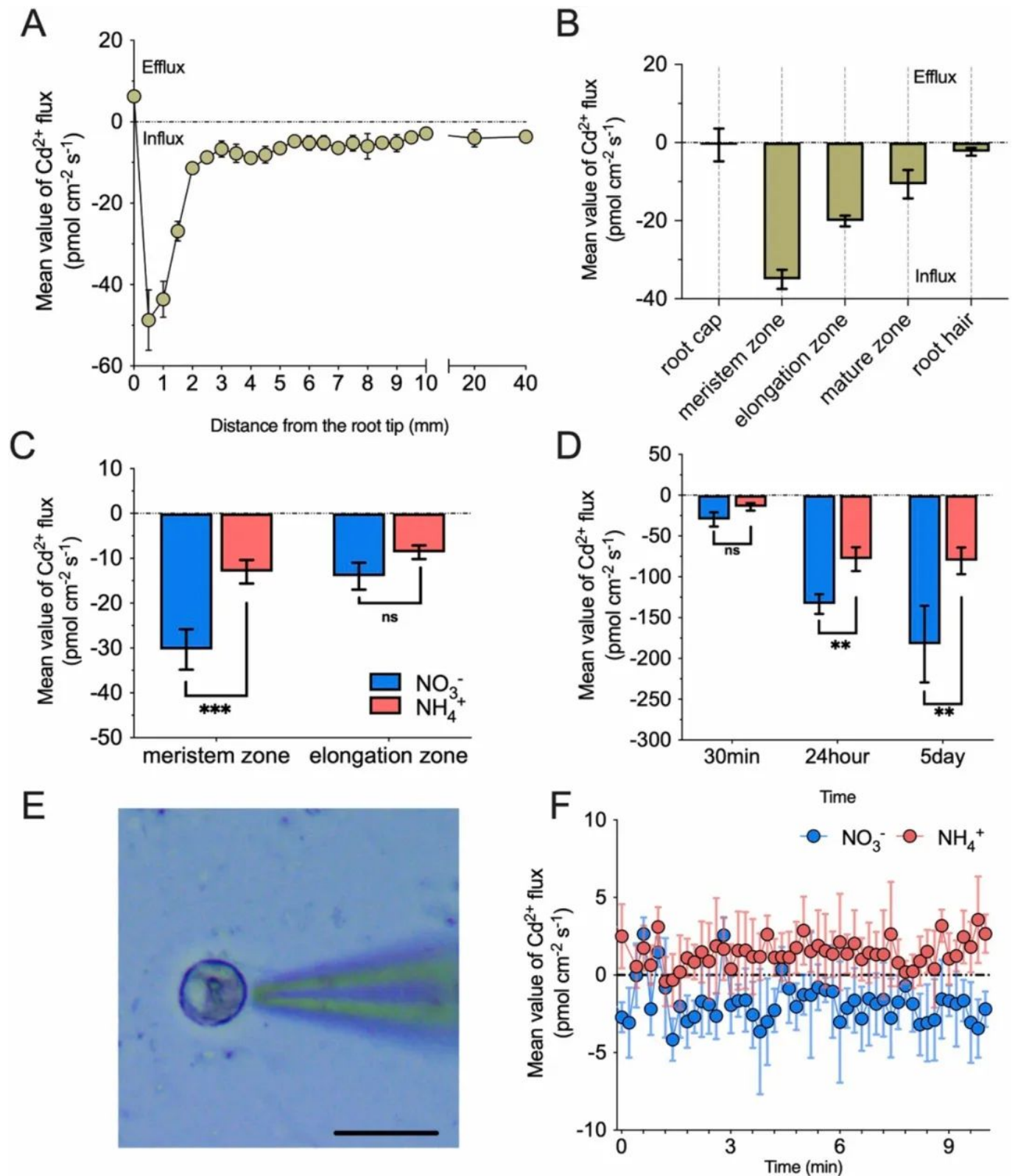


图1. 不同形式氮条件下, 25 μM CdCl_2 处理对龙葵根部和根部原生质体 Cd^{2+} 净流速的影响。正值代表离子外排, 负值表示离子吸收。

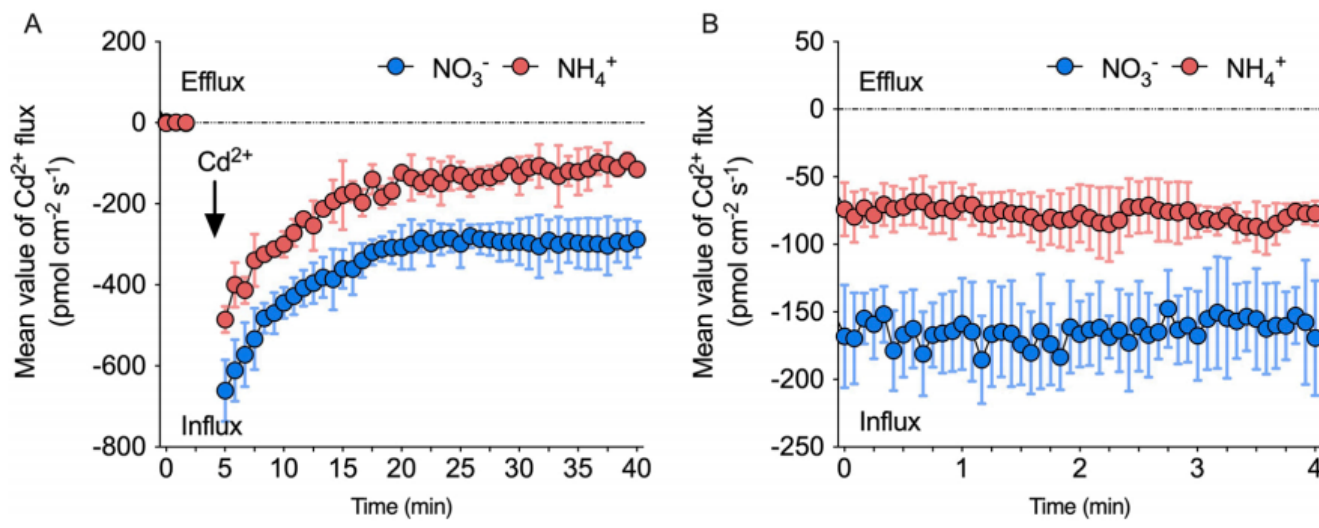


图2. 不同形式氮条件下，50 μM CdCl_2 处理对龙葵根部 Cd^{2+} 净流速的影响。正值代表离子外排，负值表示离子吸收。

为了进一步探究了Cd处理对龙葵根系中 H^+ 流速的影响，研究用NMT检测了根和根原生质体中的 H^+ 净流速（图3）。结果表明，在距根尖1 mm处， NH_4^+ 处理 H^+ 内流显著低于 NO_3^- 处理。净 H^+ 内流在分生区和伸长区最高，这与 Cd^{2+} 流量的模式相似。成熟区 H^+ 内流较弱，而在根毛或根冠未检测到 H^+ 内流。此外，25 μM CdCl_2 显著抑制了 H^+ 内流。 NH_4^+ 对根部 H^+ 的抑制作用显著高于 NO_3^- 处理。 NH_4^+ 处理中原生质体中的 H^+ 内流速率弱于 NO_3^- 处理。这些结果表明， NH_4^+ 减少了龙葵根分生区和伸长区的净 H^+ 内流。

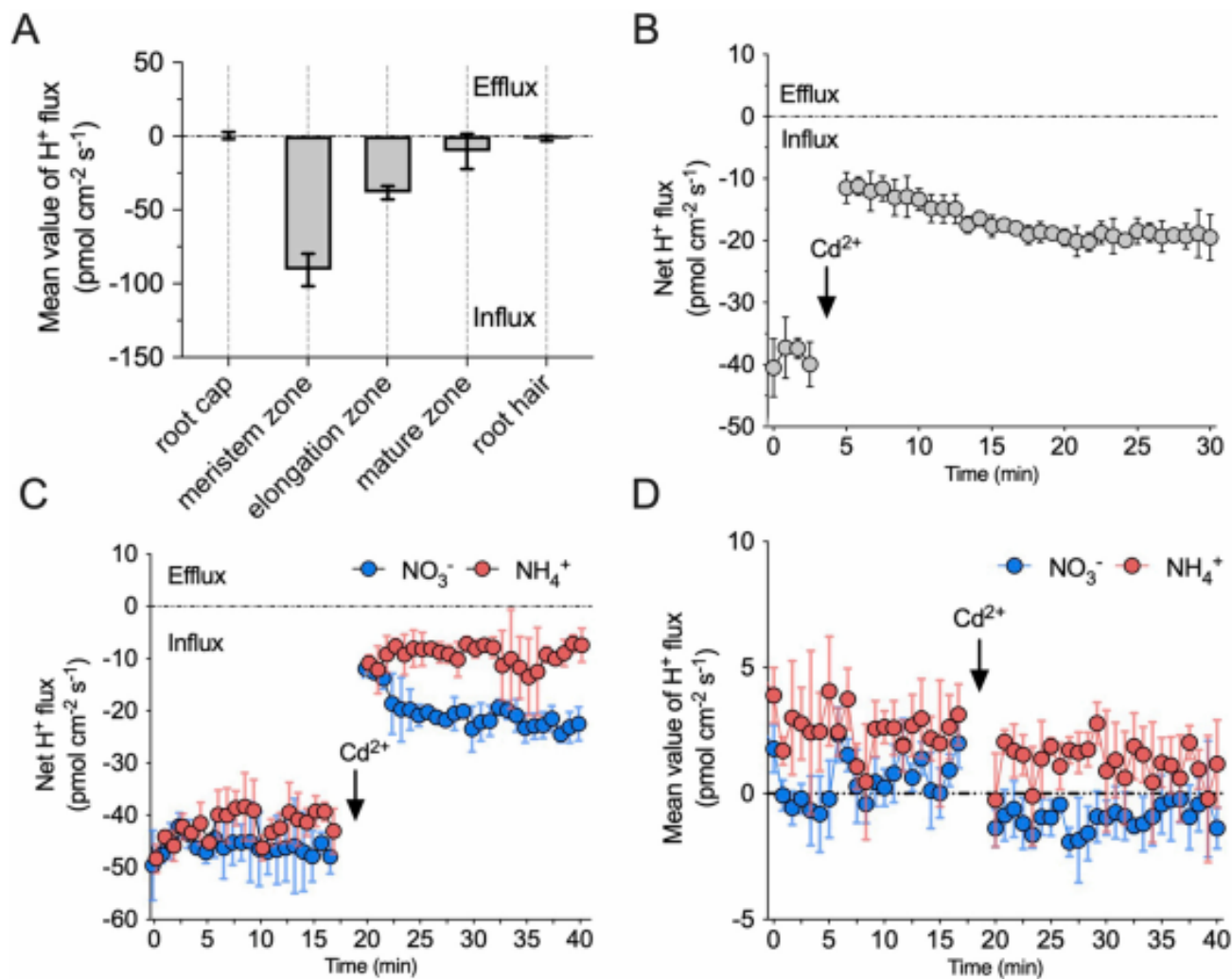


图3. 不同形式氮条件下， $25 \mu\text{M}$ CdCl_2 处理对龙葵根部和根部原生质体 H^+ 净流速的影响。正值代表离子外排，负值表示离子吸收。

其他实验结果

- 在Cd胁迫下植物在 NH_4^+ 营养比 NO_3^- 营养更好地保持生长和光合性能。 NO_3^- 处理的地上部分干重显著高于 NH_4^+ 处理，而两种不同形态氮处理的根干重无显著差异；在Cd胁迫下， NH_4^+ 处理的龙葵地上部分干重显著高于 NO_3^- 处理；在Cd胁迫下， NO_3^- 处理后幼苗叶片的An和Vc_{max}显著降低，而 NH_4^+ 处理后这些参数没有变化；此外，Cd胁迫导致 NO_3^- 处理中qP显著降低，qN显著增加；然而，在 NH_4^+ 处理中，-Cd和+Cd处理之间没有显著变化；这些结果表明，与 NO_3^- 相比， NH_4^+ 可以维持龙葵正常的光合能力。
- 相比 NO_3^- ， NH_4^+

更能降低龙葵根系对Cd的吸收。 NH_4^+ 处理的地上部分和根中的Cd含量低于 NO_3^- 处理；同样， NH_4^+ 处理的根细胞汁液中Cd浓度和 Cd^{2+} 的转运能力均低于 NO_3^- 处理；Cd特异性荧光探针显示， NH_4^+ 处理的根尖和根原生质体的荧光强度低于 NO_3^- 处理；这些结果表明， NH_4^+ 处理比 NO_3^- 处理具有更强的根系Cd解毒能力。

- 相比 NO_3^- ， NH_4^+ 更能减少根中 Cd^{2+} 的内流。
- 相比 NO_3^- ， NH_4^+ 更能减少根中 H^+ 的内流。
- 相比 NO_3^- ， NH_4^+ 更能增加根部细胞壁中Cd的固定。 NH_4^+ 处理的细胞壁Cd积累显著高于 NO_3^- 处理， NH_4^+ 处理的细胞壁中果胶和H C1（半纤维素组分1）的含量均高于 NO_3^- 处理；与细胞壁成分的变化一样， NH_4^+ 处理中HC1和果胶中的Cd积累远高于 NO_3^- 处理；这些结果表明，与 NO_3^- 相比， NH_4^+ 可以通过提高Cd在龙葵根部细胞壁的固定化来缓解Cd的毒性。
- 扩张蛋白和Cd转运相关基因在不同形式的氮条件下的表达水平。与 NO_3^- 处理相比， NH_4^+ 处理的根部SnExp表达上调；Cd胁迫导致 NO_3^- 处理地上部分SnExp转录水平显著增加；外源加入Cd后， NO_3^- 处理的SnIRT表达显著高于 NH_4^+ 处理； NO_3^- 处理下，Cd显著诱导了龙葵根和地上部分SnZRT的表达；此外， NH_4^+ 处理根和地上部分中SnHMA的表达量高于 NO_3^- 处理；在根部，添加Cd显著诱导了SnHMA的表达，而在 NO_3^- 和 NH_4^+ 处理，SnHMA的表达没有显著差异；Cd添加显著诱导 NO_3^- 处理植株SnHMA的表达，而抑制 NH_4^+ 处理植株SnHMA的表达；在根部， NH_4^+ 处理导致SnMTP表达高于 NO_3^- 处理；Cd添加后， NO_3^- 处理的根中SnMTP表达增加，而 NH_4^+ 处理后表达降低；此外，Cd处理对根和地上部分SnNramp表达没有显著影响；这些结果表明，与 NO_3^- 相比， NH_4^+ 降低了根部SnIRT和SnZRT的表达，以及地上部分SnZRT和SnHMA的表达，从而减轻了Cd的毒性。

结论

综上所述，通过光合和生物量测定的生理和分子分析，利用非损伤微测技术、镉荧光染色、生化方法和实时定量PCR，证明了铵根比硝酸根更能提高植株的Cd耐受性。铵根缓解Cd毒性可能归因于以下原因：（1）铵根通过降低Cd转运基因，根部SnIRT和SnZRT，地上部分SnZRT、SnHMA和SnMTP转录水平，从而降低Cd吸收和积累；（2）铵根对Cd积累的减少也伴随着根细胞壁中Cd与果胶和半纤维素组分1结合的增加；（3）上调SnExp表达有助于增强铵根条件下Cd耐受性（图4）因此，与硝酸根相比，铵根减轻了超积累诱导的龙葵生长迟缓和光合作用损伤。

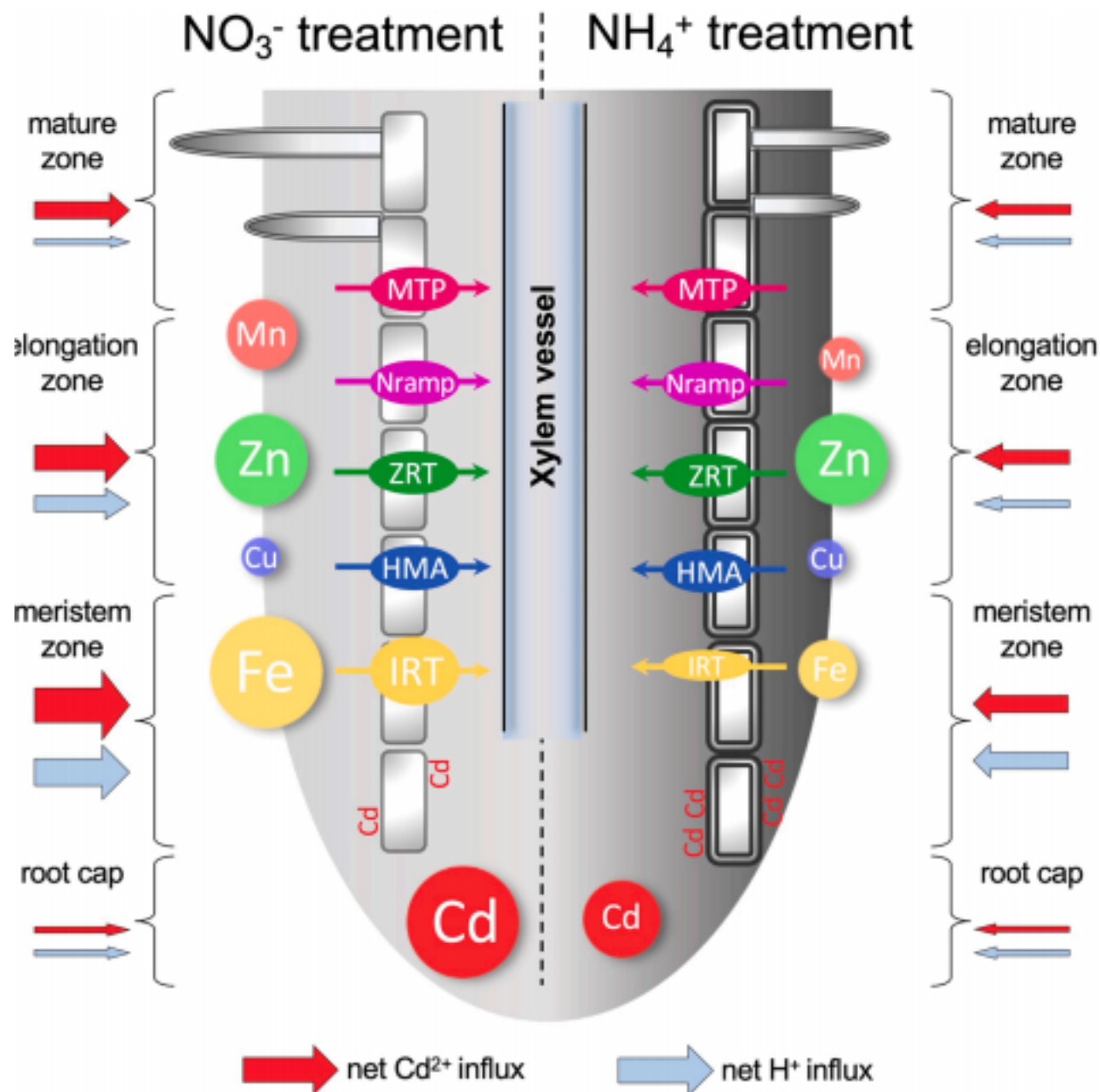


图1. 相比于硝酸根，铵根通过减少根中的Cd内流和增加细胞壁中的Cd固定，减轻超积累龙葵Cd毒性的机制示意图。

测试液

2 mM KNO_3 , 25 μM CdCl_2 , pH 5.8

1 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1 mM K_2SO_4 , 25 μM CdCl_2 , pH 5.8

2 mM KNO_3 , 50 μM CdCl_2 , pH 5.8

1 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1 mM K_2SO_4 , 50 μM CdCl_2 , pH 5.8 文章原文：

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389421029162?via%3Dihub>

(唯一的)问答 ID: #1327

作者: xuyuenmt

更新时间: 2022-07-08 09:38