

植物对镉胁迫响应的研究进展

荆红梅, 郑海雷*, 赵中秋, 张春光

(厦门大学生命科学学院, 厦门 361005)

摘要:总结了近年来植物对一重要环境污染物镉的反应研究报道。探讨了镉对植物的各种毒性效应,并论述植物对镉胁迫采取的相应防御机制,如络合(PC、MT)、应激(应激乙烯、应激蛋白),及额外防御机制,如细胞壁固定化、原生质膜排除、区域化、过氧化物酶等。

关键词:镉 PC; MT; 应激乙烯; 应激蛋白; 耐受

Progresses of plants response to cadmium

JING Hong-Mei, ZHENG Hai-Lei, ZHAO Zhong-Qiu, ZHANG Chun-Guang (School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005). *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(12): 2125~2130.

Abstract: The paper summarizes progresses in the field of plants response to cadmium (Cd), an important and widespread heavy metal in environment. We analyse the toxic effects of Cd on plants and discuss the response mechanisms of plants to Cd stress including exclusion, immobilization and compartmentalization of the ions, synthesis of phytochelatin and metallothionein, inducements of stress protein and stress ethylene. The higher plants are able to uptake Cd depending on concentration and bioavailability of Cd in the soil. The processes of uptake were modulated by the presence of organic matter, pH, redox potential, temperature and concentrations of other elements. As soon as Cd enters the roots, it can reach the xylem through an apoplastic and/or a symplastic pathway, complexed by several ligands such as organic acids and/or, perhaps, phytochelations. Cd damages the roots by altering the synthesis of RNA and inhibits ribonuclease activity. Cd interacts with the water balance and damages the photosynthetic apparatus. Cd significantly reduces the normal H^+/K^+ exchange and the stomatal opening, but how it dose so has yet to be established. Cd was found to produce oxidative stress by inhibit the activity of several antioxidative enzymes. Potential effects of Cd on host-pathogen interactions were very recently examined. In response to Cd stress, the plant can resort to a number of defense systems. Cd can be immobilized by means of the cell wall and extracellular carbohydrates. The importance of this mechanism may vary in accordance with the concentration of Cd supplied and the species involved, etc. But no differences in cell wall binding between normal and Cd tolerant plants were observed. Preventing Cd ions from entering the cytosol through the action of the plasma membrane could theoretically represents the best defense mechanism. Cd stress gave increased levels of asparagine in root exudates. However, this response was probably due to disfunction of the plant membranes at Cd concentration above $1\mu M$, rather than to a specific mechanism of amino acid induction aimed at directly chelating Cd ions. A deeper understanding of these events would be very useful in widening our knowledge of Cd exclusion in higer plants. Cd has a high affinity to metabolic processes of the sulphur metabolism, and its first effect is on ATP-sulfurylase, thus activate the synthesis of phytochelatin. Phytochelatin chelate Cd and form various complexes with Cd. As a result, it's

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39800087, 39870630)。

收稿日期:2000-07-17; **修订日期:**2001-03-21

作者简介:荆红梅(1977~),女,河南人,博士。主要从事植物学研究。

* 通讯作者。

prevented from circulating as free Cd^{2+} inside the cytosol. The production of phytochelatins is a widespread mechanism of Cd detoxification in higher plants. In animals, cyanobacteria and fungi, Cd can be complexed and detoxified by metallothioneins, a group of gene-encoded Cys-rich peptides, which generally lack aromatic acids. But there is no certain indication of the existence in higher plants of metallothioneins induced by Cd. Thus, their role in Cd detoxification seems to be at present of secondary importance as compared with phytochelatins and stress proteins. Vacuolar compartmentalization can prevent the free circulation of Cd ions in the cytosol and force them into a limited area, thus plays a very significant role in Cd detoxification and tolerance. The mechanism of compartmentalization was discussed in this paper. Being subjected to various stresses, plants often start the synthesis of heat shock proteins, Ubiquitin and stress ethylene. But now it's impossible to understand exactly the relationship between ethylene biosynthesis and Cd stress at a molecular/cellular level. Response to Cd in normal higher plants is a complex phenomenon. Cd can evoke a number of parallel and/or consecutive events at molecular, physiological and morphological levels. Identification of individual biochemical pathway such as phytochelatin production and proteolysis, etc, is essential. Without integration into a cellular response, however such studies may lose direction and overemphasize the overall importance of a given pathway in achieving tolerance. Therefore, further efforts are urgently required in order to establish definitely the mechanism of Cd tolerance in higher plants.

Key words: Cd; phytochelatin; metallothioneins; heavy metal; stress

文章编号:1000-0933(2001)12-2125-06 中图分类号:Q142,X171 文献标识码:A

Cd($\rho=8.6\text{g/cm}^3$)是一种分布较广的重金属,通过许多途径进入环境中,其在环境中不单独出现,而是在 Pb/Zn 矿化过程中作为客体金属出现。无污染土壤中 Cd 含量范围为 $0.04\sim0.32\mu\text{M}$,中度污染水平为 $0.32\sim1\mu\text{M}$ ^[1]。植物根系吸收的 Cd 最易向籽实中移动,通过食物链富集的高浓度 Cd 对大多动物种类有致癌、致突变、致畸的作用^[2]。高等植物吸收 Cd 的程度依赖于土壤中 Cd 的浓度和它的生物利用率,并受到有机物含量、pH、氧化还原电位、温度、其它元素的浓度等所调控,特别是 Cd 的吸收可能与运输营养元素(Mg、K、Ca、Fe、Mn、Cu、Ni)的跨膜载体有关^[3]。

1 镉对植物的毒性效应

Cd 可能是通过皮层组织进入根部,再通过一质外体或共质体通道到达木质部^[4]。在此与配体(如有机酸、植物螯合肽等)螯合^[5]。Cd²⁺ 大多存留在根部,少量运至芽^[6];发育中的果实可能是经由韧皮部中介载体而积累 Cd 的^[7]。

Cd 首先破坏根部,如伤害核仁、改变 RNA 合成、阻抑 RNAase、硝酸还原酶及质子泵的活性。Cd 可与酶活性中心或蛋白质中巯基结合,还可取代金属硫蛋白中的必需元素(Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{2+}),导致生物大分子构相改变,必需元素缺乏,干扰细胞正常代谢过程^[8]。

Cd 破坏水分平衡,降低光合速率,破坏光合器官及色素,抑制 RuBP 羧化酶活性,影响碳固定、叶绿素 Hill 反应、PSI、PSII 活力、增加非光化学猝灭等^[9]。Cd 增加线粒体 H⁺ 的被动通透性,阻止了线粒体氧化磷酸化作用^[10]。水稻幼苗叶片中过氧化物酶(POD)是受 Cd 刺激与调节的适应性呼吸酶。高浓度 Cd 使幼苗吸收及分布 K、Ca、Mg 等营养元素减少,阻止叶绿素形成及其含量增加,影响光合产物的运输、分布、加速叶片衰老,提早死亡^[11]。

Cd 大大减少 H⁺/K⁺ 交换,抑制质膜 ATP 酶及以下几种酶的活性:葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-PD)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、苹果酸酶、异柠檬酸脱氢酶、核酮糖二磷酸羧化酶-加氧酶、碳酸酐酶^[12]。

Cd 能产生氧化胁迫,但可能不是直接产生活性氧。它能损伤主要的生物大分子,增加膜脂过氧化作用,抑制以下几种抗氧化酶活性:超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、ascorbate 超氧化酶、谷胱甘肽还原酶等^[13]。植物对 Cd 诱导的氧化胁迫反应的变化,可能与 Cd 浓度水平及所诱导的巯基(有强抗氧化

特性)浓集有关。

Cd 强烈抑制气孔开放,但其机理尚不清楚,可能和 Cd 强烈干扰 K^+ 、 Ca^{2+} 及保卫细胞中脱落酸的代谢有关^[14]。

最近研究的热点是 Cd 与宿主病原体相互作用的潜在效应,长期实验表明 Cd 抑制了叶中的疾病发展,在 Cd 信号转导中可能有多胺(polyamine)的参与^[15]。

2 植物对镉胁迫的响应机制

Cd 对植物的伤害是多方面的,相应地植物采取多方面的策略来抵抗或减弱 Cd 胁迫的程度,如固定化、区域化及合成植物螯合肽、金属硫蛋白、应激蛋白、应激乙烯等。

2.1 络合解毒机制

络合是植物细胞解除镉毒害的主要方式之一。植物螯合肽是植物体内存在的 Cd 的天然配体。另外谷胱甘肽(GSH)、草酸组氨酸(His)、柠檬酸盐(citrate)等小分子物质也能与镉络合。

2.1.1 植物螯合肽 Cd 对 S 代谢过程有很高亲和性,Cd 能促进前沟藻细胞产生二甲基硫(DMS 是天然硫排放的来源)^[16]。Cd 最初作用于 ATP-硫酸化酶和腺苷酰硫磺基转移酶,最后产生一重要多肽-植物螯合肽(Phytochelatins PC)。植物体内产生的 PC 种类依物种和诱导的重金属种类而不同。其一级结构通式为 $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-X}$, $n=2\sim 11$ 。X 为不同 C-端氨基酸,依此氨基酸的不同将 PC 分为 5 个家族: $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$ 、 $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Glu}$ 、 $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Ser}$ 、 $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-}\beta\text{-Ala}$ 。植物螯合肽中 Cys 巯基能与镉螯合,从而形成各种络合物(分子量 3600~2500),阻止了自由 Cd^{2+} 的循环,避免金属敏感酶变性失活,减轻 Cd 对植物的伤害。一些酸不稳定的络合物中 S 和 Cd 可形成键长 $2.52\pm 0.02\text{ \AA}$ 的 Cd-S 键,以提高络合物的稳定性和 Cd 猝灭效率。

PC 不是基因直接翻译的产物,而是由谷胱甘肽 GSH 经 PC 合成酶催化合成,此酶能自我调控。*Cad1* 突变型缺乏该酶活性,即使有与普通植物相当的谷胱甘肽水平,也不形成螯合肽,因而对 Cd 敏感。

高等植物产生 PC 是解 Cd 毒的广泛机制^[17]。已将 PC 作为 Cd 毒的生物标记。PC、异构 PC(一些氨基酸不同)、脱 Gly-植物螯合肽可在植物中以不同比例同时出现。脱 Gly-植物螯合肽可能起源于一种能释放 Gly 的羧肽酶对 PC 的降解。有报道,在完全缺乏 Cd 但有羧肽酶和高浓度 GSH 时,*Schizosaccharomyces pombe* 中仍有 PC 的产生。

2.1.2 金属硫蛋白 植物体内是否有金属硫蛋白,目前还有争议。一般认为缺乏该种蛋白,即使有也可能是多个植物螯合肽的结合或类金属硫蛋白。金属硫蛋白(MT)为一组富含半胱氨酸(Cys 残基约 30%)的低分子量金属结合蛋白,一般缺乏芳香族氨基酸。植物金属硫蛋白中 Cys 残基存在形式有: Cys-x-Cys 、 Cys-x-x-Cys 、 Cys-Cys (串),x 代表 Cys 以外任一种氨基酸。MT 对 Cd 的螯合能力远远大于 GSH、citrate。Cd 胁迫能诱导真菌、蓝细菌和动物体内 MT 的合成。MT 通过 Cys 残基上的巯基与 Cd^{2+} 结合形成无毒或低毒的化合物,从而消除 Cd 毒,因而动物、真菌的抗 Cd 能力与 MT 积累成正相关^[18]。最近,发现在一些高等植物中有类似 MT 蛋白及其基因存在,该基因表达具组织特异性,并受发育阶段和激素(乙烯、ABA)水平调节。推测该蛋白对重金属可能有一定解毒作用。

2.2 区域化

植物根系分泌物以及根系周围的植物-微生物微系统均能防御 Cd 等重金属进入植物根系。进入根系 Cd 首先被根部细胞壁及碳水化合物固定而束缚于果胶位点。这是抗 Cd 胁迫的第一道屏障^[19]。该机制可能随外界镉富集、物种不同而改变,但普通植物与 Cd 耐受植物之间未观察到有细胞壁束缚作用的不同^[20]。

Cd^{2+} 进入液泡后,被限制于一有限区域,不能再在胞质溶胶中进行自由循环,因而液泡固定化在排除 Cd 毒和 Cd 耐受中起重要作用。Cd 刺激植物合成植物螯合肽,并与之络合形成贫 S 低分子量络合物(LMW),在液泡膜上结合酸不稳定 S^{2-} ,形成对镉高度亲和的高分子量络合物(HMW),并由液泡膜转运蛋白 *HMT1* 蛋白转入液泡中。可见,Cd 排除与植物螯合肽快速结合 S^{2-} 、有效限制自由 Cd^{2+} 有关。因而稳定 S^{2-} 组分的 LMW 在 Cd 排除中尤为关键。植物中 Cd 主要以 HMW 复合物的形式积累于液泡中。*HMT1* 基因的大量表达可提高液泡中 HMW 复合物含量及植物耐 Cd 能力。 Mg-ATP 存在时络合物将通过特殊载体

逆梯度势跨越液泡膜,在液泡囊中积累。自由 Cd^{2+} 可能通过 $\text{Cd}^{2+}/2\text{H}^{+}$ 反向运输进入液泡。液泡中酸性 pH 使 HMW 解离, Cd 又被液泡内有机酸(柠檬酸、苹果酸、草酸)、氨基酸络合^[21]。脱辅基植物螯合肽被液泡水解酶降解,还于液泡中,继续执行穿梭角色。可见植物的耐 Cd 能力与 HMW 复合物装配速率成正相关,而与植物螯合肽合成速率无一定相关性^[22,23]。LMW 复合物进入液泡的跨膜速度快于 HMW 复合物,推测 LMW 复合物的主要作用是将细胞中的 Cd 转进液泡中,而 HMW 复合物主要起聚集 Cd 和解毒作用。

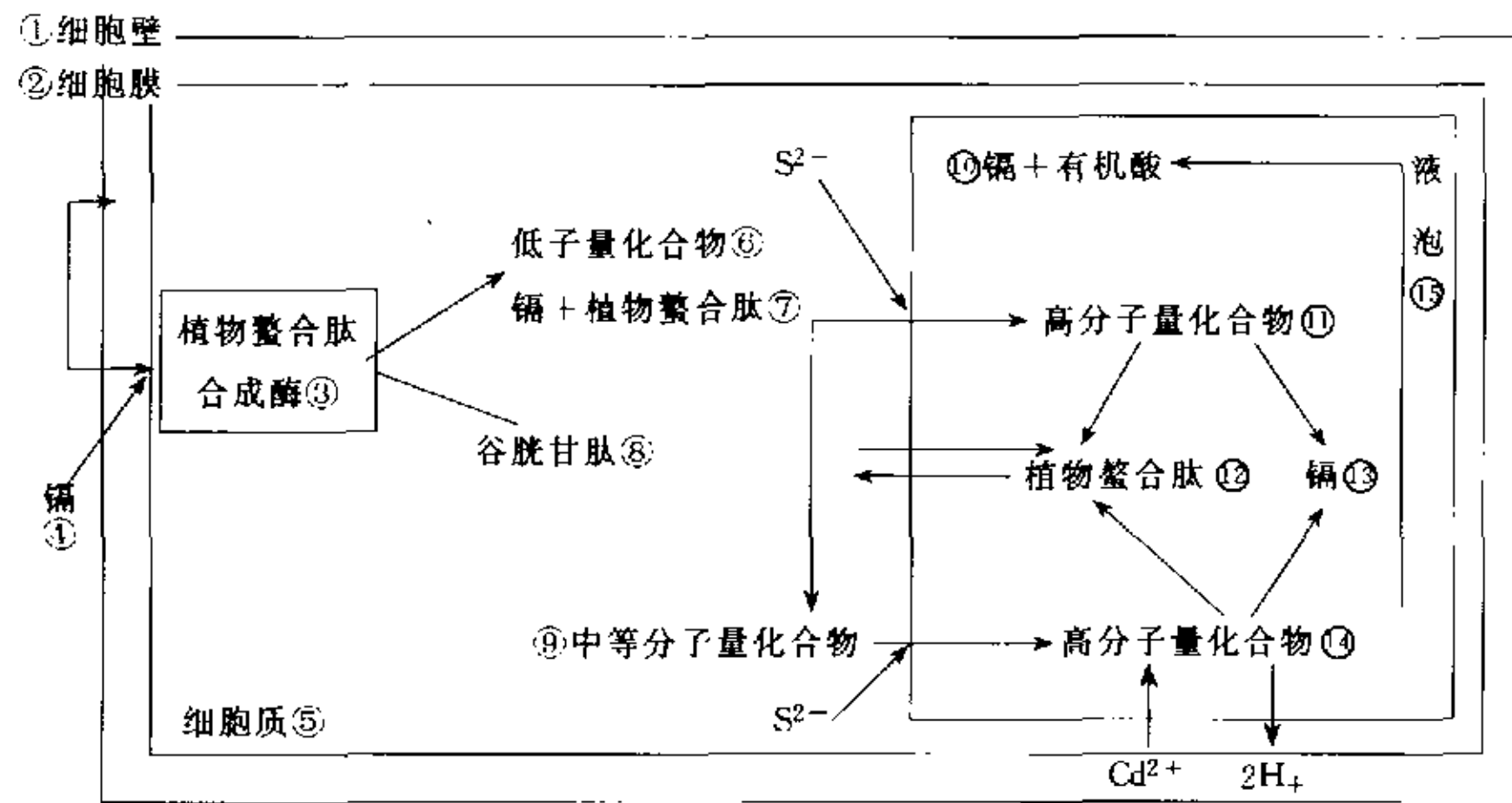


图 1 镉的螯合及液泡固定化机制

Fig. 1 Mechanism of Cd chelation and compartmentalization in the vacuole

① Cell wall ② Plasma membrane ③ Pc Synthetase ④ Cd ⑤ Cytosol ⑥ LMW ⑦ Cd+Pc
⑧ GSH ⑨ MMW ⑩ Cd + organic acid ⑪ HMW ⑫ Pc ⑬ Cd ⑭ HMW ⑮ Vacuole

2.3 外排与富集

阻止 Cd 由质膜进入胞质溶胶,理论上是最好的防御机制。植物通过限制对重金属的吸收,降低体内重金属浓度,但 Cd^{2+} 透过细胞质膜的运输机制仍不清楚。Riveta 等的实验表明萝卜种子发芽早期, Cd^{2+} 是通过质膜 Ca^{2+} 通道进入细胞的,对于该机制还需作深入了解。

芥菜将 Cd 超量富集于叶片表皮毛中,使其含量比叶片组织高 43 倍,这样避免了 Cd 对叶肉细胞的直接伤害^[24]。由于芥菜生长迅速,可大量富集镉,在净化土壤水质方面有很大作用^[25]。

2.4 应激物质

2.4.1 应激乙烯 Cd 诱导乙烯生物合成,从而增加愈创木酚过氧化物酶活性,积累可溶、不可溶酚^[26]。同一物种中 Cd 诱导的乙烯在根中的比在芽中的要多。Cd 处理 5~10h 诱导应激乙烯产生达到顶峰,其后的 1d 内因 Cd 猝灭减弱了胁迫,使乙烯降到可控水平。目前,还无法了解乙烯生物合成与 Cd 胁迫之间在分子、细胞水平上的确切关系。推测 Cd 对 Ca 水平产生的干扰与应激乙烯有关。

应激乙烯在植物耐 Cd 性中可能具有以下几方面作用:①增加苯丙氨酸-氨-裂解酶和过氧化物酶的活性而加速木质化过程;诱导微管系统细胞壁变化而限制镉进入叶片。②诱导 ascorbate 过氧化酶的活性,解除过氧化氢酶毒性。③调控基因表达,编码金属硫蛋白和防御蛋白^[27],改变谷胱甘肽代谢,影响植物螯合肽的合成。

2.4.2 应激蛋白 经受高温、重金属、盐度、干旱等不同胁迫因子,植物常启动合成热休克蛋白(HSP)、Ubiquitin、DnaJ-like 蛋白、几丁质酶、 β -1,3 葡聚糖酶、富含脯氨酸细胞壁蛋白(PRP)、富含甘氨酸细胞壁蛋白(GRP)和病原相关蛋白(PR)等基因表达。HSP、DnaJ-like 蛋白与错折叠蛋白有很强亲和性,通过将它们再整合到合适的膜复合物上,使它们形成天然构象。而镉胁迫时大量 Hsp70 被束缚于质膜、线粒体膜、内质网膜上。Ubiquitin 能介导细胞内变性的或短命的蛋白质降解;几丁质酶、葡聚糖酶和 PR 蛋白共同作用,能

阻止病菌的侵染,诱导植物系统防御反应;PRP、GRP 参与受损细胞壁的修复和加固。这些应激蛋白协同作用,以清除变性蛋白,维持细胞正常代谢,提高细胞抗镉性。在大豆中,Cd 通过阻抑 Gmhs26-A 基因转录 mRNA 前体内含子剪接而调控应激蛋白合成,但不清楚这种抑制是一特殊转录类型特征,还是一个镉胁迫的总效应^[28]。

各种 Ca/CaM 依赖性转导信号与蛋白磷酸化变化有关,Cd 与 Ca 竞争同 CaM 结合,从而诱导蛋白磷酸化作用的改变。

2.5 抗氧化胁迫

如前所述,Cd 能产生氧化胁迫,相应地在植物体内多种抗氧化系统将保护系统免受伤害。Halliwell-asada 途径为植物中一主要抗氧化系统,主要由 SOD、APX (ascorbate Peroxidase) 和 GR (glutathione reductase) 等组成。GSH 能保护细胞膜结构,是一重要抗氧化物质,同时 Cd 胁迫时植物组织中 POD 活性升高,这也是植物对所有污染胁迫的共同响应,已有人建议将组织中 POD 水平变化作为反映污染胁迫的灵敏指标^[29]。植物对 Cd 诱导的氧化胁迫反应变化,可能与 Cd 水平及诱导的巯基(有强抗氧化特性)浓度有关。

3 对镉胁迫的一些思考

综上所述,Cd 对植物的伤害是复杂的、多方面的,涉及生理代谢反应、形态反应。植物 Cd 耐受是由基因和环境因素相互作用而受到调控的,其形成需一长期过程。

目前对于植物镉耐受的分子遗传基础还未完全认同。外界逆境影响下,将导致更多的基因扩散,来改变和提高抗性,如一些修饰基因本身无耐性,通过改变有明显作用的主要基因来提高它们对耐性的影响。

已证实,S 能缓解 Cd 对光合系统的伤害,但 S 载体多肽还未得证实,可能 PC 在低 Cd 浓度时能维持细胞内稳定。有报道 Si 营养能缓解水稻幼苗 Cd 毒害作用;Pb 则加剧镉对植物的危害^[10],但其机理还有待研究。在研究抗性机制时,不能过分强调某一条途径的重要性,因其中每一机制可能直接或间接影响着代谢变化。一些非特异反应机制:应激乙烯、应激蛋白、脯氨酸及其它氨基酸的代谢、分室化、木质化、根发育机制,是植物适应重金属和其它胁迫的普遍反应。

人们对于植物镉胁迫的反应机理还知之甚微,还需进一步投入人力、物力、财力进行研究和分析。同时应采取一定措施,防止镉等重金属在植物中的过量积累,减少对人和动物的伤害。

参考文献

- [1] Wagner G J. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Adv Agron.*, 1993, **51**:173~212.
- [2] Degraeve N. Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects of cadmium. *Mutat. Res.*, 1981, **86**:115~135.
- [3] Clarkson D T, Luttge U. Mineral nutrition divalent cations transport and compartmentalization. *Progr. Bot.*, 1989, **51**: 93~112.
- [4] Sait D E, Prince R C, Pickering I J, Raskin I. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiol.* 1995, **109**:1427~1433.
- [5] Cataido D A, Garland T R, Wildung R E. Cadmium uptake kinetics in intact soybean plants. *Plant Physiol.* 1983, **73**: 844~848.
- [6] Shah K, Dubey R S. Effect of cadmium on RNA level as well as activity and molecular forms of ribonuclease in growing rice seedlings. *Plant Physiol&Biochem.* 1995, **33**:577~584.
- [7] Hart J j. Characterization of cadmium binding, uptake, and translocation in intact seedlings. *Plant Physiol.* 1998, **116**: 1413~1420.
- [8] Assche F, Clijster H. Effects of metal on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environ.* 1990, **13**: 195~ 206.
- [9] Siedleka A, Baszynsky T. Inhibition of electron flow around photosystem 1 in chloroplasts of cadmium-treated maize plants is due to cadmium-induced iron deficiency. *Physiol Plant.* 1993, **87**:199~202.
- [10] Kessler A, Brand M D. The mechanism of the stimulation of state 4 respiration by cadmium in potato tuber

- (*Solanum tuberosum*) mitochondria. *Plant Physiol. Biochem.* 1995, **33**: 519~528.
- [11] 王永锐, 周建华, 等. 硅营养对缓解水稻幼苗 Cd、Cr 毒害的生理研究. *应用环境生物学报*, 1997, **1**(5): 11~16.
- [12] Siedlecka A, Krupa Z, *et al.* Primarcarbon metabolism in *Phaseolus vulgaris* plants under Cd/Fc interaction. *Plant Physiol & Biochem.* 1997, **34**: 833~841.
- [13] Gallgo S M, Benavides M P, *et al.* Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves; evidence for involvement of oxidative stress. *Plant Sci.*, 1996, **121**: 151~159.
- [14] Barcelo J, Poschenrieder C. Plant water relations as affected by heavy metal stress; a review. *J. Plant Nutr.*, 1990, **13**: 1~37.
- [15] Stroinski A k. Effects of cadmium on the host-pathogen system. V. Effect of exogenous dicyclohexylamine on potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). cadmium and *Phytophthora infestans* relation. *J. Plant Physiol.*, 1997, **150**: 178~183.
- [16] 蒋林, 胡敏. 镉对前沟藻生产二甲基硫(DMS)影响的试验研究. *环境科学*, 1999, **20**(3): 18~20.
- [17] Gekler W, Grill E L, *et al.* Survey of the Plant Kingdom for the ability to binding heavy metals through phytochelation. *Z. Naturforsch.* 1989, **44c**: 361~369.
- [18] Kagi J H. Overview of metallothionein. *Meth Enzymol.*, 1991, **20**(5): 613~617.
- [19] Leita L, De Nobili, *et al.* Analysis of intercellular cadmium forms in roots and leaves of bush bean. *J. Plant Nutr.*, 1996, **19**: 527~533.
- [20] Verkleij A C, Shat H. Mechanisms of metal tolerance in higher plants. In: Show, J. Ed., *Evolutionary Aspects of heavy metal tolerance in plants*. CRC press, Boca Raton, FL. PP. 1990, 179~193.
- [21] Klotz R M, Evangelou B P, *et al.* Relationship between cadmium, zinc, Cd-binding peptide and organic acid in tobacco suspension cells. *Plant Physiol.*, 1989, **91**: 780~787.
- [22] Perez-Coll C S, Herkovits J, *et al.* Metallothioneins and cadmium uptake by the liver in BUF(1) arenarum. *Environ Pollut.*, 1997, **97**: 311~315.
- [23] Robison N J, Tommey A M, *et al.* Plant metallothioneins. *Biochem J*, 1993, **295**: 1~10.
- [24] Blamey F P, Joyce D C, *et al.* Role of trichomes in sunflower tolerance to manganese toxicity. *Plant Soil*, 1986, **91**: 171~18.
- [25] 张玉秀, 等. 植物耐重金属机理研究进展. *植物学报*, 1999, **41**(5): 453~457.
- [26] Fuhrer J. Early effects of excess cadmium uptake in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Cell Environ.*, 1982, **5**(5): 253~270.
- [27] Whitelaw, C A, Le Huquet J A, *et al.* The isolation and characterisation of type II metallothionein-like genes from tomato. *Plant Mol. Biol.*, 1997, **33**: 503~511.
- [28] Czarneck E, *et al.* Characterization of gmhsp26-A, a stress gene encoding a divergent heat shock protein of soybean; heavy-metal-induced inhibition of intron procession. *Mol. Cell. Biol.*, 1998, **8**: 1113~1122.
- [29] Koricheva J, Roy S, *et al.* Antioxidant responses to simulated acid rain and heavy metal deposition in birch seedlings. *Environ Pollut.*, 1997, **95**: 249~258.
- [30] 任安芝, 等. 铅、镉单一和复合污染对青菜种子萌发的生物效应. *生态学杂志*, 2000, **19**(1): 19~22.