

DOI: 10.19741/j.issn.1673-4831.2022.0374

莫冰岚, 李蕾, 胡尊河, 等. 有机配体对超富集植物转运及解毒镍、锌的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2023, 39(10): 1239–1246.

MO Bing-lan, LI Lei, HU Zun-he, et al. The Effect of Organic Ligands on the Transport and Detoxification Processes of Nickel and Zinc in Hyperaccumulators[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2023, 39(10): 1239–1246.

有机配体对超富集植物转运及解毒镍、锌的影响

莫冰岚¹, 李蕾², 胡尊河¹, 邓腾灏博^{2①}, 曹越³, 汤叶涛³, 仇荣亮^{1,3,4,5} (1. 华南农业大学资源环境学院, 广东广州 510642; 2. 广东省农业科学院农业质量标准与监测技术研究所, 广东广州 510640; 3. 中山大学环境科学与工程学院, 广东广州 510006; 4. 岭南现代农业科学与技术广东省实验室, 广东广州 510642; 5. 广东省农业农村污染治理与环境安全重点实验室, 广东广州 510642)

摘要: 超富集植物是一类能大量吸收重金属并将其转运至地上部的特殊植物。这类植物体内通常含有高量的有机配体, 如烟草胺、组氨酸等, 可与其形成稳定的金属-配体复合物。现阶段针对超富集植物体内 Ni、Zn 的有机配体的研究较为充分。该研究综述了在根部运输及解毒、木质部转运和叶片解毒过程中有机配体与重金属的相互作用关系、超富集植物合成有机配体的分子机制以及有机配体和金属配合物的检测方法。综合来看, 氨基酸类配体可能促进 Ni、Zn 在根部共质体中的迁移并缓解过量 Ni、Zn 的细胞毒性; 在木质部运输过程中 Ni、Zn 则主要以水合离子形式赋存, 与配体结合的比例相对较低; 叶部赋存的 Ni、Zn 则主要通过有机酸结合的形式进行解毒。由于现有的研究大部分针对有限的几种超富集植物及有限的几种有机配体, 未来还需结合代谢组学及转录组学探索更多植物品种有机配体特征及其解毒的分子机制, 从而为厘清植物超富集重金属的相关机制及其在植物提取方面的应用提供理论依据。

关键词: 配体; 锌; 镍; 超富集植物

中图分类号: X53 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-4831(2023)10-1239-08

The Effect of Organic Ligands on the Transport and Detoxification Processes of Nickel and Zinc in Hyperaccumulators. MO Bing-lan¹, LI Lei², HU Zun-he¹, DENG Teng-hao-bo^{2①}, CAO Yue³, TANG Ye-tao³, QIU Rong-liang^{1,3,4,5} (1. College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. Institute of Quality Standard and Monitoring Technology for Agro-products of Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China; 3. School of Environmental Science and Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China; 4. Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture, Guangzhou 510642, China; 5. Guangdong Provincial Key Laboratory of Agricultural & Rural Pollution Abatement and Environmental Safety, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Hyperaccumulators are a group of specialized plants that absorb large amounts of heavy metals and store most of them in their aboveground parts. These plants are rich in organic ligands, such as nicotianamine and histidine, which can combine with metals to form metal-ligand complexes. At present, the studies on nickel and zinc organic ligands in plants are relatively sufficient. Therefore, this paper focuses on the interaction between organic ligands and heavy metals during root transport and detoxification, xylem transport and leaf detoxification processes, the molecular mechanism of organic ligand synthesis in hyperaccumulators, as well as methods for detection of organic ligands and metal complexes. To sum up, organic ligands may promote the migration of Ni and Zn in the symplasts of hyperaccumulators and alleviate the cytotoxicity of excess Ni and Zn. In the process of xylem transport, nickel and zinc mainly occur by hydrated ions, but the role of organic ligands is relatively weak in this process. Nickel and zinc mainly combine with organic acid for leaf detoxification. Since most of the findings come from a limited number of hyperaccumulators and organic ligands, it is necessary to combine metabolomics and transcriptomics to study the characteristics and molecular mechanisms about detoxification of organic ligands in more species of hyperaccumulators in the future, so as to provide theoretical basis for clarifying the relevant mechanisms of selective hyperaccumulation of heavy metals in plants and for the application of hyperaccumulators in

收稿日期: 2022-04-25

基金项目: 国家自然科学基金重点国际(地区)合作研究项目(41920104003)

① 通信作者 E-mail: dengtenghb@gdaas.cn

phytoextraction.

Key words: ligands; zinc; nickel; hyperaccumulator

1977 年, BROOKS 等^[1]首次提出了“hyperaccumulator”(超富集)这一概念,用来描述植物地上部镍(Ni)含量超过 $1\ 000\ \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (干重)的特殊植物。随后有学者进一步将超富集的概念从 Ni 拓展到 Zn、Cd 等重金属,并将其定义为地上部重金属含量比普通植物高 2 个数量级且比同一污染环境中的普通植物高 1 个数量级的特殊植物^[2-4]。达到“超富集”的判定标准是植物叶片或地上部(干重)中镉(Cd)含量达 $100\ \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 砷(As)、钴(Co)、铜(Cu)、镍(Ni)、铅(Pb)含量达 $1\ 000\ \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 锰(Mn)、锌(Zn)含量达 $10\ \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以上^[5]。截止目前,已有 721 种植物被判定为超富集植物^[6-7]。由于这类植物具有超量富集重金属的能力及对金属特定的指示性,已广泛应用于植物修复、植物采矿和植物找矿中^[8]。同时,超富集植物特殊的重金属吸收、转运及解毒机制也受到了广泛的关注。与普通植物相比,超富集植物根部通过高量表达重金属吸收转运载体,从而能够快速吸收大量重金属,同时通过提高重金属的根部径向运输能力以及木质部装载能力,将其高效转运至地上部进行储存解毒^[9]。在这个过程中,如何提高超富集植物中重金属的迁移能力并缓解其毒性是一个重要的研究课题,而有机配体可能在这个过程中发挥了关键的作用。有机配体是指可与金属离子发生配位并具有生物功能的有机物,一般可分为氨基酸类、有机酸类和多肽类物质等。有机配体在超富集过程中主要起到金属解毒和增强金属的移动性等作用^[10]。Ni 和 Zn 超富集植物的种类丰富,具有良好的应用潜力,因此受到了学界的广泛关注,其中有机配体的研究也相对深入。因此,笔者重点总结梳理了 Ni/Zn 超富集植物体内主要的有机配体及其对金属吸收、转运和解毒过程的影响,以为植物耐受重金属胁迫的生理生态机制及超富集植物的应用提供参考。

1 Ni/Zn 超富集植物体内的主要配体

有机配体易与重金属离子形成稳定的螯合物,对金属离子的移动性及毒性具有重要的影响。超富集植物含有高量的重金属,其体内螯合物以易合成、含量丰富的小分子配体为主。目前研究发现超富集植物体内主要的有机配体包括烟草胺、组氨酸、有机酸等,其化学结构如图 1 所示。

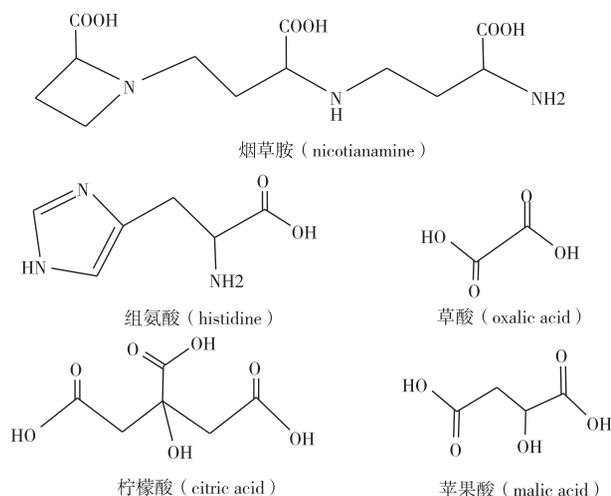


图 1 超富集植物体内主要有有机配体的化学结构

Fig. 1 The chemical structure of main organic ligands in hyperaccumulators

1.1 氨基酸类配体

1.1.1 组氨酸

组氨酸(histidine, His)是在 1896 年被 INGLE 等^[11]发现的三齿配体,由于它存在羧基、氨基和咪唑环,能够与重金属离子形成较稳定的复合物。His 的咪唑基团在生理 pH 值(7.35~7.45)条件下可以在质子化和去质子化状态之间交替^[12-13]。因此,His 可与酸、碱发生化学反应,这决定了它能存在于许多酶的活性位点中。His 与重金属的结合能力相对较强,且无论是在微酸还是在偏碱性 pH 值条件下,His 和 Ni 等金属形成的复合物稳定常数都较高^[14]。因此,组氨酸是植物细胞中重要的金属配体。

1.1.2 烟草胺

烟草胺(nicotianamine, NA)是非蛋白质氨基酸,它由 3 个 S-腺苷-甲硫氨酸分子的 3 个氨基-羧丙基基团通过 NA 合酶的酶促缩合产生。分子中 3 个氨基和 3 个羧基的存在允许形成六齿配位,从而驱动与中心金属离子形成非常稳定的八面体螯合物^[14]。NA 是植物合成铁载体(如麦根酸)的前体物质,最初被发现与铁代谢有关;NA 可与 Fe(II)和 Fe(III)结合形成稳定的复合物,从而保证了 Fe 在植物体内的移动性^[15]。不久后它被证明对铜代谢也很重要^[16]。另外,有报道显示,在超富集植物体内发现了 Zn 与 NA 的结合^[17]。NA 能与 Mn、Fe(II)、Zn、Co、Ni 和 Cu 按亲和力递增的顺序形成

稳定的螯合物^[18](表 1)。

表 1 苹果酸、柠檬酸、组氨酸、烟草胺和 EDTA 与重金属的配合物稳定常数 (lg K)

Table 1 Logarithms of stoichiometric stability constants (lg K) of malic acid, citric acid, histidine, nicotianamine and EDTA respectively

金属	苹果酸	柠檬酸	组氨酸	烟草胺	EDTA
Mn ²⁺	2.2	3.7	3.3	8.8	13.8
Fe ²⁺	2.5	4.4	5.8	12.1	14.3
Co ²⁺	3.1	4.7	6.8	14.8	16.5
Zn ²⁺	2.9	4.8	6.5	14.7	16.5
Ni ²⁺	5.2	5.4	8.6	16.1	18.6
Cu ²⁺	4.2	5.9	10.1	18.6	18.8

1.2 有机酸类配体

有机酸广泛存在于植物体内,是一种带有 1 个或多个羧基的低分子量的碳氢化合物。有机酸是光合作用的产物,其主要在线粒体中通过三羧酸循环产生,少量产生于乙醛酸循环体^[19]。在重金属进入植物体内后,重金属可与有机酸结合,从而有效降低其与细胞内蛋白和酶结合的机会,起到降低重金属生理毒害作用^[20]。因为植物通常在液泡中储存高浓度的苹果酸等有机酸,所以重金属进入液泡将不可避免地与有机酸结合。在液泡的酸性 pH 值(5~6)条件下,重金属与有机酸结合形成的复合物稳定性较高。因此,有机酸可能在植物液泡区室化重金属过程中扮演重要角色。但值得注意的是,有机酸与重金属形成的配合物稳定常数 (lg K) 明显低于 NA 和 His 等配体^[21],这也说明有机酸和重金属的结合不存在太强的特异性。

2 有机配体在 Ni/Zn 超富集植物体内的作用机制

根部迁移及解毒、木质部转运和叶片解毒等过程是超富集植物从根际土壤吸收重金属并将其转移、富集到地上部的主要调控过程,也是超富集植物区别于普通植物的关键生理机制。有机配体也在这些超富集过程中发挥了重要的作用(图 2)。

2.1 根部迁移及解毒过程

高含量的重金属离子被吸收进入植物根部细胞后会对细胞产生强烈的毒害作用。在细胞质基质偏碱性(pH=7~8)的环境下,氨基酸类物质与重金属的络合能力较强,故细胞质基质中的金属离子倾向于与氨基酸类有机配体结合,从而有效提高重金属的移动性并缓解其毒性^[22-23]。现有研究表明,超富集植物根部通常含有较高浓度的氨基酸类配

体。例如, KERKEB 等^[24]研究发现, Ni 超富集植物 *Odontarrhena lesbiaca* 的根部 His 浓度是非富集植物印度芥菜 (*Brassica juncea*) 的 5 倍以上。而针对 Ni/Zn 超富集植物天蓝遏蓝菜 (*Nocca caerulea*) 的研究也有类似发现:其根部 His 浓度是非富集植物荻蕨 (*Thlaspi arvense*) 的 10 倍,但 2 种植物叶片中的 His 浓度则相差不大^[32]。SALT 等^[13]针对超富集植物天蓝遏蓝菜的研究发现,根细胞中 55%~70% 的 Zn 与 His 结合。Ni 或 Zn 与 His 形成的复合物可有效阻止其向根部液泡的转运,从而显著降低了 Ni/Zn 的液泡区室化作用,增强了其根部的径向移动性以及木质部装载能力^[25-27]。外部添加实验也证实, His 在水培溶液的添加可显著提高非富集植物 *B. juncea* 向地上部转运 Ni 的能力^[24]。

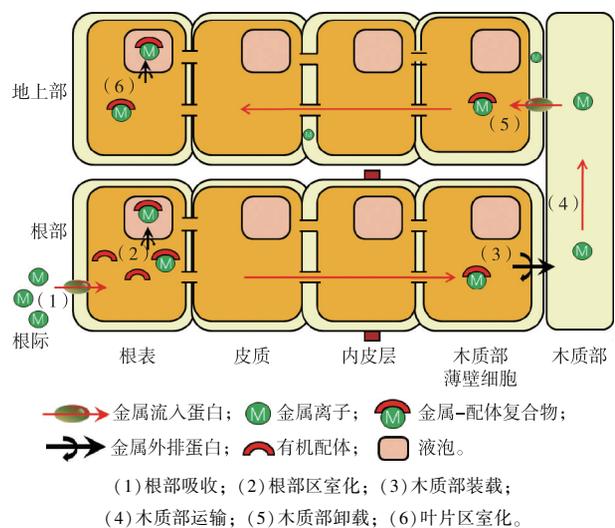


图 2 超富集植物中金属-配体复合物在根和地上部主要运输途径的简化模型

Fig. 2 The simplified model of the main transport routes of metal-ligand complexes in roots and shoots in hyper-accumulators

而与 His 类似, NA 也可能在金属的根部迁移过程中发挥了重要作用。例如, Zn 超富集植物鼠耳芥 (*Arabidopsis halleri*) 根部 NA 的合成能力比与之同属的非富集植物拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 强^[28]。DAMIEN 等^[29]通过体积排阻色谱-ICPMS 联用的方法测定了鼠耳芥根部 Zn 的形态,发现 Zn 主要与 NA 以及巯基类化合物结合;通过基因工程手段将鼠耳芥植株的 NA 合成酶 (NAS) 基因沉默后,植物根部的 NA 含量出现了大幅下降,而 Zn 在地上部的含量也出现了大幅降低,表明 NA 在植物根部 Zn 的转运过程中扮演了重要的角色。另一方面, NA 在重金属解毒过程中也发挥了重要作用。

例如, CHEN 等^[30]将东南景天 (*Sedum alfredii*) *Sa-NAS1* 基因异源表达在非富集植物拟南芥中, 结果发现植物体内 Zn 的浓度出现了显著提高, 对高 Zn 胁迫的耐受性也得到了提升。类似的是, PIANELLI 等^[31]将天蓝遏蓝菜的 *NcNAS* 基因转移至非富集植物拟南芥体内表达, 发现植株体内的 NA 含量升高了 100 倍, 其对 Ni 的耐受性及转移能力也得到了大幅提高。这些研究结果表明, NA 与 Ni、Zn 的结合一方面降低了金属离子的在细胞内的毒性, 另一方面也提高了其在共质体的移动性, 促进了其径向运输能力。

一般而言, 超富集植物根部液泡对重金属的区室化能力较差。但当其长时间培养在相对高浓度的重金属环境下, 重金属仍会被大量转移到根部液泡中储存^[32]。根部液泡呈酸性 (pH = 5~6) 且含有较高浓度的有机酸, 因此在液泡中金属可能主要与有机酸结合。例如, BOOMINATHAN 等^[33]研究 Ni 超富集植物 *Odontarrhena bertolonii* 发现, 在 25 mg · L⁻¹ 的 Ni 处理下其根部 28% 的 Ni 与有机酸 (柠檬酸、苹果酸和丙二酸) 结合。SARRET 等^[34]通过 EXAFS 探索了生长在 Zn 污染土壤中的超富集植物鼠耳芥根部 Zn 的赋存形态, 发现其根部的 Zn 主要与柠檬酸、苹果酸及磷酸盐结合。但 SHEN 等^[35]对比了超富集植物天蓝遏蓝菜及非富集植物 *Thlaspi ochroleucum* 体内有机酸的含量, 发现两者并没有显著的区别。可见有机酸的含量并非金属解毒及超富集的决定性因素。

2.2 木质部转运过程

植物从土壤中吸收 Ni、Zn 后, 通过根部共质体径向运输到达木质部薄壁细胞, 随后主要通过金属外排转运载体 (如 HMA4 蛋白^[36]、YSL 蛋白^[37]) 将

其以重金属离子或重金属-配体复合物的形式装载进入木质部^[38]。木质部是连接地上部和根部的通道, 也是植物的非生命部分, 主要由厚壁死细胞组成^[39]。近年来, 超富集植物木质部运输过程得到了较为广泛的研究。例如, KRÄMER 等^[16]首先报道了 Ni 超富集植物 *O. lesbiaca* 木质部汁液中 Ni 的主要形态, 主要通过 EXAFS 并结合模型计算的结果显示, 48% 的 Ni 以离子态形式存在, 其他的 Ni 则与组氨酸 (19%)、谷氨酸 (15%)、柠檬酸 (9%) 和苹果酸 (3%) 结合; ALVES 等^[40]的田间调查发现, 生长在蛇纹岩地区的超富集植物 *Odontarrhena serpyllifolia* ssp. *lusitanicum*, 其木质部汁液中 70% 的 Ni 为水合离子态, 其他部分则被有机酸螯合, 如柠檬酸 (18%)。CENTOFANTI 等^[41]的研究显示, 在几种齿丝茅属 (*Odontarrhena*) 超富集植物中, 木质部汁液中 Ni 的有机螯合物 (包括有机酸和氨基酸等) 含量要远远低于 Ni 离子的浓度, 说明 Ni 在木质部转运过程中应该主要以离子形态存在。

对 Zn 超富集植物的研究也有类似的结论。SALT 等^[13]对 Zn 超富集植物天蓝遏蓝菜的研究表明, 木质部汁液中 Zn 主要以离子形态为主 (79%), 剩余部分则与柠檬酸络合 (21%)。LIU 等^[42]通过 EXAFS 检测了 Zn 超富集植物东南景天木质部汁液中 Zn 的形态, 发现 Zn 同样以水合 Zn 离子的形态 (>55.9%) 为主, 其余部分的 Zn 则与柠檬酸结合 (36.7%~42.3%)。

总体而言, 由于木质部汁液呈酸性 (pH = 5~6), 且运输的有机配体浓度较低, 因此金属主要以水合离子形式赋存, 少部分则以金属-有机配体的形式赋存 (表 2)。

表 2 木质部汁液中金属赋存形态及其占比

Table 2 The existing form and proportion of heavy metals in xylem sap

植物类型	金属	离子形态 占比/%	有机酸/氨基酸结合态占比/%				来源文献
			组氨酸	谷氨酸	柠檬酸	苹果酸	
<i>Odontarrhena lesbiaca</i>	Ni	48	19	15	9	3	[16]
<i>Odontarrhena serpyllifolia</i> ssp. <i>lusitanicum</i>	Ni	70			18		[47]
天蓝遏蓝菜	Zn	79			21		[13]
东南景天	Zn	>55.9			36.7~42.3		[49]

2.3 叶片解毒过程

叶片的生物量大、赋存的重金属浓度高是超富集植物积累及解毒重金属的主要器官。木质部运输的金属到达叶片后, 通过叶脉传递到整个质外体空间。这时金属或者被叶肉细胞吸收, 或者保留在

质外体中^[43]。BROADHURST 等^[44]研究发现, Ni 超富集植物齿丝茅 (*Odontarrhena chalcidica*) 叶片中 Ni 的首要存储部位是表皮细胞。LEE 等^[45]研究发现, 新喀里多尼亚蛇纹岩地区的多种木本超富集植物叶片中的 Ni 主要以柠檬酸结合态的形式存在。另

外,在欧洲的齿丝茅属 (*Odontarrhena*) 的超富集植物中, Ni 则主要被苹果酸和丙二酸螯合^[46]。

针对 Zn 超富集植物的研究也取得了一些进展。VÁZQUEZ 等^[47]的研究表明,在 10 和 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Zn 处理下,天蓝遏蓝菜叶片中的 Zn 主要分布在表皮细胞和亚表皮细胞的液泡中,较少分布在质外体中。YANG 等^[48]利用放射性同位素示踪技术研究发现,Zn 超富集植物东南景天叶片中有 54% 的 Zn 贮存于细胞壁中,另有 40% 的 Zn 贮存在液泡中。KÜPPER 等^[49]也发现,Zn 超富集植物鼠耳芥叶中的 Zn 主要贮存于叶肉细胞的液泡中。Zn 超富集植物天蓝遏蓝菜^[50]和东南景天^[51]叶片中 Zn 的配体均为苹果酸。综合来看,叶片中的 Ni、Zn 主要储存在液泡内,而液泡中丰富的有机酸为这些金属的解毒提供了丰富的有机配体。

3 有机配体合成与调控的分子机制

超富集植物赋存的高量金属结合有机配体表明其体内存在特殊的配体合成基因表达及调控通路。但现阶段针对有机配体在超富集植物体内合成的相关分子机制还缺乏系统性的探索,下面以超富集植物重要的有机配体(如烟草胺、组氨酸等)为例介绍相关的分子机制。

3.1 烟草胺

NA 的生物合成涉及 2 步反应,需要 2 种酶参与催化,分别是 S-腺苷甲硫氨酸合酶 (SAMS) 和烟草胺 NA 合酶 (NAS)。其中,SAM 基因可编码 SAM 合酶,SAM 合酶催化合成 NA 的前体物质 SAM,SAM 在 NAS 的催化下合成 NA。有研究表明,无论外界 Zn 浓度如何变化,超富集植物鼠耳芥的 SAM 转录水平都维持高位;而非富集植物拟南芥只在过量的 Zn 处理下 SAM 转录水平才会升高^[52-53]。而 NAS 基因在超富集植物鼠耳芥和天蓝遏蓝菜中均被发现存在组成型高量表达现象^[36]。MARI 等^[54]研究发现,天蓝遏蓝菜只在地上部表达 *NcNAS1*,其根部赋存的高浓度 NA 可能是通过韧皮部转移到根部储存。CHEN 等^[55]从东南景天中分离出 4 个 *SaNAS* 基因:*SaNAS2*、*SaNAS3*、*SaNAS4* 和 *SaNAS5*。RT-PCR 分析表明,在 Cd 胁迫的条件下,4 个 *SaNAS* 基因在根部组织高量表达;而在 Zn 胁迫的条件下,只有 *SaNAS2*、*SaNAS3*、*SaNAS4* 这 3 个基因表达上调。总体而言,NA 合成相关基因的过表达可能是植物超富集 Zn 的关键机制之一。

3.2 组氨酸

植物体内 L-组氨酸的合成经历 10 步反应,9

种酶参与催化,其中 ATP-PRT、IGPD 和 HDH 被认为是 His 合成过程中的限速酶。与其他氨基酸不同,大部分合成 His 的酶是由单拷贝基因编码^[56]。前人主要探索了 Ni 超富集植物 His 合成的分子机制。PERSANS 等^[57]研究显示,Ni 超富集植物 *N. goesingense* 合成 His 的 3 种限速酶基因不受 Ni 的调控,即 Ni 胁迫不会改变 3 种基因的表达和植物体内 His 的浓度,说明其体内 His 的合成是持续的,与外界的影响无关。INGLE 等^[56]的研究表明,与非富集植物相比,Ni 超富集植物 *O. lesbiaca* 中的 His 合酶基因 *HISN1A* 和 *HISN1B* 的高量表达与根部游离 His 浓度的增加密切相关。总体而言,Ni 超富集植物体内 His 合成基因的表达量相对较高,但对其转录调控仍知之甚少。

3.3 其他

ZHAO 等^[58]对超富集植物商陆 (*Phytolacca americana*) 进行 Cd 处理发现,植物中蛋氨酸的生物合成上调,蛋氨酸是合成 SAM 的前体,而 SAM 是合成 NA 的前体,所以这可能是增加植物中的 NA 库以应对金属胁迫。SCHNEIDER 等^[59]对 Zn 超富集植物天蓝遏蓝菜的叶表皮和叶肉组织的蛋白质组学研究表明,表皮细胞通过积累更多的谷胱甘肽转移酶 (GST) 和 GSH 来适应高浓度的 Zn。WANG 等^[60]对不同 Cd 浓度处理下龙葵 (*Solanum nigrum*) 的代谢组学研究表明,随着 Cd 胁迫浓度的增加,大多数碳水化合物的浓度增加,表明龙葵主要通过激活其体内的能量代谢途径来减轻 Cd 的毒性。

4 有机配体及金属配合物的检测方法

有机配体在植物体内重金属解毒等方面发挥着重要作用。植物体内的有机配体可以通过液质联用 (LC-MS)^[61]、气相质谱联用 (GC-MS)^[61] 和高效液相色谱-电喷雾/四极杆飞行时间串联质谱联用 (LC-ESI-Q-TOF-MS)^[62] 等方法进行检测。而植物体内的金属配合物的检测方法^[63] 主要有红外光谱 (FTIR)、电子自旋共振光谱 (ESR)、X 射线吸收光谱 (EXAFS)、核磁共振 (NMR) 和 LC-ESI-Q-TOF-MS。MCNEAR 等^[64] 使用 ATR-FTIR 的方法研究 Ni 在超富集植物齿丝茅植物汁液中的形态,结果表明 Ni 在齿丝茅植物汁液和维管系统中主要与组氨酸、苹果酸盐等低分子有机配体结合。MERDY 等^[65] 研究了小麦秸秆细胞壁残渣 (CWR) 对 Cu(II) 的吸附作用,根据 ESR 的参数推断 Cu(II) 离子与 CWR 络合时,与 4 个含氧基团以方平面排列方式配位。STRACZEK 等^[66] 通过 EXAFS 观察烟草根系中

Zn 的配位,发现 Zn 主要与根细胞壁中的 COOH/OH 基团(总根系 Zn 的 40%~80%)和细胞质基质中的有机酸(如柠檬酸盐和苹果盐)结合。UENO 等^[67]通过¹¹³Cd-NMR 研究超富集植物天蓝遏蓝菜叶片中 Cd 的赋存形态,发现叶片中的 Cd 主要与苹果酸结合。TSEDNEE 等^[70]通过 LC-ESI-Q-TOF-MS 的方法测定了小麦样品中的 Fe-PS 配合物的含量。

5 展望

总体而言,超富集植物体内高量的小分子有机配体可能是其高效转运及耐受重金属的重要原因。目前该领域的研究仍存在较多空白,未来仍需针对重金属超富集植物螯合解毒、转运机制开展进一步的探索:

(1)超富集植物有机配体的种类及其作用有待进一步研究。目前的研究主要围绕组氨酸和烟草胺等几种配体,以及天蓝遏蓝菜、东南景天等几种超富集植物,对其他有机配体及植物品种的研究较少。不同超富集植物品种体内的配体是否具有特异性?未来需结合代谢组学方法对更多品种的超富集植物体内有机配体进行分析。

(2)氨基酸类配体的含量变化对超富集植物体内蛋白质合成的影响有待进一步研究。超富集植物持续合成高量的氨基酸类配体,是否会对植物体内其他氨基酸类物质的合成产生影响?超富集植物如何进行调控和平衡?目前这部分尚属于研究空白,未来需运用蛋白质组学等方法重点探索超富集植物中有机配体含量变化对其体内蛋白质合成的影响。

(3)超富集植物中有机配体的合成、调控及转运的分子机制有待进一步研究。例如,超富集植物持续高量表达 NAS 基因的调控信号来自哪里?植物体内的有机配体如何在植物根部-地上部进行循环运输?未来需运用分子生物学和系统生物学等方法研究超富集植物中有机配体的合成、调控及转运的分子机制。

(4)有机配体在植物提取修复过程中的应用技术有待进一步研究。如何提高超富集植物地上部重金属的浓度是决定植物提取修复成败的重要难题。而有机配体是影响重金属向地上部转运的重要因素。未来可通过外部施加相关有机配体的方式,或通过筛选或构建超量合成有机配体的超富集植物品种,达到提高植物提取效率的目的。

参考文献:

- [1] BROOKS R R, LEE J, REEVES R D, *et al.* Detection of Nickeliferous Rocks by Analysis of Herbarium Specimens of Indicator Plants [J]. *Journal of Geochemical Exploration*, 1977, 7: 49-57.
- [2] BROOKS R R, MORRISON R S, REEVES R D, *et al.* Hyperaccumulation of Nickel by *Alyssum linnaeus* (Cruciferae) [J]. *Proceedings of the Royal Society of London; Series B, Biological Sciences*, 1979, 203(1153): 387-403.
- [3] BAKER A J M. Metal Tolerance [J]. *New Phytologist*, 2008, 106: 93-111.
- [4] CHANEY R. Plant Uptake of Inorganic Waste Constituents [J]. *Land Treatment of Hazardous Wastes*, 1983, 5: 50-76.
- [5] VAN DER ENT A, BAKER A J M, REEVES R D, *et al.* Hyperaccumulators of Metal and Metalloid Trace Elements: Facts and Fiction [J]. *Plant and Soil*, 2013, 362(1): 319-334.
- [6] REEVES R D, VAN DER ENT A, BAKER A J M. Global Distribution and Ecology of Hyperaccumulator Plants [M] // VAN DER ENT A, ECHEVARRIA G, BAKER A, *et al.* *Agromining: Farming for Metals*. Cham, USA: Springer, 2018: 75-92.
- [7] The University of Queensland, Australia. Global Hyperaccumulator Database [EB/OL]. [2022-04-12]. <http://hyperaccumulators.smi.uq.edu.au/collection/>.
- [8] 何玉君, 孙梦荷, 沈亚婷, 等. 超富集植物与重金属相互作用机制及应用研究进展 [J]. *岩矿测试*, 2020, 39(5): 639-657. [HE Yu-jun, SUN Meng-he, SHEN Ya-ting, *et al.* Research Progress on the Interaction Mechanism between Hyperaccumulator and Heavy Metals and Its Application [J]. *Rock and Mineral Analysis*, 2020, 39(5): 639-657.]
- [9] KRÄMER U. Metal Hyperaccumulation in Plants [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2010, 61: 517-534.
- [10] 孙琴, 倪吾钟, 杨肖娥. 超积累植物体内的小分子螯合物质及其生理作用 [J]. *广东微量元素科学*, 2001, 8(5): 1-8. [SUN Qin, NI Wu-zhong, YANG Xiao-e. Low Molecular Weight Chelating Compounds and Their Physiological Function in Hyperaccumulator [J]. *Trace Elements Science*, 2001, 8(5): 1-8.]
- [11] INGLE R A. Histidine Biosynthesis [J]. *The Arabidopsis Book*, 2011, 9: e0141.
- [12] SALT D E, KATO N, KRÄMER U, *et al.* The Role of Root Exudates in Nickel Hyperaccumulation and Tolerance in Accumulator and Nonaccumulator Species of *Thlaspi* [M] // TERRY N, BAÑUELOS G S. *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*. Boca Raton, USA: CRC Press, 2020: 189-200.
- [13] SALT D E, PRINCE R C, BAKER A J M, *et al.* Zinc Ligands in the Metal Hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* as Determined Using X-Ray Absorption Spectroscopy [J]. *Environmental Science & Technology*, 1999, 33(5): 713-717.
- [14] SEREGIN I V, KOZHEVNIKOVA A D. Low-molecular-weight Ligands in Plants: Role in Metal Homeostasis and Hyperaccumulation [J]. *Photosynthesis Research*, 2020, 150(1/2/3): 51-96.
- [15] SCHOLZ G, BECKER R, PICH A, *et al.* Nicotianamine-a Common Constituent of Strategies I and II of Iron Acquisition by Plants: A Review [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1992, 15(10): 1647-1665.

- [16] PICH A, SCHOLZ G, STEPHAN U W. Iron-Dependent Changes of Heavy Metals, Nicotianamine, and Citrate in Different Plant Organs and in the Xylem Exudate of Two Tomato Genotypes. Nicotianamine as Possible Copper Translocator [J]. *Plant and Soil*, 1994, 165 (2): 189–196.
- [17] TRAMPCZYNSKA A, KÜPPER H, MEYER-KLAUCKE W, *et al.* Nicotianamine Forms Complexes with Zn(II) in Vivo [J]. *Metallomics*, 2010, 2(1): 57–66.
- [18] BLINDAUER C A, SCHMID R. Cytosolic Metal Handling in Plants; Determinants for Zinc Specificity in Metal Transporters and Metallothioneins [J]. *Metallomics*, 2010, 2(8): 510–529.
- [19] 龙新宪, 杨肖娥, 叶正钱. 超积累植物的金属配位体及其在植物修复中的应用 [J]. *植物生理学通讯*, 2003, 39(1): 71–77. [LONG Xin-xian, YANG Xiao-e, YE Zheng-qian. Metal Chelators in Hyperaccumulator and Their Application in Phytoremediation [J]. *Plant Physiology Communications*, 2003, 39(1): 71–77.]
- [20] 朱艳霞, 魏幼璋, 叶正钱, 等. 有机酸在超积累植物重金属解毒机制中的作用 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2006, 34(7): 121–126. [ZHU Yan-xia, WEI You-zhang, YE Zheng-qian, *et al.* Function of Organic Acids in Heavy Metal Tolerance Mechanism in Hyperaccumulator [J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition)*, 2006, 34(7): 121–126.]
- [21] CLEMENS S, DEINLEIN U, AHMADI H, *et al.* Nicotianamine Is a Major Player in Plant Zn Homeostasis [J]. *BioMetals*, 2013, 26(4): 623–632.
- [22] HAYDON M J, COBBETT C S. Transporters of Ligands for Essential Metal Ions in Plants [J]. *New Phytologist*, 2007, 174(3): 499–506.
- [23] HARRIS W R, SAMMONS R D, GRABIAK R C. A Speciation Model of Essential Trace Metal Ions in Phloem [J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2012, 116: 140–150.
- [24] KERKEB L, KRÄMER U. The Role of Free Histidine in Xylem Loading of Nickel in *Alyssum lesbiacum* and *Brassica juncea* [J]. *Plant Physiology*, 2003, 131(2): 716–724.
- [25] RICHAU K H, KOZHEVNIKOVA A D, SEREGIN I V, *et al.* Chelation by Histidine Inhibits the Vacuolar Sequestration of Nickel in Roots of the Hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. *New Phytologist*, 2009, 183(1): 106–116.
- [26] KOZHEVNIKOVA A D, SEREGIN I V, VERWEI J R, *et al.* Histidine Promotes the Loading of Nickel and Zinc, but not of Cadmium, into the Xylem in *Noccaea caerulescens* [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2014, 9(9): e29580.
- [27] KOZHEVNIKOVA A D, SEREGIN I V, ERLIKH N T, *et al.* Histidine-Mediated Xylem Loading of Zinc is a Species-Wide Character in *Noccaea caerulescens* [J]. *The New Phytologist*, 2014, 203(2): 508–519.
- [28] CLEMENS S. Metal Ligands in Micronutrient Acquisition and Homeostasis [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2019, 42(10): 2902–2912.
- [29] DEINLEIN U, WEBER M, SCHMID T H, *et al.* Elevated Nicotianamine Levels in *Arabidopsis halleri* Roots Play a Key Role in Zinc Hyperaccumulation [J]. *The Plant Cell*, 2012, 24(2): 708–723.
- [30] CHEN S N, ZHANG M, FENG Y, *et al.* Nicotianamine Synthase Gene 1 from the Hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance Is Associated with Cd/Zn Tolerance and Accumulation in Plants [J]. *Plant and Soil*, 2019, 443(1/2): 413–427.
- [31] PIANELLI K, MARI S, MARQUÈS L, *et al.* Nicotianamine Overaccumulation Confers Resistance to Nickel in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Transgenic Research*, 2005, 14(5): 739–748.
- [32] MONTARGÈS-PELLETIER E, CHARDOT V, ECHEVARRIA G, *et al.* Identification of Nickel Chelators in Three Hyperaccumulating Plants; An X-Ray Spectroscopic Study [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(8): 1695–1709.
- [33] BOOMINATHAN R, DORAN P M. Organic Acid Complexation, Heavy Metal Distribution and the Effect of ATPase Inhibition in Hairy Roots of Hyperaccumulator Plant Species [J]. *Journal of Biotechnology*, 2003, 101(2): 131–146.
- [34] SARRET G, SAUMITOU-LAPRADE P, BERT V, *et al.* Forms of Zinc Accumulated in the Hyperaccumulator *Arabidopsis halleri* [J]. *Plant Physiology*, 2002, 130(4): 1815–1826.
- [35] SHEN Z G, ZHAO F J, MCGRATH S P. Uptake and Transport of Zinc in the Hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* and the Non-Hyperaccumulator *Thlaspi ochroleucum* [J]. *Plant, Cell and Environment*, 1997, 20(7): 898–906.
- [36] HANIKENNE M, TALKE I N, HAYDON M J, *et al.* Evolution of Metal Hyperaccumulation Required Cis-Regulatory Changes and Triplication of HMA4 [J]. *Nature*, 2008, 453(7193): 391–395.
- [37] GENDRE D, CZERNIC P, CONÉJÉRO G, *et al.* TeYSL3, a Member of the YSL Gene Family from the Hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*, Encodes a Nicotianamine-Ni/Fe Transporter [J]. *The Plant Journal*, 2006, 49(1): 1–15.
- [38] 王晓娟, 王文斌, 杨龙, 等. 重金属镉(Cd)在植物体内的转运途径及其调控机制 [J]. *生态学报*, 2015, 35(23): 7921–7929. [WANG Xiao-juan, WANG Wen-bin, YANG Long, *et al.* Transport Pathways of Cadmium (Cd) and Its Regulatory Mechanisms in Plant [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(23): 7921–7929.]
- [39] 林庆宇, 李建平, 闫研. 超积累植物富集机制研究方法进展 [J]. *分析化学*, 2008, 36(3): 405–412. [LIN Qing-yu, LI Jian-ping, YAN Yan. Progress on the Methodological Research for Enrichment Mechanism of Hyperaccumulators on Metal Ions [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2008, 36(3): 405–412.]
- [40] ALVES S, NABAIS C, DE LURDES S G M, *et al.* Nickel Speciation in the Xylem Sap of the Hyperaccumulator *Alyssum serpyllifolium* ssp. *lusitanicum* Growing on Serpentine Soils of Northeast Portugal [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2011, 168(15): 1715–1722.
- [41] CENTOFANTI T, SAYERS Z, CABELLO-CONEJO M I, *et al.* Xylem Exudate Composition and Root-to-Shoot Nickel Translocation in *Alyssum* Species [J]. *Plant and Soil*, 2013, 373(1): 59–75.
- [42] LU L L, TIAN S, ZHANG J, *et al.* Efficient Xylem Transport and Phloem Remobilization of Zn in the Hyperaccumulator Plant Species *Sedum alfredii* [J]. *New Phytologist*, 2013, 198(3): 721–731.
- [43] DENG T H B, VAN DER ENT A, TANG Y T, *et al.* Nickel Hyperaccumulation Mechanisms: A Review on the Current State of

- Knowledge[J]. Plant and Soil, 2018, 423(1): 1–11.
- [44] BROADHURST C L, CHANEY R L, ANGLE J S, *et al.* Nickel Localization and Response to Increasing Ni Soil Levels in Leaves of the Ni Hyperaccumulator *Alyssum murale* [J]. Plant and Soil, 2004, 265(1): 225–242.
- [45] LEE J L, REEVES R D, BROOKS R R, *et al.* Isolation and Identification of a Citrato-complex of Nickel from Nickel-accumulating Plants[J]. Phytochemistry, 1977, 16(10): 1503–1505.
- [46] BROOKS R R, SHAW S, ASENSIMARFIL A. The Chemical Form and Physiological Function of Nickel in Some Iberian *Alyssum* Species[J]. Physiologia Plantarum, 1981, 51(2): 167–170.
- [47] VÁZQUEZ M D, POSCHENRIEDER C, BARCELÓ J, *et al.* Compartmentation of Zinc in Roots and Leaves of the Zinc Hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* J & C Presl[J]. Botanica Acta, 1994, 107(4): 243–250.
- [48] YANG X E, LI T Q, YANG J C, *et al.* Zinc Compartmentation in Root, Transport into Xylem, and Absorption into Leaf Cells in the Hyperaccumulating Species of *Sedum alfredii* Hance [J]. Planta, 2006, 224(1): 185–195.
- [49] KÜPPER H, LOMBI E, ZHAO F J, *et al.* Cellular Compartmentation of Cadmium and Zinc in Relation to other Elements in the Hyperaccumulator *Arabidopsis halleri* [J]. Planta, 2000, 212(1): 75–84.
- [50] TOLRA R, POSCHENRIEDER C, BARCELO J. Zinc Hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*; II. Influence on Organic Acids [J]. Journal of Plant Nutrition, 1996, 19(12): 1541–1550.
- [51] LU L L, LIAO X C, LABAVITCH J, *et al.* Speciation and Localization of Zn in the Hyperaccumulator *Sedum alfredii* by Extended X-Ray Absorption Fine Structure and Micro-X-Ray Fluorescence[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2014, 84: 224–232.
- [52] TALKE I N, HANIKENNE M, KRÄMER U. Zinc-Dependent Global Transcriptional Control, Transcriptional Deregulation, and Higher Gene Copy Number for Genes in Metal Homeostasis of the Hyperaccumulator *Arabidopsis halleri* [J]. Plant Physiology, 2006, 142(1): 148–167.
- [53] MO X R, ZHU Q Y, LI X, *et al.* The Hpa1 Mutant of *Arabidopsis* Reveals a Crucial Role of *Histidine homeostasis* in Root Meristem Maintenance[J]. Plant Physiology, 2006, 141(4): 1425–1435.
- [54] MARI S, GENDRE D, PIANELLI K, *et al.* Root-to-shoot Long-distance Circulation of Nicotianamine and Nicotianamine-Nickel Chelates in the Metal Hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 57(15): 4111–4122.
- [55] CHEN S N, ALI SAHITO Z, ZHANG M, *et al.* Identification and Characterization of Four Nicotianamine Synthase Genes in *Sedum alfredii* Hance [J]. Journal of Biobased Materials and Bioenergy, 2018, 12(6): 551–559.
- [56] INGLE R A, MUGFORD S T, REES J D, *et al.* Constitutively High Expression of the Histidine Biosynthetic Pathway Contributes to Nickel Tolerance in Hyperaccumulator Plants[J]. The Plant Cell, 2005, 17(7): 2089–2106.
- [57] PERSANS M W, YAN X, PATNOE J M, *et al.* Molecular Dissection of the Role of Histidine in Nickel Hyperaccumulation in *Thlaspi goesingense* (Hádlácsy) [J]. Plant Physiology, 1999, 121(4): 1117–1126.
- [58] ZHAO L, SUN Y L, CUI S X, *et al.* Cd-Induced Changes in Leaf Proteome of the Hyperaccumulator Plant *Phytolacca americana* [J]. Chemosphere, 2011, 85(1): 56–66.
- [59] SCHNEIDER T, PERSSON D P, HUSTEDS, *et al.* A Proteomics Approach to Investigate the Process of Zn Hyperaccumulation in *Noccaea caerulescens* (J & C. Presl) F. K. Meyer [J]. The Plant Journal, 2013, 73(1): 131–142.
- [60] WANG J C, CHEN X F, CHU S H, *et al.* Comparative Cytology Combined with Transcriptomic and Metabolomic Analyses of *Solanum nigrum* L. in Response to Cd Toxicity [J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 423: 127168.
- [61] VAN DER ENT A, CALLAHAN D L, NOLLER B N, *et al.* Nickel Biopathways in Tropical Nickel Hyperaccumulating Trees from Sabah (Malaysia) [J]. Scientific Reports, 2017, 7: 41861.
- [62] TSEDNEE M, MAK Y W, CHEN Y R, *et al.* A Sensitive LC-ESI-Q-TOF-MS Method Reveals Novel Phytosiderophores and Phytosiderophore-Iron Complexes in Barley [J]. New Phytologist, 2012, 195(4): 951–961.
- [63] 彭红云, 杨肖娥. 金属有机配体分析方法及金属组学研究 [J]. 分析化学, 2006, 34(8): 1190–1196. [PENG Hong-yun, YANG Xiao-e. Analytical Techniques for Metal-organic Ligand and Metal-omics Study [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2006, 34(8): 1190–1196.]
- [64] MCNEAR D H, CHANEY R L, SPARKS D L. The Hyperaccumulator *Alyssum murale* Uses Complexation with Nitrogen and Oxygen Donor Ligands for Ni Transport and Storage [J]. Phytochemistry, 2010, 71(2/3): 188–200.
- [65] MERDY P, GUILLON E, DUMONCEAU J, *et al.* Spectroscopic Study of Copper (II)-Wheat Straw Cell Wall Residue Surface Complexes [J]. Environmental Science & Technology, 2002, 36(8): 1728–1733.
- [66] STRACZEK A, SARRET G, MANCEAU A, *et al.* Zinc Distribution and Speciation in Roots of Various Genotypes of Tobacco Exposed to Zn [J]. Environmental and Experimental Botany, 2008, 63(1/2/3): 80–90.
- [67] UENO D, MA J F, IWASHITA T, *et al.* Identification of the Form of Cd in the Leaves of a Superior Cd-Accumulating Ecotype of *Thlaspi caerulescens* Using ^{113}Cd -NMR [J]. Planta, 2005, 221(6): 928–936.

作者简介: 莫冰岚(1998—), 女, 广西贵港人, 主要从事污染环境修复技术研究。E-mail: mobinglan@stu.scau.edu.cn

(责任编辑: 陈 昕)