

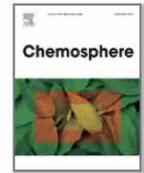
NMT 文献速递

Chemosphere 厦大郑海雷：NMT 发现 Cd 胁迫促进龙葵吸 NH_4^+ 为 Cd 通过调节 N 转运蛋白和 APQs 基因表达改变龙葵对 N 素吸收偏好性提供证据



Chemosphere

Volume 307, Part 3, November 2022, 136031



Cadmium promotes the absorption of ammonium in hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. mediated by ammonium transporters and aquaporins

Lu-Dan Zhang, Ling-Yu Song, Ming-Jin Dai, Ze-Jun Guo, Ming-Yue Wei, Jing Li, Chao-Qun Xu, Xue-Yi Zhu, Hai-Lei Zheng  

一、基本信息

研究使用平台：NMT 重金属胁迫创新平台

期刊：Chemosphere

主题：NMT 发现 Cd 胁迫促进龙葵吸 NH_4^+ 为 Cd 通过调节 N 转运蛋白和 APQs 基因表达改变龙葵对 N 素吸收偏好性提供证据

标题：Cadmium promotes the absorption of ammonium in hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. mediated by ammonium transporters and aquaporins

影响因子：8.943

作者：厦门大学郑海雷、张露丹

二、检测离子 / 分子指标

Cd^{2+} 、 NO_3^- 、 NH_4^+

三、样品信息

龙葵根（分生区和伸长区）

四、中文摘要

镉（Cd）是一种有毒的重金属，影响植物的正常生长。 NO_3^- 和 NH_4^+ 是植物吸收的主要无机氮（N）形式。然而，Cd 胁迫下氮的吸收和调控机制尚不清楚。

收稿日期：2022-12-26

编辑作者 E-mail: yanhan@nmtia.org.cn

研究发现：（1）Cd 处理影响龙葵幼苗根系的生物量、根长和根分生区 Cd^{2+} 流速。同时，通过非损伤微测技术（NMT）测定了 Cd 处理条件下龙葵根生区和伸长区 NO_3^- 和 NH_4^+ 流速。结果表明，与 0 和 5 μM Cd 处理相比，50 μM Cd 显著抑制了 NO_3^- 内流，增加了 NH_4^+ 内流；（2）qRT-PCR 分析表明，50 μM Cd 抑制了 *SnNRT2;4* 和 *SnNRT2;4-like* 基因的表达，增加了 *SnAMT1;2* 和 *SnAMT1;3* 在根部的表达；（3）在 NH_4^+ 供应下，50 μM Cd 显著诱导水通道蛋白基因 *SnPIP1;5*、*SnPIP2;7* 和 *SnTIP2;1* 的表达。50 μM Cd 处理通过上调 NH_4^+ 转运蛋白和水通道蛋白的基因表达来促进 NH_4^+ 的吸收，总体来讲，50 μM Cd 处理会影响龙葵对不同氮营养的偏好。

五、离子 / 分子流实验处理方法

Cd^{2+} ：14 天的龙葵幼苗在 0、5、25、50 和 100 μM CdCl_2 下处理 1 天

NO_3^- 、 NH_4^+ ：14 天的龙葵幼苗在 0、5、25、50 和 100 μM CdCl_2 下处理 4 天；50 μM CdCl_2 实时处理；25 μM HgCl_2 实时处理

六、离子 / 分子流实验结果

之前的研究结果表明， Cd^{2+} 在龙葵根部分生区内流速率最高。本研究使用 NMT 检测不同浓度的 Cd 处理对龙葵根生区流速的影响。 Cd^{2+} 在 5 μM 和 25 μM Cd 处理下表现出净内流，约为 5 $\text{pico mole cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。在 50 μM Cd 下， Cd^{2+} 内流显著增加，约为 17 $\text{pico mole cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。而在 100 μM Cd 处理下 Cd^{2+} 明显外排。综上所述，与 5 μM Cd 相比，50 μM Cd 处理显著增加了 Cd^{2+} 的流入，抑制了龙葵幼苗的生长（图 1）。

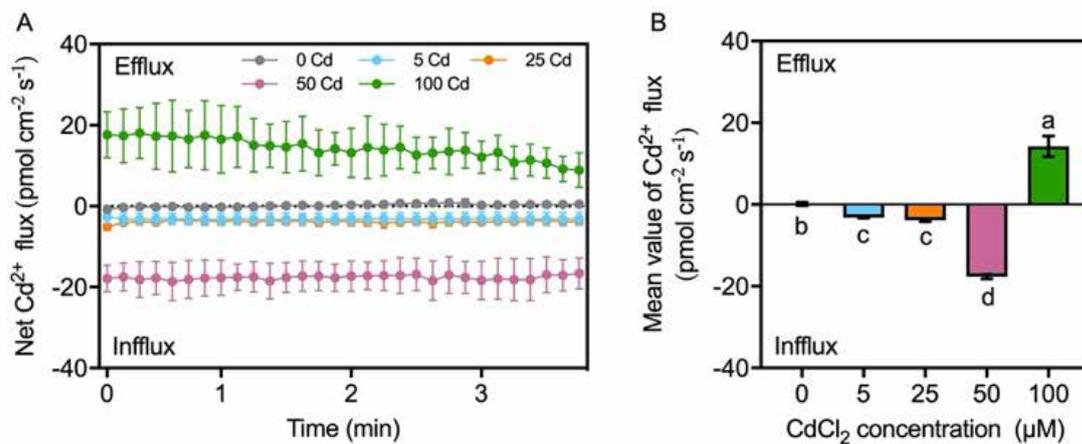


图 1. 不同 CdCl_2 处理对龙葵根部分生区 Cd^{2+} 流速的影响。负值代表 Cd^{2+} 吸收，正值代表 Cd^{2+} 外排。

为探讨 Cd 对不同根组织中 NO_3^- 和 NH_4^+ 吸收的影响, 采用 NMT 测定了不同根组织中 NO_3^- 和 NH_4^+ 的流速。如图 2A 所示, NO_3^- 在根分生区表现出净内流, 达到 200 $\text{pico mole cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。在根冠、伸长区和成熟区, NO_3^- 表现出显著的外排。不同的是, NH_4^+ 在根冠和分生区表现出外排, 在伸长区表现出显著的内流, 达到 180 $\text{pico mole cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 在成熟区存在微弱的 NH_4^+ 内流(图 2B)。对根尖离子流速的观察表明, NO_3^- 内流主要发生在分生区, 而 NH_4^+ 内流主要出现在伸长区。

研究进一步检测了实时添加 50 μM CdCl_2 时, 龙葵根分生区和伸长区的 NO_3^- 和 NH_4^+ 流速。随着处理时间的增加, NO_3^-

的内流逐渐减弱并达到稳定状态(图 3A 和 3B)。稳定后, NO_3^- 在分生区和伸长区表现出外排, 分别接近 55-65 和 250-280 $\text{pico mole cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。实验结果表明, Cd 的瞬时添加抑制了 NO_3^- 在分生区和伸长区的内流。添加 50 μM CdCl_2 导致分生区和伸长区中 NH_4^+ 快速外排(图 3C 和 3D)。随着处理时间的增加, NH_4^+ 外排逐渐减弱并达到稳定状态。稳定后, NH_4^+ 在分生区出现外排, 达到 60-80 $\text{pico mole cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (图 3C), 而 NH_4^+ 在伸长区出现净内流, 达到 320-340 $\text{pico mole cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (图 3D)。这些结果表明, Cd 的瞬时添加促进了 NH_4^+ 在分生区和伸长区的内流。

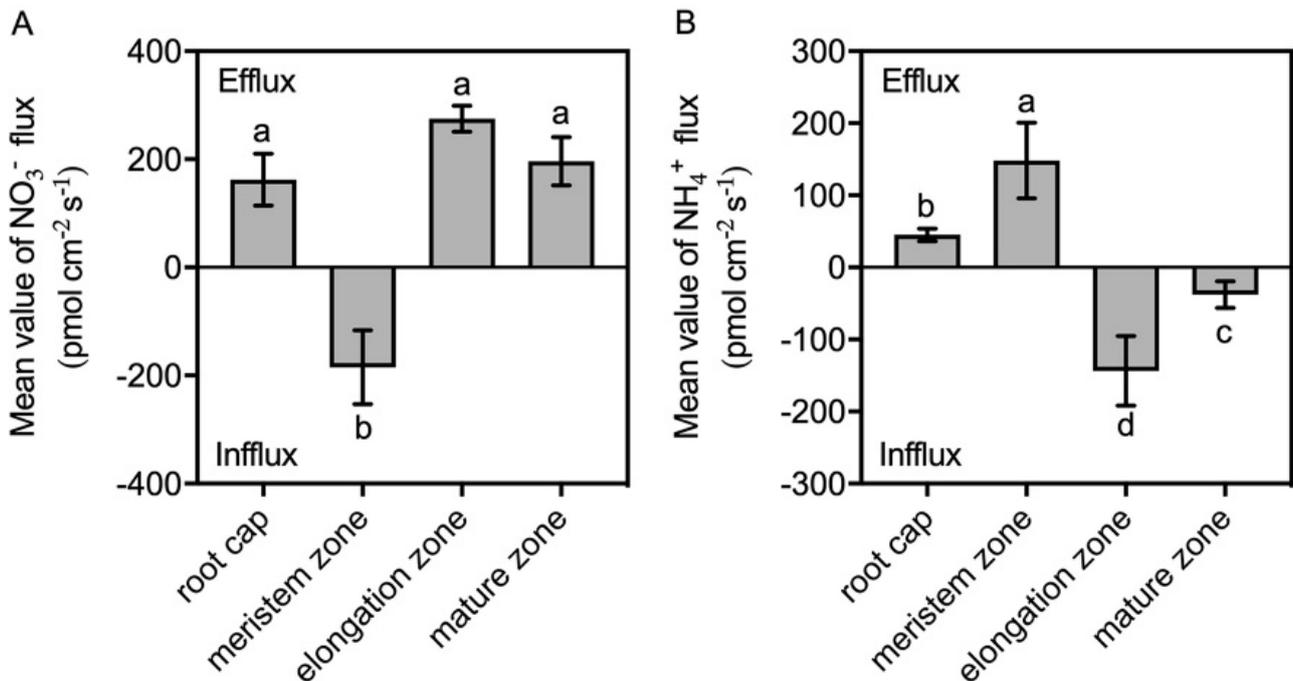


图 2. 龙葵根不同生区 NO_3^- 和 NH_4^+ 流速。负值代表吸收, 正值代表外排。

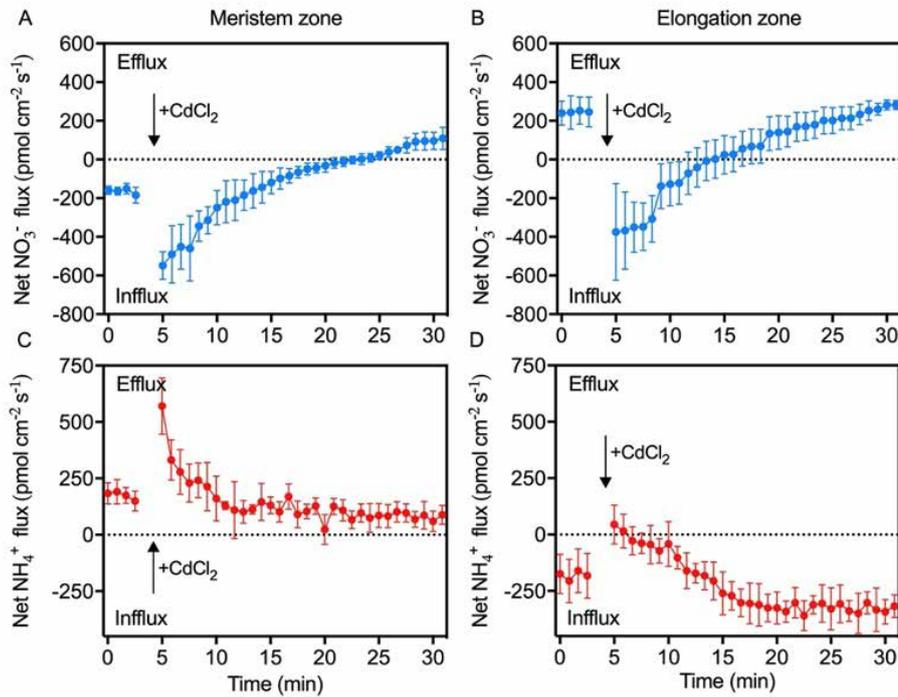


图 3. CdCl₂ 瞬时处理对龙葵根部分生区和伸长区 NO₃⁻ 和 NH₄⁺ 流速的影响。负值代表吸收，正值代表外排。

采用 NMT 测定不同 Cd 浓度 (0、5 和 50 μM CdCl₂) 处理 14 日龄龙葵幼苗 4 d 后，根分生区和伸长区的 NO₃⁻ 和 NH₄⁺ 流速。实验结果表明，5 μM Cd 处理下的分生区和伸长区 NO₃⁻ 流速平均值与对照无显著差异 (图 4A 和 B)。此外，50 μM Cd 处理对伸长区 NO₃⁻ 外排的平均值没有显著影响 (图 2B)。而在分生区，50 μM Cd 处理的 NO₃⁻ 内流速率与对照相比降低了约 76% (图 2A)。对于 NH₄⁺ 流速，5 μM Cd 处理下的分生区和伸长区与对照相比无显著差异 (图 2C 和 D)。然而，与对照组相比，50 μM Cd 处理显著抑制了分生区 72% 的 NH₄⁺ 外排，增强了伸长区 36% 的 NH₄⁺ 内流 (图 4C 和 D)。简而言之，这些结果表明，与对照组和 5 μM Cd 处理相比，50 μM Cd 处理抑制了分生区 NO₃⁻ 的内流，促进了分生区和伸长区 NH₄⁺ 的内流。

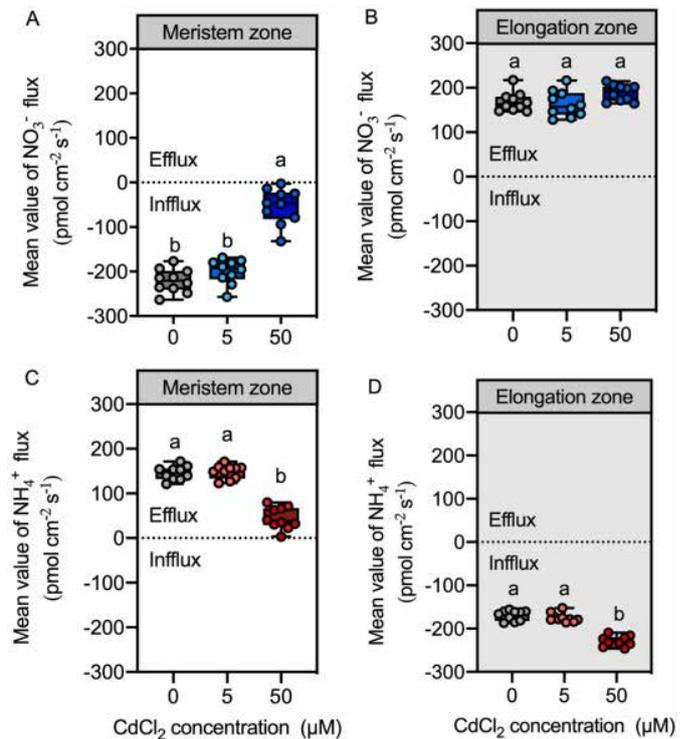


图 4. Cd 处理对龙葵根分生区和伸长区 NO₃⁻ 和 NH₄⁺ 流速的影响。负值代表吸收，正值代表外排。

水通道蛋白不仅通过调节蒸腾作用来调节 N 的吸收，而且还具有转运 N 的功能。本研究测定了水通道蛋白特异性抑制剂 HgCl₂ (25 μM) 瞬间处理下的 NO₃⁻ 和 NH₄⁺ 流速，以验证水通道蛋白与龙葵根吸收 N 的关系。如图 5A 和 5C 所示，HgCl₂ 的加入导致 NO₃⁻ 和 NH₄⁺ 在分生区短暂而快速的流入。随着处理时间的延长，内流逐渐减弱，最终达到稳定状态。对于伸长区，添加 HgCl₂ 导致 NO₃⁻ 和 NH₄⁺ 外排速率增加 (图 5B 和 5D)。更重要的是，HgCl₂ 的加入使 NH₄⁺ 的内流变为外排 (图 5D)。实验结果表明，25 μM HgCl₂ 显著抑制了分生区 NO₃⁻ 的吸收和伸长区 NH₄⁺ 的吸收，且 HgCl₂ 对 NH₄⁺ 吸收的影响大于对 NO₃⁻ 吸收的影响。

七、其它实验结果

- 与 0 和 5 μM CdCl₂ 处理相比，50 μM Cd 显著降低龙葵根部和地上部中 NO₃⁻ 的含量，增加了根部 NH₄⁺ 的含量。
- 50 μM CdCl₂ 抑制了根部 *SnNRT2;4-like* 基因的表达，增加了地上部 *SnAMT1;2* 的表达和 *SnAMT1;3* 在根部的表达。
- 50 μM CdCl₂ 处理促进了根部 *SnTIP2;1* 的表达。

八、结论

与 0 和 5 μM CdCl₂ 处理相比，50 μM CdCl₂ 胁迫抑制了龙葵 NO₃⁻ 的吸收，促进 NH₄⁺ 的吸收。表明高 Cd 胁迫可以改变龙葵对氮素吸收的偏好，这是由于 50 μM

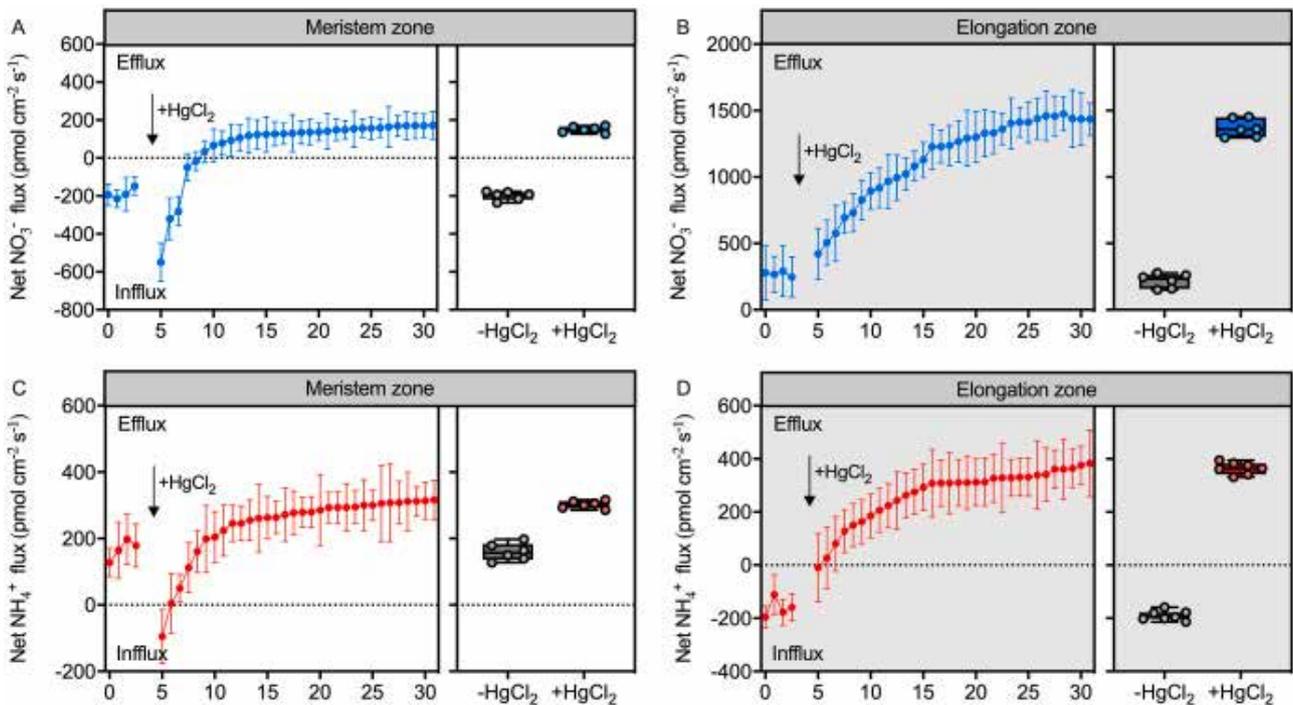


图 5. HgCl₂ 实时处理对龙葵根 NO₃⁻ 和 NH₄⁺ 流速的影响。负值代表吸收，正值代表外排。

CdCl₂ 处理调节了氮转运蛋白和水通道蛋白基因表达。一方面, 50 μM Cd 胁迫降低了 *SnNRT2;4* 和 *SnNRT2;4-like* 的表达, 增加了 *SnAMT1;2* 和 *SnAMT1;3* 的表达; 另一方面, 50 μM Cd 胁迫增加了 NH₄⁺ 供给条件下 *SnPIP1;5*、*SnPIP2;7* 和 *SnTIP2;1* 的表达。而添加水通道蛋白特异性抑制剂 HgCl₂ 显著抑制了 NH₄⁺ 的吸收, 说明水通道蛋白在高 Cd 胁迫下对 N 的吸收起重要作用。本研究为高 Cd 胁迫对超累积植物龙葵对不同氮素营养偏好的影响提供了线索。

九、测试液

0/5/25/50/100 μM CdCl₂, pH 6.0

0/5/50 μM CdCl₂, 2 mM NaNO₃, pH 6.0

0/5/50 μM CdCl₂, 2 mM NH₄Cl, pH 6.0

关键词: NH₄⁺ 内流; Cd; *SnTIP2;1*;
SnAMT1;3; 龙葵; 植物类

文献信息: Zhang LD, et al. Cadmium promotes the absorption of ammonium in hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. mediated by ammonium transporters and aquaporins. *Chemosphere*. 2022 Nov;307(Pt 3):136031. doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.136031. Epub 2022 Aug 15. PMID: 35981624.

(责任编辑: 李雪霏)