

水培条件下 Cd 与乙酰甲胺磷在番茄植株体内迁移的互作影响

江晓杰¹, 简秋², 汪清¹, 张慧涵¹, 李煜¹, 李湘琼¹,
史陶中¹, 马鑫¹, 花日茂^{1*}, 吴祥为¹, 唐俊¹

(1. 安徽农业大学资源与环境学院 安徽省农产品安全重点实验室, 合肥 230036; 2. 农业部农药检定所, 北京 100125)

摘要: 作为高毒杀虫剂甲胺磷的替代产品, 乙酰甲胺磷的大量使用对农产品安全造成的影响一直备受关注。本研究以番茄植株为研究对象, 在水培条件下, 用含 0.5 mg·L⁻¹ Cd²⁺和 1.0 mg·L⁻¹ 乙酰甲胺磷的混合营养液直接作用于番茄植株的根部, 通过测定营养液和番茄木质部液中 Cd²⁺与乙酰甲胺磷随时间的浓度变化, 研究 Cd²⁺与乙酰甲胺磷在番茄植株中迁移的互作影响。研究发现, 营养液中的 Cd²⁺和乙酰甲胺磷均能被番茄根部吸收, 经木质部向上迁移。Cd²⁺的存在抑制了番茄根系对营养液中乙酰甲胺磷的吸收与向上运输, 而营养液中的乙酰甲胺磷能促进番茄根系对营养液中 Cd²⁺的吸收转运。

关键词: 乙酰甲胺磷; 镉; 番茄; 迁移

中图分类号: X592

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2014)01-0160-04

Interaction effect of Cd and acephate in nutrient solution uptake by tomato seedlings

JIANG Xiaojie¹, JIAN Qiu², WANG Qing¹, ZHANG Huihan¹, LI Yu¹, LI Xiangqiong¹,
SHI Taozhong¹, MA Xin¹, HUA Rimao¹, WU Xiangwei¹, TANG Jun¹

(1. Key Laboratory of Agri-Food Safety of Anhui Province, School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036; 2. Institute for the Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture, Beijing 100125)

Abstract: As an alternative of high toxic pesticide methamidophos product, safety problems existing in the use of acephate, a kind of agricultural products has been concerned by public. Tomato seedlings under hydroponic conditions in this study as the research object. Mixed nutrient solution of 0.5 mg/L Cd²⁺ and 1.0 mg/L acephate to study the rules of Cd²⁺ and acephate in tomato xylem fluid in different time by roots of tomato seedlings absorb. The study found that Cd and acephate in nutrient solution could be absorbed through the root of tomato seedlings by uptake through the xylem. The concentration of Cd in nutrient solution could promote the absorption and transportation by acephate, while the concentration of Cd could inhibited the transpiration upward of acephate in nutrient solution of tomato roots.

Key words: acephate; Cd²⁺; tomato seedling; uptake

乙酰甲胺磷又称高灭磷, 化学名称为 O,S-二甲基乙酰基硫代磷酸酯, 化学分子式: C₄H₁₀NO₃PS; CAS 登记号: 30560-19-1; 分子量为 183.16。是一种高效低毒内吸广谱的有机磷类杀虫剂^[1]。广泛应用于防治水稻二化螟、三化螟、稻纵卷叶螟、稻飞虱、十字花科蔬菜菜青虫、蚜虫等^[2]。随着高毒农药的退市, 国家需要发展高效、环保的农药新产品, 具有绿色背景的乙酰甲胺磷及制

剂受到市场关注。

镉(Cd)是生物毒性强的重金属之一。镉本身在地壳中的本底较低, 主要通过采矿、污灌、施肥、大气沉降等输入土壤。冶炼和采矿是向环境中释放重金属的最重要的污染源; 进入土壤中的镉按其土壤矿物的结合形式一般可分为水溶态、交换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态、有机质结合态和残留态, 其稳定性依次升高^[3]。水溶性镉可直接

收稿日期: 2013-06-05

基金项目: 国家自然科学基金(30972053)和“十二五”国家科技支撑计划课题(2011BAD12B04)共同资助。

作者简介: 江晓杰, 女, 硕士研究生。E-mail: jiangxiaojie89@163.com

* 通信作者: 花日茂, 男, 博士, 教授, 博导。E-mail: rimaohua@ahau.edu.cn

被植物吸收, 危害最大。镉容易在作物的可食部位积累, 由此使其更易通过食物链的积累和传递进入人体, 严重危害人类健康^[4]。

目前, 对乙酰甲胺磷的研究多集中在植物表面施药量的控制、单一施用乙酰甲胺磷及使用后乙酰甲胺磷和甲胺磷残留超标, 人们主要关注乙酰甲胺磷的安全使用问题^[5-7], 忽略了复杂环境中污染物间的相互作用, 对重金属和有机污染复合污染的研究仍处在起步阶段; 对污染物在土壤-植物系统中和水体-植物系统中的迁移、转化机制和影响因素方面的研究尚未全面展开。本实验在水培条件下, 以含 0.5 mg·L⁻¹ Cd²⁺和 1.0 mg·L⁻¹ 乙酰甲胺磷的混合营养液直接作用于番茄植株的根部, 短期暴露后, 测定番茄的木质部液中 Cd²⁺及乙酰甲胺磷含量, 明确 Cd²⁺及乙酰甲胺磷复合污染时一种污染物在植物体内的迁移受到另一种污染物影响的程度, 为深入研究不同污染物在土壤-植物体系中迁移互作提供借鉴。

1 材料与方 法

1.1 材料

1.1.1 药品、试剂 乙酰甲胺磷 (Acephate, ACE) 标准品 (纯度 98.2%, 上海安普科技仪器有限公司); 二水合氯化镉 (AR); 甲醇 (GC); 甲酸 (GC); 乙腈 (GC, AR); 氯化钠 (AR); 无水硫酸钠 (AR); 乙二胺四乙酸钠铁 (AR); 硝酸钙 (AR); 盐酸 (AR); 硝酸钾 (AR); 硫酸镁 (AR); 硫酸锌 (AR); 硫酸铜 (AR); 磷酸二氢铵 (AR); 硼酸 (AR); 钼酸钠 (AR); 硼酸 (AR); 磷酸二氢钾 (AR); 氯化锰 (AR); 次氯酸钠 (CR); 氢氧化钾 (AR); 2-吗啉乙磺酸 (2-morpholinoethanesulfonic acid): 纯度 ≥99%; 1/5 Hoagland 营养液成分为: 1 mmol·L⁻¹ KNO₃, 1 mmol·L⁻¹ Ca(NO₃)₂, 0.4 mmol·L⁻¹ MgSO₄, 0.1 mmol·L⁻¹ KH₂PO₄, 0.5 μmol·L⁻¹ MnCl₂, 3 μmol·L⁻¹ H₃BO₃, 0.5 μmol·L⁻¹ (NH₄)₆MoO₂₄, 0.4 μmol·L⁻¹ ZnSO₄, 0.2 μmol·L⁻¹ CuSO₄, 20 μmol·L⁻¹ Fe(III)-EDTA, 2 μmol·L⁻¹ MES (2-morpholinoethanesulfonic acid); 使用前用 0.1 mol·L⁻¹ KOH 或稀 HCl 将营养液的酸度值调节至 pH6.0。

1.1.2 仪器 超高效液相色谱-串联质谱联用仪: Waters ACQUITY UPLC-Waters Xevo TQ MS, ESI 离子源, 美国 Waters 公司; 色谱柱: ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱 (1.7 μm, 2.1 mm, 100 mm), 美国 Waters 公司; TAS-990FG 原子吸收分光光度计: 配有火焰型和石墨炉型原子化器, 北京普析通用有限责任公司; 钠灯: MASTER AGRO SON-T 400

W, 飞利浦灯具 (上海) 有限公司; 泛光灯具: con temporvp350, 飞利浦灯具 (上海) 有限公司; 照度计: TES-1332 型, 泰仕电子工业股份有限公司; 光照培养箱: SPX-300B-G, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂。

1.2 试验方法

1.2.1 番茄植株的培养 实验选用的番茄品种为毛粉 812。取适量饱满均匀的番茄种子, 放入 0.5% NaClO 溶液中 5min 进行表面消毒。水漂洗后的种子用去离子水浸泡过夜, 然后播种于湿润的蛭石中, 每天补充水份, 保持蛭石湿度。种子发芽至番茄苗出四片叶时, 将幼苗移入 PP 营养罐中, 用 1/5Hoagland 营养液培养 (营养液在使用前用 0.1 mol·L⁻¹ KOH 或稀 HCl 调至 pH 6.0)。

番茄植株生长条件: 光照时间: 12 h·d⁻¹; 光照强度: 50000 lx; 湿度: 50%~70%; 温度: 白天为 30℃、黑夜温度 25℃。

1.2.2 Cd²⁺与乙酰甲胺磷在番茄植株内迁移 取营养液 1 L 于 PP 培养罐中, 分别将培养 17 d 的番茄幼苗移入 PP 培养罐, 每天补充营养液, 保持培养罐中的营养液体积为 1 L。连续培养 20 d 后, 在培养罐的营养液中添加 Cd²⁺和乙酰甲胺磷, 使混合营养液中的 Cd²⁺和乙酰甲胺磷的浓度分别为 0.5 mg·L⁻¹ 和 1.0 mg·L⁻¹。同时设置营养液中只添加 1.0 mg·L⁻¹ 乙酰甲胺磷和只添加 0.5 mg·L⁻¹ Cd²⁺的对照处理, 每个处理设 4 个重复。分别在营养液中添加 Cd²⁺、乙酰甲胺磷后的 2、6、12、24、48、72 和 144 h, 对混合营养液和番茄木质部液进行取样, 检测分析乙酰甲胺磷及 Cd²⁺的含量。

1.3 番茄木质部液收取与测定

采用植物根压自然收集法^[8-9]: 脱脂棉经稀盐酸、蒸馏水、去离子水清洗烘干后备用。将番茄苗移至阴处, 在根茎结合部上部位 2 cm 处, 用经刀片快速地切断茎杆, 用脱脂棉蘸去离子水, 快速擦洗与根系相连的切口, 并吸干表面的水分, 然后用量程为 50 μL 移液枪不断吸取溢出的汁液放入 5 mL 离心管中, 取样时间为 20 min 左右。将收集液贮存于冰盒中待分析。

1.4 乙酰甲胺磷 UPLC-MS/MS 检测条件

色谱条件: 流速: 0.25 mL·min⁻¹; 进样体积: 10 μL; 柱温: 30℃; 流动相: A:98/2=水/甲醇 (V/V)+0.1%甲酸, B:甲醇+0.1%甲酸, 流动相采用梯度洗脱。

质谱条件: 电喷雾离子源 (ESI), 正离子扫描模式; 多反应监测 (MRM); 毛细管电压 3 kV; 离

子源温度 150℃；反吹气流速 50 L·Hr⁻¹；雾化气流速 750 L·Hr⁻¹；雾化温度 400℃；碰撞气流量 0.16 mL·min⁻¹。

1.5 Cd²⁺的石墨炉检测条件

原子吸收光谱法，检测波长：228.8nm；光谱宽带：2.0 nm；进样体积：10 μL；灯电流：0.1 mA；测样时，加入硝酸镁和磷酸氢二铵基体改进剂，提高灰化温度，用以背景校正；测样是采用梯度升温。

2 结果与分析

2.1 番茄植株对乙酰甲胺磷的吸收与迁移

木质部作为维管植物的重要运输组织，主要作用是将植物根系吸收的水分及溶解于水中的物质向植物地上部位运输^[10]。通过对木质部液的收集和检测，研究当 Cd²⁺与乙酰甲胺磷共存于营养液中时，番茄根系吸收、向上迁移 Cd²⁺与乙酰甲胺磷的能力是否受到影响。

乙酰甲胺磷是一种水溶性较好的有机化学农药，在水中的溶解度达到 700 mg·L⁻¹^[11]，溶解于营养液中的乙酰甲胺磷，可以被番茄根系吸收并进一步通过番茄木质部向植株上部运输。由图 1 可知，木质部液中检出的乙酰甲胺磷的浓度随着处理时间的增加而变大，12 h 时，番茄木质部液中检出的乙酰甲胺磷的浓度达到 263.22 μg·L⁻¹，之后随着作用时间的进一步延长，番茄木质部液中检出的乙酰甲胺磷浓度保持在相对稳定的状态。营养液中的乙酰甲胺磷含量随着番茄吸收作用时间的增加而保持递减的趋势。

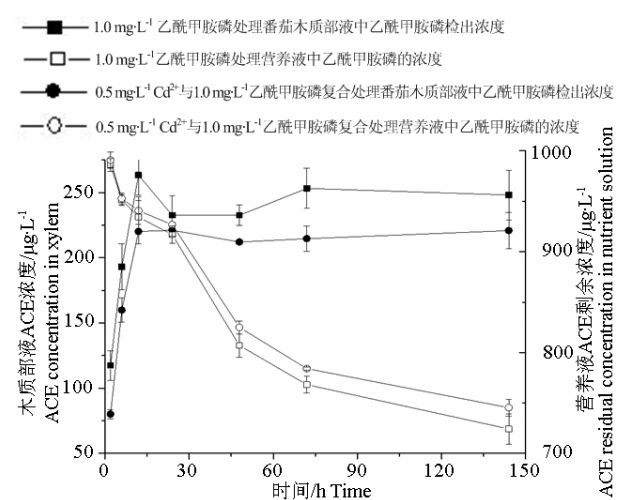


图 1 营养液和番茄木质部液中乙酰甲胺磷浓度随时间的变化
Figure 1 Concentration of Acephate in nutrient solution and xylem exudate of tomato in different time

2.2 番茄植株对 Cd²⁺的吸收与迁移

以含 0.5 mg·L⁻¹ Cd²⁺的培养液连续培养番茄幼苗 144h，不同时间点取样的番茄木质部液中均有 Cd²⁺检出（见图 2），说明营养液中的 Cd²⁺能被番茄根系吸收并通过木质部向上转运。在 2~12 h 之间，番茄木质部液中检出 Cd²⁺浓度变化梯度较大，2 h 时木质部液中检出的 Cd²⁺浓度为 146.7 μg·L⁻¹；12 h 时检出的 Cd²⁺浓度达到了 1060.15 μg·L⁻¹，是营养液中 Cd²⁺添加浓度的 2.12 倍。其中，在 6~24 h 之间，番茄木质部液中检出的 Cd 浓度均超过了营养液中 Cd 的添加浓度。原因是短期内，番茄根系吸收营养液中的 Cd 能够通过根部向番茄地上木质部迁移并且发生富集。营养液中的 Cd 浓度随着番茄植株的吸收出现逐渐降低，从 2 h 的 0.48 mg·L⁻¹下降至 144 h 的 0.32 μg·L⁻¹。番茄植株吸收 12 h 后，番茄木质部液中检出的 Cd 浓度呈递减趋势，至 144 h 木质部液中 Cd²⁺浓度下降至 248.00 μg·L⁻¹。有研究发现^[12]，Cd 对植物具有胁迫作用，使得植物能自动调节对土壤中 Cd 吸收，降低植物体内 Cd 含量，从而进行自我保护；另一方面，随着处理时间的增加，营养液中 Cd 浓度下降明显，使得单位根系表面积可吸附、吸收的 Cd 减少。因而随着处理时间的增加，番茄植株生长稀释使得番茄木质部液中检出的 Cd 浓度下降。

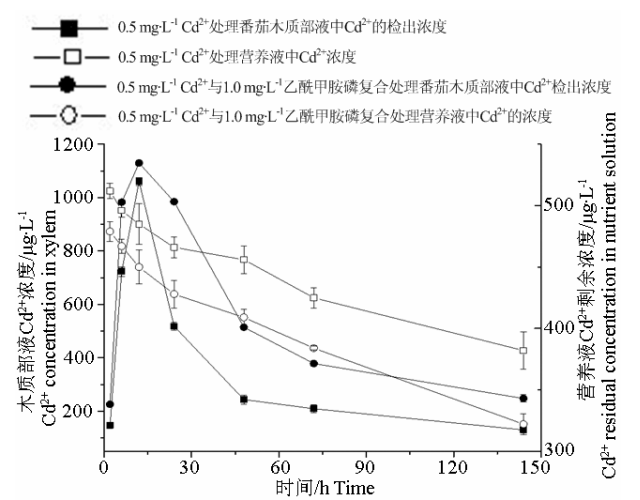


图 2 营养液和番茄木质部液中 Cd²⁺浓度变化
Figure 2 Comparison of Cd²⁺ concentration in nutrient solution and xylem exudate of tomato seedlings with different time

2.3 Cd²⁺及乙酰甲胺磷在番茄植株体内迁移的互作效应

由图 1 和图 2 可知，当乙酰甲胺磷和 Cd²⁺共存于营养液中时，番茄植株吸收和运输乙酰甲胺磷和

Cd^{2+} 的能力受到一定程度的影响。乙酰甲胺磷向上迁移的速度受到抑制, 乙酰甲胺磷单一处理的番茄植株, 其木质部液中检出的乙酰甲胺磷平均浓度是混合处理的 1.18 倍。乙酰甲胺磷随营养液向上运输, 运输的动力是植物的蒸腾作用。有研究发现, 在木豆生长阶段单用 Cd^{2+} 进行处理, 1d 后 CO_2 交换率即被抑制 87%, 气孔导度和蒸腾作用率也相应降低^[13]; 在对印度蕨菜的研究中也发现类似情况^[14]。 Cd^{2+} 能使植物蒸腾作用下降, 水分在植物细胞间的迁移受到抑制, 导致伴随着营养液一起向上运输的乙酰甲胺磷的迁移受到了抑制。然而, 混合处理却促进了营养液中 Cd^{2+} 从番茄根系向上迁移, 经混合处理的番茄木质部液中, 检出的 Cd^{2+} 的平均浓度是单一 Cd^{2+} 处理的 1.67 倍, 说明乙酰甲胺磷的存在促进了营养液中 Cd^{2+} 从番茄根系向上迁移。苏玉红^[15]等研究发现, Cd^{2+} 能与阿特拉津发生螯合作用, 降低了 Cd^{2+} 对水稻苗的毒害。由此推测, 营养液中 Cd^{2+} 与乙酰甲胺磷可能是通过一定程度的螯合而降低 Cd^{2+} 对番茄植株的毒害。

3 结论

在水培条件下, 通过对番茄木质部液中乙酰甲胺磷和 Cd 的浓度检测得出, 番茄根系能从营养液中吸收乙酰甲胺磷和 Cd, 并经番茄木质部向上部运输。番茄根系对乙酰甲胺磷的吸收随作用时间的增加, 逐渐达到动态平衡; 根系能富集营养液中的 Cd 并通过木质部向上运输。

乙酰甲胺磷和 Cd^{2+} 共存时, 番茄植株吸收、运输乙酰甲胺磷和 Cd 的能力不同, 乙酰甲胺磷促进了番茄根系对营养液中 Cd 的吸收转运, 而 Cd^{2+} 的存在则抑制了番茄根系向上运输营养液中的乙酰甲胺磷。

致谢: 感谢安徽农业大学资源与环境学院谷勋刚教授对本实验中 Cd^{2+} 的测定提供了技术支持。

参考文献:

[1] 黄幸纾, 徐怀安, 祝慧娟, 等. 乙酰甲胺磷毒性初步研

究[J]. 浙江医科大学学报, 1982, S2: 332.

- [2] 肖洪波, 孙光忠, 周福荣. 乙酰甲胺磷的生产与应用[J]. 湖北植保, 2008(3): 53-54.
- [3] 夏汉平. 土壤-植物系统中的镉研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 1997(3): 289-298.
- [4] 崔玉静, 赵中秋, 刘文菊, 等. 镉在土壤-植物-人体系统中迁移积累及其影响因子[J]. 生态学报, 2003, 23(10): 2133-2143.
- [5] 洪文英, 吴燕君, 王道泽, 等. 乙酰甲胺磷及其高毒代谢物甲胺磷在白菜中的残留动态[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(5): 860-866.
- [6] 吴珉, 胡秀卿, 赵华, 等. 作物和土壤中乙酰甲胺磷及其代谢物甲胺磷消解研究[J]. 农药学报, 2009, 11(1): 114-120.
- [7] 贺敏, 余平中, 陈莉, 等. 乙酰甲胺磷乳油在青油菜和土壤中的消解动态研究[J]. 中国农学通报, 2007, 23(9): 431-434.
- [8] Liang J, Zhang J. Collection of xylem sap at flow rate similar to in vivotranspiration flux [J]. Plant and Cell Physiology, 1997, 38(12): 1375-1381.
- [9] Kehr J, Buhtz A, Giavalisco P. Analysis of xylem sap proteins from Brassica napus[J]. BMC Plant Biology, 2005, 5(11): 1-13.
- [10] 张召, 辛益群. 维管植物木质部输导特性以及仿生应用的研究[J]. 现代生物医学进展, 2007(6): 948-950.
- [11] Chevron Chemical Co. Ortho Division. Orthene Residue Tolerance Petition: Physical and Chemical Properties[J]. CDPR, 1972: 108-163.
- [12] Chardonnens A N, Ten Bookum W M, Kuijper L D J. Distribution of cadmium in leaves of cadmium to leaves and sensitive ecotypes of Silene vulgaris[J]. Physiologia Plantarum, 1998, 104: 75-80.
- [13] Sheora I S, Aggarwal N, Singh R. Effect of cadmium and nickel on in vivo carbon dioxide exchange rate of pigeonpea (*C. ajamuscajan* L.) [J]. Plant and Soil, 1990, 129: 243-249.
- [14] Haag-Kerwer A, Schafer H J, Heiss S, et al. Cadmium exposure in Brassica juncea causes a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis [J]. Journal of Experimental Botany, 1999, 50(341): 1827-1835.
- [15] 苏玉红. 有机污染物在土壤-植物系统中迁移的机制及影响因素研究[D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2006, 75-84.