

镉超积累植物及植物镉积累特性转基因改良研究进展

蔡利娟^{1,2}, 范仲学^{1*}, 全先庆¹, 张延新¹, 杜瑞雪¹

(1. 山东省农业科学院 高新技术研究中心, 山东省作物与畜禽品种改良生物技术重点实验室, 济南 250100; 2. 青岛农业大学 生命科学学院, 山东 青岛 266109)

摘要: 植物提取修复技术是一项既经济又环保的土壤镉(Cd)污染修复技术, 该技术的关键是筛选 Cd 超积累植物或利用基因工程手段改良植物以提高其 Cd 积累能力。人们已发现遏兰菜等 7 种 Cd 超积累植物及美人蕉等潜在的 Cd 超积累植物。还发现了许多与 Cd 耐受和积累能力有关的基因: (1) 编码与 Cd 积累、耐受有关酶的基因, 如细菌中的 ACC(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid), 植物中的 PCS(Phytochelatin Synthase) 基因; (2) 编码金属结合蛋白的基因: MT(Metallothionein)、转运蛋白(P-type ATPase、ABC 型转运器) 基因; (3) 其它相关基因: *Hvhspl17*、*PvSR2*(*Phaseolus vulgaris* stress-related gene number 2) 等。并将其中的一些基因转入到其它生物中, 提高了其对 Cd 的耐受性和积累量, 为实现 Cd 污染土壤修复的目标奠定基础。

关键词: 镉污染; 镉超积累植物; 转基因植物; 金属硫蛋白; 转运蛋白

中图分类号: Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2009)05-0658-06

Advances on screening of Cd-hyperaccumulators and transgenic improvement of plant in Cd-accumulation

CAI Li-Juan^{1,2}, FAN Zhong-Xue^{1*}, QUAN Xian-Qing¹,
ZHANG Yan-Xin¹, DU Rui-Xue¹

(1. High-tech Research Center, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory for Genetic Improvement of Crop, Animal and Poultry of Shandong Province, Jinan 250100, China;
2. College of Life Science, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

Abstract: Phytoextraction is an economic and environment-protected remediation technique of Cd-contaminated soils. The key is to screen Cd-hyperaccumulators or enhance the ability of Cd-accumulation by genetic engineering. Seven Cd-hyperaccumulators and some potential Cd-hyperaccumulators have been discovered. In addition, genes related with Cd accumulation in different organisms were studied. These genes included: (1) genes encoding Cd accumulation related enzymes, such as ACC of bacterial, PC synthase of plants; (2) genes encoding metal-chelatin, such as MT(Metalllothionein), transport protein; (3) other genes, such as *Hvhspl17*, *PvSR2*(*Phaseolus vulgaris* stress-related gene number 2). Some of these genes have been transformed to plants and microorganisms to enhance their cadmium tolerance and accumulation, which provides a new way for realizing the aim of remediation of Cd-contaminated soils.

Key words: Cd-contamination; Cd-hyperaccumulator; transgenic plant; metallothionein(MT); transport protein

工业生产、污水污泥处理和杀虫剂、杀真菌剂、(McLaughlin 等, 1996; Williams & David, 1976; 石灰、磷肥等大量施用造成土壤 Cd 污染 Mortvedt & Osborn, 1982)。目前, 我国被 Cd 污染

收稿日期: 2008-03-31 修回日期: 2008-05-29

基金项目: 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金(2007BS06014); 山东省农业科学院青年基金[Supported by the Fund of Research Reward of Excellent Youth and Mid-Life Scientist in Shandong Province(2007BS06014); Youth Foundation of Shandong Agricultural Academy]

作者简介: 蔡利娟(1984-), 女, 山东济宁人, 硕士, 主要从事环境生物技术和生态修复等研究。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: fzhongxue@163.com)

的农田面积已超过 20 万 hm^2 ，每年生产的 Cd 含量超标的农产品达 14.6 亿千克（曹仁林等，1999）。Cd 不是植物生长必需元素，对植物具有较强的毒性，当土壤 Cd 污染达到一定程度，就会影响作物产量。更为严重的是，作物可食部位积累的 Cd，可通过食物链在人体内富集，危及人类的健康（Jackson 等，1971）。

植物修复最早由 Brooks 等（1977）提出，是利用超积累植物（hyperaccumulator）超量积累重金属的特性去除污染土壤中重金属的一项绿色的污染治理新技术，其中，最有发展前途的是植物提取修复技术。该技术的关键是筛选重金属超积累植物或利用基因工程手段改良植物以提高其重金属积累和耐受

能力。本文简单介绍了几种 Cd 超积累及潜在的 Cd 超积累植物，并且还重点介绍了与 Cd 积累和耐受相关基因及其转基因改良研究进展，从而为利用 Cd 超积累植物进行 Cd 污染土壤的修复奠定基础。

1 Cd 超积累及潜在 Cd 超积累植物

自从 1948 年 Minguzzi 等在意大利南部地区的富镍蛇纹石风化土壤中发现庭芥属（*Alyssums*）植物干叶组织中镍的含量达到 1% 以后，各国科学家陆续发现了很多重金属超积累植物。至今已发现的重金属超积累植物已有 400 余种，但 Cd 超积累植物总体上却很少，不过近年来，特别是我国在这方面

表 1 已发现的 Cd 超积累植物及其积累能力
Table 1 Hyperaccumulators of cadmium and their accumulation

植物种类 Species	地上部的 Cd 质量分数 (mg/kg)	富集系数 (EC)	转运系数 (TF)
遏兰菜 <i>Thlaspi caerulescens</i>	最高可达 3000	大于 1	大于 1
宝山堇菜 <i>Viola baoshanensis</i>	变化范围为 465~2310	2.38	平均为 1.32
油菜 <i>Brassica napus</i>	可达 177.58	大于 1	大于 1
东南景天 <i>Sedum alfredii</i>	叶和茎分别可达 5677 和 3274	大于 1	大于 1
龙葵 <i>Solanum nigrum</i>	变化范围为 103.8~124.6	2.68	$1.04 < \text{TF} < 1.27$
商陆 <i>Phytolacca acinosa</i>	变化范围为 200~482.25	$2.02 < \text{EC} < 5.52$	$1.67 < \text{TF} < 2.25$
叶用红苋菜 <i>Beta vulgaris</i> var. <i>cicla</i>	达 159.79	7.99	$1.64 < \text{TF} < 4.96$

有较大进展。

1.1 Cd 超积累植物

目前，人们已经发现了遏兰菜（Pence 等，2000；Lcombi 等，2000）、宝山堇菜（刘威等，2003）、油菜（王激清等，2003）、东南景天（熊愈辉等，2004）、龙葵（魏树和等，2005）、商陆（聂发辉，2006）和叶用红苋菜（李玉双等，2007）7 种 Cd 超积累植物（表 1）。研究表明，这些植物明显具有 Cd 超积累植物的基本特征：体内富集 Cd 的质量分数达到 100 mg/kg；富集系数（Enrichment coefficient, EC）和转运系数（Translocation factor, TF）均大于 1；生物量未受到明显抑制。

1.2 潜在的 Cd 超积累植物

有些植物的 Cd 积累能力虽然未达到 Cd 超积累植物的标准，但对 Cd 的植物修复研究仍有重要意义，我们将这些植物称为潜在的 Cd 超积累植物，主要有作物、挺水植物、观赏植物、沙漠植物及森林树种等。与 Cd 超积累植物相比，有些潜在的 Cd 超积累植物生物量大，积累 Cd 的总量多，可以弥补 Cd 超积累植物植株矮小、生物量低、土壤修复效率和速率都较低，而且不便于机械化操作等某些缺点，在

Cd 污染土壤的植物修复中具有重大的应用价值。

1.2.1 作物 Shumaker & Begonia（2005）发现冬小麦（*Triticum aestivum*）茎中可积累 26 mg/kg 的 Cd。曹德菊等（2004）发现，苕麻（*Triticum aestivum*）对 Cd 的富集系数最高达 9.95，对 Cd 污染的生物修复有较好的开发前景，通过进一步延长苕麻的修复期限，可望取得更好的修复效果。

1.2.2 挺水植物 李硕等（2006）的水培试验表明，当营养液 pH 值 4.7，Cd 含量为 136.6 $\mu\text{mol/L}$ 时，水葱（*Scirpus tabernaemontani*）积累的 Cd 达到最大值：地上部分 264.71 mg/kg，地下部分 234.39 mg/kg，平均转运系数 1.13。这显示它用于修复 Cd 污染水体的巨大潜力。韩志萍等（2005）研究发现，芦竹（*Arundo donax*）具有生物量大、根系发达、适应性强等特点，对 Cd 有较大积累量和较好的耐受性，在某种程度上符合 Cd 超积累植物的特点。水葱、芦竹等均可用于湿地和水体等 Cd 污染的修复。

1.2.3 观赏植物 研究发现，在含 Cd 5 mg/kg 的土壤 中生长 2 个月，美人蕉（*Canna generalis*）从土壤中带走的 Cd 量为 3.60 t/（ $\text{hm}^2 \cdot \text{月}$ ），能有效地积累 Cd，可能是潜在的 Cd 超积累植物（吴双桃，

2005)。当土壤中 Cd 的浓度小于 100 mg/kg 时,蜀葵(*Athaea rosea*)地上部分的 Cd 积累量大于根中的积累量;当土壤中 Cd 的浓度为 100 mg/kg 时,地上部的积累量可达 100 mg/kg,达到 Cd 超积累植物的积累量(Liu 等,2007)。另外,利用观赏植物来修复土壤,还能达到美化环境的目的。

1.2.4 沙漠植物 适于在沙漠中生长的植物风滚草(*Salsola kali*)的根、茎和叶中积累的 Cd 分别可达 2 696、2 075、2 016 mg/kg(De 等,2004)。Cd 在风滚草干叶组织中的积累量说明它是一种潜在的 Cd 超积累植物。风滚草可用于修复 Cd 污染的沙漠或类似沙漠的一些土壤。

1.2.5 森林树种 除了研究较为深入的草本植物以外,许多森林树种也能够用来去除污染土壤中的 Cd。Beaupre 在法国北部一个污染区白杨林中取样,分析发现 Cd 含量高达 209 mg/kg(文秋红等,2006)。森林树种生物量比较大,积累的 Cd 相对草本植物来说,也比较大,但是生长周期比较长,而且长期种植也会使土壤贫瘠化,不再适于种植作物。基于上述原因,利用森林树种进行 Cd 污染土壤的修复不太实际。

2 利用转基因技术改良植物的 Cd 积累特性

目前筛选出的 Cd 超积累植物大多植株矮小、生物量低、对 Cd 污染土壤修复效率和速率都较低,而且不便于机械化操作,很难大规模应用。因此,利用转基因技术对植物的 Cd 积累特性进行改良具有重要价值,引起了各国科学家的广泛关注,已取得重要进展。

利用转基因技术改良植物可从两个方面进行:(1)对生物量高和生长快的植物,可通过大量表达与 Cd 耐受或积累有关的关键酶基因来提高植物的 Cd 超积累能力,重点是提高其对 Cd 的积累量和耐受力。(2)对人类食物来源的作物,主要是减少 Cd 在其可食部位的累积,使其正常生长且产量品质不受影响。这又分两种情况,对耐 Cd 作物,需要研究 Cd 在其体内的具体转运机制,研究与转运相关的蛋白和基因,通过敲除与转运到可食部位相关的转运蛋白基因,从而限制其在可食部位的积累;对不耐 Cd 作物,将其它生物中与 Cd 耐受和积累有关的基因转到这些作物中,并通过使用特异性启动子使其在

非食用部位表达,既达到修复的目的,又不会使其食用品质受到影响。目前,前一种情况研究进展较快。

目标基因导入其它植物最关键的一步是鉴定和克隆在重金属排异和超积累中起决定作用的基因,并探明其中特定的分子生物学机制。随着分子生物学技术的发展,越来越多的重金属排异或积累基因从植物、微生物和动物中陆续分离出来。目前从细菌、真菌、植物和动物中已克隆鉴定了一些 Cd 抗性或积累基因,并将其转入其它植物中进行表达,提高了植物的 Cd 积累量和耐受性。这些基因主要包括编码与 Cd 积累和耐受有关酶的基因、编码金属结合蛋白基因及其它相关基因。

2.1 编码与 Cd 积累和耐受有关酶的基因及转基因

细菌脱氨基酶基因(ACC, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid)的表达能促进植物持续生长,提高植物对 Cd 的吸收,在某些情况下,还能提高 Cd 在茎叶中的比例。Varvara 等(2000)将细菌的 ACC 转到番茄(*Lycopersicon esculentum*)后,在启动子 35S、*rolD* 和 *PRB-1b* 的控制下,提高了番茄对 Cd 的耐性,且不同程度地提高 Cd 在植物组织中的积累,尤其是在 *PRB-1b* 启动子的控制下,番茄对 Cd 的积累能力提高了 5 倍,叶中 Cd 的浓度达到 35 mg/kg。研究还发现,大肠杆菌的谷氨酰半胱氨酸合成酶基因(*gsh I*)和谷胱甘肽合成酶基因(*gsh II*)融合体过量表达的印度芥菜(*Brassica juncea*)转基因植株比对照积累更多的 Cd(Zhu 等,1999),原因是大肠杆菌的 *gsh II* 在胞质中过量表达,导致茎尖 Cd 的浓度达到 25%,茎尖总 Cd 积累量比对照高 2 倍(Howden 等,1992)。半胱氨酸合成酶催化半胱氨酸合成的最后一步反应,将半胱氨酸合成酶基因 cDNA 转入烟草中,发现该酶可在胞浆和叶绿体中表达,在培养基上生长的转基因烟草增强了对 Cd 的耐受性,并提高了地上部分的 Cd 积累量(Kawashim,2004)。

植物络合素(PC)是植物体内主要的解毒剂,在植物的耐 Cd 中起着重要的作用。PC 能与 Cd 形成配合物,促进 Cd 向液泡中运输。Matsumotoa 等(2004)对来源于拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的 PC 合成酶的序列分析表明,C-末端区域对该酶的活性起重要作用。Gisbert 等(2003)报道了向烟草中转入小麦 PC 合成酶基因 *Tapcs1* 后,转基因烟草比野生型对重金属 Cd 的耐受性大大增强。

Basile 等(2005)发现苔藓植物(*Lunularia*

Crucrata)在 Cd 存在下可分离到 4 组基因,其中 1 组被 Cd 激活,编码 γ -胱硫醚合酶。 γ -胱硫醚合酶可能与植物对 Cd 的耐受性有关,但是其作用机理还不明确,需要进一步研究。

虽然发现了很多与 Cd 耐受和积累有关的酶基因,但是其作用和调控机理不是很明确,还需要进一步研究。而且,转基因的报道也不是很多,用于实际 Cd 污染土壤的修复几乎没有成功的例子,这是一个重大的研究方向。

2.2 金属结合蛋白基因及其转基因研究

金属结合蛋白主要包括金属硫蛋白、转运蛋白等。某些金属结合蛋白具有金属特异性,如只隔离毒性金属(如 Cd),而不隔离重要的微量元素(如 Zn)。但是也有些金属结合蛋白的特异性不是很强,可以与两种或两种以上的重金属结合。

2.2.1 金属硫蛋白基因(MT)及其转基因 金属硫蛋白基因编码 MT,可与 Cd 等重金属螯合,从而解除重金属毒害。在改造能够忍耐和积累重金属的植物时,起初人们是将那些参与哺乳动物解毒作用的 MT 基因导入到植物中,增强转基因植物对 Cd 的耐受性,提高积累量或改变 Cd 在植物中的分布。转小鼠 MT 的烟草中,接近 20% 的植株可以在 200 $\mu\text{mol/L}$ Cd 浓度下正常生长,而对照野生烟草在 10 $\mu\text{mol/L}$ Cd 浓度下生长便受到严重抑制(Suh 等,1998)。

随后,人们逐渐将植物中的 MT 转到其它植物中,并取得了一些成就。将心叶烟(*Nicotiana glutinosa*)的 MT 转到烟草(*Nicotiana tabacum*)中,其对 Cd 的耐受性得到很大提高,可达 200 $\mu\text{mol/L}$ (Pan 等,1994)。Zhang 等(2004)从湿地植物香蒲(*Typhalatifolia*)中得到一种 II 型类 MT 的基因 TyMT,把 TyMT 转入拟南芥后,其对 Cd 的耐受性提高。Gorinova 等(2007)将麦瓶草(*Silene vulgaris*)的 MThis 转到烟草中,提高了其根和叶对 Cd 的积累量。

目前发现的 MT 比较多,用于研究的也比较多,可是其具体的分子机理并不是很清楚。研究表明 MT 除了参与重金属解毒外,还可缓解植物对干旱等逆境的胁迫。而 MT 基因是一个大家族,家族内的各个基因是否有明确的分工,是否存在相互作用,在同时受几种胁迫时,哪种基因编码的蛋白会发挥什么样的作用等等,仍待于进一步深入研究。

2.2.2 转运蛋白基因及转基因研究 大部分金属离子都是通过专一或通用的离子载体(如转运蛋白)进

入植物细胞的。跨膜的金属转运蛋白在重金属的吸收、木质部的装载与卸载以及液泡区室化过程中,可能起着决定性作用(Kupper 等,1999)。研究较多的有 ZIP 家族(Zinc and iron regulated transporter proteins)、CDF 家族(Cation diffusion facilitator)和 Nramp 家族(Natural resistance associated macrophage proteins)。P-type ATPase 是一种通过水解 ATP 进行跨膜运输的转运蛋白。拟南芥中 *AtHMA4* 编码的蛋白是一种 P-type ATPase,可通过向胞外主动排出过量的重金属 Cd 来提高对 Cd 的耐受性(Papoyan & Kochian,2004)。从遏蓝菜中分离到了与 *AtHMA4* 高度同源的 *TcHMA4*,编码蛋白 *TcHMA4* 是 P(1B)-type ATPase,其 C 末端有 9 个组氨酸残基,可结合 Cd,参与木质部 Cd 的装载(Papoyan & Kochian,2004;Parameswaran 等,2007)。将 *TcHMA4* 和 *AtHMA4* cDNA 在酵母中表达,结果发现表达后的酵母对 Cd 的敏感性提高了。同时,两种 HMA4 的表达量在根部都比地上部高,且 *TcHMA4* 较 *AtHMA4* 具更高水平的组成型表达(Mills 等,2003;Hanikenne 等,2005)。

ABC 型(ATP-binding cassette)转运器是一种种类繁多、分布广泛的跨膜转运器。衣藻(*C. reinhardtii*)线粒体转运体 CrCds1,可能是通过把 Cd 转运出线粒体而具有在 Cd 毒害下保护线粒体的功能(Hanikenne 等,2005)。*AtATM3* 是拟南芥中的 ABC 型转运器,基因表达分析显示,当用 Cd 处理时,根中 *AtATM3* 上调。*AtATM3* 过量表达的植物对 Cd 的抵抗力增强(Kim 等,2006)。在酿酒酵母(*S. cerevisiae*)中发现的另一个与 Cd 耐性有关的 ABC 型转运器是酵母 Cd 因子(Yeast cadmium factor, YCF1),是一种 MRP(Multidrug-resistance-associated protein)型 ABC 转运器。缺少 ScYCF1 转运体将导致对 Cd 敏感(Gueldry 等,2003)。过量表达 ScYCF1 的拟南芥对 Cd 的耐性增强(Song 等,2003)。在拟南芥中发现的 14 个 MRP 蛋白(*AtMRP1-14*)中,*AtMRP3* 被证实与 Cd 的解毒和转运有关(Bovet 等,2003),在 Cd 影响下,*AtMRP3* 基因表达上调,这个现象显然与植物器官中 Cd 的积累有关(Bovet 等,2003)。另外,在拟南芥中发现的 ABC 转运器 *AtPDR8* 可将 Cd 转运出或固定在质膜上(Kim 等,2007)。

拟南芥中的 *CAX2*(Calcium exchanger)具有转运 Cd 的活性,将拟南芥的 *CAX2* 转入烟草,转基因

烟草 Cd 的积累量得到提高(Gisbert 等,2003)。

这些转运蛋白就是重金属 Cd 的“中转站”,负责把 Cd 排出体外或者将其运到液泡等特定的区域以解除植物体对重金属的毒害作用。

2.3 其它相关基因的研究

在低 Cd 浓度(100 $\mu\text{mol/L}$ 和 1 000 $\mu\text{mol/L}$)下,水培的转基因烟草中可检测到 *Hvhspl7* 的活性,且活性高低依赖于 Cd 浓度和作用时间(Gulli 等,2005)。由此可以推断,*Hvhspl7* 编码的热激蛋白与植物对 Cd 的耐受性可能有一定的相关性,但是其具体机制还不是很明确。Zhang 等(2001)从 HgCl₂ 处理的蚕豆(*Phaseolus vulgaris*)cDNA 文库中分离出一种 *PvSR2*(*Phaseolus vulgaris stress-related gene number 2*)基因,是特异的重金属应答基因。转入 *PvSR2* 基因的 *Escherichia coli* DH5 α (Zhang 等,2001)和烟草(Chai 等,2003)对 Cd 的抗性增强。现已分离到 *PvSR2* 启动子的两个重金属特异诱导区域,I 区与动物 MT 基因重金属调节元件相似,II 区是新的重金属反应元件,这一发现为转基因植物提供了一个新的重金属诱导的启动子系统(Chai 等,2003;Qi 等,2007)。

3 展望

转基因技术的应用为重金属 Cd 污染土壤的植物修复提供了广阔的发展空间,可以弥补直接利用 Cd 超积累植物进行修复的种种缺陷。国内对受 Cd 胁迫植物的生理变化研究较多,比如,刘云国等(2005)通过水培试验,研究了 Cd 胁迫对萝卜幼苗活性氧的产生、脂质过氧化和抗氧化酶活性的影响。相比之下,国内对 Cd 污染土壤的转基因植物修复研究起步较晚,但近年来取得了一定成就。由于 Cd 污染状况呈加剧趋势,迫切需要加强对 Cd 超积累植物的筛选和进行植物转基因改良。

综合以上的研究成果和目前 Cd 污染状况,今后应加强以下几方面工作:(1)继续寻找中国特有 Cd 超积累植物,并注意寻找那些具有较好的重金属富集能力与较高生物量的植物。重点研究其超积累机制,特别是分子机制,为进行植物转基因改良提供基础;(2)引进国外 Cd 超积累植物及其耐受和积累 Cd 的转基因植物和相关修复技术,进一步完善我国的修复技术;(3)寻找其它生物中与 Cd 耐受和积累的有关基因并将其转入到其它植物中,对植物进行

定向改造,提高其对 Cd 的特异性吸收和积累,达到特异修复 Cd 污染土壤的目的。在运用转基因技术对植物进行改良时,应探明并选用不同的启动子,使重金属 Cd 主要积累在枝叶部。对于粮食作物以及蔬菜,则应研究如何应用基因工程技术减少 Cd 在可食部分的积累量;(4)可考虑运用蛋白质工程的一些方法和技术对翻译出的与 Cd 积累和耐受有关的蛋白(特别是一些关键酶)进行修饰和改造,改变其性质,使其更容易通过螯合 Cd 或其它途径参与 Cd 的解毒作用;(5)建立一套完善的 Cd 超积累植物修复技术应用的风险评估体系。引种外地 Cd 超积累植物时必须考虑到应用后可能引起的后果,比如生物入侵问题;(6)综合治理受 Cd 污染土壤,将转基因植物修复技术与传统的化学、物理方法等技术结合起来,最终建立一套合理、高效、经济的修复技术。并加大将植物修复技术从实验室转移到 Cd 污染环境中的力度,让这一技术得到真正意义上的应用。

参考文献:

- Basile A, Nuzzor AD, Capasso D. 2005. Effect of cadmium on gene expression in the Liverwort *Lunularia cruciata*[J]. *Gene*, **356**: 153—159
- Bovet L, Eggmann T, Meylan-Bettex M, et al. 2003. Transcript level of AtMRPs after cadmium treatment; induction of AtMRP3 [J]. *Plant Cell Environ*, **26**: 371—381
- Brooks RR, Lee J, Reeves RD. 1977. Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium species of indicator plants[J]. *J Geochem Explor*, **7**: 49—77
- Cao DJ(曹德菊), Zhou SB(周世杯), Xiang J(项剑). 2004. Tolerance to Cd in soil and its accumulation effect(苎麻对土壤中镉的耐受和积累效应研究)[J]. *Plant Fibers and Products*(中国麻业), **26**(6): 272—274
- Cao RL(曹仁林), Jia XK(贾晓葵), Zhang JS(张建顺). 1999. Prevention and treatment of Cd-contaminated rice soil(Cd 污染水稻防治研究)[J]. *Tianjin Agric-fore Sci Tech* (天津农林科技), (6): 12—17
- Chai TY, Chen Q, Zhang YX, et al. 2003. Cadmium resistance in transgenic tobacco plants enhanced by expressing bean heavy metal-responsive gene *PvSR2*[J]. *Sci China Ser C Life Sci*, **46**: 623—630
- De la Rosa G, Peralta-Videa JR, Montes M, et al. 2004. Cadmium uptake and translocation in tumbleweed(*Salsola kali*), a potential Cd-hyperaccumulator desert plant species: ICP/OES and XAS studies[J]. *Chemosphere*, **55**(9): 1 159—1 168
- Gisbert C, Ros R, De Haro A, et al. 2003. A plant genetically modified that accumulates pb is especially promising for phytoremediation[J]. *Biochemistry Biophysics Res Commun*, **303**(2): 440—445
- Gueldry O, Lazard M, Delort F, et al. 2003. Ycf1p-dependent Hg(II) detoxification in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Europe J*

- Biochemistry, **270**(11): 2 486—2 496
- Gorinova N, Nedkovska M, Todorovska E, *et al.* 2007. Improved phytoaccumulation of cadmium by genetically modified tobacco plants (*Nicotiana tabacum*). Physiological and biochemical response of the transformants to cadmium toxicity[J]. *Environ Pollution*, **145**(1): 161—170
- Gulli M, Rampino P, Lupotto E, *et al.* 2005. The effect of heat stress and cadmium ions on the expression of a small HSP gene in barley and maize[J]. *J Cereal Sci*, **42**(1): 25—31
- Han ZP(韩志萍), Hu XB(胡晓斌), Hu ZH(胡正海). 2005. Phytoremediation of mercury and cadmium polluted wetland by *Arundo donax*(芦竹修复镉汞污染湿地的研究)[J]. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报), **16**(5): 945—949
- Hanikenne M, Motte P, Wu MCS, *et al.* 2005. A mitochondrial half-size ABC transporter is involved in cadmium tolerance in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Plant Cell Environ*, **28**(7): 863—873
- Howden R, Cobbett CS. 1992. Cadmium-sensitive mutants of *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Physiol*, **107**: 1 067—1 073
- Jackson AP, Antonovičs I, Bradshaw AD. 1971. Heavy metal tolerance in plants[J]. *Adv Ecol Res*, **7**: 1—10
- Kawashima CG, Noji M, Nakamura M, *et al.* 2004. Heavy metal tolerance of transgenic tobacco plants over-expressing cysteine synthase[J]. *Biotechnology Letter*, **26**(2): 153—157
- Kim DY, Bovet L, Kushnir S, *et al.* 2006. AtATM3 is involved in heavy metal resistance in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol*, **140**(3): 922—932
- Kim DY, Bovet L, Maeshima M, *et al.* 2007. The ABC transporter AtPDR8 is a cadmium extrusion pump conferring heavy metal resistance[J]. *Plant J*, **50**(2): 207—218
- Kupper H, Zhao FJ, McGrath SP. 1999. Cellular compartmentation of zinc in leaves of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*[J]. *Plant Physiology*, **119**: 305—311
- Lcombi E, Zhao FJ, Dunham SJ, *et al.* 2000. Cadmium accumulation in population of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi goesingense*[J]. *New Phytologist*, **145**(1): 11—20
- Li YS(李玉双), Sun LN(孙丽娜), Sun TH(孙铁珩), *et al.* 2007. Cadmium hyperaccumulator *Beta vulgaris* var. *cicla* and its accumulating characteristics(超富集植物叶用红苋菜及其对 Cd 的富集特征)[J]. *J Agric-Environ Sci*(农业环境科学学报), **26**(4): 1 386—1 389
- Li S(李硕), Liu YG(刘云国), Li YL(李永丽), *et al.* 2006. The potential of Cd accumulator herb, *Scirpus tabernaemontani* for phytoremediation(水葱修复土壤镉污染潜力的研究)[J]. *Environ Pollution Control*(环境污染与防治), **28**(2): 84—86
- Liu JN, Zhou QX, Sun T, *et al.* 2007. Growth responses of three ornamental plants to Cd and Cd-Pb stress and their metal accumulation characteristics[J]. *J Hazard Mater Aug*, **12**[Epub ahead of print]
- Liu YG(刘云国), Tang CF(汤春芳), Zeng GM(曾光明), *et al.* 2005. Cadmium-induced superoxide anion generation, lipid peroxidation and changes of antioxidant enzyme activities in radish seedling(镉诱导萝卜幼苗活性氧产生、脂质过氧化和抗氧化酶活性的变化)[J]. *Guihaia*(广西植物), **25**(2): 164—168
- Liu W(刘威), Shu WS(束文圣), Lan CY(蓝崇钰). 2003. *Vio-*
la buoshanensis-a new Cd-hyperaccumulator(宝山堇菜——一种新的镉超富集植物)[J]. *Chin Sci Bull*(科学通报), **48**(19): 2 046—2 049
- Matsumoto S, Shiraki K, Tsuji N, *et al.* 2004. Functional analysis of phytochelatin synthase from *Arabidopsis thaliana* and its expression in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Sci Tech Advanced Mat*, **5**(3): 377—381
- McLaughlin MJ, Tiller KG, Naidu R, *et al.* 1996. Review-the behavior and environmental impact of contaminants in fertilizers[J]. *Australia J Soil Res*, **34**(1): 1—54
- Mills RF, Krijger GC, Baccarini PJ, *et al.* 2003. Functional expression of AtHMA4, a P-1B-type ATPase of the Zn/Co/Cd/Pb subclass[J]. *Plant J*, **35**(2): 164—176
- Mortvedt JJ, Osborn G. 1982. Study on the chemical form of cadmium contaminants in phosphate fertilizers[J]. *Soil Sci*, **134**: 185—192
- Nie FH. 2006. Cd hyper-accumulator *Phytolacca acinosa* and Cd-accumulative characteristics[J]. *Ecol Environ*, **15**(2): 303—306
- Pan A, Yang M, Tie F. 1994. Expression of mouse metallothionein-I gene confers cadmium resistance in transgenic tobacco plants[J]. *Plant Molecular Biology*, **24**(2): 341—351
- Papayan A, Kochian LV. 2004. Identification of *Thlaspi caerulescens* genes that may be involved in heavy metal hyperaccumulation and tolerance characterization of a novel heavy metal transporting ATPase[J]. *Plant Physiology*, **136**(3): 814—823
- Parameswaran A, Leitenmaier B, Yang M, *et al.* 2007. A native Zn/Cd Pumping P(1B)ATPase from natural over-expression in a hyperaccumulator plant[J]. *Biochemistry Biophysics Res Commun*, **363**(1): 51—56
- Pence NS, Larsen PB, Ebbs SD, *et al.* 2000. The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*[J]. *Proc Natl Acad Sci*, **97**(9): 4 956—4 960
- Qi XT, Zhang YX, and Chai TY. 2007. Characterization of a novel plant promoter specifically induced by heavy metal and identification of the promoter regions conferring heavy metal responsiveness[J]. *Plant Physiol*, **143**(1): 50—59
- Shumaker KL, Begonia G. 2005. Heavy metal uptake, translocation, and bioaccumulation studies of *Triticum aestivum* cultivated in contaminated dredged materials[J]. *Environ Res Public Health*, **2**(2): 293—298
- Song WY, Sohn E, Martinoia E, *et al.* 2003. Engineering tolerance and accumulation of lead and cadmium in transgenic plants[J]. *Nat Biotechnol*, **21**(8): 914—919
- Suh MC, Apicella MA, Little M. 1998. Cadmium resistance in transgenic tobacco plants expressing the *Nicotiana glutinosa* metallothionein-like gene[J]. *Mol Cells*, **8**: 678—684
- Varvara PG, Filby B, Glick BR. 2000. Increased ability of transgenic plants expression the bacterial enzyme ACC deaminase to accumulate Cd, Co, Cu, Ni, Pb and Zn[J]. *J Biotech*, **81**: 45—53
- Wu ST(吴双桃). 2005. Studies of phytoremediation on *Canna generalis* for soil cadmium pollution(美人蕉在镉污染土壤中的植物修复研究)[J]. *Industrial Safety Environ Protection*(工业安全与环保), **31**(9): 13—15
- Wang JQ(王激清), Liu B(刘波), Su DC(苏德纯). 2003. (下转第 702 页 Continue on page 702)

应选择适宜的产地。

对表 4 所列的 6 个地理和气候因子相关性分析表明,枇杷花总黄酮、齐墩果酸和熊果酸含量与它们均没有显著相关性。这可能是枇杷花中黄酮等次生代谢产物与土壤类型和局部特殊气候有密切关系的原因。成都平原、福建莆田、浙江余杭塘栖等地土壤深厚肥沃,质地粘重,主要呈酸性,适宜枇杷生长发育,本研究也表明上述三地枇杷花中主要有效成分含量显著高于其它产地。遂宁、内江产地的枇杷花主要有效成分含量较低可能与这些地区的气候复杂多样有关,如遂宁的降雨年际变化大、地区分布不均且降雨集中;内江则有明显的冬干春旱现象,夏季降雨量占全年的 60%。因此特定的环境特征以及气候因子对枇杷花中有效成分含量的影响还有待于进一步研究。

参考文献:

- 全国中草药汇编编写组. 1996. 全国中草药汇编[M]. 北京:人民卫生出版社,504
- 朱丹,袁芳,孟坤. 2007. 黄酮类化合物的研究进展[J]. 中华中医药杂志,22(6):387-389
- 宋晓凯. 2004. 天然药物化学[M]. 北京:化学工业出版社,72-77
- 林玉霖,林文津,林力强. 2006. 枇杷叶的研究现状与开发前景[J]. 中药材,29(10):1111-1114
- 袁珂. 1998. 不同产地、不同季节冬凌草叶中熊果酸、齐墩果酸的含量比较[J]. 中药材,21(10):519-520
- 郭宇,吴松吉,朴惠善. 2006. 枇杷叶的化学成分及药理活性研究进展[J]. 时珍国医国药,17(6):928-930
- Cheng L(成丽),Liu Y(刘燕),Cheng LY(陈凌亚). 2001. Studies on the triterpenoidal saponins from flowers of *Eriobotrya japonica*(枇杷花三萜皂苷成分的研究)[J]. *West China Univ Med Sci*(华西医科大学学报),32(2):283-285
- Fan WG(范维刚),Xie CX(解成喜),Li F(李锋). 2005. Determination of the content of total flavonoids in *Apocynum venetum*(罗布麻叶中总黄酮含量的测定)[J]. *Chin J Spec Lab*(光谱实验室),22(3):464-466
- Jv JH(鞠建华),Zhou L(周亮),Lin G(林耕). 2003. Studies on constituents of triterpene acids from *Eriobotrya japonica* and their anti-inflammatory and antitussive effects(枇杷叶中三萜酸类成分及其抗炎、镇咳活性研究)[J]. *Chin Pharm J*(中国药杂志),38(10):752-757
- Sun XB(孙学斌),Cheng M(程明),Li N(李娜). 2007. The content of flavonoids and anti-oxidation in different efficient parts of *Euonymus alatus*(卫矛不同有效部位总黄酮含量及抗氧化性的研究)[J]. *Bull Bota Res*(植物研究),27(5):619-621
- Wang DR(王德仁). 2003. The research progress of oleanolic acid(齐墩果酸研究新进展)[J]. *Tianjin Pharm*(天津药学),15(3):56
- Wang LW(王立为),Liu XM(刘新民),Yu SC(余世春). 2004. Anti-inflammatory and antitussive effects of *Eriobotrya japonica*(枇杷叶抗炎和止咳作用研究)[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药),35(2):174-176
- Yin XD(殷晓东),Zhao HR(赵浩如). 2004. The research progress of ursolic acid(熊果酸研究进展)[J]. *Chin J Pract Chin Mod Med*(中华实用中西医杂志),4(17):24
- Zhang XY(张晓喻),Huang CP(黄春萍),Zhang H(张宏). 2007. RP-HPLC determination of oleanolic acid and ursolic acid in flowers of *Eriobotrya japonica* from different habits of Sichuan(RP-HPLC测定四川不同产地枇杷花中的齐墩果酸和熊果酸的含量)[J]. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志),27(1):129-131
- tion of oilseed rapes as a hyperaccumulator for cadmium(超积累镉油菜品种的筛选)[J]. *J Agric Univ Hebei*(河北农业大学学报),26(1):13-16
- Wei SH(魏树和),Zhou QX(周启星),Wang X(王新). 2005. Cadmium-hyperaccumulator *Solanum nigrum* and its accumulating characteristics(超积累植物龙葵及其对镉的富集特征)[J]. *Environ Sci*(环境科学),26(3):167-171
- Wen QH(文秋红),Shi K(史锟). 2006. Enrichment capability of cadmium in some plants(部分植物富集镉能力探讨)[J]. *Environ Sci Tech*(环境科学与技术),29(12):90-93
- Williams CH and David DJ. 1976. The accumulation in soil of cadmium residues from phosphate fertilizers and their effect on the cadmium content of plants[J]. *Soil Sci*,121:86-93
- Xiong YH(熊愈辉),Yang XE(杨肖娥),Ye ZQ(叶正钱),et al. 2004. Comparing the characteristics of growth response and accumulation of cadmium and lead by *Sedum alfredii*(东南景天对镉、铅的生长反应与积累特性比较)[J]. *J Northwest Sci Tech Univ Agric Fore(Nat Sci Edi)*(西北农林科技大学学报·自然科学版),32(6):101-106
- Zhang YX,Chai TY,Dong J,et al. 2001. Cloning and expression analysis of the heavy metal-responsive gene *PvSR2* from bean[J]. *Plant Sci*,161:783-790
- Zhang YW,Tamn FY,WongYS. 2004. Cloning and characterization of type 2 metallothionein-like gene from a wetland plant, *Typha latifolia*[J]. *Plant Sci*,167:869-877
- Zhu YL,Jouanin L,Terry N,et al. 1999. Over-expression of glutathione synthase in Indian mustard enhances cadmium accumulation and tolerance[J]. *Plant Physiology*,119(1):73-79

(上接第 663 页 Continue from page 663)