

重金属胁迫

一、摘要

1、表型研究

- 1) 定量检测根、叶、藻、生物膜、细菌、真菌等活样，对环境中 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cu}^{2+}/\text{Pb}^{2+}$ 的实时吸收速率
- 2) 定量检测 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cu}^{2+}/\text{Pb}^{2+}$ 在活体植物体内的转运速率，包括根木质部装载、茎木质部导管运输、叶肉吸收、液泡区隔等过程
- 3) 定量测定重金属存在的条件下，动植物组织、细胞对 Mg^{2+} 、 K^{+} 、 Ca^{2+} 等元素吸收速率的变化，研究重金属导致的元素失衡过程
- 4) 定量测定活体样品内外部不同位置的 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cu}^{2+}/\text{Pb}^{2+}$ 浓度

2、机制

1) Ca^{2+} 信号

以 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cu}^{2+}/\text{Pb}^{2+}$ 吸收转运速率作为落脚点，从 Ca^{2+} 信号促 ROS 产生、ROS 调节质膜 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cu}^{2+}/\text{Pb}^{2+}$ 转运载体，辅以 Ca^{2+} 通道抑制剂、RBOH 抑制剂、ROS 清除剂等，验证 Ca^{2+} 如何参与调控重金属吸收转运，验证 Nramp、HMA、IRT、ZIP、Ctr、Fet4 等功能

2) 泌 H^{+} 调节根际 pH

定量检测重金属胁迫下根部实时泌 H^{+} 速率及根表 pH，表征植物在重金属下通过促进养分吸收及排出重金属离子应对胁迫的能力

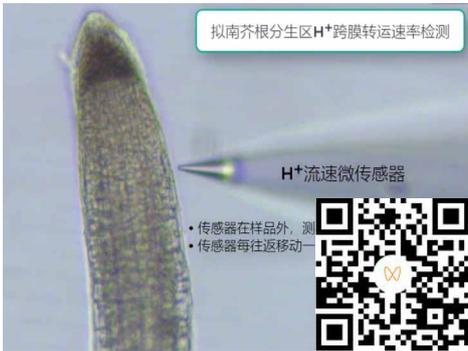
3) 吸 / 泌 O_2 调节根际氧化还原电位

扫码查看重金属文献专辑

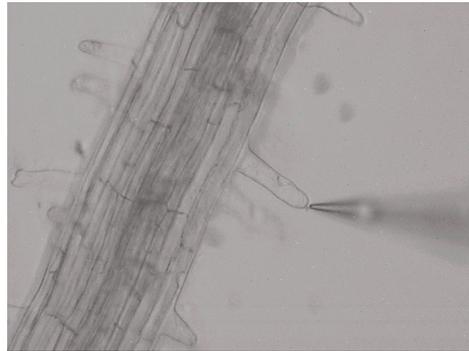


样品检测视频

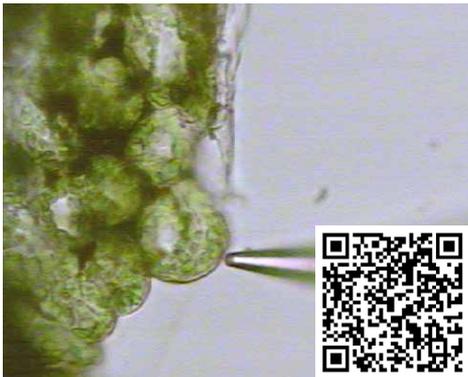
根



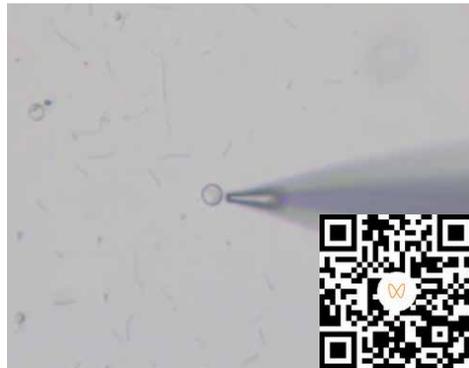
根毛



叶肉



原生质体 / 液泡



应用报告视频



拒重金属的能力 / 吸收重金属离子的速率检测

经典案例

Plant Physiol 南农: NMT 主导钙依赖的活性氧信号介导富氮水促根系拒镉的研究



扫码查看本文详细报道

J Adv Res 浙大邬飞波: 非损伤微测技术发现 NAT2 促大麦吸 Cd 为 NAT 作为潜在重金属生物修复基因提供证据



扫码查看本文详细报道

Environ Pollut: 硅藻的 [Si 依赖性 Cd/ Cu/ Pb 耐受力] 的机制



扫码查看本文详细报道

推荐实验设备

NMT 重金属阻控机制分析仪 (NMT300-HMP-YG/XY)

实验意义

检测重金属胁迫下, 根实时吸收重金属离子的速率。

检测指标

Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+}

样品培养及处理

苗龄

苗龄无强制要求。该实验使用苗期样品较多, 常见样品苗龄参考:

拟南芥: 1~4 周

水稻: 1~5 周

烟草: 1~3 周

杨树: 4~7 周

培养方式

水培、琼脂培养基、土培、沙培均可, 推荐使用水培和琼脂培养, 其次是沙培和基质较松散的土培。

实验处理

重金属处理 24 小时。重金属浓度可与您该课题组的其它实验胁迫浓度保持一致。如处理浓度 $Cd < 5\mu M$ 、 $Pb < 5\mu M$ 、 $Cu < 50\mu M$, 则分别将处理浓度提升至 $5\mu M$ 、 $5\mu M$ 、 $50\mu M$ 。因处理时长较短, 建议在此基础上, 适当调高胁迫浓度。

样品选取

1. 植株选取

选取状态良好且外观形态在组内占主流的植株。

2. 根选取

1) 主根或侧根均可, 同一研究需保持一致, 即都是主根或都是侧根。

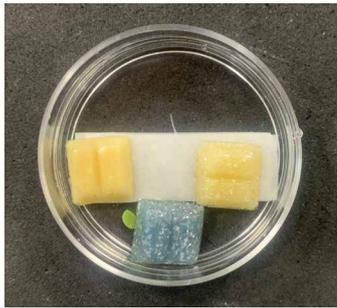
2) 同一组内, 根长、根直径、根颜色尽量一致。

3) 优先新生根或嫩根。

检测流程

前处理

1. 将重金属处理后的样品取出，使用滤纸条和样品固定专用树脂块将样品的一条根，按压固定在培养皿底部。体积较小样品，可整株置于培养皿中；如体积较大，剪取目标根并固定好。



根样品固定

2. 加入测试液浸没根，静置 30min，不同规格的培养皿对应加入测试液体积：

35/60/90 mm 培养皿，分别对应 4/10/40 mL 测试液。

样品前处理视频



扫码查看视频

检测过程

1. 检测位点：根成熟区。距离根尖顶点 5000 μ m 的位置

2. 检测时长：5-10 分钟

3. 重复数：n \geq 8，即每组检测不少于 8 条根。如同一株样品有多条根符合检测要求，可在同一株上取不止 1 条根，一组内使用的植株数不可少于 3 株。

耗材清单



扫码查看购买耗材



扫码查看实验溶液

检测参数

1. 物镜倍数：4 倍（根直径 \geq 200 μ m）；10 倍（根直径 $<$ 200 μ m）

2. 采样规则：X-30

3. 传感器 — 样品表面距离：5 μ m

参考文献

1. 许越. 非损伤微测技术 —2022[J].NMT 通讯, 2023(01):3-9.DOI:10.5281/zenodo.8227586.

2.Li L, Mao D, Sun L, et al. CF1 reduces grain-Cd levels in rice (*Oryza sativa*). *Plant J.* 2022 Jun;110(5):1305-1318. doi: 10.1111/tpj.15736.

3.Liu S, Ji X, Chen Z, et al. Silicon facilitated the physical barrier and adsorption of cadmium of iron plaque by changing the biochemical composition to reduce cadmium absorption of rice roots. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2023 May;256:114879. doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.114879.

4.Li L, Yu S, Peijnenburg W J G M, et al. Determining the fluxes of ions (Pb^{2+} , Cu^{2+} , and Cd^{2+}) at the root surface of wetland plants using the scanning ion-selective electrode technique[J]. *Plant and Soil*, 2016, 414(1-2):1-12. doi: 10.1007/s11104-016-3109-5

根泌酸阻隔重金属吸收的能力检测

经典案例

J Hazard Mater 云南大学 赵之伟: 发现接种 AMF 抑制 Cd 胁迫下滇杨根的泌 H⁺ 吸 Cd 为揭示 AMF 增强滇杨对矿区环境适应性机制提供证据



扫码查看本文详细报道

J Hazard Mater 厦门大学 郑海雷: 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



扫码查看本文详细报道

推荐实验设备

NMT 重金属阻控机制分析仪 (NMT300-HMP-YG/XY)

实验意义

探究耐重金属材料吸收更少的重金属, 是否与耐性材料分泌更多的酸, 与根际重金属发生沉淀、络合等作用, 从而降低根际重金属的生物有效性及吸收转运效率有关。

检测指标

H⁺

样品培养及处理

苗龄

苗龄无强制要求。该实验使用苗期样品较多, 常见样品苗龄参考:

拟南芥: 1~4 周

水稻: 1~5 周

烟草: 1~3 周

杨树: 4~7 周

培养方式

水培、琼脂培养基、土培、沙培均可, 推荐使用水培和琼脂培养, 其次是沙培和基质较疏松的土培。

实验处理

Cd ≥ 5μM/ Pb ≥ 5μM/ Cu ≥ 50μM 处理 24 小时。根据研究内容选择相应的重金属浓度进行处理。

样品选取

1. 植株选取

选取状态良好且外观形态在组内占主流的植株。

2. 根选取

1) 主根或侧根均可, 同一研究需保持一致, 即都是主根或都是侧根。

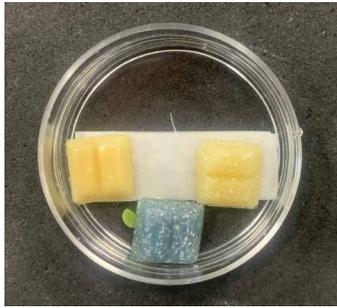
2) 同一组内, 根长、根直径、根颜色尽量一致

3) 优先新生根或嫩根。

检测流程

前处理

1. 将重金属处理后的样品取出, 使用滤纸条和样品固定专用树脂块将样品的一条根, 按压固定在培养皿底部。体积较小样品, 可整株置于培养皿中; 如体积较大, 剪取目标根并固定好。



根样品固定

2. 加入测试液浸没根，静置 30min，不同规格的培养皿对应加入测试液体积：
35/60/90 mm 培养皿，分别对应 4/10/40 mL 测试液。

样品前处理视频



扫码查看视频

检测过程

1. 检测位点：根成熟区。距离根尖顶点 5000 μm 的位置
2. 检测时长：5-10 分钟
3. 重复数：n \geq 8，即每组检测不少于 8 条根。如同一株样品有多条根符合检测要求，可在同一株上取不止 1 条根，一组内使用的植株数不可少于 3 株。

耗材清单



扫码查看购买耗材



扫码查看实验溶液

检测参数

1. 物镜倍数：4 倍（根直径 \geq 200 μm ）；10 倍（根直径 $<$ 200 μm ）
2. 采样规则：X-30
3. 传感器 — 样品表面距离：5 μm

参考文献

1. 许越. 非损伤微测技术 —2022[J].NMT 通讯,2023(01):3-9.DOI:10.5281/zenodo.8227586.
2. Liu D, Zheng K, Wang Y, et al. Harnessing an arbuscular mycorrhizal fungus to improve the adaptability of a facultative metallophytic poplar (*Populus yunnanensis*) to cadmium stress: Physiological and molecular responses. *J Hazard Mater.* 2021 Oct 12;424(Pt B):127430. doi:10.1016/j.jhazmat.2021.127430.
3. Zhang L, Liu X, Wei M, et al. Ammonium has stronger Cd detoxification ability than nitrate by reducing Cd influx and increasing Cd fixation in *Solanum nigrum* L. *J Hazard Mater.* 2021 Dec 1;425:127947. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.127947.

活性氧检测

经典案例

Plant Physiol 南农: NMT 主导钙依赖的活性氧信号介导富氢水促根系拒镉的研究



扫码查看本文详细报道

推荐实验设备

NMT 重金属阻控机制分析仪 (NMT300-HMP-YG/XY)

实验意义

检测重金属胁迫下, 根部 H_2O_2 的转运速率。

检测指标

H_2O_2

样品培养及处理

苗龄

苗龄无强制要求。该实验使用苗期样品较多, 常见样品苗龄参考:

拟南芥: 1~4 周

水稻: 1~5 周

烟草: 1~3 周

杨树: 4~7 周

培养方式

水培、琼脂培养基、土培、沙培均可, 推荐使用水培和琼脂培养, 其次是沙培和基质较松散的土培。

实验处理

$Cd \geq 5\mu M$ / $Pb \geq 5\mu M$ / $Cu \geq 50\mu M$ 处理 24 小时。根据研究内容选择相应的重金属浓度进行处理。

样品选取

1. 植株选取

选取状态良好且外观形态在组内占主流的植株。

2. 根选取

1) 主根或侧根均可, 同一研究需保持一致, 即都是主根或都是侧根。

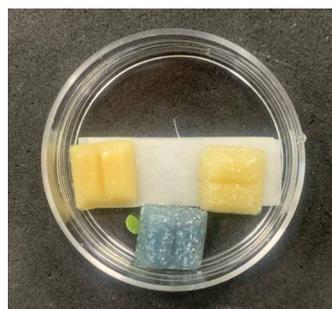
2) 同一组内, 根长、根直径、根颜色尽量一致。

3) 优先新生根或嫩根。

检测流程

前处理

1. 将重金属处理后的样品取出, 使用滤纸条和样品固定专用树脂块将样品的一条根, 按压固定在培养皿底部。体积较小样品, 可整株置于培养皿中; 如体积较大, 剪取目标根并固定好。



根样品固定

2. 加入测试液浸没根, 静置 30min, 不同规格的培养皿对应加入测试液体积:

35/60/90 mm 培养皿, 分别对应 4/10/40 mL 测试液。

样品前处理视频



扫码查看视频

检测过程

1. 检测位点：根伸长区。距离根尖顶点 $4d$ 的位置， d = 根直径
2. 检测时长：5-10 分钟
3. 重复数： $n \geq 8$ ，即每组检测不少于 8 条根。如同一株样品有多条根符合检测要求，可在同一株上取不止 1 条根，一组内使用的植株数不可少于 3 株。

耗材清单



扫码查看购买耗材



扫码查看实验溶液

检测参数

1. 物镜倍数：4 倍（根直径 $\geq 200\mu\text{m}$ ）；10 倍（根直径 $< 200\mu\text{m}$ ）
2. 采样规则：X-30
3. 传感器——样品表面距离： $5\mu\text{m}$

参考文献

1. 许越. 非损伤微测技术 —2022[J].NMT 通讯, 2023(01):3-9. DOI:10.5281/zenodo.8227586.
2. Wu Q, Huang L, Su N, et al. Calcium-Dependent Hydrogen Peroxide Mediates Hydrogen-Rich Water-Reduced Cadmium Uptake in Plant Roots. *Plant Physiol.* 2020 Jul;183(3):1331-1344. DOI: 10.1104/pp.20.00377.
3. Zhang Y, Sa G, Zhang Y, et al. Paxillus involutus-Facilitated Cd^{2+} Influx through Plasma Membrane Ca^{2+} -Permeable Channels Is Stimulated by H_2O_2 and H^+ -ATPase in Ectomycorrhizal *Populus × canescens* under Cadmium Stress, *Frontiers in Plant Science*, 2017, 7:1975. doi: 10.3389/fpls.2016.01975.

液泡区隔重金属离子的能力 / 液泡吸重金属离子的速率检测

经典案例

Plant Physiol Bioch 北京林业大学 陈少良: H_2S 通过调节胡杨细胞膜和液泡膜的 Cd^{2+} 转运来缓解 Cd^{2+} 毒害



扫码查看本文详细报道

推荐实验设备

NMT 重金属阻控机制分析仪 (NMT300-HMP-YG/XY)

实验意义

探究耐重金属材料的耐性机制, 是否与重金属胁迫下, 液泡区隔重金属离子能力强有关。液泡吸收重金属离子的速率越大, 代表液泡区隔能力越强。该研究主要以研究茎、叶细胞的液泡为主。

检测指标

Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+}

样品培养及处理

苗龄

苗龄无强制要求。该实验使用苗期样品较多, 常见样品苗龄参考:

拟南芥: 1~4 周

水稻: 1~5 周

烟草: 1~3 周

杨树: 4~7 周

培养方式

水培、琼脂培养基、土培、沙培均可, 推荐使用水培和琼脂培养, 其次是沙培和基质较松散的土培。

实验处理

重金属处理 24 小时。重金属浓度可与您该课题组的其它实验胁迫浓度保持一致。如处理浓度 $Cd < 5\mu M$ 、 $Pb < 5\mu M$ 、 $Cu < 50\mu M$, 则分别将处理浓度提升至 $5\mu M$ 、 $5\mu M$ 、 $50\mu M$ 。因处理时长较短, 建议在此基础上, 适当调高胁迫浓度。

样品选取

1. 植株选取

选取状态良好且外观形态在组内占主流的植株。

2. 根、叶片、茎选取

状态良好且外观较为一致。

检测流程

前处理

1. 在 35mm 培养皿中滴入一滴测试液, 使用镊子将固定样品玻片放置到培养皿中, 并压一下玻片使其贴在皿底。

2. 吸取 100 μL 液泡悬液, 滴入到 35mm 培养皿中的固定样品玻片中心处, 静置 10 分钟。

3. 向培养皿中缓慢加入 4mL 测试液, 再吸出弃去。

4. 再次缓慢加入 4mL 测试液, 静置 10min。

样品前处理视频



扫码查看视频

检测过程

1. 检测位点：液泡表面
2. 检测时长：5-10 分钟
3. 重复数：n≥8，即每组检测不少于 8 个液泡。如同一培养皿中有多个液泡符合检测要求，可在同一培养皿中上检测不止 1 个液泡。

耗材清单



扫码查看购买耗材



扫码查看实验溶液

检测参数

1. 物镜倍数：20 倍
2. 采样规则：X-10
3. 传感器 — 样品表面距离：2 μ m

参考文献

1. 许越. 非损伤微测技术 —2022[J].NMT 通讯,2023(01):3-9.DOI:10.5281/zenodo.8227586.
2. Sun J, Wang R, Zhang X, et al. Hydrogen sulfide alleviates cadmium toxicity through regulations of cadmium transport across the plasma and vacuolar membranes in *Populus euphratica* cells. *Plant Physiology and Biochemistry* 65(0): 67-74. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.01.003.
3. Liao Q, Jian S, Song H, et al. Balance between nitrogen use efficiency and cadmium tolerance in *Brassica napus* and *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci.* 2019 Jul;284:57-66. DOI: 10.1016/j.plantsci.2019.04.003.

木质部装载重金属离子能力检测

经典案例

Plant Cell Environ 中科院植物所 曲乐庆：发现 OsHIPP9 突变抑制水稻吸 Cu 为其在水稻根外皮层中螯合 Cu 参与 Cu 吸收提供证据



扫码查看本文详细报道

Ecotoxicol Environ Saf 东农周爱民、乔坤：NMT 发现低 Cd 耐受性黑麦草吸 Cd 更强具备土壤重金属修复潜力



扫码查看本文详细报道

推荐实验设备

NMT 重金属阻控机制分析仪 (NMT300-HMP-YG/XY)

实验意义

通过检测木质部组织细胞装载重金属离子的速率，探究重金属胁迫下，植物将根吸收的重金属离子，转运到地上部分的能力。木质部组织吸收重金属离子的速率越大，代表该材料往地上部分转运重金属离子的能力越强。

检测指标

Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+}

样品培养及处理

苗龄

苗龄无强制要求。该实验使用苗期样品较多，常见样品苗龄参考：

拟南芥：1~4 周

水稻：1~5 周

烟草：1~3 周

杨树：4~7 周

培养方式

水培、琼脂培养基、土培、沙培均可，推荐使用水培和琼脂培养，其次是沙培和基质较松散的土培。

实验处理

重金属处理 24 小时。重金属浓度可与您该课题组的其它实验胁迫浓度保持一致。如处理浓度 $Cd < 5\mu M$ 、 $Pb < 5\mu M$ 、 $Cu < 50\mu M$ ，则分别将处理浓度提升至 $5\mu M$ 、 $5\mu M$ 、 $50\mu M$ 。因处理时长较短，建议在此基础上，适当调高胁迫浓度。

样品选取

1. 植株选取

选取状态良好且外观形态在组内占主流的植株。

2. 根选取

1) 主根或侧根均可，同一研究需保持一致，即都是主根或都是侧根。

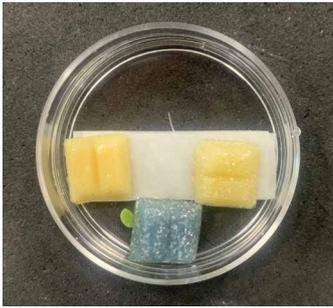
2) 同一组内，根长、根直径、根颜色尽量一致。

3) 优先新生根或嫩根。

检测流程

前处理

1. 将重金属处理后的样品取出，切开根 / 茎，暴露出木质部，使用滤纸条和样品固定专用树脂块将样品按压固定在培养皿底部。体积较小样品，可整株置于培养皿中；如体积较大，剪取目标根并固定好。



根样品固定

2. 加入测试液浸没根，静置 2 小时，不同规格的培养皿对应加入测试液体积：
35/60/90 mm 培养皿，分别对应 4/10/40 mL 测试液

样品前处理视频



扫码查看视频

检测过程

1. 检测位点：木质部。距离根 / 茎中心 100 μ m 的位置（具体位置可以根据切片结果确定）
2. 检测时长：5-10 分钟
3. 重复数：n \geq 8，即每组检测不少于 8 条根 / 茎。如同一株样品有多条根 / 茎符合检测要求，可在同一株上取不止 1 条根 / 茎，一组内使用的植株数不可少于 3 株。

耗材清单



扫码查看购买耗材



扫码查看实验溶液

检测参数

1. 物镜倍数：4 倍
2. 采样规则：X-30
3. 传感器 — 样品表面距离：5 μ m

参考文献

1. 许越. 非损伤微测技术 —2022[J].NMT 通讯 ,2023(01):3-9.DOI:10.5281/zenodo.8227586.
2. Hua L, Liang Z, Wei T, et al. Cadmium Tolerance Mechanism of Solanum nigrum Based on Subcellular Distribution and Organic Acid Content. Water Air Soil Pollut 233, 318 (2022). doi:10.1007/s11270-022-05803-6.
3. Xiong S, Kong X, Chen G, et al. Metallochaperone OsHIPP9 is involved in the retention of cadmium and copper in rice. Plant Cell Environ. 2023 Feb 27. doi: 10.1111/pce.14576.
4. Wang J, Zhao J, Feng S, et al. Comparison of cadmium uptake and transcriptional responses in roots reveal key transcripts from high and low-cadmium tolerance ryegrass cultivars[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 203:110961. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110961.

根 H^+ -ATPase 活性 / 排 H^+ 速率检测

经典案例

PCE 西北农林学者：NMT 发现外生菌根可促灰杨吸 Cd^{2+} 提升 Cd^{2+} 耐受能力



扫码查看本文详细报道

北大徐福留：非损伤对蕨类耐镉机制的研究



扫码查看本文详细报道

推荐实验设备

NMT 重金属阻控机制分析仪 (NMT300-HMP-YG/XY)

实验意义

探究耐重金属材料的耐性机制，是否与重金属胁迫下质膜 H^+ -ATPase 活性强有关。质膜 H^+ -ATPase 向细胞外、根外泌 H^+ ，形成 H^+ 电化学梯度，驱动次级转运体对各种营养物质、离子的转运。还可通过根泌 H^+ ，调节根际 pH，促进根生长。

检测指标

H^+

样品培养及处理

苗龄

苗龄无强制要求。该实验使用苗期样品较多，常见样品苗龄参考：

拟南芥：1~4 周

水稻：1~5 周

烟草：1~3 周

杨树：4~7 周

棉花：1~4 周

培养方式

水培、琼脂培养基、土培、沙培均可，推荐使用水培和琼脂培养，其次是沙培和基质较松散的土培。

实验处理

$Cd \geq 5\mu M$ / $Pb \geq 5\mu M$ / $Cu \geq 50\mu M$ 处理 24 小时。根据研究内容选择相应的重金属浓度进行处理。

样品选取

1. 植株选取

选取状态良好且外观形态在组内占主流的植株。

2. 根选取

1) 主根或侧根均可，同一研究需保持一致，即都是主根或都是侧根

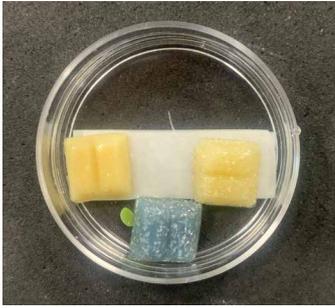
2) 同一组内，根长、根直径、根颜色尽量一致

3) 优先新生根或嫩根

检测流程

前处理

1. 将重金属处理后的样品取出，使用滤纸条和样品固定专用树脂块将样品的一条根，按压固定在培养皿底部。体积较小样品，可整株置于培养皿中；如体积较大，剪取目标根并固定好。



根样品固定

2. 加入测试液浸没根，静置 30min，不同规格的培养皿对应加入测试液体积：
35/60/90 mm 培养皿，分别对应 4/10/40 mL 测试液

样品前处理视频



扫码查看视频

检测过程

1. 检测位点：根成熟区。距离根尖顶点 5000 μm 的位置
2. 检测时长：5-10 分钟
3. 重复数：n \geq 8，即每组检测不少于 8 条根。如同一株样品有多条根符合检测要求，可在同一株上取不止 1 条根，一组内使用的植株数不可少于 3 株。

耗材清单



扫码查看购买耗材



扫码查看实验溶液

检测参数

1. 物镜倍数：4 倍（根直径 \geq 200 μm ）；10 倍（根直径 $<$ 200 μm ）
2. 采样规则：X-30
3. 传感器 -- 样品表面距离：5 μm

参考文献

1. 许越. 非损伤微测技术 —2022[J].NMT 通讯,2023(01):3-9.DOI:10.5281/zenodo.8227586.
2. Zhang LD, Liu X, Wei MY, et al. Ammonium has stronger Cd detoxification ability than nitrate by reducing Cd influx and increasing Cd fixation in *Solanum nigrum* L. *J Hazard Mater.* 2021 Dec 1;425:127947. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.127947.
3. Liu D, Zheng K, Wang Y, et al. Harnessing an arbuscular mycorrhizal fungus to improve the adaptability of a facultative metallophytic poplar (*Populus yunnanensis*) to cadmium stress: Physiological and molecular responses. *J Hazard Mater.* 2021 Oct 12;424(Pt B):127430. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.127430.