DOI: 10.3724/SP.J.1011.2013.01114

锌在再力花体内的富集性及亚细胞分布和化学形态研究

李冬香[1] 陈清西[2*]

(1. 福建农林大学园艺学院 福州 350002; 2. 福建农林大学 福州 350002)

摘 要 为研究 Zn 在再力花(*Thalia dealbata* Fraser)体内的富集性及亚细胞分布和化学形态, 依次设定 0(CK)、0.075 mmol·L^{-1}、0.250 mmol·L^{-1}、0.500 mmol·L^{-1}、1.000 mmol·L^{-1}、2.000 mmol·L^{-1} 6 个 Zn 处理浓度, 对再力花进行水培培养的胁迫试验。结果表明: 再力花不能有效地将 Zn 运输到地上部, Zn 主要积累在根部。在系列 Zn 浓度处理下, 转运系数均<1, 得出再力花并非超富集植物。在此基础上, 采用差速离心技术和化学试剂逐步提取法, 研究 Zn 在该植物根系中的亚细胞分布和化学形态。结果表明: 低浓度[0(CK), 0.075 mmol·L^{-1}, 0.250 mmol·L^{-1}]Zn 处理下, Zn 主要分布于再力花根部的细胞壁、细胞核及叶绿体中; Zn 在再力花根部的存在形态主要是乙醇提取态, 占 50%以上, 其次是氯化钠提取态。随着 Zn 处理浓度的提高(0.500 mmol·L^{-1}, 1.000 mmol·L^{-1}, 2.000 mmol·L^{-1}), 细胞溶质成为 Zn 的最主要分布位点, 分别占 31.15%、45.12%和 56.44%, 其次为细胞壁; 乙醇提取态的比例有所下降, 氯化钠提取态、水提取态的比例则随着处理浓度的提高而提高至 30%以上, 成为 Zn 在再力花根部的三大存在形态。

关键词 再力花 锌 富集性 亚细胞分布 化学形态
中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2013)09-1114-05

Determinating zinc accumulation, sub-cellular distribution and chemical forms of *Thalia dealbata* Fraser

LI Dong-Xiang[1], CHEN Qing-Xi[2]

(1. College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;
2. Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract In this study, 6 zinc concentrations were used in *Thalia dealbata* Fraser aquaculture to determine the enrichment, and root sub-cellular fraction distribution and chemical forms of zinc of *T. dealbata*. The zinc concentrations were 0 (CK), 0.075 mmol·L^{-1}, 0.250 mmol·L^{-1}, 0.500 mmol·L^{-1}, 1.000 mmol·L^{-1} and 2.000 mmol·L^{-1}. The results showed the zinc was not effectively transportable to the above-ground part of *T. dealbata* and was mainly accumulated in roots. *T. dealbata* was not a hyper-accumulator as all the transfer coefficients were less than 1 under different zinc concentrations. On that basis, differential centrifugation technique and sequential chemical extraction method were used to study sub-cellular distribution and chemical forms of zinc in roots of *T. dealbata*. The results showed that under low znic concentrations (CK, 0.075 mmol·L^{-1} and 0.250 mmol·L^{-1}), zinc was mainly bounded to cell walls, cell nucli and chloroplasts. Ethanol extractable zinc was in a dominant extractable state and accounted for over 50%, followed by NaCl extractable zinc in *T. dealbata* roots. With increasing zinc concentrations (0.500 mmol·L^{-1}, 1.000 mmol·L^{-1} and 2.000 mmol·L^{-1}), cytosol became the main zinc distribution site in *T. dealbata* roots, followed by cell walls. Zinc in cytosol respectively accounted for 31.15%, 45.12% and 56.44%. The proportion of ethanol extractable zinc dropped while NaCl and water extractable zinc increased with increasing zinc concentration, accounting for over 30% of extracted zinc. Ethanol, NaCl and water extractable zinc were the three main zinc chemical forms.

Key words *Thalia dealbata* Fraser, Zinc, Enrichment, Sub-cellular distribution, Chemical form
(Received Nov. 9, 2012; accepted Apr. 2, 2013)

* 通讯作者: 陈清西(1964—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事园艺植物栽培生理的教学和科研工作。E-mail: cqx0246@163.com
李冬香(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为花卉生理。E-mail: dongxiang_li@163.com
收稿日期: 2012−11−09 接受日期: 2013−04−02

Zn 污染越来越受到人们的重视, 它是一种主要的陆生与水生环境的工业污染物[1]。水生环境 Zn 污染主要来源于矿山开采产生的废水、冶炼厂的排污废水、城市工业排放的污废水及生活污水。这些污废水有的直接排放于湿地中, 有的则经过雨水冲涮、水土流失、土表径流等汇聚到湿地中。如蔡海洋等[2]研究表明, 闽江口塔礁洲湿地表层沉积物中 Zn 含量为 50.36~516.39 mg·kg^{-1}, 为背景值的 2.0 倍。

如何治理水体中 Zn 污染也成为各国环境科学工作者的研究热点, 对植物修复(phytoremediation)技术的研究也迅速发展。它是一种以植物忍耐、分解或积累某些化学元素的生理功能为基础, 利用植物、植物与微生物的共生体系, 吸收、降解、挥发和富集环境中污染物的环境污染治理技术[3], 其成本低、效果好、无二次污染。超富集植物(hyperaccumulator), 即指能超量吸收重金属并将其运输到地上部的植物[4], 主要集中在十字花科(Cruciferae), 其中研究较多的是芸苔属(*Brassica*)、庭芥属(*Alyssums*)及遏蓝菜属(*Thlaspi*)植物。另外, 许多研究者对植物如何降低重金属 Zn 的毒害做了探讨, 并且认为 Zn 在植株体内通过螯合作用固定 Zn^{2+}, 在细胞壁的沉淀及细胞内的区隔划分是植物解毒的有效途径[5]。

再力花(*Thalia dealbata* Fraser), 又名水竹芋, 多年生挺水草本植物, 观赏价值极高, 在湿地园林绿化中得到广泛应用。目前有关再力花的研究主要集中在引种栽培、驯化、适应性评价等方面[6–9], 而有关其对 Zn 的富集性研究则鲜有报道。本研究通过不同浓度 Zn 处理后再力花体内的 Zn 富集、转运能力的比较, 以判断其是否为超富集植物。在此基础上探究了 Zn 在再力花细胞内的分布及化学形态, 以解释其成为超富集植物或非超富集植物的原因。

1　材料与方法

1.1　植物培养与处理

选择生长健康、长势一致的再力花成株(株高约 50 cm), 先用营养液进行适应培养, 试验采用随机区组设计, 置于福建农林大学园艺学院实验楼, 避雨栽培。容器采用特制的无漏洞的花盆, 每盆 3 株, 每盆装培养液 2.5 L。营养液配方为大量元素(mmol·L^{-1}): KNO_3, 6; $Ca(NO_3)_2$, 4; KH_2PO_4, 2; $MgSO_4$, 1; 微量元素(μmol·L^{-1}): H_3BO_3, 10; $MnCl_2$, 2; $ZnSO_4$, 2; $CuSO_4$, 0.5; $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$, 0.065; Fe-EDTA, 20。

7 d 后进行 Zn 胁迫试验, 依浓度(mmol·L^{-1})设 0(CK)、0.075(T1)、0.250(T2)、0.500(T3)、1.000(T4)、2.000(T5)6 个处理, 每处理重复 5 次, 每次 3 株。Zn 胁迫采用在营养液(配方同上)中另外以 $Zn(NO_3)_2$ 形式加入, 每天定时通气 3 次、每次 20 min。培养 7 d 后, 收获植株。先用去离子水冲洗, 然后用 15 mmol·L^{-1} EDTA-Na_2 浸泡根系 20 min, 以去除表面吸附的 Zn^{2+}。最后用去离子水冲洗, 吸干表面水分后, 分根、茎、叶装好, 保存在–40 ℃冰箱中。

1.2　测定方法

植株体内 Zn 含量测定采用干灰化–原子吸收分光光度法[10]。每处理重复 3 次。

根部亚细胞组分分离及测定参照 Weigel 等[11]和 Gabbrielli 等[12]的差速离心法, 并稍作修改。所有步骤控制在 4 ℃下进行。准确称取鲜样 0.500 0 g, 加入 20 mL 预冷的提取液[0.25 mol·L^{-1} 蔗糖+50 mmol·L^{-1}Tris-HCl 缓冲液(pH7.5)+1 mmol·L^{-1} 二硫苏糖醇(DTT)], 研磨至匀浆。匀浆液用 4 层尼龙纱布过滤, 滤渣为细胞壁部分(F1); 滤液 600×g 离心 10 min, 沉淀为细胞核部分(F2); 上清液 2 000×g 离心 15 min, 沉淀为叶绿体部分(F3); 上清液 10 000×g 离心 20 min, 沉淀为线粒体部分(F4); 上清液为含核糖体的可溶部分(F5), 每组都离心两次。以提取剂为空白, 上清液用原子吸收分光光度计直接测定 Zn 含量; 残渣和沉淀用去离子水少量多次洗入 50 mL 锥形瓶中, 于烘箱中烘干后加入 5 mL 混酸(硝酸∶高氯酸=4∶1, 下同), 消煮至澄清, 用去离子水定容后测定。每处理重复 3 次。

根部 Zn 化学形态分析采用许嘉琳等[13]的方法并稍做修改。准确称取 0.500 0 g 植物鲜样, 加入 20 mL 提取剂研磨成匀浆, 转入 50 mL 离心管, 25 ℃恒温振荡 22 h 后 5 000 r·min^{-1} 离心 10 min。将上清液倒入 50 mL 锥形瓶, 再加入 10 mL 提取剂, 25 ℃恒温振荡 22 h 后 5 000 r·min^{-1} 离心 10 min, 将上清液倒入同一锥形瓶, 即合并两次上清液。再向沉淀中加入下一提取剂, 试验共采用 5 种提取剂进行逐步提取。本试验采用的提取剂及对应的 Zn 化学形态关系见表 1。

上清液于电热板上蒸至近干, 加入 5 mL 混酸, 消煮至澄清, 用去离子水定容后测定。每处理重复 3 次。

1.3　数据分析

采用 Excel 及 SPSS 13.0 进行数据分析及处理。

2　结果与分析

2.1　不同 **Zn** 浓度处理下再力花对 **Zn** 的吸收

由表 2 可知, 再力花地上部 Zn 含量随着 Zn 处理浓度的增大呈现先上升后下降的趋势, 1.000 mmol·L^{-1} 处理达到最大。但叶片的 Zn 含量却不表现这种趋势, 除对照外, 各处理间并不存在显著差异。

表 1 Zn 化学形态分析中提取剂与对应的 Zn 化学形态关系

Table 1 Relationship between the extractant and Zn chemical forms in the Zn chemical speciation

顺序 Order	提取剂 Extractable solution	符号 Symbol	提取 Zn 主导形态 Dominant forms of extracted Zn
1	80%乙醇 80% ethanol	F-E	以硝酸锌、氯化锌为主的无机盐及氨基酸盐等 Inorganic salt and amino acid salt which mainly are composed of zinc nitrate and zinc chloride
2	去离子水 Deionized water	F-W	水溶性有机酸锌、一代磷酸锌[$Zn(H_2PO_4)_2$]等 Water-solubility organic acid znic and $Zn(H_2PO_4)_2$
3	1 mol·L^{-1} 氯化钠 1 mol·L^{-1} Nacl	F-NaCl	果胶锌、与蛋白质结合态或吸附态的锌等 Pectin zinc and zinc combined with or adsorbed to protein
4	2%醋酸 2% acetic acid	F-A	难溶于水的锌磷酸盐，包括二代磷酸盐($ZnHPO_4$)、正磷酸盐[$Zn_3(PO)_2$]等 Zinc phosphate which is difficult to dissolve in water, including $ZnHPO_4$ and $Zn_3(PO)_2$
5	0.6 mol·L^{-1} 盐酸 0.6 mol·L^{-1} HCl	F-HCl	草酸锌 Zinc oxalate

表 2 不同 Zn 浓度处理下再力花各组织中 Zn 含量

Table 2 Zn contents in tissues of *Thalia dealbata* Fraser under different zinc concentrations

Zn 处理浓度 Zinc concentration (mmol·L^{-1})	Zn 含量 Zinc content [mg·kg^{-1}(DW)]				转运系数 Transfer coefficient
	叶 Leaf	茎 Stem	根 Root	地上部 Overground part	
0(CK)	9.73±0.38a	9.96±0.26a	20.47±1.17a	19.70±0.64a	0.96
0.075(T1)	17.01±1.27b	22.62±0.86b	82.90±3.19b	39.62±2.13b	0.48
0.250(T2)	14.60±1.23b	31.02±4.61c	125.06±3.04c	45.62±5.84bc	0.36
0.500(T3)	14.85±3.01b	31.77±3.25c	180.15±9.33d	46.62±6.26c	0.26
1.000(T4)	15.56±2.75b	52.31±5.27d	203.95±5.94e	67.87±8.02d	0.33
2.000(T5)	17.28±2.37b	41.58±3.59e	250.73±8.49f	58.86±5.96e	0.23

同列数据后不同字母表示 $P<0.05$ 水平差异显著 Different small letters in the same column mean significant difference at $P<0.05$. 转运系数=地上部锌含量/根系锌含量 Transfer coefficient=zinc content in the overground part / zinc content in the root.

根部 Zn 含量随着 Zn 处理浓度的增加而增加，且增幅较大，各处理间达到显著差异($P<0.05$)。

另外，植物地上部 Zn 含量始终比根系 Zn 含量小，转运系数均<1，这表明再力花在营养液培养条件下，不能有效地将 Zn 运输到地上部，Zn 主要积累在根部。

2.2 不同 **Zn** 浓度处理下 **Zn** 在再力花中的亚细胞分布

不同 Zn 浓度处理下，Zn 在再力花根中的分布见图 1。在低 Zn 浓度 0(CK)、0.075 mmol·L^{-1} 处理下，Zn 主要分布在细胞壁、细胞核以及叶绿体，所占比例达 21.42%~33.33%。当处理浓度为 0.250 mmol·L^{-1}、0.500 mmol·L^{-1} 时，Zn 主要分布在可溶部分(F5，主要是液泡)，分别占 24.59%、31.15%，此时叶绿体仍占很大比例，分别为 30.35%、20.12%。当 Zn 处理浓度达到 1.000 mmol·L^{-1}、2.000 mmol·L^{-1} 时，可溶部分 Zn 所占的比例则显著增加($P<0.05$)，分别达到 45.12%及 56.44%，此时细胞壁中 Zn 含量也增加至 23.08%与 20.15%，居第 2 位，而叶绿体中 Zn 含量则显著减少($P<0.05$)。在细胞最重要的呼吸作用场所——线粒体中 Zn 含量则始终处于较低水平。

上述结果表明，低浓度下，Zn 主要分布于再力花根部的细胞壁、细胞核及叶绿体。随着处理浓度的提高，叶绿体中 Zn 含量明显降低，可溶部分成为 Zn 的最主要分布位点，其次为细胞壁。

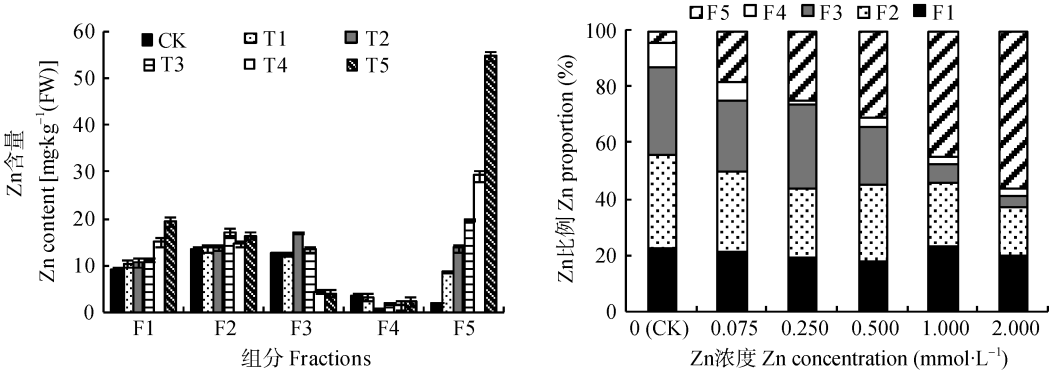


图 1 不同 Zn 浓度处理对再力花根部 Zn 的亚细胞分布的影响

Fig. 1 Subcellular distribution of Zn in the root of *Thalia dealbata* Fraser under different Zn concentrations

F1: 细胞壁; F2: 细胞核; F3: 叶绿体; F4: 线粒体; F5: 可溶部分。F1: cell wall; F2: cell nucleus; F3: chloroplast; F4: mitochondria; F5: soluble fraction.

2.3　不同 Zn 浓度处理下再力花根部 Zn 的化学形态

Zn 在再力花根部的化学形态分布情况见图 2。可以看出, 醋酸提取态 Zn、盐酸提取态 Zn 和残留态 Zn 的绝对含量(或所占比例)都很低, 比值均小于 7%, 与其他 3 种提取态(乙醇提取态 Zn、水提取态 Zn 及氯化钠提取态 Zn)相比存在显著差异。

在不同 Zn 浓度处理下, 乙醇提取态 Zn、水提取态 Zn 及氯化钠提取态 Zn 所占比例也呈现出不同的变化。低 Zn 浓度处理[0(CK), 0.075 mmol·L^{-1}, 0.250 mmol·L^{-1}], 以乙醇提取态 Zn 所占比例最大, 分别达到 59.81%、56.03%、63.35%。其次是氯化钠提取态 Zn, 比值分别为 22.73%、20.19%、16.24%。水提取态 Zn 所占比例都未达到 10%。高 Zn 浓度处理(0.500 mmol·L^{-1}, 1.000 mmol·L^{-1}, 2.000 mmol·L^{-1}), 乙醇提取态 Zn 下降到 36.30%、23.96%、21.48%, 氯化钠提取态 Zn 比例有所提高, 比例迅速增加的是水提取态 Zn, 分别达到 26.76%、34.52%、36.30%, 并且随着处理浓度的增大而增大, 氯化钠提取态 Zn 也表现出这种增加趋势。

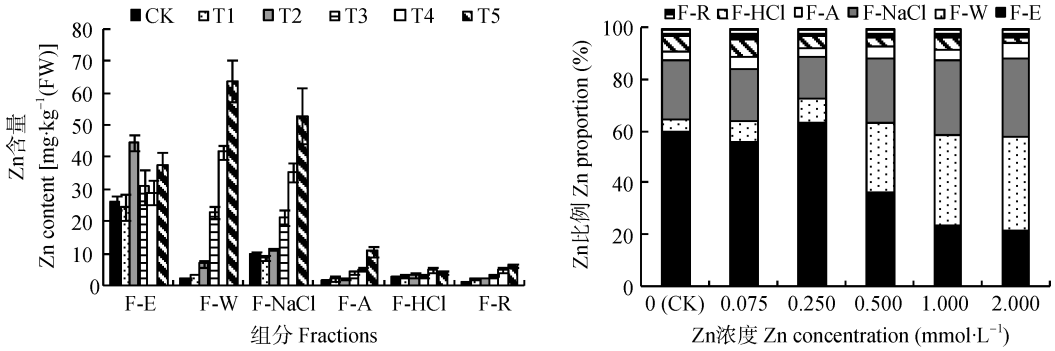


图 2　不同 Zn 浓度处理对再力花根部 Zn 化学形态的影响

Fig. 2　Chemical forms of Zn in the root of *Thalia dealbata* Fraser under different Zn concentrations

F-E: 乙醇提取态 Zn; F-W: 水提取态 Zn; F-NaCl: NaCl 提取态 Zn; F-A: 醋酸提取态 Zn; F-HCl: HCl 提取态 Zn; F-R: Zn 残留态。F-E: Ethanol extractable zinc; F-W: Aqueous extractable zinc; F-NaCl: NaCl extractable zinc; F-A: Acetic acid extractable zinc; F-HCl: HCl extractable zinc; F-R: zinc residua.

3　讨论

Baker 和 Whiting[14]给出了通过水培试验证明是否为超富集植物应具备的几个特征: (1)植物能耐受极高浓度的金属有效态; (2)植物地上部能富集特别高的金属含量; (3)转运系数(地上部/根部金属含量)大于 1。本试验通过水培再力花, 在系列 Zn 浓度处理下, 发现再力花地上部中 Zn 含量并未达到假定值, 转运系数也小于 1。由此可得出, 再力花并非 Zn 超富集植物。

重金属在细胞壁的沉淀以及细胞内的区隔化分布是植物内部解毒的两个重要途径[15]。植物细胞壁含有大量羧基、羟基、氨基、醛基或磷酸基等亲金属离子的配位基团, 它们与进入植物体的金属离子配位结合, 在细胞壁部位形成沉淀, 阻止金属离子进入细胞内部[16]。当细胞壁结合的金属离子达到饱和点时, 进入细胞内的金属离子被转运到液泡中储藏起来, 液泡中的多种蛋白质、有机酸、有机碱等物质, 都能与重金属结合, 从而降低金属离子的毒性。而在超富集植物体内, 有 85%~90%的重金属离子是与这些金属配位体结合形成螯合物, 从而限制金属在植物体内的移动性, 达到解毒的目的[5], 这些极性化合物一般是水溶性的、醇溶性的和酸溶性的低分子量金属螯合物[17−18]。因此, 重金属在植物体内的分布和存在形态是与多种金属配位体综合反应的结果。

有研究发现[5], Zn 超富集植物 *T. caerulescens* 根部细胞中有 30%的 Zn 分布在细胞壁上。杜锁军[19]的研究也发现在超富集植物长柔毛委陵菜(*Potentilla grifithii* Hook.)体内绝大部分的 Zn 分布在细胞壁(40%~55%)和可溶部分(17%~27%), 这可能是长柔毛委陵菜对 Zn 的耐性机制之一。再力花为非超富集植物(如前文所述), Zn 在体内表现出与超富集植物不同的分布情况。低浓度 Zn 处理下, Zn 主要分布于再力花根部的细胞壁, 其次为细胞核。随着处理浓度的提高, 可溶部分成为 Zn 的最主要分布位点, 其次为细胞壁, 而叶绿体中 Zn 含量则明显降低。由此可见, 细胞壁并未有效发挥阻止 Zn 进入细胞体内的第一屏障的作用, 促使液泡成为进入细胞体内 Zn 的最主要结合位点, 从而降低对其他细胞器的伤害。对 Zn 在再力花体内的化学形态(结合形态)研究则表明, 低浓度条件处理下, Zn 在再力花体内的存在形态主要是乙醇提取态, 占 50%以上, 其次是氯化钠提取态。但随着处理浓度的提高, 乙醇提取态的比例有所下降, 氯化钠提取态、水提取态的比例则随着处理浓度的提高而提高。这与龙新宪等[20]的

研究有所不同，他发现超富集植物叶片中 Zn 的主要存在形态还包括醋酸提取态，这可能与植物器官或种类有关。

以上结果表明，对于非超富集植物——再力花而言，外界重金属胁迫下，通过区隔化分布及与金属配位体结合表现出一定的解毒能力，并与常见的超富集植物略有不同。高浓度 Zn 处理下，细胞壁没能有效将 Zn 隔离，进入细胞内的 Zn 主要聚集在液泡。进入植物体内的 Zn 与多种金属配位体结合，影响植物体内 Zn 的形态，其中水溶态和酯溶态有机配位体可能在 Zn 解毒中起了最关键的作用。但 Zn 在液泡内主要与何种配位体结合，还有待进一步研究。

参考文献

[1] Broadley M R, White P J, Hammond J P, et al. Zinc in plants[J]. New Phytologist, 2007, 173(4): 677–702

[2] 蔡海洋，曾六福，方妙真，等. 闽江口塔礁洲湿地重金属的分布特征[J]. 福建农林大学学报：自然科学版, 2011, 40(3): 286–289
Cai H Y, Zeng L F, Fang M Z, et al. Distribution features and assessment of heavy metal in Tajiaozhou wetland of Minjiang estuary[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University: Natural Science Edition, 2011, 40(3): 286–289

[3] Chaney R L, Malik M, Li Y M, et al. Phytoremediation of soil metals[J]. Current Opinion in Biotechnology, 1997, 8(3): 279–284

[4] Baker A J M, Brooks R R, Pease A J, et al. Studies on copper and cobalt tolerance in three closely related taxa within the genus *Silence* L. (Caryophyllaceae) from Zaire[J]. Plant and Soil, 1983, 73(3): 377–385

[5] Salt D E, Prince R C, Baker A J M. Zinc ligands in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* as determined using *X*-ray absorption spectroscopy[J]. Environ Sci Technol, 1999, 33(5): 713–717

[6] 朱兴娜，施雪良，周素梅. 再力花生产栽培技术[J]. 农业科技通讯, 2007(9): 94–95
Zhu X N, Shi X L, Zhou S M. Production and cultivation technique of *Thalia dealbata* Fraser[J]. Communication of Agriculture Science and Technology, 2007(9): 94–95

[7] 王军. 夏花类园林植物的引种及繁育研究[J]. 江苏林业科技, 1998, 25(S1): 121–124
Wang J. Research of introduction and breeding on garden plants[J]. Journal of Jiangsu Forestry Science & Technology, 1998, 25(S1): 121–124

[8] 缪丽华，陈煜初，石峰，等. 湿地外来植物再力花入侵风险研究初报[J]. 湿地科学, 2010, 8(4): 395–400
Miu L H, Chen Y C, Shi F, et al. Preliminary study on the invasion risk of *Thalia dealbata* as an alien species in wetlands[J]. Wetland Science, 2010, 8(4): 395–400

[9] 施雪良，朱兴娜，周素梅. 再力花设施容器栽植试验[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(26): 8161
Shi X L, Zhu X N, Zhou S M. Cultivation experiment of facility container of *Thalia dealbata*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2007, 35(26): 8161

[10] Ghnaya T, Slama I, Messedi D, et al. Cd-induced growth reduction in the halophyte *Sesuvium portulacastrum* is significantly improved by NaCl[J]. Journal of Plant Research, 2007, 120(2): 309–316

[11] Weigel H J, Jäger H J. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants[J]. Plant Physiol, 1980, 65(3): 480–482

[12] Gabbrielli R, Panddfini T, Vergnano O, et al. Comparison of two serpentine species with different nickel tolerance strategies[J]. Plant and Soil, 122(2): 271–277

[13] 许嘉琳，鲍子平，杨居荣，等. 农作物体内铅、镉、铜的化学形态研究[J]. 应用生态学报, 1991, 2(3): 244–248
Xu J L, Bao Z P, Yang J R, et al. Chemical form of Pb, Cd and Cu in crop[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 1991, 2(3): 244–248

[14] Baker A J M, Whiting S N. In search of the Holy Grail—A further step in understanding metal hyperaccumulation?[J]. New Phytologist, 2002, 155(1): 1–4

[15] Brune A, Urbach W, Dietz K J. Compartmentation and transport of zinc in barley primary leaves as basic mechanisms involved in zinc tolerance[J]. Plant, Cell & Environment, 1994, 17(2): 153–162

[16] Allen D L, Jarrell W M. Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls[J]. Plants Physiol, 1989, 89(3): 823–832

[17] Baker A J M, Brooks R R. Terrestrial higher plants which accumulate metallic elements—A review of their distribution, ecology and phytochemistry[J]. Biorecovery, 1989, 1: 81–126

[18] Rauser W E. Structure and function of metal chelators produced by plants[J]. Cell Biochemistry and Biophysics, 1999, 31(1): 19–48

[19] 杜锁军. 毛柔毛委陵菜对锌吸收和富集特性的研究[D]. 广州：中山大学, 2005
Du S J. The investigation of zinc absorption and accumulation in *Potentilla grifithii* Hook.[D]. Guangzhou: Zhongshan University, 2005

[20] 龙新宪. 东南景天(*Sedum alfredii Hance*)对锌的耐性和超积累机制研究[D]. 杭州：浙江大学, 2002
Long X X. Mechanisms of zinc tolerance and hyperaccumulation by *Sedum alfredii Hance*[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2002