

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20200107003

杨晓远, 王海娟, 王宏宾. 龙葵(*Solanum nigrum* L.)超富集镉的生理和分子机制研究进展[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(6): 72-81

Yang X Y, Wang H J, Wang H B. Advances in physiological and molecular mechanisms of cadmium hyperaccumulation by *Solanum nigrum* L. [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(6): 72-81 (in Chinese)

龙葵(*Solanum nigrum* L.)超富集镉的生理和分子机制研究进展

杨晓远^{1,2}, 王海娟^{1,2}, 王宏宾^{1,2,*}

1. 昆明理工大学环境科学与工程学院, 昆明 650500

2. 云南省土壤固碳与污染控制重点实验室, 昆明 650500

收稿日期: 2020-01-07 录用日期: 2020-04-13

摘要: 超富集植物在重金属污染土壤植物修复中具有重要的应用前景, 已成为一种重要的生物资源。自2005年发现龙葵(*Solanum nigrum* L.)能超量富集镉以来, 中国国内外围绕其超富集镉的机制和土壤修复应用开展了很多研究。本文从根系对镉的快速吸收、镉从根到地上部的有效转运以及较强的体内解毒功能(如植物细胞的区隔化、抗氧化、有机酸生成、渗透物质调节、光合和呼吸作用的维持以及氮代谢调节等)3个方面, 详细综述了龙葵超富集镉的生理和分子机制。在总结相关研究成果的基础上, 展望了该领域今后的发展趋势, 建议应结合光合生化模型研究龙葵对镉的光合响应机制, 并通过基因编辑技术提高修复效率和优化风险评估效果, 同时加强镉胁迫下龙葵信号通路的精细调控等方面研究, 以期为深入揭示龙葵超富集镉的机制提供参考。

关键词: 镉; 龙葵; 分子机制; 生理生化; 超富集

文章编号: 1673-5897(2020)6-072-10 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Advances in Physiological and Molecular Mechanisms of Cadmium Hyperaccumulation by *Solanum nigrum* L.

Yang Xiaoyuan^{1,2}, Wang Haijuan^{1,2}, Wang Hongbin^{1,2,*}

1. Faculty of Environmental Science and Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China

2. Yunnan Key Lab of Soil Carbon Sequestration and Pollution Control, Kunming 650500, China

Received 7 January 2020 accepted 13 April 2020

Abstract: Hyperaccumulators are important biological resources and have been widely used in the phytoremediation of heavy metal contaminated soil, due to their green, beautiful and purificatory characteristics. Since *Solanum nigrum* L. has been identified as a cadmium (Cd) hyperaccumulator in 2005, a lot of studies and achievements focused on the hyperaccumulative mechanisms and applications in soil remediation. This article reviews the physiological and molecular mechanisms of Cd hyperaccumulation by *S. nigrum*, with an emphasis on a rapid uptake of Cd by root system, efficient root-to-shoot translocation and strong internal detoxification, including the compartment of plant cell, antioxidative system, organic acid generation, osmotic adjustment, maintenance of photosynthesis and respiration, and the adjustment of nitrogen metabolism. Based on the summary of literature results, the future

基金项目: 国家重点研发计划“高背景与矿业活动叠加影响区旱地和果园镉砷污染土壤修复技术研究”(2018YFD0800603-04)

第一作者: 杨晓远(1994—), 女, 硕士研究生, 研究方向为污染与恢复生态学, E-mail: 534147647@qq.com

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: whb1974@126.com

perspectives in this field have also been proposed, including the photosynthetic response mechanism of *S. nigrum* to Cd in photosynthetic biochemical model, the enhancement of remediation efficiency and risk evaluation by gene editing technology, as well as the fine regulation of signal pathway in *S. nigrum* under Cd stress. This review will improve the understanding on the Cd hyperaccumulative mechanisms by *S. nigrum*.

Keywords: cadmium; *Solanum nigrum* L.; molecular mechanism; physiological and biochemical properties; hyper-accumulation

随着现代工矿业和农业的快速发展,土壤重金属污染已经成为一个全球性的环境问题。在造成土壤污染的众多重金属中,镉(Cd)是较为常见的一种元素。与其他重金属相比,Cd的生物毒性相对较强,更容易被植物吸收,具有很强的从土壤向植物迁移的能力。已有大量研究表明,若土壤中Cd含量过高,不但会使植物生长缓慢、生物量降低,同时也会使植物细胞的膜透性、遗传物质、酶活性、呼吸代谢和光合作用等发生改变^[1-2]。因此,Cd污染土壤的修复一直是国内外关注的热点和难点之一。

生物修复尤其植物修复具有原位操作、应用方便和成本较低等特点,是一种较为理想的土壤Cd污染治理方法^[3]。龙葵(*Solanum nigrum* L.)是我国2005年自主发现的Cd超富集植物^[4],属一年生草本,全国各地几乎均有分布,加之其繁殖力强、生物量大和生长快速而备受关注。自发现后的15年以来,龙葵对Cd的吸收、转运、富集、耐性以及Cd污染土壤修复等方面已取得很多研究成果。有研究报告,水培条件下,龙葵地上部Cd含量高达262 mg·kg⁻¹时仍未出现中毒症状^[5]; Wei等^[4]发现,在土培条件下,龙葵体内最大Cd含量可达125 mg·kg⁻¹。作为Cd超富集植物,龙葵根系对Cd能快速吸收,并且能将其从根系有效转运至地上部,进入体内的Cd还可通过区隔化作用将Cd转运并储存在某些特定部位,或者通过抗氧化酶、调节相关重金属转运蛋白或形成对Cd高度亲和的高分子量络合物等实现对Cd的富集和解毒。目前关于龙葵超量富集Cd的生理和分子机制方面的研究虽然不少,但缺乏较为系统的总结。本文从龙葵根系对Cd的快速吸收、Cd从根到地上部的有效转运以及较强的体内解毒能力3个方面,系统综述了龙葵超富集Cd的生理和分子机制,并对该领域未来的发展趋势作出展望。

1 龙葵根系对Cd的快速吸收(Rapid uptake of Cd by roots of *Solanum nigrum*)

1.1 龙葵根系对Cd的响应

根系是植物从外界吸收水分和营养物质的重要

器官,也是超富集植物吸收土壤中重金属的主要部位。龙葵的根系状态例如根长、根表面积、根体积、侧根数和根系活力能够反映龙葵吸收土壤中Cd的能力。唐秀梅等^[6]研究发现,低浓度Cd(10 mg·L⁻¹)对龙葵根系的生长起促进作用,但当Cd浓度升至100 mg·L⁻¹时,龙葵根系的生长则会受到抑制,说明龙葵对Cd污染的适应是有一定限度的,当Cd浓度超过一定阈值后,将对龙葵根系产生毒害。王涛等^[7]也研究发现,低浓度Cd(<25 μmol·L⁻¹)对龙葵幼苗的最长根长和根系形态不会产生显著影响,甚至表现出一定的促进作用。Patra等^[8]把该现象解释为低浓度重金属会对植物的某些器官产生积极的“刺激作用”,因为低浓度Cd能够促进龙葵植株的细胞分裂、刺激RNA以及提高蛋白质合成酶的活性,进而促进植株生长。罗琼等^[9]对比了龙葵根部蛋白质组对Cd胁迫的响应,结果表明,在Cd毒害下,龙葵根部的1个防御响应相关蛋白S-腺苷甲硫氨酸合成酶2、2个能量代谢相关蛋白硫酸腺苷酰转移酶和2-磷酸甘油酸脱水酶等表达上调。这说明,Cd胁迫下龙葵根系内异化作用提高,物质和能量代谢加剧,能量增多以减缓Cd对根细胞的胁迫。因此,当龙葵受到低浓度Cd胁迫时,其根部的生长加快,从而能够快速吸收土壤中的Cd。

1.2 龙葵根系分泌物促进其对Cd的吸收

超富集植物可以改变其根际环境,提高土壤中重金属的溶解性。根际环境中的重金属含量、pH值、含水量、有机质和其他养分元素等是影响根际土壤中重金属的生物有效态和根系对重金属吸收的主要因素。植物根系及根际微生物的作用能通过多种途径改变根际环境,活化土壤固持的重金属^[10]。Cd在土壤中有水溶态、可交换态、碳酸盐态和硅酸盐态等多种形态,其中,水溶态和可交换态为植物有效态,容易被植物吸收和利用^[11]。龙葵根系分泌的特殊有机物能螯合重金属或酸化根际,从而促进土壤重金属的溶解和根系的吸收。Krishnamurti等^[12]报道,金属-有机复合物结合的Cd占土壤中总Cd的

40%,与植物有效态 Cd 含量成显著正相关。而且许多低分子量有机酸(LMWOA)能影响土壤固相结合的 Cd 的释放,形成 Cd-LMWOA 复合物,增加土壤 Cd 的溶解性。另外,龙葵根系分泌物还能够诱导根际土壤的 pH 值变化,其根系释放的有机酸可以酸化根际环境,促进土壤中的重金属溶解。并且土壤中重金属的生物可利用度受根际 pH 的影响很大,而根际 pH 可对金属的迁移起主导作用^[13]。已有研究表明,龙葵根部分泌的有机酸提供了有机配体,进而改变了重金属的溶解度和土壤的 pH 值。Bao 等^[14]的研究表明,与非超富集植物番茄(*Solanum lycopersicum* L.)相比,龙葵根系分泌的 LMWOA 含量显著高于番茄,并且龙葵根际土壤溶液的 pH 值显著低于番茄,这可能是导致龙葵根系吸收 Cd 的能力强于番茄的原因。孙月美^[15]研究发现,在植株培育时间为 45 d、土壤 Cd 含量为 15 mg·kg⁻¹时,龙葵根部 Cd 含量已>50 mg·kg⁻¹,而非超富集植物油葵(*Helianthus annuus* L.)根部 Cd 含量<20 mg·kg⁻¹,说明龙葵根部快速吸收土壤 Cd 的能力强于油葵。植物根系分泌物对 Cd 活化作用的大小和植物对 Cd 吸收能力的高低,主要归因于根际与非根际土壤的有效态 Cd 含量的差异。以 15 mg·kg⁻¹ Cd 处理相同时间后,龙葵根际土壤 Cd 有效态含量比非根际土壤显著降低 95%,而油葵只降低了 84%。这说明,龙葵根系分泌物活化了土壤中的 Cd,在生长过程中随着生物量不断增加,龙葵根系对 Cd 的吸收也不断增加,从而导致与油葵相比,龙葵根际土壤 Cd 有效态含量较非根际土壤降低更为显著。

在分子层面,Cd 胁迫后龙葵根部编码 2 个金属转运蛋白的基因(镁转运蛋白基因 *HMA* 和 *MGT* 以及锌铁转运蛋白基因 *IRT1*)表达量持续增高。*HMA* 基因不但参与重金属的转运,还参与金属的长距离运输和解毒^[16]。Xu 等^[17]的研究结果表明,龙葵与非超富集植物茄子(*Solanum melongena* L.)同为茄属植物,在面对由 Cd 诱导的铁缺失时,它们的转运基因却有着不同的响应机制,这可能是导致 2 种植物对 Cd 的吸收和再分配不同的原因。对 2 种铁转运蛋白 *IRT1* 和 *IRT2* 的定量逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)的结果进行分析可知,在铁缺失条件下,龙葵根部的 mRNA 丰度高于茄子。铁的明显缺失诱导了龙葵根部基因 *IRT1* 的表达,但却抑制了该基因在茄子根部的表达^[17]。*IRT1* 基因位于细胞质膜中,其

高表达增加了龙葵根部对镉/铁的吸收。Cd 胁迫下,转 *IRT1* 基因的龙葵毛状根中植物细胞的受损程度比野生型龙葵毛状根要低,具有耐受更高浓度 Cd 的能力,在较高浓度的 Cd 胁迫下可以提高通过抗氧化酶系统的活性,及时将植物组织内活性氧(reactive oxygen species, ROS)清除以减轻氧化损伤。这表明,在龙葵毛状根内转入 *IRT1* 基因一定程度上提高了龙葵对 Cd 胁迫的应激和耐受能力,提高了龙葵毛状根对 Cd 的富集^[18]。

2 Cd 从根到地上部的有效转运 (Efficient translocation of Cd from root to shoot)

有研究认为,土壤中的 Cd 进入龙葵体内的各个组织器官依靠 2 种运输途径:共质体(symplast pathway)和质外体(apoplast pathway)运输,一方面 Cd²⁺ 通过共质体途径由龙葵根毛细胞膜上的通道进入,再利用细胞之间的胞间连丝,经由皮层、内皮层及维管束鞘进入根内导管细胞;另一方面土壤中的 Cd²⁺ 通过质外体途径由龙葵根吸收之后不进入细胞,而是沿着细胞壁的空隙从表皮、皮层到内皮层,进入木质部和韧皮部^[19]。由于木质部细胞壁上的阳离子具有很强的交换能力,因此螯合态的 Cd 离子通常比游离态更易于转运。在木质部运输的 Cd 离子可以跨膜卸载进入韧皮部,或者卸载进入叶片中进行运输、积累和分布。Cd 通过以上 2 种运输途径抵达维管束并向枝叶转运,随着龙葵的生长和新陈代谢,逐渐被稀释,进而减少 Cd 对龙葵的毒害。

仇硕等^[20]认为,龙葵地上部能够富集大量的 Cd,原因是龙葵植株根部的细胞膜上存在着某种特殊的 Cd 专一通道或者载体蛋白。Cd 进入龙葵根细胞后,可随蒸腾作用到达植株的地上部,通过与细胞壁结合、与有机化合物形成螯合物以及区域化分布等方式达到解毒的目的,从而促使地下部的 Cd 不断向地上部运输,形成地上部 Cd 的超量富集。李志贤等^[21]研究发现,当土壤 Cd 含量为 10 mg·kg⁻¹时,龙葵地上部蒸腾速率和气孔导度最强,显著高于其他处理组。蒸腾作用是决定元素由根系通过木质部向地上部转运的主要因子之一,因此,当 Cd 胁迫在一定浓度范围内,可以强化龙葵的蒸腾作用,使 Cd 由根系通过木质部快速向地上部转运。

在分子机制方面,一般认为,P_{1B} 型 ATP 酶(P_{1B}-ATPase)能够在植物体内转运多种必需金属以保证植物能够从土壤中吸取充足的营养,并且这些金属转运体大多也可以参与 Cd 等有毒重金属的吸收和

转运,被称之为“重金属 ATPase (heavy metal ATPase, HMA)”^[22]。孙正国^[23]研究发现,龙葵叶片能上调 Cd 转运基因(P type-ATPase)的表达,且土壤中 Cd 含量越高,上调越显著,Cd 吸收也增加。另一方面,Cd 从龙葵根部到地上部的大量积累和运输需要通过增加谷胱甘肽和植物螯合素(phytochelatins, PCs)的合成来完成,植物螯合素是由谷胱甘肽酶促合成的,而谷氨酰胺/谷氨酸代谢介导谷胱甘肽的生物合成。高谷胱甘肽水平促进植物螯合素的合成以及 Cd-螯合素复合物在液泡中的形成,从而促进 Cd 在植物根与地上部之间的积累和运输^[24]。Xu 等^[25]研究发现,Cd 胁迫下龙葵幼苗中编码谷氨酰胺合成酶基因的表达升高,表明谷氨酰胺的积累是龙葵植物体内能够富集 Cd 的重要机制。Xu 等^[25]还发现,龙葵在 Cd 胁迫下,编码钙调蛋白(CaM)的基因转录水平升高,说明 Cd 可能激活了 CaM 的信号通路。一般认为,逆境胁迫可激活 CaM 以及 CaM 所依赖的蛋白激酶,会导致代谢的关键酶或转录因子活化,最终引起生理生化反应,继而调控植物的生长和抗逆等^[26]。但是,具体的信号通路激活机制以及 Cd 与钙调蛋白的各信号系统之间的相互关系尚未见报道,今后还需加强该方面的研究,弄清各信号系统之间如何构成一个精细的调控网络,共同调控 Cd 胁迫下的各种生理生化活动。

3 较强的体内解毒能力 (Strong ability of internal detoxification)

Cd 进入龙葵细胞后,将对细胞产生毒害作用,但与此同时,植物细胞将动用各种解毒机制缓解 Cd 的伤害,如将 Cd 区隔化在液泡或细胞壁中、提高抗氧化酶活性、生成有机酸、提高细胞内渗透调节物质含量、维持光合和呼吸作用以及调节必需营养元素的代谢等。

3.1 龙葵对 Cd 的区隔化作用

龙葵体内含有氨基酸、有机酸和植物螯合素等多种金属配位体,可与 Cd 离子发生螯合反应,将有较强毒性的 Cd 离子转化为低毒或无毒的螯合态形式^[27],减轻 Cd 离子对细胞的毒害,同时也降低了细胞内游离态 Cd 的含量,进而提高了植物对 Cd 的耐受性。在细胞质中,富含半胱氨酸的植物螯合素的巯基与 Cd 螯合,不仅可以降低游离态 Cd 离子的毒性,并且能在 HMT1、HMT2 膜转运蛋白、H⁺/Cd²⁺ 逆向转运蛋白的协助下,以 PCs-重金属螯合物的形式被转运进液泡^[28-29]。液泡中含有蛋白质和有机酸等物

质,它们可以与贮存在液泡中的 Cd 离子结合,使其在液泡中区隔化,减少对龙葵细胞代谢活动的毒害,区隔化作用与龙葵富集 Cd 的这一特性密切相关^[30]。

除液泡外,植物体内重金属还分布在质外体中。重金属离子进入植物细胞的第一道屏障是细胞壁,通过重金属在植物细胞壁内的沉淀作用可以阻止重金属进入细胞原生质,当重金属进入原生质后,可被细胞质中的蛋白螯合和液泡区隔化贮存,减少了重金属对细胞器的伤害。Cd 在进入龙葵体内时,首先经细胞壁进入,然而细胞壁中含有蛋白质、多糖、羧基和羟基等基团,可以与 Cd 离子结合,形成沉淀或者螯合物。王珊珊^[31]研究发现,龙葵内富集的 Cd 在细胞壁和液泡的分配比例之和达到 70.8% ~ 84.6%,且随着土壤中 Cd 含量的增大而增加。并且龙葵细胞壁对 Cd 的固定作用高于非超富集植物茄子,所以细胞壁固定和液泡区室化可能是龙葵积累 Cd 的主要方式,也可能是龙葵在 Cd 胁迫下的主要富集和耐性机制之一。已有研究报道,Cd 主要分布在龙葵的细胞壁和核糖体中,并且龙葵叶片、根部和茎部的 NaCl 提取态 Cd 的量比茄子高^[32]。所以,龙葵吸收 Cd 时,细胞壁内的物质会与部分 Cd 离子结合形成毒性较小的沉淀和螯合物;或者将 Cd 区隔化,使其累积在特定器官或细胞部位,以此减轻 Cd 对龙葵的毒害,使龙葵体内能够富集大量的 Cd。此外,在细胞水平上,与非超富集植物茄子相比,龙葵根、茎和叶中的 Cd 大部分以生物有效性较弱的化学形式(如 NaCl 提取态和醋酸提取态)积累在生物活性较弱的区域(如表皮毛、根尖细胞、表皮细胞和亚表皮细胞),这在一定程度上减轻了 Cd 对龙葵叶片细胞结构及生理功能的伤害;并且 Cd 胁迫下,龙葵的细胞膜通透性好,细胞膜更加完整。这些特性可能是龙葵超富集 Cd 的原因之一^[32]。

3.2 龙葵抗氧化酶系统对 Cd 的响应

重金属胁迫会导致植物细胞产生多种 ROS,ROS 在植物细胞内的积累会导致蛋白质变性、DNA 损伤、细胞酶失活以及膜脂过氧化作用等,甚至会导致细胞死亡。而植物细胞中的抗氧化酶系统,可起到清除 ROS 的作用,减缓重金属对植物的毒害^[33]。超氧化物歧化酶(SOD)作为解毒过程中第一个产生作用的酶,在它的催化作用下,不同细胞间产生的超氧阴离子自由基可迅速转化为 H₂O₂^[34],细胞中积累的 H₂O₂ 能被过氧化氢酶(CAT)清除。因此,SOD 和 CAT 的结合在植物对抗环境胁迫的过程中起着重

要作用。过氧化物酶(POD)是参与植物呼吸的重要酶,并且参与木质素的生物合成,可将 H_2O_2 转化为 H_2O 。已有很多研究表明,抗氧化防御系统在超富集植物中扮演着重要角色。植物对 Cd 的吸收和转运能力与其体内对 Cd 离子解毒和抗氧化防御的生理调节有关^[35]。

龙葵通过调节抗氧化酶的活性,能够在不同浓度 Cd 的胁迫下正常生长。龙葵抗氧化酶活性的变化主要取决于抗氧化酶的类型、施加的 Cd 浓度、植物暴露在 Cd 中的时间和部位等^[36]。Khan 等^[37]发现,龙葵叶片 POD 活性随着 Cd 胁迫水平提高而提高。Xu 等^[38]研究发现,在 Cd 胁迫下,与茄子相比,龙葵体内 ROS 浓度较低,SOD、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和 CAT 活性更高,脂质过氧化产物的含量相对较少。可能是因为龙葵含有较高浓度的 ROS 清除代谢物谷胱甘肽(GSH)和抗坏血酸(AsA),具有较强的自由基清除能力,能够减轻与 Cd 相关的氧化胁迫。Sun 等^[39]发现,Cd 胁迫降低了龙葵叶片 SOD 的活性,增加了 POD 和 CAT 的活性。这表明,由 Cd 诱导的 SOD 活性下降可能是由于 SOD 在不同细胞器中催化超氧化物自由基歧化产生 H_2O_2 而使酶失活;同时 POD 和 CAT 的活性增强可能促进了 H_2O_2 的清除。Fidalgo 等^[40]的研究表明,Cd 胁迫下龙葵叶片中的 APX 活性增加,并且其根部同工酶的电泳模式发生改变。尽管无法确定活性带(activity band)与同工酶(过氧化物酶体或胞质)的对应关系,但此结果表明,Cd 不会改变任何类型调节 APX 酶活性的基因表达,因此可知,这些酶的活性由蛋白质来调节,而不是通过其基因表达来调节。另外,在 Cd 胁迫下,Xu 等^[17]通过转录组分析,在龙葵和茄子体内确定了 *ns-Hbl* 基因可能与抗氧化有关。并且在龙葵根部 *ns-Hbl* 是表达上调最高的基因,远高于茄子根部。植物的 *ns-Hbs* 在多种细胞活动中均起作用,并且它的高度表达能够使植物在面临胁迫时维持大量三磷酸腺苷(ATP)^[41]。

由此可见,龙葵在吸收 Cd 的过程中,离不开抗氧化酶系统的调节,当龙葵受 Cd 胁迫时,抗氧化酶会作出相应的响应和调整,以维持植物体内的活性氧平衡,使龙葵对 Cd 的耐受性强于非超富集植物。

3.3 龙葵体内有机酸的生成

超富集植物对重金属的超富集机制十分复杂,其中,最重要的机制之一是诱导植物体内金属配位体的合成,以产生稳定的金属配位体复合物,参与植

物对重金属的吸收、转运、贮存和解毒等过程。有机酸是人们发现的植物体内的重要金属配位体,重金属与植物体内的柠檬酸、苹果酸和组氨酸的螯合/络合过程增强了超富集植物的修复潜力^[42]。已有很多研究表明了超富集植物中有机酸和重金属之间的络合作用^[43-44]。有机酸既能够在土壤固相中,又能在植物根际的土壤溶液中与重金属离子发生反应,增加重金属在根际环境中的流动性,从而提高重金属的植物有效性。此外,有机酸与重金属的结合,可减少重金属与植物细胞内重要蛋白质或酶结合的机会,从而减轻重金属毒性^[45]。与非超富集植物相比,龙葵根部能分泌更多的有机酸,从而降低土壤 pH 值。在 Cd 胁迫下,随着龙葵生成的柠檬酸浓度的增加,金属的溶解度和植物对金属的吸收均有增加^[17]。Sun 等^[46]研究发现,龙葵叶片中的 Cd 含量(总 Cd 和水溶性 Cd)与其有机酸(乙酸和柠檬酸)浓度呈显著正相关。另外还有研究表明,Cd 胁迫下能够使龙葵根系分泌物中的柠檬酸和苹果酸浓度升高^[47]。有机酸起到了螯合作用,并作为将 Cd 运至龙葵叶片液泡中的载体,可将其以稳定的化合物形式储存。因此,认为龙葵叶片中的乙酸和柠檬酸可能与其超富集 Cd 的特性有关。综上所述,随着 Cd 胁迫浓度上升,龙葵体内有机酸的分泌也随之升高,其中,柠檬酸、苹果酸和乙酸与 Cd 的络合作用可以使龙葵超量富集 Cd。

3.4 龙葵体内渗透调节物质的响应

Cd 诱导脯氨酸的积累是植物遭受 Cd 毒害后的一个重要响应机制。脯氨酸是一种渗透调节物质,也是一种植物应激代谢物,在植物抵抗重金属胁迫时对植物起保护作用,它通过与金属的螯合作用形成无毒的脯氨酸-金属络合物,从而提高了植物的抗逆性^[39]。脯氨酸有较强的水合能力,能提高细胞持水力,从而降低重金属对植物细胞的毒害。脯氨酸不仅参与金属螯合作用,还参与了清除自由基减弱氧化应激效应。脯氨酸的积累对龙葵吸收 Cd 十分重要。有研究表明,随着 Cd 浓度的增加,龙葵体内脯氨酸的含量与 Cd 浓度存在剂量-效应关系^[40]。另有研究表明,与非超富集植物番茄相比,在 Cd 胁迫下,龙葵体内的脯氨酸含量增加更为显著^[48],因为游离脯氨酸可与植物中的 Cd 离子螯合并形成无毒的 Cd-脯氨酸复合物。Xu 等^[49]的研究表明,外源添加脯氨酸降低了 Cd 胁迫下龙葵愈伤组织的活性氧水平,并保护了其质膜完整性,从而提高了龙葵对

Cd 的耐性。脯氨酸通过清除 ROS、增加 GSH 含量和保护抗氧化酶的活性,在增加 Cd 吸收和减缓 Cd 毒性中发挥重要作用。逆境条件下,脯氨酸的积累可以使细胞膜正常功能得以维持,有助于细胞正常的新陈代谢,从而提高龙葵的耐逆性。这些结果表明,在龙葵体内脯氨酸含量与 Cd 诱导的毒性和氧化损伤之间存在相关性。此外,龙葵在 Cd 的长时间胁迫下,脯氨酸参与协调叶绿素的合成过程,维持细胞膜的正常功能,对渗透调节起到了一定的作用,进而使龙葵对 Cd 的耐性增强。

除脯氨酸外,可溶性蛋白也是衡量植物体渗透调节能力的一个重要指标。可溶性蛋白作为渗透调节物质,当植物遭受胁迫时,可通过提高其含量来保护植物细胞免受伤害,维持细胞正常代谢。此外,可溶性蛋白还可使细胞维持一定的膨压,从而保证植物的光合作用和气孔运动等生理过程得以正常进行。Cd 胁迫还可以诱导植物产生 Cd 结合蛋白,从而降低 Cd 的毒性。Cd 胁迫诱导可溶性蛋白含量增加,也可能是植物抵抗 Cd 毒害的一种机制^[50-51]。郭智等^[52]研究发现,龙葵根与叶的可溶性蛋白含量随着 Cd 胁迫水平的提高和胁迫时间的延长呈现先增加后下降的趋势,说明低浓度 Cd 可促进龙葵植物细胞蛋白质的合成,诱导产生更多的可溶性蛋白,参与体内的渗透调节,从而提高龙葵对 Cd 的耐性。但是,随着 Cd 胁迫水平的提高和胁迫时间延长,由于叶片内过量积累的 Cd 离子破坏了部分叶绿体,而植物叶片中约 70% 的蛋白质存在于叶绿体中^[53],致使蛋白质含量下降。因此,龙葵对 Cd 的耐受和积累离不开可溶性蛋白在细胞内的调节,当龙葵暴露在 Cd 胁迫下,其体内可溶性蛋白含量会增加,以维持细胞的正常代谢。

3.5 光合和呼吸作用的维持

当土壤重金属浓度升高时,植物对 CO₂ 的光合固定速率明显降低。在 0 ~ 25 mg·kg⁻¹ Cd 胁迫下,龙葵恢复 CO₂ 光合固定速率的能力随着 Cd 胁迫水平的上升而下降^[54]。还有研究表明,随着 Cd 胁迫水平上升(0 ~ 200 mg·kg⁻¹),龙葵叶片的光系统 II (PS II) 反应系统中初始荧光水平显著增大,最大电子传递速率和最大原初光能转化效率明显下降,说明龙葵的 PS II 反应系统被破坏或者遭到可逆失活。同样地,植物的捕光色素在吸收光能之后,以热的形式消耗过剩激发能的能力也明显提高,说明龙葵以这样的形式来缓解 Cd 对植物体的毒害^[23]。Cd

胁迫还会使龙葵叶片光下暗呼吸速率显著增大,这说明叶片可能通过增加呼吸作用的方式来获得更多的能量应对 Cd 产生的毒害作用^[55]。植物对重金属的解毒和对受损部位的修复均需要增加能量供应,这通常需要通过加强呼吸作用来满足^[56]。Cd 胁迫下龙葵叶片的暗呼吸速率大幅度增加,使分解代谢加快以获取更多的能量,从而提高龙葵对 Cd 胁迫的耐性。

3.6 氮代谢的调节

在有关龙葵超富集 Cd 的代谢组学分析中,氮代谢是龙葵体内解毒的重要机制。Cd 对植物的毒害主要通过伤害呼吸作用、光合作用和营养代谢等生理过程来抑制植物生长,甚至导致植物死亡^[57]。氮代谢是植物重要的营养代谢过程之一,有研究表明,氮代谢失调是植物遭受 Cd 毒害的重要原因之一^[58]。研究发现,Cd 胁迫通过降低植物对硝酸盐的吸收、氮代谢关键酶(如硝酸还原酶、谷氨酸脱氢酶、谷氨酰胺合成酶和谷氨酸合酶等)的活性^[59]来破坏植物的氮代谢过程。氮代谢对重金属毒性的响应十分重要,植物在 Cd 胁迫下,会通过氮代谢合成一组含氮的代谢产物,氮代谢影响了植物生理功能的水平以及从代谢到资源分配、植物生长和发育等过程^[60]。郭智等^[52]研究发现,在 Cd 胁迫下,龙葵叶片的铵态氮有明显富集,这可能与龙葵体内的谷氨酰胺合成酶下降有关,谷氨酰胺合成酶处于氮代谢中心,参与了多种氮代谢的调节^[61],其活性的提高可以增强氮代谢的效率。龙葵的谷氨酸脱氢酶活性随着 Cd 胁迫水平的提升和处理时间的延长而逐渐升高。谷氨酸脱氢酶可以补充谷氨酸库,为丙酮酸羧化酶的合成提供原料,同时,可以达到对高浓度铵循环的解毒效果,这可能是龙葵较非超富集植物更能富集 Cd 的一个原因。虽然目前对超富集植物代谢组学的研究已有不少,但多是氮代谢方面的研究,鲜有较为系统全面的代谢组学分析,尤其是有关龙葵超富集 Cd 的机制方面很少涉及代谢途径的研究。

从分子水平看,目前有关龙葵对 Cd 超富集的转录组学、蛋白质组学以及代谢组学分析研究甚少。基因的转录调控在超富集植物体内的金属稳态中起着重要作用^[62];在研究植物应对非生物胁迫时可使用蛋白质组学方法,由蛋白质相对丰度变化得到其详细信息,所以研究蛋白质组相互作用网络十分重要,可以进一步了解植物适应胁迫的机制;植物超富集重金属的机制与植物体内各种代谢活动都有重要关联。因此,在植物超富集重金属的机理研究中深

人对其代谢组学的研究十分重要。

4 总结与展望 (Summary and prospect)

如前所述,龙葵作为一种 Cd 超富集植物,其根系具有快速从土壤中吸收 Cd 的能力,并将其有效转运至地上部。面对 Cd 胁迫,龙葵具有较强的体内解毒能力。在生理生化水平上,龙葵体内的多种金属配位体可与 Cd 离子结合,形成无毒或毒性较小的沉淀或螯合物,也可将 Cd 区隔化,使其累积在特定器官或细胞部位,以此减轻 Cd 对龙葵的毒害;龙葵在超富集 Cd 的过程中,抗氧化系统会作出相应的响应,以维持植物体内的活性氧平衡,使龙葵对 Cd 的耐受性强于非超富集植物;龙葵体内的柠檬酸、苹果酸和乙酸与 Cd 的络合作用可以使龙葵缓解 Cd 的毒害;Cd 胁迫下龙葵体内积累的脯氨酸和可溶性蛋白有助于维持细胞正常渗透压,从而提高龙葵的耐 Cd 性;光合和呼吸作用是植物体内最重要的化学反应,一定浓度范围的 Cd 胁迫下龙葵能尽力维持光合和呼吸作用。在分子水平上,在 Cd 的诱导下,龙葵重金属转运基因和合成植物螯合素有关基因的表达会随着 Cd 的积累而增加;龙葵的防御响应相关蛋白和能量代谢相关蛋白在 Cd 的毒害下,表达有所上调;龙葵在 Cd 胁迫下体内参与氮代谢的多种酶活性提高,增强了氮代谢效率。

目前,关于运用龙葵对 Cd 污染土壤的修复,主要是集中于修复效率和措施方面。虽然已有很多关于龙葵超富集 Cd 的机制研究,但大部分是关于抗氧化系统、光合作用和重金属在细胞内分布等,关于分子机制的研究还较为薄弱。重金属对植物的毒害效应是多方面的,并且植物对重金属的富集和解毒机制也十分复杂^[63]。MacNair^[64]曾经提出,植物对重金属的解毒机制是由多基因控制的,所以,重金属对植物的毒害效应以及植物的解毒机制是植物的各种生理过程的综合效应。Cd 的积累是一个复杂的生物过程,涉及到根部与叶片之间的基因调控网的有效协调。在今后对龙葵修复 Cd 污染土壤的研究中,应加强对龙葵富集 Cd 的分子机制研究,如代谢机理的分子解析、Cd 转运和耐 Cd 基因的克隆、转基因研究、风险评估以及蛋白组学和代谢组学分析等。若能从基因编辑技术方面对龙葵的修复效率进行改善,向龙葵体内转入一些能够在 Cd 胁迫下高表达的重金属转运基因,或许能取得更好的修复效果。目前,针对龙葵富集 Cd 后光合作用的响应调控机制仍不够清晰,今后可以结合 Farquhar 等^[65]提

出的光合生化模型(FvCB 模型)模拟和叶片超微结构观察等方法来研究龙葵光合作用对 Cd 的响应,以全面揭示龙葵叶片富集大量 Cd 后的光合响应机制。此外,龙葵对 Cd 耐性的精细调控的信号通路研究也不完善,今后需开展更多的工作。只有充分掌握植物吸收、转运、富集和耐受重金属的机制,才能在利用植物修复污染土壤的过程中采取更加精准高效的措施,提高野外条件下植物对重金属的富集效率,让植物修复技术得到更为普遍的应用和推广。

致谢:感谢昆明理工大学环境科学与工程学院博士生导师、美国马萨诸塞大学博士后张迪教授润色英文摘要。

通讯作者简介:王宏斌(1974—),男,博士,教授,博士生导师,主要研究方向为污染环境的生物修复、重金属污染区农作物食品安全。

参考文献 (References):

- [1] Khan A, Khan S, Khan M A, et al. The uptake and bioaccumulation of heavy metals by food plants, their effects on plants nutrients, and associated health risk: A review [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(18): 13772-13799
- [2] Zeng P, Guo Z, Xiao X, et al. Physiological stress responses, mineral element uptake and phytoremediation potential of *Morus alba* L. in cadmium-contaminated soil [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 189: 109973
- [3] Lai J, Liu Z, Luo X. A metabolomic, transcriptomic profiling, and mineral nutrient metabolism study of the phytotoxicity mechanism of uranium [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 386: 121437
- [4] Wei S, Zhou Q, Wang X, et al. A newly-discovered Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2005, 50(1): 33-38
- [5] Peng K J, Luo C L, Chen Y H, et al. Cadmium and other metal uptake by *Lobelia chinensis* and *Solanum nigrum* from contaminated soils [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2009, 83(2): 260-264
- [6] 唐秀梅, 龚春风, 周主贵, 等. 镉对龙葵(*Solanum nigrum* L.)根系形态及部分生理指标的影响[J]. *生态环境*, 2008, 17(4): 1462-1465
Tang X M, Gong C F, Zhou Z G, et al. Effects of cadmium on root morphology and some physiological indexes of *Solanum nigrum* L. [J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(4): 1462-1465 (in Chinese)
- [7] 王涛, 郭智, 奥岩松. 镉对龙葵幼苗生长的影响及镉富

- 集特性研究[J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2009, 27(3): 200-205
- Wang T, Guo Z, Ao Y S. Effects of Cd stress on growth and Cd-accumulation of *Solanum nigrum* L. seedlings [J]. Journal of Shanghai Jiaotong University: Agricultural Science, 2009, 27(3): 200-205 (in Chinese)
- [8] Patra J, Lenka M, Panda B B. Tolerance and co-tolerance of the grass *Chloris barbata* Sw. to mercury, cadmium and zinc [J]. New Phytologist, 1994, 128(1): 165-171
- [9] 罗琼, 葛青, 刘小京, 等. 重金属超富集植物龙葵对镉响应的蛋白组学分析[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(11): 85-92
- Luo Q, Ge Q, Liu X J, et al. Proteomic analysis of Cd-responsive proteins in hyper-accumulator *Solanum nigrum* [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2015, 23(11): 85-92 (in Chinese)
- [10] 杨肖娥, 龙新宪, 倪吾钟. 超积累植物吸收重金属的生理及分子机制[J]. 植物营养与肥料学报, 2002, 8(1): 8-15
- Yang X E, Long X X, Ni W Z. Physiological and molecular mechanisms of heavy metal uptake by hyperaccumulating plants [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2002, 8(1): 8-15 (in Chinese)
- [11] Gramss G, Voigt K D, Bergmann H. Plant availability and leaching of (heavy) metals from ammonium-, calcium-, carbohydrate-, and citric acid-treated uraniummine-dump soil [J]. Journal of Plant Nutrition Soil Science, 2004, 167: 417-427
- [12] Krishnamurti G S R, Huang P M, Van Rees K C J, et al. Speciation of particulate-bound cadmium of soils and its bioavailability [J]. The Analyst, 1995, 120: 659-665
- [13] Rizwan M, Meunier J D, Miche H, et al. Effect of silicon on reducing cadmium toxicity in durum wheat (*Triticum turgidum* L. cv. *Claudio* W.) grown in a soil with aged contamination [J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, 209: 326-334
- [14] Bao T, Sun T, Sun L. Low molecular weight organic acids in root exudates and cadmium accumulation in cadmium hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and nonhyperaccumulator *Solanum lycopersicum* L. [J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(75): 17180-17185
- [15] 孙月美. 土壤镉污染的龙葵、沸石修复及油葵响应研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2016: 39-43
- Sun Y M. Research on remediation by *Solanum nigrum* and zeolite, and response of oil sunflower of Cd contaminated soil [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2016: 39-43 (in Chinese)
- [16] Wong C K E, Cobbett C S. HMA P-type ATPases are the major mechanism for root-to-shoot Cd translocation in *Arabidopsis thaliana* [J]. New Phytologist, 2009, 181(1): 71-78
- [17] Xu J, Sun J, Du L, et al. Comparative transcriptome analysis of cadmium responses in *Solanum nigrum* and *Solanum torvum* [J]. New Phytologist, 2012, 196(1): 110-124
- [18] 张腾. 转 *IRT1* 基因龙葵毛状根体系的建立及其对镉胁迫响应的初步探讨[D]. 北京: 北京交通大学, 2016: 52-57
- Zhang T. Establishment of *IRT1* transgenic hairy roots line of *Solanum nigrum* L. and preliminary study on its response to cadmium stress [D]. Beijing: Beijing Jiaotong University, 2016: 52-57 (in Chinese)
- [19] Seregin I V, Kozhevnikova A D. Roles of root and shoot tissues in transport and accumulation of cadmium, lead, nickel and strontium [J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2008, 55(1): 1-22
- [20] 仇硕, 张敏, 孙延东, 等. 植物重金属镉(Cd^{2+})、吸收、运输、积累及耐性机理研究进展[J]. 西北植物学报, 2006, 26(12): 2615-2622
- Qiu S, Zhang M, Sun Y D, et al. Research progress on plant heavy metal cadmium (Cd^{2+}), absorption, transportation, accumulation and tolerance mechanism [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2006, 26(12): 2615-2622 (in Chinese)
- [21] 李志贤, 冯涛, 陈章, 等. 镉胁迫对龙葵镉的吸收积累及生理响应的影响[J]. 水土保持学报, 2017, 31(5): 331-336
- Li Z X, Feng T, Chen Z, et al. Effects of different levels Cd stress on Cd uptake and physiological response of *Solanum nigrum* L. [J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2017, 31(5): 331-336 (in Chinese)
- [22] 张玉秀, 柴团耀. 植物重金属调节基因的分离和功能[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 33
- Zhang Y X, Chai T Y. Isolation and Function of Heavy Metal Responsive Gene in Plant [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2006: 33 (in Chinese)
- [23] 孙正国. 龙葵对镉污染土壤的响应及其修复效应研究[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(10): 397-401
- [24] Mendoza-Cozatl D G, Moreno-Sanchez R. Control of glutathione and phytochelatin synthesis under cadmium stress. Pathway modeling for plants [J]. Journal of Theoretical Biology, 2006, 238(4): 919-936
- [25] Xu J, Yin H, Wang W, et al. Identification of Cd-responsive genes of *Solanum nigrum* seedlings through differential display [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2009, 27(4): 563-569
- [26] 张君诚, 孟玉环, 宋育红, 等. 植物 Ca^{2+} -CaM 信号系统

- 及其调控研究进展[J]. 重庆师范大学学报: 自然科学版, 2005, 22(4): 49-52
- Zhang J C, Meng Y H, Song Y H, et al. Research developments of Ca^{2+} -CaM signal system and its regulation in plant [J]. Journal of Chongqing Normal University: Natural Science Edition, 2005, 22(4): 49-52 (in Chinese)
- [27] Belcastro M, Marino T, Russo N, et al. The role of glutathione in cadmium ion detoxification: Coordination modes and binding properties—A density functional study [J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 2009, 103(1): 50-57
- [28] Mendoza-Cozatl D G, Jobe T O, Hauser F, et al. Long-distance transport, vacuolar sequestration, tolerance, and transcriptional responses induced by cadmium and arsenic [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2011, 14(5): 554-562
- [29] Huang J, Zhang Y, Peng J S, et al. Fission yeast HMT1 lowers seed cadmium through phytochelatin-dependent vacuolar sequestration in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2012, 158(4): 1779-1788
- [30] Zhu X F, Wang Z W, Dong F, et al. Exogenous auxin alleviates cadmium toxicity in *Arabidopsis thaliana* by stimulating synthesis of hemicellulose 1 and increasing the cadmium fixation capacity of root cell walls [J]. Journal of Hazardous Materials, 2013, 263: 398-403
- [31] 王姗姗. 龙葵对镉富集的主要特征研究[D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2013: 58-64
- Wang S S. Main characteristics of *Solanum nigrum* L. accumulating cadmium [D]. Beijing: Graduate School of Chinese Academy of Sciences, 2013: 58-64 (in Chinese)
- [32] Wei S, Zeng X, Wang S, et al. Hyperaccumulative property of *Solanum nigrum* L. to Cd explored from cell membrane permeability, subcellular distribution, and chemical form [J]. Journal of Soils and Sediments, 2014, 14(3): 558-566
- [33] AbdElgawad H, Zinta G, Hamed B A, et al. Maize roots and shoots show distinct profiles of oxidative stress and antioxidant defense under heavy metal toxicity [J]. Environmental Pollution, 2020, 258: 113705
- [34] Shahkolaie S S, Baranimotlagh M, Dordipour E, et al. Effects of inorganic and organic amendments on physiological parameters and antioxidant enzymes activities in *Zea mays* L. from a cadmium-contaminated calcareous soil [J]. South African Journal of Botany, 2020, 128: 132-140
- [35] Wang J, Wang H, Chen J, et al. Xylem development, cadmium bioconcentration, and antioxidant defense in *Populus×euramericana* stems under combined conditions of nitrogen and cadmium [J]. Environmental and Experimental Botany, 2019, 164: 1-9
- [36] Rehman M Z U, Rizwan M, Ali S, et al. Remediation of heavy metal contaminated soils by using *Solanum nigrum*: A review [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2017, 143: 236-248
- [37] Khan A R, Ullah I, Khan A L, et al. Phytostabilization and physicochemical responses of Korean ecotype *Solanum nigrum* L. to cadmium contamination [J]. Water, Air, & Soil Pollution, 2014, 225(10): 2147
- [38] Xu J, Zhu Y, Ge Q, et al. Comparative physiological responses of *Solanum nigrum* and *Solanum torvum* to cadmium stress [J]. New Phytologist, 2012, 196(1): 125-138
- [39] Sun R L, Zhou Q X, Sun F H, et al. Antioxidative defense and proline/phytochelatin accumulation in a newly discovered Cd-hyperaccumulator, *Solanum nigrum* L. [J]. Environmental and Experimental Botany, 2007, 60(3): 468-476
- [40] Fidalgo F, Freitas R, Ferreira R, et al. *Solanum nigrum* L. antioxidant defense system isozymes are regulated transcriptionally and posttranslationally in Cd-induced stress [J]. Environmental and Experimental Botany, 2011, 72(2): 312-319
- [41] Thiel J, Rolletschek H, Friedel S, et al. Seed-specific elevation of non-symbiotic hemoglobin *AtHb1*: Beneficial effects and underlying molecular networks in *Arabidopsis thaliana* [J]. BMC Plant Biology, 2011, 11(1): 48
- [42] Rai P K, Kim K H, Lee S S, et al. Molecular mechanisms in phytoremediation of environmental contaminants and prospects of engineered transgenic plants/microbes [J]. Science of the Total Environment, 2020, 705: 135858
- [43] Tao Q, Zhao J, Li J, et al. Unique root exudate tartaric acid enhanced cadmium mobilization and uptake in Cd-hyperaccumulator *Sedum alfredii* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 383: 121177
- [44] Hussain A, Amna, Kamran M A, et al. Individual and combinatorial application of *Kocuria rhizophila* and citric acid on phytoextraction of multi-metal contaminated soils by *Glycine max* L. [J]. Environmental and Experimental Botany, 2019, 159: 23-33
- [45] Rai P K. Heavy metal phytoremediation from aquatic ecosystems with special reference to macrophytes [J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2009, 39(9): 697-753
- [46] Sun R, Zhou Q, Jin C. Cadmium accumulation in relation to organic acids in leaves of *Solanum nigrum* L. as a newly found cadmium hyperaccumulator [J]. Plant and Soil, 2006, 285(1-2): 125-134
- [47] UdDin I, Bano A, Masood S. Chromium toxicity tolerance of *Solanum nigrum* L. and *Parthenium hysterophorum*

- rus* L. plants with reference to ion pattern, antioxidation activity and root exudation [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, 113: 271-278
- [48] Al Khateeb W, Al-Qwasemeh H. Cadmium, copper and zinc toxicity effects on growth, proline content and genetic stability of *Solanum nigrum* L., a crop wild relative for tomato; comparative study [J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2014, 20(1): 31-39
- [49] Xu J, Yin H X, Li X. Protective effects of proline against cadmium toxicity in micropropagated hyperaccumulator, *Solanum nigrum* L. [J]. *Plant Cell Reports*, 2009, 28(2): 325-333
- [50] 汪敦飞, 郑新宇, 肖清铁, 等. 铜绿假单胞菌对镉胁迫苗期水稻根系活力及叶片生理特性的影响[J]. *应用生态学报*, 2019, 30(8): 2767-2774
- Wang D F, Zheng X Y, Xiao Q T, et al. Effects of *Pseudomonas aeruginosa* on root activity and leaf physiological characteristics in rice (*Oryza sativa* L.) seedling under cadmium stress [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(8): 2767-2774 (in Chinese)
- [51] 铁得祥, 胡红玲, 陈洪, 等. 桢楠幼树生长及抗性生理对镉胁迫的响应[J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2019, 47(12): 104-114
- Tie D X, Hu H L, Chen H, et al. Responses of growth and resistant physiology of *Phoebe zhennan* saplings to cadmium stress [J]. *Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition*, 2019, 47(12): 104-114 (in Chinese)
- [52] 郭智, 原海燕, 陈留根, 等. 镉胁迫对龙葵幼苗氮代谢及其相关酶活性的影响[J]. *生态环境学报*, 2010, 19(5): 1087-1091
- Guo Z, Yuan H Y, Chen L G, et al. Effect of cadmium on nitrogen metabolism and relative enzymes activity in *Solanum nigrum* L. seedling [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2010, 19(5): 1087-1091 (in Chinese)
- [53] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 第5版. 北京: 高等教育出版社, 2004: 274
- Pan R C. *Plant Physiology* [M]. Fifth Edition. Beijing: Higher Education Press, 2004: 274 (in Chinese)
- [54] Gao Y, Zhou P, Mao L, et al. Phytoextraction of cadmium and physiological changes in *Solanum nigrum* as novel cadmium hyperaccumulator [J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2010, 57(4): 501-508
- [55] 唐星林, 金洪平, 周晨, 等. 镉胁迫对龙葵叶绿素荧光和光合生化特性的影响[J]. *中南林业科技大学学报*, 2019, 39(9): 102-108
- Tang X L, Jin H P, Zhou C, et al. Effects of cadmium stress on chlorophyll fluorescence and photosynthetic biochemical characteristics in leaves of *Solanum nigrum* [J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2019, 39(9): 102-108 (in Chinese)
- [56] Clemens S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants [J]. *Biochimie*, 2006, 88(11): 1707-1719
- [57] Tang L, Yao A, Yuan M, et al. Transcriptional up-regulation of genes involved in photosynthesis of the Zn/Cd hyperaccumulator *Sedum alfredii* in response to zinc and cadmium [J]. *Chemosphere*, 2016, 164: 190-200
- [58] Yang S, Zu Y, Li B, et al. Response and intraspecific differences in nitrogen metabolism of alfalfa (*Medicago sativa* L.) under cadmium stress [J]. *Chemosphere*, 2019, 220: 69-76
- [59] Boussama N, Ouariti O, Suzuki A, et al. Cd-Stress on nitrogen assimilation [J]. *Journal of Plant Physiology*, 1999, 155(3): 310-317
- [60] 李燕, 路艳艳. 重金属对超富集植物生态毒理和氮代谢影响机制研究进展[J]. *吉林农业: 学术版*, 2010(10): 45, 48
- [61] 柴小清, 印莉萍, 刘祥林, 等. 不同浓度的 NO_3^- 和 NH_4^+ 对小麦根谷氨酰胺合成酶及其相关酶的影响[J]. *植物学报*, 1996, 38(10): 803-808
- Chai X Q, Yin L P, Liu X L, et al. Influence of different concentrations of NO_3^- and NH_4^+ on the activity of glutamine synthetase and other relevant enzymes of nitrogen metabolism in wheat roots [J]. *Acta Botanica Sinica*, 1996, 38(10): 803-808 (in Chinese)
- [62] Yan Y Y, Yang B, Lan X Y, et al. Cadmium accumulation capacity and resistance strategies of a cadmium-hypertolerant fern-*Microsorium fortunei* [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 649: 1209-1223
- [63] 陈镔, 谭淑端, 董方旭, 等. 重金属对植物的毒害及植物对其毒害的解毒机制[J]. *江苏农业科学*, 2019, 47(4): 34-38
- Chen B, Tan S D, Dong F X, et al. Toxic effects of heavy metals on plants and detoxification mechanism of plants [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2019, 47(4): 34-38 (in Chinese)
- [64] MacNair M R. Tolerance of Higher Plants to Toxic Materials [M]// Bishop J M, Cook L M. (ed.) *Genetic Consequences of Man-made Change*. London & New York: Academic Press, 1981: 177-208
- [65] Farquhar G D, von Caemmerer S, Berry J A. A biochemical model of photosynthetic CO_2 assimilation in leaves of C_3 species [J]. *Planta*, 1980, 149: 78-90