

土壤 Cd Zn 复合污染对小麦根系植物络合素和谷胱甘肽合成的影响

孙 琴, 王 超

(河海大学浅水湖泊综合治理与资源开发教育部重点实验室, 河海大学环境学院, 江苏 南京 210098)

摘 要:采用盆栽试验研究了土壤外源 Cd、Zn 复合污染对小麦根系植物络合素(PCs)和谷胱甘肽(GSH)合成的影响。结果显示,土壤外源较高浓度 Cd($3\sim 27\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)抑制了小麦的生长,而单 Zn 处理($80\sim 720\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)对其生长无影响,Cd+Zn 复合处理减缓了 Cd 的毒性,但 Zn 的缓解作用有限;单 Zn 处理小麦根内未检出 PCs,仅检出 GSH,但 GSH 并没有随 Zn 浓度的增加而增加。随 Cd 处理浓度($\geq 1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)的增加,小麦根内 PCs 和 GSH 的含量显著增加,Cd+Zn 复合处理降低了小麦根内 PCs 和 GSH 的合成水平,并随 Zn 浓度的增加降低作用更趋明显。回归分析显示,Cd 及 Cd+Zn 复合污染下小麦根内 PCs 和 GSH 的含量与小麦地上部生物量的抑制率保持相当好的线性关系。结果表明,PCs 和 GSH 对 Cd 的暴露表现出很强的专一性,可用于指示土壤环境中 Cd 及 Cd 和 Zn 复合污染的毒性。

关键词:重金属;镉;锌;复合污染;小麦;植物络合素;谷胱甘肽

中图分类号:X503.231 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)05-1913-06

Phytochelatin and Glutathione Synthesis in Roots of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Under Combined Pollution of Cd and Zn in a Pot Trial

SUN Qin, WANG Chao

(Ministry of Education Key Laboratory of Integrated Regulation and Resource Development on Shallow Lakes, College of Environmental Science and Engineering, Hohai University, Nanjing 210098, China)

Abstract:Phytochelatin(PCs)and glutathione(GSH)have been proposed as biomarkers for the assessment of metal toxicity. However, most studies have generally been confined to one metal exposure in hydroponics. In the present study, pot experiment was conducted to investigate the synthesis of PCs and GSH in roots of wheat(*Triticum aestivum* L.)under combined pollution of Cd and Zn. The results showed that higher concentrations of Cd added($3\sim 27\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)in soils showed toxicity and inhibited the growth of wheat, whereas single Zn treatments($80\sim 720\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)in soils had no effects on it. Zn addition under the single Cd-treated soils partly alleviated Cd toxicity, accompanied by the gradual increase of shoot biomass. High performance liquid chromatography fluorescence analysis clearly showed that GSH rather than PCs was detected in roots under the single Zn-treated soils, and yet did not increase with the increase of Zn concentrations added in soils. By contrast, PCs and GSH were significantly induced in roots under the single Cd-treated soils ($\geq 1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)and increased with the increase of Cd concentrations added in soils. Zn addition under the single Cd-treated soils decreased the levels of PCs and GSH in roots. There existed positively linear relationships between PCs concentrations, GSH concentrations in roots and inhibition rate of shoot biomass under both single Cd and combined treatments of Cd and Zn. This work further confirmed that PCs and GSH were highly sensitive to Cd exposure, and could be used as biomarkers for an evaluation of the toxicity of Cd or Cd and Zn combined pollution in soils.

Keywords:heavy metal; cadmium; zinc; combined pollution; *Triticum aestivum* L.; phytochelatin; glutathione

植物络合素(Phytochelatin,PCs)是外界重金属

胁迫诱导下细胞质中合成的一类低分子量富含半胱氨酸的巯基多肽化合物,基本结构式为($\gamma\text{-Glu-Cys}$) $n\text{-Gly}(n=2\sim 11$,常为 $2\sim 4$)^[1]。PCs 与谷胱甘肽(GSH)具有相似的结构,大量的生理、生化和遗传学研究表明 GSH 是 PCs 合成的底物^[1]。自 1985 年 PCs 发现以来,国际上对重金属胁迫诱导下 PCs 的合成及其发挥的

收稿日期:2008-05-19

基金项目:河海大学引进人才创新基金(2006402911);河海大学浅水湖泊综合治理与资源开发教育部重点实验室开放研究基金(2006KJ007)

作者简介:孙 琴(1976—),女,博士,主要从事重金属污染物的生物可利用性与微观毒害机理研究。E-mail:sunqinnj@hhu.edu.cn

生物学功能作了大量的研究,普遍认为 PCs 可作为细胞分子水平上一项敏感的生化指标指示重金属的毒性^[2-5]。目前,国内外大部分采用溶液培养方式研究单一重金属胁迫下 PCs 的响应。实际土壤环境中存在土壤胶体对重金属离子的吸附固定作用,重金属的赋存形态和生物有效性与溶液中差别很大,而土壤环境重金属胁迫下 PCs 响应的研究存在明显不足。

环境中单一重金属污染很少,往往是多种重金属并存,如 Cd 经常在 Pb/Zn 矿化过程中作为客体金属出现。当前对重金属复合污染下 PCs 的研究甚少^[3-4],在体外发现的重金属互作模式(如拮抗、协同、加合等)是否体现在 PCs 的合成过程中还不十分清楚。Sun 等^[2-4]采用溶液培养方式系统地研究了重金属胁迫下小麦体内 PCs 和 GSH 的响应合成规律,结果显示重金属胁迫下小麦体内 PCs 和 GSH 的响应合成具有明显的组织特异性,根系是其合成的主要部位,并提出 PCs 和 GSH 的合成水平可用于指示 Cd 及 Cd 与其他重金属复合污染的毒性,而溶液培养条件下的研究成果能否反映实际土壤环境重金属的污染水平仍缺乏研究。针对当前 PCs 研究的不足以及土壤环境和溶液环境中重金属生物有效性的差异,本文在前期大量研究工作的基础上^[2-4],参考土壤环境质量标准,进一步采用室内盆栽方式模拟污染土壤实际状况,研究了土壤外源 Cd 和 Zn 复合污染下小麦根系 PCs 和 GSH 的合成情况,为土壤 Cd、Zn 污染的早期诊断提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

仪器:美国 HP1100 高效液相色谱系统,包括自动脱气系统(G1322a)、四元泵系统(G1311A)、自动进样系统(G1313A)和 HP 荧光检测器(1046A)。色谱柱为 Vydac C18 柱(250 mm×4.6 mm,粒径为 5 μm)。美国公司生产的 5510E-DTH 型超声波清洗器。德国公司生产的 5417R 型低温离心机。

试剂:N-(2-羟乙基)哌嗪-N-3-丙磺酸(HEPPS>99.5%)、谷胱甘肽(GSH>98%)、半胱氨酸(Cys>98%)和三氟乙酸(TFA>99%)为 Sigma 产品。衍生试剂 monobromobimane(mBBBr>95%)、甲磺酸(MSA>99%)和二乙烯三胺五乙酸(DTPA>99%)为 Fluka 产品。乙腈(ACN,HPLC 级)为 Lab-Scan 产品。PC₂、PC₃ 和 PC₄ 标准品为美国多肽合成公司产品。实验用水均为 Mill-Q 水(18.3MΩ)。

土壤和植物:盆栽土壤采自江苏省邳江市瓜洲镇无公害农田生产基地的水稻土,土壤样品均采自表层(0~20 cm),新鲜土样室温下风干后,过 3 mm 尼龙筛用于盆栽试验。进一步细化用于土壤主要理化性状分析,分析方法参考文献[6]。土壤主要的理化性状:土壤 pH 为 6.85,总氮为 0.248%,总磷为 0.073%,总 Cd 为 0.3 mg·kg⁻¹ DW,总 Zn 为 60.3 mg·kg⁻¹ DW,总 Pb 为 35.6 mg·kg⁻¹ DW,总 Cu 为 20.3 mg·kg⁻¹ DW。供试植物材料为扬麦 10 号。

1.2 盆栽试验方法

将上述 500 g 自然风干土样装入棕色塑料盆,分别作单 Cd(0、0.5、1、3、9、27 mg·kg⁻¹)、单 Zn(0、80、240、720 mg·kg⁻¹)及 Cd+Zn 一一对应的复合处理,共 24 个处理,每处理重复 3 次,分别加入一定体积的 CdCl₂·2.5H₂O 和 ZnSO₄·7H₂O 的母液溶液和等量的 N(0.15 g·kg⁻¹ 土)、P₂O₅(0.10 g·kg⁻¹ 土)、K₂O(0.15 g·kg⁻¹ 土)基肥,充分混匀,放置平衡 3 周,每天及时补充因蒸发而损失的水分。3 周后直接播种小麦种子,每盆播 15 粒,等出苗后匀苗至 10 株,14 d 后收获小麦幼苗(两叶一心期),分成地上部和根系,先用自来水充分冲洗掉根表吸附的杂质,再用 20 mmol·L⁻¹ Na-ED-TA 交换 15 min,去除根系表面吸附的重金属,最后用去离子水冲洗干净,称地上部鲜重,地上部全部用于测定重金属总量,根系用于重金属总量和 PCs 等巯基化合物的分析测定。准确称取一定量的新鲜根系用液氮迅速固定,放在-40℃冰柜中保存,用以 PCs 等巯基化合物的分析测定。

1.3 分析测定方法

1.3.1 PCs 等巯基化合物的提取和测定

采用柱前衍生高效液相色谱法测定 PCs^[7,8]。

第一步 PCs 等巯基化合物的提取:参照 Sneller 等^[7]的方法。将液氮固定的鲜样组织放于研钵中,加入 2 mL 0.1% TFA(含 6.3 mmol·L⁻¹ DTPA)(pH<1)和少量石英砂,冰浴上充分研磨离心(4℃,10 000 g,10 min),上清液冷藏用于 PCs 等巯基化合物的分析测定。为避免巯基化合物接触空气的氧化损失,立即进行柱前衍生生化反应。

第二步 PCs 等巯基化合物的衍生化:以 0.1% TFA(内含 6.3 mmol·L⁻¹ DTPA)配置一定浓度的 Cys、GSH、PC₂、PC₃ 和 PC₄ 5 种巯基化合物的储备液,4℃保存。以 GSH 为例,用 0.1% TFA(内含 6.3 mmol·L⁻¹ DTPA)稀释成 1.25~160 ng·μL⁻¹ 的标准系列作为标准曲线确定植物组织中 Cys、GSH、PC₂、PC₃ 和 PC₄ 的含量。

标准样品和植物组织的衍生化反应相同: 即向 250 μL 标准液或植物组织上清液中加入 450 μL 200 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPPS (内含 6.3 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ DTPA, $\text{pH}=8.2$) 和 10 μL 25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ mBBr (100% ACN 准确配制), 充分混合 45 $^{\circ}\text{C}$ 反应, 30 min 后加入 300 μL 1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ MSA 终止反应, 摇匀转移至 Agilent 棕色顶空瓶内, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 直到 HPLC 分析测定。同时作试剂空白衍生化反应, 确定试剂空白杂质峰。

第三步 PCs 等巯基化合物的测定: 参照 Sneller 等^[7]和 Tang 等^[9]的分离方法和条件, 稍作改进。采用二元的梯度洗脱系统室温下分离 mBBr 衍生物。荧光检测器条件为: λ_{ex} (激发波长) 380 nm, λ_{em} (发射波长) 470 nm; 流动相 A 为 0.1% 的 TFA, 流动相 B 为 100% ACN; 流速为 0.5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 进样量为 50 μL ; 梯度洗脱程序: 12%~25% B (15 min), 25%~35% B (14 min), 35%~50% B (21 min); 洗柱: 100% B (5 min); 柱平衡: 12% B (10 min) 和柱后流动时间为 5 min。由 HP 工作站对峰面积积分, 以标准的 GSH 浓度对峰面积作标准曲线。参照 Sneller 等^[7]的方法, 将测得的 PCs 等巯基化合物的峰面积, 带入相应的 GSH 标准曲线方程, 以外标法计算植物样品中 PCs 等巯基化合物的浓度, 并按相应的衍生效率进行校正, 表示方法为 $\text{nmol}\cdot\text{SH}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$ 。

1.3.2 Cd 和 Zn 的测定方法

植株先用 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 湿灰化消解后, 采用原子吸收石墨炉分析 Cd 和 Zn 含量。

1.3.3 统计方法

试验数据用统计学方法进行处理 (软件 Excel2000)。采用 SPSS 统计分析软件包 (Windows 10.0) 对试验数据进行方差分析, 并采用 LSD (最小显著差数法) 进行平均数多重比较。

2 结果与讨论

2.1 小麦的生长状况

Cd 因其在土壤中的高度移动性和对作物的高度毒害性, 被视为重金属中最具有危害性的一种污染元素。林仁漳等^[10]初步确定土壤外源 Cd 对小麦幼苗的毒性临界点在 3.3~10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间。本研究显示 (见图 1), 低浓度 Cd 处理 (0.5~1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 对小麦地上部的生物量无显著影响, 而较高浓度 Cd 处理 (3~27 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 显著 ($P<0.05$) 降低小麦地上部的生物量, 并随 Cd 浓度的增加降低作用更明显。不同水平的 Zn 处理 (80~720 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 对小麦的生长无显著影响。无论是

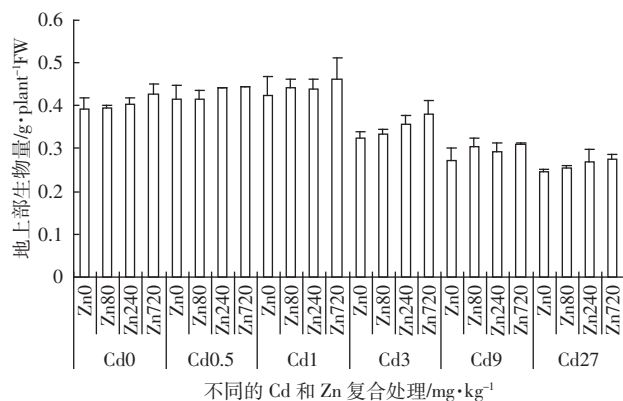


图 1 Cd 和 Zn 复合处理对小麦地上部生物量的影响

Figure 1 Effects of combined treatments of Cd and Zn on shoot biomass of wheat

低浓度 Cd 处理 (0.5~1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 还是较高浓度 Cd 处理 (3~27 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) Zn 的添加小麦地上部生物量均表现出逐渐增加的趋势, 但与对照相比 (CdZn_0) 没有达到显著水平。结果表明, 较高浓度 Cd 处理对小麦产生了一定的生理毒害, Zn 有缓解 Cd 毒的作用, 但其缓解作用有限。Cd 通常被认为具有强毒性的金属元素, 主要原因是 Cd 对生物体内硫代谢有强的亲和力有关。Cd 进入植物体后, 在局部积累, 易与具有生理活性的蛋白质或代谢酶上的巯基 ($-\text{SH}$) 结合, 破坏其结构和功能的发挥, 从而抑制植物的生长。

2.2 小麦体内 Cd 和 Zn 的吸收和积累

图 2 和图 3 分别显示了盆栽土培 Cd、Zn 单一和复合污染条件下小麦体内 Cd 和 Zn 的吸收和分布情况。小麦地上部和根系 Cd 和 Zn 的含量均随 Cd 和 Zn 处理浓度的增加而增加, 且根系明显高于地上部。两者复合污染下, Cd 处理中 Zn 的添加极显著地 ($P<0.01$) 降低了小麦地上部和根系 Cd 的含量, 这种降低

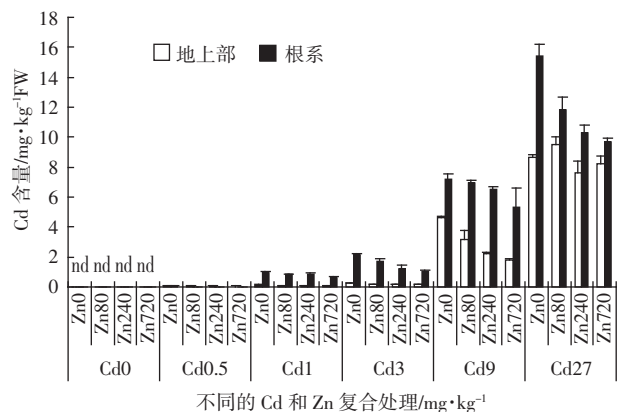


图 2 添加 Zn 对小麦 Cd 吸收的影响 (nd: 未检出)

Figure 2 Effects of Zn addition on Cd concentrations in shoots and roots of wheat. (nd means not detection)

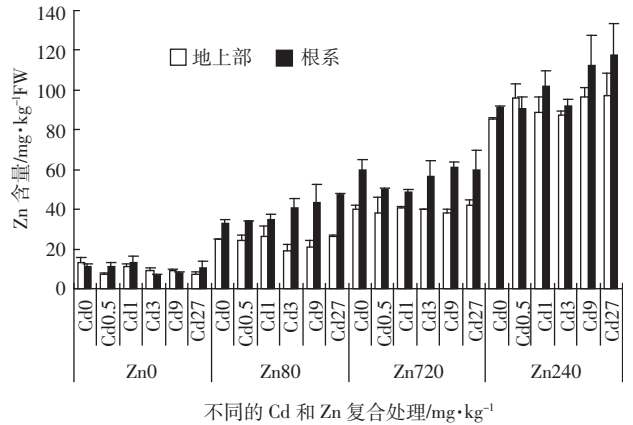


图 3 添加 Cd 对小麦 Zn 吸收的影响

Figure 3 Effects of Cd addition on Zn concentrations in shoots and roots of wheat

作用随 Zn 添加浓度的增加更明显(图 2),表明外源 Zn 抑制了小麦对 Cd 的吸收和积累。相反地,Zn 处理中,Cd 的添加不同程度地增加了小麦根系 Zn 的含量,表明 Cd 对 Zn 的吸收表现出促进作用。结果显示,两者在重金属吸收水平上表现出一定的互作效应,Zn 对 Cd 的吸收表现出拮抗效应,Cd 对 Zn 的吸收表现出协同效应。

2.3 小麦根系 PCs 和 GSH 的合成情况

由表 1 可见,单 Zn 处理土壤中生长的小麦根内未检出 PCs,仅检出 GSH,但 GSH 并没有随 Zn 浓度的增加而增加,表明 PCs 和 GSH 对 Zn 胁迫响应不敏感。随 Cd 处理浓度($\geq 1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)的增加小麦根内 PCs 的含量显著($P<0.05$)增加,且 GSH 的含量随 Cd

表 1 盆栽土培条件下 Cd 和 Zn 复合处理小麦根内 PCs 和 GSH 的含量

Table 1 Concentrations of phytochelatin and glutathione in roots of wheat under combined treatments of Cd and Zn in a pot trial

处理	PCs 浓度/nmol-SH·g ⁻¹ FW				GSH 浓度/nmol-SH·g ⁻¹ FW			
	Zn ₀	Zn ₈₀	Zn ₂₄₀	Zn ₇₂₀	Zn ₀	Zn ₈₀	Zn ₂₄₀	Zn ₇₂₀
Cd ₀	nd	nd	nd	nd	557a	580a	580a	557a
Cd _{0.5}	nd	nd	nd	nd	852a	815ab	720bc	680bc
Cd ₁	120a	100a	98.2a	65.5b	900a	871a	770b	670b
Cd ₃	300a	289ab	265b	163c	1 120a	866a	830ab	715b
Cd ₉	412a	401a	385a	301b	1 326a	1 177a	990a	830b
Cd ₂₇	503a	474a	408b	335c	1 402a	1 448a	1 130ab	1 080b

注:PCs 含量是 PC₂、PC₃ 和未鉴定 PCs 的总和;同一行中标有不同小写字母的数值表示存在 5%差异;nd:未检出。

Note:Phytochelatin data are reported as the sum of PC₂, PC₃ and unidentified iso-phytochelatin;different lower letters in the same line indicate significant difference at $P=0.05$;nd means not detection.

处理浓度的增加也显著($P<0.05$)增加,表明 Cd 胁迫对小麦根内 PCs 和 GSH 产生了明显的诱导效应,且对高浓度 Cd 胁迫响应更敏感。Cd 处理中 Zn 的添加降低了小麦根内 PCs 和 GSH 的合成水平,并随 Zn 添加浓度的增加降低作用更趋明显。生物量是反映植物生长发育状况的一个重要指标。本研究用小麦地上部生物量的抑制率衡量重金属毒性,小麦地上部生物量的抑制率($\%$)=[(对照植物地上部生物量-重金属处理植物地上部生物量)/对照植物地上部生物量] $\times 100\%$ 。回归分析结果显示,Cd 及 Cd 和 Zn 复合污染下小麦根内 PCs 的含量与重金属毒性之间存在极显著($P<0.01$)的正相关关系(见表 2),GSH 的含量与重金属毒性之间存在显著($P<0.05$)的正相关关系。

表 2 土壤 Cd 及 Cd 和 Zn 复合污染小麦根内 PCs、GSH 的含量与重金属毒性之间的关系

Table 2 Correlations between phytochelatin concentrations, glutathione concentrations in roots of wheat and metal toxicity under single Cd and combined treatments of Cd and Zn in soils, respectively

处理	PCs/nmol-SH·g ⁻¹ FW		GSH/nmol-SH·g ⁻¹ FW	
	方程	相关系数/r	方程	相关系数/r
Cd	$y_1=12.389x+45.58$	0.974 9**	$y_2=17.464x+776.6$	0.927 0*
Cd+Zn	$y_1=11.156x+46.754$	0.962 9**	$y_2=13.917x+728.68$	0.865 8*

注:回归方程中 y_1 、 y_2 与 x 分别代表 PCs 含量、GSH 含量和重金属毒性[以小麦地上部生物量的抑制率($\%$)来衡量];标注“*”和“**”表示相关系数达到统计显著($P=0.05$)和极显著($P=0.01$)水平。

Note:In the regressive equation, y_1 、 y_2 and x are phytochelatin concentrations,glutathione concentrations and metal toxicity expressed by inhibition rate of shoot biomass($\%$),respectively; r labeled by “*” and “**” indicates significant difference at $P=0.05$ and $P=0.01$,respectively.

PCs 合成酶是细胞质中 PCs 合成的关键酶,该酶是重金属离子激活才表现出活性,普遍认为 PCs 合成酶的 N-端含有 5 个保守的 Cys 残基(其中两个相邻)以及 1 个保守的 His 残基的活化位点,催化活性来源于重金属离子与 Cys 残基或 His 残基的结合。由于 Cd 与巯基(-SH)有很强的亲合力,因此 Cd 对 PCs 合成酶的活化效果最明显,根据活化位点是否处于饱和状态,Cd²⁺和其他重金属离子对 PCs 合成酶的激活存在协同、加合和竞争的效应^[11-13]。我们采用溶液培养方式系统地研究 Cd 和 Zn 复合暴露短期(7 d)和较长时间下(14 d)小麦体内 PCs 的合成,发现 Cd 和 Zn 复合暴露对小麦体内 PCs 的合成表现出早期的促进作用和后期的抑制作用^[3]。本研究进一步发现土壤外源 Cd 和 Zn 复合污染较长时间(14 d)对小麦

根内 PCs 的合成表现出抑制作用。由以上推测, Cd 和 Zn 共存的早期, 进入细胞质的少量 Cd 和 Zn 可能共同激活 PCs 合成酶的催化活性中心, 进而增强 PCs 的合成, 即在分子水平上两者表现出协同作用的模式。随着胁迫时间的延长, Cd 和 Zn 在吸收上出现竞争效应, Zn 显著降低 Cd 的吸收, 因 Cd 对 PCs 的诱导效果远强于 Zn, 所以 PCs 的合成相应地降低, 表现出抑制效应。

重金属胁迫下高等植物中 PCs 的响应是植物对重金属伤害的一种应激生理反应, 其合成水平的高低与细胞内胁迫重金属的数量存在显著的正相关关系, 细胞内 PCs 的诱导量可看作是重金属污染的早期预警指标。目前已经有大量的试验结果证明 PCs 的生物标记物作用^[2-5, 14, 15], 不足的是这些结果多是建立在水培试验的基础上, PCs 作为生物标记物能否指示实际土壤环境中重金属的污染水平仍缺乏报道。本研究采用土壤外源 Cd 和 Zn 复合污染进一步证实 PCs 可用于指示土壤 Cd 及 Cd 和 Zn 复合污染的生物毒性。土壤较高浓度 Cd ($3\sim 27\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 及其与 Zn 的复合处理对小麦产生了一定的毒害, 同时检测到小麦根内 PCs 的大量合成, Zn 的添加减缓了 Cd 的毒性并伴随小麦根内 PCs 诱导量的降低。另值得注意的是 $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 处理及其与 Zn 的复合处理对小麦的生长没有影响, 但在其根系中却检出 PCs, 表明此重金属污染状况下小麦体内 Cd 的生物有效性处于较高水平, 进而诱导细胞质中 PCs 的合成, 因此为低浓度 Cd 污染的生态风险评价提供了可能。

GSH 普遍存在于植物体内, 其合成水平的高低与植物对各种生物异源物质及生物与非生物环境的胁迫密切相关^[16]。Alscher^[17]认为植物体内 GSH 水平的提高不仅与植物对环境胁迫的忍耐有关, 而且 GSH 合成的增强似乎是植物对环境胁迫的内在响应之一, 为其作为生物标记物提供了可能。大量研究表明, 植物或细胞用重金属处理后, 随着 PCs 诱导量的增加, GSH 水平相应的下降, 两者表现出相互消长的关系^[18-20]。本研究发现小麦根系内 GSH 对 Cd 或 Cd 和 Zn 复合污染响应敏感, 并随 Cd 处理浓度的增加而增加, 且与 Cd 或 Cd 和 Zn 复合污染的毒性保持了相当好的线性关系, 表明 GSH 可以作为 Cd 或 Cd 和 Zn 复合污染的生物标记物。类似的结果在其他植物中也被观察到, 如 *Phragmites australis*^[21]、*Lactuca sativa*^[22] 和 *Pistia stratiotes* L.^[23]。植物体内 GSH 可以多种方式参与抵抗重金属胁迫, 如 PCs 合成的底物、重金属螯合剂、抗

氧化剂等^[1, 16-17, 24], 有意义的探索在于 GSH 主要以何种角色参与植物抵抗重金属的胁迫。

3 结论

土壤外源较高浓度 Cd ($3\sim 27\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 对小麦产生了明显的毒害, 而本试验设置的 Zn 浓度范围 ($80\sim 720\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 对小麦未产生毒害, Zn 有减缓 Cd 毒的作用, 但其作用有限; 在重金属吸收水平上两者表现出一定的互作效应, Zn 对 Cd 的吸收表现出拮抗效应, Cd 对 Zn 的吸收表现出协同效应; 小麦根内 PCs 和 GSH 对 Zn 胁迫响应不敏感, 而对较高浓度 Cd 胁迫 ($1\sim 27\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 响应敏感, 并随 Cd 处理浓度的增加而显著增加, Zn 的添加降低了 Cd 处理小麦根内 PCs 和 GSH 的合成水平, 并随 Zn 浓度的增加降低作用更明显; Cd 及 Cd 和 Zn 复合处理下小麦根内 PCs 和 GSH 的含量与重金属毒性紧密相关, 因此 PCs 和 GSH 可作为生物标记物用于土壤 Cd 及 Cd 和 Zn 复合污染的早期预警和生态风险评价。

参考文献:

- [1] Cobbett C S. Phytochelatin biosynthesis and function in heavy-metal detoxification[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2000, 3: 211-216.
- [2] Sun Q, Wang X R, Ding S M, et al. Effects of exogenous organic chelates on phytochelatin production and its relationship with Cd toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.) under Cd stress[J]. *Chemosphere*, 2005a, 60: 22-31.
- [3] Sun Q, Wang X R, Ding S M, et al. Effects of interactions between cadmium and zinc on the phytochelatin and glutathione production in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Environ Toxicol*, 2005b, 20 (2): 195-201.
- [4] Sun Q, Wang X R, Ding S M, et al. Effects of interaction between cadmium and lead on phytochelatin and glutathione production in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *J Integr Plant Biol*, 2005c, 47 (4): 435-442.
- [5] Katja K, Ahner B, Xue H B, et al. Metals and phytochelatin content in phytoplankton from freshwater lakes with different metal concentrations[J]. *Environ Toxicol Chem*, 1998, 17: 2444-2452.
- [6] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法 [M]. 北京: 中国农业科学出版社, 1999.
- [7] LU Ru-kun. Analytical methods of agricultural chemistry in soils [M]. Chinese Agricultural Science Press, 1999.
- [8] Sneller F E C, Van Heerwaarden L M, Koevoets P L M, et al. Derivatization of phytochelatin from *Silene vulgaris*, induced upon exposure to arsenate and cadmium: comparison of derivatization with Ellman's reagent and monobromobimane[J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48: 4014-4019.
- [9] 孙 琴, 叶志鸿, 王晓蓉, 等. 柱前衍生反相高效液相色谱法同时测定植物络合素 (PCn) 等巯基化合物[J]. 南京大学学报, 2005, 41 (3): 304-310.

SUN Qin, YE Zhi-hong, WANG Xiao-rong, et al. Analysis of phytochelatin and other thiol-containing compounds by RP-HPLC with monobromobimane pre-column derivatization[J]. *J Nanjing University*, 2005, 41(3):304-310.

- [9] Tang D G, Schfer M M, Vang K, et al. Determination of dissolved thiols using solid-phase extraction and liquid chromatographic determination of fluorescently derivatized thiolic compounds[J]. *J Chromatogr A*, 2003, 998(31):23-40.

- [10] 林仁漳, 杜文超, 王晓蓉, 等. 土壤外源 Cd 胁迫对小麦幼苗生长自由基代谢及抗氧化酶活性的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(1):23-29.

LIN Ren-zhang, Du Wen-chao, WANG Xiao-rong, et al. Free radical metabolism and response of antioxidant enzymes in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) exposed to soil cadmium[J]. *J Agro-Environ Sci*, 2008, 27(1):23-29.

- [11] Nakazawa R, Takenaga H. Interactions between cadmium and several heavy metals in the activation of the catalytic activity of phytochelatin synthase[J]. *Soil Sci Plant Nutr*, 1998, 44(2):265-268.

- [12] Cobbett C S. A family of phytochelatin synthase genes from plants, fungal and animal species[J]. *Trends Plant Sci*, 1999, 4(9):335-337.

- [13] Ha S B, Smith A P, Howden R, et al. Phytochelatin synthase genes from *Arabidopsis* and the yeast *Schizosaccharomyces pombe*[J]. *Plant Cell*, 1999, (11):1153-1163.

- [14] De Knecht J A, Van Baren N, Ten Bookum W M, et al. Synthesis and degradation of phytochelatin in cadmium-sensitive and cadmium-tolerant *Silene vulgaris*[J]. *Plant Sci*, 1995, (106):9-18.

- [15] Sneller F E C, Noordover E C M, Ten Bookum W M, et al. Quantitative relationship between phytochelatin accumulation and growth inhibition during prolonged exposure to cadmium in *Silene vulgaris*[J]. *Ecotoxicology*, 1999, 8(3):167-175.

- [16] May M J, Vernoux T, Leaver C, et al. Glutathione homeostasis in plants: implications for environmental sensing and plant development[J]. *J Exp Bot*, 1998, 49(321):649-667.

- [17] Alscher R G. Biosynthesis and antioxidant function of glutathione in plants[J]. *Physiol Plant*, 1989, (77):457-464.

- [18] Jackson P J, Delhaize E, Kuske C R. Biosynthesis and metabolic roles of cadystins(γ -EC)n G and their precursors in *Datura innoxia*[J]. *Plant Soil*, 1992, (146):281-289.

- [19] Gupta M, Tripathi R D, Rai U N, et al. Role of glutathione and phytochelatin in *Hydrilla Verticillata* (L. f.) Royle and *Vallisneria Spiralis* under mercury stress[J]. *Chemosphere*, 1998, 37(4):785-800.

- [20] 徐照丽, 吴启堂, 依艳丽. 重金属植物螯合肽(PC)的研究进展[J]. 农业环境保护, 2001, 20(6):468-470.

XU Zhao-li, WU Qi-tang, YI Yan-li. Advanced progress of phytochelatin in plant[J]. *Agro-environmental Protection*, 2001, 20(6):468-470.

- [21] Iannelli M A, Pietrini F, Fiore L, et al. Antioxidant response to cadmium in *Phragmites australis* plants[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2002, (40):977-982.

- [22] Maier E A, Matthews R D, McDowell J A, et al. Environmental cadmium levels increase phytochelatin and glutathione in lettuce grown in a chelator-buffered nutrient solution[J]. *J Environ Qual*, 2003, (32):1356-1364.

- [23] Sanità di Toppi L, Vurro E, Rossi L, et al. Different compensatory mechanisms in two metal-accumulating aquatic macrophytes exposed to acute cadmium stress in outdoor artificial lakes[J]. *Chemosphere*, 2007, 68(4):769-780.

- [24] Vögeli-Lange R, Wagner G J. Relationship between cadmium, glutathione and cadmium-binding peptides (phytochelatin) in leaves of intact tobacco seedlings[J]. *Plant Sci*, 1996, (114):11-18.